

**PERAN SUBSTRAT, PAKAN DAN PROBIOTIK TERHADAP
PERTUMBUHAN DAN SINTASAN BENIH TERIPANG PASIR
(*Holothuria scabra* Jaeger 1833)**

Sari Budi Moria Sembiring

20/468028/SBI/00180

Program Studi Ilmu Biologi, Program Doktor
Program Pascasarjana, Fakultas Biologi
Universitas Gadjah Mada

INTISARI

Teripang pasir adalah salah satu kelompok Echinodermata yang merupakan sumber daya hayati laut bernilai ekonomis penting. Saat ini, kebutuhan dalam negeri dan pasar ekspor masih mengandalkan pada hasil tangkapan dari alam. Penangkapan yang tidak terkendali dan tidak selektif, tanpa memperhatikan ukuran yang boleh ditangkap menyebabkan populasi teripang di alam terancam punah. Pembenihan dan budidaya teripang merupakan solusi dalam menjaga kesinambungan populasi teripang di alam. Pembenihan teripang sudah berhasil, namun pertumbuhan dan sintasan benih dari ukuran 2-3 g sampai benih ukuran 7-8 g masih rendah yaitu sekitar 30-40%. Faktor yang mendukung sintasan dan pertumbuhan benih teripang pasir adalah penggunaan substrat, ketersediaan pakan buatan dan penambahan probiotik untuk meningkatkan pencernaan serta ketahanan tubuh. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memahami peran substrat, pakan buatan dengan sumber protein hewani dan penambahan probiotik dalam pakan terhadap pertumbuhan dan sintasan benih teripang pasir, oleh karena itu dirancang tiga tahap penelitian. Tahap pertama peran substrat dengan menggunakan pasir pantai yang berbeda ukuran butir: 125-200 μm , 225-300 μm dan 325-400 μm sebagai perlakuan. Benih teripang pasir ukuran $2,90 \pm 0,01$ cm; $2,22 \pm 0,43$ g digunakan sebagai hewan uji yang dipelihara dalam bak plastik bervolume 100 L (59 cm x 47 cm x 37 cm³) sebanyak 12 buah selama 90 hari. Pertumbuhan panjang-berat, sintasan, prosentase pasir dalam feses dan saluran pencernaan, kualitas air dan substrat pasir, aktivitas enzim serta profil intestinum diamati pada penelitian tahap ini.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ukuran butiran pasir yang kecil memberikan laju pertumbuhan tertinggi dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya ($P=0,005$). Demikian juga tingkat sintasan berbeda nyata antara perlakuan D terhadap perlakuan A, B dan C ($P=0,002$). Aktivitas enzim dan ukuran villi pada perlakuan A memberikan hasil yang terbaik dan berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan lainnya ($P=0,000$). Oleh karena itu, ukuran butiran pasir yang sesuai untuk pemeliharaan benih teripang pasir berkisar antara 125 hingga 200 μm dan secara biologis mendukung aktivitas enzim, ukuran villi yang lebih panjang sehingga penyerapan nutriennya lebih baik. Penelitian Tahap II adalah pemberian pakan buatan dengan sumber protein hewani berupa tepung ikan. Untuk membuat pakan dengan kandungan protein 10, 20 dan 30% sebagai perlakuan dibutuhkan beberapa bahan lainnya meliputi: tepung *ulva*, tepung kedelai, tepung klekap, tepung beras, minyak ikan, vitamin mix, mineral mix, filler dan CMC. Ujicoba pemberian pakan dilakukan pada benih teripang pasir ukuran $2,82 \pm 0,01$ cm; $2,70 \pm 0,02$ g menggunakan bak plastik bervolume 100 L (59 cm x 47 cm x 37 cm³) selama 120 hari pemeliharaan. Dasar bak pemeliharaan dilapisi substrat pasir yang mengacu pada hasil terbaik pada Tahap I, yaitu substrat pasir dengan kisaran ukuran 125-200 μm setinggi 3 cm untuk semua perlakuan. Pakan diberikan dengan dosis 2% berdasarkan biomasa dengan frekuensi pemberian sebanyak satu kali sehari, yaitu pada pukul 14.00 WITA. Kandungan nutrisi dan daya tahan pakan dalam air, aktivitas enzim, pencernaan pakan, pertumbuhan panjang dan berat, sintasan, efisiensi pakan, kualitas air dan substrat pasir serta komposisi kimiawi daging benih diamati pada penelitian tahap ini. Kandungan nutrisi pakan dan stabilitas pakan dalam air pada perlakuan kandungan protein 10%, 20% dan 30% tidak berbeda nyata ($P=0,071$). Hasil studi aktivitas protease dan amilase terlihat mulai pada hari ke-10, sedangkan aktivitas lipase terlihat pada hari ke-15 setelah pemberian pakan penelitian. Selanjutnya benih teripang pasir yang diberi pakan dengan kandungan protein 20% memiliki bobot akhir ($5,10 \pm 0,02$ g), laju pertumbuhan spesifik ($0,53 \pm 0,01\%$ /hari) dan efisiensi pakan ($62,48 \pm 0,13$) yang tertinggi dan berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan lainnya ($P=0,000$). Pemberian pakan dengan kandungan protein yang berbeda tidak berpengaruh terhadap sintasan ($P=0,313$) dengan nilai berkisar antara 95,00-95,83%. Kandungan total asam amino benih teripang pasir pada perlakuan B paling tinggi (6,62%), diikuti oleh perlakuan C (6,27%) dan perlakuan A (4,75%). Demikian juga dengan kandungan asam lemak tertinggi juga terdapat pada perlakuan B (0,5540%) diikuti dengan perlakuan A dan C masing-masing sebesar 0,526% dan 0,442%. Pakan percobaan dengan kandungan protein hewani 20% dapat memberikan efisiensi pakan, pencernaan, pertumbuhan dan kandungan nutrisi benih yang terbaik. Penelitian Tahap III adalah aplikasi probiotik dalam pakan percobaan dengan perlakuan: tanpa penambahan probiotik (kontrol); probiotik *endogenous* (kombinasi antara *G. proteobacterium* strain M-4, *B. subtilis* strain Q-1 dan *Bacillus* sp. strain E-2) dan probiotik komersial dengan kandungan *Bacillus* sp (*B. subtilis*, *B. licheniformis* dan *B. pumilus*). Benih teripang pasir

ukuran $2,65 \pm 0,13$ cm; $2,72 \pm 0,16$ g dipelihara di dalam bak plastik berukuran 59 cm x 47 cm x 37 cm³ yang telah diberi substrat pasir dengan kisaran ukuran butir 125-200 μ m sesuai hasil terbaik pada penelitian tahap I. Probiotik dicampur dalam pakan percobaan dengan kandungan protein hewani 20% mengikuti hasil terbaik pada penelitian tahap II. Penelitian berlangsung selama 120 hari pemeliharaan dan parameter yang diamati adalah: sintasan, panjang dan berat, aktivitas enzim dan profil histologi intestinum. Pada akhir penelitian dilakukan ujiantang dengan menginjeksikan 10^8 CFU/mL *Vibrio azureus* strain 4C-1 sebanyak 0,1 mL/ind. Ujiantang dilakukan dalam wadah plastik 12 L dengan menggunakan 8 ekor benih dari masing-masing wadah penelitian probiotik dan dilakukan selama 96 jam (4 hari). Selama ujiantang, benih diberi makan setiap hari dan diamati jumlah kematian setiap 24 jam. Bersamaan dengan itu, dari masing-masing wadah diambil coelomyt dari 3 individu dengan menggunakan spuit 1 mL yang telah diberi antikoagulan. Respon imunitas yang diamati adalah: total coelomyt, ekspresi gen (*superoxide dismutase*; *catalase* dan *lisozim*) dengan menggunakan *Quantitative real-time* PCR. Tingkat sintasan benih tidak berbeda nyata antar perlakuan ($P=0,270$). Laju pertumbuhan spesifik benih teripang pasir yang diberi pakan B berbeda nyata dengan perlakuan A ($P=0,003$), dengan bobot akhir lebih tinggi dibandingkan perlakuan A dan C ($P=0,015$). Demikian juga aktivitas protease, lipase, dan amilase pada perlakuan B lebih tinggi dibandingkan perlakuan C dan A ($P=0,000$; $P=0,007$; $P=0,004$). Demikian juga panjang villi pada perlakuan A berbeda dengan perlakuan lainnya ($P=0,000$). Total coelomyt, ekspresi relatif gen SOD, CAT, dan LZM benih teripang pasir setelah diujiantang dengan *V. azureus* lebih tinggi pada perlakuan B dibandingkan perlakuan C dan A ($P=0,000$; $P=0,0041$; $P=0,004$; $P=0,003$). Penambahan probiotik *endogenous* dalam pakan percobaan memberikan respon terbaik yaitu meningkatkan pertumbuhan, dan aktivitas enzim pencernaan serta merangsang respon imun non-spesifik. Berdasarkan hasil tahapan penelitian, dapat diambil kesimpulan bahwa untuk meningkatkan pertumbuhan dan sintasan dalam pemeliharaan benih teripang pasir ukuran 2-3 g diperlukan substrat pasir dengan kisaran ukuran butiran 125-200 μ m, pakan dengan kandungan protein hewani 20% serta aplikasi probiotik *endogenous*.

Kata kunci: benih teripang pasir, pertumbuhan, probiotik, respon imunitas, sintasan, tingkat protein, ukuran butir pasir

**THE ROLE OF SUBSTRATE, FEED, AND PROBIOTICS ON THE
GROWTH AND SURVIVAL OF SANDFISH JUVENILES (*Holothuria
scabra* Jaeger 1833)**

Sari Budi Moria Sembiring

20/468028/SBI/00180

Biology Study Program, Doctoral Program
Postgraduate Program, Faculty of Biology
Universitas Gadjah Mada

ABSTRACT

Sandfish is belonging to echinoderm and is high economic value. Currently, domestic needs and export markets still rely on catches from nature. Uncontrollable non selective catching, regardless of the allowable size for captured, causes wild sandfish populations endangered. Sandfish cultivation is a solution for the sustainability of populations in nature. Sandfish breeding has been succeeded, but the growth and survival rate of 2-3 g to 7-8 g juveniles, which is ready to cultivate, is still as low as 30-40%. Factors that support the survival and growth of sandfish juveniles are the role of substrates, the availability of artificial feed, and the addition of probiotics to improve digestibility and body resistance. This study aimed to understand the role of the substrate, artificial feed with optimum animal protein sources, and the addition of probiotics in the feed, to support the growth and survival of sandfish juveniles by designing three stages of study. First stage, the role of substrate by using different beach sand with grain sizes of 125-200 μm , 225-300 μm , and 325-400 μm were applied as substrate treatments. Sandfish juvenile size used 2.90 ± 0.01 cm; 2.22 ± 0.43 g as test animals reared in 12 plastic tanks with a volume of 100 L (59 cm x 47 cm x 37 cm^3) for 90 days of rearing. Growth in length, weight, survival rate, percentage of sand in feces and digestive tract, water and substrate quality, enzyme activity, and intestinal profile were observed in this first stage study. The results showed that small sand grain sizes (A) provided the highest growth rate and significantly different from the other treatments ($P=0.005$). The lowest survival rate was in

treatment D and significantly different compared to treatments A, B and C ($P=0.002$). Enzymes activity was highest and villi sizes was longest on treatment A compared to other treatments ($P=0.000$). There for, the suitable sand grain sizes for rearing sandfish juveniles range from 125 to 200 μm and biologically support enzyme activity optimization, higher and varied villi size for absorbing of nutrients is better. The second stage was the role of artificial feed with animal protein sources from fish meal. To make feed with a 10%, 20%, and 30% protein content as treatments, ingredients such as *Ulva* meal, soybean meal, lap-lap algae meal, rice flour, fish oil, vitamin mix, mineral mix, filler, and CMC is needed. Feeding trials were conducted on sandfish juveniles measuring 2.82 ± 0.01 cm; 2.70 ± 0.02 g reared in 12 plastic tanks with a volume of 100 L (59 cm x 47 cm x 37 cm³) for 120 days of rearing. The sand substrate on the bottom of the rearing tank is based on the best result from the first stage 125-200 μm , as thick as 3 cm for all treatments. Sandfish juveniles fed at 2% of the biomass daily at 14.00. Nutrient content of the feed, water retention, enzyme activity, feed digestibility, length and weight growth, survival rate, feed efficiency, water and substrate quality, and chemical composition of the juvenile tissue were measured at this second stage study. The Results showed that nutrient content and water stability of 10, 20, and 30% protein in feed were not significantly different ($P=0.071$). Protease and amylase activity appear since 10th and for lipase since 15th day from initial feeding trial given. Sandfish juvenile fed a 20% protein diet has the highest final weight (5.10 ± 0.02 g), specific growth rate (0.53 ± 0.01 % day⁻¹), and feed efficiency (62.48 ± 0.13) and is significantly different compared to other treatments ($P=0.000$). On the other hand, feeding with different dietary protein levels did not influence the survival rate greatly ($P=0.313$), ranging from 95.00- 95.83%. The total amino acid content of sandfish juveniles in treatment B was highest (6.62%) and followed by C (6.27%) and A (4.75%). Likewise, the highest fatty acid content was also found in treatment B (0.554%) followed by treatments A and C of 0.526%; 0.442% respectively. An-experimental feed with animal protein content of 20% can provide the best feed efficiency, digestibility, growth, and seed nutrient content. The third stage was probiotic application with treatments: without application of probiotic; probiotic endogenous (combination of *G. proteobacterium* strain M-4, *B. subtilis* strain Q-1 and *Bacillus* sp. strain E-2) and commercial probiotic (*B. subtilis*, *B. licheniformis* and *B. pumilus*). Sandfish juveniles measuring 2.65 ± 0.13 cm; 2.72 ± 0.16 g reared in 12 plastic tanks with a volume of 100 L (59 cm x 47 cm x 37 cm³) with substrate based on the best result of first stage as 125-200 μm , as thick as 3 cm. Probiotics mixed in feed with animal protein content of 20 % as the best result from the second stage study. The study lasted for 120 days of rearing, and the parameters observed were survival, length and weight, enzyme activity, and intestinal histology profile. At the end of the study, a challenge test was carried out in a 12 L plastic container using eight juveniles in each container by injecting 10^8 CFU mL⁻¹ of *Vibrio azureus* strain 4C-1 at 0.1 mL ind⁻¹. The challenge test was carried out for 96 hours (4 days) and

the juveniles were fed daily. Every 24 hours, the number of deaths of juveniles was observed. At the same time, coelomate was taken using a 1 mL syringe treated with anticoagulant from 3 juveniles from each container. The observed immune responses were total coelomate and gene expression (*Superoxide Dismutase*; *Catalase*, and *Lysozyme*) using Quantitative real-time PCR. An experimental feed with the addition of endogenous probiotics promotes growth, enhances the activity of digestive enzymes, and stimulates a non-specific immune response. The survival rate of juvenile among treatments was not significantly different ($P=0.270$). The specific growth rate and the final weight of sandfish juveniles fed with treatment B was higher from treatment A ($P=0.003$) and treatment A and C ($P=0.015$) consecutively. Protease, lipase, and amylase activity in treatment B was higher compared to C and A ($P=0.000$; $P=0.007$; and $P=0.004$). Likewise, the length of villi in treatment A was longer than other treatments ($P=0,000$). Total coelomocyte count, relative expression of SOD, CAT, and LZM gene in sandfish juveniles after being challenged with *V. azureus* were higher in treatment B compared to C and A ($P=0.000$; $P=0.0041$; $P=0.004$; and $P=0.003$). The addition of endogenous probiotics in experimental feed provides the best response to enhancing growth, and digestive enzyme activity as well as stimulating non-specific immune responses. Based on the results of the study, it can be concluded that to improve the growth and survival rate of sandfish size 2-3 g in nursery, a sand substrate with a grain size of 125-200 μm , feed with an animal protein content of 20% and endogenous probiotic application is needed.

Keywords: growth, immune response, probiotic, protein level, sandfish juvenile, sand grain size, survival rate