

PENENTUAN DAYA CERNA PROTEIN *IN VITRO* IKAN BAWAL (*Colossoma macropomum*) PADA UMUR PANEN BERBEDA

Dede Saputra

Food Technology, Faculty of Engineering, BINUS University
Jln. K.H. Syahdan No. 9, Palmerah, Jakarta Barat 11480
ddsaputra@binus.ac.id

ABSTRACT

*Digestibility is part of the sample consumed and not released into the feces. This study discusses about the protein digestibility of tambaqui fish (*Colossoma macropomum*) at different ages and sizes in vitro. Protein digestibility is the ability of the organisms to break down proteins into simple molecular compounds. At the initial stage, all samples used were dried, then distilled water at pH 8 added, and later the mixture was homogenized for three minutes. After the mixture was homogeneous, enzymes and distilled water were added. Samples were then centrifuged and the absorbance of the sample was measured using absorption spectrophotometry. The results obtained during the observations showed that the digestibility of proteins in the casein showed a value of 100%, small pomfret fish for 28.37%, pomfret fish at 58.42%, and large pomfret fish amount to 88.39%. This shows the larger size of the fish, then the digestibility of protein will be higher. In addition, the lower the pH, the protein digestibility will be higher for hydrolysis of proteins requires an acidic environment of pH conditions.*

Keywords: digestibility of proteins, tambaqui, in vitro, hydrolysis, casein

ABSTRAK

*Daya cerna merupakan bagian dari sampel yang dikonsumsi dan tidak dikeluarkan melalui tinja. Penelitian ini bertujuan untuk kemampuan daya cerna protein dari ikan tambak (*Colossoma macropomum*) pada usia panen dan ukuran yang berbeda secara in vitro. Protein cerna adalah kemampuan organisme untuk memecah protein menjadi senyawa molekul sederhana. Pada tahap awal semua sampel yang akan digunakan dikeringkan terlebih dahulu, kemudian ditambahkan air suling pada pH 8, lalu campuran sampel dalam dihomogenkan selama tiga menit. Kemudian setelah campuran homogen, dilakukan penambahan enzim dan penambahan air suling. Sampel kemudian disentrifugasi dan lalu dilakukan pengukuran absorbansi sampel dengan menggunakan spektrofotometri serapan. Hasil yang diperoleh selama pengamatan menunjukkan bahwa daya cerna protein pada standar kasein menunjukkan nilai pencernaan 100%; ikan bawal dengan ukuran kecil memiliki daya cerna 28,37%; ikan bawal ukuran sedang memiliki daya cerna 58,42%; dan ikan bawal memiliki daya cerna sebesar 88,39%. Hal ini menunjukkan bahwa ikan dengan ukuran yang lebih besar memiliki daya cerna protein lebih tinggi. Selain itu, makin rendah pH, maka daya cerna protein akan lebih tinggi karena hidrolisis protein membutuhkan lingkungan asam kondisi pH.*

Kata kunci: daya cerna protein, ikan tambak, in vitro, hidrolisis, kasein

PENDAHULUAN

Ikan bawal (*Colossoma macropomum*) merupakan ikan yang berkerabat dekat dengan piranha di Sungai Amazon, Brazil. Berbeda dengan kerabatnya yang bersifat karnivora, ikan bawal cenderung bersifat omnivora. Ikan ini banyak dibudidayakan pada tahap juvenil untuk dijadikan sebagai komoditas ikan hias. Saat ini ikan bawal mulai beralih menjadi komoditas ikan konsumsi. Hal ini disebabkan oleh rasa dagingnya yang cukup enak, pemberian pakan yang cukup mudah, dan pertumbuhannya yang berlangsung relatif cepat. Saat ini, ikan bawal banyak dipilih pembias ikan air tawar sebagai produk unggulan (Ekasanti *et al.* 2007).

Pertumbuhan merupakan salah satu parameter penting dalam budi daya ikan karena pertumbuhan menentukan besarnya produksi. Pertumbuhan yang dicapai pada ikan yang mendapat pembatasan pakan secara periodik berkorelasi terhadap kemampuan memanfaatkan pakan yang meliputi proses yang dikatalisis oleh enzim digesti (Ekasanti *et al.*, 2007). Pencernaan makanan sangat penting untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan, baik ikan pada fase larva maupun ikan yang telah memasuki fase dewasa. Sistem pencernaan ikan pada umur dan ukuran yang berbeda akan memiliki kemampuan daya cerna yang berbeda pula. Hal ini berhubungan dengan kondisi fisiologis ikan yang berubah selama fase hidupnya. Sebagai contoh, ikan pada fase larva memiliki sistem pencernaan yang secara struktural dan fungsional kurang kompleks dibandingkan dengan ikan dewasa (Silva *et al.*, 2007).

Protein merupakan komponen yang berperan penting dalam pertumbuhan suatu makhluk hidup. Protein yang terkandung dalam bahan pangan akan mengalami pencernaan setelah dikonsumsi menjadi unit-unit penyusunnya seperti asam-asam amino dan atau peptida (Damodaran, 1996). Proses pencernaan protein tersebut membutuhkan bantuan enzim protease, seperti tripsin, kimotripsin, pepsin, dan sebagainya.

Daya cerna protein adalah kemampuan suatu protein untuk dicerna oleh enzim pencernaan protease. Daya cerna protein adalah kemampuan protein untuk dapat dihidrolisis menjadi asam-asam amino oleh enzim-enzim pencernaan; yang jika daya cerna protein tinggi berarti protein dapat dihidrolisis dengan baik menjadi asam-asam amino sehingga jumlah asam amino yang dapat diserap dan digunakan oleh tubuh tinggi, sedangkan daya cerna protein rendah berarti protein sulit untuk dihidrolisis menjadi asam amino sehingga jumlah asam amino yang dapat diserap dan digunakan oleh tubuh rendah karena sebagian besar akan dibuang oleh tubuh bersama feses (Muchtadi, 1989). Diketahui beberapa faktor yang memengaruhi daya cerna protein yakni faktor eksogenus dan endogenus (Guo *et al.*, 2007). Faktor eksogenus yaitu interaksi protein dengan polifenol, fitat, karbohidrat, lemak, dan protease inhibitor (Duodu *et al.*, 2003; Ikeda *et al.*, 1986). Sedangkan faktor endogenus terkait dengan karakterisasi struktur protein seperti struktur tersier, kuaterner, serta struktur yang dapat rusak oleh panas dan perlakuan reduksi (Deshpande & Damodaran, 1989; Ikeda *et al.*, 1991; Vaintraub *et al.* 1979).

Penentuan daya cerna protein dapat dilakukan secara *in vivo* maupun *in vitro*. Metode *in vivo* sering kali dianggap mahal dan terlalu lama. Metode *in vitro* lebih praktis dan dengan cara menggunakan enzim-enzim pencernaan dan membuat kondisi yang mirip dengan yang sesungguhnya terjadi dalam pencernaan tubuh manusia. Pada hidrolisis ikatan peptida dalam suatu jenis oleh enzim protease akan dibebaskan ion-ion hidrogen sehingga menyebabkan penurunan pH. Oleh karena itu penentuan daya cerna protein secara *in vitro* dapat dilakukan dengan analisis penurunan pH protein yang terjadi setelah reaksi hidrolisis.

Penelitian tentang daya cerna protein pada berbagai spesies ikan telah banyak dilakukan namun studi tentang daya cerna protein ikan pada umur panen yang berbeda masih jarang dilakukan.

Padahal pengetahuan tentang perbedaan daya cerna pada fase hidup ikan yang berbeda dapat membantu pembudi daya untuk memilih pakan yang tepat bagi ikan yang dibudidayakan. Karena itu, studi ini berupaya mengetahui daya cerna ikan bawal pada umur panen yang berbeda terhadap kasein menggunakan enzim proteolitik secara *in vitro*. Di masa depan studi ini dapat dimanfaatkan para pembudi daya untuk efektivitas dan efisiensi pemberian pakan pada budi daya ikan bawal air tawar.

METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada studi ini adalah kasein, ikan kecil, ikan sedang, dan ikan besar dengan pereaksi aquades pH 8.0, NaOH 1N, TCA 0.1M, NO_2CO_3 , pereaksi folin, dan campuran enzim (1,6 mg Tripsin dengan + 3,1 mg kemotripsin + 4 mg pankreatin per ml aquades atau bufer fosfat pH 8.0), TCA 0.1 M, Na_2CO_3 0.4 M, dan pereaksi Folin 50 % (30 ml Folin + 60 ml aquades). Alat-alat yang digunakan diantaranya Spektrofotometer uv (*double beam/ single beam*) spectronik 200, sentrifugasi (*incucell 50*), mesin vorteks, gelas piala, cuvet, pipet, dan inkubator.

Analisis *in vitro* daya cerna protein ikan

Sampel ikan dari berbagai ukuran dibuat menjadi bentuk serbuk kering. Kasein standar dan ikan yang berbentuk serbuk kering diambil sebanyak 0.5 g untuk 2 ulangan. Sampel kemudian ditambahkan dengan 30 mL aquades pH 8.0 dan diaduk hingga homogen. Campuran yang telah homogen kemudian diambil sebanyak 20 mL untuk dilakukan perlakuan sementara sisanya dilakukan pengukuran pH awal dari 20 mL sampel yang telah diambil kemudian dibagi dua untuk 2 perlakuan. Perlakuan pertama, yakni sebagai blanko dan perlakuan kedua diberi 1 mL larutan enzim. Kedua sampel tersebut kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37 °C. Larutan yang telah diinkubasi tersebut kemudian diambil sebanyak 2 mL dan dimasukkan ke tabung reaksi, sementara sisanya dilakukan pengukuran pH setelah diinkubasi. Dua mL larutan pada tabung reaksi kemudian ditambahkan TCA 0.1 M sebanyak 4 mL lalu divorteks dan disentrifugasi 3500 rpm selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan dari hasil sentrifugasi diambil sebanyak 1.5 mL kemudian ditambahkan Na_2CO_3 sebanyak 5 mL serta folin sebanyak 1 mL. Larutan tersebut kemudian diinkubasi selama 20 menit pada suhu 37 °C; dan terakhir dilakukan pengukuran absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 578 nm.

Analisis Data

Analisis statistika yang digunakan pada penelitian ini meliputi analisis deskriptif uji rata-rata dan standar deviasi dengan menggunakan *software Ms. Excel*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan daya cerna protein ikan bawal

Daya cerna adalah bagian pakan yang dikonsumsi dan tidak dikeluarkan menjadi feses (Maynard, *et al.*, 1979). Daya cerna (%) dari protein yang terdapat dalam bahan makanan merupakan perbandingan antara kadar N total filtrat yang menunjukkan kadar protein tercerna total dengan kadar N total sampel yang menunjukkan protein awal total (Ophart, 2003). Protein yang berasal dari bahan makanan ketika memasuki sistem pencernaan mengalami berbagai perubahan. Kerja dari asam

lambung dan enzim-enzim pencernaan di dalam usus akan mengubah protein yang masuk ke dalam tubuh menjadi asam-asam amino. Sekali asam-asam amino ini masuk ke dalam sistem sirkulasi di tubuh, asam-asam amino ini tidak akan dapat dibedakan dari asam amino yang berasal dari proteolisis intraselular dalam tubuh (Groff & Gropper, 2001).

Tabel 1 merupakan hasil analisis hubungan daya cerna protein dengan absorbansi sampel dengan 3 ukuran ikan pada umur panen yang berbeda (ukuran kecil, sedang, dan besar).

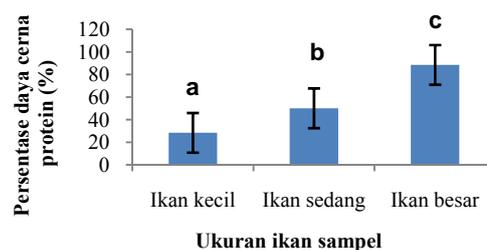
Tabel 1 Hubungan Daya Cerna Protein dengan Absorbansi Sampel

Sampel	Absorbansi		Daya cerna protein (%)
	Blanko	Enzim	
Kasein	0,1565	0,7915	100
Ikan kecil	0,0955	0,2700	28,3708 ± 8,2477
Ikan sedang	0,3235	0,6295	50,0546 ± 17,2719
Ikan besar	0,3820	0,9295	88,4413 ± 20,0266

Keterangan: data disajikan purata ± standar deviasi

Daya cerna protein ikan, makin tinggi dengan makin besar ukuran ikan. Tabel 1 menunjukkan bahwa daya cerna protein ikan ukuran kecil sebesar 28,3708±8,2477%, daya protein ikan ukuran sedang 50,0546±17,2719%, dan daya protein ikan ukuran besar 88,4413±20,0266%. Beberapa faktor dapat memengaruhi daya cerna protein seperti faktor-faktor antinutrisi seperti anti tripsin, anti kimotripsin dapat menurunkan daya cerna suatu protein. Di samping itu, terjadinya reaksi antara protein (asam amino) dengan komponen lain, juga dapat memengaruhi daya cerna protein. Pengolahan atau pengawetan bahan pangan berprotein yang tidak dikontrol dengan baik juga dapat menurunkan nilai gizi protein, misalnya proses penghancuran, pemanasan, pemasakan, dan pengeringan. Kesemuanya ini dapat menyebabkan menurunnya nilai gizi protein akibat menurunnya daya cerna protein dan menurunnya ketersediaan asam amino esensial.

Gambar 1 menunjukkan kurva daya cerna protein dari berbagai ukuran sampel



Gambar 1 Kurva daya cerna protein ikan bawal pada berbagai umur panen

Keterangan : superskrip yang berbeda pada kolom menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$)

Suatu protein yang mudah dicerna menunjukkan bahwa jumlah asam amino yang dapat diserap dan digunakan oleh tubuh tinggi. Sebaliknya, suatu protein yang sukar dicerna karena sebagian besar akan dibuang oleh tubuh bersama feses. Menurut Suhardjo dan Kusharto (1992), proses daya cerna terhadap protein dimulai dengan perombakan terhadap ikatan peptida yang terjadi di dalam

lambung dengan menggunakan media yang asam dari cairan lambung. Cairan lambung menghasilkan “*protein-splitting enzyme*”, yaitu pepsin (*gastric protease*) yang bekerja merombak ikatan peptida protein menjadi asam amino yang lebih pendek disebut pepton. Dari lambung, protein yang sudah dicerna akan masuk ke usus, tempat media yang asam sudah dinetralkan menjadi sedikit alkalis. Cairan pankreas menghasilkan dua macam “*protein-splitting enzyme*”, yaitu enzim tripsin dan kimotripsin (*pancreatic protease*): 30% dari protein dirombak menjadi asam amino sederhana dan langsung diserap usus, sedangkan 70% protein dipecah menjadi dipeptida, tripeptida, atau terdiri atas lebih dari tiga asam amino.

Inkubasi dilakukan untuk mengefektifkan kerja enzim protease yang digunakan untuk memecah protein pada sampel daging ikan bawal air tawar. Inkubasi menyebabkan terjadinya hidrolisis protein oleh enzim tripsin, kemotripsin, dan pankreatin. Kondisi inkubasi disesuaikan dengan kondisi lambung dimana suhu 37 °C merupakan suhu normal tubuh manusia. Penggunaan *waterbath* yang digerakkan bertujuan untuk mengkondisikan campuran sampel dan enzim sebelum dilakukan inkubasi. Hur *et al.* (2011) menyatakan gerakan yang ditimbulkan akan menyerupai gerak peristaltik lambung yang berfungsi untuk menghomogenkan bahan (bolus) dengan getah lambung agar fungsi getah lambung optimal dan diperoleh campuran yang homogen.

Protein daging ikan bawal yang telah dihidrolisis diukur absorbansinya dan dihitung daya cernanya. Protein yang telah dihidrolisis diukur hidrolisis dengan spektrofotometri dengan $\lambda = 570$ nm. Hasil studi menunjukkan daya cerna paling tinggi yaitu kasein yakni 100% dan daya cerna paling kecil ditemukan pada ikan kecil yaitu sebesar $28,3708 \pm 8,2477\%$. Ikan yang memiliki daya cerna paling tinggi adalah ikan besar dengan daya cerna sebesar $88,4413 \pm 20,0266\%$.

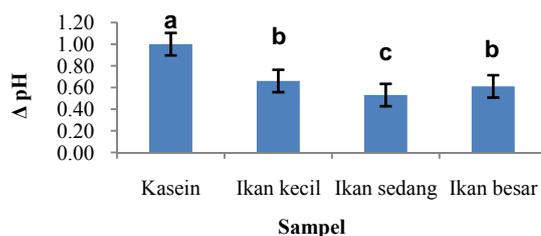
Penentuan pH substrat selama proses hidrolisis

Bila suatu protein dihidrolisis oleh enzim protease, akan dilepaskan sejumlah ion-ion hidrogen yang berasal dari asam amino yang lepas dari protein. Makin besar daya cerna protein, makin banyak pula ion-ion hidrogen yang dilepaskan akibat terhidrolisisnya protein oleh enzim protease, sehingga makin rendah pula pH-nya. Penurunan pH sampel dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Penurunan pH Sampel

Sampel	pH		Δ pH (rata-rata)		
	sebelum	sesudah		blanko	enzim
		blanko	enzim		
Kasein	8,10	7,10	7,63	0,57	1,00
Ikan kecil	7,07	6,42	6,92	0,16	0,66
Ikan sedang	7,19	6,65	6,95	0,34	0,53
Ikan besar	7,15	6,54	6,87	0,28	0,61

Penurunan pH masing-masing sampel berbeda-beda. Tabel 2 menunjukkan bahwa penurunan enzim pada sampel ikan kecil sebesar 0,66, ikan sedang sebesar 0,53, dan ikan besar sebesar 0,61. Makin kecil ukuran ikan, penurunan pH-nya makin besar, dan sebaliknya, Kurva penurunan pH berbagai sampel dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2 Grafik Penurunan pH

Keterangan : superskrip yang berbeda pada kolom menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$)

Proses hidrolisis menyebabkan terlepasnya ion H^+ sehingga akan bersifat asam. Makin banyak protein yang terhidrolisis, maka pH akan makin cenderung mengalami penurunan atau bersifat asam. Rata-rata pH sampel mengalami penurunan setelah penambahan enzim. Hasil studi menunjukkan bahwa penurunan nilai pH paling tinggi pada kasein yakni sebesar 1,00. Penurunan pH enzim paling rendah terjadi pada ikan dengan umur panen sedang yakni sebesar 0,53. Sedangkan ikan dengan umur panen besar mengalami penurunan pH yang lebih tinggi yakni sebesar 0,66 dibandingkan 2 jenis ikan dengan umur panen yang lebih cepat. Penurunan pH menunjukkan bahwa makin banyak ion H^+ yang terlepas akibat proses hidrolisis protein. Makin rendah penurunan pH, maka makin tinggi daya cerna proteinnya (Lemos *et al.*, 2009).

Daya cerna protein yang didapatkan dari pengolahan data absorbansi sampel tidak sejalan dengan perubahan pH yang terjadi sebelum dan sesudah proses hidrolisis sampel oleh enzim protease. Perubahan pH diduga tidak hanya disebabkan oleh faktor hidrolisis oleh enzim protease saja, tetapi juga bisa disebabkan oleh sifat kimia dari bahan tersebut yang komponennya sangat dipengaruhi oleh berbagai proses yang dilakukan selama percobaan. Beberapa faktor yang dapat memengaruhi daya cerna suatu protein meliputi kondisi fisik dan kimia bahan. Salah satunya adalah perbandingan asam amino yang menyusun protein. Protein yang sudah mengalami denaturasi akan mudah dicerna; selain itu juga makin besar ukuran ikan maka proteinnya juga makin mudah untuk dicerna (Muchtadi, 1989). Beberapa faktor lain yang memengaruhi daya cerna suatu bahan, yaitu senyawa anti gizi seperti tripsin inhibitor dan fitat (Ophart, 2003).

SIMPULAN

Penentuan nilai daya cerna protein ikan dapat dilihat dari penurunan pH dan persentase daya cerna. Makin rendah penurunan pH, maka makin tinggi daya cerna protein. Ikan bawal besar memiliki daya cerna protein paling tinggi, yaitu sebesar $(88,4413 \pm 20,0266)$. Sedangkan ikan kecil memiliki daya cerna protein terendah, yaitu $(28,3708 \pm 8,2477)$. Ukuran, umur, jenis spesies, dan perlakuan yang diberikan sangat menentukan nilai daya cerna protein ikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Damodaran, S. (1996). Amino Acids, Peptides, and Proteins. Di dalam: Fennema, OR. (Ed.). *Food Chemistry*. Third Edition. New York: Marcel Dekker.
- Deshpande, S. S. & Damodaran, S. (1989). Heat induced conformational changes in phaseolin and its relation to proteolysis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Protein Structure and Molecular Enzymology*, 998(2), 179–188.

- Duodu, K. G., Taylor, J. R. N., Belton, P.S., & Hamaker B. R. (2003). Factors affecting sorghum protein digestibility. *Journal of Cereal Science*, 38(2), 117–131.
- Ekasanti, A., Sukardi, P., & Yuwono, E. (2007). Growth of tambaqui (*Colossoma macropomum*) under periodic of starvation. *Journal of Aquacultura Indonesiana*, 8(3), 183–188.
- Groff, J. L., & Gropper S. S. (2001). *Advance Nutrition and Human Metabolism*. 3th Edition. USA: Wardsworth/Thomson Learning.
- Guo, X., Yao, H., & Chen, Z. (2007). Effect of heat, rutin and disulfide bond reduction on in vitro pepsin digestibility of Chinese tartary buckwheat protein fractions. *Food Chemistry*, 102(1), 118–122.
- Hur, S. J., Lim, B. O., Decker, E. A., McClements, D. J. (2011). In vitro human digestion models for food applications. *Journal of Food Chemistry*, 125(1), 1–12.
- Ikeda, K., Oku, M., Kusano, T., & Yasumoto, K. (1986). Inhibitory potency of plant antinutrients towards the in vitro digestibility of buckwheat protein. *Journal of Food Science*, 51(6), 1527–1530.
- Lemos, D., Lawrence, A. L., Siccardi, A.J. (2009). Prediction of apparent protein digestibility of ingredients and diets by in vitro pH-stat degree of protein hydrolysis with species specific enzymes for juvenile Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 295(1–2), 89–98.
- Maynard, L.A., Loosli, J. K., Hintz, H. F., & Warner, R. G. (1979). *Animal Nutrition*. 7th Edition. McGraw-Hill.
- Muchtadi. (1989). *Evaluasi Nilai Gizi Pangan*. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Jenderal Pendidikan Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi IPB.
- Ophart, C. E. (2003). *Virtual Chembook*. Illinois: Elmhurst College.
- Silva, C. R., Gomes, L. C, dan Brandao, F. R. (2007). Effect of feeding rate and frequency on tambaqui (*Colossoma macropomum*) growth, production and feeding costs during the first growth phase in cages. *Aquaculture*, 264(1-4), 135–139.
- Suhardjo & Kusharto, C. M. (1992). *Prinsip-prinsip Ilmu Gizi*. Yogyakarta: Kanisius.
- Vaintraub, I. A., Seliger, P., & Shutov, A. D. (1979). Action of pepsin on the reserve proteins of some leguminous seeds. *Nahrung*, 23(1), 15–21.