

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

UJI AKTIVITAS ENZIM AMILASE 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 16154

E-mail: pelnisbpbpat@yahoo.com

ABSTRAK

Salah satu enzim utama pada sistem pencernaan larva ikan adalah enzim amilase. Tujuan kegiatan ini adalah mengukur aktivitas enzim amilase pada larva ikan gabus yang diberi pakan *Moina* sp. dan dilanjutkan dengan pakan buatan. Proses pengukuran aktivitas enzim amilase dilakukan dengan cara mengambil sampel enzim dari larva ikan gabus sebanyak 1,5-2 g. Setelah larva ikan gabus diprevarasi, sebanyak 1 mL enzim diambil untuk dilarutkan dalam substrat pati 1% dan diaduk sampai homogen. Pembuatan larutan standar melalui pengambilan sampel enzim selulase sebanyak 1 mL kemudian dicampurkan kedalam 1 mL larutan buffer citrate pH 5,7. Proses pembuatan larutan blangko yaitu melalui pencampuran 1 mL substrat pati 1% dengan 1 mL larutan *buffer citrate* pH 5,7; selanjutnya diinkubasi selama satu jam pada suhu 50°C. Tahap selanjutnya adalah menghentikan proses inaktivasi sampel enzim dengan mendidihkan pada suhu 100°C selama lima menit. Tahap berikutnya adalah mengambil sebanyak 1 mL dari masing-masing larutan dan ditambah 1 mL DNS kemudian dididihkan pada suhu 100°C selama lima menit. Setelah larutan dingin, kemudian sampel enzim dibaca dengan menggunakan spectrometer absorbansi pada λ 550 nM. Hasil pengukuran terhadap aktivitas enzim amilase larva ikan gabus, sudah terdeteksi mulai umur dua hari dan mulai stabil setelah umur 11 hari sampai akhir pemeliharaan. Hasil ini menggambarkan, larva ikan gabus sudah mulai diadaptasikan pada pakan buatan mulai umur 11 hari.

KATA KUNCI: amilase; larva ikan gabus; *Moina* sp.; pakan buatan

PENDAHULUAN

Ikan gabus (*Channa striata*) merupakan ikan asli perairan Indonesia yang memiliki nilai ekonomis tinggi karena banyak dimanfaatkan oleh masyarakat terutama untuk dijadikan produk olahan dan produk konsumsi langsung (segar). Pemanfaatan ikan gabus tersebut menyebabkan kebutuhan ikan gabus di masyarakat cenderung semakin meningkat. Kondisi ini mendorong terhadap intensitas penangkapan ikan gabus di alam juga semakin meningkat. Semakin intensifnya penangkapan ikan gabus memberikan dampak terhadap menurunnya populasi ikan gabus di alam (Muslim & Syaifudin, 2012). Upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah dengan melakukan budidaya ikan gabus (Yulisman *et al.*, 2011).

Stadia yang paling kritis pada budidaya ikan gabus adalah fase pemeliharaan larva. Tingkat kesulitan pada fase larva adalah mengetahui kelengkapan sistem pencernaan, sehingga waktu pemberian pakan buatan sudah dapat diberikan. Menurut Melianawati *et al.* (2010), kemampuan larva untuk mencerna pakan masih

sangat terbatas apabila enzim pencernaannya belum sempurna. Aktivitas enzim yang meningkat diiringi dengan sistem pencernaan larva yang semakin sempurna, sehingga pemberian pakan alami terus-menerus tidak memberikan peningkatan aktivitas enzim. Hal ini dikarenakan sistem pencernaan telah baik untuk mencerna pakan buatan (Jusadi *et al.*, 2015).

Pengetahuan tentang perkembangan enzim pencernaan pada larva ikan merupakan hal yang sangat penting dalam memahami mekanisme pertumbuhan dan kelangsungan hidup larva ikan, karena saluran pencernaan ikan pada umumnya mengalami perubahan yang sangat cepat, baik morfologi maupun fungsinya selama ontogeni sehingga memengaruhi sintasan larva selama kondisi budidaya (Yulintine *et al.*, 2012). Enzim digunakan untuk menghidrolisis nutrisi menjadi bahan yang lebih sederhana, dengan demikian, pakan yang dimakan oleh ikan bisa diserap untuk pertumbuhan ikan tersebut. Enzim yang dikenal luas penggunaannya adalah enzim amilase, lipase, dan protease yang merupakan enzim hidrolitik pemecah

senyawa makromolekul karbohidrat, lemak, dan protein. Amilase merupakan enzim pencernaan yang memecah pati dan mengubahnya menjadi gula.

Tujuan kegiatan ini adalah mengukur aktivitas enzim amilase pada larva ikan gabus yang diberi pakan *Moina* sp. dan dilanjutkan pakan buatan.

BAHAN DAN METODE

Tahapan kegiatan yang dilakukan adalah pembuatan larutan uji dan menghitung aktivitas enzim amilase pada larva ikan gabus yang diawali dari pemisahan enzim dengan cara larva ikan gabus digerus sampai hancur kemudian disentrifius dan diambil supernatannya (ekstrak enzim) selanjutnya dihitung aktivitas amilasena. Kegiatan ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Nutrisi, Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan penyuluhan Perikanan Bogor, tahun 2017.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva ikan gabus, tepung pati, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, NH_4NO_3 , K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, ekstrak khamir, Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , citric acid, NaOH, DNS, Na K Tartarat, Na_2SO_4 , fenol, dan akuades (Gambar 1).

Sedangkan alat yang digunakan pada kegiatan ini antara lain: laminar flow, autoclave, inkubator, erlenmeyer, tabung reaksi, rak tabung, timbangan digital, *hot plate*, *magnetic stirrer*, sentrifius dingin, pipet, *yellow tip*, spektrometer, dan *waterbath* (Gambar 2).

Metode

Pembuatan larutan *buffer citrate* 0,1 M pH 5,7 (100 mL)

Siapkan sodium citrate 0,1 M (2,94 g/100 mL) sebanyak 76,4 mL ke dalam erlenmeyer yang sudah berisi 23,6 mL citric acid 0,1 M (2,1 g/100 mL).

Kemudian aduk hingga homogen, selanjutnya diukur pH sampai mencapai pH 5,7. Larutan disimpan di dalam botol gelap dan siap digunakan.

Pembuatan larutan *buffer phosphate* 0,1 M pH 7 (100 mL)

Siapkan NaH_2PO_4 0,2 M (2,76 g/100 mL) sebanyak 39 mL ke dalam erlenmeyer yang sudah berisi 61 mL Na_2HPO_4 0,2 M (2,84 g/100 mL). Kemudian aduk hingga homogen, selanjutnya diukur pH sampai mencapai pH 7. Larutan disimpan di dalam botol gelap dan siap digunakan.

Pembuatan larutan substrat pati 1% pH 5,0 (larutan *buffer citric Acid* + pati)

Siapkan sodium citrate 0,1 M (2,94 g/100 mL) sebanyak 38,2 mL ke dalam erlenmeyer yang sudah berisi 11,5 mL citric acid 0,1 M (2,1 g/100 mL). Kemudian aduk hingga homogen, selanjutnya tambahkan 1% tepung pati, aduk kembali sampai semua bahan homogen kemudian diukur pH sampai mencapai pH 5,0. Larutan disimpan di dalam botol gelap dan siap digunakan.

Pembuatan larutan DNS (di-nitrosolisilat)

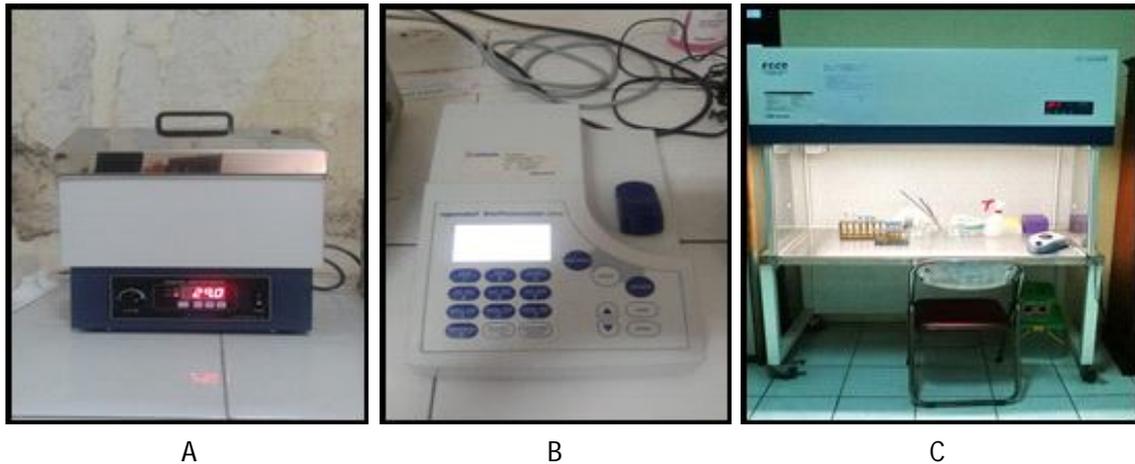
Sebanyak 1% NaOH dilarutkan ke dalam 500 mL akuades, kemudian ditambahkan sebanyak 1% DNS; 18,2% Na K tartarat (sodium tartarat); 0,2% fenol; 0,05% Na_2SO_4 . Campurkan semua bahan dan dilarutkan sampai homogen masukan ke dalam botol gelap dan disimpan di suhu 4°C.

Pembuatan larutan *saline* 0,85%

Akuades sebanyak 500 mL dimasukan ke dalam tabung erlenmeyer, kemudian masukan NaCl sebanyak 0,85%; aduk sampai homogen dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Selanjutnya tutup tabung erlenmeyer dengan alumunium *foil*. Sterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.



Gambar 2. Bahan kimia yang digunakan (A), Sampel ikan gabus (B).



Gambar 2. *Waterbath* (a), *spektrometer* (b), *laminarflow* (c).

Proses pengukuran aktivitas enzim amilase

Sebelum uji aktivitas amilase dilakukan, terlebih dahulu membuat kurva standar glukosa. Sebanyak 1.000 mg glukosa ditambahkan ke dalam erlenmeyer yang sudah berisi 1.000 mL akuades, kemudian diaduk hingga homogen. Larutan diencerkan menjadi berbagai konsentrasi dari 100-1.000 mg/L. Selanjutnya tiap konsentrasi dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 1 mL kemudian ditambahkan sebanyak 2 mL reagen DNS dan 1 mL K-Na-tartrat 4% setelah terbentuk kompleks warna. Tabung ditutup dengan aluminium foil dan dididihkan selama lima menit lalu diencerkan dengan menambahkan 20 mL akuades, kemudian dilakukan pengukuran absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm.

Pengukuran aktivitas amilase dilakukan pada larva ikan gabus umur 2, 3, 4, 6, 11, 16, 21, dan 36 hari. Larva ikan gabus sebanyak 1 g (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 amilase. Untuk pengujian aktivitas amilase, sebanyak 1 sampel enzim 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. Cara menyiapkannya adalah sebagai berikut:

- Larutan sampel: sebanyak 1 mL enzim larva ikan gabus dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 1 mL larutan substrat pati 1% dan diaduk sampai homogen.

- Larutan standar: sebanyak 1 mL enzim larva ikan gabus dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 1 mL larutan *buffer citrate* pH 5,7.
- Larutan blangko: sebanyak 1 mL substrat pati 1% dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 1 mL larutan *buffer citrate* pH 5,7.

Selanjutnya masing-masing dikocok dengan *vortex* sampai homogen, kemudian diinkubasi selama satu jam pada suhu 50°C. Untuk larutan sampel, enzim inaktivasi dengan proses pendidihan pada suhu 100°C selama lima menit. Setelah itu, dari masing-masing larutan tersebut diambil sebanyak 1 mL dan ditambah 1 mL DNS dan di-*vortex* kemudian dipanaskan pada suhu 100°C selama lima menit. Setelah larutan dingin diamati dengan menggunakan spektrometer absorbansi pada λ 550 nm. Perhitungan aktivitas enzim amilase (AEA) mengacu pada metode Bernfeld (1955):

$$AEA = \frac{\text{Gula pereduksi (mg/L)} \times F \times 1000}{\text{Waktu reaksi} \times \text{BM glukosa}}$$

HASIL DAN BAHASAN

Reagent yang digunakan pada uji ini salah satunya reagen DNS (3,5 dinitro salicylic acid) yang berfungsi sebagai pendeteksi adanya gula pereduksi pada sampel (disakarida: maltose yang merupakan hasil hidrolisis patiboleh enzim amilase). Oleh karena itu, *reagent* DNS sangat penting peranannya dalam menentukan aktivitas enzim amilase. Reagen DNS sebagai oksidator akan tereduksi oleh gula pereduksi yaitu maltosa menjadi asam amino dinitro salisilat dan terjadi perubahan warna kuning menjadi warna jingga. Oleh karena itu, semakin pekat warna yang dihasilkan maka semakin banyak gula yang terkandung. Gula pereduksi ini dihasilkan dari proses hidrolisis oleh



Gambar 3. Proses uji aktivitas enzim.

enzim amilase. Oleh karena itu, semakin besar aktivitas enzim amilase maka semakin banyak *reagent* DNS yang tereduksi oleh gula pereduksi dan perubahan warna menjadi lebih pekat.

Hasil pengukuran terhadap aktivitas amilase pada larva ikan gabus yang dipelihara selama 35 hari disajikan pada Tabel 1. Aktivitas amilase pada larva ikan gabus yang diberi pakan *Moina* sp. sudah terdeteksi mulai hari kedua. Aktivitas amilase pada larva yang diberi pakan *Moina* sp. relatif lebih tinggi dibandingkan dengan aktivitas amilase pada saat masa peralihan untuk pergantian ke pakan. Aktivitas amilase kembali meningkat setelah hari ke-11 dan sudah dapat diadaptasikan ke pakan buatan/pelet.

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

Aktivitas amilase pada masa peralihan dari pakan alami ke pakan buatan mengalami penurunan. Hal ini diduga larva ikan gabus mengalami masa transisi terhadap pakan yang dicerna. Sementara ketersediaan

enzim amilase di dalam tubuhnya masih sangat terbatas. Namun demikian, larva ikan gabus pada hari ke-11 sudah mempunyai kemampuan untuk mencerna pakan buatan karena enzim amilasennya sudah tersedia walaupun masih terbatas. Hasil menunjukkan bahwa aktivitas amilase 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 amilase yang sudah tersedia dengan baik. Tergambar dari hasil analisis, aktivitas amilase sampai umur ke-35 terus meningkat. Kondisi ini menggambarkan bahwa pada hari ke-11 hari setelah menetas, larva ikan gabus siap diadaptasikan ke pakan buatan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis terhadap aktivitas enzim amilase pada larva ikan gabus menggambarkan pada hari ke-11, larva ikan gabus sudah siap diadaptasikan ke pakan buatan.

Tabel 1. Perkembangan aktivitas amilase pada larva ikan gabus yang dipelihara selama 35 hari

Ulangan	Aktivitas amilase larva ikan gabus yang diberi pakan berbeda ($\mu\text{M}/\text{mg}$ protein)							
	<i>Moina</i> sp. (hari)				Masa peralihan (hari)		Pakan buatan/pelet protein 40% (hari)	
	2	3	4	6	11	16	21	36
1	0,005	0,005	0,006	0,003	0,009	0,007	0,005	0,007
2	0,005	0,002	0,004	0,008	0,006	0,006	0,011	0,008
3	0,008	0,007	0,002	0,01	0,006	0,006	0,007	0,009
Rataan	0,006 \pm 0,001	0,004 \pm 0,001	0,004 \pm 0,001	0,007 \pm 0,002	0,007 \pm 0,001	0,006 \pm 0,001	0,008 \pm 0,001	0,008 \pm 0,001

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Kepala Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan, penelitian dibiayai dari APBN tahun 2017.

DAFTAR ACUAN

- Bernfeld, P. (1955). *Amylases á and â: Methods in enzymol.* Academic Press.
- Jusadi, D., Anggraini, R.S., & Suprayudi, M.A. (2015). Kombinasi cacing *tubifex* dan pakan buatan pada larva ikan patin (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 14(1), 30-37.
- 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.
- Muslim & Syaifudin, M. (2012). Domestikasi calon induk gabus (*Channa striata*) dalam lingkungan budidaya (kolam beton). *Majalah Ilmiah Sriwijaya*, 18, 20-27.
- Melianawati, R., Andamari, R., & Setyadi, I. (2010). Identifikasi aktivitas enzim pencernaan untuk optimasi pemanfaatan pakan dalam usaha budidaya ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*). Laporan Akhir. Gondol: Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, 28 hlm.
- Yulisman, Jubaedah, D., & Fitriani, M. (2011). Pertumbuhan dan kelangsungan hidup benih ikan gabus (*Channa striata*) pada berbagai tingkat pemberian pakan. *Jurnal Ilmu Perikanan dan Kelautan*, 3(1), 43-48.
- 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.