

# BAB I

## PENDAHULUAN UMUM

### 1.1 Latar Belakang

Usaha budidaya ikan semakin hari semakin berkembang. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS) pertumbuhan dalam sektor perikanan mengalami peningkatan yang signifikan. Angka konsumsi ikan nasional pada tahun 2020 yaitu sebesar 56,39 kg/kapita, angka ini naik 3,47% dibanding tahun sebelumnya yang sebesar 54,5 kg/kapita (Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2022). Tumbuhnya kesadaran masyarakat akan konsumsi ikan didukung dengan adanya program dari KKP yaitu Gemar Makan Ikan yang tertuang dalam Permen KP Nomor 3 Tahun 2014 sehingga angka konsumsi ikan akan terus meningkat. Hal ini meningkatkan minat di masyarakat untuk dapat mengembangkan usaha budidaya ikan karena permintaan pasar yang terus meningkat.

Ikan bandeng (*Chanos chanos*) termasuk dalam famili Chanidae merupakan salah satu ikan air payau yang memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan. Permintaan konsumen terhadap ikan bandeng terus menunjukkan peningkatan. Berdasarkan data BPS Tahun 2022, total produksi ikan bandeng mencapai 780 ribu ton dengan produksi terbanyak berasal dari Provinsi Sulawesi Selatan sebesar 211 ribu ton. Sumber utama ikan untuk konsumsi khususnya ikan bandeng berasal dari hasil budidaya. Diperkirakan pada tahun 2030, dua pertiga ikan dunia akan dipasok oleh akuakultur (Li & Du. 2021; Zhang et al. 2023).

Teknologi budidaya ikan bandeng di Indonesia saat ini telah berkembang dari sistem tradisional ke sistem semi-intensif bahkan intensif. Dalam kegiatan budidaya ikan bandeng secara intensif, faktor penting yang harus diperhatikan adalah pakan (Banerjee & Ray. 2017). Dalam upaya penyediaan pakan yang berkualitas perlu dilakukan pengkayaan dan kombinasi bahan-bahan nutrisi tambahan. Pakan dengan kualitas yang baik mengandung nutrisi penting dalam jumlah yang cukup. Pakan memainkan peran penting dalam budidaya perikanan karena ketersediaan pakan akan mempengaruhi pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan (Karimah et al. 2018; Zhang et al. 2023).

Hingga saat ini yang masih menjadi permasalahan utama dalam kegiatan budidaya adalah harga pakan. Kebutuhan biaya pakan dalam produksi mencapai 60-70% dari total biaya operasional budidaya. Biaya pakan tergantung pada bahan baku dan jumlah pakan. Kunci untuk meningkatkan efisiensi pakan dalam budidaya perikanan adalah dengan menyediakan jumlah pakan yang tepat dan memenuhi kebutuhan nutrisi untuk meningkatkan laju pertumbuhan ikan (Fore et al. 2016; Hu et al. 2021).

Saat ini, pakan komersial umumnya masih berbasis tepung ikan dan bungkil kedelai sebagai sumber protein utama. Namun, kedua bahan tersebut memiliki harga yang relatif tinggi dan bersaing dengan kebutuhan konsumsi manusia (Magbanua & Ragaza, 2024; Moyo & Rapatsa-Malatji, 2023; Ragab et al., 2023). Salah satu upaya untuk menekan biaya produksi sekaligus meningkatkan kualitas pakan adalah

memanfaatkan bahan baku alternatif lokal yang bernilai gizi tinggi, murah, dan tersedia melimpah. *Ceratophyllum* sp., salah satu tumbuhan makrofit yang dapat tumbuh sangat cepat dan sering menutupi permukaan kolam atau tambak, umumnya dianggap sebagai hama. Namun, biomassa yang melimpah ini justru memiliki kandungan protein yang relatif tinggi yaitu 23% (Zaenab et al., 2025) dan berpotensi dimanfaatkan sebagai bahan baku pakan ikan. Produksi alami *Ceratophyllum* sp. yang melimpah dan ketersediaannya sepanjang tahun menjadikannya kandidat sumber nutrisi lokal yang prospektif untuk mensubstitusi sebagian bahan pakan konvensional (Sayed-Lafi et al., 2024). Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa *Ceratophyllum* sp. merupakan sumber protein alternatif yang efektif dalam pakan ikan beronang (*Siganus guttatus*) pada level optimal 20–30%, mampu mempertahankan performa pertumbuhan serta meningkatkan kualitas nutrisi daging ikan (Kiziloglu et al., 2023). Selain itu, *Ceratophyllum demersum* juga terbukti sebagai bahan pakan yang aman dan efisien, meningkatkan kualitas tubuh ikan, serta berpotensi menggantikan sebagian tepung kedelai dalam pakan ikan mas (*Cyprinus carpio*) (Laining et al., 2016).

Meskipun demikian, penggunaan *Ceratophyllum* sp. sebagai sumber protein nabati umumnya menghadapi kendala berupa adanya faktor anti-nutrisi yaitu serat kasar yang tinggi sehingga dapat menghambat pencernaan dan penyerapan nutrisi. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa fermentasi dengan mikroorganisme mampu meningkatkan kualitas nutrisi bahan pakan, menurunkan kadar faktor anti-gizi, serta mendukung pertumbuhan dan kesehatan ikan (Gao et al., 2024; Neves et al., 2024; Siddik et al., 2021). Oleh karena itu, pemanfaatan *Ceratophyllum* sp. terfermentasi sebagai bahan pakan alternatif merupakan strategi potensial untuk meningkatkan efisiensi pakan sekaligus mendukung pengembangan akuakultur berkelanjutan.

Fermentasi bahan pakan dengan bantuan mikroorganisme merupakan salah satu strategi untuk meningkatkan kualitas pakan dan mendukung pertumbuhan ikan. Proses fermentasi dapat berfungsi sebagai teknologi aditif fungsional, karena mampu meningkatkan pencernaan bahan pakan, memperbaiki bioavailabilitas nutrisi, merangsang respons imun, serta meningkatkan ketahanan ikan terhadap stres lingkungan (Estensoro et al., 2016; Torrecillas et al., 2019; Hoseinifar et al., 2021). Salah satu kelompok mikroorganisme yang banyak dimanfaatkan dalam fermentasi adalah probiotik, yang terbukti mampu memperbaiki profil nutrisi bahan baku dan menghasilkan metabolit bioaktif yang bermanfaat bagi kesehatan ikan. Berbagai penelitian telah menunjukkan bahwa fermentasi bahan pakan menggunakan probiotik memberikan dampak positif terhadap pertumbuhan, pemanfaatan nutrisi, efisiensi pakan, serta kesehatan ikan budidaya (Ramos et al., 2017; Bunnoy et al., 2019; Hooshyar et al., 2020). Temuan serupa juga terlihat pada aplikasi probiotik dalam pakan, di mana probiotik terbukti mampu meningkatkan pertumbuhan dan efisiensi pakan pada berbagai hewan akuatik. Chilmawati et al. (2019) melaporkan bahwa penggunaan probiotik komersial Probio 7 dapat meningkatkan pertumbuhan ikan bandeng. Selain itu, probiotik berfungsi sebagai antipatogen (Elsadek et al., 2023), meningkatkan aktivitas enzim pencernaan, memperbaiki kinerja pertumbuhan, memperkuat respons imun, serta meningkatkan ketahanan terhadap

penyakit (Butt et al., 2021; Feng et al., 2019).

Sumber probiotik yang belum dimanfaatkan dengan baik adalah bioslurry. Bioslurry adalah produk akhir dari pengolahan biogas berbahan kotoran ternak sapi dan air yang berbentuk lumpur melalui proses fermentasi secara anaerobik di dalam reaktor (Singgih & Yusmiati. 2018). Pengolahan limbah kotoran hewan menjadi biogas memberikan manfaat yang sangat banyak. Selain menghasilkan sumber energi, produk lain yang dihasilkan adalah ampas biogas atau yang lebih dikenal dengan bioslurry. Bioslurry yang dihasilkan dari limbah pembuatan biogas berupa bioslurry cair dan padat. Bioslurry merupakan pupuk organik berkualitas tinggi yang kaya kandungan humus (Karki et al. 2009). Bioslurry juga mengandung mikroba yang bermanfaat sebagai probiotik untuk meningkatkan kesuburan dan kesehatan lahan pertanian. Kandungan unsur dan bahan organik bioslurry ditentukan oleh kualitas kotoran ternak yang diberikan dan penanganan yang dilakukan setelah bioslurry dipanen.

Hingga saat ini belum terdapat penelitian yang secara khusus memanfaatkan bioslurry cair sebagai sumber probiotik untuk fermentasi bahan baku pakan ikan. Penggunaan probiotik pada pakan, terutama pada spesies ikan yang dibudidayakan secara intensif, berpotensi memberikan efek menguntungkan melalui peningkatan kesehatan usus, efisiensi pemanfaatan pakan, dan laju pertumbuhan ikan. Fermentasi *Ceratophyllum* sp. dengan memanfaatkan bakteri probiotik yang berasal dari bioslurry berpotensi menjadi solusi untuk mengatasi keterbatasan tersebut. Proses fermentasi tidak hanya dapat menurunkan faktor anti-gizi, tetapi juga meningkatkan ketersediaan nutrisi, memodifikasi profil protein menjadi lebih mudah dicerna, serta menambahkan senyawa bioaktif yang mendukung kesehatan ikan.

Tingkat pertumbuhan ikan tidak hanya ditentukan oleh ketersediaan nutrisi, tetapi juga sangat dipengaruhi oleh proses pencernaan, yang ditunjukkan melalui tingkat konsumsi pakan, laju penyerapan nutrisi, serta aktivitas enzim pencernaan (Mata-Sotres et al., 2016). Pemberian pakan yang kurang akan mempengaruhi laju pertumbuhan ikan, sebaliknya pemberian pakan yang berlebihan akan meningkatkan biaya produksi dan sisa pakan yang tidak termakan dapat menyebabkan limbah pakan yang mencemari lingkungan. Aktivitas enzim seperti amilolitik, proteolitik, lipolitik, dan selulolitik masing-masing berperan dalam pencernaan karbohidrat, protein, lipid, dan selulosa, sehingga sangat penting bagi pertumbuhan dan perkembangan ikan budidaya (Falcon-Hidalgo et al., 2011; Ray et al., 2012; Kavitha et al., 2018).

Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengkaji pemanfaatan bioslurry sebagai sumber probiotik dalam fermentasi *Ceratophyllum* sp. dan aplikasinya pada pakan ikan bandeng (*Chanos chanos*) guna mengevaluasi pengaruhnya terhadap kinerja pertumbuhan, efisiensi pakan, dan kelangsungan hidup, sekaligus sebagai pendekatan inovatif untuk menurunkan faktor antinutrisi, meningkatkan pencernaan dan ketersediaan nutrisi, serta mendukung pengembangan budidaya perikanan berkelanjutan.

## 1.2 Rumusan Masalah

Pengembangan pakan ikan berbasis bahan baku lokal seperti *Ceratophyllum* sp. memerlukan pendekatan bioteknologi yang mampu meningkatkan nilai nutrisinya, salah satunya melalui proses fermentasi menggunakan bakteri probiotik. Fermentasi berperan penting dalam meningkatkan pencernaan nutrisi, menurunkan kandungan serat kasar dan senyawa anti-nutrisi, serta menghasilkan senyawa bioaktif yang bermanfaat bagi pertumbuhan ikan. Bioslurry sebagai hasil samping biogas diketahui kaya akan bahan organik dan mengandung beragam mikroorganisme alami, sehingga berpotensi besar sebagai sumber bakteri probiotik penghasil enzim, seperti amilase, protease, dan selulase, yang berperan dalam peningkatan kualitas bahan baku pakan. Sejumlah penelitian sebelumnya telah melaporkan isolasi dan karakterisasi bakteri probiotik penghasil enzim dari berbagai lingkungan alami. Hasil penelitian Dhayalan et al. (2022) yang mengisolasi bakteri dari saluran pencernaan ikan *Systemus sarana* dilaporkan mampu menghasilkan enzim pencernaan yang berperan dalam peningkatan kualitas pakan dan kinerja pertumbuhan ikan. Penelitian lain menunjukkan bahwa bakteri asam laktat (BAL) berhasil diisolasi dari produk ikan fermentasi (Gupta et al., 2021), dan dua BAL potensial, yaitu *Lactococcus lactis* dan *Enterococcus faecalis*, dilaporkan berasal dari usus *Channa argus* dan memiliki potensi sebagai probiotik dalam akuakultur (Kong et al., 2020). Secara umum, sebagian besar penelitian terdahulu berfokus pada penemuan dan pengembangan probiotik yang bersumber dari saluran pencernaan ikan.

Di sisi lain, eksplorasi sumber probiotik non-ikan, khususnya dari limbah organik terolah seperti bioslurry, masih sangat terbatas. Disisi lain, bioslurry memiliki kondisi lingkungan yang mendukung keberadaan bakteri pengurai bahan kompleks serta mikroorganisme yang adaptif terhadap substrat berserat. Hingga saat ini, karakteristik morfologi, jenis bakteri probiotik, serta kemampuan isolat bakteri penghasil enzim dari bioslurry belum dieksplorasi secara mendalam. Selain itu, efektivitas berbagai bakteri kandidat probiotik dari bioslurry serta lama fermentasi yang optimal untuk meningkatkan kualitas nutrisi *Ceratophyllum* sp. masih perlu dikaji secara sistematis. Lebih lanjut, pengaruh penggunaan *Ceratophyllum* sp. hasil fermentasi tersebut sebagai bahan baku pakan terhadap kinerja pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan bandeng (*Chanos chanos*) melalui uji in vivo juga belum dilakukan. Oleh karena itu, diperlukan penelitian komprehensif yang mengintegrasikan eksplorasi bakteri probiotik, optimasi proses fermentasi, serta evaluasi biologis pada ikan uji guna mendukung pemanfaatan bioslurry sebagai starter fermentasi pakan ikan bandeng yang lebih efisien dan berkelanjutan.

Berdasarkan uraian tersebut, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana karakteristik morfologi, jenis bakteri probiotik, serta kemampuan bakteri penghasil enzim yang diperoleh dari bioslurry sebagai kandidat probiotik?
2. Bagaimana efektivitas berbagai jenis bakteri kandidat probiotik dari bioslurry serta lama fermentasi yang optimal dalam meningkatkan kualitas nutrisi *Ceratophyllum* sp.?

3. Berapa persentase penggunaan *Ceratophyllum* sp. hasil fermentasi menggunakan bakteri probiotik dari bioslurry sebagai bahan baku pakan dalam meningkatkan kinerja pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan bandeng (*Chanos chanos*) melalui uji in vivo?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menganalisis karakteristik morfologi, identifikasi jenis bakteri probiotik dan isolat bakteri penghasil enzim yang diperoleh dari bioslurry.
2. Menganalisis efektivitas berbagai jenis bakteri probiotik bioslurry dan lama waktu fermentasi untuk meningkatkan kualitas nutrisi *Ceratophyllum* sp.
3. Menganalisis optimalisasi persentase pemberian *Ceratophyllum* sp. terfermentasi menggunakan bakteri probiotik dari bioslurry sebagai bahan baku pakan terhadap kinerja pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan bandeng

### 1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini adalah:

1. Manfaat Teoritis  
Hasil penelitian ini diharapkan memiliki kontribusi terhadap penyempurnaan teori dalam pemanfaatan bioslurry sebagai bakteri probiotik dalam proses fermentasi *Ceratophyllum* sp. untuk meningkatkan pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan bandeng
2. Manfaat Praktis  
Hasil penelitian ini diharapkan akan dapat diterapkan oleh pelaku usaha dan pemangku kepentingan pada usaha perikanan mengenai pemanfaatan bioslurry sebagai bakteri probiotik sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan dan efisiensi pakan dan dapat diaplikasikan pada kegiatan budidaya ikan bandeng
3. Manfaat Bagi Kebijakan  
Hasil penelitian diharapkan untuk menjadi referensi bagi para pembuat kebijakan dalam bidang perikanan, khususnya pada pengembangan usaha budidaya perikanan, dalam rangka upaya mewujudkan pertumbuhan perekonomian dalam sektor perikanan.

### 1.5 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup dari penelitian ini yaitu:

1. Karakterisasi dan seleksi isolat bakteri dari bioslurry sebagai penghasil enzim  
Ruang lingkup ini mencakup isolasi, karakterisasi morfologi, dan identifikasi jenis-jenis bakteri kandidat probiotik yang diperoleh dari bioslurry hasil pengolahan limbah kotoran sapi. Penelitian juga difokuskan pada pengujian kemampuan masing-masing strain bakteri dalam memproduksi enzim pencernaan (seperti protease, amilase, dan lipase) yang berpotensi digunakan untuk menghidrolisis nutrisi makro (protein, karbohidrat, dan lemak) dalam pakan ikan.

## 2. Uji efektivitas fermentasi *Ceratophyllum* sp. secara *in vitro*

Penelitian ini mengevaluasi efektivitas berbagai strain bakteri probiotik bioslurry dan lama fermentasi dalam meningkatkan kualitas nutrisi *Ceratophyllum* sp. secara *in vitro*. Pengujian dilakukan terhadap perubahan komposisi nutrisi setelah fermentasi, untuk menentukan kombinasi jenis bakteri dan waktu fermentasi yang optimal.

## 3. Optimalisasi formulasi pakan fermentasi terhadap pertumbuhan ikan bandeng (*in vivo*)

Ruang lingkup ini meliputi uji *in vivo* untuk menganalisis pengaruh penambahan *Ceratophyllum* sp. terfermentasi menggunakan probiotik bioslurry ke dalam formulasi pakan terhadap kinerja pertumbuhan, efisiensi pakan, dan tingkat kelangsungan hidup ikan bandeng (*Chanos chanos*). Penelitian juga mencakup optimalisasi level penambahan *Ceratophyllum* sp. terfermentasi dalam pakan guna mendapatkan hasil yang paling efektif secara biologis dan ekonomis.

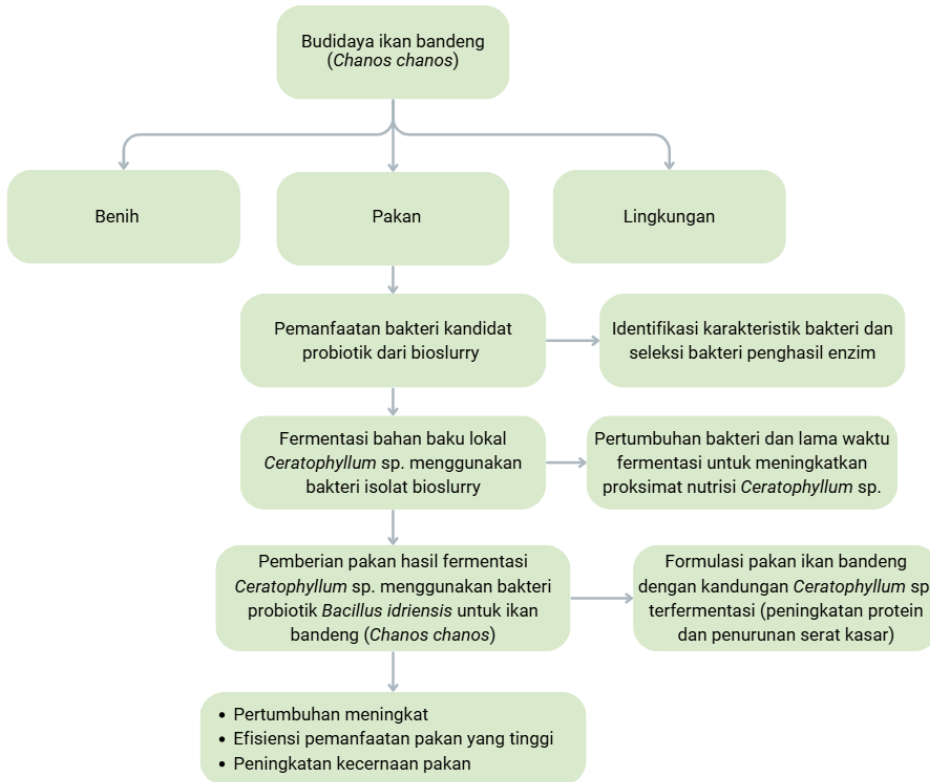
### 1.6 Kebaruan Penelitian (Novelty)

Kebaruan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menemukan karakteristik morfologi dan jenis bakteri kandidat probiotik dari bioslurry serta enzim apa yang dihasilkan dari isolat bakteri tersebut
2. Belum ada penelitian yang menggunakan bioslurry cair sebagai sumber bakteri probiotik dalam proses fermentasi *Ceratophyllum* sp. untuk pakan ikan.
3. Belum ada penelitian yang mengevaluasi efektivitas bakteri probiotik dari bioslurry dalam memfermentasi *Ceratophyllum* sp. terhadap kinerja pertumbuhan dan efisiensi pakan pada ikan bandeng.

## 1.7 Kerangka Pikir

Kerangka pikir penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 1.1, yang menyajikan alur logis proses identifikasi bakteri probiotik, pemanfaatannya dalam fermentasi *Ceratophyllum* sp., hingga pengaruhnya terhadap peningkatan pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan bandeng.



**Gambar 1.1 Kerangka Pikir Penelitian**

## 1.8 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka pikir penelitian maka hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Terdapat identifikasi bakteri pada bioslurry yang berpotensi sebagai probiotik pada pakan ikan
2. Jenis bakteri probiotik bioslurry dan lama waktu fermentasi mampu meningkatkan kualitas nutrisi *Ceratophyllum* sp.
3. *Ceratophyllum* sp. hasil fermentasi dari isolat bakteri bioslurry dapat meningkatkan pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan bandeng

## 1.9 Daftar Pustaka

- Banerjee, G., & Ray, A. K. (2017). The advancement of probiotics research and its application in fish farming industries. *Research in Veterinary Science*, 115, 66–77. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.01.016>
- Bps.go.id. 2021. Ekonomi Indonesia Triwulan II 2021 Tumbuh 7,07 Persen (y-on-y) diakeses melalui <https://www.bps.go.id/pressrelease/2021/08/05/1813/ekonomi-indonesia-triwulan-ii-2021-tumbuh-7-07-persen--y-on-y-.html> pada tanggal 28 Januari 2023
- Bunnoy, A., Na-Nakorn, U., & Srisapoom, P. (2019). Probiotic effects of a novel strain, *Acinetobacter* KU011TH, on the growth performance, immune responses, and resistance against *Aeromonas hydrophila* of bighead catfish (*Clarias macrocephalus* Günther, 1864). *Microorganisms*, 7(12), 613. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7120613>
- Butt, U. D., Lin, N., Akhter, N., Siddiqui, T., Li, S. & Wu, B. (2021) Overview of the latest developments in the role of probiotics, prebiotics and synbiotics in shrimp aquaculture. *Fish & Shellfish Immunology*, 114, 263–281. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.05.003>
- Chilmawati, D., Swastawati, F., Wijayanti, I., Ambaryanto, & Cahyono, B. (2018). Penggunaan probiotik guna peningkatan pertumbuhan, efisiensi pakan, tingkat kelulushidupan dan nilai nutrisi ikan bandeng (*Chanos chanos*). *Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology (Saintek Perikanan)*, 13(2), 119–125. <https://doi.org/10.14710/ijfst.13.2.119-125>
- Elsadek, M. M., Wang, S., Wu, Z., Wang, J., Wang, X., Zhang, Y., Yu, M., Guo, Z., Wang, Q., Wang, G., Chen, Y. & Zhang, D. (2023) Characterization of *Bacillus* spp. isolated from the intestines of *Rhynchocypris lagowskii* as a potential probiotic and their effects on fish pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 180, 106163. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106163>
- Estensoro, I., Ballester-Lozano, G., Benedito-Palos, L., Grammes, F., Martos-Sitcha, J. A., Mydland, L. T., Caldach-Giner, J. A., Fuentes, J., Karalazos, V., Ortiz, A., Overland, M., Sitja-Bobadilla, A., & Perez-Sanchez, J. (2016). Dietary butyrate helps to restore the intestinal status of a marine teleost (*Sparus aurata*) fed extreme diets low in fish meal and fish oil. *PLoS One*, 11(11), e0166564. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166564>
- Falcon-Hidalgo, B., Forrellat-Barrios, A., Farnes, O.C. & Hernandez, K.U. (2011). Digestive enzymes of two freshwater fishes (*Limia vittata* and *Gambusia punctata*) with different dietary preferences at three developmental stages. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 158(2): 136–141. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2010.10.009>
- Feng, J., Chang, X., Zhang, Y., Yan, X., Zhang, J. & Nie, G. (2019). Effects of *Lactococcus lactis* from *Cyprinus carpio* L. as probiotics on growth performance, innate immune response and disease resistance against *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*, 93: 73–81. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.07.028>
- Fore, M., Alver, M., Alfreksen, J.A., Marafioti, G., Senneset, G., Birkevold, J., Willumsen, F.V., Lange, G., Espmark, A. & Terjesen, B.F. (2016). Modelling growth performance and feeding behaviour of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in commercial-size aquaculture net pens: Model details and validation through full-scale experiments. *Aquaculture*, 464: 268–278. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.06.045>

- Gao, S., Chen, W., Cao, S., Sun, P., & Gao, X. (2024). Microalgae as fishmeal alternatives in aquaculture: Current status, existing problems, and possible solutions. *Environmental Science and Pollution Research*, 31, 16113–16130. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-32143-1>
- Hooshyar, Y., Abedian Kenari, A., Paknejad, H. & Gandomi, H. (2020). Effects of *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 on different parameters related to health status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and the protection against *Yersinia ruckeri*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 12(4): 1370–1384. <https://doi.org/10.1007/s12602-020-09645-8>
- Hoseinifar, S.H., Yousefi, S., Van Doan, H., Ashouri, G., Gioacchini, G., Maradonna, F. & Carnevali, O. (2021). Oxidative stress and antioxidant defense in fish: The implications of probiotic, prebiotic and synbiotics. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 29(2): 198–217. <https://doi.org/10.1080/23308249.2020.1795616>
- Hu, X., Liu, Y., Zhao, Z., Liu, J., Yang, X., Sun, C., Chen, S., Li, B. & Zhou, C. (2021). Real-time detection of uneaten feed pellets in underwater images for aquaculture using an improved YOLOV4 network. *Computers and Electronics in Agriculture*, 185: 106135. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2021.106135>
- Karimah, U., Samidjan, I. & Pinandoyo. (2018). Performa pertumbuhan dan kelulushidupan ikan nila GIFT (*Oreochromis niloticus*) yang diberi jumlah pakan yang berbeda. *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 7(1): 128–135.
- Karki, A.B., Shrestha, J.N., Bajgain, S. & Sharma, I. (2009). *Biogas: As Renewable Source of Energy in Nepal – Theory and Development*. BSP-Nepal, 262 p.
- Kavitha, M., Raja, M. & Perumal, P. (2018). Evaluation of probiotic potential of *Bacillus* spp. isolated from the digestive tract of freshwater fish *Labeo calbasu* (Hamilton, 1822). *Aquaculture Reports*, 11: 59–69. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2018.07.001>
- Kiziloglu, U., Yildirim, O., & Cantas, I. B. (2023). Use of coontail as a natural phytoremediation feed additive for common carp. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 52(1). <https://doi.org/10.26881/oahs-2023.1.08>
- Kkp.go.id. 2020. 2020, Kkp Targetkan Konsumsi Ikan 56,39 kg diakses melalui <https://kkp.go.id/artikel/16451-2020-kkp-pada-tanggal-28-Agustus-2023>.
- Laining, A., Usman, U., & Syah, R. (2016). Aquatic weed *Ceratophyllum* sp. as a dietary protein source: Its effects on growth and fillet amino acid profile of rabbitfish, *Siganus guttatus*. *AACL Bioflux*, 9(2). <http://www.bioflux.com.ro/aac1>
- Li, D. & Du, L. (2021). Recent advances of deep learning algorithms for aquacultural machine vision systems with emphasis on fish. *Artificial Intelligence Review*, 13: 66–90. <https://doi.org/10.1007/s10462-021-10102-3>
- Magbanua, T.O. & Ragaza, J.A. (2024). Selected dietary plant-based proteins for growth and health response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture and Fisheries*, 9(1): 3–19. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2022.04.001>
- Mata-Sotres, J.A., Moyano, F.J., Martínez-Rodríguez, G. & Yúfera, M. (2016). Daily rhythms of digestive enzyme activity and gene expression in gilthead seabream (*Sparus aurata*) during ontogeny. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 197: 43–51. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2016.03.010>

- Moyo, N.A.G. & Rapatsa-Malatji, M.M. (2023). A review and meta-analysis of selected plant protein sources as a replacement of fishmeal in the diet of tilapias. *Annals of Animal Science*, 23(3): 681–690. <https://doi.org/10.2478/aoas-2022-0084>
- Neves, N.O.D.S., De Dea Lindner, J., Stockhausen, L., Delzियो, F.R., Bender, M., Serzedello, L., Cipriani, L.A., Ha, N., Skoronski, E., Gisbert, E., Sanahuja, I. & Perez Fabregat, T.E.H. (2024). Fermentation of plant-based feeds with *Lactobacillus acidophilus* improves the survival and intestinal health of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in a biofloc system. *Animals*, 14(2): 332. <https://doi.org/10.3390/ani14020332>
- Ragab, S., Hassaan, M., Fitzsimmons, K. & El-Haroun, E. (2023). Alternative protein sources for sustainable tilapia farming. In: Hoseinifar, S.H. & Van Doan, H. (Eds.), *Novel Approaches Toward Sustainable Tilapia Aquaculture*, pp. 201–227. Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-38321-2\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-031-38321-2_8)
- Ramos, M.A., Batista, S., Pires, M.A., Silva, A.P., Pereira, L.F., Saavedra, M.J., Ozorio, R.O.A. & Rema, P. (2017). Dietary probiotic supplementation improves growth and the intestinal morphology of Nile tilapia. *Animal*, 11(8): 1259–1269. <https://doi.org/10.1017/S1751731116002792>
- Ray, A.K., Ghosh, K. & Ringo, E. (2012). Enzyme-producing bacteria isolated from fish gut: a review. *Aquaculture Nutrition*, 18: 465–492. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2012.00943.x>
- Sayed-Lafi, R. M., Al-Tameemi, R. A., & Gowdet, A. I. (2024). *Effect of dietary inclusion of raw and fermented hornwort, Ceratophyllum demersum, on growth performance and digestibility of young grass carp, Ctenopharyngodon idella Val.* *Agrociencia Uruguay*, 28. <https://doi.org/10.31285/agro.28.1201>
- Siddik, M.A.B., Howieson, J., Fotedar, R. & Partridge, G.J. (2021). Enzymatic fish protein hydrolysates in finfish aquaculture: a review. *Reviews in Aquaculture*, 13(1): 406–430. <https://doi.org/10.1111/raq.12481>
- Singgih, B. & Yusmiati. (2018). Pemanfaatan residu/ampas produksi biogas dari limbah ternak (*bio-slurry*) sebagai sumber pupuk organik. *Jurnal Kelitbangan*, 6(2): 139–148.
- Torrecillas, S., Terova, G., Makol, A., Serradell, A., Valdenegro, V., Gini, E., Izquierdo, M.S. & Montero, D. (2019). Dietary phytogenics and galactomannan oligosaccharides in low fish meal and fish oil-based diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles: effects on gut health and implications on *in vivo* gut bacterial translocation. *PLoS One*, 14(9): e0222063. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222063>
- Zaenab. S., Zainuddin., Sriwulan. & Nisaa K (2026). Evaluation of growth performance of bioslurry isolated bacteria and their application in *Ceratophyllum* sp. fermentation for sustainable fish feed. *International Journal of Agriculture and Biosciences* 15(1): 283-289. <https://doi.org/10.47278/journal.ijab/2025.178>
- Zhang, L., Li, B., Sun, X., Hong, Q. & Duan, Q. (2023). Intelligent fish feeding based on machine vision: a review. *Biosystems Engineering*, 231: 133–164. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2023.05.010>

## BAB II

# IDENTIFIKASI KARAKTERISTIK MORFOLOGI, KOMPOSISI JENIS BAKTERI YANG TERKANDUNG DALAM BIOSLURRY DAN SELEKSI BAKTERI PENGHASIL ENZIM

### 2.1. Abstrak

Pakan ikan bermutu tinggi apabila mengandung nutrisi yang mudah dicerna oleh ikan. Penggunaan bakteri probiotik dalam pakan ikan menjadi salah satu pendekatan inovatif dalam budidaya ikan secara modern. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi bakteri kandidat probiotik dari bioslurry dengan mengisolasi, mengidentifikasi karakteristik morfologi, serta menganalisis isolat bakteri penghasil enzim. Identifikasi karakteristik morfologi dilakukan secara makroskopik dan mikroskopik dengan pewarnaan Gram, identifikasi jenis bakteri dengan MALDI-TOF MS, dan seleksi bakteri penghasil enzim dilakukan dengan mengukur indeks enzimatis bakteri. Hasil identifikasi menunjukkan terdapat 10 jenis bakteri yang diisolasi dari bioslurry. Secara makroskopik bakteri didominasi oleh bentuk koloni circular, warna koloni kuning dan putih, margin entire dan elevation convex. Berdasarkan identifikasi secara mikroskopik didapatkan 9 isolat yang bersifat Gram positif dengan bentuk sel didominasi bacil. Hasil identifikasi MALDI-TOF MS terdapat 6 bakteri yang teridentifikasi jenisnya yaitu NN1 *Exiguobacterium aurantiacum*, NN4 *Bacillus idriensis*, NN5 *Bacillus cereus group*, NN6 *Bacillus subtilis*, NN9 *Paenibacillus lautus* dan NN 10 *Lysinibacillus furiformis*. Jenis bakteri yang teridentifikasi adalah golongan *Bacillus*. Bakteri *Bacillus* merupakan salah satu jenis bakteri yang berpotensi menjadi probiotik yang banyak digunakan dalam pakan ikan untuk meningkatkan kesehatan, pertumbuhan, dan ketahanan terhadap penyakit. Strain *Bacillus* banyak digunakan dalam industri akuakultur sebagai probiotik karena memiliki kemampuan bioremediasi dan daya tahan tinggi dalam pakan. Hasil seleksi isolat bakteri penghasil enzim menunjukkan 9 bakteri memiliki aktifitas amilolitik, 6 bakteri memiliki aktivitas lipolitik dan 3 bakteri memiliki aktifitas proteolitik. Jenis bakteri isolat NN1, NN4 dan NN5 berpotensi untuk dijadikan bakteri kandidat probiotik karena menghasilkan enzim amilase, lipase dan protease yang membantu dalam pemecahan nutrisi pada pakan sehingga lebih mudah diserap oleh ikan.

### 2.2 Pendahuluan

Permintaan hasil perikanan di pasar dunia terus menunjukkan peningkatan seiring dengan kesadaran masyarakat akan manfaat makanan laut. Pemerintah mendorong perbaikan gizi dengan mengkonsumsi ikan untuk memenuhi kebutuhan protein (Ministry of Health Republic of Indonesia, 2021). Diproyeksikan kedepannya, permintaan produk perikanan akan tumbuh dengan laju tahunan mencapai 8,92% (Flandrin et al, 2024). Hal ini menjadi sangat penting untuk mempertahankan permintaan akan produk perikanan khususnya di Indonesia. Indonesia memiliki potensi keanekaragaman hayati ikan air tawar dunia sebesar 10% (Gustiano et al,

2021) yang tumbuh dalam beberapa dekade terakhir sehingga peningkatan kualitas produk perikanan sangat diperlukan untuk menghasilkan produk perikanan yang bermutu tinggi untuk memenuhi kebutuhan permintaan yang besar.

Dalam menghasilkan produk perikanan yang berkualitas, biaya produksi perikanan paling banyak berasal dari harga pakan yang mencapai 60% (Yang et al, 2021; Hossain et al, 2022). Pemanfaatan nutrisi dalam pakan yang efisien merupakan faktor penting dalam meningkatkan pertumbuhan ikan yang bergantung pada pemberian pakan dalam jumlah yang tepat pada waktu yang optimal untuk memenuhi kebutuhan nutrisinya selama berbagai tahap pertumbuhan (Zhang et al, 2023). Pakan ikan dapat dikatakan bermutu tinggi apabila pakan mengandung nutrisi yang mudah dicerna oleh ikan. Penggunaan bakteri dalam pakan ikan telah menjadi salah satu pendekatan inovatif dalam budidaya ikan secara modern. Pemberian bakteri dalam pakan dapat meningkatkan daya cerna ikan terhadap pakan dengan cara meningkatkan enzim pencernaan sehingga mudah diserap dan digunakan sebagai sumber energi untuk pertumbuhan. Enzim yang dihasilkan oleh bakteri adalah enzim amilase, protease, dan selulosa (Wang et al., 2008) yang menghidrolisis molekul kompleks seperti pemecahan karbohidrat, protein dan lemak menjadi molekul yang lebih sederhana, memudahkan proses pencernaan dan penyerapan nutrisi dalam saluran pencernaan ikan (Putra, 2010). Mikroorganisme seperti bakteri merupakan sumber potensial produksi enzim dan proteolitik, amilolitik, dan selulolitik merupakan bakteri umum penghasil enzim (Behera et al. 2014; Setyati et al. 2014). Bakteri umumnya diamati dalam produksi enzim karena mudah diisolasi dan menghasilkan enzim ekstraseluler dengan cepat (Bhatt et al. 2020).

Bakteri dapat ditemukan di berbagai lingkungan baik alami maupun buatan. Beberapa sumber umum bakteri antara lain tanah, saluran pencernaan hewan (Bintsis, 2019), limbah pertanian (Wu et al, 2021), lingkungan air, dan lingkungan ekstrem. Strain lokal bakteri memiliki adaptasi yang lebih baik terhadap kondisi lokal, dan menunjukkan peningkatan stabilitas selama proses penyimpanan. Pencarian sumber bakteri penghasil enzim untuk pakan ikan adalah salah satu penelitian penting dalam industri akuakultur. Kemampuan mikroorganisme dalam menghasilkan enzim banyak dimanfaatkan pada sektor industri karena fungsinya sebagai katalisator (Mukhtar et al., 2017).

Bakteri penghasil enzim protease, amilase, lipase, dan selulase sangat berguna dalam meningkatkan pencernaan dan pemanfaatan nutrisi pada ikan, terutama dalam penggunaan bahan baku pakan yang sulit dicerna. Beberapa penelitian terdahulu berfokus pada isolasi dan karakterisasi bakteri dari lingkungan alami, seperti usus ikan (Dhayalan et al, 2022), sedimen laut, dan lingkungan perairan lain, yang mampu menghasilkan enzim-enzim penting untuk meningkatkan kualitas pakan ikan. Selanjutnya bakteri asam laktat ditemukan dari isolasi ikan fermentasi (Gupta et al, 2021), Dua BAL potensial (*Lactococcus lactis* dan *Enterococcus faecalis*) diisolasi dari usus *Channa argus* (Kong et al, 2020).

Bakteri yang paling banyak digunakan dalam akuakultur yaitu *Lactobacillus* sp. dan *Bacillus* sp., yang menghasilkan enzim ekstraseluler

yang bermanfaat bagi kesehatan ikan (Banerjee and Ray, 2017). Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa pakan ikan yang diberi *Bacillus* dapat meningkatkan pertumbuhan ikan dan kesehatan usus (Gobi et al, 2018). Probiotik yang diisolasi dari saluran usus ikan lebih baik dalam kolonisasi usus dengan efek probiotik yang lebih lama (Reda et al, 2018). Oleh karena itu banyak penelitian terdahulu yang berfokus pada penemuan probiotik baru yang sumbernya berasal dari saluran usus ikan. Di sisi lain, eksplorasi sumber probiotik non ikan masih belum banyak dilakukan.

Bioslurry merupakan salah satu sumber probiotik non-ikan yang belum banyak dieksplorasi. Produk akhir dari pengolahan limbah kotoran sapi melalui proses pembuatan biogas ini memiliki berbagai manfaat dan telah diterapkan di berbagai bidang. Di Sulawesi Selatan, khususnya Kabupaten Pangkep, limbah kotoran sapi semakin bertambah seiring dengan peningkatan populasi sapi potong, terutama di Kecamatan Labakkang. Jika tidak dikelola dengan baik, limbah tersebut dapat menimbulkan pencemaran lingkungan dan mengganggu kenyamanan masyarakat sekitar. Teknologi biogas memanfaatkan proses fermentasi anaerobik oleh bakteri metanogenik dan asidogenik untuk memecah bahan organik limbah sapi dalam reaktor tertutup, sehingga menghasilkan gas metan sebagai sumber energi terbarukan serta bioslurry sebagai produk sampingan kaya nutrisi dan mikroba probiotik (Nandiyanto & Rumi, 2006; Usman et al., 2020).

Salah satu potensi utama probiotik adalah kemampuannya memproduksi enzim yang dapat memecah nutrisi kompleks dalam pakan, seperti protein, lemak, dan karbohidrat, sehingga meningkatkan efisiensi pencernaan, penyerapan nutrisi, pertumbuhan ikan, dan mencegah gangguan pencernaan akibat senyawa antinutrisi. Bakteri yang diisolasi dari spesies asli menunjukkan sifat-sifat yang lebih menguntungkan secara efektif meningkatkan pertumbuhan spesies budidaya (Wanka et al. 2018). Bioslurry telah melalui berbagai proses sehingga berpotensi digunakan sebagai sumber bakteri penghasil enzim yang mampu mendegradasi nutrisi makro yang terkandung dalam pakan menjadi senyawa yang lebih sederhana agar mudah dicerna oleh ikan

Studi mengenai identifikasi bakteri dan aktivitas enzim pada bioslurry belum banyak diteliti. Saat ini, belum ada penelitian mengenai jenis bakteri apa saja yang terkandung didalam bioslurry, bagaimana karakteristik morfologinya dan aktivitas enzim yang dihasilkan. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi, mengkarakterisasi, dan menguji aktivitas enzim dari strain bakteri yang diisolasi dari bioslurry yang berpotensi digunakan untuk menghidrolisis nutrisi makro dari pakan ikan.

## **2.3 Metode Penelitian**

### **2.3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret sampai Mei 2024. Pengambilan sampel bioslurry diambil di Desa Kanaungan Kecamatan Labakkang Kabupaten Pangkep. Identifikasi morfologi bakteri dilakukan di Laboratorium Kesehatan Ikan, Jurusan Budidaya Perikanan, Politeknik Pertanian Negeri Pangkep dan Identifikasi

spesies dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar.

### **2.3.2 Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Laminair Air Flow (LAF), oven, inkubator, lemari pendingin, autoklaf, mikroskop, timbangan digital, kamera, tabung reaksi, rak tabung reaksi, beaker glass, erlenmeyer, bunsen, gunting, spatula, sprayer, jarum ose, cawan petri, mikropipet, hotplate, washing bottle, gelas ukur, gunting, dan pipet volume.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bioslurry hasil pembuangan limbah biogas dan media pertumbuhan yang digunakan adalah Tryptone Soya Agar (TSA). Bahan lain yang digunakan adalah amilum 1%, lugol iodine, skim milk 1%, minyak zaitun 1%, larutan fisiologis, kristal violet, iodin, etanol 90%, safranin, lap kering, tisu, kertas label, kapas, akuades, spiritus, aluminium foil, plastik wrap, alkohol 70%, masker, dan hand scoon.

### **2.3.3 Prosedur Penelitian**

#### **1. Pengambilan sampel**

Sampel bioslurry diambil dari reaktor biogas di Desa Kanaungan, Kecamatan Labakkang, Kabupaten Pangkep. Sampel yang telah diambil dimasukkan ke dalam botol sampel, kemudian disimpan dalam coolbox berisi ice gel untuk menjaga kestabilan suhu. Selanjutnya, secara aseptik sampel disimpan di lemari es pada suhu 4°C untuk mencegah kerusakan maupun kontaminasi hingga dilakukan analisis lebih lanjut di laboratorium.

### **3. Isolasi bakteri**

Isolasi dilakukan di Laboratorium Kesehatan Ikan, Jurusan Budidaya, Politeknik Pertanian Negeri Pangkep. Isolasi dilakukan menggunakan metode pengenceran bertingkat. Sebanyak 1 mL bioslurry dimasukkan kedalam tabung reaksi berisi 9 mL larutan fisiologis, kemudian divortex selama 5 menit agar homogen. Suspensi dipipet sebanyak 1 mL dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 9 mL aquades stereril sampai diperoleh pengenceran  $10^{-10}$ . Setiap suspensi dari pengenceran  $10^{-5}$ - $10^{-10}$  diambil 100  $\mu$ l dan ditumbuhkan ke medium Tryptone Soya Agar (TSA) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Koloni isolat dimurnikan dengan teknik gores (*Streak Plate Method*) sampai diperoleh koloni sel tunggal (Hamaki et al., 2005). Teknik ini dilakukan secara berulang sampai diperoleh koloni yang tumbuh terpisah sebagai indikasi awal kemurniannya (Dwimartina et al, 2017).

### **4. Identifikasi jenis bakteri**

Koloni bakteri yang telah tumbuh pada media, kemudian dimurnikan ke dalam media agar miring dalam tabung reaksi. Koloni yang mempunyai ciri makroskopis yang berbeda selanjutnya dimurnikan dengan cara streak kuadran untuk mendapatkan koloni tunggal (Pelczar dan Chan, 2006). Setelah didapatkan bakteri dari streak kuadran pada cawan petri, bakteri dimurnikan kembali pada media agar miring. Sampel yang telah dikultur murni kemudian dibawa ke Balai Besar

Laboratorium Kesehatan Makassar untuk diidentifikasi.

## 5. Pewarnaan Gram

Kebanyakan mikroorganisme tidak berwarna, maka untuk dapat melakukan pengamatan di bawah mikroskop cahaya diperlukan pewarnaan mikroorganisme dengan menggunakan pewarna. Sebelum mikroorganisme dapat diwarnai, mikroorganisme tersebut harus terlebih dahulu difiksasi agar terikat (menempel) pada kaca objek. Tanpa adanya fiksasi, maka pemberian zat warna pada mikroorganisme yang dilanjutkan dengan prosedur pencucian zat warna dengan air mengalir dapat menyebabkan mikroorganisme ikut tercuci (Brown, 2005)

Isolat bakteri diambil satu ose dengan jarum ose secara aseptis dan disuspensikan dengan akuades yang ada di atas gelas objek. Preparat difiksasi diatas api Bunsen sampai kering. Preparat ditetesi dengan kristal violet, didiamkan selama satu menit dan dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat ditetesi dengan larutan lugol dan didiamkan selama satu menit, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat digenangi dengan alkohol sampai warna ungu hilang. Preparat ditetesi larutan safranin dan didiamkan selama 30 detik, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat ditetesi dengan minyak imersi, preparat diamati dengan mikroskop, uji Gram positif jika berwarna ungu dan negatif jika berwarna merah (Ismail et al. 2017).

Pewarnaan Gram bertujuan untuk membedakan bakteri menjadi dua kelompok yaitu, bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Bakteri yang digunakan yaitu bakteri yang berumur kurang dari 20 jam (Irfan, 2014). Bakteri dikelompokkan sebagai Gram positif apabila selnya berwarna keunguan, dan Gram negatif apabila selnya terwarnai merah.

## 6. Seleksi isolat penghasil enzim

Uji ini digunakan untuk melihat kemampuan isolat dalam menggunakan substrat pada media karena adanya enzim yang dimiliki oleh isolat tersebut. Uji enzimatik ini meliputi amilase, protease, dan lipase.

### 1. Uji Enzimatik Amilase

Media yang digunakan dalam uji ini adalah *Tryptone Soya Agar (TSA)* dan *starch* atau amilum 1% yang diinokulasikan pada media dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 28°C. Selanjutnya, ditetesi lugol iodine pada media. Aktivitas amilolitik ditunjukkan oleh perubahan warna isolate setelah ditetesi larutan lugol iodine.

### 2. Uji Enzimatik Protease

Uji protease menggunakan metode Shaik et al. (2017) yang telah dimodifikasi. Media yang digunakan dalam uji ini adalah *TSA* dan *Skim milk* 1%. Isolat diinokulasikan pada media dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 28°C. Aktivitas proteolitik ditunjukkan oleh adanya zona bening di sekitar isolat.

### 3. Uji Enzimatik Protease

Pengujian ini digunakan metode yang telah dilakukan oleh Ervina et al.

(2020) dan dimodifikasi. Media yang digunakan dalam uji ini adalah TSA dengan menggunakan minyak zaitun 1%. Isolat diinokulasikan pada media dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 28°C. Aktivitas lipolitik ditunjukkan oleh adanya zona bening disekitar isolat.

### 2.3.4 Parameter Uji

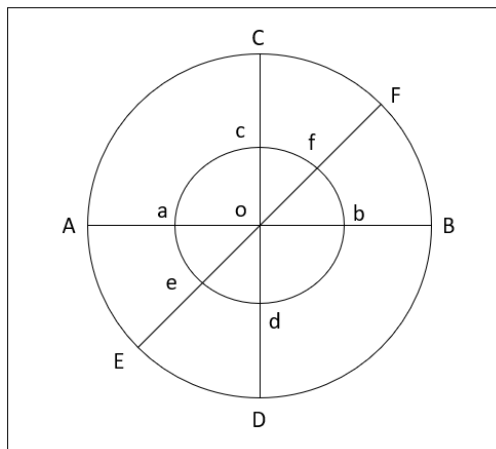
#### 1. Karakteristik morfologi dan identifikasi jenis bakteri

Karakteristik bakteri diamati melalui morfologi yang mencakup pengamatan makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis dilakukan dengan cara mengamati mikroorganisme pada bagian-bagian yang nampak dan dapat dilihat dengan mata telanjang, seperti bentuk koloni, tepian koloni, elevasi koloni dan permukaan koloni (Cappucino & Sherman, 1987). Pengamatan mikroskopis dilakukan untuk mengetahui bentuk sel, sifat reaksi pewarnaan Gram, dan tipe penggandengan sel bakteri. Dan identifikasi jenis bakteri dengan Metode MALDI-TOF Mass Spectrometry dengan menggunakan software VITEK@ MS Software Version: 1.0.0.46.

#### 2. Seleksi isolat penghasil enzim

Perhitungan indeks enzimatis dihitung dengan rumus menurut Rosa et al. (2020) sebagai berikut (Gambar 2.1):

$$\text{Enzymatic Index} = \frac{\text{Clear zone diameter} - \text{Colony diameter}}{\text{Colony diameter}}$$



**Gambar 2.1** Perhitungan indeks enzimatis

Keterangan:

Diameter zona bening

: AB, CD, EF

Diameter koloni bakteri : ab, cd, ef  
 Rata-rata diameter zona bening :  $(AB + EF + CD) / 3$   
 Rata-rata diameter koloni :  $(ab + ef + cd) / 3$

### 2.3.5 Analisis Data

Data hasil isolasi dan identifikasi bakteri dari bioslurry disajikan secara deskriptif, mencakup karakteristik morfologi dan hasil identifikasi jenis masing-masing isolat. Data indeks enzimatis dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel dan gambar.

## 2.4. Hasil dan Pembahasan

### 2.1.1 Karakteristik morfologi dan identifikasi jenis bakteri

Berdasarkan hasil pengamatan, diperoleh informasi mengenai karakteristik morfologi koloni bakteri yang mencakup bentuk, warna, tepi, elevasi, dan ciri makroskopis lainnya, yang disajikan pada Tabel 2.1.

**Tabel 2.1 Karakteristik morfologi koloni bakteri**

| Nama isolat | Pengamatan morfologi koloni |        |          |                        |   |
|-------------|-----------------------------|--------|----------|------------------------|---|
|             | Bentuk                      | Warna  | Tepi     | Elevasi                | Keterangan lain                               |
| NN 1        | bundar                      | kuning | berombak | cembung                | Permukaan mengkilap, tidak transparan         |
| NN 2        | bundar                      | krem   | rata     | cembung                | mengkilap, agak transparan                    |
| NN 3        | bundar                      | kuning | rata     | rata                   | agak mengkilap                                |
| NN 4        | bundar                      | kuning | berombak | cembung                | terdapat zona bening ditepi koloni, mengkilap |
| NN 5        | bundar                      | putih  | rata     | cembung                | mengkilap                                     |
| NN 6        | Tidak beraturan             | putih  | berombak | Menonjol bagian tengah | mengkilap, bentuk seperti serabut             |
| NN 7        | bundar                      | kuning | rata     | cembung                | mengkilap                                     |
| NN 8        | bundar                      | putih  | rata     | cembung                | mengkilap                                     |
| NN9         | bundar                      | kuning | rata     | cembung                | mengkilap                                     |
| NN10        | bundar                      | putih  | rata     | cembung                | mengkilap                                     |

Karakteristik morfologi koloni bakteri merupakan metode untuk mengenali dan membedakan bakteri berdasarkan ciri-ciri yang tampak secara makroskopis.

Pengamatan tentang karakteristik morfologi koloni bakteri dilakukan untuk proses identifikasi jenis bakteri. Pengamatan ini penting untuk melihat bagaimana morfologi dari jenis bakteri yang terdapat dalam bioslurry untuk menentukan kesesuaian sampel yang akan digunakan untuk aplikasi dalam pembuatan pakan ikan.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa terdapat 10 koloni bakteri dengan karakteristik morfologi koloni bakteri yang diisolasi dari bioslurry yaitu 9 isolat berbentuk bundar, 7 isolat memiliki tepian koloni yang rata, serta 5 isolat berwarna kuning dan 4 berwarna putih serta 8 isolat dengan elevasi cembung. Karakteristik morfologi tersebut berkaitan erat dengan sumber isolat bakteri yaitu bioslurry yang kaya bahan organik dan merupakan hasil fermentasi anaerob dalam reaktor biogas. Pada kondisi kaya bahan organik seperti bioslurry, bakteri mendapatkan nutrisi yang melimpah sehingga proses pembelahan sel berlangsung optimal. Pertumbuhan yang cepat dan homogen ini menghasilkan koloni dengan bentuk bulat karena sel membelah secara merata ke segala arah serta tepian yang rata, menunjukkan bahwa populasi bakteri tumbuh secara konsisten tanpa gangguan kompetisi ekstrem atau stres lingkungan. Pola morfologi ini sejalan dengan temuan Nasution et al. (2020) dalam penelitiannya yang mengisolasi bakteri asam laktat dari makanan khas Batak 'Dali Ni Horbo' yang menunjukkan ciri koloni berbentuk bulat, halus, dan tepian rata yang berarti bahwa adanya pola pertumbuhan yang homogen pada medium kaya nutrisi.

Morfologi koloni bakteri berwarna kuning yang ditunjukkan pada bakteri NN1, NN3, NN7, NN4 dan NN9 serta koloni bakteri berwarna putih pada bakteri NN5, NN6, NN8 dan NN10 yang ditemukan pada isolat bioslurry berkaitan dengan kemampuan bakteri menghasilkan pigmen atau metabolit selama proses pertumbuhannya. Warna hasil pengamatan isolat bakteri yaitu kuning dan putih mencerminkan aktivitas fisiologis bakteri yang dipicu oleh kondisi bioslurry yang kaya bahan organik dan nutrisi. Selain itu lingkungan tempat bioslurry diambil terdapat berbagai mikroorganisme lain sehingga menimbulkan tekanan lingkungan yang kompetitif. Dalam kondisi tersebut, bakteri akan memproduksi pigmen, terutama jenis karotenoid atau metabolit lain, sebagai mekanisme perlindungan terhadap stres oksidatif, perubahan kondisi anaerob-aerob, serta interaksi dengan mikroba lain. Warna putih dan kuning pada koloni bakteri tidak hanya menjadi ciri morfologi, tetapi juga menunjukkan karakteristik metabolik bakteri yang sesuai dengan kondisi dan proses biologis yang terjadi dalam bioslurry. Hasil yang didapat sama dengan penelitian Majchrowska (2025) yang menunjukkan bahwa isolat bakteri didominasi dengan bentuk koloni bakteri yang bulat dan warna koloni putih susu. Koloni bakteri berwarna putih susu dapat muncul karena beberapa faktor, seperti produksi eksopolisakarida (EPS) yang membuat koloni tampak buram, serta komposisi dinding sel bakteri terutama bakteri Gram positif yang umumnya tidak menghasilkan pigmen. Selain itu, media dengan nutrisi dan kadar air tinggi dapat membuat koloni tampak lebih buram dan bertekstur krem karena pertumbuhan sel yang lebih padat (Madigan et al., 2018).

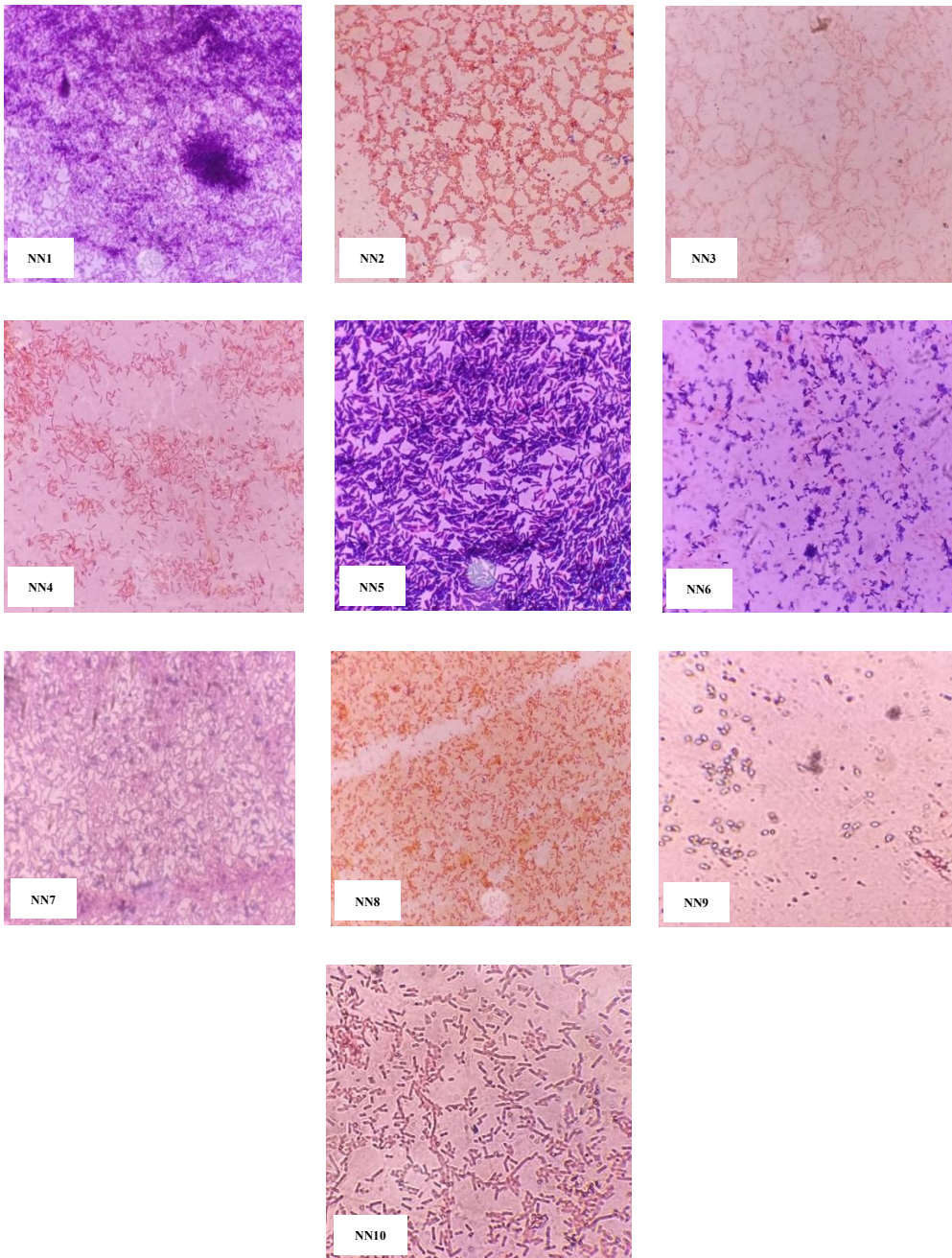
Elevasi koloni yang cembung ditunjukkan pada seluruh bakteri kecuali NN6 mencerminkan laju pertumbuhan bakteri yang cepat dan stabil pada media kultur,

konsisten dengan karakteristik bakteri dari bioslurry yang telah beradaptasi pada lingkungan kaya nutrisi dan aktivitas mikroba yang tinggi. Temuan ini menguatkan bahwa bioslurry merupakan sumber potensial bakteri pengurai organik dengan kapasitas metabolik yang kuat. Kesimpulan tersebut sejalan dengan laporan Nasri et al. (2021), yang menunjukkan bahwa bakteri asam laktat yang diisolasi dari produk pangan berbasis ikan mas juga memperlihatkan karakteristik yang sama. Permukaan koloni yang mengkilap pada hasil pengamatan juga menunjukkan kemampuan bakteri menghasilkan mukus atau eksopolisakarida sebagai respons terhadap kondisi lingkungan yang kaya nutrisi, sehingga temuan ini selaras dengan karakter lingkungan bioslurry yang menyediakan substrat organik melimpah dan mendukung aktivitas metabolik tinggi.

Hasil identifikasi morfologi secara mikroskopis dapat dilihat pada Tabel 2.2 dan Gambar 2.2 yang menyajikan karakteristik morfologi sel bakteri berdasarkan hasil pewarnaan Gram.

**Tabel 2.2 Karakteristik morfologi sel bakteri hasil pewarnaan Gram**

| <b>Nama isolat</b> | <b>Bentuk</b> | <b>sifat reaksi<br/>pewarnaan<br/>Gram</b> | <b>type penggandengan</b> |
|--------------------|---------------|--|---------------------------|
| NN 1               | coccus        | positif                                    | diploid                   |
| NN 2               | basil kecil   | positif                                    | berantai                  |
| NN 3               | basil kecil   | positif                                    | berantai                  |
| NN 4               | basil besar   | positif                                    | berbaris                  |
| NN 5               | basil         | positif                                    | haploid                   |
| NN 6               | basil         | positif                                    | haploid                   |
| NN 7               | basil kecil   | positif                                    | berantai                  |
| NN 8               | coccobasillus | negatif                                    | haploid                   |
| NN9                | basil kecil   | positif                                    | haploid                   |
| NN10               | basil         | positif                                    | haploid                   |



**Gambar 2.2 Hasil Pewarnaan Gram Isolat Bakteri Bioslurry**

Pengamatan karakteristik morfologi terhadap isolat bakteri menunjukkan adanya 10 jenis bakteri dengan bentuk sel yang bervariasi. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa delapan isolat memiliki bentuk basil, satu isolat berbentuk coccus pada NN1, dan satu isolat berbentuk coccobacillus pada bakteri NN8 (Tabel

2.2). Dominasi bentuk basil pada isolat bakteri asal bioslurry berkaitan dengan peran ekologis dan kemampuan fisiologis bakteri berbentuk batang dalam lingkungan yang kaya bahan organik. Bakteri basil umumnya memiliki luas permukaan sel yang lebih besar dibandingkan sel berbentuk coccus, sehingga lebih efisien dalam penyerapan nutrisi dan difusi substrat, yang menguntungkan pada kondisi bioslurry yang fermentatif dan kaya materi organik. Lingkungan ini mendukung pertumbuhan bakteri pengurai seperti *Bacillus* dan *Lactobacillus*, yang secara alami memiliki morfologi basil serta mampu membentuk spora dan beradaptasi dengan fluktuasi fisik maupun kimia (Farnia et al., 2018). Selain itu, variasi bentuk bakteri memiliki fungsi biologis penting, karena bentuk sel berperan dalam efisiensi penyerapan nutrisi, motilitas, perlekatan pada permukaan, hingga pembelahan kromosom yang simetris. Sejumlah struktur, seperti lapisan peptidoglikan dan protein mirip sitoskeleton, berfungsi untuk mengatur serta mempertahankan bentuk seluler tersebut (Farnia et al., 2018). Dengan demikian, kondisi bioslurry secara alami menyeleksi bakteri berbentuk basil yang memiliki keunggulan morfologis dan fisiologis dalam mendegradasi bahan organik dan beradaptasi dengan lingkungan fermentatif.

Pewarnaan Gram memperlihatkan bahwa sembilan isolat berwarna ungu yang mengindikasikan sifat Gram positif, sedangkan satu isolat berwarna merah pada isolat NN8 yang menunjukkan sifat Gram negatif (Gambar 2.2). Dominasi sembilan isolat Gram positif selaras dengan karakteristik bioslurry yang kaya bahan organik, relatif stabil, dan bersifat fermentatif, sehingga mendukung pertumbuhan bakteri pengurai seperti *Bacillus* dan kelompok Gram positif lainnya yang memiliki kemampuan adaptasi tinggi terhadap fluktuasi fisik maupun kimia. Hal ini juga berkaitan dengan struktur dinding selnya yang tebal dan kaya peptidoglikan, sehingga mampu mempertahankan pewarna kristal violet selama proses dekolorisasi. Sementara itu, keberadaan satu isolat Gram negatif seperti NN8 mencerminkan keragaman mikroba alami dalam bioslurry, di mana sebagian kecil bakteri tetap mampu bertahan dan tumbuh meskipun kondisi lingkungan umumnya lebih mendukung dominasi bakteri Gram positif. Temuan ini juga konsisten dengan laporan Rahayu dan Setiadi (2023), yang melaporkan bahwa isolat bakteri asam laktat dari bahan fermentasi didominasi oleh sel berwarna ungu sebagai penanda Gram positif. Warna ungu yang tampak merupakan hasil dari ketebalan lapisan peptidoglikan yang mampu mengikat dan mempertahankan kristal violet (Fallo et al., 2021; Kurniati et al., 2021).

Bakteri yang ditemukan pada bioslurry bersifat haploid, yaitu hanya memiliki satu salinan kromosom, yang memungkinkan proses replikasi berlangsung cepat dan efisien sehingga sangat mendukung laju pertumbuhan pada lingkungan kaya nutrisi seperti bioslurry. Karakter Gram positif pada sebagian besar isolat ini juga sejalan dengan ciri umum bakteri asam laktat yang memiliki dinding sel tebal dan ketahanan tinggi terhadap variasi lingkungan, sehingga memperkuat dominasi Gram positif pada isolat yang diperoleh (Wanka et al., 2018; Rahayu & Qurbaniah, 2019).

Identifikasi bakteri dalam penelitian ini dilakukan melalui dua tahap, yaitu karakterisasi morfologi yang digunakan untuk mengenali ciri-ciri dasar isolat, seperti bentuk sel, ukuran, dan karakter umum bakteri dari bioslurry dan analisis lanjutan

menggunakan *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry* (MALDI-TOF MS) yang berfungsi memperkuat dan memastikan hasil identifikasi melalui analisis profil protein khas setiap bakteri. MALDI-TOF MS, yaitu metode spektrometri massa yang menganalisis pola protein spesifik bakteri dan membandingkannya dengan database referensi untuk menghasilkan identifikasi yang cepat dan presisi (Bohme et al., 2010a; Hou et al., 2019). Penggunaan MALDI-TOF MS memperkuat hasil identifikasi karena teknologi ini telah banyak diterapkan dalam bidang medis, industri pangan, akuakultur, dan riset mikrobiologi berkat kecepatan dan efisiensinya (Lagier et al., 2012). Hasil identifikasi bakteri dari bioslurry melalui tahapan tersebut disajikan pada Tabel 2.3.

**Tabel 2. 3 Identifikasi Jenis Bakteri menggunakan MALDI-TOF MS**

| Nama isolat | Jenis bakteri                      |
|-------------|------------------------------------|
| NN 1        | <i>Exiguobacterium aurantiacum</i> |
| NN 2        | tidak teridentifikasi              |
| NN 3        | tidak teridentifikasi              |
| NN 4        | <i>Bacillus idriensis</i>          |
| NN 5        | <i>Bacillus cereus group</i>       |
| NN 6        | <i>Bacillus subtilis</i>           |
| NN 7        | tidak teridentifikasi              |
| NN 8        | tidak teridentifikasi              |
| NN9         | <i>Paenibacillus lautus</i>        |
| NN10        | <i>Lysinibacillus furiformis</i>   |

Berdasarkan hasil analisis menunjukkan tidak semua jenis bakteri yang terdapat pada bioslurry dapat diidentifikasi. Dari 10 jenis bakteri ada 6 bakteri yang mampu diidentifikasi menggunakan Maldi Tof MS. Hal ini karena terbatasnya keakuratan identifikasi yang sangat bergantung pada database yang tersedia. Jika bakteri yang diuji tidak ada dalam database, hasil identifikasinya bisa salah atau tidak akurat ataupun tidak teridentifikasi.

Hasil penelitian menunjukkan jenis bakteri yang teridentifikasi ada enam jenis yaitu NN1 *Exiguobacterium aurantiacum*, NN4 *Bacillus idriensis*, NN5 *Bacillus cereus group*, NN6 *Bacillus subtilis*, NN9 *Paenibacillus lautus* dan NN 10 *Lysinibacillus furiformis*. Jenis bakteri yang teridentifikasi adalah golongan *Bacillus*. Kemampuan membentuk endospora merupakan salah satu keunggulan utama yang membuat *Bacillus* mampu bertahan dalam kondisi lingkungan ekstrem seperti perubahan suhu, pH, kelembapan, dan tekanan oksigen yang sering terjadi pada proses pengolahan limbah organik seperti bioslurry (Dobrzynski et al., 2023). Selain itu, selama proses anaerobik, meskipun sebagian besar bakteri obligat anaerob aktif di awal, saat fase pasca-fermentasi terjadi peningkatan oksigen terlarut, memungkinkan *Bacillus* fakultatif anaerob berkembang lebih baik dibandingkan bakteri lain seperti *Clostridium* (Fernandez-bayo et al., 2020). Bioslurry merupakan

hasil fermentasi anaerob dari limbah organik seperti kotoran ternak, sisa pakan, atau bahan pertanian yang kaya nutrisi (C, N, P) dan masih mengandung bahan organik terdegradasi sebagian. Kondisi fisikokimia bioslurry yang bersuhu mesofilik–termofilik (30–55°C) dan pH netral hingga sedikit basa (6,5–8,0) sangat mendukung pertumbuhan *Bacillus* spp. Selain itu, tingginya kandungan substrat organik seperti protein, karbohidrat, dan serat kasar menyediakan sumber energi yang ideal bagi aktivitas metabolik *Bacillus*, sehingga genus ini sering mendominasi komunitas mikroba dalam bioslurry.

Bakteri *Bacillus* merupakan salah satu jenis bakteri yang berpotensi menjadi probiotik yang banyak digunakan dalam pakan ikan untuk meningkatkan kesehatan, pertumbuhan, dan ketahanan terhadap penyakit. Strain *Bacillus* dalam pakan ikan memberikan manfaat besar dalam budidaya ikan, termasuk meningkatkan pertumbuhan, memperkuat sistem imun, memperbaiki pencernaan, dan menjaga kualitas air. Dengan kemampuannya dalam bioremediasi dan daya tahan tinggi dalam pakan, serta *Bacillus* menjadi pilihan utama sebagai probiotik dalam industri akuakultur.

### 2.1.2 Seleksi isolat penghasil enzim

Bioslurry yang diambil dianalisis untuk diidentifikasi potensinya sebagai sumber berbagai jenis bakteri yang mempunyai kemampuan menghidrolisis bahan organik substrat. Bakteri yang berpotensi menjadi probiotik dapat menghasilkan enzim yang berperan dalam meningkatkan kesehatan usus, meningkatkan pencernaan, menjaga kualitas perairan dan menekan patogen. Enzim yang dihasilkan oleh bakteri ini membantu dalam pemecahan nutrisi sehingga lebih mudah diserap oleh ikan atau hewan budidaya lainnya. Penggunaan probiotik dengan bakteri yang dapat menghasilkan enzim yang tinggi dapat meningkatkan efisiensi pakan, mempercepat pertumbuhan ikan, dan menjaga keseimbangan ekosistem perairan. Berdasarkan hasil analisis menunjukkan enzim yang dihasilkan dari berbagai jenis bakteri yang diisolasi dari bioslurry dapat dilihat pada Tabel 2.4.

**Tabel 2.4 Indeks enzimatis isolat bakteri bioslurry**

| Nama isolat | amilase | lipase | protease |
|-------------|---------|--------|----------|
| NN 1        | 1.17    | 1.25   | 2.75     |
| NN 2        | 0.56    | -      | -        |
| NN 3        | 1.50    | -      | -        |
| NN 4        | 1.38    | 1.67   | 4.67     |
| NN 5        | 1.13    | 2.25   | 3.5      |
| NN 6        | -       | -      | -        |
| NN 7        | 0.79    | 0.67   | -        |
| NN 8        | 0.79    | -      | -        |
| NN9         | 0.33    | 0.25   | -        |
| NN10        | 0.57    | 0.33   | -        |

Hasil penelitian menunjukkan enam jenis bakteri teridentifikasi, yakni NN1 *Exiguobacterium aurantiacum*, NN4 *Bacillus idriensis*, NN5 *Bacillus cereus* group, NN6 *Bacillus subtilis*, NN9 *Paenibacillus lautus*, dan NN10 *Lysinibacillus furiformis*. Mayoritas isolat berasal dari kelompok *Bacillus*, yang dikenal memiliki kemampuan menghasilkan berbagai enzim ekstraseluler seperti amilase, protease, lipase, dan selulase. Keberadaan enzim-enzim ini memungkinkan *Bacillus* mendegradasi bahan organik kompleks menjadi senyawa sederhana, sehingga kelompok ini sering ditemukan dominan pada lingkungan kaya nutrisi seperti bioslurry (Wang et al., 2025). Hal ini juga menunjukkan *Bacillus* aktif mendegradasi residu protein, pati, dan lemak yang tersisa dari proses pencernaan anaerobik (Wang et al., 2025).

Berdasarkan hasil uji aktivitas amilolitik menunjukkan bahwa sebagian besar isolat bakteri mampu menghasilkan enzim amilase ekstraseluler, yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni setelah penambahan larutan lugol iodine. Zona bening tersebut terbentuk karena bagian media yang telah dihidrolisis oleh enzim amilase tidak lagi mengandung amilum, sehingga tidak bereaksi dengan iodine. Sebaliknya, area yang masih mengandung pati akan berwarna biru tua akibat ikatan antara gugus amilum dan senyawa iodine/lugol (Frobisher, 1962). Aktivitas hidrolisis ini mencerminkan terputusnya ikatan  $\beta$ -1,4-glikosidik pada amilum atau CMC, sebagaimana dijelaskan oleh Benson (2001), bahwa amilase mengubah pati menjadi molekul sederhana seperti maltosa, glukosa, dan dekstrin.

Isolat NN1, NN3, NN4, dan NN5 menunjukkan zona bening terbesar, menandakan kemampuan hidrolisis pati yang lebih kuat dibandingkan isolat lainnya. Hal ini menunjukkan potensi tinggi dari isolat tersebut untuk dimanfaatkan sebagai kandidat probiotik atau agen fermentasi karena bakteri amilolitik berperan penting dalam memecah pati menjadi energi yang dapat digunakan oleh ikan. Sementara itu, isolat NN6 tidak menunjukkan pembentukan zona bening, yang mengindikasikan bahwa isolat ini tidak memproduksi enzim amilase atau menghasilkan enzim dalam jumlah yang sangat rendah sehingga tidak mampu menghidrolisis amilum pada media. Perbedaan ini mencerminkan keragaman kemampuan metabolik bakteri yang berasal dari bioslurry, yang dipengaruhi oleh variasi fisiologis dan adaptasi masing-masing isolat terhadap substrat organik di lingkungannya.

Berdasarkan hasil penelitian, sebanyak enam isolat bakteri NN1, NN4, NN5, NN7, NN9, dan NN10 menunjukkan aktivitas lipolitik yang ditandai oleh terbentuknya zona bening pada media uji. Isolat NN5 menunjukkan aktivitas lipase tertinggi (2,25), diikuti oleh NN4 (1,67) dan NN1 (1,25). Ketiga isolat dengan aktivitas dominan tersebut masing-masing telah teridentifikasi sebagai *Bacillus cereus* group, *Bacillus idriensis*, dan *Exiguobacterium aurantiacum*. Tingginya nilai aktivitas lipolitik pada isolat ini menunjukkan kemampuan kuat dalam mendegradasi lemak dan menjadikannya kandidat potensial untuk aplikasi probiotik atau agen biokonversi dalam sistem akuakultur.

Uji aktivitas lipolitik bertujuan mengidentifikasi kemampuan bakteri menghasilkan enzim lipase, yang secara visual ditunjukkan oleh terbentuknya zona bening di sekitar koloni sebagai hasil hidrolisis lipid menjadi asam lemak dan gliserol (Raj et al., 2016). Dalam nutrisi pakan, lipase berperan penting karena lemak

merupakan salah satu sumber energi utama bagi ikan. Lemak yang tidak terdegradasi dengan baik dapat menyebabkan rendahnya efisiensi pemanfaatan pakan, menurunkan pertumbuhan, dan mengganggu metabolisme ikan. Oleh karena itu, bakteri penghasil lipase dari bioslurry berpotensi dimanfaatkan sebagai probiotik atau agen biokonversi dalam proses fermentasi pakan untuk meningkatkan ketersediaan dan pencernaan lemak. Fermentasi dengan bakteri lipolitik dapat menghasilkan pakan dengan struktur lipid yang lebih sederhana sehingga lebih mudah dicerna dan lebih efisien dimanfaatkan untuk pertumbuhan dan aktivitas metabolik ikan. Mikroorganisme penghasil enzim juga memiliki laju pertumbuhan cepat pada media yang ekonomis serta tidak dipengaruhi oleh musim, sehingga dapat menghasilkan enzim yang konsisten dan lebih aman dibandingkan sumber hewani maupun nabati (Chandra et al., 2020; Abdelaziz et al., 2025). Selain itu, aktivitas lipase memiliki peran penting dalam pencernaan lemak pada ikan. Lipase membantu menguraikan lipid kompleks menjadi asam lemak yang mudah diserap, sehingga mendukung efisiensi pemanfaatan pakan, pertumbuhan, metabolisme energi, dan respons imun ikan. Oleh karena itu, isolat lipolitik dari bioslurry yang menunjukkan aktivitas tinggi berpotensi besar untuk dimanfaatkan dalam formulasi pakan atau sebagai probiotik fungsional yang dapat meningkatkan kinerja nutrisi dalam budidaya ikan.

Berdasarkan hasil penelitian, aktivitas proteolitik hanya terdeteksi pada tiga isolat bakteri, yaitu NN1, NN4, dan NN5, yang masing-masing menunjukkan nilai indeks enzim protease sebesar 2,75; 4,67; dan 3,5. Isolat NN4 memiliki aktivitas protease tertinggi, diikuti NN5 dan NN1. Ketiga isolat ini merupakan bakteri yang juga menunjukkan kemampuan amilolitik dan lipolitik, sehingga tergolong sebagai isolat multienzim yang potensial untuk aplikasi bioteknologi. Uji aktivitas proteolitik bertujuan untuk melihat kemampuan bakteri menghasilkan enzim protease yang memecah protein menjadi peptida dan asam amino. Aktivitas ini ditunjukkan oleh zona bening di sekitar koloni pada media uji, sebagai hasil degradasi protein oleh enzim protease. Protease mikroba banyak diminati karena dapat diproduksi dengan cepat, stabil di berbagai kondisi, dan dapat dihasilkan menggunakan substrat yang murah. Enzim ini berperan sebagai katalis biologis yang memfasilitasi pemecahan protein menjadi peptida atau asam amino, sehingga berfungsi penting dalam berbagai proses biologis dan industri (Dubey et al., 2024). Protease merupakan enzim yang sangat penting dalam industri akuakultur. Pada sistem pencernaan ikan, protease berperan dalam menghidrolisis protein pakan menjadi asam amino yang mudah diserap, sehingga meningkatkan efisiensi pemanfaatan pakan, mempercepat pertumbuhan, dan mengoptimalkan metabolisme (Gopalraaj et al., 202). Selain itu, bakteri probiotik penghasil protease dapat membantu meningkatkan pencernaan pakan dan mengurangi sisa limbah organik di lingkungan budidaya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari sepuluh isolat bakteri yang diuji, isolat NN4 dan NN5 merupakan kandidat terbaik karena keduanya mampu menghasilkan tiga jenis enzim utama amilase, lipase, dan protease dengan aktivitas yang relatif tinggi (Tabel 2.4). Kedua isolat ini dikategorikan sebagai isolat multienzim yang paling potensial, karena mampu menghasilkan enzim pemecah karbohidrat,

lemak, dan protein secara simultan, sehingga sangat prospektif untuk aplikasi bioteknologi, terutama dalam fermentasi pakan dan pengembangan probiotik yang meningkatkan pencernaan dan efisiensi pemanfaatan nutrisi pada ikan. Bioslurry merupakan sumber mikroba yang kaya nutrisi, sehingga mendukung pertumbuhan bakteri penghasil enzim yang menjadikan bioslurry sebagai sumber yang strategis untuk mendapatkan bakteri probiotik bagi peningkatan kualitas dan pencernaan pakan dalam akuakultur.

## 2.5. Kesimpulan

Bioslurry memiliki potensi sebagai sumber bakteri penghasil enzim yang mampu mendegradasi nutrisi makro yang terkandung dalam pakan ikan. Hasil eksplorasi bakteri kandidat probiotik pada bioslurry menunjukkan terdapat 10 jenis bakteri. Pengamatan mengenai identifikasi bakteri dan aktivitas enzim pada bioslurry menunjukkan bahwa bentuk morfologi koloni bakteri bioslurry yaitu didominasi oleh isolat berbentuk bulat dengan bentuk tepian koloni entire. Sebagian besar isolat berwarna putih dan kuning dengan elevasi yang cembung. Hasil pengamatan karakterisasi morfologi isolat bakteri menunjukkan bahwa sebagian besar bakteri berbentuk batang. Terdapat 9 bakteri yang merupakan bakteri Gram positif yang ditandai dengan berwarna ungu dan 1 bakteri Gram negatif tampak berwarna merah. Bakteri Gram positif memiliki potensi besar sebagai probiotik ikan. Hasil penelitian menunjukkan jenis bakteri yang teridentifikasi ada enam jenis yaitu NN1 *Exiguobacterium aurantiacum*, NN4 *Bacillus idriensis*, NN5 *Bacillus cereus* group, NN6 *Bacillus subtilis*, NN9 *Paenibacillus lautus* dan NN10 *Lysinibacillus furiformis*. Hasil uji aktivitas enzim menunjukkan 9 bakteri memiliki aktifitas amilolitik, 6 bakteri memiliki aktivitas lipolitik dan 3 bakteri memiliki aktifitas proteolitik. Jenis bakteri isolat NN1, NN4 dan NN5 berpotensi untuk dijadikan bakteri kandidat probiotik karena memiliki aktifitas enzim amilase, lipase dan protease yang membantu dalam pemecahan nutrisi pada pakan sehingga lebih mudah diserap oleh ikan.

## 2.6. Daftar Pustaka

- Abdelaziz, A., Abo-Kamar, A., Elkotb, E., & Al-Madboly, L. (2025). Microbial lipases: Advances in production, purification, biochemical characterization, and multifaceted applications in industry and medicine. *Microbial Cell Factories*, 24, 40. <https://doi.org/10.1186/s12934-025-02664-6>
- Banerjee, G. and Ray, A.K. (2017). The advancement of probiotics research and its application in fish farming industries. *Res. Vet. Sci.*, 115: 66–77. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.01.016>.
- Brown, A.E. (2005). *Microbiological Application*. New York: Mc Graww-Hill Companies.
- Chandra, P., Enespa, Singh, R., & Arora, P. K. (2020). Microbial lipases and their industrial applications: A comprehensive review. *Microbial Cell Factories*, 19, 169. <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01428-8>
- Dhayalan, A.; Velramar, B.; Govindasamy, B.; Ramalingam, K.R.; Dilipkumar, A. and Pachiappan, P. (2022). Isolation of a bacterial strain from the gut of the fish, *Systemus sarana*, identification of the isolated strain, optimized production of its protease, the enzyme purification, and partial structural characterization. *J. Genet. Eng. Biotechnol.*, 20: 1–15

- Dobrzynski, J., Wrobel, B., & Ewa, G. (2023). Taxonomy, ecology, and cellulolytic properties of the genus *Bacillus* and related genera. *Agriculture*, 13(10), 1979. <https://doi.org/10.3390/agriculture13101979>
- Dubey, C.K., Mishra, J., Nagar, A., Gupta, M.K., Sharma, A., Kumar, S., Mishra, V. & Pandey, H.P. (2024). Microbial protease: an update on sources, production methods, and applications. In: Mishra, V., Mishra, J. & Arora, N.K. (eds). *Developments in Applied Microbiology and Biotechnology: Bioactive Microbial Metabolites*. Academic Press, pp. 233–260. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-18568-7.00006-9>
- Dwimartina, F.; Arwiyanto, T. and Joko, T. (2017). Potential of Endophytic and *Rhizobacteria* as an Effective Biocontrol for *Ralstonia syzygii* subsp. *Syzygii*. *Asian Journal of Plant Pathology.*, 11:11-198.
- Ervina, E.; Cristina Nugroho, E.; Sumardi. dan Emantis, R. (2020). Lipolytic-screening of *Bacillus* genera as Biocontrol candidate In Coffee Plantation. *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen Dan Keanekaragaman Hayati* 7(1): 31–34.
- Fallo, G., Sine, Y., & Tael, O. (2021). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat pada Air Rendaman Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) Berpotensi Sebagai Penghasil Antibiotik. *Jurnal Pendidikan Biologi Undiksha*, 8(3), 161–169. Retrieved from <https://ejournal.undiksha.ac.id/index.php/JJPB/article/view/38438>
- Fernandez-Bayo, J. D., Simmons, C. W., & VanderGheynst, J. S. (2020). Characterization of digestate microbial community structure following thermophilic anaerobic digestion with varying levels of green and food wastes. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 47, 1031–1044. <https://doi.org/10.1007/s10295-020-02326-z>
- Flandrin, U.; Mouillot, D.; Albouy, C.; Bejarano, S.; Casajus, N.; Cinner, J.; Edgar, G.; Ghilardi, M.; Leprieur, F.; Loiseau, N.; MacNeil, A.; Maire, E.; McLean, M.; Parravicini, V.; Pellissier, L.; Schiettekatte, N.; Stuart-Smith, R. D.; Villéger, S. and Mouquet, M. (2024). Fish communities can simultaneously contribute to nature and people across the world's tropical reefs. *One Earth.*, 7(10): 1772-1785. <https://doi.org/10.1016/j.oneear.2024.09.011>.
- Gobi, N.; Vaseeharan, B.; Chen, J. C.; Rekha, R.; Vijayakumar, S.; and Anjugam, M. (2018). Dietary supplementation of probiotic *Bacillus licheniformis* Dab1 improves growth performance, mucus and serum immune parameters, antioxidant enzyme activity as well as resistance against *Aeromonas hydrophila* in tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Fish Shellfish Immunol.*, 74: 501–508.
- Gopalraaj, J., Velayudhannair, K., Arockiasamy, J. P., & Arockiasamy, J. V. (2024). The effect of dietary supplementation of proteases on growth, digestive enzymes, oxidative stress, and intestinal morphology in fishes: A review. *Aquaculture International*, 32, 745–765. <https://doi.org/10.1007/s10499-023-01191-8>
- Gupta, S.; Mohanty U.; and Majumdar, R. K. (2021). Isolation and characterization of lactic acid bacteria from traditional fermented fish product Shidal of India with reference to their probiotic potential. *LWT.*, 146(111641): 1-9., <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111641>.
- Gustiano, R.; Kurniawan, K. and Haryono, H. (2021). Optimizing the utilization of genetic resources of Indonesian native freshwater fish. *Asian J. Conserv. Biol.*, 10: 189–196. <https://doi.org/10.53562/ajcb.67022>.
- Hamaki, T.; Suzuki, M.; Fudou, R.; Jojima, Y.; Kajiura, T.; Tabuci, A.; Sen, K. and

- Shibai, H. (2005). Isolation of novel bacteria and actinomycetes using soil-extract agar medium. *Journal Bioscience and Bioengineering.*, 99(5): 485-492.
- Hasan, U.; Hanafi, M. M. and Elihami, A. K. (2020). Pemanfaatan Kotoran Ternak Sebagai Bahan Pembuatan Biogas. *Maspul Journal of Community Empowerment.*, 1(1): 2716-4225.
- Hasbullah D.; Karim M. Y.; Zainuddin, and Trijuno, D. D. (2018b). The effect of salinity on to the body chemical composition and RNA/DNA ratio of the hybrid brackishwater Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *AACL Bioflux.*, 11(3): 943-947.
- Hasbullah D.; Karim M. Y.; Zainuddin. and Trijuno D. D. (2018a) Physiological performance of osmotic work, survival, and growth rate of hybridized brackish Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles at various salinities. *AACL Bioflux.*, 11(2):327-332.
- Hossain, M.E.; Khan, M.A.; Saha, S.M. and Dey, M.M. (2022). Economic assessment of freshwater carp polyculture in Bangladesh: profit sensitivity, economies of scale and liquidity. *Aquaculture* 548: 737552. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737552>.
- Ismail Y. S.; Yulvizar. C. and Putriani. (2017). Isolasi, Karakteristik dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Biji Kakao (*Theobroma Cacao* L.). *Bioleuser.*, 1(2): 45-53.
- Kong, Y.; Li, M.; Li, R.; Shan, X. and Wang, G. (2020). Evaluation of cholesterol lowering property and antibacterial activity of two potential lactic acid bacteria isolated from the intestine of snakehead fish (*Channa argus*). *Aquaculture Reports.*, 17(100342): 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100342>.
- Kurniati, T. H., Rahayu, S., Nathania, I. R. B., & Sukmawati, D. (2021). Antibacterial activity of lactic acid bacteria isolated from oncom, a traditional Indonesian fermented food. *AIP Conference Proceedings*, 2331(1). <https://doi.org/10.1063/5.0043691>
- Majchrowska, S.; Pawłowski, J.; Guła, G.; Bonus, T.; Hanas, A.; Loch, A.; Pawlak, A.; Roszkowiak, J.; Golan, T. and Drulis-Kawa, Z. (2025). Assessing microbial colony counting: A deep learning approach with the AGAR image dataset. *Neurocomputing.*, 630: 129654. <https://doi.org/10.1016/j.neucom.2025.129654>.
- Ministry of Health Republic of Indonesia. (2021). Studi status gizi Indonesia (SSGI). <https://www.b2p2toot.litbang.kemkes.go.id/?page=postcont&postid=285&content=SSGI>
- Misbah I.; Karim M. Y.; Zainuddin. and Aslamyah S. (2017). Effect of salinity on the survival of mangrove crab *Scylla tranquebarica* larvae at zoea-megalopa stages. *AACL Bioflux.*, 10(6):1590-1595.
- Nandiyanto, A. B. D and Rumi, F. (2006). Biogas sebagai Peluang Pengembangan Energi Alternatif. <http://io.ppijepang.org/old/article.php?id=199> [in Indonesia]
- Nasri, Harahap, U., Silalahi, J., & Satria, D. (2021). Antibacterial activity of lactic acid bacteria isolated from dengke naniura of carp (*Cyprinus carpio*) against diarrhea-causing pathogenic bacteria. *Biodiversitas*, 22(8), 3098–3104. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220802>
- Nasution, M. H. B., Ramadhani, S., & Fachrial, E. (2020). Isolation, Characterization and Antibacterial Activities of Lactic Acid Bacteria Isolated From Batak's Special Food "Dali Ni Horbo". *Jurnal Natur Indonesia*, 18(1), 1. <https://doi.org/10.31258/jnat.18.1.1-11>

- Pelczar, J. M and Chan, E. C. S. (2006). Dasar-dasar Mikrobiologi. Universitas Indonesia: Jakarta. 443 hal.
- Putra, A. N. (2010). Kajian probiotik, prebiotik dan sinbiotik untuk meningkatkan kinerja pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Rahayu, H. M., & Qurbaniah, M. (2019). Selection of Tempoyak Lactic Acid Bacteria As Candidate Strain for Yoghurt Starter Culture. *Biosaintifika*. 11(111), 39–46. <http://dx.doi.org/10.15294/biosaintifika.v11i1.16769>
- Rahayu, H.M., & Setiadi, A. E. (2023). Isolation and Characterization of Indigenous Lactic Acid Bacteria from Pakatikng Rape, Dayak's Traditional Fermented Food. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 9(2), 920–925. <https://doi.org/10.29303/jppipa.v9i2.2801>
- Raj, A.; Baby, G.; Dutta, S.; Sarkar, A. and Rao, K. V. B. (2016). Isolation, Characterization and Antioxidant Activity of Lipase Enzyme Producing Yeast Isolated from Spoiled Sweet Sample. *Scholars Research Library.*, 8 (10): 129- 135. <https://doi.org/10.1016/6583-20035-1>
- Reda, R. M.; El-Hady, M. A.; Selim, K. M. and El-Sayed, H. M. (2018). Comparative study of three predominant gut *Bacillus* strains and a commercial *B. amyloliquefaciens* as probiotics on the performance of *Clarias gariepinus*, *Fish Shellfish Immunol.*, 80: 416–425.
- Rosa, E.; Ekowati, C. N.; Handayani, T. T.; Ikhsanudin, A.; Apriliani, F. and Arifiyanto, A. (2020). Characterization of entomopathogenic fungi as a natural biological control of american cockroaches (*Periplaneta americana*). *Biodiversitas.*, 21(11): 5276–5282.
- Shaik, M.; Girija Sankar, G.; Iswarya, M. and Rajitha, P. (2017). Isolation and characterization of bioactive metabolites producing marine *Streptomyces parvulus* strain sankarensis-A10. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology.*, 15(1): 87–94.
- Wang, M., Tang, C., Zhang, Z., Fan, Z., Jiang, L., Liu, Z., Cao, J., Wang, Z., Lu, M., Yi, M., & Ke, X. (2025). Effect of the gut core microbiota *Cetobacterium* on the growth, physiology, and nutritional metabolism of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Reports*, 40, 102583. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2024.102583>
- Wu, J. W. F. W.; Redondo-Solano, M.; Uribe, L.; WingChing-Jones, R.; Usaga, J. and Barboza, N. (2021). First characterization of the probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from Costa Rican pineapple silages. *PeerJ.*, 9: e12437. <https://doi.org/10.7717/peerj.12437>.
- Yang, X.; Zhang, S.; Liu, J.; Gao, Q.; Dong, S.; and Zhou, C. (2021). Deep learning for smart fish farming: applications, opportunities and challenges. *Rev. Aquac.*, 13: 66–90. <https://doi.org/10.1111/raq.12464>.
- Zhang, L.; Li, B.; Sun, X.; Hong, Q. and Duan, Q. (2023). Intelligent fish feeding based on machine vision: a review. *Biosyst. Eng.*, 231: 133–164. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2023.05.010>.

## BAB III

### EFEKTIVITAS BAKTERI DARI BIOSLURRY DALAM FERMENTASI *Ceratophyllum* sp. UNTUK FORMULASI PAKAN IKAN BANDENG (IN VITRO)

#### 3.1. Abstrak

Fermentasi pakan diketahui mampu meningkatkan kualitas nutrisi, menurunkan biaya pakan, serta mengurangi potensi pencemaran lingkungan apabila diproses menggunakan mikroorganisme yang sesuai. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi tiga isolat bakteri yang berasal dari bioslurry, yaitu *Exiguobacterium aurantiacum*, *Bacillus idriensis*, dan *Bacillus cereus*, sebagai agen fermentasi dalam meningkatkan kualitas nutrisi *Ceratophyllum* sp. sebagai bahan baku pakan ikan. Penelitian ini dirancang menggunakan rancangan percobaan faktorial dengan faktor jenis isolat bakteri dan lama fermentasi (24, 48, dan 72 jam). Pertumbuhan bakteri dianalisis menggunakan metode spektrofotometri untuk menentukan fase pertumbuhan optimal sebelum diaplikasikan pada proses fermentasi. Hasil pengukuran menunjukkan pola pertumbuhan bakteri mengikuti kurva kuadrat dengan nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) mendekati 1, dengan puncak pertumbuhan tercatat pada kisaran 20,5–30,5 jam. Proses fermentasi secara signifikan meningkatkan kadar protein dan abu, serta menurunkan kadar serat kasar dan bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN). Di antara ketiga isolat, *Bacillus idriensis* menunjukkan performa terbaik dengan peningkatan kadar protein dari 23.58% menjadi  $33.66 \pm 0.220\%$  serta penurunan serat kasar paling signifikan dari 14.38% menjadi  $4.26 \pm 0.050\%$  (penurunan sebesar 70.4%), yang mengindikasikan aktivitas enzim selulolitik yang tinggi. Peningkatan kadar abu juga terdeteksi, mencerminkan pelepasan dan ketersediaan mineral esensial selama proses fermentasi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fermentasi *Ceratophyllum* sp. menggunakan bakteri asal bioslurry, khususnya *Bacillus idriensis*, merupakan strategi yang efektif untuk mengoptimalkan pemanfaatan *Ceratophyllum* sp. sebagai sumber pakan alternatif yang bernilai nutrisi tinggi, ekonomis, dan ramah lingkungan.

#### 3.2. Pendahuluan

Akuakultur merupakan sektor strategis dalam mendukung ketahanan pangan global karena kemampuannya menyediakan sumber protein hewani yang berkelanjutan di tengah meningkatnya permintaan pangan laut serta menurunnya stok perikanan tangkap (Colombo et al., 2023). Meskipun industri akuakultur terus berkembang pesat, sektor ini masih menghadapi tantangan signifikan, khususnya terkait ketersediaan pakan yang bergizi tinggi, ekonomis, dan berkelanjutan (Jia et al., 2022; Zuluaga-Hernandez et al., 2023). Pakan komersial berbasis tepung ikan dan bungkil kedelai sebagai sumber protein utama umumnya memiliki harga tinggi serta bersaing langsung dengan kebutuhan konsumsi manusia (Magbanua dan Ragaza, 2024; Moyo dan Rapatsa-Malatji, 2023; Ragab et al., 2023).

Kondisi ini menunjukkan perlunya pengembangan bahan baku alternatif berbasis tanaman lokal yang melimpah, ekonomis, dan berkelanjutan, seperti *Ceratophyllum* sp., yang selama ini sering dianggap sebagai hama di tambak, namun memiliki potensi sebagai sumber nutrisi dalam formulasi pakan ikan. Namun demikian, sumber protein nabati yang berasal dari tumbuhan termasuk *Ceratophyllum* sp., umumnya mengandung faktor anti-nutrisi yang dapat menghambat pencernaan dan penyerapan nutrisi. Faktor-faktor tersebut, seperti kandungan serat kasar yang tinggi serta keberadaan inhibitor enzim pencernaan, menjadi kendala utama dalam pemanfaatan bahan nabati sebagai sumber protein alternatif. Berbagai penelitian melaporkan bahwa keberadaan *anti-nutritional factors* (ANF) pada bahan pakan nabati dapat menurunkan efisiensi pemanfaatan nutrisi, pertumbuhan, dan performa fisiologis ikan, sehingga membatasi tingkat konsentrasi bahan tersebut dalam formulasi pakan akuakultur (Chen et al., 2024; Gao et al., 2024; Neves et al., 2024; Marti-Quijal et al., 2020). Hasil penelitian yang sama juga menunjukkan pemanfaatan protein nabati dalam pakan ikan sering menghadapi kendala berupa kandungan serat yang tinggi, bahkan dapat mencapai hingga 50% bahan kering, sehingga membatasi tingkat penggunaannya, khususnya pada ikan karnivora seperti kakap merah (*Sparus aurata*) dan kerapu Eropa (*Dicentrarchus labrax*) dengan tingkat konsentrasi bahan nabati lebih dari 20% yang dilaporkan dapat menurunkan kinerja pertumbuhan, efisiensi pakan, dan pencernaan nutrisi (Estevao-Rodrigues et al., 2024; Estevez et al., 2021).

Pemanfaatan mikroorganisme probiotik melalui proses fermentasi berkembang sebagai pendekatan yang efektif untuk meningkatkan kualitas nutrisi bahan pakan nabati. Fermentasi berbasis probiotik dilaporkan mampu menurunkan kandungan ANF, meningkatkan pencernaan nutrisi, serta menghasilkan berbagai senyawa bioaktif, seperti enzim hidrolitik, senyawa antimikroba, antioksidan, dan imunomodulator, yang berperan sebagai komponen fungsional dalam pakan akuakultur (Sarita et al., 2024; Siddik et al., 2024). Fermentasi menggunakan mikroorganisme seperti bakteri asam laktat, *Bacillus*, dan ragi juga terbukti meningkatkan ketersediaan nutrisi esensial, daya cerna, pertumbuhan, dan efisiensi pakan ikan (Jiang et al., 2023; Neves et al., 2024; Tovar-Ramírez et al., 2025). Penelitian Mala et al. (2023) melaporkan bahwa penggunaan BAL sebagai starter fermentasi rumput laut mampu meningkatkan kandungan nutrisi sekaligus aktivitas imunomodulator. Selain itu, fermentasi mikroba dilaporkan meningkatkan pencernaan protein melalui penurunan inhibitor enzim pencernaan, seperti tripsin dan kimotripsin, serta melalui produksi protease mikroba (Siddik et al., 2024; Vo et al., 2020). Oleh karena itu, penerapan teknologi fermentasi berbasis probiotik pada bahan pakan nabati lokal seperti *Ceratophyllum* sp. memiliki potensi besar dalam mendukung pengembangan akuakultur yang efisien dan berkelanjutan.

Bakteri yang sering digunakan dalam proses fermentasi adalah bakteri genus *Lactobacillus* dan *Bacillus* karena kemampuannya menghasilkan enzim ekstraseluler yang mendukung kesehatan ikan (Banerjee & Ray, 2017) dan meningkatkan pertumbuhan (Okoye et al., 2023). Isolat bakteri yang berasal dari habitat spesifik atau spesies lokal umumnya memiliki tingkat adaptasi yang lebih

tinggi dan menunjukkan efektivitas yang lebih besar dalam mendukung pertumbuhan organisme budidaya. (Wanka et al., 2018).

Bioslurry, sebagai limbah fermentasi anaerobik kotoran sapi menjadi biogas, menunjukkan potensi sebagai sumber probiotik untuk pakan ikan berkelanjutan. Penelitian menunjukkan bahwa bioslurry padat mampu meningkatkan pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) (Jamaluddin et al., 2024), sementara bioslurry cair meningkatkan protein terlarut dalam pakan (Masriah et al., 2024) dan kelulushidupan ikan bandeng (Zaenab et al., 2022). Hasil penelitian kami sebelumnya menunjukkan eksplorasi isolat bioslurry mengidentifikasi beberapa spesies bakteri strain *Bacillus* yang memiliki aktivitas enzimatis (Zaenab et al., 2025). Temuan ini sejalan dengan literatur yang menegaskan efektivitas *Bacillus* spp. dalam meningkatkan pencernaan, kesehatan usus, dan performa ikan (Soltani et al., 2022).

Keberhasilan proses fermentasi sangat bergantung pada jenis bakteri dan lama waktu fermentasi, karena keduanya memengaruhi aktivitas enzim yang dihasilkan. Setiap bakteri memiliki pola pertumbuhan dan produksi enzim yang berbeda seiring waktu. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan berbagai jenis bakteri dari bioslurry dalam fermentasi *Ceratophyllum* sp. serta mengevaluasi lama fermentasi yang optimal untuk menghasilkan sumber protein alternatif bagi pakan ikan yang berkelanjutan.

### **3.3. Metode Penelitian**

#### **3.1.1 Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni - Juli 2024 di Laboratorium Perikanan, Fakultas Perikanan, Universitas Cokroaminoto Makassar. Pengujian kandungan nutrisi pakan dilakukan di Laboratorium kimia pakan, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin.

#### **3.1.2 Alat dan Bahan**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah *Ceratophyllum* sp., bakteri hasil penelitian tahap I yang diisolasi dari bioslurry yaitu *Exiguobacterium aurantiacum*, *Bacillus idriensis*, dan *Bacillus cereus*, medium *Tryptone Soya Agar* (TSA), aquades steril, aluminium foil dan plastik wrap.

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini meliputi wadah stainless, blender, mixer, pisau, autoklaf, oven, inkubator, freezer, cawan petri, timbangan digital, pipet ukur, serta Laminar Air Flow (LAF).

#### **3.1.3 Prosedur Penelitian**

Prosedur penelitian ini terbagi menjadi tiga tahap penelitian, yaitu:

##### **1. Persiapan bakteri**

Bakteri yang digunakan adalah bakteri yang diisolasi dari bioslurry yaitu *Exiguobacterium aurantiacum*, *Bacillus idriensis*, dan *Bacillus cereus*. Media yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri adalah media TSA (*Tryptone Soya Agar*) untuk kultur stok. Stok kultur bakteri diremajakan dengan mengambil satu ose isolat,

kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk mengaktifkan kembali metabolisme dan pertumbuhan sel sebelum digunakan (Madigan et al., 2018; Cappuccino & Welsh, 2017).

## 2. Aktivasi dan pertumbuhan bakteri

Setiap isolat bakteri yang telah tumbuh pada media *Tryptone Soya Agar* (TSA) diremajakan dengan cara diinokulasikan sebanyak satu ose ke dalam medium *Tryptone Soya Broth* (TSB), lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk mengaktifkan kembali metabolisme dan pertumbuhan sel (Madigan et al., 2018). Setelah inkubasi, sebanyak 1 mL kultur cair diambil dan dimasukkan ke dalam 9 mL larutan NaCl fisiologis steril 0.85% untuk menghasilkan pengenceran  $10^{-1}$ . Proses ini dilanjutkan secara serial hingga mencapai pengenceran  $10^{-5}$ . Setiap tahap dilakukan secara aseptis menggunakan pipet steril untuk mencegah kontaminasi, dan suspensi dari masing-masing tingkat pengenceran dikocok merata sebelum digunakan untuk analisis lebih lanjut (Cappuccino & Welsh, 2017).

Pengukuran pertumbuhan bakteri dilakukan menggunakan metode spektrofotometri pada panjang gelombang 540 nm. Sebanyak 1 mL kultur bakteri yang telah diaktivasi diambil secara aseptis dan dimasukkan ke dalam kuvet steril, kemudian nilai absorbansi ( $OD_{540}$ ) diukur terhadap blanko berupa media TSB steril. Pengamatan pertumbuhan dimulai pada jam ke-10 setelah inokulasi dan dilanjutkan setiap dua jam hingga jam ke-32 untuk memantau perubahan densitas sel yang mencerminkan fase lag, eksponensial, stasioner, hingga penurunan. Pengukuran tidak dilakukan sejak jam pertama karena pada fase lag sel bakteri masih beradaptasi sehingga pembelahan belum signifikan. Untuk mengestimasi jumlah sel secara tidak langsung, dibuat kurva standar bakteri melalui hubungan antara nilai absorbansi dan jumlah koloni hasil hitungan cawan. Data absorbansi (x) dan jumlah koloni (y) dianalisis menggunakan regresi linier sehingga diperoleh persamaan  $y = ax + b$  yang spesifik untuk masing-masing isolat, yaitu *E. aurantiacum*, *B. idriensis*, dan *B. cereus*, yang digunakan sebagai dasar penentuan pola pertumbuhan sel selama periode inkubasi.

## 3. Fermentasi *Ceratophyllum* sp.

Tanaman *Ceratophyllum* sp. (Gambar 3.1) yang diperoleh dari area tambak dikeringkan tanpa paparan sinar matahari langsung untuk mempertahankan kandungan nutrisinya, kemudian digiling hingga menjadi bubuk halus menggunakan mesin penggiling pakan. Bubuk *Ceratophyllum* sp. selanjutnya difermentasi menggunakan bakteri hasil isolasi dari bioslurry, yaitu *E. aurantiacum*, *B. idriensis*, dan *B. cereus*. Masing-masing bakteri diinokulasikan sebanyak 1000 mL kultur dengan konsentrasi  $1 \times 10^5$  CFU/mL ke dalam 1 kg bubuk *Ceratophyllum* sp. Campuran kemudian diaduk merata, dikemas dalam plastik nilon polietilen hitam, dan diinkubasi secara anaerob selama 24, 48, dan 72 jam pada suhu 37°C.



**Gambar 3.1** *Ceratophyllum* sp.

### 3.1.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan pola faktorial  $3 \times 3$  dengan rancangan acak lengkap (RAL), yang terdiri atas tiga jenis isolat bakteri hasil isolasi dari bioslurry dan tiga lama waktu fermentasi. Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak tiga kali, sehingga menghasilkan 27 satuan percobaan. Tabel rancangan penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.1.

**Tabel 3.1. Rancangan Penelitian**

| Jenis bakteri         | Komposisi nutrisi pakan berdasarkan lama fermentasi |     |     |           |     |     |           |     |     |
|-----------------------|---|-----|-----|-----------|-----|-----|-----------|-----|-----|
|                       | a (0jam)  |     |     | b (24jam) |     |     | c (48jam) |     |     |
| <i>E. aurantiacum</i> | Aa1   | Aa2 | Aa3 | Ab1       | Ab2 | Ab3 | Ac1       | Ac2 | Ac3 |
| <i>B. idriensis</i>   | Ba1   | Ba2 | Ba3 | Bb1       | Bb2 | Bb3 | Bc1       | Bc2 | Bc3 |
| <i>B. cereus</i>      | Ca1   | Ca2 | Ca3 | Cb1       | Cb2 | Cb3 | Cc1       | Cc2 | Cc3 |

### 3.1.5 Parameter Uji

#### 1. Pengukuran Kurva Pertumbuhan Bakteri

Pengukuran kurva pertumbuhan bakteri digunakan untuk memantau dinamika peningkatan dan penurunan jumlah sel bakteri dari waktu ke waktu melalui pengukuran densitas optik (OD) untuk menggambarkan fase lag, eksponensial, stasioner, dan penurunan dalam siklus pertumbuhan mikroba. Kurva standar disusun melalui regresi linier antara absorbansi (x) dan jumlah koloni hasil metode plate count (y), menghasilkan persamaan  $y = a + bx$  yang spesifik untuk setiap isolat, yaitu *E. aurantiacum*, *B. idriensis*, dan *B. cereus*.

#### 2. Uji Proksimat *Ceratophyllum* sp.

Analisis proksimat dilakukan untuk menentukan kualitas dan kuantitas kandungan nutrisi *Ceratophyllum* sp. sebelum dan sesudah fermentasi. Parameter yang dianalisis meliputi kadar protein, karbohidrat, lemak, serat kasar, abu, dan bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) pada setiap lama waktu fermentasi. Seluruh pengujian dilakukan berdasarkan metode standar dari Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2005).

### 3.1.6 Analisis Data

Data pertumbuhan bakteri dianalisis secara deskriptif dan ditampilkan dalam bentuk kurva yang bertujuan untuk menggambarkan pola dan dinamika pertumbuhan dan kandungan nutrisi *Ceratophyllum* sp. dianalisis menggunakan analisis varians dua arah (Two-Way ANOVA) untuk mengevaluasi pengaruh interaksi antara jenis bakteri probiotik bioslurry dan lama fermentasi. Apabila ditemukan pengaruh yang signifikan, analisis dilanjutkan dengan uji lanjut W-Tukey pada tingkat signifikansi 5% ( $P < 0.05$ ) guna mengidentifikasi perbedaan nyata antar perlakuan. Seluruh proses analisis dan interpretasi data dilakukan menggunakan perangkat lunak Orange Data Mining.

## 3.4. Hasil dan Pembahasan

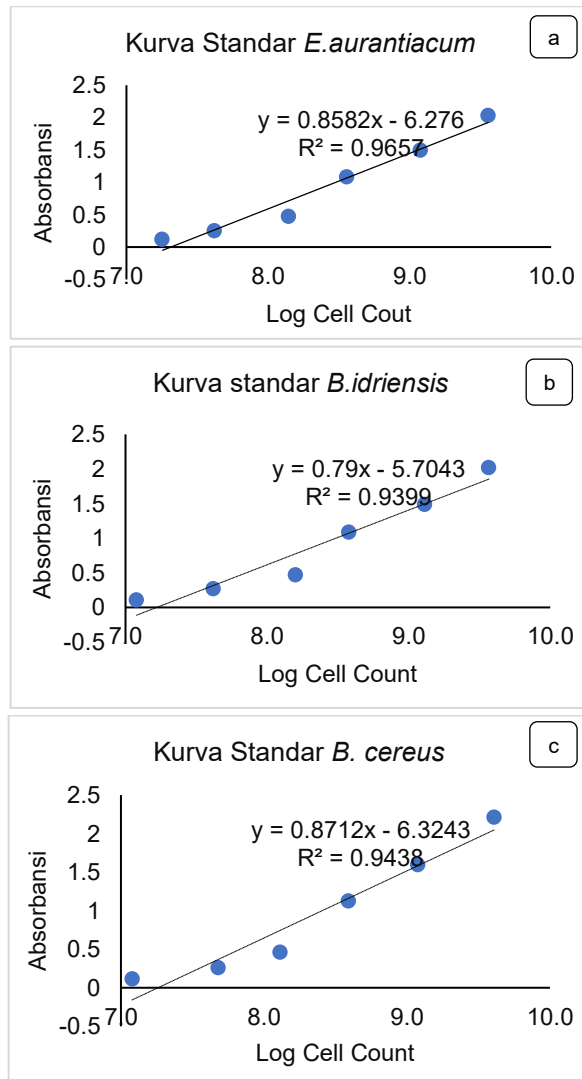
### 1. Pertumbuhan Bakteri

Analisis pertumbuhan tiga isolat bakteri, yaitu *E. aurantiacum*, *B. idriensis*, dan *B. cereus*, dilakukan dengan menyusun kurva standar melalui regresi linier antara nilai absorbansi dan jumlah koloni hasil plate count, sehingga diperoleh persamaan  $y = a + bx$  yang spesifik untuk setiap isolat; hasil lengkap hubungan nilai absorbansi dan jumlah sel bakteri tersebut ditunjukkan pada Tabel 3.2.

**Tabel 3.2. Data kurva standar jumlah sel bakteri**

| Konsentrasi (pengenceran)    | Absorbansi | Jumlah sel (CFU/mL) | Log Jumlah sel (CFU/mL) |
|------------------------------|------------|---------------------|-------------------------|
| <b><i>E. aurantiacum</i></b> |            |                     |                         |
| 1:1                          | 2.032      | $3,6 \times 10^9$   | 9.6                     |
| 1:2                          | 1.496      | $1,2 \times 10^9$   | 9.1                     |
| 1:4                          | 1.078      | $3,6 \times 10^8$   | 8.6                     |
| 1:8                          | 0.471      | $1,4 \times 10^8$   | 8.1                     |
| 1:16                         | 0.246      | $4,2 \times 10^7$   | 7.6                     |
| 1:32                         | 0.116      | $1,8 \times 10^7$   | 7.3                     |
| <b><i>B. idriensis</i></b>   |            |                     |                         |
| 1:1                          | 2.013      | $3,7 \times 10^9$   | 9.6                     |
| 1:2                          | 1.482      | $1,3 \times 10^9$   | 9.1                     |
| 1:4                          | 1.084      | $3,8 \times 10^8$   | 8.6                     |
| 1:8                          | 0.466      | $1,6 \times 10^8$   | 8.2                     |
| 1:16                         | 0.261      | $4,2 \times 10^7$   | 7.6                     |
| 1:32                         | 0.102      | $1,2 \times 10^7$   | 7.1                     |
| <b><i>B. cereus</i></b>      |            |                     |                         |
| 1:1                          | 2.211      | $4,1 \times 10^9$   | 9.6                     |
| 1:2                          | 1.592      | $1,2 \times 10^9$   | 9.1                     |
| 1:4                          | 1.124      | $3,9 \times 10^8$   | 8.6                     |
| 1:8                          | 0.458      | $1,3 \times 10^8$   | 8.1                     |
| 1:16                         | 0.255      | $4,8 \times 10^7$   | 7.7                     |
| 1:32                         | 0.112      | $1,2 \times 10^7$   | 7.1                     |

Berdasarkan data sebagaimana tersaji pada Tabel 3.2 maka kurva standar persamaan linear hubungan antara absorbansi dan jumlah sel bakteri dapat dibentuk. Kurva ini disusun dengan menggambarkan hubungan secara linier antara nilai absorbansi dan konsentrasi sel sehingga menghasilkan persamaan regresi yang digunakan untuk mentransformasi data absorbansi menjadi estimasi jumlah bakteri. Persamaan regresi tersebut tersaji pada Gambar 3.2.



**Gambar 3.2 Kurva standar persamaan linear hubungan antara absorbansi dan jumlah sel bakteri *E. aurantiacum* (a), *B. Idriensis* (b) dan *B. cereus* (c).**

Gambar 3.2 menunjukkan kurva standar pertumbuhan tiga isolat bakteri *E. aurantiacum*, *B. idriensis*, dan *B. cereus* yang masing-masing memperlihatkan hubungan linear positif antara nilai absorbansi dan log jumlah sel. Hal ini menandakan bahwa peningkatan kekeruhan kultur sejalan dengan peningkatan populasi bakteri. Nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang tinggi, yaitu 0,9656 untuk *E. aurantiacum*, 0,9399 untuk *B. idriensis*, dan 0,9438 untuk *B. cereus*, menunjukkan bahwa model regresi yang dihasilkan konsisten dalam menggambarkan pola pertumbuhan masing-masing isolat.

Hasil pengukuran menunjukkan tingginya nilai  $R^2$  yang mengindikasikan bahwa perubahan absorbansi sangat erat kaitannya dengan perubahan jumlah sel, sehingga kurva standar yang diperoleh dapat mengestimasi pertumbuhan bakteri berdasarkan nilai kekeruhan. Hubungan linear yang stabil pada ketiga isolat juga mencerminkan viabilitas sel yang baik, kemampuan adaptasi terhadap media, serta proses metabolik yang berlangsung secara teratur selama fase pertumbuhan, sehingga pola kenaikan populasi terlihat konsisten dan teratur. Selain itu, aktivitas pertumbuhan yang tinggi umumnya berkorelasi dengan kapasitas produksi enzim yang berperan dalam menghidrolisis komponen kompleks menjadi bentuk yang lebih mudah dicerna (Demissie et al., 2024; Zhou et al., 2020). Oleh karena itu, isolat *E. aurantiacum*, *B. idriensis*, dan *B. cereus* dengan  $R^2 > 0,93$  memiliki potensi kuat sebagai agen fermentasi dalam meningkatkan kualitas nutrisi bahan pakan melalui peningkatan pencernaan dan ketersediaan nutrisi (Beal et al., 2020; Kim et al., 2024).

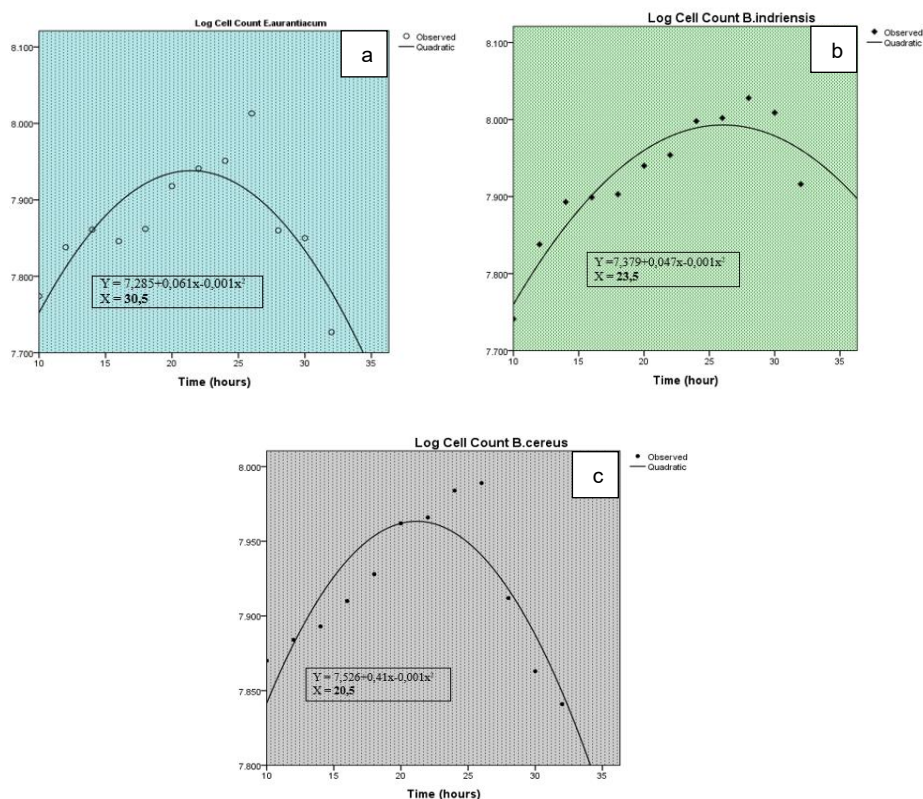
Dengan menggunakan persamaan regresi sebagaimana tersaji pada Gambar 3.2 maka pertumbuhan masing-masing bakteri secara kuantitatif dapat diketahui melalui substitusi nilai absorbansi melalui persamaan ( $y = a + bx$ ) setiap jenis bakteri pada masing-masing titik waktu sebagaimana tersaji pada Tabel 3.3.

**Tabel 3.3 Jumlah sel setiap bakteri selama masa inkubasi**

| Jam   | <i>E. aurantiacum</i> |                      | <i>B. idriensis</i> |                      | <i>B. cereus</i> |                      |
|-------|-----------------------|----------------------|---------------------|----------------------|------------------|----------------------|
|       | Absorbansi            | Pertumbuhan (CFU/mL) | Absorbansi          | Pertumbuhan (CFU/mL) | Absorbansi       | Pertumbuhan (CFU/mL) |
| 10jam | 0.473                 | 7.774                | 0.411               | 7.741                | 0.532            | 7.870                |
| 12jam | 0.529                 | 7.838                | 0.488               | 7.838                | 0.544            | 7.884                |
| 14jam | 0.549                 | 7.861                | 0.531               | 7.893                | 0.552            | 7.893                |
| 16jam | 0.536                 | 7.846                | 0.536               | 7.899                | 0.567            | 7.910                |
| 18jam | 0.55                  | 7.862                | 0.539               | 7.903                | 0.583            | 7.928                |
| 20jam | 0.598                 | 7.918                | 0.568               | 7.940                | 0.612            | 7.962                |
| 22jam | 0.618                 | 7.941                | 0.579               | 7.954                | 0.616            | 7.966                |
| 24jam | 0.627                 | 7.951                | 0.614               | 7.998                | 0.631            | 7.984                |
| 26jam | 0.681                 | 8.013                | 0.617               | 8.002                | 0.636            | 7.989                |
| 28jam | 0.548                 | 7.860                | 0.638               | 8.028                | 0.569            | 7.912                |
| 30jam | 0.539                 | 7.850                | 0.623               | 8.009                | 0.526            | 7.863                |
| 32jam | 0.433                 | 7.727                | 0.549               | 7.916                | 0.507            | 7.841                |

Melalui pendekatan persamaan regresi pada Gambar 3.2 diperoleh estimasi pertumbuhan bakteri maka pola pertumbuhan setiap bakteri dapat terlihat secara kuantitatif pada setiap interval waktu inkubasi (10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 28, 30, dan 32 jam).

Hasil konversi absorbansi melalui kurva standar menunjukkan bahwa ketiga bakteri mengikuti pola pertumbuhan yang khas, terdiri dari fase lag, eksponensial, stasioner, dan fase penurunan (decline) sebagaimana tersaji pada Gambar 3.3.



**Gambar 3.3 Pola pertumbuhan bakteri *E. aurantiacum* (a), *B. Idriensis* (b) dan *B. cereus* (c) pada setiap interval waktu pertumbuhan**

Dinamika pertumbuhan bakteri pada Gambar 3.3 menunjukkan pola parabolik yang dimodelkan menggunakan regresi kuadratik, di mana hubungan antara waktu inkubasi dan log jumlah sel mengikuti persamaan masing-masing isolat: *E. aurantiacum* ( $Y = 7,285 + 0,061x - 0,001x^2$ ; puncak  $x = 30,5$  jam), *B. idriensis* ( $Y = 7,379 + 0,047x - 0,001x^2$ ; puncak  $x = 23,5$  jam), dan *B. cereus* ( $Y = 7,526 - 0,041x - 0,001x^2$ ; puncak  $x = 20,5$  jam). Pola kurva ini menggambarkan tahapan pertumbuhan bakteri mulai dari fase adaptasi, fase eksponensial, hingga fase perlambatan dan penurunan akibat keterbatasan nutrisi serta akumulasi metabolit. Perbedaan waktu pencapaian puncak pertumbuhan pada masing-masing isolat

mencerminkan variasi karakter fisiologis, kemampuan adaptasi, dan efisiensi penggunaan substrat pada masing-masing bakteri. *B. cereus* mencapai puncak tercepat karena memiliki laju adaptasi dan metabolisme yang lebih cepat, sedangkan *B. idriensis* berada di posisi menengah dengan kemampuan pemanfaatan substrat yang moderat, dan *E. aurantiacum* membutuhkan waktu adaptasi lebih lama sehingga mencapai puncaknya pada inkubasi terpanjang. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa setiap isolat memiliki dinamika pertumbuhan yang unik, sehingga penelitian terhadap titik puncak pertumbuhan bakteri sangat penting dalam menentukan durasi fermentasi yang optimal untuk memaksimalkan aktivitas metabolik dan produksi enzim. Madigan et al. (2021) menyatakan bahwa pertumbuhan bakteri pada media kultur umumnya membentuk kurva berbentuk sigmoid atau parabolik, yang merefleksikan dinamika populasi mikroba sepanjang siklus hidupnya. Nilai puncak log CFU/mL menggambarkan tingkat viabilitas dan aktivitas biosintetik tertinggi, sehingga menjadi parameter penting untuk menentukan efisiensi dan potensi aplikasi fermentasi.

Pemantauan kurva pertumbuhan menjadi langkah penting dalam menilai potensi bakteri sebagai penghasil enzim karena setiap fase pertumbuhan menunjukkan tingkat aktivitas metabolik yang berbeda, dan produksi enzim umumnya mencapai puncaknya pada fase eksponensial ketika sel aktif membelah dan kebutuhan energinya meningkat. Pada fase ini, bakteri mensintesis enzim ekstraseluler dalam jumlah maksimum untuk menghidrolisis substrat kompleks menjadi nutrisi yang mendukung percepatan pertumbuhan. Secara umum, aktivitas pertumbuhan tertinggi pada ketiga isolat dalam penelitian ini terjadi pada rentang waktu 20-32 jam, yang menandakan fase eksponensial yang paling aktif secara metabolik (Valerozo et al., 2025; Demissie et al., 2024). Perbedaan waktu pencapaian puncak antara *E. aurantiacum*, *B. idriensis*, dan *B. cereus* mencerminkan variasi fisiologis dalam kemampuan adaptasi, efisiensi pemanfaatan substrat, serta laju sintesis biomolekul. Waktu pertumbuhan optimum tersebut sangat bergantung pada keseimbangan antara ketersediaan nutrisi dan efisiensi metabolik masing-masing isolat dalam mencapai titik maksimum aktivitas seluler (Demissie et al., 2024; Gao et al., 2023).

Berdasarkan hasil penelitian, puncak jumlah sel pada ketiga isolat menunjukkan titik maksimum fase eksponensial, yaitu fase ketika bakteri mencapai laju pertumbuhan tertinggi dan aktivitas metaboliknya paling optimal. Kondisi ini sangat penting karena efektivitas bakteri sebagai agen fermentasi bergantung pada kemampuan mereka memproduksi enzim hidrolitik selama fase metabolik aktif tersebut. Temuan ini sejalan dengan data indeks enzimatis hasil penelitian Zaenab et al. (2025), yang menunjukkan bahwa ketiga isolat *E. aurantiacum*, *B. idriensis*, dan *B. cereus* memiliki kemampuan menghasilkan enzim amilase, lipase, dan protease, sehingga mendukung dalam degradasi komponen nutrisi selama fermentasi.

Karena produksi enzim hidrolitik umumnya berada pada level tertinggi selama fase eksponensial hingga awal fase stasioner, maka pemilihan waktu inkubasi 24 jam dianggap paling representatif. Pada titik tersebut, isolat berada dalam kondisi fisiologis yang mendukung peningkatan produksi enzim hidrolitik. Hal

ini menunjukkan bahwa waktu 24 jam bukan hanya mendekati puncak pertumbuhan, tetapi juga sesuai dengan kemampuan isolat menghasilkan enzim yang diperlukan untuk memaksimalkan proses fermentasi *Ceratophyllum* sp., sehingga kualitas nutrisinya meningkat. Selain itu, fase stasioner awal pada 24 jam juga telah dilaporkan sebagai periode dengan akumulasi enzim hidrolitik yang masih tinggi (Hmidet et al., 2012; Valerozo et al., 2025), sehingga mendukung pemilihan waktu ini untuk aplikasi fermentasi.

Visualisasi hubungan antara waktu inkubasi dan log jumlah sel masing-masing isolat berupa diagram contour plot untuk *E. aurantiacum* (a), *B. idriensis* (b), dan *B. cereus* (c) dapat dilihat pada Lampiran 1.

## 2. Pengaruh jenis bakteri dan waktu fermentasi terhadap proksimat nutrisi *Ceratophyllum* sp.

Berdasarkan hasil analisis proksimat menunjukkan bahwa berbagai jenis bakteri yang diisolasi dari bioslurry dan lama fermentasi berpengaruh signifikan terhadap komposisi nutrisi *Ceratophyllum* sp., sebelum dan sesudah fermentasi sebagaimana ditampilkan pada Tabel 3.4.

**Tabel 3.4 Pengaruh jenis bakteri dan waktu fermentasi terhadap proksimat nutrisi *Ceratophyllum* sp.**

| Perlakuan             |                        | Parameter (%±std)        |                          |                          |                          |                          |
|-----------------------|------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Jenis Bakteri         | Waktu Fermentasi (jam) | Protein                  | Lemak Kasar              | Serat Kasar              | BETN                     | Abu                      |
|                       | Awal                   | 23,58                    | 0,23                     | 14,38                    | 42,58                    | 19,24                    |
| <i>E. aurantiacum</i> | 24                     | 22,53±0,056 <sup>a</sup> | 0,76±0,030 <sup>ab</sup> | 9,88±0,045 <sup>a</sup>  | 38,15±0,030 <sup>a</sup> | 28,69±0,035 <sup>a</sup> |
|                       | 48                     | 29,13±0,035 <sup>b</sup> | 0,64±0,020 <sup>a</sup>  | 8,95±0,035 <sup>b</sup>  | 33,75±0,075 <sup>b</sup> | 27,53±0,050 <sup>b</sup> |
|                       | 72                     | 32,22±0,510 <sup>c</sup> | 0,72±0,010 <sup>b</sup>  | 4,93±0,020 <sup>c</sup>  | 30,84±0,030 <sup>c</sup> | 31,30±0,035 <sup>c</sup> |
| <i>B. idriensis</i>   | 24                     | 32,29±0,105 <sup>d</sup> | 0,75±0,035 <sup>cd</sup> | 7,75±0,035 <sup>d</sup>  | 31,34±0,045 <sup>d</sup> | 27,89±0,015 <sup>d</sup> |
|                       | 48                     | 33,39±0,070 <sup>e</sup> | 0,72±0,010 <sup>c</sup>  | 4,70±0,200 <sup>e</sup>  | 32,02±0,020 <sup>e</sup> | 29,17±0,080 <sup>e</sup> |
|                       | 72                     | 33,66±0,220 <sup>f</sup> | 0,68±0,010 <sup>d</sup>  | 4,26±0,050 <sup>f</sup>  | 29,02±0,010 <sup>f</sup> | 32,37±0,020 <sup>f</sup> |
| <i>B. cereus</i>      | 24                     | 24,13±0,060 <sup>g</sup> | 0,32±0,040 <sup>ef</sup> | 11,92±0,010 <sup>g</sup> | 38,40±0,030 <sup>g</sup> | 25,23±0,010 <sup>g</sup> |
|                       | 48                     | 33,87±0,020 <sup>h</sup> | 0,43±0,010 <sup>e</sup>  | 10,58±0,030 <sup>h</sup> | 28,81±0,020 <sup>h</sup> | 26,30±0,200 <sup>h</sup> |
|                       | 72                     | 34,80±0,007 <sup>i</sup> | 0,44±0,014 <sup>f</sup>  | 8,20±0,021 <sup>i</sup>  | 27,20±0,084 <sup>i</sup> | 29,15±0,028 <sup>i</sup> |

Ket: Huruf superscrip pada kolom yang sama mengindikasikan perbedaan yang sangat nyata antar perlakuan (sig.<0,05) pada taraf kepercayaan 95%.

Fermentasi merupakan salah satu pendekatan bioteknologi yang efektif digunakan untuk meningkatkan nilai nutrisi bahan pakan melalui proses aktivitas enzimatik mikroba. Proses fermentasi mendegradasi senyawa kompleks seperti serat kasar, pati, dan protein menjadi bentuk yang lebih sederhana dan mudah dicerna oleh ikan. Efektivitas fermentasi sangat dipengaruhi oleh jenis bakteri yang digunakan serta lama waktu fermentasi, hal ini karena kedua faktor tersebut

menentukan intensitas aktivitas metabolik dan produksi enzim yang berperan penting dalam biokonversi substrat (Hmidet et al., 2012; Zhou et al., 2020).

*Ceratophyllum* sp. adalah tanaman air yang memiliki produktivitas tinggi serta pertumbuhan yang cepat (Aparicio et al., 2021). Berdasarkan hasil analisis proksimat awal *Ceratophyllum* sp. (Tabel 3.4), komposisi nutrisinya menunjukkan potensi sebagai bahan baku pakan ikan, namun masih memerlukan peningkatan pencernaan melalui perlakuan bioteknologi. Berdasarkan hasil analisis, kandungan protein *Ceratophyllum* sp. sebesar 23,58% yang menunjukkan bahwa tanaman air ini memiliki nilai nutrisi yang cukup tinggi dan berpotensi digunakan sebagai sumber protein nabati dalam formulasi pakan ikan. Nilai ini berada dalam rentang yang umum ditemukan pada biomassa tanaman air produktif yang dapat menyediakan asam amino esensial dalam jumlah memadai untuk mendukung pertumbuhan dan metabolisme ikan (Hussain et al., 2024). Kandungan protein tersebut menjadikan *Ceratophyllum* sp. kompetitif dibandingkan bahan pakan nabati lain seperti dedak atau daun leguminosa tertentu, yang sering memiliki kadar protein lebih rendah namun serat lebih tinggi.

Namun, protein pada tanaman air biasanya memiliki struktur dinding sel berserat, sehingga ketersediaan hayatinnya dapat menurun. Oleh karena itu, fermentasi menjadi langkah penting untuk meningkatkan pemanfaatan protein *Ceratophyllum* sp. Mikroorganisme penghasil enzim protease mampu mendegradasi dinding sel dan memecah protein kompleks menjadi peptida atau asam amino yang lebih mudah diserap. Proses fermentasi juga dapat meningkatkan nilai tambah nutrisi melalui sintesis protein mikroba, sehingga kandungan protein efektif bahan meningkat. Dengan demikian, kandungan protein yang relatif tinggi pada *Ceratophyllum* sp., jika dikombinasikan dengan perlakuan fermentasi, memberikan potensi besar untuk menghasilkan bahan pakan ikan yang lebih mudah dicerna, bernilai gizi lebih tinggi, dan berkelanjutan.

Tingginya kadar serat kasar pada *Ceratophyllum* sp. (14,38%) menjadi faktor pembatas utama dalam pemanfaatannya sebagai bahan pakan ikan karena komponen serat, khususnya selulosa, hemiselulosa, dan lignin, bersifat sulit dicerna oleh sebagian besar spesies ikan. Struktur dinding sel tanaman air tersusun atas matriks serat yang kompleks dan bersifat resisten terhadap degradasi enzimatik, terutama pada ikan yang tidak memiliki enzim selulase endogen atau memiliki kemampuan fermentatif terbatas dalam saluran pencernaannya. Kandungan serat yang tinggi dapat mengurangi ketersediaan energi metabolik, menurunkan tingkat penyerapan nutrisi, dan menghambat efisiensi pakan secara keseluruhan. Selain itu, ikatan lignoselulosa yang kuat juga dapat membungkus nutrisi lain seperti protein dan mineral sehingga tidak dapat dimanfaatkan secara optimal. Kondisi ini menyebabkan *Ceratophyllum* sp. tidak ideal digunakan langsung sebagai pakan tanpa proses pengolahan yang mampu menurunkan serat, seperti fermentasi dengan mikroorganisme penghasil enzim selulolitik., karena serat khususnya selulosa dan hemiselulosa dapat menurunkan tingkat pencernaan pakan pada ikan yang umumnya memiliki kemampuan terbatas dalam mendegradasi polisakarida struktural (Usmanbaha et al., 2025).

Selain kandungan proteinnya, nilai BETN sebesar 42,58% pada *Ceratophyllum* sp. menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki kandungan karbohidrat non serat yang cukup tinggi, tersusun dari gula sederhana, pati, dan komponen organik yang relatif mudah dicerna. Komponen ini berpotensi menjadi sumber energi yang baik bagi ikan maupun mikroorganisme selama proses fermentasi. Namun, sebagian karbohidrat tersebut sering sulit dimanfaatkan secara optimal karena terperangkap dalam struktur dinding sel tanaman air. Sementara itu, lemak kasar yang sangat rendah (0,23%) merupakan karakter umum tanaman akuatik yang lebih mengandalkan karbohidrat untuk aktivitas metaboliknya. Kandungan abu yang tinggi (19,24%) mencerminkan tingginya kandungan mineral akibat penyerapan ion dari lingkungan perairan, namun kondisi ini dapat menurunkan nilai energi total bahan jika tidak dilakukan pengolahan terlebih dahulu.

Menurut Hussain et al. (2024), biomassa akuatik seperti *Ceratophyllum* sp. memiliki dinding sel yang kompleks dan kaya lignoselulosa sehingga memerlukan perlakuan biologis agar nutrisinya lebih mudah tersedia. Oleh karena itu, fermentasi mikroba menjadi teknik yang relevan, karena mikroorganisme penghasil enzim hidrolitik yaitu amilase, selulase, dan protease yang mampu merombak dinding sel tanaman, melepaskan karbohidrat non serat yang sebelumnya tersembunyi, meningkatkan ketersediaan energi, serta menurunkan kandungan serat yang menghambat pencernaan. Dengan demikian, hasil analisis proksimat *Ceratophyllum* sp. yang kaya karbohidrat, mineral tinggi, dan serat cukup besar dapat dimanfaatkan dengan proses fermentasi untuk meningkatkan kualitas nutrisi dan pemanfaatannya sebagai bahan pakan ikan berkelanjutan.

Berdasarkan hasil penelitian, fermentasi *Ceratophyllum* sp. menggunakan bakteri *E. aurantiacum* menunjukkan perubahan signifikan pada komposisi nutrisi selama proses fermentasi. Kandungan protein meningkat hingga mencapai 32,22% pada 72 jam, yang mengindikasikan terjadinya biosintesis protein mikrobial serta pemecahan komponen kompleks menjadi bentuk yang lebih sederhana dan mudah dimanfaatkan. Kandungan lemak kasar tertinggi tercatat pada fermentasi 24 jam sebelum kemudian menurun seiring penggunaan lipid oleh bakteri untuk kebutuhan metabolisme. Di sisi lain, serat kasar mengalami penurunan tajam hingga 4,93%, menandakan aktivitas enzim selulolitik dan hemiselulolitik dari *E. aurantiacum* yang mampu mendegradasi komponen struktural tanaman. Penurunan nilai BETN bersamaan dengan peningkatan kadar abu menunjukkan bahwa terjadi degradasi karbohidrat non-struktural serta pelepasan mineral akibat pemecahan matriks organik selama fermentasi. Bakteri *E. aurantiacum*, yang diisolasi dari bioslurry (Zaenab et al., 2025), diketahui memiliki aktivitas enzimatik penting yang berperan dalam metabolisme energi dan proses biokonversi bahan organik (Rui et al., 2023), sehingga mampu meningkatkan kualitas nutrisi hasil fermentasi.

Fermentasi *Ceratophyllum* sp. menggunakan isolat *B. idriensis* menunjukkan peningkatan kualitas nutrisi yang paling tinggi dibandingkan kondisi awal. Berdasarkan Tabel 3.4, kandungan protein meningkat dari 23,58% menjadi 33,66% pada 72 jam, atau sekitar 42,75%. Peningkatan ini menunjukkan terjadinya biosintesis protein mikrobial serta pemecahan komponen organik kompleks menjadi

bentuk yang lebih sederhana sehingga dapat digunakan bakteri untuk pertumbuhan. Serat kasar menurun signifikan dari 14,38% menjadi 4,26% pada 72 jam (penurunan sekitar 70,36%), yang menggambarkan aktivitas enzim selulolitik dan hemiselulolitik *B. idriensis* dalam mendegradasi jaringan struktural tanaman. Kandungan lemak kasar tetap relatif stabil pada kisaran 0,68–0,75%, yang berarti bahwa lemak bukan sumber energi utama bagi bakteri selama proses fermentasi. Kadar abu meningkat dan mencapai nilai tertinggi pada jam ke-48 (29,17%), menunjukkan adanya pelepasan mineral seiring terurainya bahan organik. Secara keseluruhan, perubahan nutrisi ini mencerminkan kemampuan *B. idriensis* dalam menghasilkan enzim dengan aktivitas biodegradasi yang tinggi dan stabil, sebagaimana dilaporkan oleh Du et al. (2017), sehingga efektif dalam meningkatkan kualitas nutrisi bahan pakan seperti *Ceratophyllum* sp.

Fermentasi *Ceratophyllum* sp. menggunakan *B. cereus* menunjukkan kinerja fermentasi yang sangat baik berdasarkan perubahan komposisi nutrisi pada Tabel 3.4. Kandungan protein meningkat dari 23,58% pada kondisi awal menjadi 34,80% setelah 72 jam, atau setara dengan peningkatan sekitar 47,60%. Kenaikan ini mengindikasikan bahwa *B. cereus* mampu memecah senyawa organik kompleks melalui aktivitas enzim proteolitik sehingga menghasilkan akumulasi protein mikrobial. Pada parameter BETN, terjadi penurunan paling besar, dari 42,58% menjadi 27,20% pada 72 jam (penurunan 36,06%), yang menunjukkan bahwa karbohidrat digunakan secara intensif oleh bakteri sebagai sumber energi selama proses fermentasi. Penurunan serat kasar dari 14,38% menjadi 7,20% pada jam ke-72 memperlihatkan kemampuan *B. cereus* dalam mendegradasi komponen struktural melalui enzim seperti selulase. Selain itu, kadar abu meningkat dari 19,24% menjadi 29,15% pada 72 jam, yang mencerminkan pelepasan mineral seiring terurainya bahan organik. Secara keseluruhan, pola perubahan nutrisi pada hasil penelitian menunjukkan bahwa *B. cereus* memiliki kapasitas enzimatik yang luas, termasuk produksi  $\alpha$ -amilase, protease, lipase, dan selulase yang berperan dalam degradasi nutrisi kompleks (Liu et al., 2016). Selain fungsinya dalam fermentasi, *B. cereus* juga dilaporkan berperan sebagai probiotik yang mampu meningkatkan aktivitas enzim antioksidan dan metabolik pada ikan nila *Oreochromis niloticus* (Zhou et al., 2010) serta digunakan dalam sistem akuakultur untuk meningkatkan kesehatan ikan (Hao et al., 2014). Temuan ini menunjukkan bahwa *B. cereus* memiliki potensi sebagai agen fermentasi dalam formulasi bahan pakan berbasis *Ceratophyllum* sp.

Hasil analisis komposisi nutrisi dalam *Ceratophyllum* sp. yang difermentasi dengan menggunakan ketiga jenis bakteri, yaitu *E. aurantiacum*, *B. idriensis*, dan *B. cereus*, memberikan pengaruh yang berbeda terhadap kandungan nutrisi pada *Ceratophyllum* sp. (Lampiran 2). Secara keseluruhan, ketiga isolat menunjukkan efektivitas dalam memodifikasi komposisi nutrisi, namun *B. cereus* dan *B. idriensis* memberikan hasil paling optimal dalam meningkatkan kadar protein dan menurunkan serat kasar, menjadikannya kandidat unggulan untuk aplikasi fermentasi dalam pengolahan pakan ikan yang bernilai nutrisi tinggi (Yang et al, 2020). Tabel 3.4 menunjukkan kandungan protein tertinggi diperoleh dari *Ceratophyllum* sp. yang

diinkubasi dengan *B. Idriensis* dan *B. cereus*. Hal ini mengindikasikan bahwa kedua isolat tersebut memiliki potensi proteolitik atau kemampuan sintesis protein mikroba yang lebih tinggi, sehingga meningkatkan kandungan protein *Ceratophyllum* sp. Sebaliknya, protein terendah terdapat pada *Ceratophyllum* sp. yang diinkubasi dengan bakteri *E. aurantiacum*.

Kandungan lemak *Ceratophyllum* sp. terlihat lebih tinggi ketika diinkubasi dengan menggunakan jenis bakteri *E. aurantiacum* dan *B. idriensis*, sedangkan *B. cereus* menghasilkan nilai lemak terendah terendah. Penurunan kadar lemak yang drastis pada perlakuan *B. cereus* dapat dikaitkan dengan aktivitas lipolitik yang tinggi atau efisiensi pemanfaatan lipid sebagai sumber energi selama inkubasi. Serat kasar pada fermentasi menggunakan *B. idriensis* menghasilkan nilai terendah dibandingkan dua jenis bakteri lainnya. Hal ini berkaitan dengan kemampuan mikroba tersebut dalam mendegradasi serat dan tetapi tidak merombak komponen kompleks polisakarida non-pati (Padhan et al., 2025). Kandungan BETN tertinggi terdapat pada perlakuan *E. aurantiacum*, yang menunjukkan kecenderungan untuk mempertahankan kandungan energi non-serat lebih tinggi. Hal ini dapat disebabkan oleh efisiensi pemanfaatan substrat pati atau gula sederhana yang lebih rendah dibandingkan *B. cereus* dan *B. idriensis*. Visualisasi grafik *radar-style area chart* perbandingan berbagai komposisi nutrisi dalam *Ceratophyllum* sp. yang terfermentasi berbagai jenis mikroba dapat dilihat pada Lampiran 3.

### **Pengaruh waktu fermentasi terhadap proksimat nutrisi *Ceratophyllum* sp.**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu fermentasi berperan penting dalam menentukan kualitas nutrisi *Ceratophyllum* sp. Semakin lama proses fermentasi berlangsung, aktivitas enzimatis meningkat sehingga mampu memecah makromolekul seperti protein dan karbohidrat (Lampiran 4). Dengan demikian, optimasi durasi fermentasi menjadi langkah krusial untuk memperoleh peningkatan nilai nutrisi yang seimbang (Li et al., 2021).

Berdasarkan hasil fermentasi *Ceratophyllum* sp., peningkatan kualitas nutrisi terutama dipengaruhi oleh lamanya waktu fermentasi, di mana seluruh isolat bakteri menunjukkan pola kenaikan kadar protein dan penurunan serat kasar seiring bertambahnya durasi inkubasi. Perlakuan paling efektif diperoleh pada fermentasi 72 jam menggunakan *B. idriensis*, yang menghasilkan peningkatan protein tertinggi (33,66%) sekaligus penurunan serat kasar terendah (4,26%), mencerminkan kemampuan hidrolitik yang kuat dalam memecah fraksi serat dan meningkatkan ketersediaan nitrogen organik. Meskipun *B. cereus* dan *E. aurantiacum* juga memperbaiki kualitas nutrisi, kinerja *B. idriensis* lebih konsisten dan memberikan hasil yang lebih optimal. Peningkatan kadar abu setelah fermentasi juga menunjukkan adanya pelepasan mineral esensial seperti kalsium, magnesium, dan fosfor akibat degradasi struktur kompleks tanaman oleh aktivitas mikroba (Li et al., 2021). Temuan ini sejalan dengan laporan sebelumnya bahwa fermentasi mikroba mampu menurunkan polisakarida struktural dan meningkatkan nilai nutrisi bahan pakan (Chan et al., 2023; Bezerra & Fonseca, 2023; Islam et al., 2024). Secara keseluruhan, fermentasi selama 72 jam dengan inokulum *B. idriensis* merupakan

perlakuan paling efektif dalam menghasilkan *Ceratophyllum* sp. yang lebih fungsional dan bernilai gizi tinggi untuk digunakan sebagai bahan pakan ikan (Shija et al., 2025).

### 3.5. Kesimpulan

Fermentasi *Ceratophyllum* sp. menggunakan tiga isolat bakteri bioslurry yaitu *E. aurantiacum*, *B. idriensis*, dan *B. cereus* menunjukkan bahwa seluruh bakteri mampu meningkatkan kualitas nutrisi bahan pakan melalui peningkatan protein, penurunan serat kasar, penurunan BETN, serta modifikasi kadar abu. *B. cereus* menghasilkan peningkatan protein tertinggi, yaitu 34,80% pada 72 jam, yang menunjukkan kemampuan biosintesis mikrobial yang kuat, sedangkan penurunan serat kasar paling signifikan ditunjukkan oleh *B. idriensis*, dari 14,38% menjadi  $4,26 \pm 0,050\%$  (penurunan 70,4%), mencerminkan aktivitas enzim selulolitik yang intens dalam mendegradasi struktur *Ceratophyllum* sp.. Fermentasi dengan *B. idriensis* juga meningkatkan kadar protein hingga  $33,66 \pm 0,220\%$  (kenaikan 42,7%) serta meningkatkan kadar abu hingga  $32,37 \pm 0,020\%$ , mengindikasikan pelepasan mineral selama proses fermentasi. Penurunan BETN terbesar terjadi pada fermentasi oleh *B. cereus*, menunjukkan pemanfaatan karbohidrat sebagai sumber energi utama. Hubungan positif antara kepadatan sel bakteri dan peningkatan kandungan nutrisi menegaskan bahwa aktivitas metabolik ketiga bakteri berperan langsung dalam efisiensi fermentasi. Secara keseluruhan, ketiga isolat memiliki potensi sebagai agen fermentasi, namun kinerja terbaik ditunjukkan oleh *B. cereus* dan *B. idriensis*, karena keduanya memberikan peningkatan protein dan penurunan serat kasar yang paling signifikan, sehingga paling efektif dalam mengoptimalkan *Ceratophyllum* sp. sebagai bahan pakan alternatif yang bernutrisi tinggi, ekonomis, dan berkelanjutan untuk akuakultur.

### 3.6. Daftar Pustaka

- AOAC International. (2005). *Official methods of analysis* (18th ed.). Association of Official Analytical Chemists.
- Aparicio, E., Rodríguez-Jasso, R. M., Collazo-Bigliardi, S., Huerta-Rábago, J. A., Aguilar, C. N., & Ruiz, H. A. (2021). High-pressure technology for *Sargassum* spp. biomass pretreatment and fractionation in the third generation of bioethanol production. *Bioresource Technology*, 329, 124935. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124935>
- Banerjee, G., & Ray, A. K. (2017). The advancement of probiotics research and its application in fish farming industries. *Research in Veterinary Science*, 115, 66–77. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.01.016>
- Beal, J., Farny, N. G., Haddock-Angelli, T., & Gershenson, A. (2020). Robust estimation of bacterial cell count from optical density. *Communications Biology*, 3(1), 512. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-01127-5>
- Bezerra, R. A., & Fonseca, G. G. (2023). Microbial count, chemical composition and fatty acid profile of biological silage obtained from pacu and spotted sorubim fish waste using lactic acid bacteria fermentation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 54, 102929. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102929>
- Cappuccino, J. G., & Welsh, C. (2017). *Microbiology: A laboratory manual* (11th ed.).

Pearson.

- Chan, S. X. Y., Fitri, N., Asni, N. S. M., Sayuti, N. H., Azlan, U. K., Qadi, W. S. M., Dawoud, E. A. D., Kamal, N., Sarian, M. N., Lazaldin, M. A. M., Low, C. F., Harun, S., Hamezah, H. S., Rohani, E. R., & Mediani, A. (2023). A comprehensive review with future insights on the processing and safety of fermented fish and the associated changes. *Foods*, 12(3), 558. <https://doi.org/10.3390/foods12030558>
- Chen, H., Liu, L., Jiang, L., Hu, W., Cen, Q., Zhang, R., Hui, F., Li, J., & Zeng, X. (2024). Effect of *Lactiplantibacillus plantarum* Y279 and *Weissella cibaria* Y113 on microorganism, lipid oxidation and fatty acid metabolites in *Yu jjaosuan*, a Chinese traditional fermented snack. *Food Chemistry: X*, 21, 101246. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101246>
- Colombo, S.M., Roy, K., Mraz, J., Wan, A.H.L., Davies, S.J., Tibbetts, S.M., Øverland, M., Francis, D.S., Rocker, M.M., Gasco, L., Spencer, E., Metian, M., Trushenski, J.T., & Turchini, G.M. (2023). Towards achieving circularity and sustainability in feeds for farmed blue foods. *Reviews in Aquaculture*, 15(3), 1115–1141. <https://doi.org/10.1111/raq.12766>
- Demissie, M. S., Legesse, N. H., & Tesema, A. A. (2024). Isolation and characterization of cellulase-producing bacteria from forest, cow dung, Dashen brewery, and agro-industrial waste. *PLoS ONE*, 19(4), e0301607. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0301607>
- Du, K., Zhou, B., & Yuan, R. (2017). Biodegradation of 2-methylisoborneol by *Bacillus idriensis* isolated from biological activated carbon. *Desalination and Water Treatment*, 76, 290–299. <https://doi.org/10.5004/dwt.2017.20784>
- Estevao-Rodrigues, T., Fernandes, H., Moutinho, S., Filipe, D., Fontinha, F., Magalhaes, R., Couto, A., Ferreira, M., Gamboa, M., Castro, C., Belo, I., Salgado, J., Oliva-Teles, A., & Peres, H. (2024). Effect of solid-state fermentation of Brewer's spent grain on digestibility and digestive function of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Animal Feed Science and Technology*, 315, 116018. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2024.116018>
- Estevez, A., Padrell, L., Inarra, B., Orive, M., & Martin, D.S. (2021). Brewery by-products (yeast and spent grain) as protein sources in gilthead seabream (*Sparus aurata*) feeds. *Aquaculture*, 543, 736921. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736921>
- Gao, Q., Liu, P., Li, Y., Song, D., Long, W., Wang, Z., Yi, S., & Jiang, L. (2023). Gut microbiota, host genetics and phenotypes in aquatic animals: A review. *Aquaculture Reports*, 31, 101648. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2023.101648>
- Gao, S., Chen, W., Cao, S., Sun, P., & Gao, X. (2024). Microalgae as fishmeal alternatives in aquaculture: Current status, existing problems, and possible solutions. *Environmental Science and Pollution Research*, 31, 16113–16130. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-32143-1>
- Hao, K., Liu, J. Y., Ling, F., Liu, X. L., Lu, L., Xia, L., & Wang, G. X. (2014). Effects of dietary administration of *Shewanella haliotis* D4, *Bacillus cereus* D7 and *Aeromonas bivalvium* D15, single or combined, on the growth, innate immunity and disease resistance of shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 428–429, 141–149. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.03.016>
- Hmidet, N., Ali, N. E. H., Haddar, A., Kanoun, S., Alya, S. K., & Nasri, M. (2012). *Alkaline proteases and thermostable amylases produced by Bacillus*

- licheniformis* NH1: potential application in detergent formulation. *Biochemical Engineering Journal*, 61, 13–19.
- Hussain, S. M., Bano, A. A., Ali, S., Rizwan, M., Adrees, M., Zahoor, A. F., Sarker, P. K., Hussain, M., Arsalan, M. Z., Yong, J. W. H., & Naeem, A. (2024). Substitution of fishmeal: Highlights of potential plant protein sources for aquaculture sustainability. *Heliyon*, 10, e26573. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e26573>
- Islam, S., Miah, M. A. S., Islam, M. F., Tisa, K. J., Bhuiyan, M. H. R., Bhuiyan, M. N. I., Afrin, S., Ahmed, K. S., & Hossain, M. H. (2024). Fermentation with lactic acid bacteria enhances the bioavailability of bioactive compounds of whole wheat flour. *Applied Food Research*, 4(2), 100610. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2024.100610>
- Jamaluddin, R., Suardi, A. H., Zaenab, S., Masriah, A., & Nurfadilah. (2025). Effectiveness growth performance and feeding efficiency of tilapia (*Oreochromis niloticus*) through solid bioslurry feed in floating net cages. *Journal of Aquaculture and Fish Health*, 14(1), 79–90. <https://doi.org/10.20473/jafh.v14i1.63715>
- Jia, S., Li, X., He, W., & Wu, G. (2022). Protein-sourced feedstuffs for aquatic animals in nutrition research and aquaculture. In G. Wu (Ed.), *Recent advances in animal nutrition and metabolism*, 237–261. Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-85686-1\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-030-85686-1_12)
- Jiang, W., Jia, X., Xie, N., Wen, C., Ma, S., Jiang, G., Li, X., Chi, C., Zhang, D., & Liu, W. (2023). Aquafeed fermentation improves dietary nutritional quality and benefits feeding behavior, meat flavor, and intestinal microbiota of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*). *Animal Nutrition*, 14, 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2023.04.002>
- Jin, Y., Wu, S., Zeng, Z., & Fu, Z. (2022). Regulation of intestinal microbiota balance by probiotics in aquaculture: a review. *Aquaculture Research*, 53(1), 15–28.
- Kim, S., Seo, S. U., & Kweon, M. N. (2024). Gut microbiota-derived metabolites tune host homeostasis fate. *Seminars in Immunopathology*, 46(1–2), 2. <https://doi.org/10.1007/s00281-024-01012-x>
- Li, C., Chen, X., Jin, Z., Gu, Z., Rao, J., & Chen, B. (2021). Physicochemical property changes and aroma differences of fermented yellow pea flours: Role of lactobacilli and fermentation time. *Food & Function*, 12(15), 6950–6963. <https://doi.org/10.1039/d1fo00608h>
- Linnaeus, C. (1753). *Species plantarum* (Vol. 2, p. 992). Laurentii Salvii.
- Liu, G., Wang, Y., Anderson, G. J., Camaschella, C., Chang, Y., & Nie, G. (2016). Functional analysis of GLRX5 mutants reveals distinct functionalities of GLRX5 protein. *Journal of Cellular Biochemistry*, 117(1), 207–217. <https://doi.org/10.1002/jcb.25267>
- Madigan, M. T., Aiyer, J., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2021). Brock Biology of Microorganisms (16th ed.). Pearson. (2021). *Brock biology of microorganisms* (16th ed.). Pearson.
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2018). *Brock biology of microorganisms* (15th ed.). Pearson.
- Magbanua, T. O., & Ragaza, J. A. (2024). Selected dietary plant-based proteins for growth and health response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture and Fisheries*, 9(1), 3–19. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2022.04.001>
- Marti-Quijal, F. J., Príncipe, A., Tornos, A., Luz, C., Meca, G., Tedeschi, P., Ruiz,

- M.-J., Barba, F. J., & Manes, J. (2020). Isolation, identification and investigation of fermentative bacteria from sea bass (*Dicentrarchus labrax*): Evaluation of antifungal activity of fermented fish meat and by-products broths. *Foods*, 9(5), 576. <https://doi.org/10.3390/foods9050576>
- Masriah, A., Suardi, A. H., Alpiani, A., Zaenab, S., & Syamsuddin, S. (2024). Efektivitas dosis bioslurry cair terhadap kadar protein terlarut dalam pakan ikan. *Jurnal Perikanan Unram*, 13(3), 863–870. <https://doi.org/10.29303/jp.v13i3.641>
- Moyo, N. A. G., & Rapatsa-Malatji, M. M. (2023). A review and meta-analysis of selected plant protein sources as a replacement of fishmeal in the diet of tilapias. *Annals of Animal Science*, 23(3), 681–690. <https://doi.org/10.2478/aoas-2022-0084>
- Neves, N. O. D. S., De Dea Lindner, J., Stockhausen, L., Delzivo, F. R., Bender, M., Serzedello, L., Cipriani, L. A., Ha, N., Skoronski, E., Gisbert, E., Sanahuja, I., & Perez Fabregat, T. E. H. (2024). Fermentation of plant-based feeds with *Lactobacillus acidophilus* improves the survival and intestinal health of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in a biofloc system. *Animals*, 14(2), 332. <https://doi.org/10.3390/ani14020332>
- Okoye, C. O., Wu, Y., Wang, Y., Gao, L., Li, X., & Jiang, J. (2023). Fermentation profile, aerobic stability, and microbial community dynamics of corn straw ensiled with *Lactobacillus buchneri* PC-C1 and *Lactobacillus plantarum* PC-1. *Microbiological Research*, 270, 127329. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2023.127329>
- Padhan, K., Patra, R. K., Sethi, D., Panda, N., Sahoo, S. K., Pattanayak, S. K., & Senapati, A. K. (2025). Isolation, characterization and identification of cellulose-degrading bacteria for composting of agro-wastes. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 15, 4925–4939. <https://doi.org/10.1007/s13399-023-04087-y>
- Ragab, S., Hassaan, M., Fitzsimmons, K., El-Haroun, E., 2023. Alternative protein sources for sustainable Tilapia farming. In: Hoseinifar, S.H., Van Doan, H. (Eds.), *Novel Approaches toward Sustainable Tilapia Aquaculture*. Springer International Publishing, pp. 201–227. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-38321-2\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-031-38321-2_8).
- Rui, Z., Denghui, L., Xuegong, L., Weijia, Z., Yuan, Z., & Long-Fei, W. (2023). Energy metabolism pathways in *Exiguobacterium*. *Acta Microbiologica Sinica*, 63(6), 2078–2093. <https://doi.org/10.13343/j.cnki.wsb.20220829>
- Samtiya, M., Aluko, R. E., Puniya, A. K., & Dhewa, T. (2021). Enhancing micronutrient bioavailability through fermentation of plant-based foods: A concise review. *Fermentation*, 7(2), 63. <https://doi.org/10.3390/fermentation7020063>
- Sarita, S., Duman, H., & Karav, S. (2024). Nutritional and functional aspects of fermented algae. *International Journal of Food Science & Technology*, 59, 5270–5284.
- Sawant, S. S., Park, H.Y., Sim, E.Y., Kim, H.S., & Choi, H.S. (2025). Microbial fermentation in food: Impact on functional properties and nutritional enhancement—A review of recent developments. *Fermentation*, 11(1), 15. <https://doi.org/10.3390/fermentation11010015>
- Shija, V. M., Chen, H., Li, Y., Ng'onga, L., Amoah, K., Yong, Z., Chen, J., Dapeng, Y., Mkyue, R., & Cai, J. (2025). Effects of dietary supplementation with fish-derived *Bacillus amyloliquefaciens* AV5 on growth status, immune response, microbiota, and intestinal health of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*).

- Aquaculture Reports*, 41, 102658.  
<https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2025.102658>
- Siddik, M. A. B., Julien, B. B., Islam, S. M. M., & Francis, D. S. (2024). Fermentation in aquafeed processing: Achieving sustainability in feeds for global aquaculture production. *Reviews in Aquaculture*, 16(3), 1244–1265.  
<https://doi.org/10.1111/raq.12894>
- Soltani, M., Ghosh, K., Hoseinifar, S. H., Kumar, V., Lymbery, A. J., Roy, S., & Ringø, E. (2022). Probiotics as beneficial microbes in aquaculture: An update on their multiple modes of action: A review. *Frontiers in Marine Science*, 9, 1068997. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.1068997>
- Tovar-Ramírez, D., Concha-Castañeda, M. C., Hernández, C., Hernández, K., Domínguez, D., & Parra, J. L. (2025). *Fermented plant-based ingredients as functional feed additives in aquaculture: Current status and future perspectives*. *Animal Nutrition*, 17, 117–128.  
<https://doi.org/10.1016/j.aninu.2025.01.011>
- Usmanbaha, N., Sani, K., Jariyaboon, R., Raketh, M., O-Thong, S., & Kongjan, P. (2025). Co-digestion of palm oil mill effluent and *Ceratophyllum demersum* in a two-stage anaerobic bioreactor to recover gaseous biofuel. *International Journal of Hydrogen Energy*, 97, 1375–1385.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2024.12.007>
- Valerozo, J. A., Rice, D., Bucuo, D. S., Ramil, R. J. D., Agrupis, S. C., & Anal, A. K. (2025). Integrative approaches in microbial fermentation of underutilized crops for enhanced nutritional and bioactive functionalities. *Food Bioscience*, 69, 106941. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2025.106941>
- Vo, B.V., Siddik, M.A.B., Chaklader, M.R., Fotedar, R., Nahar, A., & Foyosal, M.J., et al. (2020). Growth and health of juvenile barramundi (*Lates calcarifer*) challenged with DO hypoxia after feeding various inclusions of germinated, fermented and untreated peanut meals. *PLoS ONE*, 15(4), e0232278.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232278>
- Wanka, K. M., Damerau, T., Costas, B., Krueger, A., Schulz, C., & Wuertz, S. (2018). Isolation and characterization of native probiotics for fish farming. *BMC Microbiology*, 18(1), 119. <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1260-2>
- Yang, G., Shen, K., Yu, R., Wu, Q., Yan, Q., Chen, W., Ding, L., Kumar, V., Wen, C., & Peng, M. (2020). Probiotic (*Bacillus cereus*) enhanced growth of Pengze crucian carp concurrent with modulating the antioxidant defense response and exerting beneficial impacts on inflammatory response via Nrf2 activation. *Aquaculture*, 529, 735691.  
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735691>
- Zaenab, S., Masriah, A., & Suryahman, A. (2022). Effect of bioslurry concentration in feed on the growth and survival of milkfish (*Chanos chanos* Forsskal). *International Journal of Applied Biology*, 6(2), 249–257.
- Zaenab, S., Zainuddin, Z., Sriwulan, S., Nisaa, K., Haryati, H., Karim, M. Y., & Anshary, H. (2025). Exploration of bioslurry bacteria candidate probiotics for fish feed: Identification, morphological characteristics and enzyme activity. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 29(3), 2251–2268.  
<https://doi.org/10.21608/ejabf.2025.432438>
- Zhou, Q., Zhang, J., & Zhao, Q. (2020). *Screening and characterization of amylase-producing bacteria from fish gut for potential application in aquafeed fermentation*. *Microbial Biotechnology*, 13(4), 1044–1055.
- Zhou, X., Tian, Z., Wang, Y., et al., 2010. Effect of treatment with probiotics as water

additives on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. *Fish Physiol. Biochem.* 36 (3), 501–509.

Zuluaga-Hernandez, C.D., Hincapié, C.A., Osorio, M., 2023. Non-conventional ingredients for Tilapia (*Oreochromis* spp.) Feed: A systematic review. *Fishes* 8 (11).

## BAB IV

# OPTIMALISASI FORMULASI PAKAN DENGAN BERBAGAI KONSENTRASI *Ceratophyllum* sp. YANG DIFERMENTASI *Bacillus idriensis* TERHADAP PERTUMBUHAN DAN EFISIENSI PAKAN IKAN BANDENG

### 4.1. Abstrak

Tingginya biaya pakan dan keterbatasan bahan baku konvensional mendorong pemanfaatan *Ceratophyllum* sp. sebagai bahan pakan alternatif dalam budidaya ikan bandeng (*Chanos chanos*). Namun, kandungan serat kasar yang tinggi membatasi penggunaannya sehingga diperlukan proses fermentasi menggunakan bakteri probiotik *Bacillus idriensis* untuk meningkatkan kualitas nutrisinya. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh penggunaan *Ceratophyllum* sp. terfermentasi dalam formulasi pakan terhadap pertumbuhan, efisiensi pakan, pencernaan nutrisi, aktivitas enzim pencernaan, serta komposisi kimia tubuh ikan bandeng. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan empat perlakuan tingkat substitusi *Ceratophyllum* sp. terfermentasi dalam pakan, yaitu 0%, 10%, 15%, dan 20%, dengan tiga kali ulangan. Parameter yang diamati meliputi kinerja pertumbuhan, efisiensi pemanfaatan pakan, tingkat kelangsungan hidup, komposisi kimia tubuh, retensi nutrisi, aktivitas enzim pencernaan, serta pencernaan nutrisi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan *Ceratophyllum* sp. terfermentasi sebesar 10% menghasilkan performa terbaik dengan pertambahan bobot mutlak sebesar  $8,91 \pm 0,174$  g, laju pertumbuhan spesifik  $4,99 \pm 0,036\%$ , rasio konversi pakan (FCR)  $1.123 \pm 0.023$ , efisiensi pemanfaatan pakan (EPP)  $89,06 \pm 1,738\%$ , serta tingkat kelangsungan hidup  $88.89 \pm 10.183\%$ . Perlakuan ini juga menunjukkan komposisi kimia tubuh terbaik dengan kandungan protein  $64.62 \pm 0.327\%$ , lemak  $5.40 \pm 0.108\%$ , dan energi  $3.64 \pm 0.030$  kkal/g. Retensi nutrisi tertinggi pada perlakuan 10% tercatat untuk protein sebesar  $56.82 \pm 1.135\%$  dan energi sebesar  $52.26 \pm 0.724$  kkal/g, sedangkan retensi lemak tertinggi diperoleh pada perlakuan 15% sebesar  $14.33 \pm 0.743\%$ . Aktivitas enzim pencernaan tertinggi pada perlakuan 10% meliputi amilase  $1.576 \pm 0.044$  IU/mL, protease  $0.060 \pm 0.0031$  IU/mL, dan lipase  $0.084 \pm 0.0007$  IU/mL. Pencernaan nutrisi tertinggi juga ditunjukkan pada perlakuan 10%, yaitu protein  $89.466 \pm 0.369\%$ , lemak  $95.387 \pm 0.092\%$ , serat  $72.573 \pm 1.643\%$ , dan pencernaan total  $84.415 \pm 0.568\%$ . Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa formulasi pakan dengan penambahan *Ceratophyllum* sp. terfermentasi menggunakan *Bacillus idriensis* sebesar 10% berpotensi meningkatkan kinerja pertumbuhan, efisiensi pakan, dan pemanfaatan nutrisi ikan bandeng (*Chanos chanos*).

### 4.2. Pendahuluan

Produksi hewan akuatik secara global berasal dari sektor akuakultur yang kini telah melampaui perikanan tangkap dengan kontribusi sebesar 51% pada tahun 2022 (FAO, 2024). Pencapaian ini sebagian besar didorong oleh negara-negara Asia yang menjadi penyumbang utama dalam produksi hewan akuatik dunia (FAO, 2024; Halwart, 2022). Pencapaian tersebut menegaskan peran strategis akuakultur dalam memenuhi kebutuhan pangan akuatik global, meskipun ketergantungan pada

intensifikasi budidaya juga memunculkan tantangan lingkungan yang perlu dikelola secara berkelanjutan (Ahmed & Thompson, 2019). Untuk itu, FAO melalui Blue Transformation Initiative pada tahun 2021 mendorong pengembangan sistem pangan akuatik yang berkelanjutan (Sharma et al., 2023). Saat ini, ikan bandeng (*Chanos chanos*) merupakan spesies akuakultur air payau yang penting di Asia Tenggara dan menjadi komponen utama dalam sektor perikanan sekaligus penopang ekonomi nasional di Indonesia, Filipina, dan Taiwan (Hsiao et al., 2025; Natasya dan Nugroho, 2025).

Pakan merupakan aspek krusial dalam mewujudkan keberlanjutan akuakultur karena menyumbang sekitar 50–70% dari total biaya produksi dan berperan penting dalam menentukan pertumbuhan serta efisiensi budidaya ikan (Hua et al., 2019; Boyd et al., 2022; Kumar et al., 2025). Berbagai sumber protein nabati bernilai tinggi, seperti protein kedelai, gandum, dan gluten jagung, telah banyak dikaji sebagai alternatif yang menjanjikan dalam formulasi pakan akuakultur (Pandey et al.; Mitri et al., 2022). Namun demikian, ketergantungan yang tinggi terhadap bahan pakan konvensional, khususnya tepung ikan (Krishnan dan Jez, 2018) serta kedelai, tidak hanya meningkatkan biaya produksi tetapi juga memberikan tekanan signifikan terhadap keberlanjutan sumber daya global. Tingginya penggunaan tepung ikan dalam industri akuakultur mendorong pengembangan bahan baku alternatif yang lebih berkelanjutan, termasuk sumber protein nabati non-konvensional, bahan hewani alternatif, dan protein berbasis mikroba (Glencross et al., 2024; Albrektsen et al., 2022). Meskipun pemanfaatan bahan nabati dalam formulasi pakan telah banyak dilakukan, penggantian total protein hewani masih menghadapi keterbatasan, terutama terkait ketidakseimbangan asam amino esensial dan rendahnya pencernaan (Rhodes et al., 2017; Benedito-Palos et al., 2016). Selain itu, penggunaan tepung kedelai sebagai sumber protein nabati utama juga menghadapi tantangan dari sisi harga serta persaingan dengan kebutuhan pangan manusia.

Formulasi pakan komersial pada dasarnya didasarkan pada ketersediaan nutrisi dan energi yang dapat dicerna, sehingga bahan pakan baru perlu melalui tahapan evaluasi mulai dari karakterisasi, palatabilitas, hingga pencernaan sebelum digunakan secara luas. Tantangan utama dalam penyediaan pakan adalah tingginya biaya bahan berprotein tinggi, sehingga pemanfaatan sumber lokal yang bergizi sekaligus ekonomis menjadi sangat penting bagi keberlanjutan akuakultur. Arah penelitian ini sejalan dengan konsep sirkularitas dan pemulihan nutrisi melalui pendekatan bioteknologi dan rekayasa proses (Sampathkumar et al., 2023).

Salah satu kandidat sumber protein nabati alternatif yang berpotensi dikembangkan adalah *Ceratophyllum* sp., yaitu makrofit akuatik yang tumbuh bebas tanpa akar dan tersebar luas di berbagai perairan. Tanaman air ini memiliki ketersediaan yang melimpah, nilai ekonomis yang relatif rendah, serta tidak bersaing dengan kebutuhan konsumsi manusia, sehingga berpotensi besar sebagai bahan baku pakan ikan (Somtrakoon & Chouychai, 2023). Selain perannya dalam fitoremediasi perairan (Xue et al., 2012), *Ceratophyllum* sp. dilaporkan memiliki kandungan nutrisi yang menjanjikan, khususnya kadar protein yang relatif tinggi,

sehingga berpotensi dimanfaatkan sebagai sumber protein nabati dalam formulasi pakan ikan (Hoang et al., 2022). Pemanfaatannya sebagai bahan pakan yang lebih ekonomis dan ramah lingkungan juga dinilai mampu mendukung keberlanjutan sistem budidaya perikanan modern (Abedin et al., 2025).

Namun, pemanfaatan *Ceratophyllum* sp. masih terbatas karena tingginya serat kasar dan rendahnya kecernaan, yang mengurangi efektivitas penyerapannya sebagai sumber nutrisi bagi ikan. Untuk mengatasi kendala tersebut, fermentasi dengan mikroorganisme fungsional menjadi salah satu pendekatan yang menjanjikan guna meningkatkan kualitas nutrisi tanaman air ini. Fermentasi pakan dengan bantuan bakteri probiotik telah banyak dilaporkan mampu meningkatkan kadar protein, menurunkan kandungan serat kasar, serta memperbaiki ketersediaan mineral dan energi (Pfeuti et al., 2019; Butt et al., 2021). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa proses fermentasi dapat menghasilkan peptida bermolekul kecil yang mudah diserap serta kaya akan senyawa bioaktif (Crozatti et al., 2023; Zhang et al., 2023). Komponen tersebut tidak hanya meningkatkan kandungan nutrisi, tetapi juga berperan dalam memperkuat aktivitas antioksidan dan respons imun hewan, sehingga mendukung efisiensi penyerapan dan pemanfaatan bahan baku sekaligus meningkatkan nilai guna pakan. Ketersediaan pakan dengan kandungan nutrisi yang baik dan jumlah yang sesuai dengan kebutuhan ikan akan menghasilkan pertumbuhan yang optimal (Syahrizal et al., 2019; Deran et al., 2023). Oleh karena itu, *Ceratophyllum* sp. difermentasi sebagai upaya untuk meningkatkan kualitas nutrisinya.

Genus *Bacillus* merupakan kelompok bakteri yang banyak dimanfaatkan dalam akuakultur karena kemampuannya menghasilkan berbagai enzim ekstraseluler, seperti protease, amilase, lipase, dan selulase, yang berperan dalam mendegradasi senyawa kompleks menjadi bentuk yang lebih sederhana dan mudah diserap oleh ikan (Banerjee & Ray, 2017; Gobi et al., 2018). Aktivitas enzimatik yang beragam ini menjadi sangat penting karena pakan ikan umumnya mengandung bahan nabati dengan tingkat kompleksitas tinggi yang relatif sulit dicerna (Heng et al., 2023). Bakteri dengan aktivitas enzim amilase, lipase, dan protease mampu menghidrolisis karbohidrat, lipid, dan protein kompleks menjadi molekul sederhana, sehingga meningkatkan ketersediaan nutrisi bagi ikan (Yang et al., 2021). Selain itu, beberapa spesies *Bacillus* dilaporkan mampu meningkatkan kinerja pertumbuhan, efisiensi pakan, serta menjaga keseimbangan komunitas mikroba di lingkungan budidaya (Masriah, 2022). Bioslurry, yaitu limbah organik hasil fermentasi anaerob dari kotoran ternak, diketahui mengandung berbagai isolat bakteri potensial yang dapat digunakan sebagai agen fermentasi. Isolasi bakteri dari bioslurry menghasilkan beberapa kandidat probiotik, termasuk *Exiguobacterium aurantiacum*, *Bacillus cereus*, dan *Bacillus idriensis*, dengan aktivitas enzimatik yang beragam (Zaenab et al., 2025). Dari ketiga bakteri tersebut, *B. idriensis* menonjol karena kemampuannya menurunkan serat kasar secara signifikan sekaligus meningkatkan kandungan protein pada bahan pakan hasil fermentasi. Dengan demikian, pemanfaatan *B. idriensis* sebagai starter fermentasi berpotensi mengoptimalkan kualitas nutrisi *Ceratophyllum* sp. sebagai bahan baku alternatif pakan ikan bandeng.

Namun, informasi mengenai konsentrasi optimal *Ceratophyllum* sp. hasil fermentasi dalam formulasi pakan bandeng masih terbatas. Penelitian ini penting dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh berbagai konsentrasi fermentat *Ceratophyllum* sp. menggunakan *B. idriensis* isolat bioslurry terhadap pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan bandeng, sehingga dapat mendukung pengembangan pakan fungsional yang lebih murah, bernutrisi tinggi, dan ramah lingkungan bagi akuakultur berkelanjutan.

### **4.3. Metode Penelitian**

#### **4.1.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2024 sampai Februari 2025. Pembuatan pakan dilakukan di Laboratorium Perikanan, Fakultas Perikanan Universitas Cokroaminoto Makassar, pengujian kandungan nutrisi pakan dilakukan di Laboratorium kimia pakan, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin, dan pemeliharaan ikan uji dilaksanakan di Hatchery Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin,

#### **4.1.2 Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan akuarium, aerator, DO meter, pH meter, penggaris, hand refraktometer, dan timbangan analitik. Bahan yang digunakan adalah ikan bandeng dengan pemberian pakan yang diperkaya dengan berbagai konsentrasi *Ceratophyllum* sp. terfermentasi menggunakan *B. idriensis* isolat bioslurry berdasarkan hasil nutrisi terbaik yang diperoleh pada penelitian tahap *in vitro*.

#### **4.1.3 Prosedur penelitian**

##### **1. Hewan uji**

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah juvenil ikan bandeng berukuran kurang lebih 0.8gram yang berasal dari tempat pendederan di Kecamatan Labakkang Kab. Pangkep dengan penebaran 15 ekor tiap wadah pemeliharaan.

##### **2. Wadah pemeliharaan**

Wadah yang digunakan dalam penelitian ini adalah akuarium berukuran 50 × 45 × 45 cm. Ikan bandeng dipelihara selama 50 hari menggunakan air payau dengan salinitas 18-20 ppt. Air dalam akuarium diisi sebanyak 3/4 dari total volume untuk memastikan ruang gerak ikan serta menjaga stabilitas kualitas air. Pergantian air dilakukan setiap dua hari sekali sebanyak 25% dari total volume untuk mempertahankan kondisi lingkungan yang optimal bagi pertumbuhan ikan bandeng.

##### **3. Persiapan bakteri *Bacillus idriensis***

Bakteri yang digunakan merupakan isolat *Bacillus idriensis* yang diperoleh dari bioslurry. Media yang digunakan untuk pertumbuhan adalah Tryptone Soya Agar (TSA) sebagai kultur stok. Kultur stok diremajakan dengan mengambil satu ose isolat, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam untuk mengaktifkan kembali metabolisme dan pertumbuhan sel (Madigan et al., 2018; Cappuccino &

Welsh, 2017). Isolat yang telah diremajakan kemudian diinokulasikan ke dalam 10 mL Tryptone Soya Broth (TSB) steril dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam hingga mencapai fase logaritmik dengan kekeruhan kultur yang merata. Kultur cair yang diperoleh selanjutnya diencerkan secara bertingkat menggunakan TSB steril dengan perbandingan 1:10 hingga diperoleh suspensi dengan kerapatan  $1 \times 10^5$  CFU/mL. Konsentrasi akhir divalidasi menggunakan metode Total Plate Count (TPC) pada media TSA untuk memastikan jumlah sel bakteri sesuai target.

#### 4. Aplikasi Fermentasi *Ceratophyllum* sp. dalam pakan uji

*Ceratophyllum* sp. yang diperoleh dari area tambak terlebih dahulu dikeringkan tanpa paparan langsung sinar matahari untuk mempertahankan kandungan nutrisinya, kemudian digiling menggunakan mesin penggiling pakan hingga diperoleh tepung halus. Sebanyak 1 kg tepung *Ceratophyllum* sp. difermentasi menggunakan kultur *Bacillus idriensis* hasil isolasi dari bioslurry, dengan volume inokulum 1000 mL pada konsentrasi  $1 \times 10^5$  CFU/mL. Campuran dihomogenkan, kemudian dikemas dalam plastik nilon polietilen hitam dan diinkubasi secara anaerob pada suhu 37 °C selama 72 jam.

#### 5. Pakan uji

Pakan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah pakan buatan berbentuk pellet yang diformulasi dengan bahan baku seperti pada Tabel 4.1 dan hasil analisis kimia pakan pada Tabel 4.2. Proses pembuatan pakan diawali dengan pembuatan *Ceratophyllum* sp. terfermentasi, persiapan bahan baku lainnya, pengeringan, penepungan, pencampuran bahan baku pakan, pencetakan pakan, penjemuran pakan, serta pengemasan pakan. Frekuensi pemberian pakan ikan dilakukan tiga kali sehari pada pukul 07.00, 12.00, 17.00 sebanyak 5% dari bobot tubuh ikan.

**Tabel 4.1 Formulasi Pakan Uji**

| Bahan Baku                             | Pakan Perlakuan (%) |            |            |            |
|--|---------------------|------------|------------|------------|
|  | A (Kontrol)         | B (10%)    | C (15%)    | D (20%)    |
| Tepung Ikan                            | 26                  | 26         | 26         | 26         |
| Tepung Kedelai                         | 22                  | 12         | 7          | 2          |
| <i>Ceratophyllum</i> sp. terfermentasi | <b>0</b>            | <b>10</b>  | <b>15</b>  | <b>20</b>  |
| Tepung Pollard                         | 10                  | 10         | 10         | 10         |
| Tepung Jagung                          | 18                  | 18         | 18         | 18         |
| Tepung Bungkil Kelapa                  | 16                  | 16         | 16         | 16         |
| Lemak                                  | 4                   | 4          | 4          | 4          |
| Vitamin dan mineral mix                | 4                   | 4          | 4          | 4          |
| <b>Total</b>                           | <b>100</b>          | <b>100</b> | <b>100</b> | <b>100</b> |

**Tabel 4. 2 Analisis Proksimat pakan**

| Pakan | Proksimat (%) |        |       |             |        |
|-------|---------------|--------|-------|-------------|--------|
|       | Protein       | BETN   | Serat | Karbohidrat | Lemak  |
| A     | 28.207        | 34.142 | 6.492 | 40.635      | 16.390 |
| B     | 28.818        | 32.594 | 6.207 | 38.802      | 15.871 |
| C     | 29.123        | 31.820 | 6.065 | 37.885      | 15.611 |
| D     | 29.429        | 31.046 | 5.922 | 36.369      | 15.352 |

## 6. Aktivitas enzim

Pengukuran aktivitas enzim saluran pencernaan ikan uji dianalisis pada akhir penelitian. Pengambilan sampel dilakukan satu jam setelah pemberian pakan kemudian sampel diawetkan pada suhu  $-24^{\circ}\text{C}$ . Aktivitas enzim amilase dianalisis menggunakan substrat pati 1% dalam buffer natrium fosfat 20 mM (pH 6,9) yang mengandung NaCl 6,0 mM. Sebanyak 0,5 mL substrat direaksikan dengan 0,5 mL ekstrak enzim kasar dan diinkubasi selama 3 menit pada suhu  $95^{\circ}\text{C}$ . Reaksi dihentikan dengan penambahan 0,5 mL larutan asam dinitrosalisilat (DNS) dan dipanaskan selama 5 menit dalam air mendidih. Setelah didinginkan, absorbansi diukur pada panjang gelombang 540 nm. Konsentrasi maltosa yang terbentuk dihitung berdasarkan kurva standar.

Aktivitas enzim protease diukur menggunakan substrat kasein 0,65% dalam buffer K-fosfat 0,05 M (pH 7,5). Sebanyak 1 mL ekstrak enzim direaksikan dengan substrat dan diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 10 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan larutan TCA, kemudian disentrifugasi untuk memperoleh filtrat. Filtrat direaksikan dengan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dan reagen Folin-Ciocalteu, kemudian diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 660 nm dan konsentrasi tirosin ditentukan berdasarkan kurva standar.

Aktivitas enzim lipase ditentukan menggunakan emulsi minyak zaitun sebagai substrat dalam buffer Tris-HCl 0,1 M (pH 8,0). Sebanyak 1 mL ekstrak enzim direaksikan dengan substrat dan diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 6 jam. Reaksi dihentikan dengan penambahan etanol 95%, kemudian asam lemak bebas yang terbentuk dititrasi menggunakan larutan NaOH 0,01 N dengan indikator thymolphthalein. Perlakuan blanko dilakukan dengan prosedur yang sama tanpa aktivitas enzim.

## 7. Kecernaan total dan Kecernaan Nutrien

Kecernaan total pakan dan kecernaan nutrien ikan uji dianalisis dengan menggunakan indikator  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  dengan metode kecernaan hewan uji diukur dengan menggunakan indikator chromium oxide ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) sebanyak 0,6% dalam pakan. Pakan yang mengandung  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  tersebut diberikan ke hewan uji dan setelah 1 jam pemberian pakan dilakukan koleksi feses dengan cara penyifonan kemudian disaring dengan menggunakan kertas Whatman 41. Feses ikan uji yang dikoleksi tersebut dikeringkan dan dianalisis kandungan  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ , protein, lemak, serat kasar, dan

BETNnya.

## 8. Komposisi Kimia Tubuh

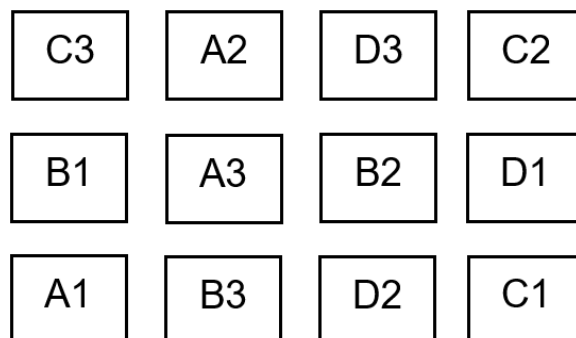
Untuk pengamatan komposisi kimia tubuh ikan bandeng, pada awal percobaan, sebanyak 3 ekor ikan diambil secara acak untuk analisa awal komposisi tubuh. Pada akhir penelitian (minggu ke-8), 5 ekor juvenil diambil secara acak untuk dianalisa komposisi kimia tubuh ikan uji.

## 9. Histopatologi Ikan

Sampel jaringan usus diambil pada akhir masa pemeliharaan. Sebanyak tiga ekor ikan dari setiap ulangan diambil secara acak dan dilakukan eutanasia secara humane. Usus bagian tengah diambil, dibersihkan dengan larutan fisiologis, lalu difiksasi dalam larutan formalin 10% selama 24-48 jam. Jaringan kemudian diproses melalui dehidrasi bertingkat menggunakan alkohol, pembersihan dengan xylol, dan ditanam dalam parafin. Irisan jaringan setebal 5 mikrometer dipotong menggunakan mikrotom, lalu ditempelkan pada kaca objek dan diwarnai menggunakan pewarna Hematoxylin-Eosin (H&E) untuk pengamatan histologis.

### 4.1.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan konsentrasi *Ceratophyllum* sp. terfermentasi dan tiga ulangan, sehingga diperoleh 12 satuan percobaan. Tata letak wadah percobaan pada setiap perlakuan disajikan pada Gambar 4.1



Gambar 4.1 Desain wadah penelitian

### 4.1.5 Parameter yang diamati

#### 1. Aktivitas Enzim

Aktivitas amilase dinyatakan dalam IU/mL dan dihitung dengan rumus Worthington (1993):

$$\text{Aktivitas Amilase (IU/mL)} = \frac{\mu\text{mol maltosa}}{\text{waktu inkubasi (menit)} \times \text{volume enzim (mL)}}$$

Aktivitas protease dinyatakan dalam IU/mL dan dihitung dengan rumus Cupp dan Enyard (2008):

$$\text{Aktivitas Protease (IU/mL)} = \frac{\mu\text{mol tirosin}}{\text{waktu inkubasi (menit)} \times \text{volume enzim (mL)}}$$

Aktivitas lipase dinyatakan dalam IU/mL dan dihitung menggunakan rumus Borlongan (1990):

$$\text{Aktivitas Lipase (IU/mL)} = \frac{(V_s - V_b) \times N_{\text{NaOH}} \times 10^6}{\text{waktu inkubasi (menit)} \times \text{volume enzim (mL)}}$$

## 2. Kecernaan Total dan Kecernaan Nutrien

Kecernaan Total dan Kecernaan Nutrien di analisis menggunakan rumus Takeuchi (1988):

$$\text{Kecernaan total} = 100 - (100 \times \frac{a}{a'})$$

$$\text{Kecernaan protein} = 100 - (100 \times \frac{a \times b'}{a' \times b})$$

$$\text{Kecernaan serat} = 100 - (100 \times \frac{a \times c'}{a' \times c})$$

$$\text{Kecernaan karbohidrat} = 100 - (100 \times \frac{a \times d'}{a' \times d})$$

$$\text{Kecernaan lemak} = 100 - (100 \times \frac{a \times e'}{a' \times e})$$

Keterangan :

A : % Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> dalam pakan.

a' : % Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> dalam feses

b : % protein dalam pakan

b' : % protein dalam feses

c : % serat dalam pakan

c' : % serat dalam feses

d : % karbohidrat dalam pakan

d' : % karbohidrat dalam feses

e : % lemak dalam pakan

e' : % lemak dalam feses

## 3. Komposisi Kimia Tubuh

Kadar air, protein kasar, lemak kasar, BETN dan abu dari tubuh ikan uji diukur dengan metode standar (AOAC, 1990). Kadar air diukur melalui pengeringan dalam oven pada 105°C selama 24 jam, protein kasar dianalisa dengan metode Kjeldahl, lemak kasar dianalisa dengan metode ekstraksi ether melalui system Soxhlet. Analisa kadar abu dilakukan dengan pengabuan pada suhu 550°C selama 24 jam dalam *muffle furnace*.

## 4. Retensi Nutrien

Retensi protein dan lemak dihitung berdasarkan formula Jouncey dan Ross (1988) sebagai berikut:

$$\text{Retensi Nutrisi} = \frac{\text{Jumlah nutrisi yang disimpan dalam tubuh}}{\text{Jumlah nutrisi yang dikonsumsi ikan}} \times 100$$

### 5. Pertumbuhan Berat Mutlak

Pertumbuhan berat mutlak dihitung dengan rumus Effendie (1997):

$$W_m = W_t - W_0$$

Keterangan:

$W_m$  = Pertumbuhan berat mutlak (gram),

$W_t$  = Berat rata-rata individu pada akhir penelitian (gram),

$W_0$  = Berat rata-rata individu pada awal penelitian (gram).

### 6. Laju Pertumbuhan Spesifik (SGR)

Laju pertumbuhan spesifik merupakan % dari selisih berat akhir dan berat awal, dibagi dengan lamanya waktu pemeliharaan. Menurut Zonneveld et al., (1991), rumus perhitungan laju pertumbuhan spesifik adalah:

$$\text{SGR} = \frac{\ln W_t - \ln W_0}{t} \times 100$$

Keterangan:

SGR = Laju pertumbuhan spesifik individu (%/hari),

$W_0$  = Berat rata-rata individu pada awal penelitian (gram),

$W_t$  = Berat rata-rata individu pada hari ke-t (gram),

t = Lama pemeliharaan (hari).

### 7. Feed Conversion Ratio (FCR)

Rasio konversi pakan atau food conversion ratio (FCR) dihitung berdasarkan rumus sebagai berikut Effendie (1997):

$$\text{FCR} = \frac{F}{(W_t + D) - W_0}$$

Keterangan:

FCR = Rasio konversi pakan

F = Berat pakan yang diberikan (gram)

$W_t$  = Biomassa hewan uji pada akhir pemeliharaan (gram)

D = Bobot ikan mati (gram)

$W_0$  = Biomassa hewan uji pada awal pemeliharaan (gram)

### 8. Efisiensi Pemanfaatan Pakan (EPP)

Nilai Efisiensi Pemanfaatan Pakan (EPP) dapat ditentukan dengan rumus sebagai berikut Tacon (1987):

$$\text{EPP} = \frac{W_t - W_0}{F} \times 100$$

Keterangan:

EPP = Efisiensi Pemanfaatan Pakan (%)

$W_0$  = Bobot biomassa ikan uji pada awal penelitian (gram)

$W_t$  = Bobot biomassa ikan uji pada akhir penelitian (gram)

F = Jumlah pakan ikan uji yang diberikan selama penelitian (gram)

## 9. Kelangsungan Hidup (SR)

Tingkat kelangsungan hidup (SR) dihitung dengan menggunakan rumus Effendie (1997):

$$SR = \frac{N_0 - N_t}{N_0} \times 100$$

SR = Kelangsungan hidup (%)

N<sub>t</sub> = Jumlah ikan yang hidup pada akhir pemeliharaan (ekor)

N<sub>0</sub> = Jumlah ikan pada awal pemeliharaan (ekor)

## 10. Histopatologi Ikan

Preparat diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100 kali dan 400 kali untuk menilai perubahan morfologis jaringan. Parameter yang diamati meliputi integritas fili, kondisi epitel, keberadaan edema pada submukosa, infiltrasi sel radang, dan jumlah sel goblet. Setiap parameter diberi skor berdasarkan tingkat keparahan, yaitu 0 (normal), 1 (ringan), 2 (sedang), dan 3 (parah). Skor rata-rata dihitung untuk masing-masing perlakuan guna dianalisis lebih lanjut.

### 4.1.6 Kualitas air

Selama penelitian berlangsung dilakukan pengukuran beberapa parameter kualitas air. Parameter kualitas air yang diukur meliputi suhu dengan menggunakan termometer skala 100°C, derajat keasaman (pH) dengan menggunakan pH meter, salinitas dengan menggunakan handrafraktometer. Parameter suhu, pH, dan salinitas diukur setiap 2 kali sehari pada pukul 08.00 dan 16.00 WITA.

### 4.1.7 Analisis data

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan ANOVA. Apabila terdapat pengaruh yang nyata, maka dilakukan Uji lanjut W-Tuckey untuk mengetahui perbedaan nilai antar perlakuan, sehingga dapat diperoleh hasil perlakuan yang terbaik. Untuk mendapatkan dosis optimum dinalisis menggunakan analisis regresi.

## 4.4. Hasil dan Pembahasan

### Aktifitas enzim dan pencernaan nutrisi

Aktivitas enzim pencernaan dan tingkat pencernaan nutrisi merupakan indikator utama pemanfaatan pakan secara fisiologis, karena enzim amilase, protease, dan lipase menentukan kemampuan ikan bandeng (*C. Chanos*) dalam mendegradasi nutrisi dalam pakan, sementara pencernaan menunjukkan jumlah nutrisi yang benar-benar diserap. Kedua parameter ini sangat dipengaruhi oleh kualitas bahan pakan dan keberadaan komponen bioaktif hasil fermentasi *Ceratophyllum* sp. yang dapat meningkatkan efisiensi hidrolisis. Berdasarkan hasil analisis ragam (anova) sebagaimana terangkum pada Tabel 4.3 terlihat bahwa pemberian berbagai konsentrasi *Ceratophyllum* sp. terfermentasi dalam pakan berpengaruh terhadap aktivitas enzim (amilase, protease, lipase) dan pencernaan (protein, lemak, serat, betn, dan pencernaan total) pada ikan bandeng (sing.<0,05).

Berdasarkan hasil uji W tuckey dari keseluruhan variabel tersebut terlihat bahwa terdapat hasil yang berbeda nyata antar perlakuan berbagai level konsentrasi *Ceratophyllum* sp. dalam pakan (0, 10, 15 dan 20%).

**Tabel 4.3. Rata-rata aktivitas enzim saluran pencernaan dan pencernaan nutrisi ikan bandeng yang diberi perlakuan berbagai konsentrasi *Ceratophyllum* sp. dalam pakan**

| Variabel                      | Konsentrasi <i>Ceratophyllum</i> sp. terfermentasi dalam pakan (%) |                           |                           |                            |
|-------------------------------|--|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
|                               | 0  | 10                        | 15                        | 20                         |
| Aktifitas enzim (IU/mL) ± std |  |                           |                           |                            |
| Amilase                       | 1,391±0,023 <sup>a</sup>   | 1,576±0,044 <sup>b</sup>  | 1,416±0,046 <sup>a</sup>  | 1,376±0,010 <sup>a</sup>   |
| Protease                      | 0,039±0,0007 <sup>a</sup>  | 0,060±0,0031 <sup>b</sup> | 0,059±0,0013 <sup>b</sup> | 0,080±0,0021 <sup>c</sup>  |
| Lipase                        | 0,053±0,0006 <sup>a</sup>  | 0,084±0,0007 <sup>b</sup> | 0,078±0,0017 <sup>c</sup> | 0,662±0,0006 <sup>d</sup>  |
| Kecernaan nutrisi (%) ± std   |  |                           |                           |                            |
| Protein                       | 85,538±0,661 <sup>a</sup>  | 89,466±0,369 <sup>b</sup> | 85,982±0,749 <sup>a</sup> | 78,069±1,055 <sup>c</sup>  |
| Lemak                         | 91,602±0,299 <sup>a</sup>  | 95,387±0,092 <sup>b</sup> | 94,178±0,288 <sup>c</sup> | 94,734±0,315 <sup>bc</sup> |
| Serat                         | 49,610±2,787 <sup>a</sup>  | 72,573±1,643 <sup>b</sup> | 62,067±0,267 <sup>c</sup> | 43,786±2,921 <sup>d</sup>  |
| BETN                          | 84,855±0,813 <sup>a</sup>  | 86,419±0,689 <sup>a</sup> | 80,144±0,879 <sup>b</sup> | 68,201±1,279 <sup>c</sup>  |
| Total                         | 76,439±1,073 <sup>a</sup>  | 84,415±0,568 <sup>b</sup> | 79,049±0,788 <sup>c</sup> | 67,421±1,184 <sup>d</sup>  |

Keterangan: Huruf superscript berbeda pada baris yang sama mengindikasikan perbedaan yang nyata antar perlakuan pada taraf kepercayaan 95% (p<0,05)

Hasil analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa penambahan *Ceratophyllum* sp. terfermentasi dalam pakan memberikan pengaruh yang signifikan terhadap aktivitas enzim pencernaan ikan bandeng (p<0,05). Berdasarkan hasil Uji Tukey, aktivitas amilase pada perlakuan 10% (1,576 ± 0,044 IU/mL) berbeda nyata (p<0,05) dibandingkan dengan perlakuan 0%, 15%, dan 20%, sebagaimana ditunjukkan oleh perbedaan huruf superskrip pada baris yang sama. Sementara itu, perlakuan 0%, 15%, dan 20% yang memiliki huruf superskrip yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan nyata satu sama lain (p>0,05). Hal ini mengindikasikan bahwa konsentrasi 10% merupakan tingkat perlakuan yang secara statistik memberikan respons maksimum terhadap aktivitas amilase.

Pada aktivitas protease, hasil Uji Tukey menunjukkan adanya perbedaan nyata antarperlakuan yang ditandai dengan variasi huruf superskrip yang berbeda pada setiap konsentrasi. Perlakuan 20% menunjukkan nilai tertinggi dan berbeda nyata dibandingkan perlakuan lainnya (p<0,05), diikuti oleh perlakuan 15%, sedangkan perlakuan 0% menunjukkan nilai terendah dan berbeda nyata dibandingkan konsentrasi yang lebih tinggi. Pola ini menunjukkan adanya respons dosis terhadap peningkatan konsentrasi bahan terfermentasi dalam pakan.

Pada aktivitas lipase, hasil Uji Tukey memperlihatkan bahwa setiap peningkatan konsentrasi menghasilkan kelompok yang berbeda nyata (p<0,05),

yang mengindikasikan bahwa perlakuan memberikan pengaruh yang konsisten dan bertingkat terhadap aktivitas enzim tersebut. Perlakuan 20% menunjukkan aktivitas lipase tertinggi dan berbeda nyata dibandingkan seluruh perlakuan lainnya, sedangkan perlakuan 0% menunjukkan aktivitas terendah.

Aktivitas protease menunjukkan tren peningkatan seiring bertambahnya konsentrasi *Ceratophyllum* sp. terfermentasi, dari  $0,039 \pm 0,0007$  IU/mL pada kontrol menjadi  $0,060 \pm 0,0031$  IU/mL pada 10% dan  $0,059 \pm 0,0013$  IU/mL pada 15%, serta mencapai nilai tertinggi pada 20% ( $0,080 \pm 0,0021$  IU/mL). Hal ini mencerminkan bahwa protein nabati hasil fermentasi semakin mudah dihidrolisis menjadi peptida dan asam amino, sehingga merangsang sekresi dan aktivitas protease. Namun demikian, peningkatan aktivitas protease yang paling tinggi pada konsentrasi 20% tidak diikuti oleh peningkatan kinerja pertumbuhan, yang menunjukkan bahwa respons enzimatik yang berlebihan tidak selalu berbanding lurus dengan efisiensi pemanfaatan nutrisi secara keseluruhan.

Pola yang relatif serupa juga terlihat pada aktivitas lipase, yang meningkat dari  $0,053 \pm 0,0006$  IU/mL pada perlakuan 0% menjadi  $0,084 \pm 0,0007$  IU/mL pada 10%, kemudian sedikit menurun pada 15% ( $0,078 \pm 0,0017$  IU/mL) dan mencapai nilai tertinggi pada 20% ( $0,662 \pm 0,0006$  IU/mL). Peningkatan ini menunjukkan bahwa lipid dalam pakan terfermentasi semakin mudah diakses oleh sistem pencernaan ikan. Namun, pada konsentrasi tinggi, dominasi aktivitas lipase dan protease yang tidak diimbangi oleh optimalisasi amilase berpotensi mengganggu keseimbangan metabolisme energi, sehingga efisiensi pakan dan pertumbuhan tidak meningkat secara proporsional.

Peningkatan aktivitas enzim pencernaan pada perlakuan 10% mengindikasikan adanya respons fisiologis positif ikan terhadap perbaikan kualitas pakan hasil fermentasi. Fermentasi oleh *Bacillus idriensis* berkontribusi terhadap penyediaan enzim hidrolitik serta metabolit bioaktif yang mampu merangsang sekresi enzim pencernaan endogen ikan. Hal ini sejalan dengan peran genus *Bacillus* sebagai produsen utama amilase, protease, dan lipase dalam berbagai sistem biologis dan bioteknologi (Elsadek et al., 2023; Li et al., 2023), serta kemampuannya mensekresikan enzim hidrolitik selama proses biotransformasi bahan organik (Crozatti et al., 2023). Selain itu, fleksibilitas metabolik *B. idriensis* dalam mendegradasi senyawa kompleks, termasuk 2-methylisoborneol (2-MIB), memperkuat relevansinya sebagai agen fermentasi bahan tanaman kompleks seperti *Ceratophyllum* sp. (Du et al., 2017). Penurunan kinerja enzimatik pada konsentrasi tinggi mendukung temuan sebelumnya bahwa tingkat konsentrasi bahan terfermentasi yang berlebihan dapat meningkatkan beban metabolik saluran cerna dan menurunkan efisiensi fisiologis ikan (Abd Rashid et al., 2022; Sandstrom et al., 2022). Secara keseluruhan, hasil ini menegaskan bahwa suplementasi *Ceratophyllum* sp. terfermentasi pada konsentrasi 10% merupakan kondisi paling optimum dalam meningkatkan aktivitas enzim pencernaan utamanya amilase dengan nilai  $1,576 \pm 0,044$  IU/mL sehingga mendukung pencernaan, penyerapan nutrisi, dan kinerja pertumbuhan ikan bandeng secara efisien dan seimbang.

Pada perlakuan 0% yang tidak mengandung *Ceratophyllum* sp.

terfermentasi, aktivitas enzim pencernaan tercatat lebih rendah dibandingkan perlakuan 10% karena pakan tidak mengalami proses biokonversi mikroba. Dalam kondisi ini, karbohidrat kompleks, protein struktural, dan lipid masih berada dalam bentuk polimer yang relatif sulit dihidrolisis oleh sistem pencernaan ikan. Ketiadaan proses fermentasi menyebabkan tidak terbentuknya senyawa antara, seperti gula sederhana dan peptida bioaktif, yang umumnya berperan sebagai pemicu sekresi enzim pencernaan. Akibatnya, aktivitas amilase, protease, dan lipase pada perlakuan kontrol berada pada tingkat basal, yang merefleksikan kapasitas fisiologis dasar ikan dalam mencerna pakan konvensional tanpa dukungan teknologi fermentasi.

Selain itu, tidak adanya komponen bioaktif yang berasal dari *Ceratophyllum* sp. terfermentasi, menyebabkan saluran pencernaan ikan tidak memperoleh stimulus tambahan untuk meningkatkan aktivitas enzimatik. Pada kondisi ini, sistem pencernaan ikan hanya bergantung pada produksi enzim endogen, yang secara alami dibatasi oleh kemampuan fisiologis dan tingkat kematangan saluran cerna. Hal ini menjelaskan mengapa perlakuan tanpa bahan terfermentasi tidak menunjukkan peningkatan aktivitas enzim pencernaan, berbeda dengan perlakuan yang menerima pakan hasil fermentasi yang telah mengalami perbaikan ketersediaan dan ketercernaan nutrisi.

Sebaliknya, suplementasi *Ceratophyllum* sp. terfermentasi pada tingkat 10% menyediakan nutrisi dalam bentuk yang lebih sederhana serta memasok metabolit hasil aktivitas mikroba, yang secara sinergis mampu merangsang respons adaptif sistem pencernaan ikan. Kondisi ini memperkuat hubungan positif antara kualitas pakan, respons enzimatik, dan performa fisiologis ikan, sebagaimana dilaporkan oleh Luo et al. (2023). Metabolit yang dihasilkan selama fermentasi, termasuk enzim hidrolitik dan senyawa fungsional, juga berperan dalam memperbaiki kesehatan usus, meningkatkan efisiensi pencernaan, dan mengoptimalkan penyerapan nutrisi (Tamang et al., 2016). Dengan demikian, perbedaan aktivitas enzim antara perlakuan 0% dan 10% menegaskan bahwa keberadaan bahan terfermentasi tidak hanya meningkatkan kualitas nutrisi pakan, tetapi juga memicu adaptasi fisiologis saluran cerna yang mendukung efisiensi pencernaan dan pemanfaatan nutrisi secara optimal.

Hasil pengamatan terhadap aktivitas enzim pencernaan ikan bandeng dengan penambahan *Ceratophyllum* sp. terfermentasi dalam pakan yang menunjukkan pengaruh berbeda pada masing-masing jenis enzim. Berdasarkan analisis statistik ( $p < 0,05$ ), pemberian *Ceratophyllum* sp. terfermentasi memberikan pengaruh nyata terhadap pencernaan nutrisi ikan bandeng. Perlakuan 10% menunjukkan nilai pencernaan tertinggi untuk protein ( $89,466 \pm 0,369\%$ ), lemak ( $95,387 \pm 0,092\%$ ), BETN ( $86,419 \pm 0,689\%$ ), serta pencernaan total ( $84,415 \pm 0,568\%$ ), dibandingkan perlakuan 0%, 15%, dan 20%. Pencernaan serat juga meningkat pada 10% ( $72,573 \pm 1,643\%$ ), meskipun menurun kembali pada konsentrasi lebih tinggi. Sebaliknya, perlakuan 20% menunjukkan penurunan pencernaan hampir pada semua parameter, dengan nilai pencernaan total terendah ( $67,421 \pm 1,184\%$ ). Visualisasi grafik kromatogram hubungan berbagai jenis

konsentrasi *Ceratophyllum* sp. terfermentasi dalam pakan (%) dengan aktivitas enzim pencernaan ikan bandeng menunjukkan aktivitas amilase terdeteksi pada seluruh perlakuan dengan puncak intensitas tertinggi pada level 10% dan 15% (Lampiran 5). Berdasarkan hasil penelitian terhadap parameter pencernaan nutrisi, perlakuan dengan konsentrasi 10% *Ceratophyllum* sp. terfermentasi menunjukkan nilai pencernaan yang paling stabil dan relatif tinggi dibandingkan perlakuan lainnya, terutama pada protein dan serat (Lampiran 6).

Hasil penelitian pada pencernaan protein tertinggi ditunjukkan pada perlakuan 10% *Ceratophyllum* sp. terfermentasi ( $89,466 \pm 0,369\%$ ) yang mencerminkan kondisi fisiologis saluran pencernaan ikan bandeng yang berada pada titik keseimbangan optimal antara ketersediaan substrat protein dan kapasitas sistem enzimatik. Pada tingkat ini, fermentasi oleh *Bacillus idriensis* mampu mengonversi protein nabati kompleks menjadi fraksi protein sederhana berupa peptida dan asam amino melalui aktivitas protease mikroba, sehingga protein menjadi lebih mudah dihidrolisis lebih lanjut oleh enzim pencernaan endogen ikan. Proses ini tidak hanya meningkatkan pencernaan protein, tetapi juga menurunkan kebutuhan energi metabolik untuk pencernaan, sehingga nutrisi dapat lebih efisien dialokasikan untuk pertumbuhan jaringan tubuh (Huang et al., 2024).

Status nutrisi dan kondisi fisiologis ikan umumnya dinilai melalui parameter biokimia, salah satunya kadar protein (Gomez-Limia et al., 2021). Dalam penelitian ini, suplementasi *Ceratophyllum* sp. terbukti berpengaruh terhadap pencernaan protein. Pada perlakuan kontrol (0%), pencernaan protein sekitar 85.5%, terlihat bahwa sistem pencernaan ikan bandeng pada kondisi tersebut masih bekerja secara konvensional dengan mengandalkan enzim endogen tanpa dukungan biokonversi mikroba. Pada pakan kontrol, struktur protein nabati masih relatif kompleks dan terikat dengan matriks serat serta senyawa antinutrisi, sehingga proses hidrolisis protein berlangsung kurang efisien dan kecernaannya berada pada tingkat sedang. Tidak adanya kontribusi enzim protease mikroba dan metabolit fermentasi menyebabkan protein pakan tidak sepenuhnya tersedia dalam bentuk yang mudah diserap oleh usus ikan. Temuan ini sejalan dengan laporan Salem et al. (2015) bahwa peningkatan dosis mannan oligosakarida (MOS) dalam pakan dapat meningkatkan pemanfaatan dan kandungan protein pada ikan bass laut, sehingga menunjukkan bahwa bahan aditif berbasis fermentasi atau prebiotik mampu meningkatkan efisiensi pencernaan dan penyerapan nutrisi pada ikan.

Pada penambahan 15%, nilai pencernaan protein menurun menjadi sekitar 85.98%, namun masih lebih tinggi dibandingkan kontrol. Penurunan yang paling signifikan terjadi pada perlakuan 20%, di mana pencernaan protein hanya sekitar 78.07%, terendah di antara semua perlakuan. Hasil ini mengindikasikan bahwa penambahan *Ceratophyllum* sp. yang optimal untuk meningkatkan pencernaan protein adalah pada perlakuan 10%, sedangkan penambahan berlebihan dapat menurunkan efisiensi pemanfaatan protein. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan level bahan terfermentasi telah melampaui kapasitas fisiologis pencernaan ikan. Meskipun *B. idriensis* tetap menghasilkan enzim protease dalam jumlah tinggi, akumulasi metabolit fermentasi, perubahan rasio protein–energi, serta kemungkinan masih

tersisanya fraksi antinutrisi yang tidak sepenuhnya terdegradasi dapat mengganggu keseimbangan mikrobiota usus dan menurunkan efisiensi penyerapan protein. Kondisi ini menyebabkan sebagian protein yang telah terhidrolisis tidak dimanfaatkan secara optimal, bahkan berpotensi meningkatkan beban osmotik dan stres fisiologis pada saluran cerna. Fenomena tersebut menegaskan bahwa efektivitas fermentasi tidak hanya ditentukan oleh tingginya aktivitas enzim, tetapi juga oleh kesesuaian tingkat konsentrasi bahan terfermentasi dengan kemampuan adaptasi pencernaan ikan, sebagaimana dilaporkan oleh Huang et al. (2024).

Pola pencernaan serat yang diamati berkaitan erat dengan perubahan aktivitas enzim pencernaan serta peran *Bacillus idriensis* dalam proses fermentasi. Pada perlakuan 10% *Ceratophyllum* sp. terfermentasi, peningkatan pencernaan serat hingga sekitar 72,57% sejalan dengan meningkatnya aktivitas enzim pencernaan, khususnya enzim-enzim hidrolitik yang berperan dalam pemecahan komponen kompleks pakan. Fermentasi oleh *B. idriensis* diduga menghasilkan enzim selulolitik dan metabolit bioaktif yang mampu merombak struktur dinding sel tanaman, sehingga fraksi serat menjadi lebih sederhana dan mudah diakses oleh enzim pencernaan endogen ikan. Kondisi ini menciptakan sinergi antara enzim hasil fermentasi dan enzim saluran cerna ikan, yang pada akhirnya meningkatkan efisiensi hidrolisis dan penyerapan nutrisi. Sebaliknya, pada perlakuan 0% tanpa *Ceratophyllum* sp. terfermentasi, aktivitas enzim pencernaan berada pada tingkat basal karena tidak adanya stimulasi dari hasil fermentasi maupun kontribusi enzim mikroba. Akibatnya, struktur serat tetap kompleks dan sulit didegradasi, sehingga pencernaan serat relatif rendah. Pada tingkat penambahan 15% dan terutama 20%, meskipun aktivitas enzim tertentu seperti protease dan lipase masih meningkat, efisiensi pencernaan serat justru menurun. Hal ini menunjukkan bahwa kapasitas enzimatik, baik yang berasal dari *B. idriensis* maupun dari ikan, tidak lagi seimbang dengan jumlah dan kompleksitas substrat serat yang masuk. Akumulasi residu fermentasi atau fraksi serat resisten berpotensi menghambat kerja enzim pencernaan dan mempercepat kejenuhan sistem pencernaan.

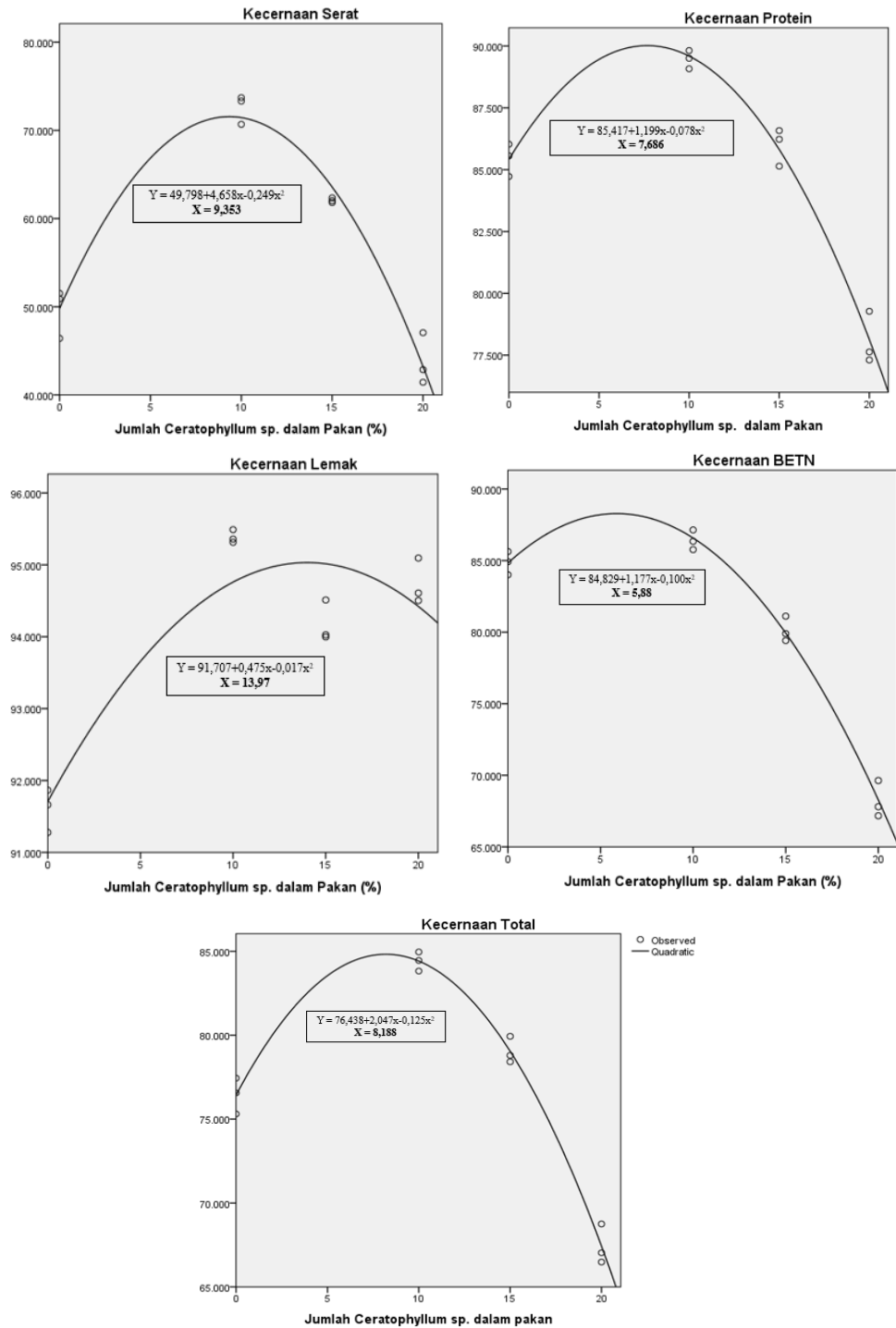
Dengan demikian, keterkaitan antara aktivitas enzim pencernaan dan peran *B. idriensis* menegaskan bahwa suplementasi *Ceratophyllum* sp. terfermentasi pada tingkat 10% merupakan kondisi optimum. Pada tingkat ini, aktivitas enzim pencernaan distimulasi secara efektif oleh hasil fermentasi *B. idriensis* tanpa menimbulkan beban metabolik berlebih, sehingga pencernaan serat dan efisiensi pemanfaatan nutrisi dapat berlangsung secara maksimal.

Peningkatan pencernaan nutrisi pada konsentrasi optimal ini sejalan dengan temuan sebelumnya yang menunjukkan bahwa fermentasi bahan nabati mampu menurunkan kadar senyawa antinutrisi, seperti tanin dan lignin, sekaligus meningkatkan aktivitas enzim pencernaan dan bioavailabilitas nutrisi (Wang et al., 2025). Selain itu, kemampuan metabolik *B. idriensis* dalam mendegradasi senyawa kompleks seperti 2-methylisoborneol (2-MIB) (Du et al., 2017) mencerminkan fleksibilitas enzimatik bakteri tersebut dalam memecah senyawa yang resisten terhadap degradasi, sehingga relevan dengan perannya sebagai agen fermentasi yang efektif dalam meningkatkan kualitas dan pencernaan bahan pakan berbasis

tanaman.

Analisis korelasi dalam studi Chen et al. (2024) menunjukkan bahwa starter kultur *Lactiplantibacillus plantarum* dan *Weissella cibaria* mampu memodulasi komposisi mikroba dan secara khusus mengarahkan pembentukan metabolit asam lemak tertentu, sehingga meningkatkan stabilitas oksidatif selama fermentasi. Temuan ini mendukung hasil penelitian pada penggunaan *Ceratophyllum* sp. terfermentasi dalam pakan ikan, di mana peningkatan kualitas fermentasi berkaitan erat dengan perbaikan proses pencernaan lipid. Pada penelitian ini, penambahan *Ceratophyllum* sp. terbukti memengaruhi pencernaan lemak secara signifikan. Perlakuan kontrol (0%) menunjukkan pencernaan lemak sekitar 91,6%, sedangkan perlakuan 10% menghasilkan nilai tertinggi, yakni 95,38%. Pada perlakuan 15% dan 20%, pencernaan lemak masing-masing mencapai 94,17% dan 94,73%, yang keduanya tetap lebih tinggi dibandingkan kontrol. Secara keseluruhan, hasil ini mengindikasikan bahwa penambahan *Ceratophyllum* sp. terfermentasi dengan probiotik *B. Idriensis* 10% mampu meningkatkan pencernaan lemak, dengan efektivitas optimal terlihat pada tingkat 10%, kemungkinan terkait dengan peningkatan metabolisme lipid akibat proses fermentasi yang lebih stabil dan terarah sebagaimana dijelaskan oleh Chen et al. (2024).

Penambahan *Ceratophyllum* sp. dalam pakan mempengaruhi pencernaan total. Pada perlakuan kontrol (0% *Ceratophyllum* sp.), nilai pencernaan total berada pada kisaran 76.44%. Peningkatan kadar *Ceratophyllum* sp. hingga 10% menghasilkan pencernaan total tertinggi, yaitu sekitar 84.41%, menunjukkan adanya perbaikan yang nyata dibandingkan kontrol. Pada penambahan 15%, nilai pencernaan total menurun menjadi sekitar 79.05%, walaupun masih lebih tinggi dibandingkan kontrol. Penurunan tajam terjadi pada penambahan 20%, di mana pencernaan total hanya sekitar 67.42%, terendah di antara semua perlakuan. Hasil ini menunjukkan bahwa penambahan *Ceratophyllum* sp. yang optimal untuk meningkatkan pencernaan total adalah pada perlakuan 10%. Secara spesifik dan akurat konsentrasi terbaik dari *Ceratophyllum* sp. terfermentasi dalam pakan ikan untuk memberikan pencernaan optimum pada ikan bandeng tersaji pada Gambar 4.2.



**Gambar 4.2** Persamaan kuadrat hubungan berbagai konsentrasi *Ceratophyllum sp.* terfermentasi dalam pakan (%) dengan kecernaan nutrisi dan kecernaan total ikan bandeng

Berdasarkan hasil analisis persamaan kuadrat hubungan berbagai konsentrasi *Ceratophyllum* sp. terfermentasi dalam pakan (%) dengan pencernaan nutrisi dan pencernaan total ikan bandeng pada Gambar 4.2 terlihat bahwa secara keseluruhan grafik tersebut memiliki bentuk yang sama namun memiliki persamaan dan titik puncak (x) yang berbeda. Titik puncak pada grafik ini mengindikasikan konsentrasi *Ceratophyllum* sp. terfermentasi dalam pakan yang optimum terhadap respons pencernaan nutrisi dan pencernaan total ikan bandeng. Kecernaan serat optimal pada 9,353%; pencernaan protein pada 7,686%; pencernaan lemak pada 13,97%; pencernaan BETN pada 5,88% serta pencernaan total pada 8,188% *Ceratophyllum* sp. terfermentasi dalam pakan.

### Komposisi kimia tubuh dan retensi nutrisi

Pengukuran komposisi kimia tubuh dan retensi nutrisi merupakan indikator penting dalam evaluasi nutrisi ikan karena keduanya menggambarkan bagaimana pakan dimetabolisme, disimpan, dan dimanfaatkan untuk pertumbuhan. Komposisi kimia tubuh menunjukkan status nutrisi ikan, dan retensi nutrisi mencerminkan efisiensi penyerapan dan pemanfaatan protein, lemak, dan energi dari pakan, sehingga keduanya sangat penting dalam menentukan kualitas pakan dan performa pertumbuhan dalam budidaya ikan bandeng (*C. chanos*) (Gomez-Limia et al., 2021). Berdasarkan hasil penelitian, komposisi kimia tubuh dan retensi nutrisi ikan dapat dilihat pada Tabel 4.4.

**Tabel 4.4. Rata-rata komposisi kimia tubuh dan retensi nutrisi ikan bandeng yang diberi perlakuan berbagai konsentrasi *Ceratophyllum* sp. dalam pakan**

| Variabel                         | Konsentrasi <i>Ceratophyllum</i> sp. terfermentasi dalam pakan (%) |                          |                           |                           |
|----------------------------------|--|--------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                                  | 0  | 10                       | 15                        | 20                        |
| Komposisi kimia tubuh (%) ± std: |  |                          |                           |                           |
| Air                              | 78,47±0,065 <sup>a</sup>   | 77,99±0,489 <sup>a</sup> | 77,95±0,135 <sup>a</sup>  | 78,57±0,855 <sup>a</sup>  |
| Protein                          | 62,13±0,841 <sup>a</sup>   | 64,62±0,327 <sup>b</sup> | 64,15±0,333 <sup>b</sup>  | 64,22±0,912 <sup>b</sup>  |
| Lemak                            | 5,42±0,055 <sup>a</sup>  | 5,40±0,108 <sup>a</sup>  | 5,91±0,116 <sup>b</sup>   | 5,24±0,070 <sup>a</sup>   |
| Serat Kasar                      | 0,16±0,010 <sup>a</sup>  | 0,19±0,010 <sup>b</sup>  | 0,22±0,015 <sup>c</sup>   | 0,18±0,006 <sup>ab</sup>  |
| BETN                             | 13,98±0,214 <sup>a</sup>   | 14,03±0,193 <sup>a</sup> | 13,49±0,586 <sup>b</sup>  | 13,05±0,006 <sup>c</sup>  |
| Abu                              | 18,31±0,040 <sup>a</sup>   | 15,77±0,030 <sup>b</sup> | 16,24±0,025 <sup>c</sup>  | 16,64±0,110 <sup>d</sup>  |
| Energi<br>(kkal/gram)            | 3,54±0,029 <sup>a</sup>  | 3,64±0,030 <sup>bc</sup> | 3,65±0,019 <sup>c</sup>   | 3,57±0,030 <sup>ab</sup>  |
| Retensi nutrisi (%) ± std:       |  |                          |                           |                           |
| Protein                          | 49,21±2,982 <sup>a</sup>   | 56,82±1,135 <sup>b</sup> | 54,60±1,143 <sup>ab</sup> | 54,26±3,100 <sup>ab</sup> |
| Lemak                            | 10,68±0,340 <sup>a</sup>   | 10,90±0,681 <sup>a</sup> | 14,33±0,743 <sup>b</sup>  | 10,23±0,456 <sup>a</sup>  |
| Energi<br>(kkal/gram)            | 48,68±0,695 <sup>a</sup>   | 52,26±0,724 <sup>b</sup> | 53,03±0,467 <sup>b</sup>  | 51,51±0,746 <sup>b</sup>  |

Keterangan: huruf superscript berbeda pada baris yang sama mengindikasikan perbedaan yang nyata antar perlakuan pada taraf kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ )

Secara umum, tubuh ikan terdiri atas air, protein, lemak, karbohidrat, dan abu, dengan protein dan lemak menjadi dua komponen gizi yang paling berpengaruh terhadap nilai nutrisi ikan (Balami et al., 2019; Shoba et al., 2020). Air merupakan fraksi terbesar dari bobot tubuh ikan dan berperan penting sebagai medium bagi transportasi nutrisi serta berbagai reaksi biokimia. Pada sebagian besar spesies ikan, kadar air ini berada dalam kisaran 65–80% dari total berat tubuh (Balami et al., 2019).

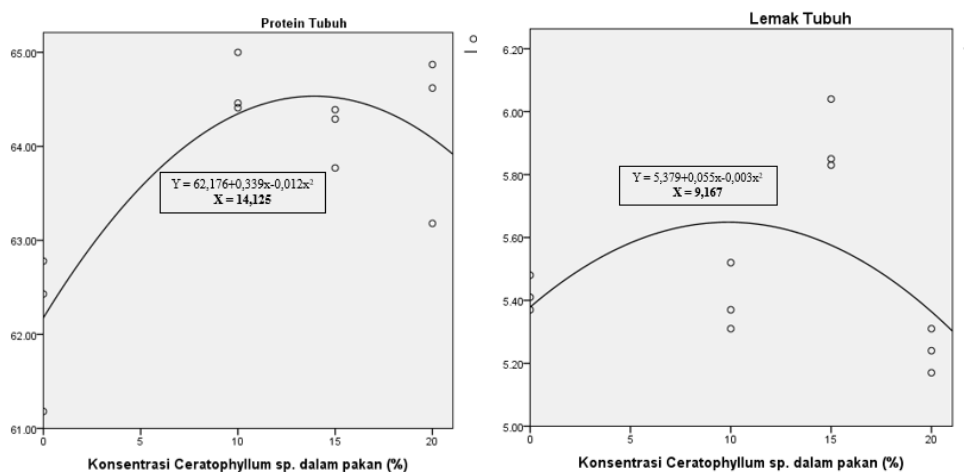
Hasil pada Tabel 4.4 menunjukkan bahwa penambahan *Ceratophyllum* sp. terfermentasi tidak hanya memengaruhi pertumbuhan, tetapi juga secara langsung berimplikasi pada pola deposisi nutrisi dan efisiensi pemanfaatan pakan oleh ikan bandeng. Kandungan protein tubuh dan retensi protein yang paling tinggi pada perlakuan 10% (64,62% dan 56,82%) mengindikasikan bahwa pada tingkat ini terjadi keseimbangan optimal antara ketersediaan asam amino, aktivitas enzim pencernaan, dan kebutuhan fisiologis ikan. Fermentasi oleh *Bacillus idriensis* diduga meningkatkan fraksi protein terlarut dan peptida bioaktif, sehingga protein pakan lebih banyak diarahkan untuk sintesis jaringan tubuh dibandingkan terbuang sebagai nitrogen terlarut. Kondisi ini mencerminkan efisiensi metabolisme nitrogen yang lebih baik dibandingkan kontrol, di mana protein pakan masih dalam bentuk kompleks dan pemanfaatannya kurang maksimal.

Relatif stabilnya kandungan lemak tubuh antarperlakuan menunjukkan bahwa energi dari pakan terutama dimanfaatkan untuk pertumbuhan, bukan disimpan sebagai cadangan lemak berlebih. Namun, meningkatnya retensi lemak pada perlakuan 15% mengindikasikan adanya pergeseran jalur pemanfaatan energi, di mana kelebihan nutrisi dari pakan terfermentasi mulai disimpan sebagai lipid. Hal ini menandakan bahwa pada dosis di atas 10%, keseimbangan antara protein dan energi mulai bergeser, sehingga efisiensi konversi nutrisi ke jaringan protein menurun. Fenomena ini umum terjadi ketika suplai energi melebihi kapasitas optimal pemanfaatan protein untuk pertumbuhan.

Peningkatan kandungan abu seiring bertambahnya dosis *Ceratophyllum* sp. terfermentasi menunjukkan bahwa proses fermentasi oleh *B. idriensis* berperan dalam melepaskan mineral dari matriks dinding sel tanaman, sehingga mineral tersebut lebih mudah diserap dan terdeposit dalam tubuh ikan. Mekanisme ini sejalan dengan laporan Li et al. (2023) yang menyatakan bahwa biodegradasi dinding sel tanaman oleh bakteri fermentatif meningkatkan ketersediaan mineral esensial. Dengan demikian, peningkatan abu mencerminkan perbaikan status mineral tubuh, bukan akumulasi senyawa non-nutritif. Nilai energi tubuh yang relatif stabil antarperlakuan menunjukkan bahwa ikan bandeng mampu mempertahankan keseimbangan energi internal. Namun, kecenderungan peningkatan retensi energi pada pakan terfermentasi, khususnya pada kisaran 10–20%, mengindikasikan bahwa energi dari pakan dimanfaatkan lebih efisien, baik untuk pertumbuhan jaringan maupun pemeliharaan metabolisme. Pada perlakuan 10%, energi yang tersedia tampak lebih banyak diarahkan untuk sintesis protein tubuh, sedangkan pada dosis lebih tinggi sebagian energi dialihkan ke penyimpanan lemak.

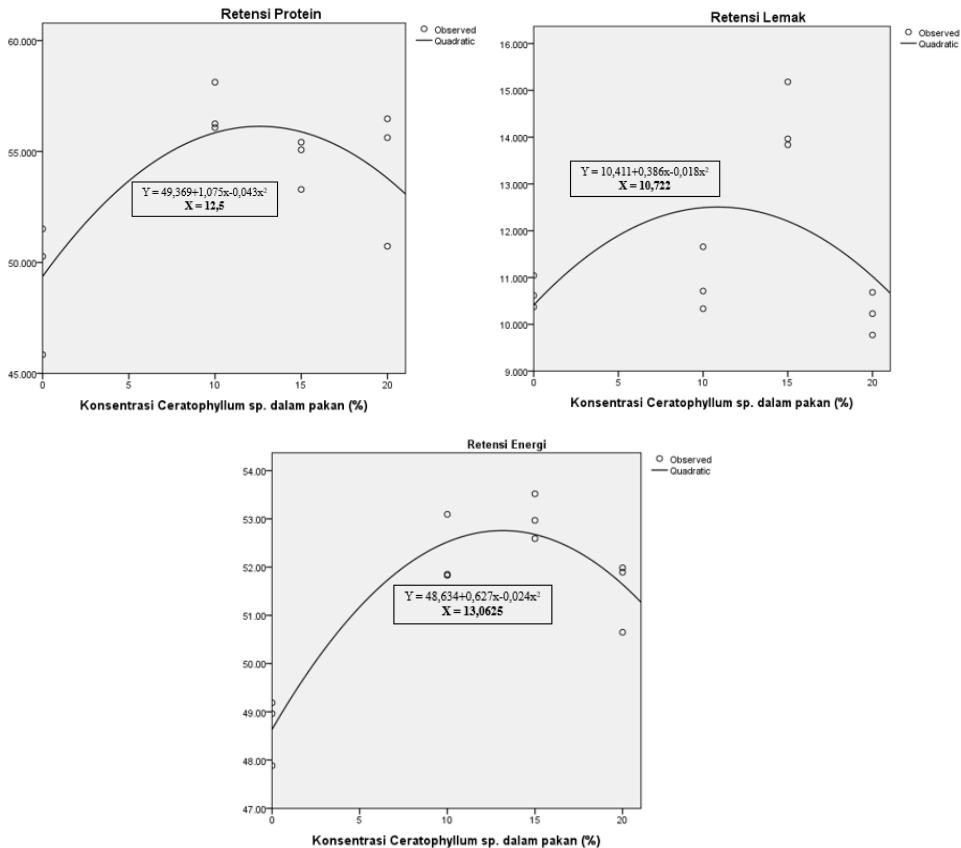
Secara keseluruhan, formulasi pakan dengan 10% *Ceratophyllum* sp. terfermentasi memberikan respons fisiologis paling seimbang, ditandai oleh tingginya kandungan protein tubuh dan retensi protein tanpa peningkatan lemak tubuh yang berlebihan. Hal ini menunjukkan bahwa pada tingkat tersebut, hasil fermentasi mampu mengoptimalkan pemanfaatan nutrisi melalui peningkatan pencernaan, efisiensi metabolisme, dan deposisi nutrisi yang lebih terarah, sehingga mendukung performa nutrisi ikan bandeng secara maksimal, sebagaimana juga tercermin pada visualisasi komposisi kimia tubuh pada Lampiran 7.

Hasil persamaan kuadrat hubungan berbagai konsentrasi *Ceratophyllum* sp. dalam pakan (%) dengan kadar protein dan lemak tubuh ikan bandeng pada ikan bandeng tersaji pada Gambar 4.3



**Gambar 4.3** Persamaan kuadrat hubungan berbagai konsentrasi *Ceratophyllum* sp. dalam pakan (%) dengan kadar protein dan lemak tubuh ikan bandeng

Gambar 4.3 memperlihatkan persamaan kuadrat hubungan berbagai konsentrasi *Ceratophyllum* sp. terfermentasi dalam pakan (%) dengan kadar protein dan lemak tubuh pada ikan bandeng. Grafik pada persamaan tersebut memiliki persamaan dan titik puncak (x) sebagai konsentrasi *Ceratophyllum* sp. terfermentasi dalam pakan yang optimum terhadap komposisi protein dan lemak tubuh ikan bandeng. Konsentrasi *Ceratophyllum* sp. terfermentasi dalam pakan yang optimum untuk menghasilkan protein tubuh terbaik adalah 14,125% sedangkan untuk menghasilkan kadar lemak tubuh terbaik adalah 9,167%.



**Gambar 4.4 Persamaan kuadratik hubungan berbagai konsentrasi *Ceratophyllum* sp. dalam pakan (%) dengan retensi nutrisi ikan bandeng**

Gambar 4.4 menunjukkan bahwa variasi konsentrasi *Ceratophyllum* sp. dalam pakan berkorelasi dengan perbedaan tingkat retensi protein, lemak, dan energi, meskipun secara statistik hubungan tersebut tidak signifikan ( $\chi^2 = 12,00$ ;  $p = 0,213$ ). Pada retensi protein, nilai tertinggi ( $\geq 55,71\%$ ) cenderung ditemukan pada konsentrasi 5–12,5%, sedangkan nilai terendah ( $< 51,735\%$ ) terlihat pada konsentrasi  $< 5\%$  dan  $\geq 17,5\%$ . Untuk retensi lemak, nilai tertinggi ( $\geq 12,615\%$ ) muncul pada konsentrasi 12,5–17,5%, sementara nilai terendah ( $< 10,455\%$ ) terdapat pada konsentrasi  $< 5\%$ . Retensi energi tertinggi ( $\geq 52,645\%$ ) terjadi pada konsentrasi 12,5–17,5%, dan nilai terendah ( $< 50,095\%$ ) terdapat pada konsentrasi  $< 5\%$ . Secara umum, konsentrasi *Ceratophyllum* sp. pada kisaran menengah (5–17,5%) cenderung memberikan retensi nutrisi lebih baik dibandingkan konsentrasi sangat rendah atau sangat tinggi. Hal ini sejalan dengan persamaan kuadratik yang memperlihatkan bahwa konsentrasi *Ceratophyllum* sp. dalam pakan yang optimum untuk memberikan retensi protein terbaik adalah 12,5%, retensi lemak 10,722% dan retensi energi 13,0626%.

Retensi nutrisi merupakan indikator penting dalam menilai efektivitas pemanfaatan pakan oleh ikan, karena menunjukkan seberapa besar protein, lemak, dan energi dari pakan yang benar-benar diserap dan disimpan dalam jaringan tubuh. Dalam penelitian ini, pengukuran retensi nutrisi bertujuan untuk mengetahui sejauh mana proses fermentasi *Ceratophyllum sp.* dalam meningkatkan ketersediaan dan ketercernaan nutrisi sehingga mendukung akumulasi biomassa secara optimal. Sejumlah penelitian telah mengeksplorasi penggunaan sumber protein nabati yang difermentasi ke dalam pakan ikan dengan menghasilkan hasil yang menjanjikan (Dossou et al., 2018; Hassaan et al., 2017; Moniruzzaman et al., 2018)

Retensi nutrisi dikaitkan dengan keberadaan enzim yang diproduksi oleh *B. idriensis* selama proses fermentasi, dan kemampuan enzim ini untuk meningkatkan hidrolisis protein, lemak dan energi. Pemberian *Ceratophyllum sp.* terfermentasi dalam pakan dengan konsentrasi 10% menunjukkan hasil yang paling optimum. Hal ini berarti bahwa ketersediaan serta ketercernaan nutrisi bagi ikan bandeng cukup untuk menunjukkan bahwa pakan dengan kandungan *Ceratophyllum sp.* terfermentasi mampu meningkatkan pemecahan protein nabati dan aktivitas lipase di saluran pencernaan. Hal ini sejalan dengan penelitian Gopalraaj et al. (2024) yang menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dalam proses fermentasi pakan.

### Kinerja Pertumbuhan

Penggunaan *Ceratophyllum sp.* terfermentasi oleh *B. idriensis* sebagai sumber protein nabati dalam formulasi pakan akuakultur menunjukkan potensi besar menggantikan tepung kedelai dengan meningkatkan pertumbuhan, efisiensi pakan, dan kelangsungan hidup ikan bandeng (*Chanos chanos*), sebagaimana terlihat pada Tabel 4.5.

**Tabel 4.5 Rata-rata pertumbuhan, EPP, FCR, survival rate, dan faktor kondisi ikan bandeng yang diberi perlakuan berbagai konsentrasi *Ceratophyllum sp.* dalam pakan**

| Variabel                      | Konsentrasi <i>Ceratophyllum sp.</i> terfermentasi dalam pakan (%) |                           |                          |                          |
|-------------------------------|--|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                               | 0  | 10                        | 15                       | 20                       |
| Pertumbuhan bobot mutlak (g)  | 8.39±0.160 <sup>a</sup>  | 8.91±0.174 <sup>b</sup>   | 7.65±0.196 <sup>c</sup>  | 7.76±0.155 <sup>c</sup>  |
| Laju pertumbuhan spesifik (%) | 4.88±0.035 <sup>a</sup>  | 4.99±0.036 <sup>b</sup>   | 4.71±0.045 <sup>c</sup>  | 4.74±0.035 <sup>c</sup>  |
| FCR                           | 1.193±0.025 <sup>a</sup>   | 1.123±0.023 <sup>a</sup>  | 1.306±0.025 <sup>b</sup> | 1.287±0.025 <sup>b</sup> |
| EPP (%)                       | 83.90±1.600 <sup>a</sup>   | 89.06±1.738 <sup>b</sup>  | 76.53±1.861 <sup>c</sup> | 77.60±1.552 <sup>c</sup> |
| Kelangsungan hidup (%)        | 84.44±10.184 <sup>a</sup>  | 88.89±10.183 <sup>a</sup> | 82.22±7.702 <sup>a</sup> | 82.22±7.702 <sup>a</sup> |
| Faktor Kondisi                | 1.05±0.017 <sup>a</sup>  | 1.05±0.007 <sup>a</sup>   | 0.95±0.012 <sup>a</sup>  | 0.95±0.024 <sup>a</sup>  |

Keterangan: huruf superscript berbeda pada baris yang sama mengindikasikan perbedaan yang nyata antar perlakuan pada taraf kepercayaan 95% (p<0,05).

Berdasarkan hasil analisis ragam (anova) pada tabel 4.5 terlihat bahwa pemberian berbagai konsentrasi *Ceratophyllum* sp. dalam pakan berpengaruh terhadap pertumbuhan mutlak, laju pertumbuhan spesifik, FCR, dan efisiensi pemberian pakan pada ikan bandeng (sing.<0,05) dan tidak berpengaruh nyata terhadap survival rate (<0,05) dan faktor kondisi ikan bandeng (<3). Faktor kondisi ikan bandeng pada setiap perlakuan adalah <3 yang mengindikasikan bahwa ikan bandeng dalam penelitian ini mengalami pertumbuhan alometrik negatif, yakni pertumbuhan panjang lebih cepat dibanding pertumbuhan berat. Berdasarkan hasil uji W tuckey dari pertumbuhan mutlak, laju pertumbuhan spesifik, FCR, efisiensi pemberian pakan tersebut terlihat bahwa terdapat hasil yang berbeda nyata antar perlakuan berbagai level konsentrasi *Ceratophyllum* sp. dalam pakan (0, 10, 15 dan 20%).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tingkat konsentrasi *Ceratophyllum* sp. terfermentasi sebesar 10% merupakan formulasi yang paling optimal dalam mendukung pertumbuhan mutlak, laju pertumbuhan spesifik, rasio konversi pakan (FCR), dan efisiensi pemanfaatan pakan ikan bandeng. Pada tingkat ini, proses fermentasi oleh *Bacillus idriensis* berperan penting dalam meningkatkan kualitas bahan baku melalui pemecahan senyawa kompleks, seperti polisakarida dan protein berikatan kuat, menjadi fraksi yang lebih sederhana dan mudah dicerna. Fermentasi juga berkontribusi menurunkan kadar serat kasar yang umumnya membatasi pemanfaatan bahan nabati dalam pakan ikan, sehingga meningkatkan aksesibilitas nutrisi dan merangsang aktivitas enzim pencernaan, khususnya protease dan amilase, di saluran cerna ikan (Wang et al., 2021). Peningkatan pencernaan ini menyebabkan nutrisi hasil fermentasi dimanfaatkan secara lebih efisien untuk proses anabolisme, seperti sintesis protein dan pembentukan jaringan tubuh. Selain itu, komposisi nutrisi *Ceratophyllum* sp. terfermentasi pada level 10% dinilai telah memenuhi kebutuhan fisiologis ikan bandeng yang memerlukan protein berkualitas tinggi, pasokan energi yang seimbang, serta nutrisi yang mudah diserap untuk mendukung pertumbuhan dan efisiensi metabolisme. Hasil yang sama juga ditunjukkan pada penelitian Kong et al. (2020) yang menggunakan BAL pada ikan *Channa argus*. Sebaliknya, pada tingkat konsentrasi yang lebih tinggi, kemungkinan terjadi ketidakseimbangan nutrisi atau peningkatan serat residu yang dapat membatasi pencernaan dan pemanfaatan pakan. Dengan demikian, hasil ini menegaskan bahwa penggunaan *Ceratophyllum* sp. terfermentasi sebanyak 10% memberikan keseimbangan optimal antara peningkatan nilai nutrisi bahan pakan dan kapasitas fisiologis ikan bandeng dalam mencerna serta memanfaatkan nutrisi secara efisien.

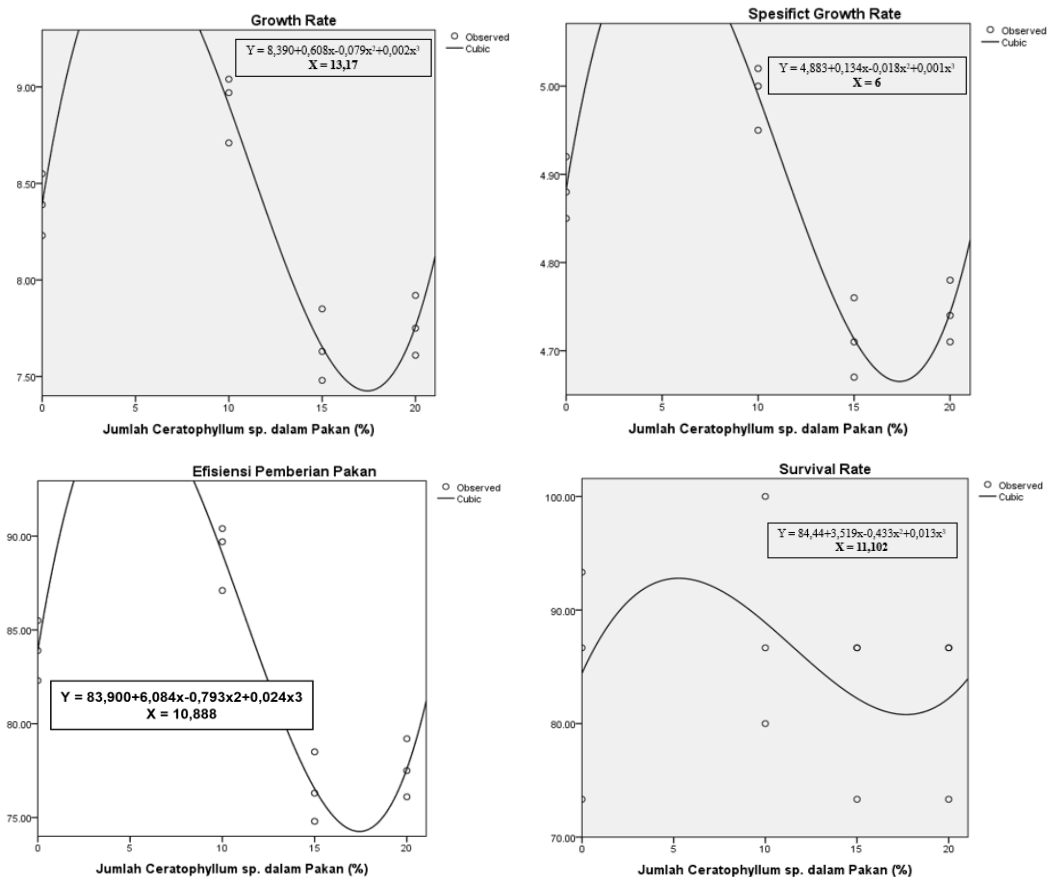
Pada perlakuan A (tanpa penambahan *Ceratophyllum* sp. terfermentasi), formulasi pakan masih sepenuhnya mengandalkan tepung kedelai sebagai sumber protein nabati utama. Penggunaan tepung kedelai menghadapi beberapa kendala strategis, terutama terkait harga yang relatif tinggi serta statusnya sebagai komoditas pangan utama bagi manusia. Ketersediaan global yang terbatas dan tingginya permintaan untuk konsumsi manusia menimbulkan persaingan langsung antara sektor pangan dan industri pakan, sehingga berpotensi memengaruhi stabilitas harga

dan keberlanjutan penyediaannya sebagai bahan baku pakan (Goehring et al., 2020).

Selain itu, tingginya ketergantungan pada kedelai juga berkontribusi pada tekanan terhadap sistem produksi pertanian global dan isu keberlanjutan jangka panjang (Arriaga-Hernandez et al., 2021). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan *Ceratophyllum* sp. terfermentasi pada tingkat 10% mampu menggantikan fungsi nutrisi dari tepung kedelai dalam mendukung pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan bandeng.

Secara umum, pola makan ikan bersifat dinamis dan dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti suhu, kualitas air, fase pertumbuhan, dan komposisi pakan. Fluktuasi nafsu makan ini menjadi aspek krusial dalam manajemen akuakultur, karena berdampak langsung terhadap efisiensi pemanfaatan pakan (Mahboob et al., 2018). Jika pakan tidak dikonsumsi secara optimal, tidak hanya terjadi pemborosan biaya, tetapi juga penurunan performa pertumbuhan dan potensi pencemaran lingkungan. Oleh karena itu, strategi formulasi pakan yang tepat sangat diperlukan untuk meningkatkan efisiensi pakan. Salah satu pendekatan yang efektif adalah penggunaan bahan baku alternatif seperti *Ceratophyllum* sp. yang telah difermentasi. Fermentasi dapat meningkatkan pencernaan nutrisi, mengurangi senyawa antinutrisi, serta memperbaiki profil asam amino, sehingga pakan lebih mudah dicerna dan diserap oleh ikan (Lopez-gomez et al., 2020; Natalia et al., 2022).

Penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan *Ceratophyllum* sp. terfermentasi sebanyak 10% dengan menggunakan *B. Idriensis* dalam formulasi pakan mampu meningkatkan efisiensi pemanfaatan pakan (EPP) dan mendukung pertumbuhan optimal ikan bandeng (Du et al., 2022). Hasil penelitian Yousuf et al. (2017) menunjukkan tingginya kemampuan enzimatis berbagai spesies *Bacillus* mendukung temuan bahwa *B. idriensis* juga memiliki potensi hidrolitik kuat dalam menghasilkan enzim yang efektif meningkatkan kualitas nutrisi *Ceratophyllum* sp. selama fermentasi. Dengan demikian, penggunaan *Ceratophyllum* sp. terfermentasi merupakan salah satu solusi formulasi pakan yang ekonomis dan berkelanjutan untuk meningkatkan efisiensi produksi dalam budidaya ikan.



**Gambar 4.5** Persamaan kubik hubungan konsentrasi *Ceratophyllum sp.* terfermentasi dalam pakan (%) dengan pertumbuhan mutlak, laju pertumbuhan spesifik, efisiensi pemberian pakan dan survival rate ikan bandeng

Penggunaan kurva kubik sebagai model regresi menunjukkan adanya titik optimal yang perlu diperhatikan dalam formulasi pakan, agar tidak terjadi over-supply yang justru menurunkan efisiensi. Berdasarkan hasil analisis persamaan kubik hubungan berbagai konsentrasi *Ceratophyllum sp.* terfermentasi dalam pakan (%) dengan pertumbuhan mutlak, laju pertumbuhan spesifik, efisiensi pemberian pakan dan survival rate ikan bandeng pada Gambar 4.5 terlihat bahwa secara keseluruhan grafik tersebut memiliki persamaan dan titik puncak (x) sebagai konsentrasi *Ceratophyllum sp.* terfermentasi dalam pakan yang optimum dalam respon masing-masing variabel. Konsentrasi *Ceratophyllum sp.* terfermentasi dalam pakan yang optimum untuk menghasilkan pertumbuhan mutlak adalah 13.17%; laju pertumbuhan spesifik adalah 6%; efisiensi pemberian pakan adalah 11.088%; dan survival rate adalah 11.102%.

Nilai optimum pertumbuhan dan efisiensi pemanfaatan pakan (EPP) yang dicapai pada tingkat konsentrasi 10% menunjukkan bahwa pada konsentrasi ini terjadi keseimbangan paling tepat antara ketersediaan nutrisi, pencernaan, dan kapasitas fisiologis ikan dalam memanfaatkan pakan. Pada level tersebut, hasil fermentasi *Ceratophyllum* sp. telah mampu meningkatkan kualitas nutrisi bahan baku melalui pemecahan senyawa kompleks menjadi bentuk yang lebih sederhana, sehingga nutrisi seperti protein dan karbohidrat tersedia dalam jumlah dan proporsi yang sesuai untuk mendukung metabolisme energi serta sintesis jaringan. Selain itu, tingkat serat dan residu senyawa hasil fermentasi masih berada pada ambang yang dapat ditoleransi oleh sistem pencernaan ikan, sehingga tidak mengganggu proses penyerapan nutrisi.

Sebaliknya, pada tingkat konsentrasi yang lebih tinggi (15% dan 20%), penurunan performa pertumbuhan dan EPP mengindikasikan bahwa kapasitas pencernaan dan metabolik ikan mulai terlampaui. Peningkatan proporsi bahan terfermentasi berpotensi menyebabkan akumulasi metabolit sisa fermentasi, seperti asam organik atau senyawa hasil degradasi parsial, yang dapat memengaruhi palatabilitas pakan dan keseimbangan fisiologis saluran cerna. Selain itu, meskipun fermentasi mampu menurunkan faktor anti-nutrisi, degradasinya sering kali tidak berlangsung sempurna pada bahan nabati dalam jumlah tinggi, sehingga fraksi anti-nutrisi residual masih dapat menghambat aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan nutrisi (Moon et al., 2020; Akpabli-Tsigbe et al., 2021). Kondisi ini menyebabkan nutrisi yang dikonsumsi tidak sepenuhnya dimanfaatkan untuk pertumbuhan, melainkan terbuang melalui ekskresi, yang tercermin pada menurunnya efisiensi pakan. Dengan demikian, level 10% merepresentasikan titik keseimbangan optimal antara peningkatan kualitas pakan melalui fermentasi dan kemampuan fisiologis ikan dalam memanfaatkan nutrisi secara efektif.

Penggantian tepung ikan secara berlebihan dengan protein nabati dalam formulasi pakan telah diketahui dapat memberikan dampak negatif terhadap kinerja pertumbuhan berbagai hewan akuatik. Hal ini disebabkan oleh keterbatasan asam amino esensial, rendahnya pencernaan, serta adanya senyawa antinutrisi dalam bahan nabati yang tidak seluruhnya dapat didegradasi oleh sistem pencernaan ikan. Penelitian sebelumnya telah melaporkan efek serupa pada *Micropterus salmoides* (He et al., 2022) dan *Litopenaeus vannamei* (Chen et al., 2025), di mana penggantian protein hewani secara berlebihan menurunkan performa pertumbuhan dan efisiensi pakan. Hasil penelitian ini menunjukkan tren yang sejalan, di mana penggunaan *Ceratophyllum* sp. terfermentasi sebanyak 15% dan 20% dalam pakan ikan bandeng menyebabkan penurunan nilai pertumbuhan mutlak, laju pertumbuhan spesifik, serta efisiensi pemberian pakan (EPP). Hal ini kemungkinan besar disebabkan oleh akumulasi senyawa residu fermentasi atau antinutrisi yang belum terurai sempurna, serta ketidakseimbangan komposisi asam amino yang tidak mendukung sintesis protein tubuh secara optimal. Oleh karena itu, pemanfaatan *Ceratophyllum* sp. yang memiliki ketersediaan tinggi di perairan lokal dan dapat difermentasi untuk meningkatkan kualitas nutrisinya, menjadi alternatif yang lebih ekonomis dan berkelanjutan dalam pakan ikan budidaya. Strategi ini sejalan dengan tren

pengembangan pakan akuakultur yang mengedepankan sumber bahan lokal, berbiaya rendah, dan ramah lingkungan (Wang et al., 2025).

Protein nabati pada umumnya tersusun dalam bentuk makromolekul kompleks yang sulit dimanfaatkan secara optimal oleh ikan karena keterbatasan sistem pencernaan dalam menghidrolisisnya menjadi peptida dan asam amino fungsional. Kondisi ini menyebabkan protein nabati murni tidak secara langsung memberikan efek fisiologis spesifik, kecuali setelah mengalami proses hidrolisis yang menghasilkan peptida bioaktif (Sa et al., 2020). Fermentasi berperan penting dalam mengatasi keterbatasan tersebut melalui aktivitas enzimatik mikroba yang memecah protein kompleks menjadi peptida rantai pendek dan asam amino bebas, sehingga meningkatkan ketersediaan nutrisi sekaligus memunculkan aktivitas biologis yang mendukung pertumbuhan dan metabolisme ikan (Fan et al., 2025). Pada tingkat konsentrasi 10%, *Ceratophyllum* sp. terfermentasi berada pada proporsi yang paling sesuai dengan kapasitas fisiologis ikan bandeng (*C. chanos*) dalam memanfaatkan protein nabati hasil fermentasi. Proses fermentasi oleh *B. idriensis* tidak hanya meningkatkan kandungan protein dan kecernaannya, tetapi juga menurunkan fraksi serat kasar dan senyawa antinutrisi seperti tanin yang dapat menghambat penyerapan nutrisi. Dengan berkurangnya hambatan tersebut, protein nabati menjadi lebih efisien dimanfaatkan untuk sintesis jaringan dan pertumbuhan. Selain itu, peptida hasil fermentasi berpotensi berperan sebagai sumber energi cepat dan molekul bioaktif yang mendukung efisiensi metabolisme, sehingga performa pertumbuhan yang dihasilkan dapat menyamai pakan berbasis protein hewani (Li et al., 2022; He et al., 2022). Temuan ini menunjukkan bahwa fermentasi mampu meningkatkan kualitas biologis protein nabati hingga mencapai tingkat yang optimal bagi pertumbuhan ikan bandeng, sekaligus memperkuat potensi *Ceratophyllum* sp. terfermentasi sebagai sumber protein alternatif yang berkelanjutan dalam formulasi pakan akuakultur modern.

Tidak adanya perbedaan yang signifikan pada nilai survival rate (SR) antar perlakuan menunjukkan bahwa penambahan *Ceratophyllum* sp. terfermentasi hingga konsentrasi tertinggi masih berada dalam batas toleransi fisiologis ikan bandeng dan tidak menimbulkan efek toksik maupun stres letal. Hal ini mengindikasikan bahwa proses fermentasi telah mampu menurunkan atau menetralkan senyawa antinutrisi dan komponen berpotensi merugikan yang umumnya terdapat pada bahan nabati, sehingga tidak berdampak langsung terhadap kelangsungan hidup ikan. Kecenderungan penurunan SR pada konsentrasi yang lebih tinggi lebih berkaitan dengan menurunnya efisiensi pemanfaatan nutrisi dan meningkatnya beban metabolik pencernaan, bukan akibat gangguan kesehatan akut atau mortalitas, sebagaimana dilaporkan bahwa pakan fermentasi lebih berpengaruh pada performa fisiologis dibandingkan kelangsungan hidup (Shi et al., 2023).

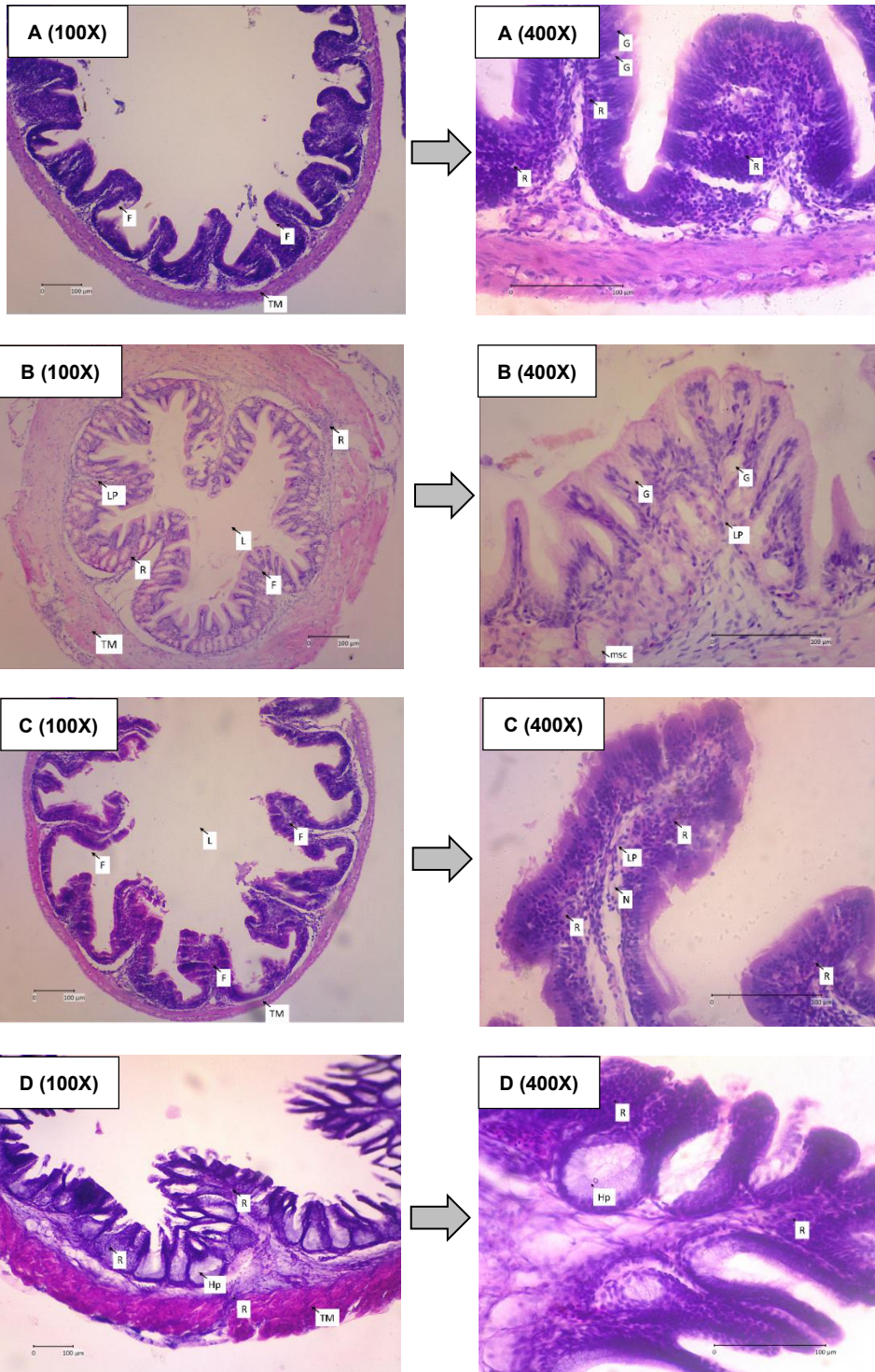
Nilai SR yang tetap tinggi pada perlakuan tanpa penambahan *Ceratophyllum* sp. terfermentasi menunjukkan bahwa pakan kontrol telah mampu memenuhi kebutuhan nutrisi dasar dan menjaga kondisi fisiologis ikan bandeng selama masa pemeliharaan. Pakan komersial atau pakan dasar umumnya dirancang untuk mempertahankan kelangsungan hidup ikan, meskipun belum tentu optimal dalam

mendorong pertumbuhan maksimum. Hal ini sejalan dengan temuan bahwa efektivitas pakan fermentasi sangat dipengaruhi oleh kombinasi dan karakteristik strain mikroba yang digunakan (Luo et al., 2021). Berbagai mikroorganisme seperti *Bacillus subtilis* dan *Saccharomyces cerevisiae* telah banyak digunakan sebagai starter fermentasi dalam produksi pakan akuakultur karena kemampuannya meningkatkan kualitas nutrisi tanpa menimbulkan dampak negatif terhadap kelangsungan hidup (Anwar et al., 2020). Selain itu, penggunaan *Aspergillus niger* sebagai inokulum fermentasi protein nabati dalam fermentasi padat juga dilaporkan mampu meningkatkan kualitas pakan dan mendukung tingkat kelangsungan hidup organisme budidaya (Sugiwati et al., 2021). Temuan ini menegaskan bahwa pakan fermentasi, termasuk *Ceratophyllum* sp. terfermentasi, berperan sebagai strategi peningkatan kinerja pertumbuhan dan efisiensi nutrisi tanpa mengorbankan survival rate ikan, selama diformulasikan dan diaplikasikan secara tepat.

Menentukan strategi pemanfaatan pakan yang efisien merupakan aspek krusial dalam akuakultur karena dapat menekan biaya produksi sekaligus meningkatkan profitabilitas pembudidaya. Dalam praktik budidaya, penentuan kebutuhan nutrisi yang tepat menjadi faktor utama, sebab kekurangan maupun kelebihan nutrisi dapat menimbulkan dampak negatif terhadap kesehatan dan performa ikan (Do-Huu et al., 2018). Secara keseluruhan, hasil penelitian ini mendukung temuan sebelumnya bahwa penggunaan bahan nabati hasil fermentasi dapat meningkatkan kualitas pakan melalui peningkatan pencernaan, ketersediaan nutrisi, dan aktivitas enzimatik (Islam et al., 2024).

### **Histopatologi usus**

Parameter histopatologi usus digunakan untuk menilai kesehatan dan fungsi saluran pencernaan ikan selama penelitian, dengan mengamati perubahan struktur jaringan seperti tinggi vili, kedalaman kript, ketebalan mukosa, jumlah sel goblet, dan integritas epitel. Variasi morfologi tersebut mencerminkan respons fisiologis ikan terhadap pakan, termasuk tingkat stres dan efektivitas penyerapan nutrisi (Wang et al., 2020). Hasil pengamatan histologis juga memungkinkan identifikasi potensi kerusakan jaringan, seperti inflamasi, degenerasi sel, atau nekrosis, yang dapat terjadi akibat perlakuan pakan. Dengan demikian, analisis histopatologi usus pada ikan bandeng memberikan gambaran menyeluruh mengenai pengaruh pakan *Ceratophyllum* sp. terfermentasi terhadap fungsi saluran cerna dan efisiensi penyerapan nutrisi, sebagaimana ditampilkan pada Gambar 4.6.



**Gambar 4.6 Histopatologi usus ikan pemberian konsentrasi *Ceratophyllum* sp. terfermentasi dalam pakan A (0%), B (10%), C (15%) dan D (20%)**

Keterangan:

TM (tunika muskularis), L (lumen), R (radang), F (fili usus), Sel goblet (G), LP (lamina propria), Hp (hypertrophy), msc (Mucus secreting cell).

Usus berperan sebagai pusat utama proses pencernaan dan penyerapan pada ikan, sekaligus menjadi garis pertahanan pertama terhadap masuknya berbagai zat berbahaya (Hou et al., 2022; Wang et al., 2020). Hasil pengamatan histologi menunjukkan adanya perbedaan pada struktur jaringan usus ikan yang diberi pakan dengan berbagai tingkat penambahan *Ceratophyllum* sp. terfermentasi menggunakan bakteri *B. idriensis* (Gambar 4.6). Pada perlakuan kontrol (0% tanpa fermentasi), perubahan histologis seperti penipisan tunika muskularis, akumulasi sel radang, dan berkurangnya jumlah sel goblet kemungkinan terjadi karena pakan nonfermentasi lebih sulit dicerna dan mengandung komponen kompleks seperti serat kasar dan antinutrien yang belum terurai, sehingga menimbulkan iritasi ringan pada mukosa usus dan meningkatkan beban pencernaan (Hou et al., 2022). Pakan yang tidak difermentasi juga memiliki ketersediaan nutrisi yang lebih rendah, sehingga mengurangi stimulasi fisiologis terhadap lapisan otot usus dan berdampak pada penurunan aktivitas sekresi mukus. Berkurangnya sel goblet mencerminkan respons stres atau adaptasi awal terhadap pakan yang lebih keras dicerna, sementara infiltrasi sel radang menunjukkan aktivasi mekanisme pertahanan lokal terhadap partikel pakan yang berpotensi mengiritasi epitel (Xu et al., 2023). Secara keseluruhan, perubahan ini menunjukkan adanya penyesuaian fisiologis usus ikan terhadap pakan nonfermentasi yang kurang ramah bagi sistem pencernaan.

Pada perlakuan dengan kandungan 10% *Ceratophyllum* sp. terfermentasi memperlihatkan struktur jaringan usus yang relatif normal. Lapisan tunika muskularis, mukosa, dan lumen tampak utuh, sedangkan sel goblet masih banyak ditemukan di antara filia usus. Kondisi ini mencerminkan aktivitas mukosa yang optimal serta respon imun mukosa yang seimbang, menandakan bahwa konsentrasi fermentasi *Ceratophyllum* sp. 10% dalam pakan mampu meningkatkan kecernaan bahan pakan tanpa menimbulkan stres pada jaringan. Hal ini sejalan dengan temuan Ringo et al. (2018) dan Hoseinifar et al. (2017), bahwa pakan yang mengandung probiotik atau bahan terfermentasi dapat meningkatkan kesehatan epitel usus melalui peningkatan populasi mikroba menguntungkan dan sekresi mukus pelindung.

Bahan terfermentasi yang berlebihan dapat memicu oksidasi lipid dan protein pada sel epitel usus, sehingga mengganggu integritas dan kesehatan jaringan (Hou et al., 2022; Zhang et al., 2021). Dalam penelitian ini, peningkatan konsentrasi *Ceratophyllum* sp. terfermentasi terbukti meningkatkan aktivitas enzim usus, sebagaimana juga dilaporkan oleh Mata-Sotres et al. (2016) pada ikan *Sparus aurata* dan Zheng et al. (2023) pada ikan *Ictalurus punctatus*. Aktivitas enzim yang lebih tinggi tersebut menunjukkan adanya respons terhadap stres oksidatif, di mana peningkatan enzim antioksidan diperlukan untuk mempertahankan homeostasis oksidatif (Zhang et al., 2021). Namun, ketika konsentrasi fermentasi melebihi batas optimal, seperti pada perlakuan 15%, muncul kerusakan jaringan

yang lebih berat berupa penipisan tunika muskularis, hilangnya sel goblet, serta akumulasi sel radang dan nekrosis di sekitar lamina propria. Kondisi ini menandakan adanya iritasi mukosa dan stres oksidatif yang kemungkinan disebabkan oleh akumulasi metabolit fermentasi atau ketidakseimbangan mikrobiota (Nayak, 2010; Merrifield et al., 2010). Pada konsentrasi lebih tinggi (20%), terjadi hipertrofi sel penghasil mukus dan peradangan difus, yang menunjukkan respons adaptif kronis terhadap iritasi, di mana peningkatan sekresi mukus berfungsi sebagai mekanisme perlindungan. Secara keseluruhan, tingkat fermentasi *Ceratophyllum* sp. yang terlalu tinggi (>10%) justru berdampak negatif terhadap integritas usus dan menurunkan efisiensi penyerapan nutrisi serta performa pertumbuhan ikan.

Hasil penelitian dengan penambahan 10% *Ceratophyllum* sp. terfermentasi merupakan konsentrasi paling optimal dalam menjaga struktur histologis dan fungsi fisiologis usus. Konsentrasi di atas 10% cenderung menimbulkan efek stres dan peradangan yang dapat menghambat penyerapan nutrisi. Temuan ini mendukung hipotesis bahwa bakteri *B. idriensis* hasil isolasi dari bioslurry mampu meningkatkan kualitas pakan fermentasi dan kesehatan saluran pencernaan pada konsentrasi moderat, namun dapat menjadi berlebih bila diaplikasikan secara intensif (Hoseinifar et al., 2021).

### Kualitas air

Parameter kualitas air yang diukur pada media pemeliharaan selama penelitian berlangsung antara lain suhu, pH, dan salinitas. Hasil pengukuran kualitas air selama penelitian tersebut tersaji pada Tabel 4.6.

**Tabel 4.6 Kualitas air selama pemeliharaan**

| No. | Parameter       | Kisaran yang diperoleh |
|-----|-----------------|------------------------|
| 1   | Suhu (°C)       | 26-29                  |
| 2   | Salinitas (ppt) | 18-20                  |
| 3   | pH              | 6-7                    |

Kualitas air selama pemeliharaan ikan bandeng (*Chanos chanos*) berada pada kisaran suhu 26-29°C, salinitas 18-20 ppt, dan pH 6-7. Suhu dianggap sebagai faktor abiotik utama (Reid et al., 2022) yang secara signifikan memengaruhi proses fisiologis dan biokimia seperti laju metabolisme, keseimbangan energi, penggerak, dan perilaku makan pada ikan. Suhu air selama pemeliharaan bandeng yang berada pada kisaran 26-29°C. Rentang suhu tersebut termasuk kisaran suhu optimal yang untuk pertumbuhan *Chanos chanos*, di mana suhu sekitar 28–30°C diketahui memberikan performa pertumbuhan terbaik karena mendukung aktivitas enzimatik dan proses fisiologis secara stabil (Alimorin, 2025).

Salinitas juga merupakan salah satu parameter lingkungan yang sangat menentukan keberhasilan pemeliharaan ikan bandeng (*C. chanos*) karena berhubungan erat dengan proses osmoregulasi, keseimbangan ion, dan pengeluaran energi metabolik. Rentang salinitas selama penelitian, yaitu 18-20 ppt, berada dalam kategori layak untuk pemeliharaan bandeng dan mendekati nilai

optimal yang dilaporkan oleh berbagai studi. Ikan bandeng dikenal sebagai ikan euryhalin yang memiliki toleransi salinitas sangat luas, mulai dari air tawar hingga lebih dari 35 ppt, namun beberapa penelitian menunjukkan bahwa performa pertumbuhan terbaik terjadi pada rentang menengah, yakni sekitar 15-25 ppt, karena pada kisaran tersebut biaya energi untuk osmoregulasi berada pada titik minimal (Ranasinghe et al., 2024). Selain itu, penelitian terkini menunjukkan bahwa salinitas yang stabil pada kisaran sedang dapat meningkatkan efisiensi pemanfaatan pakan dan mempertahankan homeostasis cairan tubuh, yang pada akhirnya berkontribusi terhadap pertumbuhan yang lebih cepat dan tingkat stres yang lebih rendah (Chang et al., 2021).

pH perairan selama pemeliharaan bandeng yang berada pada kisaran 6-7 menunjukkan kondisi yang masih berada dalam batas toleransi fisiologis *Chanos chanos*, meskipun nilai pH mendekati 6 perlu mendapat perhatian karena bersifat sedikit asam dan dapat memengaruhi stabilitas fisiologis ikan. Secara umum, pH optimal untuk budidaya bandeng berada pada rentang 7–8,5, karena pada kisaran tersebut proses biokimia, aktivitas enzimatik, dan keseimbangan ion dalam tubuh ikan berlangsung secara efisien tanpa memicu stres metabolik (Chang et al., 2021). Dengan demikian, rentang pH 6–7 yang diamati dalam penelitian ini masih dapat dianggap layak untuk pemeliharaan bandeng, namun stabilitas pH mendekati netral-basa tetap penting untuk meminimalkan stres fisiologis dan menjaga performa pemeliharaan yang optimal.

#### 4.5. Kesimpulan

Penggunaan *Ceratophyllum* sp. yang difermentasi dengan *Bacillus idriensis* dalam formulasi pakan ikan bandeng menunjukkan potensi sebagai sumber protein nabati alternatif yang efektif, dengan tingkat penggunaan optimal pada konsentrasi 10% yang mampu menghasilkan pertumbuhan terbaik, efisiensi pakan tertinggi, peningkatan pencernaan, serta retensi nutrisi yang signifikan. Pada dosis ini, ikan menunjukkan performa optimal (pertumbuhan mutlak 8,91 g; laju pertumbuhan spesifik 4,99%; FCR 1.12; EPP 89.06%; retensi protein 56,82%) disertai komposisi tubuh dengan kandungan protein dan energi yang lebih baik. Secara histologis, perlakuan 10% juga memperlihatkan struktur jaringan usus yang paling sehat, ditandai dengan vili yang utuh, jumlah sel goblet stabil, dan tidak adanya kerusakan mukosa yang berarti, mengindikasikan integritas usus dan efisiensi penyerapan nutrisi yang tetap terjaga. Pada perlakuan kontrol (tanpa *Ceratophyllum* sp. yang difermentasi) serta perlakuan dengan konsentrasi lebih tinggi (15–20%) menurunkan kinerja pertumbuhan serta efisiensi pakan. Dengan demikian, *Ceratophyllum* sp. terfermentasi paling efektif digunakan hingga level 10%, karena mampu sekaligus mendukung pertumbuhan, efisiensi pakan, dan kesehatan usus ikan bandeng secara berkelanjutan.

#### 4.6. Daftar Pustaka

Abd Rashid, N.Y., Abdul Manan, M., Pa'ee, K.F., Saari, N. & Wong, F.W.F. (2022). Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of fish protein

- hydrolysate produced from Malaysian fish sausage (Keropok Lekor) by-products through indigenous *Lactobacillus casei* fermentation. *Journal of Cleaner Production*, 347, 131303. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.131303>
- Abedin, J., Kumar, S., Banik, A., Brahmchari, R.K., Kishore, P., Dubey, M.K., Kumari, R. & Srivastava, P.P. (2025). Evaluation of rice distillers' dried grains soluble (DDGS) blended with non-starch polysaccharidases (NSPase) as a fish meal substitute in the diet of climbing perch, *Anabas testudineus* juveniles. *Animal Feed Science and Technology*, 323, 116306. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2025.116306>
- Ahmed, N. & Thompson, S. (2019). The blue dimensions of aquaculture: A global synthesis. *Science of the Total Environment*, 652, 851–861. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.163>
- Akpabli-Tsigbe, N.D.K., Ma, Y., Ekumah, J.N., Osabutey, J., Hu, J., Xu, M. & Johnson, N.A.N. (2021). Novel solid-state fermentation extraction of 5-O-caffeoylquinic acid from heilong48 soybean using *Lactobacillus helveticus*: Parametric screening and optimization. *LWT*, 149, 111809. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111809>
- Albrektsen, S., Kortet, R., Skov, P.V., Ytteborg, E., Gitlesen, S., Kleinegris, D., Mydland, L.T., Hansen, J.O., Lock, E.J., Morkore, T. & Overland, M. (2022). Future feed resources in sustainable salmonid production: A review. *Reviews in Aquaculture*, 14(4), 1790–1812.
- Alimorin, J. M. L. (2025). *Sustainable aquaculture practices for milkfish (Chanos chanos): An integrated analysis of environmental, economic, and policy dimensions in Asia*. *International Journal of Research and Review*, 12(7), 749–758. <https://doi.org/10.52403/ijrr.20250749>
- Anwar, A., Wan, A.H., Omar, S., El-Haroun, E. & Davies, S.J. (2020). The potential of a solid-state fermentation supplement to augment white lupin (*Lupinus albus*) meal incorporation in diets for farmed common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Reports*, 17, 100348. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100348>
- Arriaga-Hernandez, D., Hernandez, C., Martínez-Montano, E., Ibarra-Castro, L., Lizarraga-Velazquez, E., Leyva-Lopez, N. & Chavez-Sanchez, M.C. (2021). Fish meal replacement by soybean products in aquaculture feeds for white snook (*Centropomus viridis*): Effect on growth and diet digestibility. [Lengkap nama jurnal jika ada]
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (1990). *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists (15th ed.)*. AOAC International.
- Austin, B. & Austin, D.A. (2016). *Bacterial Fish Pathogens: Disease of Farmed and Wild Fish*. Springer, Dordrecht.
- Balami, S., Sharma, A. & Karn, R. (2019). Significance of nutritional value of fish for human health. *Malaysian Journal of Halal Research*, 2(2), 32–34. <https://doi.org/10.2478/mjhr-2019-0012>
- Banerjee, G. & Ray, A.K. (2017). The advancement of probiotics research and its application in fish farming industries. *Research in Veterinary Science*, 115, 66–77. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.01.016>
- Benedito Palos, L., Ballester Lozano, G.F., Simó, P., Karalazos, V., Ortiz, A., Calduch Giner, J. & Pérez Sanchez, J. (2016). Lasting effects of butyrate and low FM/FO diets on growth performance, blood haematology/biochemistry and

- molecular growth related markers in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 454, 8–18. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.12.008>
- Bergmeyer, H.U., Bergmeyer, J. & Grassl, M. (1983). *Methods of enzymatic analysis* (3rd ed., Vols. 1–3). Verlag Chemie.
- Bernfeld, P. (1955). Amylases,  $\alpha$  and  $\beta$ . *Methods in Enzymology*, 1, 149–158. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(55\)01021-5](https://doi.org/10.1016/0076-6879(55)01021-5)
- Boyd, C.E., McNevin, A.A., & Davis, R.P. (2022). The contribution of fisheries and aquaculture to the global protein supply. *Food Security*, 14(3), 805–827. <https://doi.org/10.1007/s12571-021-01246-9>
- Butt, U.D., Na Lin, N., Akhter, N., Siddiqui, T., Li, S. & Wu, B. (2021). Overview of the latest developments in the role of probiotics, prebiotics and synbiotics in shrimp aquaculture. *Fish & Shellfish Immunology*, 114, 263–281.
- Cappuccino, J.G. & Welsh, C. (2017). *Microbiology: A laboratory manual* (11th ed.). Pearson.
- Chang, C.H., Mayer, M., Rivera-Ingraham, G., Blondeau-Bidet, E., Wu, W.Y., Lorin-Nebel, C., & Lee, T.H. (2021). Effects of temperature and salinity on antioxidant responses in livers of temperate (*Dicentrarchus labrax*) and tropical (*Chanos chanos*) marine euryhaline fish. *Journal of Thermal Biology*, 99, 103016. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2021.103016>
- Chen, C., Nie, M., Cai, X., Hang, Y., Li, A., Qiao, L., Kang, P., Wang, Q., Pan, Y. & Hua, X. (2025). Response of *Litopenaeus vannamei* to dietary isothiocyanate: Growth, biochemistry, immunity and gene expression related to hepatopancreas and intestinal health. *Fish & Shellfish Immunology*, 164, 110434. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2025.110434>
- Chen, H., Liu, L., Jiang, L., Hu, W., Cen, Q., Zhang, R., Hui, F., Li, J. & Zeng, X. (2024). Effect of *Lactiplantibacillus plantarum* Y279 and *Weissella cibaria* Y113 on microorganism, lipid oxidation and fatty acid metabolites in Yu jiaosuan, a Chinese traditional fermented snack. *Food Chemistry: X*, 21, 101246. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101246>
- Crozatti, T., Larentis, P., Fenelon, V., Miyoshi, J., Brito, J., Salinas, G., Mazzotti, B., Teles, G., Alves de Lima Neto, Q. & Matioli, G. (2023). Challenges and alternatives for the production of cyclodextrins from the CGTase enzyme from recombinant *Bacillus subtilis* WB800. *Food Science and Technology*, 43, e104122. <https://doi.org/10.1590/fst.104122>
- Deran, M.Y.K., Tjendanawangi, A. & Dahoklory, N. (2023). Efektifitas substitusi tepung ikan (*Brevoortia tyrannus*) dengan tepung ampas kelapa (*Cocos nucifera* L) terhadap pertumbuhan dan kelulushidupan ikan bandeng (*Chanos chanos*). *Jurnal Vokasi Ilmu-Ilmu Perikanan (JVIP)*, 3(2), 147–153.
- Do-Huu, H., Ho, S.L. & Cao, V.N. (2018). Efficiency of dietary  $\beta$ -glucan supplementation on growth, body composition, feed, and nutrient utilization in juveniles of pompano fish (*Trachinotus ovatus*, Linnaeus, 1758). *Israel Journal of Aquaculture – Bamidgeh*, 13.
- Dossou, S., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Dawood, M.A., El Basuini, M.F., ElHais, A.M. & Olivier, A. (2018). Effect of partial replacement of fish meal by fermented rapeseed meal on growth, immune response and oxidative condition of red sea bream juvenile, *Pagrus major*. *Aquaculture*, 490, 228–235.
- Du, E., Chen, Y., Li, Z., Sun, Z. & Gui, F. (2022). Rhizospheric *Bacillus*-facilitated effects on the growth and competitive ability of the invasive plant *Ageratina adenophora*. *Frontiers in Plant Science*, 13, 882255.

- <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.882255>
- Du, K., Zhou, B. & Yuan, R. (2017). Biodegradation of 2-methylisoborneol by *Bacillus idriensis* isolated from biological activated carbon. *Desalination and Water Treatment*, 76, 290–299. <https://doi.org/10.5004/dwt.2017.3285047>
- Effendie, M.I. (1997). *Biologi Perikanan*. Yogyakarta: Yayasan Pustaka Nusatama, 155 pp.
- Elsadek, M.M., Wang, S., Wu, Z., Wang, J., Wang, X., Zhang, Y., Yu, M., Guo, Z., Wang, Q., Wang, G., Chen, Y. & Zhang, D. (2023). Characterization of *Bacillus* spp. isolated from the intestines of *Rhynchocypris lagowskii* as a potential probiotic and their effects on fish pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 180. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106445>
- Fan, M., He, X., Cao, Y., Woldemariam, K.Y., Cai, M., Wang, Z., Jiao, Y., Tang, W., Wei, X., Liu, Y. & Wang, J. (2025). Sustainable microbial fermentation of plant proteins: Potential, biological resources, fermentation mechanisms, applications and challenges in food industry. *Food Bioscience*, 68, 106727. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2025.106727>
- FAO (2024). The state of world fisheries and aquaculture 2024 – blue transformation in action. Rome: FAO. <https://doi.org/10.4060/cd0683en>
- Felix, F., Silva, N., Oliveira, C.C.V., Cabrita, E. & Gavaia, P.J. (2024). Effects of dietary supplementation with macroalgae on sperm quality and antioxidant system in Senegalese sole. *Aquaculture*, 590, 741069. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2024.741069>
- Glencross, B., Ling, X., Gatlin, D., Kaushik, S., Øverland, M., Newton, R. & Valente, L.M. (2024). A SWOT analysis of the use of marine, grain, terrestrial-animal and novel protein ingredients in aquaculture feeds. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 1–39.
- Gobi, N., Vaseeharan, B., Chen, J.C., Rekha, R., Vijayakumar, S. & Anjugam, M. (2018). Dietary supplementation of probiotic *Bacillus licheniformis* Dab1 improves growth performance, mucus and serum immune parameters, antioxidant enzyme activity as well as resistance against *Aeromonas hydrophila* in tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 74, 501–508.
- Goehring, D.L., Wu, F., DeRouchey, J.M., Goodband, R.D., Tokach, M.D., Woodworth, J.C., Paulk, C.B. & Dritz, S.S. (2020). The effects of dietary soybean hulls particle size and diet form on nursery and finishing pig performance. *Translational Animal Science*, 4, 22–33. <https://doi.org/10.1093/tas/txz119>
- Gomez-Limia, L., Cobas, N. & Martínez, S. (2021). Proximate composition, fatty acid profile and total amino acid contents in samples of the European eel (*Anguilla anguilla*) of different weights. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 25, 100364. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2021.100364>
- Gopalraaj, J., Velayudhannair, K., Arockiasamy, J.P. & Radhakrishnan, D.K. (2024). The effect of dietary supplementation of proteases on growth, digestive enzymes, oxidative stress, and intestinal morphology in fishes – A review. *Aquaculture International*, 32(1), 745–765. <https://doi.org/10.1007/s10499-023-01191-8>
- Halwart, M. (2022). *Aquaculture in Sofia 2022*. FAO Aquaculture Newsletter, 66, 7–8. Available at: <https://www.proquest.com/docview/2759073920>
- Hassaan, M., Goda, A.S. & Kumar, V. (2017). Evaluation of nutritive value of fermented deoiled physic nut, *Jatropha curcas*, seed meal for Nile tilapia

- Oreochromis niloticus* fingerlings. *Aquaculture Nutrition*, 23(3), 571–584.
- He, S., Zhou, Z., Liu, Y. & Yao, B. (2022). Application of microbial fermentation to enhance feed quality and digestibility in aquaculture. *Frontiers in Microbiology*, 13, 915470. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.915470>
- Heng Yu, Ge, X., Zhang, L., Chen, X., Ren, M., & Liang, H. (2023). Transcriptome analysis reveals the feeding response and oxidative stress in juvenile *Micropterus salmoides* fed a low-fish-meal diet with enzyme-hydrolysed intestinal mucosa protein substitution. *Aquaculture*, 570, 739441. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739441>
- Hoang, N.N., Nguyen, T.K., Vo, T.H., Nguyen, N.H., Nguyen, D.H. & Tran, D.L. (2022). Isolation, characterization, and biological activities of fucoidan derived from *Ceratophyllum submersum* L. *Macromolecular Research*, 30, 136–145. <https://doi.org/10.1007/s13233-022-0010-3>
- Hoseinifar, S.H., Sun, Y.Z. & Zhou, Z. (2017). Probiotic, prebiotic and synbiotic supplements in aquaculture: An updated review. *Reviews in Aquaculture*, 10(1), 1–24.
- Hoseinifar, S.H., Yousefi, S., Van Doan, H., Ashouri, G., Gioacchini, G., Maradonna, F. & Carnevali, O. (2021). Oxidative stress and antioxidant defense in fish: The implications of probiotic, prebiotic and synbiotics. *Reviews in Fish Science & Aquaculture*, 29(2), 198–217. <https://doi.org/10.1080/23308249.2020.1795616>
- Hou, M., Xu, C., Zou, X., Xia, Z., Su, L., Qiu, N., Cai, L., Yu, F., Wang, Q., Zhao, X., He, Y., Wang, C. & Wang, J. (2022). Long-term exposure to microplastics induces intestinal function dysbiosis in rare minnow (*Gobiocypris rarus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 246, 114157. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.114157>
- Hua, K., Cobcroft, J.M., Cole, A., Condon, K., Jerry, D.R., Mangott, A., Praeger, C., Vucko, M.J., Zeng, C., Zenger, K., & Strugnell, J.M. (2019). The future of aquatic protein: Implications for protein sources in aquaculture diets. *One Earth*, 1(3), 316–329. <https://doi.org/10.1016/j.oneear.2019.10.018>
- Huang, H., Lin, X., Meng, X., Liu, Y., Fan, J., Zhu, L., Chen, J., Zhang, L., Mi, H. & Deng, J. (2024). Effects of replacing wheat bran with palm kernel cake or fermented palm kernel cake on the growth performance, intestinal microbiota and intestinal health of tilapia (GIFT, *Oreochromis niloticus*). *Frontiers in Nutrition*, 11. <https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1368251>
- Islam, S., Miah, M.A.S., Islam, M.F., Tisa, K.J., Bhuiyan, M.H.R., Bhuiyan, M.N.I., Afrin, S., Ahmed, K.S. & Hossain, M.H. (2024). Fermentation with lactic acid bacteria enhances the bioavailability of bioactive compounds of whole wheat flour. *Applied Food Research*, 4(2), 100610. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2024.100610>
- Kong, Y.D., Gao, C.S., Du, X.Y., Zhao, J., Li, M., Shan, X.F. & Wang, G.Q. (2020). Effects of single or conjoint administration of lactic acid bacteria as potential probiotics on growth, immune response and disease resistance of snakehead fish (*Channa argus*).
- Krishnan, H.B. & Jez, J.M. (2018). The promise and limits for enhancing sulfur-containing amino acid content of soybean seed. *Plant Science*, 272, 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.03.030>
- Kumar, N., Ambasankar, K., Dalvi, R.S., Aklakur, M., Chandan, N.K., Jamwal, A., Sukham, M.K., Gupta, S., Pawar, N.A. & Jadhao, S.B. (2025). Dietary lecithin ameliorates endosulfan-induced stress responses and promotes growth,

- immunity, and disease resistance in fingerlings of the milkfish, *Chanos chanos*. *Aquaculture*, 598, 741953. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2024.741953>
- Laining, A., Usman, U., & Syah, R. (2016). Aquatic weed *Ceratophyllum* sp. as a dietary protein source: Its effects on growth and fillet amino acid profile of rabbitfish, *Siganus guttatus*. *AAFL Bioflux*, 9(2). <http://www.bioflux.com>
- Li, R.M., Chi, T., Xu, Q., Liu, J.T., Shan, X.F., Zhou, R., Yao, J.Y., Sun, W.W. & Wang, G.Q. (2023). Effects of single or conjoint administration of lactic acid bacteria as potential probiotics on the growth, immune responses, and disease resistance of *Carassius auratus*. *Aquaculture International*, 31, 157–177. <https://doi.org/10.1007/s10499-022-00969-6>
- Li, X., Yao, X., Zhang, X., Dong, X., Chi, S., Tan, B., Zhang, S., Xie, S. (2022). Effects of dietary chenodeoxycholic acid supplementation in a low fishmeal diet on growth performance, lipid metabolism, autophagy and intestinal health of pacific White shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, 127, 1088–1099.
- Lopez-Gomez, J.P., Manan, M.A. & Webb, C. (2020). Solid-state fermentation of food industry wastes (2nd ed., pp. 135–161). *Food Industry Wastes*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817121-9.00007-3>
- Luo, K., Liu, Y., Qin, G.C., Wang, S.S., Wei, C., Pan, M.J., Guo, Z.Y., Liu, Q.B. & Tian, X.L. (2023). A comparative study on effects of dietary three strains of lactic acid bacteria on the growth performance, immune responses, disease resistance and intestinal microbiota of Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, 136, 108707. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2023.108707>
- Luo, Y., He, J., Li, H., Lan, C., Cai, J. & Chen, H. et al. (2021). Wheat bran fermented by mixed fungal strains improves the digestibility of crude fiber and may benefit the gut health without impacting the growth performance in weaned pigs. *Food Function*, 12, 2962–2971. <https://doi.org/10.1039/d1fo00273b>
- Madigan, M.T., Bender, K.S., Buckley, D.H., Sattley, W.M. & Stahl, D.A. (2018). *Brock biology of microorganisms* (15th ed.). Pearson.
- Mahboob, S., Al-Ghanim, K.A., Al-Balawi, H.A., Al-Misned, F. & Ahmed, Z. (2018). Study on assessment of proximate composition and meat quality of fresh and stored *Clarias gariepinus* and *Cyprinus carpio*. *Brazilian Journal of Biology*, 79, 651–658. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.187647>
- Masriah, A., Suardi, A.H., Alpiani, A., Zaenab, S. & Syamsuddin, S. (2024). Efektivitas dosis bioslurry cair terhadap kadar protein terlarut dalam pakan ikan. *Jurnal Perikanan Unram*, 13(3), 863–870. <https://doi.org/10.29303/jp.v13i3.641>
- Mata-Sotres, J.A., Moyano, F.J., Martínez-Rodríguez, G. & Yúfera, M. (2016). Daily rhythms of digestive enzyme activity and gene expression in gilthead seabream (*Sparus aurata*) during ontogeny. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 197, 43–51. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2016.03.010>
- Merrifield, D.L., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S.J., Baker, R.T., Bogwald, J., Castex, M. & Ringo, E. (2010). The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture*, 302(1–2), 1–18.
- Mitri, S., Salameh, S.J., Khelfa, A., Leonard, E., Maroun, R.G., Louka, N., & Koubaa, M. (2022). Valorization of brewers' spent grains: Pretreatments and

- fermentation, a review. *Fermentation*, 8(2), 50. <https://doi.org/10.3390/fermentation8020050>
- Moniruzzaman, M., Bae, J., Won, S., Cho, S., Chang, K. & Bai, S. (2018). Evaluation of solid-state fermented protein concentrates as a fish meal replacer in the diets of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Nutrition*, 24(4), 1198–1212.
- Moon, W.-K., Atique, U. & An, K.-G. (2020). Ecological risk assessments and ecotoxicity analyses using chemical, biological, physiological responses, DNA damages and gene-level biomarkers in Zebrafish (*Danio rerio*) in an urban stream. *Chemosphere*, 239. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124754>
- Natalia, Q.P., Cristina, R.T. & German, B.E. (2022). Lipolytic effect of *Staphylococcus warneri* for obtaining high-quality fishmeal from fish waste fermentation. *Waste and Biomass Valorization*, 13(5), 2519–2530. <https://doi.org/10.1007/s12649-021-01668-8>
- Natasya, A.P.G. & Nugroho, A.P. (2025). Microplastic and copper contamination in coastal waters: Accumulation in zooplankton and caged milkfish (*Chanos chanos*), and metallothionein response in fish. *Marine Pollution Bulletin*, 221, 118523. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2025.118523>
- Nayak, S.K. (2010). Role of gastrointestinal microbiota in fish. *Aquaculture Research*, 41(11), 1553–1573.
- Pandey, L.N., Shrestha, R., K.C., S., Chapagain, P.B., & Kadel, R. (2023). Effects of Brewery Spent Grain (BSG) included poultry diet on growth performance and meat quality of New Hampshire chicken. *Archives of Agriculture and Environmental Science*, 8(1), 14–19. <https://doi.org/10.26832/24566632.2023.080103>
- Pfeuti, G., Cant, J.P., Shoveller, A.K. & Bureau, D.P. (2019). A novel enzymatic pre-treatment improves amino acid utilization in feather meal fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research*, 50(5), 1459–1474.
- Ranasinghe, N., Huang, Y.R., Wu, W.H., Lee, S.S., Ho, C.W., Lee, T.H., & Hsiao, K.Y. (2024). Environmental salinity differentiates responses to acute hypothermal stress in milkfish. *Science of the Total Environment*, 954, 176643. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.176643>
- Reid, C. H., Patrick, P. H., Rytwinski, T., Taylor, J. J., Willmore, W. G., Reesor, B., & Cooke, S. J. (2022). An updated review of cold shock and cold stress in fish. *Journal of Fish Biology*, 100(5), 1102–1137. <https://doi.org/10.1111/jfb.15037>
- Rhodes, M.A., Zhou, Y., Salze, G.P., Hanson, T.R. & Davis, D.A. (2017). Development of plant-based diets and the evaluation of dietary attractants for juvenile Florida pompano, *Trachinotus carolinus* L. *Aquaculture Nutrition*, 23(5), 1065–1075. <https://doi.org/10.1111/anu.12474>
- Ringo, E., Hoseinifar, S.H., Ghosh, K., Doan, H.V., Beck, B.R. & Song, S.K. (2018). The two-way street of communication between fish gut microbiota and host: A review. *Fish & Shellfish Immunology*, 72, 157–165.
- Sa, A.G.A., Moreno, Y.M.F. & Carciofi, B.A.M. (2020). Plant proteins as high-quality nutritional source for human diet. *Trends in Food Science & Technology*, 97, 170–184. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.004>
- Salem, M., Gaber, M.M., Zaki, M.A.-d & Nour, A.A. (2015). Effects of dietary mannan oligosaccharides on growth, body composition and intestine of the sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture Research*.

- <https://doi.org/10.1111/are.12801>
- Sampathkumar, K., Yu, H. & Loo, S.C.J. (2023). Valorisation of industrial food waste into sustainable aquaculture feeds. *Future Foods*, 7, 100240. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2023.100240>
- Sandstrom, V., Chrysafi, A., Lamminen, M., Troell, M., Jalava, M., Piipponen, J., Siebert, S., van Hal, O., Virkki, V. & Kumm, M. (2022). Food system by-products upcycled in livestock and aquaculture feeds can increase global food supply. *Nature Food*, 3, 729–740. <https://doi.org/10.1038/s43016-022-00589-6>
- Sharma, R., Reguera, D.F., Fuentesvilla, C., Agostini, V. & Barange, M. (2023). Aquatic food systems for blue transformation: a vision for FAO. In Bansal, K.C., Lakra, W.S. & Pathak, H. (eds.) *Transformation of Agri-Food Systems*. Singapore: Springer, 193–204. [https://doi.org/10.1007/978-981-99-8014-7\\_15](https://doi.org/10.1007/978-981-99-8014-7_15)
- Shi, L., Xue, M., Xu, C., Jiang, N., Fan, Y., Chen, J. et al. (2023). Synergistic impact of *Lactobacillus plantarum* and *Bacillus coagulans* on solid-state fermentation of Astragalus and effects of fermentation products on disease resistance of Crucian Carp (*Carassius auratus*). *Aquaculture Research*, 2023, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2023/1842572>
- Shoba, S.P., Candida, X.V., Mary, T.A.A., Rajeswari, R. & Rose, B. (2020). Comparative analysis of biochemical composition of few freshwater and marine fishes. *International Journal of Fish and Aquatic Studies*, 8(3), 115–119.
- Somtrakoon, K., & Chouychai, W. (2023). Phytoremediation potential of *Ceratophyllum* sp. on arsenic-contaminated conditions. *The Journal of Agricultural Sciences - Sri Lanka*, 18(2), 183–192. <http://doi.org/10.4038/jas>
- Sugiwati, S., Suaidah, S., Triwahyuni, E., Muryanto, M. & Andriani, Y., Abimanyu, H. (2021). Hydrolysis of cellulose from oil palm empty fruit bunch using *Aspergillus niger*. *E3S Web of Conferences*, 226, 00042. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202122600042>
- Syahrizal, Sugihartono, M. & Jasa, A. (2019). Respon ikan lele Dumbo (*Clarias gariepinus* B) dalam wadah jaring hapa yang diberi pakan kombinasi pellet dan usus ayam. *Jurnal Akuakultur Sungai dan Danau*, 4(2), 50–59.
- Tacon, A.E.J. (1987). *The nutrition and feeding of farmed fish and shrimp: A training manual*. Brazil: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 108 pp.
- Takeuchi, T. (1988). Laboratory work chemical evaluation of dietary nutrients. In Watanabe, T. (ed.) *Fish Nutrition and Mariculture*. Tokyo University of Fisheries: JICA.
- Wang, N., Jiang, M., Zhang, P., Shu, H., Li, Y., Guo, Z. & Li, Y. (2020). Amelioration of Cd-induced bioaccumulation, oxidative stress and intestinal microbiota by *Bacillus cereus* in *Carassius auratus gibelio*. *Chemosphere*, 245, 125613. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125613>
- Wang, Y., Zhang, R., Wang, C., Yan, W., Zhang, T. & Ju, F. (2025). Metabolic segregation and functional gene clusters in anaerobic digestion consortia. *Environmental Microbiology*, 27(4), e70091. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.70091>
- Xu, Z., Zhang, Y., Xu, Z., Zhong, Y., Wang, L., Liu, C., Chen, A., Jiang, S., Sun, W., Yu, G., Li, Y., Li, C., Wang, Y. & Yu, R. (2023). Dysregulation of gut health in zebrafish by differentially charged nanoplastic exposure: an integrated

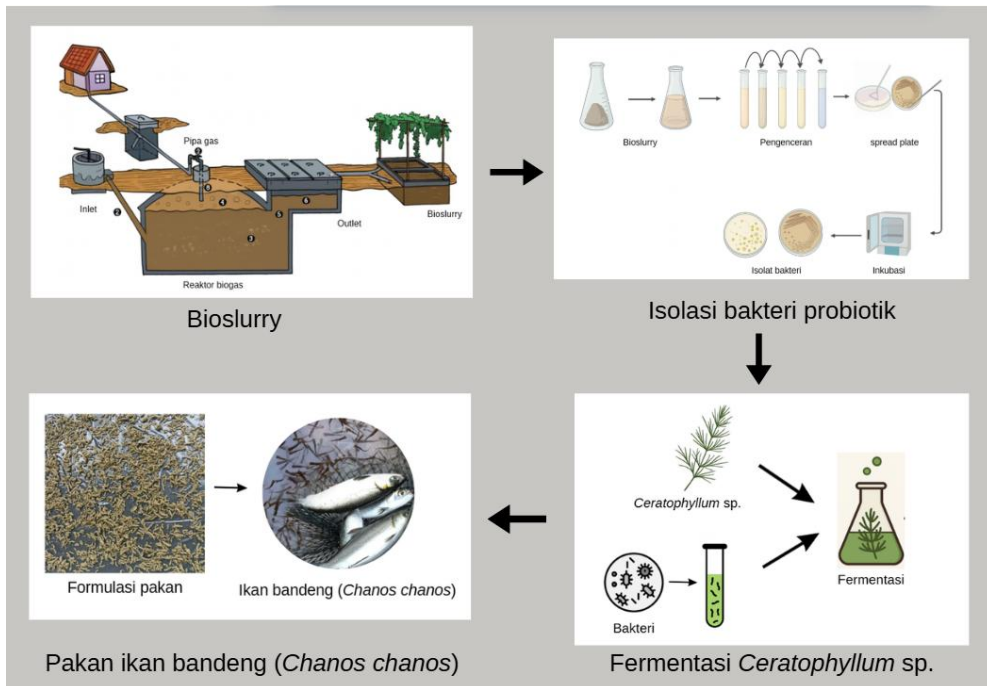
- analysis of histopathology, immunology, and microbial informatics. *Environmental Science: Nano*, 10, 933–947. <https://doi.org/10.1039/d2en00542e>
- Yang, X.Y., Dong, X.H., Yang, Q.H., Wang, G.H., Zhao, X.M., Liu, H.Y., Zhang, S., Chi, S.Y., & Tan, B.P. (2021). Addition of enzyme-digested hydrolysed porcine mucosa to low-fishmeal feed improves growth, intestinal microbiota, and intestinal peptide and amino acid transporter expressions in hybrid groupers (*Epinephelus fuscoguttatus*♀×*E. lanceolatus*♂). *Aquaculture Nutrition*, 27(2), 366–385. <https://doi.org/10.1111/anu.13190>
- Yousuf, B., Gul, K., Wani, A.A. & Singh, P. (2017). Health benefits of anthocyanins and their encapsulation for potential use in food systems: A review. *Journal of Basic Microbiology*, 57(6), 549–563. <https://doi.org/10.1002/jobm.201700072>
- Zaenab, S., Zainuddin, Z., Sriwulan, S., Nisaa, K., Haryati, H., Karim, M.Y. & Anshary, H. (2025). Exploration of bioslurry bacteria candidate probiotics for fish feed: Identification, morphological characteristics and enzyme activity. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 29(3), 2251–2268. <https://doi.org/10.21608/ejabf.2025.432438>
- Zhang, L., Li, B., Sun, X., Hong, Q. & Duan, Q. (2023). Intelligent fish feeding based on machine vision: A review. *Biosystems Engineering*, 231, 133–164. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2023.05.010>
- Zhang, Y.T., Chen, H., He, S., Wang, F., Liu, Y., Chen, M., Yao, G., Huang, Y., Chen, R., Xie, L. & Mu, J. (2021). Subchronic toxicity of dietary sulfamethazine and nanoplastics in marine medaka (*Oryzias melastigma*): insights from the gut microbiota and intestinal oxidative status. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 226, 112820. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112820>
- Zheng, Q., Cui, L., Liao, H., Junaid, M., Li, Z., Liu, S., Gao, D., Zheng, Y., Lu, S., Qiu, J. & Wang, J. (2023). Combined exposure to polystyrene nanoplastics and bisphenol A induces hepato- and intestinal-toxicity and disturbs gut microbiota in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Science of the Total Environment*, 891, 164319. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164319>
- Zonneveld, N., Huisman, E.A. & Boon, J.H. (1991). Prinsip-prinsip budidaya ikan. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama, 318 pp.

## **BAB V**

### **PEMBAHASAN UMUM**

Akuakultur merupakan sektor strategis dalam penyediaan protein hewani yang berkelanjutan, namun keberhasilannya sangat ditentukan oleh efisiensi penggunaan pakan. Dalam sistem budidaya, pakan menjadi komponen biaya terbesar, sehingga kualitas dan efisiensi pemanfaatannya berpengaruh langsung terhadap produktivitas dan keberlanjutan usaha. Kondisi ini menjadi sangat relevan pada budidaya ikan bandeng (*Chanos chanos*), yang umumnya dilakukan secara semi-intensif hingga intensif dengan ketergantungan tinggi terhadap pakan buatan. Meskipun ikan bandeng dikenal memiliki kemampuan memanfaatkan bahan pakan alami dan nabati, peningkatan kepadatan tebar dan target produksi menuntut penggunaan pakan mandiri dengan kualitas nutrisi dan pencernaan yang lebih baik. Oleh karena itu, upaya peningkatan kualitas pakan melalui inovasi bahan baku dan teknologi pengolahan menjadi sangat penting untuk mendukung pertumbuhan optimal, efisiensi pakan, serta keberlanjutan budidaya ikan bandeng.

Penelitian ini dirancang untuk menjawab tantangan pemanfaatan bahan pakan alternatif yang berkelanjutan melalui pendekatan bertahap dan terintegrasi (Gambar 5.1). Tahap pertama difokuskan pada karakterisasi dan seleksi isolat bakteri dari bioslurry berdasarkan kemampuan menghasilkan enzim pencernaan, sebagai dasar penentuan kandidat probiotik yang potensial. Tahap kedua mengevaluasi efektivitas fermentasi *Ceratophyllum* sp. menggunakan bakteri probiotik terpilih dari bioslurry guna meningkatkan kualitas nutrisi dan pencernaan bahan baku pakan. Selanjutnya, tahap ketiga diarahkan pada optimalisasi persentase penggunaan *Ceratophyllum* sp. terfermentasi dalam formulasi pakan untuk menilai pengaruhnya terhadap kinerja pertumbuhan dan efisiensi pemanfaatan pakan ikan bandeng. Pendekatan bertahap ini diharapkan mampu menghasilkan strategi pakan mandiri inovatif yang tidak hanya meningkatkan performa budidaya, tetapi juga mendukung pemanfaatan sumber daya lokal secara ekonomis dan berkelanjutan.



**Gambar 5.1 Tahapan penelitian**

Hasil penelitian tahap pertama yaitu isolasi bakteri dari bioslurry menunjukkan diperolehnya sepuluh isolat dengan karakteristik morfologi koloni yang relatif seragam dan didominasi oleh bakteri Gram-positif berbentuk basil, yang mengindikasikan lingkungan bioslurry mendukung pertumbuhan bakteri dengan potensi probiotik. Identifikasi lebih lanjut menunjukkan bahwa sebagian besar isolat termasuk dalam genus *Bacillus*, kelompok bakteri yang dikenal memiliki kemampuan adaptif tinggi dan berperan penting sebagai penghasil enzim pencernaan dalam sistem akuakultur. Pengujian indeks enzimatik memperlihatkan bahwa mayoritas isolat mampu menghasilkan enzim pencernaan utama, meskipun dengan tingkat aktivitas yang berbeda. Sebanyak sembilan isolat menunjukkan aktivitas amilolitik, enam isolat bersifat lipolitik, dan tiga isolat memiliki aktivitas proteolitik. Pola ini menunjukkan bahwa bakteri hasil isolasi memiliki peran fungsional yang beragam dalam pemecahan komponen pakan. Dari seluruh isolat yang diuji, isolat NN1 (*Exiguobacterium aurantiacum*), isolat NN4 (*Bacillus idriensis*) dan NN5 (*Bacillus cereus* group) menunjukkan performa paling baik karena mampu menghasilkan amilase, lipase, dan protease secara simultan dengan aktivitas relatif tinggi. Kemampuan multienzim ini menunjukkan potensi kuat kedua isolat tersebut dalam menghidrolisis karbohidrat kompleks, lemak, dan protein, sehingga nutrisi pakan menjadi lebih mudah tersedia untuk diserap oleh ikan.

Dominasi isolat multienzim dari bioslurry menegaskan bahwa substrat kaya bahan organik ini merupakan sumber mikroba yang strategis untuk memperoleh bakteri probiotik fungsional. Kemampuan isolat NN1, NN4 dan NN5 dalam

menghasilkan berbagai enzim pencernaan secara bersamaan memperkuat perannya sebagai kandidat utama dalam aplikasi fermentasi pakan dan pengembangan probiotik, terutama untuk meningkatkan pencernaan dan efisiensi pemanfaatan nutrisi pada ikan budidaya. Temuan ini menunjukkan bahwa pemanfaatan bioslurry tidak hanya bernilai dalam pengelolaan limbah, tetapi juga berpotensi mendukung inovasi teknologi pakan akuakultur yang lebih efisien dan berkelanjutan.

Pada tahap kedua penelitian ini dilakukan pengujian kemampuan tiga isolat bakteri terpilih, yaitu *Exiguobacterium aurantiacum*, *Bacillus idriensis*, dan *Bacillus cereus*, dalam memfermentasi bahan pakan nabati *Ceratophyllum* sp. Tanaman air ini dipilih karena ketersediaannya yang melimpah, nilai ekonomis yang rendah, serta tidak bersaing dengan kebutuhan pangan manusia, sehingga berpotensi besar sebagai bahan baku pakan alternatif. Namun demikian, tingginya kandungan serat kasar dan keberadaan senyawa antinutrisi menjadi faktor pembatas utama dalam pemanfaatannya secara langsung sebagai bahan pakan. Oleh karena itu, fermentasi mikroba diterapkan sebagai upaya untuk meningkatkan nilai gizi dan pencernaan bahan tersebut. Peningkatan kualitas nutrisi *Ceratophyllum* sp. selama fermentasi sangat dipengaruhi oleh jenis dan kinerja enzim yang dihasilkan oleh masing-masing isolat bakteri. Ketiga isolat yang digunakan memiliki profil enzimatis yang berbeda, sehingga memberikan kontribusi yang bervariasi dalam mendegradasi komponen nutrisi *Ceratophyllum* sp.. Struktur jaringan *Ceratophyllum* sp. didominasi oleh dinding sel berserat yang tersusun atas selulosa, hemiselulosa, serta matriks lignoselulosa yang berikatan dengan protein dan mineral. Kondisi ini menyebabkan nutrisi sulit diakses oleh sistem pencernaan ikan apabila bahan digunakan tanpa perlakuan pendahuluan.

Isolat NN1 *Exiguobacterium aurantiacum* berperan dalam tahap awal fermentasi melalui produksi enzim amilase dan protease dengan aktivitas sedang. Enzim amilase berfungsi memecah polisakarida dan pati kompleks menjadi oligosakarida dan gula sederhana, sehingga menyediakan sumber energi yang mudah digunakan baik oleh bakteri maupun ikan. Sementara itu, aktivitas protease membantu memutus ikatan protein struktural yang berasosiasi dengan dinding sel tanaman. Peran isolat ini bersifat mendukung dalam meningkatkan aksesibilitas nutrisi bagi enzim lain. Isolat *Bacillus cereus* menunjukkan aktivitas lipase dan protease yang lebih dominan, sehingga berkontribusi pada degradasi lipid dan protein kompleks. Lipase berperan dalam menghidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas dan gliserol, yang tidak hanya meningkatkan nilai energi bahan pakan, tetapi juga berfungsi sebagai sumber karbon tambahan bagi mikroba selama fermentasi. Aktivitas protease dari isolat ini membantu menguraikan protein berukuran besar menjadi peptida dan asam amino, sehingga meningkatkan kandungan protein terlarut yang lebih mudah diserap oleh ikan.

Kinerja paling signifikan ditunjukkan oleh *Bacillus idriensis*, yang menghasilkan kombinasi enzim selulase, amilase, dan protease dengan aktivitas tinggi. Enzim selulase berperan utama dalam mendegradasi selulosa, yang merupakan komponen dominan dinding sel *Ceratophyllum* sp. Degradasi selulosa ini

menyebabkan struktur dinding sel tanaman melemah dan terdisintegrasi, sehingga memungkinkan pelepasan protein, mineral, dan karbohidrat yang sebelumnya terperangkap dalam matriks lignoselulosa. Aktivitas protease yang tinggi kemudian melanjutkan proses hidrolisis protein menjadi bentuk yang lebih sederhana, sedangkan amilase mempercepat pemanfaatan karbohidrat non-struktural. Sinergi antar enzim yang dihasilkan oleh *B. idriensis* menunjukkan performa fermentasi terbaik dibandingkan dua isolat lainnya. Kombinasi aktivitas selulase, protease, dan amilase memungkinkan degradasi komprehensif terhadap komponen struktural dan nutrisi *Ceratophyllum* sp., sehingga terjadi penurunan serat kasar yang sangat signifikan dan peningkatan kadar protein yang tinggi. Selain itu, degradasi dinding sel tanaman juga menyebabkan pelepasan mineral yang terikat, yang terlihat pada peningkatan kadar abu setelah fermentasi.

Dengan demikian, perbedaan kinerja fermentasi antara ketiga isolat terutama ditentukan oleh kinerja enzim yang dihasilkan. Isolat dengan spektrum enzim yang lebih lengkap dan aktivitas yang lebih tinggi mampu mendegradasi nutrisi *Ceratophyllum* sp. secara lebih efektif. Hal inilah yang menjelaskan mengapa fermentasi menggunakan *Bacillus idriensis* memberikan peningkatan kualitas nutrisi paling optimal, serta menjadikannya kandidat utama sebagai agen fermentasi dan probiotik dalam pengembangan pakan ikan berbasis bahan nabati.

Tahap selanjutnya dalam penelitian ini adalah pengujian secara *in vivo* terhadap aplikasi pakan berbasis *Ceratophyllum* sp. terfermentasi dalam formulasi pakan ikan bandeng (*Chanos chanos*). Hasil pengujian menunjukkan bahwa penggunaan pakan terfermentasi pada berbagai tingkat konsentrasi memberikan respons pertumbuhan yang berbeda, dengan tingkat optimal diperoleh pada konsentrasi 10%. Pada tingkat ini, ikan bandeng menunjukkan kinerja pertumbuhan dan efisiensi pakan terbaik, yang ditunjukkan oleh pertambahan berat sebesar 8,91 g, laju pertumbuhan spesifik 4,99%, nilai konversi pakan  $1,123 \pm 0,023$ , efisiensi pemanfaatan pakan  $89,06 \pm 1,738\%$ , serta retensi protein sebesar 56,82%. Nilai konversi pakan yang relatif rendah mengindikasikan bahwa pakan hasil fermentasi memiliki pencernaan yang tinggi dan kandungan nutrisi yang lebih mudah diserap oleh sistem pencernaan ikan bandeng.

Kinerja optimal pada tingkat konsentrasi 10% menunjukkan bahwa pada proporsi tersebut, nutrisi hasil fermentasi berada pada kisaran yang sesuai dengan kebutuhan fisiologis ikan bandeng. Pada kondisi ini, aktivitas enzimatik bakteri fermentor, terutama *B. idriensis*, bekerja secara efisien dalam meningkatkan ketersediaan nutrisi pakan. Fermentasi memungkinkan terjadinya pemecahan senyawa kompleks menjadi bentuk yang lebih sederhana sehingga energi dan nutrisi dapat dimanfaatkan secara optimal untuk pertumbuhan dan pembentukan jaringan tubuh ikan.

Peran *B. idriensis* sangat menentukan dalam keberhasilan fermentasi *Ceratophyllum* sp. Isolat ini diketahui memiliki aktivitas enzim amilolitik, proteolitik, dan lipolitik yang tinggi. Kombinasi aktivitas enzim tersebut berkontribusi dalam menguraikan komponen kompleks bahan pakan, seperti pati, protein, dan lemak, menjadi molekul yang lebih sederhana berupa glukosa, peptida, dan asam lemak

bebas. Senyawa-senyawa hasil degradasi ini lebih mudah dicerna dan diserap oleh ikan, sehingga meningkatkan efisiensi pemanfaatan pakan. Selain itu, isolat ini juga menghasilkan berbagai metabolit bioaktif yang mendukung peningkatan nilai gizi dan kualitas fungsional pakan.

Meskipun demikian, peningkatan proporsi *Ceratophyllum* sp. terfermentasi di atas 10% justru menyebabkan penurunan kinerja pertumbuhan dan efisiensi pakan. Hal ini menunjukkan adanya batas fisiologis dalam kemampuan ikan bandeng untuk memanfaatkan bahan pakan berbasis nabati yang berserat tinggi, meskipun telah melalui proses fermentasi. Pada tingkat konsentrasi yang lebih tinggi, sebagian komponen nutrisi dan senyawa kompleks belum sepenuhnya terdegradasi, sehingga berpotensi membentuk ikatan dengan protein dan mineral penting. Kondisi ini menyebabkan penurunan ketersediaan hayati nutrisi yang dibutuhkan untuk sintesis jaringan tubuh ikan.

Selain itu, tingginya kandungan serat residu pada pakan dengan tingkat konsentrasi *Ceratophyllum* sp. terfermentasi yang lebih besar dapat memperlambat proses pencernaan dan penyerapan nutrisi di saluran pencernaan. Kandungan selulosa dan lignoselulosa yang masih relatif tinggi menyebabkan efisiensi pemanfaatan energi menurun, karena ikan bandeng memiliki keterbatasan dalam mencerna polisakarida kompleks dalam jumlah besar. Akibatnya, sebagian energi yang dikonsumsi dialihkan untuk proses pencernaan, sehingga energi yang tersedia untuk pertumbuhan jaringan menjadi berkurang.

Faktor lain yang turut berkontribusi terhadap penurunan kinerja pada dosis tinggi adalah kemungkinan akumulasi metabolit hasil fermentasi, seperti asam organik atau senyawa tertentu yang dapat memengaruhi karakteristik organoleptik pakan. Perubahan aroma dan cita rasa pakan dapat menurunkan palatabilitas, sehingga konsumsi pakan berkurang dan berdampak langsung pada penurunan laju pertumbuhan serta efisiensi pemanfaatan pakan. Dari sisi fisiologi pencernaan, kelebihan serat dan senyawa sulit cerna juga berpotensi meningkatkan viskositas digesta, yang pada akhirnya menghambat kerja enzim pencernaan dan penyerapan nutrisi.

Berdasarkan hasil tersebut, tingkat konsentrasi *Ceratophyllum* sp. terfermentasi sebesar 10% dapat dianggap sebagai titik keseimbangan antara peningkatan nilai nutrisi akibat fermentasi dan kemampuan fisiologis ikan bandeng dalam memanfaatkan bahan pakan nabati. Peningkatan proporsi di atas tingkat tersebut menimbulkan efek penurunan kinerja yang bersifat bergantung dosis, di mana semakin tinggi kandungan bahan fermentasi, semakin besar hambatan terhadap efisiensi pencernaan dan pertumbuhan ikan.

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini membuktikan bahwa pemanfaatan *Bacillus idriensis* yang berasal dari bioslurry sebagai agen fermentasi *Ceratophyllum* sp. mampu meningkatkan kualitas bahan pakan dan performa pertumbuhan ikan bandeng secara nyata pada tingkat aplikasi yang optimal. Pendekatan ini menawarkan alternatif yang efisien dan ramah lingkungan melalui pemanfaatan sumber daya lokal dan limbah organik sebagai sumber probiotik, sekaligus berkontribusi pada peningkatan efisiensi pakan dan pengurangan beban limbah

nutrien di lingkungan budidaya. Meskipun demikian, penelitian lanjutan masih diperlukan untuk mengkaji stabilitas probiotik selama penyimpanan pakan, pengaruhnya terhadap mikrobiota usus ikan, serta efektivitas aplikasinya pada skala budidaya yang lebih luas.

### **Kesimpulan Umum**

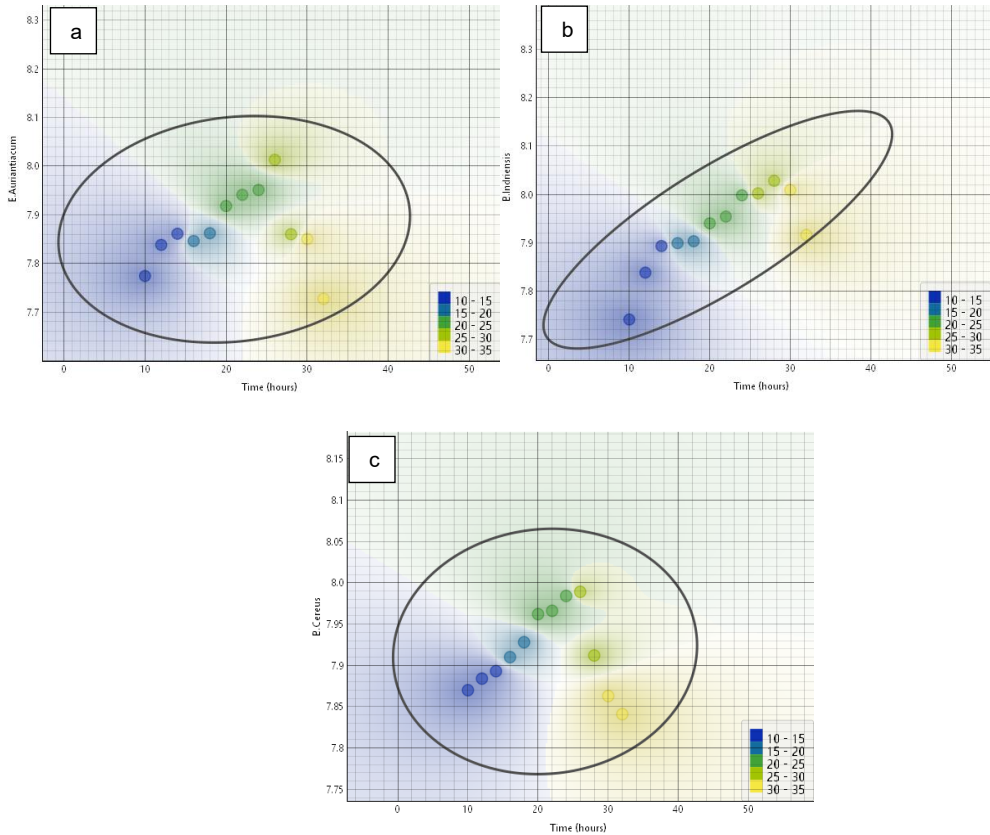
Penelitian ini menunjukkan bahwa pemanfaatan bakteri probiotik *Bacillus idriensis* yang diisolasi dari bioslurry mampu meningkatkan nilai nutrisi bahan pakan nabati *Ceratophyllum sp.* melalui proses fermentasi yang efektif dan berkelanjutan. Aktivitas enzimatis yang tinggi, khususnya amilase, protease, dan lipase, berperan signifikan dalam menurunkan serat kasar, meningkatkan kadar protein, serta memperbaiki ketersediaan mineral esensial. Aplikasi *Ceratophyllum sp.* terfermentasi dalam pakan ikan bandeng pada konsentrasi optimal 10% terbukti meningkatkan pertumbuhan, efisiensi pakan, retensi protein, serta menurunkan nilai FCR, sehingga menghasilkan performa budidaya yang lebih efisien dan ramah lingkungan. Secara keseluruhan, pendekatan ini menunjukkan potensi besar sebagai solusi inovatif dalam pengembangan pakan fungsional berbasis bahan baku lokal, sekaligus memperkuat keberlanjutan ekologis dan ekonomi dalam sistem akuakultur.

### **Rekomendasi**

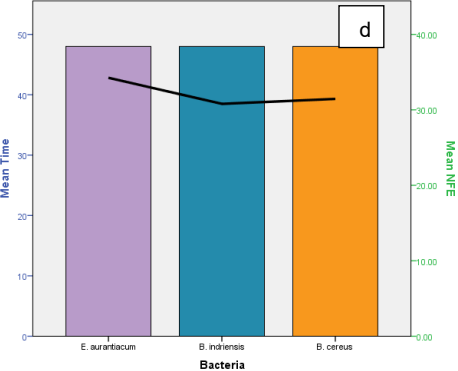
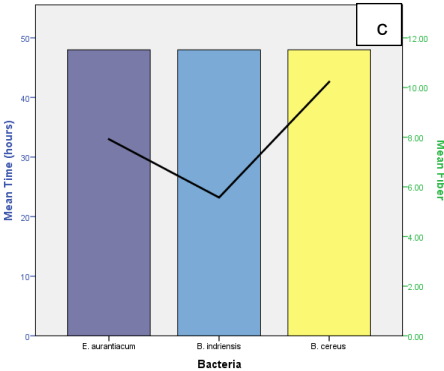
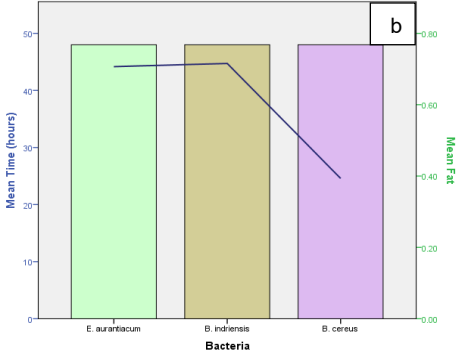
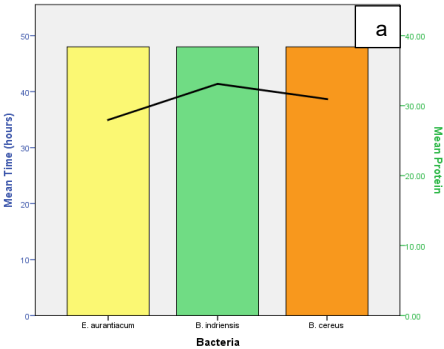
Penelitian lanjutan direkomendasikan untuk mengevaluasi stabilitas probiotik *B. idriensis* dalam pakan selama penyimpanan jangka panjang serta pengaruhnya terhadap mikrobiota usus ikan bandeng menggunakan pendekatan molekuler. Uji skala lapangan dalam sistem budidaya intensif dan semi-intensif juga perlu dilakukan untuk menilai efektivitas teknologi fermentasi pada lingkungan produksi yang lebih kompleks. Selain itu, perlu dilakukan eksplorasi terhadap dosis fermentasi yang lebih presisi tentang penggunaan kombinasi probiotik multispecies untuk memperkuat penerapan teknologi ini dalam industri pakan nasional. Pemanfaatan *Ceratophyllum sp.* terfermentasi berbasis mikroba lokal juga direkomendasikan untuk dikembangkan sebagai strategi kemandirian pakan bagi pembudidaya skala kecil guna mendukung akuakultur berkelanjutan di Indonesia.

## LAMPIRAN

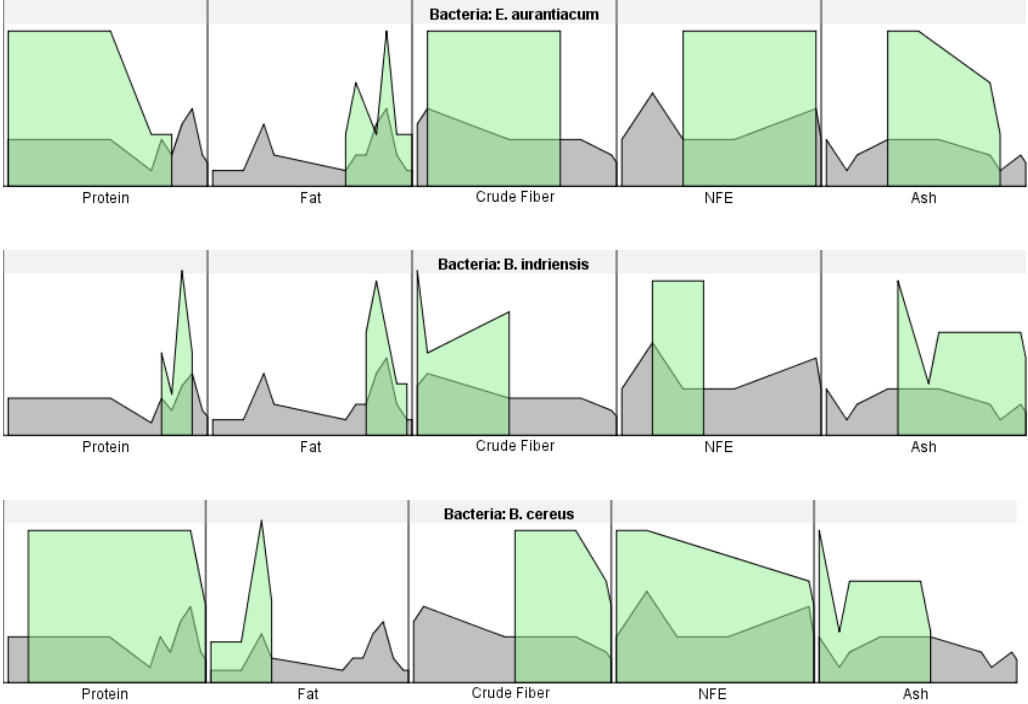
1. Sebaran pola pertumbuhan masing-masing bakteri tersebut dapat terlihat melalui diagram kontur plot hubungan waktu inkubasi dan log jumlah sel bakteri *E.aurantiacum* (a), *B. Idriensis* (b) dan *B. cereus* (c)



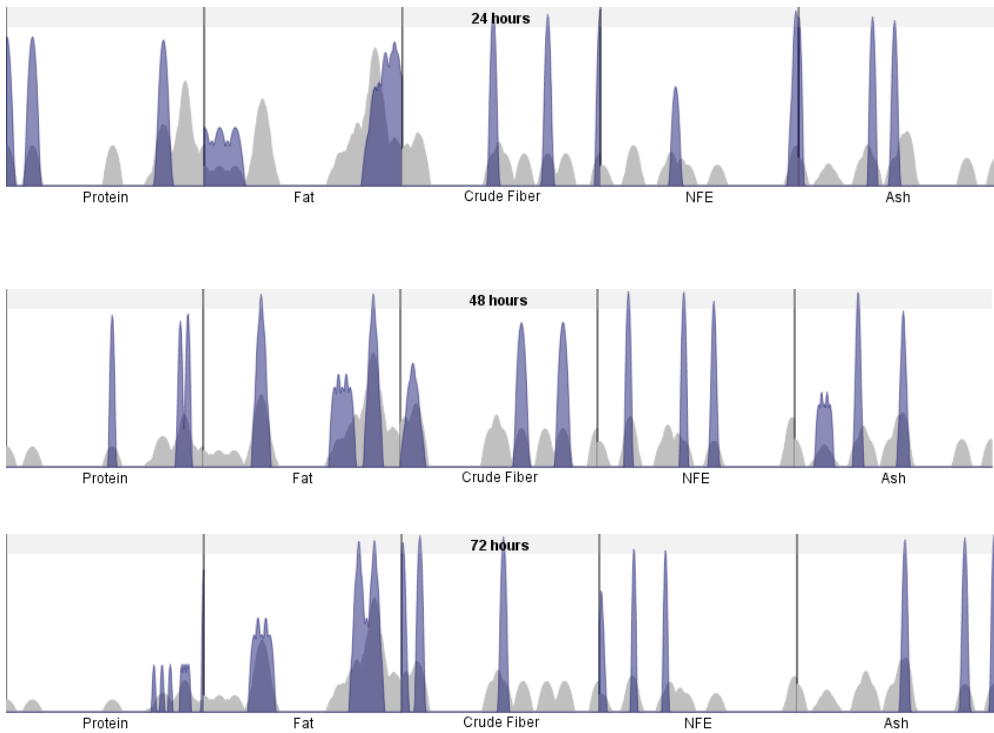
2. Diagram hubungan jenis bakteri dan waktu inkubasi dengan protein (a), lemak (b), serat kasar (c), dan BETN (d) dalam *Ceratophyllum* sp.



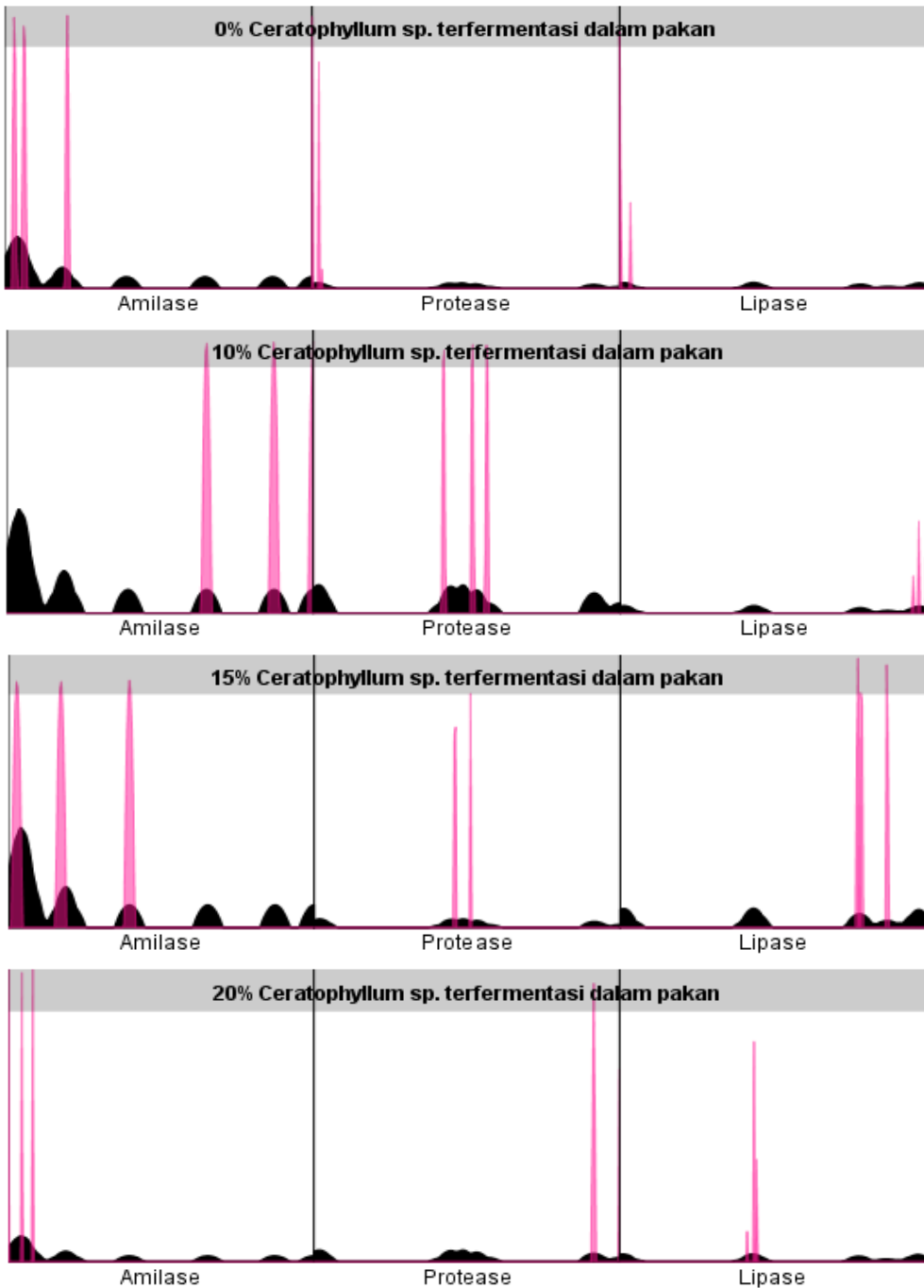
3. Grafik radar-style area chart perbandingan berbagai komposisi nutrisi dalam *Ceratophyllum* sp. yang terfermentasi berbagai jenis mikroba



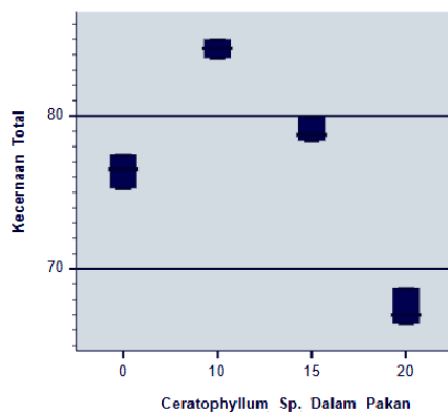
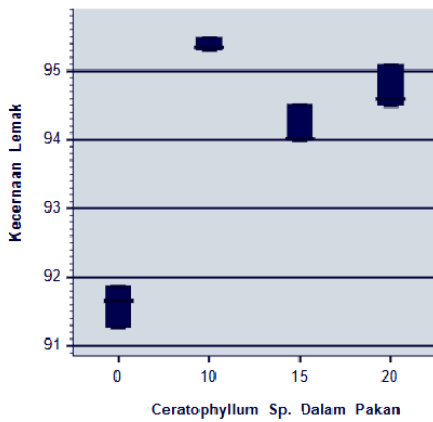
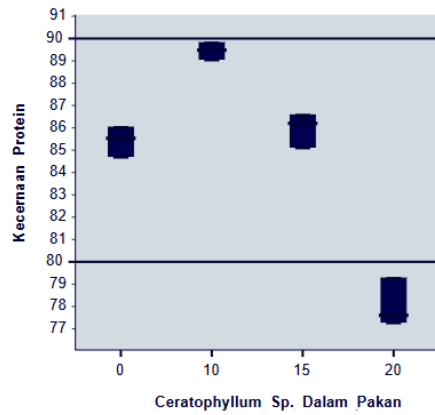
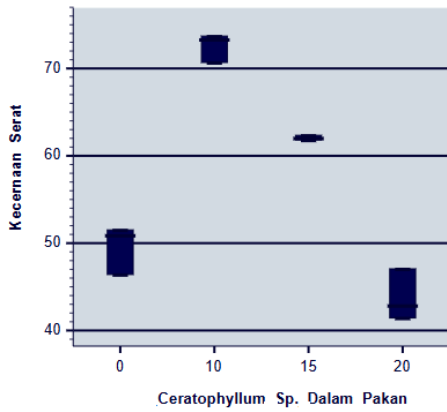
4. Grafik *radar-style area chart* perbandingan berbagai komposisi nutrisi dalam *Ceratophyllum* sp. yang terfermentasi pada berbagai jenis waktu (lama) fermentasi



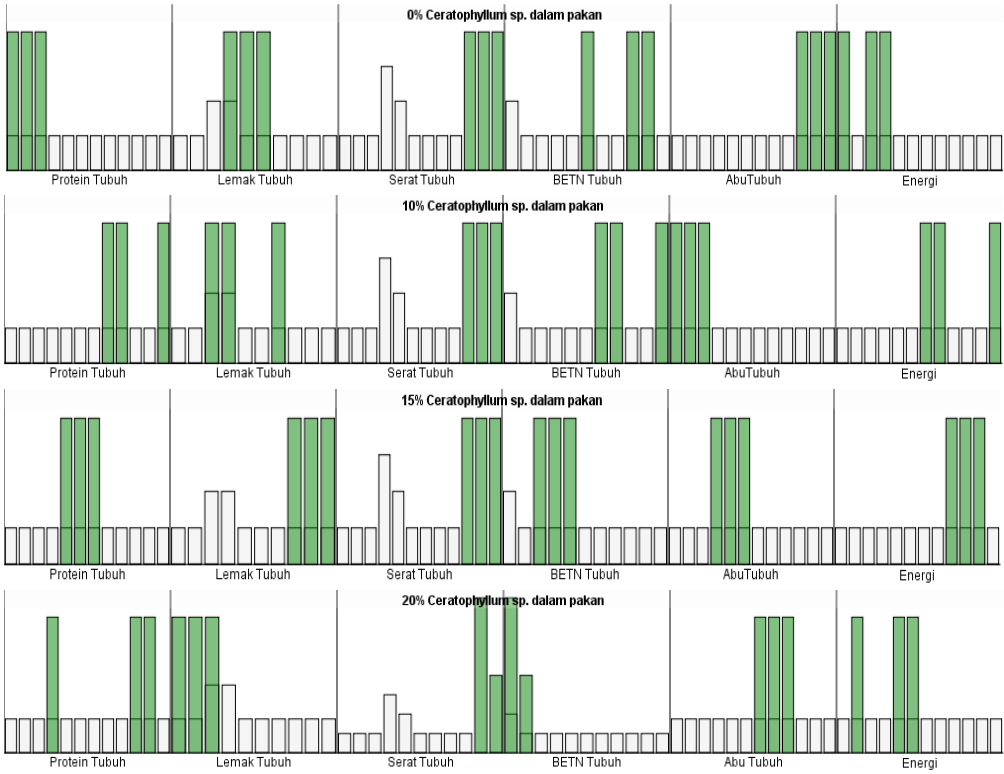
5. Grafik kromatogram hubungan berbagai jenis konsentrasi *Ceratophyllum* sp. terfermentasi dalam pakan (%) dengan aktivitas enzim pencernaan ikan bandeng



6. Visualisasi box plot hubungan jumlah *Ceratophyllum* sp. terfermentasi dalam pakan (%) dengan kecernaan nutrisi dan kecernaan total ikan bandeng



7. Visualisasi hubungan antara konsentrasi *Ceratophyllum* sp. dalam pakan dengan komposisi kimia tubuh ikan bandeng



## 8. Dokumentasi Penelitian

Penelitian Tahap 1. Identifikasi karakteristik morfologi, komposisi jenis bakteri yang terkandung dalam bioslurry dan seleksi bakteri penghasil enzim



Penelitian tahap 2. Efektivitas bakteri dari bioslurry dalam fermentasi *Ceratophyllum* sp. untuk formulasi pakan ikan bandeng (in vitro)



Penelitian tahap 3. Optimalisasi formulasi pakan dengan berbagai konsentrasi *Ceratophyllum* sp. yang difermentasi *Bacillus idriensis* terhadap pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan bandeng

