

**KAJIAN MIKROKAPSUL SINBIOTIK SEBAGAI ADITIF DALAM PAKAN JUVENIL IKAN  
BARONANG, *Siganus guttatus* Bloch, 1787**

**STUDY OF SYNBIOTIC MICROCAPSULES AS ADDITIVES IN FEED OF RABBITFISH  
JUVENILE, *Siganus guttatus* Bloch, 1787**



Bunga Rante Tampangallo

L013191011



**PROGRAM DOKTOR ILMU PERIKANAN  
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2024**

**KAJIAN MIKROKAPSUL SINBIOTIK SEBAGAI ADITIF DALAM PAKAN JUVENIL IKAN  
BARONANG, *Siganus guttatus* Bloch, 1787**

Bunga Rante Tampangallo  
L013191011



**PROGRAM DOKTOR ILMU PERIKANAN  
SEKOLAH PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**KAJIAN MIKROKAPSUL SINBIOTIK SEBAGAI ADITIF DALAM PAKAN JUVENIL IKAN  
BARONANG, *Siganus guttatus* Bloch, 1787**

Disertasi

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar doktor  
Program Doktorat Ilmu Perikanan  
Disusun dan diajukan oleh

**BUNGA RANTE TAMPANGALLO  
L013191011**

kepada

**PROGRAM DOKTORAL ILMU PERIKANAN  
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

DISERTASI

**KAJIAN MIKROKAPSUL SINBIOTIK SEBAGAI ADITIF DALAM PAKAN JUVENIL IKAN  
BARONANG, *Siganus guttatus* Bloch, 1787**

**BUNGA RANTE TAMPANGALLO  
L013191011**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Doktor Program Studi Ilmu Perikanan  
Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 16 April 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui:

Promotor,



**Prof. Dr. Ir. Hilal Anshary, M.Sc**  
NIP: 196710121992021001

Ko-promotor



**Dr. ir. Sriwulan, M.P.**  
NIP: 196202241988112004

Ko-promotor



**Prof. Dr. Ir. Rachman Syah, M.S.**  
NIP: 196110221986031004

Mengetahui,

Ketua Program Studi  
Ilmu Perikanan,



**Prof. Dr. Ir. Musbir, M.Sc**  
NIP. 196508101989111001



Dekan Fakultas  
Ilmu Kelautan dan Perikanan,



**Prof. Safruddin, S.Pi., MP. Ph. D**  
NIP.197506112003121003

## PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, disertasi dengan judul “**Kajian Mikrokapsul Sinbiotik Sebagai Aditif Dalam Pakan Juvenil Ikan Baronang, *Siganus guttatus* Bloch, 1787**” adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing Prof. Dr. Ir. Hilal Anshary, M.Sc. sebagai Promotor serta Dr. Ir. Sriwulan, M.P. dan Prof. Dr. Ir. Rachman Syah, M.S. sebagai Co-Promotor. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka disertasi ini. Sebagian dari disertasi ini telah dipublikasikan di *Jurnal IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, Sci. 1273 012025 (2023); DOI: 10.1088/1755-1315/1273/1/012025, sebagai artikel dengan judul “Characterization of *Bacillus subtilis* (BR 610) isolated from the intestines of Rabbitfish, *Siganus guttatus*, maintained in Floating Net at Awerange Bay, Barru”; dan *E3S : International Seminar on Fish and Fisheries Sciences (ISFFS 2023)* \_ E3S Web of Conferences, Volume 442 (2023); DOI : <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202344202009> sebagai artikel dengan judul “The effect of alginat concentration on the viability of probiotics (*Bacillus subtilis*) in synbiotic microcapsule beads after incubation at 70°C”. Bagian lain dari disertasi ini juga sudah dipublikasikan pada *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology* (2023) dengan judul “Increasing Viability of *Bacillus subtilis* BR610 through Inulin-Loaded Synbiotic Microcapsules” Vol. 6 (13):2038-2044; DOI: 10.18517/ijaseit.13.6.19056. Hasil penelitian dari disertasi ini telah didaftarkan untuk mendapatkan perlindungan Hak Kekayaan Intelektual berupa Paten pada Kemenkumham dengan nomor registrasi P00202314941 dan judul paten “MIKROKAPSUL SINBIOTIK *Bacillus subtilis* BR610 DALAM PAKAN IKAN BARONANG DAN PROSES PEMBUATANNYA”.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa disertasi ini kepada Universitas Hasanuddin.



Makassar, April 2024

  
Bunga Rante Tampangallo  
NIM L013191011



## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur dipanjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Kuasa atas limpahan berkat dan rahmat-Nya sehingga kami dapat merampungkan penulisan disertasi ini. Disertasi ini merupakan salah satu syarat dalam penyelesaian program doktor pada Program Studi Ilmu Perikanan pada Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin. Disertasi ini berjudul "**Kajian Mikrokapsul Sinbiotik Sebagai Aditif Dalam Pakan Juvenil Ikan Baronang, *Siganus guttatus* Bloch 1787**",

Penelitian yang saya lakukan dapat terlaksana dengan sukses dan disertasi ini dapat terampungkan atas bimbingan, diskusi, dan arahan Prof. Dr. Ir. Hilal Anshary, M.Sc. sebagai promotor, Dr. Ir. Sriwulan, M.P. sebagai Ko-promotor-1, Prof. Dr. Ir. Rachman Syah, M.S. sebagai ko-promotor-2, dan kepada Dr. Ir. Gunarto Latama, M.Sc., Dr. Ir. Dody Dharmawan Trijuno, M.App.Sc., Dr. Ir. Hasni Yulianti Aziz, M.P., dan Citra Malina, S.Pi., M.Agr., Ph.D. selaku penguji internal serta Dr. Ir. Andi Parenrengi, M.Sc. selaku penguji eksternal. Saya mengucapkan berlimpah terima kasih kepada mereka. Kepada pimpinan Universitas Hasanuddin, ketua program pasca sarjana jurusan Perikanan, Bapak Dekan FIKP Unhas, serta tim administrasi yang selalu sigap membantu memfasilitasi setiap kebutuhan administrasi selama kami melakukan studi. Terima kasih atas segala bantuannya.

Penghargaan yang tinggi juga saya sampaikan kepada Bapak Dr. Andi Indra Jaya Asa'ad, M.Sc., selaku Kepala Balai, yang telah mengizinkan kami untuk melaksanakan penelitian di Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau dan Penyuluhan Perikanan (BRPBAPPP), dan kepada Bapak Zakaria, S.Pi., selaku Kepala Instalasi, atas kesempatan untuk menggunakan fasilitas di Karamba dan laboratorium yang ada di IPUW Barru. Terima kasih juga saya sampaikan kepada Bapak-Ibu peneliti dan teknisi serta adek-adek laboran di Laboratorium Kesehatan Ikan dan Lingkungan, Laboratorium Bioteknologi, Laboratorium Nutrisi Ikan, dan Laboratorium Kualitas Air BRPBAPPP Maros. Terima kasih juga saya sampaikan kepada sahabat saya, Muhammad Chaidir Undu, atas bantuannya dalam pengujian statistik; Kamaruddin, Imam Taukhid atas bantuan dan solidaritasnya sebagai rekan seperjuangan.

Kepada Bapak pimpinan PT Patra Niaga, DPPU Pertamina Hsanuddin beserta tim yang membidangi CSR-nya, adek Rista Rintik, Andien, dan Phia, saya mengucapkan terima kasih atas bantuan biaya penelitian yang telah diberikan melalui Perjanjian Kerjasama Riset Pakan Sinbiotik dengan BRPBAPPP Maros. Ucapan terima kasih juga saya ucapkan kepada pimpinan Universitas Hasanuddin dan Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin yang telah memfasilitasi saya menempuh program doktor serta para dosen dan rekan-rekan dalam tim penelitian.

Akhirnya, kepada kedua orang tua tercinta saya mengucapkan limpah terima kasih dan sembah sujud atas doa, pengorbanan dan motivasi mereka selama saya menempuh pendidikan. Penghargaan yang besar juga saya sampaikan kepada suami tercinta dan seluruh keluarga (kakak/adik, ponakan-ponakan, dan cucu cucu yang istimewa) atas motivasi dan dukungan kalian yang tak ternilai. Terkhusus kepada anak Mendara sayang yang tetap sabar menanti Bunda menyelesaikan studi dan anak Nelpi yang selalu siaga menyediakan kebutuhan Bunda di saat lagi sibuk dengan studinya. Terima kasih...terima kasih..... kepada semua orang baik yang ada disekeliling saya, kiranya Tuhan Yang Maha Kuasa senantiasa memberikan kesehatan dan kebahagiaan bagi kita semua.

Makassar, April 2024



Bunga Rante Tampangallo

## ABSTRAK

**BUNGA RANTE TAMPANGALLO**. L013191011. Kajian Mikrokapsul Sinbiotik Sebagai Aditif Dalam Pakan Juvenil Ikan Baronang, *Siganus guttatus* Bloch, 1787. Dibimbing oleh **Hilal Anshary** sebagai pembimbing utama dan **Sriwulan** serta **Rachman Syah** sebagai pembimbing anggota.

Penggunaan sinbiotik di bidang akuakultur telah banyak dilakukan, tetapi isolasi probiotik dari usus ikan baronang, *Siganus guttatus*, dan pemanfaatannya pada pembesaran ikan baronang, *S. guttatus*, belum banyak diketahui. Penelitian ini bertujuan mengisolasi probiotik dari usus ikan baronang, *S. guttatus*, menganalisis viabilitas probiotik tersebut setelah dienkapsulasi dalam butiran mikrokapsul sinbiotik, serta mengkaji efektifitas dari pakan mikrokapsul sinbiotik terhadap performa pertumbuhan, imunitas, dan daya tahan ikan baronang setelah diuji tantang dengan *Streptococcus agalactiae*. Penelitian dibagi menjadi 3 tahap besar, yakni: 1) isolasi, identifikasi, dan karakterisasi bakteri dari usus ikan baronang, *S. guttatus*; 2) pembuatan mikrokapsul sinbiotik melalui metode ekstrusi; 3) aplikasi pakan mikrokapsul sinbiotik pada pembesaran ikan baronang yang dilanjutkan dengan uji tantang ikan hasil aplikasi pakan mikrokapsul sinbiotik dengan bakteri patogen, *Streptococcus agalactiae* IBNM2. Analisis statistik secara deskriptif menggunakan bantuan gambar dan analisis ragam menggunakan aplikasi *Statistical Package for the Social Sciences* versi 21. Sebanyak 138 isolat telah berhasil dikoleksi dari usus ikan baronang, *S. guttatus*. Empat isolat yang terpilih, yakni nomor isolat 570, 605, 610, dan 621 memiliki lebih dari satu aktifitas enzim (amilase, protease, dan selulose); mampu menghambat pertumbuhan lebih dari satu bakteri patogen (*Vibrio harveyi*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, dan *Streptococcus*); sensitif terhadap antibiotik, serta dapat hidup pada pH 1,5 – 9. Setelah pemurnian isolat, nomor isolat 570 dibagi menjadi 570K yang teridentifikasi sebagai *Vibrio sp. strain 201707CJKOP-Y21* (kemiripan 100%; Query Cover 100%). Isolat 570T, 605K, dan 605T adalah *Vibrio fluvialis* (kemiripan 100%; Query Cover 100%). Isolat 610a identik dengan *Bacillus subtilis strain 0623\_748\_009* (kemiripan 100%; Query Cover 100%); 610b identik dengan *Bacillus sp (in: firmicutes) strain AB1* (kemiripan 99,2%; Query Cover 100%); 610c identik dengan *Staphylococcus gallinarium strain KA10/131* (kemiripan 98,64%; Query Cover 99%); dan 621 identik dengan *Proteus mirabilis strain ATCC 43071* (kemiripan 100%; Query Cover 99,67%). Selanjutnya isolat *Bacillus subtilis* BR610 ini dapat tumbuh dengan baik pada media *nutrien broth* yang ditambahkan dengan inulin 1%, dan setelah dibentuk menjadi butiran mikrokapsul sinbiotik penambahan inulin 1% dan alginat 2% memberikan diameter butiran yang masuk dalam kategori mikrokapsul (ukuran 300mm dari standar 500mm). Efisiensi enkapsulasi mikroba pada penambahan 2% aginat adalah yang terbaik ( $32,3 \pm 1,2\%$ ) dan digunakan pada tahap ketiga penelitian. Penambahan butiran mikrokapsul sinbiotik sebanyak 0,1-1% memberikan koefisien pencernaan tertinggi terhadap lemak (94-95%) dan BETN (91-94%); laju pertumbuhan spesifik ( $1,3 \pm 0,033\text{g/hari}$ ), bobot mutlak ( $779 \pm 26,08\text{g}$ ), enzim protease ( $0,091 \pm 0,001\text{U/mL/menit}$ ), enzim amilase ( $0,879 \pm 0,044\text{U/mL/menit}$ ), kadar lemak dari ikan ( $22,52 \pm 0,16\%$ ), dan RPS (50%); konsumsi pakan harian ( $2,2 \pm 0,03\text{g}$ ) dan FCR ( $1,78 \pm 0,05$ ) terendah. Pakan mikrokapsul sinbiotik *B. subtilis* BR610 meningkatkan performa pertumbuhan dan imunitas ikan baronang, *S. guttatus* yang dipelihara dalam karamba jaring apung.

Kata kunci: ikan baronang; mikrokapsul sinbiotik; inulin; performa pertumbuhan; probiotik

## ABSTRACT

**BUNGA RANTE TAMPANGALLO. L013191011.** Study of Synbiotic Microcapsules As Additives In Rabbitfish Juvenile Feed, *Siganus guttatus* Bloch, 1787. Supervised by **Hilal Anshary** as promotor and **Sriwulan** and **Rachman Syah** as co-promotor.

The use of synbiotics in aquaculture has been widely practiced, but the isolation of probiotics from the intestines of rabbit fish, *Siganus guttatus*, and their use in the grow-out of rabbitfish, *S. guttatus*, have not been well studied. This study aims to isolate probiotics from the intestines of rabbitfish, *S. guttatus*, analyze the viability of probiotics after being encapsulated in synbiotic microcapsule beads, and examine the effectiveness of synbiotic microcapsule feed on the growth performance, immunity, and endurance of rabbitfish after being challenged with *Streptococcus agalactiae*. The study was divided into 3 major stages, namely: 1) isolation, identification, and characterization of bacteria from the intestines of rabbitfish, *S. guttatus*; 2) manufacture of synbiotic microcapsules through extrusion method; 3) application of synbiotic microcapsule feed in rabbitfish grow-out followed by fish challenge test results of synbiotic microcapsule feed application with pathogenic bacteria, *Streptococcus agalactiae* IBNM2. Variance analysis was performed using Statistical Package for the Social Sciences application version 21. A total of 138 isolates were successfully collected from the intestines of rabbitfish, *S. guttatus*. Four selected isolates, designated as 570, 605, 610, and 621 had more than one enzyme activity (amylase, protease, and cellulase); able to inhibit the growth of more than one pathogenic bacteria (*Vibrio harveyi*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, and *Streptococcus*); sensitif to antibiotics, and can live at pH 1.5 – 9. Isolates 570 and 605 were identified as *Vibrio fluvialis* bacteria (99.40-100% similarity; Query Cover 100%), and 621 as *Proteus mirabilis* bacteria (99.61-99.90% similarity; Query Cover 100%), while isolates 610 as *Bacillus subtilis* (99.25-100% similarity; Query Cover 100%). Furthermore, *this isolate of B. subtilis* BR610 can grow well on nutrient broth media added with 1% inulin, and after being formed into synbiotic microcapsule granules, the addition of 1% inulin and 2% alginat gives the diameter of the granules that fall into the microcapsule category (size 300mm from the standard 500mm). The efficiency of microbial encapsulation at the addition of 2% aginate was the best (32.3±1.2%) and was further studied in the third phase of study. The addition of synbiotic microcapsule granules by 0.1-1% gives the highest digestive coefficient of fat (94-95%) and BETN (91-94%); specific growth rate (1.3±0.033g/day), absolute weight (779±26.08g), protease enzyme (0.091±0.001U/mL/minute), amylase enzyme (0.879±0.044 U/mL/minute), fat content from fish (22.52±0.16%), and RPS (50%); lowest daily feed consumption (2.2±0.03g) and FCR (1.78±0.05). *B. subtilis* BR610 synbiotic microcapsul feed improves the growth performance and immunity of Rabbitfish, *S. guttatus* which is raised in floating net.

**Keywords:** Rabbitfish; synbiotic microcapsules; inuline; growth performance; probiotics



## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGAJUAN .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA .....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH .....	v
ABSTRAK .....	vi
<i>ABSTRACT</i> .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Kegunaan Penelitian.....	5
1.5 Nilai Kebaruan Penelitian .....	5
1.6 Kerangka Fikir Penelitian.....	5
1.7 Hipotesis .....	6
1.8 Outline Disertasi.....	7
DAFTAR PUSTAKA.....	8
BAB II ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN IDENTIFIKASI MIKROBA DARI USUS IKAN BARONANG, <i>Siganus guttatus</i> .....	12
2.1 Pendahuluan.....	12
2.2 Bahan dan Metode Penelitian .....	12
2.2.1 Tempat dan Waktu.....	12
2.2.2 Alat dan Bahan.....	13
2.3 Prosedur Penelitian .....	13
2.3.1 Isolasi Bakteri dari Usus Ikan Baronang.....	13
2.3.2 Seleksi kandidat probiotik penghasil enzim protease, amylase, sellulose, dan fermentasi karbohidrat .....	14
2.3.3 Seleksi kandidat probiotik penghambat bakteri patogen dan resistensi terhadap beberapa jenis antibiotik .....	14
2.3.4 Ketahanan terhadap simulasi asam lambung dan cairan empedu.....	15

2.3.5 Karakterisasi fisik dan biokimia kandidat probiotik .....	15
2.3.6 Identifikasi isolat kandidat probiotik secara molekular dengan sequencing .....	15
2.4 Analisis Data .....	16
2.5 Hasil dan Pembahasan.....	16
2.5.1 Isolasi probiotik dari usus ikan baronang .....	16
2.5.2 Penapisan kandidat probiotik penghasil enzim protease, amylase, sellulose, dan fermentasi karbohidrat .....	17
2.5.3 Penapisan kandidat probiotik penghambat bakteri patogen dan resistensi terhadap beberapa jenis antibiotik .....	18
2.5.4 Ketahanan terhadap simulasi asam lambung dan cairan empedu.....	20
2.5.5 Karakterisasi fisik, biokimia dan identifikasi isolat kandidat probiotik secara molekular .....	22
2.5.6 Hubungan kekerabatan isolat kandidat probiotik yang diisolasi dari usus ikan Baronang	24
2.5.7 Kesimpulan dan Saran.....	27
DAFTAR PUSTAKA.....	28
BAB III KARAKTERISASI BUTIRAN DAN VIABILITAS PROBIOTIK YANG DIISOLASI DARI USUS IKAN BARONANG, <i>Siganus gutatus</i> , DALAM MIKROKAPSUL SINBIOTIK.....	32
3.1 Pendahuluan.....	32
3.2 Bahan dan Metode Penelitian .....	33
3.2.1 Tempat dan Waktu.....	33
3.2.2 Alat dan Bahan.....	33
3.3 Prosedur Penelitian .....	34
3.3.1 Pola Pertumbuhan probiotik dengan penambahan Inulin .....	34
3.3.2 Mikroenkapsulasi Probiotik Terpilih .....	34
3.3.3 Pengamatan morfologi dan ukuran mikrokapsul sinbiotik.....	35
3.3.4 Pengamatan viabilitas mikrokapsul sinbiotik, kecepatan rilis, laju enkapsulasi, Persentase Penjerapan, dan efisiensi penjerapan mikrokapsul sinbiotik .....	35
3.3.5 Uji viabilitas mikrokapsul sinbiotik terhadap simulasi pH cairan asam lambung, Empedu, dan suhu .....	36
3.4 Analisis Data .....	37
3.5 Hasil dan Pembahasan.....	37
3.5.1 Pola pertumbuhan probiotik dengan penambahan Inulin .....	37
3.5.2 Morfologi dan ukuran mikrokapsul sinbiotik .....	38
3.5.3 Viabilitas, kecepatan rilis, laju enkapsulasi, persentase penjerapan, dan efisiensi penjerapan mikrokapsul sinbiotik.....	39
3.5.4 Viabilitas Mikrokapsul Sinbiotik dalam simulasi cairan empedu dan suhu .....	40
3.6 Kesimpulan dan saran .....	42

DAFTAR PUSTAKA.....	43
BAB IV PENGARUH PEMBERIAN PAKAN MIKROKAPSUL SINBIOTIK <i>Bacillus subtilis</i> BR610 TERHADAP PERTUMBUHAN DAN IMUNITAS JUVENIL IKAN BARONANG, <i>Siganus guttatus</i> , SERTA DAYA TAHAN IKAN UJI TERHADAP INFEKSI <i>Streptococcus agalactiae</i> .....	49
4.1 Pendahuluan.....	49
4.2 Bahan dan Metode Penelitian .....	50
4.2.1 Tempat dan Waktu.....	50
4.2.2 Alat dan Bahan.....	50
4.3 Prosedur Penelitian .....	50
4.3.1 Persiapan Pakan Sinbiotik.....	50
4.3.2 Uji Kecernaan Pakan Sinbiotik .....	52
4.3.3 Uji pakan sinbiotik terhadap pertumbuhan Ikan baronang.....	52
4.3.4 Histologi usus ikan uji .....	53
4.3.5 Respon Imun.....	53
4.3.6 Uji tantang .....	54
4.4 Analisis Data .....	55
4.5 Hasil dan Pembahasan.....	55
4.5.1 Kepadatan probiotik di pakan dan proksimat pakan .....	55
4.5.2 Kecernaan Pakan dan Performa pertumbuhan ikan uji .....	57
4.5.3 Performa ikan pasca infeksi <i>Streptococcus agalactiae</i> IBNM2 .....	62
4.6 Kesimpulan dan Saran .....	71
DAFTAR PUSTAKA.....	72
BAB V PEMBAHASAN UMUM.....	75
DAFTAR PUSTAKA.....	80
BAB VI KESIMPULAN DAN REKOMENDASI.....	84
6.1 Kesimpulan .....	84
6.2 Rekomendasi .....	84

## DAFTAR TABEL

Nomor Urut	Halaman
1. Alat dan bahan yang digunakan untuk isolasi, karakterisasi, dan identifikasi mikroba dari usus ikan baronang, <i>Siganus guttatus</i> .....	13
2. Hasil identifikasi secara molekuler isolat kandidat probiotik dari usus ikan baronang, <i>S. guttatus</i> . dengan menggunakan gen 16S-rRNA. ....	23
3. Alat dan bahan yang digunakan pada kegiatan karakterisasi dan viabilitas probiotik yang diisolasi dari usus ikan baronang, <i>S. guttatus</i> dalam mikrokapsul sinbiotik. ....	34
4. Viabilitas probiotik, laju enkapsulasi, dan efisiensi penyerapan probiotik yang diisolasi dari usus ikan baronang, <i>Siganus guttatus</i> dalam butiran mikrokapsul sinbiotik .....	40
5. Alat dan bahan yang digunakan pada kegiatan uji performa pertumbuhan dan status kesehatan juvenile ikan baronang, <i>S. guttatus</i> , yang diberi pakan mikrokapsul sinbiotik <i>B. subtilis</i> BR610..	50
6. Komposisi pakan perlakuan untuk uji coba pencernaan pakan mikrokapsul sinbiotik <i>B. subtilis</i> BR610 pada ikan baronang, <i>Siganus guttatus</i> .....	51
7. Primer yang digunakan untuk analisis ekspresi gen imunitas dan pertumbuhan ikan baronang yang diberi pakan mikrokapsul sinbiotik <i>Bacillus subtilis</i> BR610.....	53
8. Hasil analisis proksimat pakan uji untuk pembesaran ikan baronang, <i>S. guttatus</i> di karamba jaring apung .....	56
9. Komposisi pakan ikan yang digunakan untuk uji pakan mikrokapsul sinbiotik <i>B. subtilis</i> BR610 pada pembesaran ikan baronang di karamba jaring apung .....	56
10. Efisiensi pencernaan pakan dan performa pertumbuhan ikan baronang, <i>S. guttatus</i> yang diberi pakan mikrokapsul sinbiotik <i>B. subtilis</i> BR610 .....	57
11. Hasil analisis kualitas air pada kegiatan uji tantangan ikan baronang <i>S. guttatus</i> dengan <i>Streptococcus agalactiae</i> di bak terkontrol.....	71

## DAFTAR GAMBAR

Nomor Urut	Halaman
1.	Kerangka fikir penelitian kajian mikrokapsul sinbiotik sebagai bahan aditif dalam pakan ikan baronang, <i>S. guttatus</i> ..... 6
2.	Diagram ven aktifitas enzimatik kandidat probiotik yang diisolasi dari usus ikan baronang, <i>Siganus guttatus</i> ..... 17
3.	Diagram ven aktifitas antibakteri kandidat probiotik yang diisolasi dari usus ikan baronang, <i>Siganus guttatus</i> ..... 19
4.	Sensitifitas kandidat probiotik dari usus ikan baronang, <i>S. guttatus</i> terhadap beberapa jenis antibiotik..... 20
5.	Daya tahan kandidat probiotik dari usus ikan baronang, <i>S. guttatus</i> terhadap simulasi pH cairan usus. .... 21
6.	Daya tahan kandidat probiotik dari usus ikan baronang, <i>S. guttatus</i> terhadap cairan empedu.... 21
7.	Hasil PCR sampel dengan menggunakan primer 16S-rRNA . Lajur 1 adalah Marker 100bp DNA ladder, lajur 2-9 adalah template DNA dari isolat kandidat probiotik yang diisolasi dari usus ikan baronang, <i>S. guttatus</i> ..... 23
8.	Pohon filogeni isolat isolat yang diisolasi dari usus ikan baronang, <i>S. guttatus</i> ..... 26
9.	Prosedur enkapsulasi probiotik menggunakan alginat dengan menggunakan metode ekstrusi .. 35
10.	Pola pertumbuhan isolat probiotik <i>B. subtilis</i> BR610 pada beberapa konsentrasi inulin dengan masa inkubasi hingga 168 jam..... 37
11.	Visualisasi butiran mikrokapsul sinbiotik BR610 dengan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 5x dan 10x. a= alginat 1%, b = alginat 2%, dan c= alginat 3%. Pembesaran 10x dan 4x. .... 38
12.	Diameter butiran mikrokapsul sinbiotik isolat <i>Bacillus</i> 610 yang diisolasi dari usus ikan Baronang, <i>S. guttatus</i> . (A=alginat 1%, B=alginat 2%, C=alginat 3%)..... 39
13.	Viabilitas probiotik dalam butiran alginat setelah diinkubasi pada simulasi cairan empedu 10% selama 90 menit..... 41
14.	Viabilitas probiotik dalam butiran alginat setelah diinkubasi pada suhu 70oC dan 90oC..... 41
15.	Populasi Total Bakteri (TPC) dalam pakan uji untuk ikan Baronang, <i>Siganus guttatus</i> . A=pakan kontrol, B=pakan + 10% butiran mikrkapsul prebiotik, C=pakan+0,1% butiran mikrokapsul sinbiotik, D=pakan+1% butiran mikrokapsul sinbiotik, E= pakan+10% butiran mikrokapsul sinbiotik, D=pakan+1% butiran mikrokapsul sinbiotik, E= pakan+10% butiran mikrokapsul sinbiotik ..... 55
16.	Total bakteri (TPC) dalam pakan uji ikan baronang, <i>S. guttatus</i> selama 3 bulan penyimpanan. A=pakan kontrol, B=pakan + 10% butiran mikrkapsul prebiotik, C=pakan+0,1% butiran mikrokapsul sinbiotik, D=pakan+1% butiran mikrokapsul sinbiotik, E= pakan+10% butiran mikrokapsul sinbiotik ..... 56
17.	Histologi usus depan ikan baronang, <i>S. guttatus</i> yang diberi pakan mikrokapsul <i>sinbiotik B. subtilis</i> BR610. a= kontrol, b= prebiotik 1%, c= butiran mikrokapsul sinbiotik 0,1%, d= 1%, dan e= 10%. Pembesaran 10x..... 59
18.	Ekspresi relatif gen IGF-1 pada ikan baronang, <i>S. guttatus</i> yang diberi pakan mikrokapsul sinbiotik <i>B. subtilis</i> BR610 dengan konsentrasi yang berbeda. Tingkat mRNA relatif dari gen yang ditunjukkan diukur dengan RT-qPCR menggunakan $\beta$ -aktin. Data disajikan sebagai perubahan lipatan dalam kadar mRNA, dibandingkan dengan sampel jaringan hati tanpa sinbiotik/pakan kontrol (dibuat menjadi 1) (n = 3, rata-rata $\pm$ SD). A=pakan kontrol, B=pakan + 10% butiran mikrkapsul prebiotik, C=pakan+0,1% butiran mikrokapsul sinbiotik, D=pakan+1% butiran mikrokapsul sinbiotik, E= pakan+10% butiran mikrokapsul sinbiotik..... 60
19.	Ekspresi relatif gen IFN- $\gamma$ , TLR-21 dan Lysosime pada organ usus dan hati ikan baronang, <i>S. guttatus</i> yang diberi pakan mikrokapsul sinbiotik <i>B. subtilis</i> BR610 dengan konsentrasi yang berbeda. Tingkat mRNA relatif dari gen yang ditunjukkan diukur dengan RRT-qPCR menggunakan $\beta$ -aktin. Data disajikan sebagai perubahan lipatan dalam kadar mRNA, dibandingkan dengan sampel jaringan hati tanpa sinbiotik/pakan kontrol (dibuat menjadi 1) (n = 3, rata-rata $\pm$ SD). A=pakan kontrol, B=pakan + 10% butiran mikrkapsul prebiotik, C=pakan+0,1% butiran mikrokapsul

sinbiotik, D=pakan+1% butiran mikrokapsul sinbiotik, E= pakan+10% butiran mikrokapsul sinbiotik .....	61
20. Gejala klinis ikan baronang yang telah dipelihara selama 56 hari dengan menggunakan pakan mikrokapsul sinbiotik <i>B. subtilis</i> BR610 lalu diinjeksi dengan bakteri patogen, <i>S. agalactiae</i> IBNM2. ....	63
21. Mortalitas ikan baronang, <i>S. guttatus</i> , yang diberi pakan mikrokapsul sinbiotik <i>B. subtilis</i> BR610 setelah dipapar dengan <i>S. agalactiae</i> IBNM2. H=hari pasca injeksi .....	64
22. Ekspresi relatif gen TLR-21 pada ikan baronang, <i>S. guttatus</i> yang diuji tantang dengan menggunakan <i>S. agalactiae</i> IBNM2. Tingkat mRNA relatif dari gen yang ditunjukkan diukur dengan RT-qPCR menggunakan $\beta$ -aktin. Data disajikan sebagai perubahan lipatan dalam kadar mRNA, dibandingkan dengan sampel jaringan ikan tanpa sinbiotik/pakan kontrol (dibuat menjadi 1) (n = 3, rata-rata $\pm$ SD). A=pakan kontrol, B=pakan + 10% butiran mikrkapsul prebiotik, C=pakan+0,1% butiran mikrokapsul sinbiotik, D=pakan+1% butiran mikrokapsul sinbiotik, E= pakan+10% butiran mikrokapsul sinbiotik. ....	65
23. Ekspresi relatif gen IFN- $\gamma$ pada ikan baronang, <i>S. guttatus</i> yang diuji tantang dengan menggunakan <i>S. agalactiae</i> IBNM2. Tingkat mRNA relatif dari gen yang ditunjukkan diukur dengan RT-qPCR menggunakan $\beta$ -aktin. Data disajikan sebagai perubahan lipatan dalam kadar mRNA, dibandingkan dengan sampel jaringan ikan tanpa sinbiotik/pakan kontrol (dibuat menjadi 1) (n = 3, rata-rata $\pm$ SD). A=pakan kontrol, B=pakan + 10% butiran mikrkapsul prebiotik, C=pakan+0,1% butiran mikrokapsul sinbiotik, D=pakan+1% butiran mikrokapsul sinbiotik, E= pakan+10% butiran mikrokapsul sinbiotik. ....	66
24. Ekspresi relatif gen TNF- $\alpha$ pada ikan baronang, <i>S. guttatus</i> yang diuji tantang dengan menggunakan <i>S. agalactiae</i> IBNM2. Tingkat mRNA relatif dari gen yang ditunjukkan diukur dengan RT-qPCR menggunakan $\beta$ -aktin. Data disajikan sebagai perubahan lipatan dalam kadar mRNA, dibandingkan dengan sampel jaringan ikan tanpa sinbiotik/pakan kontrol (dibuat menjadi 1) (n = 3, rata-rata $\pm$ SD). ). A=pakan kontrol, B=pakan + 10% butiran mikrkapsul prebiotik, C=pakan+0,1% butiran mikrokapsul sinbiotik, D=pakan+1% butiran mikrokapsul sinbiotik, E= pakan+10% butiran mikrokapsul sinbiotik. ....	67
25. Ekspresi relatif gen Lisozim pada ikan baronang, <i>S. guttatus</i> yang diuji tantang dengan menggunakan <i>S. agalactiae</i> IBNM2. Tingkat mRNA relatif dari gen yang ditunjukkan diukur dengan RT-qPCR menggunakan $\beta$ -aktin. Data disajikan sebagai perubahan lipatan dalam kadar mRNA, dibandingkan dengan sampel jaringan ikan tanpa sinbiotik/pakan kontrol (dibuat menjadi 1) (n = 3, rata-rata $\pm$ SD). ). A=pakan kontrol, B=pakan + 10% butiran mikrkapsul prebiotik, C=pakan+0,1% butiran mikrokapsul sinbiotik, D=pakan+1% butiran mikrokapsul sinbiotik, E= pakan+10% butiran mikrokapsul sinbiotik. ....	68
26. Histopatologi organ limpa dari ikan baronang, <i>S. guttatus</i> , yang diinfeksi dengan <i>Streptococcus agalactiae</i> IBNM2. Ket. dl= deplecy limfosit, hm= hemosiderin yang meluas, h= hemoragi, c= congesti. ). A=pakan kontrol, B=pakan + 10% butiran mikrkapsul prebiotik, C=pakan+0,1% butiran mikrokapsul sinbiotik, D=pakan+1% butiran mikrokapsul sinbiotik, E= pakan+10% butiran mikrokapsul sinbiotik. Pembesaran: 40x .....	70



## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor Urut	Halaman
1. Hasil blastn susunan Nukleotida Isolat yang diisolasi dari usus Ikan baronang, <i>S. guttatus</i> .....	85
2. Populasi probiotik <i>B. subtilis</i> BR610 yang diisolasi dari usus baronang, <i>S. guttatus</i> dalam media nutrient broth dengan perlakuan penambahan inulin. ....	88
3. Laju enkapsulasi dan efisiensi enkapsulasi probiotik <i>B. subtilis</i> BR610 yang diisolasi dari usus baronang, <i>S. guttatus</i> dalam butiran mikrokapsul sinbiotik yang dibuat dengan menggunakan teknik ekstrusi. ....	88
4. Diameter butiran mikrokapsul sinbiotik <i>B. subtilis</i> BR610 yang yang dibungkus dengan alginat menggunakan metode ekstrusi .....	88
5. Populasi probiotik dalam butiran mikrokapsul sinbiotik setelah cekaman suhu .....	91
6. Populasi probiotik dalam butiran mikrokapsul sinbiotik setelah cekaman cairan empedu.....	91
7. Hasil analisis proksimat pakan uji untuk pembesaran ikan baronang di karamba jaring apung...	92
8. Hasil analisa uji pencernaan pakan mikrokapsul sinbiotik oleh ikan baronang .....	92
9. Hasil Analisa pengaruh pakan mikrokapsul sinbiotik <i>B. subtilis</i> BR610 terhadap performa pertumbuhan ikan baronang .....	92
10. Hasil analisa enzim dalam usus ikan baronang yang diberi pakan mikrokapsul sinbiotik <i>B. subtilis</i> BR610 .....	93
11. Hasil analisa histologi usus ikan baronang yang diberi pakan mikrokapsul sinbiotik <i>B. subtilis</i> BR610 .....	93
12. Hasil analisa proksimat karkas ikan baronang yang diberi pakan mikrokapsul sinbiotik <i>B. subtilis</i> BR610 .....	93
13. Gejala klinis ikan baronang pasca injeksi <i>Streptococcus agalactiae</i> IBNM2.....	94

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Serangan penyakit pada tambak budidaya udang terutama oleh penyakit virus dan bakteri telah mengakibatkan penurunan produktivitas tambak (Wiradana et al., 2019). Saat ini banyak tambak udang yang terbengkalai atau dikelola dengan tidak maksimal. Secara nasional, luas tambak yang terbengkalai adalah sekitar 8,72% (Firdaus et al., 2016). Berbagai upaya telah dilakukan untuk mengatasi masalah penyakit pada tambak, antara lain adalah melalui program revitalisasi tambak yang dimulai dari pemutahiran data luas lahan terbengkalai/idle (Cahyadi, 2010) dan pengalihan fungsi tambak untuk diversifikasi organisme budidaya (Dharmaji et al., 2017; Supratno, 2006). Diversifikasi organisme budidaya merupakan salah satu upaya yang dapat dilakukan dan diharapkan dapat memutus rantai penyakit sekaligus meningkatkan produktivitas tambak, yaitu dengan memelihara ikan baronang di tambak.

Ikan baronang, *Siganus guttatus* adalah salah satu jenis ikan yang bernilai ekonomis yang banyak digemari (Woodland & Anderson, 2014). Selain itu, ikan ini bersifat herbivorous dimana dalam habitatnya di alam, ikan ini memakan rumput laut (Palinggi & Daud, 2007). Sifat ini dapat mendukung program pembatasan penggunaan protein yang berasal dari tepung ikan untuk perlindungan sumber daya ikan (Salin et al., 2022). Hal ini disebabkan oleh karena penggunaan tepung ikan sebagai sumber protein telah banyak digunakan baik itu dalam pakan ternak (Mangisah et al., 2004) maupun dalam pakan ikan dengan kontribusi 8-16% dari total bahan pakan (Priyadi et al., 2019), sehingga dikawatirkan akan dapat menguras sumber daya ikan yang ada. Penggunaan tepung ikan dalam pakan, seiring dengan kebiasaan makan ikan, dimana ikan karnivora membutuhkan jumlah protein yang lebih tinggi dibanding ikan herbivora dan secara otomatis meningkatkan penggunaan tepung ikan sebagai sumber protein dalam pakan.

Budidaya ikan baronang di Cina telah mengalami perkembangan yang sangat baik, karena telah berhasil dipijahkan sejak tahun 2007 (Zhao et al., 2013), namun ikan ini belum banyak dibudidayakan di Indonesia karena pasokan benih masih terbatas. Pasokan benih ikan baronang hasil penangkapan dari alam juga telah dilaporkan melewati batas eksploitasi (Umar et al., 2020). Benih dari alam ini biasanya digunakan untuk memenuhi kegiatan budidaya ikan baronang yang pada umumnya masih dilakukan secara ekstensif di karamba jaring apung. Upaya produksi benih ikan Baronang dari pembenihan telah dilakukan sejak tahun 90an (Subandiyono et al., 1997), akan tetapi induk yang digunakan pada penelitian ini belum berhasil memijah. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau dan Penyuluhan Perikanan juga telah merintis upaya pembenihan ikan baronang sejak tahun 2006. Saat ini teknologi produksi benih ikan baronang telah dikuasai sehingga dapat menyediakan benih untuk budidaya ikan baronang di karamba ataupun di tambak. Seiring dengan tersedianya bibit ikan baronang, maka perlu dilakukan kajian yang dapat mendukung usaha budidaya ikan tersebut dalam skala massal. Salah satu hal yang harus diperhatikan dalam usaha budidaya adalah kesehatan ikan yang dibudidayakan.

Masalah penyakit pada ikan budidaya umumnya akan timbul pada saat ikan mulai dibudidayakan secara intensif. Beberapa jenis penyakit yang menyerang ikan laut (kakap dan kerapu) yang telah dibudidayakan secara intensif adalah *VNN*, *Iridovirus*, *Vibriosis*, *Trichodina*, dan *gill fluke* (Mahardika et al., 2020). Penyakit *Streptococcal* juga telah dilaporkan menyerang ikan baronang, *S. canaliculatus* yang dibudidayakan secara intensif di karamba jaring apung di perairan pantai North-east, Singapura (Foo et al.,

1985). Li et al., (2021) juga melaporkan adanya infeksi *Streptococcus* sp pada budidaya intensif ikan baronang *S. guttatus* di Cina. Penyakit ini mulai ditemukan ketika kepadatan ikan budidaya mencapai 1,4 kg/m<sup>3</sup>. Demikian halnya dengan serangan penyakit bakteri *Pseudomonas* pada *S. rivulatus* yang dibudidayakan dalam karamba jaring apung di Red Sea dan Eastern Mediterranean (Saeed, M., et al. 1987) dan infeksi *Mycobacterium marinum* pada ikan baronang disepanjang garis pantai Laut Merah Israel (Diamant et al., 2000). Hasil penelitiannya menunjukkan tingginya prevalensi *Mycobacteriosis* pada ikan yang ada dalam karamba jaring apung dan juga telah menginfeksi ikan baronang yang hidup liar di sekitar karamba. Selain penyakit bakteri, ikan baronang juga dilaporkan terinfeksi oleh parasite, seperti *Caligus uniartus* dan *Lepeiotheirus* (Freeman, et. al, 2013), namun ikan baronang merupakan ikan yang tahan terhadap serangan parasit *Cryptocaryon irritans* (Jiang et al., 2019).

Sifat resisten ikan baronang terhadap parasit *Cryptocaryon* karena darah ikan baronang menghasilkan serum protein yang dapat menghambat infeksi parasit tersebut (Jiang et al., 2019; Li et al., 2013; Wang et al., 2011; Wang et al., 2010; Yoshinaga et al., 2007). Selain serum anti parasit, baronang juga memiliki serum antibakteri (Li & Li, 2014). Serum protein 61,739.87 Da yang diisolasi dari darah *S. oramin* memiliki aktifitas penghambatan terhadap *Streptococcus iniae*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Aeromonas sobria*, *Edwardsiella tarda*, dan *Photobacterium damsela subsp. Piscicida* akan tetapi pada *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio alginolyticus* aktivitas penghambatannya sangat lemah (Li et al., 2013; Wang et al., 2011).

Sumber penghasil ketahanan tubuh lainnya yang sudah banyak dilaporkan oleh peneliti adalah komunitas bakteri dalam usus, termasuk usus ikan. Mikroba dalam usus ikan dan udang telah banyak dilaporkan bermanfaat bagi kesehatan ikan dan udang bahkan membantu dalam mempercepat pertumbuhan (Chitsaz et al., 2016; Dehaghani et al., 2015; Rakhfid et al., 2018). Hal ini disebabkan oleh beberapa jenis mikroba memiliki sifat yang dapat menghasilkan enzim yang membantu usus untuk menyerap nutrient dari pakan dengan lebih baik serta kemampuan untuk menghambat bakteri patogen. Beberapa jenis probiotik seperti *Bacillus aerius* B81e (Meidong et al., 2018), *B. subtilis* (Iwashita, et al., 2015), *B. amyloliquefaciens* BN06, *B. subtilis* WN07 and *B. megaterium* (Saravanan et al., 2021a), *B. cereus* P22 (Setiyaningsih, et al., 2018), FLOC (Aguilera-Rivera et al., 2014), dan *Enterococcus avium* (Sriwulan et al., 2019) telah dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan meningkatkan performa dari ikan dan udang.

Saat ini sediaan probiotik dapat kita temukan dalam bentuk cair (Atmomarsono et al., 2022) maupun dalam bentuk terenkapsulasi (Gunarto et al., 2021). Mikroenkapsulasi probiotik bertujuan untuk melindungi probiotik agar tidak mudah terkontaminasi atau pun mengalami penurunan aktifitas enzim akibat pengaruh lingkungan, memperlambat penurunan populasi probiotik, dapat bertahan terhadap kondisi lambung sehingga bisa sampai ke usus bagian belakang, dan mempermudah dalam aplikasinya (de Araújo Etchepare et al., 2016; Oberoi et al., 2019). Beberapa metode yang dapat digunakan untuk membuat mikroenkapsulasi probiotik adalah *emulsifikasi*, *spray-chilling*, *spray-drying*, *spray-cooling*, *centrifugal extrusion*, *fluidized bed coating*, *liposomal entrapment*, *lyophilization*, *coacervation*, *centrifugal suspension separation*, *cocrystallization*, *inclusion complexation*, dan ekstrusi (Kholisah, 2016), namun yang paling banyak digunakan adalah *emulsifikasi*, *spray-drying*, dan *extrusion*.

Penambahan mikrokapsul probiotik *B. cereus* P22 dan *Staphylococcus lentus* L1k dalam pakan ikan lele dapat meningkatkan laju pertumbuhan, respons imun, dan resistensi ikan lele terhadap *A. hydrophila*

(Setiyaningsih et al., 2018b). Penambahan prebiotik pada sediaan probiotik saat dibentuk menjadi mikrokapsul sangat dibutuhkan. Hal ini dimaksudkan agar probiotik tetap memiliki sumber karbon/nutrisi untuk menunjang pertumbuhannya (Serrano-Casas et al., 2017). Prebiotik adalah nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan probiotik dan biasanya berasal dari golongan polisakarida. Beberapa jenis prebiotik yang telah diaplikasikan dengan cara menambahkan ke dalam pakan bersama dengan probiotik secara terpisah adalah oligosaccharide (Zubaidah, et al., 2015), mannan oligosaccharide (Yunarty, et al., 2016), dan dari golongan serat kasar, yakni inulin.

Penambahan inulin sebagai prebiotik dapat meningkatkan populasi probiotik dan mempertahankannya dalam fase statik yang lebih lama (Fayed et al., 2018; Luca et al., 2019), menjaga viabilitas probiotik selama penyimpanan, dapat diterima oleh organ sensorik dengan baik serta dapat melewati saluran pencernaan (Gandomi et al., 2016), mengurangi risiko karsinogenesis usus besar dan meningkatkan pengelolaan penyakit radang usus (Roberfroid, 2007). Inulin ini telah dilaporkan dapat meningkatkan pertumbuhan dan parameter biochemical ikan *Rainbow trout* (Ghafariarsani et al., 2021).

Alginat merupakan salah satu jenis polisakarida yang dapat berfungsi sebagai prebiotik dan sekaligus dapat digunakan untuk mikroenkapsulasi probiotik. Penggunaan alginat ini telah banyak diaplikasikan pada proses pembuatan mikrokapsul secara ekstrusi. Alginat dapat diisolasi dari rumput laut, seperti *Gracilaria*. Alginat dari rumput laut ini telah digunakan pada mikroenkapsulasi probiotik dan diketahui dapat meningkatkan imunitas pada udang galah, *Macrobrachium rosenbergii* (Hindu et al., 2018). Alginat juga dapat diisolasi dari *Laminarian* dan *Sargassum*. Selain sebagai sumber prebiotik (polisakarida), beberapa jenis rumput laut diketahui memiliki senyawa aktif yang dapat menghambat bakteri, seperti ekstrak *Gracilaria* dapat menghambat *Vibrio harveyi* (Rudi, et al., 2019). *Sargassum polycistum* juga dilaporkan memiliki senyawa antibakteri (Riyanto et al., 2008). Selain sebagai antibakteri, *Sargassum* juga dilaporkan memiliki aktivitas anti virus, anti stress dan meningkatkan respon imun udang (Gazali et al., 2018; Riyanto et al., 2008; Sudaryono et al., 2018; Yeh et al., 2006).

Metode ekstrusi adalah salah satu cara untuk membentuk mikrokapsul berbahan dasar alginat. Kemampuan alginat membungkus/menyalut probiotik dan bahan aktif lainnya sangatlah tinggi. Probiotik yang telah disalut oleh alginat ini diharapkan dapat tetap hidup hingga di usus bagian belakang ikan baronang. Diharapkan dengan terdistribusinya probiotik disepanjang usus ikan, maka akan membantu proses penyerapan nutrient dalam usus sehingga pertumbuhan ikan bisa lebih baik dan efisien dalam pemanfaatan pakan. Penambahan prebiotik dari tepung ubi jalar dapat membantu ketersediaan nutrient bagi probiotik dalam usus ikan mas sehingga probiotik dapat hidup dalam sepanjang usus ikan perlakuan (Djauhari, 2016). Ikan baronang yang bersifat herbivora diharapkan dapat mengalami pertumbuhan yang lebih cepat oleh karena adanya probiotik dalam usus yang terdistribusi hingga ke usus bagian belakang. Keberadaan probiotik yang terdistribusi di sepanjang usus ikan akan membantu usus mencerna nutrient yang ada dalam pakan oleh karena adanya kemampuan dari probiotik untuk menghasilkan enzim. Selain itu adanya kemampuan probiotik untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen akan memperbaiki komunitas bakteri dalam usus dan menstimulasi sistem imun ikan (Djauhari, 2016).

Pemilihan jenis bakteri probiotik yang sesuai untuk budidaya ikan baronang perlu dikaji. Pemilihan probiotik dapat disesuaikan dengan adanya sifat alami dari ikan baronang yang lebih cenderung herbivorous yang dimulai ketika memasuki fase juvenile. Hingga saat ini, laporan tentang komunitas bakteri dalam usus ikan baronang belum banyak dilaporkan, oleh karena itu upaya untuk mengisolasi probiotik

dari usus ikan baronang perlu dilakukan. Probiotik dalam sediaan yang sesuai diharapkan dapat meningkatkan efisiensi penyerapan nutrient dalam usus dan meningkatkan sistem imun sehingga dapat mencegah infeksi penyakit pada ikan baronang, *S. guttatus*. Berdasarkan status riset ikan baronang di atas, maka ada peluang untuk meningkatkan performa budidaya ikan baronang melalui pemanfaatan mikrokapsul sinbiotik sebagai aditif dalam pakan juvenile ikan baronang, *S. guttatus*. Oleh karena itu, penelitian ini didesain melalui serangkaian tahapan, yakni: (1) Isolasi, karakterisasi, dan identifikasi mikroba yang bersumber dari usus ikan baronang sebagai kandidat probiotik; (2) Mikroenkapsulasi isolat probiotik terpilih dengan prebiotik inulin dan penyalut alginat dari rumput laut *Sargassum*; (3) uji performa sinbiotik terenkapsulasi dalam pakan ikan terhadap juvenile ikan baronang dan kemampuan ikan uji untuk bertahan hidup pada saat diuji tantang dengan bakteri patogen.

## 1.2 Rumusan Masalah

Diversifikasi jenis ikan budidaya merupakan salah satu cara untuk mengurangi dan mencegah kegagalan budidaya akibat serangan penyakit. Ikan baronang merupakan salah satu jenis ikan yang dapat dibudidayakan pada lingkungan perairan dengan rentang salinitas yang lebar. Ikan ini bersifat herbivora, dapat menerima pakan buatan dengan kandungan protein yang rendah, serta memiliki sifat yang lebih tahan terhadap serangan penyakit. Walaupun demikian, beberapa peneliti telah melaporkan bahwa ikan ini juga akan terserang penyakit pada saat dibudidayakan secara intensif.

Beberapa kelebihan dari ikan baronang telah dilaporkan oleh peneliti terdahulu, khususnya terkait kemampuan dari serum yang dimiliki oleh ikan ini untuk menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri patogen, bahkan beberapa jenis parasit. Seiring dengan perkembangan pengetahuan, sumber pertahanan tubuh lainnya yang saat ini diperhatikan adalah komposisi bakteri dalam usus. Komposisi yang baik akan meningkatkan imunitas dan penyerapan nutrient dari makanan dalam usus, sehingga pertumbuhan bisa lebih cepat.

Pemanfaatan bakteri baik/probiotik telah banyak diaplikasikan pada budidaya ikan. Perkembangan penggunaan probiotik telah banyak dikaji, dimulai dari penggunaan probiotik secara tunggal, penambahan polisakarida untuk menunjang kebutuhan nutrient probiotik (prebiotik), hingga bentuk sediaan dari probiotik pun telah diteliti. Bentuk sediaan probiotik yang telah banyak tersedia adalah dalam bentuk serbuk yang diproduksi dengan menggunakan *freeze dryer*. Metode ini dapat memproduksi probiotik dalam bentuk serbuk dalam jumlah yang banyak akan tetapi kelemahannya adalah biaya produksinya cukup mahal dan populasi probiotik banyak menurun oleh karena tingginya suhu pada inlet. Metode lainnya adalah ekstrusi, dengan memanfaatkan alginat sebagai penyalutnya. Metode ini memudahkan kita untuk melakukan modifikasi untuk menambahkan beberapa bahan dalam satu butir mikrokapsul dan menjaga probiotik tetap aman dalam balutan alginat. Kelemahan dari metode ini adalah belum dapat diproduksi dalam skala industri, akan tetapi penelitian ke arah inovasi alat pencetak mikrokapsul sinbiotik pun sudah mulai diminati. Produksi sinbiotik dengan metode ekstrusi ini juga diharapkan dapat melindungi probiotik ketika dicampurkan ke dalam pakan ikan dan melalui mesin pencetak pakan yang biasanya suhunya agak tinggi. Harapannya balutan alginat ini dapat melindungi probiotik yang akan diujicobakan.

Berdasarkan informasi ini, maka rumusan masalah yang akan dicoba untuk diselesaikan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah bakteri yang diisolasi dari usus ikan baronang dapat berfungsi sebagai probiotik?

2. Apakah probiotik yang terenkapsulasi dalam balutan alginat dengan penambahan inulin sebagai prebiotik dapat bertahan hidup?
3. Apakah penambahan prebiotik dan probiotik terenkapsulasi (mikrokapsul sinbiotik) dalam pakan ikan dapat meningkatkan kinerja pertumbuhan, respon imun, mikrovili usus dan daya tahan ikan baronang, *S. guttatus* setelah diuji tantang dengan *Streptococcus agalactiae*?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah tersebut di atas, maka penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengisolasi, mengidentifikasi, dan mengkarakterisasi isolat bakteri yang diisolasi dari usus ikan baronang.
2. Menganalisis viabilitas probiotik yang terenkapsulasi dalam alginat.
3. Mengevaluasi efektivitas mikrokapsul sinbiotik yang ditambahkan ke dalam pakan terhadap kinerja pertumbuhan, respons imun, gambaran mikrovili usus, dan daya tahan ikan baronang, *S. guttatus* setelah diuji tantang dengan *S. agalactiae*.

### 1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini adalah ditemukannya isolat probiotik yang dapat meningkatkan aktifitas enzim pencernaan dan menghambat bakteri patogen. Isolat probiotik ini dapat dibentuk menjadi mikrokapsul sinbiotik yang ditambahkan ke dalam pakan ikan untuk membantu usus ikan menyerap nutrisi dari makanannya dan meningkatkan imunitas ikan baronang sehingga pada akhirnya dapat meningkatkan produksi ikan baronang.

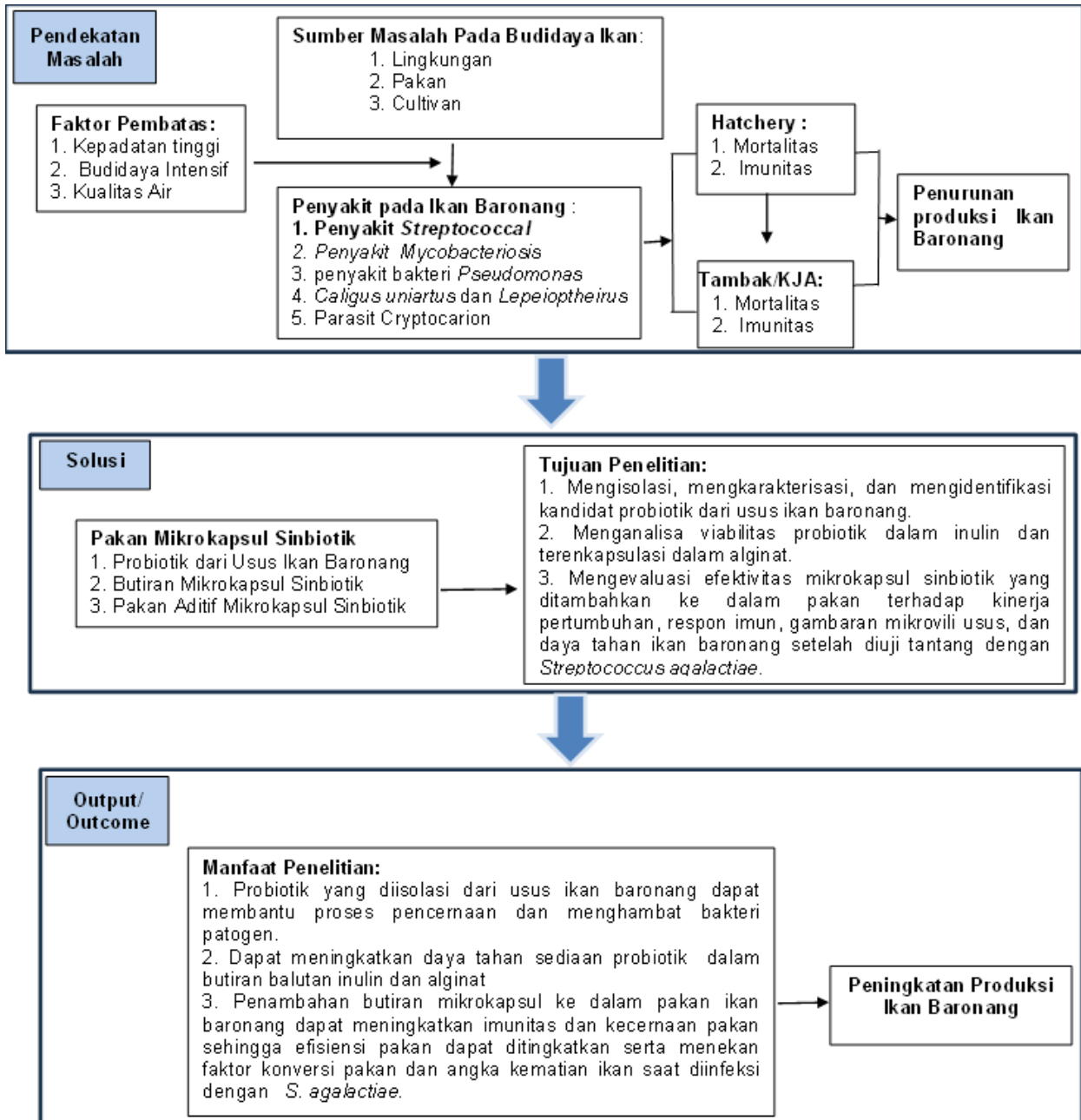
### 1.5 Nilai Kebaruan Penelitian

Nilai kebaruan dari penelitian ini adalah sediaan probiotik *B. subtilis* BR610 yang diisolasi dari usus ikan baronang yang disalut bersama inulin dalam alginat 2% menjadi mikrokapsul sinbiotik. Pakan ikan berbasis mikrokapsul sinbiotik *B. subtilis* BR610 yang dapat meningkatkan performa pertumbuhan dan status kesehatan ikan baronang *S. guttatus*.

### 1.6 Kerangka Fikir Penelitian

Kerangka fikir dari penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 1.1 :





**Gambar 1.1** Kerangka fikir penelitian kajian mikrokapsul sinbiotik sebagai bahan aditif dalam pakan ikan baronang, *S. guttatus*

### 1.7 Hipotesis

- H<sub>0</sub> =
1. Bakteri yang diisolasi dari usus ikan baronang tidak memiliki karakteristik sebagai bakteri probiotik.
  2. Penambahan inulin dan alginat dari rumput laut tidak mempengaruhi pertumbuhan probiotik dalam sediaan mikrokapsul sinbiotik.
  3. Penambahan mikrokapsul sinbiotik ke dalam pakan tidak mempengaruhi performa dan status kesehatan ikan Baronang
- H<sub>1</sub> ≠
1. Bakteri yang diisolasi dari usus ikan baronang memiliki karakteristik sebagai bakteri probiotik.
  2. Penambahan inulin dan alginat dari rumput laut mempengaruhi pertumbuhan probiotik dalam sediaan mikrokapsul sinbiotik.

3. Penambahan mikrokapsul sinbiotik dalam pakan ikan baronang mempengaruhi performa pertumbuhan dan status kesehatan ikan Baronang.

## 1.8 Outline Disertasi

Penelitian ini dituliskan dalam suatu karya disertasi yang terdiri dari 6 Bab. Setiap bab disajikan secara berurut untuk memberikan gambaran utuh dari penelitian. Susunan bab dalam disertasi ini mengikuti outline sebagai berikut:

**BAB I. Pendahuluan.** Mengurai tentang latar belakang, masalah penelitian, tujuan, kegunaan, kerangka pikir, dan hipotesis penelitian mengenai kajian mikrokapsul sinbiotik sebagai aditif dalam pakan juvenil ikan Baronang, *Siganus guttatus*, kebaruan penelitian, outline disertasi dan pustaka. Pada bab ini juga diuraikan tentang perkembangan budidaya ikan Baronang, probiotik, prebiotik, dan sinbiotik. Gambaran mengenai gap/celah juga diulas pada bagian ini.

**BAB II. Isolasi, karakterisasi, dan identifikasi mikroba dari usus ikan baronang, *Siganus guttatus*.** Hasilnya memberikan gambaran tentang bentuk koloni, aktifitas enzim dan antibakteri dari isolat bakteri probiotik yang diisolasi dari usus ikan baronang serta nama spesies dari isolat terpilih melalui analisa sequencing DNA.

**BAB III. Karakterisasi butiran mikrokapsul dan viabilitas probiotik yang diisolasi dari usus ikan baronang, *Siganus guttatus* dalam butiran mikrokapsul sinbiotik.** Hasilnya menjelaskan tentang ukuran dan bentuk serta viabilitas dari bakteri probiotik dalam butiran mikrokapsul sinbiotik dengan menggunakan metode ekstrusi.

**Bab IV. Pengaruh pemberian pakan mikrokapsul sinbiotik *Bacillus subtilis* BR610 terhadap pertumbuhan dan status kesehatan juvenile ikan baronang, *Siganus guttatus* serta daya tahan ikan uji terhadap *Streptococcus agalactiae*.** Hasilnya memberikan informasi tentang kepadatan bakteri probiotik dalam pakan ikan baronang dan pengaruh dari pemberian pakan tersebut terhadap pertumbuhan, imunitas, dan gambaran histologi usus ikan uji, serta mortalitas ikan setelah diuji dengan *Streptococcus agalactiae*.

**BAB V. Pembahasan Umum.** Mengurai secara detail tentang karakteristik dari probiotik yang diisolasi dari usus ikan baronang dan pemanfaatan isolat bakteri tersebut dalam bentuk mikrokapsul sinbiotik yang digunakan sebagai bahan aditif dalam pakan ikan.

**BAB VI. Kesimpulan dan Rekomendasi.** Berisi kesimpulan dan rekomendasi dari penelitian ini yang diharapkan dapat menjadi bahan rujukan bagi penggunaan bahan aditif berupa mikrokapsul sinbiotik dalam pakan ikan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aguilera-Rivera, D., Prieto-Davó, A., Escalante, K., Chávez, C., Cuzon, G., & Gaxiola, G. (2014). Probiotic effect of FLOC on Vibrios in the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 424–425, 215–219. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.01.008>
- Atmomarsono, M., Tampangallo, B. R., Nurbaya, & Kamariah. (2022). Effect of bacteria probiotics on maintaining water quality in the super alkaline shrimp pond water. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1119(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1119/1/012059>
- Cahyadi, J. (2010). Distribusi tambak kota tarakan berdasarkan interpretasi citra satelit landsat-tm. *Jurnal Harpodon Borneo*, 3 No 1, 1–11.
- Chitsaz, H., Akrami, R., & Arab Arkadeh, M. (2016). Effect of dietary synbiotics on growth, immune response and body composition of Caspian roach (*Rutilus rutilus*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 15(1), 170–182.
- de Araújo Etchepare, M., Raddatz, G. C., de Moraes Flores, É. M., Zepka, L. Q., Jacob-Lopes, E., Barin, J. S., Ferreira Grosso, C. R., & de Menezes, C. R. (2016). Effect of resistant starch and chitosan on survival of *Lactobacillus acidophilus* microencapsulated with sodium alginate. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 511–517. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.039>
- Dehaghani, P. G., Baboli, M. J., Moghadam, A. T., Ziaei-Nejad, S., & Pourfarhadi, M. (2015). Effect of synbiotic dietary supplementation on survival, growth performance, and digestive enzyme activities of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Czech Journal of Animal Science*, 60(5), 224–232. <https://doi.org/10.17221/8172-CJAS>
- Dharmaji, D., Sofarini, D., & Yunandar, Y. (2017). Budidaya Nila Salin Di Lahan Tambak Udang Non Produktif Di Desa Wisata Pantai Takisung. In *Abdi Insani* (Vol. 4, Issue September). <http://www.abdiinsani.unram.ac.id/index.php/jurnal/article/view/128>
- Diamant, A., Banet, A., Ucko, M., Colorni, A., Knibb, W., & Kvitt, H. (2000). Mycobacteriosis in wild rabbitfish *Siganus rivulatus* associated with cage farming in the Gulf of Eilat, Red Sea. *Diseases of Aquatic Organisms*, 39(3), 211–219. <https://doi.org/10.3354/dao039211>
- Djauhari, R. (2016). *Kinerja Pertumbuhan dan Status Kesehatan Ikan Mas (Cyprinus carpio) yang Diberi Probiotik, Prebiotik dan Sinbiotik*. 171pp.
- Fayed, B., Abood, A., S.El-Sayed, H., Hashem, A. M., & Mehanna, N. S. (2018). A synbiotic multiparticulate microcapsule for enhancing inulin intestinal release and Bifidobacterium gastro-intestinal survivability. *Carbohydrate Polymers*, 03(068).
- Firdaus, M., Indriana, L. F., Munandar, H., Bio, B., Laut, I., Oseanografi, P. P., Ilmu, L., Indonesia, P., & Tema, S. (2016). *Konsep dan Proses Alih Teknologi Budidaya Terpadu Teripang Pasir, Bandeng*. 51–63.
- Foo, J. T. W., Ho, B., & Lam, T. J. (1985). Mass mortality in *Siganus canaliculatus* due to Streptococcal infection. *Aquaculture*, 49(May 1984), 185–195.
- Freeman, M. A., Anshary, H., & Ogawa, K. (2013). Multiple gene analyses of caligid copepods indicate that the reduction of a thoracic appendage in Pseudocaligus represents convergent evolution. *Parasites and Vectors*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-336>
- Gandomi, H., Abbaszadeh, S., Misaghi, A., Bokaie, S., & Noori, N. (2016). Effect of chitosan-alginate encapsulation with inulin on survival of *Lactobacillus rhamnosus* GG during apple juice storage and under simulated gastrointestinal conditions. *LWT-Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.01.064>.This
- Gazali, M., Nurjanah, & Zamani, N. P. (2018). *Eksplorasi senyawa bioaktif alga cokelat Sargassum sp. Agardh sebagai antioksidan dari pesisir barat Aceh*. 21(1), 167–178. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v21i1.21543>
- Ghafariarsani, H., Rashidian, G., Bagheri, T., Hoseinifar, S. H., Doan, H. Van, Resources, N., Fisheries, O., & Resources, N. (2021). *Study on growth enhancement and the protective effects of dietary prebiotic inulin on immunity responses of rainbow trout* (. 21(2), 543–559. <https://doi.org/10.2478/aoas-2020-0074>
- Gunarto, G., Tampangallo, B. R., & Muliani, M. (2021). The Application of Erythromycin, Elbayou, and Rica-

- 1 Probiotic in the Rearing of *Scylla paramamosain* Mud Crab Larvae Development into the Crablet Stage. *Thalassas*, 465–475. <https://doi.org/10.1007/s41208-021-00327-y>
- Hindu, S. V., Thanigaivel, S., Vijayakumar, S., Chandrasekaran, N., Mukherjee, A., & Thomas, J. (2018). Effect of microencapsulated probiotic *Bacillus vireti* 01-polysaccharide extract of *Gracilaria folifera* with alginate-chitosan on immunity, antioxidant activity and disease resistance of *Macrobrachium rosenbergii* against *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*, 73(2018), 112–120. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.12.007>
- Iwashita, M. K. P., Nakandakare, I. B., Terhune, J. S., Wood, T., & Ranzani-Paiva, M. J. T. (2015). Dietary supplementation with *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* enhance immunity and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* and *Streptococcus iniae* infection in juvenile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fish and Shellfish Immunology*, 43(1), 60–66. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.12.008>
- Jiang, B., Du, J. J., Li, Y. wei, Ma, P., Hu, Y. Z., & Li, A. X. (2019). Transcriptome analysis provides insights into molecular immune mechanisms of rabbitfish, *Siganus oramin* against *Cryptocaryon irritans* infection. *Fish and Shellfish Immunology*, 88, 111–116. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.02.039>
- Kholisah, G. (2016). Uji viabilitas enkapsulasi *Lactobacillus casei* menggunakan matriks kappa karagenan terhadap simulasi cairan asam lambung. *Skripsi*.
- Li, L., Wang, C., Olsen, R. H., Li, X., Meng, H., Xu, L., & Shi, L. (2021). Characterization of a Streptococcus species isolated from *Siganus guttatus* in South China. *Aquaculture*, 545(September 2020), 737163. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737163>
- Li, R., Dan, X., & Li, A. (2013). *Siganus oramin* recombinant L-amino acid oxidase is lethal to *Cryptocaryon irritans*. *Fish and Shellfish Immunology*, 35(6), 1867–1873. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.09.026>
- Li, R., & Li, A. (2014). Antibacterial efficacy of recombinant *Siganus oramin* L-amino acid oxidase expressed in *Pichia pastoris*. *Fish and Shellfish Immunology*, 41(2), 356–361. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.09.017>
- Luca, L., Oroian, M., & Lobiuc, A. (2019). *The Prebiotic Potential of Some Carbohydrate Substrates on The Growth of Lactobacillus plantarum and Lactobacillus rhamnosus*. XVII(2), 67–74. [www.fia.usv.ro/fiajournal](http://www.fia.usv.ro/fiajournal)
- Mahardika, K., Mastuti, I., Roza, D., Syahidah, D., Astuti, W. W., Ismi, S., & Zafran. (2020). *Pemantauan insidensi penyakit pada ikan kerapu dan kakap di pembenihan dan keramba jaring apung di Bali Utara*. 15(2), 89–102.
- Mangisah, I., Estiningdriati, I., & Sumarsih, S. (2004). The Fish Meal Substitution with Pupae Meal in a Layer Diet. *J. Indon. Trop. Anim. Agric.*, 1(29), 39–43. [http://www.jppt.undip.ac.id/pdf/29\(1\)2004p39-43.pdf](http://www.jppt.undip.ac.id/pdf/29(1)2004p39-43.pdf)
- Meidong, R., Khotchanalekha, K., Doolgindachbaporn, S., Nagasawa, T., Nakao, M., Sakai, K., & Tongpim, S. (2018). Evaluation of probiotic *Bacillus aerius* B81e isolated from healthy hybrid catfish on growth, disease resistance and innate immunity of Pla-mong *Pangasius bocourti*. *Fish and Shellfish Immunology*, 73, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.11.032>
- Oberoi, K., Tolun, A., Sharma, K., & Sharma, S. (2019). *Microencapsulation : An Overview For The Survival Of Probiotic*. October. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2019.9.2.280-287>
- Palinggi, N. N., & Daud, R. (2007). *Pengaruh kadar protein berbeda dalam pakan terhadap pertumbuhan ikan beronang*,. 1986, 7–13.
- Priyadi, A., Azwar, Z. I., Subamia, I. W., & Hem, S. (2019). Dalam Pakan Buatan Untuk Benih Ikan Balashark. *Jurnal Riset Akuakultur*, 4(C), 367–375.
- Rakhfid, A., Halida, W. O., Rochmady, & Fendi. (2018). Aplikasi probiotik untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup udang vaname *Litopenaeus vannamei* pada padat tebar berbeda. *Akuatikisle*, 2(2), 41–48.
- Riyanto, E. I., Widowati, I., & Sabdono, A. (2008). Skrining aktivitas antibakteri pada ekstrak *Sargassum polycystum* terhadap bakteri *Vibrio harveyi* dan *Micrococcus luteus* di Pulau Panjang Jepara. *Nature*, 141(3569), 548–549. <https://doi.org/10.1038/141548c0>
- Roberfroid, M. B. (2007). *Inulin-Type Fructans : Functional Food Ingredients*. 5, 2493–2502.
- Rudi, M., Sukenda, S., Pasaribu, W., & Hidayatullah, D. (2019). Seaweed extract of *Gracilaria verrucosa* as an antibacterial and treatment against *Vibrio harveyi* infection of *Litopenaeus vannamei*. *Jurnal*

*Akuakultur Indonesia*, 18(2), 120–129. <https://doi.org/10.19027/jai.18.2.11-20>

- Saeed, M. O., Alamoudi, M. M., & Al-Harbi, A. H. (1987). A *Pseudomonas* associated with disease in cultured rabbitfish *Siganus rivulatus* in the Red Sea. *Diseases of Aquatic Organisms*, 3, 177–180. <https://doi.org/10.3354/dao003177>
- Salin, K. R., Arun, V. ., Nair, M., & Tidwell, J. H. (2022). *Sustainable Aquaculture* (Issue September). <https://doi.org/10.1007/978-3-319-73257-2>
- Saravanan, K., Sivaramakrishnan, T., Praveenraj, J., Kiruba-Sankar, R., Haridas, H., Kumar, S., & Varghese, B. (2021). Effects of single and multi-strain probiotics on the growth, hemato-immunological, enzymatic activity, gut morphology and disease resistance in Rohu, *Labeo rohita*. *Aquaculture*, 540(April). <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736749>
- Serrano-Casas, V., Pérez-Chabela, M. L., Cortés-Barberena, E., & Totosaus, A. (2017). Improvement of lactic acid bacteria viability in acid conditions employing agroindustrial co-products as prebiotic on alginate ionotropic gel matrix co-encapsulation. *Journal of Functional Foods*, 38, 293–297. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.09.048>
- Setiyaningsih, L., Widanarni, W., Lusiastuti3, A. M., & Yuhana, M. (2018). Pengaruh pemberian mikrokapsul probiotik *Bacillus cereus* P22 dan *Staphylococcus lentus* L1k pada pakan terhadap kinerja pertumbuhan, respons imun, dan resistensi ikan lele, *Clarias gariepinus* Burchell 1822 yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Iktiologi Indonesia*, 17(2), 143. <https://doi.org/10.32491/jii.v17i2.354>
- Sriwulan, Azwar, A., Rantetondok, A., & Anshary, H. (2019). Screening and application of lactic acid bacteria isolated from vanamei shrimp (*Litopenaeus vannamei*) intestine as a probiotic potential for tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *AACL Bioflux*, 12(5), 1866–1881.
- Subandiyono, S., Hermawan, I., & Widianingsih, W. (1997). *Aplikasi Bioteknologi untuk Ikan Beronang (Siganus sp.) dalam Kaitannya dengan Prospek Budidaya Laut di Indonesia*. <http://eprints.undip.ac.id/20983/>
- Sudaryono, A., Chilmawati, D., & Susilowati, T. (2018). Oral Administration of Hot-water Extract of Tropical Brown Seaweed, *Sargassum cristaefolium*, to Enhance Immune Response, Stress Tolerance, and Resistance of White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, to *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 49(5), 877–888. <https://doi.org/10.1111/jwas.12527>
- Supratno, T. (2006). *Evaluasi Lahan Tambak Wilayah Pesisir Jepara Untuk Pemanfaatan Budidaya Ikan Kerapu*. <http://eprints.undip.ac.id/15922/>
- Umar, M. T., Omar, S. B. A., & Suwarni. (2020). Kajian potensi lestari sumber daya ikan baronang (*Siganus sp.*) di perairan makassar. *Torani*, 3(June), 33–35.
- Wang, F. H., Xie, M. Q., & Li, A. X. (2010). A novel protein isolated from the serum of rabbitfish (*Siganus oramin*) is lethal to *Cryptocaryon irritans*. *Fish and Shellfish Immunology*, 29(1), 32–41. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.01.006>
- Wang, F., Li, R., Xie, M., & Li, A. (2011). The serum of rabbitfish (*Siganus oramin*) has antimicrobial activity to some pathogenic organisms and a novel serum l-amino acid oxidase is isolated. *Fish and Shellfish Immunology*, 30(4–5), 1095–1108. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2011.02.004>
- Wiradana, P. A., Mahasri, G., Sari, R. E. R., Marwiyah, U. C., & Prihadhana, R. (2019). Identification of white spot syndrome virus (WSSV) in pacific white shrimps (*Litopenaeus vannamei*) from ponds postexposure to immunogenic membrane proteins (*Zoothamnium penaei*). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 236(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/236/1/012085>
- Woodland, D. J., & Anderson, R. C. (2014). Description of a new species of rabbitfish (Perciformes: Siganidae) from southern India, Sri Lanka and the Maldives. *Zootaxa*, 3811(1), 129–136. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3811.1.8>
- Yeh, S. T., Lee, C. S., & Chen, J. C. (2006). Administration of hot-water extract of brown seaweed *Sargassum duplicatum* via immersion and injection enhances the immune resistance of white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology*, 20(3), 332–345. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.05.008>
- Yoshinaga, T., Akiyama, K., Nishida, S., Nakane, M., Ogawa, K., & Hirose, H. (2007). In vitro culture technique for *Cryptocaryon irritans*, a parasitic ciliate of marine teleosts. *Diseases of Aquatic Organisms*, 78(2), 155–160. <https://doi.org/10.3354/dao01857>

- Yunarty, Munti, Y., & Widanarni. (2016). Effects of Microencapsulated Synbiotic Administration at Different Dosages against heavy co-infection of *White Spot Disease* (WSD) and *Vibrio harveyi* in Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Ilmu Kelautan*, 21(4), 169–176. <https://doi.org/10.14710/ik.ijms.21.4.169-176>.
- Zhao, F., Wang, Y., Zhang, L., Zhuang, P., & Liu, J. (2013). Survival, growth, food conversion efficiency and plasma osmolality of juvenile *Siganus guttatus* (Bloch, 1787): Experimental analyses of salinity effects. *Fish Physiology and Biochemistry*, 39(4), 1025–1030. <https://doi.org/10.1007/s10695-012-9759-1>
- Zubaidah, A., Yuhana, M., & Widanarni. (2015). Encapsulated Synbiotic Dietary Supplementation at Different Dosages to Prevent Vibriosis in White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *HAYATI Journal of Biosciences*, 22(4), 163–168. <https://doi.org/10.1016/j.hjb.2015.10.007>.