

AKTIVITAS PROTEASE DAN AMILASE PADA HEPATOPANKREAS DAN INTESTINE IKAN NILEM *Osteochilus hasselti* C.V.

SYARIFAH FAUZIAH AL GADRI, UNTUNG SUSILO, SLAMET PRIYANTO

Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Jalan dr. Suparno 63 Purwokerto 53122

ABSTRACT

Ikan Nilem (*Osteochilus hasselti* C.V) merupakan ikan omnivora dari familia *Cyprinidae*. Jenis pakan yang dikonsumsi berkaitan dengan alat pencernaan yang dimilikinya. Pencernaan pada ikan tersebut terjadi di dalam usus halus dan berlangsung secara enzimatik. Enzim-enzim yang aktif pada saluran pencernaannya adalah protease dan amilase yang dihasilkan oleh pankreas dan hepatopankreas. Aktivitas enzim pencernaan diketahui dengan mengukur banyaknya mikromol maltosa dan tirosin yang dihasilkan per menit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan aktivitas protease dan amilase pada hepatopankreas dan intestine ikan Nilem (*Osteochilus hasselti* C.V.). Hasil penelitian ini diharapkan nantinya akan digunakan sebagai dasar formulasi pemberian pakan yang cocok untuk ikan omnivora salah satunya adalah ikan Nilem (*Osteochilus hasselti* C.V.). Materi yang digunakan adalah ikan Nilem berukuran 9-16 cm dengan bobot 5-50 gram. Metode penelitian yang dilakukan adalah metode survey dengan *purposive random sampling* dengan rancangan percobaan berupa Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola faktorial 3x4 dan empat kali pengulangan. Sampel dikelompokkan menjadi tiga ukuran yang berbeda dengan bobot 5-10 g dan panjang 9-10 cm, 11-25 g dan panjang 11-12 cm dan 35-50 g dengan panjang 13-16 cm. Metode analisis yang digunakan yaitu *one way analysis of variance* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT). Hasil uji BNT menunjukkan bahwa aktivitas protease dan amilase ikan Nilem tidak berbeda nyata ($P>0,05$) dengan ukuran tubuh ikan. Aktivitas protease dan amilase ikan Nilem berbeda nyata ($P<0,05$) dengan organ pencernaan. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa tidak ada hubungan antara aktivitas protease dan amilase dengan ukuran tubuh ikan Nilem; serta ada hubungan antara aktivitas protease dan amilase dengan organ pencernaan ikan Nilem.

KEY WORDS: amilase, nilem, *Osteochilus hasselti* C.V., Protease, hepatopankreas dan intestine

Penulis korespondensi: SYARIFAH FAUZIAH AL GADRI | email: susilo.utg@gmail.com

PENDAHULUAN

Ikan nilem (*Osteochilus hasselti* C.V.) merupakan ikan asli perairan Indonesia. Ikan tersebut, banyak dibudidayakan dan disukai oleh masyarakat karena memiliki rasa enak serta memiliki nilai ekonomi yang cukup tinggi. Menurut Sunarma (2007), ikan nilem (*O. hasselti* C.V.) merupakan salah satu spesies *indigenous* yang ditemukan di beberapa wilayah seperti pulau Jawa, Sumatera dan Kalimantan. Di pulau Jawa, ikan nilem dibudidayakan secara cukup besar terutama di wilayah Jawa barat, Jawa Timur dan Jawa Tengah.

Sulastri *et al.*, (1985) menyatakan bahwa ikan nilem termasuk ikan omnivora, karena ikan tersebut memakan tumbuhan dan hewan yang menempel pada kerikil sebagai pakan alaminya. Fujaya (2004) menyatakan bahwa jenis pakan yang dikonsumsi oleh ikan mempunyai keterkaitan dengan sistem pencernaan dan absorpsi yang dimiliki oleh masing-masing jenis ikan.

Sistem pencernaan pada ikan nilem dimulai di usus bagian depan bukan di bagian rongga mulut, sebab ikan nilem tidak memiliki kelenjar air liur yang dapat menghasilkan enzim saliva. Proses pencernaan dalam sistem pencernaan ikan nilem berlangsung secara biologis yang melibatkan peran enzim sebagai katalisator yang mampu mempercepat proses pencernaan (Harms *et al.*, 1991).

Menurut Zonneveld *et al.*, (1991), enzim-enzim yang berperan dalam pencernaan adalah protease, amilase dan lipase yang mengkatalisis pemecahan nutrisi kompleks (protein, karbohidrat dan lemak) menjadi nutrisi sederhana. Aktivitas amilase semakin meningkat dengan meningkatnya umur ikan. Ikan

herbivora memiliki aktivitas amilase lebih tinggi daripada aktivitas protease dan lipase. Demikian juga aktivitas protease dan lipase ikan omnivora dan karnivora lebih tinggi daripada amilasennya (Furne *et al.*, 2008).

Aktivitas enzim pencernaan berkorelasi dengan jumlah enzim yang terdapat pada tempat pencernaan berlangsung. Aktivitas amilase dan protease dapat diketahui dengan cara mengukur banyaknya mikromol maltosa dan asam-asam amino (tirosin) yang dihasilkan per menit. Menurut Johnston *et al.*, (2004), ikan omnivora seperti ikan Nila (*Oreochromis niloticus* L.) memiliki aktivitas protease yang tinggi pada organ intestine bagian depan dan belakang. Mengingat bahwa enzim-enzim pencernaan dihasilkan oleh hepatopankreas sedangkan sekresinya ke dalam tempat yang sama yaitu usus halus (intestine).

Beberapa studi tentang aktivitas protease dan amilase pada hepatopankreas dan intestine ikan nilem (*O. hasselti* C.V.) telah dilakukan oleh peneliti-peneliti terdahulu pada beberapa spesies ikan. Hidalgo *et al.* (1999) telah meneliti aktivitas enzim proteolitik pada ikan rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), sea bream (*Sparus aurata*), ikan karper (*Cyprinus carpio*), ikan sidat (*Anguilla anguilla*), goldfish (*Carassius auratus*) dan tench (*Tinca tinca*). Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa aktivitas enzim proteolitik paling tinggi pada ikan Trout dan Carp, sedangkan pada ikan sidat (*Anguilla anguilla*) memperlihatkan proteolitik rendah di antara ikan-ikan yang diuji.

Chong *et al.*, (2002) menyatakan bahwa pada ikan diskus (*Symphysodon aequifasciata*), aktivitas proteinase dalam usus lebih tinggi daripada dalam lambung. Hidalgo *et al.* (1999) menyatakan bahwa

total aktivitas proteolitik pada saluran pencernaan/intestine lebih tinggi daripada aktivitas proteolitik pada liver/hepatopankreas.

Berdasarkan uraian tersebut dapat dirumuskan permasalahan yaitu; apakah ada perbedaan aktivitas protease pada hepatopankreas dan intestine ikan nilem (*O. hasselti* C.V.), dan apakah ada perbedaan aktivitas amilase pada hepatopankreas dan intestine ikan nilem (*O. hasselti* C.V.). Dari permasalahan tersebut maka tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui :

1. Aktivitas protease pada hepatopankreas dan intestine ikan nilem (*O. hasselti* C.V.).
2. Aktivitas amilase pada hepatopankreas dan intestine ikan nilem (*O. hasselti* C.V.).

Hasil penelitian yang telah dilakukan diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah berupa aktivitas protease dan amilase pada hepatopankreas dan intestine ikan nilem (*O. hasselti* C.V.).

Hipotesis yang diajukan adalah sebagai berikut:

1. Terdapat perbedaan aktivitas protease pada hepatopankreas dan intestine ikan nilem (*O. hasselti* C.V.).
2. Terdapat perbedaan aktivitas amilase pada hepatopankreas dan intestine ikan nilem (*O. hasselti* C.V.).

METODE

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah akuarium berukuran 40 X 60 X 60 cm³ dan ketinggian air adalah 40 cm, aerator, timbangan dengan ketelitian 0,1 gram, ember, seser kain kassa, baki, alat bedah, homogeniser listrik, sentrifuse, spektrofotometer, tabung reaksi, tabung eppendorf, rak tabung, *refrigerator*, inkubator, pipet tetes, *micro pipette* dan *pipette tip*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan Nilem (*Osteochilus hasselti* C.V.) dengan kisaran berat 5-10 g, 11-25 g dan 35-50 g dan dengan kisaran panjang 9-10 cm, 11-12 cm dan 13-16 cm. pellet dengan kandungan protein 25%, larutan kasein 1% dalam air, akuades, buffer Glisin HCl (pH 2-3), buffer Na₂HPO₄ buffer (pH 8,0 - 9,0), 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7,2-8,0), larutan protein standar (0,05 mg/ml - 1,0 mg/ml kasein), pereaksi A, pereaksi B, pereaksi C, pereaksi D, Larutan 0,1 M Glycine-HCl (pH 2,0 - 3,0), larutan 0,1 M Tris-HCl (pH 6,5 - 7,5), larutan 0,05 M Na₂HPO₄ buffer (pH 8,0 - 9,0), larutan 1 % (w/v) kasein, larutan 8 % (w/v) trichloroacetic acid (TCA), larutan tyrosine standard (10 µg/ml - 250 µg/ml), larutan pati 1% dalam 20 mM natrium fosfat buffer pH 6,9, mengandung 6,0 mM NaCl sebagai substrat, sampel enzim (0,5 ml) dan 0,5 ml dinitrosalicylic acid (DNS).

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Biologi Unsoed dan laboratorium Riset Unsoed. Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari sampai April 2013..

Penelitian dilakukan secara survey dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola faktorial 3x4 dan empat kali pengulangan. Perlakuan pertama yang dicobakan adalah ikan nilem dengan tiga ukuran yang berbeda dengan bobot 5-10 g dan panjang 9-10 cm, 11-25 g dan panjang 11-12 cm dan 35-50 g dengan panjang 13-16 cm. Perlakuan kedua adalah organ pencernaan ikan nilem pada empat bagian yang berbeda yaitu hepatopankreas, intestine depan, intestine tengah dan intestine belakang.

Variabel bebas yaitu ukuran dan organ pencernaan, variabel tergantungan yaitu aktivitas amilase dan protease. Parameter utama yang diukur adalah banyaknya mikrogram maltosa dan tirosin yang dihasilkan per menit.

Akuarium yang digunakan dalam penelitian adalah akuarium fiber berukuran 40 x 60 x 60 cm³ yang diisi air tawar sebanyak $\frac{3}{4}$ akuarium dan diaerasi.

Ikan uji diperoleh dari Desa Beji kecamatan Kedungbanteng kabupaten Banyumas, dengan bobot awal sebesar 5-10 g, 11-25 g dan 35-50 g dan dengan kisaran panjang 9-10 cm, 11-12 cm dan 13-16 cm.

Ikan Nilem (*O. hasselti* C.V.) ditebar ke dalam akuarium dengan padat penebaran sebanyak 5 ekor tiap akuarium yang terlebih dahulu diukur bobot dan panjangnya.

Ikan Nilem (*O. hasselti* C.V.) terlebih dahulu diaklimasi selama dua minggu di Laboratorium Fisiologi Hewan untuk penyesuaian terhadap kondisi laboratorium dan kualitas pakan uji. Selama aklimasi ikan Nilem diberi pakan buatan (pelet) dengan kandungan protein 25% dan dilakukan pengaturan media pemeliharaan untuk mendukung kebutuhan hidup ikan. Ikan Nilem diberi pakan sebesar 5% dari berat biomasa ikan dan diberikan sebanyak dua kali yaitu pada pagi (07.00 - 08.00 wib) dan sore hari (15.00 - 16.00 wib). Pengambilan sisa pakan diambil dengan cara penyiponan.

Pembedahan ikan dimulai dari lubang anus sepanjang garis *medio-ventral* tubuh ke anterior sampai dekat sirip dada dengan menggunakan gunting.

Pengguntingan dilakukan secara hati-hati agar organ yang terletak di sebelah dalam tidak ikut tergunting, kemudian daging bagian atas dibuka dengan pinset. Saluran digesti ikan diisolasi, setelah saluran digesti diperoleh lalu dimasukkan ke dalam botol film yang sudah diberi label lalu disimpan dalam lemari pendingin.

Saluran digesti diperoleh dari ikan yang diujikan yaitu dengan membedah dan mengambil seluruh bagian saluran pencernaan dan dibersihkan diatas lempengan es pada suhu -4°C untuk menghindari terjadinya kerusakan jaringan. Kemudian usus ikan dihancurkan menggunakan homogenizer listrik dalam 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7,2-8,0) dingin dengan rasio 1:4 (w/v). Homogenate yang diperoleh kemudian disentrifugasi menggunakan sentrifuse elektrik bersuhu 4°C pada kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit, dan supernatan yang diperoleh digunakan untuk uji aktivitas enzim.

Penentuan kadar protein enzim dilakukan dengan metode Lowry. Sebanyak 50 ml ekstrak kasar enzim direaksikan dengan 2,5 ml reagen C, kocok dan biarkan selama kurang lebih 10 menit pada suhu kamar. Tambahkan 250 ml reagen D (Folincioaltea 1N) kocok dan biarkan selama 30 menit pada suhu kamar. Tentukan absorbansinya pada panjang gelombang 660 nm. Kadar protein dihitung menggunakan kurva standar protein dengan standar kalibrasi 0,05 mg/ml; 0,10 mg/ml; 0,25 mg/ml; 0,50 mg/ml dan 1,0 mg/ml.

Aktivitas protease dihitung dengan menggunakan metode Somogi-Nelson assay (Hidalgo *et al.*, 1999) menggunakan tirosin sebagai standar. Cara kerja pengukuran aktivitas protease adalah sebagai berikut : pertama, siapkan empat buah tabung reaksi masing-masing tabung diberi label untuk tabung sampel, kontrol, standart dan blanko.

Tabung sampel diisi dengan 0,35 ml kasein, 0,30 ml larutan buffer dan 0,10 ml ekstrak enzim, tabung kontrol diisi dengan 0,30 ml larutan buffer, 0,35 ml larutan tirosin standar, 0,30 ml larutan buffer dan 0,10 ml aquades, tabung blanko diisi dengan 0,30 ml larutan buffer dan 0,45 ml

aquades. Kemudian tabung kontrol, standar dan blanko diinkubasi pada suhu 37°C. Keempat tabung tersebut diinkubasi selama 60 menit.

Tambahkan larutan TCA 8% sebanyak 0,75 ml ke dalam tabung standar, sampel dan blanko serta 0,75% larutan kasein ke dalam tabung kontrol setelah keempat tabung tersebut dimasukkan ke dalam *refrigerator* selama minimal 1 jam, selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 12000 rpm selama 10 menit. Absorbansi dari larutan dalam keempat tabung dibaca pada panjang gelombang 280 nm dengan menggunakan spektrofotometer dan dicatat hasilnya. Aktivitas enzim protease dihitung menggunakan kurva standar tirosin dengan standar kalibrasi 0,05 mg/ml; 0,10 mg/ml; 0,25 mg/ml; 0,50 mg/ml; dan 1,0 mg/ml.

Aktivitas amilase dihitung dengan metode Somogi-Nelson assay (Hidalgo *et al.*, 1999). Cara kerja pengukuran aktivitas protease adalah sebagai berikut : empat buah tabung reaksi masing-masing tabung diberi label untuk tabung sampel, kontrol, standar dan blanko.

Tabung sampel diisi dengan 0,70 ml amilum 1% dan 0,10 ml ekstrak enzim, tabung kontrol diisi dengan 0,10 ml aquades dan 070 ml larutan Dinitrosalisilat 2%. Tabung standar diisi dengan larutan maltosa standar 0,70 ml dan aquades sebanyak 0,10 ml, tabung blanko diisi aquades sebanyak 0,80 ml. Kemudian tabung kontrol, standar dan blanko diinkubasi pada suhu 37°C. Keempat tabung tersebut diinkubasi selama 30 menit.

Tambahkan larutan DNS 2% sebanyak 0,70 ml ke dalam tabung standar, sampel, blanko dan 0,70 ml substrat amilum 1% ke dalam tabung kontrol setelah keempat tabung tersebut diinkubasi. Keempat tabung tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam air mendidih selama 5 menit, kemudian didinginkan dan disentrifugasi pada kecepatan 12000 rpm selama 10 menit. Larutan standar, sampel, blanko dan kontrol selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm dengan menggunakan spektrofotometer. Aktivitas amilase dihitung menggunakan kurva standar maltosa dengan standar kalibrasi 15mM; 75mM dan 150mM.

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisa dengan *one way analysis of variance* (ANOVA). Apabila hasil ANOVA terjadi perbedaan kemudian dilanjutkan dengan uji BNT (Steel and Torrie, 1993).

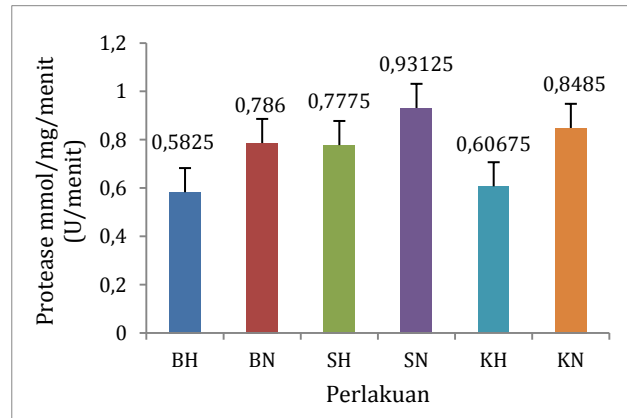
HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan pengukuran aktivitas enzim digesti (protease dan amilase) pada hepatopankreas dan intestine ikan nilem (*O. hasselti* C.V.) diperoleh hasil sebagai berikut:

Hasil pengukuran aktivitas protease rata-rata pada hepatopankreas dan intestine ikan nilem tersaji pada Gambar 1. Berdasarkan gambar 1 dapat diketahui bahwa nilai aktivitas protease rata-rata tertinggi pada hepatopankreas dan intestine ikan nilem dengan ukuran berbeda yaitu sebesar $0,931 \pm 0,733$ U/menit terdapat dalam organ pencernaan (intestine) ikan ukuran sedang (berat 11-25 g, panjang 11-12 cm). Sedangkan terendah yaitu sebesar $0,582 \pm 0,189$ U/menit terdapat dalam hepatopankreas ikan ukuran besar (berat 35-50 g, panjang 13-16 cm).

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa ukuran yang berbeda memberikan pengaruh yang tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap aktivitas protease pada ikan nilem. Berdasarkan hasil analisis tersebut dapat diartikan bahwa aktivitas protease memberikan respon yang

tidak berbeda terhadap ukuran. Hal ini disebabkan aktivitas protease tidak tergantung kepada besar kecilnya ukuran ikan, tetapi sangat tergantung kepada jumlah pakan, komposisi pakan dan pola makan. Kuz'mina (1996) menunjukkan dalam hasil penelitiannya bahwa perubahan aktivitas enzim pencernaan dipengaruhi oleh kebiasaan makan dan komposisi pakan.



Gambar 1. Aktivitas protease ikan nilem pada hepatopankreas dan intestine

Keterangan:

- BH : ikan nilem ukuran besar (hepatopankreas)
- BN : ikan nilem ukuran besar (intestine)
- SH : ikan nilem ukuran sedang (hepatopankreas)
- SN : ikan nilem ukuran sedang (intestine)
- KH : ikan nilem ukuran kecil (hepatopankreas)
- KN : ikan nilem ukuran kecil (intestine)

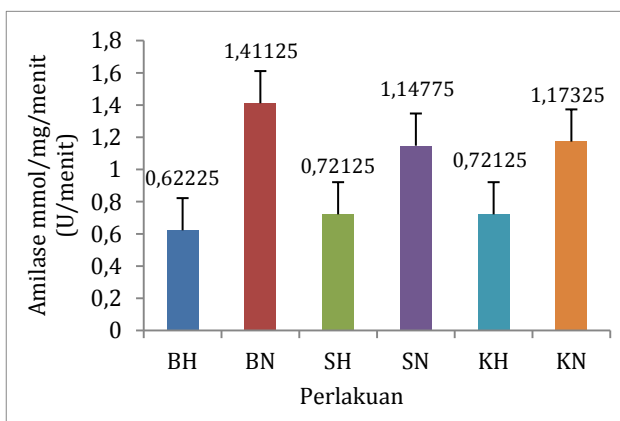
Aktivitas protease pada intestine sangat dipengaruhi oleh jumlah protease aktif yang ada, jumlah pakan dan kualitas pakan serta pola makan bukan oleh ukuran. Oleh karena itu meskipun ikan uji yang digunakan ukurannya tidak sama, aktivitas proteasenya sama. Hal tersebut juga dapat mengakibatkan aktivitas protease pada ukuran tubuh yang berbeda dan interaksinya dengan organ pencernaan (hepatopankreas dan intestine) sama. Lundstedt *et al.* (2003) menyatakan bahwa selain kadar pakan, faktor lain yang dapat mempengaruhi aktivitas protease ikan yaitu kemampuan usus, kebiasaan makan, kompleksitas struktur pakan, suhu dan musim.

Aktivitas protease di dalam hepatopankreas dan intestine berpengaruh nyata ($P < 0,05$) karena beberapa hal antaralain: pertama, hepatopankreas merupakan kelenjar pencernaan yang berfungsi mensekresikan enzim-enzim yang baru disintesis (zymogen). Kedua, intestine merupakan tempat disekresikannya protease yang telah teraktivasi. Hal tersebut mengakibatkan aktivitas protease di hepatopankreas dan di dalam intestine yang merupakan tempat bermuaranya enzim-enzim pencernaan yang telah mengalami aktivasi adalah berbeda. Menurut Takshima dan Hibiya (1995) bahwa hepatopankreas merupakan kelenjar pencernaan yang menghasilkan enzim-enzim pencernaan dan kemudian disekresikan ke dalam saluran pencernaan (intestine).

Hasil uji $BNT_{0,05}$, menunjukkan bahwa hepatopankreas dan intestine berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap aktivitas protease. Aktivitas protease pada intestine lebih tinggi dibandingkan pada hepatopankreas, karena hepatopankreas merupakan kelenjar pencernaan yang mensekresikan enzim-enzim pencernaan antara lain protease dalam bentuk tidak aktif. Protease tersebut kemudian disekresikan ke dalam intestine dan mengalami aktivasi. Menurut Jiang *et al.* (2013) hepatopankreas adalah kelenjar pencernaan utama yang menghasilkan enzim pencernaan dalam bentuk zymogen dan juga merupakan indikator metabolisme yang sensitif, fase ecdysis (pergantian kulit), status gizi, dan penyakit dalam berbagai organisme perairan.

Perbedaan aktivitas protease selain disebabkan oleh fungsi hepatopankreas dan intestine, juga disebabkan oleh perbedaan jumlah protease aktif di dalam kedua organ tersebut. Hepatopankreas banyak mengandung protease tidak aktif sehingga aktivitas proteasenya rendah, sedangkan di dalam intestine banyak mengandung protease yang telah mengalami aktivasi sehingga aktivitas proteasenya tinggi. Afrianto *et al.* (1992) menyatakan bahwa aktivitas enzim berkaitan dengan jumlah enzim aktif untuk mencerna pakan yang dikonsumsi. Aktivitas enzim pencernaan juga berkorelasi dengan jumlah enzim yang terdapat pada tempat pencernaan berlangsung, semakin banyak enzim yang bekerja pada organ pencernaan tersebut maka semakin tinggi pula aktivitasnya. besar nilai retensi energinya. Hal ini dikarenakan ikan yang diberi pakan dengan kadar protein rendah lebih menghemat energinya dalam aktivitas maupun proses metabolismenya.

Hasil pengukuran aktivitas protease rata-rata pada hepatopankreas dan intestine ikan nilem tersaji pada Gambar 2.



Gambar 2. Aktivitas protease ikan nilem pada hepatopankreas dan intestine

Keterangan:

- BH : ikan nilem ukuran besar (hepatopankreas)
- BN : ikan nilem ukuran besar (intestine)
- SH : ikan nilem ukuran sedang (hepatopankreas)
- SN : ikan nilem ukuran sedang (intestine)
- KH : ikan nilem ukuran kecil (hepatopankreas)
- KN : ikan nilem ukuran kecil (intestine)

Berdasarkan gambar 2. aktivitas amilase rata-rata tertinggi pada ikan nilem pada ikan ukuran besar (berat 35-50 g, panjang 13-16 cm) dalam organ pencernaan (intestine) sebesar $1,411 \pm 0,972$ U/menit. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Klahan (2009), menjelaskan bahwa aktivitas amilase ikan nila tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) berukuran kecil lebih rendah daripada ikan nila tilapia berukuran besar. Ikan Pike, Perch, Bream dan Roach memperlihatkan adanya peningkatan aktivitas amilase seiring bertambahnya umur ikan (Kuz'mina, 1996).

Aktivitas amilase rata-rata terendah ikan nilem pada ikan ukuran besar (berat 35-50 g, panjang 13-16 cm) dalam kelenjar pencernaan (hepatopankreas) sebesar $0,622 \pm 0,231$ U/menit. gurami yang diberi pakan dengan kadar protein yang berbeda menghasilkan aktivitas amilase yang berbeda-beda pula. Aktivitas amilase ikan gurami yang diberi pakan dengan kadar protein 20%, 28% dan 39% selama 60 hari berturut-turut yaitu $0,036 \pm 0,099$ unit/menit, $0,094 \pm 0,095$ unit/menit dan $0,050 \pm 0,215$ unit/menit. Aktivitas amilase tertinggi terdapat pada ikan yang diberi pakan dengan kadar protein 28%, sedangkan aktivitas amilase terendah terdapat pada ikan yang diberi pakan dengan kadar protein 20% dan 39%.

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa bahwa ukuran ikan nilem besar, sedang dan kecil memberikan pengaruh yang tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap aktivitas amilase.

Aktivitas amilase pada organ pencernaan ikan dari ukuran yang berbeda adalah sama dikarenakan oleh beberapa hal antara lain: pertama, sampel yang digunakan adalah ontogenetiknya sama (glondongan) dengan bobot antara $\geq 2,5$ - ≤ 100 g dan panjang antara 9-16 cm. Menurut Effendi (1997) dalam Astuti (2011) bahwa tahapan ontogenetik ikan brek yang termasuk kedalam famili cyprinidae anatara lain sebagai berikut tahap ontogenetik dari putihan berubah menjadi gelondongan yang berat perekornya mencapai 2,5-100 g. Gelondongan akan terus menjadi induk, berat induk ikan jantan bisa mencapai 500 g, sedangkan induk betinanya bisa mencapai berat 1,5 kg.

Kedua, organ pencernaan yang aktif pada kelompok ikan yang stadiumnya sama (glondongan) adalah sama yaitu intestine. Aktivitas amilase pada intestine sangat dipengaruhi antara lain oleh jumlah amilase aktif yang ada, jumlah pakan (amilum) dan kualitas pakan serta pola makan bukan oleh ukuran. Oleh karena itu meskipun ikan uji yang digunakan ukurannya tidak sama, aktivitas amilasennya sama. Hal tersebut juga dapat mengakibatkan aktivitas amilase pada ukuran tubuh yang berbeda dan interaksinya dengan organ pencernaan (hepatopankreas dan intestine) sama. Lundstedt *et al.* (2003) menyatakan bahwa selain kadar pakan, faktor lain yang dapat mempengaruhi aktivitas amilase ikan yaitu kemampuan usus, kebiasaan makan, kompleksitas struktur pakan, suhu dan musim.

Organ pencernaan (hepatopankreas dan intestine) memberikan pengaruh nyata ($P \leq 0,05$) terhadap aktivitas amilase. Aktivitas amilase di dalam hepatopankreas dan intestine berbeda karena beberapa hal antara lain: pertama, hepatopankreas merupakan kelenjar pencernaan yang berfungsi mensekresikan enzim-enzim yang baru disintesis (zymogen). Kedua, intestine merupakan tempat bermuaranya enzim-enzim pencernaan dari hepatopankreas yang selanjutnya diaktivasi menjadi enzim aktif. Hal tersebut mengakibatkan aktivitas amilase di hepatopankreas dan di dalam intestine berbeda. Menurut Takshima dan Hibiya (1995) bahwa hepatopankreas merupakan kelenjar pencernaan yang menghasilkan enzim-enzim pencernaan dan kemudian disekresikan ke dalam saluran pencernaan (intestine).

Berdasarkan hasil uji BNT_{0,05} perbedaan aktivitas amilase ($P < 0,05$) pada intestine dan hepatopankreas. Hal ini dapat diartikan bahwa aktivitas amilase di dalam intestine lebih tinggi dibandingkan aktivitas amilase pada hepatopankreas. Hasil penelitian ini sesuai dengan hipotesa yang diajukan.

Aktivitas amilase pada hepatopankreas dan intestine berbeda, karena hepatopankreas merupakan kelenjar pencernaan yang mensekresikan enzim-enzim pencernaan antara lain amilase dalam bentuk tidak aktif. Amilase tersebut kemudian disekresikan ke dalam intestine dan mengalami aktivasi menjadi amilase aktif. Menurut Jiang *et al.* (2013) hepatopankreas adalah kelenjar pencernaan utama yang menghasilkan enzim pencernaan dan juga merupakan indikator metabolisme yang sensitif, fase ecdysis (pergantian kulit), status gizi, dan penyakit dalam berbagai organisme perairan.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas amilase pada intestine lebih tinggi dibandingkan pada hepatopankreas karena hepatopankreas banyak mengandung amilase tidak aktif sehingga aktivitasnya rendah, sedangkan di dalam intestine banyak mengandung amilase yang telah mengalami aktivasi sehingga aktivitasnya tinggi. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Afrianto *et al.* (1992) bahwa aktivitas enzim berkaitan dengan jumlah enzim aktif untuk mencerna pakan yang dikonsumsi.

Aktivitas enzim pencernaan juga berkorelasi dengan jumlah enzim yang terdapat pada tempat pencernaan berlangsung, semakin banyak enzim yang bekerja pada organ pencernaan tersebut semakin tinggi pula aktivitasnya. Jiang *et al.* (2013) hepatopankreas adalah kelenjar pencernaan utama yang menghasilkan enzim pencernaan dalam bentuk zymogen dan juga merupakan indikator metabolisme yang sensitif, fase ecdysis (pergantian kulit), status gizi, dan penyakit dalam berbagai organisme perairan.

Aktivitas amilase pada intestine lebih tinggi dibandingkan pada hepatopankreas, karena amilase yang terdapat di dalam intestine yang telah teraktivasi berasal dari mukosa usus dan pankreas sehingga aktivitas amilase lebih tinggi dibandingkan pada

hepatopankreas. Hal ini sesuai dengan pernyataan Yuniarti (2010) menyatakan bahwa usus halus mensekresikan enzim-enzim kemudian bercampur dengan sari makanan dan bekerja pada pH netral sampai basa.

Aktivitas amilase meningkat dengan meningkatnya umur ikan (Suryanti, 2002; Ziarin, 2003). Selain itu aktivitas amilase juga dipengaruhi oleh kadar protein pakan, kadar karbohidrat, daya cerna ikan, kebiasaan makan, suhu dan musim (Lundstedt *et al.*, 2004), komposisi pakan dan kematangan organ seksual (Kuzmina, 1996).

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Aktivitas protease dan amilase pada hepatopankreas dan intestine ikan nilam berbeda.
2. Intestine menunjukkan aktivitas protease dan amilase lebih tinggi dibandingkan pada hepatopankreas ikan nilam.

Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang pengaruh perbedaan umur ikan nilam (*O. hasselti* C.V.) terhadap aktivitas protease dan amilase pada hepatopankreas dan intestine.

DAFTAR REFERENSI

- Chiu YN, Benitez LV. 1981. Studies on the carbohydrases in the digestive tract of the milkfish (*Chanos chanos*). *Marine Biology*. 1981(61): 247-254.
- Chong, Alexander SC, Hashim R, Yang LC, Ali AB. 2002. Partial characterization and activities of proteases from the digestive tract of discus fish (*Symphysodon aequifasciata*). *Aquaculture*. 203: 321-333.
- Effendie M. 1997. *Biologi perikanan*. Yogyakarta: Penerbit Yayasan Pustaka Nusatama. 163 hal.
- Fujaya Y. 2004. *Fisiologi ikan: dasar pengembangan teknologi perikanan*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Furne M, Hidalgo MC, Lopez A, Garcia-Gallego M, Morales AE, Domezain A, Domezaine J, Sanz A. 2005. Digestive enzyme activities in adriatic sturgeon (*Acipenser naccarii*) and rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*): a comparative study. *Aquaculture*. 250: 391-398.
- Harms J, Anger K, Klaus S, Seeger B. 1991. Nutritional effects on ingestion rate, digestive enzyme activity, growth and biochemical composition of *Hyas araneus* L. (Decapoda: Majidae) larvae. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 145: 233-265.
- Haryono. 1994. *Komunitas ikan di perairan cagar alam Kayan Mentarang*. Bogor: WWF-IP dan Puslit Biologi-LIPI; Laporan perjalanan.
- Hidalgo MC, Urea E, Sanz A. 1999. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. *Proteolytic and amylase*. *Aquaculture*. 170: 267-283.
- Jhonston DJ, Ritar AJ, Thomas CW. 2004. Digestive enzyme profile reveal digestive capacity and potential energy sources in fed and starved spiny lobster (*Jasus edwardsii*) Phyllosoma Larvae. *Comp. J. Biochem. Physiol.*, 138 (B): 137-144.
- 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 of Nat Sci.* 43: 143-153.
- Kuzmina W. 1996. Influence of age on digestive enzyme activity in some freshwater teleostei. *Aquaculture*. 148:25-37.
- 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.
- Moyle PB, Cech Jr JJ. 2000. *Fishes: an introduction to ichthyology.* 4th ed. USA: Prentice Hall, Inc.
- Natalia Y, Hashim R, Ahyudin A, Alexander C. 2004. Characterization of digestive enzymes in a carnivorous ornamental fish, the Asian bony tongue *Scleropages formosus* (Osteoglossidae). *Aquaculture.* 233: 305-320.
- Radiopoetro. 1988. *Zoologi.* Jakarta: Erlangga.
- Steel RGD, Torrie JH. 1993. *Prinsip dan prosedur statistik : suatu pendekatan biometric [diterjemahkan oleh Sumantri B].* Edisi kedua. Jakarta: PT. Eas West Seed Indonesia Gramedia Utama.
- Sulastrri, Rachmatika I, Hartoto DI. 1985. Pola makan dan reproduksi ikan *Tor* spp. sebagai dasar budidayanya. *Berita Biologi.* 3(3): 84-91.
- Sunarma A, Hastuti DWB, Sistina Y. 2007. Penggunaan ekstender madu yang dikombinasikan dengan krioprotektan berbeda pada pengawetan sperma ikan Nilem (Indonesian Sharkminnow, *Osteochilus hasseltii* Valenciennes 1842). Makalah dipresentasikan pada: Konferensi Aquaculture Indonesia 2007; Program Studi Biologi, Program Pascasarjana, Universitas Jenderal Soedirman; Purwokerto.
- Suryanti. 2002. Perkembangan aktivitas enzim pencernaan dan hubungannya dengan kemampuan pemanfaatan pakan buatan pada ikan Baung (*Mystus nemurus* C.V.) [tesis]. Program Pascasarjan Institut Pertanian Bogor-Bogor. h46.
- Takashima F, Hibiya T. 1995. *An atlas fish histology, normal and pathological features.* 2nd ed. Tokyo: Kodansha Ltd.
- Wicaksono P. 2005. Pengaruh padat tebar terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan Nilem (*Osteochilus hasseltii* C.V.) yang dipelihara dalam keramba jaring apung waduk Cirata dengan pakan perifiton. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Wood CM, Kajimura M, Bucking C, Walsh PJ. 2007. Osmoregulation, ionoregulation and acid-base regulation by the gastrointestinal track after feeding in the elasmobranch (*Squalus acnthis*). *The Journal of Experimental Biology.* 210: 1335-1349.
- Zairin MJ, Handayani S. 2003. Pola perubahan enzim-enzim pencernaan sebagai respon terhadap berbagai substrat pada ikan Gurame (*Osphronemus gouramy* Lac.). Bogor: Departemen Budidaya Perikanan, FPIK IPB.
- Zonneveld N, Huisman EA, Boon JH. 1991. *Prinsip-prinsip budidaya ikan.* Jakarta: Gramedia Pustaka.