



LAPORAN PENELITIAN

**STUDI PEMBUATAN PROBIOTIK^{BAS} (*Bacillus licheniformis*,
Aspergillus niger, dan *Sacharomices cereviseae*) SEBAGAI FEED
SUPLEMENT SERTA IMPLIKASINYA TERHADAP
PERTUMBUHAN IKAN NILA MERAH**

Oleh :

**Kiki Haetami, SPt., MP.
Dr. Ir. Abun, MP.
Yuniar Mulyani, SP., MSi.**

**DIBIYAI OLEH DIREKTORAT JENDRAL PENDIDIKAN TINGGI,
DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
SESUAI DENGAN SURAT PERJANJIAN PELAKSANAAN PEKERJAAN
PENELITIAN
013/SP2H/PP/DP2M/III/2008
TANGGAL 6 MARET 2008**

**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS PADJADJARAN
NOVEMBER 2008**

**LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN HASIL PENELITIAN**

1.	a. Judul Penelitian	: Studi Pembuatan Probiotik ^{BAS} (<i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Aspergillus niger</i> , dan <i>Sacharomices cereviseae</i>) sebagai <i>Feed Supplement</i> serta Implikasinya terhadap Pertumbuhan Ikan Nila Merah
	b. Kategori Penelitian	: I
2.	Ketua Peneliti	
	a. Nama Lengkap dan Gelar	: Kiki Haetami, SPt., MP.
	b. Jenis Kelamin	: Perempuan
	c. Pangkat/Golongan/NIP.	: Penata Tk. I/III-d/132 086 627
	d. Jabatan Fungsional	: Lektor
	e. Fakultas/Jurusan	: Perikanan dan Ilmu Kelautan/Perikanan
	f. Universitas	: Padjadjaran, Bandung.
	g. Bidang Ilmu yang Diteliti	: Pertanian/Perikanan/Nutrisi Ikan
3.	Jumlah Tim Peneliti	: 3 (tiga) Orang
4.	Lokasi Penelitian	: - Lab. Nutrisi Ikan, FPIK Unpad, Jatinangor. - Lab Nutrisi Ternak Unggas, Non Ruminansia, dan Industri Makanan Ternak Fapet Unpad,
5.	Bila Penelitian ini Merupakan Peningkatan Kerjasama Kelembagaan	: Tidak
6.	Jangka Waktu Penelitian	: 1 (satu) tahun (Tahun ke-I dari 2 tahun)
7.	Biaya yang Diperlukan	:
	a. Biaya Tahun Ke 1	: Rp 45.000.000,-
	b. Biaya Tahun Ke 2	: Rp 45.000.000,-

Jatinangor, 20 Nopember 2008

Mengetahui:

Dekan Fakultas Peternakan
Universitas Padjadjaran,

Ketua Peneliti,

(Prof. Dr. H. Bachrulhayat Koswara, Ir. MS.)
NIP. 130 367 246

(Kiki Haetami, SPt., MP.)
NIP. 132 086 627

Menyetujui :
Ketua Lembaga Penelitian
Universitas Padjadjaran,

(Prof. Oekan S. Abdoellah, MA.Ph.D.)
NIP. 130 937 900

STUDI PEMBUATAN PROBIOTIK^{BAS} (*Bacillus licheniformis*, *Aspergillus niger*, dan *Sacharomices cereviseae*) SEBAGAI FEED SUPLEMENT SERTA IMPLIKASINYA TERHADAP PERTUMBUHAN IKAN NILA MERAH^{*})

Oleh :
Kiki Haetami^{**}), Abun^{***}), Yuniar Mulyani^{**})

RINGKASAN

Pertumbuhan Ikan Nila Merah sangat bergantung dari kualitas ransum dan sistem saluran pencernaan. Ikan Nila Merah termasuk ikan omnivora dengan organ pencernaan yang lengkap sebagai tempat hidupnya ekosistem a biotik dan biotik berupa mikroflora yang hidup disekelilingnya. Kinerja mikroflora dapat ditingkatkan melalui penambahan mikroflora eksogen sebagai imbuhan pakan (*feed suplement*) untuk membantu meningkatkan daya cerna dan efisiensi pakan. Hal tersebut perlu dipertimbangkan, karena probiotik menghasilkan komposisi zat makanan yang lebih sederhana (asam amino, asam lemak, gula-gula sederhana, vitamin dan mineral organik). Probiotik yang akan diujikan terdiri dari bakteri (*Bacillus licheniformis*), kapang (*Aspergillus niger*), dan ragi/yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), serta campurannya.

Untuk mendapatkan produk imbuhan pakan yang berkualitas, dilakukan optimasi terhadap kondisi bioproses probiotik (suhu bioproses, dosis inokulum, dan waktu bioproses). Selanjutnya untuk melihat kualitas dan nilai manfaat produk imbuhan pakan, dilakukan pengukuran terhadap nilai kecernaannya.

Penelitian telah dilakukan di Laboratorium Nutrisi Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Unpad dan Laboratorium Nutrisi Ternak Unggas, Non Ruminansia dan Industri Makanan Ternak, Universitas Padjadjaran, Jatinangor-Sumedang selama delapan bulan, yaitu dari Bulan April sampai dengan November 2008. Tujuan penelitian adalah untuk memperoleh tahapan kondisi dari masing-masing proses (suhu proses, dosis mikroba, waktu) pada pembuatan probiotik^{BAS}. Produk probiotik dijadikan *feed suplement* dalam pakan ikan nila merah. Untuk melihat nilai manfaat, *feed suplement* ditambahkan ke dalam pakan, dan diukur nilai kecernaannya. Percobaan dilakukan secara eksperimen di laboratorium dalam dua tahap. Tahap pertama, menggunakan rancangan tersarang (3X3) yang diulang 3 kali. Tahap kedua menggunakan rancangan acak lengkap, terdiri atas 8 perlakuan ransum dan diulang 4 kali. Peubah yang diamati pada tahap pertama: kandungan protein, serat kasar, lemak kasar, kalsium dan fosfor produk probiotik^{BAS}; tahap kedua: kecernaan bahan kering dan protein. Hasil yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam dan perbedaan antar perlakuan diuji dengan uji jarak berganda Duncan. Kesimpulan yang diperoleh dari hasil penelitian dan pembahasan adalah: Kondisi bioproses terbaik pada Studi pembuatan Probiotik^{BAS} untuk *Bacillus licheniformis* pada dosis 2% dengan suhu 45 °C, dan lama fermentasi 2 hari, sedangkan *Aspergillus niger* pada dosis 2% dengan suhu 35 °C, dan lama fermentasi 2 hari, dan *Saccharomyces cerevisiae* pada dosis 2% dengan suhu 35 °C, dan lama fermentasi 2 hari; karena menghasilkan kandungan gizi (protein, serat, lemak dan mineral) produk terbaik. Produk Probiotik^{BAS} dijadikan sebagai *feed suplement* dalam pakan ikan. Penggunaan *feed suplement* campuran ketiga jenis mikroba tersebut pada tingkat 4,5% dalam ransum, menghasilkan nilai kecernaan yang terbaik pada ikan. Nilai kecernaan bahan kering, dan protein kasar Probiotik^{BAS}, berturut-turut sebesar 76,07%, dan 75,28%.

Kata Kunci: Bioproses, Probiotik^{BAS}, Feed Suplemen, Kecernaan, Nila Merah

*) *Dibiayai oleh Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional, No. 013/SP2H/PP/DP2M/III/2008; Tanggal 06 Maret 2008.*

**) *Staf Pengajar Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjadjaran.*

***) *Staf Pengajar Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran.*

THE STUDY OF PROCESSED PROBIOTIK^{BAS} (*Bacillus licheniformis*, *Aspergillus niger*, dan *Sacharomices cereviseae*) AS FEED SUPPLEMENT AND ITS IMPLICATED ON RED NILE^{*)}

By :

Kiki Haetami), Abun***), Yuniar Mulyani **)**

SUMMARY

The aim of research for getting optimization of condition of (temperature, doze of microorganism and time of processing) at bioprocess Probiotik^{BAS} (*Bacillus licheniformis*, *Aspergillus niger*, dan *Sacharomices cereviseae*). The product of bioprocess extract used for feed supplement and therefore its test quality through measuring on digestibility value at red Nile. The research conducted in two stages using experimental method at Laboratory. The first stage used Completely Randomized Design (3x3) for each of condition of bioprocess. The second stage used Completely Randomized Design consisted eight ration treatments with four replication. Variables which examined in first stage were the contents of protein, extract ether, crude fiber, calcium, and phosphor at product of bioprocess Probiotik^{BAS}; The second stage were ; digestibility of dry matter and crude protein of ration. The Results were analysed by variance and its deference was analyzed with Duncan test.

Conclude of Results of the experiment were :

1. Temperature 50°C at bioprocess probiotic of *Bacillus licheniformis* result the best of protein product. Bioprocess probiotic of *Aspergillus niger* can conducted at with temperature 35°C. and probiotic of *Sacharomices cereviseae* at temperature 25 °C
2. doze 2% with time of processing two days were effective on bioprocessed of Probiotik^{BAS}.
3. The product for bioprocess of feed supplement Probiotik^{BAS} resulting raised of total coloni and nutrient.
4. The used of feed supplement combined of three types of microbe (bacteri , mold, and yeast) of Probiotik^{BAS} can resulting raised of digestibility value of dry matter and protein basal ration. The digestibility of dry matter and protein on red Nile were 76,10%, and 75,39% respectively.

Key words : Bioprocess, Probiotik^{BAS}, Feed Supplement, Digestibility, Red Nile

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan ke Hadirat Allah Swt, karena atas Rahmat-Nya, laporan hasil penelitian ini dapat diselesaikan. Judul laporan penelitian ini adalah “Studi Pembuatan Probiotik ^{BAS} (*Bacillus Licheniformis*, *Aspergillus Niger* dan *Saccharomyces cerevisiae* sebagai *Feed Supplement* serta Implikasinya terhadap Pertumbuhan Ikan Nila Merah.

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Bapak Direktur Jenderal Dinas Pendidikan Tinggi beserta staf Ditbinlitabmas Dikti atas perkenannya penelitian ini dapat berlangsung melalui pembiayaan dana bantuan dana Penelitian Hibah Bersaing tahap I tahun 2008.
2. Bapak Rektor Universitas Padjadjaran dan Bapak Ketua Lembaga Penelitian Universitas Padjadjaran, serta Bapak Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran, atas kepercayaannya.
3. Ketua Jurusan Perikanan, dan Kepala Laboratorium Akuakultur dan Nutrisi Ikan, FPIK Unpad dan Kepala Laboratorium Nutrisi Ternak Unggas Non Ruminansia dan Industri Makanan Ternak, Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran, yang telah memberikan izin penggunaan laboratorium.
4. Semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

Akhirnya penulis berharap laporan hasil penelitian ini bermanfaat bagi berbagai pihak yang memerlukannya.

Jatinangor, 20 November 2008
Penulis,

DAFTAR ISI

BAB	Halaman
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	i
RINGKASAN DAN SUMMARY	ii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Metode Penelitian	4
1.4. Lokasi dan Lama Penelitian	5
II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Probiotik sebagai Growth Promotor.....	6
2.2. Deskripsi <i>Bacillus licheniformis</i>	7
2.3. Deskripsi <i>Aspergillus niger</i>	7
2.4. Deskripsi <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	9
2.5. Deskripsi Nila Merah	10
2.6. Pengukuran Kecernaan	11
II. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	13
2.1. Tujuan Penelitian	13
2.2. Manfaat Hasil Penelitian	13
IV. METODE PENELITIAN	15
4.1. Ruang Lingkup Penelitian	15
4.2. Percobaan Tahap Pertama (Pembuatan Probiotik Bioproses).....	15
4.2.1. Bahan dan Alat Percobaan.....	15
4.2.2. Prosedur Percobaan.....	16
4.2.3. Rancangan Percobaan.....	17

4.3. Percobaan Tahap Dua (Penentuan Nilai Kecernaan)	18
4.3.1. Bahan dan Alat Percobaan.....	18
4.3.2. Prosedur Percobaan.....	20
4.3.3. Rancangan Percobaan	23
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
5.1. Pengaruh Suhu Bioproses terhadap Kandungan Gizi Produk	25
5.2. Pengaruh Dosis Bioproses terhadap Kandungan Gizi Produk.....	28
5.3. Pengaruh Waktu Bioproses terhadap Kandungan Gizi Produk	31
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	41
6.1. Kesimpulan	41
6.2. Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	46

DAFTAR TABEL

No.		Halaman
1.	Kandungan Zat-zat makanan Bahan Pakan Penyusun Ransum	20
2.	Susunan Ransum dan Kandungan Gizi Perlakuan.....	21
3.	Uji Jarak Berganda Duncan Pengaruh Suhu Bioproses terhadap Kandungan Gizi Produk	26
4.	Uji Jarak Berganda Duncan Pengaruh Dosis Bioproses terhadap Kandungan Gizi Produk	29
5.	Uji Jarak Berganda Duncan Pengaruh Waktu Bioproses terhadap Kandungan Gizi Produk	32
6.	Jumlah Koloni Mikroba pada Bioproses Probiotik ^{BAS}	33
7.	Kandungan Gizi Substrat dan Produk Bioproses Probiotik ^{BAS}	34
8.	Uji Jarak Berganda Duncan Pengaruh Ransum Mengandung <i>Feed Suplemen</i> Probiotik ^{BAS} terhadap Nilai Kecernaan Bahan Kering dan Protein	37

DAFTAR LAMPIRAN

No		Halaman
1.	Pengaruh Suhu pada Bioproses <i>Bacillus licheniformis</i> terhadap Kandungan Protein Kasar	46
2.	Pengaruh Suhu pada Bioproses <i>Aspergillus niger</i> terhadap Kandungan Protein Kasar	47
3.	Pengaruh Suhu pada Bioproses <i>Saccharomyces cerevisiae</i> terhadap Kandungan Protein Kasar	48
4.	Pengaruh Suhu pada Bioproses <i>Bacillus licheniformis</i> terhadap Kandungan Lemak Kasar	49
5.	Pengaruh Suhu pada Bioproses <i>Aspergillus niger</i> terhadap Kandungan Lemak Kasar	50
6.	Pengaruh Suhu pada Bioproses <i>Saccharomyces cerevisiae</i> terhadap Kandungan Lemak Kasar	51
7.	Pengaruh Suhu pada Bioproses <i>Bacillus licheniformis</i> terhadap Kandungan Serat Kasar	52
8.	Pengaruh Suhu pada Bioproses <i>Aspergillus niger</i> terhadap Kandungan Serat Kasar	53
9.	Pengaruh Suhu pada Bioproses <i>Saccharomyces cerevisiae</i> terhadap Kandungan Serat Kasar	54
10.	Pengaruh Suhu pada Bioproses <i>Bacillus licheniformis</i> terhadap Kandungan Kalsium	55
11.	Pengaruh Suhu pada Bioproses <i>Aspergillus niger</i> terhadap Kandungan Kalsium	56
12.	Pengaruh Suhu pada Bioproses <i>Saccharomyces cerevisiae</i> terhadap Kandungan Kalsium	57
13.	Pengaruh Suhu pada Bioproses <i>Bacillus licheniformis</i> terhadap Kandungan Fosfor	58
14.	Pengaruh Suhu pada Bioproses <i>Aspergillus niger</i> terhadap Kandungan Fosfor	59
15.	Pengaruh Suhu pada Bioproses <i>Saccharomyces cerevisiae</i> terhadap Kandungan Protein Kasar	60
16.	Pengaruh Suhu Bioproses terhadap Kandungan Gizi	61
17.	Pengaruh Dosis pada Bioproses <i>Bacillus licheniformis</i> terhadap Kandungan Protein Kasar	62
18.	Pengaruh Dosis pada Bioproses <i>Aspergillus niger</i> terhadap Kandungan Protein Kasar	63
19.	Pengaruh Dosis pada Bioproses <i>Saccharomyces cerevisiae</i> terhadap Kandungan Protein Kasar	64
20.	Pengaruh Dosis pada Bioproses <i>Bacillus licheniformis</i> terhadap Kandungan Lemak Kasar	65
21.	Pengaruh Dosis pada Bioproses <i>Aspergillus niger</i> terhadap Kandungan Lemak Kasar	66
22.	Pengaruh Dosis pada Bioproses <i>Saccharomyces cerevisiae</i> terhadap	

	Kandungan Lemak Kasar	67
23	Pengaruh Dosis pada Bioproses <i>Bacillus licheniformis</i> terhadap Kandungan Serat Kasar	68
24	Pengaruh Dosis pada Bioproses <i>Aspergillus niger</i> terhadap Kandungan Serat Kasar	69
25	Pengaruh Dosis pada Bioproses <i>Saccharomyces cerevisiae</i> terhadap Kandungan Serat Kasar	70
26	Pengaruh Dosis pada Bioproses <i>Bacillus licheniformis</i> terhadap Kandungan Kalsium	71
27	Pengaruh Dosis pada Bioproses <i>Aspergillus niger</i> terhadap Kandungan Kalsium	72
28	Pengaruh Dosis pada Bioproses <i>Saccharomyces cerevisiae</i> terhadap Kandungan Kalsium	73
29.	Pengaruh Dosis pada Bioproses <i>Bacillus licheniformis</i> terhadap Kandungan Fosfor	74
30.	Pengaruh Dosis pada Bioproses <i>Aspergillus niger</i> terhadap Kandungan Fosfor	75
31	Pengaruh Dosis pada Bioproses <i>Saccharomyces cerevisiae</i> terhadap Kandungan Protein Kasar	76
32.	Pengaruh Dosis Bioproses terhadap Kandungan Gizi	77
33.	Pengaruh Waktu pada Bioproses <i>Bacillus licheniformis</i> terhadap Kandungan Protein Kasar	78
34.	Pengaruh Waktu pada Bioproses <i>Aspergillus niger</i> terhadap Kandungan Protein Kasar	79
35.	Pengaruh Waktu pada Bioproses <i>Saccharomyces cerevisiae</i> terhadap Kandungan Protein Kasar	80
36.	Pengaruh Waktu pada Bioproses <i>Bacillus licheniformis</i> terhadap Kandungan Lemak Kasar	81
37.	Pengaruh Waktu pada Bioproses <i>Aspergillus niger</i> terhadap Kandungan Lemak Kasar	82
38.	Pengaruh Waktu pada Bioproses <i>Saccharomyces cerevisiae</i> terhadap Kandungan Lemak Kasar	83
39.	Pengaruh Waktu pada Bioproses <i>Bacillus licheniformis</i> terhadap Kandungan Serat Kasar	84
40.	Pengaruh Waktu pada Bioproses <i>Aspergillus niger</i> terhadap Kandungan Serat Kasar	85
41.	Pengaruh Waktu pada Bioproses <i>Saccharomyces cerevisiae</i> terhadap Kandungan Serat Kasar	86
42.	Pengaruh Waktu pada Bioproses <i>Bacillus licheniformis</i> terhadap Kandungan Kalsium	87
43.	Pengaruh Waktu pada Bioproses <i>Aspergillus niger</i> terhadap Kandungan Kalsium	88
44.	Pengaruh Waktu pada Bioproses <i>Saccharomyces cerevisiae</i> terhadap Kandungan Kalsium	88
45.	Pengaruh Waktu pada Bioproses <i>Bacillus licheniformis</i> terhadap Kandungan Fosfor	89

46.	Pengaruh Waktu pada Bioproses <i>Aspergillus niger</i> terhadap Kandungan Fosfor	90
47.	Pengaruh Waktu pada Bioproses <i>Saccharomyces cerevisiae</i> terhadap Kandungan Protein Kasar	91
48.	Pengaruh Waktu Bioproses terhadap Kandungan Gizi	92
49.	Kandungan Gizi Sebelum dan Sesudah Bioproses	93
50.	Jumlah Koloni Mikroba Sebelum dan Sesudah Bioproses	94
51.	Keadaan pH Sebelum dan Sesudah Bioproses	95
52.	Analisis Statistik Pengaruh Perlakuan terhadap Kecernaan Bahan Kering	96
53.	Analisis Statistik Pengaruh Perlakuan terhadap Kecernaan Protein	97
54.	Organisasi Peneliti ,	98

I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Ikan nila merah (*Oreochromis niloticus*) merupakan ikan ekonomis penting sebagai ikan konsumsi. Ikan ini sangat digemari masyarakat karena mempunyai daging yang tebal dan gurih, serta cepat pertumbuhannya. Minat para petani untuk memelihara ikan ini semakin besar, karena ikan ini mirip ikan kakap merah dan pembentukan daging ikan ini lebih cepat. yaitu dalam jangka waktu lima bulan sejak pemeliharaan pendederan 2 (stadia pembesaran) dapat mencapai berat 500 g per ekor. Ikan ini berdaging tebal sehingga berpotensi dijadikan sebagai komoditi ekspor dalam bentuk fillet ikan.

Dalam rangka memenuhi kebutuhan sebagai salah satu komoditi sumber protein hewani, diperlukan usaha pembudidayaan secara intensif. Pakan merupakan factor penentu pertumbuhan dan merupakan biaya terbesar dalam produksi (60-70%). Namun saat ini, karena harga bahan baku pakan yang berkualitas semakin meningkat dan bersaing dengan pangan dan pakan ternak lainnya, diperlukan upaya perbaikan nilai guna pakan alternative melalui pemberian *feed suplement* (pakan pelengkap).

Aspek fisiologi pencernaan dan pakan merupakan faktor penting untuk memacu pertumbuhan, karena menurut Wadnya, dkk (2000), lambatnya pertumbuhan diduga disebabkan dua faktor utama, yaitu :

- a. Kondisi internal ikan sehubungan dengan kemampuan ikan dalam mencerna dan memanfaatkan pakan untuk penambahan bobot tubuh.

- b. Kondisi eksternal pakan, yang formulasinya belum mengandung sumber nutrisi yang tepat dan lengkap bagi ikan sehingga tidak dapat memacu pertumbuhan pada tingkat optimal.

Upaya yang dapat ditempuh untuk meningkatkan kemampuan internal dan eksternal tersebut adalah dengan pemanfaatan mikroorganisme yang berfungsi sebagai probiotik (mikroba yang menguntungkan) dan penghasil nutrisi yang lebih mudah dicerna (prebiotik), serta sebagai sumber enzim microbial. Ikan mempunyai keterbatasan dalam mencerna pakan berkualitas rendah, sehingga membutuhkan protein pakan yang tinggi untuk pertumbuhannya.

Kemampuan ikan untuk mencerna pakan yang dikonsumsi bergantung kepada ada atau tidaknya enzim yang sesuai dan kondisi yang dibutuhkan enzim tersebut untuk bereaksi dengan substrat dalam saluran pencernaan ikan. Pencernaan dipengaruhi oleh tiga faktor, yaitu : keberadaan enzim dalam saluran pencernaan ikan, tingkat aktivitas enzim-enzim pencernaan, dan lamanya pakan yang dimakan bereaksi dengan enzim pencernaan. Masing-masing faktor tersebut akan dipengaruhi oleh faktor sekunder yang berhubungan dengan spesies ikan, umur dan ukuran ikan, kondisi lingkungan pencernaan, dan komposisi serta jumlah pakan yang dikonsumsi (Hepher, 1988). Enzim yang berperan dalam proses mencerna, terdiri dari enzim endogenous : enzim yang dihasilkan oleh saluran pencernaan; enzim eksogenous : enzim yang dihasilkan oleh kelenjar pankreas; dan enzim microbial : enzim yang dihasilkan oleh mikroba..

Penggunaan probiotik secara langsung akan meningkatkan efektivitas mikroba usus yang pada gilirannya meningkatkan pertumbuhan. Fermentasi pada umumnya akan menurunkan kadar serat kasar bahan baku ransum dan meningkatkan kandungan protein. Untuk itu diperlukan satu kegiatan yang perlu dilakukan guna meningkatkan efektivitas

probiotik dan mengurangi kendala kelangkaan bahan baku pakan ikan serta sekaligus meningkatkan kualitasnya.

Menurut Hoar, dkk (1979) enzim mikroflora usus sangat berpengaruh terhadap pencernaan pakan, khususnya untuk substrat seperti selulosa. Saluran pencernaan ikan nila lebih pendek dibanding herbivora sehingga aktivitas mikroba saluran pencernaannya relatif lebih rendah, selain itu nila tidak mempunyai lambung yang jelas sebagai tempat pertama pencernaan protein, seperti halnya ikan carnivora (Halver, 1979). Oleh sebab itu upaya meningkatkan produktivitas ikan nila melalui usaha perbaikan kandungan gizi dalam pakannya, harus disertai kearah peningkatan pencernaan secara maksimal terhadap pakan berserat dan juga pakan buatan. Salah satu upaya yang efektif dilakukan yaitu dengan bioproses enzimatik terhadap bahan baku pakan sehingga dihasilkan produk feed suplemen yang mengandung probiotik, dan nutrien-nutrien sederhana hasil perombakan oleh jasa mikroba yang mampu menjadi sumber energi yang efektif dicerna dan menyokong pertumbuhan. Kombinasi antara kultur tersebut diharapkan dapat saling menunjang (sinergisme) dalam keunggulan dan saling menutupi kekurangan sehingga dapat meningkatkan kinerja mikroflora yang hidup dalam usus ikan, yang pada gilirannya dapat meningkatkan pencernaan zat makanan.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan hal tersebut di atas maka dapat diidentifikasi beberapa masalah sebagai berikut:

- 1) Berapa besar pengaruh kondisi bioproses (suhu bioproses, dosis inokulum, dan waktu bioproses) pada pembuatan probiotik dari bakteri (*Bacillus licheniformis*), kapang

- (*Aspergillus niger*), dan ragi/yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) dapat mempengaruhi kandungan gizi (protein, lemak, serat kasar, Ca, P) produk *feed suplemen* Probiotik^{BAS}.
- 2) Berapa besar produk Probiotik^{BAS} (sebagai *feed suplemen*) dapat mempengaruhi nilai Kecernaan pada Ikan Nila Merah.

1.3. Metode Penelitian

Percobaan tahun pertama dilakukan dalam dua tahap dengan menggunakan metode eksperimen di laboratorium. Percobaan tahap pertama, menggunakan Rancangan Acak Lengkap (3 X 3) untuk masing-masing kondisi proses (untuk dosis inokulum dan lama bioproses) pada setiap mikroba yang digunakan. Percobaan tahap kedua, menggunakan rancangan acak lengkap (8 perlakuan x 3 ulangan). Peubah yang diamati pada tahap pertama yaitu kandungan gizi produk (protein, lemak, serat kasar, Ca dan P); sedangkan pada tahap kedua yaitu kecernaan bahan kering dan protein kasar ransum yang mengandung *feed suplemen* probiotik. Hasil yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam (uji F) dan perbedaan antar perlakuan diuji dengan uji jarak berganda Duncan.

1.4. Lokasi dan Lama Penelitian

Penelitian telah dilakukan di Laboratorium Nutrisi Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Unpad dan Laboratorium Nutrisi Ternak Unggas, Non Ruminansia dan Industri Makanan Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran, Jatinangor-Sumedang selama delapan bulan, yaitu dari Bulan April sampai dengan November 2008.

II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Probiotik sebagai Growth Promotor

Penggunaan antibiotik sintetis sebagai pemicu pertumbuhan lebih banyak menimbulkan masalah, maka kini mulai berkembang penggunaan pemacu pertumbuhan lain yang dikenal dengan probiotik. Sebuah "Probiotik" berdasarkan definisi yang kini disepakati umum ialah suplemen pakan berupa mikroba hidup yang bermanfaat dalam mempengaruhi hewan induk semang melalui perbaikan keseimbangan mikroba dalam usus (Fuller, 1992). Meskipun dalam definisi ini probiotik hanyalah merupakan pakan tambahan bagi ikan/ternak, namun dapat juga diaplikasikan pada manusia. Konsumsi probiotik pada manusia umumnya dalam bentuk makanan berasal dari air susu sapi perah yang mengandung mikroorganisme hidup *lactobacilli* dan *bifidobactria*. Efek mikroorganisme di atas ialah mempengaruhi komposisi mikroba usus, yang berarti mempengaruhi ekosistem usus. Beberapa efek yang muncul akibat perubahan ekosistem usus ialah: meningkatkan resistensi terhadap penyakit infeksi, khususnya penyakit saluran pencernaan, mengurangi durasi diarrhea dan menurunkan konsentrasi kolesterol dalam serum (Saavedra, *et.al.* 1994). Mekanisme probiotik yang cukup menguntungkan ialah dapat merangsang reaksi enzimatik yang berkaitan dengan detoksifikasi, khususnya pada racun yang potensial menyebabkan keracunan, baik yang berasal dari makanan (exogenous) maupun dari dalam tubuh (endogenous); merangsang enzim yang berkaitan dengan proses pencernaan bahan yang kompleks atau enzim tersebut tidak ada dalam saluran pencernaan mammalia; dan mensintesis zat-zat yang esensial yang tidak cukup jumlahnya dari makanan.

2.2. Deskripsi *Bacillus licheniformis*

B. licheniformis merupakan bakteri gram positif, berbentuk batang dengan panjang antara 1,5 μm sampai 3 μm dan lebar antara 0,6 μm sampai 0,8 μm . Spora dari bakteri ini berbentuk batang silindris atau elips dan terdapat pada sentral atau parasentral. Suhu maksimum pertumbuhannya adalah 50 – 55°C dan suhu minimumnya 15°C (Mao, *et al.*, 1992). *B. licheniformis* merupakan species bakteri yang mampu menghasilkan protease dalam jumlah yang relatif tinggi. Jenis protease yang dihasilkan oleh bakteri ini adalah enzim ekstraselular yang tergolong proteinase serin karena mengandung serin pada sisi aktifnya. Enzim ini bekerja sebagai endopeptida (memutuskan ikatan peptida yang berada dalam rantai protein sehingga dihasilkan peptida dan polipeptida) dan dihambat kuat oleh senyawa diisopropil-fluorofosfat (DFP), 3,4-dichloroisocoumarin (3,4-DCL), L-3-carboxy-trans-2,3-epoxypropyl-leucylamido (4-guanidine), butane, henymethylsulfonylfluoride (PMSF), dan tosyl-L-lysine chlorometyl ketone (TLCK) (Rao *et al.*, 1998). Selain itu, protease sirin tahan terhadap EDTA (Ethylene diame tetraacetic acid) dan adanya ion Ca^{++} dapat menstabilkan enzim pada suhu tinggi.

2.3. Deskripsi *Aspergillus niger*

Aspergillus niger mempunyai ciri-ciri yang khas yaitu berupa benang tunggal disebut hypha, atau berupa kumpulan berang-benang padat menjadi satu yang disebut miselium, tidak mempunyai klorofil dan hidup heterotrop. Bersifat aerobik dan berkembang biak secara vegetatif dan generatif melalui pembelahan sel dan spora-spora yang dibentuk di dalam askus atau kotak spora (Raper dan Fennel, 1977). Kapang ini tumbuh dengan baik pada suhu 30 – 35 °C. Kisaran pH yang dibutuhkan 2,8 sampai 8,8 dengan kelembaban 80

– 90 persen. *Aspergillus niger* merupakan spesies dari *Aspergillus* yang tidak menghasilkan *mycotoxin*, bahkan dapat menekan terbentuknya racun aflatoksin yang dihasilkan oleh *Aspergillus parasiticus*, sehingga tidak membahayakan. Kapang tersebut juga menghasilkan beberapa enzim, seperti α -amilase, β -amilase, selulase, glukoamilase, katalase, pektinase, lipase, dan β -galaktosidase (Ratledge, 1994). *Aspergillus niger* merupakan salah satu strain kapang yang dilaporkan mampu memproduksi enzim selulase. Selulase yang berasal dari *Aspergillus niger* berbentuk selulase kompleks dan mampu diproduksi dalam jumlah yang cukup banyak.

Menurut Ramadanil (1994), enzim yang dihasilkan mikroorganisme mempunyai kelebihan untuk dikembangkan, karena:

- (1) Mikroorganisme tumbuh sangat cepat dan mudah dikembangkan sehingga dapat digunakan dalam skala industri.
- (2) Substrat tumbuh mikroorganisme relatif tidak mahal, umumnya terdiri atas limbah industri pertanian.
- (3) Enzim yang dihasilkan mikroorganisme dapat diproduksi dalam jumlah yang tidak terbatas.

2.4. Deskripsi *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae adalah fungi uniseluler yang juga disebut ragi, berbentuk bulat atau oval, berukuran 5-12 μ , bermultifikasi membentuk bud, dan setelah dewasa akan pecah menjadi sel induk. Strukturnya mempunyai dinding polisakarida tebal yang menutup protoplasma. Shin (1966) mengemukakan bahwa keuntungan umum yang diperoleh dari kultur *Saccharomyces cerevisiae* hidup adalah : meningkatkan pertambahan bobot badan, efisiensi ransum, dan feed intake. Keuntungan ini diperoleh berdasarkan mekanisme kerja kultur *Saccharomyces cerevisiae* sebagai berikut :

- 1) Menstimulasi appetite (nafsu makan), karena ragi ini memiliki flavor natural yang menarik (asam glutamate) yang dapat memperbaiki palatabilitas,
- 2) Mengandung vitamin B kompleks ,
- 3) Mengasimilasi protein dan mensekresi asam amino,
- 4) Menyediakan mineral dalam bentuk chelat setelah sel ragi mengalami otolisis dan sejumlah mineral siap diabsorpsi oleh ternak
- 5) memproduksi sejumlah enzim meliputi amylase, lipase, protease dan lain-lain.
- 6) Sel aktif mempunyai materi absorbatif yang kuat dalam dinding selnya dan dapat berperan sebagai *nutrient reservoir* dan pH buffer.
- 7) Meningkatkan homeostasis usus, karena mempunyai kemampuan menindahkan oksigen untuk menciptakan kondisi anaerob sebagai fasilitas pertumbuhan bakteri anaerob.

2.5. Deskripsi Ikan Nila Merah

Ikan Nila Merah (*Oreochromis niloticus*) merupakan hasil persilangan antara *O. mossambicus* atau *O. Niloticus* dengan *O. hornorum*, *O. aureus* atau *O. zilli* (Trewavas, 1982). Ikan ini memiliki beberapa keunggulan dibandingkan ikan nila hitam yang telah dikenal sebelumnya, yaitu memiliki pertumbuhan yang lebih cepat, karena dalam jangka waktu enam bulan, bobot tubuh meningkat dari 30 g menjadi 300-500 g. Nila merah mempunyai harga lebih tinggi dan disukai masyarakat luar negeri terutama Jepang, Amerika, dan Singapura. Hal ini disebabkan warnanya yang menarik, dagingnya yang kesat gurih, dan bobotnya dapat mencapai 800 g sehingga ikan ini menyerupai ikan kakap merah atau *red sea bream* yang memiliki harga tinggi (Dinas Perikanan Propinsi Jawa Barat, 2006).

Perkembangan budidaya nila merah cukup pesat ditunjang adanya peluang ekspor akhir-akhir ini, dalam bentuk fillet ikan. Hanya saja nila merah yang dihasilkan petani umumnya hanya mencapai bobot 250 g/ekor dengan bobot maksimum 400 g. Hal ini karena pertumbuhan nila merah semakin lambat setelah mencapai bobot 200 g (Prass, 1993).

Berdasarkan penggolongan bahan baku pakan, bahan yang digunakan untuk pakan ikan terdiri dari Bahan Pakan Sumber Energi, Sumber Protein, Sumber Vitamin, Sumber Mineral, Feed Aditif, dan Feed Suplemen (Hartadi, 1986). Bahan pakan sumber vitamin, mineral dan imbuhan pakan (feed suplemen) juga dibutuhkan untuk meningkatkan kualitas dan manfaat, serta efisiensi ransum. Feed suplemen adalah bahan pakan yang dibutuhkan dalam jumlah sedikit namun diperlukan untuk melengkapi zat-zat makanan dalam ransum serta meningkatkan nilai manfaat ransum.

2.6. Pengukuran Kecernaan

Potensi nilai gizi ransum yang mengandung feed suplemen produk bioproses untuk penyediaan zat-zat makanan dan energi dapat ditentukan dengan jalan analisis kimia yang disebut analisis proksimat. Nilai sebenarnya ditunjukkan dari bagian yang hilang setelah bahan makanan dicerna, diserap dan dimetabolis (Ranjhan, 1980; Tillman dkk., 1991). Makin banyak zat makanan yang dapat diserap oleh tubuh ikan maka nilai kecernaan ransum makin tinggi. Hal ini merupakan suatu indikator tingginya kualitas ransum yang mengandung produk bioproses. Beberapa para ahli telah melakukan penelitian untuk menguji produk bioproses. Peningkatan kualitas gizi bioproses mengakibatkan molekul-molekul kompleks atau senyawa-senyawa organik seperti protein, karbohidrat dan lemak menjadi molekul-molekul yang lebih sederhana dan mudah dicerna (Darana, 1995).

Penggunaan *feed suplemen* dari produk bioproses dalam ransum ikan diharapkan nilai pencernaan ransum lebih baik. Zat makanan yang berpengaruh besar terhadap daya cerna adalah serat kasar (Tillman dkk., 1991), Dengan adanya Probiotik ^{BAS} sebagai *feed supplement* dari bakteri (*Bacillus licheniformis*), kapang (*Aspergillus niger*), dan ragi/yeast (*Saccharomyces cerevisiae*).

Daya cerna dapat didefinisikan sebagai bagian zat makanan yang tidak disekresikan dalam feses, sehingga dapat diartikan bahwa nilai pencernaan adalah banyaknya zat-zat makanan yang dicerna dan diserap dalam alat pencernaan atau yang tidak disekresikan dalam feses dibandingkan dengan zat makanan yang dikonsumsi (Tillman dkk., 1991). Jadi nilai pencernaan dapat diartikan banyaknya atau jumlah proposional zat makanan yang diserap tubuh. Makin banyak zat makanan yang diserap oleh tubuh, maka nilai pencernaan makin tinggi. Hal tersebut merupakan salah satu indikator tingginya kualitas pakan yang diberikan.

Metode pengukuran daya cerna untuk ikan telah dikembangkan oleh Sklan dan Hurwitz (1980), yang disitir oleh Wiradisastra (1986) dan dimodifikasi oleh Haetami dkk. (2000) yaitu menggunakan teknik pembedahan pada ikan, dan mengambil sampel feses berasal dari usus besar. Penelitian pencernaan menggunakan indikator internal sebagai pembanding, yaitu lignin untuk menentukan nilai pencernaan produk bioproses (Ranjhan, 1980; Close dan Menke, 1986).

Rumus perhitungan koefisien cerna (kecernaan) dengan menggunakan metode Ranjhan (1980) adalah sebagai berikut:

$$\text{Koefisien cerna} = 100\% - 100 \left\{ \frac{\% \text{ indikator dlm ransum}}{\% \text{ indikator dlm feses}} \times \frac{\% \text{ nutrisi dlm feses}}{\% \text{ nutrisi dlm ransum}} \right\}$$

III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian tahun pertama adalah :

- 1) Memperoleh tahapan kondisi bioproses yang (suhu bioproses, dosis inokulum, dan waktu bioproses) pada pembuatan probiotik dari bakteri (*Bacillus licheniformis*), kapang (*Aspergillus niger*), dan ragi/yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) produk probiotik^{BAS} sebagai *feed suplemen* melalui pengukuran komposisi gizi produk feed suplemen yang dihasilkan.
- 2) Mempelajari dan mengetahui kualitas probiotik^{BAS} (*feed supplement*) melalui pengukuran terhadap nilai pencernaan pada ikan nila merah.

3.2. Manfaat Penelitian

- 1) Mengembangkan teknik pembuatan Probiotik^{BAS} sebagai *feed supplement* dari bakteri (*Bacillus licheniformis*), kapang (*Aspergillus niger*), dan ragi/yeast (*Saccharomyces cerevisiae*)
- 2) Mengembangkan pemanfaatan produk Probiotik^{BAS} dari bakteri (*Bacillus licheniformis*), kapang (*Aspergillus niger*), dan ragi/yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) atau kombinasinya dalam susunan ransum/pakan ikan nila merah menjadi imbuhan pakan (*feed supplement*) yang berkualitas.
- 3) Meletakkan landasan ilmiah dalam pemanfaatan produk Probiotik^{BAS} sebagai pendekatan mikrobiologis dalam meningkatkan kinerja saluran pencernaan ikan untuk kepentingan nutrisi ikan.

IV

METODE PENELITIAN

4.1. Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan dalam 2 (dua) tahun. Penelitian pada tahun pertama dengan tahapan sebagai berikut:

1. Penentuan kandungan zat-zat makanan produk Probiotik^{BAS} (*Bacillus licheniformis*, *Aspergillus niger*, dan *Sacharomices cereviseae*).
2. Pengukuran kualitas Probiotik^{BAS} (*Bacillus licheniformis*, *Aspergillus niger*, dan *Sacharomices cereviseae*, serta campurannya) melalui penentuan nilai pencernaan sebagai feed suplemen dalam ransum ikan nila merah.

4.2. Percobaan Tahap Pertama (Pembuatan Probiotik melalui Bioproses)

Percobaan tahap pertama adalah untuk mendapatkan optimasi produk, yaitu: Dosis inokulum *Bacillus licheniformis*, *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces Cerevisiae* , lama dan suhu bioproses yang menghasilkan kandungan nutrisi terbaik.

4.2.1. Bahan dan Alat Percobaan

Bahan yang akan digunakan pada penelitian ini antara lain : Tepung beras, media fermentasi (kulit udang, tepung beras dan molases), bakteri *Bacillus licheniformis*, kapang *Aspergillus niger*, ragi *Saccharomyces cerevisiae*, nutrien agar dan larutan mineral standar. Bahan-bahan lain yang akan digunakan antara lain aquadest, glukosa yeast ekstrak, glukosa teknis, tripton, NaCl, NaOH, pereaksi azokasein, buffer borat, bufer fosfat, buffer

sitrat, buffer bikarbonat, TCA, gas oksigen dan Bovin Serum Albumin. Alat yang akan digunakan yaitu stoples stenles (reaktor), waterbath, auto-shakerbath, autoclave, gelas piala, pembakar bunsen, cawan petri, cawan porselin, sentrifuse Nima CR 21G, corong, PH-meter Knick, spektrofotometer Novaspec II, tabung reaksi, tanur, HPLC, serta mesin giling.

4.2.2. Prosedur percobaan

Pertama, menyiapkan starter inokulum yaitu dengan cara mengambil *Bacillus licheniformis*, *Aspergillus niger*, dan *Saccharomyces cerevisiae* satu ose, kemudian dikulturasi dalam Erlenmeyer 125 ml yang berisi 50 ml Luria broth steril yang ditetapkan pada pH 7 yang diatur menggunakan HCl 1N. Larutan broth yang telah dimasukkan mikroba itu kemudian diinkubasi dalam inkubator selama 2 hari pada suhu 30-35 °C. Inokulum yang sudah jadi, dihitung jumlah koloninya dengan menggunakan metode Total Plate Count (TPC) (jumlah koloni minimal 10⁹ per ml atau per g).

Kedua, menyiapkan media bioproses yang terdiri dari kulit udang, tepung beras, dan molases, 0,5 % (b/v) ekstrak yeast; 0,5 % (b/v) KH₂PO₄; 0,1 % (b/v) CaCl₂; 0,5 % (b/v) NaCl; dan 0,05% (b/v) MgSO₄. Setelah itu memasukkan inokulum *Bacillus licheniformis*, *Aspergillus niger*, dan *Saccharomyces cerevisiae* pada media kulit udang, onggok, dan molases yang telah dikukus.

Ketiga, melakukan bioproses pada auto-shakerbath dengan menggunakan jasa *Bacillus licheniformis*, *Aspergillus niger*, dan *Saccharomyces cerevisiae* pada dosis masing-masing sebesar 1 %; 2%; dan 3 %. Bioproses dilakukan selama 1 hari; 2 hari dan 3 hari, pada suhu 25 °C; 35 °C ; dan 45 °C untuk setiap perlakuan (*Bacillus licheniformis*, *Aspergillus niger*, dan *Saccharomyces cerevisiae*). Sebagai nutrisi dalam bioproses

ditambahkan larutan mineral standar (NH_4NO_3 0,5%; KCl 0,05%; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,05%; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,01%; dan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,001%).

4.2.3. Rancangan Percobaan

Percobaan dilakukan secara eksperimen di laboratorium, menggunakan Rancangan Acak Lengkap (3 perlakuan X 3 ulangan) untuk masing-masing kondisi proses (untuk suhu, dosis inokulum dan lama bioproses) pada setiap mikroba yang digunakan. Faktor pertama adalah suhu bioproses $S_1 = 25^\circ\text{C}$; $S_2 = 35^\circ\text{C}$; dan $S_3 = 45^\circ\text{C}$ dengan dosis dan waktu yang telah ditetapkan. Selanjutnya diukur faktor dosis, yaitu: $D_1 = 1\%$; $D_2 = 2\%$; dan $D_3 = 3\%$; dan waktu bioproses, yaitu: $W_1 = 1$ hari; $W_2 = 2$ hari; dan $W_3 = 3$ hari.

Dari kombinasi perlakuan, peubah yang diamatinya yaitu; (1) kandungan protein kasar, (2) kandungan lemak kasar, (3) kandungan serat kasar, (4) kandungan kalsium, (5) dan kandungan fosfor. Perlakuan terpilih dipakai untuk penelitian tahap kedua.

Model matematika yang digunakan adalah sebagai berikut :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + E_{ijk}$$

Keterangan :

Y_{ijk} = Nilai pengamatan pengaruh bersama dosis inokulum taraf ke-I dan lama inkubasi ke-j yang terdapat pada ulangan ke-k

μ = Nilai rata-rata umum

α_i = Pengaruh aditif dari faktor dosis inokulum taraf ke-i

β_j = Pengaruh dari faktor lama inkubasi ke-j

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Pengaruh interaksi faktor inokulum taraf ke-i dan lama inkubasi taraf ke-j

E_{ijk} = Pengaruh galat dari ulangan percobaan ke-k yang memperoleh kombinasi perlakuan dosis inokulum taraf ke-i dan lama inkubasi taraf ke-j.

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan dianalisis sidik ragam, apabila terdapat perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan (Duncan New Multiple Range Test) (Steel dan Torries, 1995).

4.3. Percobaan Tahap Kedua (Penentuan Nilai Kecernaan)

Produk bioproses berupa Probiotik^{BAS} terpilih dari masing-masing kondisi proses, selanjutnya diukur kecernaannya sebagai feed suplemen dalam ransum untuk menentukan kualitas secara biologis pada ikan nila merah.

4.3.1. Bahan dan Alat Percobaan

a. Ikan uji

Ikan uji yang digunakan adalah ikan nila merah sebanyak 240 ekor dengan bobot tubuh $200 + 10$ g.

b. Wadah Percobaan dan Perlengkapannya

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- Wadah penelitian berupa bak fiber bervolume 1m^3 sebanyak 21 buah untuk kolam percobaan, yang masing-masing diisi air tawar $\frac{3}{4}$ bagiannya, dan kemudian diisi ikan nila merah dengan kepadatan 3 ekor per 200 L.
- Satu buah blower dan 21 buah aerator untuk memasok udara.
- Thermometer air raksa untuk mengukur suhu air.
- Timbangan analitik satu buah untuk mengukur berat badan ikan dan pakan uji.
- Timbangan O-haus untuk mengukur berat bahan baku penyusun pellet.
- pH meter dan spektrofotometer “Milton Roy Spektronik”, untuk mengukur pH dan amonia.

- Alat pencatat waktu untuk menentukan perkiraan lamanya pakan mencapai anus (saat ikan mulai mengeluarkan feses setelah pakan diberikan). Sarung tangan, lap, pinset, benang, dan pisau bedah untuk alat memotong ikan dan memisahkan feses dari usus besar.
- Oven dan alumunium foil sebanyak 15 buah untuk menyimpan sampel feses.
- Mesin pencetak pellet.
- Instalasi penguji lignin dan instalasi penguji Protein cara Kjehdahl.

Sedangkan bahan-bahan yang digunakan adalah :

- Bahan Baku pakan yang terdiri dari dedak padi, tepung ikan, jagung, polar, minyak ikan dan tepung kedele decalsium phosphat dan Produk Probiotik^{BAS} hasil proses terbaik. Kandungan zat-zat makanan bahan pakan penyusun ransum dapat dilihat pada Lampiran 52.
- Bahan-bahan kimia untuk menguji kandungan lignin dan protein.

Tabel 1. Kandungan Zat-zat Makanan Bahan Pakan Penyusun Ransum.

B. Pakan	PK	LK	SK	Ca	P	Lys	Met	Sis
 (%)(%).....			
Jagung	8,60	3,90	2,00	0,02	0,10	0,20	0,18	0,18
Dedak	12,00	13,00	12,00	0,12	0,20	0,77	0,29	0,40
B. kedele	45,00	0,90	6,00	0,32	0,29	2,90	0,65	0,67
B. kelapa	21,00	1,80	15,00	0,20	0,20	0,64	0,29	0,30
T. ikan	60,00	9,00	1,00	5,50	2,80	5,00	1,80	0,94
DCP	0,00	0,00	0,00	22,00	19,00	0,00	0,00	0,00
CaCO ₃	0,00	0,00	0,00	38,00	0,00	0,00	0,00	0,00
M. kelapa	0,00	100	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Premix	0,00	0,00	0,00	10,00	5,00	0,30	0,30	0,10

- Sumber : Wahyu (1982)

c. Ransum Perlakuan

Ransum perlakuan yang digunakan pada percobaan ini terdiri atas:

1. R₀ = Ransum basal, tidak mengandung *Feed suplemen* Probiotik^{BAS}.
2. R₁ = 97% R₀ + 3% FS Probiotik^B (*Bacillus licheniformis*).
3. R₂ = 97% R₀ + 3% FS Probiotik^A (*Aspergillus niger*).
4. R₃ = 97% R₀ + 3% FS Probiotik^S (*Saccharomyces cerevisiae*).
5. R₄ = 97% R₀ + 1,5 % FS Probiotik^B (*Bacillus licheniformis*) + 1,5% Probiotik^A (*Aspergillus niger*).
6. R₅ = 97% R₀ + 1,5% FS Probiotik^B (*Bacillus licheniformis*) + 1,5% Probiotik^S (*Saccharomyces cerevisiae*).
7. R₆ = 97% R₀ + 1,5% Probiotik^A (*Aspergillus niger*) + 1,5% Probiotik^S (*Saccharomyces cerevisiae*).
8. R₇ = 97% R₀ + 1,0 % Probiotik^B (*Bacillus licheniformis*) + 1,0% Probiotik^A (*Aspergillus niger*) + 1,0% Probiotik^S (*Saccharomyces cerevisiae*).

Ransum basal (R₀) disusun berdasarkan rekomendasi NRC (1993). Kandungan protein dan energi untuk ransum basal (R₀) adalah 30%. Susunan Ransum perlakuan beserta kandungan gizi hasil analisis proksimat dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Susunan Ransum dan Kandungan Gizi Perlakuan

Ransum Perlakuan	PK	LK	SK	Ca	P
R ₀ (Ransum basal)	30,02	6,90	7,56	1,51	0,87
R ₁ (97% R ₀ + 3% FS ^B)	30,06	6,83	7,59	1,59	0,91
R ₁ (97% R ₀ + 3% FS ^A)	30,00	6,84	7,56	1,58	0,90
R ₁ (97% R ₀ + 3% FS ^S)	29,98	6,85	7,56	1,58	0,90
R ₁ (97% R ₀ + 1,5% FS ^B + 1,5 FS ^A)	30,03	6,83	7,57	1,59	0,91
R ₁ (97% R ₀ + 1,5% FS ^B + 1,5 FS ^S)	30,02	6,84	7,58	1,58	0,90
R ₁ (97% R ₀ + 1,5% FS ^A + 1,5 FS ^S)	29,99	6,84	7,56	1,58	0,90
R ₁ (97% R ₀ + 1% FS ^A + 1 FS ^S + 1% FS ^S)	30,02	6,84	7,57	1,58	0,90

Keterangan : FS = feed suplemen

4.3.2. Prosedur Percobaan

Pelaksanaan percobaan dilakukan dalam tiga tahap, yaitu :

- 1) Tahap adaptasi selama dua minggu yang bertujuan untuk :
 - Membiasakan ikan terhadap pakan uji dan faktor lingkungan lain.
 - Mengamati lama pakan di dalam saluran pencernaan yang ditandai dengan awal keluarnya feses, dan menentukan frekuensi pemberian pakan.
- 2) Tahap pengumpulan feses selama dua minggu, yang meliputi :
 - Pakan diberikan secara ad libitum dengan frekuensi tiga kali sehari (sesuai tahap adaptasi).
 - Pada hari terakhir penelitian ikan dibedah dan diambil fesesnya.
- 3) Tahap analisis feses, yang meliputi : berat segar, berat kering jemur, dan kering oven, analisis protein dan kandungan lignin pakan.

Cara Pengamatan

a. Pengambilan sampel feses.

Pengambilan sampel feses dilakukan satu kali pada jam ke-7. Sampel feses diambil dari usus besar dan anus dengan cara pembedahan. Waktu pengambilan ikan uji untuk diambil sampel fesesnya, disesuaikan dengan laju pelaluan pakan sejak dikonsumsi sampai keluar menjadi feses. Laju pelaluan tersebut diamati setiap hari, sebelum pengambilan sampel feses dilakukan. Diharapkan pengamatan ini dapat mendekati lama/laju pelaluan pakan saat pengambilan sampel feses. Menurut hasil penelitian dengan X-ray terhadap ikan nila ukuran 200 g, pakan mulai mencapai anus pada jam ke-6 dan berakhir pada jam ke-9 (Wooton, dkk., 1981).

b. Peubah yang diamati.

Data yang dikumpulkan :

- a. Konsumsi ransum (gram)
- b. Konsumsi bahan kering (gram)
- c. Lignin ransum (gram)
- d. Bahan kering feses (gram)
- e. Lignin feses (gram)

Berdasarkan data yang terkumpul dari tahap-tahap diatas dilakukan perhitungan bahan kering dapat dicerna dan protein kasar dapat dicerna yang diperoleh dengan menggunakan persamaan dari Schneider dan Flatt (1973) dan Rajhan (1980) adalah sebagai berikut:

$$\text{Koefisien cerna} = 100\% - 100 \left\{ \frac{\% \text{ lignin pakan}}{\% \text{ lignin feses}} \times \frac{\% \text{ nutrien dlm feses}}{\% \text{ nutrien dlm pakan}} \right\}$$

4.3.3. Rancangan Percobaan

Percobaan menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL), terdiri atas 8 perlakuan pemberian Probiotik^{BAS} (tanpa Probiotik, Probiotik^B, Probiotik^A, Probiotik^S, Probiotik^{BA}, Probiotik^{BS}, Probiotik^{AS}, Probiotik^{BAS}) yang masing-masing diulang sebanyak empat kali. Data yang diperoleh dianalisis dengan Sidik Ragam (Uji F) dan perbedaan antar perlakuan diuji dengan menggunakan Uji Jarak Berganda Duncan. Model matematika yang digunakan adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan:

Y_{ij} = Respon hasil pengamatan

μ = Rataan umum

α_{ij} = Pengaruh perlakuan ke-i

ε_{ij} = Pengaruh pengacakan

Apabila terjadi perbedaan antar perlakuan, maka dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan Uji Jarak Berganda Duncan, dengan rumus sebagai berikut:

$$S_x = \sqrt{\frac{KTg}{r}} \quad ; \quad LSR = SSR \times S_x$$

Keterangan:

S_x = Standard error

KTg = Kuadrat tengah galat

LSR = Least significant range

SSR = Studentized significant range

Kaidah keputusan:

Bila d $\left\{ \begin{array}{l} \leq \text{LSR, tidak berbeda nyata (terima } H_0) \\ > \text{LSR, berbeda nyata (tolak } H_0) \end{array} \right.$

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Pengaruh Suhu Bioproses terhadap Kandungan Gizi Produk

Pengamatan terhadap kondisi suhu bioproses dilakukan pada waktu dan dosis yang ditetapkan, yaitu masing-masing selama 2 hari dengan dosis 2%. Uji Statistik Pengaruh Suhu pada Bioproses Probiotik^{BAS} (*Bacillus licheniformis*, *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae*) terhadap Kandungan Protein dapat dilihat pada Lampiran 1-3, sedangkan pengaruhnya terhadap Lemak kasar, Serat Kasar, Kalsium dan fosfor dapat dilihat pada Lampiran 4-15. Hasil Analisis Sidik Ragam menunjukkan bahwa berbagai tingkat suhu berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap kandungan Lemak kasar, Serat Kasar, Kalsium dan fosfor baik pada produk *Bacillus licheniformis*, *Aspergillus niger* maupun *Saccharomyces cerevisiae*. Untuk mengetahui berapa besar perbedaan pengaruh antar perlakuan dilakukan Uji jarak berganda Duncan yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3 menunjukkan bahwa dengan semakin meningkatnya suhu perlakuan cenderung meningkatkan kandungan protein, kalsium dan fosfor produk, baik pada bioproses *Bacillus licheniformis*, *Aspergillus niger* maupun *Saccharomyces cerevisiae*. Hal ini didukung oleh pendapat Sulaiman (1988), bahwa kandungan protein dan mineral produk bioproses probiotik secara mikrobiologis akan mengalami peningkatan sejalan dengan peningkatan suhu sampai batas tertentu.

Tabel 3. Uji Jarak Berganda Duncan Pengaruh Suhu Bioproses terhadap Kandungan Gizi Produk

Perlakuan		Parameter				
Mikroba	Suhu	PK	LK	SK	CA	P
	(%).....				
<i>B.licheniformis</i>	S ₁	27.59 ^A	5.04 ^B	9.33 ^A	3.88 ^A	1.69 ^A
	S ₂	28.09 ^A	4.76 ^{AB}	9.00 ^B	4.05 ^{AB}	1.83 ^A
	S ₃	30.91 ^B	4.63 ^A	8.74 ^B	4.16 ^B	2.09 ^B
<i>A.niger</i>	S ₁	27.89 ^A	5.07 ^B	9.07 ^A	3.70 ^A	1.56 ^A
	S ₂	29.19 ^B	4.85 ^{AB}	8.14 ^B	4.04 ^B	1.91 ^B
	S ₃	29.23 ^B	4.70 ^A	7.93 ^B	4.08 ^B	1.97 ^B
<i>S.cerevisiae</i>	S ₁	27.76 ^A	5.20 ^B	8.22 ^A	3.67 ^A	1.70 ^A
	S ₂	28.48 ^A	5.06 ^{AB}	8.16 ^A	3.74 ^A	1.86 ^B
	S ₃	28.52 ^A	4.89 ^A	7.99 ^A	3.83 ^A	1.88 ^B

Keterangan : S₁ = 25 °C; S₂= 35 °C ; S₃ = 45 °C

Dari Tabel 3 dapat dilihat bahwa pada bioproses probiotik *Bacillus licheniformis*, S₃ berpengaruh nyata menghasilkan protein kasar tertinggi (30.91%) dibandingkan S₁ (27.59 %) dan S₂ (28.09 %). Hal tersebut menunjukkan bahwa *Bacillus licheniformis* lebih efektif bekerja merombak substrat pada suhu 45 °C. Hasil penelitian ini sejalan dengan pendapat Mao, dkk. (1992), bahwa *Bacillus licheniformis* bersifat termofilik dan mempunyai suhu maksimum pertumbuhannya sebesar 50-55 C. Produk probiotik mempunyai kandungan protein kasar yang lebih tinggi dari substrat asalnya (22,19%) menjadi 30,91%. Menurut Bisping, dkk. (2005) *Bacillus licheniformis* merupakan spesies bakteri yang mampu menghasilkan protease dalam jumlah yang relatif tinggi. Enzim ini bekerja sebagai endopeptida (memutuskan ikatan peptida yang berada dalam rantai protein sehingga dihasilkan peptida dan polipeptida). Selain itu peningkatan protein diperoleh dari protein mikrobial yang dihasilkan dari peningkatan jumlah koloni bakteri (Tabel 6).

Pengaruh Suhu pada Bioproses *Bacillus licheniformis* dan kapang *Aspergillus niger* terhadap perubahan komposisi gizi yang lainnya, adalah : penurunan kandungan serat kasar, peningkatan kandungan lemak, dan peningkatan kadar kalsium yang hasilnya pada suhu 45 °C nyata menghasilkan perubahan yang paling besar. Lain halnya dengan probiotik *S.cerevisiae*, ketiga perlakuan suhu tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata terhadap kandungan protein, serat kasar, dan kalsium. Dari hasil ini tampak bahwa umumnya suhu terbaik pada bioproses bakteri dan kapang adalah sebesar 45 C, sedangkan ragi memberikan respon yang sama terhadap ketiga perlakuan suhu tersebut. Hal demikian disebabkan karena mikroba dapat tumbuh pada suhu pertumbuhan minimum, tapi pertumbuhannya tidak optimal dan enzim yang dihasilkan tidak maksimal, sehingga kandungan protein, kalsium dan fosfor pada bioproses probiotik oleh *Bacillus licheniformis-Aspergillus niger* tidak maksimal. Hal ini sesuai dengan pendapat Banwart (1989) menyatakan bahwa suhu yang lebih rendah dari suhu optimum, proses metabolisme akan berjalan lambat.

Menurut Gray (1970), kapang *A.niger* tumbuh dengan baik pada kisaran suhu 32-33 C, dengan pH 2,8-8,8 dan kelembaban 80-90%. Sedangkan *B.licheniformis* mempunyai suhu maksimum pertumbuhannya sebesar 50-55 C, sedangkan *S cereviseae* dapat tumbuh pada suhu kamar (Mao, dkk. 1992). Namun demikian ketiga perlakuan suhu tersebut dapat merubah substrat menjadi produk yang kandungan gizinya lebih baik.

Ketiga perlakuan peningkatan suhu sampai 45°C cenderung meningkatkan kandungan protein, kalsium dan fosfor yang optimal pada bioproses probiotik secara mikrobiologis. Kandungan protein dan mineral produk bioproses probiotik secara mikrobiologis akan mengalami peningkatan sejalan dengan peningkatan suhu sampai batas tertentu kemudian menurun kembali (Sulaiman, 1988). Suhu perlakuan pada penelitian ini

maksimal sampai 45°C. Jika suhu di atas suhu pertumbuhan optimum akan banyak mikroba yang mati, oleh karena itu sedikit mikroba yang mendegradasi substrat. Sesuai dengan pendapat Hawker dan Linton, (1971) menyatakan bahwa semakin tinggi suhu, sistem enzim satu per satu akan nonaktif hingga akhirnya berakibat pertumbuhan menjadi tidak stabil.

5.2. Pengaruh Dosis Bioproses terhadap Kandungan Gizi Produk

Pengamatan terhadap kondisi dosis bioproses dilakukan pada suhu dan waktu yang ditetapkan, yaitu masing-masing untuk bakteri *B.licheniformis* 45 °C *A.niger* 35 °C *S.cerevisiae* 25 °C; dengan lama bioproses 2 hari.

Uji Statistik Pengaruh Dosis pada Bioproses Probiotik^{BAS} (*Bacillus licheniformis*, *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces Cerevisiae*) terhadap Kandungan Protein dapat dilihat pada Lampiran 17-19, sedangkan pengaruhnya terhadap lemak kasar, serat kasar, kalsium dan fosfor dapat dilihat pada Lampiran 20-31. Hasil Analisis Sidik Ragam menunjukkan bahwa berbagai tingkat dosis berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap kandungan lemak kasar, serat kasar, kalsium dan fosfor baik pada produk *Bacillus licheniformis*, *Aspergillus niger* maupun *Saccharomyces cerevisiae*. Untuk mengetahui berapa besar perbedaan pengaruh antar perlakuan terhadap kandungan protein, kalsium dan fosfor, dilakukan Uji Jarak Berganda Duncan yang hasilnya dapat ditelaah pada Tabel 4.

Tabel 4. Uji Jarak Berganda Duncan Pengaruh Dosis Bioproses terhadap Kandungan Gizi Produk

Perlakuan		Parameter				
Mikroba	Dosis	PK	LK	SK	Ca	P
	(%).....				
<i>B.licheniformis</i>	D ₁	27.74 ^A	5.00 ^B	9.33 ^A	3.88 ^A	1.54 ^A
	D ₂	31.19 ^B	4.27 ^{AB}	8.84 ^{AB}	4.23 ^B	1.91 ^B
	D ₃	30.98 ^B	4.13 ^A	8.66 ^B	4.22 ^B	2.11 ^B
<i>A.niger</i>	D ₁	27.70 ^A	5.08 ^B	8.77 ^A	3.61 ^A	1.57 ^A
	D ₂	29.36 ^B	4.63 ^{AB}	7.12 ^B	4.17 ^B	1.86 ^B
	D ₃	29.54 ^B	4.51 ^A	6.90 ^B	4.22 ^B	1.97 ^B
<i>S.cerevisiae</i>	D ₁	26.72 ^A	5.26 ^B	8.25 ^A	3.66 ^A	1.62 ^A
	D ₂	28.65 ^B	5.14 ^{AB}	7.13 ^B	3.89 ^B	1.79 ^{AB}
	D ₃	28.39 ^B	4.96 ^A	7.14 ^B	3.99 ^C	1.96 ^B

Keterangan : D₁ = 1% ; D₂= 2% ; D₃ = 3%

Tabel 4 menunjukkan bahwa dosis inokulum sebesar 1%, baik pada bioproses oleh *B.licheniformis*, *Aspergillus niger* maupun *Saccharomyces cerevisiae* menghasilkan kandungan protein yang paling rendah, demikian pula terhadap kandungan kalsium dan fosfor. Namun dosis perlakuan 2% dan 3%, keduanya tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata terhadap kandungan gizi produk.

Jumlah mikroba yang ditanam sangat menentukan produk bioproses. Tingkat dosis inokulum dan waktu berkaitan dengan besaran populasi mikroba yang berpeluang menentukan cepat tidaknya perkembangan mikroba dalam menghasilkan enzim untuk merombak substrat sehingga pada gilirannya berpengaruh terhadap produk akhir. Pada hasil penelitian ini D₁ ternyata menghasilkan kandungan gizi terendah, berarti populasi mikroba yang diinokulasikan belum cukup digunakan untuk merombak substrat secara

maksimal. Menurut Aisjah (1995), semakin tinggi dosis inokulum, maka semakin banyak populasi mikroba dan semakin banyak pula komponen substrat yang dirombak.

Dari hasil penelitian ini hampir secara keseluruhan dosis inokulum 2% (D₂) menghasilkan kandungan gizi yang tidak berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan dosis inokulum 3% (D₃), meskipun kandungan serat kasar produk feed suplemen probiotik pada D₃ lebih rendah. Dengan demikian D₂ merupakan dosis inokulum yang efektif untuk menghasilkan kandungan protein kasar produk probiotik^{BAS} yang optimal. Sesuai dengan pendapat Tanuwidjadja (1975) bahwa jumlah mikroba yang terlalu banyak dapat menyebabkan sporulasi yang terlalu cepat sehingga sebagian energi tidak digunakan untuk memperbanyak sel, begitu pula sebaliknya, jumlah mikroba yang terlalu sedikit mengakibatkan pertumbuhannya tidak optimal.

5.3. Pengaruh Waktu Bioproses terhadap Kandungan Gizi Produk

Pengamatan terhadap kondisi lama waktu bioproses dilakukan pada suhu dan dosis yang ditetapkan, yaitu masing-masing untuk bakteri *B.licheniformis* 45 °C *A.niger* 35 °C *S.cerevisiae* 25 °C; dengan dosis 2%.

Uji Statistik pengaruh waktu pada Bioproses Probiotik^{BAS} (*Bacillus licheniformis*, *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces Cerevisiae*) terhadap Kandungan Protein dapat dilihat pada Lampiran 33-35, sedangkan pengaruhnya terhadap lemak kasar, serat kasar, kalsium dan fosfor dapat dilihat pada Lampiran 36-47. Hasil Analisis Sidik Ragan menunjukkan bahwa berbagai tingkat waktu memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap ($P < 0,05$) kandungan lemak kasar, serat kasar, kalsium dan fosfor baik pada produk *Bacillus licheniformis*, *Aspergillus niger* maupun *Saccharomyces cerevisiae*. Untuk mengetahui berapa besar perbedaan pengaruh antar perlakuan terhadap kandungan protein,

kalsium dan fosfor, dilakukan Uji Jarak Berganda Duncan yang hasilnya dapat ditelaah pada Tabel 5.

Tabel 5 tampak bahwa waktu berpengaruh nyata dalam meningkatkan kandungan gizi produk probiotik ketiga jenis mikroba (bakteri, kapang, dan ragi). Waktu bioproses 1 hari (W_1) menghasilkan protein, kalsium, dan fosfor yang paling rendah. Besar kecilnya kandungan ketiga nutrisi tersebut dapat menunjukkan kualitas nutrisi dari segi kimiawi. Demikian pula terhadap kandungan serat kasar, W_1 paling tinggi kandungan serat kasarnya, yang berarti komponen serat kasar yang ada dalam substrat belum optimal dirombak menjadi gula-gula sederhana. Seperti halnya kondisi bioproses yang lainnya (tingkat dosis inokulum), lama waktu proses fermentasi secara mikrobiologis berkaitan dengan besaran populasi mikroba yang berpeluang menentukan cepat tidaknya perkembangan mikroba dalam menghasilkan enzim untuk merombak substrat sehingga pada gilirannya berpengaruh terhadap kandungan gizi produk akhir.

Tabel 5. Uji Jarak Berganda Duncan Pengaruh Waktu Bioproses terhadap Kandungan Gizi Produk

Perlakuan		Parameter				
Mikroba	Waktu	PK	LK	SK	Ca	P
.....(%).....						
<i>B.licheniformis</i>	W_1	26.77 ^A	4.72 ^B	9.22 ^A	3.81 ^A	1.64 ^A
	W_2	31.59 ^C	4.24 ^A	8.35 ^B	4.29 ^B	2.14 ^B
	W_3	28.18 ^B	4.17 ^A	8.26 ^B	4.11 ^B	1.92 ^{AB}
<i>A.niger</i>	W_1	26.97 ^A	5.13 ^B	8.74 ^A	3.74 ^A	1.65 ^A
	W_2	29.47 ^B	4.53 ^A	6.93 ^B	4.10 ^B	2.08 ^B
	W_3	30.44 ^B	4.47 ^A	6.80 ^B	4.31 ^B	2.05 ^B
<i>S.cerevisiae</i>	W_1	27.08 ^A	5.38 ^A	8.74 ^A	3.59 ^A	1.62 ^A
	W_2	29.64 ^B	5.22 ^A	7.43 ^B	4.13 ^B	1.95 ^B
	W_3	29.17 ^B	5.05 ^A	7.20 ^B	3.90 ^{AB}	2.01 ^B

Keterangan : $W_1 = 25^\circ\text{C}$; $W_2 = 35^\circ\text{C}$; $W_3 = 45^\circ\text{C}$

5.4. Jumlah Koloni dan Kandungan Gizi, Sebelum dan Sesudah Bioproses.

Perubahan nilai gizi produk bioproses Probiotik ^{BAS} dapat ditentukan dengan jalan analisis kimia, yaitu analisis proksimat. Sedangkan jumlah koloni dilakukan dengan metode total plate count (TPC). Jumlah koloni substrat awal yang telah diinokulasikan mikroba sebelum dilakukan bioproses dapat dilihat pada Tabel 6. Adapun kandungan kandungan gizi awal bioproses atau kandungan gizi substrat dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 6. Jumlah Koloni Mikroba pada Bioproses Probiotik ^{BAS}

Mikroba	Awal	Akhir	Peningkatan
(x10 ⁹).....		
<i>B.licheniformis 1</i>	4,42	14,75	10,33
<i>B.licheniformis 2</i>	4,41	15,49	11,08
<i>B.licheniformis 3</i>	4,43	15,43	11,00
Rataan	4,42	15,22	10,80
<i>A.niger 1</i>	4,21	11,70	7,49
<i>A.niger 2</i>	4,19	12,20	8,01
<i>A.niger 3</i>	4,22	11,87	7,65
Rataan	4,21	11,92	7,72
<i>S.cerevisiae 1</i>	3,99	10,50	6,51
<i>S.cerevisiae 2</i>	4,01	11,05	7,04
<i>S.cerevisiae 3</i>	4,02	10,43	6,41
Rataan	4,01	10,66	6,65

Pada Tabel 6 tampak bahwa terjadi peningkatan jumlah koloni mikroba baik pada bioproses probiotik mikroba *Bacillus licheniformis* (sebesar 10,80 x 10⁹), *Aspergillus niger* (sebesar 7,72 x 10⁹) maupun *Saccharomyces cerevisiae* (6,65 x 10⁹), Peningkatan jumlah

koloni tersebut menunjukkan bahwa mikroba dapat tumbuh dengan baik dan memanfaatkan substrat sebagai media bioproses. Media yang digunakan yaitu kulit udang, molasses, dan tepung beras mengandung sumber karbon yang memadai untuk tumbuhnya ketiga jenis mikroba. Selain itu kondisi bioproses (suhu, waktu, dosis, dan pH) disesuaikan dengan syarat hidup mikroba. Menurut Gray (1970), kapang *A.niger* tumbuh dengan baik pada kisaran suhu 32-33 C, dengan pH 2,8-8,8 dan kelembaban 80-90%. Sedangkan *B.licheniformis* mempunyai suhu maksimum pertumbuhannya sebesar 50-55 C, sedangkan *S.cerevisiae* dapat tumbuh pada suhu kamar (Mao, dkk. 1992). pH substrat pada penelitian ini adalah netral (7), sedangkan pH akhir dari ketiga jenis produk yang dihasilkan adalah tergolong netral (6,2-6,7).

Bioproses enzimatik terhadap bahan baku pakan merupakan upaya untuk menghasilkan produk feed suplemen yang mengandung probiotik, dan nutrisi-nutrisi sederhana hasil perombakan oleh jasa mikroba agar mampu menjadi sumber energi yang efektif dicerna dan menyokong pertumbuhan. Kandungan gizi substrat dan produk bioproses probiotik yang dihasilkan dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Kandungan Gizi Substrat dan Produk Bioproses Probiotik^{BAS}

No	Jenis	PK	LK	SK	Ca	P
.....(%)......						
1	Substrat Awal	22,19	5,91	12,82	3,41	1,44
2	Produk <i>B. licheniformis</i>	31,23	4,38	8,64	4,22	2,05
3	Produk <i>A. niger</i>	29,34	4,67	7,40	4,10	1,95
4	Produk <i>S.cerevisiae</i>	28,68	5,18	7,59	3,90	1,77

Pada Tabel 7 tampak bahwa terjadi perubahan komposisi substrat bioproses dalam pembuatan produk probiotik. Hal tersebut sejalan dengan pendapat Shurtleff dan

Aoyagi (1979), yang menyatakan bahwa pada bioproses akan terjadi perubahan molekul-molekul kompleks atau senyawa-senyawa organik seperti protein, karbohidrat dan lemak menjadi molekul-molekul yang lebih sederhana. Sedangkan produk probiotik *Bacillus licheniformis*, *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae* berhasil meningkatkan kandungan protein substrat, dari 22,19% masing-masing menjadi 31,23%; 29,34%, dan 28,68%. Kandungan protein produk Probiotik^B mengandung protein tertinggi karena *B. licheniformis* merupakan species bakteri yang mampu menghasilkan protease dalam jumlah yang relatif tinggi (Mao, *et.al.* 1992)., dan berkembang biak dengan cepat sehingga menjadi protein microbial

Penurunan kandungan serat kasar yang paling besar (dari 12,82 menjadi 7,4%). diperoleh produk Probiotik^A. Menurut Rapper dan Fennel (1997), *Aspergillus niger* merupakan salah satu strain kapang yang dilaporkan mampu memproduksi enzim selulase. Selulase yang berasal dari *Aspergillus niger* berbentuk selulase kompleks dan mampu diproduksi dalam jumlah yang cukup banyak.

Ikan memanfaatkan protein sebagai sumber energi dibandingkan jenis ternak lainnya, dan cenderung kurang dapat memanfaatkan sumber karbohidrat terutama yang berserat kasar tinggi (Cho, *et. al.*, 1985). Penggunaan mikroba telah merubah komposisi substrat menjadi lebih berkualitas sebagai proses cerna “di luar tubuh” dan sumber enzim microbial. *Aspergillus niger* menghasilkan enzim selulase yang dapat mendegradasi selulosa (komponen serat kasar) menjadi glukosa (merupakan sumber energi bagi ikan) demikian pula *S.cerevisiae* dapat bekerja merombak pati menjadi lebih sederhana.

Bioproses oleh mikroba, selain terjadinya penurunan kandungan serat kasar, juga memungkinkannya terjadi kenaikan kandungan vitamin B kompleks, seperti yang dikemukakan oleh Saono (1976), bahwa kandungan vitamin B kompleks akan meningkat

selama bioproses. Bahan pakan yang banyak mengandung vitamin B kompleks akan meningkatkan nilai energi metabolis, karena vitamin B terlibat dalam proses metabolisme energi (Winarno, 1981).

5.5. Pengaruh Ransum yang mengandung *Feed Suplemen* Produk Probiotik terhadap Kecernaan

Kandungan gizi ransum dan produk bioproses Probiotik^{BAS} dapat ditentukan secara kimiawi melalui analisis proksimat. Namun kandungan tersebut perlu diuji secara biologis terhadap hewan atau ikan uji. Nilai sebenarnya ditunjukkan dari bagian yang hilang setelah bahan makanan dicerna, diserap dan dimetabolis (Schneider dan Flatt, 1973 dan Tillman dkk., 1991). Makin banyak zat makanan yang dapat diserap oleh ikan, maka nilai energi dan kecernaan produk bioproses dari probiotik makin tinggi. Hal ini merupakan satu indikator tingginya kualitas dari produk pengolahan.

Rataan nilai kecernaan bahan kering, protein kasar, dan bahan organik ransum mengandung *feed supplement* (Lampiran 52). Nilai kecernaan bahan kering, dan protein kasar ransum tertinggi diperoleh pada perlakuan R₇ yaitu masing-masing sebesar 76,10%, dan 75,39%. Adapun nilai kecernaan bahan kering, dan protein kasar ransum terendah diperoleh pada perlakuan R₀ yaitu masing-masing sebesar 65,83%, dan 64,17%. Hasil analisis Sidik Ragam menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap nilai kecernaan bahan kering dan protein kasar ransum. Untuk mengetahui berapa besar perbedaan pengaruh antar perlakuan terhadap nilai kecernaan bahan kering, protein kasar dan bahan organik ransum, dilakukan Uji Jarak Berganda Duncan yang hasilnya dapat ditelaah pada Tabel 8.

Tabel 8. Uji Jarak Berganda Duncan Pengaruh Ransum Mengandung *Feed Supplement* Probiotik^{BAS} terhadap Nilai Kecernaan Bahan Kering dan Protein

Perlakuan	Peubah yang diamati	
	Kecernaan bahan kering	Kecernaan protein
(%).....	
R ₀ (Ransum basal; Tanpa probiotik)	65,83 ^E	64,17 ^F
R ₁ (97% R ₀ + 3% Probiotik ^B)	70,11 ^D	69,10 ^D
R ₂ (97% R ₀ + 3% Probiotik ^A)	70,16 ^D	68,82 ^{DE}
R ₃ (97% R ₀ + 3% Probiotik ^S)	69,11 ^D	67,68 ^E
R ₄ (97% R ₀ + 1,5% Probiotik ^B + 1,5% Probiotik ^A)	74,52 ^B	73,64 ^B
R ₅ (97% R ₀ + 1,5% Probiotik ^B + 1,5% Probiotik ^S)	74,07 ^B	72,34 ^C
R ₆ (97% R ₀ + 1,5% Probiotik ^A + 1,5% Probiotik ^S)	72,35 ^C	71,21 ^C
R ₇ (97% R ₀ + 1% Probiotik ^B + Probiotik ^A + 1% Probiotik ^S)	76,10 ^A	75,39 ^A

Tabel 8 menunjukkan bahwa nilai kecernaan bahan kering dan protein kasar pada perlakuan R₀, lebih rendah (P>0,05) dibandingkan dengan perlakuan ransum yang mengandung feed suplemen probiotik. Rendahnya nilai kecernaan pada perlakuan R₀ disebabkan karena ransum tanpa menggunakan feed suplemen belum cukup menunjang untuk meningkatkan kinerja saluran pencernaan, walaupun ransum mengandung protein yang sesuai dengan kebutuhan nutrisi ikan nila merah. Apalagi pada R₀ dan juga ransum perlakuan lainnya mengandung serat kasar yang melebihi batas toleransi 4% menurut rekomendasi Tacon (1986), sehingga tanpa adanya probiotik sebagai sumber enzim eksogen dan penyeimbang mikroflora usus, kurang menunjang efektifitas kerja saluran pencernaan yang pada gilirannya akan menurunkan kecernaan.

R₁, R₂, dan R₃ masing-masing tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata ($P > 0,05$) terhadap pencernaan bahan kering. Sedangkan terhadap pencernaan protein ($P > 0,05$) R₁ (*Bacillus licheniformis*) berbeda nyata lebih tinggi dengan R₃, sedangkan R₂ tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata dengan perlakuan R₃ dan R₁. *Bacillus licheniformis* bersifat proteolitik sehingga membantu mencerna protein (Rao, et.al., 1998), sehingga lebih dapat membantu pencernaan protein dibanding mikroba lainnya.

Kecernaan protein ransum yang mengandung kombinasi 1,5% probiotik^B dan 1,5% probiotik^A (R₄) nyata lebih tinggi dibandingkan dengan kombinasi dua jenis probiotik lainnya. Hal ini disebabkan karena *Bacillus licheniformis* sebagai perombak protein *Aspergillus niger* perombak serat kasar sehingga keduanya bersifat sinergis. Penggunaan feed suplemen probiotik jenis bakteri dan kapang tersebut akan merubah komposisi gizi yang lebih baik yaitu peningkatan protein dan penurunan serat kasar, seperti tampak pada Tabel 7. Penurunan kandungan serat kasar akan berdampak terhadap nilai pencernaan, yang pada gilirannya akan berpengaruh pula terhadap pencernaan. Sejalan dengan pendapat Mc. Donald, dkk. (1978) dan Tillman, dkk. (1984), yang menyatakan bahwa serat kasar adalah salah satu zat makanan yang mempengaruhi terhadap pencernaan.

Penggunaan kombinasi berbagai jenis probiotik menunjukkan perbedaan yang nyata baik terhadap pencernaan bahan kering maupun terhadap pencernaan protein ransum. Dengan kata lain penggunaan *feed supplement* kombinasi ketiga jenis produk bioproses bakteri, kapang, dan ragi menghasilkan nilai pencernaan bahan kering dan pencernaan protein tertinggi dibandingkan kombinasi campuran dua jenis probiotik, dan berbeda sangat nyata jika dibandingkan dengan penggunaan satu jenis probiotik. Hal tersebut dapat dimengerti karena *Bacillus licheniformis* bersifat proteolitik sehingga membantu mencerna protein (Rao, et.al., 1998), *Aspergillus niger* bersifat selulolitik dan amiblitik (Ratledge, 1994)

sehingga membantu mendegradasi karbohidrat; sedangkan *Saccharomyces cerevisiae* bersifat amilolitik dan merangsang nafsu makan/apetite (Shin, 1966, yang disitir dari Winarno, 1980). Kombinasi antara kultur tersebut diharapkan dapat saling menunjang (sinergisme) dalam keunggulan dan saling menutupi kekurangan, karena menurut Fuller (1992) probiotik dapat meningkatkan kinerja mikroflora yang hidup dan ekosistem usus dalam usus ikan, yang pada gilirannya dapat meningkatkan pencernaan zat makanan

Ransum yang tidak menggunakan feed suplemen diformulasikan setara dengan ransum dengan menggunakan feed suplemen, yaitu sebesar 30%, namun penggunaan feed suplemen probiotik mempunyai nilai pencernaan yang lebih baik. Perbedaan nilai pencernaan disebabkan oleh adanya perbedaan pada sifat pakan yang diproses, termasuk kesesuaiannya untuk dihidrolisis oleh enzim pencernaan ikan (Kompiani dan Ilyas, 1983). Ikan memiliki keterbatasan dalam mencerna zat makanan karena tidak dapat memproduksi enzim selulase, sehingga serat kasar secara keseluruhan dapat membawa zat-zat makanan yang dapat dicerna keluar bersama feses (Halver, 1972). Zat makanan yang terdapat di dalam feses dianggap zat makanan yang tidak tercerna sehingga sedikit kandungan protein kasar dalam feses maka nilai kecernaannya semakin baik, begitu pula sebaliknya (Schneider dan Flatt, 1975).

Feed supplement produk terjadi perubahan kualitas bahan yang disebabkan proses fermentasi yang dilakukan oleh mikroba (*Bacillus licheniformis*, *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae*), mengakibatkan perubahan kimia dari senyawa yang bersifat kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana dan mudah dicerna sehingga memberikan efek positif terhadap nilai pencernaan pada ikan (Schneider dan Flat, 1975; Winarno, 1980; De Silva, S.S, 1987). Faktor lain yang ikut mempengaruhi nilai pencernaan adalah (1) tingkat proporsi bahan dalam ransum, (2) komposisi kimia, (3)

tingkat protein ransum, dan (4) kandungan mineral (Maynard 1979). Nilai pencernaan yang tinggi menandakan tingginya kualitas pakan. Lebih lanjut Winarno (1980) dan Said (1989) mengemukakan bahwa proses pengolahan dapat mengubah suatu bahan organik menjadi produk lain yang berguna dan memiliki nilai tambah yang lebih baik, terutama dengan memanfaatkan peristiwa biologis yang dalam daur hidup semua makhluk mengalami tahapan yang panjang antara lain peristiwa biosintesis dan biolisis. Produk yang dapat dihasilkan dari suatu proses biologis adalah sel-sel mikroba atau biomassa, enzim, metabolik primer dan metabolik sekunder serta senyawa-senyawa kimia hasil bioproses oleh mikroba.

VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

1. Suhu 45 °C pada bioproses probiotik *Bacillus licheniformis* merupakan kondisi bioproses terbaik untuk meningkatkan kandungan protein produk. Sedangkan probiotik *Aspergillus niger* dapat dilakukan pada suhu 35 dan 45 °C. Pembuatan probiotik *Saccharomyces cerevisiae* dapat dilakukan pada suhu 25-45 °C.
2. Dosis efektif dalam pembuatan Probiotik^{BAS} adalah 2%, dengan waktu bioproses selama dua hari.
3. Bioproses *feed suplement* Produk Probiotik^{BAS} menghasilkan peningkatan jumlah koloni dan kandungan gizi substrat. Kandungan protein substrat awal sebesar 22,19%; dan hasil bioproses diperoleh kandungan protein produk Probiotik^B sebesar 31,23%; Probiotik^A sebesar 29,34%; dan Probiotik^S sebesar 28,68%.
4. Penggunaan campuran ketiga jenis mikroba (bakteri, kapang, dan ragi) dari Produk Probiotik^{BAS} dapat meningkatkan nilai pencernaan bahan kering dan pencernaan protein kasar ransum basal (tanpa menggunakan *feed suplemen* Probiotik^{BAS}). Nilai pencernaan bahan kering dan protein kasar ransum basal, yaitu sebesar 65,83% dan 64,17%; masing-masing meningkat menjadi 76,10% dan 75,39%.

6.2. Saran.

Penelitian ini baru pada tahap pengkondisian proses (suhu, dosis, waktu) dalam pembuatan Probiotik ^{BAS} untuk mendapatkan kondisi terbaik pada bioproses masing-masing jenis mikroba, yang dilanjutkan dengan uji pencernaan pada ikan. Dengan demikian diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efektifitas penggunaan Probiotik ^{BAS} sebagai *feed suplemen* terhadap pertumbuhan, konversi pakan, komposisi mikrolora usus dan efisiensi pakan melalui percobaan pemberian ransum (*feeding trial*) pada ikan nila merah mulai stadia benih,

DAFTAR PUSTAKA

- Aisjah, T. 1995. Biokonversi Limbah Umbi Singkong menjadi Bahan Pakan Sumber Protein oleh Jamur *Rhizopus* serta pengaruhnya terhadap Pertumbuhan Ayam Pedaging. Disertasi. Universitas Padjadjaran. Bandung.
- Banwart, G.J. 1989. *Basic Food Microbiology*. Second Editon. AVI, Van Nostrand. Reinhold, New York.
- Bisping, B., G. Daun and G. Haegen. 2005. *Aerobic Deproteinization and Decalcification of Shrimp Wastes for Chitin Extraction*. Discussion Forum "Prospect of Chitin Production and Appliation in Indonesia". Held on, 14th September 2005, BPPT 1st building, 9th floor, Jakarta.
- Cho, C.Y., C.B. Cowey, dan R. Watanabe. 1985. *Finfish Nutrition in Asia : Methodological Approach to research and development*. International Development Research Centre. Ottawa. 154 hal.
- Close, W. and K.H. Menke. 1986. *Manual Selected Tropics in Animal Nutrition*. 2nd Edition. The Institute of Animal Nutrition, University of Hohenhelm.
- Darana, S. 1995. *Penggunaan Sorghum bicolour L. Moench yang Difermentasi dengan Kapang Rhizopus oligosporus dalam Ransum Ikan* Disertasi. Program Pascasarjana, IPB, Bogor.
- De Silva, S.S. 1987. *Finfish Nutrition Research in Asia*. Proceedings of Tehe Second Asian Fish Nutrition Net Work Meeting. Heinemann Asia, Singapore.
- Dinas Perikanan Propinsi Jawa Barat. 2006. *Petunjuk Teknis Budidaya Ikan Nila Merah (Oreochromis sp)*. Bandung. 24 hal.
- Effendie, M.I. 1997. *Biology Perikanan*. Yayasan Pustaka Nusantara. Yogyakarta. Hal 93-105.
- Fuller, R. 1992. *History and Development of Probiotics*. In *Probiotics the Scientific Basis*. Edited by Fuller. Chapman and Hall, London, New York, Melbourne. pp.1-7
- Gray, W.D., 1970. *The Use of Fungi as Food and in Food Processing*. CRC Press, Cranwood Parkway, Claveland, Ohio.
- Halver, J.E. 1972. *Fish Nutrition*. Academic Press Inc. New York. 699 hal.
- Hartadi, H., Reksohadiprodjo, S., dan Tillman, A.D. 1986. *Tabel Komposisi Pakan untuk Indonesia*. Fakultas Peternakan, UGM. Gadjah Mada University Press.
- Hepher, B. 1988. *Nutrition on pond fishes*. Cambridge University Press, Great Britain.

- Hoar, W.S., D.J. Randall, and J.R. Brett. 1979. *Fish Physiology*. Vol VIII. Ed Bioenergetic and Growth. Academic Press Inc. 786 hal.
- Kompiang, I.P. dan S. Ilyas, 1983; *Silase Ikan : Pengolahan, Pengguna, dan Prospeknya di Indonesia*. Jurnal Litbang Pertanian. Balai Penelitian Ternak, Ciawi, Bogor.
- Lovell, T. 1988. *Nutrition and Feeding in Fish*. Auburn University An AVI, Book. Publishing by Van Nostrand Reinhold. New York. 687 hal.
- Mao, W., R.Pan, and D. Freedman. 1992. *High Production of Alkaline Protease by Bacillus licheniformis in a Fed-Batch Fermentation Using a Syntetic Medium*. J of Industrial Microbiology. Vol 11:1-6.
- Maynard, L.A., J.K. Loosli, H.F. Hirtz., and R.G. Warner. 1979. *Animal Ntrition*. Seventh Edition. McGraw-Hill Book Company, Philiphine.
- NRC 1993. *Nutrient Requirements of Warm water Fishes and Shelfish*. Nutritional Academy of Sciences. Washington DC. 181 hal.
- Pras, H. 1993. *Rahasia dibalik nila merah*. P.T. Longmen Indo Nusantara, Jakarta. Hal 23-30.
- Ramadanil, 1994. *Penggunaan Limbah Batang Biang Sebagai Substrat Oleh Trichoderma viride Pers T04 dan Penicillium vermiculatum Dangeard 9AA1*. Tesis. Pascasarjana. ITB, Bandung.
- Ranjhan, S.K. 1980. *Animal Nutrition in the Tropics*. Vikas Publishing Hause P&T Ltd., New Delhi.
- Rao, M.B., A.M. Tanksale, M.S. Ghatge and V.V. Deshpande. 1998. *Molecular and Biotechnological Aspect of Microbial Proteases*. J. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 62(3)
- Raper, K.B., and D.I. Fennel, 1977. *The Genus Aspergillus*. The William and Wilking Co., Baltimore.
- Ratledge, C. 1994. *Biochemistry of Microbial Degradation*. Kluwer Academic Publishers, London.
- Saavedra, J.M.; N.A. Bauman; I. Oung; J.A. Perman; dan R.H. Yolken. 1994. *Feeding of Bifidobacterium bifidum and Streptococcus thermophillus to infants in hospital for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus*. Lancer 344: 1046-1049
- Said, G.E. 1989. *Bioindustri Penerapan Teknologi Fermentasi*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. IPB, Bogor.

- Saono, S. 1976. Pemanfaatan jasad renik dalam pengolahan hasil samping sisa-sisa produk pertanian. *Berita IPTEK*. Jakarta.
- Schneider, B.H. and Flatt, W.P. 1973. *The Evaluation of feeds through digestibility experiment*. The University of Georgia Press. Athena. 370 hal.
- Sklan, D. and S. Hurwitz, 1980. *Protein Digestion and Absorption in Young Chick and Turkey*. *J. Nutrition* 110:139-144.
- Steel R.G.D. and J.H. Torrie, 1995. *Principles and Procedures Statistics*. Second Ed., Mc Graw Hill Book Co. Inc., Singapura.
- Sulaiman. 1988. Studi Peningkatan Kualitas Kulit Singkong dengan Fermentasi oleh *Aspergillus niger*. *Tesis*, IPB, Bogor.
- Tanuwidjadja. 1975. *Single Cell Protein*. Laporan Ceramah Ilmiah. LKN-LIPI. Bandung.
- Tillman, A.D., H. Hartadi, S. Reksohadiprodjo, S. Prawirokusumo dan S. Lebdoesoekojo. 1991. *Ilmu Makanan Ternak Dasar*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Trewavas, E. 1982. *Tilapias : Taxonomy and speciation*. Dalam R.S.V. Pullin dan L.Mc.Connel (Eds) : *The biology and culture of tilapias* ICLARM, Manila, Philipina. Hal 3-13
- Vahl , O. 1979. *An hypothesis on the control of feod intake in fish*. *Aquaculture*, 17:221-229.
- Wiadnya, D.G.R., Hartati, Y.Suryanti, Subagyo, dan A.M.Hartadi. 2000. Periode Pemberian Pakan yang Mengandung Kitin untuk Memacu Pertumbuhan dan Produksi Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy Lac.*). *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 6 (2):62-67
- Wooton, R.J., J.R.M. Allen, dan S.J. Cole. 1980. Selecting and appropriate model. *Journal of Fish Biology*, 17, 695-705.
- Effect of Body Weight and temperature on the maximum daily food consumption of *Gasterosteus aculeatus* L, and *Phoxinus phoxinus* (L):
- Ikeda, L., Y. Tomari, and M. Sugano. 1989. *Interrelated Effect of Dietary Fiber and Fat on Lymphatic Cholesterol and Triglyceride Absorption in Rats*. *Jurnal of Nutrition*. 119:1383-1387.
- Saanin, H. 1984. *Taksonomi dan Kunci Identifikasi Ikan*. Binacipta, Jakarta. 245 hal.
- Brett, J.R. dan T.D.D.Groves 1979. *Physiological energetics dalam* W.S. Hoar, D.J. Randall dan J.R. Brett (Eds) : *Fish physiology* Vol VIII. Academic Press, New York.

- Peter, R.E. 1979. *The brain and feeding behavior*. Hal 121-159 dalam *Fish Physiology*. Vol VIII. Academic Press, New York. Prass, 1993
- Ranjhan Cholik, F., Artati dan Rachmat A. 1986. *Pengelolaan kualitas air kolam ikan*. Dirjen Perikanan. Jakarta. 46 hal.
- Gerking dan D. Shelby. 1972. *Revised food consumption estimate of bluegill sunfish poplation in wyland Lake Indiana, USA*. *Journal of fish biology*, 4, 301-308.
- Grove, D.J., L.G. Loizides dan J.Nott 1978. *Satiation amount, frequency of feeding and gastric emptying rate in Salmmo gairdneri*. *Journal of fish biology*, 12, 507-516.
- Hardjamulia, A., T.H. Prihadi dan Subagyo. 1986 Pengaruh Salinitas terhadap Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Benih Ikan Jambal Siam. *Buletin Penelitian Perikanan Darat*, 5(1) : 111-117.
- Elliot, J.M. 1979. *Energetics of Freshwater teleost*, dalam P.J. Miller (Ed) : *Fish phenology anabolic adaptiveness in teleost*. Academic Press, London. Hal 161-260.