

AKTIVITAS PROTEASE DAN AMILASE PADA IKAN SIDAT, *Anguilla bicolor* McClelland

MOHAMAD TAUFIK, HANA, UNTUNG SUSILO

Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Jalan dr. Suparno 63 Purwokerto 5312

ABSTRACT

This study was experimental, conducted using a Completely Randomized Design (CRD) with 3 x 2 factorial design, and four replicates have been carried out to evaluate the protease and amylase activities of *Anguilla bicolor* McClelland. A total of 71 individuals divided into three weight groups were used in this study. The first group with an average weight of 41.25 ± 0.898 g consisted of 51 eels, the second with an average weight of 319.8 ± 4.666 g composed of 14 eels, and the third with a mean weight of 569.5 ± 9.150 g consisted of 6 eels. The results showed the protease activity differed significantly based on eel size and intestinal segment ($P < 0.05$). This research recorded the highest protease activity was in eels within the smallest weight group (41.25 ± 0.898 g). This study also revealed the protease activity in the anterior intestine was higher than the posterior in all size of eels. The amylase activity did not differ significantly ($P > 0.05$) by eel size and intestinal segment. This study concluded the protein digestion capacity of smaller eels was higher than larger eels, and the protein digestion capacity was greater in the anterior intestine than the posterior intestine. The carbohydrate absorption capacity in eel was not affected by the variety of fish size which indicates no change in the feed category.

KEY WORDS: protease, amylase, intestine, eel

Penulis korespondensi: UNTUNG SUSILO | email: untung.susilo@unsoed.ac.id

Dikirim: 16-05-2017 | Diterima: 25-08-2017

PENDAHULUAN

Sidat (*Anguilla bicolor* McClelland) merupakan salah satu jenis ikan katadromus yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Hal tersebut karena sidat memiliki kandungan gizi yang lebih baik dibanding ikan lainnya, serta menjadi primadona di pasar internasional (Shiraishi & Crook, 2015). Namun, Indonesia sebagai salah satu negara eksportir sidat masih terhambat dengan permasalahan budidaya. Tingginya mortalitas sidat, lambatnya pertumbuhan, dan ketergantungan pada benih hasil tangkapan merupakan penyebab kurang terpenuhinya kebutuhan pasar (Murtini, 2015).

Salah satu upaya untuk meningkatkan keberhasilan budidaya ikan sidat adalah strategi pemberian pakan yang efektif dan efisien. Oleh karena itu, diperlukan pemahaman tentang keterkaitan antara nutrisi yang diberikan dengan pengetahuan kapasitas pencernaan ikan. Hal tersebut dapat membantu dalam meningkatkan efisiensi pemberian pakan (Abowei & Ekubo, 2011).

Kemampuan ikan dalam mencerna dan memanfaatkan nutrisi pakan sangat tergantung pada kemampuan sistem pencernaan yang tercermin sebagai aktivitas enzim yang ada di sepanjang saluran digesti (Sankar *et al.*, 2014). Oleh karena itu, pengukuran aktivitas enzim pencernaan dapat memberikan informasi tentang daya cerna terhadap pakan (Caruso *et al.*, 2009). Kajian aktivitas enzim digesti seperti protease dan amilase dapat digunakan untuk mengetahui kemampuan suatu spesies dalam mencerna protein dan karbohidrat (Hidalgo *et al.*, 1999; Klahan *et al.*, 2009).

Aktivitas protease dan amilase serta hubungannya dengan ukuran dan fase perkembangan ikan telah banyak diteliti pada spesies lain seperti pada *Mystus nemurus* (Suryanti, 2002); *Oreochromis niloticus* (Klahan *et al.*, 2009); *Bream Sharpshout* laut (Savona

et al., 2011); *Osteochilus hasselti* (Al-Gadri *et al.*, 2014); *Osphronemus gouramy* (Handayani *et al.*, 2008; Susilo *et al.*, 2015) dan *Anguilla bicolor* fase *glass eel* hingga *elver* (Mulyani *et al.*, 2016). Studi aktivitas enzim digesti dengan berbagai ukuran ikan pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pertumbuhan dan kompleksitas metabolisme menyebabkan perbedaan aktivitas enzim yang berkaitan dengan proses pencernaan pakan.

Studi aktivitas enzim pencernaan pada ikan sidat *Anguilla bicolor* masih belum banyak dilakukan. Oleh karena itu, penting dilakukannya penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas enzim pencernaan pada *Anguilla bicolor* dengan berbagai ukuran, sehingga dapat diperoleh informasi dasar tentang kemampuan cerna ikan sidat terhadap protein dan karbohidrat pakan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas protease dan amilase ikan sidat (*Anguilla bicolor* McClelland) dengan ukuran berbeda.

METODE

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 3 x 2 dengan 4 kali ulangan. Faktor pertama yang diuji yaitu ukuran ikan ($41,25 \pm 0,898$ g; $319,8 \pm 4,666$ g dan $569,5 \pm 9,150$ g), sedangkan faktor kedua yaitu saluran pencernaan yang dibagi menjadi dua segmen (usus depan dan usus belakang). Pengukuran setiap sampel dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali.

Ikan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Anguilla bicolor*. Karakter morfologi *Anguilla bicolor* diantaranya tubuh bulat memanjang, memiliki sirip dada (*pectoral*) sempurna pada bagian belakang tutup insang serta sirip punggung (*dorsal*), sirip ekor (*caudal*) dan sirip anal yang saling berhubungan, sirip punggung pendek (*shortfin*) yang dilengkapi dengan jari-jari lunak, mata tertutup oleh selaput, lubang hidung berpipa dan terletak di ujung muka dari mulut, mulut berbentuk horizontal sampai melewati mata. Bagian abdomen *Anguilla bicolor* memiliki warna kuning keemasan (*yellow eel*) atau warna perak pada *silver eel* (Sasono, 2001; Tesch, 2003). Sejumlah 51 ekor

Anguilla bicolor dengan berat rata-rata $41,25 \pm 0,898$ g; 14 ekor dengan berat $319,8 \pm 4,666$ g dan 6 ekor ikan sidat dengan berat $569,5 \pm 9,150$ g yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari pengepul ikan sidat di wilayah Segara Anakan, Cilacap. Penelitian dilakukan di Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Biologi Unsoed dan Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Biologi Unsoed, Purwokerto.

Bahan dan peralatan penelitian berupa Casein (Merck, Technical Grade), Tris (hydroxymethyl) aminomethane (Tris) (Sigma-Aldrich, ACS Reagent, > 99.8%), hydrochloric acid (Merck, 36.5–38.0%), Trichloroacetic acid (TCA, Merck, AG), 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) (Sigma-Aldrich, > 98%), Folin & Ciocalteu's phenol reagent (Sigma-Aldrich), Albumin Fraction V (Bio Basic Canada, > 98,0 %), Starch (Bio Basic Canada), High Purity centrifuge (Eppendorf, 5415 R), spectrophotometry (Hitachi, U-2900), single channel pipette (Serana), water bath (JEIO-TECH, WB-20E).

Isolasi saluran pencernaan dilakukan dengan membuat ikan sidat pingsan terlebih dahulu dengan cara merendamnya di dalam air es, sebelum dilakukan pembedahan. Saluran pencernaan yang telah dipisahkan dari tubuh, selanjutnya diambil bagian intestine, tepatnya usus setelah lambung. Preparasi saluran pencernaan dilakukan pada kondisi dingin yaitu di atas lempengan es. Sampel intestine selanjutnya dibagi menjadi 2 segmen (usus depan dan usus belakang). Sampel selanjutnya dimasukkan ke dalam botol film, ditutup rapat dan disimpan pada *refrigerator* suhu -80 °C.

Pembuatan ekstrak kasar enzim dilakukan dengan melumat sampel usus yang telah diisolasi menggunakan *homogenizer* elektrik dengan ditambahkan 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7,5) dingin dengan rasio 1:8 (w/v). Homogenat yang diperoleh ditampung dalam tabung *ependorf* kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4 °C. Supernatan hasil sentrifugasi dipisahkan dan ditampung di dalam tabung *ependorf* bervolume 1500 µL. Supernatan selanjutnya disimpan pada *refrigerator* suhu -80 °C dan siap digunakan untuk uji aktivitas enzim. Kadar protein terlarut pada supernatan diukur dengan metode Biuret (Lowry *et al.*, 1951) dengan menggunakan albumin sebagai standard.

Aktivitas protease diukur menggunakan metode dari Furne *et al.* (2005) dengan modifikasi. Aktivitas protease diukur menggunakan buffer 0,1 M Tris-HCl (pH 8,1). Campuran reaksi yang terdiri atas buffer (350 µL), substrat kasein 1% (350 µL) dan ekstrak enzim (50 µL) diinkubasi selama 30 menit pada waterbath dengan temperatur 37 °C. Setelah inkubasi, reaksi dihentikan dengan menambahkan 750 µL larutan TCA 8 %. Prosedur yang sama dilakukan pada blanko, kecuali ekstrak enzim ditambahkan setelah pemberian TCA 8 %. Semua tabung berisi campuran reaksi dimasukkan ke dalam *refrigerator* suhu 10 °C selama 60 menit untuk mempercepat pengendapan dan mencegah kerusakan sampel. Setelah 60 menit dalam *refrigerator*, semua isi tabung reaksi dipindahkan kedalam tabung *ependorf* volume 1500 µL. Campuran reaksi kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 6.000 rpm suhu 4 °C selama 10 menit pada. Absorbansi tirosin sebagai produk hidrolisis kasein oleh aktivitas protease yang diukur menggunakan spektrofotometer pada λ 280 nm. Kurva standar tirosin dibuat dengan konsentrasi tirosin diantara 25–400 µg/mL. Aktivitas protease dihitung sebagai jumlah enzim yang diperlukan untuk mengkatalis pembentukan 1 µg tirosin /mg protein /menit.

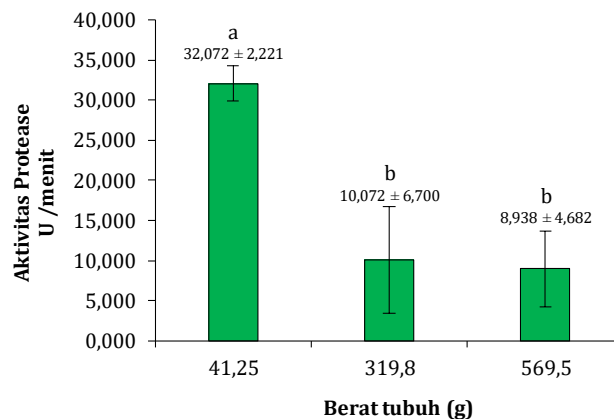
Aktivitas amilase diukur menggunakan metode dari Savona *et al.* (2011) dengan modifikasi. Buffer yang

digunakan adalah buffer fosfat 0,1 M dengan pH 6,9. Campuran reaksi yang terdiri atas buffer (350 µL), substrat amilum 1 % (350 µL) dan ekstrak enzim (50 µL) diinkubasi pada temperatur 37 °C selama 15 menit. Pada akhir inkubasi ke dalam campuran reaksi ditambahkan larutan DNS 1 % untuk menghentikan reaksi. Pada blanko dilakukan prosedur yang sama, kecuali ekstrak enzim ditambahkan setelah pemberian DNS 1 %. Campuran reaksi kemudian dimasukkan kedalam air mendidih (suhu 100 °C) selama 5 menit. Campuran reaksi kemudian didinginkan pada suhu ruang. Pada campuran reaksi kemudian ditambahkan akuabides sebanyak 3,0 mL dan dihomogenkan dengan vortex. Absorbansi maltose sebagai produk hidrolisis amilum oleh aktivitas amilase yang diukur menggunakan spektrofotometer pada λ 540 nm. Kurva standar maltose dibuat dengan konsentrasi maltose diantara 0,21–3,36 µmol/mL. Aktivitas amilase dihitung sebagai jumlah enzim yang diperlukan untuk mengkatalis pelepasan maltose (µmol)/mg protein /menit.

Data hasil pengukuran aktivitas protease dan amilase dianalisis menggunakan *univariate* dan *one way analysis of variance* (ANOVA) pada tingkat kepercayaan 95% dan dilanjutkan dengan uji Tukey. Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan SPSS® versi 21 Windows® software.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rata-rata aktivitas protease ikan sidat dengan kelompok ukuran $41,25 \pm 0,898$ g adalah $32,072 \pm 2,221$ U /menit, sidat dengan berat tubuh $319,8 \pm 4,666$ g memiliki aktivitas protease $10,072 \pm 6,700$ U /menit, dan sidat dengan berat $569,5 \pm 9,150$ g memiliki aktivitas protease $8,938 \pm 4,682$ U /menit (Gambar 1). Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan aktivitas protease yang signifikan diantara ukuran ikan yang berbeda dan sidat pada ukuran $41,25 \pm 0,898$ g secara signifikan ($P < 0,05$) memiliki aktivitas protease lebih tinggi dibandingkan aktivitas protease pada ikan sidat berukuran $319,8 \pm 4,666$ g dan $569,5 \pm 9,150$ g. Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa terdapat perbedaan kapasitas pencernaan protein yang tercermin sebagai aktivitas protease, diantara ikan dengan ukuran yang berbeda dan ikan dengan ukuran kecil memiliki kapasitas pencernaan protein yang lebih tinggi dibandingkan ikan dengan ukuran yang lebih besar.



Gambar 1. Rata-rata (\pm SD) aktivitas protease ikan sidat dengan berat tubuh berbeda. Rata-rata dengan superscript berbeda adalah berbeda secara signifikan ($P < 0.05$).

Ikan sidat fase *yellow eel* yang berukuran kecil diduga memiliki kebutuhan protein pakan yang lebih tinggi untuk menunjang pertumbuhan dan perkembangannya. Hal ini karena protein pakan akan digunakan sebagai sumber energi untuk metabolisme, selain itu protein merupakan nutrisi utama untuk pertumbuhan dan pemeliharaan tubuh. Protein dalam jumlah yang optimum akan bersinergi dengan pertumbuhan ikan apabila kebutuhan untuk pemeliharaan tubuh telah terpenuhi (Yandes *et al.*, 2003; Marzuqi & Anjusary, 2013).

Adanya aktivitas protease yang tinggi berkaitan dengan peran pankreas dalam sekresi enzim yang bekerja saat ikan dalam fase pertumbuhan. Pankreas pada ikan yang masih dalam masa pertumbuhan akan lebih aktif mensekresi enzim pencernaan. Pankreas yang mensekresi enzim dalam jumlah sedikit menyebabkan aktivitas enzim di saluran pencernaan akan rendah, sebaliknya apabila sekresinya banyak maka aktivitasnya akan meningkat (Chakrabarti *et al.*, 2006). Hal ini mengindikasikan bahwa tingginya sekresi enzim pencernaan pada ikan sidat berukuran kecil. Namun, jumlah sekresi enzim pencernaan akan mengalami perubahan seiring dengan perubahan kebiasaan makan ikan. Perubahan ini berkaitan dengan jenis pakan (substrat) yang dikonsumsi.

Jenis makanan yang dikonsumsi ikan sidat berbeda berdasarkan fase perkembangannya. Makanan yang dikonsumsi ikan sidat pada *leptocephalus* adalah mikroplankton, sedangkan pada stadia *glass eel* (dengan ukuran 5-8 cm) adalah kelompok fitoplankton dan zooplankton. Pada stadia *elver* (dengan ukuran 10-14 cm) makanan alami yang dominan adalah zooplankton. Stadia *yellow eel* (dengan ukuran 15-20 cm) makanan yang banyak ditemukan dalam saluran pencernaannya adalah *crustacea* dan ikan-ikan kecil (Murtini, 2015). Sidat *silver eel* pada habitat alaminya memakan insekta benthik, Polychaeta, Malacostraca, dan Gastropoda (Setijanto *et al.*, 2014). Perbedaan kebiasaan makan ikan sidat pada habitat alaminya berdampak pada perbedaan aktivitas protease diantara ikan sidat dengan ukuran berbeda.

Perubahan aktivitas enzim dapat dipengaruhi oleh konsentrasi enzim dan konsentrasi substrat. Konsentrasi enzim berdampak pada kecepatan reaksi katalitik enzim, ketika konsentrasi enzim meningkat maka kecepatan reaksinya juga meningkat, sebaliknya jika konsentrasi enzim rendah maka kecepatan reaksi akan semakin lambat. Konsentrasi substrat yang semakin meningkat akan meningkatkan kecepatan reaksi sampai titik tertentu (V_{max}). Peningkatan konsentrasi substrat yang melebihi V_{max} tidak mengubah laju reaksi secara signifikan (Saryono, 2011). Hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan aktivitas protease pada sidat berukuran lebih besar (berat $319,8 \pm 4,666$ g dan $569,5 \pm 9,150$ g). Hal tersebut dapat disebabkan oleh rendahnya konsentrasi enzim dalam saluran pencernaan atau konsentrasi substrat yang sudah melewati batas

optimum. Jadi, meskipun substrat (pakan) yang dikonsumsi ikan banyak, jika konsentrasi protease dalam saluran pencernaan rendah maka aktivitas protease tidak mengalami peningkatan.

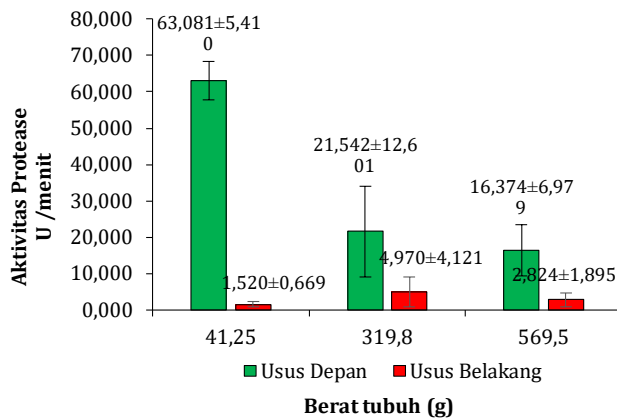
Fenomena penurunan aktivitas protease berdasarkan ukuran dan fase perkembangan juga dijumpai pada penelitian sebelumnya, Chiu & Pan (2002) melaporkan bahwa ikan sidat *Anguilla japonica* pada fase juvenil memiliki aktivitas protease 1,5 hingga 2 kali lebih tinggi dibanding dengan aktivitas protease sidat dewasa. Pola yang sama dijumpai pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) (Klahan *et al.*, 2009) dan ikan kerapu (*Lutjanus guttatus*) (Peña *et al.*, 2015). Jadi aktivitas protease cenderung menurun seiring dengan penambahan berat tubuh dan umur ikan. Perubahan tersebut diakibatkan oleh perbedaan ontogenik ikan serta perubahan kebiasaan makan atau interaksi dari keduanya (Pujante *et al.*, 2016).

Keberadaan enzim pencernaan merupakan indikator biologis terhadap kemampuan ikan untuk mencerna makanannya. Ketika aktivitas enzim tinggi, maka secara fisiologis tubuh ikan telah mampu mencerna nutrisi pakan yang diberikan (Gawlicka *et al.*, 2000). Peningkatan aktivitas protease pada ikan berhubungan erat dengan kebutuhan protein tubuh (Marzuqi & Anjusary, 2013). Berdasarkan hal tersebut, sidat fase awal *yellow eel* ($41,25 \pm 0,898$ g) memiliki kemampuan yang tinggi untuk mencerna protein pakan. Selain itu sidat fase awal *yellow eel* ($41,25 \pm 0,898$ g) membutuhkan pakan dengan komposisi protein yang lebih tinggi daripada sidat fase *silver eel* ($569,5 \pm 9,150$ g). Hasil ini dapat menjadi bahan pertimbangan dalam formulasi pakan untuk ikan sidat. Namun informasi mengenai prosentase optimal kebutuhan protein perlu dilakukan kajian lebih lanjut.

Hasil pengukuran aktivitas protease ikan sidat berdasarkan segmen usus tertera pada gambar 2. Aktivitas protease ikan sidat ukuran $41,25 \pm 0,898$ g berkisar antara $63,081 \pm 5,410$ U /menit pada usus depan (*foregut*) dan $1,510 \pm 669$ U /menit pada usus belakang (*hindgut*), pada ukuran $319,8 \pm 4,666$ g berkisar antara $21,542 \pm 12,601$ U /menit pada usus depan dan $4,970 \pm 4,121$ U /menit pada usus belakang, sedangkan sidat ukuran $569,5 \pm 9,150$ g berkisar antara $16,374 \pm 6,979$ U /menit pada usus depan dan $2,824 \pm 1,895$ U /menit pada usus belakang. Hasil analisis varian menunjukkan adanya perbedaan aktivitas protease yang signifikan ($P < 0,05$) diantara segmen usus yang berbeda. Hal tersebut memperlihatkan bahwa terdapat perbedaan aktivitas protease antara usus depan dengan usus belakang yang terjadi pada semua ukuran ikan sidat. Aktivitas protease terjadi di sepanjang usus, namun aktivitas protease pada usus depan lebih tinggi dibanding aktivitas protease pada usus belakang.

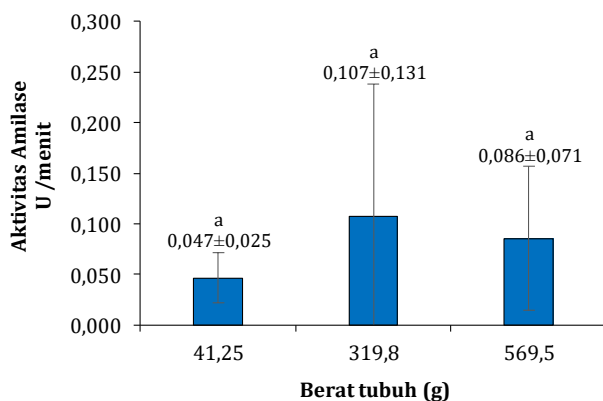
Fenomena keberadaan dan distribusi aktivitas protease pada saluran digesti ikan sidat juga dilaporkan pada penelitian sebelumnya seperti pada

spesies *Anguilla rostrata* (Wang, 2007), *Anguilla anguilla* (Caruso *et al.*, 2008; Kuzir *et al.*, 2012), dan *Anguilla japonica* (Murashita *et al.*, 2013; Lin *et al.*, 2015). Protease terdistribusi sepanjang saluran digesti yaitu lambung, hepatopankreas dan *instetine* (usus). Aktivitas protease tertinggi dijumpai pada organ usus terutama usus bagian anterior. Pola yang sama juga dijumpai pada ikan *Oreochromis niloticus* (Klahan *et al.*, 2009), *Glyptosternum maculatum* (Xiong *et al.*, 2011), dan *Osphronemus gouramy* (Susilo *et al.*, 2015).



Gambar 2. Rata-rata (\pm SD) aktivitas protease ikan sidat dengan ukuran berbeda.

Berdasarkan hasil pengukuran aktivitas amilase, ikan sidat dengan berat tubuh $41,25 \pm 0,898$ g memiliki rata-rata aktivitas amilase $0,047 \pm 0,025$ U /menit, sidat dengan berat tubuh $319,8 \pm 4,666$ g memiliki rata-rata aktivitas amilase $0,107 \pm 0,131$ U /menit, dan ikan sidat dengan berat tubuh $569,5 \pm 9,150$ g memiliki rata-rata aktivitas amilase $0,086 \pm 0,071$ U /menit (Gambar 3). Hasil uji ANOVA memperlihatkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan diantara aktivitas amilase ikan sidat dengan berat tubuh berbeda ($P > 0,05$). Hal tersebut dapat diartikan bahwa ikan sidat memiliki aktivitas amilase yang sama diantara ikan dengan berat tubuh berbeda.



Gambar 3. Rata-rata (\pm SD) aktivitas amilase ikan sidat dengan berat tubuh berbeda.

Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya pada sidat fase *glass eel* yang menunjukkan peningkatan aktivitas amilase

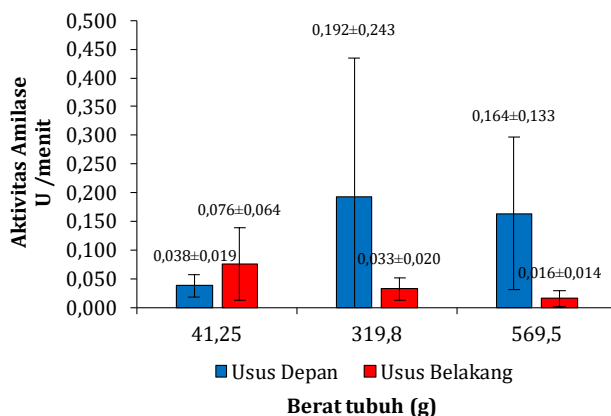
meskipun aktivitasnya masih rendah (Mazurais *et al.* 2013; Mulyani *et al.*, 2016). Namun, rendahnya aktivitas amilase pada berbagai ukuran ikan sidat juga pernah dilaporkan pada sidat spesies *Anguilla japonica* (Murashita *et al.*, 2013). Wang (2007), juga telah menunjukkan bahwa amilase ditemukan di sepanjang usus sidat serta aktivitasnya lebih rendah dari protease. Hal tersebut terjadi karena sidat merupakan ikan karnivora. Ditinjau dari jenis pakan alami yang ditemukan pada saluran pencernaannya, ikan sidat sejak fase *glass eel* hingga *silver eel* lebih dominan mengkonsumsi pakan dengan kandungan tinggi protein dan konsumsi karbohidratnya rendah (Setijanto *et al.*, 2014; Murtini, 2015). Hal tersebut mengakibatkan aktivitas amilasena rendah dan cenderung konstan, sehingga tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata diantara ikan sidat dengan ukuran berbeda.

Ikan karnivora membutuhkan pakan yang kaya akan protein dan lipid, sedangkan konsumsi karbohidratnya rendah. Sesuai dengan pernyataan Furne *et al.*, (2005) bahwa aktivitas enzim pada saluran pencernaan ikan dipengaruhi oleh kebiasaan makan. Ikan herbivora memiliki aktivitas amilase lebih tinggi daripada aktivitas protease dan lipase, sedangkan pada ikan omnivora dan karnivora aktivitas protease dan lipase akan lebih tinggi daripada amilasena. Al-Tameemi *et al.* (2010) juga telah menunjukkan bahwa aktivitas amilase pada tiga spesies ikan Cyprinidae (*Barbus sharpeyi*, *Cyprinus carpio*, *Aspius vorax*) berkorelasi dengan kebiasaan makan ikan. *Barbus sharpeyi* yang merupakan ikan herbivora memiliki aktivitas amilase yang lebih tinggi daripada *Cyprinus carpio* (omnivora), maupun *Aspius vorax* (karnivora). Perubahan katagori pakan dari omnivore menjadi herbivore yang menghasilkan peningkatan aktivitas amilase juga telah ditunjukkan pada ikan *Chelon labrosus* (Pujante *et al.*, 2016). Jadi tampaknya ikan sidat, yang termasuk ikan karnivora memiliki kebutuhan karbohidrat yang rendah, sehingga memiliki aktivitas amilase yang rendah dan tidak mengalami perubahan aktivitas dengan perubahan ukuran ikan.

Perbandingan rata-rata aktivitas amilase ikan sidat berdasarkan segmen usus tertera pada gambar 4, terlihat bahwa aktivitas amilase ikan sidat dengan rata-rata berat tubuh $41,25 \pm 0,898$ g adalah $0,038 \pm 0,019$ U /menit pada usus depan (*foregut*) dan $0,076 \pm 0,064$ U /menit pada usus belakang (*hindgut*), ikan dengan rata-rata berat tubuh $319,8 \pm 4,666$ g adalah $0,192 \pm 0,243$ U /menit pada usus depan dan $0,033 \pm 0,020$ U /menit pada usus belakang, sedangkan ikan dengan rata-rata berat tubuh $569,5 \pm 9,150$ g berkisar antara $0,164 \pm 0,133$ U /menit pada usus depan dan $0,016 \pm 0,014$ U /menit pada usus belakang. Hasil analisis varian menunjukkan bahwa aktivitas amilase tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P > 0,05$) diantara segmen usus ikan sidat. Aktivitas amilase terdistribusi di sepanjang usus, aktivitas amilase pada usus depan cenderung sama dengan

aktivitas amilase pada usus belakang.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa aktivitas amilase terdeteksi pada beberapa organ pencernaan seperti hepatopankreas dan intestine pada sidat spesies *Anguilla rostrata* (Wang, 2007), dan *Anguilla anguilla* (Jingliang *et al.*, 2008). Rendahnya keberadaan amilase di sepanjang saluran pencernaan juga dijumpai pada *Glyptosternum maculatum* (Xiong *et al.*, 2011). Hal ini mengindikasikan bahwa hepatopankreas pada ikan karnivora mensekresi amilase kedalam usus dalam konsentrasi yang rendah. Rendahnya konsentrasi amilase dalam usus menyebabkan aktivitas amilase menjadi rendah. Aktivitas amilase tidak menunjukkan perbedaan antar segmen usus.



Gambar 4. Rata-rata (\pm SD) aktivitas amilase ikan sidat pada tiga ukuran tubuh berbeda.

Aktivitas amilase tidak dipengaruhi oleh ukuran ikan sidat. Oleh karena itu, meskipun ikan sidat yang digunakan ukurannya tidak sama, aktivitas amilasena sama. Namun berbeda pada ikan herbivora seperti ikan *Jian carp* (*Cyprinus carpio* var. *Jian*), fungsi hepatopankreas dipengaruhi oleh perubahan ukuran dan berat tubuh. Pertambahan ukuran tubuh pada *Jian carp* menunjukkan penurunan fungsi sekresi enzim oleh pankreas (*negative allometry*) sehingga beberapa enzim pencernaan seperti amilase mengalami penurunan aktivitas (Jiang *et al.*, 2015).

Lundstedt *et al.* (2004) menyatakan bahwa selain kadar pakan, faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas amilase ikan yaitu kemampuan usus, kebiasaan makan, kompleksitas struktur pakan, suhu dan musim. Aktivitas amilase dalam usus dipengaruhi oleh kelenjar pencernaan (hepatopankreas), pH, temperatur, jumlah protease aktif di dalam usus, konsentrasi enzim dengan substrat dan kebiasaan makan ikan (Caruso *et al.*, 2008; Murashita *et al.*, 2013; Pujante *et al.*, 2016). Lebih lanjut, Novita *et al.* (2006) menyatakan bahwa perubahan pH dan temperatur akan berpengaruh terhadap perubahan muatan dan struktur pada enzim maupun substrat yang selanjutnya dapat memberikan dampak pada stabilitas reaksi enzimatik.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ikan sidat fase awal *yellow eel* hingga *silver eel* (berat rata-rata

41,25 \pm 0,898 hingga 569,5 \pm 9,150 g/ekor) tampaknya memiliki kebutuhan pakan dengan prosentase karbohidrat yang hampir sama. Jika dibandingkan dengan rata-rata hasil pengukuran aktivitas protease, aktivitas amilase lebih rendah dibanding protease. Hal tersebut mengindikasikan bahwa kebutuhan karbohidrat pakan ikan sidat tidak melebihi kebutuhan protein pakan. Berdasarkan hal tersebut maka dalam usaha budidaya ikan sidat sebaiknya tidak memberikan pakan dengan komposisi yang kaya akan karbohidrat, dan lebih banyak prosentase proteinnya. Namun, penentuan prosentase protein dan karbohidrat pakan secara kuantitatif masih memerlukan kajian nutrisi lebih lanjut.

KESIMPULAN

Kapasitas pencernaan protein ikan sidat berukuran kecil lebih tinggi dari pada yang berukuran lebih besar, namun kapasitas pencernaan karbohidrat tidak mengalami perubahan dengan perubahan ukuran ikan sidat. Proses pencernaan protein pakan lebih dominan terjadi pada usus depan, sedangkan proses pencernaan karbohidrat pakan tidak menunjukkan perbedaan antar segmen usus.

DAFTAR REFERENSI

- Abowei JFN, Ekubo AT. 2011. Some principles and requirements in fish nutrition. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*. 2(4):163–178.
- Al-Gadri SF, Susilo U, Priyanto S. 2014. Aktivitas protease dan amilase pada hepatopankreas dan intestine ikan nilam (*Osteochilus Hasselti* C.V.). *Scripta Biologica*. 1(1):43–48.
- Al-Tameemi R, Aldubaikul A, Salman NA. 2010. Comparative study of α -amylase activity in three cyprinid species of different feeding habits from Southern Iraq. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 10:411–414.
- Caruso G, Denaro MG, Genovese L. 2008. Temporal changes in digestive enzyme activities in the gastrointestinal tract of European Eel (*Anguilla anguilla*) (Linneo 1758) following feeding. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*. 41(4):215–228.
- Caruso G, Denaro, MG, Genovese L. 2009. Digestive enzymes in some teleost species of interest for mediterranean aquaculture. *The Open Fish Science Journal*. 2(1):74–86.
- Chakrabarti R, Rathore RM, Mittal P, Kumar S. 2006. Functional changes in digestive enzymes and characterization of proteases of silver carp (σ) and bighead carp (φ) hybrid, during early ontogeny. *Aquaculture*. 253:694–702.
- Chiu ST, Pan BS. 2002. Digestive protease activities of juvenile and adult eel (*Anguilla japonica*) fed with floating feed. *Aquaculture*. 205(1):141–156.
- Furne M, Hidalgo MC, Lopez A, Garcia GM, Morales AE, Domezain A, Domezaine J, Sanz A. 2005. Digestive enzyme activities in adriatic sturgeon (*Acipenser naccarii*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): a comparative study. *Aquaculture*. 250:391–398.
- Gawlicka A, Brigitte P, Horn MH, Neil R, Ingergjerd O, Ole JT. 2000. Activity of digestive enzyme in yolk-sac larvae of atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): Indication of readiness for first feeding. *Aquaculture*. 184:303–314.
- Handayani S, Zairin MJ, Mokoginta I, Bintang M, Sudrajat AO. 2008. Perubahan enzim–enzim pencernaan pada ikan gurame (*Ophronemus gouramy*) sebagai respon terhadap pakan yang mengandung kadar protein dan karbohidrat yang berbeda. *Aquacultura Indonesiana*. 9(1):25–29.
- Hidalgo MC, Urea E, Sanz A. 1999. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits :proteolytic and amylase activities. *Aquaculture*. 170:267–283.

- Jiang J, Feng L, Tang L, Liu Y, Jiang W, Zhou X. 2015. Growth rate, body composition, digestive enzymes and transaminase activities, and plasma ammonia concentration of different weight Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Animal Nutrition*. 1(4):373–377.
- Jingliang M, Yifan H, Jianchang L. 2008. Effect of baogan jiedu decoction on activities of protease and amylase in digestive organs of eel, *Anguilla anguilla*, with experimental intoxication induced by copper. *Chinese Agricultural Science Bulletin*. Fuzhou:Fujian Agriculture and Forestry University.
- Klahan R, Areechon N, Yoonpundh R, Engkagul A. 2009. Characterization and activity of digestive enzymes in different sizes of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Kasetsart Journal (Nat. Sci.)*. 43:143–153.
- Kužir S, Gjurčević E, Nejedli S, Baždarić B, Kozarić Z. 2012. Morphological and histochemical study of intestine in wild and reared European Eel (*Anguilla anguilla* L.). *Fish Physiology and Biochemistry*. 38(3):625–633.
- Lin JC, Wang GL, Min Z. 2015. Purification of protease from intestine of *Anguilla japonica* and its enzymatic characteristics. [Research article]. College of Environment & Biological Engineering, Putian University.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 193:265–275.
- Lundstedt LM, Melo JFB, Morales G. 2004. Digestive enzyme and metabolic profile *Pseudoplatystoma corruscans* (Teleostei :Siluriformes) in response to diet composition. *Comparative Biochemistry and Physiology – Part B*. 137(3):331–333.
- Marzuqi M, Anjusary DN. 2013. Kecernaan nutrisi pakan dengan kadar protein dan lemak berbeda pada juvenil ikan kerapu pasir (*Epinephelus corallicolus*). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 5(2):311–323.
- Mazurais D, Kjørsvik E, World PA, Politis SN, Cahu C, Tomkiewicz J, Zambonino IJ. 2013. Biochemical, histological and molecular study of digestive tract development in European eel larvae (*Anguilla anguilla*) prior to exogenous feeding. Poster session presented at Aquaculture Europe 13. Trondheim, Norway.
- Mulyani I, Affandi R, Iswantini D. 2016. Identification of digestive enzyme of *Anguilla bicolor bicolor* during seed eel phase in controlled container. *IOSR Journal of Pharmacy*. 6(7):6–11.
- Murashita K, Yamamoto T, Nagao J, Furuita H, Awaji M, Tanaka H. 2013. Partial characterization and ontogenetic development of pancreatic digestive enzymes in Japanese eel *Anguilla japonica* larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*. 39(4):895–905.
- Murtini, S. 2015. Studi makanan alami dan perkembangan anatomi saluran pencernaan ikan sidat (*Anguilla bicolor bicolor* McClelland 1844) dari muara sungai Cimandiri Pelabuhan Ratu Jawa Barat. [Tesis]. Bogor:Sekolah Pascasarjana IPB.
- Novita W, Arief K, Nisa FC, Murdiyatmo U. 2006. Karakterisasi parsial ekstrak kasar enzim protease dari *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-14369. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 7(2):96–105.
- Peña E, Hernández C, González CA, Castro LI, Cruz AP, Hardy RW. 2015. Comparative characterization of protease activity in cultured spotted rose snapper juveniles (*Lutjanus guttatus*). *Latin American Journal of Aquatic Research*. 43(4):641–650.
- Pujante IM, Lopez MD, Mancera JM, Moyano FJ. 2016. Characterization of digestive enzymes protease and alpha-amylase activities in the thick-lipped grey mullet (*Chelon labrosus*, Risso 1827). *Aquaculture Research*. 48(2):367–376.
- Sankar HHS, Jose J, Varadarajan R, Bhanub SV, Joy S, Philip B. 2014. Functional zonation of different digestive enzymes in *Etroplus suratensis* and *Oreochromis mossambicus*. *International Journal of Scientific and Research Publications*. 4(5):1–10.
- Saryono. 2011. *Biokimia Enzim*. Yogyakarta:Nuha Medika.
- Sasono AD. 2001. Kebiasaan makan ikan sidat (*Anguilla bicolor*) di desa Citepus, kecamatan Pelabuhan Ratu dan desa Cimaja, kecamatan Ciselok, kabupaten Sukabumi, Jawa Barat. Skripsi. Bogor:Institut Pertanian Bogor.
- Savona B, Tramati C, Mazzola A. 2011. Digestive enzymes in larvae and juveniles of farmed Sharpnose Seabream (*Diplodus puntazzo*) (Cetti, 1777). *The Open Marine Biology Journal*. 5(1):47–57.
- Setijanto, Sulistyio I, Budianto E. 2014. Penentuan waktu pengambilan benih dan diet ikan sidat (*Anguilla bicolor* McClelland) di sungai Serayu. *Omni-Akuatika*. 13(19):46–52.
- Shiraishi H, Crook V. 2015. Eel market dynamics:an analysis of *Anguilla* production, trade and consumption in East Asia. *TRAFFIC*. Tokyo, Japan.
- Suryanti. 2002. Perkembangan aktivitas enzim pencernaan dan hubungannya dengan kemampuan pemanfaatan pakan buatan pada ikan Baung (*Mystus nemurus* C.V.). [Tesis]. Bogor:Program Pascasarjana IPB.
- Susilo U, Yuwono E, Rachmawati FN, Priyanto S, Hana. 2015. Karakteristik enzim digesti, protease dan amilase, ikan Gurami (*Osphronemus gouramy* Lac.) pada fase pertumbuhan. *Biosfera*. 32(2):134–142.
- Tesch FW. 2003. *The Eel; Biology and Management of Anguilla Eels*. 3rd ed. Oxford, UK:Blackwell Publishing.
- Wang, K. 2007. Effects of different temperatures and pH on the protease and amylase activities in the digestive tract of *Anguilla rostrata*. [Research article] . Fujian:Fisheries College & Institute of Aquaculture Biotechnology, Jimei University.
- Xiong DM, Xie CX, Zhang HJ, Liu HP. 2011. Digestive enzymes along digestive tract of a carnivorous fish *Glyptosternum maculatum* (Sisoridae, Siluriformes). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 95(1):56–64.
- Yandes Z, Affandi R, Mokogintaz I. 2003. Pengaruh pemberian selulosa dalam pakan terhadap kondisi biologis benih ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*). *Jurnal Ikhtologi Indonesia*. 3(1):27–33.