

# AKTIVITAS TRIPSIN-LIKE DAN KIMOTRIPSIN-LIKE PADA IKAN SIDAT TROPIK *Anguilla bicolor* McClelland

ANNISA FITRI LARASSAGITA, HANA, UNTUNG SUSILO

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

## ABSTRACT

The ability of eel (*Anguilla bicolor* McClelland) to digest feed protein is highly dependent on the alkaline proteases in the intestine which are trypsin-like and chymotrypsin-like. Information on the trypsin-like and chymotrypsin-like activities is needed to understand the digestive capacity of eels to ingest feed proteins. However, the information on this subject is insufficient. This research aimed to determine the activity of trypsin-like and chymotrypsin-like of eel on the different body weight and incubation temperature. Three groups of eel stadia were selected to represent different body weight, i.e., elver, yellow eel, and pre-silver stadia, and three different enzyme incubation temperatures of 30, 40, and 50°C was applied. The trypsin-like and chymotrypsin-like activity were measured using a spectrophotometry method. The results showed the activities of trypsin-like and chymotrypsin-like were significantly different between the body size and the intestine segment ( $P < 0.05$ ). The highest trypsin-like and chymotrypsin-like activities were found in the elver stadia approximately  $41.25 \pm 0.898$  g, in the anterior part of the intestine ( $P < 0.05$ ). The incubation temperatures were not differed significantly ( $P > 0.05$ ). This study showed the eel had a higher digestive capacity of protein at elver stadium, mainly occur in the anterior part of the intestine, whereas, the temperature ranges from 30 to 50°C had no significant effect on the enzyme activities.

KEY WORDS: alkaline protease, eel, intestine, temperature

Corresponding author: UNTUNG SUSILO | email: [untung.susilo@unsoed.ac.id](mailto:untung.susilo@unsoed.ac.id)

Submitted: 13-11-2017 | Accepted: 16-01-2018

## PENDAHULUAN

Ikan sidat, *Anguilla bicolor* McClelland, adalah salah satu jenis ikan tawar yang memiliki nilai ekonomis yang tinggi (Purwanto, 2007). Tingginya nilai ekonomis tersebut selaras dengan tingginya protein yang terkandung dalam tubuh ikan sidat. Hal tersebut menyebabkan ikan sidat sangat diminati di pasar Internasional terutama Jepang dan Korea (Haryono, 2008). Indonesia sebagai salah satu negara pengespor ikan sidat masih mengandalkan tangkapan dari perairan alam untuk memenuhi kebutuhan ekspor, sebab masih terdapatnya permasalahan pada budidaya ikan sidat (Sasongko *et al.*, 2007).

Ikan sidat merupakan ikan karnivora (Setijanto *et al.*, 2014) dan memiliki intestin berukuran relatif pendek (Day *et al.*, 2014), kondisi ini berbeda dengan ikan herbivora yang memiliki saluran pencernaan lebih panjang dibandingkan dengan panjang tubuhnya (Raji & Norouzi, 2010). Pada umumnya ikan karnivora kebutuhan protein pakan lebih besar daripada ikan herbivora maupun omnivora (Bai, 2012; Cheng *et al.*, 2013).

Kemampuan ikan sidat memanfaatkan pakan berkaitan erat dengan kapasitas pencernaannya. Oleh karena itu, diperlukan informasi mengenai keterkaitan antara nutrisi yang terkandung dalam pakan dengan kapasitas pencernaan sidat. Salah satu cara untuk mengetahui kemampuan sidat dalam memanfaatkan pakan adalah dengan mengukur aktivitas enzim pencernaannya (Susilo *et al.*, 2015).

Penelitian yang mengamati aktivitas enzim pencernaan terutama protease alkalin telah banyak dilakukan diantaranya pada ikan pollock Alaska *Theragra chalcogramma* (Kishimura *et al.*, 2008), ikan *common dentex* (*Dentex dentex*) (Gisbert *et al.*, 2009),

ikan salmon Atlantik *Salmo salar* L. (Chikwati *et al.*, 2013), ikan lunjar *Rasbora lateristriata* Blkr. (Susilo *et al.*, 2016), dan ikan serigala *Hoplias malabaricus* (Gioda *et al.*, 2017). Penelitian yang mengkaji aktivitas protease alkalin juga telah banyak dilakukan pada beberapa spesies ikan dengan berbagai ukuran, salah satunya adalah Pujante *et al.* (2016) yang menguji aktivitas tripsin dan kimotripsin pada ikan *thick-lipped grey mullet* *Chelon labrosus* dengan tiga ukuran berbeda. Aktivitas tripsin dan kimotripsin pada ikan ini meningkat seiring dengan penambahan berat tubuh.

Temperatur mempengaruhi aktivitas enzim. Kenaikan temperatur yang melebihi batas optimum dapat menyebabkan kerusakan atau denaturasi enzim sedangkan penurunan temperatur di bawah batas optimum mengakibatkan inaktivasi enzim (Nelson & Cox, 2009). Studi biologi mengenai pengaruh temperatur terhadap aktivitas enzim protease alkalin telah banyak dilakukan, diantaranya adalah pada ikan cakalang *Katsuwonus pelamis* (Klomklao *et al.*, 2007), *Sardina pilchardus* (Bougatef *et al.*, 2007), ikan tuna kuning *Thunnus albacares* (Prasertsan & Prachumratana, 2008), dan ikan nila hibrid *Oreochromis niloticus* x *O. aureus* (Wang *et al.*, 2010). Studi aktivitas enzim pencernaan pada berbagai temperatur inkubasi pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa temperatur inkubasi menyebabkan perbedaan aktivitas enzim yang berkaitan dengan kapasitas pencernaan.

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 ikan sidat dengan berbagai ukuran dan temperatur inkubasi, sehingga dapat diperoleh informasi terkait dengan kapasitas pencernaan ikan sidat tropik

terhadap protein, terutama yang dilakukan oleh tripsin dan kimotripsin, sebagai informasi dasar untuk membantu penyusunan formula pakan ikan sidat pada masa yang akan datang. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas protease alkalin yaitu tripsin-like dan kimotripsin-like pada ikan sidat pada ukuran, segmen intestin, dan temperatur inkubasi yang berbeda.

## METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Hewan dan Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman.

Penelitian dilakukan secara eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) berpola faktorial 3 x 3. Perlakuan yang diujicobakan adalah tiga kelompok ikan sidat dengan ukuran tubuh berbeda berdasarkan stadia yaitu stadia *elver* (41.25±0.898 g; 32.05±1.741 cm), stadia *yellow eel* (319.8±4.666 g; 60.99±1.782 cm), dan stadia *pre-silver* (569.5±9.150 g; 70.25±2.361 cm) dengan tiga temperatur inkubasi berbeda (30°C, 40°C, dan 50°C) dan masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali dalam kondisi *in vitro*. Jumlah ikan yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 51 ekor ikan sidat dengan berat rata-rata 41.25±0.898 g, 14 ekor dengan berat rata-rata 319.8±4.66 g, 6 ekor dengan berat rata-rata 569.5±9.150 g yang diperoleh dari pengepul ikan sidat di wilayah Segara Anakan, Cilacap.

Isolasi organ pencernaan ikan sidat dilakukan, dengan cara membedah bagian ventral tubuh, dengan cara kerja sebagai berikut: ikan dibius dengan cara merendamnya di air es, organ pencernaan dipisahkan dari tubuh lalu diambil bagian intestin. Selanjutnya intestin dibagi menjadi 2 segmen dengan panjang yang sama (intestin depan dan intestin belakang). Masing-masing segmen intestin dimasukkan ke dalam botol film dan ditimbang, kemudian disimpan di *refrigerator* dengan temperatur -80°C.

Sampel intestin yang telah diisolasi, dilumatkan menggunakan *homogenizer* listrik dengan menambahkan 50 mM Tris-HCl *buffer* dingin dengan rasio 1:8 (w/v). Homogenat yang diperoleh ditampung dalam tabung *ependorff* bervolume 1,5 mL lalu disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 15 menit pada temperatur 4°C. Cairan supernatan yang diperoleh selanjutnya ditampung di tabung *ependorff* dan disimpan dalam *refrigerator* dengan temperatur -80°C dan siap digunakan untuk pengukuran aktivitas enzim (Rungruangsak *et al.*, 2006). Kadar protein supernatant ditentukan dengan metode Lowry menggunakan albumin sebagai standar.

Metode hidrolisis kasein dengan modifikasi digunakan untuk mengukur aktivitas tripsin-like (Rick, 1974a). Sebanyak 350 µL *buffer* fosfat pH 7.6 dan 50 µL ekstrak enzim serta 350 µL *substrate* (kasein 1%) dicampurkan pada tabung sampel. Kemudian tabung sampel diinkubasi pada temperatur 30°C, 40°C, atau 50°C selama 30 menit. Setelah inkubasi, reaksi dihentikan dengan penambahan 750 µL TCA 5% ke dalam tabung sampel. Untuk tabung blanko, dilakukan prosedur yang sama kecuali ekstrak enzim ditambahkan setelah pemberian TCA sebanyak 750 µL. Kemudian semua tabung disimpan dalam *refrigerator* selama 60 menit. Campuran reaksi disentrifugasi pada kecepatan 6.000 g selama 10 menit. Supernatan diambil sebanyak 1.000 µL dan dimasukkan dalam tabung reaksi yang telah berisi akuabides 1.500 µL. Campuran reaksi dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*. Absorbansi dibaca menggunakan spektrofotometer dengan panjang

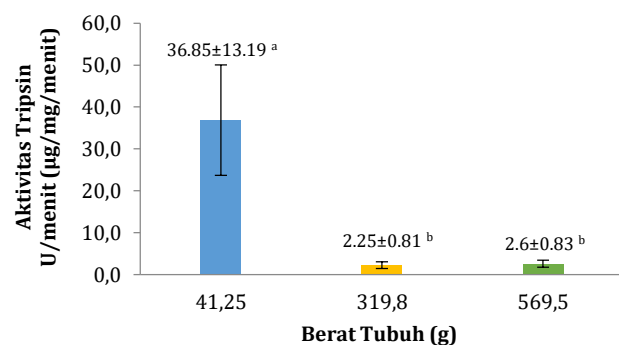
gelombang 280 nm. Aktivitas spesifik tripsin-like didefinisikan sebagai jumlah tirosin (µg) yang diproduksi permenit.

Metode hidrolisis kasein dengan modifikasi digunakan untuk mengukur aktivitas kimotripsin-like (Rick, 1974b). Sebanyak 350 µL *buffer* Tris-HCl pH 8.0 dan sebanyak 50 µL ekstrak enzim dicampurkan pada tabung sampel. Kemudian ditambahkan sebanyak 350 µL substrat kasein ke dalam tabung sampel. Campuran reaksi kemudian diinkubasi menggunakan *waterbath* pada temperatur 30°C, 40°C, atau 50°C selama 30 menit. Setelah inkubasi, reaksi dihentikan dengan penambahan *trichloroacetic acid* (TCA) 5% sebanyak 750 µL ke dalam tabung sampel. Untuk tabung blanko, dilakukan prosedur yang sama kecuali ekstrak enzim ditambahkan setelah pemberian TCA sebanyak 750 µL. Kemudian semua tabung disimpan dalam *refrigerator* selama 60 menit. Campuran reaksi disentrifugasi pada kecepatan 6.000 g selama 10 menit. Supernatan diambil sebanyak 1.000 µL dan dimasukkan dalam tabung reaksi yang telah berisi akuabides 1.500 µL. Campuran reaksi dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*. Absorbansi dibaca menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 280 nm. Aktivitas spesifik kimotripsin didefinisikan sebagai jumlah µg tirosin (µg) yang diproduksi permenit.

Data yang diperoleh dianalisis dengan *analysis of variance* (ANOVA) pada tingkat kepercayaan 95% menggunakan SPSS versi 21.0 *Windows Software* untuk mengetahui pengaruh perbedaan ukuran tubuh dan temperatur inkubasi terhadap aktivitas protease alkalin saluran pencernaan ikan sidat *A. bicolor* McClelland. Hasil ANOVA yang berbeda nyata dilanjutkan dengan uji Tukey.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran aktivitas tripsin-like pada intestin ikan sidat memperlihatkan perbedaan yang signifikan ( $P < 0.05$ ) diantara berat tubuh yang berbeda (Gambar 1) dan ikan dengan ukuran berat tubuh terkecil (stadia *elver*) memiliki aktivitas tripsin-like lebih tinggi dibandingkan aktivitas tripsin-like pada ikan dengan berat tubuh lebih besar (stadia *yellow eel* dan *pre-silver*). Aktivitas enzim yang tinggi diduga berkaitan dengan peran organ pencernaan dalam mensekresi enzim.



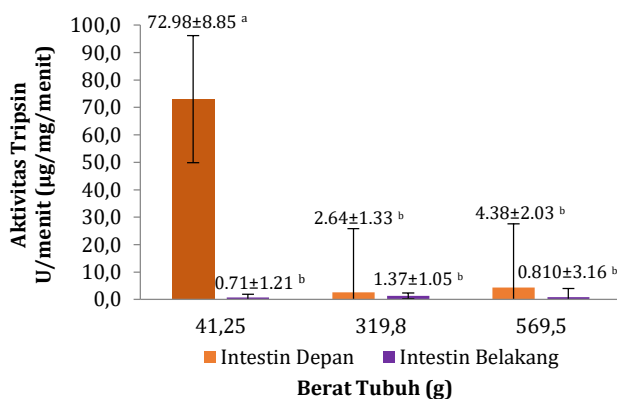
**Gambar 1.** Rerata (±SD; n = 3) aktivitas tripsin-like ikan sidat dengan berat tubuh berbeda. Rerata dengan huruf berbeda menunjukkan ada perbedaan yang nyata ( $P < 0.05$ ).

Jika peran organ pencernaan optimal dalam mensekresi enzim, maka proses pencernaan pun akan optimal. Proses pencernaan yang optimal membantu menunjang pertumbuhan (Dairi & Lumenta, 2015).

Ikan sidat pada stadia *elver* diduga memiliki kebutuhan protein pakan yang lebih tinggi untuk menunjang pertumbuhannya. Jumlah protein yang optimum mempengaruhi pertumbuhan ikan apabila seluruh aktivitas dan pemeliharaan tubuh untuk metabolisme telah terpenuhi (Marzuqi & Anjusary, 2013).

Fenomena adanya penurunan aktivitas protease alkalin seiring dengan pertambahan ukuran juga dijumpai pada penelitian yang dilakukan oleh Chiu & Pan (2002) bahwa pada fase juvenil (50±5 g) ikan sidat *Anguilla japonica* memiliki aktivitas protease alkalin lebih tinggi dibandingkan dengan ukuran dewasa (150±10 g). Hal ini juga terjadi pada spesies *Brycon guatemalensis* dimana aktivitas tripsin lebih tinggi pada juvenil dibandingkan dewasa (Drewe *et al.*, 2004). Pola yang sama terjadi pada ikan *rose snapper Lutjanus guttatus* (Peña *et al.*, 2015). Hal ini mengindikasikan bahwa semakin bertambah ukuran ikan maka aktivitas tripsin-like cenderung semakin menurun.

Hasil pengukuran aktivitas tripsin-like ikan sidat berdasarkan segmen intestin terdapat pada Gambar 2. Berdasarkan hasil pengukuran, rerata aktivitas tripsin-like ikan sidat stadia *elver* (41.25±0.898 g) pada bagian intestin depan adalah 72.988±8.851 U/mg protein dan intestin belakang adalah 0.716±1.215 U/mg protein, pada ikan sidat stadia *yellow eel* (319.8±4.666 g) bagian intestin depan adalah 2.644±1.339 U/mg protein dan bagian intestin belakang adalah 1.372±1.050 U/mg protein, sedangkan pada ikan sidat stadia *pre-silver* adalah (569.5±9.150 g) pada bagian intestin depan adalah 4.381±2.035 U/mg protein dan bagian intestin belakang adalah 0.810±3.168 U/mg protein.



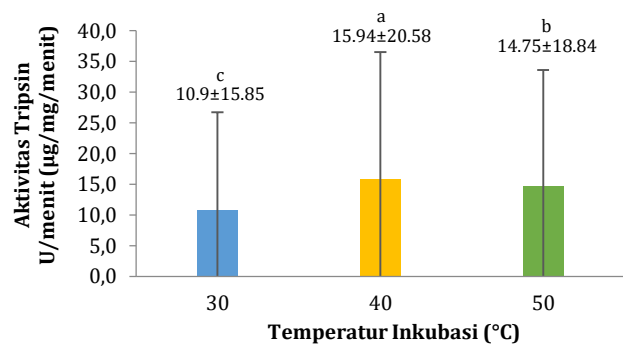
**Gambar 2.** Rerata (±SD) aktivitas tripsin-like pada segmen intestin ikan sidat dengan berat tubuh berbeda. Rerata dengan huruf berbeda menunjukkan ada perbedaan yang nyata ( $P < 0.05$ ).

Hasil ANOVA menunjukkan adanya perbedaan signifikan ( $P < 0.05$ ) di antara segmen intestin. Aktivitas tripsin-like terjadi di seluruh segmen intestin, tetapi aktivitasnya lebih tinggi terjadi di bagian intestin depan dibandingkan dengan intestin posterior. Tingginya aktivitas tripsin-like pada intestin depan juga ditunjukkan pada studi dengan ikan nila

*Oreochromis niloticus* (Klahan *et al.*, 2009). Tingginya aktivitas protease alkalin khususnya tripsin pada intestin depan diduga karena letaknya yang berdekatan dengan pankreas, organ pensекреksi tripsin (Murray *et al.*, 2009). Khojasteh (2012) menguatkan bahwa sekitar 80% aktivitas digesti protease alkalin terjadi di intestin depan.

Keberadaan dan distribusi protease alkalin pada ikan pernah dilaporkan pada penelitian sebelumnya seperti pada lele silver Amerika Selatan *Rhamdia quelen* (Lazzari *et al.*, 2010), pada ikan nila *Oreochromis niloticus* (Uscanga *et al.*, 2010), dan pada ikan salmon Atlantik *Salmo salar* (Krogdahl *et al.*, 2015). Jadi, tampaknya aktivitas tripsin terjadi di seluruh bagian intestin namun aktivitas tertinggi terjadi di intestin bagian depan.

Hasil pengukuran aktivitas tripsin-like pada ikan sidat dengan temperatur inkubasi berbeda tertera pada Gambar 3. Berdasarkan hasil pengukuran, rerata aktivitas tripsin-like pada ikan sidat dengan temperatur inkubasi 30°C adalah 10.906±15.847 U/mg protein, pada temperatur inkubasi 40°C adalah 15.938±20.585 U/mg protein, sedangkan pada temperatur inkubasi 50°C adalah 14.751±18.841 U/mg protein.



**Gambar 3.** Rerata (±SD) aktivitas tripsin-like pada ikan sidat dengan temperatur inkubasi berbeda. Rerata dengan huruf berbeda menunjukkan ada perbedaan yang nyata ( $P < 0.05$ ).

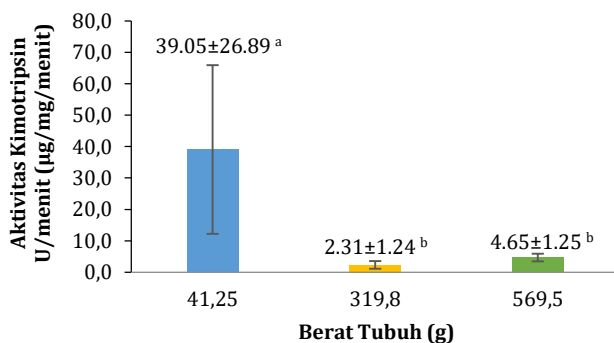
Hasil ANOVA menunjukkan tidak terdapat perbedaan aktivitas tripsin-like yang signifikan ( $P > 0.05$ ) di antara temperatur inkubasi. Hal ini menunjukkan bahwa temperatur inkubasi 30–50°C tidak mempengaruhi aktivitas tripsin-like. Diduga bahwa pada temperatur ini, tripsin masih dapat melakukan aktivitas. Murashita *et al.* (2012) melaporkan bahwa pada ikan sidat Jepang *Anguilla japonica*, tripsin memiliki kisaran temperatur inkubasi yang optimum antara 40 hingga 50°C dan aktivitasnya akan menurun di atas temperatur 50°C.

Ketika temperatur diturunkan di bawah temperatur optimum, maka gerakan molekul enzim akan melambat dan laju kompleks enzim-substrat akan berkurang. Meskipun enzim masih dapat bekerja, tetapi enzim bekerja dengan sangat lambat. Ketika temperatur dinaikkan melebihi temperatur optimum, beberapa molekul enzim diubah sedemikian rupa sehingga tidak dapat lagi membentuk kompleks

enzim-substrat dan laju reaksinya akan melambat. Jika temperatur semakin meningkat, maka banyak molekul enzim menjadi tidak aktif. Jika temperatur cukup tinggi akan menyebabkan perubahan permanen pada molekul tiga dimensi enzim. Permukaan molekul yang telah berubah tersebut tidak akan kembali ke bentuk semula walaupun temperatur diturunkan (Enger *et al.*, 2007).

Aktivitas tripsin-like pada saluran pencernaan ikan sidat dengan menggunakan temperatur inkubasi 30–50°C di penelitian ini memiliki kesamaan dengan beberapa jenis ikan diantaranya salmon masu *Oncorhynchus masou* (Kanno *et al.*, 2009), *grey triggerfish Balistes capriscus* (Jellouli *et al.*, 2009), dan ikan bogue *Boops boops* (Barkia *et al.*, 2010) yaitu aktivitas tripsin masih terjadi pada temperatur 20–50°C tetapi dari temperatur 50°C ke atas terjadi penurunan. Perbedaan aktivitas ini disebabkan oleh temperatur optimum yang spesifik yang dimiliki setiap spesies. Perbedaan spesies menghasilkan perbedaan temperatur inkubasi optimum enzim (Rungruangsak, 2014).

Rerata aktivitas kimotripsin-like pada saluran pencernaan ikan sidat stadia *elver* (41.25±0.898 g) adalah 39.051±26.893 U/menit, stadia *yellow eel* (319.8±4.666 g) adalah 2.316±1.240 U/menit, sedangkan stadia *pre-silver* (569.5±9.150 g) adalah 4.652±1.246 U/menit (Gambar 4). Hasil ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan aktivitas kimotripsin-like yang signifikan ( $P < 0.05$ ) di antara ukuran sidat yang berbeda.



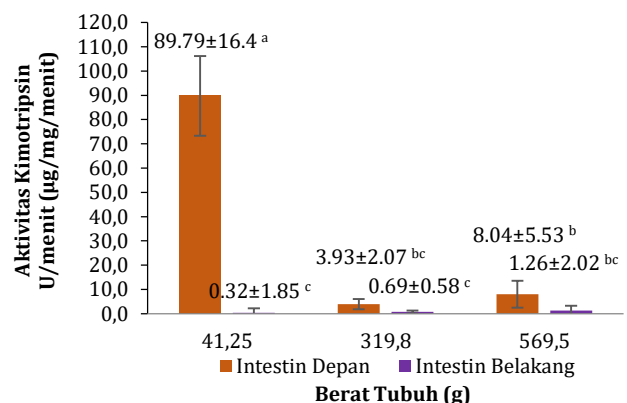
**Gambar 4.** Rerata ( $\pm$ SD) aktivitas kimotripsin-like ikan sidat dengan berat tubuh berbeda. Rerata dengan huruf berbeda menunjukkan ada perbedaan yang nyata ( $P < 0.05$ ).

Aktivitas kimotripsin terhadap berat tubuh ikan sidat memiliki pola yang sama dengan aktivitas tripsin dimana ikan sidat stadia *elver* memiliki aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan stadia *yellow eel* dan *pre-silver*. Adanya aktivitas kimotripsin yang tinggi berkaitan erat dengan peran pankreas dalam mensekresi enzim untuk proses pencernaan dimana proses pencernaan berkorelasi dengan produksi enzim. Jika pankreas memproduksi enzim dalam jumlah banyak dengan diiringi keberadaan pakan (substrat) melimpah maka proses pencernaan dapat berjalan dengan optimal (Nurhayati *et al.*, 2014). Enzim yang disekresikan dalam jumlah banyak menyebabkan aktivitas enzim di saluran pencernaan

akan meningkat, dan sebaliknya apabila jumlah enzim sedikit maka aktivitas enzim cenderung menurun. Hal ini menunjukkan bahwa pada ikan sidat stadia *elver*, enzim disekresikan dalam jumlah banyak.

Perbedaan aktivitas enzim dipengaruhi oleh konsentrasi enzim dan substrat (pakan). Konsentrasi enzim selaras dengan kecepatan reaksi sedangkan konsentrasi substrat mempengaruhi kecepatan reaksi sampai titik tertentu ( $V_{max}$ ). Konsentrasi substrat yang meningkat melebihi  $V_{max}$  tidak merubah laju reaksi secara signifikan (Saryono, 2011). Hasil penelitian ini menunjukkan adanya penurunan aktivitas kimotripsin-like pada ikan sidat stadia *yellow eel* dan *pre-silver* diduga karena reaksi enzim dengan substrat pada ukuran ikan sidat tersebut telah mencapai titik  $V_{max}$  sehingga laju reaksi tidak berubah secara signifikan dan cenderung menurun, maka meskipun ikan mengonsumsi pakan (substrat) dalam jumlah banyak tetapi konsentrasi protease alkalin dalam saluran pencernaan rendah maka aktivitas protease alkalin tersebut cenderung tidak meningkat.

Hasil pengukuran aktivitas kimotripsin-like berdasarkan segmen intestin tertera pada Gambar 5. Rerata aktivitas kimotripsin-like pada ikan sidat stadia *elver* (41.25±0.898 g) pada bagian intestin depan adalah 89.795±16.403 U/menit dan bagian intestin belakang adalah 0.322±1.848 U/menit, ikan sidat stadia *yellow eel* (319.8±4.666 g) pada bagian intestin depan memiliki aktivitas kimotripsin-like sebesar 3.933±2.068 U/menit dan bagian intestin belakang sebesar 0.699±0.583 U/menit, sedangkan rerata aktivitas kimotripsin-like pada ikan sidat stadia *pre-silver* (569.5±9.150 g) pada bagian intestin depan sebesar 8.043±5.528 U/menit dan bagian intestin belakang sebesar 1.260±2.019 U/menit.



**Gambar 5.** Rerata ( $\pm$ SD) aktivitas kimotripsin-like pada segmen intestin ikan sidat dengan berat tubuh berbeda. Rerata dengan huruf berbeda menunjukkan ada perbedaan yang nyata ( $P < 0.05$ ).

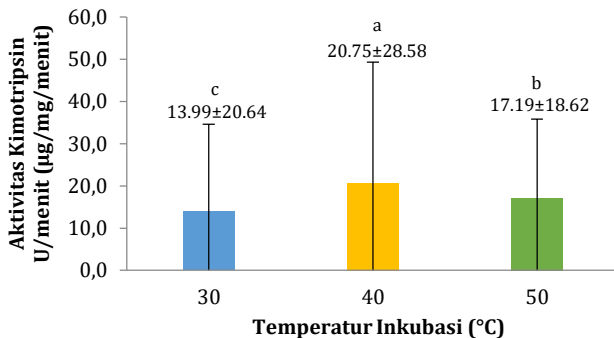
Aktivitas kimotripsin cenderung lebih tinggi pada intestin depan dibandingkan dengan intestin posterior. Tingginya aktivitas kimotripsin pada intestin depan dipengaruhi oleh letak intestin depan yang berdekatan dengan pankreas. Pankreas mensekresikan tripsinogen dan kimotripsinogen.



Selanjutnya tripsinogen berubah menjadi tripsin dan tripsin akan mengaktifkan kimotripsinogen menjadi kimotripsin (Nelson & Cox, 2009). Hasil penelitian ini mengindikasikan jumlah kimotripsin pada intestin depan lebih banyak dibandingkan dengan intestin posterior. Kurangnya ketersediaan kimotripsin pada intestin posterior mempengaruhi aktivitasnya. Aktivitas kimotripsin yang rendah di intestin posterior terjadi karena pada intestin posterior tidak didominasi oleh aktivitas digesti kimotripsin, melainkan aktivitas lainnya seperti penyerapan elektrolit dan air. Hal ini dikuatkan oleh Genten *et al.* (2009) yang mengatakan bahwa pada intestin belakang terjadi penyerapan protein makromolekul tetapi tetap mayoritas terjadi di intestin depan.

Fenomena perbedaan aktivitas kimotripsin pada segmen intestin juga pernah dilaporkan sebelumnya pada ikan *Thunnus orientalis* (Parra *et al.*, 2007), juvenil ikan *Solea senegalensis* Kaup 1850 (Rodiles *et al.*, 2012) dan pada ikan *sea bream* Meilán *et al.* (2014). Pada ketiga jenis ikan tersebut, aktivitas kimotripsin cenderung menurun di intestin posterior. Hal ini mengindikasikan distribusi kimotripsin pada intestin depan lebih tinggi dibandingkan pada intestin belakang.

Hasil pengukuran aktivitas kimotripsin-like pada ikan sidat dengan temperatur inkubasi berbeda tertera pada Gambar 6. Rerata aktivitas kimotripsin-like pada temperatur inkubasi 30°C adalah  $13.99 \pm 20.636$  U/menit, pada temperatur inkubasi 40°C sebesar  $20.755 \pm 28.579$  U/menit, sedangkan pada temperatur inkubasi 50°C sebesar  $17.197 \pm 18.616$  U/menit.



**Gambar 6.** Rerata ( $\pm$ SD) aktivitas kimotripsin-like pada ikan sidat dengan temperatur inkubasi berbeda. Rerata dengan huruf berbeda menunjukkan ada perbedaan yang nyata ( $P < 0.05$ ).

Hasil ANOVA menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan aktivitas kimotripsin-like yang signifikan ( $P > 0.05$ ) diantara temperatur inkubasi yang digunakan. Aktivitas kimotripsin tetap terjadi di temperatur inkubasi 30°C, 40°C, dan 50°C walaupun aktivitasnya tidak berbeda nyata. Menurut Russel *et al.* (2008), kebanyakan enzim memiliki rentang temperatur optimum antara 40 hingga 50°C. Namun, tidak menutup kemungkinan pada beberapa spesies memiliki rentang temperatur optimum di atas atau di bawah rentang tersebut. Hal ini mengindikasikan

bahwa perbedaan spesies dapat menyebabkan perbedaan temperatur inkubasi optimum (Rungruangsak, 2014).

Xiong *et al.* (2011) mengatakan bahwa setiap enzim memiliki struktur kimia spesifik tersendiri, dimana aktivitas dan kestabilannya dipengaruhi oleh banyak faktor seperti pH dan temperatur. Apabila terjadi perubahan pada pH dan temperatur biasanya secara drastis mempengaruhi kinerja katalitik enzim. Pernyataan tersebut dikuatkan oleh Kucharczyk *et al.* (2016) mengatakan bahwa temperatur merupakan salah satu faktor yang menimbulkan pengaruh yang sangat besar dalam metabolisme seperti pada nutrisi ikan dan pertumbuhannya baik laju pertumbuhan dan ukuran tubuh ikan.

Aktivitas kimotripsin pada berbagai temperatur inkubasi pernah dilaporkan oleh Parra *et al.* (2007) yaitu aktivitas kimotripsin pada ikan tuna biru berada di kisaran 45–55°C dan terdenaturasi bila di atas temperatur 60°C. Pada ikan salmon atlantik *Salmo salar* L., rentang aktivitas kimotripsin berada pada temperatur 40–50°C (Rungruangsak, 2014).

## KESIMPULAN DAN SARAN

Aktivitas tripsin-like dan kimotripsin-like pada ikan sidat stadia *elver* lebih tinggi daripada ikan sidat stadia *yellow eel* dan *pre-silver*, terutama terjadi pada segmen intestin depan, namun tidak terdapat perbedaan aktivitas di antara temperatur inkubasi yang diujicobakan.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas enzim pada ikan sidat dengan ukuran yang lebih beragam dan pada berbagai temperatur inkubasi.

## DAFTAR REFERENSI

- Bai SC. 2012. Japanese Eel Aquaculture in Korea. Nutritional Research Key to Further Sustainable Growth: Global Aquaculture Alliance.
- Barkia A, Bougateg A, Nasri R, Fetoui E, Balti R, Nasri M. 2010. Trypsin from The Viscera of Bogue (*Boops boops*): Isolation and Characterisation. *Fish Physiol Biochem.* 36:893–902.
- Bougateg A, N Souissi N, Fakhfakh Y, Ellouz-Triki, M Nasri. 2007. Purification and Characterization of Trypsin from The Viscera of Sardine (*Sardina pilchardus*). *Food Chemistry.* 102:343–350.
- Cheng W, Lai CS, Lin YH. 2013. Quantifying The Dietary Protein and Lipid Requirements of Marble Eel *Anguilla marmorata* with Different Body Weight. *Journal of the Fisheries Society of Taiwan.* 40:135–142.
- Chikwati EM, Sahlmann C, Holm H, Penn MH, Krogdahl A, Bakke AM. 2013. Alterations in Digestive Enzyme Activities during The Development of Diet-Induced Enteritis in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture.* 402–403:28–37.
- Chiu S, Pan BS. 2002. Digestive Protease Activities of Juvenile and Adult Eel (*Anguilla japonica*) Fed with Floating Feed. *Aquaculture.* 205:141–156.
- Dairi AYL, Lumenta C. 2015. Pakan Diameter Berbeda bagi Pertumbuhan Benih Sidat (*Anguilla* sp.). *Budidaya Perairan* September. 3(3):30–41.
- Day RD, Tibbetts IR, Secor SM. 2014. Physiological Responses to Short-Term Fasting among Herbivorous, Omnivorous, and Carnivorous Fishes. *J Comp Physiol B.* 184:497–512.
- Drewe KE, Horn MH, Dickson KA, Gawlicka A. 2004. Insectivore to Frugivore: Ontogenetic Changes in Gut Morphology and Digestive Enzyme Activity in The Characid Fish *Brycon guatemalensis* from Costa Rican Rain Forest Streams. *Journal of Fish Biology.* 64:890–902.

- Enger ED, Ross FC, Bailey DB. 2007. Concepts in Biology. Twelfth Edition. New York: McGraw-Hill Companies, Inc.
- Genten F, Terwinghe E, Danguy A. 2009. Digestive System. In: Atlas of Fish Histology. Belgium: Science Publishers.
- Gioda CR, Pretto A, Freitas CS, Leitemperger J, Loro VL, Lazzari R, Lissner LA, Baldisserotto B, Salbego J. 2017. Different Feeding Habits Influence The Activity of Digestive Enzymes in Freshwater Fish. *Ciência Rural*. 47(3):1-7.
- Gisbert E, Giménez G, Fernández I, Kotzamanis Y, Estévez A. 2009. Development of Digestive Enzymes in Common Dentex *Dentex Dentex* during Early Ontogeny. *Aquaculture*. 287:381-387.
- Haryono. 2008. Sidat, Belut Berteling: Potensi dan Aspek Budidayanya. Bidang Zoologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI. Fauna Indonesia. 8(1):22-26.
- Jellouli K, Bougatef A, Daassi D, Balti R, Barkia A, Nasri M. 2009. New Alkaline Trypsin from The Intestin of Grey Triggerfish (*Balistes caprisus*) with High Activity at Low Temperature: Purification and Characterisation. *Food Chemistry*. 116:644-650.
- Kanno G, Yamaguchi T, Kishimura H, Yamaha E, Saeki H. 2009. Purification and Characteristics of Trypsin from Masu Salmon (*Oncorhynchus masou*) Cultured in Fresh-water. *Fish Physiol Biochem*. 36:637-645.
- Khojasteh SMB. 2012. The Morphology of the Post-Gastric Alimentary Canal in Teleost Fishes: A Brief Review. *International Journal of Aquatic Science*. 3(2):71-88.
- Kishimura H, Klomklao S, Benjakul S, Chun BS. 2008. Characteristics of Trypsin from The Pyloric Caeca of Walleye Pollock (*Theragra chalcogramma*). *Food Chemistry*. 106:194-199.
- 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 J. (Nat. Sci.)*. 43:143-153.
- Klomklao S, Benjakul S, Visessanguan W, Kishimura H, Simpson BK. 2007. Purification and Characterisation of Trypsins from The Spleen of Skipjack Tuna (*Katsuwonus pelamis*). *Food Chemistry*. 100:1580-1589.
- Krogdahl A, Sundby A, Holm H. 2015. Characteristics of Digestive Processes in Atlantic Salmon (*Salmo salar*). Enzyme pH Optima, Chyme pH, and Enzyme Activities. *Aquaculture*. 32(2):1-37.
- Kucharczyk D, Czarkowski T, Nowosad J, Targońska K, Kupren K, Wyszomirska E, Kujawa R, Horváth L, Müller T. 2016. Influence of Temperature on Successful European Eel Female Maturation under Controlled Conditions. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 16:477-482.
- Lazzari R, Neto JR, Pedron FA, Loro VL, Pretto A, Gioda CR. 2010. Protein Sources and Digestive Enzyme Activities in Jundiá (*Rhamdia quelen*). *Sci. Agric*. 67(3):259-266.
- Marzuqi M, Anjusary DN. 2013. Kecernaan Nutrien Pakan dengan Kadar Protein dan Lemak Berbeda pada Juvenil Ikan Kerapu Pasir (*Epinephelus corallicola*). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 5(2):311-323.
- Meilán IG, Ordóñez-Grande B, Gallardo MA. 2014. Meal Timing Affects Protein-Sparing Effect by Carbohydrates in Sea Bream: Effects on Digestive and Absorptive Processes. *Aquaculture*. 434:121-128.
- Murashita K, Furuita H, Matsunari H, Yamamoto T, Awaji M, Nomura K, Nagao J, Tanaka H. 2012. Partial Characterization and Ontogenetic Development of Pancreatic Digestive Enzymes in Japanese Eel *Anguilla japonica* larvae. *Fish Physiol Biochem*. 39:895-905.
- Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA. 2009. Harper's Illustrated Biochemistry. Twenty-Eighth Edition. USA: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Nelson D, Cox M. 2009. Lehninger Principles of Biochemistry. Fifth Edition. New York: W.H. Freeman and Company.
- Nurhayati, Utomo NBP, Setiawati M. 2014. Perkembangan Enzim Pencernaan dan Pertumbuhan Larva Ikan Lele Dumbo, *Clarias gariepinus* Burchell 1822, yang Diberi Kombinasi Cacing Sutra dan Pakan Buatan. *Jurnal Iktiologi Indonesia*. 14(3):167-178.
- Parra AM, Rosas A, Lazo JP, Viana MT. 2007. Partial Characterization of The Digestive Enzymes of Pacific Bluefin Tuna *Thunnus orientalis* under Culture Conditions. *Fish Physiol Biochem*. 33:223-231.
- Peña E, Hernández C, Álvarez-González CA, Ibarra-Castro L, Puello-Cruz A, Hardy RW. 2015. Comparative Characterization of Protease Activity in Cultured Spotted Rose Snapper Juveniles (*Lutjanus guttatus*). *Lat. Am. J. Aquat. Res*. 43(4):641-650.
- Prasertsan P, T Prachumratana. 2008. Properties of Protease and Lipase from Whole and Individual Organ of Viscera from Three Tuna Species. *Songklanakarin J. Sci. Technol*. 30(Suppl.1):77-86.
- Pujante IM, Diaz-Lopez M, 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*. p.1-10. <http://dx.doi.org/10.1111/are.13038>.
- Purwanto J. 2007. Pemeliharaan Benih Ikan Sidat (*Anguilla bicolor*) dengan Padat Tebar yang Berbeda. Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Tawar. Sukabumi. *Bul. Tek Lit. Akuakultur*. 6 (2).
- Raji AR, Norouzi E. 2010. Histological and Histochemical Study on The Allimentary Canal in Walking Catfish (*Clarias batracus*) and Piranha (*Serrasalmus nattereri*). *J Vet Res*. 11(1):1-10.
- Rick W. 1974a. Trypsin. In Bergmeyer, H.U., ed. *Methods of Enzymatic Analysis*. Vol.2. Verlag Chemie Weinheim, Academic Press. New York and London: 1013-1024.
- Rick W. 1974b. Chymotrypsin. In Bergmeyer, H.U., ed. *Methods of Enzymatic Analysis*. Vol. 2. Verlag Chemie Weinheim, Academic Press. New York and London: 1006-1012.
- Rodiles A, Santigosa E, Herrera M, Hachero-Cruzado I, Cordero ML, Martinez-Llorens S, Lall SP, Alarcon FJ. 2012. Effect of Dietary Protein Level and Source on Digestive Proteolytic Enzyme Activity in Juvenile Senegalese Sole, *Solea senegalensis* Kaup 1850. *Aquacult Int*. <http://dx.doi.org/10.1007/s10499-012-9508-6>.
- Rungruangsak Torrisen K. 2014. Atlantic Salmon, *Salmo salar* L.: Food Utilization, Protein Growth Efficiency and Maturation. Chapter 7. Norway: Nova Science Publishers, Inc.
- Rungruangsak Torrisen K, R Moss, LH Andresen, A Berg, R Waagbo. 2006. Different Expression of Trypsin and Chymotrypsin in Relation to Growth in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). *Fish Physiology and Biochemistry*. 32:7-23.
- Russell PJ, Wolfe SL, Hertz PE, Starr C, McMillan B. 2008. *Biology: The Dynamic Science*. First Edition. Canada: Thomson Brooks/Cole.
- Saryono. 2011. *Biokimia Enzim*. Yogyakarta: Nuha Medika.
- Sasongko A, Purwanto J, Mu'minah S, Arie U. 2007. Sidat: Panduan Agribisnis Penangkapan, Pendederan, dan Pembesaran. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Setijanto, Sulistyio I, Budianto E. 2014. Penentuan Waktu Pengambilan Benih dan Diet Ikan Sidat (*Anguilla bicolor* McClelland) di Sungai Serayu. *Omni-Akuatika*. XIII(19):46-52.
- Susilo U, Sukardi P, Affandi R. 2016. Alkaline Protease, Amylase and Cellulase Activities of Yellow Rasbora, *Rasbora lateristriata* Blkr., at Different Feeding Levels. *Molekul*. 11(2):190-201.
- 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.
- Uscanga A, Moyano FJ, Alvarez CA. 2010. Assessment of Enzymatic Efficiency on Protein Digestion in The Tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fish Physiol Biochem*. 36:1079-1085.
- Wang Q, Gao Z, Zhang N, Shi Y, Xie X, Chen Q. 2010. Purification and Characterization of Trypsin from the Intestin of Hybrid Tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*). *J. Agric. Food Chem*. 58(1):655-659.
- 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*. 95:56-64.