

**EFISIENSI PAKAN, HISTOLOGI USUS, DAN HATI IKAN GABUS
Channa striata (BLOCH, 1793) DENGAN PEMBERIAN PAKAN
BERBASIS MEAT BONE MEAL DAN PENAMBAHAN DISTILLERS
DRIED GRAINS WITH SOLUBLES SERTA PROBIOTIK *Bacillus* sp.**

Skripsi

Oleh

**MUHAMMAD ZAKI FAUZAN AQILLA
2014111033**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

ABSTRAK

EFISIENSI PAKAN, HISTOLOGI USUS, DAN HATI IKAN GABUS

***Channa striata* (BLOCH, 1793) DENGAN PEMBERIAN PAKAN BERBASIS MEAT BONE MEAL DAN PENAMBAHAN DISTILLERS DRIED GRAINS WITH SOLUBLES SERTA PROBIOTIK *Bacillus* sp.**

Oleh

MUHAMMAD ZAKI FAUZAN AQILLA

Tepung ikan sebagai sumber utama protein dalam pakan ikan sering kali menyebabkan masalah seperti ketersediaannya yang menjadi terbatas. Oleh karena itu, perlu adanya bahan alternatif. Salah satu bahan yang dapat digunakan yaitu *distillers dried grain with solubles* (DDGS), namun dengan tingginya serat yang diberikan pada ikan gabus (*Channa striata*) perlu ditambahkannya taurin dan probiotik *Bacillus* sp. agar dapat meningkatkan penyerapan pada pakan yang diberikan. Penelitian ini bertujuan efisiensi pakan, retensi protein, retensi lemak, rasio konversi pakan, histologi usus dan histologi hati ikan gabus dari pengaruh pembeiran pakan berbasis MBM dan probiotik *Bacillus* sp.. Penelitian ini menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 6 perlakuan dan 3 ulangan dengan pemeliharaan selama 60 hari dan FR 3%. Hewan uji yang digunakan adalah ikan gabus berukuran panjang rata-rata $10,38 \pm 0,49$ cm dan berat rata-rata $8,50 \pm 1,68$ gram. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan menghasilkan nilai yang tidak berbeda nyata pada efisiensi pakan, retensi protein, retensi lemak, dan nilai rasio konversi pakan ($P > 0,05$). Histologi usus mengalami kerusakan histopatologi berupa nekrosis dan hemoragi. Histologi hati mengalami kerusakan histopatologi berupa hemoragi dan degenerasi sehingga dapat disimpulkan bahwa perlakuan yang diberikan dapat diaplikasikan dan efisien pada budi daya ikan gabus dengan ukuran panjang rata-rata $10,38 \pm 0,49$ cm dan berat rata-rata $8,50 \pm 1,68$ gram.

Kata kunci: pakan, *distillers dried grain with solubles*, meat bone meal, probiotik *Bacillus* sp., ikan gabus, histologi usus, histologi hati.

ABSTRACT

THE FEED EFFICIENCY, INTESTINAL AND LIVER HISTOLOGY SNAKEHEAD FISH LIVER *Channa striata* (BLOCH, 1793) BY FEEDING A MEAT BONE MEAL BASED FEED AND ADDING DISTILLERS DRIED GRAINS WITH SOLUBLES AND PROBIOTICS *Bacillus* sp.

By

MUHAMMAD ZAKI FAUZAN AQILLA

Fishmeal as the main source of protein in fish feed often causes problems such as its limited availability. Therefore, there is a need for alternative materials. One of the ingredients that can be used is distillers dried grain with solubles (DDGS), but with the high fiber given to snakehead fish (*Channa striata*), it is necessary to add taurine and probiotic *Bacillus* sp. in order to increase absorption in the feed given. This study aimed at feed efficiency, protein retention, fat retention, feed conversion ratio, intestinal histology and snakehead liver histology from the influence of MBM based feed and *Bacillus* sp. probiotics. This study used a complete randomized design method (RAL) consisting of 6 treatments and 3 replicates with maintenance for 60 days and FR 3%. The test animal used was snakehead fish with an average length of 10.38 ± 0.49 cm and an average weight of 8.50 ± 1.68 grams. The results of this study showed that the treatment produced no significant difference in feed efficiency, protein retention, fat retention, and feed conversion ratio value ($P>0.05$). Intestinal histology underwent histopathological damage in the form of necrosis and hemorrhage. Liver histology underwent histopathological damage in the form of hemorrhagic yeast and degeneration so that it can be concluded that the treatment given can be applied and efficient in snakehead fish cultivation with an average length of 10.38 ± 0.49 cm and an average weight of 8.50 ± 1.68 grams.

Keywords: feed, distillers dried grain with solubles, meat bone meal, probiotics *Bacillus* sp., snakehead fish, gut histology, liver histology.

**EFISIENSI PAKAN, HISTOLOGI USUS, DAN HATI IKAN GABUS
Channa striata (BLOCH 1793) DENGAN PEMBERIAN PAKAN BERBASIS
MEAT BONE MEAL DAN PENAMBAHAN DISTILLERS DRIED GRAINS
WITH SOLUBLES SERTA PROBIOTIK *Bacillus* sp.**

Oleh
Muhammad Zaki Fauzan Aqilla

Skripsi
Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PERIKANAN

Pada
Jurusan Perikanan dan Kelautan
Fakultas Pertanian



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

Judul Skripsi

: EFISIENSI PAKAN, HISTOLOGI USUS, DAN
HATI IKAN GABUS *Channa striata* (BLOCH,
1793) DENGAN PEMBERIAN PAKAN BER-
BASIS MEAT BONE MEAL DAN PENAM-
BAHAN DISTILLERS DRIED GRAINS WITH
SOLUBLES SERTA PROBIOTIK *Bacillus* sp.

Nama Mahasiswa

: Muhammad Zaki Fauzan Aqilla

Nomor Pokok Mahasiswa

: 2014111033

Jurusan/Program Studi

: Perikanan dan Kelautan/Budidaya Perairan

Fakultas

: Pertanian

MENYETUJUI,

1. Komisi Pembimbing



Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D.

NIP. 198309232006042001



Yeni Elisdiana, S.Pi., M.Si.

NIP. 199003182019032026

MENGETAHUI,

2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan

Dr. Endra Gumay Yudha, S. Pi., M. Si.

NIP. 197008151999031001

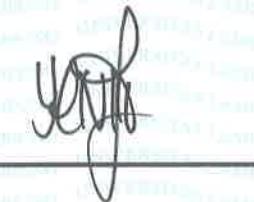
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

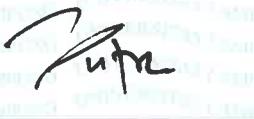
Ketua : **Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D.**



Sekretaris : **Yeni Elisdiana, S.Pi., M.Si.**



Penguji : **Dr. Yudha Trinoegraha Adiputra, S.Pi., M.Si.**



2. Dekan Fakultas Pertanian



Tanggal lulus ujian skripsi : **19 September 2024**

PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Karya tulis yang saya buat berupa skripsi ini adalah asli belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (sarjana/ahli madya), baik di Universitas Lampung maupun di perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini murni, gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan tim pembimbing.
3. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi yang sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Bandar Lampung, 15 November 2024



Muhammad Zaki Fauzan Aqilla
NPM. 2014111033

RIWAYAT HIDUP

Penulis memiliki nama lengkap Muhammad Zaki Fauzan Aqilla yang merupakan anak kedua dari tiga bersaudara, putra dari pasangan Bapak Rusman dan Ibu Risa Puspita. Penulis memulai pendidikan di Taman Kanak-Kanak (TK) Tutwuri Handayani yang diselesaikan pada tahun 2008, pendidikan dasar di SDS Tunas Bangsa yang diselesaikan pada tahun 2014, pendidikan menengah pertama di SMPN 1 Terbanggi Besar yang diselesaikan pada tahun 2017, dan pendidikan menengah atas di SMAN 1 Terbanggi Besar yang diselesaikan pada tahun 2020. Penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang strata-1 (S1) di Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada tahun 2020.

Semasa menjadi mahasiswa penulis pernah pernah menjadi asisten praktikum pada Fisiologi Ikan (2022), Fisiologi Pengenalan Larva Ikan (2022 dan 2023). Penulis melakukan kegiatan Kuliah Kerja Nyata (KKN) pada bulan Januari-Februari 2023 di Desa Suka Banjar, Kecamatan Ngambur, Pesisir Barat. Penulis mengikuti riset di Laboratorium Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada tanggal 9 Desember 2023 - 6 Februari 2024. Penulis juga aktif dalam organisasi UKM-U Koperasi Konsumen Mahasiswa Univertas Lampung sebagai pengurus Bidang Usaha periode 2023. Penulis menyelesaikan tugas akhir (skripsi) pada tahun 2024 dengan judul “Efisiensi Pakan, Histologi Usus, Dan Hati Ikan Gabus *Channa striata* (BLOCH, 1793) Dengan Pemberian Pakan Berbasis *Meat Bone Meal* dan Penambahan *Distillers Dried Grains With Solubles* serta Probiotik *Bacillus sp.*”

PERSEMBAHAN

Puji syukur Allhamdulilah kepada Allah SWT, atas berkat rahmat, kekuatan, dan hidayah-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan sebaik-baiknya.

Dengan kerendahan hati, kupersembahkan skripsi ini sebagai tanda bukti dan kasih sayang, serta cinta pertamaku, dan pintu surgaku yang tulus kepada:

Kedua orang tuaku Ayahanda Rusman dan Ibunda Risa Puspita. Beliau selalu memberikan doa, dukungan, nasihat, semangat hingga penulis mampu menyelesaikan studinya sampai sarjana.

Kakak dan Adikku tersayang dan tercinta, Haya Nadirah Kharisma dan Dhiya Laila Azzahra, yang selalu memberikan dukungan, semangat, dan doa dalam proses menyelesaikan skripsi ini.

Sahabat-sahabatku yang telah memberikan semangat, canda tawa, serta doa, dan dukungan yang diberikan kepada penulis selama menyelesaikan skripsi ini.

Almamaterku tercinta, Universitas Lampung.

MOTO

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”
(Q.S Al Baqarah: 286)

“Dan bersabarlah. Sesungguhnya Allah beserta orang-orang yang sabar”
(Q.S Al Anfal: 46)

“Dan janganlah kamu merasa lemah dan janganlah pula bersedih hati, sebab kamulah yang paling tinggi derajatnya jika kamu orang-orang yang beriman.”
(Q.S Ali Imran: 139)

“*Perseverance brings much better results than talent alone.*”
(Steve Jobs)

SANWACANA

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah Tuhan Yang Maha Esa, atas se-gala rahmat dan karunia yang diberikan, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Efisiensi Pakan, Histologi Usus, dan Hati Ikan Gabus *Channa striata* (BLOCH, 1793) dengan Pemberian Pakan Berbasis *Meat Bone Meal* dan Penambahan *Distillers Dried Grains With Solubles* serta Probiotik *Bacillus sp.*” ini untuk memenuhi salah satu persyaratan mencapai gelar Sarjana Perikanan Universitas Lampung. Selama penulisan skripsi ini, penulis banyak menerima masukan, bantuan, dukungan, serta saran sehingga dapat menyelesaikan skripsi.

Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P. selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung;
3. Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si., selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung;
4. Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D., selaku Ketua Program Studi Budidaya Perairan dan menjadi Pembimbing Utama yang telah membantu penulis dengan sabar dan selalu memberikan saran, motivasi, dan masukan dalam menyelesaikan skripsi;
5. Yeni Elisdiana, S.Pi., M.Si., selaku Pembimbing Kedua dan Pembimbing Akademik yang telah memberikan motivasi dan bimbingan kepada penulis selama di perkuliahan serta membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini;

6. Dr. Yudha Trinoegraha Adiputra, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Pengaji yang telah meluangkan waktunya sehingga dapat memberi kritik dan saran selama proses penyelesaian skripsi.
7. Limin Santoso, S.Pi., M.Si., selaku Ketua Tim MBKM-Riset yang telah mengajak penulis dalam penelitian ini sehingga membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi;
8. Seluruh dosen dan staf administrasi Jurusan Perikanan dan Kelautan atas ilmu yang bermanfaat serta arahan yang diberikan.
9. Kedua orang tua yang selalu memberikan semangat, dukungan, serta doa kasih sayang, nasehat, dan solusi ketika penulis mengalami kesulitan.
10. Sahabat KWU, Hafizh, Pandu, Aisha yang selalu mendukung dan membersamai penulis selama menjadi mahasiswa;
11. Sahabat-sahabat seperjuangan sekaligus rekan MBKM Riset, Astrid, Yoseva, Meileni, Shinta, Rani, Vidya, Rindi, Cipto, Sefrian, Garin, dan Frido atas dukungan, motivasi, doa, dan canda tawa yang telah diberikan.
12. Keluarga besar Budidaya Perairan 2020, yang telah menemani selama masa perkuliahan.
13. Teman-teman Kopma Unila, Fikri, Augia, Haris, Kamila, Abel, Arum, Azizah, Dalila, Rafi, Raddien, Syahril, Risa, Bagas, Rahmadi, dan Rizki.

Semoga Allah SWT memberikan balasan atas kebaikan-kebaikan yang penulis dapatkan. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan, untuk itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun guna perbaikan selanjutnya. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan umumnya adalah bagi masyarakat.

Bandar Lampung, November 2024
Penulis,

Muhammad Zaki Fauzan Aqilla

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	ii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan	4
1.3 Manfaat Penelitian.....	4
1.4 Kerangka Pikir Penelitian.....	5
1.5 Hipotesis	7
II. TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Gabus (<i>Channa striata</i>)	9
2.2 <i>Distillers Dried Grains with Solubles</i> (DDGS).....	10
2.3 Taurin.....	11
2.4 Probiotik <i>Bacillus</i> sp.	11
2.5 Kebutuhan Nutrisi Ikan Gabus (<i>Channa striata</i>)	12
2.6 Pakan Ikan	12
2.7 Dikalsium Fosfat.....	13
2.8 Histologi Usus Ikan	14
2.9 Histologi Hati Ikan	15
III. METODE PENELITIAN	17
3.1 Waktu dan Tempat	17
3.2 Alat dan Bahan	17
3.3 Rancangan Penelitian	19

3.4 Prosedur penelitian	20
3.4.1 Persiapan Wadah dan Media Pemeliharaan.....	20
3.4.2 Persiapan Ikan Uji	20
3.4.3 Pembuatan Pakan.....	21
3.4.4 Pemeliharaan Ikan	22
3.4.5 Pengukuran Kualitas Air.....	22
3.5 Sampling dan Variabel Penelitian.....	22
3.5.1 Efisiensi Pemanfaatan Pakan.....	23
3.5.2 Rasio Konversi Pakan.....	23
3.5.3 Retensi Protein.....	23
3.5.4 Retensi Lemak	24
3.5.5 Kepadatan Bakteri <i>Bacillus</i> sp.....	24
3.5.6 Histologi Usus dan Histologi Hati.....	25
3.6 Analisis Data.....	26
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	27
4.1 Hasil.....	27
4.1.1 Analisis Proksimat Pakan Uji.....	27
4.1.2 Efisiensi Pakan.....	28
4.1.3 Rasio Konversi Pakan	28
4.1.4 Retensi Protein.....	29
4.1.5 Retensi Lemak	30
4.1.6 Kepadatan Bakteri <i>Bacillus</i> sp.....	30
4.1.7 Histologi Usus Ikan Gabus (<i>Channa striata</i>)	31
4.1.8 Histologi Hati Ikan Gabus (<i>Channa striata</i>).	33
4.1.9 Kualitas Air Selama Pemeliharaan	35
4.2 Pembahasan	36
V. SIMPULAN DAN SARAN	41
5.1 Simpulan	41
5.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	53

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat penelitian	17
2. Bahan penelitian.....	18
3. Formulasi pakan uji.....	21
4. Analisis proksimat pakan uji	27
5. Kepadatan bakteri <i>Bacillus</i> sp. pada usus ikan gabus (<i>Channa striata</i>) yang diberi pakan berbasis MBM dengan penambahan DDGS dan taurin probiotik serta <i>Bacillus</i> sp.	30
6. Kerusakan histopatologi usus ikan gabus (<i>Channa striata</i>) setelah pemberian pakan berbasis MBM dengan penambahan DDGS dan taurin serta probiotik <i>Bacillus</i> sp.....	33
7. Kerusakan histopatologi hati ikan gabus (<i>Channa striata</i>) setelah pemberian pakan berbasis MBM dengan penambahan DDGS dan taurin serta probiotik <i>Bacillus</i> sp.	35
8. Kualitas air selama pemeliharaan.....	35

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Diagram alir kerangka pikir penelitian	5
2. Ikan gabus (<i>Channa striata</i>)	9
3. Histologi usus ikan.....	15
4. Histologi hati ikan patin (<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>).....	16
5. Tata letak wadah pemeliharaan	19
6. Efisiensi pakan ikan gabus (<i>Channa striata</i>) dengan penambahan DDGS dan taurin pada pakan berbasis MBM yang di tambahkan probiotik <i>Bacil-</i> <i>lus</i> sp.	28
7. Rasio konversi pakan ikan gabus (<i>Channa striata</i>) dengan penambahan DDGS dan taurin pada pakan berbasis MBM yang di tambahkan probiotik <i>Bacillus</i> sp.	29
8. Retensi protein ikan gabus (<i>Channa striata</i>) dengan penambahan DDGS dan taurin pada pakan berbasis MBM yang di tambahkan probiotik <i>Bacil-</i> <i>lus</i> sp.	29
9. Retensi lemak ikan gabus (<i>Channa striata</i>) dengan penambahan DDGS dan taurin pada pakan berbasis MBM yang ditambahkan probiotik <i>Bacil-</i> <i>lus</i> sp.	30
10. Histopatologi usus ikan gabus (<i>Channa striata</i>) setelah diberikan pakan ber- basis MBM dengan penambahan DDGS dan taurin serta probiotik <i>Bacil-</i> <i>lus</i> sp.....	32
11. Histopatologi hati ikan gabus (<i>Channa striata</i>) setelah diberikan pakan ber- basis MBM dengan penambahan DDGS dan taurin serta probiotik <i>Bacil-</i> <i>lus</i> sp.....	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Analisis statistik efisiensi pakan ikan gabus (<i>Channa striata</i>)	54
2. Analisis statistik retensi protein ikan gabus (<i>Channa striata</i>)	55
3. Analisis statistik retensi lemak ikan gabus (<i>Channa striata</i>).....	56
4. Analisis statistik rasio konversi pakan ikan gabsus (<i>Channa striata</i>).....	56

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan gabus (*Channa striata*) merupakan salah satu jenis ikan perairan umum yang bernilai ekonomis tinggi dan saat ini memiliki harga jual sekitar Rp40.000,00-60.000,00/kg (Shasia *et al.*, 2021). Di Indonesia produksi ikan gabus pada tahun 2021 tercatat mencapai 117.624 ton, jumlah tersebut mengalami kenaikan 5,63% dibandingkan dengan tahun 2020 yaitu sebanyak 111.359 ton (KKP, 2021). Ikan gabus mempunyai beberapa khasiat dari koncentrat protein ikan gabus yang telah terbukti dapat digunakan sebagai *food supplement* untuk percepatan penyembuhan luka bakar dan pascaoperasi, memiliki antiinflamasi dan aktivitas antinosiseptif, dan dapat meningkatkan status gizi. Keunggulan ikan gabus lainnya yaitu ketahanan hidup yang tinggi pada kondisi lingkungan perairan yang buruk dengan kandungan oksigen terlarut rendah, dan amonia tinggi, serta memiliki kemampuan toleransi salinitas yang cukup tinggi (Akbar, 2022). Hal ini menjadikan budi daya ikan gabus layak untuk dikembangkan lebih lanjut.

Selain itu, dalam kegiatan budi daya ikan terdapat beberapa faktor penting yang perlu diperhatikan untuk mendukung perkembangan, pertumbuhan, serta kelangsungan hidup. Salah satu faktor penting tersebut adalah pakan. Dalam upaya budi daya ikan dapat didukung dengan ketersediaan pakan dengan nutrisi yang memadai. Pakan merupakan sumber materi dan energi yang menopang kelangsungan hidup dan pertumbuhan ikan, namun di sisi lain pakan juga komponen terbesar dari biaya produksi (Yanuar, 2017).

Rendahnya kandungan nutrisi dalam pakan bisa menjadikan hambatan dalam proses budi daya. Oleh karena itu, untuk mengatasi hal tersebut perlu adanya pemanfaatan bahan baku yang dapat menekan biaya produksi, tetapi tidak menurunkan kandungan nutrient dari pakan (Rahmadani *et al.*, 2020; Lestari *et al.*, 2023). Salah satu bahan baku lokal dengan sumber protein tinggi yang dapat digunakan dalam campuran pakan buatan adalah *distillers dried grain with solubles* (DDGS).

DDGS mengandung protein, energi, nutrisi dan fosfor yang tinggi di dalamnya sehingga DDGS dapat digunakan sebagai alternatif untuk menggantikan sumber protein pada pakan yang berasal dari tepung ikan. DDGS memiliki kandungan protein 30-35%, lemak kasar 10%, dan serat kasar sekitar 11% (Yan, 2019). Pada penelitian yang dilakukan oleh Zhu *et al.* (2022) substitusi DDGS yang optimal adalah 7,80% yang secara signifikan akan meningkatkan kinerja pertumbuhan dan kesehatan usus ikan kerapu hibrida (*Epinephelus fuscoguttatus* × *Epinephelus lanceolatus*). Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Gümüş (2020) menunjukkan bahwa substitusi DDGS sampai 30% dapat dijadikan pengganti tepung ikan tanpa memengaruhi kinerja pertumbuhan, pemanfaatan pakan, dan kecernaan nutrisi ikan trout pelangi. Selain itu, penggunaan DDGS dalam pakan tidak berdampak negatif pada parameter histologi usus dan histologi hati. Mengganti sumber protein hewani menjadi nabati akan menyebabkan berkurangnya sumber asam amino, dimana hal tersebut diperlukan oleh ikan untuk pertumbuhan sel dan pembentukan jaringan tubuhnya (Pratama, 2019). Salah satu sumber asam amino yang dapat digunakan yaitu taurin.

Taurin merupakan salah satu asam amino bebas yang disintesis dari asam amino metionin yang memiliki fungsi biologis pada tubuh, yaitu stabilitas membran, antioksidan, keseimbangan homeostatis dari kalsium, memacu pertumbuhan, osmoregulasi serta penglihatan (Widyasti *et al.*, 2013). Dalam beberapa penelitian, pemberian suplementasi taurin dengan pakan tepung ikan menunjukkan peningkatan kinerja pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan mas

hitam (Zhang *et al.*, 2018; Magalhães *et al.*, 2019; Sampath *et al.*, 2020). Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Hongmanee *et al.* (2022) suplementasi taurin 0,5% pada pakan berbasis protein nabati dapat meningkatkan kinerja pertumbuhan dan pemanfaatan pakan pada juvenil ikan gabus. Dan juga suplementasi taurin tidak menyebabkan perubahan morfologi pada histologi hati dan usus *juvenil* ikan gabus. Pertumbuhan ikan akan meningkat jika pakan yang diberikan dapat dicerna dengan baik oleh ikan sehingga energi yang diperoleh ikan dari pakan dapat dimanfaatkan secara optimum (Santika *et al.*, 2021). Selain itu, taurin adalah bahan yang penting dalam nutrisi ikan, terutama ketika pakan berbasis protein nabati. Pakan berbasis protein nabati telah digunakan dalam industri, tetapi terdapat keterbatasan dalam kandungan nutrisi, taurin menjadi penting dalam formula pakan ikan terutama pada ikan karnivora (Zhang *et al.*, 2018; Sampath *et al.*, 2020).

Selain itu, peningkatan pertumbuhan, kelangsungan hidup, dan daya cerna pakan yang diberikan dapat dilakukan dengan penambahan probiotik saat pemberian pakan. Probiotik merupakan mikroorganisme yang mampu meningkatkan atau menurunkan aktivitas enzim pengurai dan menstimulasi imunitas (Djamil *et al.*, 2021). Penggunaan probiotik menjadi salah satu metode yang efektif dalam pemenuhan pemanfaatan pakan dan peningkatan daya tahan tubuh (Lestari *et al.*, 2022). *Bacillus* sp. merupakan salah satu jenis mikroorganisme yang berperan sebagai bakteri pengurai (Abareethan & Amsath, 2015). Dalam golongan *Bacillus* sp. seperti *B. licheniformis* memiliki fungsi untuk menstabilkan dan merangsang pertumbuhan (Djamil *et al.*, 2021). Salah satu probiotik komersil yang mengandung bakteri *Bacillus* sp. dan dapat digunakan yaitu probiotik MinaPro®. Dalam penelitian yang dilakukan Safir *et al.* (2023) probiotik MinaPro® memberikan pengaruh yang signifikan terhadap laju pertumbuhan spesifik harian, pertambahan bobot mutlak, rasio konversi pakan, dan efisiensi pemanfaatan pakan pada benih ikan patin (*Pangasianodon hypophthalmus*). Dalam menilai kinerja dari pencernaan dapat menganalisis struktur histologi usus ikan. Analisis histologi pencernaan merupakan indikator yang baik untuk menilai status gizi ikan (Caballero *et al.*, 2003; Zulfahmi &

Humairani, 2019). Usus merupakan organ yang penting dalam proses pencernaan dan penyerapan nutrisi makanan karena kinerja usus sangat erat hubungannya dengan pertumbuhan (Rašković *et al.*, 2009; Zulfahmi & Humairani, 2019).

Penggunaan DDGS sebagai penambah protein nabati dan taurin serta probiotik *Bacillus* sp. dalam pakan berbasis *meat bone meal* (MBM) akan menjadikan kombinasi yang sesuai dengan kebutuhan ikan gabus dalam meningkatkan pertumbuhan dan efisiensi pakan serta dalam mencerna dengan baik pakan yang akan diberikan. Hal ini lah yang menjadikan DDGS dan taurin serta pemberian probiotik *Bacillus* sp. dapat digunakan sebagai alternatif pengganti tepung ikan dalam pembuatan pakan yang mampu memenuhi kebutuhan nutrisi ikan gabus. Penambahan DDGS dan taurin serta probiotik *Bacillus* sp. diharapkan dapat meningkatkan efisiensi pakan, dan meningkatkan kualitas histologi usus serta petumbuhan ikan gabus.

1.2 Tujuan

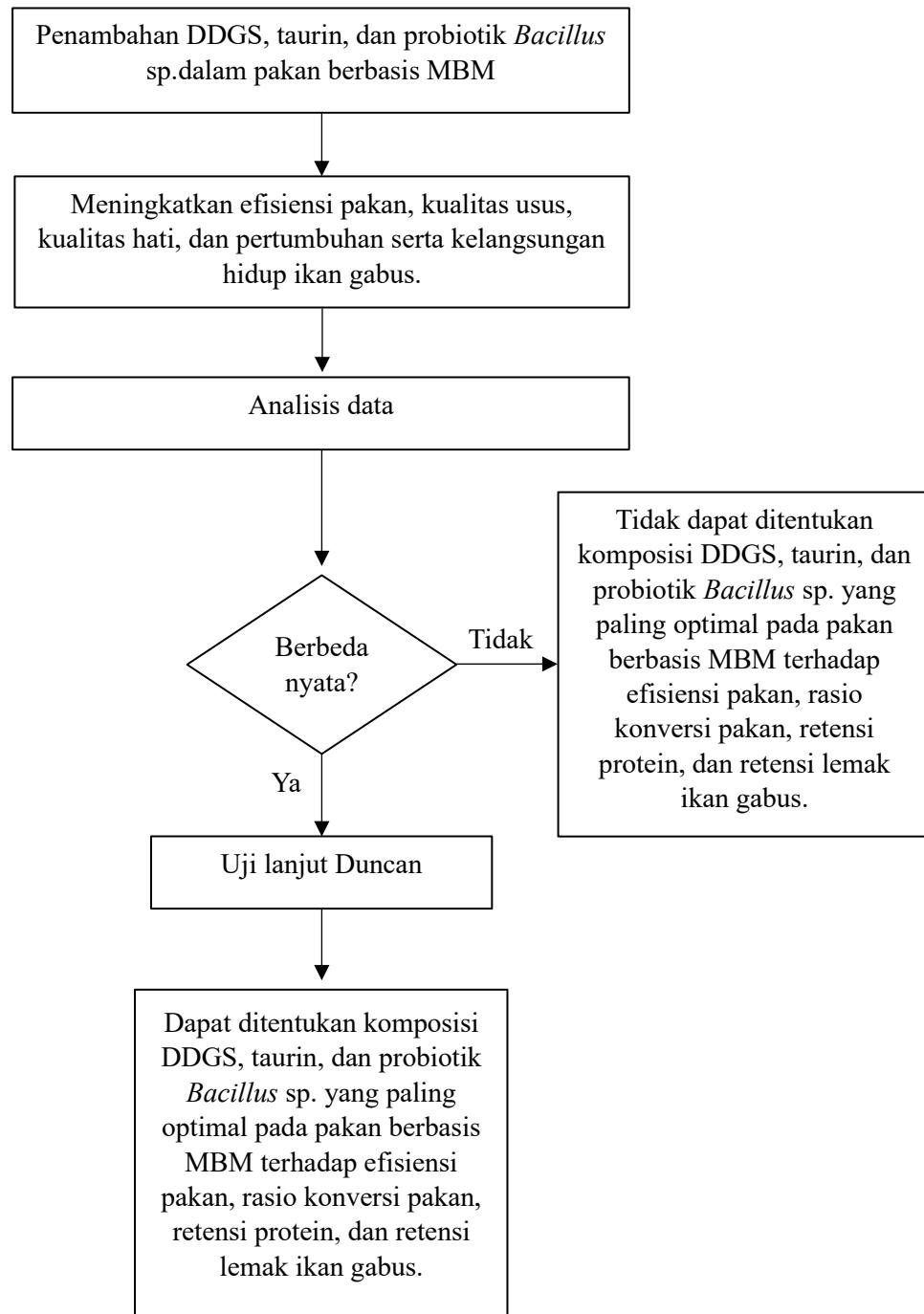
Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi efisiensi pakan, retensi protein, retensi lemak, rasio konversi pakan, kepadatan bakteri *Bacillus* sp. histologi usus, dan histologi hati ikan gabus dari pengaruh pemberian pakan berbasis MBM dan penambahan DDGS serta probiotik *Bacillus* sp.

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi tentang efisiensi pakan, retensi protein, retensi lemak, rasio konversi pakan, kepadatan bakteri *Bacillus* sp., histologi usus, dan histologi hati ikan gabus dari pengaruh pemberian pakan berbasis MBM dengan penambahan DDGS dan taurin serta probiotik *Bacillus* sp.

1.4 Kerangka Pikir Penelitian

Ikan gabus memiliki keunggulan seperti ketahanan hidup yang tinggi karena mampu hidup di lingkungan perairan yang buruk. Dalam budi daya pakan merupakan faktor penting. Dalam pakan ikan, tepung ikan dan tepung *meat bone meal* masih dianggap sebagai sumber protein yang paling memadai, sehingga menyebabkan permintaan bahan tersebut tinggi. Oleh karena itu, perlu adanya alternatif pengganti dari bahan tersebut yang mengandung nutrisi yang baik, dan ketersediaannya yang kontinyu. Penambahan *distillers dried grain with solubles* (DDGS) yang berasal dari nabati mengandung protein yang tinggi di dalamnya. Penambahan taurin sebagai sumber asam amino esensial mampu mendukung DDGS dalam meningkatkan pertumbuhan melalui peningkatan nafsu makan serta peningkatan sistem kerja dari organ pencernaan. Untuk membantu ikan gabus dalam mencerna pakan yang diberikan, maka perlu ditambahkan probiotik. Salah satu probiotik komersil, yaitu probiotik MinaPro® yang mengandung bakteri *Bacillus* sp. dapat memberikan pengaruh terhadap laju pertumbuhan spesifik, rasio konversi pakan, dan bobot mutlak sehingga dapat dikatakan dapat meningkatkan kualitas usus ikan gabus (Gambar 1).



Gambar 1. Diagram alir kerangka pikir penelitian

1.5 Hipotesis

Hipotesis yang digunakan dalam penelitian yaitu :

a. Efisiensi pakan (EP)

H_0 : semua $\tau_i = 0$

: Semua pengaruh perlakuan pemberian DDGS, taurin, dan probiotik *Bacillus* sp. dalam pakan dengan MBM tidak berbeda nyata terhadap efisiensi pakan ikan gabus.

H_1 : minimal ada satu $\tau_i \neq 0$

: Minimal terdapat satu pengaruh perlakuan pemberian DDGS, taurin, dan probiotik *Bacillus* sp. dalam pakan yang berbeda nyata terhadap efisiensi pakan ikan gabus.

b. Rasio konversi pakan

H_0 : semua $\tau_i = 0$

: Semua pengaruh perlakuan pemberian DDGS, taurin, dan probiotik *Bacillus* sp. dalam pakan dengan MBM tidak berbeda nyata terhadap rasio konversi pakan ikan gabus.

H_1 : minimal ada satu $\tau_i \neq 0$

: Minimal terdapat satu pengaruh perlakuan pemberian DDGS, taurin, dan probiotik *Bacillus* sp. dalam pakan yang berbeda nyata terhadap rasio konversi pakan ikan gabus.

c. Retensi protein (RP)

H_0 : semua $\tau_i = 0$

: Semua pengaruh perlakuan pemberian DDGS, taurin, dan probiotik *Bacillus* sp. dalam pakan dengan MBM tidak berbeda nyata terhadap retensi protein ikan gabus.

H_1 minimal ada satu $\tau_i \neq 0$

: Minimal terdapat satu pengaruh perlakuan pemberian DDGS, taurin, dan probiotik

Bacillus sp. dalam pakan yang berbeda nyata terhadap retensi protein ikan gabus.

d. Retensi lemak (RL)

H0: semua $\tau_i = 0$

: Semua pengaruh perlakuan pemberian DDGS, taurin, dan probiotik *Bacillus* sp. dalam pakan dengan MBM tidak berbeda nyata terhadap retensi lemak ikan gabus.

H1 minimal ada satu $\tau_i \neq 0$

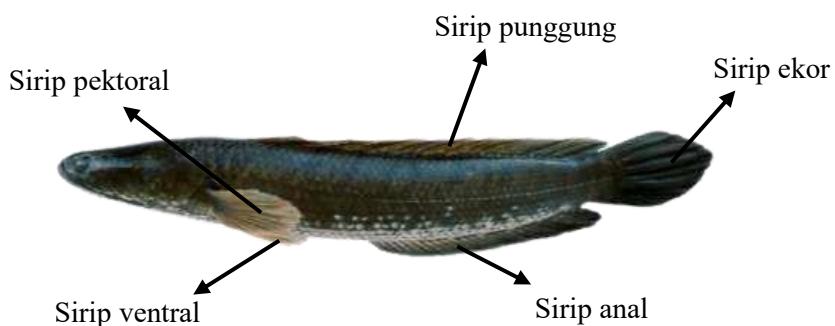
: Minimal terdapat satu pengaruh perlakuan pemberian DDGS, taurin, dan probiotik *Bacillus* sp. dalam pakan yang berbeda nyata terhadap retensi lemak ikan gabus.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Gabus (*Channa striata*)

Menurut Kottelat *et al.* (1993), klasifikasi ikan gabus sebagai berikut:

- Kingdom : Animalia
- Phylum : Chordata
- Kelas : Actinopterygii
- Ordo : Perciformes
- Famili : Channidae
- Genus : *Channa*
- Spesies : *Channa striata*



Gambar 2. Ikan gabus (*Channa striata*)
Sumber: Akbar (2022)

Ikan gabus memiliki ciri-ciri morfologi seluruh tubuh dan kepala ditutupi sisik sikloid dan stenoid, bentuk badan di bagian depan hampir bundar dan pipih tegak ke arah belakang sehingga disebut ikan berkepala ular (*snakehead fish*) (Kottelat *et al.*, 1993; Akbar, 2022). Sisi atas tubuh ikan gabus dari kepala hingga ke ekor berwarna gelap, hitam kecoklatan atau kehijauan. Sisi bawah tubuh berwarna putih mulai dagu ke belakang. Sisi samping bercoret tebal dan agak kabur, warna tersebut sering kali menyerupai lingkungan sekitarnya.

Sirip punggung memanjang dengan sirip ekor membulat di bagian ujungnya (Listyanto *et al.*, 2009). Ikan ini memiliki gigi dengan ukuran yang kecil namun kuat dan tajam, ukuran usus lebih pendek dari tubuh, dan bentuk lambung lonjong sehingga ikan gabus dikategorikan sebagai ikan karnivora (Nabilla *et al.*, 2021) (Gambar 2). Ikan gabus merupakan ikan karnivora yang biasanya memakan ikan, seperti udang, katak, cacing, serangga, dan semua jenis ikan kecil. Pada masa larva, ikan gabus memakan zooplankton, dan pada masa *fingerling*, makanannya adalah serangga, udang, dan cacing tanah (Jamal *et al.*, 2022).

2.2 Distillers Dried Grains with Solubles (DDGS)

Distillers dried grains with solubles atau yang bisa disebut DDGS merupakan produk hasil olahan fermentasi biji jagung dengan ragi dan enzim untuk memproduksi alkohol. Cara menghasilkan DDGS yaitu dengan mengeringkan residu hasil dari fermentasi biji jagung setelah menghilangkan alkohol. (Cheng *et al.*, 2015; Ray *et al.*, 2022). DDGS mengandung protein, energi, nutrisi dan fosfor yang tinggi di dalamnya sehingga DDGS dapat digunakan sebagai alternatif untuk menggantikan sumber protein nabati pada pakan. DDGS memiliki kandungan protein 30-35%, lemak kasar 10%, dan serat kasar sekitar 11% (Yan, 2019).

DDGS yang diformulasikan dengan baik dapat meningkatkan kinerja pertumbuhan, sistem kesehatan, dan ketahanan penyakit. Selain itu, dapat meningkatkan kualitas dari produk hewani dan daging karena kandungan yang terdapat di dalamnya berupa karotenoid, dan ragi (Cheng *et al.*, 2015). Selain itu, DDGS dapat menjadi sumber metionin yang baik (Diogenes *et al.*, 2019; Novriadi *et al.*, 2022) dan tidak mengandung faktor anti nutrisi (ANFs) yang dimana terkandung dalam SBM (*soy bean meal*) (Wilson & Poe, 1985; Shiau *et al.*, 1987; Novriadi *et al.*, 2022). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Novriadi *et al.* (2022) DDGS merupakan bahan yang potensial untuk pakan udang dan dapat digunakan hingga 15% untuk menggantikan sebagian penggunaan SBM tanpa mengurangi pertumbuhan dan kualitas udang *L. vannamei*. Selain

itu, DDGS juga merupakan salah satu pilihan yang bagus untuk menggantikan sumber protein nabati.

2.3 Taurin

Taurin merupakan salah satu asam amino bebas yang disintesis dari asam amino metionin yang memiliki fungsi biologis pada tubuh yaitu stabilitas membran, antioksidan, keseimbangan homeostatis dari kalsium, memacu pertumbuhan, osmoregulasi, serta penglihatan (Widyasti *et al.*, 2013). Taurin memiliki fungsi biologis dan fisiologis, seperti antioksidasi, antiinflamasi, konjugasi asam empedu, dan metabolisme (Huxtable, 1992; Lubec *et al.*, 1997; Yildirim *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2022). Selain itu, dalam suplementasi taurin pada pakan tinggi lemak dapat meningkatkan kinerja pertumbuhan, meningkatkan kemampuan antioksidan, dan menjaga kesehatan usus *M. albus* (Shi *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2022). Dalam penelitian yang dilakukan Hongmanee *et al.* (2022) ikan gabus berukuran bobot awal 4,66 - 4,71 g/ekor dapat diberikan pakan dengan sumber protein nabati dengan suplementasi taurin sebanyak 0,5% dalam pakan. Suplementasi taurin tidak menghambat pertumbuhan serta perubahan morfologi di hati dan usus distal.

2.4 Probiotik *Bacillus* sp.

Penggunaan probiotik melalui pakan memiliki fungsi untuk menekan populasi mikroba patogen dengan memproduksi senyawa antimikroba melalui kompetisi nutrisi, merubah metabolisme mikroorganisme dengan meningkatkan atau menurunkan aktivitas enzim pengurai, dan menstimulasi imunitas (Djamil *et al.*, 2021). *Bacillus* sp. merupakan salah satu jenis mikroorganisme yang berperan sebagai bakteri pengurai, dimana *Bacillus* sp., memberikan manfaat sebagai salah satu agen probiotik dalam bidang perikanan budi daya (Abareethan & Amsath, 2015). Dalam golongan *Bacillus* sp., seperti *Bacillus licheniformis*, memiliki fungsi untuk menstabilkan dan merangsang pertumbuhan. Kemudian masih dalam golongan *Bacillus* sp. seperti *Bacillus subtilis*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus megaterium*, dan *Bacillus laterosporus* dapat menghambat pertumbuhan bakteri merugikan patogen dan merombak organik menjadi anorganik (Djamil *et al.*, 2021). Salah satu probiotik komersil yang

memiliki kandungan *Bacillus* sp. yaitu probiotik MinaPro®. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Safir *et al.* (2023) menunjukkan hasil dari penggunaan probiotik MinaPro® memberikan pengaruh yang signifikan terhadap laju pertumbuhan spesifik harian, pertambahan bobot mutlak, rasio konversi pakan, dan efisiensi pemanfaatan pakan pada benih ikan patin (*Pangasianodon hypophthalmus*).

2.5 Kebutuhan Nutrisi Ikan Gabus (*Channa striata*)

Pemberian pakan yang tepat dapat menentukan kualitas dan kelangsungan hidup serta pertumbuhan bagi ikan. Dalam proses budi daya ikan khususnya pembesaran, faktor penting adalah ketersediaan pakan dalam jumlah yang cukup. Pada pakan ikan juga harus mengandung nutrisi yang sesuai dengan kebutuhan ikan yang akan dibudidayakan. Nutrisi terbagi dalam kelompok makronutrien dan mikronutrien, dimana makronutrien terdiri dari protein, lemak, dan karbohidrat, sedangkan vitamin dan mineral termasuk dalam mikronutrien. Kandungan nutrisi yang dibutuhkan ikan gabus dalam pakan harus mengandung seluruh nutrien dalam jumlah yang cukup dan seimbang (Haris, 2019). Protein merupakan nutrisi utama, lemak sebagai sumber energi setelah protein karena dibandingkan dengan protein atau karbohidrat lemak dapat menghasilkan energi jauh lebih besar, sedangkan vitamin dan mineral sebagai senyawa untuk pertumbuhan, pembentukan jaringan tubuh dan proses metabolisme serta mempertahankan keseimbangan osmotik. Kebutuhan nutrisi ikan gabus meliputi protein 39-41%, lemak minimal 5%, serat kasar maksimal 6%, abu maksimal 16%, kadar air maksimal 10% (BPBAT Mandiangin, 2014).

2.6 Pakan Ikan

Salah satu faktor penting dalam budi daya adalah pakan. Pakan buatan merupakan salah satu jenis pakan yang dapat diberikan sebagai sumber nutrisi ikan yang dibudidayakan dimana pakan buatan sengaja dibuat dengan formulasi tertentu. Selain harus memiliki kualitas yang baik, serta kuantitas yang cukup, pembuatan pakan buatan sebaiknya didasarkan pada pertimbangan kebutuhan nutrisi ikan, kualitas bahan baku, dan nilai ekonomis (Helmi, 2019).

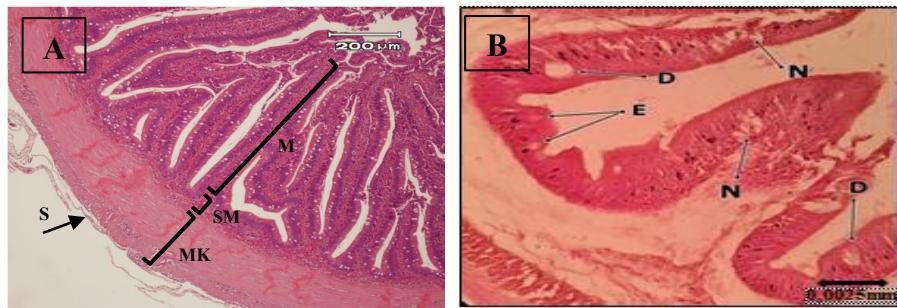
Pertumbuhan ikan akan meningkat jika pakan yang diberikan dapat dicerna dengan baik oleh ikan sehingga energi yang diperoleh ikan dari pakan dapat dimanfaatkan secara optimum (Santika *et al.*, 2021). Agar dapat dimanfaatkan secara optimum, pakan harus mengandung seluruh nutrien yang diperlukan oleh ikan. Akan tetapi, kebutuhan nutrien untuk suatu spesies ikan berbeda-beda. Kandungan pakan yang dibutuhkan untuk memenuhi kebutuhan ikan yaitu protein, lemak, mineral, vitamin, dan karbohidrat. Sumber nutrisi pakan terbagi menjadi dua, yaitu sumber nabati dan sumber hewani. Sumber bahan baku hewani dalam pakan terdiri dari tepung ikan, tepung daging, tepung darah, tepung rebon, dan lainnya, sedangkan sumber bahan baku nabati terdiri dari tepung jagung, tepung kedelai, tepung singkong, yang dimana 70-75% berasal dari biji-bijian.

2.7 Dikalsium Fosfat

Dikalsium fosfat atau DCP merupakan mineral yang mengandung kalsium dan pengencer anorganik yang tidak larut. Kalsium (Ca) dan fosfor (P) merupakan makro mineral yang berhubungan langsung dengan perkembangan dan pemeliharaan sistem tulang serta berperan dalam berbagai proses fisiologis tubuh suatu organisme. DCP memiliki bentuk anhidrat (kristal triklinik) dan bentuk dihidrat (struktur monoklinik) (Rowe *et al.*, 2009). DCP biasa digunakan sebagai suplemen makanan. Selain itu, dikalsium fosfat memiliki manfaat penting untuk kesehatan tulang, otot, dan jantung. Pada ikan kebutuhan kalsium (Ca) dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kimia air, level fosfor dalam pakan dan spesiesnya (Lall, 2002; Zainuddin, 2010). Ca dan P merupakan mineral yang saling sinergis (Zainuddin, 2001; Zainuddin, 2004; Zainuddin, 2010). Menurut Hossain & Furuichi (2000); Zainuddin (2010), penambahan kalsium dalam pakan sangat diperlukan untuk pertumbuhan ikan belanak merah, Japanese flounder, dan ikan lepu. Kemudian, Davis *et al.* (2002) & Kaligis (2015) menyatakan bahwa penambahan asam amino dan mineral berperan dalam penggunaan energi selama proses osmoregulasi serta mempertahankan keseimbangan ion.

2.8 Histologi Usus Ikan

Sistem pencernaan untuk berbagai jenis ikan memiliki perbedaan, baik dari morfologinya ataupun fungsinya. Perbedaan tersebut didasari oleh perbedaan jenis makanan yang dikonsumsi, kebiasaan makan, berat badan, dan jenis kelamin (Raji & Norouzi, 2010). Sistem pencernaan pada ikan karnivora lebih pendek daripada ikan herbivora yang memiliki 3 kali panjang tubuhnya, hal ini karena bahan makanan yang dikonsumsi berupa bahan nabati sukar untuk dicerna. Salah satu sistem pencernaan yang terdapat pada ikan yaitu usus. Usus memiliki peran yang penting dalam proses pencernaan dan penyerapan nutrisi. Usus yang memiliki tinggi vili, lebar vili, dan jumlah vili yang banyak dapat meningkatkan penyerapan nutrisi. (Ikpegbu *et al.*, 2014). Secara histologi usus ikan tersusun atas lapisan utama, yaitu lapisan mukosa yang terdiri dari lamina epithelia, lamina propria, dan muskularis mukosa. Lapisan submukosa yang terdiri dari jaringan ikat padat tidak teratur, pembuluh darah, limfa dan saraf, lapisan muskularis yang tersusun atas otot memanjang (longitudinal) dan melingkar (sirkuler), dan lapisan serosa yang terdiri dari jaringan ikat longgar, pembuluh darah dan sel adiposa (Junquira & Carneiro, 2007). Pada penelitian yang dilakukan oleh Alif *et al.* (2021) pemberian pakan mengandung ekstrak daun *Rhizophora apiculata* memengaruhi perubahan struktur histologi usus ikan jambal siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) dimana usus ikan mengalami perubahan struktur berupa hemoragi, edema, proliferasi sel goblet, degenerasi vakuola dan nekrosis dengan dosis terbaik 1,5 mg/kg pakan. Berikut histologi usus ikan yang disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Histologi usus ikan

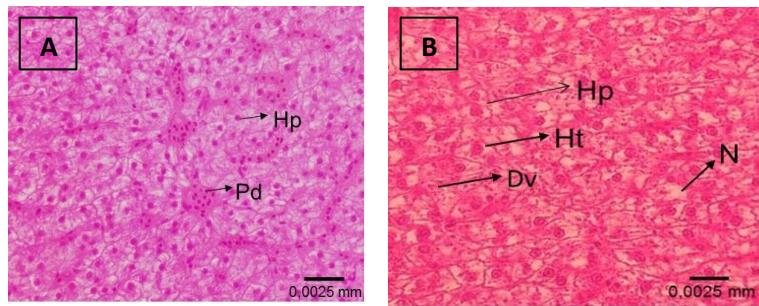
Keterangan: a.) usus normal ikan gabus (*Channa striata*); b.) usus tidak normal ikan jambal siam (*P. hypophthalmus*); S: Serosa; MK: Muskularis; S: serosa SM: submukosa; M: mucosa; MK: muskularis; N: nekrosis; D: degenerasi vakulota; E: edema.

Sumber: Nafis & Masyitha. (2017), Alif *et al.* (2021)

2.9 Histologi Hati Ikan

Ikan memiliki kemampuan untuk mengakumulasi zat beracun yang masuk ke dalam tubuhnya dan berasal dari lingkungan sekitarnya (Aghoghovwia *et al.*, 2016; Izah & Anggaye, 2016). Zat beracun atau zat toksik yang masuk ke dalam tubuh ikan dapat terserap dan beredar melalui pembuluh darah sehingga akan didetoksifikasi oleh hati (Camargo & Martinez, 2007). Zat toksik yang masuk ke dalam tubuh melalui vena hati dan mengalir ke pembuluh kapiler, ketika bahan pencemar atau toksik yang masuk ke hati sudah melewati ambang batas dan terjadi terus menerus, maka hati berpotensi mengalami kerusakan (Firmani, 2021). Organ hati merupakan organ utama dari berbagai jalur metabolisme yang sensitif terhadap perubahan lingkungan dengan indikator pada perubahan bentuk, struktur biokimia, dan fisiologinya (Sianturi *et al.*, 2022). Selain itu, hati merupakan salah satu organ yang dapat digunakan sebagai indikator dalam penelitian toksisitas. Hal ini berkaitan dengan fungsi dari hati dalam melakukan metabolisme terhadap senyawa berbahaya dari luar tubuh (Begum & Mithra, 2015; Anshori & Retnoaji, 2022). Pada struktur histologi hati normal, sel hepatosit terlihat jelas, inti bulat dan letaknya sentralis dan sinusoid tampak jelas dan vena sentralis sebagai pusat lobules tampak berbentuk bulat dan kosong (Riauwaty, 2013; Wahyuni *et al.*, 2020). Pada penelitian yang dilakukan oleh Wahyuni *et al.* (2020) pemberian tepung kunyit pada pakan ikan patin tidak merusak jaringan hati ikan karena kunyit bukan

merupakan bahan toksik. Akan tetapi setelah dilakukan uji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila* terdapat kerusakan seperti hipertrofi sel hepatosit, degenerasi vakuola, dan nekrosis. Berikut histologi hati ikan yang disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Histologi hati ikan patin (*Pangasianodon hypophthalmus*)

Keterangan: Hati Normal (A); Hati Tidak Normal (B); Hepatosit (Hp), Pembuluh Darah (Pd), Hypertrophy (Ht), Degenerasi Vakuola, (Dv), Nekrosis (N)

Sumber: Wahyuni *et al.* (2020)

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada Desember 2023 sampai Februari 2024 selama 60 hari di Laboratorium Budidaya Perikanan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Alat penelitian

No.	Nama alat	Spesifikasi	Fungsi
1.	Pencetak pakan	-	Mencetak pakan.
2.	Mesin penepung pakan	-	Menggiling bahan kasar menjadi tepung halus.
3.	Ayakan	<i>Stainless steel</i> <i>Mesh 60 x 0,14 mm</i>	Mengayak bahan/tepung.
4.	Boks kontainer	70 L, ukuran 61 x 42,5 x 38 cm ³	Wadah pemeliharaan.
5.	Boks kontainer	156 L, ukuran 77 x 59,5 x 47 cm ³	Tandon air.
6.	Timbangan	Crown 20 kg	Menimbang bahan.
7.	Timbangan digital	YAAT 3 kg	
8.	Mikroskop	Leica DM500, Optika Binocular	Mengamati preparat histologi usus dan histologi hati.
9.	Batu aerasi	-	Memperbanyak gelembung udara
10.	Skopnet	Bahan trilin	Mengambil ikan gabus.
11.	Blower	Resun GF-370	Menyuplai udara ke dalam air media pemeliharaan.

Tabel 1. Alat penelitian (Lanjutan)

No.	Nama alat	Spesifikasi	Fungsi
12.	Kertas label	Panda	Menamai wadah pemeliharaan untuk membedakan setiap perlakuan.
13.	DO meter	Lutron DO-5510	Menghitung kadar oksigen dalam air.
14.	Termometer	Lutron DO-5510	Mengukur suhu air.
15.	<i>Colony counter</i>	Funke Gerber	Menghitung total koloni bakteri.
16.	pH meter	PH-009(I)	Mengukur kandungan pH dalam air.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Bahan penelitian

No.	Nama bahan	Spesifikasi	Fungsi
1.	Ikan gabus (<i>Channa striata</i>)	Ukuran 10-12 cm	Hewan uji.
2.	Tandon air	Kapasitas 150 L	Tempat penyimpanan cadangan air.
3.	Tepung ikan	Protein: 59,35%	Sumber protein.
4.	Tepung kedelai	Protein: 45,17%	Sumber lisin asam amino.
5.	Tepung daging	Protein: 39,42%	Sumber asam amino.
6.	Tepung jagung	Protein: 10,68% (Aini <i>et al.</i> , 2016)	Sumber protein sebagai sumber energi.
7.	Tepung singkong	Protein: 0,59% (Kementan, 2021)	Sebagai sumber protein.
8.	Minyak kedelai	3 liter	Sumber asam amino essensial.
9.	Minyak ikan	3 liter	Sumber lemak hewani dan vitamin A.
10.	Dikalsium fosfat	Density 2,33 g/cm ³ (21,5 °C)	Sumber kalsium dan fosfor.
11.	Vitamin mix	Vitamin mix Aquatic	Sumber vitamin dan asam amino tertentu.
12.	Mineral mix	Mineral mix Aquatic	Sumber mineral dan asam amino tertentu.
13.	DL-metionin	DL-Metionin 99%	Sumber asam amino essensial.
14.	L-triptophan	Minimum 98.0%	Sumber asam amino essensial.
15.	L-lysine	-	Sumber asam amino essensial.

Tabel 2. Bahan penelitian (Lanjutan)

No.	Nama bahan	Spesifikasi	Fungsi
16.	<i>Distillers dried grains with solubles</i>	Protein: 39,34%	Sumber protein sebagai sumber energi.
17.	Taurin	99% bubuk taurin	Sumber asam amino.
18	Air	12% / pakan	Media pencampuran bahan pakan.
19.	Probiotik	MinaPro® (<i>Bacillus subtilis & Bacillus megaterium</i>)	Membantu kecernaan nutrisi.
20.	Botol sampel	5 mL	Untuk sampel histologi usus dan histologi hati.
21.	Media <i>Hicrome Bacillus Agar</i> (HBA)	Himedia	Media selektif tumbuh bakteri <i>Bacillus</i> sp..

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 6 perlakuan dan 3 ulangan, adapun perlakuan penelitian ini sebagai berikut:

P1: Pakan dengan komposisi tepung ikan 16%, MBM 34,7%, DDGS 0%, dan taurin 0%

P2: Pakan dengan komposisi MBM 34,7%, DDGS 5%, taurin 0,5%

P3: Pakan dengan komposisi MBM 34,7%, DDGS 5%, taurin 0%

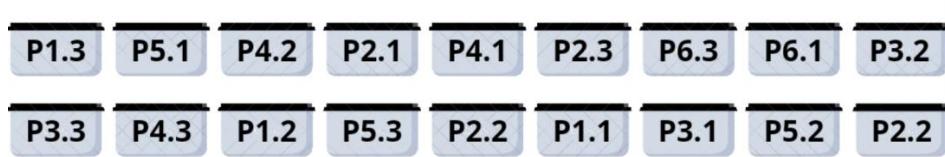
P4: Pakan dengan komposisi MBM 34,7%, DDGS 10%, taurin 0,5%

P5: Pakan dengan komposisi MBM 34,7%, DDGS 15%, taurin 1%

P6: Pakan dengan komposisi MBM 34,7%, DDGS 20%, taurin 1,5%

Pada penlitian ini semua perlakuan di tambahkan probiotik 10 mL/kg pakan.

Berikut tata letak kontainer pemeliharaan ikan gabus (Gambar 5).



Gambar 5. Tata letak wadah pemeliharaan

Keterangan:

- P1.1, P1.2, P1.3: Perlakuan 1 ulangan 1, 2, dan 3
- P2.1, P2.2, P2.3: Perlakuan 2 ulangan 1, 2, dan 3
- P3.1, P3.2, P3.3: Perlakuan 3 ulangan 1, 2, dan 3
- P4.1, P4.2, P4.3: Perlakuan 4 ulangan 1, 2, dan 3
- P5.1, P5.2, P5.3: Perlakuan 5 ulangan 1, 2, dan 3
- P6.1, P6.2, P6.3: Perlakuan 6 ulangan 1, 2, dan 3

3.4 Prosedur penelitian

Prosedur yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi persiapan wadah dan media pemeliharaan, pembuatan pakan, persiapan ikan uji, pemeliharaan ikan, pengecekan kualitas air, dan pengamatan variabel hasil.

3.4.1 Persiapan Wadah dan Media Pemeliharaan

Wadah pemeliharaan yang digunakan adalah kontainer dengan kapasitas 70 L berukuran $61 \times 42,5 \times 38 \text{ cm}^3$ berjumlah 18 buah. Kontainer dibersihkan, lalu dikeringkan, selanjutnya kontainer dipasang *trash bag* secara menyeluruh ke seluruh sisi kontainer. Setelah itu diisi air sebanyak 40 L dan diberi humus sebanyak 0,001 gram/L air, kemudian dilengkapi dengan perangkat aerasi. Setelah 24 jam wadah dan media pemeliharaan sudah dapat digunakan. Selain itu, dipersiapkan juga tandon air menggunakan kontainer 156 L berukuran $77 \times 59,5 \times 47 \text{ cm}^3$ sebanyak 3 buah.

3.4.2 Persiapan Ikan Uji

Ikan uji yang digunakan dalam penelitian ini berupa ikan gabus berukuran panjang rata-rata $10,38 \pm 0,49 \text{ cm}$ dan berat rata-rata $8,50 \pm 1,68 \text{ gram}$. Sebelum dilakukannya penebaran, ikan gabus terlebih dahulu diaklimatisasi selama 15-20 menit di dalam bak penampungan. Ikan gabus yang masih berada di dalam plastik *packing* diletakkan di atas bak penampungan agar suhu air dari plastik homogen dengan air bak penampungan. Setelah aklimatisasi selesai, ikan ditebar ke dalam bak penampungan untuk dilakukan adaptasi selama kurang lebih 2 hari agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan baru. Setelah masa adaptasi selesai, ikan gabus siap ditebar pada masing-masing wadah

pemeliharaan. Penebaran dilakukan pada pagi hari dengan jumlah 15 ekor/40 liter.

3.4.3 Pembuatan Pakan

Beberapa bahan yang digunakan dalam pembuatan pakan yaitu, tepung ikan, tepung kedelai, tepung daging, tepung jagung, tepung singkong, minyak kedelai, minyak ikan, dikalsium fosfat, vitamin *mix*, mineral *mix*, DL-metionin, L-triptophan, L-lysine, DDGS dan taurin. Bahan baku yang telah siap ditimbang sesuai dengan formulasi yang telah ditentukan (Tabel 3). Bahan baku dicampur hingga rata dan selanjutnya dilakukan pencetakan menggunakan mesin pencetak pakan. Pakan yang telah dicetak berbentuk pelet berukuran 3 mm, dijemur hingga kering atau dilakukan pengovenan. Namun sebelum dilakukan pengovenan, pakan disemprot minyak ikan terlebih dahulu. Pakan yang sudah jadi dan siap diberikan ikan, ditambahkan probiotik *Bacillus* sp. dengan cara disemprotkan ke pakan yang diberikan ke ikan uji. Formulasi pakan yang disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Formulasi pakan uji

No.	Bahan	Formulasi pakan (Perlakuan)					
		P1	P2	P3	P4	P5	P6
1.	Tepung Ikan	160	0	0	0	0	0
2.	Tepung Daging & Tulang	190	347	347	347	347	347
3.	Tepung Kedelai	300	350,6	350,6	300	294,5	198,8
4.	Tepung Jagung	101,2	0	0	0	0	0
5.	<i>Distillers dried grains with solubles</i>	0	50,6	50,6	101,2	151,8	202,4
6.	Tepung singkong	150	150	150	150	150	150
7.	Minyak kedelai	40	40	40	40	40	40
8.	Minyak ikan	20	20	20	20	20	20
9.	Dikalsium fosfat	11,4	7,5	12,5	7,5	2,5	0
10.	Taurin	0	5	0	5	10	15
11.	Vitamin <i>mix</i>	10	10	10	10	10	10
12.	Mineral <i>mix</i>	10	10	10	10	10	10
13.	DL-metionin	0	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9
14.	L-cysteine	4,6	3,9	3,9	3,9	3,9	3,9
15.	L-lysine	2,8	4,5	4,5	4,5	4,5	2
Total (gram)		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
DE (kkal/kg)		27,37	27,03	27,03	27,30	27,57	27,85

3.4.4 Pemeliharaan Ikan

Pemeliharaan ikan dilakukan selama 60 hari. Frekuensi pemberian pakan pada hewan uji sebanyak tiga kali sehari pada pukul 08.00, 12.00, dan 16.00 WIB. Pemberian pakan menggunakan metode *restricted* sebanyak 3% dimana pemberian pakan disesuaikan dengan perhitungan kebutuhan pakan berdasarkan bobot tubuh ikan dan diberikan pada pagi, siang, dan sore hari. Selama masa pemeliharaan, kontainer dibersihkan setiap 7 hari guna untuk menjaga kualitas air pemeliharaan dan membuang sisa pakan dan kotoran. Apabila terdapat ikan yang mati diukur bobot tubuhnya.

3.4.5 Pengukuran Kualitas Air

Selama masa pemeliharaan dilakukan pengukuran kualitas air berupa suhu dan oksigen terlarut menggunakan alat DO meter dengan mencelupkan ke dalam wadah pemeliharaan selama kurang lebih 5 menit, amonia menggunakan amonia *kit* dengan mengambil sampel air sebanyak 1 mL dan dicampurkan cairan amonia sebanyak 10 tetes lalu dihomogenkan, dibiarkan selama 2 menit dan disesuaikan warna air dengan kertas amonia kit, dan pH menggunakan pH meter dengan mencelupkan ke dalam wadah pemeliharaan selama kurang lebih 5 menit. Pengukuran kualitas air berupa suhu dan pH dilakukan setiap hari, dan untuk pengukuran DO serta amonia sebanyak 3 kali selama pemeliharaan, yaitu pada awal pemeliharaan, pertengahan dan pada akhir pemeliharaan. Hal ini bertujuan untuk melihat kondisi perubahan kualitas air selama penelitian dilakukan.

3.5 Sampling dan Variabel Penelitian

Pada masa pemeliharaan dilakukan pengamatan data pada awal dan akhir pemeliharaan. Untuk data awal dilakukan sampling awal sebelum ikan ditebar pada wadah pemeliharaan yang diukur berupa panjang awal dan bobot awal tubuhnya sebanyak 4-5 ekor tiap kontainer. Untuk data akhir parameter dilakukan pengukuran panjang akhir dan bobot akhir dengan jumlah yang sama saat sampling awal, selanjutnya dilakukan pengamatan pada efisiensi pakan, rasio konversi pakan, retensi protein, retensi lemak, histologi usus, histologi

hati, dan total bakteri *Bacillus* sp. dalam usus. Berikut merupakan cara perhitungan tiap variabel penelitian.

3.5.1 Efisiensi Pemanfaatan Pakan

Efesiensi pemanfaatan pakan dihitung menurut Djajasewaka (1985); Windarto (2019), dengan persamaan;

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

Keterangan:

EP : Efisiensi pakan (%)

F : Jumlah pakan yang dikonsumsi (g)

W_t : Bobot ikan uji pada akhir penelitian (g)

W_0 : Bobot ikan uji pada awal penelitian (g)

3.5.2 Rasio Konversi Pakan

Rasio konversi pakan dihitung dengan menggunakan persamaan berdasarkan Barani *et al.* (2019):

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

Keterangan:

FCR : Rasio konversi pakan

F : Jumlah pakan yang diberikan (g)

W_t : Bobot rata-rata ikan pada akhir pemeliharaan (g)

W_0 : Bobot rata-rata ikan pada awal pemeliharaan (g)

3.5.3 Retensi Protein

Retensi protein dihitung menggunakan metode menurut Pattipeilohy *et al.* (2020):

$$RP = \frac{JPS_t(g) - JPS_0(g)}{JPB(g)} \times 100$$

Keterangan:

JPS_t : Jumlah protein yang disimpan dalam tubuh ikan pada akhir penelitian (g)

- JPS₀ : Jumlah protein yang disimpan dalam tubuh ikan pada awal penelitian (g)
- JPB : Jumlah protein yang diberikan (g)
- JPS_t : $\frac{\text{kadar protein akhir (\%)} \times \text{bobot tubuh akhir}}{100\%}$
- JPS₀ : $\frac{\text{kadar protein awal (\%)} \times \text{bobot tubuh awal}}{100\%}$
- JPB : $\frac{\text{kadar protein pakan (\%)} \times \text{jumlah yang dikonsumsi}}{100\%}$

3.5.4 Retensi Lemak

Retensi lemak menggunakan metode yang dirumuskan Choo *et al.* (2018) dengan sedikit penyesuaian:

$$RL = \frac{JLS_t (g) - JLS_0 (g)}{JLB (g)} \times 100$$

Keterangan:

- JLS_t : Jumlah lemak yang disimpan dalam tubuh ikan pada akhir penelitian (g)
- JLS₀ : Jumlah lemak yang disimpan dalam tubuh ikan pada awal penelitian (g)
- JLB : Jumlah lemak yang diberikan (g)
- JLS_t : $\frac{\text{kadar lemak akhir (\%)} \times \text{bobot tubuh akhir}}{100\%}$
- JLS₀ : $\frac{\text{kadar lemak awal (\%)} \times \text{bobot tubuh awal}}{100\%}$
- JLB : $\frac{\text{kadar lemak pakan (\%)} \times \text{jumlah yang dikonsumsi}}{100\%}$

3.5.5 Kepadatan Bakteri *Bacillus* sp.

Sampel usus ikan gabus sebanyak 2 ikan/perlakuan digerus, lalu ditimbang untuk mengetahui berat sampel yang kemudian dimasukkan ke dalam tabung 1,5 mL. Selanjutnya sampel dihomogenkan dengan larutan NaCl 0,9% sebanyak 1 mL. Sampel diencerkan dengan pengenceran bertingkat pada 10⁻¹ sampai 10⁻⁴. Tabung reaksi diisi dengan larutan NaCl 0,9 % steril sebanyak 4,5 mL/tabung dan sampel usus dimasukkan sebanyak 0,5 mL pada tabung reaksi pertama sebagai pengenceran 10⁻¹ selanjutnya di *vortex* supaya homogen dan diambil lagi 0,5 ml untuk diencerkan pada tabung reaksi kedua sebagaimana

pengenceran 10^{-2} dan di *vortex* supaya homogen. Selanjutnya dilakukan prosedur yang sama sampai dengan pengenceran 10^{-4} . Dari setiap pengenceran 10^{-2} sampai 10^{-4} diambil 0,5 mL untuk dikultur pada media *HiCrome Bacillus Agar* (HBA) dengan metode *pour plate*. Selanjutnya diinkubasikan pada suhu ruang selama 18-24 jam. Kemudian koloni yang ada dihitung untuk menentukan jumlah total bakteri. Perhitungan jumlah bakteri menggunakan metode TPC (*total plate count*) dengan persamaan berikut (Nurhafid *et al.*, 2021; Listiowati *et al.*, 2022):

$$\text{Total Bakteri} = \Sigma \text{koloni} \times \frac{1}{\text{pengenceran}} \times \frac{1}{\text{volume bakteri (ml)}} \times \frac{1}{\text{berat sampel (g)}} \left(\frac{\text{CFU}}{\text{g}} \right)$$

3.5.6 Histologi Usus dan Histologi Hati

Pengambilan sampel usus dilakukan menggunakan pisau bedah. Ikan uji dipingsankan menggunakan minyak cengkeh sebanyak 3 ekor/ulangan lalu diambil dan diletakkan di atas nampan. Selanjutnya dilakukan pembedahan untuk memisahkan bagian organ tubuh ikan gabus yang terdapat usus dan hati. Sampel usus dan hati ikan gabus diambil dan diawetkan segera menggunakan cairan *buffered neutral formalin* (BNF) 10% yang nantinya akan diserahkan ke Satuan Usaha Akademik *Intergrated Fish Farming* (SUA IFF) kampus IPB untuk dibuat preparat histologi. Pada pembuatan preparate histologi dilakukan beberapa tahapan, yaitu *clearing* dimana proses yang dilakukan dengan cara merendam organ hasil dehidrasi pada larutan *xylol*. Setelah dilakukan proses *clearing*, maka dilakukan infiltrasi, yaitu proses pengisian parafin ke dalam pori-pori jaringan organ. *Embedding (blocking)* merupakan proses penanaman spesimen organ ke dalam parafin yang dicetak menjadi blok-blok parafin dalam wadah khusus berupa *tissue cassette/blok besi*. Setelah parafin menjadi blok-blok, maka selanjutnya spesimen dipotong dengan ketebalan 4-5 μm . Sediaan potongan-potongan jaringan diletakkan pada gelas objek yang telah ditetesi perekat. Kemudian disimpan di dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 56°C untuk melekatkan jaringan pada gelas objek secara sempurna. Preparat yang telah difiksasi pada gelas objek diproses lebih lanjut dan terakhir diwarnai dengan hematoksilin-eosin. Setelah tahap pewarnaan selesai, maka dilakukan perekatan (*mounting*) menggunakan zat perekat permount

dengan *entellan*, kemudian ditutup dengan *cover glass* (Priosoetyanto *et al.*, 2010).

Preparat histologi usus yang telah selesai dikerjakan diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x dan untuk preparat histologi hati diamati dengan perbesaran 400x. Perubahan yang terjadi berupa kerusakan histopatologi usus yaitu edema, nekrosis, hemoragi, *blunt villi*, *fusion villi*, *mild immune cell infiltration in the villus*, *severe immune cells infiltration*, *morphonuclear immune cells*, dan *mononuclear immune cells*, sedangkan untuk perubahan yang terjadi pada histopatologi hati yaitu hemoragi, nekrosis, infiltrasi leukosit, degenerasi lemak, degenerasi hidropik, kongesti, dan piknosis pada setiap perlakuan dilakukan analisis secara deskriptif.

3.6 Analisis Data

Data kuantitatif yang didapatkan dari hasil penelitian seperti rasio konversi pakan, efisiensi pakan, retensi protein, dan retensi lemak dianalisis menggunakan sidik ragam (Anova). Apabila hasil analisis terdapat perbedaan nyata maka dilakukan uji lanjut Duncan pada tingkat kepercayaan 95%, sedangkan untuk data kualitatif seperti proksimat pakan uji, histologi usus, histologi hati, dan *total plate count* dianalisis secara deskriptif yang disajikan dalam bentuk gambar dan tabel.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penambahan DDGS dan taurin dengan dosis yang berbeda pada pakan berbasis MBM yang ditambahkan probiotik *Bacillus sp.* dengan masa pemeliharaan selama 60 hari memberikan hasil yang relatif sama pada nilai efisiensi pakan, retensi protein, retensi lemak, serta tingkat konversi pakan pada ikan gabus.

5.2 Saran

Penambahan DDGS dan taurin dengan dosis yang berbeda pada pakan berbasis MBM yang ditambahkan probiotik *Bacillus sp.* diharapkan dapat diaplikasikan pada budi daya ikan gabus dengan ukuran panjang rata-rata $10,38 \pm 0,49$ cm dan berat rata-rata $8,50 \pm 1,68$ gram.

DAFTAR PUSTAKA

- Abareethan, M., & Amsath, A. 2015. Characterization and evaluation of probiotic fish feed. *International Journal of Pure and Applied Zoology*, 3(2): 148-153.
- Aghoghovwia, O. A., Ohimain, E. I., & Izah, S. C. 2016. Bioaccumulation of heavy metals in different tissues of some commercially important fish species from Warri River, Niger Delta, Nigeria. *Biotechnological Research*, 2(1): 25-32.
- Agustin, R., & Sasanti, A. D. 2014. Konversi pakan, laju pertumbuhan, kelangsungan hidup dan populasi bakteri benih ikan gabus (*Channa striata*) yang diberi pakan dengan penambahan probiotik. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 2(1): 55-66.
- Akbar, J. 2022. *Ikan Gabus: Teknologi, Manajemen dan Budi Daya*. PT. Pena Persada Kerta Utama. 167 hlm.
- Alif, A., Syawal, H., & Riauwaty, M. 2021. Histopatologi hati dan usus ikan jambal siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) yang diberi pakan mengandung ekstrak daun *Rhizophora apiculata*. *Jurnal Ilmu Perairan (Aquatic Science)*, 9(2): 152-161.
- Anshori, K., & Retnoaji, B. 2022. Pengaruh bahan aktif insektisida *chlorpyrifos* terhadap struktur histologis hati larva ikan wader pari (*Rasbora lateristrigata* Bleeker, 1854). *Berita Biologi*, 20(3): 51-59.
- Atmoko, T., & Amir, M. 2009. Toxicity testing and phytochemical screening of orangutan food extracts to larvae of *Artemia salina* L. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*, 6(1): 37- 45.
- Barani, K. H., Dahmardeh, H., Miri, M., & Rigi, M. 2019. The effects of feeding rates on growth performance, feed conversion efficiency and body composition of juvenile snow trout, *Schizothorax zarudnyi*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 18(3): 507–516.
- Begum, B.H., & Mithra, D., 2015. Effects of an organophosphate pesticide, malathion (50 % e.c) on the liver of air breathing fish, *Heteropneustes fossilis*. *International Research Journal of Environment Science*, 4(9): 21-24.
- Caballero, M. J., Izquierdo, M. S., Kjørsvik, E, Montero, D., Socorro, J, Fernández A. J., Rosenlund, G. 2003. Morphological aspects of intestinal cells from gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed diets containing different lipid sources. *Aquaculture* 225:325-340.

- Camargo, M. M., & Martinez, C. B. 2007. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. *Neotropical Ichthyology*, 5: 327-336.
- Cheng, Z. J., Hardy, R.W., & Blair, M. 2015. Effects of supplementing methionine hydroxy analogue in soybean meal and distiller's dried grain based diets on the performance and nutrient retention of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)). *Aquaculture Research*, 34(14): 1303-1310.
- Choo, P. Y., Azlan, A., & Khoo, H. E. 2018. Cooking methods affect total fatty acid composition and retention of DHA and EPA in selected fish fillets. *Science Asia*, 44(2): 92–101.
- Davis D. A., Saoud I. P., McGraw W. J., & Rouse D. B. 2002. Considerations for *Litopenaeus vannamei* reared in inland low salinity waters. *Avances en nutrición acuícola VI*, 2: 73-90.
- Diogenes, A. F., Basto, A., Estev~ao-Rodrigues, T. T., Moutinho, S., Aires, T., Oliva Teles, A., Peres, H. 2019. Soybean meal replacement by corn distillers dried grains with solubles (DDGS) and exogenous non-starch polysaccharidases supplementation in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Aquaculture*, 500: 435-442.
- Djajasewaka. 1985. *Pakan Ikan (Makanan Alami)*. Yasaguna. Jakarta. 47 hlm.
- Djamil, M. Z. A., Utari, H. B., & Rukmono, D. 2021. Efektivitas *Bacillus* spp. dalam penurunan off-flavours pada budidaya ikan patin (*Pangasius* sp.). *Journal of Fisheries and Marine Research*, 5(2): 481-498.
- Fishbase. 2024. *Channa striata* (Bloch, 1983): Stripped Snakehead <https://www.fishbase.se/summary/Channa-striata>. Diakses pada 20 September 2024.
- Firmani, U. 2021. Histologi hati ikan bandeng dari tambak tradisional di Kecamatan Ujung Pangkah, Gresik. *Jurnal Perikanan Pantura*, 4(1): 50-58.
- Giri, N. A., Marzuqi, M., Rusdi, I., & Andriyanto, W. 2016. Formulasi pakan buatan dengan bahan baku rumput laut untuk pertumbuhan abalon, *Haemiotis squamata*. *Jurnal Riset Akuakultur*, 11(1): 75-83.
- Gümüş, E. 2020. Use of corn distiller's dried grains with solubles as a feed ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) feeds: Growth, digestibility, liver and intestine histology. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 19(5): 2573-2592.
- Haris, H. 2019. *Teknologi dan Manajemen Pakan*. CV. Amanah. Palembang. 147 hlm.

- Hariyadi, B. A., Haryono., & Susilo, U. 2005. Evaluasi efisiensi pakan dan efisiensi protein pada ikan karper (*Ctenopharyngodon Idella*) yang diberi pakan dengan kadar karbohidrat dan energI yang berbeda. *Jurnal Perikanan*, 21(5): 34-67.
- Herlima, S. 2016. Pengaruh pemberian jenis pakan yang berbeda terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan gabus (*Channa striata*). *Jurnal Ilmu Hewan Tropika*, 5(2) 56-75.
- Hidayatulla, S., Muslim., & Taqwa, H. F. 2015. Pendederan larva ikan gabus (*Channa striata*) di kolam terpal dengan padat tebar berbeda. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 1(8): 61-70.
- Hongmanee, P., Wongmaneprateep, S., Boonyoung, S., & Yuangsoi, B. 2022. The optimal dietary taurine supplementation in zero fish meal diet of juvenile snakehead fish (*Channa striata*). *Aquaculture*, 553: 2-7.
- Hossain, M. A., & Furuichi, M. 2000. Necessity of calcium supplement to the diet of Japanese flounder. *Fisheries science*, 66(4): 660-664.
- Huxtable, R. J. 1992. Physiological actions of taurine. *Physiological reviews*, 72(1): 101-163.
- Ikpegbu, E., Nlebedum, U. C., & Ibe, C. S. 2014. The histology and mucin histochemistry of the farmed juvenile african catfish digestive tract (*Clarias gariepinus* B). *Studia Universitatis" Vasile Goldis" Arad. Seria Stiintele Vietii (Life Sciences Series)*, 24(1): 125.
- Ita, I. 2022. *Pengaruh Substitusi Pakan Segar Dengan Pakan Buatan Terhadap Retensi Nutrisi Pada Ikan Gabus (Channa striata)*. (Disertasi). Universitas Hasanuddin. Makassar. 33 hlm.
- Izah, S. C., & Angaye, T. C. 2016. Heavy metal concentration in fishes from surface water in Nigeria: Potential sources of pollutants and mitigation measures. *Sky Journal of Biochemistry Research*, 5(4): 31-47.
- Jamal, B. F., Umar, N. A., & Budi, S. 2022. Analisis kandungan albumin ikan gabus (*Channa Striata*) pada habitat sungai dan rawa di Kabupaten Marowali. *Jurnal of Aquaculture and Enviroment*, 5(1):14-20.
- Juanda, S.J. & Edo, S.I. 2021. Histopatologi organ usus ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diambil dari pembudidaya ikan di Kota Kupang, Nusa Tenggara Timur, *Jurnal Vokasi Ilmu Perikanan*, 1(2): 20-24.
- Juanda, S. J., & Sri, I. E. 2018. Histopatologi insang, hati dan usus ikan lele (*Clarias gariepinus*) di Kota Kupang, Nusa Tenggara Timur. *Jurnal Saintek Perikanan*, 14(1): 23-29.

- Junqueira, L. & Carneiro, J. 2007. *Histologi Dasar Teks dan Atlas*. Edisi 10. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 463 hlm.
- Kaligis, E. 2015. Respons pertumbuhan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di media bersalinitas rendah dengan pemberian pakan protein dan kalsium berbeda. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 7(1): 225-234.
- Kordi, M. G. 2010. *Panduan Lengkap Memelihara Ikan Tawar di Kolam Terpal*. Andi Publisher. Yogyakarta. 89 hlm.
- Kottelat, A., Whitten, A. J., Kartikasari, S. N., & Wiryoatmodjo, S. 1993. *Fresh Water Fishes of Western Indonesia and Sulawesi*. Periplus Edition. Jakarta. 83 hlm.
- Kusmini, I. I., Gustiano, R., Prakoso, V. A., & Ath-thar, M. F. 2016. *Budidaya Ikan Gabus*. Penebar Swadaya Grup. Bogor. 76 hlm.
- Lall, S. P. 2022. *The Minerals. In Fish Nutrition*. Academic Press. 469-554
- Lestari, P. K., Cinnawara, H. T., Patahiruddin, P., & Muchlis, A. M. R. 2023. Pengaruh pemberian pakan berbeda terhadap pertumbuhan mutlak dan kandungan nutrisi ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Eucheuma Journal of Aquaculture*, 1(1): 1-8.
- Lestari, S., Sari, S. R., Sianturi, I. T., & Rizki, R. 2022. Efektivitas metode pemberian probiotik terhadap pertumbuhan ikan gabus (*Channa striata*). *Jurnal Lemuru*, 4(3): 166-172.
- Listiowati, E., Syakuri, H., Ekasanti, A., Nugrayani, D., Wisudyanti, D., & Oktavia, R. 2023. Kelimpahan bakteri saluran pencernaan ikan nilam (*Osteochilus vittatus*) yang diberi pakan dengan suplementasi garam (NaCl). *Jurnal Perikanan Pantura*, 6(2): 373-381.
- Listyanto, N., & Andriyanto, S. 2009. Ikan gabus (*Channa striata*) manfaat pengembangan dan alternatif teknik budayanya. *Media akuakultur*, 4(1): 18-25.
- Liu, H. Y., Chi, F. L., & Gao, W. Y. 2008. Taurine modulates calcium influx under normal and ototoxic conditions in isolated cochlear spiral ganglion neurons. *Pharmacological Reports*, 60(4): 508.
- Lubec, B., Ya-Hua, Z., Pertti, S., Pentti, T., Kitzmüller, E., & Lubec, G. 1997. Distribution and disappearance of the radiolabeled carbon derived from L-arginine and taurine in the mouse. *Life sciences*, 60(26): 2373-2381.

- Magalhães, R., Martins, N., Martins, S., Lopes, T., Diáz-Rosales, P., Pousão Ferreira, P., Olivia-Teles, A., & Peres, H. 2019. Is dietary taurine required for white seabream (*Diplodus sargus*) juveniles. *Aquaculture*, 502: 296-302.
- BPBAT Mandiangin. 2014. Naskah Akademik Ikan Gabus Haruan (*Channa striata*, Bloch 1793) Hasil Domestikasi. Kementerian Kelautan Perikanan. Jambi. 12 hlm.
- Manik, R. R. D. S., & Arleston, J. 2021. *Nutrisi dan Pakan Ikan*. CV. Widina Bhakti Persada Bandung. Bandung. 108 hlm.
- Muslim, M. 2017. *Budidaya Ikan Gabus (Channa striata)*. Unsri Press. Palembang. 165 hlm.
- Nabilla, M., Fatiqin, A., & Makri. 2021. Analisis isi lambung ikan gabus (*Channa striata*) dan ikan baung (*Mystus nemurus*) di BRPPUPP Palembang. Dalam Muarie. M. S., Harfian. B. B. A. A., & Falahudin. I (Eds). *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Terapan*. UIN Raden Fatah Palembang. Hlm: 167-176.
- Nafis, M., & Masyitha, D. 2017. Gambaran histologi saluran pencernaan ikan gabus (*Channa striata*). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*, 1(2): 196-202.
- Nanda, R., & Abdullah, M. 2021. Kondisi histopatologi usus dan lambung ikan gabus (*Channa striata*) yang terinfeksi endoparasit. *Jurnal Kelautan dan Perikanan Indonesia*, 1(2): 60-74.
- Novriadi, R., Suwendi, E., & Tan, R. (2022). The use of corn distiller's dried grains with solubles as a protein source in practical diets for Pacific white leg shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Reports*, 25: 101209.
- Nurhafid, M., Syakuri, H., Oedijono, O., Listiowati, E., Ekasanti, A., Nugrayani, D., & Pramono, H. 2021. Isolasi dan identifikasi molekuler bakteri proteolitik dari saluran pencernaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dibudidayakan di Kabupaten Banyumas. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*, 23(2): 95-105.
- Palinggi, N., Rachmansyah, & Usman. 2002. Pengaruh pemberian sumber lemak berbeda dalam pakan terhadap pertumbuhan ikan kuwe, *Caranx sexfasciatus*. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. 8 :25-29.
- Pattipeilohy, C. E., Suprayudi, M. A., Setiawati, M., & Ekasari, J. 2020. Evaluation of protein sparing effect in nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed with organic selenium supplemented diet. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 19(1): 84-94.

- Prasetyo, E., Raharjo, E. I., & Hendy. 2019. Pengaruh pemberian jenis cacing yang berbeda terhadap pertumbuhan benih ikan gabus (*Channa striata*). *Jurnal Borneo Akuatik*, 1(1):25-32.
- Pratama, R. H., Tarsim, T., & Yudha, I. G. 2019. Efektifitas penambahan asam amino pada pakan untuk pertumbuhan ikan sidat (*Anguilla bicolor*) (McCelland, 1844). *E-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*, 7(2): 835-843.
- Prateja, A., Yanto, H., & Prasetio, E. 2023. Pertumbuhan dan kelangsungan hidup benih ikan gabus (*Channa striata*) dengan kepadatan yang berbeda pada budidaya ikan sistem aquaponik dalam ember. *Borneo Akuatika*, 5(1): 40-51.
- Pratiwi, H. C & Manan, A. 2015. Teknik dasar histologi pada ikan gurami (*Osteophorus gouramy*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 7(2): 153-157.
- Priosoetyanto, B. P., Ersa, I. M., Tiuria, R., & Handayani, S. U. 2010. Gambaran histopatologi insang, usus dan otot ikan mujair (*Oreochromis mossambicus*) yang berasal dari daerah Ciampela, Bogor. *Journal of Veterinary Science and Medicine*, 2(1): 1-8.
- Putri, A. J., Lumbessy, S. Y., & Lestari, D. P. 2021. Substitusi tepung rumput laut *Eucheuma striatum* pada pakan ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 9(2): 333-345.
- Rahmadani, S., Dewi. N. S., & Dewi. P. L. 2020. Pengaruh substitusi tepung daun singkong (*Manihot utilisima*) yang difermentasi menggunakan *Rhizopus* sp. pada pakan terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup benih ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Perikanan*, 10(1): 70-76.
- Raji, A. R., & Norouzi, E. 2010. Histological and histochemical study on the alimentary canal in walking catfish (*Claris batrachus*) and piranha (*Serrasalmus nattereri*). *Iranian Journal of Veterinary Research*, 11(3): 255-261.
- Rajikkannu, M., Natarajan, N., Santhanam, P., Deivasigamani, B., Ilamathi, J. & Janani, S. 2015. Effect of probiotics on the haematological parameters of Indian major carp (*Labeo rohita*). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 2(5): 105-109.
- Rašković, B., Stanković, M., Dulić, Z., Marković, Lakić, N., Poleksić, V. 2009 Effects of different source and level of protein in feed mixtures on liver and intestine histology of the common carp (*Cyprinus carpio*, Linnaeus, 1758). *Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology*, 153A: S112- S112.

- Ray, G.W., Li, X., He, S., Lin, H., Yang, Q., & Tan, B. 2022. A review on the use of distillers dried grains with solubles (DDGS) in aquaculture feeds. *Annals of Animal Science*, 22(1): 21- 42.
- Riauwaty, M. 2013. Histopathology of liver and kidney of *Pangasius hypophthalmus* infected with *Aeromonas hydrophila* and are cured using *Curcuma xanthorrhiza* Roxb Extract. *Repository Unri*, 2(1): 1-10.
- Rowe, R. C. S., Paul, J., & Quinn, M. E. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. American Pharmacists Association. Chicago. 945 hlm.
- Rusdani, M. M., Waspodo, S. A. 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.
- Safir, M., Armansyah, M., Hasanah, N., & Mangitung, S. F. 2023. Pertumbuhan, dan rasio konversi pakan ikan *Pangasius hypophthalmus*; sauvage, 1878 diberi pakan terfermentasi dengan probiotik dosis berbeda. *Journal of Fishery Science and Innovation*, 7(1): 28-34.
- Sahagún, A. M., Vaquera, J., García, J. J., Calle, Á. P., Diez, M. J., Fernández, N., & Sierra, M. 2015. Study of the protective effect on intestinal mucosa of the hydrosoluble fiber *Plantago ovata* husk. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(2): 1-8.
- Sampath, W. W. H. A., Rathnayake, R. M. D. S., Yang, M., Zhang, W., & Mai, K. 2020. Roles of dietary taurine in fish nutrition. *Marine Life Science & Technology*, 2(4): 360-375.
- Santika, L., Diniarti, N., & Astriana, B. H. 2021. Pengaruh penambahan ekstrak kunyit pada pakan buatan terhadap pertumbuhan dan efisiensi pemakanan pakan ikan kakap putih (*Lates calcarifer*). *Jurnal Kelautan: Indonesian Journal of Marine Science and Technology*, 14(1): 48-57.
- Saputra, M. A. 2020. *Pengaruh Pemberian Pakan Alami Cacing Sutra (Tubifex sp.) dan Pakan Pabrikan terhadap Pertumbuhan Ikan Gabus (Channa striata)*. (Skripsi). Universitas Pancasakti. Tegal. 81 hlm.
- Sari, W. Oktavia, W. I., Ceriaman, R., & Sunarti. 2023. Struktur mikroskopis hati ikan seurukan (*Osteochilus vittatus*) dari Sungai Krueng Sabee Kabupaten Aceh Jaya yang tercemar limbah penggilingan bijih emas. *Jurnal Bioti*, 4(1): 33-40.
- Sharf, Y., & Khan, M. A. 2022. Dietary threonine requirement of fingerling *Channa punctatus* (Bloch) based on growth, feed conversion, protein retention efficiency, hematological parameters, and biochemical composition. *Aquaculture*, 560(7): 73-85.

- Shasia, M., Eddiwan., & Putra, R. M. 2021. Hubungan panjang-berat dan faktor kondisi ikan gabus (*Channa striata*) di Danau Teluk Petai Provinsi Riau. *Jurnal Sumberdaya dan Lingkungan Akuatik*, 2(1): 241-250.
- Shi, Y., Zhong, L., Zhong, H., Zhang, J., Che, C., Fu, G., & Mai, K. 2022. Taurine supplements in high-fat diets improve survival of juvenile *Monopterus albus* by reducing lipid deposition and intestinal damage. *Aquaculture*, 547(2): 1-13.
- Shiau, S. Y., Chuang, J. L., & Sun, C. L., 1987. Inclusion of soybean meal in tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) diets at two protein levels. *Aquaculture*, 65(3-4): 251–261.
- Sianturi, I. T., Kamlasi, Y., Panuntun, M. F., & Oktovianto, H. A. 2022. Histopatologi organ insang dan hati benih ikan mas (*Cyprinus carpio*) hasil pemberian pembudidaya di Batuplat, Kota Kupang, Nusa Tenggara Timur. Dalam Juanda S. S (Ed). *Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian*. Hlm: 77-84.
- Sipayung, M. R., Komariyah, S., & Putriningtias, A. 2023. Pengaruh probiotik plus herbal terhadap retensi protein dan retensi lemak benih ikan tawes (*Barbomyrus Gonionotus*). *COMSERVA: Jurnal Penelitian dan Pengabdian Masyarakat*, 2(12): 3139-3153.
- Sukmalaely, A., Fauzan, R. A., & Firdaus, R. 2023. Efektivitas kombinasi penggunaan daun talas dan tepung ikan ruah substitusi dalam formulasi pakan ikan nila. *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat Patikala*, 2(4): 764-772.
- Supati, M. M. W., Limbessy, S. Y., & Lestari, D. P. 2021. Pemanfaatan ekstrak ubi jalar ungu (*Ipoema batatas* L) sebagai sumber prebiotik pakan komersil pada ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Journal of Fish Nutrition*, 1(1): 70-80.
- Wahyuni, S., Riauwaty, M., & Windarti, W. 2020. Histopatologi hati ikan patin yang diberi pakan mengandung tepung kunyit. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 8(2): 205-211.
- Widyasti, S., Widiaستuti, E. L., Kanedi, M. K. M., & Rivai, I. F. 2013. Pemberian senyawa taurin pada pakan alami dan pakan komersil terhadap tingkat pertumbuhan juvenile ikan gurami (*Osprhonemus gouramy*). Dalam Kanedi. M (Ed). *Prosiding Seminar dan Rapat Tahunan 2013*. Hlm: 315-320.
- Wilson, R. P., & Poe, W. E. 1985. Effects of feeding soybean meal with varying trypsin inhibitor activities on growth of fingerling channel catfish. *Aquaculture*, 46 (1): 19-25.

- Windarto, S., Sri, H., Subandiyono, & Ristiawan, A. N. 2019. Performa pertumbuhan ikan kakap putih (*Lates calcarifer* bloch, 1790) yang dibudidayakan dalam sistem keramba jaring apung (KJA). *Jurnal Sains Akuakultur Tropis*, 3(1): 56- 60.
- Wiradana, M. S., Almadi, I. F., & Sukarti, K. 2024. Tingkat retensi protein dan retensi lemak yang berbeda terhadap pertumbuhan ikan betutu (*Oxyeleotris marmorata*). *Jurnal Akuakultur Sungai dan Danau*, 9(1): 113-121.
- Yan, F. 2019. *Nutrient Content of Corn DDGS and Evaluation of Biological Pendency of Broilers*. (Disertation). Northwest Agriculture and Forestry University of Science and Technology. 31 hlm.
- Yanuar, V. 2017. Pengaruh pemberian jenis pakan yang berbeda terhadap laju pertumbuhan benih ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dan kualitas air di akuarium pemeliharaan. *Ziraa'ah Majalah Ilmiah Pertanian*, 42(2): 91-99.
- Yildirim, Z., Kilic, N., Ozer, C., Babul, A., Take, G., & Erdogan, D. 2007. Effects of taurine in cellular responses to oxidative stress in young and middle-aged rat liver. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1100(1): 553-561.
- Zainuddin. 2001. *Pengaruh Pemberian Mineral Fosfor dalam Pakan Terhadap Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Juvenil Udang Windu (Penaeus monodon)*. (Tesis). Universitas Hasanuddin. Makassar. 9 hlm.
- Zainuddin. 2004. *Pengaruh Kalsium fosfor dengan Rasio Berbeda Terhadap Pertumbuhan dan Efisiensi Pakan Udang Windu (Penaeus Monodon Fabr.)*. (Desirtasi). Universitas Hasanuddin. Makassar. 12 hlm.
- Zainuddin. 2010. Pengaruh kalsium dan fosfor terhadap pertumbuhan, efisiensi pakan, kandungan mineral dan komposisi tubuh juvenil ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 2(2): 1-9.
- Zhang, J., Hu, Y., Ai, Q., Mao, P., Tian, Q., Zhong, L., Xiao, T., Chu, W. 2018. Effect of dietary taurine supplementation on growth performance, digestive enzyme activities and antioxidant status of juvenile black carp (*Mylopharyngodon piceus*) fed with low fish meal diet. *Aquacult Res*, 49 (2): 3187-3195.
- Zhang, J., Che, C., Cai, M., & Hu, Y. 2022. Taurine improves health of juvenile rice field eel (*Monopterus albus*) fed with oxidized fish oil: Involvement of lipid metabolism, antioxidant capacity, inflammatory response. *Aquaculture Reports*, 27(1): 138-147.

- Zhu, Z., Kou, S., Zhang, X., Lin, Y., Chi, S., Yang, Q., & Tan, B. 2022. Evaluation of corn distillers dried grains with solubles (DDGS) replacement for fish-meal in the diet for juvenile hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂). *Aquaculture Reports*, 25(4): 101-114.
- Zulfahmi, I., & Humairani, R. 2019. Kondisi biometrik dan histologi usus ikan bandeng (*Chanos chanos* Forskall., 1755) yang diberi pakan berkomposisi tepung bungkil sawit. Dalam Zulfahmi, I., & Humairani, R (Eds). *Prosiding Seminar Nasional Biotik*. Hlm: 607-613.