

AKTIVITAS ENZIM PENCERNAAN UDANG VANAME (*Penaeus vannamei*)
YANG DIBERIKAN PAKAN BERBAHAN BAKU TEPUNG *Skeletonema costatum*

ACTIVITIES OF DIGESTIVE ENZYME OF VANNAMEI SHRIMP (*Penaeus vannamei*)
FEEDING WITH *Skeletonema costatum* MEAL-BASED DIET

Dewi Putri Lestari*¹⁾

¹⁾Program Studi Budidaya Perairan, Universitas Mataram
Jl. Pendidikan No, 37 Mataram, NTB

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penggunaan tepung *Skeletonema costatum* dalam berbagai dosis untuk mensubstitusi tepung ikan dalam pakan terhadap peningkatan aktivitas enzim protease dan amilase pada udang vaname (*Penaeus vannamei*). Pakan yang diberikan adalah isoprotein 37% dan iso energy 3.6 kkal/g pakan. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan dengan 4 perlakuan dosis tepung skeletonema sebagai pengganti tepung ikan yaitu A=0%; B=2.5%; C=5%, dan D=7.5% dengan ulangan masing-masing 3 kali. Untuk mendapatkan dosis terbaik dilakukan analisis regresi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi peningkatan aktivitas enzim protease dan amilase sebelum dan sesudah diberikan formulasi pakan percobaan. Dosis terbaik substitusi protein tepung skeletonema terhadap protein tepung ikan pada pakan udang berdasarkan peningkatan aktivitas enzim protease adalah sebesar 4.07% dan amilase sebesar 4.02%.

Kata Kunci : amilase, protease, tepung ikan, tepung skeletonema, udang vaname

Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of *Skeletonema costatum* meal utilization in various doses to substitute fish meal in shrimp diet (*Penaeus vannamei*) on activity of protease and amilase enzyme. Tested diets were formulated isoprotein of 37 % and iso energy of 3,6 kkal/g diet. The experiment used Completely Randomized Design with four treatments and three replications. The treatments were doses of skeletonema meal in order to substitute fish meal in diets. The doses of fish meal substitution by skeletonema meal were A = 0%; B 2,5%; C = 5%; and D 7,5%. The best dosage was determined by using regression analysis. The result of the experiment showed that enzyme activity of protease and amilase increased significantly during the experiment. The regression analysis show that the best dosage of skeletonema meal to substitute fish meal in shrimp diets based on enzym activity were 4,07% for protease and 4,02% for amilase

Keyword : amylase, protease, fish meal, skeletonema meal, vaname shrimp

Pendahuluan

Dalam budidaya udang vaname pemanfaatan pakan alami seperti diatom *Skeletonema costatum* sudah dimanfaatkan pada stadia larva. Diatom mengandung nutrisi penting dan juga memiliki ukuran yang sesuai karena memungkinkan pertumbuhan yang lebih cepat dan sehat pada larva. Kandungan nutrisi pada *Skeletonema costatum* telah banyak diteliti hasilnya adalah kandungan protein 31%, karbohidrat 21,5% dan lemak

total 1,3%. Selain kandungan nutrisi *Skeletonema costatum* juga mengandung komposisi asam lemak, asam amino bebas, β -1,3 glucan dan dinding sel polisakarida (Granum dkk., 2002; Monkosit dkk., 2011).

Penggunaan *Skeletonema costatum* selain sebagai komponen tunggal pakan alami atau sebagai makanan tambahan untuk nutrisi dasar pada kegiatan budidaya artemia, larva udang dan spat kerang-kerangan. Diketahui juga potensi yang bisa dimanfaatkan, yaitu ekstrak kasar *Skeletonema costatum* yang

*email korespondensi: dewiputtrilestari1@gmail.com

mengandung bahan antibakteri yang mampu menghambat bakteri patogen *Vibrio* sp., ekstrak *Skeletonema costatum* juga menunjukkan aktivitas antimikroba pada berbagai jenis patogen bakteri dan sebagai sumber bahan bakar nabati (*biofuel*) karena kandungan lemaknya berkisar antara 13-51% (Setyaningsih, dkk., 2006; Shanmugapriya and Ramanathan, 2011; Widiastuti, dkk., 2012).

Namun demikian pemanfaatan diatom *Skeletonema costatum* dalam bentuk kering masih terbatas pemanfaatannya. Tepung *Skeletonema costatum* yang di formulasikan dalam pakan udang diketahui dapat meningkatkan pertumbuhan udang vaname (Lestari, dkk., 2014) Diatom selain mengandung nutrisi yang dibutuhkan organisme budidaya terdapat juga kandungan glukukan dapat berperan sebagai imunostimulan yang akan meningkatkan daya tahan dalam tubuh udang. Ong and Johnston (2006), menyatakan bahwa pengetahuan mengenai perkembangan organ pencernaan dan aktivitas enzim pencernaan sangat penting diketahui untuk setiap spesies krustase dalam hubungannya dengan proses pencernaan pakan. Aktivitas enzim pencernaan yang berkesinambungan diketahui dapat memaksimalkan efisiensi pakan dalam saluran pencernaan. Sehingga diharapkan penambahan Tepung *Skeletonema costatum* pada formulasi pakan udang vaname dapat meningkatkan aktivitas enzim pencernaannya.

Metode Penelitian

Waktu dan tempat penelitian

Pelaksanaan penelitian uji proksimat pakan dilakukan di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, pengujian aktivitas enzim *in vitro* dan *in vivo* dilakukan di Laboratorium Biokimia, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya dan Penelitian untuk uji biologi pakan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dilakukan di Laboratorium Nutrisi Balai Budidaya Air Payau, Situbondo.

Pakan uji digunakan adalah pakan yang dibuat dan dibentuk menjadi pelet dengan kandungan protein 37%, hasil formulasi yang tersusun dari diatom *Skeletonema costatum*

kering, tepung ikan, tepung udang, tepung kedelai, tepung tapioka, minyak ikan, vitamin, mineral mix, serta CMC. Tepung *Skeletonema costatum* yang digunakan dalam pembuatan formulasi pakan berasal dari Laboratorium Pakan Alami, Balai Budidaya Air Payau, Jepara. Tabel komposisi nutrisi bahan percobaan dan formulasi pakan dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Bahan dan alat uji biologis

Uji biologis menggunakan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) berat 6.41 ± 0.55 , berasal dari Balai Budidaya Air Payau Situbondo. Udang vanname (*Litopenaeus vannamei*) dipelihara dalam media air laut kisaran salinitas 33-34 ppt dalam akuarium berukuran 45 x 45 x 45 cm dengan kepadatan 12 ekor per akuarium dan diaerasi.

Bahan dan alat uji aktivitas enzim protease dan amilase

Uji aktivitas protease menggunakan bahan antara lain sampel uji larutan enzim, larutan kasein 2%, buffer universal pH 11,0, tirosin 5 μ mol, akuades, TCA 0,14 M, Na₂CO₃ 0,4 M, dan pereaksi folin ciocalteau 2:1. Peralatan yang dibutuhkan antara lain tabung (*tube*), sentrifuse, eppendorf, inkubator, waterbath, labu ukur, dan spectrophotometer UV-Vis.

Bahan yang digunakan dalam uji aktivitas amilase adalah sampel uji, buffer asetat pH 6,0, larutan enzim, aquades, dan larutan I₂ 0,008N. Peralatan yang digunakan antara lain sentrifuge, tabung reaksi, virtex, erlenmeyer, inkubator, dan spektrofotometer.

Pengambilan ekstrak enzim

Pengambilan hepatopankreas dilakukan terlebih dahulu dengan memisahkan hepatopankreas dengan tubuh udang. Sampel hepatopankreas yang telah diambil kemudian dimasukan ke dalam eppendorf dan selanjutnya disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu -27°C sampai dilakukan pengukuran aktivitas enzim di laboratorium. Sebelum dilakukan pengukuran aktivitas enzim protease dan amilase, terlebih dahulu sampel hepatopankreas ditimbang dan dicatat.

Tabel 1. Komposisi bahan pakan percobaan

Jenis Bahan	Kadar Kering (%)	Protein (%)	Lemak (%)	Kadar Abu (%)	Serat Kasar (%)	BETN*	Energi (kkal/gr)**
T. Ikan	92.19	56.86	6.12	28.7	4.91	3.41	296.16
T. udang	92.20	50.36	4.33	1.33	8.94	35.04	380.55
T. <i>S. costatum</i>	87.38	24.70	2.22	55.55	1.04	16.49	184.74
T. Kedelai	91.74	45.65	0.14	7.90	4.23	42.08	352.18
T. Tapioka	87.19	0.09	0.02	0.06	1.01	98.82	398.82

* BETN = 100 - Protein - Lemak - Kadar Abu - Serat Kasar

**Energi = (4 x %Protein) + (9 x %Lemak) + (4 x %BETN).

Tabel 2. Formula pakan percobaan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*)

Bahan	Perlakuan (%)			
	A	B	C	D
T. ikan	24.73	23.10	21.47	19.85
T. udang	26.45	26.45	26.45	26.45
T. kedelai	21.07	21.07	21.07	21.07
T. <i>S. costatum</i>	-	3.74	7.49	11.23
T. tapioka	8.31	7.78	7.25	6.72
Minyak ikan	9	9	9	9
Vit + Min	5	5	5	5
Mix				
CMC	5.44	3.86	2.27	0.68
Total	100	100	100	100

Uji aktivitas enzim protease

Aktivitas enzim protease diukur dengan menggunakan pereaksi kasein-TCA dengan metode spektrofotometri. Penentuan aktivitas enzim protease dilakukan dengan cara ekstrak emzim protease dari sampel (supernatant) dipipiet 1 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2.5 ml larutan kasein 1% pH 6.5 dan diinkubasi dalam waterbath suhu 37⁰C selama 10 menit. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 2.5 ml larutan TCA 5% dan didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar (27⁰C). Kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3.000 rpm selama 5 menit. Supernatant yang diperoleh diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada maks tirosin (278 nm). Sebagai blanko digunakan larutan enzim dengan perlakuan yang sama, tetapi penambahan TCA dilakukan sebelum penambahan substrat.

Aktivitas enzim protease dinyatakan dalam satuan unit. Satuan unit aktivitas protease adalah banyaknya μmol tirosin yang dihasilkan tiap 1 ml enzim per menit. Pengukuran aktivitas enzim dilakukan dengan mengkonversi nilai serapan menjadi konsentrasi tirosin (μg/ml) dengan

menggunakan kurva baku tirosin. Nilai aktivitas enzim diukur dari kadar tirosin yang diperoleh dari hasil plot terhadap kurva baku tirosin dengan rumus : $AE = [(Konsentrasi\ Tirosin/BM\ Tirosin) \times (v/(p.q)) \times fp]$; AE : Aktivitas Enzim (Unit/ml); BM Tirosin : Berat Molekul Tirosin 181.19 g/mol; v : volume total sampel pada tabung; p : volume ekstrak kasar protease; q : Waktu reaksi dan fp : Faktor pengenceran.

Uji aktivitas enzim amilase

Aktivitas enzim amilase diukur menggunakan pereaksi Nelson-Somogi dengan menggunakan metode spektrofotometri. Sebanyak 1 ml larutan pati (amilum) 1% dimasukkan ke tabung reaksi, diinkubasi di atas penangas air pada suhu 42⁰C selama 10 menit. Ekstrak enzim 0.1 ml ditambahkan ke tabung reaksi tersebut dan inkubasi dilanjutkan selama 10 menit (selama inkubasi hidrolisis pati berlangsung). Hidrolisis dihentikan dengan memasukkan tabung reaksi ke penangas air suhu 100⁰C selama 10 menit, kemudian diambil dan didinginkan dengan air es selama 5 menit dan ditambahkan 1.6 ml larutan Nelson A dan 0.4 ml Nelson B. larutan Nelson A dibuat dengan melarutkan 12.5 g Rochelle, 10 g Natrium bikarbonat dan 100 g Natrium sulfat anhidrat dalam 350 ml air suling kemudian ditambahkan 1 tetes asam sulfat pekat.

Campuran dikocok dengan baik, tabung dipanaskan kembali selama 10 menit di air mendidih, kemudian didinginkan dengan es. Ditambahkan 2 ml larutan somogi dan 4.9 ml aquades bebas reduktor (campuran dikocok dengan baik sampai gas CO₂ keluar), kemudian disentrifugasi pada kecepatan 5.000 rpm selama 10 menit. Larutan diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 610 nm. Larutan blanko dibuat dengan cara yang sama dengan sampel tetapi 0.1 ml ekstrak

enzim di nonaktifkan dengan cara dipanaskan pada air mendidih selama 10 menit sebelum dicampur dengan pati. Aktivitas enzim dihitung dengan rumus berikut: $AE = [(Konsentrasi\ Glukosa/BM\ Glukosa) \times (v/(p.q)) \times fp]$; AE : Aktivitas Enzim (Unit/ml); BM Glukosa : Berat Molekul Glukosa 180 g/mol; v : volume total sampel pada tabung; p : volume ekstrak kasar amilase; q : Waktu reaksi dan fp : Faktor pengenceran.

Hasil

Aktivitas enzim protease dan amilase sebelum dan sesudah diberikan pakan percobaan yang diformulasikan dengan penambahan tepung *Skeletonema costatum* mengalami peningkatan. (Tabel 3).

Tabel 3. Data aktivitas enzim protease dan amilase udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) pada awal dan akhir penelitian.

Parameter	Aktivitas enzim awal	Aktivitas enzim akhir			
		A (0%)	B (2.5%)	C (5%)	D (7.5%)
Aktivitas Enzim Protease (Unit/ml)	1.58 ± 0.01	1.70 ± 0.14 ^a	2.35 ± 0.24 ^b	3.35 ± 0.60 ^c	1.78 ± 0.10 ^a
Aktivitas Enzim Amilase (Unit/ml)	2.97 ± 0.11	3.95 ± 0.77 ^a	6.32 ± 0.55 ^b	6.78 ± 0.02 ^b	4.59 ± 0.06 ^a

Keterangan : Notasi yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan, sedangkan notasi yang berbeda menunjukkan ada perbedaan antar perlakuan pada taraf kepercayaan 95%

Nilai aktivitas enzim protease dan amilase untuk perlakuan Pakan A dan Pakan D hasilnya tidak berbeda nyata, tetapi jika dibandingkan dengan sebelum pemberian pakan percobaan terjadi peningkatan nilai aktivitas enzim pada udang setelah diberikan pakan percobaan selama 30 hari.

Gambar 1. Menunjukkan hubungan antara penggunaan tepung (x) *Skeletonema costatum* terhadap aktivitas enzim protease (y₁) udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dengan persamaan kuadratik $y_1 = -0.088x^2 + 0.717x + 1.550$, R² = 0.65. Hubungan antara penggunaan tepung (x) *Skeletonema costatum* terhadap aktivitas enzim amilase (y₂) udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dapat dilihat pada Gambar 2 dengan persamaan kuadratik $y_2 = -0.182x^2 + 1.462x + 3.913$, R² = 0.90.

Pembahasan

Aktivitas enzim protease

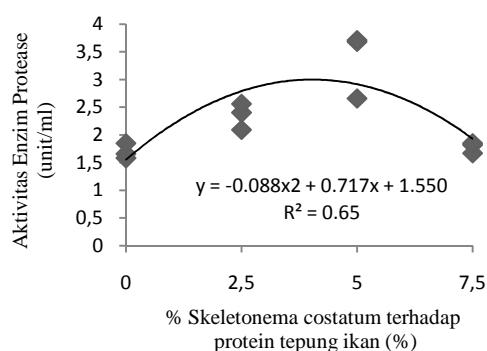
Aktivitas enzim pencernaan merupakan salah satu aspek biologis yang penting untuk

diamati karena berkorelasi dengan pemanfaatan pakan dan pertumbuhan udang. Salah satu enzim pencernaan adalah protease, yang bekerja mendegradasi protein dalam pakan menjadi peptida dan selanjutnya menjadi asam-asam amino yang akan diserap oleh sel-sel eritrosit pada dinding sebelah dalam usus dan selanjutnya dikirim darah untuk digunakan bagi pertumbuhan dan perkembangan udang.

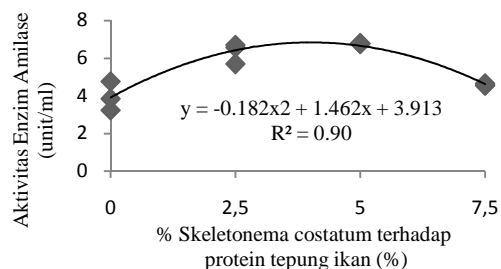
Data pada Tabel 3. menginformasikan bahwa aktivitas enzim protease dan amilase pada awal percobaan (sebelum diberi perlakuan) menunjukkan nilai yang lebih kecil dibandingkan rata-rata aktivitas enzim protease dan amilase udang akhir penelitian (setelah diberi perlakuan). Hasil analisis data

menggunakan analisis keragaman satu arah (*one way anova*), didapatkan bahwa nilai aktivitas enzim protease dan amilase memberikan pengaruh dalam taraf kepercayaan 95% (p<0.05). Hal ini dapat diartikan bahwa substitusi tepung *Skeletonema costatum* terhadap tepung ikan dalam formulasi pakan udang (*Litopenaeus vannamei*) dalam penelitian ini memberikan pengaruh yang nyata antar perlakuan.

Tingginya aktivitas enzim protease ini diduga berkaitan dengan meningkatnya upaya udang untuk mencerna protein dalam rangka memaksimalkan penggunaan protein pakan. Tepung *Skeletonema costatum* yang digunakan pada penelitian ini juga mengandung protein sebesar 24.70%. Disamping itu diduga selama masa pemeliharaan telah terjadi perkembangan



Gambar 1. Hubungan antara penggunaan tepung *Skeletonema costatum* dalam formula pakan terhadap aktivitas enzim protease udang vaname (*Litopenaeus vannamei*)



Gambar 2. Hubungan antara penggunaan tepung *Skeletonema costatum* dalam formula pakan terhadap aktivitas enzim amilase udang vaname (*Litopenaeus vannamei*)

anatomis alat pencernaan yang berkorelasi terhadap perkembangan enzim pencernaan udang. Menurut Bakkara, dkk. (2015) bahwa terjadi perubahan aktivitas enzim pada saluran pencernaan juga dipengaruhi oleh adanya perubahan pada saluran pencernaan, kualitas dan kuantitas pakan yang diberikan.

Gambar 1 menunjukkan bahwa nilai perlakuan terbaik pada dosis substitusi tepung *Skeletonema costatum* terhadap protein tepung ikan sebesar 4.07% dalam formula pakan dengan nilai aktivitas enzim protease udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) sebesar 3.01 unit/ml.

Aktivitas enzim amilase

Tingginya nilai aktivitas enzim amilase pada akhir percobaan dapat diduga disebabkan *Skeletonema costatum* pada formulasi pakan

(Tabel 1) mengandung karbohidrat sekitar 17.53% dan sumber protein nabati yang digunakan dalam formulasi pakan percobaan berasal dari tepung kedelai. Menurut Setyati dan Subagiyo (2012) bahwa pakan udang yang menggunakan komponen nabati sebagai bahan baku pakan seperti tepung kedelai, tepung katul dan juga perekat seperti CMC mengandung karbohidrat yang cukup besar. Diketahui komponen karbohidrat ini diantaranya adalah amilum dan selulosa. Amilum dicerna oleh enzim amilase sedangkan selulosa bersifat tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan udang, sehingga dikeluarkan kembali dalam bentuk feses udang.

Gambar 2 menunjukkan bahwa nilai perlakuan terbaik pada dosis substitusi tepung *Skeletonema costatum* terhadap protein tepung ikan sebesar 4.02% dengan nilai aktivitas enzim amilase udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) sebesar 6.85 unit/ml.

Kesimpulan

Dosis terbaik tepung *Skeletonema costatum* untuk mensubstitusi protein tepung ikan dalam pakan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) berdasarkan aktivitas enzimnya adalah 4.07% untuk aktivitas enzim protease dan 4.02% untuk aktivitas enzim amilase

Daftar Pustaka

- Bakkara, O.R., Aslamyah, S., dan Fujaya., Y. (2015). Respon perkembangan larva rajungan *Portunus pelagicus* pada percepatan pergantian pakan alami ke pakan buatan predigest. *J. Science and Teknologi*, 15(1):74–83.
- Granum, E., Kirkvold, S., Myklestad, S. M. (2002). Cellular and extracellular production of carbohydrate and amino acid by the marine diatom *Skeletonema costatum*: diel variations and effects of N depletion. *Marine Ecology Progress Series* 242: 83-94
- Lestari, D.P., Ekawati, A.W., dan Maftuch. (2014). Dried *Skeletonema costatum* in Feed Formulation for Growth of vaname shrimp (*Litopenaeus vaname*). *J. Exp. Life Sci.* 4 (2) : 45-49

- Monkonsit, S., Powtongsook. S., and Pavasant. P. (2011). Comparison between airlift photobioreactor and bubble column for *Skeletonema costatum* cultivation. *Engineering Journal* 15 (4): 53-64
- Ong, B.L. and Johnston, D. (2006). Influence of feeding on hepatopancreas structure and digestive enzyme activity in *Penaeus monodon*. *J. of shellfish research*, 25(11):113-121. Retrieved from <http://www.bioone.org/doi/pdf/10.2983/0730-8000%282006%2925%5B113%3AIOFOHS%5D2.0.CO%3B2>
- Setyaningsih, I., Panggabean. L. M., Riyanto. B., dan Nugraheny. N. (2006). Potensi Antibakteri Diatom Laut *Skeletonema costatum* Terhadap *Vibrio* sp. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan IX* (1): 61-70.
- Setyati, W. A., dan Subagiyo. (2012). Isolasi dan seleksi bakteri penghasil enzim ekstraseluler (proteolitik, amilolitik, lipolitik dan selulolitik) yang berasal dari sedimen kawasan mangrove. *Ilmu Kelautan* 17(3): 164-168
- Shanmugapriya, R., and Ramanathan, T. (2011). Screening for antimicrobial activity of crude extract of *Skeletonema costatum*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 1 (7) : 154-157.
- Widiastuti, R., Hutabarat. J., dan Herawati. V. E., (2012). Pengaruh pemberian pakan alami berbeda (*Skeletonema costatum* dan *Chaetoceros gracilis*) terhadap pertumbuhan biomass mutlak dan kandungan nutrisi *Artemia* sp. lokal. *Journal Of Aquaculture Management and Technology* 1 (1): 236-248.