

# PERANAN ENZIM PAPAIN DALAM BUDIDAYA IKAN

*by* Diana Rachmawati

---

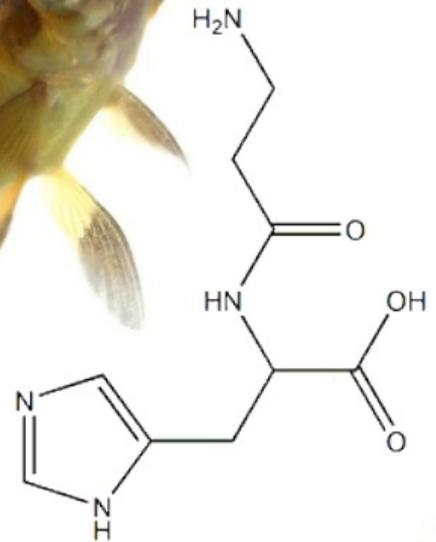
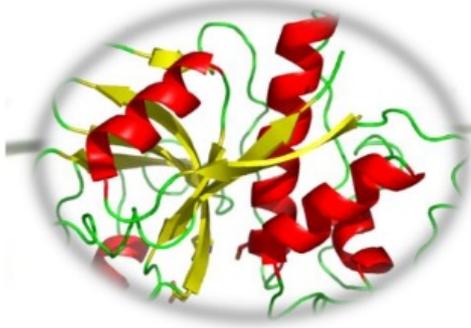
**Submission date:** 01-Sep-2020 09:35AM (UTC+0700)

**Submission ID:** 1377347858

**File name:** BUKU\_PERANAN\_ENZIM\_PAPAIN\_DALAM\_BUDIDAYA\_IKAN\_Final-Cetak.docx (5.72M)

**Word count:** 23322

**Character count:** 141265



# PERANAN ENZIM PAPAIN DALAM BUDIDAYA IKAN

**DIANA RACHMAWATI**

**JOHANNES HUTABARAT**

**ISTIYANTO SAMIDJAN**

**SETO WINDARTO**

**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO**

# **PERANAN ENZIM PAPAIN DALAM BUDIDAYA IKAN**

Disusun Oleh :

**Diana Rachmawati**  
**Johannes Hutabarat**  
**Istiyanto Samidjan**  
**Seto Windarto**



**UNDIP Press**  
**Semarang**

# **PERANAN ENZIM PAPAIN DALAM BUDIDAYA IKAN**

Disusun Oleh :

**Diana Rachmawati  
Johannes Hutabarat  
Istiyanto Samidjan  
Seto Windarto**

ISBN : 978-979-097-720-4

Cetakan Pertama : 25 Agustus 2020

**Hak Cipta dilindungi undang-undang**

Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan dengan cara apapun, tanpa izin tertulis dari penerbit.



**Diterbitkan oleh :  
Undip Press  
Semarang**

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas ridhonya sehingga penulis dapat menyelesaikan buku dengan judul “Peranan enzim papain dalam budidaya ikan”. Buku ini merupakan buku edisi pertama yang terdiri dari 5 bab yaitu : Pendahuluan, Enzim Papain, Enzim Protease, Enzim Pencernaan Ikan dan Aplikasi Enzim Papain Dalam Budidaya Ikan.

.Buku ini menjelaskan peranan enzim papain yang ditambahkan dalam pakan ikan dapat meningkatkan proses hidrolisis protein kompleks (polipeptida) menjadi protein sederhana (peptide/asam amino) sehingga meningkatkan pencernaan nutrisi pakan dan mudah diserap ikan meningkatkan efisiensi pemanfaatan pakan yang mendukung pertumbuhan ikan.

Keberhasilan penulisan buku ini juga tidak lepas dari kontribusi dan dukungan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi yang telah memberikan dana hibah penelitian terapan berdasarkan surat penugasan penelitian terapan, Direktorat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Direktorat Penguatan Penelitian Umum, Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi, Tahun Anggaran 2020, No : 257-84 / UN7.6.1/ PP/2020.
2. Anggota tim penulis buku Prof. Dr. Johannes Hutabarat, MSc, Dr. Ir. Istiyanto Samidjan, MS dan Seto Windarto, S.Pi, M.Sc., M.P. atas kerjasamanya dalam penulisan buku.
3. Terima kasih juga disampaikan kepada semua pihak yang telah membantu dalam proses penulisan buku.

Penulis juga berharap semoga informasi yang diuraikan dalam buku ini dapat menambah khasanah pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi yang bermanfaat bagi masyarakat luas terutama para pembudidaya ikan dan para praktisi industri pakan ikan yang tertarik dengan aplikasi enzim papain.

Semarang, 25 Agustus 2020

Penulis

## DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR .....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
ANALISIS PEMBELAJARAN .....	xi
BAB 1. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Penutup .....	2
1.2.1 Tes Formatif .....	2
1.2.2. Umpan Balik .....	3
1.2.3. Rubrik Nilai (Parameter pemberian Nilai).....	3
1.2.4. Tindak Lanjut.....	3
1.2.5. Rangkuman .....	4
1.2.6. Kunci Jawaban Tes Formatif .....	5
BAB II. ENZIM PAPAIN.....	7
2.1 Definisi Enzim .....	7
2.2 Enzim Papain .....	8
2.2.1 Faktor yang berpengaruh terhadap aktivitas enzim papain.....	13
2.2.2 Metode-metode isolasi crude enzim papain .....	14
2.2.3 Produksi Papain .....	14
2.2.4 Pengolahan getah pepaya menjadi papain kasar .....	15
2.2.5 Manfaat Enzim Papain .....	16
2.3. Penutup .....	18
2.3.1 Tes Formatif .....	18
2.3.2 Umpan Balik .....	18

2.3.3	Rubrik Nilai (Parameter pemberian Nilai).....	19
2.3.4	Tindak Lanjut.....	19
2.3.5	Rangkuman .....	19
2.3.6	Kunci Jawaban Tes Formatif .....	21
<b>BAB III. ENZIM PROTEASE .....</b>		<b>23</b>
3.1.	Klasifikasi Enzim Protease .....	23
3.2.	Manfaat Enzim Protease dalam Industri Pangan .....	24
3.3.	Isolasi Enzim Protease .....	25
3.4.	Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim .....	27
3.5.	Aktivitas Enzim Protease .....	30
3.6.	Karakterisasi Enzim .....	32
3.7.	Penutup .....	32
3.7.1	Tes Formatif.....	32
3.7.2	Umpan Balik .....	33
3.7.3	Rubrik Nilai (Parameter pemberian Nilai).....	33
3.7.4	Tindak Lanjut.....	33
3.7.5	Rangkuman .....	34
3.7.6	Kunci Jawaban Tes Formatif .....	35
<b>BAB IV. ENZIM PENCERNAAN IKAN.....</b>		<b>37</b>
4.1.	Enzim Pencernaan .....	37
4.1.1.	Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap aktivitas enzim .....	37
4.1.2	Protease .....	41
4.1.3	Lipase .....	43
4.1.4	Karbohidrase .....	44
4.2.	Enzim Pencernaan Ikan Sesuai Dengan Jenis Makanannya.....	44
4.3	Penutup .....	46
4.3.1	Tes Formatif.....	46
4.3.2.	Umpan Balik .....	46

4.3.3.	Rubrik Nilai (Parameter pemberian Nilai).....	47
4.3.4.	Tindak Lanjut.....	47
4.3.5.	Rangkuman .....	48
4.3.6.	Kunci Jawaban Tes Formatif .....	49
BAB V. APLIKASI ENZIM PAPAIN DALAM PAKAN IKAN .....		51
5.1.	Ikan Nila ( <i>Oreochromis niloticus</i> ).....	51
5.2.	Ikan Keureling ( <i>Tor tambra</i> ) .....	55
5.3.	Udang Galah ( <i>Macrobrachium rosenbergii</i> ).....	60
5.4.	Ikan Lele Sangkuriang ( <i>Clarias</i> sp).....	63
5.6.	Ikan Mas ( <i>Cyprinus carpio</i> ) .....	85
5.7.	Penutup .....	91
5.7.1	Tes Formatif .....	91
5.7.2	Umpan Balik .....	92
5.7.3	Rubrik Nilai (Parameter pemberian Nilai).....	92
5.7.4	Tindak Lanjut.....	93
5.7.5	Rangkuman .....	93
5.7.6	Kunci Jawaban Tes Formatif .....	94
DAFTAR PUSTAKA .....		96

## DAFTAR TABEL

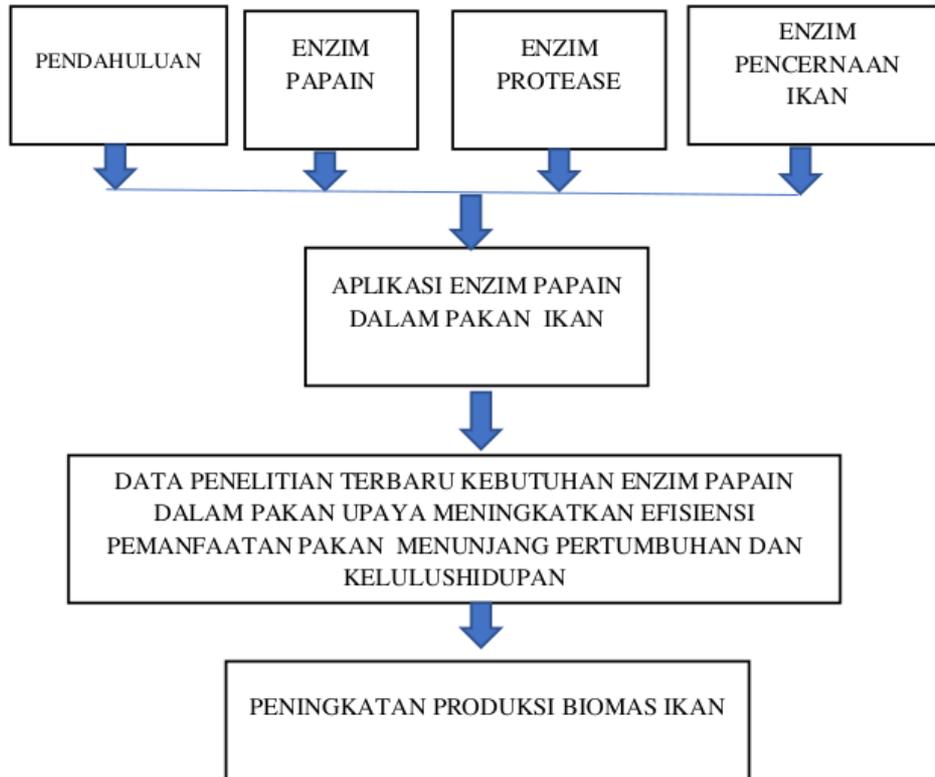
Tabel 1. Enzim pencernaan protein pada hewan.....	41
Tabel 2. Jenis-jenis enzim pencernaan dan organ memproduksi .....	45
Tabel 3. Hubungan antara kategori ikan dan aktivitas enzim pencernaannya (Kapoor et al., 1975) .....	46
Tabel 4. Analisis proksimat kandungan nutrisi pakan yang digunakan (%BK) .....	52
Tabel 5. Data EPP (%) dan PER .....	53
Tabel 6. Formulasi pakan uji .....	55
Tabel 7. Kenaikan berat badan, laju pertumbuhan harian dan laju pertumbuhan spesifik ikan keureling ( <i>Tor tambra</i> ) yang diberi pakan uji mengandung papain selama 80 hari.....	56
Tabel 8. Tingkat kelangsungan hidup, efisiensi pakan, rasio konversi pakan ikan keureling ( <i>Tor tambra</i> ) yang diberi pakan uji mengandung papain selama 80 hari. ....	57
Tabel 9. Bahan (%) dan hasil proksimat (% berat kering dasar) pakan .....	61
Tabel 10. Panjang, berat, laju pertumbuhan spesifik dan kelulushidupan post-larvae of <i>M. rosenbergii</i> selama penelitian.....	61
Tabel 11. Data EFU, FCR, PER, RGR and SR benih lele Sangkuriang selama penelitian.....	64
Tabel 12. Data glucose (mg/dl), hematokrit (%), erytrosit ( $\times 10^6$ sel/mm <sup>3</sup> ) dan leukosit (sel/mm <sup>3</sup> ) lele Sangkuriang selama penelitian.....	72
Tabel 13. Komposisi dan hasil analisis proksimat pakan yang digunakan selama penelitian.....	75
Tabel 14. Nilai pencernaan protein (ADC <sub>p</sub> ), laju pertumbuhan relatif (RGR), kelulushidupan (SR), efisiensi pemanfaatan pakan (EFU), rasio konversi pakan (FCR), dan rasio efisiensi protein (PER) ikan patin ( <i>Pangasius hypophthalmus</i> ) selama penelitian .....	76
Tabel 15. Parameter kualitas air selama penelitian.....	85
Tabel 16. Komposisi pakan uji tanpa penambahan papain .....	86
Tabel 17. Variasi mingguan parameter pertumbuhan ikan mas yang diberi pakan mengandung berbagai dosis Papain selama 70 hari. ....	89

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur enzim papain .....	9
Gambar 2. Representasi grafis komposisi asam amino papain .....	11
Gambar 3. Reaksi Katalisis Protease dalam Menghidrolisis Ikatan Peptida Protein	23
Gambar 4. Pengaruh konsentrasi enzim terhadap kuantitas substrat yang ditransformasi (Afandi et al., 1992).....	37
Gambar 5. Pengaruh konsentrasi enzim terhadap kecepatan reaksi enzimatik (Afandi et al., 1992).....	38
Gambar 6. Pengaruh konsentrasi substrat terhadap kecepatan reaksi enzimatik (Afandi et al., 1992).....	38
Gambar 7. Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim (Afandi et al., 1992).....	39
Gambar 8. Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim (Afandi et al., 1992) .....	40
Gambar 9. pH Optimum untuk Aktivitas Enzim (Afandi et al., 1992).....	40
Gambar 10. Rata-rata berat ikan selama percobaan. P1= kontrol, P2 = 17,5 mg/kg, P3 = 20,0 mg/kg, P4 = 22,5 mg/kg, P5= 25,0 mg/kg, P6= 27,5 mg/kg....	58
Gambar 11. Hubungan penambahan enzim eksogenous papain dengan EFU lele Sangkuriang.....	66
Gambar 12. Hubungan penambahan enzim eksogenous papain dengan PER lele Sangkuriang.....	69
Gambar 13. Hubungan penambahan enzim eksogenous papain dengan RGR lele Sangkuriang.....	71
Gambar 14. Hubungan antara penambahan enzim dalam pakan dengan ADC <sub>p</sub> ikan patin ( <i>Pangasius hypophthalmus</i> ) .....	78
Gambar 15. Hubungan antara penambahan enzim papain dalam pakan dengan EFU ikan patin ( <i>Pangasius hypophthalmus</i> ).....	79
Gambar 16. Hubungan antara penambahan enzim papain dalam pakan dengan RGR ikan patin ( <i>Pangasius hypophthalmus</i> ).....	81
Gambar 17. Hubungan antara penambahan enzim papain dalam pakan dengan FCR ikan patin ( <i>Pangasius hypophthalmus</i> ).....	83
Gambar 18. Hubungan antara penambahan enzim papain dalam pakan dengan PER ikan patin ( <i>Pangasius hypophthalmus</i> ).....	84
Gambar 19. Variasi mingguan dalam rasio konversi pakan (FCR) dari ikan mas yang diberi makan yang mengandung berbagai dosis papain selama percobaan selama 70 hari. Data mewakili rata-rata ± SEM. Histogram yang memiliki huruf yang sama pada waktu sampling yang diberikan berbeda secara signifikan (P <0,05). .....	87

Gambar 20. Variasi mingguan dalam tingkat pertumbuhan (g/hari) ikan mas yang diberi pakan mengandung berbagai dosis papain selama percobaan selama 70 hari. Data mewakili rata-rata  $\pm$  SEM. Histogram yang memiliki huruf yang sama pada waktu sampling yang diberikan berbeda secara signifikan ( $P < 0,05$ )..... 88

## ANALISIS PEMBELAJARAN



## **BAB 1. PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Dalam kegiatan budidaya ikan secara intensif keberadaan pakan berkualitas sangat menentukan keberhasilan kegiatan tersebut. Pakan berkualitas adalah pakan yang mengandung protein sesuai dengan kebutuhan ikan yang dibudidaya. Peningkatan produksi ikan berbanding lurus dengan kebutuhan pakan. Masalah yang sering dihadapi pembudidaya ikan adalah efisiensi pemanfaatan pakan yang belum maksimal sehingga hampir 40-60% dari total biaya produksi hanya untuk pakan (Olmos *et al.*, 2011). Hal ini terjadi pada ikan karnivora yang sukar mencerna protein nabati (Mo *et al.*, 2016). Efisiensi pemanfaatan pakan ikan dapat ditingkatkan dengan penambahan enzim papain (Patil dan Singh, 2014), yang mampu memecah protein menjadi asam amino sehingga lebih mudah dicerna (Amri dan Mamboya, 2012) dan dapat meningkatkan penguraian dan pencernaan bahan pakan yang mengandung protein nabati (Mo *et al.*, 2016). Enzim papain adalah enzim proteolitik dari family sistein proteinase. Enzim ini berasal dari daun pepaya (*Carica papaya* L), buah mentah dan getah pepaya dan getah yang keluar dari pepaya hijau. Daun pepaya mengandung sekitar 9% protein dan 5,3% papain dan juga mengandung vitamin C (286 mg/100 g) dan vitamin E (30 mg/100 mg). Pepaya adalah salah satu sumber herbal dari enzim proteolitik. Bahan aktif utama pohon pepaya adalah papain yang merupakan enzim protein (Singh *et al.*, 2011).

Penambahan enzim papain dalam pakan terbukti dapat meningkatkan efisiensi pemanfaatan pakan, pencernaan nutrisi dan pertumbuhan ikan seperti yang dilaporkan oleh Patil dan Singh (2014) menyatakan penambahan enzim papain 0,1% dalam pakan buatan memberikan efisiensi pakan dan

pertumbuhan terbaik pada udang galah (*Macrobrachium rosenbergii*), Muchlisin *et al.* (2016) mengemukakan penambahan papain 27,5 mg/kg pakan merupakan dosis terbaik bagi pertumbuhan ikan keureling (*Tor tambra*) dengan ukuran 0,30 g dan 3,5 cm, Khati *et al.* (2015) menjelaskan bahwa penambahan sebesar 10 g/kg pakan papain memberikan pertumbuhan dan protein efisiensi ratio terbaik pada ikan fingerling *Labeo rohita*, Rachmawati *et al.* (2018) menyebutkan bahwa penambahan enzim papain sebesar 0,24-0,31 % merupakan kisaran dosis optimum untuk efisiensi pemanfaatan pakan dan pertumbuhan lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*), Rachmawati *et al.* (2019) menyatakan bahwa dosis enzim papain sebesar 1.67 to 1.89%/kg pakan merupakan kisaran dosis optimal untuk efisiensi pemanfaatan pakan, rasio protein efisiensi dan pertumbuhan benih lele Sangkuriang (*Clarias gariepinus*), Rachmawati dan Prihanto, (2019) mengemukakan enzim papain dosis 4 g/kg pakan merupakan dosis terbaik pencernaan nutrisi, efisiensi pemanfaatan pakan dan pertumbuhan ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*). Rachmawati *et al.* (2020) mengemukakan enzim papain sebesar 0,1%/kg pakan merupakan dosis optimal EPP, PER dan RGR udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) menghasilkan nilai maksimal sebesar 66,51%, 1,64 dan 4,22%/hari.

## **1.2 Penutup**

### **1.2.1 Tes Formatif**

1. Jelaskan mengapa ikan membutuhkan pakan berkualitas untuk pertumbuhannya ?
2. Jelaskan mengapa biaya pakan tinggi sekitar 50-60% dari biaya total produksi ?
3. Apa yang disebut enzim papain ?

4. Bagaimana cara kerja enzim papain sehingga dapat meningkatkan efisiensi pemanfaatan pakan ?

Total nilai = 100

### 1.2.2. Umpan Balik

Evaluasi penilaian terhadap tes formatif

Mahasiswa dapat mengukur kemampuan dirinya dengan cara mencocokkan jawabannya dengan kunci jawaban tes yang terdapat pada point 1.2.6.

### 1.2.3. Rubrik Nilai (Parameter pemberian Nilai)

Penilaian tes formatif berdasarkan rubric di bawah ini:

Aspek	Skor	Keterangan
	A = 4 = 100	Sangat jelas, sangat efektif
	B = 3 = 80	Cukup jelas
Isi/Konsep Materi/Kejelasan Makna	C = 2 = 60	Jelas tapi efektif
	D = 1 = 50	Kurang jelas
	E = 0 =<50	Tidak jelas
	A = 4 = 100	Sangat jelas, sangat efektif
	B = 3 = 80	Cukup jelas
Hubungan gagasan antar paragraph	C = 2 = 60	Jelas tapi efektif
	D = 1 = 50	Kurang jelas
	E = 0 =<50	Tidak jelas

### 1.2.4. Tindak Lanjut

Bila anda dapat menjawab semua soal tes formatif di atas dengan benar (lihat kunci jawaban tes formatif pada point 1.2.6) maka anda akan mendapat nilai 100 atau A (lihat rubrik 1.2.3). Apabila nilai yang anda peroleh lebih dari 80, maka anda diperbolehkan melanjutkan materi Pokok Bahasan berikutnya. Bilamana nilai yang anda peroleh masih dibawah 80,

pelajari lagi materi bahan ajar, terutama mengenai bagian soal yang tidak dapat anda jawab dengan baik dan benar. Setelah itu ulangi kembalimenjawab soal hingga anda dapat menjawab soal hingga anda memperoleh nilai 80 atau B. Apabila nilai yang anda peroleh hanya 50 atau D, maka anda tidak diperbolehkan melanjutkan materi pada Pokok Bahasan berikutnya.

### **1.2.5. Rangkuman**

Dalam kegiatan budidaya ikan secara intensif keberadaan pakan berkualitas sangat menentukan keberhasilan kegiatan tersebut. Pakan berkualitas adalah pakan yang mengandung protein sesuai dengan kebutuhan ikan yang dibudidaya. Peningkatan produksi ikan berbanding lurus dengan kebutuhan pakan. Masalah yang sering dihadapi pembudidaya ikan adalah efisiensi pemanfaatan pakan yang belum maksimal sehingga hampir 40-60% dari total biaya produksi hanya untuk pakan (Olmos *et al.*, 2011). Hal ini terjadi pada ikan karnivora yang sukar mencerna protein nabati (Mo *et al.*, 2016). Efisiensi pemanfaatan pakan ikan dapat ditingkatkan dengan penambahan enzim papain (Patil dan Singh, 2014), yang mampu memecah protein menjadi asam amino sehingga lebih mudah dicerna (Amri dan Mamboya, 2012) dan dapat meningkatkan penguraian dan pencernaan bahan pakan yang mengandung protein nabati (Mo *et al.*, 2016). Enzim papain adalah enzim proteolitik dari family sistein proteinase. Enzim ini berasal dari daun pepaya (*Carica papaya* L), buah mentah dan getah pepaya dan getah yang keluar dari pepaya hijau. Daun pepaya mengandung sekitar 9% protein dan 5,3% papain dan juga mengandung vitamin C (286 mg/100 g) dan vitamin E (30 mg/100 mg). Pepaya adalah salah satu sumber herbal dari enzim proteolitik. Bahan aktif utama pohon pepaya adalah papain yang merupakan enzim protein (Singh *et al.*, 2011).

Penambahan enzim papain dalam pakan terbukti dapat meningkatkan efisiensi pemanfaatan pakan, pencernaan nutrisi dan pertumbuhan ikan seperti yang dilaporkan oleh Patil dan Singh (2014) menyatakan penambahan enzim papain 0,1% dalam pakan buatan memberikan efisiensi pakan dan pertumbuhan terbaik pada udang galah (*Macrobrachium rosenbergii*), Muchlisin *et al.* (2016) mengemukakan penambahan papain 27,5 mg/kg pakan merupakan dosis terbaik bagi pertumbuhan ikan keureling (*Tor tambra*) dengan ukuran 0,30 g dan 3,5 cm, Khati *et al.* (2015) menjelaskan bahwa penambahan sebesar 10 g/kg pakan papain memberikan pertumbuhan dan protein efisiensi ratio terbaik pada ikan fingerling *Labeo rohita*, Rachmawati *et al.* (2018) menyebutkan bahwa penambahan enzim papain sebesar 0,24-0,31 % merupakan kisaran dosis optimum untuk efisiensi pemanfaatan pakan dan pertumbuhan lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*), Rachmawati *et al.* (2019) menyatakan bahwa dosis enzim papain sebesar 1.67 to 1.89%/kg pakan merupakan kisaran dosis optimal untuk efisiensi pemanfaatan pakan, rasio protein efisiensi dan pertumbuhan benih lele Sangkuriang (*Clarias gariepinus*), Rachmawati dan Prihanto, (2019) mengemukakan enzim papain dosis 4 g/kg pakan merupakan dosis terbaik pencernaan nutrisi, efisiensi pemanfaatan pakan dan pertumbuhan ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*). Rachmawati *et al.* (2020) mengemukakan enzim papain sebesar 0,1%/kg pakan merupakan dosis optimal EPP, PER dan RGR udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) menghasilkan nilai maksimal sebesar 66,51%, 1,64 dan 4,22%/hari.

#### **1.2.6. Kunci Jawaban Tes Formatif**

Soal nomor 1.

Pakan berkualitas dibutuhkan ikan untuk pertumbuhannya dikarenakan mengandung proetein sesuai kebutuhan ikan.

Soal nomor 2

Biaya pakan tinggi sekitar 50-60% dari biaya total produksi dikarenakan efisiensi pemanfaatan pakan belum maksimal sehingga daya cerna pakan belum optimal mendukung pertumbuhan.

Soal nomor 3

Enzim papain adalah enzim proteolitik dari family sistein proteinase. Enzim ini berasal dari daun pepaya (*Carica papaya* L), buah mentah dan getah pepaya dan getah yang keluar dari pepaya hijau.

Soal nomor 4

Cara kerja enzim papain sehingga dapat meningkatkan efisiensi pemanfaatan pakan adalah dengan menghidrolisis protein pakan dari polipeptida menjadi peptida (asam amino) sehingga pakan mudah dicerna dan diserap meningkatkan efisiensi pemanfaatan pakan.

## **BAB II. ENZIM PAPAIN**

### **2.1 Definisi Enzim**

Enzim adalah suatu katalisator biologis dalam reaksi kimia yang sangat dibutuhkan dalam kehidupan. Enzim berperan dalam mengubah laju reaksi, sehingga dengan demikian kecepatan reaksi yang diperlihatkan dapat dijadikan ukuran keaktifan enzim. Aktivitas enzim dapat dinyatakan antara lain dalam bentuk unit enzim. Satu unit enzim adalah jumlah enzim yang mengkatalis transformasi 1 mikromol substrat dalam waktu 1 menit pada suhu 25°C dan pada keadaan pH optimal (Afandi *et al.*, 1992). Enzim adalah protein yang diproduksi dari sel hidup dan digunakan oleh sel-sel untuk mengkatalis reaksi kimia yang spesifik. Enzim memiliki tenaga katalitik yang luar biasa dan biasanya lebih besar dari katalisator sintetik. Spesifitas enzim sangat tinggi terhadap substratnya. Tanpa pembentukan produk samping enzim merupakan unit fungsional untuk metabolisme dalam sel, bekerja menurut urutan yang teratur. Sistem enzim terkoordinasi dengan baik menghasilkan suatu hubungan yang harmonis diantara sejumlah aktivitas metabolik yang berbeda (Shahib, 1992).

Enzim dikatakan sebagai suatu kelompok protein yang berperan sangat penting dalam aktivitas biologis. Dalam jumlah yang sangat kecil, enzim dapat mengatur reaksi tertentu sehingga dalam keadaan normal tidak terjadi penyimpangan-penyimpangan hasil akhir reaksinya. Enzim ini akan kehilangan aktivitasnya akibat panas, asam atau basa kuat, pelarut organik, atau pengaruh lain yang bisa menyebabkan denaturasi protein. Enzim dikatakan mempunyai sifat sangat khas, karena hanya bekerja pada substratnya (Girindra, 1990). Hampir semua enzim yang telah diketahui adalah protein sehingga enzim merupakan biokatalisator yang dibentuk dari molekul protein terutama yang berbentuk globulan. Enzim yang berperan

penting dalam hidrolisis protein ada 2 yaitu protease yang dapat memecah ikatan protein menjadi peptide, dan peptidase yang dapat memecah ikatanpeptida menjadi asam amino. Dengan kombinasi protease dan peptidase dapat memecah 90% ikatan peptide (Fennema ,1985). Klasifikasi enzim didasarkan pada jenis reaksi yang dikatalisisnya, seperti direkomendasikan oleh Commision on Enzyme of the International Union of Biochemistry (CEIUB). Menurut sistem ini, enzim dibagi lagi menjadi beberapa sub golongan. Penamaan enzim diawali dengan nama substrat, diikuti oleh macam reaksi yang dikatalisis dan akhiran -ase (Muchtadi, 1992).

Enzim bekerja dengan cara bereaksi dengan molekul substrat untuk menghasilkan senyawa intermediat melalui suatu reaksi kimia organik yang membutuhkan energi aktivasi lebih rendah, sehingga percepatan reaksi kimia terjadi karena reaksi kimia dengan energi aktivasi lebih tinggi membutuhkan waktu lebih lama. Meskipun senyawa katalis dapat berubah pada reaksi awal, pada reaksi akhir molekul katalis akan kembali ke bentuk semula. Sebagian besar enzim bekerja secara khas, yang artinya setiap jenis enzim hanya dapat bekerja pada satu macam senyawa atau reaksi kimia. Hal ini disebabkan perbedaan struktur kimia tiap enzim yang bersifat tetap. Sebagai contoh, enzim  $\alpha$ -amilase hanya dapat digunakan pada proses perombakan pati menjadi glukosa.

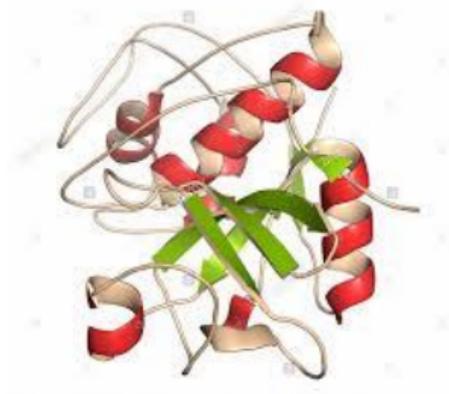
## **2.2 Enzim Papain**

Papain (EC 3.4.22.2) adalah enzim protease sistein tanaman endolitik yang diisolasi dari getah pepaya (*Carica papaya* L.). Papain diperoleh dengan memotong kulit pepaya mentah dan kemudian mengumpulkan dan mengeringkan lateks yang mengalir dari potongan. Semakin hijau buahnya, lebih aktif adalah papain. Enzim papain termasuk dalam superfamili papain,

sebagai enzim proteolitik, papain sangat penting dalam banyak proses biologis vital di semua organisme hidup (Singh *et al.*, 2011).

Enzim papain diekstrak dari *Carica papaya* yang merupakan tanaman sukulen tropis dan herba yang memiliki batang mandiri yang tumbuh di semua negara tropis dan banyak wilayah sub-tropis di dunia (Jaime *et al.*, 2007). Selain itu, tidak ada batasan karena musim karena pepaya tersedia hampir sepanjang tahun. Akibatnya, ada kebutuhan untuk memfasilitasi pengusaha dalam memahami potensi produksi pepaya dan pentingnya mendirikan unit papain. Produksi pepaya yang dikelola dengan baik telah mencatat hasil papain lebih tinggi dari 8,17 g per buah dan papain tertinggi 686,29 g per tanaman dalam periode 6 bulan (Reddy *et al.*, 2012). Struktur enzim papain dapat dilihat pada Gambar 1.

Klasifikasi enzim didasarkan pada jenis reaksi yang dikatalisisnya, seperti direkomendasikan oleh Commission on Enzyme of the International Union of Biochemistry (CEIUB). Menurut sistem ini, enzim dibagi lagi menjadi beberapa sub golongan. Penamaan enzim diawali dengan nama substrat, diikuti oleh macam reaksi yang dikatalisis dan akhiran -ase (Muchtadi, 1992).



Gambar 1. Struktur enzim papain

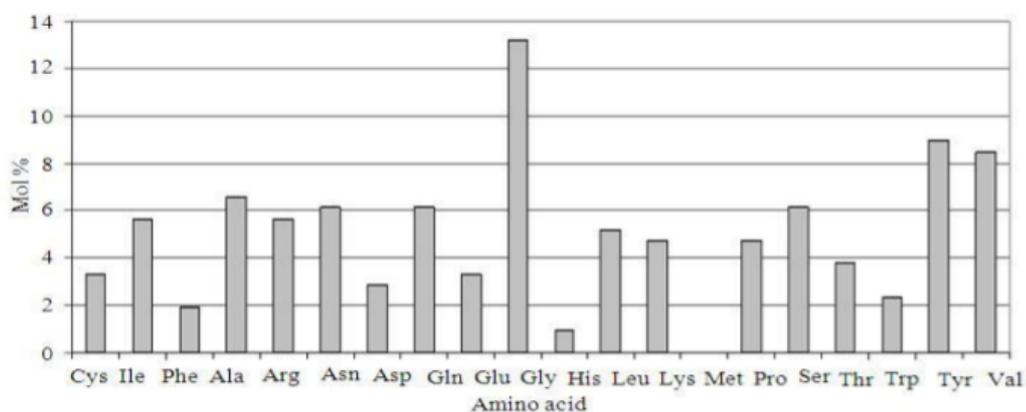
Enzim papain adalah enzim proteolitik dari family sistein proteinase. Enzim ini berasal dari daun pepaya (*Carica papaya* L), buah mentah dan getah pepaya dan getah yang keluar dari pepaya hijau. Daun pepaya mengandung sekitar 9% protein dan 5,3% papain dan juga mengandung vitamin C (286 mg/100 g) dan vitamin E (30 mg/100 mg). Pepaya adalah salah satu sumber herbal dari enzim proteolitik. Bahan aktif utama pohon pepaya adalah papain yang merupakan enzim protein. Konsentrasi enzim ini dalam buah mentah mencapai maksimum dan akan menurun dengan seiring dengan tingkat kematangannya (Singh *et al.*, 2011).

Dalam getah pepaya terkandung enzim-enzim protease yaitu papain dan kimopapain. Kadar papain dan kimopapain dalam buah pepaya muda berturut-turut 10 % dan 45%. Lebih dari 50 asam amino terkandung dalam getah pepaya kering itu antara lain asam aspartat, treonin, serin, asam glutamat, prolin, glisin, alanin, valine, isoleusin, leusin, tirosin, phenilalanin, histidin, lysin, arginin, tritophan, dan sistein. Papain merupakan satu dari enzim paling kuat yang dihasilkan oleh seluruh bagian tanaman pepaya. Pada pepaya, getah termasuk enzim proteolitik. Protein dasar itu memecah senyawa protein menjadi pepton. Contoh enzim proteolitik lainnya adalah bromelain pada nanas, renin pada sapi dan babi. Pemakaiannya masih jarang lantaran sulit diekstrak dan aktivitasnya lebih rendah dibanding papain (Nurul, 2003).

Papain menunjukkan aktivitas proteolitik yang luas terhadap protein, peptida rantai pendek, ester asam amino dan ikatan amida dan diterapkan secara luas di bidang makanan dan obat-obatan (Uhlig, 1998). Ini istimewa memotong ikatan peptida yang melibatkan asam amino basa, terutama arginin, lisin dan residu mengikuti fenilalanin (Menard *et al.*, 1990). Struktur unik dari papain memberikan fungsinya yang membantu untuk memahami bagaimana enzim proteolitik ini bekerja dan berguna untuk berbagai tujuan.

Tinjauan ini membahas fitur struktural enzim, kepentingan biologis dan proses di mana papain berpartisipasi dan potensinya untuk peluang pasar produksi.

Enzim papain sebagai sistein protease dalam superfamili papain biasanya terdiri dari dua domain yang terdefinisi dengan baik yang menyediakan sistem yang sangat baik untuk studi dalam memahami perilaku lipatan protein (Edwin *et al.*, 2002). Kandungan asam amino enzim papain dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Representasi grafis komposisi asam amino papain

Papain digunakan dalam pelunak daging, protein daging utama yang bertanggung jawab untuk kelembutan adalah protein myofibrillar dan protein jaringan ikat (Khanna dan Panda, 2007). Sebagai pencerna protein, papain digunakan dalam memerangi dispepsia dan gangguan pencernaan lainnya serta gangguan pada saluran pencernaan (Huet *et al.*, 2006). Juga sebagai produk farmasi dalam gel berbasis enzim sistein proteolitik, papain menyajikan sifat antijamur, antibakteri dan anti-inflamasi (Chukwuemeka dan Anthoni, 2010).

Papain adalah enzim yang tergolong pada kelompok hydrolases yang memiliki rantai polipeptida termasuk 212 asam amino dengan berat molekul 23,406 dalton, titik isoelektrik pada 8,75 dan aktivitas katalis optimal pada

pH 5-8. Molekul terdiri dari 1 rantai polipeptida termasuk 3 ikatan disulfida dan 1 kelompok sulfhidrid. Inti yang aktif termasuk cystein dan histidin, yang diaktifkan dengan mercaptans (dan lain agen pengurang) dan dihambat oleh oxidizers juga ion logam berat. Enzim mengkatalise hidrolisis protein, peptide, amide, ester dan thioester. Papain merupakan anti-inflammatory, antibakterial dan antioksidan (Alpay dan Uygun, 2014).

Enzim ini dapat memecah ikatan keras antara serat dan jaringan otot. Papain (EC. 3.4.22.2) yang diekstrak dari buah papaya (*Carica papaya*) memiliki aktivitas proteolitik sebesar 100,000 mU/mg, enzim ini dapat digunakan sebagai katalis, proteolisis dan meningkatkan kecepatan proses pencernaan ikan. Papain memecah protein pada pH 4.5-10 namun optimum disaat pH 6-7 dan menjadi tidak aktif apabila pH dibawah 3. Papain dapat mentoleransi berbagai macam temperatur dan relatif stabil pada suhu dibawah 55 °C. Sehingga dapat digunakan pada daerah tropis maupun subtropis (Mo *et al.*, 2016).

Kandungan dalam papain terdiri dari zat – zat antara lain, bahan damar 2.4%, pepayotin 5.3%, pektin 7%, air 75%, protein 2.8%, dan asam malat 0.4%. Penggunaan papain telah lama diketahui untuk pengempuk daging agar mudah untuk dikunyah. Dalam bidang industri penyamakan kulit, papain juga digunakan untuk mengurangi penyusutan serat wol. Dalam bidang medis juga papain digunakan untuk membantu pencernaan penderita *dispepsia* dan digunakan pada lambung (Iriani, 1991). Enzim papain mengandung enzim protease. Akan tetapi, masih bercampur dengan senyawa yang lain seperti lipase, amilase, protein, dan lemak. Enzim protease berperan dalam menguraikan makromolekul protein menjadi senyawa penyusunnya yang lebih sederhana. Sedangkan lipase dan amilase berperan dalam menguraikan lipid dan karbohidrat. Penambahan enzim papain kasar pada substratnya dalam hal ini protein, lipid, dan karbohidrat dalam pelet

ikan akan menyebabkan makromolekul-makromolekul tersebut akan terurai terlebih dahulu sebelum dimakan oleh ikan (Ihsan dan Mahsul, 2016).

### **2.2.1 Faktor yang berpengaruh terhadap aktivitas enzim papain**

Tiap enzim memerlukan suhu dan pH (tingkat keasaman) optimum yang berbeda-beda karena enzim adalah protein, yang dapat mengalami perubahan bentuk jika suhu dan keasaman berubah. Di luar suhu atau pH yang sesuai, enzim tidak dapat bekerja secara optimal atau strukturnya akan mengalami kerusakan. Hal ini akan menyebabkan enzim kehilangan fungsinya sama sekali. Kerja enzim juga dipengaruhi oleh molekul lain. Inhibitor adalah molekul yang menurunkan aktivitas enzim, sedangkan aktivator adalah yang meningkatkan aktivitas enzim. Banyak obat dan racun adalah inhibitor enzim.

Aktivitas enzim papain cukup spesifik karena papain hanya dapat mengkatalisis proses hidrolisis dengan baik pada kondisi pH serta suhu dalam kisaran waktu tertentu. Papain mempunyai pH optimum 7,2 pada substrat BAEE (benzoil arginil etil ester), pH 6,5 pada substrat kasein, pH 7,0 pada albumin dan pH 5,0 pada gelatin (Muchtadi, 1992). Suhu optimal papain sendiri adalah 50-60 ° C. Papain relatif tahan terhadap suhu, bila dibandingkan dengan enzim proteolitik lainnya seperti bromelin dan lisin (Winarno, 1986). Sebagai enzim proteolitik, papain memiliki nilai ekonomi tinggi dan banyak digunakan dalam industri besar. Meskipun telah diketahui ada beberapa enzim protease yang dihasilkan dari tanaman lain, ternyata papain merupakan enzim yang paling banyak dan sering digunakan. Oleh karenanya, potensi pasar papain dalam perdagangan dunia masih cukup besar (Kalie, 1999). Dalam dunia perdagangan, dikenal dua macam papain, yaitu papain kasar (crude papain ) dan papain murni (crystal papain). Papain kasar

(crude papain) adalah getah pepaya yang telah dikeringkan, kemudian dihaluskan hingga menjadi berbentuk tepung.

### **2.2.2 Metode-metode isolasi crude enzim papain**

Metode-metode yang dapat digunakan dalam isolasi crude enzim papain ada tiga cara, yaitu cara Peckolt, cara Walt dan cara Balls dan Lineweaver. Di antara ketiga metode isolasi crude enzim papain tersebut, metode yang paling baik adalah cara Balls dan Lineweaver, karena rendemennya selanjutnya dapat ditentukan. Papain murni (crystal papain) adalah hasil pemisahan dan pemurnian papain kasar menjadi empat macam protein proteolitik, yaitu papain, chimopapain A, chimopapain B, dan pepaya peptidase (Warisno, 2003). Chimopapain A dan chimopapain B sifatnya agak mirip, maka keduanya dapat disebut sebagai chimopapain saja. Keempat jenis enzim proteolitik tersebut biasanya disebut papain saja atau papain kasar. Sifat daya enzimatis papain kasar ini sangat tinggi karena terdiri dari gabungan keempat enzim tersebut. Papain murni adalah hasil pemisahan pemurnian papain kasar menjadi keempat enzim proteolitik diatas. Papain murni banyak digunakan dalam industri farmasi (Kalie, 1999). Berbagai penelitian kini sedang dilakukan dalam usaha pemanfaatan enzim papain atau enzim sejenis lainnya pada bidang-bidang industri lain yang belum digunakan.

### **2.2.3 Produksi Papain**

Untuk memproduksi papain, bahan baku yang perlu disiapkan adalah getah pepaya. Sementara bahan pelarutnya berupa air dan sulfit. Air digunakan sebagai pengecer getah pepaya, sedangkan sulfit digunakan sebagai pelarut bahan kimia.

Pengambilan getah buah dilakukan pada buah yang sudah berumur 2.5 - 3 bulan. Buah yang sedang dalam masa penyadapan harus tetap tergantung pada batang pokoknya. Masa penyadapan buah dapat berlangsung hingga 13 kali. Namun, secara ekonomis penyadapan buah cukup hanya tujuh kali. Oleh karena jangka waktu penyadapan berlangsung setiap empat hari sekali maka masa penyadapannya hanya berlangsung selama 28 hari. Waktu yang tepat untuk melakukan penyadapan adalah pagi hari sebelum matahari terbit, sekitar pukul 05.30 - 08.00, atau pada sore hari sebelum matahari terbenam, sekitar pukul 17.30- 18.30. Penyadapan dilakukan dengan cara menorehkan alat sadap pada kulit buah mulai dari pangkal menuju ujung buah. Kedalaman torehannya antara 1 – 2 mm. Kedalaman ini perlu diperhatikan agar luka torehannya dapat cepat sembuh. Banyak torehan setiap buah cukup lima torehan dengan jarak antartorehan 1 - 2 cm. Setelah ditoreh, getah yang ke luar dari buah segera ditampung dalam alat tampah penampung getah yang sudah dirancang khusus. Tampah ini sudah diletakkan pada batang tanaman. Oleh karena hanya berupa anyaman bambu maka ada banyak lubang pada tampah tersebut. Agar getah tidak banyak terbangun melalui lubang, sebaiknya alas tampah tersebut diberi plastik.

#### **2.2.4 Pengolahan getah pepaya menjadi papain kasar**

Getah hasil penyadapan buah dapat diolah menjadi papain kasar (cured papain). Cara pengolahannya sebagai berikut. Getah dari penyadapan dicampur larutan sulfit 0.7% sebanyak empat kali jumlah getah, lalu diaduk hingga merata dengan alat pengaduk (mixer). Campuran ini biasanya akan membentuk emulsi getah bewarna putih susu yang agak kental. Selanjutnya emulsi getah dikeringkan hingga menjadi papain kasar. Pengeringan emulsi getah menjadi papain kasar dengan 2 cara yaitu :

- 1). Pengeringan dengan sinar matahari

Cara pengeringan ini hanya mengandalkan panas matahari. Pertama-tama emulsi getah dituangkan merata dalam wadah plastik atau stainless steel setebal 1 cm. Setelah itu emulsi dijemur di bawah terik sinar matahari. Menurut pengalaman, emulsi akan mengering kalau dijemur dibawah teriknya sinar matahari selama 8 jam. Getah yang sudah kering berupa papain kasar biasanya berbentuk serpihan-serpihan tipis belwama abu-abu hingga kecokelatan. Serpihan-serpihan papain kasar ini sebaiknya segera dikemas dengan baik.

## 2) Pengeringan dengan pengering kabinet

Untuk pengeringan yang menggunakan pengering listrik yang berbentuk kabinet ini diawali dengan penuangan emulsi getah secara merata dengan ketebalan 1 cm dalam wadah plastik atau stainless steel. Setelah itu, wadah tersebut dimasukkan ke dalam lemari pengering listrik atau cabinet drier. Suhu lemari pengering ini sekitar 55°C. Biasanya getah akan mengering dalam waktu sekitar 6 jam. Selama pengeringan, senantiasa diatur suhunya tetap stabil sehingga pengeringan berjalan secepat mungkin. Papain kasar hasil pengeringan ini berupa serpihan-serpihan tipis berwarna putih sampai keabu-abuan. Serpihan papain kasar ini segera dikemas dengan baik, setelah papain kasar ini digiling terlebih dahulu hingga menjadi tepung.

### **2.2.5 Manfaat Enzim Papain**

Manfaat enzim papain antara lain a). sebagai pelunak daging (meat tenderizee) banyak diperdagangkan dalam kemasan kecil sesuai kebutuhan rumah tangga. Papain ini sudah dicampur bahan lain seperti gula dan garam agar kandungan papainnya tidak terlalu kuat; b). sebagai bahan penghancur sisa atau buangan hasil industri pengalengan ikan menjadi bubur ikan atau konsentrat protein hewani. Bubur ikan atau konsentrat protein ini digunakan

untuk keperluan bahan pakan ternak dan ikan atau bahkan untuk diolah menjadi kecap. Daya memecahkan molekul protein yang dimiliki papain dapat ditingkatkan lebih jauh menjadi kegiatan hidrolisis protein; c). untuk melembutkan kulit. Kulit yang lembut dapat dibuat sarung tangan, jaket, bahkan kaus kaki; d). sebagai obat antidingin atau stabiliser dalam industri bir. Distribusi dan penyimpanan bir berlangsung cukup lama atau suasana sekitarnya dingin karena iklim atau sengaja didinginkan maka dapat terbentuk kabut putih sehingga dapat mengurangi mutu dan selera dari bir tersebut. Dengan penambahan papain saat akan dibotolkan, pembentukan kabut ini tidak terjadi; e). sebagai bahan aktif dalam preparat farmasi seperti untuk obat gangguan pencernaan protein, dispesia, gastritis, serta obat cacing; f). sebagai bahan aktif dalam pembuatan krim pembersih melekat pada kulit dan sukar terlepas dengan cara fisik; g). sebagai bahan aktif dalam pembuatan pasta gigi. Papain dalam pasta gigi dapat membenihkan sisa protein yang melekat pada gigi. Sisa protein ini sering menimbulkan bau busuk bila terlalu lama dibiarkan.

Papain dapat juga digunakan untuk beberapa kebutuhan, baik untuk industri maupun untuk keperluan rumah tangga antara lain :

- a. Bahan pencucian kain sutera (deterjen) untuk membuang serat yang berlebihan,
- b. Bahan pencuci lensa sehingga menjadi lembut.
- c. Bahan pelarut gelatin dalam proses perolehan kembali (recovery) perak dari film yang sudah tidak terpakai.
- d. Bahan perenyah pada pembuatan kue kering seperti cracker,
- e. Bahan penjemih pada pembuatan minuman teh, serta
- f. Bahan penggumpal susu pada pembuatan keju sehingga menghilangkan keraguan sebagian konsumen tentang pemakaian renin dari usus babi untuk menggumpalkan susu.

Papain telah dinyatakan sebagai protein enzimatis yang penting secara biologis dan ekonomis. Melalui struktur unik dari papain yang menyediakan fungsionalitas dan membantu menjelaskan bagaimana enzim proteolitik ini bekerja dan juga membuatnya berharga untuk berbagai keperluan. Penelitian lebih lanjut tentang enzim papain dalam memahami spesifisitas, efek struktural yang dibawa berbagai jalur termodinamika sangat penting. Papain ditemukan secara alami dalam pepaya yang merupakan tanaman serbaguna yang memiliki sejumlah kegunaan dan sifat enzimatis. Karena pepaya tumbuh di berbagai iklim, produksi pepaya untuk ekstraksi papain dapat menjadi sumber penghasilan tinggi bagi petani.

### **2.3. Penutup**

#### **2.3.1 Tes Formatif**

1. Jelaskan zat apa saja yang terkandung dalam papain ?
2. Sebutkan faktor yang berpengaruh terhadap aktivitas enzim papain !
3. Sebutkan metode yang dapat digunakan untuk isolasi crude enzim papain!
4. Sebutkan manfaat papain untuk beberapa kebutuhan, baik untuk industri maupun untuk keperluan rumah tangga !

Total nilai = 100

#### **2.3.2 Umpan Balik**

Evaluasi penilaian terhadap tes formatif

Mahasiswa dapat mengukur kemampuan dirinya dengan cara mencocokkan jawabannya dengan kunci jawaban tes yang terdapat pada point **2.3.6**.

### 2.3.3 Rubrik Nilai (Parameter pemberian Nilai)

Penilaian tes formatif berdasarkan rubric di bawah ini :

Aspek	Skor	Keterangan
Isi/Konsep Materi/Kejelasan Makna	A = 4 = 100	Sangat jelas, sangat efektif
	B = 3 = 80	Cukup jelas
	C = 2 = 60	Jelas tapi efektif
	D = 1 = 50	Kurang jelas
	E = 0 =<50	Tidak jelas
Hubungan gagasan antar paragraph	A = 4 = 100	Sangat jelas, sangat efektif
	B = 3 = 80	Cukup jelas
	C = 2 = 60	Jelas tapi efektif
	D = 1 = 50	Kurang jelas
	E = 0 =<50	Tidak jelas

### 2.3.4 Tindak Lanjut

Bila anda dapat menjawab semua soal tes formatif di atas dengan benar (lihat kunci jawaban tes formatif pada point **2.3.6**) maka anda akan mendapat nilai 100 atau A (lihat rubrik **2.3.3**) Apabila nilai yang anda peroleh lebih dari 80, maka anda diperbolehkan melanjutkan materi Pokok Bahasan berikutnya. Bilamana nilai yang anda peroleh masih dibawah 80, pelajari lagi materi bahan ajar, terutama mengenai bagian soal yang tidak dapat anda jawab dengan baik dan benar. Setelah itu ulangi kembalimenjawab soal hingga anda dapat menjawab soal hingga anda memperoleh nilai 80 atau B. Apabila nilai yang anda peroleh hanya 50 atau D, maka anda tidak diperbolehkan melanjutkan materi pada Pokok Bahasan berikutnya.

### 2.3.5 Rangkuman

Enzim dikatakan sebagai suatu kelompok protein yang berperan sangat penting dalam aktivitas biologis. Dalam jumlah yang sangat kecil,

enzim dapat mengatur reaksi tertentu sehingga dalam keadaan normal tidak terjadi penyimpangan-penyimpangan hasil akhir reaksinya. Enzim ini akan kehilangan aktivitasnya akibat panas, asam atau basa kuat, pelarut organik, atau pengaruh lain yang bisa menyebabkan denaturasi protein. Enzim dikatakan mempunyai sifat sangat khas, karena hanya bekerja pada substratnya. Hampir semua enzim yang telah diketahui adalah protein sehingga enzim merupakan biokatalisator yang dibentuk dari molekul protein terutama yang berbentuk globulan. Enzim yang berperan penting dalam hidrolisis protein ada 2 yaitu protease yang dapat memecah ikatan protein menjadi peptide, dan peptidase yang dapat memecah ikatanpeptida menjadi asam amino. Metode-metode yang dapat digunakan dalam isolasi crude enzim papain ada tiga cara, yaitu cara Peckolt, cara Walt dan cara Balls dan Lineweaver. Papain dapat juga digunakan untuk beberapa kebutuhan, baik untuk industri maupun untuk keperluan rumah tangga antara lain :

- a. Bahan pencucian kain sutera (deterjen) untuk membuang serat yang berlebihan,
- b. Bahan pencuci lensa sehingga menjadi lembut.
- c. Bahan pelarut gelatin dalam proses perolehan kembali (recovery) perak dari film yang sudah tidak terpakai.
- d. Bahan perenyah pada pembuatan kue kering seperti cracker,
- e. Bahan penjemih pada pembuatan minuman teh, serta
- f. Bahan penggumpal susu pada pembuatan keju sehingga menghilangkan keraguan sebagian konsumen tentang pemakaian renin dari usus babi untuk menggumpalkan susu.

### **2.3.6 Kunci Jawaban Tes Formatif**

Soal nomor 1.

Kandungan dalam papain terdiri dari zat-zat antara lain, bahan damar 2.4%, pepayotin 5.3%, pektin 7%, air 75%, protein 2.8%, dan asam malat 0.4%.

Soal nomor 2.

Faktor yang berpengaruh terhadap aktivitas enzim papain adalah suhu dan pH. Dimana tiap enzim memerlukan suhu dan pH (tingkat keasaman) optimum yang berbeda-beda karena enzim adalah protein, yang dapat mengalami perubahan bentuk jika suhu dan keasaman berubah. Di luar suhu atau pH yang sesuai, enzim tidak dapat bekerja secara optimal atau strukturnya akan mengalami kerusakan. Hal ini akan menyebabkan enzim kehilangan fungsinya sama sekali. Kerja enzim juga dipengaruhi oleh molekul lain. Inhibitor adalah molekul yang menurunkan aktivitas enzim, sedangkan aktivator adalah yang meningkatkan aktivitas enzim. Banyak obat dan racun adalah inhibitor enzim.

Soal nomor 3.

Metode-metode yang dapat digunakan dalam isolasi crude enzim papain ada tiga cara, yaitu cara Peckolt, cara Walt dan cara Balls dan Lineweaver.

Soal nomor 4.

Manfaat papain untuk beberapa kebutuhan, baik untuk industri maupun untuk keperluan rumah tangga antara lain :

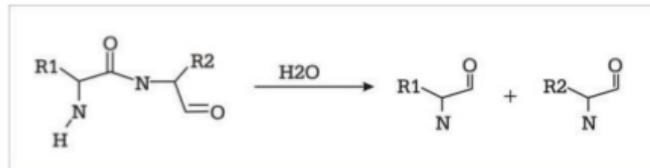
- a. Bahan pencucian kain sutera (deterjen) untuk membuang serat yang berlebihan,
- b. Bahan pencuci lensa sehingga menjadi lembut.

- c. Bahan pelarut gelatin dalam proses perolehan kembali (recovery) perak dari film yang sudah tidak terpakai.
- d. Bahan perenyah pada pembuatan kue kering seperti cracker,
- e. Bahan penjemih pada pembuatan minuman teh, serta
- f. Bahan penggumpal susu pada pembuatan keju sehingga menghilangkan keraguan sebagian konsumen tentang pemakaian renin dari usus babi untuk menggumpalkan susu.

## BAB III. ENZIM PROTEASE

### 3.1. Klasifikasi Enzim Protease

Klasifikasi enzim protease berdasarkan a). sumber enzim digolongkan menjadi: (1) enzim protease mikroba; (2) enzim protease tanaman seperti: papain dari getah pepaya, bromelin dari buah nanas dan fisin dari famili ficus, serta (3) enzim protease hewan seperti: renin berasal dari abomasum anak sapi dan cathepsin dari liver atau hepatopankreas ikan (Kolodziejska *et al.*, 1994; Choudury and Gogoi, 1996), b). lokasi dalam jaringan, c). spesifitas, d). lingkungan pH, e). daya kerjanya dan f). sifat-sifat kimia sisi aktifnya. Berdasarkan sumbernya, enzim protease Reaksi Katalisis Protease dalam Menghidrolisis Ikatan Peptida Protein dapat dilihat pada Gambar 3.



*R1 = rantai peptida sebelumnya R2 = rantai peptida sesudahnya*

Gambar 3. Reaksi Katalisis Protease dalam Menghidrolisis Ikatan Peptida Protein

Beberapa tanaman lain juga sudah diketahui sebagai sumber enzim protease, yaitu famili kacang-kacangan (*Arachis hypogaea* L.) memproduksi protease pada bijinya. Labu (*Curcubita pepo*) memproduksi protease pada bagian bunganya. Chinas and Canales (1986) mengisolasi enzim protease dari daun *chaya* yang mempunyai pH optimal netral. Noda *et al.* (1994) mengisolasi enzim protease dari buah melon, aktivitas proteolitiknya sangat tinggi dan mungkin mempunyai potensi baik di bidang pangan, karena protease ini termasuk jenis serin yang berbeda

dengan enzim asal tanaman lainnya yang umumnya adalah protease sulfidril. Asakura *et al.* (1997) mengisolasi protease asal tanaman yaitu *oryzasin* yang diekstrak dari biji padi.

### **3.2. Manfaat Enzim Protease dalam Industri Pangan**

Protease merupakan enzim yang memiliki peranan besar dan nilai ekonomi yang tinggi di antara sejumlah enzim industri saat ini. Protease yang sudah diisolasi dari jaringan, baik dari mikroorganisme, jaringan hewan maupun tumbuhan, mempunyai peranan besar dalam industri pangan. Kemampuan proteolisa dari jenis enzim ini telah banyak diaplikasikan pada industri-industri pembuatan roti, produksi keju, penjernih bir, pengempuk daging dan sebagainya (Smith, 1995). Nobuzo (1988) menambahkan bahwa enzim protease mempunyai peran yang penting dalam industri pangan. 60% dari total produksi enzim yang digunakan untuk pengolahan pangan, protease merupakan salah satu enzim terbesar penggunaannya selain amilase dan glikoamilase serta glukosidase. Protease juga dapat menghidrolisa kasein susu menjadi peptida yang lebih pendek sehingga misel kasein tidak stabil dan kasein mengendap membentuk keju (Scott, 1986). Protease ini juga berperan dalam *ripening* keju (Creamer and Olson, 1982), *ripening* menentukan rasa, aroma dan tekstur keju. Pengendalian aktivitas protease dalam keju diperlukan untuk memperbaiki kualitasnya (Chin and Rosenberg, 1997). Silva and Malcata (2004) telah berhasil memanfaatkan ekstrak dari tumbuhan *Cynara cardunculus* sebagai koagulan sehingga casein susu mengendap lebih awal.

Enzim protease juga dapat digunakan untuk menghilangkan kekeruhan pada bir. Kekeruhan ini terjadi karena pengaruh suhu dingin

selama penyimpanan maupun presipitasi protein oleh senyawa fenol, kekeruhan yang terjadi pada bir linier dengan jumlah fenol yang ada (Siebert and Lynn, 1997). Penggunaan enzim protease merupakan salah satu metode yang efisien untuk mencegah terjadinya kekeruhan. Protein pada bir dapat dihidrolisa menjadi peptida-peptida yang lebih kecil, sehingga mencegah terjadinya pengendapan (Vielettaz and Dobourdien, 1991). Pemanfaatan enzim protease terus dikembangkan seperti yang telah dilaporkan oleh Lazano *et al.* (1994), bahwa protease digunakan mendegradasi protein untuk memperbaiki nilai nutrisi dan fungsionalnya. Sanches and Borgos (1997) menggunakan protease untuk memperbaiki sifat gel protein bunga matahari. Izawa *et al.* (1997), menyebutkan bahwa pemilihan enzim protease yang tepat dapat digunakan untuk memperbaiki kualitas hidrolisat protein dengan mengurangi rasa pahitnya.

### **3.3. Isolasi Enzim Protease**

Ekstraksi enzim tergantung pada letak enzim di dalam jaringannya. Enzim-enzim yang termasuk dalam enzim ekstraseluler, ekstraksi dilakukan dengan memisahkan sel-sel melalui sentrifugasi cairan yang mengandung enzim, kemudian dimurnikan lebih lanjut. Enzim ekstraseluler juga sering diekstraksi dengan cara penyadapan misalnya papain dan fisin. Apabila enzim yang akan diekstraksi terletak di dalam sel seperti enzim mikroba atau enzim dari rimpang jahe, langkah pertama yang dilakukan adalah memecah dinding sel atau membran sel dan kemudian mengekstraksinya (Monti *et al.*, 2000).

Prosedur ekstraksi tergantung pada tipe organisme sebagai sumber enzimnya. Sumber enzim yang berupa jaringan hewan harus diekstraksi sesegera mungkin setelah hewan mati dan tetap dijaga pada suhu dingin

untuk mencegah autolisis. Ekstraksi enzim intraseluler dari mikroorganisme memerlukan cara-cara khusus, karena sel-selnya sulit dipecah. Ekstraksi enzim intraseluler dari jaringan tanaman umumnya dapat dilakukan dengan memecah dinding sel melalui blender. Kondisi ekstraksi harus dijaga pada kisaran pH tertentu, dan dijaga agar kondisi suhu rendah pada setiap tahapnya, oleh karena itu buffer diperlukan di dalam cairan pengestrak (Naz, 2002). Whitaker (1994) menyatakan bahwa untuk ekstraksi enzim intraseluler dari jaringan tanaman harus ditambahkan buffer untuk menjaga pH di sekitar netral. Buffer ini diperlukan untuk melindungi enzim dari pengaruh asam yang dilepaskan oleh sel-sel selama ekstraksi.

Papain yang merupakan enzim ekstraseluler, dapat diproduksi dari getah, batang maupun daun pepaya. Diawali dengan proses penurunan pH jus getah dari batang dan daun menggunakan asam klorida, asam sulfat atau asam asetat sampai pH 3,5, kemudian diaduk hingga terjadi gumpalan warna hijau dari klorofil sambil dinaikkan suhunya sampai 35°C. Selanjutnya disaring secara bertingkat, dimulai dengan menggunakan alat penyaring biasa, filtrat pertama disaring kembali dengan ultra filter 100 mesh agar kandungan papainnya lebih kental atau dengan menggunakan metode evaporasi. Filtrat hasil saringan ini merupakan residu papain cair yang selanjutnya dapat dikeringkan menjadi tepung papain. Semua tahapan proses tersebut harus berlangsung cepat (Monti *et al.*, 2000). Hasil ekstraksi enzim merupakan isolat dengan kadar yang masih rendah. Pemurnian akan dapat meningkatkan kadar enzim dari ekstrak kasarnya. Pemurnian enzim dapat dilakukan dengan metode pengendapan baik dengan pelarut organik seperti etanol dan aseton maupun metode *salting out* dengan menggunakan garam ammonium sulfat (Nafaji *et al.*, 2005).

Etanol dan aseton merupakan pelarut organik yang paling banyak digunakan untuk ekstraksi enzim (Soehartono, 1992). Penambahan pelarut

organik ke dalam larutan protein akan mengurangi kelarutan protein dalam air dengan cara menurunkan konstanta dielektrik medium, sehingga molekul-molekul protein lebih cenderung berinteraksi dengan molekul protein yang lain dibanding dengan air, keadaan ini terus berlanjut sampai dicapai titik tertentu di mana protein mengendap. Namun, pelarut organik dalam kondisi tertentu dapat menimbulkan efek denaturasi pada protein enzim (Suhartono, 1992).

Garam ammonium sulfat sering digunakan untuk *salting out* protein. karena kelarutannya tinggi, tidak beracun untuk kebanyakan enzim, murah dan pada beberapa kasus memberikan efek menstabilkan enzim (Fox, 1991). Penggunaan amonium sulfat pada pemurnian enzim telah dilaporkan oleh beberapa peneliti antara lain: Noda *et al.* (1994) menggunakan amonium sulfat dengan kejenuhan 50% untuk pemurnian enzim protease dari buah melon. Asakura *et al.* (1997) menggunakan amonium sulfat kejenuhan 30-60% untuk mengekstrak dan memurnikan *oryzasin* dari biji padi. Tavasolian and Shabbah (1979) mengendapkan enzim dari biji *Cartamus tinctorius* dengan amonium sulfat kejenuhan 50%. Selanjutnya pada akhir proses ekstraksi yang menggunakan ammonium sulfat, harus dilakukan dialisis untuk memisahkan garam amonium sulfat dari protein enzim yang mengendap bersama-sama ketika *salting out* (Benito *et al.*, 2002; Nafaji *et al.*, 2005).

### **3.4. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim**

#### *Pengaruh Suhu*

Semakin tinggi suhu, maka semakin meningkat pula laju reaksi kimia baik pada substrat yang dikatalisis maupun yang tidak dikatalisis oleh enzim. Enzim adalah protein, jadi semakin tinggi suhu proses maka inaktivasi enzim juga meningkat dikarenakan terjadinya denaturasi pada protein enzim

sehingga aktivitas enzim akan menurun (Holme and Peck, 1998). Pengaruh suhu terhadap enzim agak kompleks, misalnya pada suhu yang terlalu tinggi dapat mempercepat perusakan atau pemecahan enzim, sebaliknya semakin tinggi suhu (dalam batas tertentu) maka akan semakin aktif enzim tersebut. Bila suhu masih naik terus, laju kerusakan enzim akan melampaui reaksi katalisis enzim. Kecepatan reaksi mula-mula meningkat dengan kenaikan suhu dan peningkatan energi kinetik pada molekul-molekul yang bereaksi. Tetapi pada akhirnya energi kinetik enzim akan melampaui rintangan energi untuk memutuskan ikatan hidrogen dan hidrofobik yang lemah, yang mempertahankan struktur skunder-tersiernya. Perubahan-perubahan temperatur dapat mempengaruhi reaksi enzimatik dari beberapa segi, yaitu: kestabilan enzim, perubahan daya kelarutan gas, perubahan pH buffer, afinitas enzim terhadap aktivator dan inhibitor, daya reaksi kompetisi, ionisasi gugus fungsi, afinitas enzim-substrat, velositas konversi dari substrat ke produk, dan derajat asosiasi multipolipeptida dari enzim (Whitaker, 1994).

#### *Termostabilitas*

Wong, 1995 melaporkan bahwa perbedaan sumber enzim menyebabkan perbedaan daya tahan panas. Enzim yang serupa seperti amilase bila dihasilkan oleh bakteri, memiliki daya tahan yang lebih tinggi terhadap panas dibandingkan dengan enzim amilase yang berasal dari kapang. Umumnya, enzim-enzim bekerja sangat lambat pada suhu di bawah titik beku dan keaktifannya meningkat sampai 45°C. Hampir semua enzim mempunyai aktivitas optimal pada suhu 30°C sampai 40°C dan denaturasi mulai terjadi pada suhu 45°C. Hubungan antara suhu dan waktu bagi inaktivasi enzim secara total lebih menarik karena mempunyai nilai praktis yang penting. Penginaktifan enzim tertentu kadang-kadang berguna sebagai

indikator untuk menilai seberapa jauh efektivitas proses inaktivasi enzim misalnya pasteurisasi dan sterilisasi dalam pengolahan bahan pangan

### *Pengaruh pH*

Enzim adalah protein, maka faktor-faktor yang berpengaruh terhadap aktivitas enzim juga merupakan faktor-faktor yang mempengaruhi struktur sekunder, tersier, dan kuartener dari protein. Kenyataan itu menyebabkan faktor pH lingkungan yang berhubungan dengan kestabilan dan daya ionisasi gugus aktif suatu enzim akan mempengaruhi aktivitas enzim tersebut. Enzim memiliki kepekaan yang sangat tinggi terhadap perubahan pH di lingkungannya. Pada umumnya enzim bersifat amfolitik, yang berarti enzim mempunyai konstanta disosiasi pada gugus asam maupun gugus basanya, terutama pada gugus residu terminal karboksil dan gugus terminal aminonya. Enzim menunjukkan aktivitas maksimum pada suatu kisaran pH disebut dengan pH optimum, yang umumnya antara pH 4,5 sampai 8,0. Suatu enzim tertentu mempunyai kisaran pH optimum yang sangat sempit. Di sekitar pH optimum enzim mempunyai stabilitas yang tinggi. Pengendalian pH sehingga mempengaruhi aktivitas enzim sangat diperlukan dalam praktek teknologi pangan. Penggunaan enzim dalam industri pangan memiliki peranan yang penting, pengaturan pH harus ditujukan untuk mendapatkan keaktifan enzim yang maksimal (Whitaker, 1994).

### *Konsentrasi Enzim dan Substrat*

Enzim merupakan reaktan yang bergabung dengan substrat untuk membentuk kompleks enzim substrat, (EnzS), yang terurai dan membentuk produk P serta enzim bebas. Kecepatan awal suatu reaksi merupakan kecepatan yang diukur sebelum terbentuk produk yang cukup untuk memungkinkan terjadinya reaksi balik. Kecepatan awal suatu reaksi yang

dikatalisis enzim selalu sebanding dengan konsentrasi enzim. Jika konsentrasi substrat meningkat sementara semua kondisi lainnya dipertahankan tetap tidak berubah (konstan), percepatan awal yang terukur, maka nilai kecepatan yang diukur kalau substrat yang sudah bereaksi jumlahnya sedikit sekali akan meningkat hingga mencapai nilai maksimum, kecepatan maksimum dan tidak berlanjut. Percepatan reaksi meningkat dengan meningkatnya konsentrasi substrat hingga mencapai suatu keadaan dimana enzim tersebut dikatakan sudah jenuh oleh substrat (Whitaker, 1994).

#### *Kinetika Enzim*

Enzim merupakan reaktan yang bergabung dengan substrat untuk membentuk kompleks enzim substrat, (EnzS), yang terurai dan membentuk produk P serta enzim bebas. Kecepatan awal suatu reaksi merupakan kecepatan yang diukur sebelum terbentuk produk yang cukup untuk memungkinkan terjadinya reaksi balik. Kecepatan awal suatu reaksi yang dikatalisis enzim selalu sebanding dengan konsentrasi enzim. Jika konsentrasi substrat meningkat sementara semua kondisi lainnya dipertahankan tetap tidak berubah (konstan), maka nilai kecepatan yang diukur kalau substrat yang sudah bereaksi jumlahnya sedikit sekali akan meningkat hingga mencapai nilai maksimum, kecepatan maksimum dan tidak berlanjut. Kecepatan reaksi meningkat dengan meningkatnya konsentrasi substrat hingga mencapai suatu keadaan dimana enzim tersebut sudah jenuh oleh substrat (Holme dan Peck, 1998).

### **3.5. Aktivitas Enzim Protease**

Kecepatan reaksi substrat yang dikatalisis enzim dapat ditentukan secara kuantitatif, yang dinyatakan sebagai aktivitas enzim. Aktivitas enzim ini ditentukan berdasarkan kecepatan penguraian substrat maupun kecepatan

pembentukan produk pada satuan waktu tertentu (Robit dan White, 1987). Substrat kasein hingga saat ini masih banyak digunakan untuk pengujian aktivitas enzim protease. Choi *et al.* (1999) menguji aktivitas *pure proteinase* dari otot daging *Atlantic menhaden* menggunakan kasein. Nafaji *et al.* (2004) menguji aktivitas protease yang diisolasi dari *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan substrat haemoglobin atau kasein. Sumantha *et al.* (2005) juga menggunakan substrat kasein dalam buffer fosfat pH 7 untuk mengukur aktivitas *neutral metalloprotease* kapang. Savero *et al.* (2007) yang telah berhasil melakukan purifikasi bromelin dengan teknik separasi membran juga menguji aktivitas enzimnya menggunakan kasein dalam buffer fosfat pH 7. Aktivitas enzim diuji pada suhu yang mudah dipergunakan (25-37°C) dengan konsentrasi substrat jenuh. Beberapa suhu pengujian enzim menggunakan suhu 37°C, namun belum ada standar suhu pengujian spesifik. Oleh karena itu suhu pengujian yang dipergunakan harus disebutkan dalam kasus-kasus pengujian aktivitas enzim (Palmer, 1991).

Pengujian aktivitas protease juga dapat dilakukan pada suhu 37°C antara lain pengujian aktivitas protease yang diisolasi dari udang (Jiang *et al.*, 1991), protease buah melon (Noda *et al.*, 1994), protease dari biji padi (Asakura *et al.*, 1997). Beberapa peneliti juga menguji aktivitas enzim pada suhu 40°C yaitu aktivitas protease dari bakteri pada whey kedelai (Leewit and Pornsuksawang, 1988), aktivitas enzim protease papain (Sanogo *et al.*, 1990), sedangkan Molina and Toldra (1992) menguji aktivitas protease mikroba yang diekstraksi dari *dry cured ham* dilakukan pada suhu 30°C. Tapi kebanyakan peneliti menguji aktivitas protease pada suhu optimal aktivitas enzim yang bersangkutan.

Metode yang paling banyak digunakan untuk mengukur aktivitas enzim protease adalah dengan absorbansi ultraviolet, dari peptida-peptida hasil hidrolisa substrat yang tidak mengendap dengan penambahan asam

trikloroasetat (TCA). Panjang gelombang ultraviolet yang digunakan adalah 280 nm. Absorbansi ini akibat adanya absorbansi oleh asam amino aromatik, sehingga metode ini sangat bermanfaat untuk mengukur aktivitas enzim protease dengan menggunakan substrat yang mempunyai asam amino aromatik (Fox, 1991; Anderson *et al.*, 1995).

### **3.6. Karakterisasi Enzim**

Karakterisasi enzim merupakan tahapan untuk menentukan sifat-sifat tertentu dari suatu enzim, sehingga dapat diketahui ketahanannya terhadap kondisi lingkungan tertentu di sekitar enzim tersebut. Dengan menentukan karakter atau sifat enzim, maka dapat mempermudah penggunaan enzim dalam bentuk aplikasi produk tertentu. Penentuan karakter enzim berhubungan erat dengan berbagai faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim itu sendiri.

### **3.7. Penutup**

#### **3.7.1 Tes Formatif**

1. Sebutkan klasifikasi enzim protease !
2. Jelaskan manfaat enzim protease dalam industri pangan !
3. Sebutkan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim !
4. Apa yang disebut dengan karakterisasi Enzim

Total nilai = 100

### 3.7.2 Umpan Balik

Evaluasi penilaian terhadap tes formatif

Mahasiswa dapat mengukur kemampuan dirinya dengan cara mencocokkan jawabannya dengan kunci jawaban tes yang terdapat pada point **3.7.6**.

### 3.7.3 Rubrik Nilai (Parameter pemberian Nilai)

Penilaian tes formatif berdasarkan rubric di bawah ini :

Aspek	Skor	Keterangan
	A = 4 = 100	Sangat jelas, sangat efektif
	B = 3 = 80	Cukup jelas
Isi/Konsep Materi/Kejelasan Makna	C = 2 = 60	Jelas tapi efektif
	D = 1 = 50	Kurang jelas
	E = 0 =<50	Tidak jelas
	A = 4 = 100	Sangat jelas, sangat efektif
	B = 3 = 80	Cukup jelas
Hubungan gagasan antar paragraph	C = 2 = 60	Jelas tapi efektif
	D = 1 = 50	Kurang jelas
	E = 0 =<50	Tidak jelas

### 3.7.4 Tindak Lanjut

Bila anda dapat menjawab semua soal tes formatif di atas dengan benar (lihat kunci jawaban tes formatif pada point **3.3.6**) maka anda akan mendapat nilai 100 atau A (lihat rubrik **3.3.3**) Apabila nilai yang anda peroleh lebih dari 80, maka anda diperbolehkan melanjutkan materi Pokok Bahasan berikutnya. Bilamana nilai yang anda peroleh masih dibawah 80, pelajari lagi materi bahan ajar, terutama mengenai bagian soal yang tidak dapat anda jawab dengan baik dan benar. Setelah itu ulangi kembalimenjawab soal hingga anda dapat menjawab soal hingga anda

memperoleh nilai 80 atau B. Apabila nilai yang anda peroleh hanya 50 atau D, maka anda tidak diperbolehkan melanjutkan materi pada Pokok Bahasan berikutnya.

### **3.7.5 Rangkuman**

Klasifikasi enzim protease berdasarkan a). sumber enzim digolongkan menjadi: (1) enzim protease mikroba; (2) enzim protease tanaman seperti: papain dari getah pepaya, bromelin dari buah nanas dan fisin dari famili ficus, serta (3) enzim protease hewan seperti: renin berasal dari abomasum anak sapi dan cathepsin dari liver atau hepatopankreas ikan, b). lokasi dalam jaringan, c). spesifitas, d). lingkungan pH, e). daya kerjanya dan f). sifat-sifat kimia sisi aktifnya. Berdasarkan sumbernya, enzim protease. Enzim protease diaplikasikan pada industri-industri pembuatan roti, produksi keju, penjernih bir, pengempuk daging dan digunakan untuk memperbaiki kualitas hidrolisat protein dengan mengurangi rasa pahitnya. Prosedur ekstraksi tergantung pada tipe organisme sebagai sumber enzimnya. Sumber enzim yang berupa jaringan hewan harus diekstraksi sesegera mungkin setelah hewan mati dan tetap dijaga pada suhu dingin untuk mencegah autolisis. Ekstraksi enzim intraseluler dari mikroorganisme memerlukan cara-cara khusus, karena sel-selnya sulit dipecah. Ekstraksi enzim intraseluler dari jaringan tanaman umumnya dapat dilakukan dengan memecah dinding sel melalui blender. Kondisi ekstraksi harus dijaga pada kisaran pH tertentu, dan dijaga agar kondisi suhu rendah pada setiap tahapnya, oleh karena itu buffer diperlukan di dalam cairan pengekstrak. Papain yang merupakan enzim ekstraseluler, dapat diproduksi dari getah, batang maupun daun pepaya. Diawali dengan proses penurunan pH jus getah dari batang dan daun menggunakan asam klorida, asam sulfat atau asam asetat sampai pH 3,5, kemudian diaduk hingga terjadi gumpalan warna hijau

dari klorofil sambil dinaikkan suhunya sampai 35°C. Selanjutnya disaring secara bertingkat, dimulai dengan menggunakan alat penyaring biasa, filtrat pertama disaring kembali dengan ultra filter 100 mesh agar kandungan papainnya lebih kental atau dengan menggunakan metode evaporasi. Filtrat hasil saringan ini merupakan residu papain cair yang selanjutnya dapat dikeringkan menjadi tepung papain. Semua tahapan proses tersebut harus berlangsung cepat. Hasil ekstraksi enzim merupakan isolat dengan kadar yang masih rendah. Pemurnian akan dapat meningkatkan kadar enzim dari ekstrak kasarnya. Pemurnian enzim dapat dilakukan dengan metode pengendapan baik dengan pelarut organik seperti etanol dan aseton maupun metode *salting out* dengan menggunakan garam ammonium sulfat. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim antara lain: suhu, termostabilitas, pH, konsentrasi enzim dan substrat, dan kinetika enzim. Kecepatan reaksi substrat yang dikatalisis enzim dapat ditentukan secara kuantitatif, yang dinyatakan sebagai aktivitas enzim. Aktivitas enzim ini ditentukan berdasarkan kecepatan penguraian substrat maupun kecepatan pembentukan produk pada satuan waktu tertentu. Karakterisasi enzim merupakan tahapan untuk menentukan sifat-sifat tertentu dari suatu enzim, sehingga dapat diketahui ketahanannya terhadap kondisi lingkungan tertentu di sekitar enzim tersebut. Dengan menentukan karakter atau sifat enzim, maka dapat mempermudah penggunaan enzim dalam bentuk aplikasi produk tertentu. Penentuan karakter enzim berhubungan erat dengan berbagai faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim itu sendiri.

### **3.7.6 Kunci Jawaban Tes Formatif**

Soal nomor 1.

Klasifikasi enzim protease berdasarkan a). sumber enzim digolongkan menjadi: (1) enzim protease mikroba; (2) enzim protease tanaman seperti:

papain dari getah pepaya, bromelin dari buah nanas dan fisin dari famili ficus, serta (3) enzim protease hewan seperti: renin berasal dari abomasum anak sapi dan cathepsin dari liver atau hepatopankreas ikan (Kolodziejska et al., 1994; Choudury and Gogoi, 1996), b).lokasi dalam jaringan, c). spesifitas, d). lingkungan pH, e). daya kerjanya dan f). sifat-sifat kimia sisi aktifnya.

Soal nomor 2.

Enzim protease diaplikasikan pada industri-industri pembuatan roti, produksi keju, penjernih bir, pengempuk daging dan digunakan untuk memperbaiki kualitas hidrolisat protein dengan mengurangi rasa pahitnya.

Soal nomor 3.

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim antara lain: suhu, termostabilitas, pH, konsentrasi enzim dan substrat, dan kinetika enzim.

Soal nomor 4.

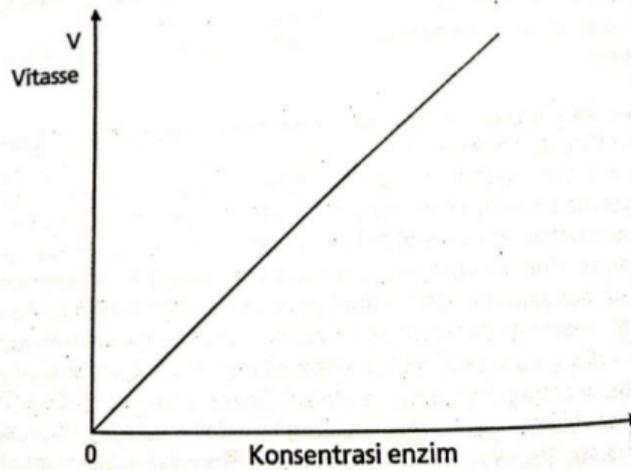
Karakterisasi enzim merupakan tahapan untuk menentukan sifat-sifat tertentu dari suatu enzim, sehingga dapat diketahui ketahanannya terhadap kondisi lingkungan tertentu di sekitar enzim tersebut. Dengan menentukan karakter atau sifat enzim, maka dapat mempermudah penggunaan enzim dalam bentuk aplikasi produk tertentu. Penentuan karakter enzim berhubungan erat dengan berbagai faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim itu sendiri.

## BAB IV. ENZIM PENCERNAAN IKAN

### 4.1. Enzim Pencernaan

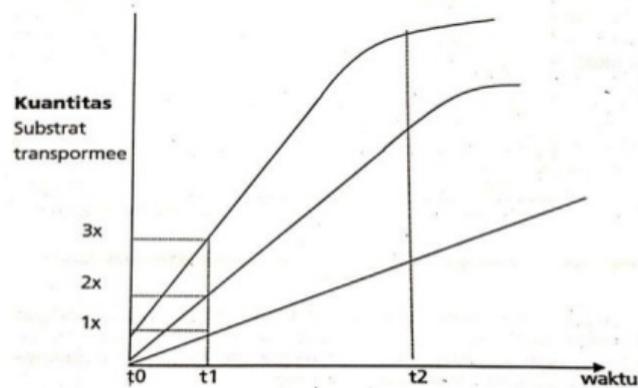
#### 4.1.1. Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap aktivitas enzim

Afandi *et al.*, (1992) menyatakan bahwa aktivitas enzim tergantung pada konsentrasi enzim dan substrat, suhu, pH, dan inhibitor. Pengaruh konsentrasi enzim (E) terhadap kuantitas substrat yang diubah (transformasi) dapat dilihat pada Gambar 4.



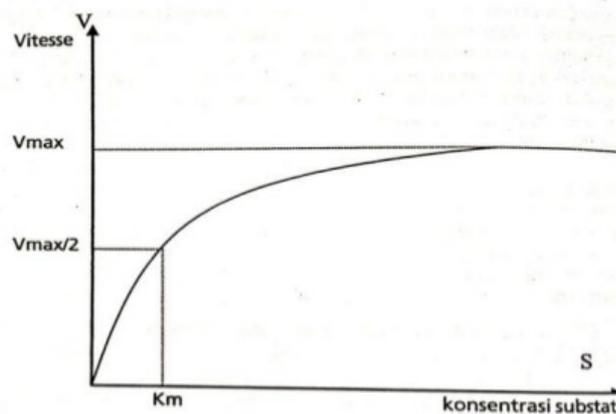
Gambar 4. Pengaruh konsentrasi enzim terhadap kuantitas substrat yang ditransformasi (Afandi *et al.*, 1992)

Gambar 4 menunjukkan bahwa pada waktu tertentu ( $t_1$ ) peningkatan konsentrasi enzim menyebabkan peningkatan secara proporsional jumlah substrat yang transformasikan. Sebaliknya pada waktu ( $t_2$ ) konsentrasi enzim meningkatkan jumlah substrat yang ditransformasikan tetapi sudah tidak proporsional lagi. Jadi pada batas waktu tertentu kecepatan awal reaksi merupakan fungsi dari konsentrasi enzim (Gambar 5.).



Gambar 5. Pengaruh konsentrasi enzim terhadap kecepatan reaksi enzimatik (Afandi et al., 1992)

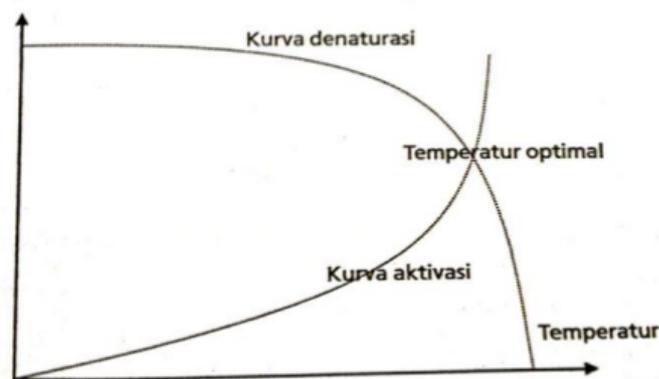
Apabila konsentrasi enzim [E] diperhatikan tetap dan konsentrasi substrat [S] dibuat bervariasi maka kecepatan reaksi pertama-tama akan meningkat secara cepat, tetapi jika [S] terus ditingkatkan, kurva akan cenderung mendatar. Pada nilai [S] yang tinggi tidak ada lagi peningkatan kecepatan reaksi, dalam hal ini kurva cenderung sejajar dengan garis batas maksimal (asimtot) (Gambar 6).



Gambar 6. Pengaruh konsentrasi substrat terhadap kecepatan reaksi enzimatik (Afandi et al., 1992)

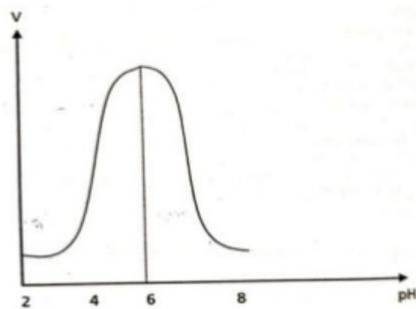
Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim dapat dilihat pada Gambar 7. Gambar tersebut memperlihatkan dua fenomena yang berbeda. Dalam zona suhu yang lebih rendah, antara suhu 0 dari 40°C, kecepatan reaksi meningkat

seiring dengan meningkatnya suhu (kurva garis penuh). Peningkatan kecepatan reaksi ini disebabkan oleh pembentukan kompleks menjadi aktif ketika energi, panas untuk sisteni reaksi tersedia lebih banyak. Kemudian pada suhu lebih besar dari suhu optimum (diatas 45°C, maka peningkatan suhu akan menurunkan, kecepatan reaksi. Penurunan kecepatan reaksi ini karena di atas suhu tersebut enzim mengalami denaturasi sehingga tidak dapat menghasilkan produk.



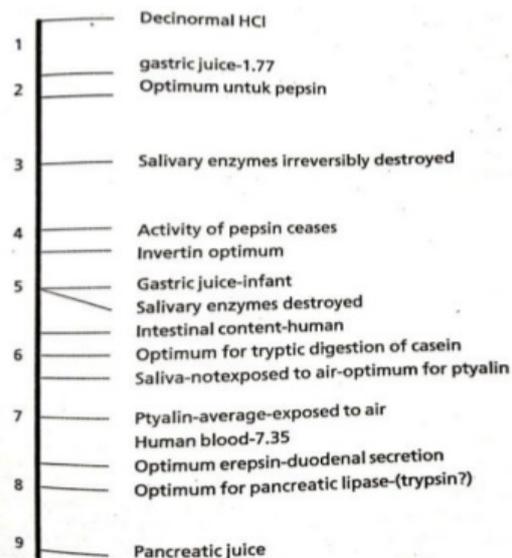
Gambar 7. Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim (Afandi et al., 1992)

Perubahan pH berpengaruh baik terhadap enzim maupun substrat. Pada tingkat enzim, perubahan pH menyebabkan perubahan derajat ionisasi kelompok fungsional tertentu, jadi muatan positif atau negatif adalah penting, baik untuk pembentukan komplek enzim substrat maupun untuk mempertahankan konfirmasi tiga dimensi natif dari protein enzimatik. Pada tingkat substrat, perubahan pH akan mengubah derajat ionisasi, yang memungkinkan mendorong atau sebaliknya mencegah pembentukan komplek enzim substrat. Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim dikemukakan pada Gambar 8.



Gambar 8. Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim (Afandi et al., 1992)

Gambar 8 dapat dilihat bahwa di luar pH optimum (lebih kecil atau lebih besar dari pH optimum), kecepatan reaksi berkurang dengan cepat. Walaupun demikian pada kenyataannya pH optimum sangat bervariasi tergantung pada jenis enzimnya. Sebagai contoh untuk pepsin, pH optimum berkisar antara 1,5 – 2. Konsentrasi ion hidrogen (pH) yang cocok untuk pencernaan secara enzimatik ditunjukkan oleh Gambar 9. Gambar tersebut memperlihatkan bahwa setiap enzim mempunyai pH optimum yang berbeda-beda, tetapi kebanyakan enzim memiliki pH optimum yang mendekati netral (6-8).



Gambar 9. pH Optimum untuk Aktivitas Enzim (Afandi et al., 1992)

#### 4.1.2 Protease

Protein adalah bahan organik dengan berat yang tinggi, tersusun dari sejumlah asam amino yang disatukan dalam ikatan peptid. Pada hidrolisis protein sederhana hanya menghasilkati asam amino, sedangkan hidrolisis protein yang berkaitan dengan senyawa lain menghasilkan tambahan grup nonprotein. (grup prostetik). Selama pencernaan, rantai peptid dihidrolisis satu per satu menjadi asam amino atau grup asam amino. Enzim-enzim pencernaan protein yang dikenal secara umum dapat dilihat pada Tabel 1. (Afandi *et al.*, 1992).

Selanjutnya Afandi *et al.* (1992) menyatakan enzim protease dibagi ke dalam kelompok yaitu: endopeptidase dan eksopeptidase. Endopeptidase berperan sebagai katalisator dalam menghidrolisis rantai peptid bagian tengah dan rantai peptid yang sangat spesifik. Sedangkan eksopeptidase mengkatalalisis dalam melepaskan ujung asam amino. Endopeptidase dan eksopeptidase terdapat sebagai enzim intra selular maupun ekstra selular.

Tabel 1. Enzim pencernaan protein pada hewan

Jenis Enzim	Zymogen	Activator	Enzym
		Autocalyst	
ENDOPEPTIDASE; PROTEINASES	Pepsinogen	HCL	Pepsin
		Pepsin	
	Trypsinogen	Enterokinase	Trypsin
		Trypsin	
Chymotrypsin	Trypsin	Chymotrypsin	
	Pepsin		
Aino Peptidase	Ma, Mg, Zn		
EKSOPEPTIDASE;		Zn	

PEPTIDASE	Carbonypeptidase	Mn; Mg; Zn	
	Tripeptidase		

Enzim endopeptidase yang berperan penting dalam pencernaan protein antara lain adalah pepsin. Pepsin merupakan enzim yang disekresikan oleh mukosa lambung. Enzim ini memiliki aktivitas proteolitik optimal pada pH 2. Pepsin ditemukan pada seluruh hewan vertebrata kecuali pada ikan yang tidak memiliki lambung. Aktivitas pepsin tergantung pada pH, suhu dan jenis substrat. Kekuatan mencerna dari cairan gastrik bergantung pada jumlah pepsin pH. Konsentrasi enzim tertentu, aktivitas proteolitik dari cairan digestif akan mencapai maksimal pada pH lebih rendah dari 4. Cairan gastrik cukup mengandung HCl untuk mencapai pH di bawah 2.

Makanan yang dimakan biasanya memiliki daya penyangga (buffer) yang berarti bahwa pH chyme, akan lebih tinggi daripada pH cairan gastrik. Untuk keperluan pengasaman isi lambung, jumlah asam yang disekresikan lebih penting dari pada konsentrasi asam pada sekresi sehingga lebih yang dimakan maka laju sekresi harus lebih tinggi. Kadangkala pada makanan dalam lambung, hanya lapisan luar dari makanan yang mempunyai nilai pH yang cocok untuk aktivitas pepsin, sedangkan bagian dalam mempunyai nilai pH yang lebih tinggi.

Konsekuensinya adalah pencernaannya terjadi secara bertahap, sehingga ketika lapisan luar telah menjadi cair baru kemudian lapisan berikutnya mengalami pengasaman dan selanjutnya akan dicerna hingga menjadi cair. Selain dipengaruhi pH, pencernaan di lambung juga disokong oleh konsentrasi pepsin yang tinggi, suhu yang tinggi dan gerakan lambung yang intensif. Sebagai hasil akhir dari hidrolisis enzim pepsin ini adalah proteoses, pepton dan peptides. Untuk dapat diserap, hasil hidrolisis enzim dihidrolisis lagi oleh enzim eksopeptidase.

Enzim eksopeptidase lainnya adalah tripsin. Enzim ini disekresikan oleh pankreas ekokrin. Aktivitas tripsin ini kadang-kadang ditemukan dalam trak usus, hal ini disebabkan enzim tripsin ini telah diserap oleh mukosa usus. Tripsin aktif secara maksimal pada media basa yaitu pada pH 7-11, yang tergantung kepada substratnya. Sebagai hasil akhir dari hidrolisis enzim tripsin adalah Proteoses, pepton, peptides dan asam amino. Aktivitas proteolitik pada segmen usus umumnya menurun dari bagian depan ke arah bagian belakang dan enzim ini resisten terhadap autolisis di dalam usus. Walaupun demikian enzim yang ada pada hormon tersebut akan diserap kembali oleh dinding usus di bagian belakang (Akiyama *et al.*, 1991).

#### **4.1.3 Lipase**

Enzim yang berperan sebagai katalisator dalam hidrolisis lemak adalah esterase, yang memecahkan rantai ester menjadi asam lemak dan alkohol. Enzim yang berperan sebagai katalisator dalam hidrolisis trigliserid biasanya disebut sebagai lipase, sedangkan enzim yang memedeh ikatan etil butirat (esterase sederhana) adalah esterase. Untuk menghidrolisis komponen lemak kompleks seperti fosfolipid dan kholesterol diperlukan enzim yang lebih spesifik, contohnya enzim Cholesterol esterase. Terdapat dua proses penting dalam pencernaan lemak, yaitu pertama emulsifikasi oleh bahan yang dapat menurunkan tegangan permukaan lemak dan yang kedua adalah pencernaan oleh lipase (Lehninger, 1988).

Hidrolisis lemak oleh enzim lipase menghasilkan monogliserid dan asam lemak, dan sebagai hasil kerja bahan pengemulsi maka bahan hasil pencernaan tersebut berbentuk butiran halus yang memiliki permukaan yang lebih luas untuk aktivitas enzim. Diduga bahwa semua jenis ikan memiliki enzim lipase. Pada ikan *Scomber sp.* dan beberapa jenis ikan lain, aktivitas lipase ditemukan pada ekstraksi pankreas, pilorik kaeka dan usus depan.

Pada ikan tilapia dan trout, aktivitas lipase juga ditemukan pada segmen lambung.

#### **4.1.4 Karbohidrase**

Karbohidrase merupakan enzim yang ditemukan baik pada pankreas maupun usus. Pada ikan yang pankreasnya, menyebar di antara sel hati, enzim amilase ditemukan pada kantung empedu, hal ini berarti bahwa kantung empedu menerima sekresi pankreas. Pada ikan yang pankreasnya terpisah dari hati, misalnya ikan kembung (*Scomberomorus* sp.) pada kantung empedunya tidak ditemukan aktivitas amilase. Beberapa peneliti mendapatkan enzim amilase, maltase dan sakharase pada ekstrak hati, pankreas, esofagus dan usus ikan mas. Terdapatnya amilase pada ekstrak hati disebabkan adanya fragmen pankreas pada ekstrak hati tersebut, sebab sulit sekali memisahkan fragmen pankreas memisahkan dari hati.

Beberapa jenis enzim karbohidrase seperti amilase, maltase, glikogenase dan sokrase pada ekstrak ikan yang tidak berlambung. Amilase juga sering ditemukan pada pilorik kaeka. a amilase ditemukan pada seluruh jenis ikan dan pada ikan air tawar (Teleost) a amilase ditemukan pada sepanjang saluran pencernaan (Kapoor *et al.*, 1975), walaupun demikian menurut penulis tersebut, aktivitasnya berkurang di usus belakang. Pada bandeng, *Chanos chanos*, aktivitas karbohidrase terutama di usus dan pilorik kaeka. jenis-jenis enzim, pencernaan dan organ penghasilnya disarikan pada Tabel 1.

#### **4.2. Enzim Pencernaan Ikan Sesuai Dengan Jenis Makanannya**

Ikan berdasarkan jenis makanan yang dimakan, ikan dikelompokkan ke dalam tiga kelompok yaitu herbivora, omnivora, karnivora. Berdasarkan perbedaan jenis makanan yang biasa dikonsumsi tersebut maka enzim

pencernaan yang dihasilkan akan berkaitan dengan komposisi, makanan. Karbohidrase akan lebih banyak diproduksi oleh ikan herbivora, sedangkan proteinase secara kumulatif banyak diproduksi oleh ikan karnivora. Jenis-jenis enzim pencernaan dan organ penghasilnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Jenis-jenis enzim pencernaan dan organ memproduksi

<b>Organ memproduksi</b>	<b>Jenis Enzim yang Disekresikan</b>
Lambung	Protease (pepsin) Amilase Lipase Esterase Khitinase
Usus	Lipase Enterokinase Aminopeptidase Diteptidase Maltase Laktase Sukrase
Pankreas	Protase Tripsin Khemotripsin Elastase Karboksipeptidase Amilase Lipase Khitinase

Aktivitas amilase pada ekstrak hati dan pankreas ikan mas kira-kira 100 kali lebih tinggi dibandingkan dengan ikan “*bluegil sunfish*” dan “*large mouth*” bass. Demikian pula kadar amilase pada ikan trout (karnivora) lebih rendah; dibandingkan dengan ikan mas. Aktivitas amilolitik pada saluran pencernaan ikan mas dan ikan *Plecoglossus* yang lebih tinggi dibandingkan dengan ikan salmon dan yellow tail jack. Sebagai gambaran tentang aktivitas enzim dalam kaitannya dengan kategori ikan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hubungan antara kategori ikan dan aktivitas enzim pencernaannya (Kapoor et al., 1975)

Spesies	Feeding Habit	Aktivitas Amilase	Aktivitas Tripsin
Scardinlusi	Herbivora	1,0	0,4
Blicca	Omnivora	1,1	0,9
Alburnus	Omnivora	1,0	0,9
Aspius	Karnivora	0,15	1,2
Cyprinus	Omnivora	5,8	1,7

### 4.3 Penutup

#### 4.3.1 Tes Formatif

5. Jelaskan faktor yang berpengaruh terhadap aktivitas enzim!
6. Sebutkan dan jelaskan enzim endopeptidase yang berperan penting dalam pencernaan protein!
7. Sebut dua proses penting dalam pencernaan lemak!
8. Jelaskan jenis-jenis enzim pencernaan dan organ penghasilnya pada ikan!

Total nilai = 100

#### 4.3.2. Umpan Balik

Evaluasi penilaian terhadap tes formatif

Mahasiswa dapat mengukur kemampuan dirinya dengan cara mencocokkan jawabannya dengan kunci jawaban tes yang terdapat pada point **4.3.6**.

### **4.3.3. Rubrik Nilai (Parameter pemberian Nilai)**

Penilaian tes formatif berdasarkan rubric di bawah ini:

<b>Aspek</b>	<b>Skor</b>	<b>Keterangan</b>
	A = 4 = 100	Sangat jelas, sangat efektif
	B = 3 = 80	Cukup jelas
Isi/Konsep Materi/Kejelasan Makna	C = 2 = 60	Jelas tapi efektif
	D = 1 = 50	Kurang jelas
	E = 0 =<50	Tidak jelas
	A = 4 = 100	Sangat jelas, sangat efektif
	B = 3 = 80	Cukup jelas
Hubungan gagasan antar paragraph	C = 2 = 60	Jelas tapi efektif
	D = 1 = 50	Kurang jelas
	E = 0 =<50	Tidak jelas

### **4.3.4. Tindak Lanjut**

Bila anda dapat menjawab semua soal tes formatif di atas dengan benar (lihat kunci jawaban tes formatif pada point **4.3.6**) maka anda akan mendapat nilai 100 atau A (lihat rubrik **4.3.3**). Apabila nilai yang anda peroleh lebih dari 80, maka anda diperbolehkan melanjutkan materi Pokok Bahasan berikutnya. Bilamana nilai yang anda peroleh masih dibawah 80, pelajari lagi materi bahan ajar, terutama mengenai bagian soal yang tidak dapat anda jawab dengan baik dan benar. Setelah itu ulangi kembalimenjawab soal hingga anda dapat menjawab soal hingga anda memperoleh nilai 80 atau B. Apabila nilai yang anda peroleh hanya 50 atau D, maka anda tidak diperbolehkan melanjutkan materi pada Pokok Bahasan berikutnya.

#### **4.3.5. Rangkuman**

Enzim adalah suatu katalisator biologis dalam reaksi kimia yang sangat dibutuhkan dalam kehidupan. Enzim berperan dalam mengubah laju reaksi, sehingga dengan demikian kecepatan reaksi yang diperlihatkan dapat dijadikan ukuran keaktifan enzim. Aktivitas enzim dapat dinyatakan antara lain dalam bentuk unit enzim. Satu enzim adalah jumlah enzim yang mengkatalis transformasi 1 mikromol substrat dalam waktu 1 menit pada suhu 25°C dan pada keadaan pH optimal. Aktivitas enzim tergantung pada konsentrasi enzim dan substrat, suhu, pH, dan inhibitor.

Protein adalah bahan organik dengan berat yang tinggi, tersusun dari sejumlah asam amino yang disatukan dalam ikatan peptid. Pada hidrolisis protein sederhana hanya menghasilkati asam amino, sedangkan hidrolisis protein yang berkaitan dengan senyawa lain menghasilkan tambahan grup nonprotein. (grup prostetik). Selama pencernaan, rantai peptid dihidrolisis satu per satu menjadi asam amino atau grup asam amino. Enzim yang berperan sebagai katalisator dalam hidrolisis lemak adalah esterase, yang memecahkan rantai ester menjadi asam lemak dan alkohol. Enzim yang berperan sebagai katalisator dalam hidrolisis trigliserid biasanya disebut sebagai lipase, sedangkan enzim yang memedah ikatan etil butirrat (esterase sederhana) adalah esterase. Untuk menghidrolisis komponen lemak kompleks seperti fosfolipid dan kholesterol diperlukan enzim yang lebih spesifik, contohnya enzim Cholesterol esterase. Terdapat dua proses penting dalam pencernaan lemak, yaitu pertama emulsifikasi oleh bahan yang dapat menurunkan tegangan permukaan lemak dan yang kedua adalah pencernaan oleh lipase. Ikan berdasarkan jenis makanan yang dimakan, ikan dikelompokkan ke dalam tiga kelompok yaitu herbivora, omnivora, karnivora.

Berdasarkan perbedaan jenis makanan yang biasa dikonsumsi tersebut maka enzim pencernaan yang dihasilkan akan berkaitan dengan komposisi, makanan. Karbohidrase akan lebih banyak diproduksi oleh ikan herbivora, sedangkan proteinase secara kumulatif banyak diproduksi oleh ikan karnivora.

#### **4.3.6. Kunci Jawaban Tes Formatif**

Soal nomor 1.

Aktivitas enzim tergantung pada konsentrasi enzim dan substrat, suhu, pH, dan inhibitor.

Soal nomor 2

Enzim endopeptidase yang berperan penting dalam pencernaan protein antara lain adalah pepsin. Pepsin merupakan enzim yang disekresikan oleh mukosa lambung. Enzim ini memiliki aktivitas proteolitik optimal pada pH 2. Pepsin ditemukan pada seluruh hewan vertebrata kecuali pada ikan yang tidak memiliki lambung. Aktivitas pepsin tergantung pada pH, suhu dan jenis substrat. Kekuatan mencerna dari cairan gastrik bergantung pada jumlah pepsin pH. Konsentrasi enzim tertentu, aktivitas proteolitik dari cairan digestif akan mencapai maksimal pada pH lebih rendah dari 4. Cairan gastrik cukup mengandung HCl untuk mencapai pH di bawah 2.

Soal nomor 3

Terdapat dua proses penting dalam pencernaan lemak, yaitu pertama emulsifikasi oleh bahan yang dapat menurunkan tegangan permukaan lemak dan yang kedua adalah pencernaan oleh lipase.

Soal nomor 4

Jenis-jenis enzim pencernaan dan organ penghasilnya dapat dilihat pada Tabel berikut :

<b>Organ memproduksi</b>	<b>Jenis Enzim yang Disekresikan</b>
Lambung	Protease (pepsin) Amilase Lipase Esterase Khitinase
Usus	Lipase Enterokinase Aminopeptidase Dipeptidase Maltase Laktase Sukrase
Pankreas	Protase Tripsin Khemotripsin Elastase Karboksipeptidase Amilase Lipase Khitinase

## **BAB V. APLIKASI ENZIM PAPAIN DALAM PAKAN IKAN**

Enzim papain merupakan enzim eksogenus banyak digunakan di seluruh dunia sebagai bahan aditif dalam pakan ikan untuk meningkatkan nilai gizi ikan, khususnya protein. Enzim protease merupakan enzim yang menghidrolisis ikatan peptida pada protein atau polipeptida menjadi molekul yang lebih kecil yaitu asam amino (Dawood *et al.*, 2014). Penambahan enzim papain dalam pakan terbukti dapat meningkatkan efisiensi pemanfaatan pakan, pencernaan nutrisi dan pertumbuhan ikan (Patil dan Singh, 2014). Muchlisin *et al.* (2016) mengemukakan penambahan papain dalam pakan dapat meningkatkan pertumbuhan ikan keureling (*Tor tambra*). Khati *et al.* (2015) menjelaskan bahwa penambahan papain dalam pakan memberikan pertumbuhan dan protein efisiensi ratio terbaik pada ikan *fingerling Labeo rohita*. Rachmawati *et al.* (2018) menyebutkan bahwa penambahan enzim papain dalam pakan dapat meningkatkan efisiensi pemanfaatan pakan dan pertumbuhan lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*). Rachmawati *et al.* (2019) meyakini bahwa papain dalam pakan meningkatkan efisiensi pemanfaatan pakan, rasio protein efisiensi dan pertumbuhan benih lele Sangkuriang (*Clarias gariepinus*). Rachmawati dan Prihanto, (2019) mengemukakan enzim papain dalam pakan meningkatkan pencernaan nutrisi, efisiensi pemanfaatan pakan dan pertumbuhan ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*). Penelitian penambahan enzim papain dalam pakan untuk meningkatkan pertumbuhan beberapa spesies ikan sudah dilakukan oleh beberapa peneliti.

### **5.1. Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)**

Hasil penelitian Isnawati *et al.* (2015), pada nila gift dengan ukuran panjang 9 - 12 cm, berat 20 - 40 g sejumlah 180 ekor. Menggunakan bahan

berupa enzim papain berasal dari serbuk daun pepaya, aquadest, pakan pellet komersial dengan kandungan protein 30 %. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen yang dilakukan di laboratorium. Sedangkan rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan mengkondisikan semua faktor sama dan homogen, kecuali faktor perlakuan (Kusriningrum, 2008). Perlakuan yang diberikan terdiri dari 3 perlakuan dan diulang masing-masing 3 ulangan, yaitu: A1: perlakuan pemberian pakan dengan serbuk daun pepaya 2 %, A2: perlakuan pemberian pakan dengan serbuk daun pepaya 3%, A3: perlakuan pemberian pakan dengan serbuk daun pepaya 4 % dan C : pemberian pakan tanpa penambahan enzim papain (kontrol). Parameter penelitian yang diamati adalah efisiensi pemanfaatan pakan, rasio efisiensi protein pakan, laju pertumbuhan relatif pada ikan nila, protein pada daging ikan dan ketebalan daging ikan dan kualitas air. Pakan ikan tanpa penambahan enzim papain diuji proksimat. Setelah diberi penambahan serbuk daun pepaya, pakan diujikan proksimat kembali. Jumlah konsumsi pakan dihitung dengan menimbang jumlah pakan yang telah dikonsumsi selama perlakuan (30 hari). Jumlah konsumsi pakan dihitung dengan menimbang jumlah pakan yang telah dikonsumsi selama perlakuan (30 hari).

Hasil analisis proksimat kandungan nutrisi pakan yang digunakan disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Analisis proksimat kandungan nutrisi pakan yang digunakan (%BK)

Hasil Analisis Proksimat	Kandungan Nutrisi
Bahan Kering	91,83
Abu	10,65
Protein	29,00
Lemak	5,19

Serat Kasar	7,17
BETN	39,79
ME	2821,84

Berdasarkan hasil penelitian, hasil analisis ragam penambahan serbuk daun papain dalam pakan berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap EPP. Nilai rata-rata efisien pemanfaatan pakan (EPP) pada perlakuan A1 (2%) sebesar  $76,65 \pm 0,643\%$ , A2 (3%)  $54,61 \pm 0,429\%$ , A3 (4%) sebesar  $45,61 \pm 0,659\%$ . Selanjutnya penambahan serbuk daun papain dalam pakan berpengaruh nyata juga ( $P < 0,05$ ) terhadap protein efisien rasio. Nilai rata-rata protein efisiensi rasio pada perlakuan A1 (2%) sebesar  $2,55 \pm 0,009$ , A2 (3%) sebesar  $1,29 \pm 0,005$  dan A3 (4%) sebesar  $0,94 \pm 0,008$ . Data pengamatan EPP dan PER dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Data EPP (%) dan PER

Perlakuan	Parameter	
	EPP	PER
A1	$76,65 \pm 0,643^a$	$2,55 \pm 0,009^a$
A2	$54,61 \pm 0,429^b$	$1,29 \pm 0,005^b$
A3	$45,61 \pm 0,659^c$	$0,94 \pm 0,008^c$

Berdasarkan hasil pengamatan nilai rasio efisiensi protein tertinggi pada perlakuan A1, perlakuan A1 berbeda nyata terhadap perlakuan A2 dan A3. Perlakuan A1 dengan penambahan serbuk daun pepaya sebanyak 2% menghasilkan rasio efisiensi protein tertinggi yaitu sebesar 0,55 %. Hal ini diduga karena nutrisi pada perlakuan A1 memiliki komposisi asam amino yang sesuai dengan asam amino tubuh ikan nila secara umum, protein dengan komposisi asam amino yang sama dengan tubuh ikan mempunyai nilai nutrisi yang tinggi sehingga penyerapan pakan kedalam tubuh ikan bisa lebih optimal.

Berdasarkan hasil pengamatan bahwa setelah 30 hari masa pemeliharaan terjadi peningkatan bobot rata-rata individu ikan nila pada setiap perlakuan. Menurut Effendie (1979), pertumbuhan adalah perubahan ukuran panjang, bobot dan volume selama periode waktu tertentu. Pertumbuhan pada ikan nila terjadi karena adanya pasokan energi yang terdapat dalam pakan yang dikonsumsinya. Apabila energi yang terkandung didalam pakan tersebut melebihi kebutuhan energi untuk *maintenance* dan aktivitas tubuh lainnya, sehingga kelebihan energi itu dimanfaatkan untuk pertumbuhan. Kondisi ini sesuai dengan pendapat Lovell (1989), bahwa sebelum terjadinya pertumbuhan, kebutuhan energi untuk *maintenance* harus dipenuhi terlebih dahulu.

Laju pertumbuhan relatif tertinggi terdapat pada perlakuan A1 yaitu hidrolisis papain dengan penambahan serbuk daun pepaya sebanyak 2%. Hal ini menunjukkan ikan nila dapat memanfaatkan pakan yang diberikan dengan baik karena didukung aktivitas protease papain dalam pakan. Hal ini sesuai dengan pendapat Heut (1979), bahwa laju pertumbuhan yang tinggi berkaitan dengan efisiensi pakan yang tinggi juga. Efisiensi pakan yang tinggi menunjukkan penggunaan pakan yang efisien, sehingga hanya sedikit zat makanan yang dirombak untuk memenuhi kebutuhan energi dan selebihnya digunakan untuk pertumbuhan. Efisiensi pakan merupakan ratio antara pertambahan bobot dengan jumlah pakan yang dibetikan selama penelitian. Kesimpulan pada penelitain ini adalah penambahan serbuk daun pepaya sebanyak 2% dapat meningkatkan efisiensi pemanfaatan pakan pada budidaya ikan nila sebesar 76,65% dan rasio efisiensi protein sebesar 2,55.

## 5.2. Ikan Keureling (*Tor tambra*)

Hasil penelitian Muchlisin *et al.* (2016) menggunakan ikan uji berupa benih ikan keureling (*Tor tambra*) dibeli dari petani di desa Beutong memiliki berat rata-rata 0,30 g dan 3,5 cm panjang rata-rata. Pakan uji yang digunakan mengandung protein 30% diformulasikan menggunakan beberapa bahan baku seperti yang disajikan pada Tabel 6. Semua bahan dianalisis kandungan nutrisinya terutama protein kasar, lemak dan abu sebelum digunakan. Bahan-bahan termasuk papain dicampur secara homogen kemudian minyak jagung dan air ditambahkan ke dalam bahan campuran secara bertahap untuk membentuk adonan dan kemudian dipelet menggunakan mesin ekstruder. Pakan dijemur selama 12 jam dan pakan kering disimpan dalam freezer sebelum digunakan dalam percobaan.

Tabel 6. Formulasi pakan uji

Materials (g /kg)	Experimentaldosage of papain in fish diets P					
	0 mg kg-1	17.5 mg/ kg	20 mg/ kg	22.5 mg/ kg	25 mg /kg	27.5 mg/ kg
Fishmeal	210	210	210	210	210	210
Soybean meal	200	200	200	200	200	200
Commeal	40	40	40	40	40	40
Rice bran	280	262.5	260	257.5	255	252.5
Ebi shrimps flour	205	205	205	205	205	205
Cassava flour	15	15	15	15	15	15
Vitamins mix	15	15	15	15	15	15
Minerals mix	15	15	15	15	15	15
Com oil	20	20	20	20	20	20
Papain	0	17.5	20	22.5	25	27.5
Total	1000	1000	1000	1000	1000	1000

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kenaikan berat badan berkisar dari 0,63 g hingga 1,97 g, tingkat pertumbuhan harian dari 0,008

g/hari hingga 0,024 g/hari, tingkat pertumbuhan spesifik berkisar antara 1,17%/hari hingga 2,19%/hari dan tingkat kelangsungan hidup berkisar antara 66,67% hingga 91,11% (Tabel 7). Tes ANOVA mengungkapkan bahwa papain dalam makanan memiliki efek signifikan pada kenaikan berat badan, laju pertumbuhan harian, laju pertumbuhan spesifik dan tingkat kelangsungan hidup ikan keureling ( $P < 0,05$ ), di mana kenaikan berat badan, laju pertumbuhan spesifik dan tingkat kelangsungan hidup lebih tinggi pada dosis 27,5 mg/kg dimana nilai-nilai parameter tersebut berbeda secara signifikan dari dosis lain. Uji Anova menunjukkan bahwa enzim papain dalam pakan memiliki efek signifikan pada rasio konversi pakan (FCR) dan efisiensi pakan (FE) dari keureling fish ( $P < 0,05$ ) di mana FCR dan FE terbaik dicatat pada dosis 27,5 mg/kg, namun, nilai-nilai parameter tersebut tidak berbeda secara signifikan dengan dosis 27,5 mg/kg.

Tabel 7. Kenaikan berat badan, laju pertumbuhan harian dan laju pertumbuhan spesifik ikan keureling (*Tor tambra*) yang diberi pakan uji mengandung papain selama 80 hari.

Papain dosage (mg kg <sup>-1</sup> )	Weight gain (g)	Specific growth rate (% day <sup>-1</sup> )	Daily growth rate (g day <sup>-1</sup> )
0	0.63 ± 0.05 <sup>a</sup>	1.17 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.008 ± 0.001 <sup>a</sup>
17.5	0.97 ± 0.01 <sup>b</sup>	1.60 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.012 ± 0.000 <sup>b</sup>
20.0	1.08 ± 0.07 <sup>b</sup> <sup>c</sup>	1.72 ± 0.05 <sup>c</sup>	0.013 ± 0.001 <sup>b</sup>
22.5	1.15 ± 0.04 <sup>c</sup>	1.77 ± 0.03 <sup>c</sup>	0.014 ± 0.001 <sup>c</sup>
25.0	1.55 ± 0.04 <sup>d</sup>	2.04 ± 0.05 <sup>d</sup>	0.019 ± 0.001 <sup>d</sup>
27.5	1.97 ± 0.15 <sup>e</sup>	2.19 ± 0.01 <sup>e</sup>	0.024 ± 0.002 <sup>e</sup>

Keterangan : Nilai rata-rata (± SD) pada kolom yang sama dengan superskrip yang sama tidak berbeda secara signifikan ( $P < 0,05$ ).

Studi ini mengungkapkan bahwa pertumbuhan kinerja, tingkat kelangsungan hidup dan pemanfaatan pakan meningkat dengan

meningkatnya pengobatan dosis papain dalam pakan di mana 27,5 mg/kg adalah dosis terbaik untuk semua parameter yang diukur, ini menunjukkan bahwa pencernaan pakan adalah optimal pada dosis ini. Pencernaan pakan yang lebih tinggi dapat dideteksi oleh kandungan protein dalam tinja di mana kadar protein yang lebih rendah dicatat pada dosis 27,5 mg/kg (Tabel 8). Hal ini menunjukkan bahwa sebagian besar protein dapat dicerna oleh ikan dengan dosis ini. Steffens (1989) menyatakan bahwa semakin tinggi pencernaan pakan berarti semakin banyak nutrisi yang digunakan oleh ikan. Hasil yang serupa juga dilaporkan kembali di goramy (*O. gourami*) di mana kotoran protein yang lebih rendah dicatat pada dosis papain 27,5 mg/kg (Hasan, 2000).

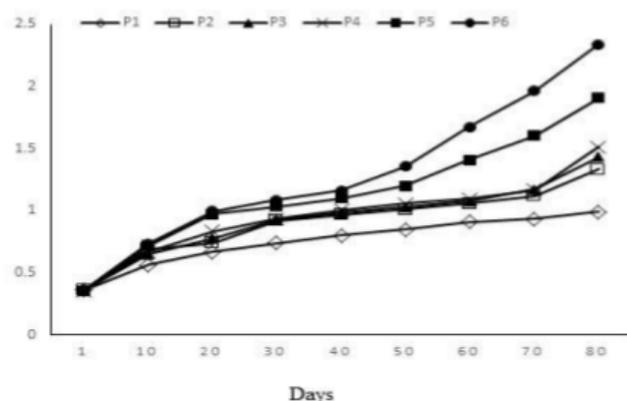
Tabel 8. Tingkat kelangsungan hidup, efisiensi pakan, rasio konversi pakan ikan keureling (*Tor tambra*) yang diberi pakan uji mengandung papain selama 80 hari.

Papain dosage (mg kg <sup>-1</sup> )	Survival rate (%)	Feed efficiency (%)	Feed conversion ratio	Protein in the feces (%)
0	66.67 ± 13.33 <sup>a</sup>	28.87 ± 3.70 <sup>a</sup>	3.90 ± 0.42 <sup>c</sup>	16.67
17.5	64.44 ± 10.18 <sup>a</sup>	37.74 ± 5.34 <sup>b</sup>	2.68 ± 0.40 <sup>b</sup>	16.54
20.0	71.11 ± 13.88 <sup>ab</sup>	38.90 ± 2.07 <sup>b</sup>	2.58 ± 0.13 <sup>b</sup>	12.19
22.5	88.88 ± 13.88 <sup>b</sup>	38.90 ± 1.16 <sup>b</sup>	2.57 ± 0.08 <sup>b</sup>	7.59
25.0	84.44 ± 3.85 <sup>ab</sup>	48.82 ± 4.93 <sup>c</sup>	2.06 ± 0.21 <sup>a</sup>	7.30
27.5	91.11 ± 10.18 <sup>b</sup>	53.44 ± 2.05 <sup>c</sup>	1.87 ± 0.07 <sup>a</sup>	3.98

Keterangan : Nilai rata-rata (± SD) pada kolom yang sama dengan superskrip yang sama tidak berbeda secara signifikan (P < 0,05)

Tren pertumbuhan ikan selama penelitian menunjukkan bahwa tingkat pertumbuhan pada hari-1 hingga hari-30 lambat, dan tingkat pertumbuhan meningkat tajam dari hari-40 hingga hari-80 di mana kinerja pertumbuhan terbaik dicatat pada dosis tersebut. 27,5 mg/kg (Gambar 10). Oksigen terlarut berkisar antara 6,2-6,8 mg L<sup>-1</sup>, suhu air berkisar antara

28,2 hingga 28,8 OC dan pH rata-rata 6,4, menunjukkan parameter air fisik dan kimia selama penelitian cocok untuk ikan.



Gambar 10. Rata-rata berat ikan selama percobaan. P1= kontrol, P2 = 17,5 mg/kg, P3 = 20,0 mg/kg, P4 = 22,5 mg/kg, P5= 25,0 mg/kg, P6= 27,5 mg/kg

Studi ini mengungkapkan bahwa pertumbuhan kinerja, tingkat kelangsungan hidup dan pemanfaatan pakan meningkat dengan meningkatnya penambahan dosis papain dalam pakan dimana 27,5 mg/kg merupakan dosis terbaik untuk semua parameter yang diukur, ini menunjukkan bahwa pencernaan pakan adalah optimal pada dosis ini. Pencernaan pakan yang lebih tinggi dapat dideteksi oleh kandungan protein dalam feses ikan di mana kadar protein yang lebih rendah dicatat pada dosis 27,5 mg/kg (Tabel 8). Hal ini menunjukkan bahwa sebagian besar protein dapat dicerna oleh ikan dengan dosis ini. Steffens (1989) menyatakan bahwa semakin tinggi pencernaan pakan berarti semakin banyak nutrisi yang digunakan oleh ikan. Hasil yang serupa juga dilaporkan pada ikan gurame (*Ophronemus gouramy*) di mana protein feses yang lebih rendah dicatat pada dosis papain 27,5 mg/kg (Hasan, 2000). Pencernaan protein yang lebih tinggi kemungkinan disebabkan oleh adanya enzim papain (kelompok protease) pada dosis yang sesuai, hal ini menyebabkan hidrolisis protein menjadi bentuk asam amino dapat

terjadi secara optimal. Berdasarkan data, itu menunjukkan bahwa tingkat kelangsungan hidup yang lebih tinggi juga dicatat pada ikan yang diberi makan pada pakan uji dosis papain sebesar 27,5 mg/kg (91,11%), tetapi nilai ini tidak berbeda secara signifikan dengan perlakuan yang lainnya. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tingkat kelangsungan hidup ikan keureling dalam percobaan ini tidak secara langsung terkait dengan pakan uji, tetapi itu sangat berkorelasi dengan parasit yang terinfeksi. Pengamatan langsung kami terhadap ikan mati menunjukkan bahwa sebagian besar ikan telah terinfeksi oleh *Lernea* sp. dan *Argulus* sp. Infestasi *Lernea* sp., *Argulus* sp. dan cacing pita, *Bothriocephalus acheilognathi* pada ikan keureling telah dilaporkan oleh Muchlisin *et al.*, (2014) dan Muchlisin *et al.*, (2015a), untungnya sampai sekarang tidak ada pengobatan yang disarankan untuk mengatasi masalah ini. Secara umum, tingkat kelangsungan hidup dipengaruhi oleh faktor-faktor internal dan eksternal seperti jenis kelamin, usia, aktivitas reproduksi, penyakit, kualitas air, kepadatan tebar dan nutrisi (Hepher, 1988).

Kecenderungan yang sama juga dicatat untuk efisiensi pakan dan rasio konversi pakan di mana hasil terbaik dicatat pada dosis papain 27,5 mg/kg sedangkan hasil yang lebih rendah ditemukan pada ikan yang diberi makan pada pakan kontrol. Efisiensi pakan yang lebih tinggi dan rasio konversi pakan yang lebih rendah menunjukkan bahwa aplikasi enzim papain dalam makanan berhasil meningkatkan pemanfaatan pakan ikan keureling. Menurut Steffens (1989) efisiensi pakan adalah indikasi pemanfaatan pakan oleh ikan, di mana efisiensi tinggi dan rasio konversi pakan rendah menunjukkan pakan telah dicerna dan disentuh secara optimal oleh ikan untuk pertumbuhan mereka. Studi menunjukkan bahwa penerapan papain dengan dosis 2,75 mg/kg dapat mengurangi rasio konversi pakan dari 3,90 menjadi 1,87, itu berarti bahwa asupan pakan

dapat menurun sekitar 52%. Studi ini mengungkapkan bahwa penerapan papain dalam makanan memiliki efek yang signifikan pada kinerja pertumbuhan, pemanfaatan pakan dan tingkat kelangsungan hidup umpan ikan (*T. tambra*) di mana nilai-nilai semua parameter kecuali rasio konversi pakan meningkat dengan peningkatan dari Dosis papain dalam makanan dan dosis papain terbaik untuk energi ikan adalah 27,50 mg/kg.

### **5.3. Udang Galah (*Macrobrachium rosenbergii*)**

Hasil penelitian Patil, D.W, and H. Singh (2014) menggunakan ikan uji berupa post larva *M. rosenbergii* diperoleh dari pembenihan udang air tawar dari Stasiun Penelitian Biologi Kelautan, Ratnagiri dan dipelihara dalam kolam plastik 500 L. Udang diaklimatisasi selama satu minggu dengan kondisi laboratorium dan diberi makan tiga kali sehari dengan diet kontrol (T0) pada tingkat 10% berat badan (Singh and Gaidhane, 2001). Feses udang dan sisa pakan dikeluarkan dari wadah budidaya dengan menyedot 25% air media setiap hari, yang diganti kembali dengan air tawar baru. Aerasi disediakan selama periode aklimatisasi untuk menghindari stres. Pakan control yang digunakan menggunakan tepung ikan dan minyak kacang tanah sebagai sumber protein dan lemak, sedangkan dedak beras dan tepung gandum sebagai sumber karbohidrat. Pakan uji mengandung protein 35% berdasarkan informasi nutrisi yang tersedia untuk *M. rosenbergii* (Balazs dan Ross, 1976; Clarke *et al.*, 1990; Shinde, 2001). Enzim papain (LOBA CHEMIE PVT LTD, Bombay) ditambahkan pada tingkat 0,1, 0,2, 0,3 dan 0,4% dalam diet kontrol dan berfungsi sebagai diet eksperimental yaitu. T1, T2, T3 dan T4. Enzim dilarutkan dalam 50 ml air dan dicampur homogeny dalam adonan pakan dengan menggunakan mixer. Formulasi pakan uji dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Bahan (%) dan hasil proksimat (% berat kering dasar) pakan

Ingredients and proximate composition	Test diet				
	T0	T1	T2	T3	T4
Ingredients (%)					
Fish meal	29.21	29.21	29.21	29.21	29.21
Groundnut oil cake	29.21	29.21	29.21	29.21	29.21
Wheat flour	20.79	20.79	20.79	20.79	20.79
Rice bran	20.79	20.79	20.79	20.79	20.79
Papain	--	0.1	0.2	0.3	0.4
Proximate composition (%)					
Moisture*				10.23	
Crude protein*	10.89	9.93	10.90		9.65
Crude lipid*	34.00	35.00	35.00	34.00	36.00
Ash*	5.20	5.59	5.00	5.13	4.87
Carbohydrate*	10.50	9.44	10.10	9.50	10.25
Gross energy (kcal/100 g)	39.41	40.04	39.00	41.14	39.23
Protein / energy ratio (mg protein / kcal)	407.02	419.02	409.05	413.62	414.43
	83.53	83.53	85.56	82.20	86.87

Kenaikan panjang (%), penambahan berat (%), laju pertumbuhan spesifik (%) dan kelangsungan hidup pasca-larva yang diberi makan dengan kontrol dan diet eksperimental selama 42 hari diberikan pada Tabel 10.

Tabel 10. Panjang, berat, laju pertumbuhan spesifik dan kelulushidupan post-larvae of *M. rosenbergii* selama penelitian

Growth parameter	Test diet				
	T0	T1	T2	T3	T4
Length gain (%)	10,13±0,77 <sup>a</sup>	18,36±0,66 <sup>b</sup>	17,43±0,72 <sup>b</sup>	16,89±0,63 <sup>b</sup>	15,52±0,78 <sup>b</sup>
Weight gain (%)	45,47±3,07 <sup>a</sup>	81,15±5,59 <sup>b</sup>	71,59±2,91 <sup>b</sup>	69,22±3,03 <sup>b</sup>	68,38±3,01 <sup>b</sup>
Specific growth rate (%)	0,89±0,02 <sup>a</sup>	1,41±0,03 <sup>b</sup>	1,29±0,01 <sup>b</sup>	1,25±0,01 <sup>b</sup>	1,25±0,01 <sup>b</sup>
Survival (%)	52,42±7,79 <sup>a</sup>	59,17±8,97 <sup>a</sup>	53,33±8,27 <sup>a</sup>	58,33±7,76 <sup>a</sup>	54,17±10,31 <sup>a</sup>

Keterangan : Nilai rata-rata (± SD) pada kolom yang sama dengan superskrip yang sama tidak berbeda secara signifikan (P <0,05).

Kenaikan panjang maksimum (18,36%), kenaikan berat badan (18,45%) dan tingkat pertumbuhan spesifik (1,41%) dicatat dalam post-larva yang diberi makan dengan diet T1. Studi ini menunjukkan bahwa rendahnya penggabungan papain dalam makanan praktis *M. rosenbergii* menghasilkan pertumbuhan post-larva *M. rosenbergii* yang lebih baik yang hemat biaya. Tidak ada laporan tentang penggunaan papain dalam makanan untuk pasca-larva *M. rosenbergii* tetapi beberapa pekerja mempelajari efek enzim fotolitik pada spesies lain. Maugle *et al.* (1983) melaporkan bahwa suplemen diet bovine trypsin menghasilkan pertumbuhan yang lebih baik untuk *P. japonicus*. Mungkin karena aktivasi protease zymogen (s) endogen dalam sistem pencernaan oleh tripsin sapi eksogen mengakibatkan peningkatan kapasitas pencernaan hepatopankreas. Divakaran dan Velasco (1999) melaporkan hasil yang bertentangan pada udang, *Laptopeanes vannamei* diberi makan dengan enzim proteolitik. Dabrowski dan Glogowski (1977) mengamati peningkatan aktivitas proteolitik pada ikan mas yang diberi pakan bovine trypsin dan menyatakan bahwa ada pendekatan baru untuk menggunakan enzim proteolitik untuk diet ikan untuk pertumbuhan yang lebih baik. Carter *et al.* (1994) melaporkan pertumbuhan salmo Salar yang lebih baik dengan menambahkan enzim proteolitik ke dalam makanan. Hasil serupa juga diamati untuk ikan mas yang diberi pakan sintetis dicampur dengan papain 3%, pakan buatan dicampur dengan papain 5% dan pakan sintetis dicampur dengan 10% daun pepaya oleh Tagare (1992). Lebih lanjut dilaporkannya bahwa pertumbuhan yang lebih baik dalam makanan tambahan papain disebabkan oleh peningkatan pencernaan protein pada ikan mas. Dengan demikian, dari literatur di atas, mudah untuk mengatakan bahwa enzim proteolitik berperan dalam pencernaan protein

seperti yang dilaporkan oleh Maugle *et al.* (1983) pada udang dan Tagare (1992) pada ikan. Selama penelitian ini, diet yang ditambah 0,1% papain menghasilkan pertumbuhan post-larva *M. rosenbergii* yang lebih baik. Ini mungkin karena peningkatan kapasitas pencernaan pasca-larva karena ketersediaan papain yang siap bersama dengan pakan.

Dalam penelitian ini kelangsungan hidup maksimum (57,17%) diamati pada post-larva yang diberi diet T1 dalam periode pemeliharaan 42 hari. Tetapi tidak ada perbedaan yang signifikan ( $P > 0,05$ ) untuk kelangsungan hidup pasca-larva yang diberi makanan yang berbeda. Dabrowski dan Glogowski (1977) melaporkan bahwa enzim proteolitik yang ditambahkan secara eksogen ke pakan ikan tidak menunjukkan efek pada kelangsungan hidup ikan. Hasil serupa juga dibuat oleh Tagare (1992) pada ikan mas biasa yang diberi makan dengan diet yang mengandung papain dan papain mentah dalam bentuk daun pepaya. Penelitian ini menyimpulkan bahwa pakan yang ditambah 0,1% papain cocok untuk pertumbuhan yang lebih baik dan maksimal pemanfaatan nutrisi dari pakan untuk pemeliharaan post-larva *M. rosenbergii*.

#### **5.4. Ikan Lele Sangkuriang (*Clarias* sp)**

Hasil penelitian yang dilaporkan oleh Rachmawati *et al.* (2019) menggunakan ikan lele Sangkuriang bobot rata-rata  $12.84 \pm 0.69$  g/ekor sejumlah 40.000 ekor. Selanjutnya benih lele Sangkuriang dipilih yang memiliki organ tubuh lengkap, sehat, ukuran seragam, tidak membawa penyakit dan berenang aktif (Rachmawati *et al.*, 2017). Aklimatisasi benih lele Sangkuriang dilakukan selama satu minggu bertujuan agar dapat menyesuaikan diri dengan pakan dan lingkungan. Setelah itu, benih lele Sangkuriang dipuasakan satu hari untuk menghilangkan sisa metabolisme sebelumnya. Bahan Uji Bahan uji yang digunakan sebagai

perlakuan adalah enzim papain diperoleh dari Balai Besar Perikanan Air Payau Jepara, Jawa Tengah, Indonesia. Pakan yang digunakan adalah pakan buatan yang memiliki komposisi protein kasar 30%, lemak 4%, serat kasar 6%, abu 14% dan kandungan air 11%. Penambahan enzim papain dalam pakan buatan, pertama-tama menimbang enzim papain sesuai perlakuan. Selanjutnya enzim papain dilarutkan dalam 100 ml air untuk 1 kg pakan (Manurung *et al.*, 2013). Metode penambahan enzim papain dalam pakan dengan cara spray mengacu metode Vendrell *et al.* (2008). Pakan yang sudah mengandung enzim papain dikeringkan dalam suhu ruang. Selanjutnya diberi label dan disimpan sampai saat akan digunakan.

Hasil dan Pembahasan Data variabel penelitian yang diamati selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Data EFU, FCR, PER, RGR and SR benih lele Sangkuriang selama penelitian

Data	Perlakuan				
	A	B	C	D	E
EFU (%)	48.38±0.53 <sup>c</sup>	58.74±0.62 <sup>d</sup>	75.86±0.83 <sup>a</sup>	65.75±0.32 <sup>b</sup>	60.18±0.72 <sup>c</sup>
PER	1.89±0.28 <sup>d</sup>	2.57±0.39 <sup>d</sup>	4.68±0.47 <sup>a</sup>	3.58±0.28 <sup>b</sup>	3.07±0.25 <sup>c</sup>
RGR (%/day)	2.53±0.32 <sup>d</sup>	3.24±0.53 <sup>c</sup>	5.48±0.38 <sup>a</sup>	4.98±0.25 <sup>b</sup>	4.57±0.36 <sup>b</sup>
SR (%)	88.33±3.65 <sup>a</sup>	90.33±2.62 <sup>a</sup>	92.33±3.24 <sup>a</sup>	90.33±2.75 <sup>a</sup>	90.33±2.68 <sup>a</sup>

Keterangan : Nilai rata-rata ( $\pm$  SD) pada kolom yang sama dengan superskrip yang sama tidak berbeda secara signifikan ( $P < 0,05$ ).

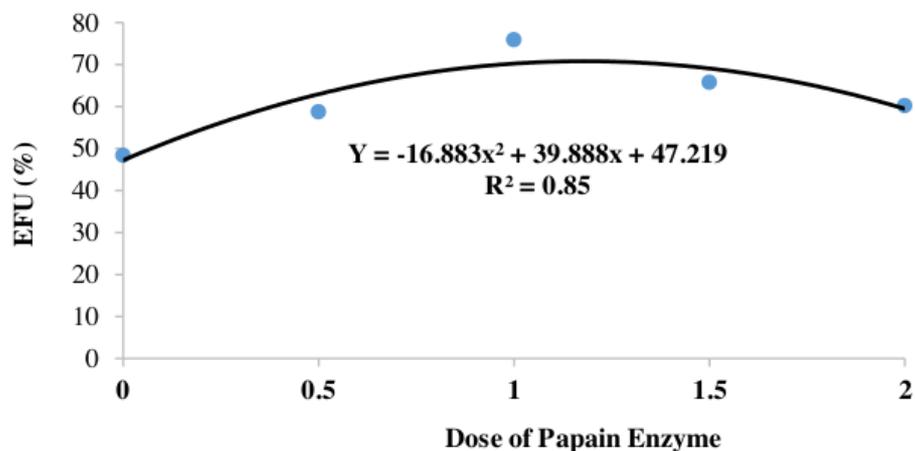
Menurut Tacon (2002) efisiensi pemanfaatan pakan merupakan salah satu tolak ukur kualitas pakan yang diberikan pada ikan atau kultivan budidaya. Efisiensi pemanfaatan pakan yang tinggi menunjukkan bahwa pakan yang diberikan dimanfaatkan secara baik untuk menghasilkan pertumbuhan. Penambahan enzim eksogenous papain menghasilkan efisiensi pemanfaatan pakan tertinggi pada perlakuan C sebesar 75.86 %, diikuti perlakuan D sebesar 65.75 %, perlakuan E sebesar 60.18 % dan

perlakuan A sebesar 48.38 %. Hasil ini menunjukkan bahwa penambahan enzim eksogenous papain dapat meningkatkan daya cerna pakan dan selanjutnya mempengaruhi efisiensi pemanfaatan pakan oleh ikan. Menurut Patil dan Singh (2014), enzim proteolitik memainkan peranan penting dalam proses pencernaan protein. Enzim proteolitik mengubah protein dalam pakan yang masuk ke dalam tubuh menjadi peptida sederhana dan asam amino sehingga bisa diserap oleh tubuh. Peningkatan daya cerna pakan yang mengandung enzim papain dikarenakan sudah tersedianya enzim proteolitik dalam pakan yang mampu membantu proses hidrolisis protein dalam pencernaan ikan. Nilai EPP pada perlakuan dengan penambahan enzim eksogenous papain dinyatakan cukup baik karena memiliki nilai diatas 50%. Hal ini sesuai dengan pernyataan Craig and Helfrich (2002) bahwa pakan dapat dikatakan baik bila nilai efisiensi pakan lebih dari 50% atau bahkan mendekati 100%.

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai EFU tertinggi terdapat pada perlakuan C dengan penambahan enzim eksogenous papain 1 g/kg pakan sebesar 75.86 %. Hal ini diduga karena penambahan enzim eksogenous papain pada pakan buatan menghidrolisis rantai polipeptida menjadi asam amino sehingga pakan lebih mudah dicerna dan terserap baik lele Sangkuriang. Disamping itu enzim eksogenous papain diduga juga dapat membantu proses pencernaan pakan yang diberikan sehingga energi dalam pakan dapat memenuhi kebutuhan perbaikan jaringan tubuh, aktivitas ikan dan juga pertumbuhan. Semakin banyak nutrisi dalam pakan yang terhidrolisis dan mudah terserap dalam tubuh ikan maka akan semakin tinggi nilai efisiensi pemanfaatan pakan pada lele Sangkuriang (Rachmawati *et al.*, 2018). Hal ini diperkuat oleh Singh *et al.* (2011), bahwa papain adalah enzim papain protease yang menghidrolisis protein menjadi peptida dan merupakan faktor kunci untuk menambah pencernaan protein, penyerapan yang cepat

dan membantu meningkatkan pertumbuhan. Nilai EFU terendah dalam penelitian ini terdapat pada perlakuan A (0 g/kg pakan) sebesar 48.38%. Hal ini diduga karena protein dalam pakan tidak tercerna dengan baik sehingga penyerapan nutrisi tidak maksimal pada lele Sangkuriang. Hasil bahwa enzim papain dapat meningkatkan EPP juga diperoleh pada penelitian Muchlisin *et al.* (2016), Rostika *et al.* (2018), Rachmawati and Samidjan, (2018), and Rachmawati *et al.* (2018).

Dosis optimum enzim papain pada EPP lele Sangkuriang diketahui dengan cara melakukan uji Polinomial Orthogonal. Uji Polinomial Orthogonal pada EPP diperoleh hubungan yang berpola kuadratik ( $Y = -16.883x^2 + 39.888x + 47.219$ ) dan  $R^2 = 0.85$  (Gambar 11). Dosis optimum enzim eksogenous papain pada EFU sebesar 1 g/kg pakan mampu menghasilkan EPP maksimal sebesar 75.86 %.



Gambar 11. Hubungan penambahan enzim eksogenous papain dengan EFU lele Sangkuriang

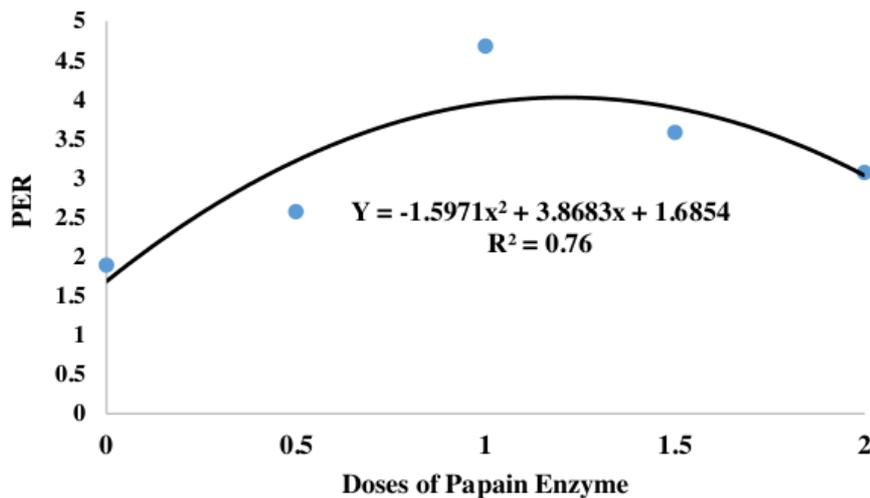
Protein efisiensi rasio merupakan ukuran yang digunakan untuk menunjukkan seberapa baik sumber protein dalam pakan dapat memenuhi kebutuhan asam amino esensial pada ikan (Singh *et al.*, 2011). Penambahan enzim eksonegous papain ke dalam pakan terbukti dapat meningkatkan rasio efisiensi protein pada lele Sangkuriang. Nilai rasio efisiensi protein tertinggi dalam penelitian ini terdapat pada perlakuan C (1 g/kg pakan) sebesar 4.68. Hal itu diduga karena perlakuan C mengandung dosis enzim eksogenous yang tepat berperan dalam proses pemecahan protein pakan yang akan meningkatkan nilai PER, yang secara langsung akan mempengaruhi pertumbuhan. Hal ini sesuai dengan pendapat Patil and Singh (2014) yang menyatakan pakan yang ditambah enzim papain menghasilkan daya cerna protein yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan pakan tanpa penambahan enzim papain, hal ini karena penambahan enzim papain dapat meningkatkan kandungan protein dan enzim protease yang berasal dari pakan. Menurut Khati *et al.* (2015), enzim papain adalah enzim protease yang menghidrolisis protein, yang merupakan faktor kunci untuk meningkatkan daya cerna protein dan penyerapannya, yang pada akhirnya mempengaruhi pertumbuhan ikan. Rachmawati *et al* (2019) melaporkan penambahan enzim papain dalam pakan buatan dapat meningkatkan nilai rasio efisiensi protein ikan. Enzim papain bertindak sebagai katalis biologis yang dapat meningkatkan daya cerna pakan kualitas rendah, sehingga biaya pakan dapat ditekan. Enzim papain dapat mengurangi faktor negatif dari asam fitat yang berasal dari bahan dasar nabati pakan. Nilai rasio efisiensi protein terendah terdapat pada perlakuan A dengan nilai PER sebesar 1.89. Rendahnya nilai protein efisiensi ratio pada perlakuan A diduga karena tidak terdapat enzim papain yang dapat membantu proses pencernaan protein terutama protein nabati dalam tubuh sehingga energi dalam pakan tidak semuanya dapat terserap dan diedarkan ke seluruh tubuh ikan. Menurut Mo *et al.* (2016), pertumbuhan

lambat pada ikan yang diberi pakan sumber protein nabati seperti tepung kedelai diduga karena adanya faktor anti-nutrisi penurunan penyerapan asam amino seperti methionine dalam tubuh ikan. Singh *et al.* (2011), dalam penelitiannya menyebutkan bahwa penambahan enzim papain sangat efektif dalam mengurangi faktor anti-nutrisional atau menghindari efek dari asam fitat yang berasal dari bahan baku pakan nabati yang dapat mengurangi laju pertumbuhan kultivan yang dibudidayakan. Penambahan enzim papain dapat meningkatkan PER juga dilaporkan oleh Khati *et al.* (2015), penambahan enzim papain sebesar 10 gr pada pakan buatan pada ikan *Labeo rohita* yang menghasilkan nilai PER sebesar 2.30%. Hal itu serupa dengan penelitian Rachmawati *et al.* (2018) menyatakan dosis 0.3 %/kg pakan menghasilkan nilai PER tertinggi sebesar 3.75 pada *Cherax quadricarinatus*. Selanjutnya Singh *et al.* (2011), bahwa dosis enzim papain 2%/kg pakan menghasilkan nilai PER tertinggi yaitu sebesar 2.24 pada *Cyprinus carpio*.

Nilai PER sangat berkaitan dengan kualitas pakan dan jumlah pakan yang dikonsumsi. Semakin tinggi nilainya maka semakin baik protein dimanfaatkan secara efisien oleh tubuh. Semakin banyak protein dimanfaatkan oleh tubuh maka semakin cepat pertumbuhan ikan. Hal ini diperkuat oleh Hopher (1988), semakin tinggi PER berarti semakin baik kualitas pakan tersebut, sehingga pakan lebih efisien dan protein dapat dimanfaatkan secara maksimal. Nilai PER dapat mempengaruhi pertumbuhan. Nilai PER baik menunjukkan kualitas pakan yang baik. Nilai PER juga dipengaruhi oleh kemampuan ikan untuk mencerna pakan. Kemampuan ini dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu komposisi pakan, dimana semakin tinggi protein yang dimanfaatkan oleh tubuh maka protein yang dimanfaatkan semakin efisien.

Dosis optimum enzim papain pada PER lele Sangkuriang diketahui dengan cara melakukan uji Polinomial Orthogonal. Uji Polinomial

Orthogonal pada PER diperoleh hubungan yang berpola kuadratik ( $Y = -1.5971x^2 + 3.8683x + 1.6854$ ) dan  $R^2 = 0.76$  (Gambar 2). Dosis optimum enzim eksogenous papain pada PER sebesar 1 g/kg pakan mampu menghasilkan PER maksimal sebesar 4.68.



Gambar 12. Hubungan penambahan enzim eksogenous papain dengan PER lele Sangkuriang

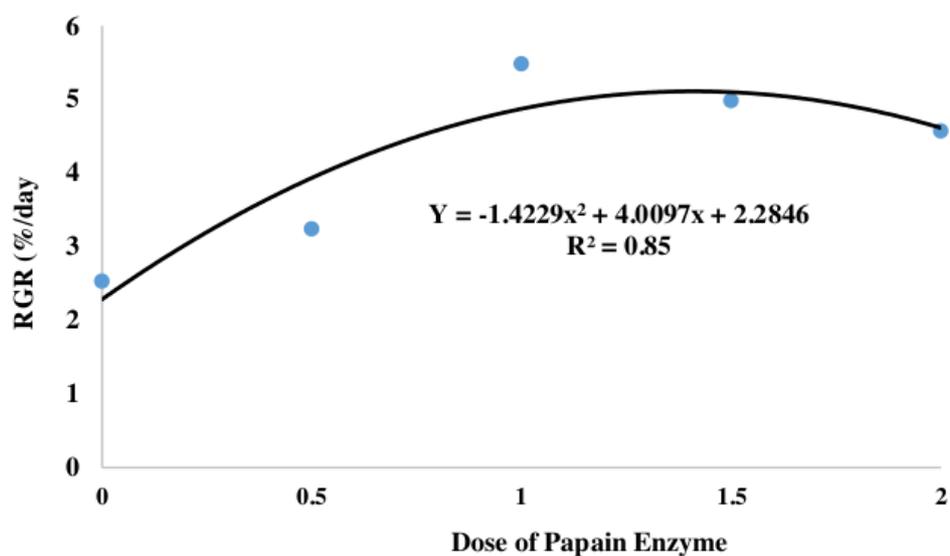
Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa penambahan enzim papain dalam pakan berpengaruh nyata ( $P < 0.05$ ) terhadap RGR lele Sangkuriang. Penambahan enzim eksogenous papain pada pakan menghasilkan nilai RGP tertinggi pada lele Sangkuriang yang diberi pakan C (1 g/kg pakan) sebesar 5.48 %/day diikuti D (1.5 g/kg pakan) sebesar 4.98%/day, E (2 g/kg pakan) sebesar 4.57 g/kg pakan, B (0.5 g/kg pakan) sebesar 3.24 %/day, dan A (0 g/kg pakan) sebesar 2.53 %/day. Perlakuan C (1 g/kg pakan) memiliki nilai RGR tertinggi dikarenakan juga memiliki nilai EPP yang tinggi, hal ini menunjukkan bahwa nilai RGR berbanding lurus dengan nilai EPP. Sehingga semakin tinggi nilai EPP maka semakin tinggi pula nilai RGR. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hephher (1988), nilai EPP yang tinggi berkaitan dengan laju pertumbuhan yang tinggi. Nilai EPP yang tinggi menunjukkan bahwa

sedikit zat makanan yang dirombak untuk memenuhi kebutuhan energi dan selebihnya untuk pertumbuhan. Selain itu penambahan enzim eksogenous papain dapat menambah penyerapan nutrisi pakan mendukung pertumbuhan ikan (Dawood *et al.*, 2014), Nilai RGR perlakuan C ke D mengalami penurunan begitupun dari perlakuan D ke E. Penurunan nilai RGR tersebut diduga dikarenakan enzim yang diberikan melebihi kebutuhan lele Sangkuriang. Menurut Infantea dan Cahua (2007) menurunnya nilai RGR dikarenakan protein hasil hidrolisis berlebihan sehingga kandungannya terlalu tinggi sehingga mempengaruhi regulasi sintesis dan sekresi tripsin berdampak negatif pada pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan. Lebih lanjut Kazerani dan Shahsavani (2011), mengemukakan enzim papain dengan dosis berlebihan dapat membebaskan monosakarida secara berlebihan dan mendorong terjadinya hiperglikemia yang dapat menghambat pertumbuhan. Penambahan enzim papain dapat meningkatkan pertumbuhan dilaporkan oleh Patil dan Singh (2014), enzim papain dengan dosis 0.1% pada *Macrobaicum rosenbrigri* dapat menghasilkan pertumbuhan tertinggi sebesar  $1.41 \pm 0.03\%$ /hari. Khati *et al.* (2015) menyatakan penambahan enzim papain dengan dosis 10g/kg pakan memberikan hasil terbaik pada pertumbuhan ikan *fingerling Labeo rohita* yaitu sebesar 3.35%/day. Rachmawati *et al* (2019) melaporkan penambahan enzim papain sebesar 0.3 %/kg pakan menghasilkan pertumbuhan tertinggi pada *Cherax quadricarinatus*.

Hasil penelitian menunjukkan peningkatan penambahan dosis enzim eksogenous papain dalam pakan belum tentu memberikan hasil RGR yang tinggi, hal itu dikarenakan enzim memiliki kadar optimum berkaitan dengan mekanisme kerja enzim. Mekanisme pengaruh ini secara tidak langsung dijelaskan oleh Khattak *et al.* (2006) bahwa enzim mengkatalis secara spesifik dan bertindak pada satu substrat. Pernyataan tersebut menyimpulkan

bahwa ketika tidak tersedia substrat untuk enzim, maka tidak ada aktivitas enzim. Hal ini terjadi pada perlakuan yang penambahan enzimnya berlebihan namun substratnya terbatas. Penambahan enzim secara berlebihan dengan substrat terbatas tidak dapat meningkatkan aktivitas enzim, karena aktivitas enzim terhenti saat substrat habis. Hal ini sependapat dengan Adugna *et al.* (2004), meningkatkan konsentrasi substrat dapat meningkatkan aktivitas enzim sampai batas maksimum tercapai. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa molekul substrat dan molekul enzim akan bergabung pada sisi aktif sampai semua sisi aktif terpakai, pada keadaan tersebut enzim dikatakan dalam keadaan maksimum.

Dosis optimum enzim papain pada RGR lele Sangkuriang diketahui dengan cara melakukan uji Polinomial Orthogonal. Uji Polinomial Orthogonal pada RGR diperoleh hubungan yang berpola kuadrat ( $Y = -1.4229x^2 + 4.0097x + 2.2846$ ) dan  $R^2 = 0.86$  (Gambar 13). Dosis optimum enzim eksogenous papain pada RGR sebesar 1 g/kg pakan mampu menghasilkan RGR maksimal sebesar 5.48 %/day.



Gambar 13. Hubungan penambahan enzim eksogenous papain dengan RGR lele Sangkuriang

Hasil Analisis ragam menunjukkan bahwa penambahan enzim eksogenous papain pada pakan tidak berpengaruh nyata ( $P>0.05$ ) terhadap SR lele Sangkuriang. Nilai kelulushidupan tertinggi pada penelitian ini adalah pada perlakuan C (1 g/kg pakan) sebesar 92.33%, kemudian diikuti perlakuan D (1.5 g/kg pakan), E (2 g/kg pakan) dan B (0.5 g/kg pakan) sebesar 90.33% dan perlakuan A(0 g/kg pakan) sebesar 88.33%.. Nilai SR lele Sangkuriang selama penelitian menunjukkan hasil yang baik dikarenakan semua perlakuan memiliki SR diatas 85%. Menurut Farrag *et al.* (2013) bahwa nilai kelulushidupan yang baik pada ikan di atas 80%.

Data pengamatan profil darah lele Sangkuriang selama penelitian disajikan pada Tabel 12.

Tabel 12. Data glucose (mg/dl), hematokrit (%), erytrosit ( $\times 10^6$ sel/mm<sup>3</sup>) dan leukosit (sel/mm<sup>3</sup>) lele Sangkuriang selama penelitian

Treatments (g/kg)	Glucose (mg/dl)	Hematokrit (%)	Erythrocyte ( $\times 10^6$ sel/mm <sup>3</sup> )	Leukocyte (sel/mm <sup>3</sup> )
A (0)	62.00 $\pm$ 2.35 <sup>a</sup>	13.46 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	1.43 $\pm$ 0.46 <sup>a</sup>	102.21 $\pm$ 4.54 <sup>a</sup>
B (0.5)	60.15 $\pm$ 3.21 <sup>a</sup>	14.32 $\pm$ 0.52 <sup>a</sup>	1.60 $\pm$ 0.30 <sup>a</sup>	101.35 $\pm$ 5.32 <sup>a</sup>
C (1)	67.00 $\pm$ 2.24 <sup>a</sup>	15.24 $\pm$ 0.94 <sup>a</sup>	1.97 $\pm$ 0.86 <sup>a</sup>	102.42 $\pm$ 4.63 <sup>a</sup>
D (1.5)	60.23 $\pm$ 2.38 <sup>a</sup>	13.67 $\pm$ 0.22 <sup>a</sup>	1.50 $\pm$ 0.75 <sup>a</sup>	102.54 $\pm$ 3.67 <sup>a</sup>
E (2)	61.37 $\pm$ 2.37 <sup>a</sup>	14.46 $\pm$ 0.26 <sup>a</sup>	1.43 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	100.64 $\pm$ 5.63 <sup>a</sup>

Keterangan : Nilai rerata dengan huruf *superscript* yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ )

Hasil analisis ragam penambahan enzim eksogenous papain pada pakan menunjukkan hasil yang tidak berpengaruh nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap glukosa ikan lele Sangkuriang. Nilai glukosa pada setiap perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda yaitu A sebesar 62.26 mg/dl, perlakuan B sebesar 60.15 mg/dl, perlakuan C sebesar 67.20 mg/dl, perlakuan D sebesar 62.23 mg/dl dan perlakuan E sebesar 61.37 mg/dl. Nilai glukosa tertinggi terdapat pada perlakuan C sebesar 67.20 mg/dl sedangkan nilai terendah

pada perlakuan E sebesar 60.15 mg/dl. Nilai glukosa pada setiap perlakuan pada hasil penelitian ini masih dikatakan normal, hal ini diperkuat oleh Nasichah *et al.*, (2016) yang menyatakan kadar glukosa ikan yang normal mengandung 40-90 mg/dl. Lebih lanjut Hartanti *et al.*, (2013) melaporkan kadar glukosa pada ikan dalam kondisi normal berkisar antara 41-150 mg/dl. Kadar glukosa di atas nilai normal menandakan ikan mengalami stress hal ini diperkuat oleh Nasichah *et al.* (2016) yang menyatakan bahwa pada waktu stres, organ reseptor akan menerima informasi yang akan disampaikan ke otak bagian hipotalamus, kemudian sel kromaffin akan mensekresikan hormon katekolamin. Hormon ini akan menekan sekresi hormon insulin yang berfungsi untuk membantu memasok glukosa ke dalam sel, sehingga menyebabkan kadar glukosa yang masuk ke dalam darah mengalami peningkatan.

Hasil analisis ragam penambahan enzim eksogenous papain pada pakan menunjukkan hasil yang tidak berpengaruh nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap leukosit ikan lele Sangkuriang. Nilai leukosit yang dihasilkan pada setiap perlakuan masih dalam kategori normal, hal ini diperkuat oleh Lagler *et al.* (1977) yang menyatakan bahwa pada ikan teleostei, jumlah normal leukosit adalah  $20 - 150 \times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup>. Moyle dan Cech (2004) menyatakan bahwa faktor-faktor yang mempengaruhi jumlah leukosit adalah kondisi lingkungan dan kesehatan tubuh ikan. Leukosit merupakan sel darah yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh. Kenaikan jumlah leukosit menandakan tingkat stres pada ikan berbeda halnya dengan penurunan jumlah leukosit menandakan rendahnya respon imunitas pada ikan. Hal ini diperkuat oleh Harper dan Wolf (2009), yang menyatakan bahwa jumlah leukosit diduga disebabkan oleh kortisol yang menekan sistem imun, dikarenakan kortisol berhubungan erat dengan system imun.

Hasil analisis ragam penambahan enzim eksogenous papain pada pakan menunjukkan tidak berpengaruh nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap hematokrit dan eritrosit ikan lele Sangkuriang. Nilai hematokrit yang didapat pada setiap perlakuan penelitian ini dalam kisaran normal sesuai pendapat Bond (1979) melaporkan kadar hematokrit normal ikan berkisar antara 20-30%. Nilai eritrosit juga dalam kisaran normal. Hal ini diperkuat oleh Robert (1978) yang menyatakan bahwa pada ikan teleostei, jumlah normal eritrosit adalah  $1,05 - 3,0 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>. Penambahan enzim eksogenous papain pada pakan memberikan pengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap EFU, PER, RGR, namun tidak berpengaruh nyata terhadap SR dan profil darah lele Sangkuriang. Dosis optimal penambahan enzim eksogenous papain pada EFU, PER dan RGR lele Sangkuriang sebesar 1 g/kg pakan.

#### **5.5. Ikan Patin (*Pangasius hypothalamus*)**

Hasil penelitian Rachmawati dan Prihanto (2019), ikan uji yang digunakan dalam penelitian adalah benih patin bobot rata-rata  $2,23 \pm 0,30$  g/ekor. Persiapan ikan pati yang akan digunakan penelitian meliputi penimbangan bobot awal ikan patin untuk menentukan rata-rata ikan uji. Selanjutnya ikan patin diadaptasikan selama satu minggu dengan pemberian pakan buatan, setelah itu dipuasakan selama satu hari agar pakan yang telah diberikan sebelumnya tidak berpengaruh pada perlakuan (Rachmawati *et al.*, 2017). Ikan patin dipelihara selama 42 hari dengan padat penebaran 1 ekor/liter (Dasuki *et al.*, 2013).

Pakan yang diberikan untuk ikan patin selama penelitian adalah pakan buatan bentuk pellet isoprotein dan isoenergi (31% ; 252 kkal/g) dengan penambahan enzim papain sesuai perlakuan, yaitu A (0 g/kg pakan), B ( 2 g/kg pakan), C ( 4 g/kg pakan), D (6 g/kg pakan) dan E ( 8 g/kg pakan). Penentuan dosis perlakuan memodifikasi hasil penelitian Farrag *et al.*

(2013) yang melaporkan bahwa dosis enzim papain 6 g/kg pakan memberikan pertumbuhan terbaik bagi *Oreochromis niloticus*. Bahan baku dalam pembuatan pellet adalah tepung ikan ikan dan tepung kedelai sebagai sumber protein, tepung jagung, dedak dan dekstrin sebagai sumber karbohidrat, minyak ikan sebagai sumber lemak, mineral, vitamin mix, Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sebesar 0.5% sebagai indikator pencernaan (NRC, 1993) dan Enzim papain. Enzim papain berasal dari getah pepaya (*Carica papaya*) diproduksi Balai Pengembangan Budidaya Air Payau (BPBAP) Jepara dengan merk “NEWZIME”. Untuk mengetahui kandungan nutrisi bahan penyusun pakan dan pakan dilakukan analisis proksimat (AOAC, 2016). Komposisi dan hasil analisis proksimat pakan dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Komposisi dan hasil analisis proksimat pakan yang digunakan selama penelitian

Bahan (%)	Perlakuan				
	A	B	C	D	E
Papain	0.00	2.00	4.00	6.00	8.00
Tepung Ikan	34.76	34.55	34.32	34.20	34.08
Tepung Kedelai	34.32	34.22	33.99	33.77	33.55
Tepung Jagung	10.52	9.79	8.71	7.44	6.17
Tepung Dedak	8.03	6.87	6.82	6.78	6.74
Dekstrin	8.37	8.57	8.16	7.81	7.46
Minyak Ikan	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
Minyak Jagung	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Min.Vit	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
CMC	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
<b>TOTAL</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>
Hasil analisis proksimat					
Protein (%)	31.32	31.37	31.37	31.40	31.40
Lemak (%)	7.03	7.04	7.04	7.04	7.04

BETN (%)	32.75	32.85	32.81	32.29	32.29
Energi (kcal/g)	252.06	252.02	252.27	250.04	250.04
Rasio E/P (kcal/g P)	8.02	8.05	8.03	8.02	8.02

Notes:

- The values were calculated based Digestible Energy (Wilson, 1982) for 1 g protein equals 3.5 kcal, 1 g fat equals 8.1 kcal, and 1 g carbohydrate equals 2.5 kcal.
- According De Silva (1987), the optimal E/P ratio for growth ranges from 8 kcal/g to 12 kcal/g.
- \* Animal Nutrient Laboratory, Faculty of Husbandry and Agriculture, Diponegoro University (2017)

Pembuatan pakan dilakukan dengan cara mencampurkan tepung ikan dengan tepung kedelai serta masukkan larutan enzim papain kemudian aduk hingga homogen. Campuran tersebut didiamkan selama satu jam agar terjadi hidrolisis. Kemudian dicampurkan ke dalam semua bahan pakan kering secara merata mulai dari bahan yang persentasinya paling sedikit hingga yang paling besar. Vitamin, mineral, minyak ikan yang telah diencerkan dengan air dicampur sampai merata dan homogen kemudian dicampur dengan campuran tepung hingga merata dan homogen (NRC, 1993). Pakan dicetak dengan mesin ekstruder lalu diangin-anginkan hingga kering, selanjutnya disimpan di lemari es sebelum digunakan percobaan. Data pengukuran pengamatan parameter disajikan pada Tabel 14.

Tabel 14. Nilai pencernaan protein ( $ADC_P$ ), laju pertumbuhan relatif (RGR), kelulushidupan (SR), efisiensi pemanfaatan pakan (EFU), rasio konversi pakan (FCR), dan rasio efisiensi protein (PER) ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) selama penelitian

Experiment Data	Treatments				
	A	B	C	D	E
$ADC_P$	55.67±0.02 <sup>d</sup>	65.70±0.03 <sup>c</sup>	80.83±0.05 <sup>a</sup>	72.58±0.04 <sup>b</sup>	70.25±0.05 <sup>b</sup>
EFU (%)	50.12±0.24 <sup>c</sup>	65.26±0.97 <sup>b</sup>	75.09±0.75 <sup>a</sup>	67.15±0.26 <sup>b</sup>	66.25±0.57 <sup>b</sup>
RGR (%/day)	3.48±0.10 <sup>d</sup>	4.26±0.25 <sup>c</sup>	8.01±0.27 <sup>a</sup>	6.89±0.16 <sup>b</sup>	5.33±0.14 <sup>b</sup>
FCR	2.65±0.15 <sup>c</sup>	2.26±0.14 <sup>b</sup>	1.56±0.03 <sup>a</sup>	2.20±0.22 <sup>b</sup>	2.16±0.21 <sup>b</sup>
PER	1.80±0.05 <sup>c</sup>	2.00±0.26 <sup>b</sup>	3.75±0.06 <sup>a</sup>	2.34±0.27 <sup>b</sup>	2.38±0.13 <sup>b</sup>
SR (%)	92.33±5.77 <sup>a</sup>	92.00±5.10 <sup>a</sup>	92.33±5.77 <sup>a</sup>	93.33±5.77 <sup>a</sup>	93.00±5.78.0 <sup>a</sup>

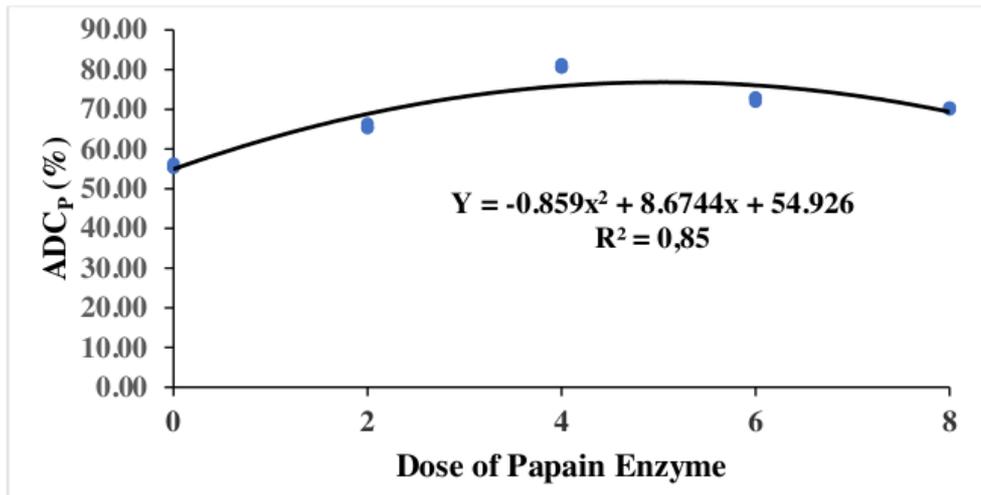
Note: The Values with the same superscripts in the column show that there was no difference

Nilai apparent digestibility of protein ( $ADC_P$ ) meningkat dengan dosis enzim papain dalam pakan buatan (2 – 8 g/kg pakan) dibandingkan tanpa penambahan enzim papain (0 g/kg pakan). Hal ini mungkin disebabkan adanya enzim papain yang berfungsi menghidrolisis protein dalam pakan sehingga meningkatkan pencernaan protein. Spinelli *et al.* (1983) dan Dabrowski dan Glogowski (1977) menyatakan bahwa penambahan enzim papain dalam pakan dapat meningkatkan pencernaan protein. Lebih lanjut Lanari *et al.* (1998) melaporkan bahwa peningkatan pencernaan protein pakan oleh penambahan enzim papain dapat dikaitkan dengan aktivitas enzim papain untuk mendosfosforilasi asam fitat dan fosfor untuk meningkatkan ketersediaan fosfor.

Nilai  $ADC_P$  tertinggi diperoleh ikan patin yang diberi pakan perlakuan C (2 g/kg pakan) sebesar 80.83%, diikuti perlakuan D (72.58%), E (70.25%), B (65.70%) dan A (55.67%). Tingginya nilai perlakuan C (2 g/kg pakan) diduga dosis enzim papain tersebut sesuai untuk menghidrolisis protein menjadi asam amino secara optimal, dan pada kondisi tersebut mengindikasikan bahwa sebagian besar protein dapat dicerna oleh ikan patin. Menurut Steffens (1989), semakin tinggi nilai pencernaan protein berarti semakin banyak protein yang dimanfaatkan oleh ikan.

Semakin tinggi nilai pencernaan protein pakan akan diikuti dengan semakin tinggi pula nilai efisiensi pemanfaatan pakan dan semakin rendah nilai rasio konversi pakannya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ikan patin yang diberi pakan dengan penambahan enzim papain 4 g/kg pakan selain mempunyai nilai  $ADC_P$  (80.83%), juga nilai EFU tertinggi (75,09%) dan nilai FCR terendah (1,75). Hasil penelitian serupa dilaporkan oleh Singh *et al.*, (2011), Muchlisin *et al.* (2016) dan Mo *et al.* (2016). Hubungan antara enzim papain dalam pakan dengan  $ADC_P$  (Gambar 14.) memiliki pola kuadratik dengan persamaan  $Y = - 0.859x^2 + 8.6744x + 54.926$ ,  $R^2 = 0.85$ .

Dari persamaan tersebut diperoleh dosis optimum enzim papain dalam pakan pada ADC<sub>P</sub> sebesar 4.05 g/kg pakan menghasilkan ADC<sub>P</sub> maksimum sebesar 86.82 %.



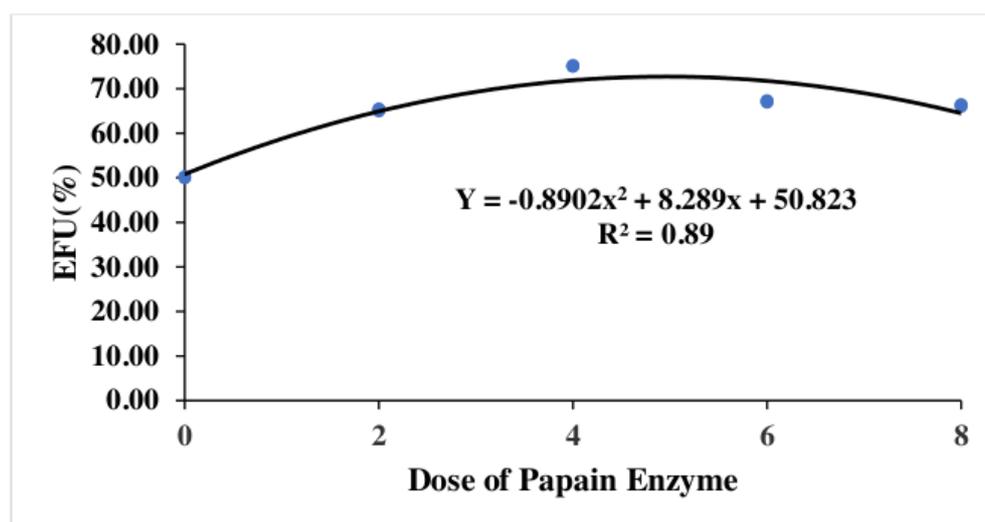
Gambar 14. Hubungan antara penambahan enzim dalam pakan dengan ADC<sub>P</sub> ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*)

Tacon (1995) mengemukakan bahwa efisiensi pemanfaatan pakan merupakan rasio antara pertumbuhan bobot ikan dengan pakan yang dimakan selama pemeliharaan. Efisiensi pemanfaatan pakan merupakan indikator pemanfaatan pakan oleh ikan dengan rasio konversi pakan rendah yang menunjukkan bahwa nutrisi telah dicerna dan diserap secara optimal oleh ikan (Steffens, 1989). Nilai efisiensi pemanfaatan pakan tinggi menunjukkan bahwa pakan yang diberikan memiliki kualitas tinggi sehingga dapat dimanfaatkan secara efisien (Huet, 1970).

Tabel 2 menunjukkan bahwa perlakuan C (4 g/kg pakan) memiliki EFU tertinggi sebesar 75.09 % dan terendah adalah perlakuan A (0 g/kg pakan) sebesar 50.12%. Tingginya nilai EFU pada perlakuan C (4 g/kg pakan) diduga bahwa dosis tersebut sesuai untuk mengefisiensikan

pemanfaatan pakan sehingga sedikit protein yang digunakan untuk aktivitas metabolisme dan sebagian besar energi digunakan untuk mendukung pertumbuhan ikan patin. Disamping itu, tingginya nilai efisiensi pakan menunjukkan bahwa penambahan enzim papain berhasil meningkatkan efisiensi pemanfaatan pakan ikan patin. Hasil penelitian Muchlisin *et al.* (2016) melaporkan bahwa *Keureling Fish (Tor tambra)* yang diberi pakan dengan penambahan enzim papain memiliki efisiensi pemanfaatan pakan lebih tinggi dari pada yang tidak ditambahkan enzim papain. Penambahan enzim papain 27.5 mg/kg pakan merupakan dosis terbaik bagi *Keureling Fish (Tor tambra)* sehingga menghasilkan SGR (2.19 %/hari), EFU (53,44%), FCR (1.87), dan ADC<sub>P</sub> (53.44 %) tertinggi.

Hubungan antara enzim papain dalam pakan dengan EFU (Gambar 15.) memiliki pola kuadratik dengan persamaan  $Y = -0.8902x^2 + 8.289x + 50.823$ ,  $R^2 = 0.89$ . Dari persamaan tersebut diperoleh dosis optimum enzim papain dalam pakan pada EFU sebesar 4.0 g/kg pakan menghasilkan EFU maksimum sebesar 75.09 %.

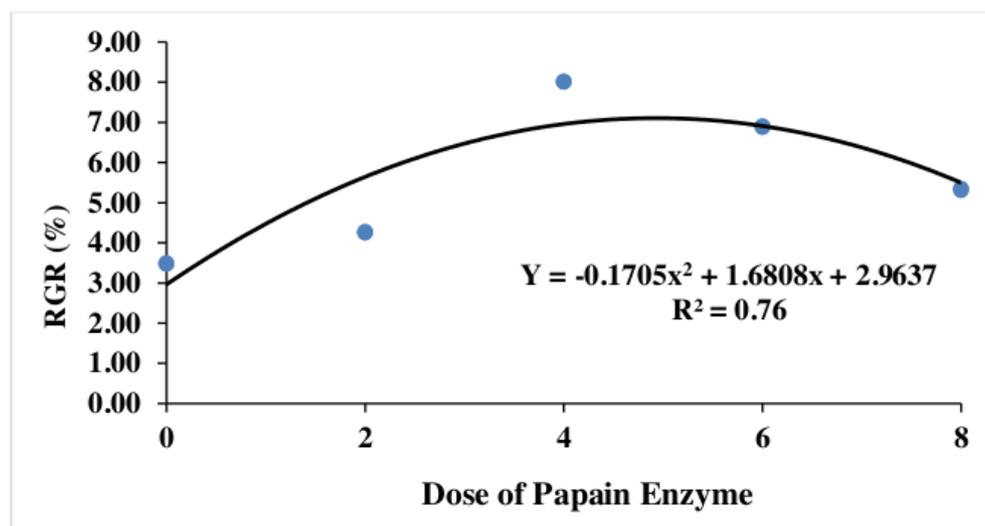


Gambar 15. Hubungan antara penambahan enzim papain dalam pakan dengan EFU ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*)

Ikan patin yang diberi pakan dengan penambahan enzim papain mempunyai RGR lebih tinggi jika dibandingkan dengan tanpa penambahan enzim papain. Nilai RGR tertinggi pada ikan patin yang diberi pakan perlakuan C (4 g/kg pakan sebesar 8.10 %/hari dan terendah pada perlakuan A (0 g/kg pakan) sebesar 3.48%/hari. Tingginya nilai RGR pada perlakuan C (4 g/kg pakan) diduga bahwa penambahan enzim papain 4 g pada setiap pakan kg adalah dosis yang sesuai dari enzim papain untuk menghidrolisis protein rantai peptide panjang dalam pakan menjadi protein rantai peptide pendek sehingga dapat meningkatkan pencernaan protein, efisiensi pemanfaatan pakan dan pertumbuhan ikan patin. Rendahnya nilai RGR pada perlakuan A (0 g/kg pakan) diduga bahwa tidak ada enzim papain yang menghidrolisis protein ikatan peptida rantai panjang menjadi peptide rantai pendek. Dengan kondisi tersebut tidak akan terjadi peningkatan pencernaan protein dan efisiensi pemanfaatan pakan sehingga ikan patin memiliki pertumbuhan yang rendah. Hal ini sesuai dengan pendapat oleh Wong *et al* (1996) yang melaporkan bahwa enzim papain adalah enzim protease yang dapat menghidrolisis protein dalam pakan dari polipeptida menjadi peptida rantai pendek. Dimana hidrolisis protein polipeptida menjadi peptida pendek merupakan faktor utama dalam meningkatkan pencernaan protein, penyerapan nutrisi dan pertumbuhan. Lebih lanjut Miyamoto *et al.* (2004) juga melaporkan bahwa selain protein, enzim papain juga dapat menghidrolisis lipid dan karbohidrat dalam pakan. Penambahan enzim papain dalam pakan dapat meningkatkan pertumbuhan beberapa spesies, antara lain *Chanos channos* (Singh *et al.*, 2011), *M. rosenbergii* (Patil dan Singh, 2014), *Oreochromis niloticus* (Manguti *et al.*, 2014), *Labeo rohita* (Khati *et al.*, 2015), Goldlined seabream (*Rhabdosargus sarba*), brown spotted grouper (*Epinephelus bleekeri*) and pompano (*Trachinotus blochii*) (Mo *et al.*, 2016) dan keureling fish (*Tor tambra*) (Muchlisin *et al.*, 2016). Peningkatan RGR

ikan setelah penambahan enzim papain dalam pakan sama dengan penelitian lain dimana ikan diberi pakan dengan penambahan jenis enzim eksogenus berupa enzim phytase pada beberapa spesies Korean *Sebastes schlegeli* (Yoo *et al.*, 2005), *Labeo rohita* (Baruah *et al.*, 2007), *Oreochromis niloticus* (Olusola and Nwanna, 2014), *Cirrhinus mrigala* (Hussain *et al.*, 2014), *Marsupenaeus japonicus* (Bulbul *et al.* 2015), *Psetta maxima* (Danwitz *et al.*, 2016). *Penaeus monodon* (Rachmawati dan Samidjan, 2016) and *Channos channos* (Rachmawati *et al.*, 2017).

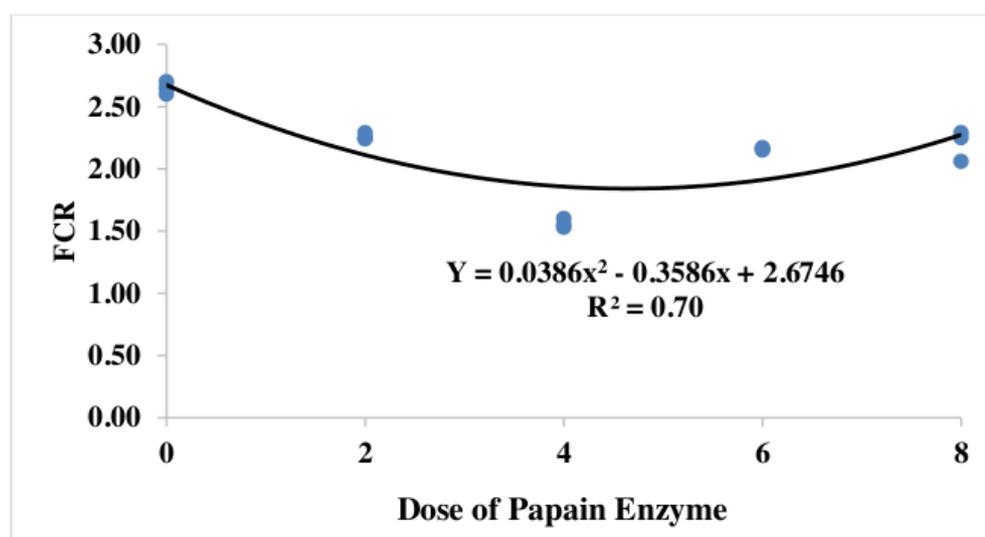
Hubungan enzim papain dalam pakan dengan RGR (Gambar 16) memiliki pola kuadratik dengan persamaan  $Y = -0.1705x^2 + 1.6808x + 2.9637$ ,  $R^2 = 0.76$ . Dari persamaan tersebut diperoleh dosis optimum enzim papain dalam pakan pada RGR sebesar 3.93 g/kg pakan menghasilkan RGR maksimum sebesar 7.11 %/hari.



Gambar 16. Hubungan antara penambahan enzim papain dalam pakan dengan RGR ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*)

Ikan patin yang diberi pakan dengan penambahan enzim papain (2 – 8 g/kg pakan) terjadi penurunan FCR bila dibandingkan dengan tanpa penambahan enzim papain (0 g/kg pakan). Hal ini diduga karena adanya peningkatan metabolisme pada ikan patin yang diberi pakan dengan penambahan enzim papain sehingga menghasilkan FCR lebih baik. Nilai FCR terendah pada perlakuan C dimana enzim papain ditambahkan dalam pakan 4 g/kg (1.56). Dosis tersebut diduga merupakan dosis yang sesuai untuk meningkatkan metabolisme pada ikan patin secara maksimal sehingga menghasilkan FCR rendah. Penelitian serupa dilaporkan oleh Singh *et al.* (2011) bahwa *Chanos channos* yang diberi pakan dengan penambahan enzim papain 2% menghasilkan rasio konversi pakan (FCR) terendah, pertumbuhan tinggi, pencernaan protein tinggi, dan rasio efisiensi protein tinggi. Patil and Singh, (2014), melaporkan bahwa penambahan enzim papain 0.1%/kg pakan dapat meningkatkan pertumbuhan dan efisiensi pemanfaatan pakan of post-larvae of *M. rosenbergii*. Khatri *et al.* (2015) menyatakan bahwa penambahan enzim papain 10 g/kg pakan dalam pakan dapat meningkatkan pencernaan pakan dan menghasilkan FCR yang rendah of *Labeo rohita*. Muchlisin *et al.* (2016) melaporkan bahwa dosis terbaik penambahan enzim papain sebesar 27.5 mg/kg pakan menghasilkan FCR yang *keureling fish (Tor tambra)*.

Hubungan enzim papain dalam pakan dengan FCR (Gambar 17) memiliki pola kuadratik dengan persamaan  $Y = - 0.0386x^2 - 0.3586x + 2.6746$ ,  $R^2 = 0.70$ . Dari persamaan tersebut diperoleh dosis optimum enzim papain dalam pakan pada FCR sebesar 4.0 g/kg pakan menghasilkan FCR minimum sebesar 1.56.

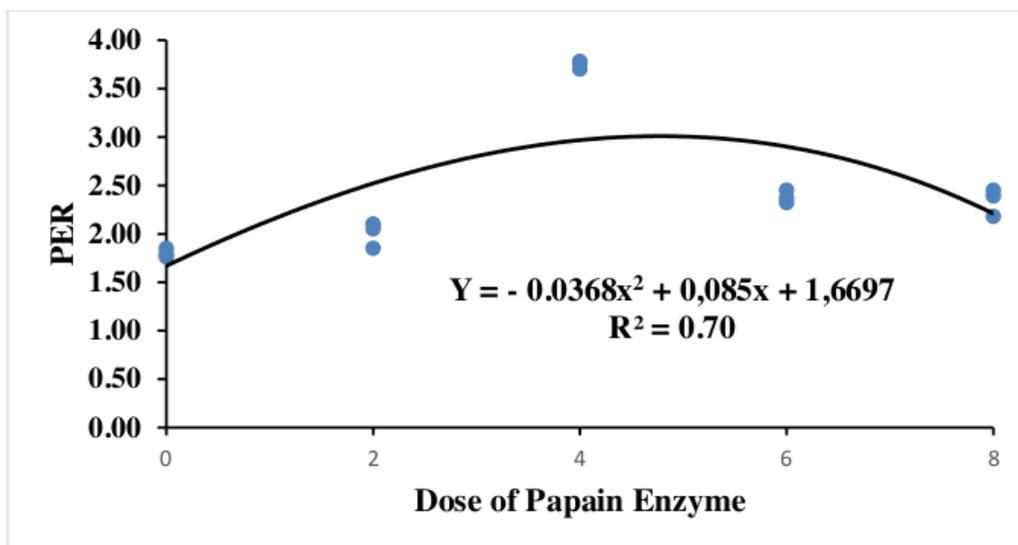


Gambar 17. Hubungan antara penambahan enzim papain dalam pakan dengan FCR ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*)

Rasio efisiensi protein (PER) merupakan suatu ukuran untuk menunjukkan seberapa baik protein yang terkandung dalam pakan yang dapat menyediakan asam amino esensial untuk pertumbuhan ikan (Manush *et al.*, 2013). Tabel 2 menunjukkan bahwa selama penelitian ikan patin yang diberi pakan dengan penambahan enzim papain mengalami peningkatan PER pada semua perlakuan (2 – 8 g/kg pakan) sebesar 2.00 – 3.75 dan selalu lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa penambahan enzim papain (0 g/kg pakan) sebesar 1.80. Nilai PER tertinggi pada ikan patin yang diberi pakan perlakuan C (4 g/kg pakan) sebesar 3.75 dan terendah perlakuan A (1.80). Tingginya nilai PER pada perlakuan C (4 g/kg pakan) mungkin disebabkan pada dosis tersebut protein dalam pakan dapat menyediakan asam amino untuk pertumbuhan ikan patin. Hasil penelitian serupa dilaporkan Singh *et al.* (2011) melaporkan bahwa penambahan enzim papain 2 %/kg pakan meningkatkan rasio efisiensi protein sebesar 2.24 untuk *Channos channos*. Khati *et al.* (2015) menyatakan bahwa *Labeo rohita* yang diberi pakan

dengan enzim papain 10 g/kg pakan dapat meningkatkan rasio efisiensi protei sebesar 2.30.

Hubungan enzim papain dalam pakan dengan PER (Gambar 18) memiliki pola kuadratik dengan persamaan  $Y = - 0.0386x^2 - 0.3586x + 2.6746$ ,  $R^2 = 0.70$ . Dari persamaan tersebut diperoleh dosis optimum enzim papain dalam pakan pada PER sebesar 3.77 g/kg pakan menghasilkan PER minimum sebesar 3.



Gambar 18. Hubungan antara penambahan enzim papain dalam pakan dengan PER ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*)

Dalam penelitian ini penambahan enzim papain dalam pakan tidak berpengaruh nyata ( $P > 0.05$ ) terhadap SR ikan patin. Dabrowski dan Glogowski (1977) melaporkan bahwa enzim proteolitik yang ditambahkan dalam pakan ikan tidak menunjukkan pengaruh kelulushidupan ikan. Lebih lanjut Yakuputiyase (2013), menyatakan bahwa pakan bukan merupakan faktor yang berpengaruh terhadap kelulushidupan dan perlakuan awal ikan serta kualitas media budidaya merupakan faktor yang berpengaruh terhadap kelulushidupan. Hasil penelitian yang sama pada spesies *Channos channos*

(Singh *et al.*, 2011), *Macrobrachium rosenbergii* (Patil and Singh, 2014), and *Labeo rohita* (Khatai *et al.*, 2015). Kualitas air selama penelitian masih dalam kisaran yang layak untuk budidaya ikan patin. Hasil pengamatan parameter kualitas air selama penelitian ikan patin disajikan pada Tabel 15.

Tabel 15. Parameter kualitas air selama penelitian

No.	Variables	Values				Feasibility
		A	B	C	D	
1.	Suhu (°C)	26.15-28.55	26.23-28.25	26.20-28.19	26.19-28.30	25 - 32 *
2.	pH	7.45-8.25	7.64-8.63	7.70-8.49	8.66-8.62	7-9*
3.	DO (mg/L)	3.35-4.67	3.25-4.63	3.72-4.82	3.40-4.5	3-6*
4.	Amonia (mg/L)	0.24-0.5	0.24-0.5	0.24-0.5	0.25-0.5	<1 *

Note: \* Boyd, (1992)

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penambahan enzim papain dalam pakan meningkatkan pencernaan, efisiensi pemanfaatan pakan dan pertumbuhan ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*). Dosis optimum enzim papain pada ADC<sub>P</sub>, RGR, EFU, FCR dan PER ikan patin sebesar 4.05, 4.0, 3.93, 4.0, 3.77 g/kg pakan respectively.

### 5.6. Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

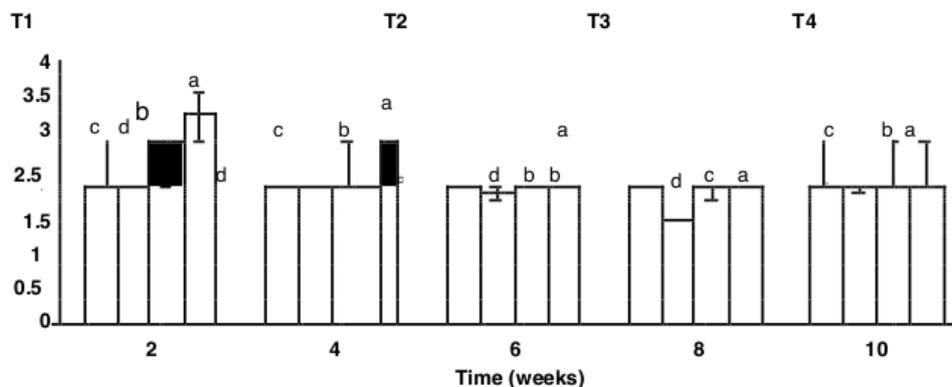
Hasil Penelitian Singh *et al.* (2011), menggunakan benih ikan mas yang memiliki bobot rata-rata  $10 \pm 0,21$  g/ekor Benih yang dikumpulkan diaklimatisasi dalam wadah pemeliharaan FRP (Fiber Reinforced Plastic) (1,8 × 1,8 × 0,5 m) di kompleks tempat penetasan fakultas untuk jangka waktu dua minggu. Aliran air yang kontinu dipertahankan selama periode eksperimen. Tiga tingkat papain (1, 2 dan 4%, T1 = 1% Papain, T2 = 2% Papain, T3 = 4% Papain) digunakan selama penelitian berdasarkan berat pakan dan diberikan ke tiga kelompok perlakuan setelah pencampuran dengan diet pelet. Satu kelompok kontrol dipertahankan pada pakan pelet tanpa penambahan papain. Pemberian makan sebesar 3%/bobot biomass/hari setiap hari setelah memastikan bobot biomass ikan tiap kelompok setiap

minggu. Percobaan dilakukan selama 70 hari. Pakan dicampur dengan krom oksida (1%) sebagai indikator untuk menentukan kecernaan nutrisi dan papain pada dosis sesuai perlakuan. Satu pakan kontrol diformulasikan tanpa suplementasi papain. Pakn uji kering dikemas dalam kantong plastik kedap udara dan disimpan pada suhu -20 ° C. Pakan diberikan dua kali sehari selama 70 hari. Enzim papain (EC 3.4.22.2) diperoleh dari Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA).Formulasi pakan dapat dilihat pada Tabel 16.

Tabel 16. Komposisi pakan uji tanpa penambahan papain

Ingredients	Inclusion rate
Ground nut oil cake	31%
Rice bran	26.23%
Soybean meal	15.9%
Fish meal	4.95%
Wheat flour	19.92%
Vitamin & Mineral mixture	2%

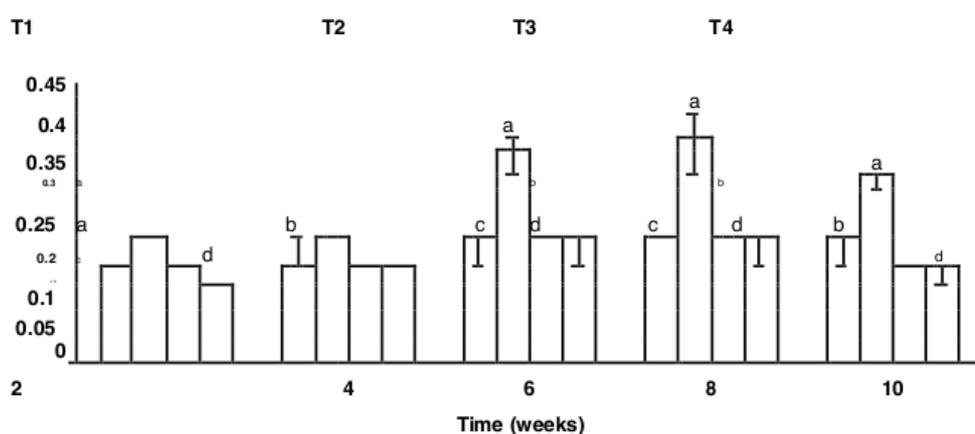
Parameter pertumbuhan ikan mas yang diberi pakan pada berbagai tingkat penambahan papain disajikan pada Tabel 2. Nilai FCR terendah 2,07 (P <0,05) diperoleh pada kelompok perlakuan T2 di mana papain ditambahkan pada tingkat 2%. Aplikasi enzim eksogen menghasilkan peningkatan FCR bila dibandingkan dengan kontrol (Gambar 19). Alasannya dapat dikaitkan dengan metabolisme cepat pada ikan yang diberi pakan dengan penambahan papain yang pada gilirannya menghasilkan FCR yang lebih baik. Papain adalah enzim protease yang menghidrolisis protein menjadi peptida pendek dalam makanan, yang merupakan faktor kunci untuk meningkatkan pencernaan.



Gambar 19. Variasi mingguan dalam rasio konversi pakan (FCR) dari ikan mas yang diberi pakan yang mengandung berbagai dosis papain selama percobaan selama 70 hari. Data mewakili rata-rata  $\pm$  SEM. Histogram yang memiliki huruf yang sama pada waktu sampling yang diberikan berbeda secara signifikan ( $P < 0,05$ ).

Tingkat pertumbuhan tertinggi juga ditemukan pada pakan ikan mas yang diberi pakan ditambah dengan 2% papain (Gambar 20.). Di antara seluruh kelompok perlakuan, tingkat pertumbuhan yang lebih baik ditemukan pada perlakuan yang menerima papain dibandingkan dengan perlakuan kontrol ( $P < 0,05$ ) di mana pakan diberikan tanpa suplementasi enzim. Tingkat pertumbuhan yang berkurang pada ikan mas yang diberi pakan kontrol dapat disebabkan oleh adanya faktor anti-gizi dalam pakan (Kakade *et al.*, 1973) yang pada gilirannya memiliki dampak buruk pada kinerja pertumbuhan dan ketersediaan berbagai nutrisi makanan (Spinelli *et al.* 1983, Richardson *et al.* 1985). Kinerja pertumbuhan yang rendah pada ikan yang diberi pakan kontrol dapat dikaitkan dengan adanya faktor anti-gizi dalam bungkil kedelai (Kakade *et al.* 1973). Hal ini menunjukkan bahwa suplementasi papain dalam pakan mungkin efektif dalam mengurangi faktor anti-gizi atau konsekuensi merugikan dari fitat dari bahan baku nabati tanaman, yang didukung oleh temuan Liu (1997). Pengurangan kompleks

protein-phytate dalam usus meningkatkan ketersediaan nutrisi (Liebert dan Portz, 2005). Peningkatan dalam tingkat pertumbuhan ikan setelah suplementasi papain konsisten dengan penelitian lain di mana ikan diberi pakan ditambah suplemen phytase (Vielma *et al.* 2002). Dengan demikian jelas dari penelitian ini bahwa papain meningkatkan ketersediaan protein oleh aktivitas proteolitiknya dan dengan demikian berkontribusi pada kinerja pertumbuhan ikan mas (*Cyprinus carpio*).



Gambar 20. Variasi mingguan dalam tingkat pertumbuhan (g/hari) ikan mas yang diberi pakan mengandung berbagai dosis papain selama percobaan selama 70 hari. Data mewakili rata-rata  $\pm$  SEM. Histogram yang memiliki huruf yang sama pada waktu sampling yang diberikan berbeda secara signifikan ( $P < 0,05$ ).

Kecernaan protein tertinggi ditemukan pada kelompok T2 dan yang terendah ditemukan pada kelompok kontrol ( $P < 0,05$ ). Pakan yang dilengkapi dengan papain menunjukkan nilai kecernaan protein yang lebih tinggi ketika dicampur dengan papain menunjukkan nilai kecernaan yang tinggi dibandingkan dengan pakan kontrol di mana tidak ada penambahan enzim yang dilakukan ( $P < 0,05$ ). Ini mungkin disebabkan oleh hidrolisis protein yang lebih luas yang disebabkan oleh papain dengan hasil yang ditunjukkan oleh Kimmel dan Smith (1957). Dabrowski dan Glogowski

(1977) melaporkan bahwa penambahan enzim proteolitik secara eksogen pada ikan menunjukkan peningkatan kandungan protein.

Enzim proteolitik eksogen, yang berasal dari organisme makanan invertebrata, berperan dalam pencernaan ikan di samping aktivasi enzim ikan sendiri (Janearik 1964, dikutip dalam Dabrowski dan Glogowski 1977). Jadi jelas dari nilai-nilai cerna yang dicatat dalam ikan mas yang diberi makan dengan makanan tambahan papain (2%) bahwa enzim eksogen memainkan peran yang cukup besar dalam proses pencernaan ikan dan menambahkan enzim menguntungkan mempengaruhi pertumbuhan ikan dan pemanfaatan makanan. Peningkatan pencernaan protein pakan dengan suplementasi papain telah dilaporkan dalam penelitian lain (Spinelli et al. 1983). Ini juga dapat dikaitkan dengan aktivitas papain untuk mendisosforilasi asam fitat dan fosfat fitat untuk meningkatkan ketersediaan fosfor (Lanari *et al.* 1998).

Tabel 17. Variasi mingguan parameter pertumbuhan ikan mas yang diberi pakan mengandung berbagai dosis Papain selama 70 hari.

Parameters	T1	T2	T3	T4
FCR	2.43 ± 0.1 <sup>a</sup>	2.07 ± 0.2 <sup>b</sup>	2.48 ± 0.21 <sup>c</sup>	2.75 ± 0.1 <sup>d</sup>
Growth rate (g/day)	0.20 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.29 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.20 ± 0.03 <sup>c</sup>	0.18 ± 0.01 <sup>d</sup>
APD%	63.06 ± 1 <sup>a</sup>	67.80 ± 1.5 <sup>b</sup>	62.18 ± 1.3 <sup>c</sup>	57.34 ± 1.2 <sup>d</sup>
PER	1.11 ± 0.01 <sup>a</sup>	2.24 ± 0.02 <sup>b</sup>	1.46 ± 0.03 <sup>c</sup>	0.12 ± 0.01 <sup>d</sup>
GPR%	24.96 ± 1.2 <sup>a</sup>	27.45 ± 1.2 <sup>b</sup>	24.93 ± 1.3 <sup>c</sup>	24.18 ± 1.2 <sup>d</sup>
ANPU%	32.64 ± 2.1 <sup>a</sup>	39.67 ± 2.1 <sup>b</sup>	29.30 ± 1.8 <sup>c</sup>	26.29 ± 1.7 <sup>d</sup>
ECE%	34 ± 1.5 <sup>a</sup>	36.8 ± 1.66 <sup>b</sup>	35 ± 1.8 <sup>c</sup>	32 ± 1.7 <sup>d</sup>
NRE%	0.28 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.32 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.26 ± 0.02 <sup>c</sup>	0.20 ± 0.01 <sup>d</sup>
SR%	99 ± 1 <sup>a</sup>	99 ± 1 <sup>b</sup>	98 ± 1 <sup>c</sup>	97 ± 1 <sup>d</sup>

Keterangan : Nilai dalam baris yang sama memiliki superscript yang sama tidak berbeda secara signifikan ( $P > 0,05$ ).

Rasio efisiensi protein adalah ukuran untuk menunjukkan seberapa baik sumber protein dalam makanan dapat menyediakan kebutuhan asam amino esensial ikan. Oleh karena itu, PER dalam kisaran 1,03-2,3 (g / g) dapat mendukung pengendapan lemak pada ikan mas biasa dan temuan ini sesuai dengan pekerjaan yang dilakukan oleh Desilva dan Anderson (1995). PER berkisar antara 0,12-2,24 yang sesuai dengan pekerjaan yang dilakukan

oleh Siddiqui et al. (1988) (Tabel 2). Selama seluruh percobaan ada peningkatan rasio efisiensi protein di semua perlakuan (Gambar 4) dan itu selalu lebih tinggi dari perlakuan kontrol yang bisa disebabkan oleh aplikasi pepsin sayuran eksogen. Retensi protein kotor ditemukan pada kisaran 24,18-27,45% (Tabel 2). Namun, GPR tertinggi yang diberikan pada kelompok pemberian pakan T2 ( $P < 0,05$ ). Aplikasi enzim eksogen dalam pakan ikan faktor anti-nutrisi yang ada dalam bahan makanan nabati, sehingga membuat lebih banyak protein tersedia untuk ikan yang pada saat menghasilkan menghasilkan retensi protein yang lebih baik oleh ikan. Nilai Retensi Protein Kotor (GPR) yang dinilai dalam penelitian ini sesuai dengan nilai Jana *et al.* (2006) yang mencatat nilai GPR di kisaran 28-31,05% pada ikan susu *Chanos chanos*. Data protein nampak jelas (%) mengungkapkan bahwa nilai ANPU tertinggi dan terendah ditunjukkan oleh T2 dan perlakuan kontrol, masing-masing ( $P < 0,05$ ) (Tabel 2). Hasil serupa ditemukan oleh Siddhuraju dan Becker (2000). Alasan untuk ANPU lebih tinggi dalam hal pakan tambahan papain bila dibandingkan dengan pengobatan kontrol dapat dianggap berasal dari aksi papain terhadap senyawa anti-gizi dalam pakan dan oleh karena itu, ketersediaan asam amino lebih banyak untuk ikan percobaan. Papain dapat menyebabkan hidrolisis luas protein sehingga membuat lebih banyak ketersediaan asam amino. Nilai efisiensi retensi energi yang diperoleh dalam penelitian ini juga sangat sesuai dengan hasil yang ditemukan oleh Kim et al. (2004). Ada perbedaan kecil dalam efisiensi retensi nitrogen pada kelompok makan yang berbeda, meskipun nilai retensi tertinggi ditunjukkan oleh kelompok pemberian T2 ( $P < 0,05$ ).

Dalam penelitian ini kandungan oksigen terlarut berkisar antara 7,15-10,26 ppm (Tabel 3) dan dengan demikian menguntungkan untuk pertumbuhan ikan yang cepat dan sesuai dengan tingkat oksigen terlarut optimal 5-7 ppm sebagaimana dibuktikan oleh (Jhingran 1982). Suhu yang

tercatat dalam semua perawatan berada dalam kisaran 14-22 °C dan cocok untuk bertahan hidup ikan mas biasa karena merupakan spesies yang keras dan dapat hidup dalam kondisi budaya serbaguna (Stickney 1979). Konsentrasi optimal CO<sub>2</sub> gratis 0,93-1,71 tercatat di semua kelompok makan (Boyd 1979). Dalam T1, T2 dan T3 (0.93-1.71), nilai-nilai Co<sub>2</sub> bebas yang lebih rendah dicatat dibandingkan dengan T4 (2.3).

Dari hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa menambahkan papain ke dalam pakan akan menghasilkan metabolisme protein yang efisien dengan menghidrolisis protein dan membentuk peptida pendek dalam makanan, yang mengarah pada peningkatan pencernaan dan penyerapan protein yang cepat, yang pada tiga barang membantu meningkatkan faktor pertumbuhan. Oleh karena itu, papain dapat ditambahkan pada level 2% pada pakan untuk meningkatkan pertumbuhan dan produksi ikan mas secara keseluruhan. Papain adalah agen pemacu pertumbuhan yang ramah lingkungan dan tidak memiliki efek buruk pada lingkungan perairan. Direkomendasikan bahwa kemanjuran papain harus dieksplorasi untuk spesies lain, dan daun pepaya atau ekstrak alami dapat digunakan sebagai pengganti papain komersial untuk membangun aplikasi yang hemat biaya.

## **5.7. Penutup**

### **5.7.1 Tes Formatif**

5. Jelaskan fungsi papain dalam pakan ikan !
6. Mengapa dosis papain 27,5 mg/kg pakan merupakan dosis terbaik baik ikan Keureling (*Tor tambra*) menurut hasil penelitian Muchlisin *et al.*, (2015) ?
7. Mengapa pada hasil penelitian Smith *et al*, (2011) pakan yang dilengkapi dengan papain menunjukkan nilai pencernaan protein yang

lebih tinggi dibandingkan dengan pakan kontrol di mana tidak ada penambahan enzim dalam pakan ?

8. Hasil penelitian Rachmawati dan Prihanto (2019) menunjukkan bahwa laju pertumbuhan tertinggi diperoleh ikan patin yang diberi pakan dengan penambahan enzim papain sebesar 4g/kg pakan sedangkan laju pertumbuhan terendah pada ikan patin yang diberi pakan tanpa penambahan enzim papain (0g/kg pakan), mengapa demikian ?

Total nilai = 100

### 5.7.2 Umpan Balik

Evaluasi penilaian terhadap tes formatif

Mahasiswa dapat mengukur kemampuan dirinya dengan cara mencocokkan jawabannya dengan kunci jawaban tes yang terdapat pada point 5.7.6.

### 5.7.3 Rubrik Nilai (Parameter pemberian Nilai)

Penilaian tes formatif berdasarkan rubric di bawah ini :

Aspek	Skor	Keterangan
	A = 4 = 100	Sangat jelas, sangat efektif
	B = 3 = 80	Cukup jelas
Isi/Konsep Materi/Kejelasan Makna	C = 2 = 60	Jelas tapi efektif
	D = 1 = 50	Kurang jelas
	E = 0 =<50	Tidak jelas
	A = 4 = 100	Sangat jelas, sangat efektif
	B = 3 = 80	Cukup jelas
Hubungan gagasan antar paragraph	C = 2 = 60	Jelas tapi efektif
	D = 1 = 50	Kurang jelas
	E = 0 =<50	Tidak jelas

#### **5.7.4 Tindak Lanjut**

Bila anda dapat menjawab semua soal tes formatif di atas dengan benar (lihat kunci jawaban tes formatif pada point **5.7.6**) maka anda akan mendapat nilai 100 atau A (lihat rubrik **5.7.3**) Apabila nilai yang anda peroleh lebih dari 80, maka anda diperbolehkan melanjutkan materi Pokok Bahasan berikutnya. Bilamana nilai yang anda peroleh masih dibawah 80, pelajari lagi materi bahan ajar, terutama mengenai bagian soal yang tidak dapat anda jawab dengan baik dan benar. Setelah itu ulangi kembalimenjawab soal hingga anda dapat menjawab soal hingga anda memperoleh nilai 80 atau B. Apabila nilai yang anda peroleh hanya 50 atau D, maka anda tidak diperbolehkan melanjutkan materi pada Pokok Bahasan berikutnya.

#### **5.7.5 Rangkuman**

Enzim protease merupakan enzim yang menghidrolisis ikatan peptida pada protein atau polipeptida menjadi molekul yang lebih kecil yaitu asam amino. Penambahan enzim papain dalam pakan terbukti dapat meningkatkan efisiensi pemanfaatan pakan, pencernaan nutrisi, pertumbuhan ikan, protein efisiensi ratio, dan pencernaan nutrisi. Penambahan enzim papain dalam pakan terbukti dapat meningkatkan efisiensi pemanfaatan pakan, pencernaan nutrisi dan pertumbuhan ikan seperti yang dilaporkan oleh Patil dan Singh (2014) menyatakan penambahan enzim papain 0,1% dalam pakan buatan memberikan efisiensi pakan dan pertumbuhan terbaik pada udang galah (*Macrobrachium rosenbergii*), Muchlisin *et al.* (2016) mengemukakan penambahan papain 27,5 mg/kg pakan merupakan dosis terbaik bagi pertumbuhan ikan keureling (*Tor tambra*) dengan ukuran 0,30 g dan 3,5 cm, Khati *et al.* (2015) menjelaskan bahwa penambahan sebesar 10 g/kg pakan papain memberikan pertumbuhan dan protein efisiensi ratio

terbaik pada ikan fingerling *Labeo rohita*, Rachmawati *et al.* (2018) menyebutkan bahwa penambahan enzim papain sebesar 0,24-0,31 % merupakan kisaran dosis optimum untuk efisiensi pemanfaatan pakan dan pertumbuhan lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*), Rachmawati *et al.* (2019) menyatakan bahwa dosis enzim papain sebesar 1.67 to 1.89%/kg pakan merupakan kisaran dosis optimal untuk efisiensi pemanfaatan pakan, rasio protein efisiensi dan pertumbuhan benih lele Sangkuriang (*Clarias gariepinus*), Rachmawati dan Prihanto, (2019) mengemukakan enzim papain dosis 4 g/kg pakan merupakan dosis terbaik pencernaan nutrisi, efisiensi pemanfaatan pakan dan pertumbuhan ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*).

#### **5.7.6 Kunci Jawaban Tes Formatif**

Soal nomor 1.

Fungsi papai dalam pakan ikan adalah meningkatkan efisiensi pemanfaatan pakan, pencernaan nutrisi, pertumbuhan ikan, protein efisiensi ratio, dan pencernaan nutrisi.

Soal nomor 2.

Dosis papai 27,5 mg/kg pakan merupakan dosis terbaik bagi ikan Kreuling dikarenakan pada dosis terbut parameter yang diamati yang meliputi laju pertumbuhan spesifik, protein efisiensi rasio, efisiensi pemanfaatan pakan dan kelulushidupan memiliki nilai tertinggi dibandingkan dosis yang lain.

Soal nomor 3.

Hal Ini disebabkan pada pakan dengan penambahan enzim papain proses hidrolisis protein lebih luas dibandingkan tanpa penambahan papain, disamping itu penambahan enzim papain yang merupakan enzim proteolitik menunjukkan peningkatan kandungan protein.

Soal nomor 4.

Tingginya nilai RGR pada penambahan enzim papain 4 g pada setiap pakan kg adalah dosis yang sesuai dari enzim papain untuk menghidrolisis protein rantai peptide panjang dalam pakan menjadi protein rantai peptide pendek sehingga dapat meningkatkan pencernaan protein, efisiensi pemanfaatan pakan dan pertumbuhan ikan patin. Rendahnya nilai RGR pada perlakuan A (0 g/kg pakan) diduga bahwa tidak ada enzim papain yang menghidrolisis protein ikatan peptida rantai panjang menjadi peptide rantai pendek. Dengan kondisi tersebut tidak akan terjadi peningkatan pencernaan protein dan efisiensi pemanfaatan pakan sehingga ikan patin memiliki pertumbuhan yang rendah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amri, E. dan F. Mamboya. 2012. Papain, a Plant Enzyme of Biological Importance: A Review. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 8(2):99-104.
- Asakura, T., Watanabe, H., Abe, K., dan Arai, S., 1997. Oryzasin as an Aspartic Proteinase Occuring in Rice Seeds: Purification, Characterization and Application to Milk Clotting. *J. Agric. Food Chem.*, 45 (4): 1070-1075.
- AOAC. 2016. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC.
- Balazs GH, dan Ross, E. 1976. Effect of protein source and level on growth and performance of the captive freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, 7:200-213.
- Benito, M.J., Rodriguez, M., Nunes, F., Asensio, M.A., Bermudez, M.E. dan Cordoba, J.J., 2002. Purification and Characterization of an Extracellular Protease from *Penicillium chrysogenum* Pg222 Active against Mea Protein, *J. Applied and Enviromental Microbiology*, 68 (7): 3532-3536.
- Carter, C.G., Houlihan, D.F., Buchnan, B., dan Mitchell, A.I. 1994. Growth and feed utilization efficiencies of seawater Atlantic salmon, *Salmo salar* L., fed a diet containing supplementary enzymes. *Management*, 25:37-46.
- Choi, Y.J., Cho Y.J. dan Lanier, T.C., 1999. Purification and Characterization of Proteinase from Alantic Menhaden Muscle, *J. Food Sci.*, 64 (5):772-775.
- Chin, H.W. dan Rosenberg, M., 1997. Accumulation of Some Flavour Compound in Full and Reduced Fat Ceddar Cheese under Different Ripening Condition, *J. Food Sci.*, 62 (3):468-474.
- Chinas, F.A.I. dan Canales, A.L.M., 1986. Proteolytic Enzyme from *Cnidocolus chayamansa* "Chaya". *J. Food Sci.*, 61 (1):142-144.

- Choudury, G.S. dan Gogoi, B.K., 1996. Protease Inactivation in Fish Muscle by High Moisture Twin Screw Extrusion. *J. Food Sci.*, 61 (6), 1219-1222.
- Clarke, A., Brown, G.E. dan Holmes, L.S. 1990. The biochemical composition of eggs from *Macrobrachium rosenbergii* in relation to embryonic development. *Comparative Biochemistry Physiology*, 96B:503-511.
- Creamer, L.K. and Olson, L.F., 1982. Rheological Evaluation of Mature Ceddar Cheese. *J. Food Sci.*, 47 (3):631-634.
- Dasuki, A., Auta, J. & Oniye, S.J. 2013. Effect of stocking density on production of *Clarias gariepinus* (Tuegels) in floating bamboo cages at Kubanni Reservoir, Zaria, Nigeria. *Pure and Applied Sciences*, 6(1): 112-117.
- Dawood, M.A.O., A.E. Dakar, M. Mohsen, E. Abdelraouf, S. Koshio, M. Ishikawa dan S. Yokoyama. 2014. Effects of Using Exogenous Digestive Enzymes or Natural Enhancer Mixture on Growth, Feed Utilization, and Body Composition of Rabbitfish, *Siganus rivulatus*. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 8(4): 180 – 187.
- Dabrowski, K dan Glogowski, J. 1977. Studies on the role of exogenous proteolytic enzymes in digestion process in fish. *Hydrobiologia*, 54(2):129-134.
- Divakaran. S dan Velasco, M. 1999. Effect of proteolytic enzyme addition to a practical feed on growth of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Aquaculture research*, 30:335-339.
- Effendi, MS. 1979. *Metode Biologi Perikanan*. Jakarta. PT Gramedia Pustaka Utama
- Fox, P.F., 1991. *Food Enzymology*. Elsevier Applied Science. New York.
- Girindra, A., (1990), *Biokimia I*, PT Gramedia, Jakarta
- Hasan, O. D. S. 2000. Pengaruh pemberian enzim papain dalam pakan buatan terhadap peman-faatan protein dan pertumbuhan benih ikan gurame (*Osphronemus gouramy*). Thesis, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

- Hepher, B. (1988). Nutrition of pond fish. Cambridge University Press, Cambridge.
- Holme, D. J. and Peck, H., 1998. Analytical Biochemistry. Third Edition. Addison Wesley Longman. New York.
- Huet, M. 1970. Textbook of Fish Culture. Finishing News (Book Ltd.) London
- Isnawati, N., Romziah Sidik dan Gunanti Mahasri. 2015. POTENSI SERBUK DAUN PEPAYA UNTUK MENINGKATKAN EFISIENSI PEMANFAATAN PAKAN, RASIO EFISIENSI PROTEIN DAN LAJU PERTUMBUHAN RELATIF PADA BUDIDAYA IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*). Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan, 7 (2):121-124.
- Izawa, N., Tokuyasu, K. and Hayashi, K., 1997. Debittering of Protein Hidrolysates Using *Aeromonas caviae* Aminopeptidase. J. Agric. Food Chem., 45 (3):543-545.
- Jiang, S.T., Moody, M.W. and Chen, H.C., 1991. Purification and Characterization of Protease from Digestive Tract of Grass Shrimp. J. Food Sci., 56 (2): 322-326.
- Kakade ML, Hoffa DE, Liener IE. 1973. Contribution of trypsin inhibitors to the deleterious effects of unheated soybeans fed to rats. J Nutr, 103: 1172-1077.
- Kalie. M. B. 1999. Bertanam Pepaya. Jakarta : PT Penebar Swadaya
- Khati, A., M. Danish, K. S. Mehta and N. Pandey. 2015. Estimation of Growth Parameters in Fingerlings of *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) Fed with Exogenous Nutrizyme in Tarai Region of Uttarakhand, India. African Journal of Agricultural Research. 10(30): 3000 -3007.
- Kimmel JR, Smith EL. 1957. The properties of Papain. Adv Enzymol 19: 267-334.
- Kolodziejska, Szie, Magdalena and Sikorski, S., 1994. Proteolytic Activity of Crude Enzyme Extracts of Squid *Illex argentinus* Liver. J. Food Biochem., 18:43-53.

- Lanari, D., Agaro, E. & Turri, C. 1998. Use of nonlinear regression to evaluate the effects of phytase enzyme treatment of plant protein diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 161: 345-356.
- Lazano, P., Combes, D. and Iborra, J.L., 1994. Food Protein Nutrient Improvement by Protease at Reduced Water Activity. *J. Food Sci.*, 59 (4):876-880.
- Leewit, S. and Pornsuksawang, 1988. Protease from Bacteria in Soybean Whey. *Proc. Food Science and Technology in Industrial Development. Vol. I. (Ed Manepoon)*, 751-754, Thailand.
- Liebert, F., dan Portz L. 2005. Nutrient utilization of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* fed plant based low phosphorus diets supplemented with graded levels of different sources of microbial phytase. *Aquaculture* 248: 111-119.
- Liu K. 1997. Chemistry and nutritional value of soybean components. In: *Soybeans:chemistry, technology, and utilization*. Chapman & Hall, New York, pp. 25-113.
- Lovell, T. 1989. Nutrition and feeding of fish. Van Nostrand Reinhold, New York, p.26-45.
- Maugle PD, Deshimaru O, Katayama T, Nagatani T and Simpson KL. Effect of microencapsulated amylase and bovine trypsin dietary supplements on growth and metabolism of shrimp. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries* 1983; 49:1421-1429.
- Mo, W. Y., R.S.S. Lau, A.C.K. Kwok dan M.H. Wong. 2016. Use of Soybean Meal and Papain to Partially Replace Animal Protein for Culturing Three Marine Fish Species: Fish Growth and Water Quality. *Environmental Pollution*:1-6.
- Molina, I. and Toldra, F., 1992. Detection of Proteolytic Activity in Microorganism Isolated from Dry Cured Ham. *J. Food Sci.*, 57 (6):1308-1309.
- Monti, R., Basilio, C.A., Trevisan, H.C. and Contiero, J., 2000. Purification of Papain from Fresh Latex of *Carica papaya*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 43 (5):501-507.

- Muchlisin, Z. A., F. Afrido, T. Murda, N. Fadli, A. A. Muhammadar, Z. Jalil dan C. Yulvizar. 2016. The Effectiveness of Experimental Diet with Varying Levels of Papain on The Growth Performance, Survival Rate and Feed Utilization of Keureling Fish (*Tor tambra*). Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education, 8(2): 172-177.
- Muchlisin, Z. A., Munazir, A. M., Fuady, Z., Wina-ruddin, W., Sugianto, S., Adlim, M., Fadli, N. dan Hendri, A. (2014). Prevalence of ectoparasites on mahseer fish (*Tor tambra* Valenciennes, 1842) from aquaculture ponds and wild population of Nagan Raya District, Indonesia. HVM Bioflux, 6(3), 148-152.
- Muchlisin, Z. A., Fuadi, Z., Munazir, A. M., Fadli, N., Winaruddin, W., Defira, C. N. dan Hendri, A. (2015a). First report on Asian fish tapeworm (*Bothriocephalus acheilognathi*) infection of indigenous mahseer (*Tor tambra*) from Nagan Raya District, Aceh Province, Indonesia. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, 18(4), 361-366
- Muchthadi. 1992. Enzim Dalam Industri Pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Naz, S., 2002. Enzymes and Food, Oxford University Press, Pakistan.
- Noda, K., Koyanagi, M. and Kamiya, C., 1994. Purification and Characterization of an Endoprotease from Melon Fruit. J. Food Sci., 59 (3):585-587.
- Nobuzo, T., 1988. Recent Topics on Enzyme Utilization for Food in Japan. Proc. Food Science and Technology in Industrial Development. Vol. I. (Ed Manepon):126-137. Thailand.
- Olmos, J., L. Ochoa, J. P. Michel and R. Contreras. 2011. Functional Feed Assessment on *Litopenaeus vannamei* Using 100% Fish Meal Replacement by Soybean Meal, High Levels of Complex Carbohydrates and Bacillus Probiotic Strains. Journal Marine Drugs, (9): 1119-1132.
- Palmer, T., 1991. Understanding Enzymes. Third Edition. Ellis Haward. New York.

- Patil, D. W., dan H. Singh. 2014. Effect of Papain Supplemented Diet on Growth and Survival of Post-Larvae of *Macrobrachium rosenbergii*. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 1(6): 176-179.
- Rachmawati D., Istiyanto S., Maizirwan M., 2017 Effect of phytase on growth performance, diet utilization efficiency and nutrient digestibility in fingerlings of *Chanos chanos* (Forsskal 1775). *Philippine Journal of Science* 146(3):237-245.
- Rachmawati, D., Prihanto, A.A., Setyobudi, R.H., dan Olga Anne. 2018. Effect of Papain Enzyme in Feed on Digestibility of Feed, Growth Performance, and Survival Rate in Post Larvae of Freshwater Lobster [*Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1868)]. *Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences: Pakistan Academy of Sciences B. Life and Environmental Sciences*, 55(3):31-39.
- Rachmawati, D., Hutabarat, J., Samidjan, I., dan Seto Windarto. 2019. The effects of papain enzyme-enriched diet on protease enzyme activities, feed efficiency, and growth of fingerlings of Sangkuriang catfish (*Clarias gariepinus*) reared in tarpaulin pool. *AAFL Bioflux*, 12 (6):2177-2187.
- Rachmawati, D, dan Asep A. Prihanto. 2019. Effect of papain enzyme supplementation on growth performance and nutrient utilization of catfish (*Pangasius hypophthalmus*). *Malaysian Applied Biology Journal*, 48(5): 1-10.
- Rachmawati, D., Hutabarat, J., Dewi. E.D. dan Seto Windarto. 2020. Suplementasi Enzim Papain Dalam Pakan Terhadap Performa Pertumbuhan, Efisiensi Pemanfaatan Pakan dan Kelulushidupan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Marine Research*, 9 (3):215-222.
- Richardson NL, Higgs DA, Beames RM, McBride JR. 1985. Influence of dietary calcium, phosphorus, zinc and sodium phytate level on cataract incidence, growth and histopathology in juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *J Nutr* 115: 553–567.
- Robyt, J.F. and White, B.S., 1987. *Biochemical Technic Theory and Practical*. Kluwer Academic Publisher. New York.
- Rostika R., Sunarto, Sugiyanto H. N., Dewanti L. P., 2018 The effectiveness of crude papain enzyme supplement for tilapia's (*Oreochromis*

- niloticus*) growth at the floating nets of Cirata Reservoir. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 139(1):012006.
- Sanches, A.C. and Borgos, J., 1997. Factors Affecting the Gelation Properties of Hydrolized Sunflower Proteins. *J. Food Sci.*, 62 (2):284-288.
- Sanogo, T., Paquet, D. and Linden, G., 1990. Proteolysis of  $\kappa$ s1 - casein by Papain in a Complex Environment Influence of Ionic Strength on The Reaction Product. *J. Food Sci.*, 55(3): 796-800.
- Savero Jr, J.B., Bispo, I.M.B.D., Souza, R.R., Ehrhardt, D.D., Lopes, F.L.G., Santana, J.C.C. and Tambourgi, E.B., 2006. Bromelain Purification from Annanas Comocos by Membrane Separation Processes, Laboratory of Separation Processes (DEQ/UFS), Sao Cristovao.
- Scott,R., 1986. Cheesmaking Practice. Elsevier Applied Science Publisher. New York.
- Shahib, M.N., (1992), Pemahaman Seluk Beluk Biokimia Dan Penerapan Enzim, PT.Citra Aditya Bakti, Bandung.
- Shinde MM. Growth and survival of post-larvae of *Macrobrachium rosenbergii* (De man) fed on artificial diet supplemented with some hormones. M.F.Sc. Thesis submitted to Dr. Balasaheb Sawant Konkan Krishi Vidyapeeth. Dapoli, 2001, 1-40.
- Siebert, K.J. and Lynn, P.Y., 1997. Haze Active Protein and Poliphenols in Apple Juice Assesed by Turbidimetry. *J. Food Sci.*, 62 (1):79-84.
- Silva, S.V. and Malcata, F.X., 2004. Influence of the Coagulant Level on Early Proteolysis in Ovine Cheese-like Systems Made with Sterilized Milk and *Cynara cardunculus*. *J. Food. Sci.* 69 (7):579-584.
- Smith, J.E., 1995. Bioteknologi. Terjemahan. Hartono, EGC. Jakarta.
- Singh H and Gaidhane DM. Effect of food ration on growth and survival of post-larvae of *Macrobrachium rosenbergii* (DE MAN). Proceeding of National Symposium on Fish Health Management and Sustainable Aquaculture, 2001:129-132

- Singh P., Sajid M., Munir H. S., Vikas P., Danish M., Chalal S. R., 2011 Exogenous supplementation of papain as growth promoter in diet of fingerlings of *Cyprinus carpio*. *International Aquatic Research* 3:1-9.
- Spinelli J, Houle CR, Wekell JC. 1983. The effect of phytates on the growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed purified diets containing varying quantities of calcium and magnesium. *Aquaculture*, 30: 71-83.
- Suhartono, M.T., 1992. Protease. Pusat Antar Universitas IPB. Bogor.
- Sumantha, A., Sandya, C., Szakacs, Soccol, C.R. and Pandey, A., 2005. Production and Partial Purification by Fungal Mixed Substrate Fermentation, *Food Technol. Biotechnol.* 43 (4): 313-319.
- Steffens, W. (1989). Principles of fish nutrition. New York: Ellis horwood limited, John Willey and Sons.
- Tacon A. G. J., Cody J. J., Conquest L. D., Divakaran S., Forster I. P., dan Decamp O. E., 2002 Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. *Aquaculture Nutrition* 8(2):121-137.
- Tagare, M.N. 1992. Role of papain in growth, survival and improving feed efficiency of *Cyprinus carpio*. M.F.Sc. Thesis submitted to Central Institute of Fisheries Education, Mumbai,1-50.
- Tavasolian, B. and Shabbah, F., 1979. Extraction and Partial Purification of Milk Coagulating Enzyme from *Cartamus tinctorius* Seed. *J. Agric. Food Chem.*, 27 (1): 190-191.
- Vielettaz, J.C. and Dobourdien, D., 1991. Enzyme in Winemaking. In *Food Enzymology*. (Ed Fox), 1-63. Elsevier Applied Science. New York.
- Vielma J, Ruohonen K, Peisker M. 2002. Dephytination of two soy proteins increases phosphorus and protein utilization by rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 204: 145-156.
- Whitaker, J.R., 1994. Principle of Enzymology for the Food Science. Second Edition. Marcel Decker. New York.
- Winarno, F.G. 1986. Enzim Pangan. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta

# PERANAN ENZIM PAPAIN DALAM BUDIDAYA IKAN

---

## ORIGINALITY REPORT

---

**13%**

SIMILARITY INDEX

**10%**

INTERNET SOURCES

**8%**

PUBLICATIONS

**3%**

STUDENT PAPERS

---

## MATCH ALL SOURCES (ONLY SELECTED SOURCE PRINTED)

---

< 1%

★ [bambangdwisuharmoko.blogspot.com](http://bambangdwisuharmoko.blogspot.com)

Internet Source

---

Exclude quotes  On

Exclude matches  Off

Exclude bibliography  On

# PERANAN ENZIM PAPAIN DALAM BUDIDAYA IKAN

---

## GRADEMARK REPORT

---

FINAL GRADE

**/0**

GENERAL COMMENTS

**Instructor**

---

PAGE 1

---

PAGE 2

---

PAGE 3

---

PAGE 4

---

PAGE 5

---

PAGE 6

---

PAGE 7

---

PAGE 8

---

PAGE 9

---

PAGE 10

---

PAGE 11

---

PAGE 12

---

PAGE 13

---

PAGE 14

---

PAGE 15

---

PAGE 16

---

PAGE 17

---

PAGE 18

---

PAGE 19

---

PAGE 20

---

PAGE 21

---

PAGE 22

---

PAGE 23

---

PAGE 24

---

PAGE 25

---

PAGE 26

---

PAGE 27

---

PAGE 28

---

PAGE 29

---

PAGE 30

---

PAGE 31

---

PAGE 32

---

PAGE 33

---

PAGE 34

---

PAGE 35

---

PAGE 36

---

PAGE 37

---

PAGE 38

---

PAGE 39

---

PAGE 40

---

PAGE 41

---

PAGE 42

---

PAGE 43

---

PAGE 44

---

PAGE 45

---

PAGE 46

---

PAGE 47

---

PAGE 48

---

PAGE 49

---

PAGE 50

---

PAGE 51

---

PAGE 52

---

PAGE 53

---

PAGE 54

---

PAGE 55

---

PAGE 56

---

PAGE 57

---

PAGE 58

---

PAGE 59

---

PAGE 60

---

PAGE 61

---

PAGE 62

---

PAGE 63

---

PAGE 64

---

PAGE 65

---

PAGE 66

---

PAGE 67

---

PAGE 68

---

PAGE 69

---

PAGE 70

---

PAGE 71

---

PAGE 72

---

PAGE 73

---

PAGE 74

---

PAGE 75

---

PAGE 76

---

PAGE 77

---

PAGE 78

---

PAGE 79

---

PAGE 80

---

PAGE 81

---

PAGE 82

---

PAGE 83

---

PAGE 84

---

PAGE 85

---

PAGE 86

---

PAGE 87

---

PAGE 88

---

PAGE 89

---

PAGE 90

---

PAGE 91

---

PAGE 92

---

PAGE 93

---

PAGE 94

---

PAGE 95

---

PAGE 96

---

PAGE 97

---

PAGE 98

---

PAGE 99

---

PAGE 100

---

PAGE 101

---

PAGE 102

---

PAGE 103

---

PAGE 104

---

PAGE 105

---

PAGE 106

---

PAGE 107

---

PAGE 108

---

PAGE 109

---

PAGE 110

---

PAGE 111

---

PAGE 112

---

PAGE 113

---

PAGE 114

---

PAGE 115

---