

Penambahan minyak cengkeh *Syzygium aromaticum* dalam pakan untuk memperbaiki kinerja pertumbuhan ikan mas *Cyprinus carpio* Linnaeus 1758

[The supplementation of clove oil *Syzygium aromaticum* in the diet to improve the growth performance of common carp *Cyprinus carpio* Linnaeus 1758]

Tira Silvianti^{1,✉}, Dedi Jusadi², Sri Nuryati²

¹Program Studi Ilmu Akuakultur, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor
Jln. Raya Dramaga, Kampus IPB Dramaga Bogor 16680

²Departemen Budidaya Perairan, FPIK-IPB
Jln. Agatis, Kampus IPB, Dramaga, Bogor 16680

Diterima: 05 Oktober 2015; Disetujui: 26 April 2016

Abstrak

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengevaluasi penambahan minyak cengkeh *Syzygium aromaticum* dalam pakan untuk meningkatkan kinerja pertumbuhan ikan mas *Cyprinus carpio*. Penelitian dilakukan pada bulan Februari hingga bulan April 2015, di Laboratorium Produksi, Kolam Percobaan Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Ikan uji yang digunakan adalah mas dari varietas Majalaya yang berbobot $3,90 \pm 1,08$ g. Ikan ditebar pada akuarium berukuran $50 \times 40 \times 35$ cm³ (volume 150 L) dengan kepadatan 25 ekor ikan setiap akuarium. Selama masa pemeliharaan, ikan diberi pakan yang mengandung minyak cengkeh dengan dosis 0, 5, 10, 15, atau 100 mg 100 g⁻¹ pakan dengan masing-masing tiga ulangan. Uji pertumbuhan dilakukan selama 56 hari, dilanjutkan dengan uji pencernaan selama 10 hari. Ikan diberi pakan tiga kali dalam sehari, yaitu pukul 08.00, 12.00, dan 16.00. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kinerja pertumbuhan ikan mas dipengaruhi oleh penambahan minyak cengkeh. Ikan yang diberi pakan dengan penambahan minyak cengkeh pada dosis 100 mg 100 g⁻¹ pakan secara signifikan memiliki kinerja pertumbuhan dan status kesehatan terbaik, termasuk profil gambaran darah dan tinggi vili usus.

Kata penting: *Cyprinus carpio*, kinerja pertumbuhan, minyak cengkeh,

Abstract

The aim of this research was to determine the effect of the diet supplemented with clove oil *Syzygium aromaticum* on the growth performance of common carp, *Cyprinus carpio*. The experiment was carried out from February to April 2015 at the Laboratory Production, Department of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Marine Sciences, Bogor Agricultural University. Common carp, strain Majalaya with an initial body weight of 3.90 ± 1.08 g were reared in the $50 \times 40 \times 35$ cm³ aquaria (150 L volume) at density of 25 fish per aquaria. During the rearing period, fish were fed on the diet contained with clove oil with a dose of 0, 5, 10, 15, or 100 mg 100 g⁻¹ diet with three replications. The experiment for growth performance was conducted for 56 days and followed by digestibility test for 10 days. The fish were fed three times a day at 08:00, 12:00 and 16:00 hours. The results showed that the growth performances of fish were affected by clove oil supplementation. Fish fed on the diet supplemented with clove oil at a dose of 100 mg 100 g⁻¹ diet significantly had the best growth performance and health status, including blood profile and the intestinal villus length.

Keywords: *Cyprinus carpio*, growth performance, *Syzygium aromaticum* oil

Pendahuluan

Ikan mas merupakan jenis ikan air tawar yang dominan dibudidayakan di Jawa Barat. Pengembangan budi daya ikan mas di Jawa Barat masih dihadapkan pada kendala makin meningkatnya harga pakan secara periodik. Di sisi lain, nilai efisiensi pakan cenderung tetap atau menurun. Keadaan demikian meningkatkan biaya pro-

duksi budi daya, sedangkan harga ikan cenderung tetap. Oleh karena itu diperlukan upaya untuk meningkatkan efisiensi pakan agar biaya produksi menurun. Salah satu upaya yang dapat dilakukan yaitu dengan penambahan minyak cengkeh di dalam formulasi pakan.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Gaber (2000), diketahui bahwa penambahan 8 mg minyak cengkeh 100 g⁻¹ pakan dapat meningkatkan kinerja pertumbuhan ikan nila. Bobot

Penulis korespondensi
Surel: tirasilvianti@yahoo.com

tubuh ikan meningkat 261% dengan nilai konversi pakan 2,2; sedangkan pakan yang tidak ditambah minyak cengkeh hanya menghasilkan pertambahan bobot sebesar 128,2%, dengan nilai konversi pakan 3,6. Peningkatan kinerja pertumbuhan tersebut, seiring dengan peningkatan status kesehatan ikan berupa gambaran darah yaitu total eritrosit, total leukosit, kadar hemoglobin dan hematokrit meningkat yang paling baik pada penambahan dosis tersebut.

Minyak cengkeh merupakan bahan alami yang mudah tersedia secara massal, sehingga penerapannya mudah dilakukan. Menurut Goni *et al.* (2009), kandungan minyak cengkeh terdiri atas 82% eugenol, 10% β karyophilene, 2,9% α humelene, 0,5% eugenol acetate, dan 0,4% δ -cadinene. Eugenol memiliki aktivitas antioksidan yang efeknya sama dengan α tokoferol dalam menghambat peroksidase lipid (Ogata *et al.* 2000). Hasil penelitian Mu'nisa (2009) memperlihatkan bahwa ekstrak daun cengkeh memiliki peran sebagai senyawa antioksidan dan antiperkolesterolemia (menekan tingginya kadar kolesterol dalam darah) pada kelinci. Minyak cengkeh juga dapat menyebabkan perubahan permeabilitas sel bakteri. Oleh karena itu minyak cengkeh dapat menghambat pertumbuhan sejumlah besar bakteri gram negatif maupun positif dan beberapa jenis kapang (Nunez & Aquino 2012), sehingga penggunaan minyak cengkeh pada dosis tertentu diduga dapat menghambat aktivitas mikroflora saluran pencernaan yang merugikan. Penggunaan minyak cengkeh telah diakui aman oleh The United States Food and Drug Administration (USFDA) bila tidak melebihi dosis 1500 ppm di semua kategori makanan (Gulcin *et al.* 2012). Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengevaluasi penambahan minyak cengkeh dalam pakan untuk meningkatkan kinerja pertumbuhan ikan mas.

Bahan dan metode

Analisis kandungan bahan aktif minyak cengkeh

Minyak cengkeh yang digunakan diperoleh dari penyedia minyak atsiri di kota Bogor. Minyak cengkeh dianalisis kandungan bahan aktifnya di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITRO), Bogor. Analisis dilakukan dengan Gaskromatografi Agilent N890 dengan tipe kolom Carbowax 20 M dengan volume contoh 0,1 μ l. Kondisi alat yang digunakan yaitu suhu kolom initial 60°C, suhu kolom final 180°C, suhu injektor 220°C, suhu detektor 250°C, detektor FID, dan gas pembawa N₂. Laju alir N₂ adalah 1 ml menit⁻¹, laju alir H₂ 30 ml menit⁻¹, dan laju alir udara tekan 40 ml menit⁻¹. Berdasarkan hasil analisis didapatkan komposisi bahan aktif minyak cengkeh yaitu eugenol 58,27%, β -carophyllen 31,29% dan metil eugenol 0,41%.

Pembuatan pakan uji

Penelitian ini terbagi menjadi dua tahap yaitu uji pertumbuhan dan uji pencernaan pakan. Pakan untuk uji pertumbuhan dan uji pencernaan menggunakan formula yang sama, namun pada uji pencernaan pakan ditambahkan kromium (Cr₂O₃) sebanyak 0,5% sebagai indikator (NRC 1993). Pakan uji merupakan pakan hasil formulasi bahan baku (Tabel 1) yang ditambahi minyak cengkeh dengan dosis berbeda yaitu 0, 5, 10, 15, dan 100 mg 100 g⁻¹ pakan dengan kadar protein pakan berkisar 29,14-31,20% dan gross energi (GE) 409,68-423,60 kkal/100 g. Setiap perlakuan terdiri atas tiga ulangan. Minyak cengkeh yang ditambahkan pada pakan uji sebelumnya diemulsikan dengan 2% telur (20 g kg⁻¹ pakan) serta 250 ml air. Adonan pakan uji dicetak pada mesin pencetak pelet berdiameter 1-2 mm kemudian dikeringkan dalam oven bersuhu 40 °C selama 24 jam. Hasil proksimat pakan perlakuan pada penelitian ini disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Formulasi pakan uji

Bahan baku	Perlakuan minyak cengkeh dalam pakan (mg 100 g ⁻¹ pakan)				
	0	5	10	15	100
Tepung ikan (%)	15	15	15	15	15
Tepung tulang dan daging (%)	10	10	10	10	10
Tepung kedelai (%)	25	25	25	25	25
Minyak ikan (%)	2	2	2	2	2
Metionin (%)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Lisin (%)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Pollard (%)	39,75	39,74	39,74	39,73	39,65
Tapioka (%)	3	3	3	3	3
Minyak jagung (%)	1	1	1	1	1
Vitamin & mineral (%)	3	3	3	3	3
NaCl (%)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Minyak cengkeh (%)	0	0,005	0,01	0,015	0,1
Total	100	100	100	100	100

Tabel 2. Hasil proksimat pakan perlakuan

Parameter	Perlakuan minyak cengkeh dalam pakan (mg 100 g ⁻¹ pakan)				
	0	5	10	15	100
Protein (%)	29,14	30,67	29,43	29,30	31,20
Lemak (%)	8,09	7,90	8,44	8,36	7,93
Serat kasar (%)	4,67	5,36	4,25	4,07	4,64
Abu (%)	10,79	12,74	10,74	11,47	12,02
BETN (%)	44,17	39,92	43,77	43,31	41,29
GE (kkal 100g ⁻¹)	420,33	409,68	423,60	420,24	418,56

Keterangan : GE = *gross energy* (Watanabe 1988), 1g protein = 5,6 kkal GE, 1 g karbohidrat/BETN = 4,1 kkal GE, 1g lemak = 9,4 kkal GE

Pemeliharaan ikan

Wadah budi daya ikan yang digunakan adalah akuarium berukuran 100×50×40 cm⁻³ sebanyak 15 buah dengan volume air masing-masing akuarium 150 L. Setiap akuarium dilengkapi dengan aerator untuk menjaga kelarutan oksigen, *thermostat* sebagai pengatur suhu, dan *top filter* untuk mengurangi kekeruhan akibat bahan organik di dalam akuarium.

Ikan yang digunakan adalah ikan mas varietas Majalaya dengan bobot rata-rata 3,91±1,08 g yang diperoleh dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Tawar (BBPBAT) Sukabumi. Sebelum diberi perlakuan, ikan diadaptasikan selama sepuluh hari. Lima ekor ikan dibius, lalu disimpan ke dalam *freezer* untuk keperluan analisis proksimat ikan awal.

Pemeliharaan ikan untuk uji pertumbuhan dilakukan selama 56 hari. Ikan yang digunakan yaitu sebanyak 25 ekor dalam setiap akuarium. Selama pemeliharaan, ikan diberi pakan dengan metode *at satiation* (pemberian pakan sekenyangnya) dengan frekuensi pemberian tiga kali sehari, yaitu pukul 08:00, 12:00, dan 16:00. Penimbangan bobot ikan dilakukan pada hari ke-0 dan hari ke-57. Kondisi kualitas air dijaga dengan penyiponan dan penggantian air sebanyak 25% setiap 2-3 hari sekali. Selama masa pemeliharaan, dilakukan pengukuran kualitas air pada hari ke-0 dan ke-25, sedangkan pengamatan suhu air dilakukan setiap hari. Nilai kualitas air yang diperoleh meliputi suhu air berkisar 28-31°C, pH 7,29-7,55, oksigen terlarut 4,60-6,20 mg L⁻¹, al-

kalinitas 80-168 mg L⁻¹ CaCO₃, dan total amonia nitrogen 0,03-0,13 mg L⁻¹.

Pada akhir masa pemeliharaan, ikan dipuasakan selama satu hari kemudian ditimbang bobotnya. Tiga ekor ikan dari setiap akuarium diambil dan dijadikan satu untuk dilakukan analisis gambaran darah dan proksimat tubuh. Tiga ekor ikan dari setiap akuarium diambil untuk diukur panjang usus, bobot hati, serta dilakukan histologi usus untuk mengukur tinggi vili usus. Selanjutnya dua ekor ikan setiap akuarium diambil untuk keperluan uji kelimpahan total dan jenis bakteri di usus.

Perlakuan uji pencernaan pakan dimulai pada hari ke-57 hingga hari ke-67. Ikan yang digunakan yaitu sebanyak 13 ekor dengan bobot rata-rata 9,87±0,97 g dari sisa uji pertumbuhan. Ikan diberi pakan berkromium dengan frekuensi pemberian tiga kali sehari. Feses ikan mulai dikumpulkan pada hari ke-60 (ditandai dengan feses berwarna hijau) hingga jumlahnya mencukupi untuk keperluan analisis. Feses disimpan dalam botol film dan diletakkan dalam *freezer* guna menjaga kesegarannya, untuk kemudian dianalisis kandungan kromiumnya.

Analisis kimia

Analisis proksimat dilakukan terhadap bahan baku pakan, pakan uji, dan ikan uji. Analisis proksimat dilakukan di Laboratorium Nutrisi Ikan, Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Analisis proksimat untuk kadar air menggunakan metode pemanasan dalam oven bersuhu 105-110°C. Serat kasar menggunakan metode pelarutan sampel dengan asam kuat, basa kuat dan pemanasan. Protein kasar menggunakan metode Kjeldahl, lemak kering dengan menggunakan Soxhlet, lemak basah dengan menggunakan me-

tode Folch. Kadar abu dengan pemanasan dalam tanur bersuhu 600°C (Watanabe 1988).

Parameter penelitian

Parameter yang diamati yaitu laju pertumbuhan harian, retensi protein, retensi lemak, efisiensi pakan, tingkat kelangsungan hidup, indeks hepatosomatik, panjang usus relatif, dan tinggi vili. Parameter pencernaan pakan yang diamati yaitu pencernaan protein. Parameter kesehatan ikan yang diamati yaitu jumlah kelimpahan total bakteri dan jenis bakteri di usus, serta profil gambaran darah ikan berupa jumlah sel darah merah, sel darah putih, hematokrit, dan kadar hemoglobin. Berikut ini adalah rumus dari parameter penelitian.

- Pengukuran laju pertumbuhan harian ikan uji dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$LPH = \left[\sqrt{\frac{W_t}{W_0}} - 1 \right] \times 100$$

Keterangan: LPH= laju pertumbuhan harian, W_t= bobot individu akhir pemeliharaan (g), W₀= bobot individu awal pemeliharaan (g), t= lama waktu pemeliharaan (hari)

- Nilai retensi protein dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

$$RP = \left[\frac{(FP - I)}{P} \right] \times 100$$

Keterangan: RP= retensi protein (%), FP= jumlah protein di tubuh ikan pada akhir pemeliharaan (g), I= jumlah protein di tubuh ikan pada awal pemeliharaan (g), P= jumlah protein yang dikonsumsi ikan (g)

- Nilai retensi lemak dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$RL = \left[\frac{(FL - I)}{L} \right] \times 100$$

Keterangan: RL= retensi lemak (%), FL= jumlah lemak pada tubuh ikan pada akhir pemeliharaan (g), I= jumlah lemak pada tubuh ikan pada awal pemeliharaan (g), L= jumlah lemak yang dikonsumsi ikan (g)

- Nilai efisiensi pakan dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$EP = \left\{ \left[\frac{(W_t + D) - W_0}{F} \right] \times 100 \right\}$$

Keterangan: EP= efisiensi pakan (%), F = jumlah pakan yang diberikan selama pemeliharaan (g), W_t = bobot akhir pemeliharaan (g), W_0 = bobot awal pemeliharaan (g), D= bobot ikan mati (g)

- Kelangsungan hidup ikan diamati selama 56 hari pemeliharaan ikan. Kelangsungan hidup ikan ditentukan dengan persamaan sebagai berikut:

$$TKH = \left[\frac{N_t}{N_0} \right] \times 100$$

Keterangan: TKH = tingkat kelangsungan hidup (%), N_t = jumlah ikan akhir pemeliharaan (ekor), N_0 = jumlah ikan awal pemeliharaan (ekor)

- Indeks hepatosomatik (IHS) diukur dengan menimbang bobot hati dibandingkan dengan bobot tubuh ikan mas hasil perlakuan. IHS dihitung berdasarkan persamaan:

$$IHS = \frac{BOH}{BT} \times 100$$

Keterangan: IHS= indeks hepatosomatik, BOH= bobot organ hati (g), BT= bobot tubuh ikan (g)

- Panjang usus relatif diperoleh dengan mengukur panjang usus dibandingkan dengan panjang tubuh ikan mas hasil perlakuan, dengan persamaan:

$$PUR = \frac{PU}{PT}$$

Keterangan: PU= panjang usus (cm), PT= panjang tubuh ikan (cm).

- Pengamatan tinggi vili dilakukan dengan melakukan histologi usus. Pembuatan preparat histologis melalui empat tahapan, yaitu fiksasi, parafinasi, pembedahan jaringan, dan pewarnaan jaringan dengan hematoxylin dan eosin. Perhitungan tinggi vili diperoleh dengan mengukur panjang vili di bawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali.

Parameter pencernaan yang diukur adalah pencernaan protein pakan uji. Nilai pencernaan dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$KP = \left[1 - \frac{a}{a'} \times \frac{b}{b'} \right] \times 100$$

Keterangan: KP= pencernaan protein, a= %Cr₂O₃ dalam pakan, a'= %Cr₂O₃ dalam feses, b = %nutrien dalam pakan, b'= %nutrien dalam feses

Pengujian kelimpahan total bakteri dilakukan dengan cara ikan pada setiap perlakuan dibedah dan diambil organ usus bagian depan. Bobot usus ditimbang sebanyak 0,1 g. Selanjutnya organ usus digerus dengan mortar steril dengan ditambahi larutan fisiologis sebanyak 1 ml. Larutan fisiologis ditambahkan sebanyak 9 ml dan diencerkan secara berseri hingga didapatkan konsentrasi 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} . Tahap selanjutnya dari masing-masing seri pengenceran diambil sebanyak 50 μ l dan disebar pada media agar TSA (*tryptic soy agar*) lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Jumlah total koloni tunggal yang tumbuh di media dihitung dan dikarakterisasi berdasarkan bentuk, gram, uji oksidatif/fermentatif, sulfida indol motility (SIM), oksidase dan katalase. Karakterisasi bakteri dilakukan menurut metode Cowan (1974). Kelimpahan total bakteri dihitung menggunakan metode hitungan cawan sebar ditentukan dalam *colony forming unit* (CFU) dengan persamaan sebagai berikut:

$$JB = \frac{N}{JP} \times \frac{1}{f}$$

Keterangan: JB= banyaknya sel bakteri (CFU g⁻¹), N= jumlah koloni bakteri, JP= jumlah penebaran, f= faktor pengenceran

Pengamatan sel darah merah (eritrosit) dilakukan sebagai berikut: darah dihisap menggunakan pipet hemasitometer berbulir merah hingga skala 0,5, lalu diencerkan dengan larutan Hayem sampai skala maksimum 101. Kedua ujung

ditutup kemudian digoyangkan membentuk angka delapan selama 3-5 menit. Selanjutnya, larutan pada bagian ujung pipet yang tidak teraduk dibuang sebanyak 1 tetes. Tetesan berikutnya dimasukkan ke dalam hemasitometer yang telah dilengkapi dengan kaca penutup. Perhitungan dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 400×. Jumlah eritrosit dihitung pada 5 kotak besar hemasitometer dengan faktor pengenceran 200 kali. Penghitungan total eritrosit menggunakan rumus:

$$JE = \bar{JS} \times \frac{1}{Vkb} \times fp$$

Keterangan: JE= jumlah eritrosit, JS=rataan jumlah sel terhitung, Vkb= volume kotak besar, fp= faktor pengenceran

Sel darah putih (leukosit) diamati sebagai berikut: darah dihisap menggunakan pipet hemasitometer hingga skala 0,5 lalu diencerkan dengan larutan Turk's sampai skala maksimum 11. Kedua ujung ditutup kemudian digoyangkan membentuk angka delapan selama 3-5 menit. Selanjutnya, larutan pada bagian ujung pipet yang tidak teraduk dibuang sebanyak 1 tetes. Tetesan berikutnya dimasukkan ke dalam haemositometer yang telah dilengkapi dengan kaca penutup. Perhitungan dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 400× dan jumlah leukosit dihitung pada 5 kotak besar haemositometer dengan faktor pengenceran 20 kali. Penghitungan total leukosit digunakan rumus berikut ini:

$$JL = \bar{JS} \times \frac{1}{Vkb} \times fp$$

Keterangan: JL= jumlah leukosit, JS= rata-rata jumlah sel terhitung, Vkb= volume kotak besar, fp= faktor pengenceran

Pengamatan haematokrit sebagai berikut. Darah dihisap dengan tabung mikrohematokrit sampai mencapai $\frac{3}{4}$ bagian tabung, lalu ujung tabung ditutup dengan *crytoseal* sedalam kira-kira 1

mm, sehingga terbentuk sumbat *crytoseal*. Setelah itu, tabung mikrohematokrit tersebut disentrifuge selama 5 menit pada 5000 rpm dengan posisi tabung yang bervolume sama berhadapan agar putaran sentrifuse seimbang. Panjang bagian darah yang mengendap (a) dan panjang total volume darah yang terdapat di dalam tabung (b) diukur dengan menggunakan penggaris. Penghitungan nilai hematokrit menggunakan rumus berikut ini:

$$Haematokrit = \frac{a}{b} \times 100$$

Keterangan: a= panjang natan, b= panjang total volume darah

Pengukuran kadar haemoglobin (Hb) dilakukan dengan metode Sahli. Darah dihisap dengan pipet sahli sampai skala 20 mm³ atau pada skala 0,02 mL, kemudian darah dipindahkan ke dalam tabung Hb-meter yang telah diisi HCl 0,1 N sampai skala 10, kemudian diaduk dan dibiarkan selama 3-5 menit. Setelah itu akuades ditambahkan sampai warna darah dan HCl tersebut sama seperti warna larutan standar yang ada dalam Hb-meter tersebut. Skala dibaca dengan melihat permukaan cairan dan dicocokkan dengan skala tabung sahli yang dilihat pada skala jalur g% (kuning) yang berarti banyaknya haemoglobin dalam gram per 100 mL darah atau g dL⁻¹.

Analisis data

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan dan tiga ulangan. Semua data yang diperoleh ditabulasi menggunakan Microsoft Excel 2010 dan dilakukan analisis sidik ragam (ANOVA) pada parameter laju pertumbuhan harian, pencernaan protein, retensi protein, retensi lemak, efisiensi pakan, tingkat kelangsungan hidup, indeks hepatosomatik, panjang usus relatif, tinggi vili dan gambaran darah ikan mas, dengan taraf kepercayaan

95% menggunakan prosedur SPSS 17.0. Jika berbeda nyata antar perlakuan dilakukan uji lanjut Tukey. Parameter kelimpahan total dan keragaman bakteri di usus ikan mas dilakukan analisis deskriptif. Data yang berbeda nyata antar perlakuan dilakukan analisis regresi untuk menentukan koefisien korelasinya menggunakan Microsoft Excel 2010.

Hasil

Pemberian pakan yang ditambah minyak cengkeh dengan kadar 0 mg, 5 mg, hingga 100 mg 100 g⁻¹ pakan selama 56 hari, menghasilkan pertumbuhan ikan mas (Tabel 3). Laju pertumbuhan harian ikan meningkat dan nilai tertinggi pada perlakuan minyak cengkeh 100 mg 100 g⁻¹. Sejalan dengan paling tingginya laju pertumbuhan harian, nilai efisiensi pakan pada perlakuan 100 mg 100 g⁻¹ pakan juga paling tinggi. Data pada Tabel 3 juga menunjukkan bahwa pemberian pakan yang mengandung minyak cengkeh dapat meningkatkan retensi lemak dan tingkat kelangsungan hidup ikan mas. Namun, pemberian pakan yang mengandung minyak cengkeh memberi efek yang sama seperti pada perlakuan kontrol terhadap pencernaan protein dan retensi protein.

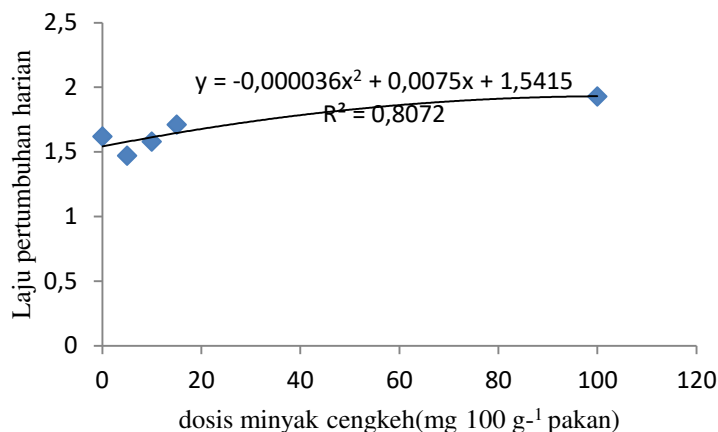
Berdasarkan hasil yang didapatkan dalam penelitian ini, hasil analisis regresi laju pertumbuhan harian (LPH) dengan pola kuadrat pada Gambar 1 mengikuti persamaan $y = -0,000036x^2 + 0,0075x + 1,5415$, di mana y adalah LPH dan x adalah dosis minyak cengkeh. Artinya nilai LPH meningkat seiring dengan penambahan dosis minyak cengkeh dalam pakan. Setiap kenaikan 1% dosis minyak cengkeh dalam pakan, dapat meningkatkan nilai LPH sebesar 0,0075. Berdasarkan analisis korelasi didapat $r^2 = 0,8072$ dan $r = 0,8984$, menunjukkan korelasi positif atau hubungan yang erat antara penambahan minyak cengkeh dengan LPH.

Regresi retensi lemak (RL) dengan pola kuadrat mengikuti persamaan $y = -0,0216x^2 + 2,5396x + 53,053$ (Gambar 2), di mana y adalah RL dan x adalah dosis minyak cengkeh. Artinya nilai RL meningkat seiring dengan penambahan dosis minyak cengkeh dalam pakan. Setiap kenaikan 1% dosis minyak cengkeh dalam pakan, dapat meningkatkan nilai RL sebesar 2,5396%. Berdasarkan analisis korelasi didapat $r^2 = 0,8903$ dan $r = 0,9435$, menunjukkan korelasi positif atau hubungan yang erat antara penambahan minyak cengkeh dengan RL.

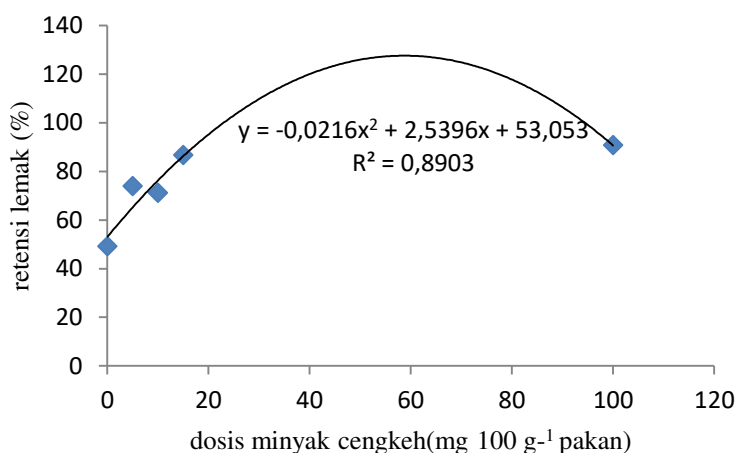
Tabel 3. Kinerja pertumbuhan dan pencernaan protein ikan mas pada penambahan minyak cengkeh dalam pakan dengan dosis berbeda

Parameter uji	Perlakuan minyak cengkeh dalam pakan (mg 100 g ⁻¹ pakan)				
	0	5	10	15	100
W _o (g)	3,90±0,06 ^a	3,91±0,06 ^a	3,92±0,06 ^a	3,92±0,04 ^a	3,90±0,02 ^a
LPH	1,62±0,08 ^{ab}	1,47±0,01 ^a	1,58±0,13 ^{ab}	1,71±0,08 ^b	1,93±0,08 ^c
KP (%)	74,08±6,28 ^a	77,93±5,57 ^a	82,08±7,01 ^a	78,31±2,36 ^a	78,63±3,07 ^a
RP (%)	20,53±2,71 ^a	17,91±0,56 ^a	19,07±5,65 ^a	17,49±0,44 ^a	20,86±3,86 ^a
RL (%)	49,11±4,70 ^a	73,87±2,10 ^{ab}	71,15±3,20 ^{ab}	86,68±13,18 ^b	90,71±15,13 ^b
EP (%)	41,56±3,16 ^a	39,52±0,99 ^a	43,20±3,49 ^a	45,81±1,82 ^a	53,38±1,81 ^b
TKH (%)	89,33±2,31 ^a	97,33±2,31 ^b	98,67±2,31 ^b	100±0 ^b	100±0 ^b

Keterangan: Nilai yang tertera merupakan nilai rata-rata ± simpangan baku. Huruf tika atas di belakang nilai simpangan baku yang berbeda pada setiap baris menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ($p < 0,05$); W_o= bobot ikan awal, LPH= laju pertumbuhan harian, KP= pencernaan protein, RP= retensi protein, RL= retensi lemak, EP= efisiensi pakan, TKH= tingkat kelangsungan hidup.



Gambar 1. Kurva analisis regresi nilai laju pertumbuhan harian ikan mas yang diberi pakan perlakuan minyak cengkeh dengan dosis berbeda

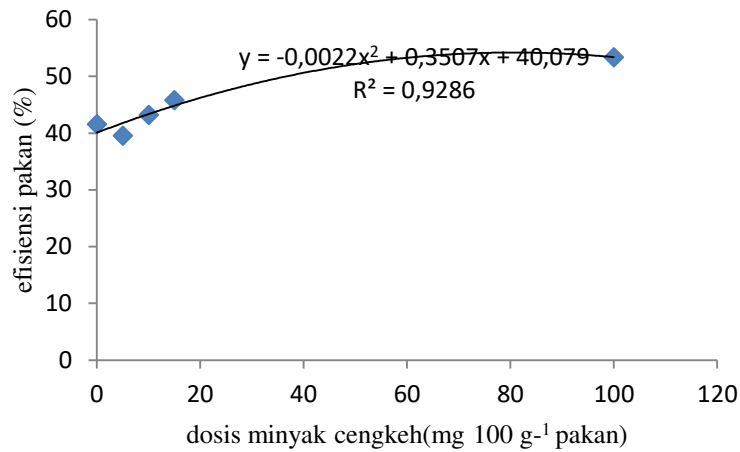


Gambar 2. Kurva analisis regresi nilai retensi lemak ikan mas yang diberi pakan perlakuan minyak cengkeh dengan dosis berbeda

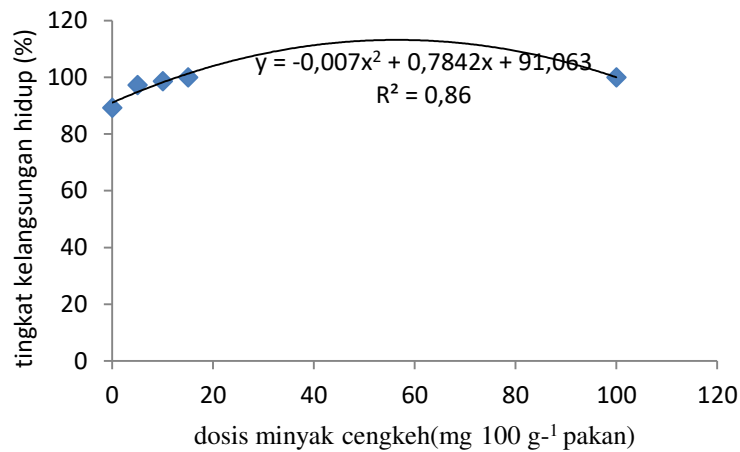
Regresi retensi lemak (RL) dengan pola kuadratik mengikuti persamaan $y = -0,0216x^2 + 2,5396x + 53,053$ (Gambar 2), di mana y adalah RL dan x adalah dosis minyak cengkeh. Hal ini menunjukkan bahwa nilai RL meningkat seiring dengan penambahan dosis minyak cengkeh dalam pakan. Setiap kenaikan 1% dosis minyak cengkeh dalam pakan, dapat meningkatkan nilai RL sebesar 2,5396%. Berdasarkan analisis korelasi didapat $r^2 = 0,8903$ dan $r = 0,9435$, menunjukkan korelasi positif atau hubungan yang erat antara penambahan minyak cengkeh dengan RL.

Regresi efisiensi pakan (EP) dengan pola kuadratik mengikuti persamaan $y = -0,0022x^2 +$

$0,3507x + 40,079$ dengan nilai $r^2 = 0,9286$ dan $r = 0,9636$ (Gambar 3), di mana y adalah EP dan x adalah dosis minyak cengkeh. Hasil ini memperlihatkan bahwa nilai EP meningkat seiring dengan penambahan dosis minyak cengkeh dalam pakan. Setiap kenaikan 1% dosis minyak cengkeh dalam pakan, dapat meningkatkan nilai EP sebesar 0,3507% dan adanya korelasi positif antara penambahan minyak cengkeh dengan EP. Korelasi ini menunjukkan bahwa peningkatan dosis minyak cengkeh dalam pakan akan diikuti dengan peningkatan efisiensi pakan hingga mencapai nilai optimum.



Gambar 3. Kurva analisis regresi nilai efisiensi pakan ikan mas yang diberi pakan perlakuan minyak cengkeh dengan dosis berbeda



Gambar 4. Kurva analisis regresi tingkat kelangsungan hidup ikan mas yang diberi pakan perlakuan minyak cengkeh dengan dosis berbeda

Berdasarkan kurva pada analisis regresi tingkat kelangsungan hidup (TKH) dengan pola kuadratik mengikuti persamaan $y = -0,007x^2 + 0,7842x + 91,063$ (Gambar 4), di mana y adalah TKH dan x adalah dosis minyak cengkeh. Artinya nilai TKH meningkat seiring dengan penambahan dosis minyak cengkeh dalam pakan. Setiap kenaikan 1% dosis minyak cengkeh dalam pakan, dapat meningkatkan nilai RL sebesar 0,7842%. Berdasarkan analisis korelasi didapat $r^2 = 0,86$ dan $r = 0,9273$, menunjukkan korelasi positif atau

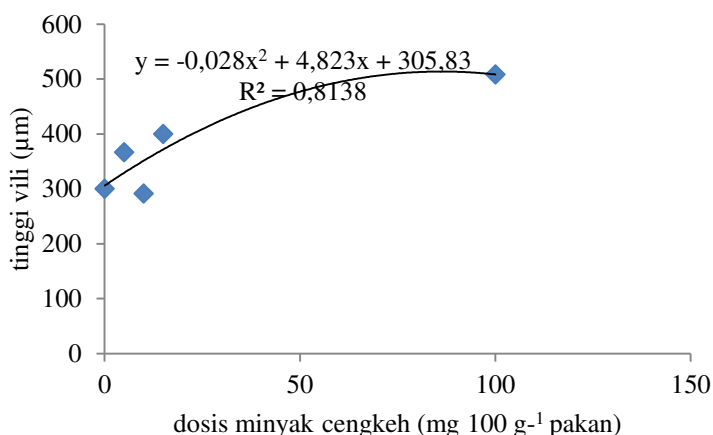
hubungan yang erat antara penambahan minyak cengkeh dengan TKH.

Nilai indeks hepatosomatik (IHS) dan panjang usus relatif (PU/PT) tidak berbeda pada semua perlakuan (Tabel 4). Namun tinggi vili semakin meningkat sejalan dengan meningkatnya kadar minyak cengkeh dalam pakan. Peningkatan terbesar adalah perlakuan 100 mg 100 g⁻¹ pakan. Kelimpahan total bakteri di usus ikan mas tertinggi adalah perlakuan 100 mg minyak cengkeh 100 g⁻¹ pakan yaitu $3,6 \times 10^7$ CFU g⁻¹.

Tabel 4. Indeks hepatosomatik (IHS), panjang usus relatif (PU/PT), tinggi vili (TV), dan kelimpahan total bakteri di usus ikan mas pada penambahan minyak cengkeh dalam pakan dengan dosis berbeda

Parameter Uji	Perlakuan minyak cengkeh dalam pakan (mg 100 g ⁻¹ pakan)				
	0	5	10	15	100
IHS (%)	1,41±0,13 ^a	1,12±0,38 ^a	1,62±0,27 ^a	1,16±0,35 ^a	1,14±0,21 ^a
PU/PT	1,35±0,14 ^a	1,53±0,23 ^a	1,55±0,02 ^a	1,62±0,19 ^a	1,78±0,09 ^a
TV (µm)	300±00 ^a	366,67±57,74 ^{ab}	291,67±38,19 ^a	400±25,00 ^b	508,33±38,19 ^c
Kelimpahan bakteri (CFU g ⁻¹)	1,46 x 10 ⁷	0,64 x 10 ⁷	1,24 x 10 ⁷	1,82 x 10 ⁷	3,6 x 10 ⁷

Keterangan: Nilai yang tertera merupakan nilai rata-rata ± simpangan baku. Huruf tika atas di belakang nilai simpangan baku yang berbeda pada setiap baris menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata (p<0,05).



Gambar 5. Kurva analisis regresi nilai tinggi vili ikan mas yang diberi pakan perlakuan minyak cengkeh dengan dosis berbeda

Penambahan minyak cengkeh dalam pakan juga berdampak pada perubahan morfologi usus ikan mas. Hasil analisis regresi tinggi vili usus (TV) ikan mas dengan pola kuadratik mengikuti persamaan $y = -0,028x^2 + 4,823x + 305,83$ (Gambar 5), di mana y adalah TV dan x adalah dosis minyak cengkeh. Hal ini berarti TV meningkat seiring dengan penambahan dosis minyak cengkeh dalam pakan. Setiap kenaikan 1% dosis minyak cengkeh dalam pakan, dapat meningkatkan TV sebesar 4,823 µm. Berdasarkan analisis korelasi didapat $r^2 = 0,8138$ dan $r = 0,9021$, menunjukkan korelasi positif atau hubungan yang erat antara penambahan minyak cengkeh dengan TV.

Tabel 5 menyajikan jenis bakteri yang terdapat pada usus. Pada semua perlakuan ditemukan jenis bakteri *Acinetobacter*. Keragaman jenis bakteri paling banyak ditemukan pada perlakuan 100 mg minyak cengkeh 100 g⁻¹ pakan.

Tabel 6 menunjukkan status kesehatan ikan mas berdasarkan gambaran darah. Jumlah sel darah merah dan nilai hematokrit ikan tidak berbeda secara signifikan pada semua perlakuan pakan. Jumlah sel darah putih pada perlakuan kontrol lebih tinggi daripada perlakuan lainnya, yaitu sebesar $18,30 \times 10^4$ sel mm⁻³. Kadar hemoglobin terus meningkat seiring dengan meningkatnya dosis minyak cengkeh, dengan nilai tertinggi sebesar 11,87 g dL⁻¹ (dosis 100 mg).

Tabel 5. Jenis bakteri dominan dan karakteristik biokimiawinya pada usus ikan mas

Perlakuan (mg 100 g ⁻¹ pakan)	Karakteristik Biokimia							Jenis bakteri
	Isolat	Bentuk	Gram	O/F	SIM	Oksidase	Katalase	
0	1	Batang	+	O	+	-	+	<i>Bacillus</i>
	2	Batang	-	O	-	-	+	<i>Acinetobacter</i>
5	1	Batang	-	-	-	-	-	<i>Bacteroides</i>
	2	Batang	-	O	-	-	+	<i>Acinetobacter</i>
10	1	Batang	-	O	+	-	+	<i>Acinetobacter</i> , <i>Chromobacterium lividium</i> , <i>Pseudomonas</i>
	2	Kokus	+	-	-	-	+	<i>Micrococcus</i>
15	1	Batang	-	O	-	+	+	<i>Flavobacterium</i>
	2	Batang	-	O	-	-	+	<i>Acinetobacter</i>
100	1	Batang	+	-	+	-	+	<i>Bacillus</i> , <i>Kurthia</i>
	2	Batang	-	O	+	-	+	<i>Acinetobacter</i> , <i>Chromobacterium lividium</i> , <i>Pseudomonas</i>

Keterangan: O/F = oksidatif/fermentatif, SIM = sulfida indol motility.

Tabel 6. Gambaran darah ikan mas pada penambahan minyak cengkeh dalam pakan dengan dosis berbeda

Parameter Uji	Perlakuan minyak cengkeh dalam pakan (mg 100 g ⁻¹ pakan)				
	0	5	10	15	100
SDM (10 ⁶ sel mm ⁻³)	2,45±0,60 ^a	2,68±0,26 ^a	1,70±0,39 ^a	1,83±0,51 ^a	2,12±0,25 ^a
SDP (10 ⁴ sel mm ⁻³)	18,30±3,69 ^b	10,60±2,84 ^a	10,97±2,34 ^{ab}	14,97±3,07 ^{ab}	10,13±1,10 ^a
Hematokrit (%)	25,26±4,68 ^a	25,86±2,28 ^a	20,74±2,77 ^a	22,77±1,59 ^a	22,70±1,97 ^a
Hemoglobin (g dL ⁻¹)	6,87±0,12 ^a	7,47±1,14 ^{ab}	8,07±0,70 ^{ab}	10,53±1,86 ^{bc}	11,87±1,51 ^c

Keterangan: SDM = sel darah merah, SDP = sel darah putih.

Pembahasan

Penambahan minyak cengkeh dengan dosis yang berbeda pada pakan ikan mas menunjukkan berpengaruh terhadap peningkatan kinerja pertumbuhan. Berdasarkan hasil yang didapatkan dalam penelitian ini, nilai laju pertumbuhan harian (LPH) meningkat seiring dengan penambahan dosis minyak cengkeh dalam pakan (korelasi positif). Hal yang sama dengan parameter efisiensi pakan, nilainya meningkat seiring dengan penambahan dosis minyak cengkeh dalam pakan (korelasi positif). Hasil ini memiliki pengaruh yang sama dengan hasil penelitian Gaber (2000) bahwa penambahan minyak cengkeh dalam pakan dengan dosis 8 mg 100 g⁻¹ pakan dapat me-

ningkatkan bobot tubuh dan efisiensi pakan ikan nila paling baik dibandingkan dengan perlakuan lainnya, sedangkan untuk ikan mas pada penelitian ini hasil terbaik dicapai pada dosis 100 mg 100 g⁻¹ pakan. Hasil penelitian Mehr *et al.* (2014) juga menunjukkan bahwa penambahan minyak cengkeh sebanyak 450 ppm pada formulasi pakan ayam broiler yang dipelihara selama 42 hari, memperlihatkan adanya peningkatan konsumsi pakan, peningkatan pertumbuhan sebesar 64,38 g ekor⁻¹ dibanding perlakuan kontrol (56,04 g ekor⁻¹), serta adanya penurunan rasio konversi pakan menjadi 1,99 dibanding dengan kontrol (2,19).

Peningkatan pertumbuhan ikan tertinggi pada penambahan minyak cengkeh dengan dosis

100 mg 100 g⁻¹ sejalan dengan peningkatan jumlah bakteri di usus yang paling tinggi. Penambahan minyak cengkeh dalam pakan hingga dosis maksimum yang diberikan tidak menyebabkan kematian bakteri dalam usus ikan, bahkan menyebabkan kepadatan bakteri semakin meningkat yaitu 3,6 x 10⁷ CFU g⁻¹. Hal ini menandakan bahwa penambahan minyak cengkeh dalam pakan tidak memberikan efek negatif bagi populasi mikroflora usus. Abdel-Magied & Ahmed (2011) mengatakan bahwa eugenol dalam minyak cengkeh bersifat antitoksik (tidak berbahaya), hepatoprotektif, dan membantu mengeluarkan racun dari usus. Akan tetapi, kepadatan bakteri yang tinggi pada perlakuan 100 mg 100 g⁻¹ tidak mampu meningkatkan pencernaan pakan. Hal ini terlihat dari nilai pencernaan protein yang sama. Diduga walaupun jumlah bakteri di usus ikan pada perlakuan minyak cengkeh 100 mg 100 g⁻¹ pakan lebih tinggi daripada perlakuan lainnya, namun ikan tidak dapat menyerap protein pakan secara maksimal. Oleh sebab itu pencernaan protein tidak berbeda pada semua perlakuan.

Penambahan minyak cengkeh dalam pakan juga berdampak pada perubahan morfologi usus ikan mas. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar minyak cengkeh yang diberikan ke dalam pakan, ikan yang mengonsumsi pakan tersebut di akhir penelitian usus dan vilinya bertambah panjang (korelasi positif). Meningkatnya tinggi vili usus, terutama pada perlakuan minyak cengkeh 100 mg 100 g⁻¹ pakan, diduga menyebabkan meningkatnya nutrisi yang diserap usus, sehingga tubuh memperoleh nutrisi dalam jumlah yang lebih banyak, yang berdampak pada pertumbuhan ikan di perlakuan minyak cengkeh 100 mg 100 g⁻¹ pakan paling tinggi. Sesuai dengan Khojasteh (2012) yang mengemukakan bahwa pada ikan *Oncorhynchus mykiss* dan *Sparus aurata* yang memiliki usus dengan vili

yang panjang dengan fungsi utama sebagai penyerapan nutrisi dapat mengoptimalkan permukaan usus. Selain itu menurut Nasir (2002), semakin panjang vili pada usus menunjukkan luas penampang vili semakin lebih besar, sehingga penyerapan nutrisi menjadi lebih maksimal.

Penambahan minyak cengkeh dalam pakan juga dapat meningkatkan status kesehatan ikan dilihat dari kondisi gambaran darah. Darah bertanggung jawab untuk mengangkut oksigen, karbon dioksida, nutrisi dan hormon serta metabolisme dan juga terlibat dalam produksi antibodi (Aruldoss *et al.* 2014). Tidak ada perbedaan jumlah sel darah merah dan hematokrit pada semua perlakuan pakan. Namun, nilai hemoglobin terus meningkat seiring dengan meningkatnya dosis minyak cengkeh. Nilai tertinggi adalah pada perlakuan penambahan minyak cengkeh 100 mg 100 g⁻¹ pakan yaitu 10,8-13,6 g dL⁻¹. Nilai hemoglobin ikan pada umumnya menurut Svobodova & Vyuksova (1991) adalah 6-10 g dL⁻¹. Nilai hemoglobin pada perlakuan penambahan minyak cengkeh 100 mg 100 g⁻¹ pakan sedikit lebih tinggi daripada ikan normal, akan tetapi nilai tersebut masih dalam batas yang dapat ditoleransi ikan mas karena pertumbuhan ikan mas paling tinggi pada dosis tersebut.

Hemoglobin pada sel darah merah berfungsi mengangkut oksigen dan mengangkutnya dari insang ke jaringan tubuh untuk digunakan pada proses metabolisme untuk menghasilkan energi (Moyle & Cech 2004). Semakin tinggi nilai hemoglobin maka oksigen di dalam darah menjadi semakin banyak. Akibatnya proses pencernaan dan penyerapan nutrisi menjadi lebih baik, sehingga ikan akan lebih sehat dan tumbuh lebih baik karena energinya tercukupi. Pada akhirnya pakan lebih efisien dimanfaatkan untuk pertumbuhan dan efisiensi pakan menjadi meningkat. Akan tetapi, jumlah sel darah putih (leu-

kosit) pada perlakuan kontrol lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan minyak cengkeh lainnya, diduga pada perlakuan kontrol sistem imun ikan sedikit terganggu. Menurut Moyle & Cech (2004), leukosit merupakan sel darah yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh. Leukosit membantu membersihkan tubuh dari benda asing, termasuk invasi patogen melalui sistem imun. Ikan akan menghasilkan banyak leukosit untuk menyintesis antibodi dan memfagosit patogen. Akibat menurunnya sistem imun pada ikan adalah tingkat kelangsungan hidup ikan pada perlakuan kontrol sedikit menurun, namun pertumbuhannya tidak berbeda dengan penambahan minyak cengkeh 5 mg hingga 15 mg 100 g⁻¹ pakan.

Retensi protein menggambarkan jumlah protein pakan yang dikonsumsi dan digunakan untuk pertumbuhan dan membangun jaringan protein tubuh. Nilai retensi protein pada penelitian ini tidak berbeda secara signifikan pada semua perlakuan. Namun, nilai retensi lemak pada penambahan minyak cengkeh 15 mg dan 100 mg 100 g⁻¹ pakan memberikan hasil lebih tinggi daripada perlakuan kontrol. Tingginya nilai retensi lemak disebabkan ikan mas lebih dapat memanfaatkan protein dibandingkan dengan lemak sebagai sumber energi. Hal ini dilihat dari nilai retensi lemak yang lebih tinggi dibandingkan dengan nilai retensi protein. Lemak cenderung disimpan dalam jaringan sebagai penyusun struktur membran sel tubuh dibandingkan dimanfaatkan sebagai energi untuk pertumbuhan.

Hati adalah pusat metabolisme nutrisi yang berasal dari saluran pencernaan (Bozidar *et al.* 2011). Selain itu hati juga merupakan organ ekskresi yang berfungsi untuk menawarkan racun yang masuk ke dalam tubuh. Pada penelitian ini nilai IHS ikan pada perlakuan kontrol dan perlakuan minyak cengkeh tidak menunjukkan perbedaan. Hal yang serupa dengan penelitian Cabuk *et*

al. (2006), penambahan campuran minyak esensial (minyak oregano, minyak daun laurel, minyak daun sage, minyak daun myrtle, minyak biji fennel, dan minyak kulit jeruk) dengan dosis 24 dan 48 mg kg⁻¹ pakan tidak memengaruhi bobot hati ayam broiler. Penggunaan minyak cengkeh telah diakui aman oleh The United States Food and Drug Administration (USFDA) bila tidak melebihi dosis 1500 ppm di semua kategori makanan (Gulcin *et al.* 2012).

Berdasarkan uji pewarnaan gram dan karakteristik bakteri, ditemukan jenis bakteri dominan pada usus ikan mas. Pada semua perlakuan ditemukan jenis bakteri *Acinetobacter*. Jenis bakteri yang sama yaitu *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus* dan *Kurthia* ditemukan pada saluran pencernaan ikan bandeng (Aslamyah 2006). Selain itu ditemukan juga jenis bakteri *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, dan *Micrococcus* pada usus ikan *Glossogobius giuris* dan *Labeo rohita* (Latha & Mohan 2013). Berbagai jenis mikroba yang ditemukan tersebut merupakan mikroba normal di dalam usus. Namun demikian, tidak ditemukan jenis bakteri *Bacteroides* dan *Chromobacterium lividium* pada ikan bandeng tersebut. *Chromobacterium lividium* merupakan flora normal non patogen pada ikan dan organisme lainnya (Cowan 1974), sedangkan bakteri *Bacteroides*, yaitu bakteri yang umumnya ditemukan dalam saluran pencernaan ikan air tawar seperti ikan mas dan ikan nila. Bakteri ini juga sering ditemukan pada air dan sedimen kolam budidaya (Tsuchia *et al.* 2007). Keragaman jenis dan biomassa mikroflora usus yang bervariasi dipengaruhi oleh pakan dan media pemeliharaan ikan tersebut (Latha & Mohan 2013). Pada penelitian ini keseimbangan mikroflora dalam usus masih terjaga, hal itu dapat dilihat dari pertumbuhan ikan mas yang masih meningkat hingga dosis penambahan minyak ceng-

keh 100 mg 100 g⁻¹ pakan dengan kelangsungan hidup 100%.

Simpulan

Penambahan minyak cengkeh di dalam pakan dapat memperbaiki kinerja pertumbuhan ikan mas. Penambahan minyak cengkeh dengan dosis 100 mg 100 g⁻¹ pakan adalah perlakuan terbaik. Penggunaan dosis ini dalam pakan disarankan untuk diterapkan pada budi daya ikan guna meningkatkan kinerja pertumbuhan ikan mas, yaitu 100 mg 100 g⁻¹ pakan.

Daftar pustaka

- Abdel-Magied N, Ahmed AG. 2011. Efficacy of clove oil as an antioxidant against radiation risk in male rats. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* 4(3):939-955.
- Aruldoss K, Kannan K, Chandira A. 2014. Effect of *Cynodon dactylon* on the hematological parameters in the blood of *Oreochromis mossambicus*. *International Journal of Modern Research and Reviews* 2(5):171-177.
- Aslamyah S. 2006. Penggunaan mikroflora saluran pencernaan sebagai probiotik untuk meningkatkan pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan bandeng (*Chanos chanos* Forsscal). *Tesis*. Institut Pertanian Bogor, Bogor. 255 hlm.
- Bozidar SR, Marko BS, Zoran ZM, Vesna DP. 2011. Histological methods in the assessment of different feed effects on liver and intestine of fish. *Journal of Agricultural Sciences* 56(1):87-100.
- Cabuk M, Bozkurt M, Alcicek A, Akbas Y, Kucukyilmaz K. 2006. Effect of a herbal essential oil mixture on growth and internal organ weight of broilers from young and old breeder flocks. *South African Journal of Animal Science* 36(2):135-141.
- Cowan ST. 1974. *Manual for the Identification of Medical Bacteria*. Cambridge University Press. London. 165 p.
- Gaber MM. 2000. Growth response of Nile tilapia fingerlings (*Oreochromis niloticus*) fed diet containing different levels of clove oil. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries* 4(1):1-18.
- Goni P, Lopez P, Sanchez C, Gomez-Lus R, Becerril R, Nerin C. 2009. Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. *Food Chemistry* 116(4): 982-989.
- Gulcin I, Elmastas M, Aboul-Einin HY. 2012. Antioxidant activity of clove oil-a powerful antioxidant source. *Arabian Journal of Chemistry* 5(4): 489-499.
- Khojasteh B. 2012. The morphology of the post gastric alimentary canal in teleost fish. *International Journal of Aquatic Science* 3(2):71-88.
- Latha N, Mohan MR. 2013. The bacterial microflora in the fish organs-a public health aspect. *Indian Journal of Advances in Chemical Science* 1(3):139-143.
- Mehr MA, Hassanabadi A, Moghaddam HN, Kermanshahi H. 2014. Supplementation of clove oil essential oil and probiotic to the broiler's diet on performance, carcass traits and blood component. *Iranian Journal of Applied Animal Science* 4(1):117-122.
- Moyle PB, Cech Jr JJ. 2004. *Fishes. An Introduction to Ichthyology*. 5th Edition. Prentice Hall, Inc. New Jersey, USA. 726 p.
- Mu'nisa A. 2009. Aktivitas antioksidan dan antihiperkolesterolemia ekstrak daun cengkeh (*Eugenia aromatica* O.K) pada kelinci. *Disertasi*. Institut Pertanian Bogor, Bogor. 142 hlm.
- Nasir M. 2002. Pengaruh kadar selulosa yang berbeda dalam pakan terhadap panjang usus dan aktivitas enzim pencernaan benih ikan gurami (*Osphronemus gouramy* Lac.). *Tesis*. Institut Pertanian Bogor, Bogor. 55 hlm.
- [NRC] National Research Council. 1993. *Nutrient requirement of Fish*. Washington DC (US): National Academy Press. 124 p.
- Nunez L, D' Aquino M. 2012. Microbicide activity of clove essential oil (*Eugenia caryophyllata*). *Brazilian Journal of Microbiology* 43(4):1255-1260.
- Ogata M, Hoshi M, Urano S, Endo T. 2000. Antioxidant activity of eugenol and related monomeric and dimeric compounds. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 48(10):1467-1469.
- Svobodova Z, Vykusova B, 1991. *Diagnostic Prevention and Therapy of Fish Diseases and Intoxication*. Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology. Vodnany, Czechoslovakia. 270 p.

Tsuchia C, Sakata T, Sugita H. 2007. Novel ecological niche of *Cetobacterium somerae*, an anaerobic bacterium in the intestinal tracts of freshwater fish. *Letters in Applied Microbiology* 46(1): 43-48.

Watanabe T. 1988. *Fish Nutrition and Mariculture*. Department of Aquatic Biosciences. Tokyo University of Fisheries: JICA. 233 p.