

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/btla>

UJI AKTIVITAS ENZIM PROTEASE PADA LARVA IKAN GABUS, *Channa striata* DENGAN PEMBERIAN PAKAN YANG BERBEDA

Mikdarullah dan Aditya Nugraha

Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan
Jl. Sempur No. 1, Bogor 16129
E-mail: peknisbppbat@yahoo.com

ABSTRAK

Perkembangan enzim protease pada larva ikan gabus merupakan hal yang sangat penting, karena perkembangan saluran pencernaan ikan pada umumnya mengalami perubahan yang sangat cepat, baik morfologi maupun fungsinya. Tujuan kegiatan ini adalah mengukur aktivitas enzim protease pada larva ikan gabus yang diberi pakan *Moina* sp. dan dilanjutkan pakan buatan. Analisis enzim protease dilakukan dengan membuat campuran yang terdiri atas 0,2 mL enzim larva ikan gabus hasil ekstraksi, 1 mL *buffer* fosfat 0,05 M (pH 7), 1 mL larutan substrat kasein 20 mg (pH 7), selanjutnya larutan tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit, kemudian ditambahkan 2 mL larutan asam trichloroacetic (TCA) 0,1M, lalu disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3.500 rpm. Pada filtrate yang dihasilkan ditambahkan 5 mL Na_2CO_3 0,4 M dan 1 mL Folin Ciocalteu kemudian diinkubasi kembali selama 20 menit pada suhu 37°C. Setelah itu dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang λ 650 nm. Hasil kegiatan ini menunjukkan bahwa aktivitas enzim protease larva ikan gabus sudah terdeteksi mulai hari pertama setelah menetas dan terlihat normal mulai pada hari ke-15, hal ini terlihat dari pakan yang diberikan sepenuhnya sudah berupa pakan buatan.

KATA KUNCI: ikan gabus; enzim protease; *Moina* sp.; pakan buatan

PENDAHULUAN

Ikan gabus *Channa striata* merupakan ikan asli perairan Indonesia dan merupakan komoditas yang dapat dikembangkan serta memiliki nilai ekonomis tinggi. Produk hasil budidaya ikan gabus dapat dimanfaatkan menjadi ikan konsumsi, baik dalam bentuk segar maupun diawetkan sebagai ikan asin (Surbakti, 2015). Pengembangan budidaya ikan gabus sampai saat ini masih mengandalkan hasil tangkapan dari alam sehingga produksi ikan gabus masih sangat terbatas. Upaya pengembangan budidaya ikan gabus menjadi solusi untuk memenuhi kebutuhan permintaan ikan gabus dari mulai benih sampai ukuran konsumsi.

Pada budidaya ikan gabus, fase pemeliharaan larva merupakan masa yang sangat penting dan kritis. Pada fase ini kondisi larva sangat kritis dan sensitif terhadap ketersediaan makanan. Larva ikan gabus seperti larva ikan lainnya, sistem pencernaan ikan pada stadia larva masih sederhana dan belum terdiferensiasi baik secara morfologi maupun fisiologis, sehingga diperlukan pemberian pakan alami yang sesuai (Suryanti, 2002). Jenis pakan alami yang dibutuhkan harus mengandung nutrisi yang sesuai dengan kebutuhan larva ikan, salah

satu jenis pakan alami yang sering diberikan pada larva yaitu *Moina* sp.

Pengetahuan tentang perkembangan enzim pencernaan pada larva ikan merupakan hal yang sangat penting dalam memahami mekanisme pertumbuhan dan sintasan larva ikan, karena saluran pencernaan ikan pada umumnya mengalami perubahan yang sangat cepat, baik morfologi maupun fungsinya selama proses ontogeni sehingga mempengaruhi sintasan larva selama kondisi budidaya (Yulintine *et al.*, 2012). Secara umum enzim yang utama dalam proses pencernaan adalah enzim protease, lipase, dan amilase (Affandi *et al.*, 2004).

Sumber energi utama bagi ikan adalah protein, sehingga enzim yang menjadi prioritas untuk diukur aktivitasnya adalah enzim protease. Aktivitas enzim protease adalah kemampuan enzim dalam membantu reaksi kimia untuk merubah protein menjadi sumber energi. Kemampuan enzim protease ini dapat dihitung dengan mengukur jumlah produk yang terbentuk, atau menghitung kurangnya substrat dalam satuan waktu tertentu. Enzim protease merupakan suatu katalisator biologis dalam reaksi-reaksi kimia yang sangat dibutuhkan dalam kehidupan (Affandi *et al.*, 2004).

Enzim protease digunakan untuk menghidrolisa protein menjadi bahan yang lebih sederhana. Dengan demikian, pakan yang dimakan oleh ikan bisa diserap untuk tumbuh dan berkembang dengan baik. Tujuan kegiatan ini adalah mengukur aktivitas enzim protease pada larva ikan gabus yang diberi pakan *Moina* sp. dan dilanjutkan pakan buatan.

BAHAN DAN METODE

Alat

Alat yang digunakan pada kegiatan ini antara lain adalah laminar flow, inkubator, erlenmeyer, sentrifugator vortek, tabung reaksi, timbangan digital, *hot plate*, *magnetic stirrer*, sentrifugator dingin, pipet, *waterbath*, *freezer*, *spectrometer*, PH meter, dan botol gelap (Gambar 1).

Bahan

Bahan yang digunakan pada analisis aktivitas enzim protease antara lain benih ikan gabus yang digunakan ukuran bobot $0,42 \pm 0,25$ mg dan panjang awal $5,43 \pm 0,25$ mm, *buffer phospat* 0,05 M pH 8, NaH_2PO_4 0,2 M (2,7598 g/100 mL), Na_2HPO_4 0,2 M (2,8392 g/100 mL), folin (Gambar 2).

Metode Pelaksanaan

Proses pembuatan reagen uji enzim protease

Siapkan *buffer phospat* 0,05 M pH 8. Kemudian masukkan NaH_2PO_4 0,2 M (2,7598 g/100 mL) sebanyak 5,3 mL ke dalam erlenmeyer yang sudah berisi 94,7 mL larutan Na_2HPO_4 0,2 M (2,8392 g/100 mL). Kemudian aduk hingga homogen, selanjutnya diukur pH sampai mencapai pH 8. Larutan disimpan di dalam botol gelap dan siap untuk digunakan.

Proses pembuatan larutan kasein

Siapkan 1 gram kasein, kemudian larutkan ke dalam 40 mL *buffer phospat* 0,05 M pada pH 8. Kemudian aduk sampai homogen menggunakan *magnetic stirrer*. Apabila larutan masih berwarna keruh, dihilangkan dengan menambahkan HCL 1 M selanjutnya ditera dengan aquades hingga total volume 50 mL.

Proses pembuatan larutan tyrosin

Timbang 0,0453 gram tyrosin lalu larutkan dalam 50 mL aquades, kemudian aduk sampai homogen menggunakan *magnetic stirrer*. Kekeruhan dihilangkan dengan menambahkan NaOH 1 M, sedangkan pH diatur dengan menambahkan HCL sampai mencapai pH 8.



Gambar 1. Beberapa alat yang digunakan untuk menganalisis aktivitas enzim protease: A. Hot plate, B. Inkubator, C. Spectrometer dan pH meter.



Gambar 2. Beberapa bahan yang digunakan untuk analisis aktivitas enzim protease.

Selanjutnya larutan ditera dengan aquades sampai mencapai volume 50 mL.

Proses pembuatan TCA 0,1 M

Larutan stok TCA 1 M dibuat dengan menambahkan sebanyak 16,339 gram TCA (*Trichloroacetic acid*) ke dalam 100 mL aquades diaduk sampai homogen. Selanjutnya untuk menjadi TCA 0,1 M, sebanyak 10 mL stok TCA 1 M dilarutkan ke dalam 90 mL Aquades.

Proses pembuatan NaCO₃ 0,4 M

Sebanyak 4,2397 gram NaCO₃ dilarutkan ke dalam 100 mL aquades, selanjutnya diaduk sampai homogen menggunakan *magnetic stirrer*, selanjutnya larutan tersebut simpan di dalam botol gelap.

Proses pengukuran uji aktivitas enzim

Pengukuran aktivitas enzim protease pada larva ikan gabus umur 1, 2, 3, 6, 10, 15, 20, dan 35 hari. Larva ikan gabus sebanyak 1 gram (sekitar 100 ekor) dimasukkan ke dalam tabung plastik ditambah larutan *buffer fosfat* pH 7 sebanyak 9 mL, kemudian digerus sampai hancur dan di-*sentrifuge* dengan kecepatan 12.000 rpm selama 12 menit pada suhu 4°C. Selanjutnya supernatan diambil untuk dilakukan pengujian aktivitas enzim protease. Untuk pengujian aktivitas protease, satu sampel yang sudah dipreparasi dibagi menjadi tiga bagian. Masing-masing bagian dimasukkan ke dalam tabung reaksi untuk pengukuran sebagai larutan sampel, larutan standar, dan larutan blangko.

Untuk membuat larutan sampel, sebanyak 0,2 mL enzim larva ikan gabus dimasukkan ke dalam 1 mL larutan *buffer fosfat* 0,05 M pH 8 ditambah 1 mL larutan kasein pH 8. Untuk membuat larutan standar, enzim ikan diganti dengan 0,2 mL larutan Tyrosin 5 mmol/L. Sedangkan untuk membuat larutan blangko, enzim ikan diganti dengan 0,2 mL aquades.

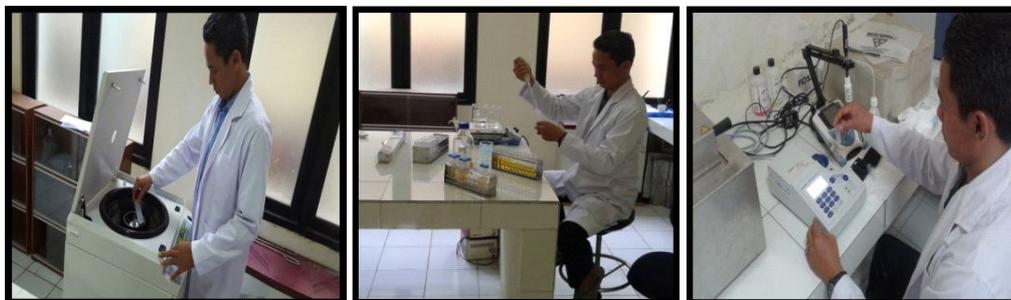
Selanjutnya masing-masing campuran enzim diaduk sampai homogen menggunakan sentrifugator vortex, kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C. Selanjutnya masing-masing larutan hasil inkubasi ditambahkan 2 mL larutan TCA 0,1 M. Untuk larutan sampel ditambahkan 0,2 mL aquades, sedangkan larutan standar dan blangko ditambahkan masing-masing 0,2 mL larutan sampel enzim. Semua larutan disentrifugasi kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit kemudian disentrifugasi selama 10 menit pada 3.500 rpm pada suhu 4°C. Hasil sentrifugasi, masing-masing supernatan diambil sebanyak 1,5 mL. Untuk proses terakhir masing-masing larutan supernatan ditambahkan 5 mL larutan NaCO₃ 0,4 M dan 1 mL larutan folin dengan perbandingan 1:2. Selanjutnya larutan diaduk sampai homogen menggunakan vortex dan diamati dengan cara diukur menggunakan spektrometer absorbansi pada λ 650 nm. Perhitungan aktivitas enzim protease mengacu pada metode Bergmeyer *et al.* (1983).

$$\text{Protease} = \frac{\text{Sampel} - \text{Blangko}}{\text{Standar} - \text{Blangko}} \times (\text{Faktor pengenceran}) \times \frac{1}{\text{Lama inkubasi}}$$

HASIL DAN BAHASAN

Hasil pengukuran terhadap aktivitas enzim protease pada larva ikan gabus yang dipelihara selama 35 hari disajikan pada Tabel 1. Aktivitas enzim protease pada larva ikan gabus yang diberi pakan *Moina* sp. sudah terdeteksi mulai hari pertama. Aktivitas enzim pada larva yang diberi pakan *Moina* sp. relatif lebih tinggi dibandingkan dengan aktivitas enzim protease pada saat masa peralihan untuk pergantian pakan. Aktivitas enzim protease kembali meningkat setelah hari ke-15 dan sudah diberi pakan buatan (*pellet*).

Aktivitas enzim protease pada larva ikan gabus yang diberi pakan *Moina* sp. relatif lebih tinggi. Hal ini diduga ketersediaan protein yang tersedia pada *Moina* sp. cukup tinggi. Sehingga larva ikan gabus yang



Gambar 3. Proses uji aktivitas enzim.

Tabel 1. Perkembangan enzim protease pada larva ikan gabus yang dipelihara selama 35 hari

Ulangan	Aktivitas enzim protease yang diberi pakan berbeda ($\mu\text{M}/\text{mg}$ protein)							
	<i>Moina</i> sp. (hari)					Masa peralihan (hari)	Pakan buatan/ pelet protein 40% (hari)	
	1	2	3	6	10	15	20	35
1	0,089	0,083	0,082	0,085	0,083	0,080	0,083	0,087
2	0,083	0,092	0,089	0,088	0,087	0,090	0,081	0,077
3	0,084	0,090	0,079	0,090	0,094	0,084	0,085	0,085
Rata-rata	$0,085 \pm 0,003$	$0,088 \pm 0,004$	$0,083 \pm 0,004$	$0,088 \pm 0,002$	$0,088 \pm 0,005$	$0,085 \pm 0,004$	$0,083 \pm 0,002$	$0,083 \pm 0,005$

baru berkembang organ pencernaannya dapat berkembang dengan baik karena enzim pencernaannya tersedia dari *Moina* sp. (Micale *et al.*, 2006).

Aktivitas enzim pada masa peralihan dari pakan hidup ke pakan buatan mengalami penurunan. Hal ini diduga larva ikan gabus mengalami masa transisi terhadap pakan yang dicerna. Sementara ketersediaan enzim protease di dalam tubuhnya masih sangat terbatas. Namun demikian, larva ikan gabus pada hari ke-10 sudah mempunyai kemampuan untuk mencerna pakan buatan karena enzim proteasenya sudah tersedia walaupun masih terbatas. Hasil menunjukkan bahwa seluruh enzim sudah tersedia dalam saluran larva ikan. Ketersediaan enzim ini juga menunjukkan perkembangan ontogeni saluran pencernaan di mana saluran pencernaan telah berfungsi secara sempurna untuk melakukan perombakan dan penyerapan nutrisi yang berasal dari pakan.

Setelah hari ke-15, larva ikan gabus sudah mempunyai kemampuan yang tinggi untuk mencerna pakan buatan. Hal ini terkait dengan aktivitas enzim protease yang sudah tersedia dengan baik. Tergambar dari hasil analisis, aktivitas enzim protease sampai umur ke 3-5 terus meningkat. Kondisi ini menggambarkan bahwa pada umur 15 hari setelah menetas, larva ikan gabus siap diberi pakan buatan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis terhadap aktivitas enzim protease pada larva ikan gabus menggambarkan pada umur 15 hari sudah siap diberikan pakan buatan. Hasil kegiatan ini menunjukkan bahwa aktivitas enzim protease larva ikan gabus sudah terdeteksi mulai hari pertama setelah menetas dan terlihat normal mulai

pada hari ke-15, hal ini terlihat dari pakan yang diberikan sepenuhnya sudah berupa pakan buatan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Kepala Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan, penelitian dibiayai dari APBN tahun 2016.

DAFTAR ACUAN

- Affandi, R., Sjafei, D.S., Raharjo, M.F., & Sulistiono. (2004). Fisiologi Ikan: Pencernaan dan Penyerapan Makanan. Departemen Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, 215 hlm.
- Micale, V., Garaffo, M., Genovese L, Spedicato, M.T., & Muglia, U. (2006). The ontogeny of the alimentary tract during larval development in common pandora *Pagellus erythrinus* L. *Aquaculture*, 251, 354-365.
- Surbakti, T. (2015). *Performa sintasan dan pertumbuhan larva ikan gabus (Channa striata) pada perlakuan pH yang berbeda*. Skripsi. Departemen Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor, 32 hlm.
- Suryanti, S. (2002). *Perkembangan aktivitas enzim pencernaan dan hubungannya dengan kemampuan pemanfaatan pakan buatan pada larva ikan baung, Mystus nemurus* C.V. Tesis. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 32 hlm.
- Yulintine, Harris, E., Jusadi, D., Affandi, R., & Alimuddin. (2012). Perkembangan aktivitas enzim pada saluran pencernaan larva ikan betok (*Anabas testudineus* bloch). *Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik*, 14(1), 59-67.