

EFFECT OF FEED RAW MATERIALS TYPES ON DISSOLVED PROTEIN CONTENT, PROTEIN HYDROLYSIS LEVEL AND FEED NUTRITION CONTENT OF ORANGE MANGROVE CRAB (*Scylla olivacea*) LARVAE FEED

Haryati*, Yushinta Fujaya, Edison Saade

Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin

* haryati_fikpunhas@yahoo.com

Abstract

Feed is one of the factors that affect the success of hatchery culture of mud crab (*Scylla olivacea*). The use of artificial feed in the form of microdiet can ensure availability, lower production costs and higher flexibility than natural feed. During this time the artificial feed used is a commercial feed, which is relatively expensive, therefore the need for research to produce artificial feed of good quality, with a cheap price. The objective of this research is to determine the combination of raw material of artificial feed protein which produce dissolved protein content, protein hydrolysis degree and best protein content of feed. The experimental design used was completely randomized with eight treatments and three replications. The treatments were the use of various combinations of feed protein ingredients : A) 100% *Artemia* flour, B) 100% fish meal, C) 100% squid meal, D) 50% *Artemia* and 50% fish meals, E) 50% *Artemia* and 50% squid meals, F) 50% fish and 50% squid meals, G) 35% fish, 35% squid and 30% *Artemia* meals, H) commercial feed. The parameters used were dissolved protein content, protein hydrolysis degree and protein feed content. The results showed that the difference of feed protein raw materials had significant effect ($p < 0,05$) on soluble protein content and feed protein hydrolysis degree. The highest content of soluble protein in in the diet with a protein raw material was squid meal, but not significantly different ($P > 0,05$) than *Artemia* meal and combination between 50% *Artemia* and 50% squid meals, but significantly different ($P < 0.05$) than other treatments. The highest degree of protein hydrolysis in the diet with a protein raw materials was *Artemia* meal, but not significantly different ($P > 0.05$) than in commercial feed as well as combination between *Artemia* and squid meal ($P > 0.05$), but significantly different ($P < 0, 05$) compared to other treatments. Feed protein content according to the needs of mangrove crab larvae. Fat content with a protein raw materials was 100% *artemia* meal was higher than the need. Carbohydrate content with a protein raw materials were 100% *artemia* meal, a combination of 50% *artemia* meal and 50% squid meal and commercial feed according to the needs of mud crab larvae.

Keywords: protein raw materials, protein hydrolysis degree, protein feed content, dissolved protein content

1. PENDAHULUAN

Pakan adalah merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan usaha pembenihan biota perairan. Penggunaan pakan buatan dalam bentuk mikro (*microdiet*) dapat menjamin ketersediaan, biaya produksi lebih rendah dan fleksibilitasnya lebih tinggi (Gatesoupe dan Luquet, 1991). Haryati *et al.* (2015) telah

melakukan penelitian pengaruh penggantian pakan alami dengan pakan buatan di mana pakan yang digunakan adalah pakan komersial, hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa pada pemeliharaan larva kepiting bakau mulai stadia zoea 1 sampai megalopa, pakan buatan baru dapat diberikan mulai stadia zoea 3. Penggunaan pakan buatan dalam pemeliharaan larva

dapat dipercepat dengan melakukan *predigest* pakan yang akan digunakan. Hasil penelitian Haryati *et al.* (2018) menunjukkan bahwa larva kepiting bakau (*Scylla olivacea*) dapat diberi pakan buatan yang sudah *dipredigest* dengan penambahan enzim papain dengan konsentrasi 4,5% pada pakan buatan mulai stadia zoea 2.

Penggunaan pakan buatan komersial harga relatif mahal, yaitu Rp. 250 000,- per kg, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengembangkan pakan buatan yang mempunyai kualitas sesuai dengan kebutuhan larva dengan harga yang lebih murah dibandingkan pakan buatan komersial. Microbound diets adalah salah satu jenis pakan buatan yang secara luas diaplikasikan pada studi nutrisi larva krustase. Kualitas microbound diets ditentukan oleh bahan baku sumber protein (May-Hellen, 2008). Bahan baku protein akan berpengaruh terhadap kualitas pakan. Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan kombinasi bahan baku sumber protein pakan buatan setelah dihidrolisa dengan menggunakan enzim papain yang menghasilkan kandungan protein terlarut, derajat hidrolisis protein dan kualitas pakan yang terbaik, serta membandingkan pakan tersebut dengan pakan komersial

2. METODE PENELITIAN

Proses pembuatan pakan dan hidrolisis pakan dilakukan di laboratorium nutrisi dan teknologi pakan, Fakultas Ilmu Kelautan dan perikanan UNHAS. Analisis kandungan protein terlarut, derajat hidrolisis protein dan analisis proksimat pakan dilakukan di laboratorium Kimia Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin. Analisis komposisi asam amino dan asam lemak pakan dilakukan di Laboratorium Terpadu IPB.

Enzim papain yang digunakan adalah Newzime yang diproduksi oleh Balai

Budidaya Air Payau (BBAP) Jepara. Pakan buatan yang digunakan adalah pakan komersial berbentuk bubuk.

Untuk menganalisis pengaruh perbedaan bahan baku protein pakan terhadap kadar protein terlarut dan derajat hidrolisis protein digunakan rancangan acak lengkap dengan 8 perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuan dalam penelitian ini yaitu:

- A. 100% tepung *Artemia*
- B. 100% tepung ikan
- C. 100% tepung cumi
- D. 50% tepung *Artemia*, 50% tepung ikan
- E. 50% tepung *Artemia*, 50% tepung cumi
- F. 50% tepung ikan, 50% tepung cumi
- G. 30% tepung *Artemia*, 35% tepung ikan, 35% tepung cumi
- H. Pakan komersial

Selain bahan baku protein ditambahkan 5% minyak ikan, 5% vitamin mineral mix dan 5% tepung tapioka sebagai bahan pengikat. Pakan dihidrolisa dengan menggunakan enzim papain 4,5%

Analisis kadar protein terlarut dan derajat hidrolisis protein dilakukan secara invitro. Ditimbang 10 g pakan yang akan *dipredigest*, ke dalam pakan tersebut selanjutnya ditambahkan enzim papain 4,5% yang sebelumnya telah diencerkan dengan 1 ml aquades. Campuran tersebut selanjutnya diinkubasikan selama 120 menit. Setelah inkubasi selesai, sampel pakan diambil sebanyak 0,5 g dan dihentikan reaksi hidrolisis proteinnya dengan menambahkan 1,5 ml larutan trikloroasetat 7% dan dibiarkan pada suhu ruang. Selanjutnya ditambah 3 ml Tris HCl pH 6,5 dan disentrifuse dengan kecepatan 10 000 rpm selama 20 menit. Supernatan yang diperoleh digunakan untuk analisis kadar protein terlarut mengikuti metode Bradford. Endapan yang dihasilkan digunakan untuk analisis kadar protein total dengan menggunakan metode

Kjeldahl. Derajat hidrolisis protein pakan dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{DHP} = \frac{P_0 - P_t}{P_0} \times 100$$

Dimana:

DHP = derajat hidrolisis protein

P₀ = kadar protein pakan sebelum dihidrolisis

P_t = kandungan protein pakan setelah hidrolisis dalam jangka waktu

Selain parameter tersebut juga dilakukan analisis proksimat, komposisi asam amino dan asam lemak pakan untuk mengevaluasi kualitas pakan yang dihasilkan.

Untuk mengetahui pengaruh perbedaan bahan baku protein pakan serta pakan komersial terhadap kandungan protein terlarut dan derajat hidrolisis protein digunakan analisis ragam (ANOVA). Apabila perlakuan berpengaruh nyata dilanjutkan dengan uji W-Tukey untuk menentukan bahan baku protein pakan yang menghasilkan kandungan protein terlarut dan derajat hidrolisis protein terbaik. Untuk mengetahui pengaruh perbedaan bahan baku protein pakan maupun pakan komersial terhadap kualitas pakan berdasarkan hasil analisis proksimat, komposisi asam amino dan asam lemak dianalisis secara diskriptif sesuai kebutuhan larva kepiting bakau.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan protein terlarut dan derajat hidrolisis protein pakan, pada berbagai bahan baku protein pakan serta pakan komersial setelah dihidrolisa dengan menggunakan enzim papain 4,5% disajikan pada Tabel 1. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perbedaan bahan baku protein pakan maupun pakan komersial berpengaruh nyata (P<0,05) terhadap kandungan protein terlarut maupun derajat

hidrolisis protein. Kandungan protein terlarut paling rendah pada pakan komersial tetapi tidak berbeda nyata (P>0,05) dibandingkan pakan dengan bahan baku protein 100% tepung ikan serta kombinasi 50% tepung ikan dan 50% tepung cumi. Kandungan protein terlarut paling tinggi pada pakan dengan sumber protein 100% tepung cumi-cumi, tetapi tidak berbeda nyata (P>0,05) dibandingkan pakan dengan sumber protein 100% tepung *Artemia* maupun kombinasi antara 50% tepung *Artemia* dan 50% tepung cumi, tetapi berbeda nyata (P<0,05) dibandingkan perlakuan lainnya.

Derajat hidrolisis protein paling tinggi pada pakan dengan bahan baku protein tepung *Artemia* tetapi tidak berbeda nyata (P>0,05) dibandingkan pada pakan komersial maupun kombinasi antara tepung *Artemia* dan tepung cumi (P>0,05), tetapi berbeda nyata (P<0,05) dibandingkan perlakuan lainnya.

Hidrolisis protein adalah proses pemecahan ikatan kovalen yang menghubungkan asam-asam amino penyusun protein. Pada proses hidrolisis, ikatan kovalen antar molekul akan terputus dan akan dihasilkan asam amino bebas (Zayas, 1997). Faktor faktor yang mempengaruhi proses hidrolisis meliputi rasio enzim dan substrat, perbedaan jenis enzim, pH, waktu dan suhu hidrolisis. Rasio antara enzim dan substrat berbanding lurus dengan derajat hidrolisa (Dumay *et al.* 2006). Peningkatan enzim protease meningkatkan jumlah nitrogen terlarut dari hidrolisat selama proses hidrolisis (Wang *et al.* 2007). Menurut Kirk dan Othmer (1985), selama hidrolisis terjadi konversi protein yang bersifat tidak larut menjadi senyawa nitrogen yang bersifat larut, selanjutnya terurai menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana, seperti peptida-peptida, asam amino dan amonia. Tingginya kandungan protein terlarut dan derajat hidrolisis protein pada pakan

dengan bahan baku protein 100% tepung *Artemia* karena pada pakan tersebut konsentrasi enzim lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Selain enzim papain yang digunakan untuk menghidrolisa pakan, pada *Artemia* juga terdapat enzim protease yang akan menghidrolisa protein. Menurut Nielsen (1997) semakin besar konsentrasi protease akan semakin banyak ikatan peptida dari

protein yang terputus menjadi peptida-peptida sederhana sehingga kelarutan protein semakin meningkat. Hal ini sesuai pendapat Haslaniza *et al.* (2010) yang menyatakan bahwa konsentrasi enzim proteolitik yang semakin meningkat dalam proses hidrolisis akan menyebabkan peningkatan kandungan nitrogen terlarut dalam hidrolisat protein ikan.

Tabel 1. Rata-rata Kandungan protein terlarut (%) dan derajat hidrolisis protein (%) pakan pada berbagai bahan baku protein setelah dihidrolisis dengan enzim papain

Perlakuan	Protein terlarut	Derajat hidrolisis Protein
A - 100% tepung <i>Artemia</i>	2,43 ^{ab} ± 0,062	65,40 ^a ± 0,3906
B - 100% tepung ikan	1,98 ^{cd} ± 0,016	48,45 ^c ± 0,2949
C - 100% tepung cumi	2,76 ^a ± 0,031	53,70 ^b ± 1,4985
D - 50% tepung <i>Artemia</i> , 50% tepung ikan	2,33 ^b ± 0,011	53,04 ^b ± 0,5773
E- 50% tepung <i>Artemia</i> , 50% tepung cumi	2,41 ^{ab} ± 0,003	63,57 ^a ± 1,1139
F - 50% tepung ikan, 50% tepung cumi	2,19 ^{cd} ± 0,009	47,20 ^c ± 0,0882
G- 30% tepung <i>Artemia</i> , 35% tepung ikan, 35% tepung cumi	2,22 ^{bc} ± 0,123	54,17 ^b ± 0,3906
H - Pakan komersial	1,82 ^d ± 0,004	64,30 ^a ± 0,3354

Keterangan: Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5%

Tingginya kandungan protein terlarut pada pakan dengan 100% tepung cumi karena kandungan protein pakan relatif tinggi sehingga substrat yang dihidrolisa juga tinggi, sedangkan pada pakan dengan bahan baku protein 50% tepung *Artemia* dan 50% tepung cumi disebabkan pengaruh kombinasi, yaitu suplai enzim protease yang berasal dari tepung *Artemia* dan tingginya kandungan protein pada cumi-

cumi. Tingginya derajat hidrolisis protein pada pakan komersial karena kandungan protein relatif rendah sehingga enzim dapat menghidrolisa pakan dengan baik. Hal ini sesuai pendapat Dumay *et al.* (2006) bahwa rasio antara enzim dan substrat berbanding lurus dengan derajat hidrolisa.

Hasil analisis proksimat pakan pada berbagai bahan baku protein serta pakan komersial disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil analisis proksimat pakan (% bobot kering)

Perlakuan	Protein	Lemak kasar	Serat kasar	BETN	Abu
A	55.22	18.02	1.15	11,19	14.42
B	52.16	12.61	1.16	4.79	29.28
C	81.21	11.10	0.84	1,43	5.42
D	54.62	13.46	0.93	9,04	21,95
E	67.00	12.97	1.27	10,26	8,5
F	65.77	10.90	0.71	5.09	17.51
G	78.32	11.33	0.70	4.75	4.90
H	47.70	3.49	2.16	27.81	18.82

Keberhasilan pemberian pakan ditentukan oleh kualitas dan kuantitas

pakan yang diberikan. Kualitas pakan secara kimiawi antara lain ditentukan oleh

kandungan protein, lemak dan karbohidrat. Kebutuhan protein pada *Scylla serrata* stadia megalopa menurut Genodepa *et al.* (2004) adalah 79,4%, sedangkan menurut Catacutan (2002) kebutuhan protein juvenil *Scylla serrata* berkisar antara 34,2%–51,8%. Kandungan protein pakan berkisar antara 47,70% - 81,21%. Berdasarkan kandungan protein, pakan dengan bahan baku protein 100% tepung cumi lebih tinggi dari kebutuhan, sedangkan pakan dengan bahan baku protein yang lain serta pakan komersial mempunyai kualitas sesuai kebutuhan larva kepiting bakau.

Lemak diketahui mempunyai peran penting sebagai sumber enersi, menjaga integritas struktur membrane biologi dan berfungsi sebagai *precursors* steroid penting (Corraze *et al.*, 2001) Pengaruh kandungan lemak pakan terhadap pertumbuhan juvenil kepiting bakau telah diteliti oleh Sheen dan Wu (1999), hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan lemak pakan berkisar antara 3,3% sampai 13,8% memenuhi kebutuhan kepiting bakau. Catacutan (2002), mengemukakan bahwa kebutuhan lemak dari juveniles *Scylla serrata* berkisar antara 6% sampai 12%. Kebutuhan lemak *Scylla serrata* stadia megalopa sebesar 6% (Genodepa *et al.*, 2004). Kandungan lemak pakan berkisar antara 3,49% - 18,02%. Kandungan lemak pakan komersial lebih rendah dibandingkan kebutuhan larva kepiting bakau, sedangkan pakan dengan bahan baku protein 100% tepung *Artemia* kandungan lemaknya lebih tinggi dari kebutuhan. Kandungan lemak pakan dengan bahan baku protein yang lain masih sesuai kebutuhan larva kepiting bakau.

Kandungan BETN pakan berkisar antara 1,43% - 27,81% bahan kering. Sheen dan Wu (1999) dan Sheen (2000) mengemukakan bahwa kebutuhan karbohidrat juvenil *Scylla serrata* berkisar antara 13,5% sampai 27% bahan kering.

Kebutuhan karbohidrat pada larva kepiting bakau belum diketahui. Berdasarkan pendapat tersebut kandungan karbohidrat pakan dengan bahan baku 100% tepung *Artemia*, kombinasi antara 50% tepung *Artemia* dan 50% tepung cumi serta pakan komersial berturut-turut 12,31%, 11,32% dan 27,81% bahan kering relatif sesuai kebutuhan larva kepiting bakau. Kandungan karbohidrat pakan yang tersusun atas beberapa bahan baku protein yang lain perlu ditingkatkan.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kandungan protein terlarut pada pakan dengan bahan baku protein 100% tepung cumi, 100% tepung *Artemia* dan kombinasi antara 50% tepung *Artemia* dan 50% tepung cumi lebih tinggi dibandingkan pakan komersial maupun bahan baku protein pakan yang lain
2. Derajat hidrolisis protein pada pakan dengan bahan baku protein pakan 100% tepung *Artemia* dan 100% tepung cumi dan pakan komersial relatif sama tetapi lebih tinggi dibandingkan bahan baku protein yang lain.
3. Kandungan protein pakan dengan bahan baku protein 100% tepung cumi lebih tinggi dari kebutuhan, sedangkan bahan baku protein yang lain serta pakan komersial sesuai dengan kebutuhan larva kepiting bakau. Kandungan lemak dengan bahan baku protein 100% tepung *Artemia* lebih tinggi dari kebutuhan. Kandungan karbohidrat pakan dengan bahan baku 100% tepung *Artemia*, kombinasi antara 50% tepung *Artemia* dan 50% tepung cumi serta pakan komersial sesuai kebutuhan larva kepiting bakau.

Berdasarkan kajian terhadap kandungan protein terlarut, derajat hidrolisis protein, dan hasil analisis proksimat, pakan yang tersusun atas

berbagai baku protein dapat menggantikan pakan komersial.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Kementerian Ristek dan Perguruan Tinggi yang telah membiayai penelitian ini melalui Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi Terapan untuk anggaran tahun 2018.

DAFTAR PUSTAKA

1. Catacutan, M. R. , 2002. Growth and body composition of juvenile mud crab, *Scylla serrata*, fed different dietary protein and lipid levels and protein to energy ratio. *Aquaculture*, 208: 113 – 123
2. Corraze, C., 2001. Lipid nutrition. In: Gillume, J., Kaushik, S., Begot., Metailler, R. (Eds.),
3. Nutrition and feeding of fish and crustacean. Praxix, Chshester, U.K, pp. 111 -129.
4. Dumay J, Donnay-Moreno C, Barnathan G, Jaouen & P, Berge. 2006. Improvement of lipid and phospholipid recoveries from sardine (*Sardina pilchardus*) viscera using industrial proteases. *Process Biochem* 41:2327-2332.DOI: 10.1016/j.procbio.2006.04.005
5. Gatesoupe, F. & P. Luquet, 1991. Practical diet for mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*: application to larval rearing of sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 22; 149 – 163
6. Genodepa, J., P.C. Southgate & C. Zeng, 2004. Preliminary assessment of amicrobound diet as an *Artemia* replacement for mud crab, *Scylla serrata* megalopa. *Aquaculture*, 236: 497 – 509.
7. Haryati, Y. Fujaya & Anugrah. 2015. Pengaruh pergantian pakan alami dengan pakan buatan terhadap aktivitas enzim pencernaan kepiting bakau (*Scylla olivacea*). *Prosiding Seminar Nasional Perikanan dan Kelautan XII UGM, jilid I Budidaya Perikanan*, hal: 137 - 144 .
8. Haryati, Y. Fujaya & E. Saade, 2018. Effect of Using Papain Enzyme in Artificial Diet on the Degree of Protein Hydrolysis and Protease Enzyme Activity of Mud Crab (*Scylla olivacea*) Larva. *Aquacultura Indonesiana* Vol. 19(2) : 76-82.(<http://aquasiana.org/index.php/ai/article/view/118/121>)
9. Haslaniza, H. 2010. The effects of enzyme concentration, temperature and incubation time on content and degree of hydrolysis of protein precipitate from cockle (*Anadara granosa*) meat wash water. *International Food Research Journal* 17: 147-152
10. Kirk, R.E. & D.F.Othmer, 1985. “ Encyclopedia of Chemical Technology “,vol.1, 3rd edition, A Willey Interscience Publication, John Wiley and Sons Co., New York.
11. May-Helen, H, 2008. Towards development of formulated diet for mud crab (*Scylla serrata*) larvae, with emphasis on lipid nutrition. PhD thesis, James Cook University. 190 pp.
12. Nielsen PM, 1997. Food Proteins and Their Applications. Marcel Dekker, Inc. New York.
13. Sheen, S.S. & S.W. Wu, 1999. The effect of dietary lipid levels on the growth response of juvenile mud crab, *Scylla serrata*. *Aquaculture*, 93: 121 – 134
14. Sheen, S.S., 2000. Dietary cholesterol requirement of juvenile mud crab *Scylla serrata*. *Aquaculture*, 189: 277 – 285
15. Wang J.S., M.M. Zhao,Q.Z. Zhao, Y. Bao & Y.M. Jiang. 2007. Characterization of hydrolysates derived from enzymatic hydrolysis of wheat gluten. *J Food Sci*72: C103–C107. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2006.00247.x.
16. Zayas, J.F. 1997. *Fungtional Properties of Protein in Food*. Springer-Verlag. Berlin
