

PERKEMBANGAN ENZIM PENCERNAAN LARVA IKAN PATIN, *Pangasius hypophthalmus* sp.

Development of Digestive Enzymes in Patin Catfish, *Pangasius hypophthalmus* sp., Larvae

I. Effendi¹⁾, Widanarni¹⁾ & D. Augustine¹⁾

¹⁾ Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor
Kampus Darmaga Bogor (16680), Indonesia

ABSTRACT

Development of digestive enzymes; protease, lipase and amylase were observed in patin catfish, *Pangasius hypophthalmus*, larvae. The 1 day old larvae (day after hatching), with 3,37-3,97 mm length and 0,62-0,79 mg weight, were reared in aquarium 60x50x40 cm with stocking density of 20 fish/l. Larvae were fed *Artemia* dan tubificid worms 2-8 dan 7-15 days after hatching (dAH), respectively (schedule I); 2-6 and 5-15 dAH (schedule II); and 2-4 and 5-15 dAH (schedule III). *Chlorella* was ready to eat by larvae at the entirely rearing. For enzyme assay, larvae were sampled from each aquarium at stages of 1, 2, 3, 5, 7, 10 and 15 dAH. Protease and lipase activity were detected in digestive tract of 1 dAH larvae. Digestive enzymes development have a similar pattern in larvae for all feeding schedules. Protease activity decreased with the increasing of age until 3 dAH, then increased until the larvae reached 7 dAH, and sharply decreased until 10 dAH and then slowly decreased thereafter. Lipase activity tended to increase slowly with age up to 3 dAH, and increased sharply until 5 dAH, and then decreased sharply until 7 dAH before decreased again up to the end of rearing. Amylase activity in larvae increased slowly with the increasing of age up to 5 dAH, then increased sharply until 7 dAH, and decreased thereafter. In dimly lighted larvae, amylase activity decreased before increased up to 12 dAH, then decreased thereafter. The amount of food organisms in larval gut, body weight and length, and survival rate of larvae were also measured and discussed.

Key Words: Digestive enzymes, development, larvae, patin catfish, *Pangasius hypophthalmus*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perkembangan enzim protease, lipase dan amilase saluran pencernaan larva ikan patin akibat perubahan skedul pemberian pakan. Larva ikan patin (panjang 3,77–3,97 mm dan bobot 0,62–0,79 mg) berumur 1 hari dipelihara di akuarium 60x50x40 cm dengan kepadatan 20 ekor/l. Larva diberi pakan dengan tiga skedul pemberian; skedul I, *Artemia* dan cacing diberikan ketika larva ikan patin berumur masing-masing 2-8 dan 7-15 hari; skedul II, *Artemia* 2-6 hari dan cacing 5-15 hari; skedul III, *Artemia* 2-4 hari dan cacing 5-15 hari. *Chlorella* diberikan sepanjang pemeliharaan larva. Contoh larva umur 1, 2, 3, 5, 7, 10 dan 15 hari diambil sebanyak 0,5 g setelah dipuasakan selama 4 jam. Asai protease, lipase dan amilase terhadap homogenate larva dilakukan dengan menggunakan masing-masing substrat kasein 1%, minyak kelapa sawit dan pati 1%. Anatomi, isi saluran pencernaan, pertumbuhan bobot dan kelangsungan hidup larva juga diamati. Tidak terdapat perbedaan pertumbuhan larva yang diberi pakan dengan skedul berbeda, namun larva yang diberi *Artemia* lebih lama (skedul I) memiliki kelangsungan hidup lebih baik. Larva ikan patin umur 1 hari setelah menetas ternyata sudah mengandung enzim protease dan lipase di saluran pencernaannya. Perkembangan enzim pencernaan memiliki pola yang hampir sama pada setiap skedul pemberian pakan. Aktivitas protease menurun pada larva umur 3 hari, selanjutnya meningkat tajam hingga larva umur 7 hari, kemudian menurun tajam hingga larva umur 10 hari dan akhirnya menurun landai. Aktivitas lipase meningkat lambat hingga larva umur 3 hari, kemudian meningkat tajam hingga larva umur 5 hari, selanjutnya menurun tajam hingga larva umur 7 hari dan akhirnya menurun landai. Aktivitas amilase semakin meningkat lambat dengan bertambahnya umur larva hingga 5 hari, selanjutnya meningkat tajam hingga larva berumur 7 hari dan kemudian menurun. Perkembangan enzim pencernaan larva ikan patin ini sejalan dengan perkembangan (diferensiasi) anatomi saluran pencernaan. Saluran pencernaan larva berisi *Artemia*, cacing dan plankton dengan jumlah yang semakin meningkat dengan bertambahnya umur larva.

Kata kunci: Enzim pencernaan, perkembangan, larva, ikan patin, *Pangasius hypophthalmus*

PENDAHULUAN

Ikan patin, *Pangasius hypophthalmus*, merupakan salah satu komoditas yang sukses dibudidayakan, baik pembenihan maupun pembesaran. Sejak krisis moneter dengan nilai dolar yang meninggi dan berfluktuasi, di pembenihan ikan patin dilakukan upaya mengurangi pemberian *Artemia* yang merupakan barang impor, dan menggantikannya dengan cacing yang merupakan barang lokal. Hal tersebut dilakukan dengan mempersingkat pemberian *Artemia* dan mem-

eri lebih awal cacing bagi larva. *Artemia* mengandung enzim (*exogenous enzymes*) yang dapat membantu larva mencernanya (Lauf & Hofer 1984) dan cacing mungkin tidak. Enzim pencernaan larva ikan patin mungkin belum siap untuk mencerna cacing karena saluran pencernaan masih sangat sederhana dan produksi enzim sangat rendah, sehingga mengurangi kemampuan cerna dan akhirnya mempengaruhi kualitas benih yang dihasilkan. Kualitas pakan bisa mempengaruhi metamorfosis, perkembangan awal dan viabilitas larva (Hamre *et al.* 2002)

Pada larva ikan, alat pencernaannya masih sangat sederhana, relatif pendek, dan belum berdiferensiasi (Stroband & Dabrowski 1979). Kemudian dengan bertambahnya umur, melalui diferensiasi alat pencernaan, larva ikan akan berubah perlahan-lahan memasuki stadia dengan habitat pemangsaan yang spesifik (Hofer & Udin 1985). Perkembangan tersebut selain terjadi secara morfologis/anatomis, juga secara fisiologis yakni perkembangan enzim-enzim pencernaan dan aktivitasnya. Jadi struktur morfologis saluran pencernaan yang masih sederhana berkorelasi dengan rendahnya produksi enzim-enzim pencernaan (Lauf & Hofer 1984) dan ini merupakan masalah utama dalam pemberian pakan bagi larva pada stadia awal (Kawai & Ikeda 1973).

Perkembangan enzim pencernaan dan korelasinya dengan perkembangan anatomis alat pencernaan telah dipelajari pada larva ikan Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), winter flounder (*Pleuronectes americanus*) dan yellowtail flounder (*Pleuronectes ferruginea*) (Murray *et al.* 1996), ikan white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) (Gawlicka *et al.* 1995), ikan silthead seabream (*Sparus aurata*) (Sarasquete *et al.* 1995), ikan kakap (*Lates calcarifer*) (Walford & Lam 1993), ikan nila (*Oreochromis niloticus*) (Tengjaroenkul *et al.* 2002) dan ikan hias diskus (*Symphysodon aequifasciata*) (Chong *et al.* 2002). Sementara itu studi mengenai perkembangan enzim pencernaan dan responsnya terhadap perubahan pakan yang diberikan telah dilakukan pada ikan sea bass (*Dicentrarchus labrax*) (Zambonino & Cahu 1994), udang *Penaeus japonicus* (Le Vay *et al.* 1993), ikan sea bass (*Dicentrarchus labrax*) (Nolting *et al.* 1999), ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) (Garcia-Ortega *et al.* 2000), ikan red drum (*Sciaenops ocellatus*) (Lazo *et al.* 2000) dan udang *Litopenaeus vannamei* (Brito *et al.* 2001; Puello-Cruz *et al.* 2002). Hampir belum ada informasi mengenai perkembangan enzim pencernaan pada larva ikan patin dan kaitannya dengan perkembangan alat pencernaan dan status pakan yang diberikan.

BAHAN DAN METODE

Larva ikan patin (panjang 3,77–3,97 mm dan bobot 0,62–0,79 mg) berumur 1 hari setelah menetas ditebar kedalam akuarium dengan kepadatan 20 ekor/l atau 1500 ekor/akuarium. Akuarium yang digunakan berukuran 60x50x40 cm sebanyak 9 unit dan diisi air (pH 7,16, alkalinitas 21,02 ppm dan amoniak 0,078 ppm) setinggi 25 cm atau sebanyak 75 liter yang berasal dari kolam setelah diendapkan dan diaerasi selama 24 jam. Air diaerasi dan suhunya dipertahankan pada 29–30 °C menggunakan pemanas air satu unit per akuarium. Selama pemeliharaan, larva diberi *Chlorella*, *Artemia* dan cacing sutera dengan tiga skedul

pemberian; skedul I, *Artemia* dan cacing diberikan ketika larva ikan patin berumur masing-masing 2-8 dan 7-15 hari; skedul II, *Artemia* 2-6 hari dan cacing 5-15 hari; skedul III, *Artemia* 2-4 hari dan cacing 5-15 hari. Selama 15 hari pemeliharaan, porsi *Artemia* pada skedul pemberian pakan I relatif lebih banyak dan semakin berkurang pada skedul II dan III, sebaliknya porsi cacing. *Chlorella* diberikan ketikan larva berumur 1 hingga 15 hari (Nass *et al.* 1992). *Artemia* diberikan setiap 4 jam, sedangkan cacing setiap 6 jam dalam sehari. Lokasi pemeliharaan larva adalah di Laboratorium Sistem dan Teknologi Budidaya Perairan, Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB, Bogor.

Contoh larva ketika berumur 1, 2, 3, 5, 7, 10 dan 15 hari diambil sebanyak 0,5 g setelah dipuaskan selama 4 jam. Larva, selanjutnya, ditampung dalam gelas Beaker selama 2 jam untuk membuang sisa pakan dalam lambung larva melalui pencernaan, penyerapan dan eksresi. Tubuh larva selanjutnya dihomogenasi sebelum diasai. Asai protease dilakukan dengan menggunakan substrat kasein 1% dan larutan buffer borat 0,01 M (pH 8) mengikuti metode yang dilakukan Bergmeyer *et al.* (1983). Asai lipase dilakukan dengan menggunakan substrat minyak kelapa sawit dan larutan buffer asetat 0,05 M (pH 5,6) mengikuti metode yang dilakukan Linfield *et al.* (1984). Asai amilase dilakukan dengan menggunakan substrat pati 1% dan larutan buffer sitrat (pH 5,7) mengikuti metode yang dilakukan Bernfield *et al.* (1955). Aktivitas enzim dilaporkan dengan satuan mol substrat yang dihidrolisis per menit per bobot kering contoh (Bergmeyer *et al.* 1974). Asai enzim dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Biokimia, Pusat Antar Universitas Ilmu Hayat, IPB, Bogor. Anatomi saluran pencernaan larva diamati melalui preparat histologi setelah diwarnai dengan hematoxylin eosin (HE), sedangkan isi dan jumlah saluran pencernaan diamati di bawah mikroskop binokuler. Pertumbuhan bobot larva dihitung dengan menggunakan rumus $W_t = W_0 \times e^{+kt}$, dengan W_t dan W_0 masing-masing adalah bobot larva pada waktu ke-t dan ke-0 (mg), k adalah laju pertumbuhan (%) dan t adalah waktu pengamatan (hari) (Huisman 1976), sedangkan kelangsungan hidup dihitung dengan menggunakan rumus $S_r = N_t/N_0 \times 100\%$, dengan S_r adalah kelangsungan hidup (%), N_t dan N_0 masing-masing adalah jumlah larva pada waktu ke-t dan ke-0 (ekor).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

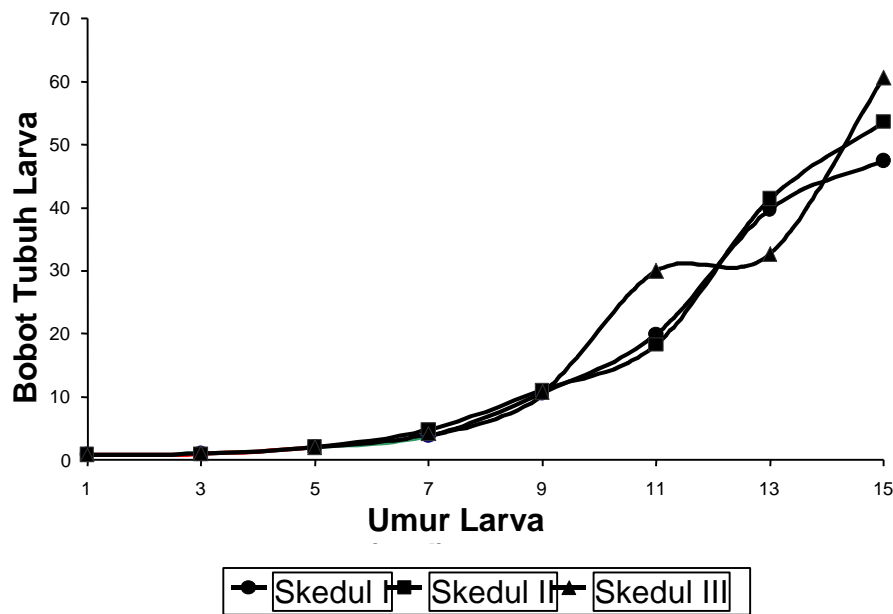
Pertumbuhan larva ikan patin yang dipelihara dengan 3 skedul pemberian pakan ternyata tidak berbeda (Gambar 1). Pola pertumbuhan larva juga hampir sama, 5 hari pertama tumbuh lambat kemudian

meningkat pesat secara eksponensial hingga mencapai bobot 47,5-60,6 mg. Meskipun demikian, larva ikan patin yang diberi Artemia lebih lama (skedul I) ternyata memiliki kelangsungan hidup (72,69%) lebih baik dari skedul lainnya ($p < 0,05$).

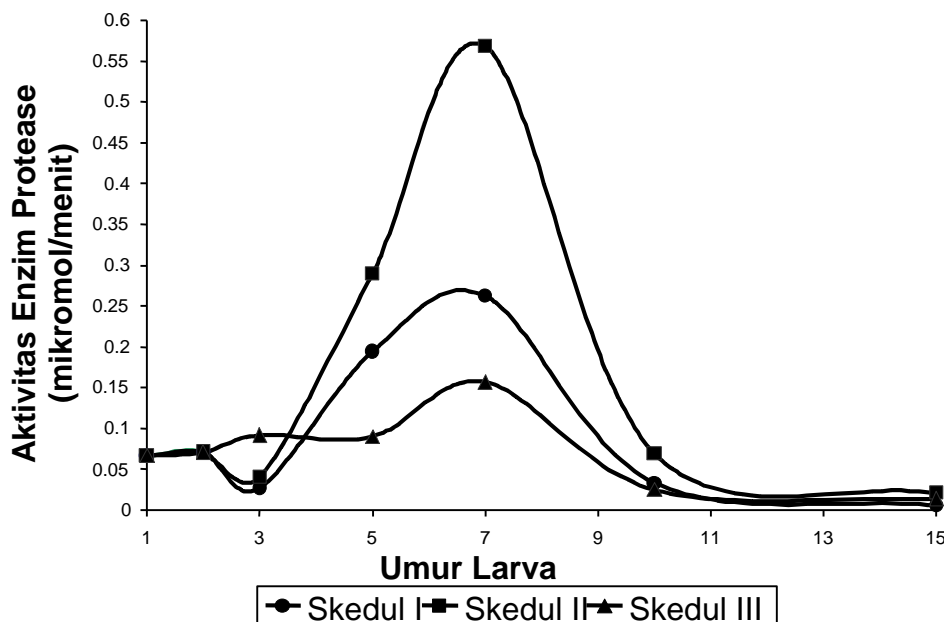
Larva ikan patin umur 1 hari setelah menetas ternyata sudah mengandung enzim protease di saluran pencernaannya. Perkembangan enzim protease selanjutnya memiliki pola yang hampir sama pada setiap skedul pemberian pakan (Gambar 2). Aktivitas protease menurun pada larva umur 3 hari, selanjutnya

meningkat tajam hingga larva umur 7 hari, kemudian menurun tajam hingga larva umur 10 hari dan akhirnya menurun landai. Aktivitas enzim ini relatif lebih tinggi pada larva yang dipelihara dengan skedul II, kemudian I dan III berturut-turut 0,021–0,568; 0,006–0,262 dan 0,014– 0,157 $\mu\text{mol}/\text{menit}$.

Larva ikan patin umur 1 hari ternyata juga sudah memiliki aktivitas lipase di dalam saluran pencernaannya. Perkembangan enzim ini selanjutnya juga memiliki pola yang hampir sama pada setiap



Gambar 1. Pertambahan bobot larva ikan patin, *Pangasius hypophthalmus*, umur 1, 2, 3, 5, 7, 10 dan 15 hari yang dipelihara dengan skedul pemberian pakan yang berbeda.



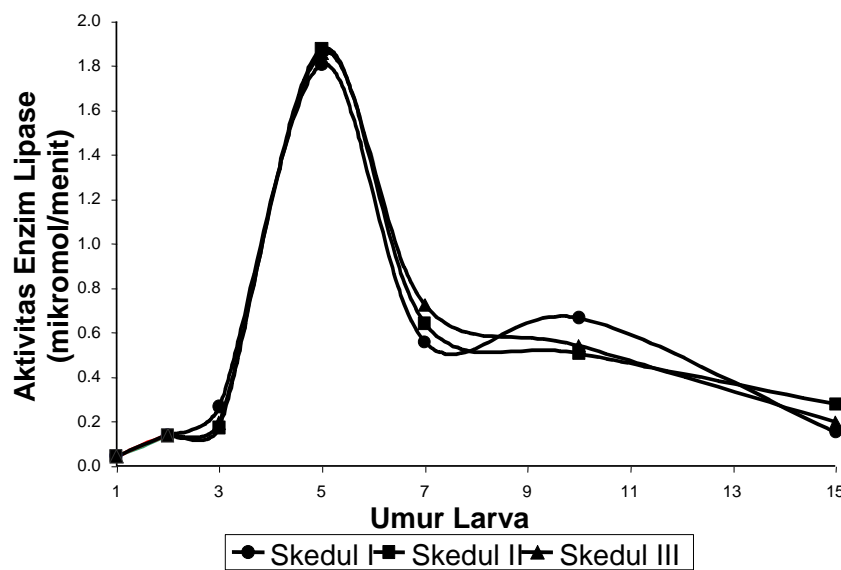
Gambar 2. Aktivitas enzim protease larva ikan patin, *Pangasius hypophthalmus*, umur 1, 2, 3, 5, 7, 10 dan 15 hari yang dipelihara dengan skedul pemberian pakan yang berbeda.

skedul pemberian pakan (Gambar 3). Aktivitas lipase meningkat lambat hingga larva umur 3 hari, kemudian meningkat tajam hingga larva umur 5 hari, selanjutnya menurun tajam hingga larva umur 7 hari dan akhirnya menurun landai. Larva umur 10 hari dengan pemberian pakan skedul I memiliki aktivitas lipase yang meningkat yang berbeda dengan skedul lainnya. Aktivitas lipase untuk skedul I, II dan III masing-masing adalah 0,043–1,805; 0,043–1,875 dan 0,043–1,855 $\mu\text{mol}/\text{menit}$.

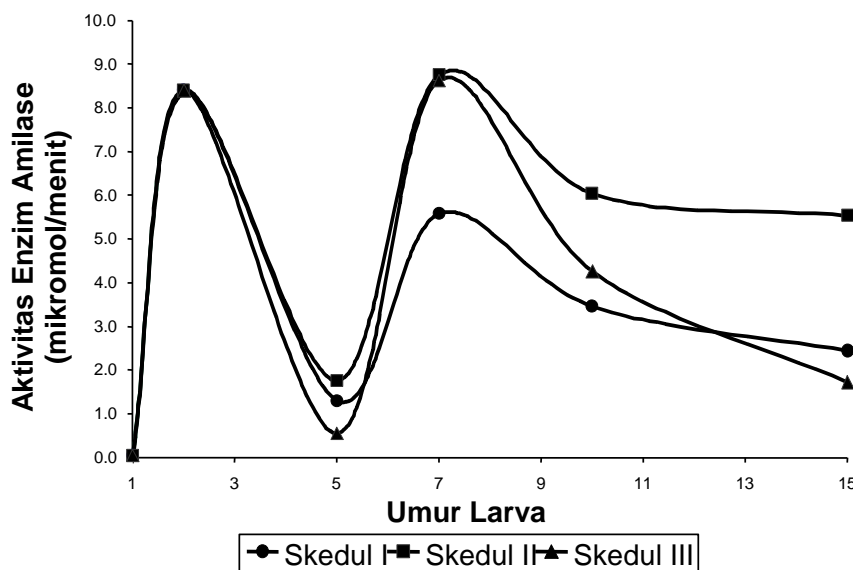
Larva ikan patin umur 1 hari setelah menetas mungkin belum memiliki enzim amilase dalam saluran pencernaannya. Perkembangan enzim ini selanjutnya juga memiliki pola yang hampir sama pada setiap skedul pemberian pakan (Gambar 4). Aktivitas amilase

semakin meningkat lambat dengan bertambahnya umur larva hingga 5 hari, selanjutnya meningkat tajam hingga larva berumur 7 hari dan kemudian menurun. Aktivitas enzim ini relatif lebih tinggi pada larva yang dipelihara dengan skedul II (1,965–8,750 mol/menit), sedangkan untuk skedul I dan III masing-masing adalah 1,550–8,400 dan 0,550–8,630 mol/menit .

Perkembangan enzim pencernaan larva ikan patin ini sejalan dengan perkembangan (diferensiasi) anatomi saluran pencernaan. Anatomi saluran pencernaan larva ikan patin menunjukkan adanya perkembangan (diferensiasi) sejak larva berumur 1 hingga 15 hari (Gambar 5 dan 6). Larva umur 1 hari memiliki saluran pencernaan yang masih sederhana. Permukaan bagian



Gambar 3. Aktivitas enzim lipase larva ikan patin, *Pangasius hypophthalmus*, umur 1, 2, 3, 5, 7, 10 dan 15 hari yang dipelihara dengan skedul pemberian pakan yang berbeda.

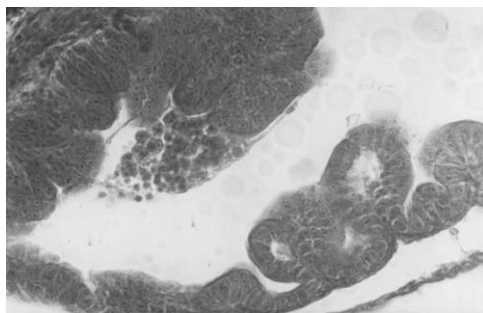


Gambar 4. Aktivitas enzim amilase larva ikan patin, *Pangasius hypophthalmus*, umur 1, 2, 3, 5, 7, 10 dan 15 hari yang dipelihara dengan skedul pemberian pakan yang berbeda.

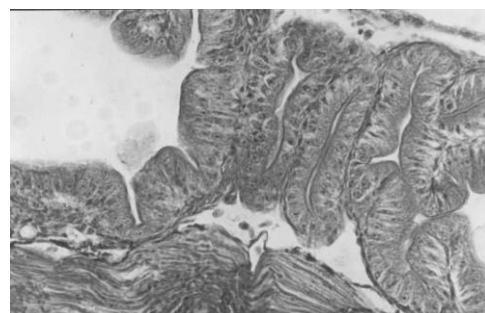
dalam usus memiliki lekukan yang belum dalam bahkan cenderung masih rata. Pada larva umur 2 hingga 5 hari lekukan bagian dalam usus menjadi lebih jelas dan menjadi lebih jelas lagi dan lebih dalam bahkan menjadi berlipat-lipat ketika larva berumur 15 hari.

Saluran pencernaan larva berisi *Artemia*, cacing dan plankton dengan jumlah yang semakin meningkat dengan bertambahnya umur larva (Gambar 7 dan 8). Meskipun fitoplankton dan zooplankton yang diberikan adalah masing-masing adalah *Chlorella* dan *Artemia*,

namun di dalam lambung larva ditemukan 20 spesies lain seperti *Netrium*, *Synedra*, *Nitzschia*, *Navicula* dan sebagainya dengan populasi yang jauh lebih sedikit. Hal ini disebabkan pengadaan *Chlorella* dilakukan dengan cara kultur tidak murni dengan sistem *outdoor* sehingga memberi peluang tumbuhnya fitoplankton dan zooplankton lain. Organisme tersebut juga berpeluang tumbuh dan dimangsa dalam wadah pemeliharaan larva ikan patin.



a



b

Gambar 5. Histologi saluran pencernaan larva ikan patin, *Pangasius hypophthalmus*, umur 1 (a) dan 2 (b) hari.

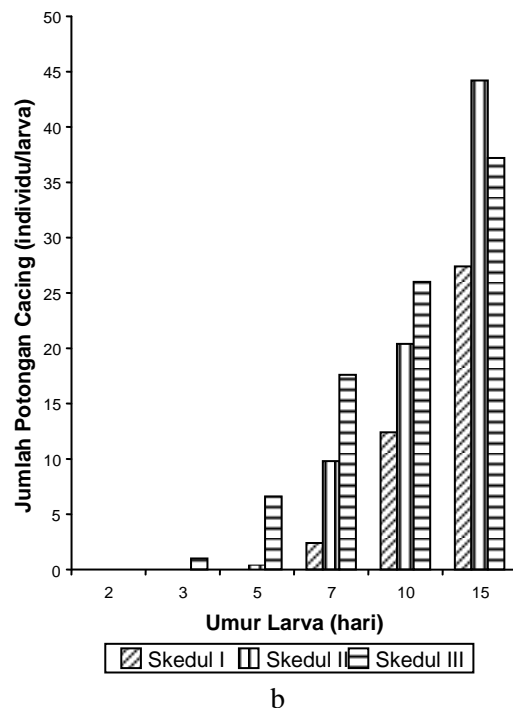
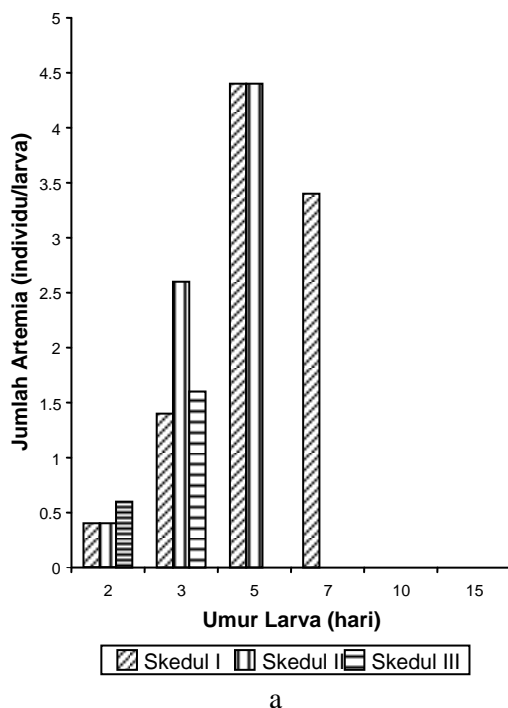


a

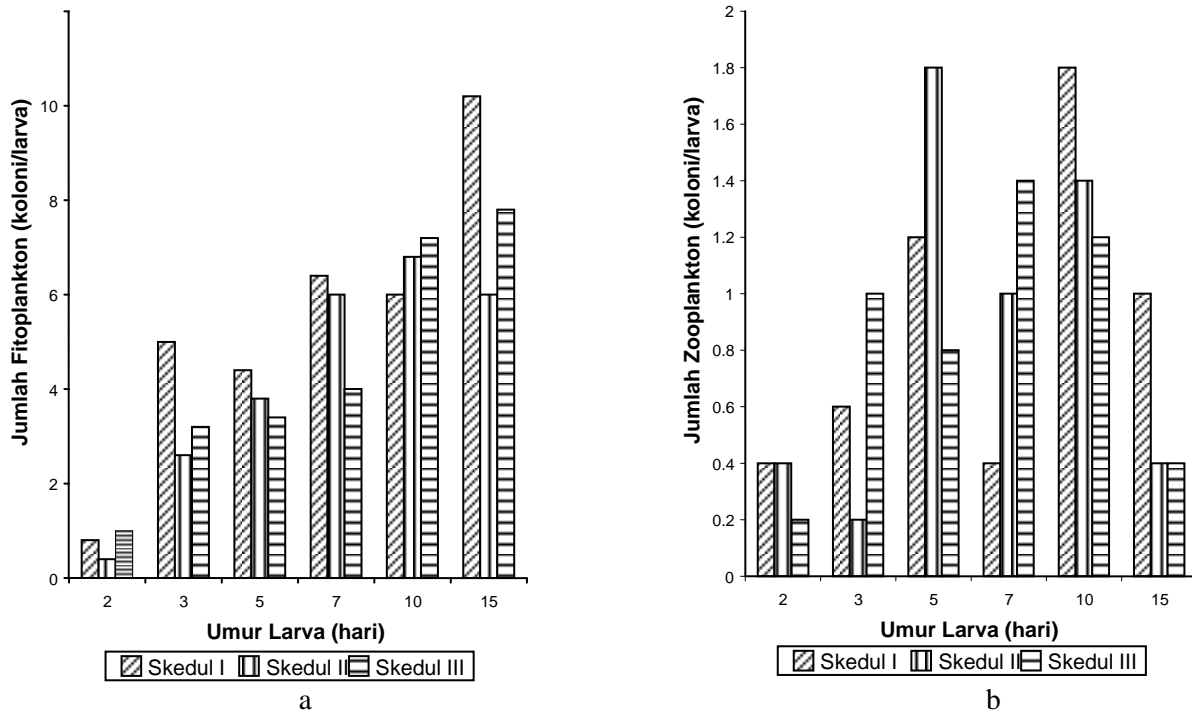


b

Gambar 6. Histologi saluran pencernaan larva ikan patin, *Pangasius hypophthalmus*, umur 5 (a) dan 15 (b) hari.



Gambar 7. Jumlah *Artemia* (a) dan potongan cacing (b) dalam saluran pencernaan larva ikan patin, *Pangasius hypophthalmus*, umur 2, 3, 5, 7, 10 dan 15 hari yang dipelihara dengan skedul pakan yang berbeda.



Gambar 8. Jumlah fitoplankton (a) dan zooplankton lain (b) dalam saluran pencernaan larva ikan patin, *Pangasius hypophthalmus*, umur 2, 3, 5, 7, 10 dan 15 hari yang dipelihara dengan skedul pakan yang berbeda.

Pembahasan

Tidak terdapat perbedaan pertumbuhan bobot larva ikan patin pada akhir pemeliharaan dengan skedul I, II dan III. Namun demikian, larva yang diberi pakan skedul I yakni dengan pemberian *Artemia* lebih lama ternyata memiliki kelangsungan hidup lebih baik dari skedul lainnya. Upaya efisiensi produksi benih ikan patin, dengan mempersingkat pemberian *Artemia* dan memberi lebih awal dan lebih lama pakan cacing, ternyata sukses mempertahankan kinerja pertumbuhan meskipun tidak cukup berhasil dalam mempertahankan kelangsungan hidup. Tidak terlalu jelas kaitan fenomena tersebut di atas dengan perkembangan enzim pencernaan larva. Perkembangan enzim pencernaan cenderung memiliki pola yang hampir sama pada larva dengan pemberian pakan dengan skedul yang berbeda. Rendahnya kelangsungan hidup pada larva yang diberi pakan cacing mungkin disebabkan oleh ketiadaan respon enzim pencernaan terhadap keberadaan pakan tersebut dalam lambung (Gambar 2-4). Pakan cacing dalam lambung kurang berhasil untuk menginduksi sekresi enzim pencernaan ke dalam intestine seperti yang terjadi pada pemberian pakan buatan mikrokapsul (Cahu & Zambonino-Infante 1997). Pakan ini juga mungkin kurang mengandung beberapa substansi atau nutrisi penting seperti yang terdapat dalam *Artemia*. Substansi demikian mencakup; a) faktor pertumbuhan yang di dalam *Artemia* disebut “faktor *Artemia*” dan di dalam cumi disebut “faktor cumi” (Person-Le-Ruyet et

al. 1993), b) asam amino tertentu dan c) hormon pertumbuhan (steroid dan tiroid) (Feist & Schreck 1990).

Perkembangan enzim pencernaan yang cepat umumnya terjadi setelah larva berumur 3 hari, kecuali enzim amilase (Gambar 2-4). Perubahan enzim protease dan lipase tersebut mungkin berkaitan dengan skedul pemberian *Artemia* yang diberikan pada larva mulai umur 2 hari. Berbeda dengan cacing, *Artemia* tampaknya lebih mampu menginduksi sekresi protease dan lipase ke dalam saluran intestine. Pada saat perubahan enzim yang cepat tersebut, pertumbuhan bobot larva ikan patin juga mulai melaju secara eksponensial. Berbeda dengan larva ikan patin dalam penelitian ini, pada ikan red drum peningkatan aktivitas enzim pencernaan justru berhubungan dengan retardasi dalam perkembangan larva (Lazo et al. 2000). Menurut Kolkovski et al. (1993), aktivitas enzim pencernaan lebih berkorelasi dengan panjang tubuh larva dibandingkan dengan umur. Fuiman (1994) dan Ribeiro et al. (2000) menyatakan bahwa studi sistem pencernaan larva mungkin lebih sesuai bila dikaitkan dengan indeks ontogenetic, yakni menggunakan basis panjang atau ukuran perkembangan larva lainnya.

Ketika homogenate seluruh tubuh larva digunakan untuk asai aktivitas enzim, beberapa faktor mungkin mempengaruhi hasil asai tersebut. Sebagai contoh, pada pengukuran enzim tripsin yang terdeteksi hanya bentuk aktifnya saja, sedangkan precursor yang tidak aktif (tripsinogen) tidak terdeteksi. Hal ini

menyebabkan estimasi enzim tersebut menjadi lebih rendah dibandingkan dengan aktivitas potensialnya (semua tripsinogen ditransformasi menjadi bentuk aktif) yang diperlihatkan oleh larva (Lazo *et al.* 2000). Tripsin inhibitor juga terdapat dalam jaringan tubuh larva (Hjelmeland 1993) yang bila bereaksi dengan tripsin bisa menyebabkan estimasi aktivitas tripsin yang lebih rendah dari yang sesungguhnya terdapat dalam sistem pencernaan larva. Adanya sumber enzim endogen lain yang mungkin terdapat dalam jaringan tubuh larva selain sistem pencernaan bisa mengakibatkan stimulasi aktivitas enzim yang lebih tinggi (Ueberschar *et al.* 1992). Namun demikian pada ikan red drum aktivitas enzim yang diukur pada spesimen tanpa jeroan adalah rata-rata rendah untuk tripsin (hampir 4%) dan tidak signifikan untuk amilase (<1%) dari total enzim yang diukur (Lazo *et al.* 2000).

Enzim eksogen dari pakan hidup (seperti *Artemia*, *Daphnia* dan *Moina*) yang tertinggal dalam saluran pencernaan larva bisa memberikan kontribusi terhadap hasil pengukuran aktivitas enzim (Lauf & Hofer 1984; Munilla-Moran *et al.* 1990). Untuk meminimalkan pengaruh potensial enzim eksogen tersebut, larva dipuaskan selama 4 jam dan selanjutnya, ditampung dalam gelas Beaker dan dibiarkan (diberok) selama 2 jam untuk membuang sisa pakan dalam lambung larva melalui pencernaan, penyerapan dan ekskresi. Waktu evakuasi pakan dalam lambung larva ikan patin diperkirakan 2-3 jam setelah pemangsaan, sehingga pemuasaan selama 4 jam dianggap sudah memadai untuk mengosongkan lambung. Sumbangan enzim eksogen terhadap hasil pengukuran diperkirakan kecil (Lazo *et al.* 2000). Pada larva ikan sarden Jepang sumbangan tersebut diperkirakan hanya sebesar 0,6% (Kurokawa 1998).

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian Pada Masyarakat, Pendidikan Nasional dan Lembaga Penelitian Institut Pertanian Bogor yang memungkinkan penelitian ini dapat berlangsung. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Prof. Dr. Maggy T. Suhartono, Ibu Eni dan Ibu Ika di Laboratorium Mikrobiologi dan Biokimia, Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor yang memungkinkan asai enzim dilakukan. Ucapan yang sama juga disampaikan kepada Ir. Harton Arafah, M.Si. dan Bapak Dedi Chandra yang telah berbaik hati menyediakan larva ikan patin.

DAFTAR PUSTAKA

- Bergmeyer, H. U., M. Grossl & H. E. Walter. 1983. Reagent for enzymatic analysis, p: 274-275. In H. U. Bergmeyer (Ed.), *Methods of Enzymatic Analysis*, 3rd Edition, Volume II. Verlag Chemie, Weinheim.
- Bernfield, P. 1955. Amylase A and B, p: 149-157. In P. Colowick and N. O. Kaplan (Eds.). *Methods in enzymology*, volume I. Academic Press, New York.
- Brito, R., C. Rosas, M. E. Chimal & G. Gaxiola. 2001. Effect of different diets on growth and digestive enzyme activity in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) early post larvae. *Aquaculture Research*, 32: 257-266.
- Cahu C. L. & J. L. Zambonino-Infante. 1997. Is the digestive capacity of marine fish larvae sufficient for compound diets feeding? *Aquacult. Int.*, 5: 151-160.
- Chong, A., R. Hashim, L. C. Lee & A. Ali. 2002. Characterization of protease activity in developing discus *Symphysodon aequifasciata* larva. *Aquaculture Research*, 33: 663-672.
- Feist, G. & C. B. Schreck. 1990. Hormonal content of commercial fish diets and young coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) fed these diets. *Aquaculture*, 86: 63-75.
- Fuiman, L. A. 1994. The interplay of ontogeny and scaling in the interaction of fish larvae and their predators. *J. Fish Biol.*, 45: 55-79.
- Garcia-Ortega, A., J. Verreth, A. Van Hoornycck & H. Segner. 2000. Heat treatment affects protein quality and protease activity in decapsulated cysts of *Artemia* when used as starter food for larvae of African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell). *Aquaculture Nutrition*, 6: 25-31.
- Gawlicka, A., S. J. The, S. S. O. Hung. D. E. Hinton & J. De la Noue. 1995. Histological and histochemical changes in the digestive tract of white sturgeon larvae during ontogeny. *Fish Physiol. Biochem.*, 14: 357-371.
- Hamre, K., I. Opstad, M. Espe, J. Solbakken, G.-I. Hemre & K Pittman. 2002. Nutrient composition and metamorphosis success of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*, L.) larvae fed natural zooplankton or Artemia. *Aquaculture Nutrition*, 8: 139-148.
- Hjelmeland, K. 1993. Proteinase inhibitors in the muscle and serum of cod (*Gadus morhua*).

- Isolation and characteristics. *Comp. Biochem.*, 75B: 365-372.
- Hofer, R. & A. N. Uddin. 1985. Digestive processes during the development of roach, *Rutilus rutilus* L. *J. Fish Biol.*, 26: 683-689.
- Kawai, S. & S. Ikeda. 1973. Studies on digestive enzymes of fishes - III. Development of digestive enzymes of rainbow trout after hatching and the effect of dietary change on the activities of digestive enzymes in the juvenile stage. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 39(7): 819-823.
- Kolkovski, S., A. Tandler, G. W. Kissil & A. Gertler. 1993. The effect of dietary exogenous digestive enzymes on ingestion, assimilation, growth, and survival of gilthead seabream (*Sparus aurata*, Sparidae, Linnaeus) larvae. *Fish Physiol. Biochem.*, 12: 203-209.
- Kurokawa, T., M. Shiraishi & T. Suzuki. 1998. Quantification of exogenous protease derived from zooplankton in the intestine of Japanese sardine (*Sardinops melanotictus*) larvae. *Aquaculture*, 161: 491-499.
- Lauff, M. & R. Hofer. 1984. Proteolytic enzymes in fish development and the importance of dietary enzymes. *Aquaculture*, 37: 335-346.
- Lazo, J. P., G. J. Holt & C. R. Arnold. 2000. Ontogeny of pancreatic enzymes in larval red drum *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture Nutrition*, 6: 183-192.
- Le Vay, L., A. Rodriguez, M. S. Kamarudin & D. A. Jones. 1993. Influence of live and artificial diets on tissue composition and trypsin activity in *Penaeus japonicus* larvae. *Aquaculture*, 118: 287-297.
- Linfield, W. M., R. A. Barangkas, L. Sivieri, S. Serosta & R. W. Stevenson. 1984. Enzymatic fat and synthesis. *JAOCs*, 18 (2): 78-87.
- Munilla-Moran, R., J. R. Stark & A. Babour. 1990. The role of exogenous enzymes in digestion in cultured turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture*, 88: 337-350.
- Nass, K. E., T. Naess & T. Harbae. 1992. Enhanced first feeding of halibut larvae (*Hyppoglossus hypoglossus* L.) in green water. *Aquaculture*, 105: 143-156.
- Nolting, M., B. Ueberschar & H. Rosenthal. 1999. Trypsin activity and physiological aspects in larval rearing of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) using live prey and compound diets. *J. Appl. Ichthyol.*, 15: 138-142.
- Person-LeRuyet, J. J. C. Alexandre, L. T. Thebaud & C. Mugnier. 1993. Marine fish larvae feeding: formulated diets or live prey? *J. World Aquacult. Soc.*, 42: 211-224.
- Puello-Cruz, A. C., R. S. Sangha, D. A. Jones & L. Le Vay. 2002. Trypsin enzyme activity during larval development of *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed live feeds. *Aquaculture Research*, 33: 333-338.
- Ribeiro, F. A. L. T. & D. A. Jones. 2000. Growth and ontogenetic change in activity of digestive enzymes in *Fennero indicus* post larvae. *Aquaculture Nutrition*, 6: 53-64.
- Reimerdes, E. H. & H. Klostermeyer. 1976. Determination of proteolytic activities on casein substrates, p: 26-28. In S. P. Colowick, N. O. Kaplan & L. Lorand (Eds.). *Methods in enzymology*, volume XLV, proteolytic enzymes, part B. Academic Press, Inc., New York.
- Sarasquete, M. C., A. Polo & M. Yufera. 1995. Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval silthead seabream, *Sparus aurata* L. *Aquaculture*, 130: 79-92
- Stroband, H. W. J. & K. R. Dabrowski. 1981. Morphological and physiological aspects of the digestive system and feeding in fresh-water fish larvae., pp: 355-376. In, M. Fontain (Ed.) *La Nutrition des Poisons*, CNERNA, Paris
- Tengjaroenkul, B., B. J. Smith, S. A. Smith & U. Chatreewongsin. 2002. Ontogenic development of the intestinal enzymes of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*, 211: 241-251.
- Ueberschar, B., B. H. Pedersen & K. Hjelmeland. 1992. Quantification of trypsin with a radioimmunoassay in herring larvae (*Clupea harengus*) compared with a highly sensitive technique. *Mar. Biol.*, 113: 469-473.
- Walford, J. & T. J. Lam. 1993. Development of digestive tract and proteolytic enzyme activity in seabass (*Lates calcarifer*) larvae and juveniles. *Aquaculture*, 109: 187-205.
- Zambonino, J. L. & C. Cahu. 1994. Development and response to diet change of some digestive enzymes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Fish Physiol. Biochem.*, 12: 399-408.