

PERKEMBANGAN AKTIVITAS ENZIM PADA SALURAN PENCERNAAN LARVA IKAN BETOK, (*Anabas testudineus* bloch)

Yulintine¹., Harris, E²., Jusadi, D²., Affandi, R³., dan Alimuddin²

¹ Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan Fakultas Pertanian, Universitas Palangka Raya, Kalimantan Tengah; Tlp. 0536 3228524;

² Departemen Budidaya Perairan, Institut Pertanian Bogor, Bogor

³ Departemen Manajemen Sumberdaya Perairan, Institut Pertanian Bogor, Bogor

E-mail: pojok_bangas@yahoo.com

ABSTRAK

Dewasa ini, pembenihan ikan betok (*Anabas testudineus* (Bloch)) telah mulai berkembang, tapi masih banyak kendala yang ditemui, terutama masih rendahnya kelangsungan hidup larva (<20%). Oleh karena itu, kajian tentang perkembangan fisiologis selama fase perkembangan awal larva telah dilakukan untuk memperoleh informasi dasar dalam mengatasi rendahnya kelangsungan hidup. Dalam studi ini, pengujian aktivitas enzim saluran pencernaan pada larva ikan betok dilakukan, dimulai sejak larva menetas (D0) sampai ikan berumur 30 hari (D30) menggunakan teknik biokimia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hampir semua aktivitas enzim pencernaan terdeteksi sejak mulut larva terbuka pada D2 walaupun aktivitas maksimum bervariasi antar masing-masing enzim. Enzim amilase dan lipase keduanya terdeteksi sejak larva ikan menetas. Enzim protease yang alkalin (tripsin dan kimotripsin) dengan aktivitas yang maksimum terdeteksi sejak D2 sampai D4 dan pada D12. Aktivitas enzim protease yang asam (pepsin) baru terdeteksi sejak D16, menunjukkan dimulainya stadia juvenil dan sempurnanya sistem pencernaan ikan betok. Aktivitas semua enzim relatif stabil sejak D25, yang bersamaan dengan terdeteksinya filorik kaeka, dan sejak itu direkomendasi untuk diberi pakan buatan.

Kata kunci: enzim pencernaan, perkembangan larva, ikan betok (*Anabas testudineus*)

DEVELOPMENT OF DIGESTIVE ENZYME ACTIVITY IN CLIMBING PERCH (*Anabas testudineus* bloch)

ABSTRACT

Recently, larval rearing of Climbing perch (*Anabas testudineus* (Bloch)) has been developed, but there were still many problems especially connecting with very low survival rates of larvae (<20%). Therefore, the study of the development of physiology during the initial ontogeny was carried out to obtain basic information in overcoming the low larval survival rate. In this study, digestive activities of several enzymes were evaluated in larvae, from hatching (D0) to D30 by using biochemical techniques. Almost digestive enzyme activities were detected from mouth opening stage; although, the maximum activities varied among different digestive enzymes. Both amylase and lipase enzymes were detected on D0. For alkaline protease (trypsin and chymotrypsin), the maximum activities were detected from D2 to D4 and on D12. Acid protease activity was observed from D16 onwards, indicating the beginning of the juvenile stage and the maturation of the digestive system. The activities of all the enzymes remained stable from D25 onwards, coinciding with the formation of pyloric caecum. Finally, the enzymatic equipment of *A. testudineus* larvae became complete between D16 and D20, and that it was totally efficient up to D25 and since then formulated feed could be offered.

Key words: digestive enzymes, larval development, climbing perch

PENDAHULUAN

Pemijahan secara buatan ikan betok (*Anabas testudineus*) pada kondisi terkontrol di laboratorium dapat dilakukan hampir sepanjang tahun. Pemberian pakan alami maupun pakan buatan untuk pembesaran larva juga telah dicoba oleh Trieu & Long (2001), Widodo dkk. (2007), dan Morioka *et al.* (2009), tetapi tingkat kelangsungan hidup larva masih rendah yaitu di bawah 20%. Sementara itu, pemeliharaan juvenil ikan betok dengan pemberian *Artemia* atau pun pakan buatan jauh lebih berhasil kelangsungan hidupnya, dapat mencapai 100% (Van & Hoan, 2009; Chotipuntu & Avakul, 2010). Oleh karena itu, upaya-upaya peningkatan kelangsungan hidup larva perlu dilakukan. Namun di sisi lain, pengetahuan/informasi dasar mengenai perkembangan ontogenik enzim pencernaan untuk ikan betok belum ada.

Pengetahuan rinci tentang perkembangan ontogenik enzim-enzim pencernaan pada larva ikan merupakan hal yang sangat penting dalam memahami mekanisme pertumbuhan dan kelangsungan hidup pada larva ikan, karena saluran pencernaan ikan pada umumnya mengalami perubahan yang sangat cepat, baik morfologi maupun fungsinya selama ontogeni sehingga mempengaruhi kelangsungan hidup larva selama kondisi budidaya. Perkembangan ontogenik enzim pencernaan juga merefleksikan perkembangan saluran pencernaan dan kemampuan pencernaan suatu spesies tersebut sehingga dapat digunakan sebagai indikator pencernaan dan status nutrisi pada awal-awal perkembangan larva (Alvarez-Gonzalez *et al.*, 2006; Comabella *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2007). Studi perkembangan enzim dapat memberikan informasi dalam penentuan waktu yang paling tepat untuk pemberian pakan buatan dalam budidaya ikan (Chen *et al.*, 2006; Hamza *et al.*, 2007). Aktivitas enzim-enzim pencernaan yang tinggi secara umum menunjukkan bahwa larva ikan telah siap secara fisiologis untuk memproses pakan eksogenus (Gawlicka *et al.*, 2000).

Studi nutrisi larva telah banyak mendapat perhatian karena pemahaman tentang

perubahan yang terkait dengan proses-proses makan, pencernaan dan penyerapan makanan merupakan langkah awal dalam penentuan kemampuan larva dalam memanfaatkan makanan yang diberikan (Martinez *et al.*, 1999). Pemeliharaan larva yang berukuran kecil sangat tergantung pada penggunaan pakan alami selama awal perkembangan larva sampai dua atau beberapa minggu.

Karena sulitnya melakukan studi kecernaan pada larva, maka pendekatan yang paling banyak dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan potensial larva untuk mencerna makanan dengan cara mempelajari biokimia pencernaannya. Studi-studi ini telah memfokuskan pada perhitungan secara kuantitas terhadap aktivitas enzim-enzim pencernaan yang utama dan pengkajian variabilitas enzim-enzim tersebut selama perkembangan larva. Beberapa spesies yang telah dipelajari antara lain ikan-ikan Dover sole (Clark *et al.*, 1986), Asian seabass (Walford & Lam, 1993), gilthead seabream (Moyano *et al.*, 1996), European seabass (Zambonino-Infante & Cahu, 2001), diskus (Chong *et al.*, 2002), European perch (Cuvier-Peres & Kestemont, 2002), dourado (Vega-Orellana *et al.*, 2006), tilapia (Drossou *et al.*, 2006), Cuban gar (Comabella *et al.*, 2006), yellowtail kingfish (Chen *et al.*, 2006), blackspot seabream (Ribeiro *et al.*, 2009; Savona *et al.*, 2011), miiuy croaker (Shan *et al.*, 2009).

Oleh karena itu, dengan mempertimbangkan informasi di atas, maka tujuan dari studi ini adalah untuk mengevaluasi perkembangan ontogenetik dan pola utama aktivitas enzim-enzim pencernaan pada larva ikan betok *A. testudineus* yang diberi pakan alami selama awal perkembangan larva dengan menggunakan teknik-teknik biokimia, yang bermanfaat sebagai kontribusi terhadap formulasi suatu protokol nutrisi yang tepat untuk larva ikan betok.

BAHAN DAN METODE

Pemeliharaan Larva dan Sampling

Larva diperoleh dari pemijahan buatan induk betok di Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

Larva diberi makan rotifera (*Brachionus calyciflorus*) dan mikroalga untuk pertama kalinya pada D2 setelah menetas sampai D10. Ikan diberi makan nauplii *Artemia* yang baru menetas dari D7 sampai hari D15, dan kemudian dilanjutkan dengan pemberian meta-nauplii *Artemia* sampai D20. Cacing sutera diberikan sebagai pakan alami dari D20 sampai D30 setelah menetas.

Parameter kualitas air dalam percobaan ini adalah oksigen terlarut (6,5-7,0 mg/l), pH (6,9-7,1), dan suhu (28-30°C). Berat basah individual larva (μg individu⁻¹) dihitung dengan cara menghitung dari berat setiap kumpulan larva sampel dibagi dengan jumlah larva dalam kumpulan tersebut yang diambil pada setiap hari. Penimbangan bobot larva dengan menggunakan timbangan analitik dengan ketelitian 0,01. Sampel larva diambil dari akuarium pemeliharaan pada D0 sampai D5, kemudian D8, D12, D16, D20, D25, dan D30. Semua sampel disimpan pada freezer -80°C sebelum dianalisa lebih lanjut.

Pengujian Enzim

Sampel ditimbang (berkisar antara 1,5-2,5 g) dan dihomogenisasi (1 g/10 ml) selama beberapa menit dalam buffer yang dingin yang mengandung Tris-HCl 50 mM, CaCl₂ 20 mM dengan pH 7,5. Supernatan yang diperoleh setelah disentrifugasi 12.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C, kemudian disimpan pada freezer -80°C yang akan digunakan untuk analisis enzim. Konsentrasi protein terlarut dalam sampel ditentukan dengan metode Bradford (1976) dengan menggunakan albumin bovine serum sebagai standar. Aktivitas enzim pencernaan dinyatakan sebagai mU/mg protein.

Aktivitas amilase diukur menggunakan larutan pati 1% sebagai substrat dalam buffer natrium fosfat 20 mM, pH 6,9, dan mengandung NaCl 6.0 mM mengikuti metode Worthington (1993). Sebanyak 0,5 ml larutan substrat ditambahkan ke dalam 0,5 ml sampel ekstrak enzim kasar, dan kemudian diinkubasi selama 3 menit pada suhu 95°C. Setelah itu dilakukan penambahan 0,5 ml asam dinitrosalisilat dan diinkubasi kembali di dalam bak air mendidih selama

5 menit. Nilai absorbansi campuran tersebut diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Jumlah maltosa yang dilepas dari pengujian ini ditentukan dari kurva standar. Satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai jumlah amilase yang diperlukan untuk menghidrolisis 1 μg maltosa per menit.

Aktivitas lipase dihitung menggunakan emulsi minyak zaitun sebagai substrat dan Tris-HCl sebagai buffer sesuai dengan metode Borlongan (1990). Uji enzim ini dilakukan dengan penambahan 1 ml sampel ekstrak enzim kasar ke dalam 1 ml substrat enzim lipase stabil dalam 1,5 ml buffer yang mengandung Tris-HCl 0,1 M pada pH 8,0. Campuran tersebut diinkubasi selama 6 jam pada suhu 37°C, setelah itu hidrolisis dihentikan dengan melakukan penambahan 3 ml etil alkohol 95%. Campuran kemudian dititrasi dengan 0,01 N NaOH menggunakan 0,9% (w/v) thymolphthalein dalam etanol sebagai indikator. Untuk perlakuan blanko dilakukan dengan cara yang sama kecuali sampel ekstrak enzim kasar dimasukkan ke dalam sistem uji setelah inkubasi 6-jam dan segera sebelum titrasi. Satu unit aktivitas enzim lipase (U) didefinisikan sebagai volume 0,01 N NaOH diperlukan untuk menetralkan asam lemak yang dilepas selama inkubasi 6-jam dari substrat dan setelah dikoreksi dengan blanko yang sesuai.

Aktivitas tripsin diuji menggunakan benzoil-DL-arginin-p-nitroanilida (BAPNA) sebagai substrat menurut metode Erlanger *et al.* (1961). BAPNA sebanyak 43,5 mg (Sigma) dilarutkan dalam 1 ml dimetilsulfoksida (DMSO) dan ditambahkan sampai 100 ml dengan buffer 0,05 M Tris-HCl yang mengandung 0,02 M CaCl₂·2H₂O, pH 7,5. Sebanyak 25 μl sampel enzim ekstrak kasar dicampur dengan 1,25 ml larutan substrat BAPNA yang masih baru dan dibiarkan selama 10 menit pada suhu 37°C sebelum dilakukan penambahan 250 μl asam asetat 30% untuk menghentikan reaksi. Absorbansi campuran yang dihasilkan kemudian diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 410 nm. Perhitungan aktivitas tripsin amidase (unit BAPNA /mg protein) dilakukan dengan menggunakan Erlanger *et al.* (1961).

Aktivitas kimotripsin juga diuji menurut metode Erlanger *et al.* (1961) menggunakan suksinil-(Ala) 2-Pro-phe-p-nitroanilida (SAPNA) sebagai substrat. Sebanyak 0,59 ml larutan substrat yang baru disiapkan dari campuran SAPNA 0,1 mM dalam 50 mM Tris-HCl dan 20 mM CaCl₂ pada pH 8,5, kemudian dicampur dengan 10 µl sample enzim ekstrak kasar pada suhu reaksi 25°C. Peningkatan nilai absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 410 nm setiap menit selama 5 menit. Perhitungan aktivitas kimotripsin (unit SAPNA/mg protein) dilakukan dengan menggunakan Erlanger *et al.* (1961). Satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai 1 µg nitroanilida yang dilepas per menit.

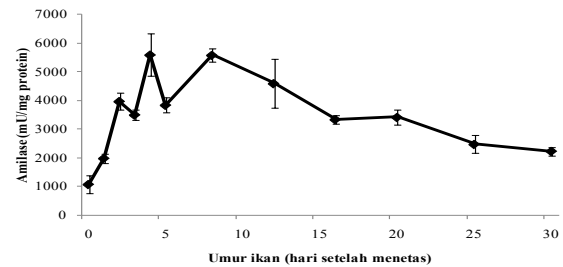
Aktivitas pepsin diuji menggunakan 2% hemoglobin dalam 0,06 N HCl sebagai substrat dan aktivitas ini ditentukan berdasarkan Worthington (1993). Sebanyak 100 µl sampel enzim ekstrak di dalam 500 µl substrat diinkubasi pada suhu 37°C dengan selama 10 menit. Reaksi dihentikan menggunakan 1 ml TCA 5% dan dibiarkan selama 5 menit. Campuran kemudian disentrifugasi selama 5 menit pada 12000 rpm. Absorbansi diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm. Untuk perlakuan blanko, TCA ditambahkan ke dalam substrat sebelum penambahan enzim ekstrak. Satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai 1 µg tirosin dilepas per menit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

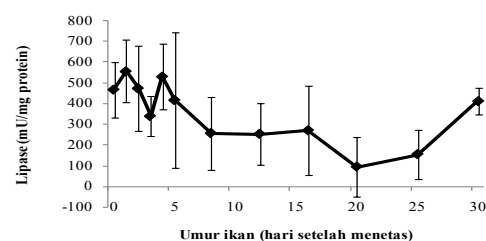
Variasi aktivitas spesifik dari setiap enzim sepanjang perkembangan larva dapat dilihat pada Gambar 1-5. Aktivitas enzim pankreas dan usus sudah tampak sejak larva menetas. Untuk semua enzim, kecuali lipase, aktivitas enzim meningkat pada pemberian pakan eksogenus pertama kalinya dan kemudian menurun tajam setelah D12.

Aktivitas spesifik α -amilase (Gambar 1) sudah terdeteksi pada D0 dan meningkat berfluktuasi sampai D8. Setelah itu, aktivitas spesifik amilase menurun secara perlahan sampai akhir penelitian. Sementara itu,

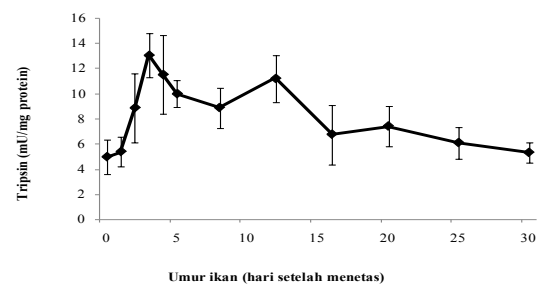
aktivitas spesifik lipase (Gambar 2) tinggi pada beberapa hari setelah menetas, yang diikuti dengan penurunan bertahap dengan fluktuasi sampai D20, dan kemudian meningkat untuk mencapai puncak kedua pada D30.



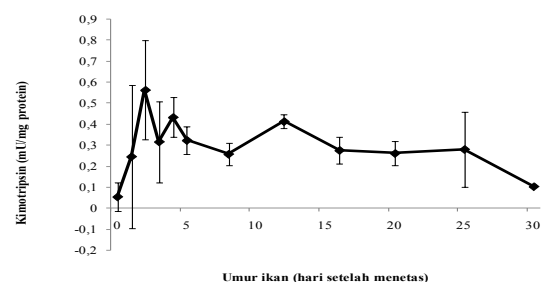
Gambar 1. Aktivitas spesifik α -amilase saluran pencernaan ikan betok yang dipelihara selama 30 hari.



Gambar 2. Aktivitas spesifik lipase saluran pencernaan ikan betok yang dipelihara selama 30 hari.

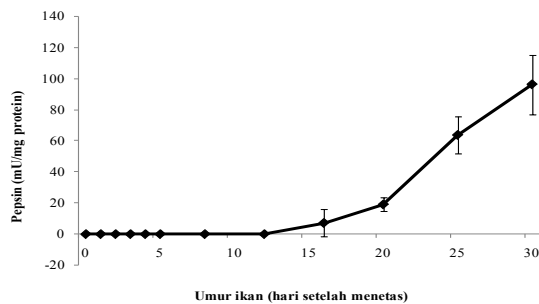


Gambar 3. Aktivitas spesifik tripsin saluran pencernaan ikan betok yang dipelihara selama 30 hari.



Gambar 4. Aktivitas spesifik kimotripsin saluran pencernaan ikan betok yang dipelihara selama 30 hari.

Aktivitas spesifik tripsin (Gambar 3) dan aktivitas spesifik kimotripsin (Gambar 4) menunjukkan pola yang sama, yaitu terjadi peningkatan hingga D2 dan D3, kemudian diikuti terjadinya penurunan secara bertahap dan berfluktuasi sampai akhir penelitian. Sementara itu, aktivitas spesifik pepsin (Gambar 5) pertama kali terdeteksi pada D16 terkait dengan pembentukan lambung dan kemudian terjadi sedikit peningkatan sampai D20. Setelah itu, aktivitas spesifik pepsin meningkat secara signifikan sampai akhir penelitian.



Gambar 5. Aktivitas spesifik pepsin saluran pencernaan ikan betok yang dipelihara selama 30 hari.

Proses pencernaan pada larva ikan biasanya dimulai dalam lingkungan alkalin yaitu proses pencernaan karena kontribusi enzim pankreas dan sitosol usus (Yufera & Darias, 2007). Selain itu, tahap-tahap perkembangan pada saluran pencernaan terjadi pada beberapa jenis ikan laut yaitu aktivitas protease alkali terdeteksi sangat awal, sebelum larva membuka mulut, tetapi aktivitas pepsin terdeteksi jauh lebih lambat (Moyano *et al.*, 1996.). Pada studi ini, aktivitas enzim pencernaan larva ikan betok terdeteksi sejak menetas seperti pada beberapa spesies ikan lain yaitu larva ikan Eurasian perch *Perca fluviatilis* (Cuvier-Peres & Kestemont, 2002), yellowtail kingfish *Seriola lalandi* (Chen *et al.*, 2006), haddock *Melanogrammus aeglefinus* and Atlantic cod *Gadus morhua* (Perez-Casanova *et al.*, 2006), pikeperch *Sander lucioperca* (Hamza *et al.*, 2007), spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* (Alvarez-Gonzalez *et al.*, 2008) and sharpshout sea bream *Diplosus puntazzo* (Kamaci *et al.*, 2009) dengan aktivitas enzim pencernaan langsung

meningkat pada hari-hari berikutnya terutama setelah makan makanan eksogenus. Hal ini sesuai dengan hasil yang dilaporkan oleh Yulintine *et al.* (2010) bahwa berdasarkan studi histologi, pada saat pertama kali makan makanan eksogenus, saluran pencernaan ikan betok sudah terdiferensiasi kecuali lambung. Selain itu, beberapa penulis telah menyatakan bahwa, setidaknya di beberapa spesies, tingkat enzim utama pada larva ikan pada saat makan pertama sudah cukup tinggi sehingga memungkinkan untuk mencerna makanan baik pakan alami atau pun pakan buatan (Moyano *et al.*, 1996).

Aktivitas Amilase

Aktivitas spesifik amilase pada larva *A. testudineus* menunjukkan peningkatan penyerapan kuning telur dari hari ke-2 setelah menetas sampai hari ke-8 setelah menetas dan kemudian menurun secara bertahap sampai akhir penelitian. Aktivitas amilase yang tinggi diikuti dengan penurunan juga telah dilaporkan untuk spesies lainnya (Cuvier-Peres & Kestemont, 2002; Peisong, 2003; Ma *et al.*, 2005; Ribeiro *et al.*, 2008). Selanjutnya, dikatakan bahwa ekspresi awal amilase dapat ditentukan secara genetik (Zambonino Infante & Cahu, 2001; Peisong, 2003) tetapi dapat dipertahankan apabila komposisi makanan yang diberikan sesuai (Munilla-Moran & Saborido-Rey, 1996). Selain itu, ikan betok memperlihatkan aktivitas spesifik amilase yang tinggi ketika pertama kali makan makanan eksogenus, kemudian terjadi penurunan yang signifikan pada umur larva yang lebih tua. Hal ini menunjukkan bahwa pada tahap awal kehidupan, ikan betok ini memiliki kemampuan untuk menggunakan karbohidrat seperti yang terjadi pada spesies lainnya (Moyano *et al.*, 1996; Infante Zambonino & Cahu, 2001). Namun, tidak adanya karbohidrat dalam makanan akan menyebabkan penurunan sekresi amilase pada larva *Paralabrax maculatofasciatus* (Alvarez-Gonzalez *et al.* 2008).

Aktivitas Lipase

Beberapa studi tentang aktivitas lipase selama fase larva pada ikan telah dilakukan (Chen *et al.*, 2006; Lazo *et al.*, 2007; Suzer

et al., 2007; Ribeiro *et al.*, 2008; Alvarez-Gonzalez *et al.*, 2008; Shan *et al.*, 2009). Pada studi ini, aktivitas lipase larva ikan betok meningkat secara bertahap selama periode kuning telur (D0 sampai D5) dan kemudian menurun sampai D20 tetapi meningkat lagi sampai akhir penelitian. Aktivitas lipase tinggi selama periode kuning pada larva ikan betok menunjukkan bahwa larva ikan betok siap untuk mencerna makanan sebelum mulutnya terbuka. Penurunan aktivitas lipase ketika rotifera dan *Artemia* diberikan dari D5 sampai D20 bisa disebabkan rendahnya lemak pada pakan alami tersebut. Sedangkan, meningkatnya aktivitas lipase yang signifikan pada D25 setelah menetas kemungkinan karena pengaruh pemberian cacing *Tubifex* yang mengandung lemak yang tinggi. Pada larva miiuy croaker, awalnya aktivitas lipase yang tinggi selama periode kuning telur dan mencapai puncaknya pada D4, pada saat pertama kali makan eksogenus, kemudian diikuti penurunan yang dilaporkan oleh Shan *et al.* (2009). Selain itu, Alvarez-Gonzalez *et al.* (2008) melaporkan pada larva *P. maculatofasciatus*, aktivitas enzim lipase terdeteksi sejak D0 sampai D7, setelah itu menurun secara signifikan. Selanjutnya, Martinez *et al.* (1999) menyatakan bahwa aktivitas lipase maksimum pada D10 pada larva *Solea senegalensis* dan hal ini terkait dengan perkembangan pankreas, sedangkan Cousin *et al.* (1987) menyatakan bahwa aktivitas lipase hanya pada D15 pada larva *Scophthalmus maximus*.

Aktivitas Protease

Pola aktivitas spesifik kimotripsin mirip dengan tripsin meskipun tingkat aktivitas kimotripsin jauh lebih rendah. Tampaknya tripsin yang lebih bertanggung jawab atas aktivitas protease total alkali karena baik tripsin dan tripsinogen telah teridentifikasi pada tahap awal perkembangan larva spesies lain (Cuvier-Peres dan Kestemont, 2002; Alvarez-Gonzalez *et al.*, 2006; Kvale *et al.*, 2007). Selain itu, rendahnya tingkat kimotripsin dibandingkan dengan tripsin juga dilaporkan oleh Vega-Orellana *et*

al. (2006) pada larva dourado, *Salminus brasiliensis*. Kehadiran aktivitas protease basa (contohnya tripsin dan kimotripsin) terdeteksi ketika larva menetas dan terus ada pada hari-hari berikutnya pada ikan betok, yang mirip dengan spesies lainnya seperti *S. lalandi* (Chen *et al.*, 2006), diskus (Chong *et al.*, 2002), gilthead seabream (Moyano *et al.*, 1996). Hal ini menunjukkan bahwa protease basa bertanggung jawab dalam pencernaan protein sampai lambung berkembang dengan sempurna (Ribeiro *et al.*, 2002). Selain itu, penurunan aktivitas protease basa kemungkinan terkait dengan peningkatan fungsi lambung (Cahu & Zambonino-Infante, 1994; Vega-Orellana *et al.*, 2006; Kvale *et al.*, 2007). Berdasarkan studi histologi saluran pencernaan ikan betok, lambung ikan ini sudah fungsional sejak hari ke-16 hari setelah menetas (Yulintine *et al.*, 2010), bertepatan dengan aktivitas pepsin pertama kali terdeteksi yang terkait dengan pertama kali lambung beraktivitas. Pada saat itu, aktivitas enzim ini meningkat dan sangat tinggi pada D25 yang bertepatan dengan waktu pembentukan pilorik kaeka, sebagaimana dilaporkan pada studi histologi ikan ini (Yulintine *et al.*, 2010). Oleh karena itu, maka direkomendasikan bahwa ikan betok dapat diberi pakan buatan pada D25.

SIMPULAN

Hampir semua aktivitas enzim pencernaan terdeteksi sejak mulut larva terbuka pada D2 walaupun aktivitas maksimum bervariasi antar masing-masing enzim. Enzim amilase dan lipase keduanya terdeteksi sejak larva ikan menetas. Enzim protease yang alkalin (tripsin dan kimotripsin) dengan aktivitas yang maksimum terdeteksi sejak D2 sampai D4 dan pada D12. Aktivitas enzim protease yang asam (pepsin) baru terdeteksi sejak D16, menunjukkan dimulainya stadia juvenil dan sempurnanya sistem pencernaan ikan betok. Aktivitas semua enzim relatif stabil sejak D25, yang bersamaan dengan terdeteksinya filorik kaeka, dan sejak itu direkomendasi untuk diberi pakan buatan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Studi ini dibiayai oleh IMHERE Unpar, DIKTI dan didukung oleh IPB. Penulis mengucapkan terimakasih yang sedalam-dalamnya kepada Pak Manawan dan Pak Dedi sebagai teknisi kolam pada Kolam Percobaan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB, atas bantuannya selama pemeliharaan induk dan pemijahan, serta pemeliharaan larva ikan betok. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Ibu Dian Anggraeni pada Laboratorium Nutrisi Fakultas Peternakan IPB, atas pendampingan selama analisa enzim.

DAFTAR PUSTAKA

- Alvarez-Gonzalez, C.A., Cervantes-Trujano, M, Tovar-Ramirez, D., Conklin, D.E., Nolasco, H., Gisbert, E., & Piedrahita, R. 2006. Development of digestive enzymes in California halibut *Paralichthys californicus* larvae. *Fish Physiol Biochem* 31:83–93
- Alvarez-Gonzalez, C.A., Moyano-Lopez F. J., Civera-Cerecedo R., Carrasco-Chavez, V. Ortiz-Galindo J. L., & Dumas, S. 2008. Development of digestive enzyme activity in larvae of spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus*. 1. Biochemical analysis. *Fish Physiol Biochem* 34:373–384. doi: 10.1007/s10695-007-9197-7.
- Bell, J.G., McEvoy, L.A., Estevez A., Shields, R.J., & Sargent, J.R. 2003. Optimising lipid nutrition in first-feeding flat fish larvae. *Aquaculture* 227:211–220.
- Borlongan, I.G. 1990. Studies on the digestive lipases of milkfish, *Chanos chanos*. *Aquaculture* 89:315–325.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72:248–254. doi:10.1016/0003-2697(76)90527-3.
- Cahu, C.L., & Zambonino Infante, J.L. 1994. Early weaning of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae with a compound diet: effect on digestive enzymes. *Comp Biochem Physiol* 109A:213–222. doi:10.1016/0300-9629(94)90123-6
- Chen, B.N., Qin, J.G., Kumar, M.S., Hutchinson, W.G., & Clarke, S.M. 2006. Ontogenetic development of digestive enzymes in yellowtail kingfish *Seriola lalandi* larvae. *Aquaculture* 260:264–271. doi:10.1016/j.aquaculture.2006.06.021
- Chen, B.N., Qin, J.G., Carragher, J.F., Clarke, S.M., Kumar, M.S., & Hutchinson, W.G. 2007. Deleterious effects of food restrictions in yellowtail kingfish *Seriola lalandi* during early development. *Aquaculture* 271:326–335. doi:10.1016/j.aquaculture.2007.04.016
- Chong, A.S.C., Hashim, R., Chow-Yang, L., & Ali, A.B. 2002. Partial characterization and activities of proteases from the digestive tract of discus fish (*Symphysodon aequifasciata*). *Aquaculture* 203:321–333.
- Chotipuntu, P., & Avakul, P. 2010. Aquaculture potential of climbing perch, *Anabas testudineus*, in brackish water. *Walailak J Sci & Tech* 7(1): 15-21.
- Clark, J., Murray, K.R., & Stark, J.R. 1986. Protease development in Dover sole (*Solea solea* L.). *Aquaculture* 53: 253-62.
- Comabella, Y., Mendoza, R., Aguilera, C., Carrillo, O., Hurtado, A., & Garcia-Galano, T. 2006. Digestive enzyme activity during early larval development of the Cuban gar *Atractosteus tristoechus*. *Fish Physiol Biochem* 32:147–157. doi:10.1007/s10695-006-0007-4
- Cousin, J.B., Baudin-Laurencin, F., & Gabaudan, J. 1987. Ontogeny of enzymatic activities in fed and fasting turbot, *Scophthalmus*

- maximus* L. *J Fish Biol* 30:15–33. doi:10.1111/j.1095-8649.1987.tb05728.x
- Cuvier-Peres, A., & Kestemont, P. 2002. Development of some digestive enzymes in Eurasian perch larvae *Perca fluviatilis*. *Fish Physiol Biochem* 24:279–285. doi:10.1023/A:1015033300526.
- Drossou, A., Ueberschär, B., Rosenthal H., & Herzig, K-H. 2006. Ontogenetic development of the proteolytic digestion activities in larvae of *Oreochromis niloticus* fed with different diets. *Aquaculture* 256:479–488.
- Erlanger, B.F., Kokorsky, N., & Cohen, W. 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Archives Of Biochemistry And Biophysics* 96: 271-278.
- Gawlicka, A., Parent, B., Horn, M.H., Ross, N., Opstad, I., & Torrissen, O.J. 2000. Activity of digestive enzymes in yolk-sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): indication of readiness for first feeding. *Aquaculture* 184:303–314. doi:10.1016/S0044-8486(99)00322-1.
- Hamza, N., Mhetli, M., & Kestemont, P. 2007. Effects of weaning age and diets on ontogeny of digestive activities and structures of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. *Fish Physiol Biochem* 33:121–133. doi:10.1007/s10695-006-9123-4.
- Kamacı, H.O., Coban, D., Suzer, C., Saka, S., & Firat, K. 2009. Development of the gastrointestinal tract in sharpsnout sea bream (*Diplodus puntazzo*) larvae: histological and enzymatic ontogeny. *J. of Animals and Vet. Adv.* 8 (12): 2571-2579.
- Kvåle, A., Mangor-Jensen, A., Moren, M., Espe, M., & Hamre, K. 2007. Development and characterisation of some intestinal enzymes in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) and Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) larvae. *Aquaculture* 264: 457-68.
- Lazo, J.P., Dinis, M.T., Holt, G.J., Faulk, C., & Arnold, R.A. 2000. Cofeeding microparticulate diets with algae: toward eliminating the need of zooplankton at first feeding in larval red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture* 188: 339-51.
- Ma, H.M., Cahu, C., Zambonino Infante, J.L., Yu, H.R., Duan, Q.Y., Le Gall, M.M., & Mai, K. 2005. Activities of selected digestive enzymes during larval development of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Aquaculture* 245:239–248. doi:10.1016/j.aquaculture.2004.11.032.
- Martinez, I., Moyano, F.J., Fernandez, C., & Yufera, M. 1999. Digestive enzyme activity during larval development of the Senegal sole (*Solea senegalensis*). *Fish Physiol. Biochem.*, 21 : 317-323.
- Morioka, S., Ito, S., Kitamura, S., & Vongvichith, B. 2009. Growth and morphological development of laboratory-reared larval and juvenile climbing perch *Anabas testudineus*. *Ichthyological Research*, Vol. 56 No. 2 : 162-171.
- Moyano, F.J., Diaz, M., Alarcon, F.J., & Sarasquete, M.C. 1996. Characterization of digestive enzyme activity during larval development of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish Physiol Biochem* 15:121–130. doi:10.1007/BF01875591.
- Munilla-Moran, R., & Saborido-Rey, F. 1996. Digestive activity in marine species:II. Amylase activities in gut from seabream (*Sparus aurata*), Turbot (*Scophthalmus maximus*) and redfish (*Sebastes mentella*). *Comp. Biochem. Physiol.* 113B:827–834.
- Peisong, M. 2003. Ontogeny and hormonal regulation of α -amylase gene expression in seabass larvae, *Lates calcarifer* [Thesis for the degree of Philosophy Doctor]. Department of Biological Sciences

- National University of Singapore. Singapore.
- Perez-Casanova, J.C., Murray, H.M., Gallant, J.W., Ross, N.W., Douglas, S.E., & Johnson, S.C. 2006. Development of the digestive capacity in larvae of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture* 251: 377–401.
- Ribeiro, L., Couto, A., Olmedo, M., Alvarez-Blazquez, B., Linares, F., & Valente, L.M.P. 2008. Digestive enzyme activity at different developmental stages of blackspot seabream, *Pagellus bogaraveo* (Brunnich 1768). *Aquaculture Research* 39: 339-346.
- Ribeiro, L., Zambonino-Infante, J.L., Cahu C., & Dinis, M.T. 2002. Digestive enzymes profile of *Solea senegalensis* post larvae fed *Artemia* and a compound diet. *Fish Physiology and Biochemistry* 27:61-69.
- Savona, B., Tramati, C., & Mazzola, A. 2011. Digestive enzymes in larvae and juveniles of farmed sharpnose seabream (*Diplodus puntazzo*) (Cetti, 1777). *The Open Marine Biology Journal* 5:47-57.
- Shan, X-J., Huang, W., Cao, L., Xiao, Z-Z., & Dou, S-Z. 2009. Ontogenetic development of digestive enzymes and effect of starvation in miiuy croaker *Miichthys miiuy* larvae. *Fish Physiol Biochem* 35:385–398. Doi: 10.1007/s10695-008-9263-9.
- Suzer, C., Kamaci, H.O., Coban, D., Saka, S., Firat, K., Ozkara, B., & Ozkara, A. 2007. Digestive enzyme activity of the red porgy (*Pagrus pagrus*, L.) during larval development under culture conditions. *Aquaculture Research* 38: 1778-1785.
- Trieu, N.V., & Long, D.N. 2001. Seed production technology of Climbing perch (*Anabas testudineus*): A study on the larval rearing. pp 199-202. In: *Proceeding of the 2000 annual workshop of JIRCAS Mekong Delta Project*.
- Van, K.V., & Hoan, V.Q. 2009. Intensive nursing climbing perch (*Anabas testudineus*) in hapas using pellet feed at different protein levels. *J. Sci. Dev.* 7 (Eng.Iss. 2): 239 – 242.
- Vega-Orellana, O.M., Fracalossi, D.M., & Sugai, J.K. 2006. Dourado (*Salminus brasiliensis*) larviculture: Weaning and ontogenetic development of digestive proteinases. *Aquaculture* 252:484– 493.
- Walford, J., & Lam, T.J. 1993. Development of digestive tract and proteolytic enzyme activity in seabass (*Lates calcarifer*) larvae juveniles. *Aquaculture* 109 : 187-205.
- Widodo, P., Bunasir, Fauzan, G., & Syafrudin. 2007. Kaji terap pembesaran ikan papuyu (*Anabas testudineus* Bloch) dengan pemberian kombinasi pakan pelet dan keong mas dalam jaring tancap di perairan rawa. pp 1-26. Balai Budidaya Air Tawar Mandiangin. Banjarmasin: Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. Departemen Kelautan dan Perikanan.
- Worthington, V. 1993. Worthington Enzyme Manual. Enzymes and Related Biochemicals Worthington Chemical, New Jersey, US. 399pp.
- Yufera, M., & Darias, M.J. 2007. The onset of exogenous feeding in marine fish larvae. *Aquaculture* 268:53–63. doi:10.1016/j.aquaculture.2007.04.050.
- Yulintine, Harris, E., Jusadi, D., Affandi, R., & Alimuddin, 2010. Developments of digestive tract in larvae of climbing perch *Anabas testudineus* (Bloch). *Indo. Aquacul. J.* 5 (2) : 109-116.
- Zambonino Infante, J.L., & Cahu, C. 2001. Ontogeny of the gastrointestinal tract in marine fish larvae. *Comp Biochem Physiol* 130C:477–487. doi:10.1016/S1532-0456(01)00274-5