

PENGARUH INDUKSI PROBIOTIK *Bacillus CgM22* PADA PAKAN TERHADAP PERTAMBAHAN BOBOT IKAN DAN MORFOMETRIK VILLI USUS IKAN MAS (*Cyprinus carpio*)

THE EFFECT OF PROBIOTIC INDUCTION OF *Bacillus CgM22* ON FEED ON FISH WEIGHT AND MORFOMETRIC GROWTH OF GOLD FISH (*Cyprinus carpio*) intestinal villi

Kiki Haetami^{1*}, Yuniar Mulyani¹, dan Aisyah¹

¹ Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Marine Science, Universitas Padjadjaran, Indonesia

*Korespondensi email : kiki.haetami@unpad

(Received 28 Juli 2022; Accepted 14 September 2022)

ABSTRAK

Ikan mas (*Cyprinus carpio*) merupakan jenis ikan air tawar budidaya paling penting, sehingga performa pertumbuhan diharapkan terus meningkat. Tujuan penelitian adalah untuk menganalisis induksi *Bacillus CgM22* sebagai probiotik terhadap pertumbuhan mutlak dan morfometrik villi usus pada mas (*Cyprinus carpio*). Penelitian terdiri dari tahapan, (1) Pengambilan mikroba usus dan uji proteolitik, (2) Pemeliharaan ikan Mas (*Cyprinus carpio*) dengan induksi oral melalui pakan di Laboratorium Akuakultur FPIK Unpad, dan (3) Pembuatan preparat histologi anterior usus dan pengukuran villi usus, yang dilaksanakan di Laboratorium Biosistem Fakultas Biologi Unpad. Feeding trial dilakukan secara eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan empat perlakuan induksi probiotik dari supernatan *Bacillus CgM22* pada pakan dengan dosis masing-masing 0, 5, 10, dan 15 ml/kg, yang diulang sebanyak tiga kali. Berdasarkan hasil pengukuran pertambahan bobot dan morfometrik vili usus pada ikan mas didapatkan bahwa perlakuan C (induksi *Bacillus CgM22* dosis 10 ml/ kg pakan) memperlihatkan kedalaman dan panjang crypta dan menghasilkan pertumbuhan bobot mutlak tertinggi 8, 8 gr, dengan bobot akhir sebesar 12,8 g.

Kata Kunci: *Bacillus subtilis*, Ikan Mas, Proteolitik, Vili Usus.

ABSTRACT

Carp (*Cyprinus carpio*) is the most important freshwater fish species, so that growth performance is expected to continue to increase. The aim of the study was to analyze the induction of *Bacillus CgM22* as a probiotic on the absolute and morphometric growth of intestinal villi in carp (*Cyprinus carpio*). The research consisted of stages, (1) Intestinal microbial collection and proteolytic testing, (2) Carp (*Cyprinus carpio*) rearing by oral induction through feed at the Aquaculture Laboratory of FPIK Unpad, and (3) Preparation of anterior intestinal histology preparations and measurement of intestinal villi at the Biosystems Laboratory, Faculty of Biology, Unpad. Feeding trial was carried out experimentally using a

Completely Randomized Design (CRD), with four treatments induction of probiotics from *Bacillus* CgM22 supernatant in feed with doses of 0, 5, 10, and 15 ml/kg of feed, respectively, which were repeated three times. Based on results of measurements of weight gain and intestinal villi morphometrics in carp, it was found that treatment C (induction of *Bacillus* CgM22 of 10 ml/kg of feed) showed the depth and length of the crypts and resulted in the highest weight gain 8,8 g, with a final weight of 12,8 g.

Keywords: *Bacillus subtilis*, Carp, Intestinal Villi, Proteolytic.

PENDAHULUAN

Ikan mas adalah ikan memiliki ekonomis tinggi di Indonesia, sebagai produk yang menjadi andalan pada budidaya ikan air tawar (Nuryati *et al.*, 2022). Banyak upaya dilakukan untuk mengembangkan usaha budidaya ikan mas. Salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan ikan adalah kesehatan ikan. Ikan yang sakit akan kehilangan nafsu untuk makan. Salah satu cara untuk merangsang pertumbuhan ikan adalah dengan menggunakan mikroba bermanfaat yang diperoleh secara alami dari usus ikan itu sendiri dan akan membantu meningkatkan daya tahan tubuh. Induksi probiotik *Bacillus* pada pakan ikan mas (*Cyprinus carpio*), yang mikroba tersebut sebelumnya diperoleh dari usus ikan dan dijadikan supernatant berupa probiotik liquid.

Beberapa probiotik telah terbukti sebagai pemacu pertumbuhan pada beberapa spesies ikan mas. Menurut Lukman, (2021), probiotik *Bacillus* spp. terbukti mempercepat bobot ikan mas. Hasil pemberian probiotik *B. circulans* PB7 yang dapat meningkatkan pertumbuhan, aktivitas protease, parameter imunologi dan ketahanan penyakit serta memperbaiki rasio konversi pakan pada spesies *Catla catla* (Bandyopadhyay *et al.* 2015). Dari hasil riset (Gupta *et al.*, 2014), diperoleh tingkat kelangsungan hidup, penambahan berat badan, respon imun dan ketahanan penyakit ikan mas yang meningkat setelah diberi makan selama 80 hari dengan probiotik *Bacillus licheniformis* (MTCC 6824) atau *Paenibacillus polymyxa* (MTCC 122) dan *Bacillus coagulans* (MTCC 9872).

Probiotik dapat diberikan melalui oral (dicampurkan dalam pakan) sehingga dapat beradaptasi dan bekerja dalam membantu proses pencernaan dengan beberapa kondisi yang mendukung agar nutrisi pakan dapat efisien terserap oleh tubuh ikan (Setiawati *et al.* 2013). Hal ini sejalan dengan pernyataan (Abrar *et al.*, 2019), bahwa pemberian probiotik dalam pakan dapat membantu meningkatkan pencernaan pakan ikan dengan suplemen enzim mikrobial. Beberapa protease alkali yang diturunkan dari bakteri *Bacillus* dengan aktivitas nyata, stabilitas, pH luas, suhu, waktu fermentasi singkat, dan efisien sehingga dapat diaplikasikan baik melalui substrat bahan pakan maupun secara oral diberikan sebagai Probiotik (Maruthiah *et al.*, 2013).

Bacillus diketahui dapat merangsang sel epitel vili dan sel goblet untuk merespon secara konsisten terhadap jenis dan konsistensi makanan yang masuk. *Bacillus* juga dapat meningkatkan aktivitas enzim pencernaan dan laju sintasan (Pangaribuan *et al.* 2018; Rusdani *et al.* 2016). Analisa vili usus, merupakan parameter untuk melihat indikasi terjadinya penyerapan, dikarenakan luas permukaan vili usus menentukan jumlah dan konsentrasi penyerapan pakan. Penyerapan makanan pada ikan mas lebih optimal jika vili usus sehat dengan luas permukaan villi yang memadai. Penelitian mengenai induksi probiotik yang diperoleh dari mikroba indigenous asal saluran pencernaan sebelumnya didapatkan bahwa *Bacillus* CgM22 adalah kandidat probiotik yang terbaik (Mulyani *et al.*, 2018). Selanjutnya diperlukan percobaan pakan mengenai pemanfaatan mikroba usus sebagai kandidat probiotik. Tujuan penelitian ini adalah menganalisis pengaruh induksi mikroba probiotik *Bacillus* CgM22

dalam pakan terhadap penambahan bobot dan pengaruhnya terhadap morfometrik (panjang, lebar dan kedalaman cripta) vili usus, pada ikan mas (*Cyprinus carpio*).

METODE PENELITIAN

Waktu dan Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret hingga April 2022 selama 60 hari di Laboratorium Akuakultur FPIK UNPAD. Sedangkan pembuatan preparat histologi anterior usus dilaksanakan selama 14 hari di Laboratorium Biosistem Fakultas Biologi UNPAD setelah selesai masa pemeliharaan.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat untuk uji proteolitik autoklaf, cawan petri, inkubator, *laminar air flow*, tabung reaksi, tabung falcon 15 mL, hotplate, labu erlenmeyer. Alat untuk induksi sistem imun diantaranya akuarium ukuran 60×30×35 sebanyak 12 buah, instalasi aerasi, saringan, bak fiber, heater, timbangan analitik, baki, dan botol semprot. Alat untuk analisa vili usus adalah gelas objek, gunting bedah, mikroskop. Sedangkan bahan untuk uji proteolitik adalah 1 g Nutrient Broth (1%), 2 g skim milk (2%), dan 2 g agar (2%) dalam 100 ml akuades. Bahan untuk induksi pakan diantaranya adalah benih ikan mas sebagai ikan uji 120 ekor, *Bacillus* CgM22 dan pakan buatan. Bahan untuk uji analisa vili usus adalah alkohol bertingkat, hematoksin dan eosin, larutan bouin, paraffin, xylitol.

Rancangan Percobaan

Metode pada tahap pemeliharaan ikan yaitu metode eksperimental dengan model Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang menggunakan empat perlakuan dan tiga ulangan. Perlakuan yang diberikan berbeda pada setiap konsentrasi dosis *Bacillus* CgM22 yang dicampurkan kedalam pakan buatan. Perlakuan A yaitu kontrol dengan tidak ada penambahan probiotik dalam pakan. Perlakuan B yaitu penambahan supernatan dari *Bacillus* CgM22 sebanyak 5 ml/kg pakan. Perlakuan C yaitu penambahan supernatan dari *Bacillus* CgM22 sebanyak 10 ml/kg pakan. Perlakuan D yaitu penambahan kultur bakteri 10^8 CFU *Bacillus* CgM22 sebanyak 15 ml/kg pakan. Selanjutnya setelah induksi pakan dilakukan dipilih satu sampel dari setiap perlakuan untuk dianalisa vili ususnya secara deskriptif.

Prosedur Penelitian

Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri hasil dari pengambilan bakteri usus dari genus *Bacillus* yang terpilih sebagai kandidat probiotik berdasarkan riset (Nirmala et al., 2020), yaitu *Bacillus* CgM22. Uji proteolitik dilakukan dengan dengan menumbuhkan *Bacillus* CgM22 pada media agar skim milk (Kabense et al. 2019). Media biakan disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 60 menit, kemudian media dituang ke dalam cawan petri yang telah steril dan ditunggu hingga media mengeras. *Bacillus* CgM22 digoreskan dengan jarum ose pada media skim milk. Sampel kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C dan dilakukan pengukuran terbentuknya zona bening disekitar koloni bakteri setelah diinkubasi.

Induksi Sistem Imun

Induksi probiotik dilakukan secara oral melalui pakan dengan perbandingan dosis 0, 5, 10, dan 15 ml/kg. Ditimbang masing-masing sebanyak 1000 gram pakan kemudian ditambahkan kultur *Bacillus* CgM22 dengan kepadatan 10^8 kemudian disiapkan dosis supernatan 5 ml/kg, 10 ml/kg pakan, dan kultur sebanyak 15 ml/kg pakan. Sebelum

dicampurkan ke dalam pakan ditambahkan binder (putih telur) sebanyak 2% dari berat pakan. Kemudian dilakukan pencampuran pakan dan diaduk hingga merata, dan dibiarkan dengan di kering-anginkan. Pemberian pakan dilakukan secara *ad satiation* sebanyak 2 kali sehari berdasarkan bobot tubuhnya, yaitu sebanyak 3% bobot biomas per hari. Pemberian pakan probiotik dilakukan selama 2 bulan masa pemeliharaan (Septiarini et al. 2012).

Analisis Vili Usus

Analisis vili usus dilakukan dengan membuat preparat menurut metode histologi, yang meliputi langkah kerja sampling, fiksasi, dehidrasi, pencucian, infiltrasi, engraftment, proses pembedahan, diseksi objek kaca, deparafinisasi, dan pewarnaan (Zulfahmi & Humairani. 2018). Pengambilan vili usus adalah menggunakan sampel usus bagian anterior atau bagian depan, yang disiapkan dan dipotong sepanjang 2 cm menggunakan pisau bedah, kemudian di fiksasi dalam larutan bouin, lalu direndam selama 24 jam dan selanjutnya dibuat preparat histologi. Setelah dilakukan deparafinasi dengan menempatkan gelas objek di atas hotplate selama 10-15 menit hingga seluruh air menguap, kemudian dilakukan pengecatan sampel dengan hemaktosilin dilanjutkan dengan pewarnaan eosin selama tiga menit dan dicuci kembali dengan menggunakan akuades. Preparat dalam objek glass lalu diamati dan diukur menggunakan mikroskop yang terhubung dengan komputer.

Parameter Penelitian

Parameter yang diukur adalah meliputi :

Pertumbuhan Mutlak

Analisis pertumbuhan bobot biomassa mutlak dihitung dari selisih bobot biomasa antara berat basah pada akhir penelitian dan berat basah pada awal penelitian (Effendie, 2002)

$$W = W_t - W_o$$

Dimana W = pertumbuhan mutlak (gr), W_t = bobot biomasa pada akhir penelitian (gr) dan W_o = bobot biomassa pada awal penelitian (gr)

Indeks Proteolitik diukur dengan membandingkan diameter zona bening dengan diameter koloni untuk mendapatkan isolat potensial (Suryadi et al. 2016) sebagai berikut:

$$\text{Indeks Proteolitik (IP)} = \frac{\text{Diameter. Zona Bening}}{\text{Diameter Koloni}}$$

Pengukuran villi usus terhadap sampel histologis usus bagian anterior dari setiap perlakuan (A, B, C dan D), meliputi tinggi vili, lebar vili dan kedalaman crypta crypta (Iji et al. 2001). Pengukuran panjang vili dilakukan dengan mikroskop perbesaran 40 kali. Hasil yang diperoleh tersebut selanjutnya dihitung daerah penyerapan (cm^2) dengan diukur sebagai berikut

$$\text{Area penyerapan (cm}^2\text{)} = \text{panjang vili (cm)} \times \text{lebar vili (cm)}$$

Metode Analisis Data

Analisis data dilakukan secara statistik menggunakan uji sidik ragam ANOVA agar didapatkan data potensi perlakuan terbaik. Sedangkan data hasil uji proteolitik dan data hasil pengukuran tinggi vili, lebar vili, kedalaman crypta usus dilakukan secara deskriptif untuk melihat status bakteri *Bacillus CgM22* sebagai kandidat yang dimungkinkan membantu pencernaan.

HASIL

Indeks Proteolitik

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa *Bacillus* CgM22 yang teridentifikasi mempunyai kemampuan menghasilkan enzim proteolitik ekstraseluler. Sebagaimana hasil pengukuran Indeks Proteolitik dapat dilihat pada Gambar 1 dan Tabel 1.



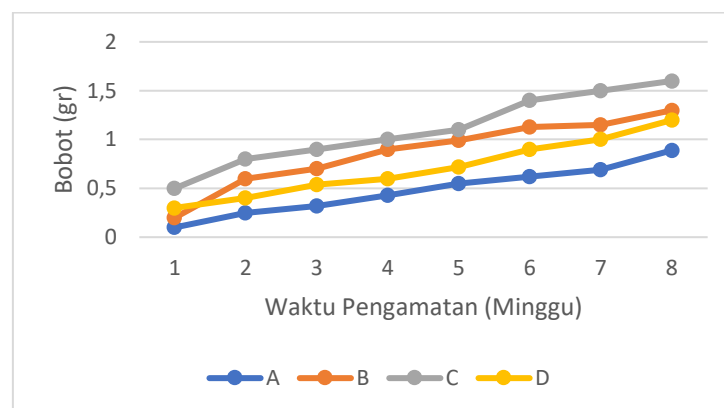
Gambar 1. Hasil Uji Proteolitik Probiotik *Bacillus* CgM22

Tabel 1. Indeks Proteolitik *Bacillus* CgM22

Ulangan	Diameter Zona Bening (mm)	Diameter Koloni (mm)	IP
1	13,14	6,33	2,35
2	10,96	5,21	2,1
3	10,37	4,9	2,12
Rata-rata	12,05	5,48	2,19

Performa Pertumbuhan

Performa pertumbuhan ikan mas dapat dilihat pada Gambar 2.

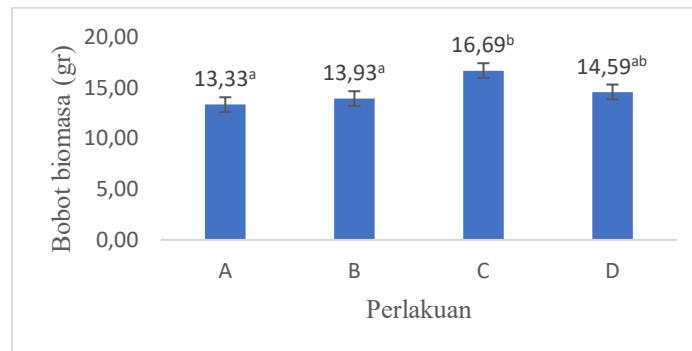


Gambar 2. Grafik Pertambahan Bobot Ikan Mas dengan penambahan probiotik *Bacillus* CgM22

Deskripsi: (a) Kontrol, (b) Penambahan supernatan dari *Bacillus* CgM22 sebanyak 5 ml/kg pakan (c) Penambahan supernatan dari *Bacillus* CgM22 sebanyak 10 ml/kg pakan (d) Penambahan kultur *Bacillus* CgM22 10^8 CFU sebanyak 15 ml/kg pakan

Gambar 2, adalah grafik yang memperlihatkan pertambahan bobot ikan mas pada setiap perlakuan saat minggu ke-0 hingga minggu ke-8 pengambilan sampel. Pada Gambar 2 tampak bahwa ikan mas yang telah diberi pakan dengan *Bacillus* CgM22 pada berbagai dosis,

memperlihatkan bobot ikan lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan kontrol (perlakuan A). Hasil penelitian menunjukkan bobot tertinggi yaitu pada perlakuan 10 ml/kg pakan (Perlakuan C). Hasil terbaik diperoleh pada perlakuan induksi *Bacillus* CgM22 sebesar 10 ml/kg, dengan bobot akhir 21,8 g, lebih tinggi dibandingkan perlakuan 0, 5, dan 15 ml/kg pakan, yaitu berturut-turut menghasilkan bobot akhir sebesar 15,6 g (perlakuan A); perlakuan B sebesar 18,07 g, dan perlakuan D sebesar 18 g.



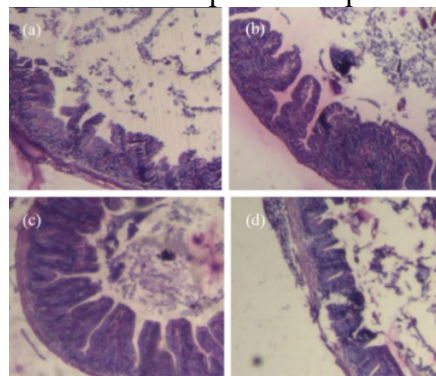
Gambar 3. Grafik Pertumbuhan mutlak Ikan Mas dengan penambahan probiotik *Bacillus* CgM22

Deskripsi: (a) Kontrol, (b) Penambahan supernatan dari *Bacillus* CgM22 sebanyak 5 ml/kg pakan (c) Penambahan supernatan dari *Bacillus* CgM22 sebanyak 10 ml/kg pakan (d) Penambahan kultur *Bacillus* CgM22 10^8 CFU sebanyak 15 ml/kg pakan

Berdasarkan Gambar 3. didapatkan hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terdapat pengaruh penambahan probiotik *Bacillus* CgM22 terhadap pertumbuhan mutlak Ikan Mas. Hasil uji lanjut menunjukkan perlakuan A tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan perlakuan B, dan D namun berbeda ($P < 0,05$) dengan perlakuan C. Gambar 3 memperlihatkan tingkat pertumbuhan mutlak ikan Mas dengan nilai tertinggi pada perlakuan C sebesar 21,8 g, kemudian perlakuan B sebesar 18,07 g, perlakuan D sebesar 18 g, dan nilai terendah pada perlakuan A atau kontrol sebesar 15,6 g.

Morfometri Usus

Hasil pengamatan vili usus ikan mas dapat dilihat pada Gambar 4 dan Tabel 2.



Gambar 4. Hasil Pengamatan Vili Usus Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Deskripsi: (a) Kontrol, (b) Penambahan supernatan dari *Bacillus* CgM22 sebanyak 5 ml/kg pakan (c) Penambahan supernatan dari *Bacillus* CgM22 sebanyak 10 ml/kg pakan (d) Penambahan kultur *Bacillus* CgM22 10^8 CFU sebanyak 15 ml/kg pakan

Berdasarkan hasil pengamatan (Gambar 4) dan pengukuran (Tabel 2) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara vili usus perlakuan kontrol dengan vili usus yang

ditambahkan perlakuan larutan supernatan probiotik *Bacillus* CgM22, baik dosis 5, 10, maupun 15 mg/kg pakan.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Vili Usus

Sampel	Panjang Vili (μm)	Lebar Vili (μm)	Kedalaman Crypta (μm)	Area Penyerapan (μm)
A	42,331	10,73	13	454,212
B	35,293	40,763	18,394	1438,65
C	78,11	26,688	50,215	2084,6
D	30,553	30,553	15,524	342,102

Keterangan: (a) Kontrol, (b) Penambahan supernatan dari *Bacillus* CgM22 sebanyak 5 ml/kg pakan (c) Penambahan supernatan dari *Bacillus* CgM22 sebanyak 10 ml/kg pakan (d) Penambahan kultur *Bacillus* CgM22 10^8 CFU sebanyak 15 ml/kg pakan

Gambar 2 dan Tabel 2, memperlihatkan bahwa Vili usus yang diberi perlakuan secara deskriptif lebih meningkatkan panjang, lebar, dan kedalaman cryptanya dibandingkan dengan yang tanpa perlakuan *Bacillus* CgM22, yang memungkinkan peningkatan area penyerapan sebagai peningkatan nutrisi penyerapan. Berdasarkan hasil pertambahan bobot ikan pada Gambar 2 juga didapatkan bahwa pemberian probiotik meningkatkan bobot ikan dan mempengaruhi pertumbuhan mutlak (Gambar 3).

PEMBAHASAN

Bakteri proteolitik merupakan bakteri yang memproduksi enzim protein ekstraseluler. Hal ini yang berfungsi untuk mendegradasi protein. Protease merupakan enzim yang banyak digunakan dalam industri pakan ternak dan telah mencapai hampir 65% dari total penjualan enzim di seluruh dunia. Salah satu fungsi protease adalah berperan memecah protein menjadi asam amino, sehingga memudahkan makanan ikan untuk diserap oleh sistem pencernaan (Farida et al. 2022).

Berdasarkan Tabel 1 didapatkan bahwa hasil penghitungan indeks proteolitik (IP) berdasarkan zona bening didapatkan nilai $IP \geq 2$. Indeks ini menunjukkan bahwa pada *Bacillus* CgM22 terdapat aktivitas protease (Setiawan et al. 2016). Kemampuan mikroorganisme dalam mensekresikan protease disebabkan karena enzim tersebut mendegradasikan protein. Medium terdiri dari susu skim yang mengandung kasein, protein susu yang dapat didegradasi oleh mikroorganisme proteolitik menjadi senyawa nitrogen terlarut sehingga koloni dikelilingi oleh zona bening, sehingga mikroorganisme dapat melakukan aktivitas proteolitik (Colantuono et al. 2020). Didukung pada hasil penelitian yang menggunakan *Bacillus* sp., *B. megaterium*, *Pediococcus acidilactici* dan *P. pentosaceus* sebagai probiotik penghasil enzim pencernaan untuk meningkatkan kinerja pertumbuhan ikan mas, lele, green terror, grass carp, kutum, nila, dan udang vannamei (Adel et al. 2017; Afrilasari et al. 2016; Gong et al. 2019; Hamka et al. 2020; Hauville et al. 2016; Neissi et al. 2013; Valipour et al. 2018).

Pakan ikan mengandung protein yang cukup sebagai bahan utama pakan dan sumber energi bagi ikan. Dalam sistem pencernaan ikan, protein dari pakan tidak diserap secara langsung, tetapi terlebih dahulu dipecah oleh enzim protease menjadi asam amino atau peptida kemudian diserap oleh tubuh. Pemecahan protein ini terjadi di lambung dan usus, sedangkan penyerapan makanan terjadi di usus. Pertumbuhan terjadi karena adanya penambahan bobot setelah kebutuhan nutrient dan energi untuk metabolisme basal terpenuhi. Selisih antara kebutuhan pokok tersebut dengan nutrient yang disediakan untuk energi, akan digunakan untuk pertumbuhan.

Sebagaimana halnya dapat dilihat dari Gambar 2, terjadinya peningkatan bobot ikan adalah pada minggu ke-8, sedangkan pada minggu ke 0, dan kedua belum tampak perubahan pertumbuhan yang berarti. Hal ini menunjukkan bahwa pada awal pemeliharaan, ikan mas membutuhkan waktu untuk beradaptasi menyesuaikan lingkungan internal tubuh dengan lingkungan eksternalnya. Menurut (Setyabudi et al. 2020), pertumbuhan terjadi setelah energi digunakan untuk memelihara tubuh, metabolisme, dan aktifitas lainnya terpenuhi.

Probiotik juga diketahui dapat meningkatkan pencernaan pakan melalui pencernaan pada usus dan produksi enzim pencernaan pada ikan mas (Gupta et al. 2014), ikan nila (Opiyo et al. 2019). Pertumbuhan yang kuat dari perlakuan C menunjukkan bahwa ikan dapat mencerna pakan lebih baik dan menyerap lebih banyak nutrisi. Hal ini berdasarkan Fujaya, (2004) bahwa makanan yang penting untuk pertumbuhan adalah protein, vitamin, mineral, karbohidrat dan lemak beserta air dan oksigen. Protein, karbohidrat, dan lemak harus dipecah menjadi zat yang lebih sederhana di saluran pencernaan sebelum diambil dan digunakan oleh sel-sel individu. Pertumbuhan jaringan atau organ tidak hanya dipengaruhi oleh kualitas pakan tetapi juga oleh hormon pertumbuhan, baik stimulan pertumbuhan maupun inhibitor pertumbuhan.

Ketersediaan substrat dalam saluran pencernaan dapat meningkatkan aktivitas enzim eksogen dan endogen dalam saluran pencernaan. Pakan yang masuk ke saluran pencernaan ikan akan dicerna dengan bantuan enzim eksogen dari bakteri probiotik dan enzim endogen yang dihasilkan oleh ikan (Afrilasari et al. 2016). Pada hasil riset ini, penambahan bobot yang diperlihatkan pada pemberian Probiotik *Bacillus* CgM22 sebanyak 10 ml/kg pakan, lebih tinggi dibandingkan perlakuan kontrol. Adanya kolaborasi enzim endogen dan eksogen menyebabkan pakan mudah dicerna dan diserap oleh tubuh ikan, sehingga meningkatkan performa pertumbuhan ikan mas setelah diberikan perlakuan probiotik. Penggunaan enzim eksogen dari hasil induksi kultur mikroba melalui pakan dapat digunakan untuk melengkapi produksi enzim endogen yang diproduksi oleh ikan termasuk amilase untuk meningkatkan daya cerna pati, protease untuk meningkatkan daya cerna protein dan lipase untuk meningkatkan daya cerna lipid (Susanto., 2017).

Sebagaimana didapatkan bahwa pertumbuhan ikan, salah satunya adalah dari efektifitas kerja penyerapan yang dipengaruhi oleh morfometri usus, kapasitas antioksidan, dan profil kekebalan terkait gen dari ikan mas pada ikan mas (*Cyprinus carpio*) (Adeshina et al. 2020). Menurut (Siagian, 2016) panjang vili berfungsi untuk menyerap nutrisi melalui sel-sel tertentu, yang diambil oleh jaringan kapiler dan pembuluh limfatik, dan kemudian diangkut oleh darah untuk didistribusikan ke sel-sel di seluruh tubuh. Lebar vili juga berkaitan dengan proses penyerapan nutrisi, semakin lebar vili akan semakin banyak nutrisi yang diserap, yang akan mempengaruhi perkembangan organ dalam tubuh.

Menurut Setiawati et al., (2013) semakin tinggi jumlah protein yang digunakan tubuh, semakin efisien penggunaan protein. Rasio efisiensi protein dan pertumbuhan ikan berkorelasi positif dengan kecernaan pakan, semakin rendah kecernaan pakan maka semakin rendah rasio efisiensi protein (Ananda et al., 2015).

Probiotik yang diinduksikan dalam makanan dapat mempengaruhi morfometri usus, hal ini karena menurut Adel et al. (2017), probiotik dapat membangkitkan mikrobiota usus, merangsang dekomposisi dan pencernaan nutrisi, mencegah bakteri berbahaya, dan melepaskan vitamin dan asam amino ke ikan. Berdasarkan hasil pengukuran vili usus Gambar 4 dan Tabel 2. Sampel perlakuan C merupakan sampel dengan panjang, lebar, kedalaman crypta, dan area penyerapan tertinggi diantara sampel lainnya. Hasil ini juga sejalan dengan hasil pengukuran bobot pada Gambar 2 dimana hasil tertinggi didapatkan pada perlakuan C. Sampel C merupakan sampel dengan perlakuan pemberian supernatan *Bacillus* CgM22/ 10 ml per kg pakan. Sedangkan perlakuan A merupakan sampel dengan panjang, lebar, kedalaman crypta, dan area penyerapan terendah diantara sampel lainnya. Hal ini disebabkan sampel A

merupakan perlakuan yang tidak diberi perlakuan probiotik CgM22, sehingga tidak ada penambahan sumber enzim microbial dari pakan (exogenous).

Penambahan probiotik seperti *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus plantarum* pada ikan mas dapat meningkatkan panjang, lebar vili dan daerah penyerapan (Ringo et al. 2016; Soltan et al. 2016; Yassine et al. 2021). Penambahan probiotik pada pakan ikan juga memberikan respon yang positif terhadap peningkatan pertumbuhan, komposisi mikro-biota usus, respon imun, dan perlindungan terhadap patogen (Adeshina et al. 2020). Hal ini didukung oleh pernyataan Opiyo et al. (2019), yang menyatakan bahwa peningkatan panjang vili usus, kedalaman kriptas usus, dan area penyerapan pada ikan nila yang diberi pakan probiotik menghasilkan kinerja pertumbuhan yang lebih baik.

Peningkatan panjang, lebar dan kedalaman vili usus yang meningkat lebih tinggi pada perlakuan yang ditambahkan *Bacillus* CgM22 ini disebabkan oleh kemampuan regenerasi usus meningkat pada ikan. Sebagaimana hasil penelitian Abdel-Tawwab et al. (2018); Yarahmadi et al. (2016) yang diberi pakan yang ditambahkan probiotik dibandingkan ikan kontrol. Erian et al. (2018) menyatakan penambahan tinggi vili bervariasi dimana aktivitas usus erat kaitannya dengan keberhasilan proses pencernaan dan penyerapan nutrisi yang berasal dari jumlah makanan yang dikonsumsi ikan. Daya cerna ikan terhadap protein dari pakan selain dipengaruhi oleh enzim protease dari pancreas, keberadaan enzim microbial juga secara tidak langsung mempengaruhi degradasi protein pakan dan penyerapannya diserap dengan bantuan enzim protease. Selanjutnya menurut Panteli et al. (2021) usus juga berperan dalam mengatur keseimbangan air dan elektrolit dalam tubuh. Pemberian pakan dengan penambahan enzim protease diduga telah mampu membantu memecah asam amino dan membantu penyerapan protein sehingga mempengaruhi pelebaran vili dan panjang vili.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari serangkaian penelitian yaitu:

- (1) Terdapat hasil uji proteolitik yang dapat dilihat dari terbentuknya zona bening dengan indeks proteolitik IP = 2.19.
- (2) Pertambahan bobot mutlak, pemberian probiotik *Bacillus* CgM22 dalam pakan sebanyak 10 ml/kg pakan memberikan performa pertumbuhan yang lebih tinggi, yaitu bobot akhir sebesar 12,8 g, dengan pertumbuhan mutlak sebesar 8,8 g.
- (3) Berdasarkan hasil pengukuran vili usus sampel perlakuan C dengan pemberian supernatan *Bacillus* CgM22 10 ml/kg pakan, menghasilkan morfometrik usus yang lebih menunjang terhadap penyerapan, dengan panjang, lebar, dan kedalaman crypta masing-masing sebesar 78,11 μm ; 26,688 μm ; 15,524 μm .

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kepada Kepala Laboratorium Bioteknologi Perikanan dan Kepala Laboratorium akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unpad, serta Laboratorium Biosistem, Prodi Biologi Unpad yang telah menyediakan sarana dan prasarana untuk terselenggaranya riset ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Tawwab, M., Adeshina, I., Jenyo-Oni, A., Ajani, E. K., & Emikpe, B. O. (2018). Growth, physiological, antioxidants, and immune response of African catfish, *Clarias gariepinus* (B.), to dietary clove basil, *Ocimum gratissimum*, leaf extract and its susceptibility to *Listeria monocytogenes* infection. *Fish and Shellfish Immunology*, 78,

- 346–354. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.04.057>
- Abrar, W. A., Pamukas, N. A., Putra, I., & Penelitian, W. (2019). Pengaruh Penambahan Probiotik dalam Pakan terhadap Laju Pertumbuhan dan Kelulushidupan Ikan Bawal Air Tawar (*Colossoma macropomum*) dengan Sistem Bioflok The Effect of Probiotic Addition in Feed Towards Growth Performance and Survival Rate of Tambaqu. 24(1), 32–40.
- Adel, M., Yeganeh, S., Dawood, M. A. O., Safari, R., & Radhakrishnan, S. (2017). Effects of *Pediococcus pentosaceus* supplementation on growth performance, intestinal microflora and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition*, 23(6), 1401–1409. <https://doi.org/10.1111/anu.12515>
- Adel, Milad, Lazado, C. C., Safari, R., Yeganeh, S., & Zorriehzahra, M. J. (2017). Aqualase a yeast-based in-feed probiotic, modulates intestinal microbiota, immunity and growth of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Research*, 48(4), 1815–1826. <https://doi.org/10.1111/are.13019>
- Adeshina, I., Abubakar, M. I. O., & Ajala, B. E. (2020). Dietary supplementation with *Lactobacillus acidophilus* enhanced the growth, gut morphometry, antioxidant capacity, and the immune response in juveniles of the common carp, *Cyprinus carpio*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 46(4), 1375–1385. <https://doi.org/10.1007/s10695-020-00796-7>
- Afrilasari, W., Widanarni, & Meryandini, A. (2016). Effect of Probiotic *Bacillus megaterium* PTB 1.4 on the Population of Intestinal Microflora, Digestive Enzyme Activity and the Growth of Catfish (*Clarias* sp.). *HAYATI Journal of Biosciences*, 23(4), 168–172. <https://doi.org/10.1016/j.hjb.2016.12.005>
- Ananda, T., Rachmawati, D., & Samidjan, I. (2015). Pengaruh Papain pada Pakan Buatan terhadap Pertumbuhan Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 4(1), 47–53.
- Bandyopadhyay, P., Mishra, S., Sarkar, B., Swain, S. K., Pal, A., Tripathy, P. P., & Ojha, S. K. (2015). Dietary *Saccharomyces cerevisiae* Boosts Growth and Immunity of IMC *Labeo rohita* (Ham.) Juveniles. *Indian Journal of Microbiology*, 55(1), 81–87. <https://doi.org/10.1007/s12088-014-0500-x>
- Colantuono, A., D’Incecco, P., Fortina, M. G., Rosi, V., Ricci, G., & Pellegrino, L. (2020). Milk substrates influence proteolytic activity of *Pseudomonas fluorescens* strains. *Food Control*, 111(October 2019), 107063. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.107063>
- Effendie, M. I. (2002). *Fisheries Biology*. Yayasan Pustaka Nusatama.
- Erian, V., Zainuddin, & Balqis, U. (2018). Gambaran Luas Permukaan Vili Usus Ikan Lele Lokal (*Clarias batrachus*) Jantan Dewasa. *Jimvet*, 2(3), 283–287.
- Farida, Z., Nurhayati, & Handayani, L. (2022). Aplikasi Penggunaan Enzim Protease Kasar Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea*) Pada Pakan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal TILAPIA*, 3(1), 84–93.
- Ferguson, R. M. W., Merrifield, D. L., Harper, G. M., Rawling, M. D., Mustafa, S., Picchietti, S., Balcázar, J. L., & Davies, S. J. (2010). The effect of *Pediococcus acidilactici* on the gut microbiota and immune status of on-growing red tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Applied Microbiology*, 109(3), 851–862. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04713.x>
- Fujaya, Y. (2004). *Fisiologi Ikan*. Penerbit Rineka Cipta.
- Gong, L., He, H., Li, D., Cao, L., Khan, T. A., Li, Y., Pan, L., Yan, L., Ding, X., Sun, Y., Zhang, Y., Yi, G., Hu, S., & Xia, L. (2019). A new isolate of *Pediococcus pentosaceus* (SL001) with antibacterial activity against fish pathogens and potency in facilitating the immunity and growth performance of grass carps. *Frontiers in Microbiology*, 10(6), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01384>

- Gupta, A., Gupta, P., & Dhawan, A. (2014). Dietary supplementation of probiotics affects growth, immune response and disease resistance of *Cyprinus carpio* fry. *Fish and Shellfish Immunology*, 41(2), 113–119. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.08.023>
- Hamka, M. S., Meryandini, A., & Widanarni. (2020). Growth performance and immune response of catfish *Clarias* sp. given probiotics *Bacillus megaterium* PTB 1.4 and *Pediococcus pentosaceus* E2211. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 19(1), 50–60. <https://doi.org/10.19027/jai.19.1.50-60>
- Hauville, M. R., Zambonino-Infante, J. L., Gordon Bell, J., Migaud, H., & Main, K. L. (2016). Effects of a mix of *Bacillus* sp. as a potential probiotic for Florida pompano, common snook and red drum larvae performances and digestive enzyme activities. *Aquaculture Nutrition*, 22(1), 51–60. <https://doi.org/10.1111/anu.12226>
- Iji, P. A., Hughes, R. J., Choct, M., & Tivey, D. R. (2001). Intestinal Structure and Function of Broiler Chickens on Wheat-Based Diets Supplemented with a Microbial Enzyme. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 14(1), 54–60. <https://doi.org/10.5713/ajas.2001.54>
- Kabense, R., Ginting, E. L., Wullur, S., Kawung, N. J., Losung, F., & Tombokan, J. L. (2019). Screening of the Proteolytic Bacteria Symbiont with Algae *Gracillaria* sp. *Jurnal Ilmiah Platax*, 7(2), 421. <https://doi.org/10.35800/jip.7.2.2019.24487>
- Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, M. A., Guzmán-Méndez, B. E., & López-Madrid, W. (2003). Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 216(1–4), 193–201. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00277-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00277-6)
- Lukman, Y. dan R. (2021). Penerapan fungsi manajemen perencanaan pembenihan ikan mas (*Cyprinus carpio* L) di Instalasi Pengembangan Ikan Air Tawar (IPIAT) Lajoa Kabupaten Soppeng Implementation of management planning function planning mas fish (*Cyprinus carpio* L) in Lajoa Fis. *Jurnal Perikanan*, 21(2), 11–16.
- Maruthiah, T., Esakkiraj, P., Prabakaran, G., Palavesam, A., & Immanuel, G. (2013). Purification and characterization of moderately halophilic alkaline serine protease from marine *Bacillus subtilis* AP-MSU 6. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2(2), 116–119. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2013.03.001>
- Mulyani, Y., Aryantha, I. N. P., Suhandono, S., & Pancoro, A. (2018). Intestinal bacteria of common carp (*Cyprinus carpio* L.) as a biological control agent for *Aeromonas*. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 12(2), 601–610. <https://doi.org/10.22207/JPAM.12.2.18>
- Neissi, A., Rafiee, G., Nematollahi, M., & Safari, O. (2013). The effect of *Pediococcus acidilactici* bacteria used as probiotic supplement on the growth and non-specific immune responses of green terror, *Aequidens rivulatus*. *Fish and Shellfish Immunology*, 35(6), 1976–1980. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.09.036>
- Nirmala, K., Setiawati, M., & Hastuti, P. (2020). Pertumbuhan Perifiton Pada Substrat Tali Rafia Yang Berpotensi Sebagai Pakan Alami Di Lingkungan Pendederan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Riset Akuakultur*, 15(4), 237–244. <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/jra/article/view/882>
- Nuryati, S., Soraya, S., & Alimuddin. (2022). Efficacy of anti-koi herpesvirus DNA vaccine in carp *Cyprinus carpio* fry by immersion method and hyperosmotic infiltration. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1033(1), 012051. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1033/1/012051>
- Opiyo, M. A., Jumbe, J., Ngugi, C. C., & Charo-Karisa, H. (2019). Different levels of probiotics affect growth, survival and body composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in low input ponds. *Scientific African*, 4, e00103.

<https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00103>

- Pangaribuan, E., Sasanti, A. D., & Amin, M. (2018). Efisiensi Pakan, Pertumbuhan, Kelangsungan Hidup Dan Respon Imun Ikan Patin (*Pangasius* sp.) Yang Diberi Pakan Bersinbiotik. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 5(2), 140–154. <https://doi.org/10.36706/jari.v5i2.7139>
- Panteli, N., Mastoraki, M., Lazarina, M., Chatzifotis, S., Mente, E., Kormas, K. A., & Antonopoulou, E. (2021). Configuration of gut microbiota structure and potential functionality in two teleosts under the influence of dietary insect meals. *Microorganisms*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040699>
- Ringø, E., Zhou, Z., Vecino, J. L. G., Wadsworth, S., Romero, J., Krogdahl, Olsen, R. E., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S., Owen, M., Lauzon, H. L., Martinsen, L. L., De Schryver, P., Bossier, P., Sperstad, S., & Merrifield, D. L. (2016). Effect of dietary components on the gut microbiota of aquatic animals. A never-ending story. *Aquaculture Nutrition*, 22(2), 219–282. <https://doi.org/10.1111/anu.12346>
- Rusdani, M. M., Amir, S., Wasposito, S., & Abidin, Z. (2016). Pengaruh Pemberian Probiotik *Bacillus* spp. Melalui Pakan Terhadap Kelangsungan Hidup dan Laju Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Biologi Tropis*, 16(1), 34–40.
- Septiarini, Harpeni, E., & Wardiyanto. (2012). Pengaruh Waktu Pemberian Probiotik yang Berbeda Terhadap Respon Imun Non-Spesifik Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.) yang Diuji Tantang dengan Bakteri *Aeromonas salmonicida*. *E-Jurnal Rekayasa Dan Teknologi Budidaya Perairan*, 1(1), 39–46.
- Setiawan, A., Arimurti, S., Senjarini, K., & Biologi, S. J. (2016). Aktivitas Proteolitik dan Fibrinolitik Isolat Bakteri dari Perairan Pantai Papuma Kabupaten Jember. *Berkala Sainstek*, 4(1), 1–4.
- Setiawati, J., Tarsim, T., Adiputra, Y., & Hudaidah, S. (2013). Pengaruh Penambahan Probiotik pada Pakan Dengan Dosis Berbeda Terhadap Pertumbuhan, Kelulushidupan, Efisiensi Pakan dan Retensi Protein Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*). *E-Jurnal Rekayasa Dan Teknologi Budidaya Perairan*, 1(2), 151–162.
- Setyabudi, I. S., Harpeni, E., & Wardiyanto, W. (2020). Improvement In The Growth Performance Of Tiger Grouper *Epinephelus fuscoguttatus* (Forsskal, 1775) By Probiotic Microcapsules, *Bacillus* sp. D2.2. *Aquasains*, 8(2), 853. <https://doi.org/10.23960/aqs.v8i2.p853-860>
- Siagian, Y. A. (2016). Siagian, Y. A. (2016). Gambaran Histologis dan Tinggi Vili Usus Halus Bagian Ileum Ayam Ras Pedaging yang Di Beri Tepung Daun Kelor (*Moringa oleifera*) dalam Ransum. *Program Studi Peternakan. Fakultas Peternakan*, 1.
- Soltan, M. A., Fouad, I. M., & Elfeky, A. (2016). Growth and feed utilization of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* fed diets containing probiotic. *Global Veterinaria*, 17(5), 442–450. <https://doi.org/10.5829/idosi.gv.2016.442.450>
- Suryadi, Y., Priyatno, T. P., Samudra, I. M., Susilowati, D. N., Lawati, N., & Kustaman, E. (2016). Pemurnian Parsial dan Karakterisasi Kitinase Asal Jamur Entomopatogen *Beauveria bassiana* Isolat BB200109. *Jurnal AgroBiogen*, 9(2), 77. <https://doi.org/10.21082/jbio.v9n2.2013.p77-84>
- Susanto, T., A. S. (2017). Penambahan Eksogen Enzim Pencernaan dalam Pakan Buatan Untuk Meningkatkan Pertumbuhan dan Efisiensi Pemanfaatan Pakan Ikan Bandeng (*Chanos chanos*). *Jurnal Sains Akuakultur Tropis*, 1(1), 42–51.
- Valipour, A. R., Hamedi Shahraki, N., & Abdollahpour Biria, H. (2018). Effects of probiotic (*Pediococcus acidilactici*) on growth and survival of kutum (*Rutilus kutum*) fingerlings. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 17(1), 35–46.
- Wang, Li, J. R., & Lin, J. (2008). Probiotics in aquaculture: Challenges and outlook.

- Aquaculture*, 281, 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.06.002>
- Yarahmadi, P., Kolangi Miandare, H., & Hoseinifar, S. H. (2016). Haemato-immunological and serum biochemical parameters, intestinal histomorphology and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed dietary fermentable fibre (Vitacel). *Aquaculture Nutrition*, 22(5), 1134–1142. <https://doi.org/10.1111/anu.12388>
- Yassine, T., Khalafalla, M. M., Mamdough, M., Elbially, Z. I., Salah, A. S., Ahmedou, A., Mamoon, A., El-Shehawi, A. M., Van Doan, H., & Dawood, M. A. O. (2021). The enhancement of the growth rate, intestinal health, expression of immune-related genes, and resistance against suboptimal water temperature in common carp (*Cyprinus carpio*) by dietary paraprobiotics. *Aquaculture Reports*, 20, 100729. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100729>
- Zulfahmi, I., Affandi, R., & Batu, D. T. L. (2015). Perubahan struktur histologis insang dan hati ikan nila (*Oreochromis niloticus Linnaeus*) yang terpapar merkuri. *JESBIO: Jurnal Edukasi Dan Sains Biologi*, 4(1).
- Zulfahmi, I., & Humairani, R. (2018). Kondisi biometrik dan histologi usus ikan bandeng (*Chanos chanos*) yang diberi pakan berkomposisi tepung bangkil sawit. *Prosiding Seminar Nasional Biotik*, 607–613.