

## ANALISIS AKTIVITAS ENZIM PENCERNAAN PROTEASE PADA LARVA IKAN BERONANG (*Siganus guttatus*)

Reni Yulianingsih dan Yohanes Teken

Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau, Maros

### ABSTRAK

Salah satu masalah utama dalam pemeliharaan larva ikan beronang adalah tingginya mortalitas larva pada awal pemeliharaan. Hal ini disebabkan kurang tersedianya pakan yang cocok, ukuran dan kandungan nutrisi yang seimbang bagi pertumbuhan, dan sintasan larva. Percobaan ini bertujuan untuk menentukan analisis aktivitas enzim pencernaan yang melalui enzim protease. Wadah yang digunakan adalah bak fiber volume 1 ton sebanyak 2 buah masing-masing dilengkapi dengan aerasi, setiap wadah diisi dengan 700 L air laut dengan salinitas 30 ppt. Pakan alami yang digunakan adalah rotifera, *nauplii artemia*, dan *tropocor* tiram. Analisis aktivitas enzim pencernaan dilakukan pada larva umur 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, dan 35 hari. Hasil analisis menunjukkan bahwa untuk aktivitas enzim protease pada umur 20 hari adalah 0,48 U/mL/menit. Aktivitas enzim pencernaan mengalami peningkatan seiring dengan perkembangan organ pencernaan, peran pakan alami, dan bertambahnya umur larva.

**KATA KUNCI:** analisis, aktivitas, enzim, protease

### PENDAHULUAN

Ikan beronang merupakan salah satu jenis ikan ekonomis yang memiliki potensi besar untuk dikembangkan kegiatan budidayanya. Ikan ini memiliki rasa daging yang lezat sehingga banyak diminati oleh konsumen di kawasan Indo-Pasifik Barat (Hara *et al.*, 1986a). Lante *et al.* (2007) telah berhasil melakukan perbenihan ikan beronang di hatcheri dan mampu menghasilkan benih hingga ukuran yuwana, meskipun jumlahnya masih sangat terbatas. Namun demikian masih terus dilakukan upaya perbaikan teknologi perbenihannya, sehingga diharapkan akan didapatkan teknologi perbenihan ikan beronang yang lebih baik untuk menghasilkan benih secara massal yang tidak tergantung musim.

*Problem* lain dalam produksi massal benih ikan beronang adalah ketergantungan pada pakan alami rotifera dan *nauplii artemia*. Harga artemia yang mahal menyebabkan perkembangan perbenihan ikan laut menjadi sangat lambat, karena cenderung biaya operasional khususnya dari pakan sangat tinggi, sementara harga jual benih tidak

seimbang dengan harga pakan. Selain itu, penggunaan pakan alami yang berkepanjangan tidak praktis dan kultur makanan alami secara massal sangat tergantung pada kondisi cuaca (Kurokawa *et al.*, 1998). Oleh karena itu, perlu adanya aplikasi pakan buatan dalam pemeliharaan larva dan yuwana ikan beronang. Aplikasi pakan buatan mikro (*microdiet*) dapat menjamin ketersediaannya, biaya produksi dapat lebih rendah dan lebih fleksibel (Gatesoupe & Luquet, 1981), serta komposisi nutrisinya dapat dibuat sesuai kebutuhan ikan budidaya. Namun beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian pakan buatan dalam pemeliharaan larva/yuwana ikan sering memiliki penampilan pertumbuhan dan sintasan ikan yang lebih jelek dibandingkan dengan pemberian pakan alami (Duray & Bagarinao, 1984; Haryati, 2002). Penampilan pertumbuhan ikan yang kurang baik tersebut kemungkinan disebabkan oleh waktu pemberian pakan buatan yang belum tepat sesuai dengan perkembangan organ dan aktivitas enzim pencernaan larva ikan. Jika waktu pemberian pakan tidak tepat, selain larva akan kekurangan energi dan nutrisi karena tidak dapat memanfaatkan pakan dengan baik.

Dengan demikian perlu dianalisis mengenai aktivitas enzim pencernaan pada larva ikan beronang dan mengevaluasi aktivitas pencernaan melalui enzim protease.

**BAHAN DAN METODE**

Wadah yang digunakan untuk penetasan telur dan pemeliharaan larva adalah berupa bak fiber volume 1 ton sebanyak 2 buah masing-masing dilengkapi aerasi untuk mensuplai oksigen. Setiap wadah diisi dengan 700 L air laut dengan salinitas 30-31 ppt yang telah disaring menggunakan saringan membran, kepadatan larva dalam wadah sekitar 50 ekor/L. Jenis pakan alami yang digunakan adalah rotifer, yang diperoleh dari kultur murni di laboratorium, selanjutnya dikultur massal pada bak yang bervolume 2 ton sebanyak 5 buah dengan menggunakan *nanno ucculata* sebagai makanan rotifer. Rotifer dan *nanno ucculata* dimasukkan ke wadah pemeliharaan sebagai makanan larva.

Bahan yang digunakan dalam percobaan ini terdiri atas bahan utama berupa larva ikan beronang umur 2, 5 10, 15, 20, 25, 30, dan 35 hari dan bahan kimia untuk melakukan analisis enzim protease di laboratorium.

Alat-alat yang akan digunakan terdiri atas peralatan di lapangan selama pengumpulan larva, antara lain: *cool box*, seser untuk pengambilan sampel larval serta es untuk mendinginkan sampel selama pengangkutan dari lapangan menuju laboratorium. Pengamatan aktivitas enzim menggunakan seluruh tubuh larva dan tidak dalam kondisi dipuasakan. Sampel tersebut dihancurkan dengan mortal sampai halus dan dihomogenkan dengan menambahkan 10 mL aquades dingin, kemudian disentrifus dengan kecepatan 15.000 rpm selama 20 menit pada suhu 4°C. Supernatan diambil sebagai ekstrak enzim kasar dan digunakan sebagai sampel untuk pengujian aktivitas enzim protease, pengamatan aktivitas enzim dilakukan di Laboratorium Nutrisi dan Teknologi Pakan BRPBAP Maros.

**METODE ANALISIS**

Analisis enzim protease ini dapat dilakukan dengan cara: menurut *Methods of Enzymatic Analysis* volume ke-2 (Bergmeyer & Grassi, 1983).

Bahan kimia	Sampel (mL)	Blanko (mL)	Standar (mL)
Buffer borat	1,0	1,0	1,0
Subtrat casein	1,0	1,0	1,0
HCl 0,05 mg/mL	0,2	0,2	0,2
Enzim dalam CaCl <sub>2</sub> 1:1	0,2	-	-
Aquades	-	0,2	-
Standar tirosin	-	-	Sesuai kepekatan

Diinkubasi dalam *shaker water bath* pada suhu 37°C selama 10 menit.

Bahan kimia	Sampel (mL)	Blanko (mL)	Standar (mL)
TCA 0,1 mol	3,0	3,0	3,0
Aquades	0,2	-	-
Enzim dalam CaCl <sub>2</sub> 1:1	-	0,2	0,2

Diamkan pada suhu 37°C selama 10 menit selanjutnya sentrifus dengan kecepatan 3.500 rpm selama 10 menit.

Bahan kimia	Sampel (mL)	Blanko (mL)	Standar (mL)
Filtrat	1,5	1,5	1,5
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	5,0	5,0	5,0
Folin	1,0	1,0	1,0

Diamkan pada suhu 37°C selama 20 menit, kemudian baca absorbannya pada panjang gelombang 550 nm.

**Pembuatan Larutan Pereaksi untuk Analisis Enzim Protease**

*Methods of Enzymatic Analysis* volume ke-2 (Bergmeyer & Grassi, 1983):

- Buffer Borat (0,01 m), timbang 0,026 asam borat dilarutkan dengan 250 mL aquades.
- Buffer Universal pH 7.0, timbang 2,007 g asam citrat + 1,297 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> + 0,589 g asam Borat (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) + 1,7554 g asam diethyl barbiturat dilarutkan dalam 300 mL aquades.

- Asam klorida (0,05 mg/mL), pipet HCl<sub>p</sub> (minimal 32%) sebanyak 4,9 mL encerkan menjadi 100 mL
- Larutan Buffer Casein 2% pH 8,0; timbang Casein 1 g dilarutkan dengan 30 mL *buffer universal* di dalam gelas piala 100 mL dengan pengaduk magnetik, tambahkan 1,35 mL NaOH sambil diaduk sampai seluruh Casein larut, kemudian ditetapkan volumenya menjadi 50 mL.
- Larutan Tirosin Standar (5 m mol/L), larutkan 45,3 mg Tirosin dalam 50 mL dengan aquades, larutan ini disimpan pada suhu 4°C dan dapat stabil selama 2 minggu.
- *Tri Chloroacetic Acid* (TCA) 0,1 M, larutkan 16,3 g TCA dalam 1 L akuades
- Folin, 30 mL larutan Folin dilarutkan dengan aquades sebanyak 60 mL
- Kalsium klorida (CaCl<sub>2</sub>) 10 m mol/L, timbang 0,0147 g CaCl<sub>2</sub> larutkan dengan 100 mL aquades.

menggunakan substrat kasein dan sebagai standar tirosin, yaitu dengan mengukur kemampuan enzim untuk menghidrolisis protein, sehingga dihasilkan tirosin, pengukuran dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 550 nm.

Aktivitas protease dihitung sesuai persamaan: (*Methods of Enzymatic Analysis* volume ke-2 (Bergmeyer & Grassi, 1983)).

$$U = \left[ \frac{\text{Act} - \text{Abl}}{\text{Ast} - \text{Abl}} \right] \times \frac{P}{T}$$

di mana:

- U = Unit aktivitas enzim protease
- Act = Nilai absorbansi contoh
- Abl = Nilai absorbansi blanko
- Ast = Nilai absorbansi standar
- P = Faktor pengenceran
- T = Waktu inkubasi dalam menit

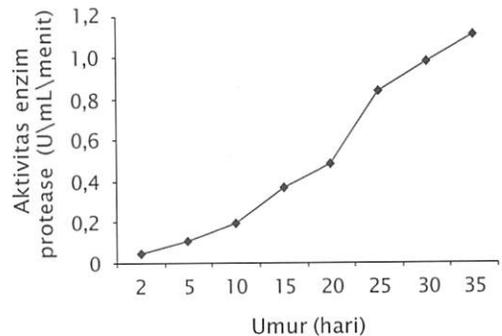
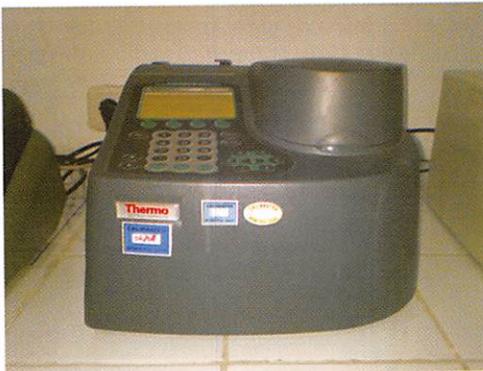
Aktivitas enzim protease larva ikan beronang yang dianalisis yaitu larva pada umur 2 sampai 35 hari disajikan pada Gambar 1.

Analisis aktivitas enzim pencernaan dilakukan mulai larva pada umur 2 hari, pada saat itu larva ikan beronang belum memperoleh makanan dari luar. Dari hasil analisis tersebut, diperoleh aktivitas enzim protease (Gambar 1).



## HASIL DAN BAHASAN

Analisis aktivitas enzim protease mengikuti metode Bergmeyer & Grassi (1983) dengan



Gambar 1. Aktivitas enzim protease larva ikan beronang umur 2 sampai 35 hari

Tingginya aktivitas enzim protease larva fase *endogenous*, hal ini disebabkan karena adanya proses hidrolisis protein pada cadangan kuning telur untuk dihasilkan energi bebas. Sesuai yang dilaporkan Kamler (1992) bahwa protein merupakan unsur dominan di dalam telur ikan, sebagian besar dari protein

tersebut ditransformasikan ke dalam jaringan embrionik dan sebagian lagi diubah menjadi energi. Sumber energi yang sangat penting selama perkembangan embrionik pada ikan-ikan laut. Di mana asam amino bebas tampaknya sangat dibutuhkan oleh larva terutama ketika cadangan energi dalam bentuk kuning telur telah sangat berkurang. Meskipun tidak seperti yang ditemukan oleh beberapa peneliti sebelumnya seperti Effendi (1996) pada larva ikan betutu *Oxyeleotris marmorata*, dan Suryanti (2002) mendapatkan aktivitas enzim protease (0,216 m/mL/menit) lebih kecil daripada aktivitas enzim lipase (0,267 m/mL/menit) larva ikan baung pada umur 2 hari hingga larva berumur 40 hari.

Tingginya aktivitas enzim protease pada fase *exogenous* ini disebabkan karena kandungan nutrisi pakan alami yang diberikan yaitu rotifera, seperti yang dilaporkan Haryati (2002) bahwa komposisi nutrisi rotifera di mana protein 54,32%; lemak 11,86%; dan abu 1,01%. Sedangkan komposisi nutrisi *nauplii Artemia* yang dilaporkan oleh Watanabe (1988) yaitu: protein 55,27%; lemak 16,02%; dan abu 7,20%. Dari penelitian ini juga dilaporkan bahwa aktivitas enzim protease pada pakan alami yang diberikan juga tinggi bila dibandingkan aktivitas enzim lainnya.

Seperti yang dilaporkan oleh Kamler (1992) bahwa peningkatan aktivitas enzim tersebut disebabkan oleh dua faktor yaitu: (1) semakin sempurnanya organ penghasil enzim (2) meningkatnya peran pakan alami yang merupakan sumber energi eksogen sejalan dengan menyusutnya kuning telur telah menyebabkan peningkatan konsumsi pakan. Sementara Walford *et al.* (1991) menyatakan bahwa pakan alami yang dikonsumsi akan memberikan kontribusi terhadap peningkatan aktivitas enzim tersebut di dalam saluran pencernaan.

Peningkatan aktivitas enzim yang cukup tinggi dapat dijadikan dasar untuk menentukan saat pakan buatan mulai dapat digunakan. Hal ini sesuai pendapat Gawlickka *et al.* (2000) menyatakan bahwa aktivitas enzim pencernaan adalah suatu indikator yang baik untuk menentukan kapasitas pencernaan, ketika aktivitas tinggi dapat diindikasikan secara fisiologis larva siap untuk memproses pakan dari luar. Berdasarkan perkembangan organ pencernaan dan aktivitas enzim tersebut, pakan buatan diduga baru dapat diberikan setelah larva berenang berumur 20

hari. Dengan demikian evaluasi terhadap aktivitas enzim tampak bahwa ada keterkaitan antara aktivitas enzim pencernaan dengan perkembangan organ pencernaan.

## KESIMPULAN

Dari hasil analisis dapat disimpulkan bahwa saat larva ikan berenang pada umur 20 hari. Peningkatan relatif maksimum aktivitas enzim protease terjadi pada saat larva umur 20 hari, sehingga untuk pemberian pakan buatan larva ikan berenang mulai umur 25 hari.

## DAFTAR ACUAN

- Bergmeyer, H.U. & Grassi, M. 1983. *Methods of Enzymatic Analysis*. Volume ke-2 Weinheim: Verlag Chemie.
- Duray, M. & Bagarinao, T. 1984. Weaning of hatchery-bred milkfish larvae from live food to artificial diets. *Aquaculture*, 41: 325-332.
- Effendi, I. 1995. *Perkembangan enzim pencernaan larva ikan betutu, (Oxyeleotris marmorata Belkr.)*. Tesis Magister Sains, Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 89 hlm.
- Gatesoupe, F. & Luquet, P. 1981. Practical diet for mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*: application to larva rearing of sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 22: 149-163.
- Gawlicka, A., Parent, B., Horn, M.H., Ross, N., Opsta, I., & Torrisen, O.J. 2000. Activity of digestive enzymes in yolk-sac larvae of atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*: indication of readiness for first feeding. *Aquaculture*, 184: 303-314.
- Hara, S., Cono, H., & Taki, Y. 1986a. Spawning behavior and early life history of the rabbitfish, *Siganus guttatus* in the laboratory. *Aquaculture*, 59: 273-285.
- Haryati. 2002. *Respon larva ikan bandeng (Chanos chanos Forskal) terhadap pakan buatan dalam sistem perbenihan*. Disertasi. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, 165 hlm.
- Haryati & Mokoginta, I. 2003. Perkembangan organ pencernaan dan aktivitas enzim protease larva ikan bawal air tawar (*Collosoma macropoma*). *J. Ilmu Kelautan dan Perikanan UNHAS, Torani*, 13(3): 129-134.
- Kamler, E. 1992. Early life history of fish: an energetics approach. *Fish and Fisheries*

- Series 4. Chapman and Hall. London-New York-Melbourne-Madras, 267 pp.
- Kurokawa, T., Shiraishi, M., & Suzuki, T. 1998. Quantification of exogenous protease derived from zooplankton in the intestine of Japanese sardine (*Sardinops melanoticus*) larvae. *Aquaculture*, 161: 491-499.
- Lante, S., Usman, Palinggi, N.N., & Rachmansyah. 2007. Uji coba pemijahan dan pemeliharaan larva ikan beronang *Siganus guttatus*. Laporan Hasil Penelitian, Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau, 7 hlm.
- Suryanti, Y. 2003. Perkembangan aktivitas enzim pencernaan pada larva ikan baung (*Mystus nemurus* C.V.). *J. Pen. Perik. Indonesia*, 8(3).
- Walford, J., Lim, T.M., & Lam, T.J. 1991. Replacing life food with microencapsulated diets in the rearing of sea bass *Lates calcarifer* larvae: do the larva ingest and digest protein membrane microcapsules. *Aquaculture*, 92: 225-235.
- Watanabe, W.O. 1988. Larvae and larval culture. in Lee, C.S., Gordon, M.S., & Watanabe, W.O. (Eds.). *Aquaculture of milkfish (Chanos-chanos): State of the art*. Oceanic Institute Hawaii, p. 117-152.