



**PROFIL PROTEIN DAN EVALUASI INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR-1  
TERIPANG PASIR *Holothuria scabra* YANG DIBERI FORMULA PAKAN  
BERBAHAN TEPUNG CACING SUTERA *Tubifex* sp**

**DISERTASI**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Doktor**



Oleh:

**MAUREEN MERCY PATTINASARANY  
NIM. 10708010111002**

**PROGRAM DOKTOR ILMU PERIKANAN DAN KELAUTAN  
MINAT BUDIDAYA PERAIRAN TROPIS**

**PROGRAM PASCASARJANA  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG**

**MEI 2015**



**PROFIL PROTEIN DAN EVALUASI INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR-1  
TERIPANG PASIR *Holothuria scabra* YANG DIBERI FORMULA PAKAN  
BERBAHAN TEPUNG CACING SUTERA *Tubifex* sp**

**DISERTASI**



Oleh:

**MAUREEN MERCY PATTINASARANY**

**NIM. 107080101111002**

**PENELITIAN INI TELAH DIPUBLIKASIKAN PADA:  
INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOSCIENCES VOL 5, NO 11, 2014: p.86-90**

**PROGRAM DOKTOR ILMU PERIKANAN DAN KELAUTAN  
MINAT BUDIDAYA PERAIRAN TROPIS**

**PROGRAM PASCASARJANA  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG  
MEI 2015**



DISERTASI

PROFIL PROTEIN DAN EVALUASI INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR-1 TERIPANG PASIR *Holothuria scabra* YANG DIBERI FORMULA PAKAN BERBAHAN TEPUNG CACING SUTERA *Tubifex* sp

OLEH

MAUREEN MERCY PATTINASARANY

NIM 107080101111002

Telah dipertahankan didepan penguji pada tanggal 26 Mei 2015 dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui :

Komisi Pembimbing Promotor

(Prof.Dr.Ir. Eddy Suprayitno, MS)

19591005 198503 1 004

Ko-Promotor

Ko-Promotor

(Prof.Dr.drh. Aulanni'am, DES)

19600903 198802 2 001

(Dr. Uun Yanuhar S.Pi., M.Si)

19730404 200212 2 001

Mengetahui,

Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan

(Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS)

19591230 198503 2 002

**IDENTITAS PENGUJI DISERTASI**

**Judul** : **PROFIL PROTEIN DAN EVALUASI INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR-1 TERIPANG PASIR *Holothuria scabra* YANG DIBERI FORMULA PAKAN BERBAHAN DASAR TEPUNG CACING SUTERA *Tubifex* sp**

**MAHASISWA**

**Nama** : Maureen Mercy Pattinasarany

**NIM** : 107080101114002

**Program Studi** : Program Doktor Ilmu Perikanan Dan Kelautan

**Minat** : Budidaya Perairan Tropis

**KOMISI PEMBIMBING**

**Promotor** : Prof. Dr. Ir. Eddy Suprayitno, MS

**Ko Promotor I** : Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES

**Ko Promotor II** : Dr. Uun Yanuhar, S.Pi., M.Si

**KOMISI PENGUJI**

**Penguji 1** : Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS

**Penguji 2** : Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS

**Penguji 3** : Dr. Ir. Alim Isnansetyo, M.Sc

**Penguji tamu** : Dr. Ir. Debby A.J. Selanno, M.Sc



## RIWAYAT HIDUP

Maureen Mercy Pattinasarany, dilahirkan di Makassar, Sulawesi Selatan, pada tanggal 2 Maret 1970 sebagai anak sulung dari lima bersaudara dari pasangan Frans Samuel Pattinasarany dan Erna Cornelia Pattileuw. Menikah dengan Ceisar Chrestovano Riupassa pada tahun 2004 dan dikaruniai dua orang putri, Christofani dan Karina.

Jenjang pendidikan mulai dari SD hingga Sarjana S1 ditamatkan di Ambon.

Lulus SMA Negeri 1 Ambon pada tahun 1988 kemudian melanjutkan dan menamatkan S1 pada Fakultas Perikanan Universitas Pattimura Ambon. Gelar

Master of Applied Science pada bidang budidaya perairan diperoleh pada tahun 1999 dari School of Aquaculture, University of Tasmania, Australia. Sejak tahun

2000 sampai sekarang bekerja sebagai staf pengajar pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Pattimura Ambon.

Pada tahun 2010 menjadi mahasiswa Program Doktor Ilmu Perikanan dan Kelautan pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang.



## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kepada Tuhan Yesus atas berkat dan tuntunanNya sehingga penulisan disertasi ini dapat diselesaikan. Saya ingin menyampaikan rasa terima kasih yang tak terbilang kepada:

Tim pembimbing: Prof. Dr. Ir. Eddy Suprayitno, MS., Prof. Dr. Aulanni'am DES, dan Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, MS atas waktu, bimbingan, saran dan koreksi serta dukungan bagi saya untuk menyelesaikan Disertasi ini.

Tim penguji: Prof. Dr. Ir. Diana Arfianti MS, Dr. Ir. Arning W. Ekawati MS, Dr. Ir. Alim Isnansetyo, M.Sc serta penguji tamu Dr. Ir. Debby A.J. Selanno, M.Sc, atas kesediaan menguji serta memberikan masukan demi perbaikan disertasi ini. Para penguji kelayakan: Dr. Anik Martinah, Dr. Asus Maizar, Dr. Bambang Budi, Dr. Muh. Firdaus, Dr. Titik Sulistiyawati, Dr. Yahya dan Dr. Yuni Kilawati,

Dekan, Ketua Program Studi S3 dan seluruh staff pengajar/dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Terima kasih yang tulus juga saya sampaikan kepada mbak Kus, mbak Lia, mas Bayu dan mas Yuda yang telah banyak membantu selama proses perkuliahan saya.

Dekan dan Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Pattimura yang telah memberikan kesempatan bagi saya untuk menyelesaikan studi.

Kementerian Pendidikan Tinggi RI yang telah membantu penyelesaian studi saya melalui pemberian beasiswa BPPS dan Program Hibah Doktor Tahun 2013/2014.

Pimpinan dan staff Balai Budidaya Laut Ambon yang telah menyediakan fasilitas untuk penelitian. Terima kasih kepada Ir. Doortje Horhoruw MSi, Ir. Gani, Evry Noerbaety, S.Pi., M.Si, Heru Slamet, S.Pi., M.Si, Donny Horhoruw S.Pi. MSi dan pak Erdy untuk segala bantuan, diskusi dan saran untuk kemajuan penelitian. Para laboran pada lab Biokimia dan lab Faal FK UB yang telah membantu dalam analisis lab.

Teman-teman S3 Angkatan 2010, 2009 dan 2011: Dr. Charlotta Tupan, mbak Dyah, mbak Vivi almh, bu Sri, bu Erni dan bu Endah, Dr. Sam Ndobe, Dr. Mecky Pentury, Dr. Angky, dan pak Bambang. Dr. Jean Dangeubun, Cindy dan rekan-rekan yang tak sempat penulis sebutkan satu per satu. Terima kasih untuk semua bantuan dan dukungan serta informasi yang up to date.



Para mahasiswa S1 Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Pattimura: Damond Saya, S.Pi, Mukhlis, S.Pi dan Irwan Ode, S.Pi yang telah membantu selama pemeliharaan teripang.

Seluruh keluarga saya: terutama papimami dan adik-adikku serta keluarga, om dan tante serta saudara-saudara, Mertua dan ipar-ipar. Suami dan terutama kedua anak terkasih. Terima kasih untuk selalu mendoakan, mendukung dan membantu saya. Tak lupa terima kasih yang tulus juga untuk kel. Rolly Siahaya. Tanpa kalian saya tidak akan mampu menyelesaikan studi ini.

Semua pihak yang memberikan bantuan langsung maupun tidak langsung dalam penyelesaian studi ini. Tuhan kiranya memberkati dan membalas segala budi baik kalian semua.

Malang, 26 Mei 2015  
Maureen Mercy Pattinasarany

## RINGKASAN

**Maureen Mercy Pattinasarany**, Program Doktor Ilmu Perikanan dan Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya. Profil Protein dan Evaluasi Insulin-like Growth Factor-1 Teripang Pasir *Holothuria scabra* Yang Diberi Pakan Berbahan Tepung Cacing Sutera *Tubifex* sp. Di bawah bimbingan Promotor: Prof. Dr. Ir. Eddy Suprayitno, MS; Ko-Promotor: Prof. Dr.drh. Aulanni'am, DES dan Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, MS.

Pengembangan budidaya teripang pasir untuk memenuhi kebutuhan protein masyarakat maupun untuk menjamin kesinambungan produksi teripang merupakan tantangan di masa yang akan datang. Usaha budidaya teripang pasir secara teknis dan ekonomis memungkinkan untuk dikembangkan secara massal. Kendala utama yang dihadapi budidaya teripang adalah pertumbuhan teripang pasir yang lambat serta belum tersedianya pakan yang diformulasikan secara khusus untuk menunjang pertumbuhan. Pengaruh utama pada pertumbuhan adalah pakan dan fungsi hormonal terutama oleh Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1). IGF-1 diklaim sebagai indikator pertumbuhan maupun status nutrisi organisme budidaya. Namun, informasi mengenai penggunaan IGF-1 pada budidaya teripang pasir belum banyak digali. Cacing sutera *Tubifex* sp diketahui telah lama digunakan sebagai pakan beberapa jenis ikan. Cacing ini dipublikasikan dapat meningkatkan pertumbuhan beberapa jenis ikan. Oleh karenanya perlu dilakukan penelitian untuk mengevaluasi penggunaan IGF-1 sebagai penanda pertumbuhan dan pengembangan formula pakan teripang pasir *Holothuria scabra* berbahan cacing sutera *Tubifex* sp serta profil protein yang dihasilkan.

Tujuan penelitian adalah untuk mengkaji sintesis IGF-1 sebagai respons teripang pasir terhadap kebutuhan protein dalam formula pakan, mengkaji hubungan sintesis IGF-1 dan pertumbuhan teripang pasir, mengkaji sintesis IGF-1 sebagai respons penggunaan tepung cacing sutera dalam formula pakan untuk mendukung pertumbuhan teripang pasir serta untuk mengetahui ada tidaknya perubahan profil protein teripang pasir sebagai akibat substitusi sejumlah tertentu dosis tepung cacing sutera dalam formula pakan.

Penelitian ini terdiri dari 2 eksperimen, yaitu 1) penentuan dosis optimum protein dalam formula pakan dan 2) evaluasi protein pada formula pakan teripang pasir yang disubstitusi dengan cacing sutera

Evaluasi kebutuhan protein optimum dalam pakan untuk pertumbuhan teripang pasir dilakukan dengan memberikan satu dari 7 isoenergi pakan beda dosis protein (Protein: 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30% dan 35%; ~3,6 kkal/g pakan) dengan serta kontrol yaitu pemeliharaan tanpa pemberian pakan atau 0% selama 42 hari. Teripang pasir yang digunakan berbobot basah rata-rata  $21,5 \pm 2,5$  g. Peubah yang diamati adalah kelulushidupan, laju pertumbuhan spesifik dan juga pertumbuhan mutlak, rasio konversi pakan dan kadar IGF-1. Dosis protein yang memberikan pertumbuhan terbaik digunakan sebagai patokan untuk pembuatan pakan formula pada eksperimen 2.



Evaluasi bahan baku pakan untuk mendukung pertumbuhan teripang pasir dilakukan dengan mensubstitusi tepung ikan dengan tepung cacing sutera *Tubifex* sp sebagai sumber protein. Perbandingan persentase tepung cacing dan tepung ikan dalam pakan uji adalah 0%:1,0%, 0,5%:9,5%, 1,0%:9,0%, 1,5%:8,5%, 2,0%:8%, 2,5%:7,5% dan 3,0%:7,0%. Pemberian pakan dilakukan 1 kali sehari pada teripang pasir yang berbobot basah rata-rata  $23,4 \pm 1,6$  g selama 42 hari. Peubah yang diamati adalah kelulushidupan, pertumbuhan mutlak, rasio konversi pakan (FCR), rasio efisiensi protein (PER) dan sintesis IGF-1.

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini adalah 1) kadar IGF-1 baik plasma maupun dinding tubuh IGF-1 dapat digunakan untuk evaluasi kebutuhan protein dalam formula pakan. Teripang pasir membutuhkan 10% protein dalam pakan untuk mendukung pertumbuhannya, 2) Kadar IGF-1 baik plasma maupun dinding tubuh IGF-1 dapat digunakan evaluasi pertumbuhan teripang pasir, 3) Kadar IGF-1 dapat digunakan untuk evaluasi performa bahan baku pakan formula seperti tepung cacing sutera *Tubifex* sp yang diberikan bagi teripang pasir. 4) Substitusi sejumlah tertentu cacing sutera menyebabkan perubahan pada profil protein dan asam amino teripang pasir. Meskipun tidak diidentifikasi, dinding tubuh teripang pasir didominasi oleh 2 protein dengan berat molekul 38,6 kDa dan 15 kDa.

Kebaruan penelitian ini adalah bahwa ditemukan pita protein dengan berat molekul 38,6 kDa dan 15 kDa pada teripang pasir yang diduga mampu menginduksi IGF-1 teripang pasir IGF-1 diketahui berikatan dengan IGF-1R dan mengakibatkan adanya signaling transduksi yang berimbas pada respon pertumbuhan.

Penelitian ini juga menemukan dosis kebutuhan protein dan bahan baku pakan berbasis cacing sutera yang dapat memicu pertumbuhan teripang pasir dapat dideteksi secara cepat dan sensitif dengan menggunakan IGF-1. Pertumbuhan yang dipicu oleh adanya substitusi cacing sutera menyebabkan perubahan profil protein meskipun dalam penelitian ini tidak dilakukan identifikasi jenis protein.

Berdasarkan penelitian ini dapat disarankan bahwa untuk mendukung pertumbuhan direkomendasikan penggunaan pakan dengan dosis 10% protein dengan substitusi tepung ikan dengan tepung cacing sutera sebesar 1%. Perlu dilakukan penelitian tentang: 1) Waktu yang akurat untuk pengambilan cairan coelomic untuk pengukuran IGF-1 sebagai indikator pertumbuhan dan efisiensi pakan. Hal ini guna menghindari stress yang akan mengakibatkan *eviscerated* pada teripang yang berujung pada perlambatan pertumbuhan teripang. 2) Protein yang mendominasi dinding tubuh teripang dan kemungkinan penggunaannya untuk kepentingan lainnya seperti bioaktif maupun obat-obatan.

## SUMMARY

**Maureen Mercy Pattinasarany**, Doctoral Program of Fisheries and Marine Science, Faculty of Fisheries and Marine Science, Brawijaya University. Protein profile and Evaluation of Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1) of Sandfish *Holohuria scabra* fed diet based on Tubificid *Tubifex* sp meal. Under supervision of Promotor: Prof. Dr. Ir. Eddy Suprayitno, MS; Co-Promotor: Prof. Dr.drh. Aulanni'am, DES and Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, MS.

Sandfish culture in Indonesia is a future challenge. It serves to provide protein required by the community as well as to keep the production continuously. Holothurian culture is technically and economically possible to be massively developed. One of the problems facing in the culture is the slow growth besides no formulated diet available to support the growth. Growth is highly affected by nutritional status and internal regulation by the Insulin-like growth factor-1 (IGF-1). IGF-1 is claimed as a growth indicator as well as nutritional status of the cultured organisms. However, information about the use of IGF-1 in the sandfish culture is unclear. The silky worms, *Tubifex* sp, is known for increasing growth rate of several fish. Thus, it is needed to evaluate the use of IGF-1 as a growth marker and to develop diet formulation using the silky worms.

The research is aimed to know if the IGF-1 could be use to evaluate the protein dose in the feed formulation, to evaluate how IGF-1 is related to the absolute growth, to evaluate the silky worms as the feed material to support the growth and to know if there is changing in the protein profile as a result of substitution some amount of the silky worms in the formulated diet.

The research consisted of 2 experiments: 1) determining the optimum protein requirement in the formulated diet, and 2) protein evaluation of the formulated diet substitute with the silky worm meals.

Evaluation of the optimum protein requirement in the diet was done by providing 1 of the 7 isoenergetic tested diets with several protein doses (5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30% dan 35%, -3,6 kkal/g diet) and a control with no food for 42 days. The tested sandfish were averaged of  $21,5 \pm 2,5$  g.in wet weight. Parameters to be observed are the survival, specific growth rate and absolute growth, feed conversion rate and IGF-1 level. Optimum protein will be used as the sandfish protein standard.

Evaluation of the feed material to support the growth is done by substitute certain amount of fish meal with silky worm meal as protein source with percentage of 0%, 5%, 10% 15%, 20%, 25% dan 30%. Feed was given once a day for the sandfish average of  $23,4 \pm 1,6$  g wet weight for 42 days. Parameters to be observed are the survival, ab and absolute solute growth, feed conversion rate (FCR), protein efficiency ratio (PER) and IGF-1 synthesis.

The results are: 1) IGF-1 level both plasma and bodywall IGF-1 could be used to evaluate protein requirement in the formulated diet. Sandfish need 10-protein in the diet to support growth, 2) IGF-1 level both plasma and bodywall IGF-1 could be used to evaluate the sandfish growth, 3) IGF-1 level could be



used to evaluate feed material such as the silky worm meal in changing sandfish protein profile. Evethough it is not identified, sandfish bodywall is dominated of 2 proteins with molecular weight of 38,6 kDa and 15 kDa.

The novelty of the research is that it is found proteins with molecular weight of 38,6 kDa and 15 kDa that are believed have the ability to induce the IGF-1 of sandfish. IGF-1 is known binding to IGF-1R resulting in signal transduction that ended up to growth respond.

The research also found that protein dose needed and silky worm meal could trigger the sandfish growth that can be detected fast and sensitive using IGF-1. Growth triggered by silky worm substitution causes changes in protein and amino acid profiles even though the protein identification was not made.

Based on the results it could be suggested that protein requirement in the sandfish diet is about 10% with maximum silky worm meal of 1%. It is suggested to carry out further research about: 1) The right time for blood sampling for IGF-1 measurement as growth indicator, and 2) investigation of protein dominated sandfish body wall and potential of using them for other purposes such as bioactive substances as well as for medication.



## KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah Bapa di Surga atas tuntunannya penulis dapat menyelesaikan laporan hasil penelitian Disertasi dengan judul: "Profil Protein dan Evaluasi Insulin-like Growth Factor-1 Teripang Pasir *Holohuria scabra* yang Diberi Pakan Berbahan Tepung Cacing Sutera *Tubifex* sp". Tulisan ini disusun berdasarkan hasil penelitian di laboratorium dan didukung oleh pustaka dan hasil-hasil penelitian yang berhubungan dengan penelitian penulis.

Harapan penulis, semoga tulisan ini dapat membantu dalam mendapatkan informasi tentang formulasi pakan dan pertumbuhan guna pengembangan budidaya teripang pasir di Indonesia.

Malang, 26 Mei 2015

Penulis



## DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBARAN PENGESAHAN .....	iii
IDENTITAS PENGUJI DISERTASI .....	iv
PERNYATAAN ORISINALITAS .....	v
RIWAYAT HIDUP .....	vi
UCAPAN TERIMA KASIH .....	vii
RINGKASAN .....	ix
SUMMARY .....	xi
KATA PENGANTAR .....	xiii
DAFTAR ISI .....	xiv
DAFTAR GAMBAR .....	xvi
DAFTAR TABEL .....	xviii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xx
DAFTAR SINGKATAN .....	xxi
I. PENDAHULUAN .....	1
Latar Belakang .....	1
Perumusan Masalah .....	5
Tujuan Penelitian .....	5
Manfaat Penelitian .....	6
II. TINJAUAN PUSTAKA .....	7
2.1 Klasifikasi Dan Morfologi Teripang Pasisir <i>Holothuria scabra</i> .....	7
2.2 Ekologi .....	9
2.3 Sistem Sirkulasi .....	10
2.4 Sistem Pergerakan .....	11
2.5 Sistem Pencernaan .....	11
2.6 Kebiasaan Makan Teripang Di Alam .....	12
2.7 Pertumbuhan Dan Pakan .....	13
2.8 Cacing Sutera <i>Tubifex</i> sp .....	18
2.9 Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1) .....	20
2.10 Analisa Protein Dan Plasma Darah .....	23
III. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN .....	25
3.1 Kerangka Konseptual .....	25
3.2 Hipotesis Penelitian .....	29
IV. METODE PENELITIAN .....	30
4.1 Kerangka Operasional Penelitian .....	30
4.2 Waktu Dan Tempat Penelitian .....	32





## DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
1	Teripang pasir ( <i>Holothuria scabra</i> ).....	8
2	Anatomi teripang pasir.....	11
3	Cacing sutera ( <i>Tubifex sp</i> ).....	18
4	Pengikatan IGF-1 terhadap IGF-1R dan signal transduksi yang dihasilkan.....	21
5	Kerangka konseptual penelitian.....	28
6	Kerangka operasional penelitian.....	31
7	Spot pengambilan darah teripang.....	42
8	Pertumbuhan rata-rata teripang pasir yang diberi pakan berbeda dosis protein selama penelitian.....	55
9	Hubungan antara jumlah protein dalam pakan (%) terhadap pertumbuhan mutlak teripang pasir.....	56
10	Kadar IGF-1 teripang pasir yang diberi pakan beda dosis protein.....	61
11	Hubungan antara jumlah protein dalam pakan formula (%) terhadap produksi IGF-1 plasma teripang pasir yang diberi pakan berbeda dosis protein.....	62
12	Hubungan antara dosis protein dalam pakan formula (%) terhadap produksi IGF-1 dinding tubuh teripang pasir yang diberi pakan berbeda dosis protein.....	63
13	Hubungan antara produksi IGF-1 plasma terhadap pertumbuhan mutlak teripang pasir yang diberi pakan berbeda dosis protein.....	65
14	Hubungan antara produksi IGF-1 dinding tubuh terhadap pertumbuhan mutlak teripang pasir yang diberi pakan berbeda dosis protein.....	66
15	Pola pertumbuhan mutlak teripang pasir yang diberi pakan berbeda dosis protein.....	69



16	Profil protein plasma darah teripang pasir yang diberi pakan berbeda dosis protein.....	70
17	Hasil uji Western Blot plasma darah teripang pasir yang diberi pakan berbeda dosis protein.....	72
18	Profil protein dinding tubuh teripang pasir yang diberi pakan berbeda dosis protein.....	74
19	Pertumbuhan rata-rata teripang pasir yang diberi pakan berbahan tepung cacing sutera selama penelitian.....	84
20	Hubungan antara jumlah tepung cacing sutera dalam pakan formula (%) terhadap pertumbuhan mutlak teripang pasir.....	85
21	Pola pertumbuhan mutlak teripang pasir yang diberi pakan berbahan tepung cacing sutera.....	87
22	Kadar IGF-1 teripang pasir yang diberi pakan berbahan tepung cacing sutera.....	90
23	Hubungan antara jumlah protein tepung cacing sutera dalam pakan formula (%) terhadap produksi IGF-1 plasma teripang pasir.....	92
24	Hubungan antara jumlah protein tepung cacing sutera dalam pakan formula (%) terhadap produksi IGF-1 dinding tubuh teripang pasir.....	92
25	Hubungan antara IGF-1 plasma terhadap pertumbuhan mutlak teripang pasir yang diberi pakan formula berbahan tepung cacing sutera.....	95
26	Hubungan antara IGF-1 dinding tubuh terhadap pertumbuhan mutlak teripang pasir yang diberi pakan formula berbahan tepung cacing sutera.....	95
27	Profil protein plasma darah teripang pasir yang diberi pakan berbahan tepung cacing sutera.....	99
28	Profil protein plasma darah teripang pasir yang diberi pakan berbahan tepung cacing sutera.....	101
29	Profil protein plasma darah teripang pasir yang diberi pakan berbahan tepung cacing sutera.....	102



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1 Komposisi bahan baku pakan uji.....	35
2 Formulasi dan hasil analisis proksimat pakan beda dosis protein.....	35
3 Formulasi dan hasil analisis proksimat pakan formula berbahan tepung cacing sutera.....	40
4 Konsentrasi standard ELISA kit.....	48
5 Kualitas air media pemeliharaan teripang pasir yang diberi pakan berbeda dosis protein dan menurut pustaka.....	51
6 Respons pertumbuhan teripang pasir yang diberi pakan berbeda dosis protein.....	54
7 Deskripsi berat molekul fraksi-fraksi protein plasma darah teripang pasir berdasarkan migrasi protein pada SDS PAGE 12%.....	71
8 Deskripsi berat molekul fraksi-fraksi protein dinding tubuh teripang pasir berdasarkan migrasi protein pada SDS PAGE 12%.....	75
9 Analisa proksimat dinding tubuh teripang pasir yang diberi pakan berbeda dosis protein.....	75
10 Perhitungan biaya bahan baku per 100g pakan formula berbeda dosis protein.....	80
11 Kualitas air media pemeliharaan teripang pasir yang diberi pakan berbahan tepung cacing sutera.....	82
12 Respons pertumbuhan teripang pasir pada uji pemberian pakan berbahan dasar tepung cacing sutera.....	83
13 Deskripsi berat molekul fraksi-fraksi protein plasma darah teripang pasir yang diberi pakan berbahan cacing sutera berdasarkan migrasi protein pada SDS PAGE 12%.....	100
14 Deskripsi berat molekul fraksi-fraksi protein dinding tubuh teripang pasir yang diberi pakan berbahan tepung cacing sutera berdasarkan migrasi protein pada SDS PAGE 12%.....	103





## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1	Sertifikat bebas plagiasi disertasi .....	127
2	Prosedur analisa proksimat .....	128
3	Prosedur analisa asam amino .....	131
4	Diagram isolasi protein .....	135
5	Komposisi larutan Pada SDS PAGE 12% .....	136
6	Prosedur kerja SDS PAGE .....	137
7	Komposisi Larutan Pada WB .....	138
8	Eksperimen 1- Pertumbuhan mutlak, rasio konversi pakan (FCR), rasio efisiensi protein (PER), IGF-1 plasma dan IGF-1 dinding tubuh teripang yang diberi pakan berbeda dosis protein .....	139
9	Analisis statistik eksperimen 1: pertumbuhan teripang pasir yang diberi pakan beda dosis protein .....	140
10	Analisis statistik eksperimen 1: IGF-1 plasma teripang pasir yang diberi pakan beda dosis protein .....	144
11	Eksperimen 2- Pertumbuhan mutlak, rasio konversi pakan (FCR), rasio efisiensi protein (PER), IGF-1 plasma dan IGF-1 dinding tubuh teripang yang diberi pakan berbahan tepung cacing sutera .....	148
12	Analisis statistik eksperimen 2: pertumbuhan teripang pasir yang diberi pakan beda dosis protein .....	149
13	Analisis statistik eksperimen 2: IGF-1 plasma teripang pasir yang diberi pakan beda dosis protein .....	153
14	Sertifikat bebas plagiasi publikasi artikel berdasarkan hasil eksperimen 1 .....	156
15	Publikasi artikel berdasarkan hasil eksperimen 1 .....	157
16	Foto-foto penelitian .....	163



## DAFTAR SINGKATAN

ALS	: Acid labile unit
APS	: Ammonium persulfate
BETN	: Bahan ekstrak tanpa nitrogen
DMF	: Dimethyl formamide
EDTA	: Ethylene diamine tetra acetic acid
ELISA	: Enzyme-linked immune sorbent assay
HPLC	: High performance liquid chromatography
IGFBP	: Insulin-like growth factor binding protein
IGF-1	: Insulin-like growth factor
kDa	: Kilo dalton
LGB	: Lower gel buffer
PBS	: Phosphate buffer saline
PBS-T	: Phosphate buffer saline-tweenty
PMSE	: Phenylmethenesulfonyl fluoride
PVDF	: Polyvinylidene difluoride
RSB	: Reducing saline buffer
SDS PAGE	: Sodium dodecylsulfate polyacrylamide gel electrophoresis
TBS	: Tris buffer saline
TBST	: Tris buffer saline tween
TCA	: Trichloric acetic acid
TEMED	: Tetramethylethylenediamine
UGB	: Upper gel buffer



## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Teripang pasir (*Holothuria scabra* Jaeger) merupakan salah satu jenis teripang yang banyak diminta di pasar oriental. Teripang umumnya diperdagangkan dalam bentuk *dried body wall* yang disebut *beche de mer*.

Teripang telah lama dimanfaatkan sebagai bahan makanan terutama oleh orang-orang China karena memiliki kandungan protein yang tinggi dengan sejumlah asam amino namun memiliki kandungan lemak yang rendah. Selain itu, teripang juga dimanfaatkan sebagai bahan baku obat-obatan dan kosmetika karena mengandung sejumlah mineral, vitamin serta berbagai bahan bioaktif (Chen, 2004; Choo, 2004).

Pemanfaatan produk teripang olahan yang luas serta harganya yang tinggi di pasaran telah memicu penangkapan teripang dari alam secara berlebihan.

Harga teripang pasir kering di pasar domestik mencapai Rp. 2.400.000/kg. Selain itu, umumnya teripang pasir hidup secara bentik dan cenderung menetap pada dasar perairan yang dangkal menjadikan teripang sangat rentan terhadap eksploitasi. Populasi teripang di alam dilaporkan telah mengalami tekanan eksploitasi di berbagai tempat. Hal ini ditandai dengan berkurangnya hasil tangkapan di alam maupun ukuran maksimum yang semakin mengecil seperti yang telah dilaporkan di berbagai tempat di dunia. (Lawrence *et al.*, 2004; Tuwo, 2004; Uthicke, 2004; Al-Rashdi and Claereboudt, 2010).

Indonesia merupakan salah satu negara pemasok teripang terbesar ke negara-negara tujuan seperti Singapura, Hongkong, dan Taiwan namun data statistik perikanan Indonesia mencantumkan teripang dalam kelompok "miscellaneous" sehingga cukup sulit untuk memperoleh data yang akurat.

Sebagai gambaran, dapat dilihat dari data yang dirilis FAO (2005) tentang



pasokan teripang beberapa negara pengekspor teripang termasuk Indonesia ke pasar Hongkong dari tahun 1999 – 2005. Data FAO tersebut memperlihatkan terjadi peningkatan volume ekspor Indonesia dari sebesar 762,7 kg pada tahun 1999 hingga sebanyak 1.068,77 kg di tahun 2001. Namun tahun-tahun selanjutnya volume ekspor teripang Indonesia menurun sangat tajam bahkan di tahun 2005 volume ekspor hanya mencapai 498,3 kg. Dijelaskan lebih lanjut bahwa penurunan volume ekspor dari Indonesia disebabkan sebagian besar produksi teripang tersebut merupakan hasil tangkapan dari alam. Oleh karena itu untuk dapat tetap berproduksi dan mempertahankan keberadaan teripang pasir di perairan maka produksi teripang pasir tidak bisa mengandalkan ketersediaan stok populasi alami melainkan harus berbasis pada budidaya.

Usaha budidaya teripang pasir telah dilakukan di beberapa tempat di Indonesia sejak beberapa tahun belakangan ini antara lain di Sulawesi Tenggara, Sulawesi Selatan, Lampung dan Riau, dengan cara penangkapan dan pembesaran juvenil dari alam di dalam kurungan tancap. Individu-individu teripang pasir berukuran sekitar 5-10 cm dikumpulkan dari habitatnya dan dimasukkan dalam kurungan dengan kepadatan 250 g.m<sup>-2</sup> dan dipelihara hingga mencapai panjang sekitar 15 – 20 cm atau mencapai berat sekitar 200 g atau lebih dan dipanen untuk pengolahan selanjutnya. Salah satu kendala yang dihadapi usaha budidaya teripang pasir adalah pertumbuhan teripang pasir yang lambat mengakibatkan periode pemeliharaan yang panjang sehingga umumnya teripang dipelihara di alam dengan pemberian pakan tambahan seadanya (Tuwo, 2004).

Pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan dan nutrisi serta adanya regulasi internal oleh hormon-hormon pertumbuhan. Hormon pertumbuhan (*Growth Hormone*, GH) merupakan hormon utama yang mengatur



pertumbuhan organisme. Pengaruh hormon pertumbuhan pada kebanyakan organisme dimediasi oleh *Insulin Like Growth Factor-1* (IGF-1) (Laron, 2001).

IGF-1 dilaporkan merupakan regulator utama pertumbuhan pada berbagai hewan baik vertebrata maupun invertebrata. Hasil penelitian pada beberapa species ikan memperlihatkan adanya korelasi antara plasma IGF-1 dan penambahan berat yang dihasilkan. Individu yang bertumbuh dan menghasilkan penambahan berat yang tinggi memiliki plasma IGF-1 yang lebih tinggi dibandingkan dengan species yang sama namun dengan penambahan berat yang lebih rendah (Dyer *et al.* 2004).

Sirkulasi IGF-1 dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi atau pakan dimana kadar IGF-1 meningkat sejalan dengan meningkatnya protein pakan. Sehingga adanya perubahan dalam kualitas maupun kuantitas pakan akan mengakibatkan fluktuasi plasma IGF-1. Karena itu IGF-1 dilaporkan berpotensi digunakan untuk mengevaluasi status nutrisi (Perez-Sanchez *et al.*, 1995; Dyer *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2006; Fukada *et al.*, 2014).

Hingga kini belum ada pakan yang secara khusus dibuat untuk memenuhi kebutuhan nutrisi teripang pasir meskipun species ini telah banyak dibudidayakan dan dipelajari. Dosis protein yang dibutuhkan untuk mendukung pertumbuhan teripang pasir juga belum banyak dipublikasikan padahal protein menyediakan asam amino untuk sintesa protein tubuh, energi dan *maintenance*. Di Indonesia, umumnya teripang pasir diberikan pakan tambahan seadanya seperti campuran kotoran ternak dan dedak namun tidak ada informasi tentang laju pertumbuhan teripang pasir.

Cacing sutera (*Tubifex* sp) selama ini dikenal sebagai sumber protein bagi berbagai ikan hias dan ikan air tawar. Cacing sutera dilaporkan menghasilkan pertumbuhan yang baik dibandingkan beberapa pakan alami lain maupun pakan



buatan. Beberapa peneliti berargumen hal ini disebabkan oleh kandungan protein cacing sutera yang cukup tinggi (Darto, 2004; Nur dan Subamia, 2008).

Studi pendahuluan penelitian ini menunjukkan tepung cacing sutera berdasarkan berat keringnya mengandung protein kasar yang cukup tinggi yaitu mencapai 40-50%. Hasil analisis asam amino memperlihatkan cacing sutera mengandung berbagai asam amino baik asam amino esensial maupun non esensial. Cacing sutera juga mengandung IGF-1 yang cukup tinggi dan mencapai dua kali kandungan IGF-1 teripang pasir. Dengan profil yang cukup bagus ini maka pemanfaatan sejumlah dosis tertentu cacing sutera dalam pakan formula diduga kuat dapat meningkatkan pertumbuhan teripang pasir.

Pemanfaatan IGF-1 sebagai penanda pertumbuhan maupun untuk mengevaluasi kebutuhan protein pada formula pakan teripang pasir sepanjang pengetahuan penulis belum pernah dipublikasikan. Penggunaan cacing sutera sebagai sumber protein pada pakan teripang pasir belum pernah dipublikasikan.

Penambahan cacing sutera dalam formula pakan juga diduga dapat mengakibatkan perubahan pada protein yang terekspresi. Cacing sutera hidup di air tawar dan bukan merupakan pakan alami teripang pasir. Hal ini berdasarkan penelitian pada ikan rainbow trout dan sea bream dimana sumber protein yang berbeda mengakibatkan perubahan pada protein yang terekspresi (Martin *et al.*, 2003; Wacyk *et al.*, 2012).

Penelitian ini bertujuan menggunakan IGF-1 untuk menandai pertumbuhan teripang pasir serta mengevaluasi kebutuhan protein dan bahan pakan berbahan cacing sutera pada formula pakan dalam mendukung pertumbuhan teripang pasir. Substitusi cacing sutera dalam formula pakan teripang pasir ini menarik untuk dipelajari adalah bagaimana profil protein yang dihasilkan teripang pasir?

Penggunaan IGF-1 dalam penelitian ini diharapkan dapat menjadi metode yang cepat untuk mendeteksi pertumbuhan teripang pasir serta mengevaluasi



kebutuhan protein dan bahan baku pakan formula yang mendukung pertumbuhan teripang pasir. Penggunaan IGF-1 sebagai penanda pertumbuhan maupun untuk mengevaluasi protein pakan diharapkan memberikan informasi bagaimana respons teripang pasir terhadap perlakuan pakan sehingga dapat menjadi terobosan baru bagi usaha budidaya teripang. Hal ini penting mengingat kesulitan yang dihadapi dalam mengukur pertumbuhan teripang pasir yang sering terkendala oleh keelastisan tubuh teripang maupun adanya air dan pasir dalam tubuh teripang (Conand, 1981).

### 1.2 Rumusan masalah

1. Bagaimana produksi IGF-1 teripang pasir terhadap dosis protein dalam formula pakannya?
2. Dapatkah produksi IGF-1 digunakan sebagai penanda pertumbuhan teripang pasir?
3. Dapatkah produksi IGF-1 digunakan untuk mengevaluasi tepung cacing sutera sebagai bahan baku formula pakan dalam mendukung pertumbuhan teripang pasir?
4. Apakah ada perubahan profil protein teripang pasir sebagai akibat substitusi tepung ikan dengan cacing sutera dalam formula pakan?

### 1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengkaji sintesis IGF-1 sebagai respons teripang pasir terhadap kebutuhan protein dalam formula pakan.
2. Mengkaji hubungan sintesis IGF-1 dan pertumbuhan teripang pasir.
3. Mengkaji sintesis IGF-1 sebagai respons penggunaan tepung cacing sutera dalam formula pakan untuk mendukung pertumbuhan teripang pasir.



4. Mengetahui ada tidaknya perubahan profil protein teripang pasir sebagai akibat substitusi sejumlah tertentu dosis tepung cacing sutera dalam formula pakan.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

##### **1.4.1 Manfaat Akademis**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memperoleh informasi tentang penggunaan IGF-1 untuk mengevaluasi kebutuhan protein dan bahan baku pakan dan mendeteksi pertumbuhan teripang pasir. Selain itu juga diharapkan hasil penelitian ini dapat menjadi masukan bagi pengembangan maupun penerapan bioteknologi pada usaha budidaya teripang dalam upaya untuk memperbaiki kualitas pakan dan manajemen pakan guna meningkatkan laju pertumbuhan teripang pasir. Hasil penelitian ini diharapkan juga bermanfaat sebagai bahan referensi untuk penelitian lebih lanjut.

##### **1.4.2 Manfaat Praktis**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang dosis protein dalam formula pakan dan persentase tepung cacing sutera yang dapat disubstitusikan mengganti tepung ikan sebagai bahan baku formula pakan yang dapat meningkatkan pertumbuhan teripang pasir dalam upaya mempersingkat waktu pemeliharaan teripang pasir hasil budidaya.



## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Klasifikasi Dan Morfologi Teripang Pasir (*Holothuria scabra*)

Teripang pasir (*Holothuria scabra* Jaeger) atau *sand fish* merupakan salah satu jenis teripang yang memiliki nilai ekonomis tinggi di pasar internasional.

Klasifikasi teripang pasir yang dikutip dari Massin (1999) dan Massin *et al.* (2009) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Echinodermata
Class	: Holothuroidea
Order	: Aspidochirotida Grube, 1840
Family	: Holothuriidae Ludwig, 1894
Genus	: <i>Holothuria</i> Linnaeus, 1767
Subgenus	: <i>Metriatyla</i> Rowe, 1969
Species	: <i>Holothuria scabra</i> Jaeger, 1833

Teripang pasir memiliki bentuk tubuh seperti silinder memanjang, agak rata pada bagian ventral dan melengkung pada bagian dorsal serta terdapat satu alur longitudinal pada bagian ventral. Teripang pasir memiliki warna tubuh yang cukup beragam: coklat-kelabu, hijau-kelabu, atau hitam dengan atau tanpa pita transversal yang gelap seperti yang dapat dilihat pada Gambar 1. Tubuh specimen hidup terdapat kerutan transversal tubuh dengan kedalaman 3,1 mm.

Kulit tubuh tipis (2-3 mm) dan terasa berpasir bila diraba (Conand, 1990).

James (1996) menyatakan bahwa tubuh teripang pasir dapat mencapai panjang hingga 40 cm dengan berat mencapai 500 gram. Conand (1990) mengemukakan bahwa panjang tubuh teripang pasir dapat mencapai maksimum sekitar 35 cm namun umumnya sekitar 22 cm dengan berat basah sekitar 0,3 hingga 1 kg.



**Gambar 1.** Teripang pasir (*Holothuria scabra*)  
(dokumentasi pribadi)

Pitt and Duy (2004a) mengemukakan bahwa teripang pasir di Asia Tenggara umumnya berukuran lebih kecil dibandingkan species yang sama yang berasal dari Pasifik selatan. Peneliti ini menduga perbedaan ukuran ini diakibatkan tekanan penangkapan yang besar sehingga generasi yang ada terdesak untuk matang dan memijah pada ukuran yang lebih kecil atau memang terdapat perbedaan fundamental lainnya yang perlu diteliti.

Mulut teripang pasir terletak pada bagian ventral pada ujung anterior dan dikelilingi oleh 20 tentakel yang pendek. Anus yang berakhir dengan anal papillae terletak pada bagian ujung yang berlawanan dengan mulut yaitu pada ujung posterior. Muscle tipis memanjang, rata tanpa kaki dan tangan (Conand, 1990; Massin *et al.*, 2009).

Tipe tentakel bukal yang dimiliki sangat erat kaitannya dengan sumber makanan. Tentakel bukal tipe peltate yang sederhana dan berukuran relatif pendek merupakan ciri teripang pemakan endapan (*deposit feeder*). Dengan koordinasi kerja otot dan cincin kapur, tentakel bukal dapat ditarik ke dalam mulut atau diulurkan mendekati mulut. Selain itu karena kerja otot tentakel ini dapat dipanjangkan atau dipendekkan.



## 2.2 Ekologi

Teripang pasir dapat ditemukan di berbagai tempat di dunia, umumnya pada daerah antara 30° LU hingga 30° LS (Agudo, 2006). Di Indonesia species ini ditemukan di berbagai tempat seperti di Jawa, laut Bali, Sulawesi, Seram, Ambon dan pulau Rotti, dengan berbagai nama lokal seperti teripang pasir, teripang gosok, maupun teripang putih (Purwati, 2005).

James (1994), Massin (1999) dan Agudo (2006) mengamati bahwa teripang pasir menyukai hidup pada perairan dangkal, biasanya kurang dari 20 m, pada daerah-daerah yang terlindungi, dengan kandungan nutrisi yang tinggi, dan dapat hidup beradaptasi pada berbagai habitat yang meliputi habitat berlumpur, berpasir, berbatu, koral, padang lamun dan daerah pertumbuhan algae. Species ini biasanya hidup membenam pada substrat dan sewaktu air surut spesies ini keluar pada posisi setengah membenam.

Parameter ekologi yang sesuai bagi pertumbuhan dan perkembangan teripang pasir adalah suhu air berkisar antara 26-27 °C hingga 29-30°C, salinitas antara 26-30 ppt, pH 6-9 (James, 1994; Darsono, 2009). Namun tampaknya teripang pasir memiliki toleransi kisaran salinitas yang luas, pada penelitian Hartati *et al.* (2005) teripang pasir bertumbuh dengan baik pada salinitas 32-33 ppt. Pada pH di bawah 6 atau di atas 9 kemampuan bergerak melemah dan pertumbuhan teripang akan terganggu. Teripang pasir dapat bertumbuh dengan baik pada kadar oksigen terlarut 5-6 ppm serta kadar ammonia kurang dari 410 mg/m<sup>3</sup> (Darsono, 2009). Kandungan ammonia di atas 500 mg/m<sup>3</sup> dapat berakibat fatal terhadap pertumbuhan teripang pasir (James *et al.*, 1994).

Teripang pasir hidup biasanya membenamkan diri pada substrat. Siklus membenamkan diri teripang di tanki berhubungan dengan cahaya sedangkan aktifitas membenamkan diri pada teripang pasir yang lebih besar dipengaruhi oleh suhu. Adapun siklus membenamkan diri pada teripang pasir bervariasi



terhadap lingkungan dimana pada hari cerah teripang pasir kecil cenderung membenamkan diri hampir sehari-hari penuh sedangkan teripang pasir berukuran besar bisa muncul lebih awal. Pada hari hujan, baik teripang besar maupun kecil cenderung membenamkan diri.

Suhu juga berpengaruh terhadap kebiasaan membenamkan diri. Bila suhu air meningkat hingga lebih dari 30°C teripang pasir masih tetap di permukaan namun bila suhu air turun di bawah 28°-29°C maka teripang pasir akan membenam dengan tidak mengikuti pola pembenaman dirinya (Wolkenhauer, 2008; Purcell, 2010).

### 2.3 Sistem Sirkulasi

Seperti echinodermata lainnya, teripang memiliki *water vascular system* dan *haemal system*. *Water vascular system* menghasilkan tekanan hidrolik terhadap tentakel dan kaki tube, menyebabkan tentakel dan kaki tube dapat bergerak.

*Haemal system* merupakan suatu sistem yang agak rumit pada teripang dibandingkan echinodermata lainnya, terdiri dari vessel yang berkembang dengan baik dan sinus-sinus yang terbuka. Cincin haemal di bagian tengah yang mengelilingi pharynx, di samping kanal cincin *water vascular system*, dan bersambung dengan vessel tambahan sepanjang kanal-kanal radial di bawah area ambulakral.

Darah teripang identik dengan cairan coelomic yang membasahi organ-organ teripang secara langsung dan juga mengisi *water vascular system*.

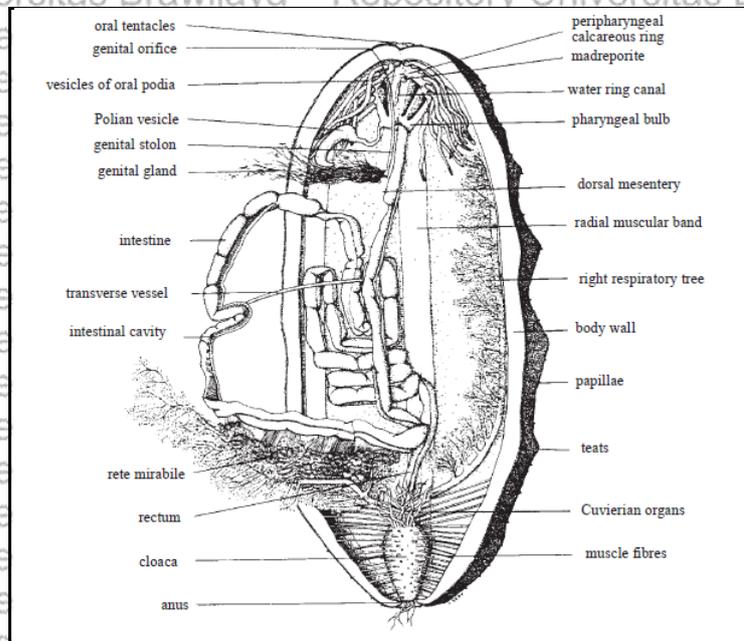
Phagocytic coelomocytes, memiliki fungsi yang serupa dengan sel-sel darah putih pada species-species vertebrata, dibentuk dalam haemal vessels, dan diedarkan ke seluruh rongga tubuh maupun kedua sistem sirkulasi (Lawrence, 1987).



## 2.4 Sistem Pergerakan

Teripang pasir bergerak dengan bantuan kaki tube yang padat yang tersebar pada bagian ventral dan melalui aktifitas otot dinding tubuh. Ketika tubuh berkontraksi kaki tube bagian depan terangkat dari permukaan substrat menyebabkan tubuh akan maju ketika tubuh kembali mengembang. Kaki bagian depan akan menancap pada substrat sambil menarik tubuh bagian belakang (Arakawa, 1990).

## 2.5 Sistem Pencernaan



Gambar 2 Anatomi Teripang (Conand, 1990)

Sistem pencernaan teripang terdiri dari farings, esofagus, lambung, usus, rektum dan kloaka. Farings melekat ke dinding tubuh dengan bantuan otot dan jaringan ikat. Lambung ditandai oleh kehadiran otot polos. Usus merupakan bagian sistem pencernaan yang sangat panjang (Gambar 2). Usus terdiri dari 3 bagian yaitu bagian menurun, menaik dan kumparan yang menurun yang menyambung dengan rectum dan bukaan kloaka yang keluar menuju anus



(Conand, 1990). Mulut terdapat pada bagian ventral pada ujung anterior dan anus pada ujung posterior.

## 2.6 Kebiasaan Makan Teripang Di Alam

Teripang merupakan deposit feeder yang memanfaatkan plankton, berbagai material organik dan detritus yang terdapat pada sedimen antara lain berbagai jenis plankton, polichaeta, protozoa, copepoda, cangkang moluska, dan fecal pelet hewan lain maupun fecal peletnya sendiri (Hammond, 1983; Zhou *et al.*, 2006; Zamora and Jeffs, 2011). Sumber makanan teripang bersifat benthik dan terdapat di bawah tubuh daripada dalam kolom air maupun di atas tubuh menyebabkan teripang pasir mengalami perubahan morfologi dimana mulut terdapat pada bagian ventral (Lawrence, 1987).

Tentakel digunakan untuk mengaduk atau mendorong partikel-partikel makanan langsung ke dalam mulut, atau mengumpulkan partikel-partikel makanan melalui mekanisme trapping atau melalui adhesi. Tentakel memiliki kemampuan untuk menangkap partikel makanan dengan berbagai ukuran. Partikel makanan yang besar diambil dengan cara didorong atau disapukan ke arah mulut, partikel berukuran sedang diambil melalui mekanisme trapping sedangkan partikel yang halus diperoleh melalui mekanisme adhesi (Lawrence, 1987).

Mercier *et al.* (1999) mengungkapkan bahwa teripang pasir bersifat nocturnal yaitu aktif mencari makan di malam hari sedangkan pada pagi hari teripang ini cenderung membenamkan diri beberapa centimeter ke dalam substrat dan akan muncul kembali ke permukaan pada sore atau malam hari.



## 2.7 Pertumbuhan Dan Pakan

Pertumbuhan didefinisikan sebagai perubahan pada ukuran atau jumlah materi tubuh baik temporal maupun jangka waktu tertentu. Pertumbuhan teripang pasir dilaporkan sangat bervariasi. Hasil penelitian Pitt *et al.* (2001) yang memelihara teripang pasir dewasa di tambak mengindikasikan bahwa pertumbuhan teripang pasir dapat mencapai 1-3 gram/ekor/hari

Agudo (2006) menyatakan teripang pasir berukuran sedang dapat bertumbuh rata-rata 0,5 cm per bulan atau sekitar 14 g/bulan. Pada kondisi yang sesuai teripang ini dapat tumbuh hingga mencapai ukuran 300 g dalam setahun. Belum diketahui masa hidup teripang pasir namun diperkirakan sekitar sepuluh tahun. Kedua eksperimen ini menggunakan teripang pasir dengan ukuran berkisar 20-25 g.

Bell *et al.*, (2007) mempublikasikan pertumbuhan teripang pasir yang cukup cepat yaitu sekitar 400 g/12 bulan pada tambak yang kaya nutrient. Al Qadri dkk. (2008) memelihara benih teripang selama 2 bulan dengan penambahan berat 2,5 g atau 1,25 g/bulan.

Tsiresy *et al.* (2011) melaporkan pertumbuhan teripang yang mencapai 1,8 g/hari. Diduga hal ini dikarenakan individu teripang pasir tersebut mampu mengekstrak nutrisi dari sedimen secara efisien. Penelitian lain mempublikasikan bahwa ada pula pertumbuhan teripang yang cukup lambat meskipun hidup pada perairan yang kaya akan nutrisi yaitu berkisar 0,04-0,23 g/hari (Purcell and Simutoga, 2008; Tsiresy *et al.*, 2011).

Pakan merupakan salah satu faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan teripang pasir (Darsono *et al.*, 2002; Pitt and Duy, 2004b; Lavitra *et al.*, 2009). Meskipun banyak dibudidayakan dan dipelajari, informasi tentang kebutuhan protein pada pakan tambahan teripang pasir masih sangat langka.



Beberapa jenis bahan baku pakan baik dari sumber nabati maupun hewani telah diuji cobakan untuk meningkatkan pertumbuhan teripang.

Teripang pasir *H. scabra* di India diberi pakan berupa campuran tepung kedelai, dedak, kotoran ayam, rumput laut dan limbah kepala udang (Battaglione and Bell, 1997). Induk memijah secara alami maupun melalui rangsangan.

Tetapi tidak terdapat data publikasi lainnya yang meliputi laju pertumbuhan maupun kelulusan hidup.

Pitt *et al.* (2001) meneliti pertumbuhan teripang pasir di tanki, kolam dan kurungan tancap di Vietnam menggunakan beberapa variasi pakan yaitu campuran pellet udang dan tepung gandum (protein 50%), pakan anak ayam (protein 18%), campuran *Gracillaria verrucosa* dan tepung gandum, campuran daun lamun dan tepung gandum. Hasil yang diperoleh menunjukkan pertumbuhan yang dihasilkan pakan tersebut di atas tidak berbeda yaitu berkisar 1-2 g/hari.

Hartati *et al.* (2005) melakukan penelitian pemeliharaan dan pemberian pakan terhadap teripang pasir dengan ukuran awal 16 cm selama 2 bulan dan melaporkan bahwa pakan dengan kadar protein kasar 7,26% yang merupakan campuran tepung klekap dan tepung ikan memberikan pertumbuhan yang baik yaitu sebesar 27,99 g/bulan bahkan pada beberapa individu telah terjadi perkembangan gonad yang mencapai tahap III.

Al Qadri dkk (2008) memelihara benih teripang selama 2 bulan dengan pemberian pakan kompos berupa potongan pelepah pisang, jerami, dedak halus dan molase. Tingkat kelulusan hidup yang diperoleh adalah sebesar 98% dan menghasilkan pertambahan berat 2,5 g. Namun tidak ada informasi tentang komposisi nutrisi pakan tersebut.

Pakan sangat diperlukan dalam usaha budidaya karena menyediakan nutrisi yang diperlukan organisme budidaya untuk maintenance, pertumbuhan dan reproduksi. Pakan buatan merupakan pakan yang dibuat dengan formulasi



tertentu berdasarkan pertimbangan kebutuhan nutrisi organisme budidaya, kualitas bahan baku dan nilai ekonomis. Pakan buatan disediakan untuk memenuhi kebutuhan organisme budidaya baik dengan menggantikan sebagian bahkan keseluruhan pakan alami. Untuk itu informasi mengenai kebutuhan nutrisi dari spesies-spesies yang dibudidayakan diperlukan dalam setiap formulasi pakan, meliputi kecukupan protein, lemak, karbohidrat serta vitamin dan mineral.

Informasi kebutuhan nutrisi teripang pasir masih sangat minim namun usaha pemenuhan kebutuhan nutrisi teripang pasir dapat dimulai dengan melakukan analisis proksimat maupun analisis asam amino dan asam lemak terhadap organisme tersebut seperti yang dilakukan oleh Chen (2004) dan Huijing *et al* (2004).

Protein merupakan komponen pakan yang mahal dibandingkan dengan lemak dan karbohidrat. Protein pada ikan memiliki berbagai fungsi antara lain sebagai pembangun dan mempertahankan sel, mengganti sel yang rusak, sumber energi, untuk membentuk hormon, enzim dan berbagai macam substansi biologi penting lainnya seperti antibody dan haemoglobin. Protein pada jaringan-jaringan tubuh dibangun oleh sekitar 23 asam amino dimana 10 diantaranya merupakan asam amino esensial yang harus disuplai melalui pakan (Halver, 1989).

Halver (1989) menyatakan bahwa pemanfaatan protein secara optimal dalam pakan dipengaruhi oleh konsentrasi energi dalam pakan, komposisi asam amino pakan dan daya cerna serta jumlah energi non protein dalam pakan.

Selanjutnya dikatakan bahwa ikan mencerna protein agar dapat memperoleh asam amino bebas yang diabsorpsi dari usus dan digunakan oleh berbagai jaringan untuk mensintesa protein baru. Oleh karena itu intake protein atau asam amino secara konsisten sangat dibutuhkan oleh organisme hidup karena



protein dan asam amino secara berkesinambungan digunakan organisme untuk membentuk protein baru untuk pertumbuhan dan reproduksi maupun untuk maintenance.

Komposisi asam amino teripang pasir yang diambil langsung dari alam telah dianalisis dalam studi eksplorasi ini dengan hasil yang mirip dengan hasil Chen (2004). Chen melaporkan sekitar 17 asam amino merupakan pembentuk dinding tubuh teripang pasir sedangkan dalam studi eksplorasi ini hanya berhasil diperoleh 15 jenis asam amino karena asam amino cystine dan proline tidak dapat dideteksi. Asam glutamate, glisin dan asam aspartat merupakan asam amino dengan kandungan terbesar pada teripang pasir yang digunakan pada study pendahuluan ini (Lihat Tabel 16).

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa beberapa asam amino dan metabolitnya merupakan regulator penting terhadap jalur metabolisme yang sangat dibutuhkan. Arginin dilaporkan dapat menstimulasi pelepasan berbagai hormon seperti insulin, hormon pertumbuhan dan glucagon pada ikan rainbow trout (Mommseh *et al.*, 2001). Tirosin merupakan precursor untuk hormon-hormon penting dan neurotransmitter seperti Thyroxine (T4), triiodothyronine (T3), epinephrine, norepinephrine, dopamine, dan melanin.

Halver (1989) mengemukakan bahwa secara umum hewan tidak memiliki kebutuhan khusus akan protein namun memerlukan adanya keseimbangan antara asam amino-asam amino esensial dan non esensial. Lebih lanjut dikemukakan bahwa kekurangan asam amino-asam amino esensial dalam pakan dapat menyebabkan pemanfaatan dietari protein yang rendah sehingga mengurangi laju pertumbuhan dan menyebabkan kehilangan berat tubuh.

Kebutuhan protein dipengaruhi oleh umur dan ukuran organisme serta suhu air. Peningkatan diet protein umumnya meningkatkan pertumbuhan hingga pada point dimana intake protein melebihi kemampuan ikan untuk mensintesa



tambahan protein. Namun, bila kandungan protein dalam pakan berlebihan, hanya sebagian dari suplai protein tersebut yang akan digunakan dalam sintesis protein sedangkan sisanya akan digunakan sebagai energi. Pada point ini tambahan protein akan ter-deaminasi dan disimpan sebagai lemak. Kekurangan protein dalam pakan untuk jangka waktu lama dapat mengganggu berbagai proses dalam tubuh serta dapat menurunkan daya tahan tubuh terhadap penyakit, bahkan dalam kasus-kasus yang berat dapat menyebabkan kematian.

Halver (1989) yang mempelajari kebutuhan protein berbagai organisme menyatakan kandungan protein pakan berkisar antara 20-60% tergantung kebutuhan fisiologi ikan maupun sumber protein. Sumber protein pakan organisme akuatik umumnya diperoleh dari tepung ikan dikarenakan komposisi asam amino tepung ikan yang seimbang. Namun dengan penggunaan yang sangat tinggi mengakibatkan harga yang melambung sehingga perlu dicari alternatif sumber protein.

Beberapa hasil penelitian melaporkan komposisi asam amino dan zat anti nutrisi serta keseimbangan nutrisi merupakan faktor-faktor utama yang harus diperhitungkan dalam memilih bahan baku pakan. Sumber protein yang berbeda diketahui mempengaruhi pertumbuhan organisme, komposisi tubuh maupun ekspresi gen seperti yang telah dilaporkan terjadi pada rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Martin *et al.*, 2003; Wacyk *et al.*, 2012). Para peneliti ini berargumentasi bahwa protein yang berasal dari hewan memiliki profil asam amino yang baik dan lebih dapat dicerna dibandingkan dengan protein yang berasal dari tumbuhan. Selain itu beberapa tumbuhan memiliki zat anti nutrisi yang dapat menghambat pertumbuhan.



## 2.8 Cacing Sutera (*Tubifex* sp)

Klasifikasi cacing sutera *Tubifex* sp yang menurut Brusca and Brusca (2003) and Erseus *et al.* (2008) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia  
 Filum : Annelida  
 Kelas : Clitellata  
 Sub Kelas : Oligochaeta  
 Ordo : Tubificida  
 Famili : Naididae  
 Genus : *Tubifex* (Lamarck, 1816)  
 Spesies : *Tubifex* sp.



**Gambar 3.** Cacing sutera (*Tubifex* sp)

(dokumentasi pribadi)

Cacing sutera memiliki kebiasaan hidup dengan membentuk koloni.

Koloni cacing ini dapat ditemukan pada saluran air yang jernih dan mengalir dengan kecepatan rendah pada dasar perairan mengandung banyak bahan organik yang dijadikan makanannya. Bagian ekor cacing sutera biasanya berada



di permukaan dan berfungsi sebagai alat bernafas dengan cara difusi langsung dari udara.

Cacing sutera memiliki tubuh berwarna merah kecoklatan dan bentuknya menyerupai rambut dengan panjang badan antara 1-3 cm. Karena bentuk tubuhnya yang menyerupai rambut inilah maka cacing ini dikenal juga sebagai cacing rambut (Gambar 3). Tubuh cacing sutera terdiri dari 2 lapis otot yang membujur dan melingkar sepanjang tubuhnya. Sebagaimana cacing lain, spesies ini merupakan jenis hermaphrodit yang berkembang biak lewat telur secara eksternal. Telur yang dibuahi oleh jantan akan membelah menjadi dua sebelum menetas. Spesies ini mempunyai saluran pencernaan berupa celah kecil mulai dari mulut sampai anus (Wikipedia, 2014).

Pemberian cacing sutera sebagai pakan ikan hias red fin shark (*Labeo erythrurus*) menghasilkan pertumbuhan dan sintasan benih ikan hias red fin shark yang tinggi (Nur dan Subamia, 2009). Darto (2004) melaporkan cacing sutera *Tubifex* sp memberikan pertumbuhan benih ikan mas koki yang lebih baik dibandingkan pakan alami jentik nyamuk *Culex* sp, dan *Daphnia* sp. Para peneliti ini menduga kandungan protein cacing sutera yang tinggi merupakan penyebabnya.

Hasil analisis proksimat yang dilakukan pada studi pendahuluan penelitian ini menunjukkan tepung cacing sutera memiliki kandungan protein yang cukup tinggi yang dapat mencapai sekitar 50% (Tabel 3) dengan komposisi asam amino cukup lengkap baik asam amino esensial maupun non esensial (Tabel 16). Tabel 16 memperlihatkan bahwa komposisi asam amino tertinggi cacing sutera adalah asam glutamat, asam aspartat, leusin, arginin dan alanin. Secara umum komposisi asam amino cacing sutera cukup tinggi. Kandungan lemak tepung cacing sutera cukup tinggi mencapai 10% berat kering. Tepung cacing ini juga



mengandung sejumlah asam lemak penting serta sejumlah mineral namun hanya sedikit mengandung EPA sedangkan DHA tidak terdeteksi.

## 2.9 Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-I)

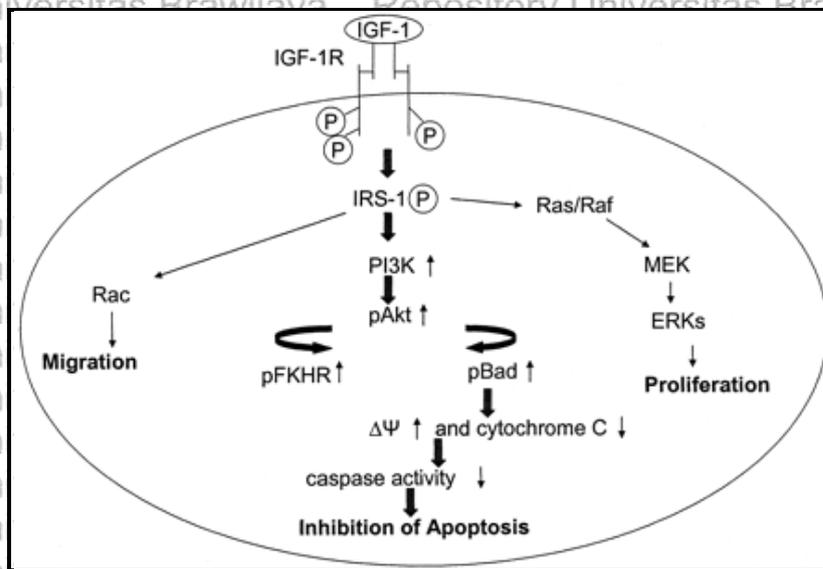
Kelompok Insulin-like growth factor (IGF) meliputi hormon pertumbuhan IGF-1 dan IGF-2 beserta reseptor-reseptornya (IGF-IR dan IGF-IIR), serta IGF binding protein (IGFBPs). Sistem IGF merupakan polipeptida faktor pertumbuhan yang secara struktural mirip dengan hormon insulin. IGF-1 merupakan peptide kecil terdiri dari 70 asam amino dengan berat molekul 7,6 kDa (Laron, 2001). Sistem IGF ini telah banyak dipelajari pada hewan vertebrata termasuk ikan seperti yang direview oleh Reinecke *et al.* (2005) dan Debnath (2010).

IGF-1 diproduksi oleh sel-sel liver yang distimulasi oleh hormon pertumbuhan (GH) (Delafontaine *et al.*, 2004). Lebih lanjut para peneliti ini menyatakan bahwa IGF-1 memainkan peranan penting dalam proses pertumbuhan sel. Informasi IGF-I pada invertebrata masih langka dan terbatas pada beberapa species seperti pada tiram *Pinctada fucata* yang diketahui sebagai Insulin-like family (Shi *et al.*, 2013) dan pacific oyster *Crassostrea gigas* (Gricourt *et al.*, 2003).

Sirkulasi IGF-1 dalam tubuh sangat diatur oleh IGFBPs. IGFBPs adalah kelompok protein yang disekresi dengan afinitas yang tinggi terhadap IGF. IGFBPs ini bertindak sebagai molekul-molekul adapter dwifungsi yang berikatan dengan IGF dan berinteraksi dengan protein-protein permukaan sel, protein matriks ekstraselular maupun protein lainnya (Ikeya *et al.*, 2002; Reinecke *et al.*, 2005).

Nutrisi merupakan regulator utama sistem IGF. Pada ikan *Sparus aurata* dilaporkan bahwa plasma IGF-I meningkat dengan meningkatnya rasio protein

pakan serta protein intake dan laju pertumbuhan namun sebaliknya kadar GH dilaporkan menurun (Perez-Sanchez *et al.*, 1995).



**Gambar 4.** Pengikatan IGF-1 terhadap IGF-1R dan sinyal transduksi yang terjadi (Delafontaine *et al.*, 2004).

Signal transduksi merupakan hal sangat penting dalam biologi seluler dimana IGF-1 tidak terlepas dari hal ini dimana pembentukan protein melalui pengikatan pada suatu reseptor (insulin-like growth factor 1 receptor, atau IGF-1R) dan menyebabkan suatu reaksi yang berantai. IGF-1R terdiri dari 2 rantai  $\alpha$  (ekstraselular) dan 2 rantai  $\beta$  (pada sitoplasma) Bagian sitoplasma reseptor adalah suatu tyrosine kinase (enzim yang memfosforilasi substrat), akan teraktifasi ketika IGF-1 berikatan ke bagian ekstraselular. Ketika IGF-1R diikat oleh IGF-1, maka akan terjadi perubahan bentuk protein. Perubahan ini yang akan mengaktifasi IGF-1R, memfosforilasi protein-protein yang berbeda yang bertanggung jawab untuk pergerakan sel, pertumbuhan dan reproduksi serta untuk menghentikan apoptosis yang mungkin terjadi (Delafontaine *et al.*, 2004) (Gambar 4).



Distribusi IGF-I pada ikan ditemukan pada berbagai jaringan seperti muscle (Bower *et al.*, 2008), kelenjar pituitary, gonad, embrio, ginjal, jantung, spleen, berbagai bagian pada saluran pencernaan, jaringan-jaringan calcified, dan organ-organ osmoregulasi serta pada hati dengan konsentrasi tertinggi umumnya ditemukan di hati. IGF-I bebas maupun yang berikatan atau kompleks juga ditemukan di plasma darah. Protein IGF-1 berbentuk kompleks terdiri dari 3 jenis protein yaitu IGF-1, IGFBP dan acid labil unit (ALS). (Duan, 1997; Bower *et al.*, 2008).

Berbagai hasil penelitian menunjukkan bahwa IGF-I berperan dalam pertumbuhan ikan. Dyer *et al.* (2004) mempublikasikan bahwa IGF-I meningkat seiring pertumbuhan pada ikan Atlantic salmon. Pada channel catfish *Ictalurus punctatus* dilaporkan bahwa plasma IGF-I berkorelasi positif dengan SGR (Li *et al.*, 2006) maupun penambahan berat (Dyer *et al.*, 2004). Plasma IGF-I juga dilaporkan lebih tinggi pada ikan coho salmon *Oncorhynchus kisutch* yang sedang dalam masa pertumbuhan dibandingkan dengan ikan sejenis yang tidak bertumbuh. Level IGF-I diantara ikan-ikan coho salmon yang sedang bertumbuh dilaporkan lebih tinggi pada ikan-ikan transgenic dibandingkan dengan ikan non transgenic (Higgs *et al.*, 2009).

Dyer *et al.* (2004) juga menemukan bahwa relasi antara IGF-I dengan rasio ukuran pada ikan barramundi seperti yang juga telah dilaporkan pada *Sparus aurata* (Perez-Sanchez *et al.*, 1995). Demikian juga pada lalat *Drosophila melanogaster* dimana individu yang kehilangan fungsi reseptor insulin-like protein substrat mengakibatkan ukuran tubuh yang sangat kecil (Ikeya *et al.*, 2002)

Perez-Sanchez and Le Bail (1999), Dyer *et al.* (2004) dan Li *et al.* (2006) mengemukakan bahwa IGF-I dapat digunakan sebagai marker terhadap performans pertumbuhan dan status nutrisi pada ikan-ikan budidaya. Lebih lanjut Dyer *et al.* (2004) mengemukakan kemungkinan IGF-I sebagai metode cepat



untuk mengevaluasi pakan organisme budidaya seperti hasil yang diperoleh pada penelitian pemberian pakan untuk ikan barramundi *Lates calcarifer* dan Atlantic salmon *Salmo salar*.

## 2.10 Analisa Protein Dan Plasma Darah

Plasma darah merupakan komponen cairan darah yang menjadi medium sel-sel darah, dimana sel darah ditutup, yang berbentuk butiran-butiran darah. Plasma darah merupakan komponen terbesar dalam darah yaitu sekitar 55% dari volume darah yang terdiri dari 90% berupa air dan 10% berupa larutan protein, glukosa, faktor koagulasi, ion mineral, hormon dan karbon dioksida (Wikipedia, 2014).

Plasma darah merupakan campuran protein kompleks. Untuk memisahkan pita-pita protein kompleks tersebut dapat dilakukan dengan menggunakan metode elektroforesis. Elektroforesis merupakan proses Bergeraknya molekul bermuatan pada suatu medan listrik. Prinsipnya bila suatu molekul biologi berada pada medan listrik maka yang bermuatan positif akan bermigrasi ke elektroda negatif dan sebaliknya (Fatchyah *et al.*, 2009).

Untuk menganalisis protein spesifik pada sampel maka digunakan teknik western blot, atau juga disebut sebagai imunoblot. Western blot menggunakan gel elektroforesis untuk memisahkan pita protein berdasarkan panjang polipeptida. Protein tersebut akan ditransfer ke nitroselulosa atau PVDF dan diberi antibodi spesifik untuk identifikasi protein target (Aulanniam, 2005).

Pendeteksian dan penghitungan antigen dalam hasil sampel dapat digunakan ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay). ELISA telah banyak digunakan sebagai alat diagnostik dalam bidang kedokteran dan patologi tanaman, serta memeriksa kontrol kualitas di berbagai industri. Proses pendeteksian antigen dalam hasil sampel sebagai berikut: Antigen dari sampel yang melekat pada



permukaan. Kemudian antibodi spesifik lanjut diaplikasikan di atas permukaan sehingga dapat mengikat antigen. Antibodi ini terkait dengan enzim, dan pada langkah terakhir, zat yang mengandung substrat enzim ditambahkan. Reaksi selanjutnya menghasilkan sinyal terdeteksi, paling sering perubahan warna pada substrat (Aulanni'am 2005).



### III. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

#### 3.1. Kerangka Konseptual

Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) merupakan hormon yang sangat berperan dalam regulasi pertumbuhan organisme. Pada ikan dan kelompok vertebrata lainnya IGF-1 merupakan regulator utama pertumbuhan (Duan, 1997; 1998; Moriyama *et al.*, 2000) sedangkan pada tiram *Pinctada fucata* dan beberapa invertebrata dikenal *Insulin-like family* (Shi *et al.*, 2013) yang meliputi insulin dan IGF-1. IGF-1 merupakan molekul protein kecil yang disintesis dan dirilis oleh hormon pertumbuhan (*Growth hormone*, GH). IGF-1 tersusun dari 70 asam amino dan disebutkan sebagai hormon yang memiliki berbagai fungsi penting untuk pertumbuhan maupun hidup berbagai organisme (Laron, 2001).

Pertumbuhan pada kebanyakan species dilaporkan ditandai adanya peningkatan kadar plasma IGF-1 organisme tersebut. Perez-Sanchez and Le Bail (1999) pertama kali mengindikasikan penggunaan *Growth Hormone* (GH)/IGF-1 axis sebagai penanda performa pertumbuhan dan status nutrisi ikan budidaya. Berbagai penelitian setelahnya memperkuat penemuan tersebut (Dyer *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2006; Bower *et al.*, 2008).

Perez-Sanchez *et al.* (1995) melaporkan bahwa sirkulasi IGF-1 dalam tubuh organisme dipengaruhi oleh ketersediaan pakan dan kandungan protein pakan. Peningkatan intake pakan dan kandungan protein pakan dilaporkan meningkatkan kandungan IGF-1 dan pertumbuhan sebaliknya penurunan *intake* pakan mengakibatkan penurunan IGF-1 dan terhambatnya pertumbuhan.

Adanya perubahan dalam status nutrisi yang menghasilkan perubahan laju pertumbuhan dapat diidentifikasi melalui perubahan kadar plasma IGF-1.

Teripang pasir (*Holothuria scabra*) merupakan salah satu jenis teripang yang hidup di daerah tropis dan memiliki berbagai karakteristik biologi yang dapat



dimanfaatkan untuk tujuan komersial. Karakteristik tersebut antara lain untuk tujuan kuliner dimana kandungan protein teripang yang tinggi namun rendah lemak, mengandung berbagai bahan bioaktif untuk bahan obat-obatan dan kosmetika (Chen, 2004; Choo, 2004), fekunditas yang tinggi serta pemijahan yang berlangsung sepanjang tahun bagi individu yang hidup di perairan tropis (Conand, 1981).

Usaha budidaya teripang pasir secara teknis dan ekonomis memungkinkan untuk dikembangkan secara massal (Giraspy and Ivy, 2008). Pengembangan budidaya teripang pasir untuk memenuhi kebutuhan protein masyarakat maupun untuk menjamin kesinambungan produksi teripang merupakan tantangan di masa yang akan datang. Kendala utama yang dihadapi budidaya adalah pertumbuhan teripang pasir yang lambat (James *et al.*, 1994) serta belum tersedianya pakan formula yang mendukung pertumbuhan teripang pasir.

Sampai saat ini sangat sedikit informasi yang tersedia tentang pakan formula yang dapat meningkatkan pertumbuhan teripang pasir. Budidaya teripang pasir di Indonesia umumnya hanya diberi pakan berupa campuran dedak dan kotoran ternak namun tidak tersedia data tentang pertumbuhan teripang pasir yang dihasilkan dengan penggunaan pakan tersebut.

Protein merupakan material organik utama pada jaringan tubuh organisme, membentuk sekitar 65-75% dari total bahan kering, dimana "ikan" tidak dapat mensintesa semua jenis asam amino sehingga membutuhkan pasokan beberapa asam amino melalui pakan yaitu melalui konsumsi protein atau campuran beberapa asam amino (National Research Council, 1993). Selain itu, protein merupakan komponen pakan termahal dibandingkan dengan lemak dan karbohidrat. Sehingga menentukan kebutuhan protein untuk mendukung pertumbuhan organisme menjadi penting untuk dipelajari. Dosis kebutuhan protein ini kemudian menjadi patokan untuk digunakan dalam serangkaian



penelitian substitusi bahan baku pakan formula untuk mendukung pertumbuhan teripang pasir.

Cacing sutera selama ini dikenal sebagai pakan alami bagi beberapa jenis ikan air tawar. Cacing sutera memiliki kandungan protein yang cukup tinggi.

Hasil studi pendahuluan penelitian ini menunjukkan cacing sutera memiliki kandungan protein yang tinggi dan mengandung berbagai jenis asam amino baik asam amino esensial maupun non esensial. Selain itu, hasil studi pendahuluan memperlihatkan cacing sutera memiliki IGF-1 yang tinggi berkisar antara 89,2 - 99,2 ng.mL<sup>-1</sup>.

Pemanfaatan tepung cacing sutera sebagai sumber protein bahan pakan teripang pasir sepanjang pengetahuan penulis belum pernah dilaporkan. Cacing sutera bukan merupakan komponen pakan alami teripang pasir pada habitat aslinya. Dengan profil yang bagus, diyakini pemanfaatan cacing sutera dalam formula pakan dapat meningkatkan sirkulasi IGF-1 teripang pasir secara alami yang berujung pada pertumbuhan yang lebih tinggi.

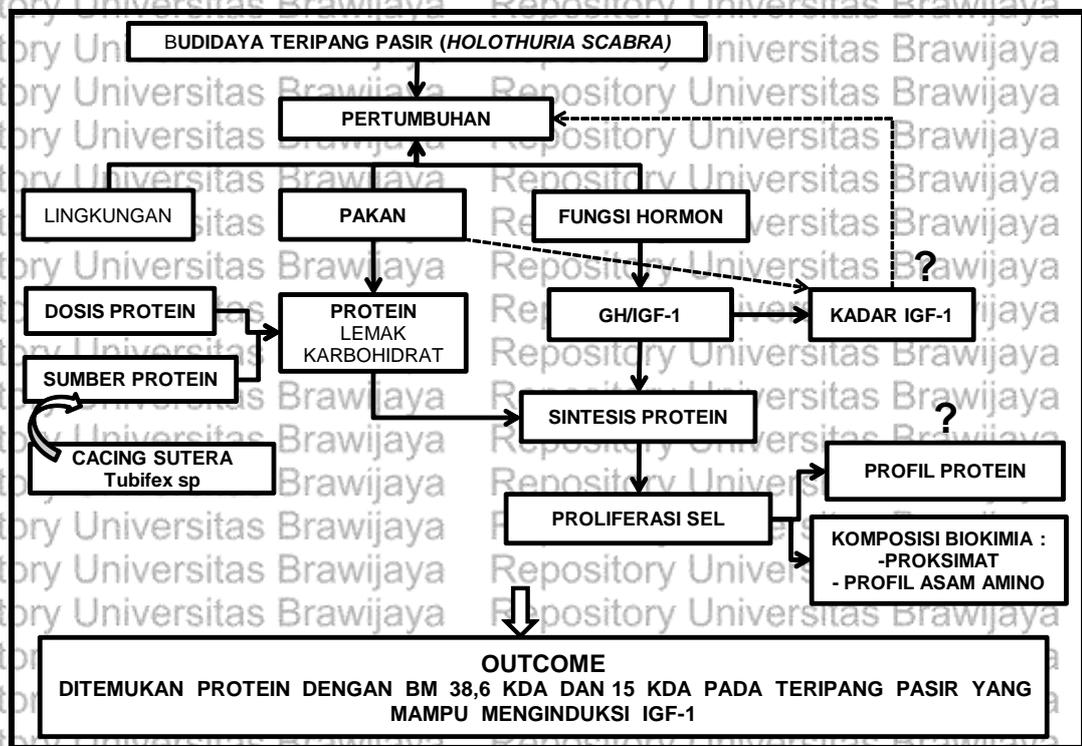
Perubahan komponen pakan diketahui menyebabkan perbedaan respons pada level sel yang dapat menyebabkan perubahan pada ekspresi protein yang dihasilkan seperti yang dilaporkan pada beberapa jenis ikan (Perez Sanchez *et al.*, 1995; Martin *et al.*, 2003; Wacyk *et al.*, 2012). Menjadi pertanyaan apakah substitusi sejumlah tertentu tepung ikan dengan tepung cacing sutera dapat menyebabkan perubahan ekspresi protein teripang pasir?

Penelitian ini menggunakan IGF-1 untuk mengeksplorasi dosis protein yang dibutuhkan bagi pertumbuhan teripang pasir dan menggunakan tepung cacing sutera sebagai alternatif bahan baku protein dalam formula pakan guna meningkatkan pertumbuhan teripang pasir. Penggunaan IGF-1 diharapkan menjadi metode yang cepat untuk mendeteksi tingkat pertumbuhan teripang pasir dan untuk mengevaluasi kebutuhan protein serta bahan baku pakan

teripang pasir. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang penggunaan IGF-1 sebagai penanda pertumbuhan teripang pasir sekaligus sebagai alat untuk mengevaluasi kualitas pakan formula berbahan dasar cacing sutera.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat diterapkan guna menghasilkan teripang pasir sebagai sumber protein dengan laju pertumbuhan yang lebih tinggi.

Penggunaan IGF-1 sebagai indikator pertumbuhan teripang pasir diyakini dapat memberikan hasil yang lebih akurat mengingat kesulitan yang dihadapi dalam pengukuran pertumbuhan panjang dan berat teripang. Conand (1981) melaporkan kesulitan tersebut diakibatkan morfologi dan sifat elastisitas tubuh teripang serta keberadaan air dalam rongga coelium dan sediment pada alimentary canal teripang pasir. Kerangka konseptual penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Kerangka konseptual penelitian



### 3.2. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan uraian di atas maka hipotesis yang diajukan adalah sebagai berikut:

1. Diduga IGF-1 dapat digunakan untuk mendeteksi kebutuhan protein teripang pasir dalam formula pakan.
2. Diduga IGF-1 dapat digunakan untuk mendeteksi pertumbuhan teripang pasir.
3. Diduga IGF-1 dapat digunakan untuk mengevaluasi jumlah dosis tepung cacing sutera sebagai bahan baku protein dalam formula pakan untuk mendukung pertumbuhan teripang pasir.
4. Diduga pemanfaatan tepung cacing sutera dalam formula pakan akan mengakibatkan perubahan profil protein teripang pasir.

## IV. METODE PENELITIAN

### 4.1 Kerangka Operasional Penelitian

IGF-1 telah banyak dipublikasikan sebagai hormon yang memiliki berbagai fungsi yang penting untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup berbagai organisme baik vertebrata maupun invertebrata. Sintesis IGF-1 dilaporkan meningkat seiring pertumbuhan organisme. Kadar plasma IGF-1 dipublikasikan berhubungan dengan kualitas dan kuantitas pakan terutama protein sehingga IGF-1 diindikasikan sebagai *tool* untuk mengevaluasi pertumbuhan dan efisiensi pakan organisme budidaya (Perez Sanchez *et al.*, 1995; Perez Sanchez and LeBail, 1999).

Pertumbuhan dipengaruhi antara lain oleh pakan terutama protein disamping adanya regulasi hormon terutama IGF-1. Dosis protein yang dibutuhkan dalam pakan untuk mendukung pertumbuhan teripang pasir belum diketahui sehingga kebutuhan protein ini harus dikaji untuk kemudian dicarikan bahan baku pakan yang efisien dalam mendukung pertumbuhan teripang pasir dengan menggunakan IGF-1 sebagai penanda.

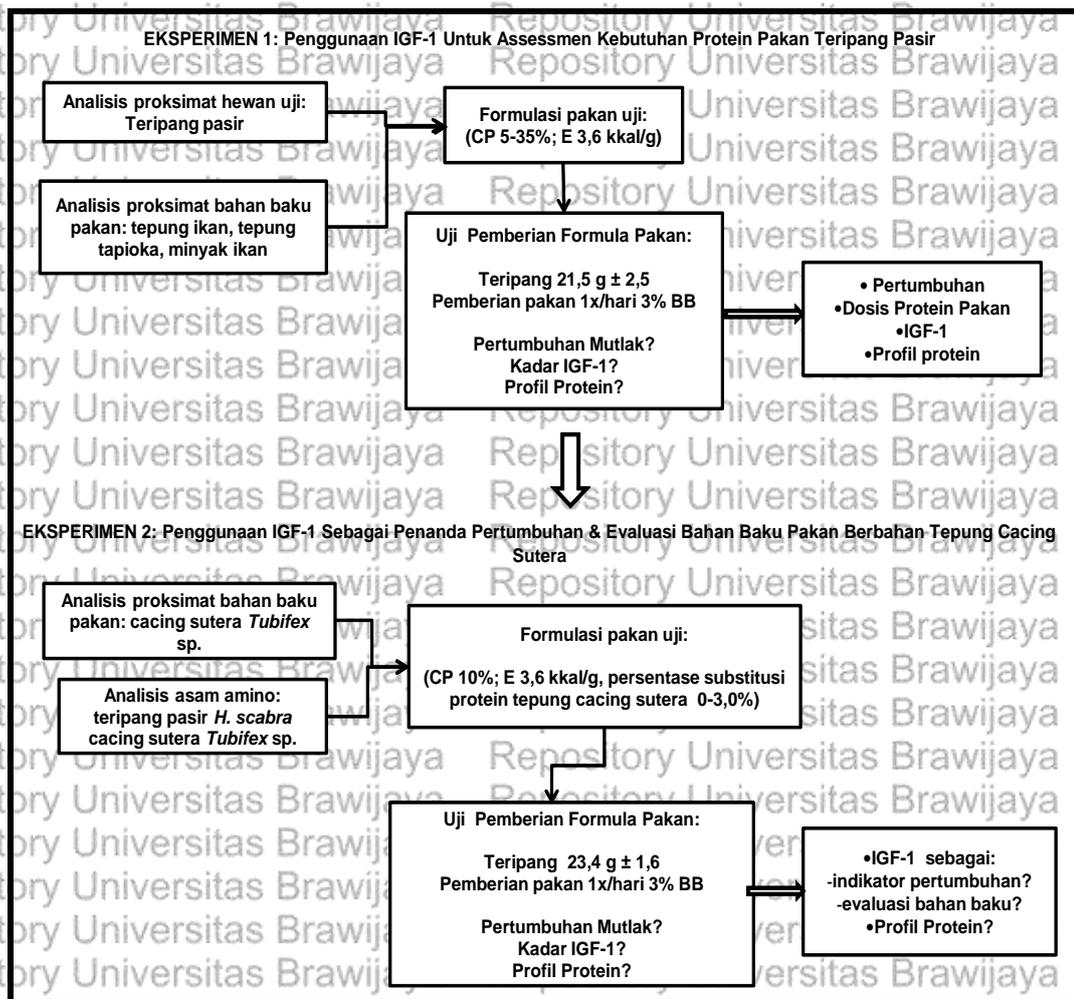
Untuk mengetahui potensi IGF-1 sebagai penanda pertumbuhan maupun penanda status nutrisi teripang serta profil protein yang dihasilkan sebagai akibat penambahan cacing sutera dalam pakan formula teripang pasir, maka penelitian ini dilakukan dalam 2 tahap eksperimen.

Eksperimen 1 bertujuan untuk mengetahui kebutuhan protein pakan yang mendukung pertumbuhan serta hubungannya dengan IGF-1 teripang pasir.

Dosis protein yang mendukung pertumbuhan teripang pasir akan dievaluasi melalui perubahan kadar IGF-1 dan parameter pertumbuhan seperti laju pertumbuhan spesifik dan rasio konversi pakan. Dosis protein yang

menghasilkan pertumbuhan terbaik pada eksperimen 1 menjadi patokan dosis protein pakan uji yang digunakan dalam eksperimen 2.

Eksperimen 2 bertujuan menggunakan IGF-1 sebagai indikator pertumbuhan initeripang pasir. Sejumlah tertentu cacing sutera ditambahkan ke dalam pakan uji untuk melihat pengaruhnya terhadap pertumbuhan dan respons IGF-1 serta profil protein teripang pasir. Masing-masing eksperimen dilakukan selama 6 minggu. Kerangka operasional penelitian dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6. Kerangka operasional penelitian



## 4.2 Waktu Dan Tempat Penelitian

Pemeliharaan dan pemberian pakan uji pada teripang pasir ini dilakukan di Balai Budidaya Laut Ambon selama kurang lebih 6 bulan dari Maret hingga Agustus 2013. Beberapa analisis dilakukan di laboratorium di lingkungan Universitas Brawijaya antara lain analisis proksimat di Laboratorium Pengujian Mutu Dan Keamanan Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, dan Analisis protein dan pengukuran kadar IGF-1 teripang pasir dilakukan di Laboratorium Biokimia FMIPA. Analisis asam amino dilakukan di Laboratorium Terpadu Institut Pertanian Bogor.

## 4.3 Materi Penelitian

### 4.3.1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: (1) hewan uji, teripang pasir dengan bobot basah berkisar antara 18,0 – 24,9 g, (2) bahan-bahan baku pakan formula: tepung cacing sutera, tepung ikan, tepung tapioka, minyak ikan, vitamin dan mineral serta perekat pakan, (3). Pemeliharaan teripang: substrat yang terdiri dari campuran pasir halus dan potongan karang, air laut sebagai media pemeliharaan, serta oksigen untuk aerasi, (4) berbagai bahan kimia untuk analisis proksimat bahan pakan maupun hewan uji, (5) Bahan untuk SDS-PAGE, yaitu acrylamide, bis-acrylamide, TEMED, APS, TNS base, tris HCL, gysin, SDS, protein marker, methanol, asam glacial, bromophenol, gliserin. (6) Bahan untuk Western blotting, yaitu seluruh bahan pada SDS-PAGE, antibodi primer IGF-1, ponceau 2%, membrane nitroselulosa (NC), antibodi sekunder. Komposisi larutan terdapat pada Lampiran 7. (7) Bahan untuk ELISA, Elisa kit, tip 10 µl, tip 100 µl, tip 1000 µl, *blue* tip, *yellow* tip, (8) serta bahan kimia



untuk analisis asam amino antara lain OPA, methanol, merkaptoetanol, buffer borat, Na-asetat, Na-EDTA, THF dan HCl

#### 4.3.2. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain (1). Wadah pemeliharaan berupa akuarium berukuran 40x70x40 cm beserta perlengkapan pemeliharaan, timbangan digital, aluminum foil, plastik sampel, kertas label, dan alat tulis menulis. (2) Peralatan pengukur kualitas air berupa termometer air raksa, refractometer dan pH universal. (3) Peralatan pembuatan pakan berupa timbangan dan alat pencetak pellet. (4) Peralatan analisis proksimat (5) Peralatan untuk SDS-PAGE dan Western blotting, yaitu mini protein gel II vertikal, transblotting dan *power supply*. (6) Alat untuk ELISA, yaitu microplate, ELISA reader dan (7) peralatan analisis asam amino.

#### 4.4. Tahapan Penelitian

##### 4.4.1 Eksperimen 1 : Assesmen Kebutuhan Dosis Protein Formula Pakan Untuk Pertumbuhan Dan Hubungannya Dengan IGF-1 Teripang Pasir

###### 4.4.1.1 Rancangan Percobaan

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Variabel yang digunakan dalam eksperimen ini terdiri dari variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas merupakan variabel yang dievaluasi pengaruhnya sedangkan variabel terikat adalah variabel yang diprediksi akan timbul sebagai akibat pengaruh dari variabel bebas. Variabel bebas pada eksperimen ini adalah dosis protein sedangkan variabel terikat adalah pertumbuhan mutlak, produksi IGF-1, dan komposisi kimia dinding tubuh teripang pasir.



Pada eksperimen 1, perlakuan dosis protein pakan terdiri dari 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30% dan 35% protein serta perlakuan tanpa pakan (TP) atau 0% protein. Semua perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

#### 4.4.1.2. Pakan Uji

Tujuh pakan uji yang isoenergi (3,6 kkal/g) namun berbeda dosis protein yaitu dosis protein 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30% dan 35% digunakan eksperimen 1. Dosis ini dibuat berdasarkan hasil analisis proksimat protein dinding tubuh teripang pasir maupun publikasi kebutuhan protein teripang lain. Hasil analisis proksimat dinding tubuh memperlihatkan bahwa kandungan protein teripang pasir ukuran 25-35 g berkisar antara 20-30%. Halver (1989) menyatakan bahwa kebutuhan protein pakan hewan umumnya berkisar antara 20-60%. Publikasi protein pakan teripang pasir 7,5-18% (Hartati, 2001; Hartati dkk, 2005), dan publikasi protein pakan teripang *Apostichopus japonicus* yaitu sekitar 11-20% (Yuan *et al.*, 2006). Pakan formula yang digunakan untuk eksperimen ini dibuat dengan 5% dibawah dan diatas persentase protein pakan yang dipublikasikan.

Sumber protein pakan uji terutama berasal dari tepung ikan, sumber lemak berasal dari minyak ikan dan sumber karbohidrat adalah tepung tapioka. Analisis proksimat dilakukan terhadap semua bahan baku pakan yang akan digunakan untuk formulasi pakan (Tabel 1). Hasil analisis proksimat bahan baku pakan (Tabel 1) ini digunakan untuk membuat formula pakan uji. Perhitungan komposisi bahan baku pakan uji dilakukan dengan menggunakan metode "Spreadsheet". Komposisi formula pakan dan hasil analisis proksimat formula pakan dapat dilihat pada Tabel 2.



**Tabel 1.** Komposisi kimia bahan baku pakan uji

Komposisi Kimia (%)	Tepung Ikan	Tepung Tapioka	Minyak Ikan	Cacing Sutera
Air	15,43	11,73	1,71	15,80
Protein	59,70	1,14	0,00	52,28
Lemak	2,94	0,07	98,29	10,09
Abu	11,20	0,06	0,00	15,01
BETN*	10,73	87,00	0,00	6,82
Energi (kkal/100 g)**	308,18	353,19	884,61	327,21

Keterangan:

Hasil analisis Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya.

\*BETN = 100 – Protein – Lemak – Kadar Abu – Serat Kasar

\*\*Energi = (4 x Protein) + (9 x Lemak) + (4 x Karbohidrat)

Analisis proksimat yang dilakukan baik terhadap bahan baku pakan maupun pakan uji meliputi kadar air dengan menggunakan metode gravimetri, kadar abu dengan metode pengabuan dalam tanur dengan suhu hingga 600°C, kadar protein kasar menggunakan metode Kjeldahl dan kadar lemak kasar dengan metode Soxhlet. Prosedur analisis proksimat dapat dilihat pada Lampiran 2.

**Tabel 2.** Formulasi dan hasil analisis proksimat pakan beda dosis protein

Bahan (g)	Dosis Protein Pakan						
	5%	10%	15%	20%	25%	30%	35%
Tepung ikan	7,80	15,50	23,30	31,20	39,20	47,20	55,20
Minyak ikan	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Tepung tapioka	60,40	53,37	46,20	39,10	31,80	24,50	17,20
Vitamin mix	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Mineral mix	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Perekat	11,80	11,13	10,50	9,70	9,00	8,30	7,60
Total	100	100	100	100	100	100	100
Komposisi proksimat (%)							
Kadar air	10,15	9,85	10,10	11,20	10,15	9,80	10,30
Protein kasar	4,90	9,85	14,21	18,90	23,90	28,75	33,70
Lemak kasar	5,48	6,10	7,44	8,67	9,17	10,38	11,05
Kadar abu	3,85	4,95	6,37	6,86	8,47	10,35	10,75
BETN*	75,62	69,25	61,88	54,37	48,31	40,72	34,20
Energi (kkal/100 g)**	371,40	371,30	371,32	371,11	371,37	371,30	371,05

Keterangan:

Hasil analisis Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya.

\*BETN = 100 – Protein – Lemak – Kadar Abu – Serat Kasar

\*\*Energi = (4 x Protein) + (9 x Lemak) + (4 x BETN)



Pakan yang telah jadi digerus halus menyerupai butiran pasir. Pakan disimpan dalam lemari pendingin (-20°C) hingga saat digunakan. Dosis protein pakan yang menghasilkan pertumbuhan terbaik digunakan sebagai patokan dosis protein yang dibutuhkan teripang pasir muda pada eksperimen 2.

#### 4.4.1.3 Pemeliharaan Teripang Pasir Dan Pemberian Pakan Uji

Wadah pemeliharaan yang digunakan berupa akuarium berukuran 40x70x40 cm. Dua puluh satu akuarium diisi pasir laut serta potongan-potongan karang ±10 cm sebagai substrat serta diisi air laut dengan salinitas 31 - 32 ppt. Suhu air berkisar antara 26-31°C dan pencahayaan secara alami. Pergantian substrat dilakukan setiap minggu. Pasir yang telah kotor dikeluarkan dan dijemur di bawah sinar matahari selama beberapa hari. Pasir kemudian ditampung dalam wadah tersendiri dan dicuci hingga bersih untuk kemudian digunakan lagi.

Semua akuarium dilengkapi saluran air masuk dan keluar dan diberi aerator sebagai penyuplai oksigen. Pemeliharaan teripang menggunakan sistem air mengalir secara terus menerus. Pengukuran kualitas air meliputi suhu dan salinitas dilakukan dua kali sehari, sewaktu pagi dan sore hari. Pengukuran pH substrat dilakukan sekali sehari sebelum pemberian pakan.

Sebanyak 42 teripang pasir dengan berat berkisar 18-24,9 g dikumpulkan dari alam. Teripang ini diperkirakan berumur sekitar 3 bulan. Hal ini didasarkan pada publikasi Battaglione (1999) yang menyatakan bahwa teripang mencapai ukuran 5-10 mm pada umur 1 bulan. Agudo (2006) menyatakan bahwa teripang berukuran sedang dapat tumbuh seberat 14 g setiap bulan.

Teripang pasir yang dikumpulkan segera ditempatkan pada wadah pemeliharaan tersendiri untuk diamati. Teripang pasir yang mengeluarkan isi perutnya (*eviscerated*) segera dikeluarkan dari wadah pemeliharaan dan wadah



segera dibersihkan agar kualitas air tetap terjaga dan tidak mengganggu teripang pasir lainnya. Teripang pasir dipuasakan dengan cara ditempatkan pada wadah pemeliharaan tanpa substrat selama semalam. Keesokan harinya, individu-individu teripang pasir ditimbang untuk diketahui berat awalnya. Dua ekor teripang didistribusikan secara acak pada masing-masing wadah pemeliharaan. Hal ini didasarkan penelitian Pitt *et al* (2001) yang menyatakan pertumbuhan teripang pasir menjadi lambat bahkan terhenti bila kepadatan mencapai 200-250 g/m<sup>2</sup>.

Teripang pasir diberi pakan sebesar 3% dari berat tubuh dan dilakukan hanya satu kali sehari yaitu di sore hari mengingat teripang pasir merupakan hewan nokturnal yang cenderung melakukan aktifitas makan di malam hari. Hartati *et al.* (2005) menyatakan bahwa pemberian pakan sebesar 3% lebih baik bagi pertumbuhan teripang dibandingkan pemberian pakan sebesar 2% maupun 5%. Peneliti yang sama juga menyatakan pemberian pakan satu kali di sore hari lebih efektif dibandingkan pemberian pakan dua kali sehari yaitu pagi dan sore.

Sebelum dilakukan pemberian pakan, aerasi dihentikan, saluran air masuk ke akuarium ditutup dan air dalam akuarium dikuras hingga tersisa kira-kira setinggi 5-10 cm di atas permukaan substrat dan dibiarkan berlangsung selama 4-6 jam. Penurunan tinggi permukaan air dalam akuarium ini dilakukan untuk meniru keadaan pasang surut yang dialami teripang pada lingkungan alamiahnya. Singh *et al.* (1999) mengemukakan kemungkinan adanya hubungan antara aktifitas makan teripang *Cucumaria frondosa* dengan pasang surut meskipun hasil yang diperoleh tidak konsisten setiap waktu.

Sisa pakan yang tidak dikonsumsi pada hari pemberian pakan tidak disimpan sebelum pemberian pakan berikutnya. Berdasarkan pengamatan pakan yang tidak habis dikonsumsi akan dikonsumsi teripang pasir pada hari berikutnya.



Pengukuran berat teripang pasir dilakukan setiap dua minggu untuk menyesuaikan kebutuhan pakan. Untuk mengukur berat, teripang diambil dari substrat dan dibersihkan di bawah air mengalir untuk melepaskan butiran-butiran pasir yang melekat pada tubuhnya. Teripang pasir ditempatkan di atas kain dan dikeringkan dari air yang melekat pada permukaan tubuh teripang pasir.

Individu-individu teripang pasir kemudian ditimbang satu per satu dengan menggunakan timbangan digital Scout Pro<sup>®</sup> 400 x 0.1 g.

Diakhir penelitian semua individu teripang uji yang dipelihara diambil cairan coelomicnya. Teripang pasir kemudian dipuasakan selama semalam pada akuarium tanpa substrat untuk mengeluarkan pasir dalam saluran pencernaannya. Keesokan harinya semua teripang pasir diambil dan diukur beratnya. Teripang pasir dibedah, dipisahkan antara dinding tubuh dan organ pencernaan. Dinding tubuh ditimbang dan dicatat. Dinding tubuh dibungkus dengan aluminium foil, diberi label dan disimpan pada suhu -20°C untuk dilakukan analisis profil protein dan kadar IGF-1.

Parameter yang diamati pada eksperimen ini adalah pertumbuhan, mulak produksi IGF-1, plasma maupun IGF-1 dinding tubuh serta komposisi kimia dinding tubuh.

#### **4.4.2 Eksperimen 2: Penggunaan IGF-1 Sebagai Penanda Pertumbuhan Dan Evaluasi Bahan Baku Cacing Sutera Dalam Formula Pakan Serta Profil Teripang Pasir.**

##### **4.4.2.1 Rancangan Percobaan**

Eksperimen 2 dilakukan dengan tujuan untuk mengevaluasi substitusi tepung ikan dengan sejumlah tertentu tepung cacing sutera terhadap pertumbuhan dan sintesis IGF-1 serta komposisi kimia dinding tubuh teripang pasir. Eksperimen 2 dilakukan dalam kondisi terkontrol di laboratorium dengan



menggunakan Rancangan Acak lengkap (RAL). Variabel bebas pada eksperimen ini adalah variasi perbandingan dosis tepung cacing sutera dalam pakan formula sedangkan variabel terikat pertumbuhan mutlak yang dihasilkan komposisi kimia dinding tubuh, produksi IGF-1 plasma maupun dinding tubuh serta profil protein dan komposisi kimia dinding tubuh. Semua perlakuan memiliki 3 pengulangan.

Variasi perbandingan dosis protein tepung cacing sutera dan protein tepung ikan dalam pakan formula eksperimen 2 adalah:

0% : 0% tepung cacing sutera dan 10% tepung ikan

0,5% : 0,5% tepung cacing sutera dan 9,5% tepung ikan

1% : 1% tepung cacing sutera dan 9% tepung ikan

1,5% : 1,5% tepung cacing sutera dan 8,5% tepung ikan

2% : 2% tepung cacing sutera dan 8% tepung ikan

2,5% : 2,5% tepung cacing sutera dan 7,5% tepung ikan

3% : 3% tepung cacing sutera dan 7% tepung ikan

#### 4.4.2.2 Pakan Uji

Kandungan protein yang digunakan pada pakan eksperimen ini adalah 10%. Hal ini didasarkan pada hasil penelitian eksperimen 1 dimana dosis 10% memberikan memberikan pertumbuhan terbaik. Tujuh pakan uji dibuat isoenergi (3,6 kkal/g) namun ditambahkan sejumlah dosis tertentu tepung cacing sutera menggantikan tepung ikan.

Perbandingan persentase tepung cacing sutera dan tepung ikan dalam formula pakan adalah 0%:10%, 0,5%:9,5%, 1,0%:9,0%, 1,5%:8,5%, 2,0%:8,0%, 2,5%:7,5% dan 3,0%:7,0%. Dosis ini diambil setelah melalui penelitian pendahuluan dimana persentase ini (0,5-3,0%) memberikan hasil yang hampir

sama dengan hasil eksperimen 1. Substitusi tepung cacing sutera yang lebih dari 3% memberikan pertumbuhan yang lebih rendah.

**Tabel 3.** Formulasi dan hasil analisis proksimat pakan formula berbahan tepung cacing sutera.

Bahan (g)	Persentase Protein Cacing Sutera Dalam Pakan						
	0%	0,5%	1%	1,5%	2%	2,5%	3%
Tepung ikan	15,50	14,70	13,90	13,20	12,40	11,60	10,80
Tepung cacing sutera	0,00	0,90	1,80	2,60	3,50	4,40	5,30
Minyak ikan	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Tepung tapioka	53,40	53,20	53,10	52,90	52,80	52,60	52,50
Vitamin mix	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Mineral mix	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Perekat	11,10	11,20	11,20	11,30	11,30	11,40	11,40
Total	100	100	100	100	100	100	100
Komposisi proksimat (%)							
Kadar air	11,32	11,28	11,30	11,28	11,24	11,45	11,10
Protein kasar	8,95	8,90	8,89	8,95	8,98	9,00	8,90
Lemak kasar	5,70	5,80	5,80	5,85	5,80	6,00	6,12
Kadar abu	3,88	4,04	4,15	4,20	4,22	4,25	4,50
BETN*	70,15	69,98	69,86	69,72	69,76	69,30	69,38
Energi (kkal/100 g)**	367,70	367,72	367,20	367,33	367,16	367,20	368,20

Keterangan:

Hasil analisis Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya.  
 $BETN = 100 - Protein - Lemak - Kadar Abu - Serat Kasar$   
 $Energi = (4 \times Protein) + (9 \times Lemak) + (4 \times BETN)$

Sumber protein pakan berasal dari tepung ikan dan tepung cacing sutera. Lemak diperoleh terutama dari minyak ikan disamping dari tepung cacing sutera. Sumber karbohidrat adalah tepung tapioka. Komposisi bahan baku pakan uji dan pakan formula dapat dilihat pada Tabel 3. Komposisi bahan baku pakan uji pada Tabel 5 dihitung dengan menggunakan metode "Spreadsheet" seperti halnya pada pakan uji untuk eksperimen 1. Analisis proksimat juga dilakukan pada pakan eksperimen 2 yang telah jadi. Adapun prosedur analisis proksimat dapat dilihat pada lampiran 2. Pakan yang telah jadi digerus halus menyerupai butiran pasir. Pakan disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  hingga saat digunakan.



#### 4.4.2.3 Pemeliharaan Teripang Pasir Dan Pemberian Pakan Uji

Sebanyak 42 teripang pasir dengan bobot basah berkisar 20,0-24,9 g dikumpulkan dari alam dan dipelihara dalam akuarium bersubstrat pasir halus bercampur potongan karang. Masing-masing akuarium berisi 2 teripang pasir yang didistribusikan secara acak. Masing-masing akuarium diberi satu dari ketujuh pakan berbasis cacing sutera. Metode pemeliharaan teripang pasir dan pemberian pakan pada eksperimen ini sama dengan yang dilakukan pada eksperimen 1. Eksperimen ini berlangsung selama 6 minggu. Di akhir eksperimen, setelah diambil cairan coelomic teripang pasir dipuasakan selama sehari sebelum dilakukan penimbangan berat akhir.

#### 4.5. Parameter Yang Diukur

##### 4.5.1 Pertumbuhan

Performans pertumbuhan teripang pasir dievaluasi berdasarkan perhitungan sebagai berikut:

1. Laju Kelulushidupan =

$$\frac{\text{Jumlah teripang yang hidup pada akhir penelitian} \times 100\%}{\text{Jumlah teripang pada awal penelitian}}$$

2. Pertumbuhan mutlak =  $W_t - W_o$

Dimana:  $W_t$  = berat (basah) akhir, dan  $W_o$  = berat (basah) awal,

3. Feed Intake (FI) = total pakan konsumsi / jumlah teripang

4. Laju Konversi Pakan (Food Conversion Ratio, FCR)

$$FCR = \frac{\text{jumlah pakan yang diberikan selama penelitian}}{\text{pertambahan bobot selama penelitian}}$$

5. Rasio Efisiensi Protein (Protein Efficiency Ratio, PER)

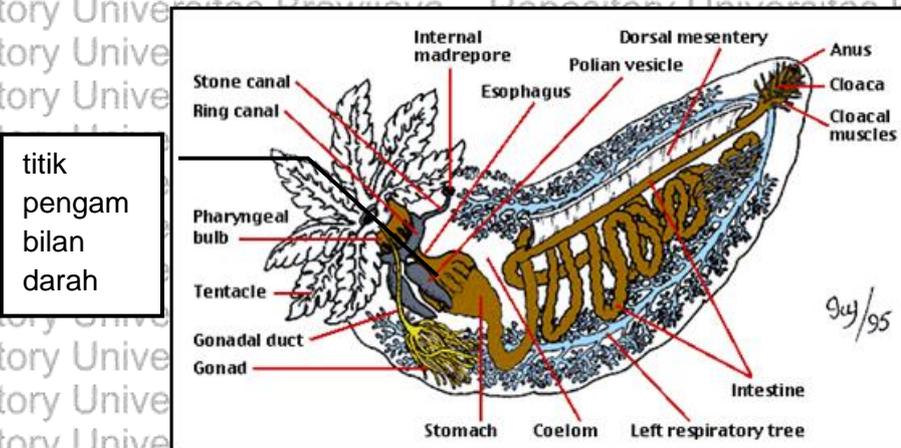
$$PER = \frac{\text{Pertambahan bobot teripang}}{\text{Protein pakan Yang Diberikan}}$$



## 4.5.2 Biokimia Sampel

### 4.5.2.1 Sampling Darah

Cairan darah teripang (*coelomic fluid*) diambil dengan menggunakan jarum suntik 1 cc yang ditusukkan pada bagian kanan depan teripang secara lateral (Xing *et al.*, 2008). Sebagai gambaran tempat pengambilan cairan coelomic dapat dilihat pada Gambar 7. Cairan coelomic yang diperoleh ditempatkan dalam tabung Eppendorf dan disentrifus pada 10.000 x g selama 10 menit. Supernatan diambil menggunakan mikropipet dan dipindahkan ke tabung Eppendorf baru dan diberi label. Sampel disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  hingga dilakukan analisa.



**Gambar 7.** Spot Pengambilan Darah Teripang

(Gambar disadur dari Main internal anatomical features of a cucumariid sea cucumber (Dendrochirotida). Drawing by Ivy Livingstone. Copyright © 1995 [BIODIDAC](http://www.biodidac.com).)

### 4.5.2.2 Isolasi protein dinding tubuh teripang

Isolasi protein dinding tubuh dilakukan menurut Fatchyah *et al.* (2009) sebagai berikut: sebanyak 0,5 g organ dicuci dengan PBS untuk membersihkan dari kotoran yang tersisa. Sampel dihomogenkan dengan menggunakan mortal dan pestel dingin pada wadah berisi es. Untuk lebih menghaluskan sampel ditambahkan pasir kuarsa dan buffer ekstrak sebanyak 1 ml ke dalam mortal dan



diratakan. Homogenate dituang ke dalam tabung Eppendorf untuk selanjutnya dipisahkan organel-organel dan molekul penyusunnya dengan cara sonifikasi maupun disentrifus. Pada sampel ditambahkan ethanol absolut dengan perbandingan 1:1. Sampel didiamkan dalam deep freezer dengan suhu  $-40^{\circ}\text{C}$  selama 1 malam.

Keesokan harinya sampel dikeluarkan dari deep freezer dan dibiarkan beberapa saat hingga suhu tabung mencapai sekitar  $-4^{\circ}\text{C}$ . Sampel disentrifuse pada kecepatan 8.500 rpm selama 15 menit pada suhu  $4^{\circ}\text{C}$ . Supernatan yang diperoleh dibuang sedangkan pada pellet yang mengendap pada dasar tabung dikering anginkan selama 3-4 jam atau hingga bau ethanol hilang. Pada endapan ditambahkan tris-Cl pH 8 dengan perbandingan 1:1. Isolat disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  untuk dianalisis lebih lanjut. Prosedur isolasi protein dari jaringan secara rinci ditampilkan dalam bentuk diagram pada Lampiran 4.

#### 4.5.2.3 Penentuan Ekspresi Protein Menggunakan Metode SDS PAGE

Ekspresi protein pada sampel dapat dilakukan dengan menggunakan SDS PAGE dan dilanjutkan dengan metode Western Blotting. Prosedur SDS-PAGE dapat dijelaskan sebagai berikut:

**Persiapan Gel.** Plat gel dibuat dengan merangkai dua plat kaca dengan jarak antara plat  $\pm 1\text{mm}$ . Gel dibuat dua lapis, yakni gel sebagai tempat pengumpulan sampel (*stacking gel*) dan gel sebagai media untuk pemisahan protein (*seperating gel*). Separating gel yang digunakan adalah dengan persentase total akrilamid 12% yang komposisinya dapat dilihat pada Lampiran 3. *Seperating gel* (1 plate) dibuat dengan cara menambahkan sejumlah tertentu (lihat komposisi separating gel yang digunakan): aquades, lower gel buffer (LGB), dan T-acyl 30%, kemudian didegas selama 10 menit. Selanjutnya



ditambahkan APS 10% dan TEMED secara berurutan lalu gelas beker digoyang perlahan-lahan untuk meratakan semua campuran. Segera larutan dituangkan ke dalam plate menggunakan micropipet sampai 3/4 tinggi plate. Secara perlahan dituangkan air di atas gel agar permukaan gel tidak bergelombang.

Sementara menunggu separating gel memadat, *stacking gel* 3% (1 plate) disiapkan dengan cara: ditambahkan aquades 1950  $\mu$ l, upper gel buffer (UGB) 830  $\mu$ l, T-acyl 30% sebanyak 534  $\mu$ l, dan secara berurutan masukan APS 10% 40  $\mu$ l, dan TEMED 4  $\mu$ l. Gelas beker digoyang perlahan-lahan dan segera larutan dituangkan ke dalam plate dengan menggunakan micropipet. Secara perlahan-lahan diselipkan sisir pembentuk sampel. Setelah gel memadat sisir diangkat dan selanjutnya dilakukan pengisian sampel pada sumur.

**Preparasi dan injeksi sampel protein.** Plate yang sudah berisi gel dimasukkan ke dalam chamber elektroforesis. Running buffer dituang sampai bagian atas dan bawah gel terendam. Usahakan tidak terbentuk gelembung udara pada dasar gel atau diantara sumur sampel. Sampel isolate protein sebanyak 10-20  $\mu$ l (dengan kandungan protein minimal 0,1 g dan maksimal antara 20-40 g) ditambahkan dengan tris-Cl dan RSB. Sampel dimasukkan hati-hati ke dalam sumur gel menggunakan Hamilton syringe. Protein standard yang digunakan adalah protein satandard broad range (Biorad).

**Running sampel.** Perangkat elektroforesis dihubungkan dengan power supply dan running dilakukan pada arus konstan 20 mA selama  $\pm$  1 jam atau sampai tracking dye mencapai jarak 0,5 cm dari dasar gel.

**Pewarnaan dan pencucian gel.** Pewarnaan dilakukan dengan Coomassie Blue R-250. Untuk tahap ini diperlukan larutan staining untuk mewarnai protein pada gel dan larutan destaining untuk menghilangkan warna pada gel dan



memperjelas band protein yang terbentuk. Komposisi larutan staining dan destaining dapat dilihat pada Lampiran 5.

Pewarnaan dilakukan dengan merendam gel dalam 20 mL larutan staining, yaitu larutan 0,20% Coomassie Brilliant Blue sambil digoyang dengan shaker selama 30-60 menit. Selanjutnya penghilangan warna dilakukan dengan merendam gel dalam 50 mL larutan destaining sambil digoyang dengan shaker sampai gel menjadi jernih atau sampai pita protein terlihat jelas.

**Penentuan kurva standar. Berat Molekul.** Kurva standar berat molekul diperoleh dengan mengplotkan nilai  $R_f$  (*retardation factor*) pada sumbu X dan log dari berat molekul pada sumbu Y hingga diperoleh persamaan garis liniernya. Nilai  $R_f$  di dapat dari pengukuran jarak pergerakan masing-masing protein standard.

$$\text{Nilai } R_f = \frac{\text{Jarak pergerakan pita protein dari tempat awal}}{\text{Jarak pergerakan warna pelacak dari tempat awal}}$$

**Pengukuran berat molekul protein.** Melalui elektroforesis akan tampak pita-pita protein, masing-masing pita protein dari setiap sampel ditentukan nilai  $R_f$ -nya. Dari setiap nilai  $R_f$  yang diperoleh selanjutnya dihitung berat molekul protein dengan bantuan persamaan garis linier dan kurva standard berat molekul.

Komposisi larutan yang digunakan dapat dilihat pada Lampiran 5.

#### 4.5.2.4 Profil protein berdasarkan Western Blotting

Pemeriksaan western blotting mengikuti Yan and Hongbao (2009) didahului dengan SDS-PAGE, yakni dengan melakukan elektroforesis sampel protein standard broad range (BioLab). Gel hasil elektroforesis dicuci dengan aquades dan direndam dalam buffer blotting (30,3 g/l Tris base; 144 g/l Glycine. pH 8,3).

Membran nitroselulosa (NC) dibasahi dengan PBS selama 10 menit pada suhu ruang dan selanjutnya direndam dalam buffer blotting sebelum dilakukan proses



blotting. Spons dan kertas saring direndam dalam blotting buffer dan disusun dengan urutan dari atas ke bawah sebagai berikut: black side spon-kertas saring 6 lembar gel membran NC-kertas saring 9 lembar-spon (red side). Selanjutnya transfer dilakukan semalam pada 25 volt dengan suhu 4<sup>o</sup> C. Setelah selesai transfer, membran di blocking dalam PBS-T skim milk 5% selama 1 jam sambil digoyang. Dicuci 3x5 menit dalam PBS-T. Inkubasi dengan antibodi primer yang telah diencerkan dalam PBS-T skim 5% (1:200) semalam pada suhu 4<sup>o</sup>C. Dicuci 3x5 menit dengan TBS. Diinkubasi dengan antibodi primer conjugated (1:2500 dalam TBS) selama 1 jam pada suhu ruang. Dicuci 4x5 menit dengan PBS-T, selanjutnya dideteksi pita protein dengan penambahan substrat western blue (dalam ruang gelap) ke membran selama semalam atau sampai terlihat warna band. Reaksi dihentikan dengan pencucian membran dalam akuades. Komposisi larutan yang digunakan dapat dilihat pada Lampiran 7.

#### 4.5.2.5 Penentuan kadar IGF-1 secara ELISA

Penentuan konsentrasi protein dengan metode *indirect* ELISA mengikuti tahapan sebagai berikut:

**Preparasi Sampel.** Protein diisolasi sesuai prosedur di atas. **Proses Pengujian ELISA** berdasarkan protokol yang disediakan manufacturer Catalog number: E0017Fi: (1) Pembuatan denah plate ELISA. Denah dibuat berdasarkan kode sampel dan lokasi penempatan sampel seperti yang diinginkan. Jumlah sumuran yang diperlukan ditentukan berdasarkan jumlah sampel yang akan diuji dan jumlah standard. (2) Pengenceran larutan standar. Kit ELISA ini dilengkapi dengan konsentrasi standard original yang diencerkan dapat dilihat pada Tabel 4. (3) Injeksi sample: 1. Blank well; tidak diisi sampel, anti IGF-1 antibody labeled dengan biotin atau streptavidin-HRP ditambahkan pada sumuran lainnya kecuali



chromogen solution A dan B dan stop solution. 2. Standard solution well: ditambahkan 50  $\mu$ l Standard dan 50  $\mu$ l Streptavidin-HRP (antibodies biotin telah dicampurkan sebelumnya pada standard sehingga tidak perlu untuk menambahkan antibodies biotin). 3. Sampel well yang akan diuji: tambahkan 40  $\mu$ l sampel kemudian tambahkan 10  $\mu$ l antibody IGF-1, 50  $\mu$ l streptavidin-HRP. Well kemudian ditutup dengan plate membrane. Plate diguncang perlahan agar semua larutan dalam well dapat tercampur. Plate diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit. 4). Pembuatan larutan pencuci dilakukan dengan mengencerkan konsentrasi pencuci (30X) dengan distilled water untuk digunakan nanti. 5). Pencucian dilakukan dengan cara membuka penutup plate membrane dan menumpahkan cairan serta membuang cairan yang tersisa. Setiap well kemudian diisi dengan larutan pencuci. Larutan pencuci ini kemudian ditumpahkan setelah 30 detik. Prosedur ini diulangi sebanyak 5 kali dan blot plate. 6). Pewarnaan: tambahkan 50  $\mu$ l chromogen solution A pada tiap well kemudian tambahkan pula 50  $\mu$ l chromogen solution B. Plate diguncang secara perlahan untuk mencampurkan semua larutan yang baru dimasukkan. Plate diinkubasi pada suhu 37°C dalam kondisi gelap untuk pembentukan warna. 7). Stop: sebanyak 50  $\mu$ l stop solution ditambahkan pada setiap well untuk menghentikan reaksi (terjadi perubahan warna dari warna biru menjadi warna kuning). 8). Assay: absorbance (OD) setiap well diukur satu per satu pada panjang gelombang 450nm dalam 10 menit setelah penambahan stop solution. 9). Persamaan regresi linear kurva standar ditentukan berdasarkan konsentrasi standard dan nilai OD yang sesuai. Berdasarkan nilai OD sampel dihitung konsentrasi sampel.



**Tabel 4.** Konsentrasi standard ELISA kit

120 ng/ml	Standard No.5	120 $\mu$ l original standard + 120 $\mu$ l standard diluents
60 ng/ml	Standard No.4	120 $\mu$ l Standard No.5 + 120 $\mu$ l standard diluents
30 ng/ml	Standard No.3	120 $\mu$ l Standard No.4 + 120 $\mu$ l standard diluents
15 ng/ml	Standard No.2	120 $\mu$ l Standard No.3 + 120 $\mu$ l standard diluents
7,5 ng/ml	Standard No.1	120 $\mu$ l Standard No.2 + 120 $\mu$ l standard diluents

#### 4.5.2.6 Analisis Proksimat Hewan Uji Serta Bahan Baku Pakan

Teripang pasir dicuci hingga bersih, bebas dari butiran-butiran pasir yang biasanya melekat pada kulitnya. Teripang dikeluarkan isi perutnya dan dibilas dengan air hingga bersih. Dinding tubuh teripang dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 24 jam dan selanjutnya dilakukan analisis proksimat.

Cacing sutera dibilas dengan air hingga bersih kemudian direndam dengan air panas selama 30 detik untuk menghilangkan lendir yang melekat pada tubuhnya. Cacing ditiriskan dan dikeringkan pada oven dengan suhu 105°C selama 48 jam dan selanjutnya dilakukan analisis proksimat. Analisis proksimat juga dilakukan terhadap bahan baku pakan lain yaitu tepung ikan dan tepung tapioka serta pakan yang telah jadi untuk memastikan dosis protein yang terkandung pakan sesuai dengan yang diinginkan.

Analisis proksimat yang dilakukan meliputi: kadar air dengan oven pada suhu yang mencapai 105°C, kadar protein dengan metode Kjeldhal, kadar lemak dengan metode Soxhlet, dan kadar abu dengan metode pengabuan sampai suhu 600°C. Prosedur analisis proksimat secara terperinci dapat dilihat pada Lampiran 2.

#### 4.5.2.7 Analisis asam amino

Asam amino dinding tubuh teripang pasir dideteksi dengan menggunakan HPLC terhadap sampel sebelum dan sesudah dilakukan perlakuan pakan.



Penanganan sampel dilakukan dengan menambahkan HCl dan dihomogenkan dengan cara divortex. Sampel dihidrolisis selama 22 jam pada suhu 110°C, didinginkan dan kemudian ditambahkan aquabidest lalu disaring. Kedalam larutan berturut-turut ditambahkan AABA dan AccQFluor Borate lalu divortex. Reagent fluor A ditambahkan ke dalam larutan dan kemudian divortex lagi. Setelah divortex, sampel didiamkan sebentar kemudian diinkubasi pada suhu 55°C selama 10 menit. Sampel lalu disuntikkan pada HPLC. Kondisi HPLC dan prosedur analisis asam amino dapat dilihat pada Lampiran 3.

#### 4.6 Analisis data

Data ditampilkan sebagai nilai rata-rata kelompok perlakuan  $\pm$  standar deviasi (S.D). Tiap nilai merupakan rata-rata dari 3 replikasi. *One Way Analysis of Variance* (Anova) digunakan untuk membandingkan rata-rata kelompok perlakuan. Perbedaan pengaruh dosis perlakuan terhadap pertumbuhan teripang pasir dilakukan dengan menggunakan Tukey's Honest Significant Difference (HSD) Test dengan kriteria apabila satu dosis menghasilkan probabilitas  $\leq$  derajat signifikan ( $\alpha = 5\%$ ) ( $P \text{ value} < 0,05$ ). Regresi polinomial digunakan untuk menggambarkan pengaruh berbagai variable yang diuji dalam kedua eksperimen ini.



## V. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1. Pengaruh Dosis Protein Terhadap Kelulushidupan, Pertumbuhan Dan Kadar IGF-1 Teripang Pasir.

#### 5.1.1 Kelulushidupan Teripang Pasir.

Hasil eksperimen ini memperlihatkan bahwa perlakuan pakan tidak berpengaruh terhadap kelulushidupan teripang pasir. Seluruh individu teripang pasir pada semua perlakuan pakan mampu bertahan hidup hingga selesai penelitian. Rata-rata bobot (basah) awal teripang pasir yang digunakan dalam penelitian ini adalah  $21,3 \text{ g} \pm 2,6$ . Ukuran teripang pasir ini diyakini telah mampu beradaptasi dengan lingkungan dan mampu bertahan hidup. Hal ini sejalan dengan Battaglione *et al.* (1999) dan Giraspy and Walsalam (2010) yang menyatakan bahwa teripang pasir dengan ukuran panjang  $> 2 \text{ cm}$  atau dengan berat  $1 \text{ g}$  sudah mampu beradaptasi secara baik dengan lingkungannya dan tingkat kelulushidupan pada teripang pasir dengan ukuran ini umumnya di atas 80%.

Kelulushidupan teripang uji yang tinggi ini juga disebabkan ketidakhadiran predator disamping parameter kualitas air selama penelitian berada dalam kisaran yang baik bagi kelulushidupan maupun pertumbuhan teripang pasir. Di lingkungan alam, juvenil teripang pasir sering diserang dan dimangsa oleh berbagai species ikan maupun kepiting (Pitt and Duy, 2004b; Tsiresy *et al.*, 2011). Dalam eksperimen ini semua predator teripang pasir di lingkungan alam ditiadakan.

#### 5.1.2 Kualitas Air Media Pemeliharaan Teripang Pasir

Rata-rata kualitas air selama eksperimen 1 ditampilkan pada Tabel 5. Merujuk pada publikasi rata-rata kualitas air pada media pemeliharaan teripang



pasir maka rata-rata kualitas air selama eksperimen berlangsung terpantau berada dalam kisaran yang memungkinkan bagi kelulushidupan dan pertumbuhan teripang pasir. Suhu air media pemeliharaan terendah terjadi di pagi hari dan meningkat selama siang hari dan kemudian menurun pada malam hari. Selama penelitian suhu air media pemeliharaan termonitor sedikit di atas rata-rata nilai suhu air yang dipublikasikan untuk pertumbuhan teripang pasir namun teripang uji masih dapat mentoleransinya dan terbukti dapat bertahan hidup dan bertumbuh.

**Tabel 5.** Kualitas air media pemeliharaan teripang pasir yang diberi pakan berbeda dosis protein dan menurut pustaka

Parameter	Nilai Kualitas Air		
	Eksperimen	Nilai Pustaka	Referensi
Suhu air (°C)	26-31	26-30	James, 1994; Darsono, 2009
Salinitas (ppt)	31-32	26-33	James, 1994; Hartati <i>et al.</i> , 2005; Darsono, 2009;
pH	7-8	6-9	Darsono, 2009
Oksigen terlarut (mg L <sup>-1</sup> )	5-5,5	5-6	Darsono, 2009

Pengukuran kadar oksigen terlarut tidak dilakukan setiap hari namun diyakini kadar oksigen mencukupi kebutuhan teripang pasir. Hal ini diyakini dari kondisi pemeliharaan dimana terjadi pergantian air secara berkesinambungan ditambah adanya suplai oksigen melalui aerator. Salinitas terpantau stabil sepanjang eksperimen ini berlangsung. pH media pemeliharaan diukur setiap hari dan dijaga agar tetap netral dengan cara penggantian substrat pasir setiap minggu.

Kualitas air dilaporkan mempengaruhi kelulushidupan dan pertumbuhan organisme yang hidup di dalamnya. Hal ini juga berlaku bagi teripang pasir yang



merupakan organisme yang mendiami perairan. Kualitas air pada sistem budidaya tergantung pada aktifitas organisme tersebut maupun input yang diberikan untuk meningkatkan produksi organisme budidaya. Salah satu input tersebut adalah pakan sehingga manajemen pakan merupakan salah satu faktor yang harus diperhatikan dengan baik. (Boyd and Tucker, 1998).

Pemberian pakan dalam penelitian ini sebesar 3% dari bobot tubuh teripang uji yang didasarkan pada pendahuluan studi ini yang diperkuat oleh penelitian Hartati *et al.* (2005). Para peneliti ini melaporkan bahwa pemberian pakan sebesar 3% dari bobot tubuh teripang memberikan penambahan berat yang lebih baik. Pemberian pakan sebesar 1% dari bobot tubuh tampaknya belum mencukupi kebutuhan teripang pasir yang ditandai dengan penambahan berat yang kecil dibandingkan pemberian pakan sebesar 3% dan 5-10%.

Studi pendahuluan eksperimen ini memperlihatkan pemberian pakan sebesar 5% meninggalkan sisa pakan yang cukup banyak. Pemberian pakan sebesar 3% hanya meninggalkan sedikit sisa pakan kecuali pada minggu-minggu terakhir masa eksperimen. Pakan yang tersisa tidak disipon melainkan dibiarkan karena berdasarkan pengamatan pakan tersisa tersebut akan dimakan teripang pasir pada hari berikutnya. Sisa pakan yang cukup banyak menyebabkan tumbuhnya jamur yang menyelimuti sisa pakan tersebut pada permukaan substrat dan teripang pasir cenderung tidak memakan pakan tersebut dan bahkan terlihat menghindari pakan tersebut.

Beberapa penelitian tentang persentase pakan terhadap pertumbuhan telah diujicobakan pada teripang *Apostichopus japonicus*. Yuan *et al.* (2008), Ying *et al.* (2009) dan Xia *et al.* (2012) melaporkan persentase pemberian pakan yang efisien pada *A. japonicus* adalah sebesar 1-4% dari bobot tubuh teripang. Persentase ini dilaporkan dapat dimanfaatkan secara efisien oleh teripang dibandingkan dengan persentase yang lebih besar nilainya.



Pemberian pakan dilakukan hanya sekali sehari yaitu di sore hari sekitar pukul 16.00 Wit. Hal ini merujuk pada Mercier *et al.* (1999) dan Wolkenhauer (2008) yang menyatakan bahwa pola pembenaman diri teripang pasir mengikuti pola pencahayaan dan juga suhu dimana teripang pasir selama siang hari lebih banyak menghabiskan waktunya membenamkan diri didalam substrat pasir dan baru muncul di permukaan pada sore menjelang malam hari.

Penelitian Hartati *et al.* (2005) menemukan frekuensi pemberian pakan satu kali sehari yaitu di sore hari lebih efektif bagi teripang pasir dibandingkan pemberian 2-3 kali sehari. Para peneliti ini berargumentasi bahwa hal ini berhubungan dengan kebiasaan teripang pasir yang lebih banyak membenamkan diri sepanjang siang hari dan baru aktif di malam hari. Pemberian pakan yang hanya satu kali sehari juga dilaporkan dilakukan untuk teripang *Apostichopus japonicus* meskipun waktu pemberian pakan berbeda (Liu *et al.*, 2009; Xia *et al.*, 2012).

### 5.1.3 Respons Pertumbuhan Mutlak Terhadap Pakan Beda Dosis Protein

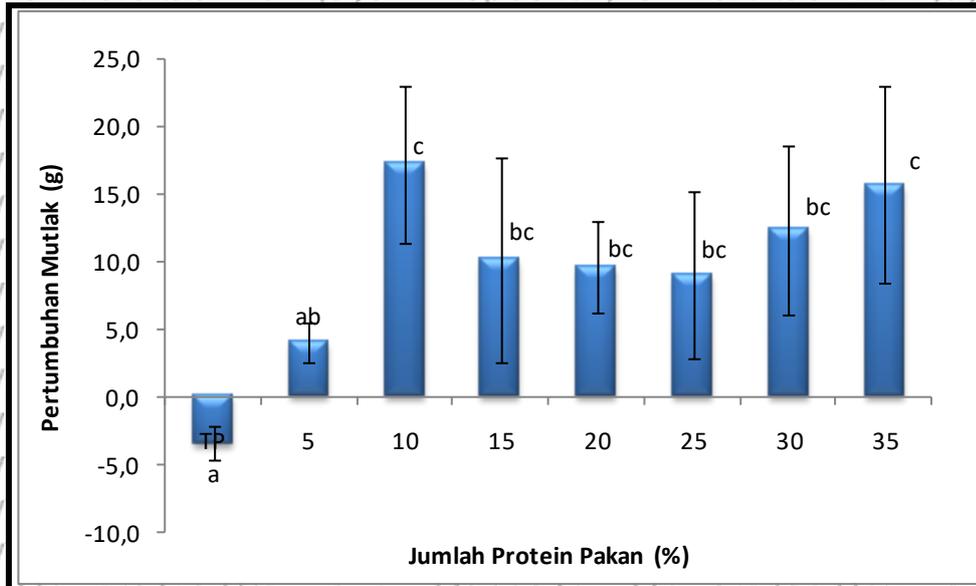
Pertumbuhan dan pemanfaatan pakan oleh teripang pasir yang diberi pakan berbeda dosis protein dapat dilihat pada Gambar 8 dan Tabel 6. Gambar 8 maupun Tabel 6 memperlihatkan bahwa pertumbuhan mutlak teripang pasir cukup bervariasi, yaitu antara -3,4-17,2 g.

Teripang pasir yang tidak diberi pakan (TP) selama eksperimen berlangsung mengalami pertumbuhan negatif. Kelompok teripang pasir ini mengalami penurunan rata-rata bobot (basah) tubuh sebesar 3,4 g. Pertumbuhan negatif yang ditemukan pada teripang pasir yang tidak diberi pakan membuktikan bahwa pakan diperlukan untuk maintenance, penggantian sel-sel yang rusak dan

Tabel 6. Respon pertumbuhan teripang pasir pada pemeliharaan dengan pakan berbeda dosis protein

Parameter	Dosis Protein pakan								
	Tanpa pakan	5%	10%	15%	20%	25%	30%	35%	
Kelulus-hidupan (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	
Berat awal (g)	22,1 ± 1,9	21,0 ± 3,0	21,5 ± 3,2	21,5 ± 2,8	20,9 ± 2,7	21,4 ± 2,8	21,5 ± 2,3	21,5 ± 2,7	
Berat akhir (g)	18,8 ± 2,0	25,0 ± 3,9	38,7 ± 8,1	31,6 ± 9,8	30,9 ± 6,0	30,4 ± 4,9	33,8 ± 7,4	37,2 ± 6,5	
Pertumbuhan mutlak (g)	(3,3) ± 0,8 <sup>a</sup>	4,1 ± 1,5 <sup>ab</sup>	17,2 ± 5,8 <sup>c</sup>	10,1 ± 7,6 <sup>bc</sup>	9,6 ± 3,3 <sup>bc</sup>	9,0 ± 6,2 <sup>bc</sup>	12,3 ± 6,3 <sup>bc</sup>	15,7 ± 7,2 <sup>c</sup>	
Pakan konsumsi (g)	-	31,5 ± 5,6	33,9 ± 8,2	30,8 ± 6,0	33,0 ± 9,3	31,9 ± 4,4	33,6 ± 5,7	32,8 ± 6,0	
FCR	-	8,8 ± 4,0 <sup>a</sup>	2,0 ± 0,3 <sup>c</sup>	4,4 ± 2,6 <sup>b</sup>	3,5 ± 0,5 <sup>bc</sup>	3,6 ± 1,6 <sup>bc</sup>	3,2 ± 1,2 <sup>bc</sup>	2,5 ± 1,1 <sup>bc</sup>	
PER	-	0,03 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,05 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,02 ± 0,01 <sup>bc</sup>	0,01 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,01 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,01 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,01 ± 0,05 <sup>c</sup>	
Plasma IGF-1 (ng.mL <sup>-1</sup> )	14,1 ± 1,7 <sup>a</sup>	20,6 ± 0,4 <sup>ab</sup>	22,7 ± 1,0 <sup>ab</sup>	22,3 ± 4,9 <sup>ab</sup>	18,5 ± 1,9 <sup>ab</sup>	19,2 ± 1,4 <sup>ab</sup>	24,6 ± 9,7 <sup>ab</sup>	32,6 ± 1,5 <sup>b</sup>	
Dinding Tubuh IGF-1 (ng.mL <sup>-1</sup> )	4,9 ± 0,2 <sup>a</sup>	9,8 ± 0,8 <sup>ab</sup>	9,9 ± 0,8 <sup>ab</sup>	8,5 ± 0,9 <sup>ab</sup>	8,5 ± 1,7 <sup>ab</sup>	10,0 ± 2,1 <sup>ab</sup>	11,5 ± 4,2 <sup>b</sup>	13,8 ± 5,1 <sup>b</sup>	

Keterangan: Notasi yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan, sedangkan notasi yang berbeda menunjukkan ada perbedaan antar perlakuan pada taraf kepercayaan 95%



**Gambar 8.** Pertumbuhan rata-rata teripang pasir yang diberi pakan berbeda dosis protein selama penelitian.

pertumbuhan seperti yang telah dikemukakan oleh Halver (1999). Peneliti ini lebih lanjut menyatakan bahwa pemberian pakan dengan dosis protein yang tepat, setelah digunakan untuk maintenance dan penggantian sel-sel yang rusak kemudian akan digunakan untuk meningkatkan pertumbuhan.

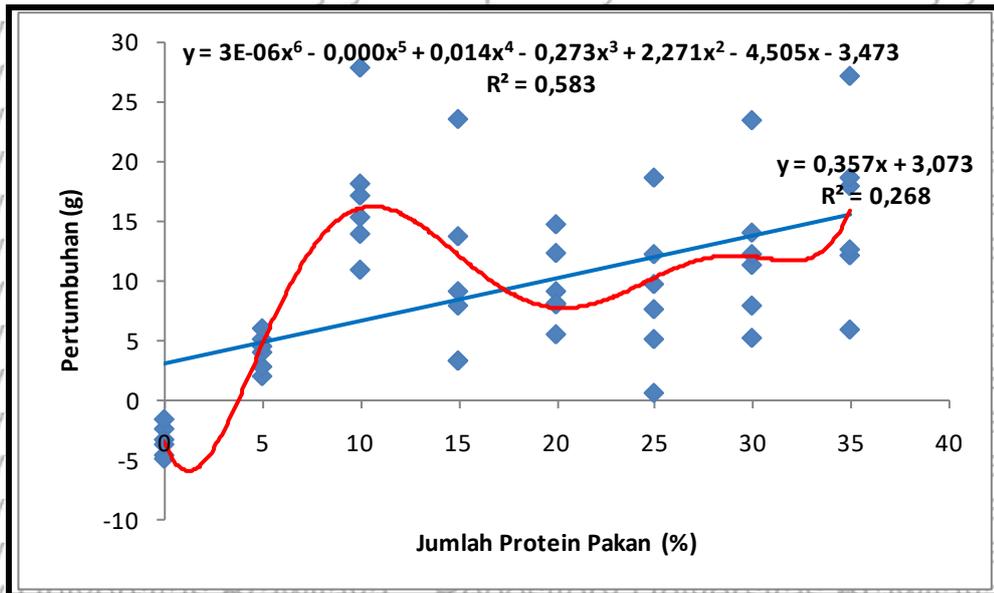
Dosis protein 5% pada pakan tampaknya tidak cukup untuk mendukung pertumbuhan teripang pasir. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan berat yang jauh lebih rendah pada teripang pasir yang diberi pakan 5% protein dibandingkan dengan penambahan berat yang dihasilkan teripang pasir yang diberi pakan dengan dosis protein yang lebih besar.

Gambar 8 di atas memperlihatkan terdapat 2 puncak pertumbuhan teripang pasir yaitu pada pemberian protein pakan 10% dan 35%. Rata-rata pertumbuhan mutlak tertinggi dihasilkan oleh kelompok teripang pasir yang diberi pakan 10% protein dengan rata-rata pertumbuhan mutlak yang dihasilkan sebesar 17,2 g. Peningkatan dosis protein pakan hingga 35% tidak menghasilkan pertumbuhan mutlak yang lebih tinggi dibandingkan dengan dosis protein 10%. Dosis protein



pakan 10% diyakini telah cukup untuk mendukung pertumbuhan teripang pasir dan penambahan dosis protein diduga tidak lagi digunakan secara maksimal untuk pertumbuhan.

Hal ini sejalan dengan berbagai hasil penelitian tentang dosis protein dan pertumbuhan seperti yang telah dipublikasikan untuk organisme lain. Dyer *et al.* (2004), Li *et al.* (2006) dan Coutinho *et al.* (2012) menyatakan bahwa pertumbuhan ikan sangat dipengaruhi oleh dosis protein pakan. Tiap organisme memiliki kebutuhan tertentu akan dosis protein tertentu untuk pertumbuhan dimana bila dosis protein tersebut telah dipenuhi maka penambahan dosis protein tidak akan meningkatkan pertumbuhan.



**Gambar 9.** Hubungan antara jumlah protein dalam pakan (%) terhadap pertumbuhan mutlak teripang pasir.

Hasil pengujian pengaruh dosis protein terhadap pertumbuhan mutlak teripang pasir dapat dilihat pada Gambar 9. Hubungan antara dosis protein dengan pertumbuhan mutlak memiliki model polynomial pangkat 6 dengan persamaan  $y = 3E-06x^6 - 0,000x^5 + 0,014x^4 - 0,273x^3 + 2,271x^2 - 4,505x - 3,473$ .



Berdasarkan gambar ini diketahui bahwa model polynomial pangkat 6 menghasilkan koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang lebih besar dibandingkan dengan model linier. Dengan demikian model polynomial pangkat 6 adalah model yang paling sesuai untuk menggambarkan pengaruh pemberian dosis protein terhadap pertumbuhan teripang pasir.

Koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang diperoleh adalah 0,5838 yang menunjukkan sebesar 58,38% keragaman pertumbuhan teripang pasir dijelaskan oleh pemberian dosis protein. Koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,764 menunjukkan terdapat hubungan yang sangat kuat antara dosis protein terhadap pertumbuhan teripang pasir. Gambar 9 memperlihatkan adanya fluktuasi pada pertumbuhan teripang pasir. Fluktuasi ini diduga kuat berhubungan dengan kemampuan unik teripang pasir dalam mengatur metabolismenya yang berakibat pada pertumbuhan. Dosis protein 10% memberikan pertumbuhan tertinggi dan diyakini telah cukup untuk mendukung pertumbuhan teripang pasir.

Pertumbuhan teripang pasir dilaporkan sangat bervariasi. Pertumbuhan mutlak yang diperoleh pada studi ini (-3,4-17,2 g) lebih rendah dari yang dikalkulasi dari Pitt *et al.* (2001) namun masih lebih tinggi dari Battaglione *et al.* (1999) dan Hartati *et al.* (2005). Purcell and Simutoga (2008) serta Tsiresy *et al.* (2011) melaporkan laju pertumbuhan teripang pasir yang cukup lambat (0,04-0,23 g.hari<sup>-1</sup>) meskipun hidup pada perairan yang kaya akan nutrient. Tetapi Tsiresy *et al.* (2011) juga melaporkan laju pertumbuhan teripang pasir yang cepat yang mencapai 1,8 g.hari<sup>-1</sup>.

Hasil-hasil yang berbeda ini dapat disebabkan oleh berbagai variasi dalam penelitian antara lain komposisi pakan, ukuran dan/atau strain hewan uji, dan kondisi pemeliharaan. Battaglione *et al.* (1999) menggunakan teripang pasir dengan bobot 1-2 g. Pitt *et al.* (2001) menggunakan teripang pasir dengan bobot 150-200 g sedangkan Hartati *et al.* (2005) menggunakan teripang pasir dengan



bobot 16 g. Perbedaan ukuran teripang pasir diduga dapat saja menyebabkan perbedaan laju pertumbuhan. Yanagisawa (1998) mengindikasikan ukuran teripang yang berbeda dapat memiliki laju pertumbuhan yang berbeda.

Terdapat kesamaan antara eksperimen ini dengan penelitian lainnya yang memperlihatkan pertumbuhan teripang pasir yang bagus justru pada pakan dengan dosis protein yang rendah. Pitt *et al.* (2001) menemukan perbedaan yang kecil pada pertumbuhan teripang pasir yang diberi dosis protein pakan 18% dan 50%. Hartati *et al.* (2005) menemukan pertumbuhan yang baik pada dosis protein 7,5% dibandingkan dengan 18% dan 45%. Pertambahan bobot yang diperoleh pada eksperimen ini menunjukkan pertumbuhan terbaik pada dosis protein 10%.

Dosis protein pakan yang rendah namun menghasilkan laju pertumbuhan yang tinggi juga diperlihatkan oleh jenis teripang lain seperti *Apostichopus japonicus* (Liu *et al.*, 2009). Zamora and Jeffs (2012) melaporkan tidak adanya perbedaan yang signifikan pada *Australostichopus mollis* yang diberi pakan dengan *total organic matter* 4% dan 20%.

Yuan *et al.* (2006) mengemukakan bahwa teripang hidup di alam dari pakan dengan kandungan energi atau protein yang rendah dan mengkonsumsi pakan dalam jumlah yang cukup besar untuk memenuhi kebutuhannya. Lebih lanjut dikemukakan bahwa bila terjadi perbaikan atau peningkatan kualitas pakan maka terjadi regulasi internal untuk menekan jumlah pakan yang dikonsumsi. Tsiresy *et al.* (2011) menduga hal ini berhubungan dengan ketidak mampuan teripang untuk memanfaatkan nutrisi yang tersedia secara maksimal.

Zamora and Jeffs (2012) mengemukakan teripang *A. mollis* memiliki kemampuan untuk memanfaatkan berbagai dosis *total organic matter* untuk menghasilkan laju pertumbuhan yang sama dengan mengubah laju konsumsi dan melalui perubahan asimilasi serta efisiensi konversi pakan.



### 5.1.3 Pemanfaatan Pakan Oleh Teripang Pasir Melalui Rasio Konversi Pakan (FCR) dan Rasio Efisiensi Protein (PER).

FCR yang diperoleh dalam eksperimen ini cukup tinggi yaitu berkisar antara 2 hingga 8,8. PER yang didapat sangat rendah berkisar antara 0,01-0,05 (Tabel 8). Rata-rata FCR tertinggi secara signifikan dihasilkan oleh kelompok teripang yang diberi pakan protein 5%. FCR terendah dalam eksperimen ini ditemukan pada dosis protein 10% yaitu 2,0. Rata-rata FCR pakan protein 10% tidak berbeda secara signifikan dengan rata-rata FCR pakan dosis protein 35%.

Tinggi rendahnya FCR dipengaruhi oleh berbagai faktor antara lain kualitas dan kuantitas pakan, species dan ukuran serta kualitas air. FCR yang tinggi menggambarkan tingginya nutrisi yang tidak dimanfaatkan secara optimal oleh tubuh atau dilepaskan dalam bentuk feses dan hanya sebagian kecil yang terdeposit untuk pertumbuhan. FCR yang rendah menggambarkan pemanfaatan pakan yang lebih baik dan pakan yang diserap digunakan untuk meningkatkan pertumbuhan (National Research Council, 1993).

Rata-rata PER tertinggi dihasilkan oleh teripang yang diberi pakan protein 10% yaitu 0,05. Teripang yang diberi pakan 5% protein mampu menghasilkan rata-rata PER sebesar 0,03. Pakan protein 15%-35% menghasilkan rata-rata PER yang terendah yaitu 0,01-0,02.

Nilai FCR yang tinggi dan nilai PER yang sangat rendah yang diperoleh pada eksperimen ini memperkuat dugaan adanya kemampuan khusus teripang pasir dalam memanfaatkan nutrisi yang tersedia bagi pertumbuhannya. Indeks PER yang rendah pada pakan protein 15%-35% diduga disebabkan kualitas pakan yang baik sehingga teripang cenderung menekan laju asimilasi dan metabolisme pakan untuk menekan laju pertumbuhan. Meningkatnya penambahan bobot (pertumbuhan mutlak) dan membaiknya nilai FCR dan



meningkatnya indeks PER menunjukkan pertumbuhan yang tinggi menyebabkan pemanfaatan pakan untuk pertumbuhan menjadi lebih efisien.

Hasil eksperimen ini memperlihatkan bahwa PER yang diperoleh sangat rendah dan FCR yang tinggi mengindikasikan bahwa pertumbuhan teripang pasir memang rendah atau lambat. Dengan demikian perlu dicari cara untuk dapat meningkatkan laju pertumbuhan teripang pasir. Berdasarkan penambahan bobot, FCR dan PER dosis protein 10% hingga 35% dapat dipertimbangkan sebagai dosis protein yang cocok untuk mendukung pertumbuhan teripang pasir dengan dosis 10% memberikan hasil terbaik.

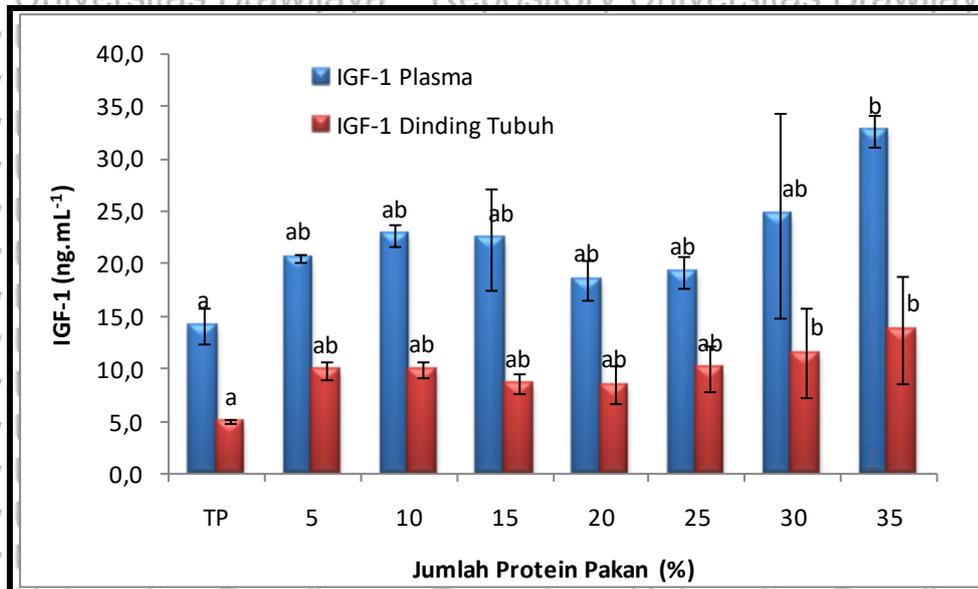
#### **5.1.4. Pengukuran Kadar IGF-1 dan Korelasinya Dengan Dosis Protein Pakan**

Studi ini untuk pertama kalinya mengukur kadar plasma coelomic IGF-1 maupun dinding tubuh IGF-1 teripang pasir dan mencari korelasinya dengan dosis protein dan SGR. Sepanjang pengetahuan penulis belum tersedia data konsentrasi IGF-1 baik plasma maupun dinding tubuh teripang pasir baik untuk teripang pasir yang diambil langsung dari alam maupun hasil budidaya.

Data IGF-1 teripang pasir ditampilkan pada Tabel 6 dan Gambar 10. Kadar plasma IGF-1 teripang pasir yang diberi pakan dengan dosis protein 0-35% berkisar antara 17,2-33,6 ng.mL<sup>-1</sup> sedangkan kadar dinding tubuh IGF-1 berkisar antara 7,25-17,40 ng.mL<sup>-1</sup>. Gambar 10 memperlihatkan rata-rata kadar dinding tubuh IGF-1 terdapat dalam jumlah yang lebih kecil dibandingkan dengan rata-rata kadar plasma IGF-1. Pola kadar plasma IGF-1 tampak bersesuaian dengan kadar dinding tubuh IGF-1. Bila kadar IGF-1 pada plasma darah tinggi maka kadar dinding tubuh IGF-1 akan tinggi pula, dan sebaliknya, bila kadar IGF-1 plasma rendah maka kadar IGF-1 pada dinding tubuh juga akan rendah.



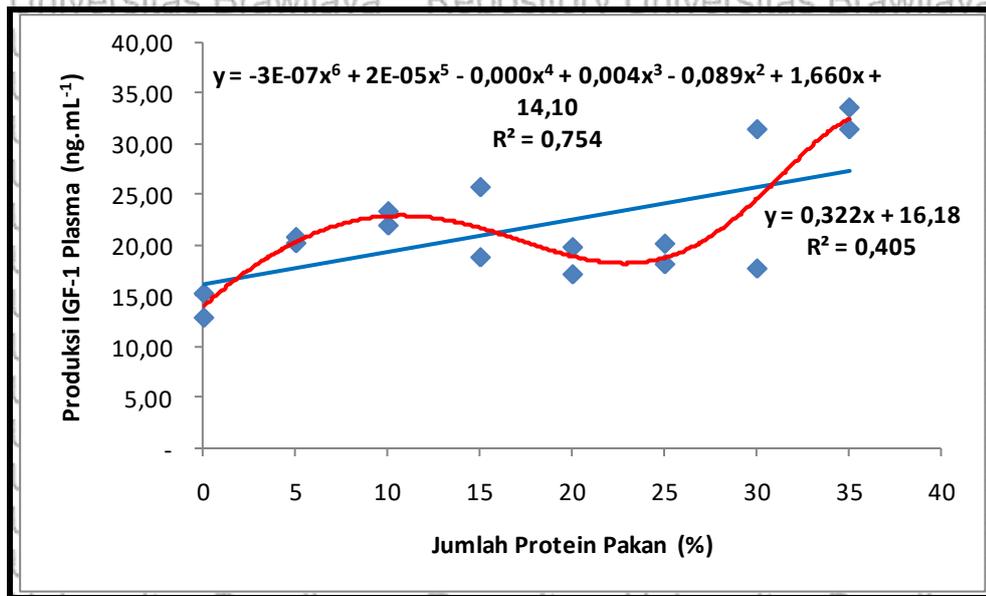
Data kadar IGF-1 teripang pasir ini sejalan dengan sejumlah publikasi IGF-1 pada sejumlah hewan vertebrata seperti ikan dimana IGF-1 ditemukan disekresi terbanyak pada liver dan dibawa ke sel target melalui plasma darah (Dai *et al.*, 1992; Laron, 2001). Selanjutnya para peneliti ini juga mengungkapkan bahwa IGF-1 juga dihasilkan oleh sel-sel lain dan bersifat parakrin ataupun autokrin, diantaranya seperti pada muscle.



**Gambar 10.** Kadar IGF-1 teripang pasir yang diberi pakan beda dosis protein.

Hasil pengujian pengaruh dosis protein terhadap produksi IGF-1 plasma dan IGF-1 dinding tubuh, dapat dilihat pada Gambar 11 dan 12. Gambar 11 memperlihatkan bahwa hubungan antara dosis protein dan produksi IGF-1 plasma memiliki model polynomial pangkat 6 dengan persamaan  $y = -3E-07x^6 + 2E-05x^5 - 0,000x^4 + 0,004x^3 - 0,089x^2 + 1,660x + 14,10$ . Model polynomial pangkat 6 ini menghasilkan koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang lebih besar dibandingkan model linier sehingga digunakan untuk mengetahui pengaruh pemberian dosis protein yang berbeda terhadap produksi IGF-1 plasma teripang pasir. Koefisien determinasi ( $R^2$ )

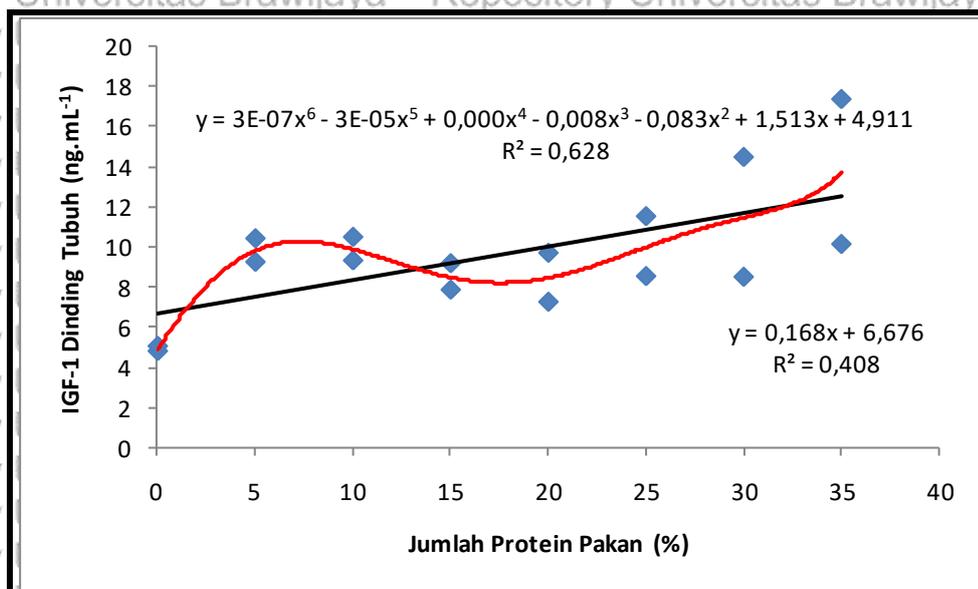
sebesar 0,7547 menunjukkan sebesar 75,47% keragaman produksi IGF-1 plasma dijelaskan oleh dosis protein. Koefisien korelasi sebesar 0,8687 menunjukkan terdapat hubungan yang sangat kuat antara dosis protein terhadap produksi IGF-1 plasma.



**Gambar 11.** Hubungan antara jumlah protein dalam pakan formula (%) terhadap produksi IGF-1 plasma teripang pasir yang diberi pakan berbeda dosis protein.

Gambar 12 memperlihatkan hubungan antara dosis protein pakan dengan produksi IGF-1 dinding tubuh teripang pasir. Gambar 12 menunjukkan bahwa model polinomial pangkat 6 dengan persamaan  $y = 3E-07x^6 - 3E-05x^5 + 0,000x^4 - 0,008x^3 - 0,083x^2 + 1,513x + 4,911$  merupakan model yang baik untuk diterapkan guna mengetahui pengaruh pemberian dosis protein pakan terhadap produksi IGF-1 dinding tubuh teripang pasir dibandingkan dengan model linier.

Koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,628 menunjukkan sebesar 62,8% keragaman produksi IGF-1 dinding tubuh teripang pasir dijelaskan oleh dosis protein. Koefisien korelasi sebesar 0,8563 menunjukkan terdapat hubungan yang sangat kuat antara dosis protein terhadap produksi IGF-1 dinding tubuh.



**Gambar 12.** Hubungan antara dosis protein dalam pakan formula (%) terhadap produksi IGF-1 dinding tubuh teripang pasir yang diberi pakan berbeda dosis protein.

Gambar 11 dan 12 memperlihatkan produksi IGF-1 baik plasma maupun dinding tubuh berhubungan dengan dosis protein pada pakan. Kedua gambar ini memperlihatkan terjadi kondisi yang berulang antara dosis pakan. Dosis protein 10% menghasilkan produksi IGF-1 yang tinggi namun kemudian produksi IGF-1 menurun dan baru meningkat lagi pada dosis protein 30-35%. Hal ini sepintas terlihat bahwa semakin tinggi dosis protein pada pakan maka produksi IGF-1 yang dihasilkan cenderung lebih tinggi.

Rata-rata kadar plasma maupun dinding tubuh IGF-1 yang terendah ditemukan pada teripang pasir yang tidak diberi pakan. Kadar IGF-1 tertinggi ditemukan pada teripang pasir yang diberi protein 35%. Kelompok protein 30% menghasilkan teripang pasir dengan rata-rata kadar IGF-1 yang tinggi baik plasma maupun dinding tubuh yaitu berturut-turut adalah 24,6 ng.ml<sup>-1</sup> dan 11,5 ng.ml<sup>-1</sup>.

Menariknya, hanya terdapat sedikit perbedaan namun secara statistik tidak signifikan antara kadar IGF-1 plasma maupun dinding tubuh kelompok teripang



pasir yang diberi pakan 30% protein dengan kelompok teripang pada perlakuan pakan lainnya kecuali dengan kelompok teripang pasir yang tidak diberi pakan. Hal ini diduga disebabkan keunikan teripang pasir dalam mengatur kebiasaan makan dan metabolisme tubuhnya seperti yang dinyatakan oleh Yuan *et al.* (2006) dan Liu *et al.* (2009).

Keunikan ini diduga menjadi penyebab tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada sintesis IGF-1 baik plasma maupun dinding tubuh antara kelompok teripang pasir berprotein pakan 30% dengan kelompok lainnya (5-35%) kecuali dengan kelompok teripang yang tidak diberi pakan.

Korelasi positif antara dosis protein pakan dan kadar IGF-1 yang diperoleh dalam studi ini sejalan dengan berbagai hasil penelitian yang dilaporkan untuk hewan vertebrate termasuk ikan. Konsentrasi plasma IGF-1 ikan *Sparus aurata*, ikan barramundi *Lates calcarifer* dan ikan Atlantic salmon *Salmo salar* memperlihatkan korelasi yang positif dengan dosis protein pakan. Konsentrasi plasma IGF-1 yang ditemukan pada ikan-ikan tersebut dilaporkan meningkat dengan meningkatnya kandungan protein pada pakan (Perez-Sanchez *et al.*, 1995; Duan, 1997, 1998; Dyer *et al.*, 2004).

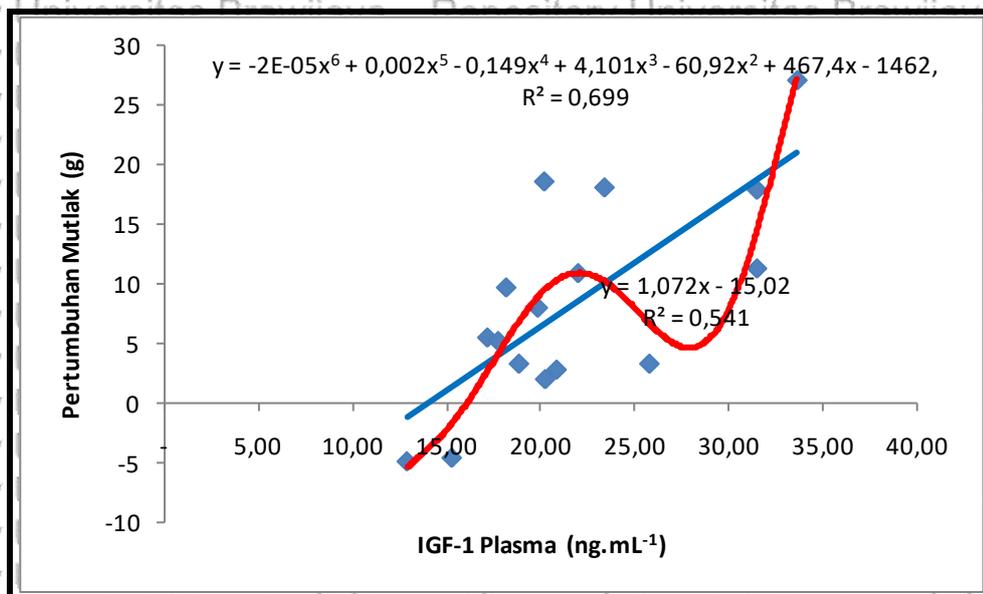
Korelasi antara dosis protein dengan produksi IGF-1 yang diperoleh pada eksperimen ini cukup kuat yaitu  $R^2 = 0,754$  untuk plasma dan  $R^2 = 0,628$  untuk dinding tubuh. Hal ini memperlihatkan bahwa sekitar 62,8-75,4% produksi IGF-1 teripang pasir diakibatkan oleh protein yang terdapat pada pakan. Hal ini sejalan dengan berbagai publikasi hasil penelitian diantaranya pada ikan barramundi ( $R^2 = 0,5905$ ) (Dyer *et al.*, 2004).

Beberapa peneliti menyatakan bahwa korelasi antara dosis protein dan plasma IGF-1 ini menunjukkan bahwa nutrisi merupakan regulator utama sistem IGF-1. Perez-Sanchez and LeBail (1999) bahkan mengajukan IGF-1 sebagai penanda status nutrisi organisme budidaya. Beberapa penelitian yang

dipublikasikan setelahnya seperti Dyer *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2006 dan Fukada *et al.*, 2008 memperkuat indikasi tersebut.

Respons IGF-1 yang diperoleh dalam penelitian ini memperlihatkan bahwa IGF-1 sangat sensitif terhadap status nutrisi teripang pasir. Eksperimen ini memperkuat hasil-hasil penelitian tersebut di atas dimana kadar IGF-1 terutama plasma IGF-1 dapat digunakan untuk membantu mengevaluasi kebutuhan kandungan protein yang dibutuhkan dalam pakan guna menunjang pertumbuhan teripang pasir.

### 5.1.5. Korelasi Antara IGF-1 Dan Pertumbuhan Mutlak Teripang Pasir



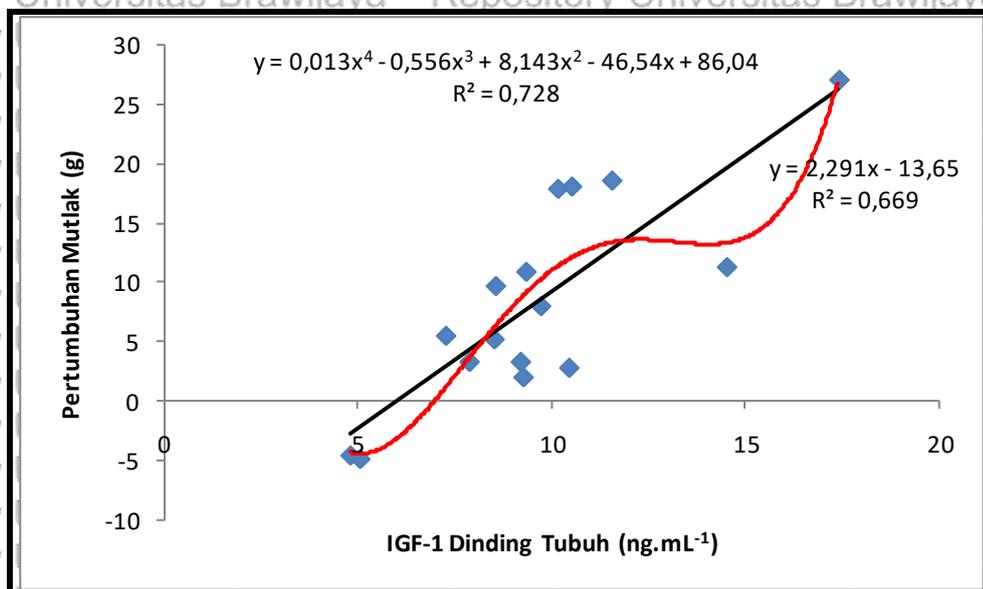
**Gambar 13.** Hubungan antara produksi IGF-1 plasma terhadap pertumbuhan mutlak teripang pasir yang diberi pakan berbeda dosis protein.

Hubungan antara pertumbuhan mutlak teripang pasir dengan plasma IGF-1 maupun dinding tubuh IGF-1 berturut-turut ditampilkan pada Gambar 13 dan 14.

Gambar 13 memperlihatkan hubungan antara pertumbuhan mutlak dengan IGF-1 plasma memiliki model polynomial pangkat 6 dengan persamaan  $y = -2E-05x^6 + 0,002x^5 - 0,149x^4 + 4,101x^3 - 60,92x^2 + 467,4x - 1462$ . Model polynomial



pangkat 6 ini menghasilkan koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang lebih besar dibandingkan dengan model linier. Hal ini menjadikan model polynomial pangkat 6 sebagai model yang paling baik untuk mengetahui pengaruh produksi IGF-1 plasma terhadap pertumbuhan mutlak teripang pasir. Koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang diperoleh adalah sebesar 0,699 yang menunjukkan sebesar 69,9% keragaman pertumbuhan teripang pasir dijelaskan oleh produksi IGF-1 plasma. Koefisien korelasi sebesar 0,8364 menunjukkan adanya hubungan yang sangat kuat antara produksi IGF-1 plasma dan pertumbuhan.



**Gambar 14.** Hubungan antara produksi IGF-1 dinding tubuh terhadap pertumbuhan teripang pasir yang diberi pakan beda dosis protein.

Gambar 14 memperlihatkan bahwa model polynomial pangkat 4 menghasilkan koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang lebih besar dibandingkan dengan model linier. Hal ini menjadikan model polynomial pangkat 4 dengan persamaan  $y = 0,013x^4 - 0,556x^3 + 8,143x^2 - 46,54x + 86,04$  sebagai model yang paling baik untuk mengetahui pengaruh produksi IGF-1 dinding tubuh terhadap pertumbuhan mutlak teripang pasir. Koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang diperoleh adalah sebesar



0,728 yang menunjukkan sebesar 72,8% keragaman pertumbuhan teripang pasir dijelaskan oleh produksi IGF-1 dinding tubuh. Koefisien korelasi sebesar 0,899 menunjukkan adanya hubungan yang sangat kuat antara produksi IGF-1 tubuh dan pertumbuhan

Gambar 13 dan 14 memperlihatkan bahwa pengaruh IGF-1 berfluktuasi terhadap pertumbuhan teripang pasir. Fluktuasi pertumbuhan yang disebabkan oleh produksi IGF-1 diyakini berkaitan dengan keunikan teripang pasir dalam mengatur metabolismenya yang berujung pada pertumbuhan yang dihasilkan.

Kadar plasma maupun dinding tubuh IGF-1 yang tertinggi dihasilkan oleh teripang pasir yang diberi pakan protein 35% dengan penambahan bobot sebesar 15,7 g masing-masing sebesar 32,6 ng.mL<sup>-1</sup> dan 13,8 ng.mL<sup>-1</sup>. Kadar IGF-1 teripang pasir terendah dihasilkan oleh teripang pasir yang tidak diberi pakan dan menghasilkan pertumbuhan negatif, masing-masing 14,1 ng.mL<sup>-1</sup> dan 4,9 ng.mL<sup>-1</sup> untuk plasma dan dinding tubuh

Korelasi positif antara pertumbuhan baik penambahan bobot maupun laju pertumbuhan spesifik dengan kadar plasma IGF-1 telah dilaporkan untuk berbagai vertebrata termasuk ikan. Li *et al.* (2006) melaporkan adanya korelasi positif antara SGR dan IGF-1 pada channel catfish *Ictalurus punctatus*. Higgs *et al.* (2009) melaporkan bahwa level plasma IGF-1 pada ikan coho salmon *Oncorhynchus kisutch* lebih tinggi pada ikan yang sedang dalam masa pertumbuhan dibandingkan dengan ikan sejenis yang tidak bertumbuh. Lebih lanjut ditemukan bahwa konsentrasi IGF-1 pada ikan-ikan coho salmon yang sedang bertumbuh dilaporkan lebih tinggi pada ikan transgenik dibandingkan ikan non transgenik dimana ikan-ikan transgenik memiliki laju pertumbuhan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ikan-ikan non transgenik.

Fakta menarik yang ditemukan dalam eksperimen ini adalah kelompok teripang pasir yang diberi protein 10% dan memiliki penambahan bobot tertinggi



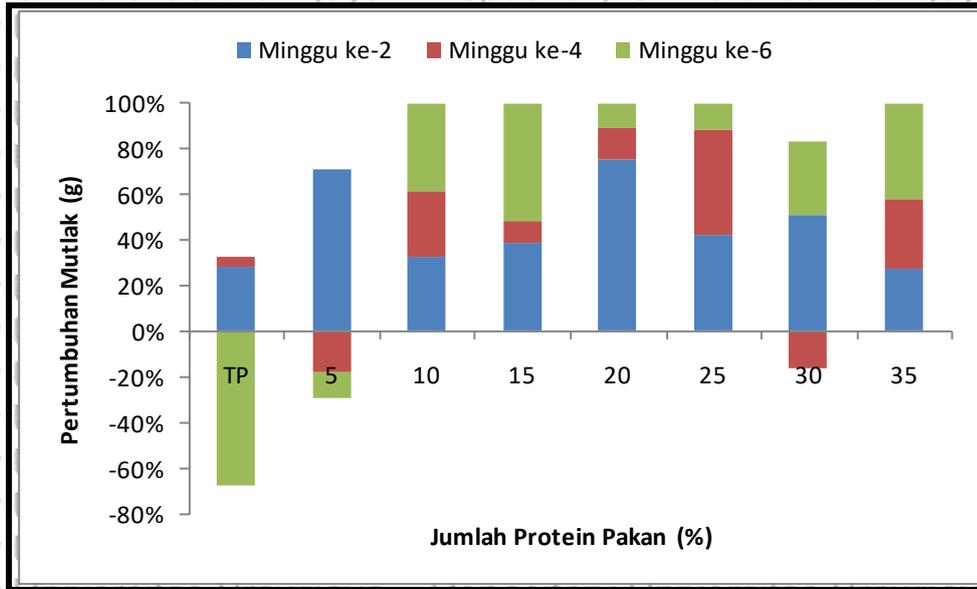
namun memiliki kadar IGF-1 yang tidak terlalu tinggi ( $22,7 \text{ ng.mL}^{-1}$ ) dan secara statistik tidak berbeda dengan kelompok teripang pasir dengan perlakuan protein pakan 5-30% yang memiliki pertambahan bobot (pertumbuhan mutlak) yang lebih rendah (Tabel 8).

Fakta lainnya yang ditemukan adalah tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara IGF-1 plasma dan IGF-1 dinding tubuh antara kelompok teripang pasir yang diberi protein antara 15% hingga 30%.

Berbagai hasil penelitian memperlihatkan bahwa sintesis IGF-1 diregulasi oleh laju pertumbuhan dan adanya perbedaan laju pertumbuhan dapat terdeteksi dengan fluktuasi IGF-1 (Duan 1997, 1998; Perez-Sanchez and Le Bail, 1999). Lebih lanjut dinyatakan bahwa hal ini membuktikan konsentrasi IGF-1 sangat sensitif terhadap pertumbuhan sehingga dapat menjadi indikator pertumbuhan organisme.

Merujuk pada publikasi yang ada maka tidak adanya perbedaan yang signifikan pada IGF-1 teripang pasir ini dapat dijelaskan dengan melihat pertumbuhan kelompok teripang pasir tersebut seperti yang ditampilkan pada Gambar 15. Semua kelompok teripang pasir memperlihatkan pola pertumbuhan yang berfluktuasi dengan pertumbuhan terbesar terjadi pada 2 minggu pertama.

Teripang pasir yang tidak diberi pakan (TP) mengalami pertumbuhan pada 2 minggu pertama. Memasuki minggu ke-3 dan ke-4 pertumbuhan yang terjadi sangat lambat dan memasuki minggu selanjutnya kelompok teripang ini mengalami penurunan pertumbuhan. Pertumbuhan yang terjadi hingga minggu ke-2 diduga kuat disebabkan konsumsi pakan yang terjadi sebelum berlangsungnya eksperimen 1 ini. Dugaan kuat lainnya adalah terdapatnya pasir yang cukup banyak pada saluran pencernaan sewaktu dilakukan penimbangan bobot tubuh sehingga menyebabkan hasil yang sedikit bias.



**Gambar 15.** Pola pertumbuhan mutlak teripang pasir yang diberi pakan berbeda dosis protein selama eksperimen..

Teripang pasir yang diberi pakan 5% protein mengalami pertumbuhan mutlak yang sangat pesat pada 2 minggu pertama namun pada 4 minggu selanjutnya kelompok ini mengalami penurunan pertumbuhan yang tercermin dari berkurangnya bobot teripang pasir. Hal ini diyakini bahwa dosis protein 5% dalam pakan tidak mampu mencukupi kebutuhan pertumbuhan teripang pasir.

Teripang pasir dengan perlakuan protein 10% dan 35% memiliki pertumbuhan yang konstan selama 6 minggu. Pertumbuhan teripang pasir yang diberi protein 15-25% memperlihatkan pertumbuhan yang tinggi pada 2 minggu pertama. Pertambahan berat pada 2 minggu ke-2 sangat lambat namun meningkat lagi pada 2 minggu ke-3. Teripang pasir yang diberi pakan 30% mengalami pertumbuhan yang negatif pada 2 minggu ke-2 namun kemudian kembali mengalami peningkatan pertumbuhan.

Teripang pasir yang diberi protein 10% memang memiliki pertumbuhan mutlak tertinggi namun pertumbuhan kelompok ini secara statistik tidak berbeda



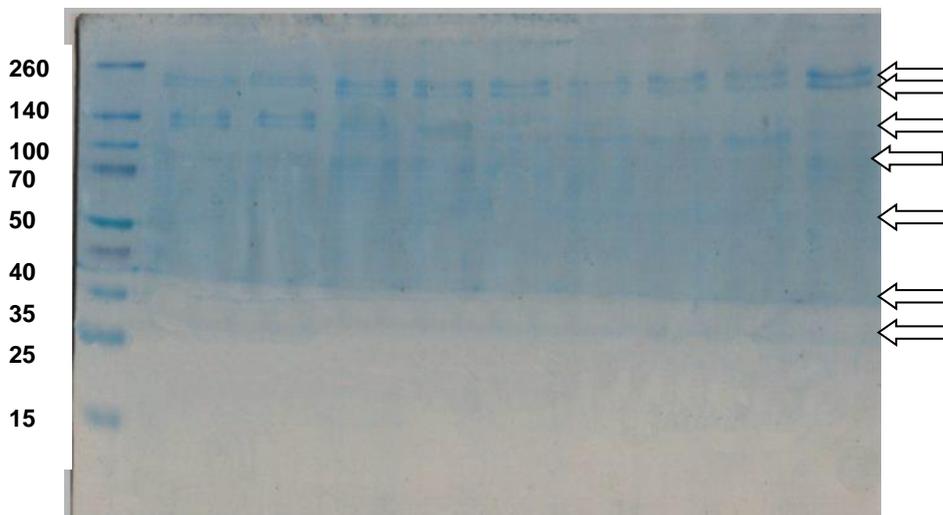
dengan pertumbuhan pada kelompok teripang pasir lainnya yang diberi protein 25-35% seperti yang dapat dilihat pada Tabel 6.

Pemberian protein 15-30% tidak memberikan hasil yang signifikan terhadap pertumbuhan mutlak kelompok teripang pasir. Hal ini dikarenakan pertumbuhan diregulasi oleh IGF-1 sehingga bila tidak terdapat perbedaan pertumbuhan yang signifikan pada kelompok teripang pasir 15-30% maka diyakini tidak akan diperoleh perbedaan kadar IGF-1 yang signifikan pula.

### 5.1.6 Profil Protein Teripang Pasir

Pengujian menggunakan SDS PAGE menghasilkan gambaran profil dan jumlah berat molekul dari protein pada setiap sampel (Gambar 16). Hasil analisis SDS PAGE kemudian dilanjutkan dengan metode Western Blot untuk mendeteksi kehadiran IGF-1 maupun komponen-komponennya (Gambar 18).

BM (kDa) M Alam TP 5% 10% 15% 20% 25% 30% 35%



**Gambar 16.** Profil protein plasma darah teripang pasir yang diberi pakan berbeda dosis protein

.Keterangan: BM (kDa) = Berat molekul (kDa),

M= Marker,

Alam = teripang yang diambil langsung dari alam;

TP = perlakuan tanpa pakan

5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35% = perlakuan dosis protein

Estimasi berat molekul hasil separasi SDS PAGE pada plasma darah dicantumkan pada Tabel 7. Pada eksperimen 1 pengukuran berat molekul protein teripang pasir juga dilakukan pada beberapa ekor teripang pasir yang dikumpulkan dari alam (tanpa dipuasakan) sebagai pembanding. Gambar 16 dan Tabel 7 memperlihatkan hasil separasi SDS PAGE terhadap plasma teripang pasir memunculkan sedikitnya 6 pita protein. Pita-pita protein tersebut dari mobilitas terendah hingga tertinggi terletak antara berat molekul 24-164,5 kDa. Hasil separasi SDS PAGE memperlihatkan pita protein kelompok teripang pasir ini tampak berbeda tingkat ketebalannya maupun jumlah pita protein yang muncul.

Pada kelompok teripang yang tidak diberi pakan (TP) memunculkan jumlah pita yang paling sedikit yaitu hanya 4 pita protein (Tabel 7). Ketiga pita protein yang tidak muncul pada hasil elektroforesis plasma kelompok ini adalah 101,2 kDa, 49,6 kDa dan 28,3 kDa. Kelompok teripang yang diambil langsung dari alam tidak memunculkan pita protein dengan berat molekul 101,2 kDa dan 28,3 kDa.

**Tabel 7.** Deskripsi berat molekul fraksi-fraksi protein plasma darah teripang pasir berdasarkan migrasi protein pada SDS PAGE 12%

Berat Molekul (kDa)	Dosis Protein Pakan								
	Alam	TP	5%	10%	15%	20%	25%	30%	35%
164,5	√	√	√	√	√	√	√	√	√
149,3	√	√	√	√	√	√	√	√	√
101,2			√	√	√	√	√	√	√
83,3	√	√	√	√	√	√	√	√	√
49,6	√	√	√	√	√	√	√	√	√
38,6	√	√	√	√	√	√	√	√	√
28,3			√	√	√	√	√	√	√

Keterangan: TP = Tanpa Pakan

Kelompok teripang pasir yang diberi pakan memunculkan 7 pita protein kecuali kelompok teripang yang diberi protein pakan 25% dan 30% yang tidak



memunculkan pita protein dengan berat molekul 83,3 kDa. Tidak diketahui mengapa pita protein ini tidak muncul pada ke-2 kelompok teripang ini.

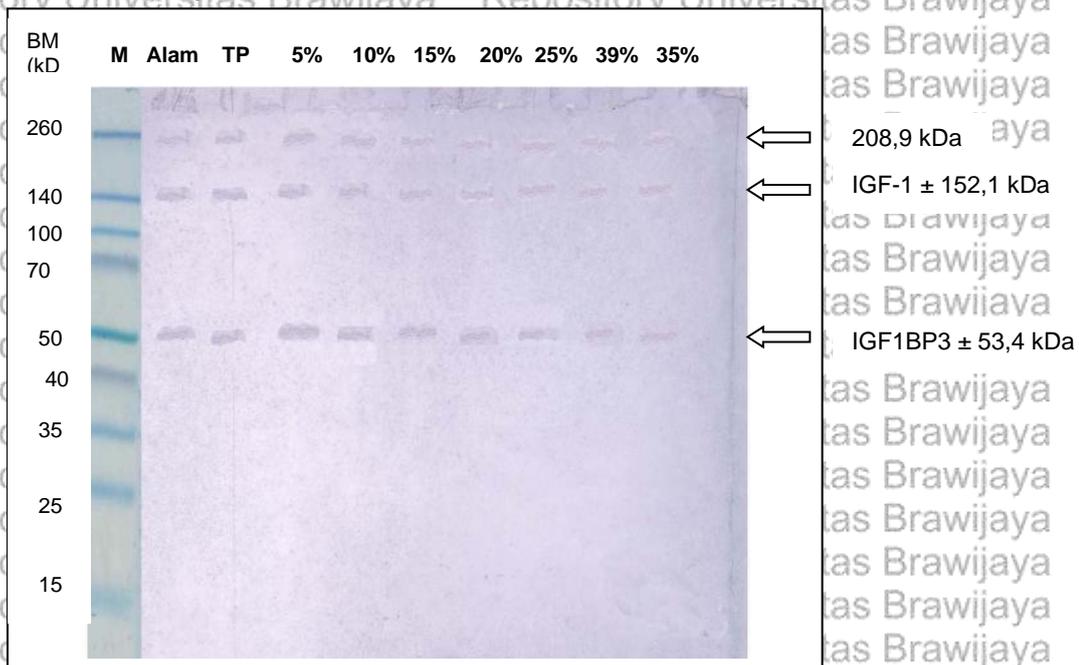
Hasil separasi elektroforesis plasma darah ini kemudian dilanjutkan dengan analisis western blot yang menggunakan bovine fish antibody IGF-1.

Perhitungan berat molekul pita protein hasil deteksi tersebut memperlihatkan plasma darah teripang mengandung komponen IGF-1 dengan berat molekul

berturut-turut 208,9 kDa, 152,1 kDa, dan 52,4 kDa (Gambar 17). Pita protein 152,1 kDa diyakini sebagai IGF-1 complex, 52,4 kDa diduga sebagai IGFBP3

dan 208,9 kDa tidak diketahui namun diyakini merupakan atau mengandung komponen IGF-1 sehingga dapat terdeteksi dengan menggunakan antibody IGF-

1 dengan metode Western Blot ini..



**Gambar 17.** Hasil uji Western Blot plasma darah teripang pasir yang diberi pakan berbeda dosis protein

Keterangan: BM (kDa) = Berat molekul (kDa),

M= Marker,

Alam = teripang yang diambil langsung dari alam;

TP = teripang pasir tanpa perlakuan pakan

5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35% = dosis protein

← Menyala pada pita protein yang dikenali oleh antibody IGF-1



IGF-1 sebesar 70-90% tersirkulasi sebagai 150 kDa ternary complex yang terdiri dari IGF-1 (7,6 kDa), IGFBP-3 (46-53 kDa) dan non IGF-1 binding glycoprotein yang dikenal sebagai acid labile subunits (ALS; 88 kDa). IGF-1 complex (150 kDa) dilaporkan sebagai tempat penampungan IGF-1 sambil melindungi IGF-1 dari degradasi. Lebih lanjut dikatakan bahwa dalam bentuk complex IGF-1 ini, IGF-1 tidak dalam keadaan untuk segera dilepaskan dari kompartemen vascular. Bila dibutuhkan oleh organisme barulah bentuk IGF-1 ini dilepaskan dari bentuk ternary complex ke target tissue dalam bentuk sebagai IGF-1 bebas atau permeable binary complex dengan IGFBP3 (Duan, 1997; 1998).

Sirkulasi IGFs dan IGFBP-3 mempengaruhi pertumbuhan dan diferensiasi pada berbagai tissue tertentu dalam fungsi endokrin. IGF-1 dan IGFBP juga disintesa dan disekresi secara lokal pada berbagai tissue dan bertindak secara parakrin maupun autokrin (Duan, 1997).

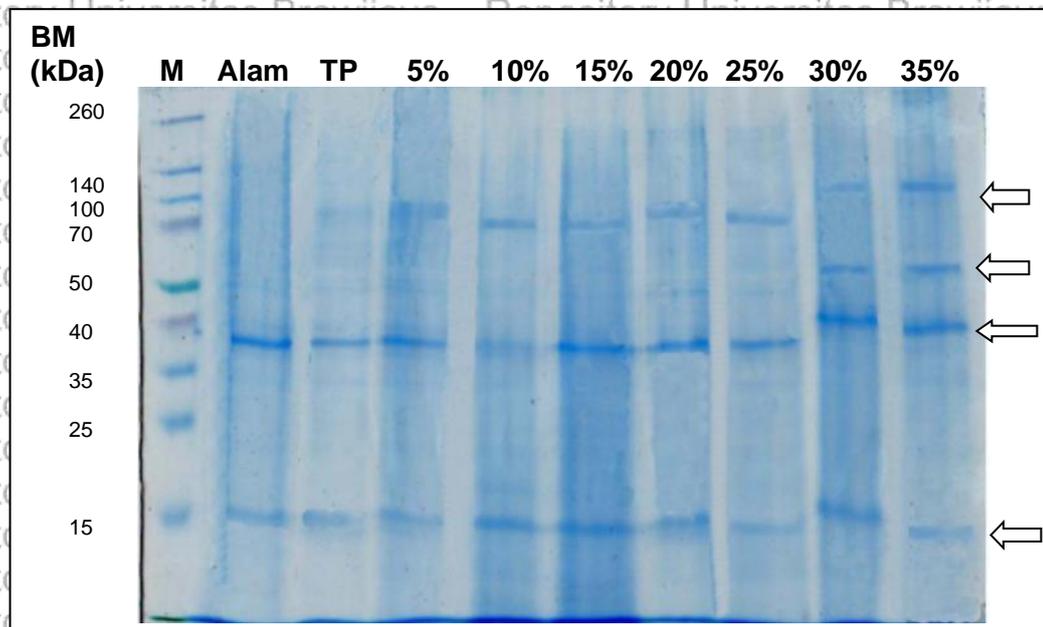
Hasil separasi SDS PAGE pada dinding tubuh teripang pasir dapat dilihat pada Gambar 18 dan hasil perhitungan berat molekul protein dicantumkan pada Tabel 8. Dinding tubuh teripang pasir memiliki hanya sedikit pita protein. Hasil separasi SDS PAGE memunculkan hanya 4 pita protein dengan berat molekul berkisar antara 14,9-97,9 kDa.

Dinding tubuh teripang pasir yang diambil langsung dari alam memunculkan hanya 2 pita protein dengan berat molekul 38,7 kDa dan 14,9 kDa. Kedua pita protein ini terdapat pada semua teripang pasir hasil perlakuan pakan maupun yang diambil langsung dari alam. Teripang pasir yang dipuasakan memunculkan 3 pita protein namun tidak memunculkan pita protein dengan berat molekul 53,3 kDa. Pita protein 97,9 kDa tampak sangat samar pada kelompok teripang pasir ini. Perlakuan dosis pakan 30-35% memperlihatkan 2 pita protein yang berbeda



dari perlakuan lainnya yaitu adanya pita protein dengan berat molekul 97,9 kDa dan 53,3 kDa.

Meskipun tidak dilakukan identifikasi atau konfirmasi dengan metode Western Blot namun diduga pita protein 53,3 kDa merupakan komponen IGF-1 yaitu IGFBP3. Hal ini diduga dengan tingginya kadar IGF-1 dinding tubuh teripang pasir yang diberi pakan 30% dan 35% seperti yang dapat dilihat pada Tabel 8.



**Gambar 18.** Profil protein dinding tubuh teripang pasir yang diberi pakan berbeda dosis protein

Keterangan: BM (kDa) = Berat molekul (kDa),

M= Marker

Alam = teripang pasir yang diambil langsung dari alam

TP= teripang pakan tanpa pemberian pakan

5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35% = dosis protein

Menariknya pada dinding tubuh semua teripang pasir tampak hanya ada 2 pita protein yang muncul dengan sangat tebal atau jelas pada dinding tubuh semua teripang pasir yang mengalami perlakuan pakan maupun teripang yang diambil langsung dari alam. Kedua pita protein yang tampak mendominasi dinding tubuh memiliki berat molekul 38,7 kDa dan 14,9 kDa. Meskipun tidak



diidentifikasi namun hal ini menarik untuk diperhatikan bahwa dinding tubuh teripang pasir dengan kandungan protein sekitar 16-32% didominasi oleh hanya 2 jenis pita protein (lihat Tabel 7).

**Tabel 8.** Deskripsi berat molekul (BM) fraksi-fraksi protein dinding tubuh teripang pasir berdasarkan migrasi protein pada SDS PAGE 12%.

Berat Molekul (kDa)	Dosis Protein Pakan								
	Alam	TP	5%	10%	15%	20%	25%	30%	35%
97,9		√	√	√	√	√	√	√	√
53,3								√	√
38,7	√	√	√	√	√	√	√	√	√
14,9	√	√	√	√	√	√	√	√	√

Keterangan: TP =Tanpa Pakan

**5.1.7. Komposisi Proksimat Teripang Pasir**

Pengujian kandungan proksimat yang meliputi kadar air, kadar protein, kadar lemak, kadar abu dilakukan terhadap sampel teripang uji. Sebagai pembandingan, uji proksimat dilakukan juga untuk teripang pasir yang diambil langsung dari alam. Hasil uji proksimat terhadap teripang pasir dicantumkan pada Tabel 9.

**Tabel 9.** Analisis proksimat dinding tubuh teripang pasir yang diberi pakan berbeda dosis protein.

Sampel	Dinding Tubuh Teripang Pasir (%)					
	Air	Protein	Lemak	Abu	Serat Kasar	BETN
Alam	6,41	23,32	0,38	47,88	0,05	21,96
TP	5,88	16,43	0,76	47,36	0,06	29,51
5%	5,87	20,63	0,52	42,03	0,04	30,91
10%	5,84	28,49	0,60	42,89	0,10	22,08
15%	5,65	27,93	0,56	42,95	0,08	22,83
20%	5,72	26,28	0,86	42,85	0,04	24,25
25%	6,03	26,95	0,82	42,72	0,04	23,44
30%	6,00	30,16	0,95	44,57	0,08	18,24
35%	6,11	32,43	0,90	42,01	0,08	18,47

Keterangan: Hasil analisis Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan, Fakultas Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang.  
 BETN = 100 – Protein – Lemak – Kadar Abu – Serat Kasar



Kadar protein kasar teripang pasir yang diperoleh pada eksperimen 1 memperlihatkan hasil yang rendah dibandingkan dengan hasil yang diperoleh Karnila *et al.* (2011). Hal ini patut diduga dikarenakan ukuran teripang sampel yang digunakan pada eksperimen ini berukuran hanya sekitar 30 g sedangkan umumnya teripang yang digunakan untuk uji kadar proksimat berukuran sekitar 200 g.

Tabel 9 memperlihatkan bahwa kadar protein terendah terdapat pada teripang pasir yang dipuasakan atau diberi pakan 0%. Teripang pasir yang tidak diberi pakan mengalami penurunan kadar protein sebesar 29,5% dibandingkan dengan teripang pasir yang diambil langsung dari alam. Pakan dengan protein 5% tampaknya belum cukup untuk mendukung pertumbuhan teripang pasir. Hal ini terlihat dengan kandungan protein dinding tubuh yang rendah dibandingkan dengan kadar protein dinding tubuh teripang dari alam.

Eksperimen ini memperlihatkan bahwa teripang pasir yang diberi protein 10-35% memiliki kadar protein dinding tubuh yang semakin tinggi. Kadar protein tertinggi terdapat pada teripang pasir yang diberi 35% protein. Kelompok teripang pasir ini memiliki pertambahan bobot yang cukup tinggi yaitu 15,7 g. Hal ini menunjukkan semakin besar protein yang tersedia dalam pakan untuk dikonsumsi menghasilkan teripang pasir dengan laju pertumbuhan yang lebih tinggi.

Laju pertumbuhan yang tinggi menyebabkan pemanfaatan protein untuk pertumbuhan semakin efisien yang diperlihatkan oleh FCR kelompok ini yang lebih rendah. Pertumbuhan yang tinggi ini juga dicirikan dengan tingginya kadar IGF-1 pada kelompok teripang pasir ini.

Teripang pasir yang diberi pakan 10% protein memiliki laju pertumbuhan tertinggi (meskipun tidak berbeda secara signifikan dengan teripang perlakuan pakan 35% protein) namun memiliki kadar protein yang cukup rendah



dibandingkan kadar protein teripang hasil perlakuan 35% protein pakan. Hal ini diduga bahwa adanya kemampuan teripang dalam mengeliminasi peningkatan pertumbuhan (Zamora and Jeffs, 2012) yang sangat berperan penting. Teripang pasir yang diberi protein 10% dan memiliki pertambahan bobot tertinggi hanya memiliki kadar protein dinding tubuh sebesar 28%. Kelompok ini tampaknya telah mengalami perlambatan laju pertumbuhan yang tercermin dari kadar proteinnya yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok teripang pasir yang diberi pakan 35% protein.

Kekhususan teripang pasir dalam memanfaatkan protein yang tersedia dengan mengatur metabolisme pakan dan menekan laju pertumbuhan berpengaruh terhadap respons IGF-1. Seperti diketahui sirkulasi IGF-1 diregulasi oleh nutrisi khususnya protein sedangkan IGF-1 memegang peranan penting dalam meregulasi pertumbuhan (Duan, 1997, 1998; Perez-Sanchez and LeBail, 1999; Dyer et al., 2004). Sehingga bila kadar IGF-1 rendah sebagai respons terhadap pertumbuhan yang rendah maka pemanfaatan pakan untuk pertumbuhan juga akan rendah. Hal ini dapat dilihat melalui PER teripang pasir pada eksperimen ini yang sangat kecil berkisar antara 0,01-0,05. Hal ini berimbang pada peningkatan kadar protein dinding tubuh teripang uji yang sangat kecil seperti yang ditampilkan pada Tabel 9.

Kadar lemak kasar pada dinding tubuh teripang pasir yang diambil langsung dari alam terlihat sangat rendah yaitu hanya sekitar 0,38%. Kadar lemak pada teripang pasir yang tidak diberi pakan terlihat meningkat tajam mencapai 100% dari kadar lemak teripang pasir yang diambil langsung dari alam. Hal ini diduga teripang pasir menggunakan cadangan protein pada tubuhnya untuk maintenance maupun mengganti sel yang rusak. Dengan demikian maka protein yang tersimpan pada tubuh teripang pasir menjadi berkurang menyebabkan persentase kadar lemak dan juga kadar karbohidrat menjadi meningkat.



Kadar lemak teripang pasir hasil perlakuan pakan juga terlihat rendah berkisar 0,52-0,95 meskipun kadar lemak pada pakan berkisar 5-11%. Kadar lemak dinding tubuh teripang pasir hanya sekitar 10% dari kadar lemak pakan. Kadar lemak yang rendah tampaknya merupakan salah satu keunggulan teripang termasuk jenis teripang pasir. Berbagai hasil penelitian memperlihatkan teripang umumnya memiliki kandungan lemak yang rendah (Chen, 2004; Bechtel *et al.*, 2013).

Kadar abu dinding tubuh teripang pasir sangat tinggi, berkisar 42-47% berat kering. Kadar abu teripang pasir yang diambil langsung dari alam dan teripang pasir yang dipuasakan memperlihatkan hasil yang jauh lebih tinggi dibandingkan teripang hasil perlakuan. Namun secara umum kadar abu teripang pasir yang diperoleh pada eksperimen ini lebih tinggi dibandingkan dengan yang diperoleh Karnila *et al.* (2011). Kadar abu yang tinggi pada eksperimen ini dikarenakan dinding tubuh yang digunakan untuk uji proksimat terdiri dari daging dan juga kulit teripang. Kulit teripang merupakan dinding tubuh yang terdiri dari kutikula yang merupakan lapisan pelindung yang ditutupi kapur dan memiliki duri-duri yang adalah butir-butir kapur mikroskopis yang tersebar pada lapisan dermis (Conand, 1990).

#### 5.1.7 Aplikasi terhadap usaha budidaya teripang.

Studi ini memperlihatkan teripang pasir memiliki keunggulan sebagai sumber bahan makanan yang sehat yaitu tinggi protein namun rendah lemak. Ini merupakan salah satu keunggulan teripang pasir yang menjadikannya layak sebagai kandidat organisme budidaya meskipun masih terkendala pertumbuhan teripang pasir yang lambat serta belum tersedia informasi tentang protein pakan tambahan yang mendukung pertumbuhan teripang. Kendala-kendala tersebut



telah dicoba dicarikan jalan keluar melalui penggunaan IGF-1 untuk mengevaluasi pertumbuhan dan efisiensi pakan formula.

IGF-1 telah diajukan lama sebagai indikator untuk mengevaluasi pertumbuhan dan efisiensi pakan formula organisme budidaya. Untuk menginvestigasi dosis protein terbaik yang mendukung pertumbuhan teripang telah diuji pakan dengan dosis protein 0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30% dan 35% dengan menggunakan konsentrasi IGF-1 sebagai indikator. Konsentrasi plasma maupun IGF-1 dinding tubuh sangat sensitif terhadap kandungan protein pakan dan SGR teripang pasir. Hal ini ditunjukkan dengan fluktuasi konsentrasi plasma maupun IGF-1 dinding tubuh yang terdeteksi dengan adanya perubahan pada dosis protein dan laju pertumbuhan teripang pasir.

Hasil studi ini sependapat dengan publikasi yang ada terutama Perez-Sanches and LeBail (1999) dan Dyer *et al.* (2004) bahwa kadar IGF-1 berpotensi sebagai penanda laju pertumbuhan dan sebagai tool untuk mengevaluasi performans pakan.

Berdasarkan evaluasi terhadap pertumbuhan dan IGF-1 maka dapat disimpulkan bahwa teripang pasir membutuhkan dosis protein berkisar antara 10-35% dalam pakannya. Namun dosis protein 10% lebih dipertimbangkan sebagai dosis protein terbaik yang mendukung pertumbuhan teripang pasir muda dengan bobot basah berkisar antara 21-50 g. Hal ini didasarkan pada hasil eksperimen ini dimana kenaikan dosis protein pakan hingga 35% tidak meningkatkan pertumbuhan teripang pasir melebihi pertumbuhan yang dicapai dengan menggunakan protein 10%. Selain itu berdasarkan efisiensi pakan yang ditunjukkan melalui FCR dan PER serta hasil analisis proksimat memperlihatkan protein pakan 10% memberikan hasil yang tidak berbeda dengan protein pakan 35%.



Perhitungan biaya pembuatan pakan ditampilkan pada Tabel 10. Tabel ini memperlihatkan biaya pembuatan pakan 10% protein yang sedikit lebih murah dibandingkan biaya pembuatan pakan dengan kandungan protein 15-35%.

Biaya terbesar disumbangkan oleh perekat pakan. Namun untuk mengurangi biaya perekat buatan pabrik yang lebih mahal dapat disiasati dengan menggunakan perekat tradisional seperti tepung sagu maupun tapioka.

Berdasarkan pertimbangan-pertimbangan tersebut diatas maka eksperimen ini merekomendasikan penggunaan dosis 10% protein untuk digunakan sebagai dosis protein yang mendukung pertumbuhan teripang pasir dengan ukuran 20-50 g. Dosis 10% protein ini digunakan dalam eksperimen 2.

**Tabel 10.** Perhitungan biaya pembuatan per 100 g pakan uji.

Bahan (Rp)	Perlakuan						
	5%	10%	15%	20%	25%	30%	35%
Tepung ikan	125	248	373	499	627	755	883
Minyak ikan	750	750	750	750	750	750	750
Tepung tapioka	544	481	416	352	286	221	155
Vitamin mix	387	387	387	387	387	387	387
Mineral mix	387	387	387	387	387	387	387
Perekat	903	849	804	742	689	635	582
<b>Total</b>	<b>3.095</b>	<b>3.101</b>	<b>3.115</b>	<b>3.117</b>	<b>3.125</b>	<b>3.134</b>	<b>3.143</b>



## 5.2. Pengaruh Substitusi Cacing Sutera Dalam Formula Pakan Terhadap Kelulushidupan, Pertumbuhan Dan Kadar IGF-1 Teripang Pasir.

### 5.2.1 Kelulushidupan Teripang Pasir

Kelulushidupan teripang pasir pada eksperimen 2 adalah 100%. Nilai kelulushidupan pada eksperimen ini sama dengan yang diperoleh pada eksperimen 1. Rata-rata bobot basah teripang pasir yang digunakan dalam eksperimen ke-2 (rata-rata berat basah  $23,4 \text{ g} \pm 1,7$ ) berukuran lebih besar dibandingkan dengan teripang pasir yang digunakan pada eksperimen 1 (rata-rata berat basah  $21,3 \text{ g} \pm 2,6$ ) meskipun secara statistik tidak berbeda.

Kelulushidupan diyakini tidak menjadi kendala bagi teripang pasir dengan ukuran seperti ini karena termasuk dalam ukuran kelompok yang telah mampu beradaptasi dengan lingkungannya (Battaglione *et al*, 1999; Giraspy and Walsalam, 2010).

### 5.2.2. Kualitas Air Media Pemeliharaan

Kualitas air pada media pemeliharaan teripang pasir sepanjang eksperimen terpantau masih dalam batas toleransi teripang pasir. Data kualitas air pada media pemeliharaan selama eksperimen 2 berlangsung ditampilkan pada Tabel 11. Suhu air terpantau sedikit lebih rendah pada pagi hari dibandingkan dengan suhu air yang dipublikasikan untuk pertumbuhan teripang.

Eksperimen ke-2 berlangsung selama bulan Mei-Juni 2013 dimana bulan-bulan tersebut merupakan musim penghujan di wilayah Maluku. Hujan deras yang terjadi setiap hari diduga menyebabkan turunnya suhu air pada media pemeliharaan yang disedot langsung dari laut disekitar tempat dilakukan eksperimen. Meskipun demikian teripang pasir masih dapat metoleransinya dengan terbukti kelulushidupan mencapai 100% pada semua perlakuan pakan.

**Tabel 11.** Kualitas air media pemeliharaan teripang pasir yang diberi pakan berbahan cacing sutera.

Parameter	Nilai Kualitas Air		
	Eksperimen	Nilai Pustaka	Referensi
Suhu air (°C)	25-30	26-30	James, 1994; Darsono, 2009
Salinitas (ppt)	31-32	26-33	James, 1994; Hartati <i>et al.</i> , 2005; Darsono, 2009;
pH	7-8	6-9	Darsono, 2009
Oksigen terlarut (mg L <sup>-1</sup> )	5-5,5	5-6	Darsono, 2009

### 5.2.3 Pengaruh Dosis Cacing Sutera Dalam Pakan Uji Terhadap Pertumbuhan Teripang Pasir

Pakan uji pada eksperimen ke-2 diformulasikan mengandung 10% protein.

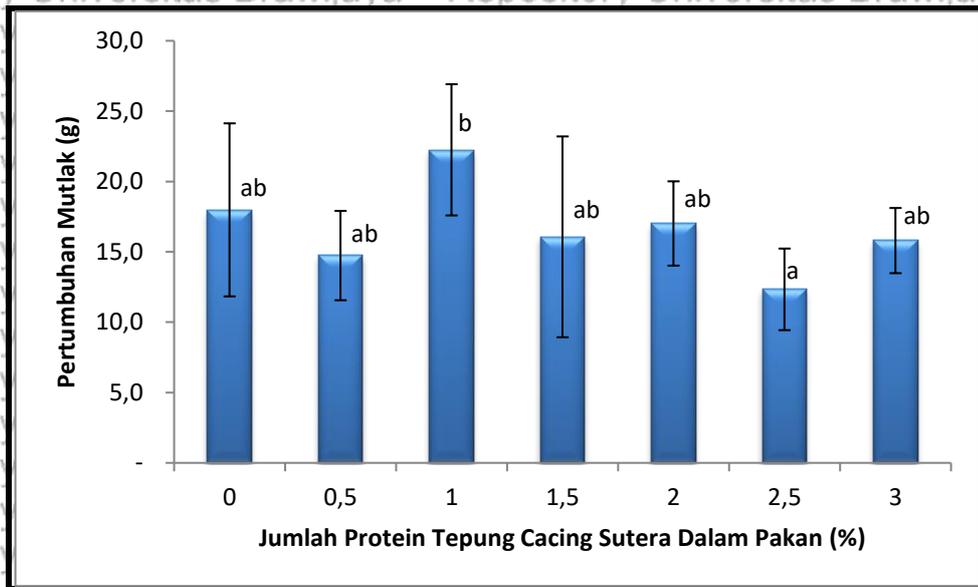
Hal ini didasarkan pada hasil eksperimen 1 dimana dosis protein 10% memberikan pertumbuhan terbaik bagi teripang pasir sehingga dosis ini digunakan untuk memformulasi pakan uji yang digunakan pada eksperimen 2. Dari dosis 10% protein tersebut disubstitusikan cacing sutera dengan persentase 0%:1,0%, 0,5%:9,5%, 1,0%:9,0%, 1,5%:8,5%, 2,0%:8,0%, 2,5%:7,5% dan 3,0%:7,0%. Pemberian pakan uji dilakukan sekali sehari selama 6 minggu dan diakhir eksperimen dihitung respons pertumbuhannya.

Respons pertumbuhan yang dihasilkan dari penggunaan pakan berbasis tepung cacing sutera dapat dilihat pada Tabel 12. Rata-rata pertumbuhan mutlak teripang pasir yang diberi pakan berbahan tepung cacing sutera berkisar antara 12,33 - 22,25 g (Gambar 19). Pertumbuhan mutlak tertinggi dihasilkan oleh teripang pasir yang diberi pakan 1% tepung cacing sutera. Secara statistik pertumbuhan yang dihasilkan oleh pakan 1,0% tepung cacing sutera tidak berbeda dengan pertumbuhan yang dihasilkan oleh pakan berbahan tepung

Tabel 1. Respons pertumbuhan teripang pasir pada uji pemberian pakan berbahan dasar cacing sutera.

Parameter	Persentase Tepung Cacing Sutera Dalam Pakan						
	0%	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%	2,5%	3,0%
Berat awal (g)	24,15±1,48	23,35±1,94	22,98±1,60	23,2±1,52	22,67±2,32	23,28±1,41	23,93±1,50
Berat akhir (g)	42,13±6,88	38,08±4,13	45,23±6,03	39,27±7,81	39,68±5,27	35,62±3,32	39,73±3,48
Pakan konsumsi (g)	41,74±5,67	40,59±4,67	44,95±4,75	41,76±5,97	40,28±6,34	39,89±5,06	42,71±3,29
Kelulushidupan (%)	100	100	100	100	100	100	100
Pertumbuhan mutlak (g)	17,98±6,15 <sup>ab</sup>	14,73±3,17 <sup>ab</sup>	22,25±4,66 <sup>b</sup>	16,07±7,14 <sup>ab</sup>	17,02±3,00 <sup>ab</sup>	12,33±2,90 <sup>a</sup>	15,80±2,32 <sup>ab</sup>
FCR	2,62±0,47 <sup>bc</sup>	2,81±0,32 <sup>abc</sup>	2,06±0,26 <sup>d</sup>	3,11±0,78 <sup>ab</sup>	2,40±0,36 <sup>cd</sup>	3,30±0,41 <sup>a</sup>	2,73±0,23 <sup>bc</sup>
PER	0,04±0,01 <sup>bc</sup>	0,04±0,00 <sup>cd</sup>	0,05±0,01 <sup>a</sup>	0,03±0,01 <sup>cd</sup>	0,04±0,01 <sup>b</sup>	0,03±0,00 <sup>d</sup>	0,04±0,00 <sup>bcd</sup>
Plasma IGF-1 (ng.mL <sup>-1</sup> )	15,40±0,14 <sup>bc</sup>	10,65±0,21 <sup>b</sup>	3,10±0,14 <sup>a</sup>	15,35±0,07 <sup>bc</sup>	13,68±2,23 <sup>bc</sup>	20,20±0,13 <sup>c</sup>	11,86±4,39 <sup>b</sup>
Dinding Tubuh IGF-1 (ng.mL <sup>-1</sup> )	10,55±4,46 <sup>bc</sup>	9,23±1,84 <sup>b</sup>	4,66±0,28 <sup>a</sup>	8,04±1,22 <sup>bc</sup>	7,80±5,18 <sup>bc</sup>	11,88±1,44 <sup>c</sup>	10,04±1,82 <sup>b</sup>

Keterangan: Notasi yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan, sedangkan notasi yang berbeda menunjukkan ada perbedaan antar perlakuan pada taraf kepercayaan 95%.



**Gambar 19.** Pertumbuhan rata-rata teripang pasir yang diberi pakan berbahan tepung cacing sutera selama penelitian.

cacing sutera lainnya kecuali dengan kelompok 2,5% pakan berbahan tepung cacing sutera.

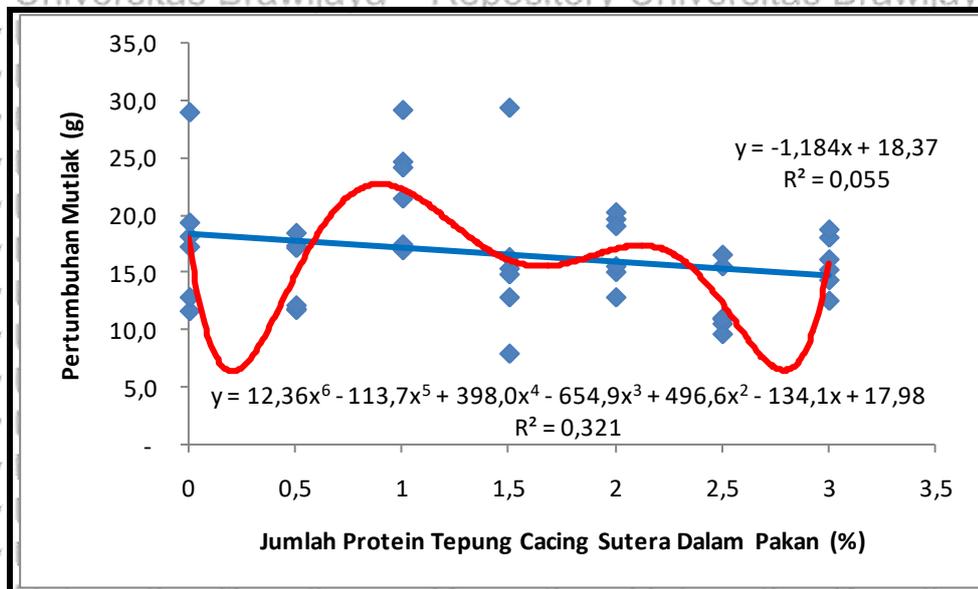
Pertumbuhan terendah dialami oleh kelompok teripang pasir yang diberi pakan 2,5% tepung cacing sutera. Pertumbuhan pada kelompok teripang 2,5% tepung cacing sutera secara statistik tidak berbeda dengan semua kelompok perlakuan pakan lainnya kecuali dengan kelompok teripang pasir yang diberi 1% tepung cacing sutera dalam pakannya.

Hasil eksperimen 2 memperlihatkan bahwa persentase substitusi 1,0% cacing sutera dalam pakan telah cukup untuk meningkatkan pertumbuhan teripang. Peningkatan persentase tepung cacing sutera selanjutnya (1,5-2,5% cacing sutera dalam pakan) tidak meningkatkan pertumbuhan teripang.

Persentase tertinggi penggunaan tepung cacing sutera dalam pakan yang digunakan dalam eksperimen 2 yaitu 3,0% cacing sutera mampu meningkatkan pertumbuhan teripang pasir namun tidak melebihi hasil yang diperoleh dengan menggunakan 1,0% cacing sutera.



Hasil pengujian pengaruh persentase tepung cacing sutera dalam pakan terhadap pertumbuhan teripang pasir memperlihatkan model polynomial pangkat 6 dengan persamaan  $y = 12,36x^6 - 113,7x^5 + 398,0x^4 - 654,9x^3 + 496,6x^2 - 134,1x + 17,98$  (Gambar 20). Model polynomial pangkat 6 ini menghasilkan koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang lebih besar dibandingkan model linier dan dianggap merupakan model yang lebih baik dalam menggambarkan pengaruh pemberian pakan berbahan tepung cacing sutera terhadap pertumbuhan teripang pasir.



**Gambar 20.** Hubungan antara jumlah tepung cacing sutera dalam pakan formula (%) terhadap pertumbuhan mutlak teripang pasir

Koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,3216 menunjukkan sebesar 32,16% keragaman pertumbuhan teripang dijelaskan oleh pemberian pakan berbahan tepung cacing sutera. Koefisien korelasi sebesar 0,5671 menunjukkan hubungan yang kuat antara tepung cacing sutera dalam pakan terhadap pertumbuhan teripang pasir. Korelasi yang dihasilkan memperlihatkan terjadinya fluktuasi pada pertumbuhan teripang pasir.

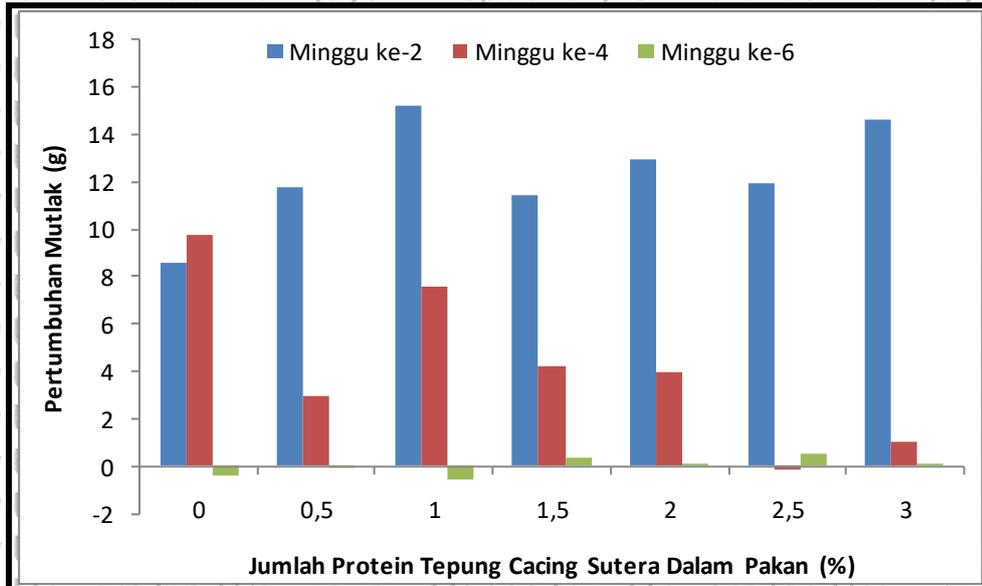


Pertumbuhan teripang pasir meningkat pada persentase tepung cacing sutera sebesar kurang lebih 0,25%, 1,6% dan 2,8%. Pertumbuhan teripang pasir akan menurun pada persentase tepung cacing sutera dalam pakan sebesar kurang lebih 0%, 0,9% dan 2,25%. Hasil analisis memperlihatkan koefisien determinasi yang diperoleh yang cukup lemah ( $R^2 = 0,321$ ). Hal ini menyebabkan kesulitan dalam memprediksi fluktuasi hubungan pertumbuhan dengan adanya substitusi tepung cacing sutera.

Fluktuasi hubungan pertumbuhan dengan adanya substitusi tepung cacing sutera ini diyakini berhubungan dengan keunikan teripang pasir dalam memanfaatkan nutrisi yang tersedia. Hal ini tidak mengherankan mengingat cacing sutera memiliki kadar protein yang cukup tinggi dengan kandungan asam amino yang lengkap baik asam amino esensial maupun non esensial (Tabel 18).

Penggunaan cacing sutera didasarkan atas asumsi bahwa cacing sutera dapat meningkatkan pertumbuhan teripang pasir yang akan dideteksi melalui penggunaan IGF-1. Pakan berbasis cacing sutera ini memiliki dosis protein yang cukup rendah namun diyakini cukup berkualitas. Pakan uji ini mengandung berbagai nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan seperti protein, lemak dan karbohidrat dengan komposisi yang diyakini mendukung pertumbuhan teripang pasir seperti yang diperoleh pada eksperimen 1 (Tabel 3).

Pola pertumbuhan teripang pasir dengan adanya substitusi tepung cacing sutera dalam pakan ditampilkan pada Gambar 21. Gambar 21 memperlihatkan bahwa teripang pasir pada semua perlakuan pakan mengalami pertumbuhan mutlak terbesar pada 2 minggu pertama. Pertumbuhan pada 2 minggu pertama menghasilkan penambahan berat yang berkisar antara 8-15 g. Pertambahan bobot terendah pada 2 minggu pertama diperlihatkan oleh teripang pasir yang diiberi hanya tepung ikan sedangkan penambahan bobot tertinggi dialami oleh teripang yang diberi substitusi tepung cacing sutera sebesar 1%.



**Gambar 21.** Pola pertumbuhan mutlak teripang pasir yang diberi pakan berbahan cacing sutera selama penelitian

Pola pertumbuhan teripang uji ini memperlihatkan bahwa memasuki minggu ke-3 dan minggu ke-4 hanya teripang pasir yang diberi 0% tepung cacing sutera yang memiliki pertumbuhan yang meningkat. Kelompok teripang pasir lain yang diberi pakan berbahan tepung cacing sutera masih mengalami pertumbuhan namun penambahan bobot yang dihasilkan lebih rendah dibandingkan penambahan yang dihasilkan pada minggu ke-1 dan ke-2. Pertumbuhan mutlak yang ditunjukkan oleh teripang pasir yang diberi 2,5% tepung cacing sutera bahkan hampir tidak ada dan tidak menghasilkan penambahan bobot. Teripang pasir yang diberi 2,5% tepung cacing sutera diduga mengalami terhentinya pertumbuhan yang terlihat dengan penambahan bobot yang sangat rendah.

Memasuki minggu ke-5 dan ke-6 semua teripang pasir memperlihatkan pertumbuhan yang sangat rendah bahkan beberapa kelompok teripang pasir diyakini mengalami pertumbuhan yang terhenti. Teripang pasir yang diberi 1,5%, 2%, 2,5% dan 3% tepung cacing sutera merupakan kelompok yang tetap mengalami pertumbuhan pada minggu ke-6 meskipun sangat kecil. Teripang



pasir yang diberi 2,5% merupakan kelompok yang mengalami pertumbuhan terbesar pada minggu ke-5 dan ke-6. Teripang pasir yang diberi 1% tepung cacing sutera mengalami pertumbuhan negatif tertinggi.

Pola pertumbuhan teripang pasir pada eksperimen 2 terlihat berbeda dengan pola pertumbuhan teripang pasir pada eksperimen 1. Membandingkan pola pertumbuhan teripang pada eksperimen 1 dan 2 (Gambar 15 dan Gambar 21) terlihat bahwa melambatnya bahkan terhentinya pertumbuhan teripang pasir pada eksperimen 2 terlihat terjadi lebih cepat dibandingkan dengan pada eksperimen 1. Pada eksperimen 1 pada minggu ke-5 dan ke-6, terlihat teripang pasir masih mengalami pertumbuhan yang cukup besar sedangkan pada eksperimen 2 diduga kuat teripang pasir telah mengalami perlambatan pertumbuhan dan bahkan terhentinya pertumbuhan.

Pola pertumbuhan teripang uji ini diyakini berhubungan dengan kebiasaan teripang pasir di alam. Teripang di alam umumnya hanya mampu memanfaatkan pakan dengan kualitas yang rendah dalam jumlah yang banyak. Pada keadaan nutrisi yang tersedia dalam kualitas yang tinggi maka teripang akan menyesuaikan tingkat konsumsi dan mengatur metabolismenya seperti yang dilaporkan oleh Yuan *et al.* (2006) dan Tsiresy *et al.* (2011) dan telah dibahas pada eksperimen 1.

Pakan uji pada eksperimen 2 mengandung sejumlah tepung cacing sutera. Cacing sutera diketahui mengandung berbagai asam amino baik esensial maupun non esensial yang diperlukan oleh teripang pasir untuk bertumbuh. Substitusi cacing sutera pada pakan formula yang digunakan dalam eksperimen 2 ini diyakini memiliki kualitas yang baik dan mampu memenuhi kebutuhan nutrisi teripang pasir dan menyebabkan teripang pasir menyesuaikan tingkat asimilasi nutrisinya.



Zamora and Jeffs (2012) menjelaskan bahwa teripang *A. mollis* mengatur laju pertumbuhan dengan menyesuaikan tingkat konsumsi dan melalui perubahan asimilasi nutrisi dan efisiensi konversi pakan. Yingst (1976) menyatakan bahwa perubahan-perubahan cara makan dan fisiologi pencernaan tersebut merupakan respons kompensasi yang unik pada hewan-hewan pemakan deposit terhadap perubahan kualitas dan kuantitas pakan.

#### 5.2.4 FCR Dan PER Pakan Berbahan Cacing Sutera

Tinggi rendahnya FCR untuk pakan yang digunakan dalam kegiatan pemeliharaan teripang pasir belum banyak dilaporkan. Rata-rata FCR teripang pasir yang diberi pakan berbahan dasar cacing sutera berkisar antara 2,06-3,30. FCR yang diperoleh pada eksperimen ini lebih baik dibandingkan dengan FCR yang diperoleh pada eksperimen 1 yang berkisar antara 2,0-8,8.

Seperti diketahui pemanfaatan pakan (FCR) dipengaruhi oleh pertumbuhan dimana semakin tinggi tingkat pertumbuhan maka FCR yang dihasilkan juga menjadi semakin baik. FCR tertinggi pada eksperimen ini ditemukan pada kelompok pakan 1,0% tepung cacing sutera yang juga memiliki pertumbuhan mutlak tertinggi. FCR terendah ditemukan pada kelompok pakan 2,5% tepung cacing sutera namun hasil ini tidak berbeda secara statistik dengan FCR kelompok pakan 0,5% dan 1,5% tepung cacing sutera. Kelompok pakan 2,5% tepung cacing sutera memiliki pertumbuhan mutlak yang secara statistik tidak berbeda dengan kelompok teripang pasir yang diberi pakan mengandung 0,5% dan 1,5% tepung cacing sutera. Ketiga kelompok teripang pasir ini (0,5%, 1,5% dan 2,5%) tidak memiliki perbedaan pertumbuhan mutlak yang signifikan menjadikan FCR ketiga kelompok ini juga tidak berbeda.

PER yang diperoleh pada eksperimen 2 berkisar antara 0,03-0,05. Rasio tertinggi ditemukan pada kelompok dengan pertumbuhan tertinggi yang diberi

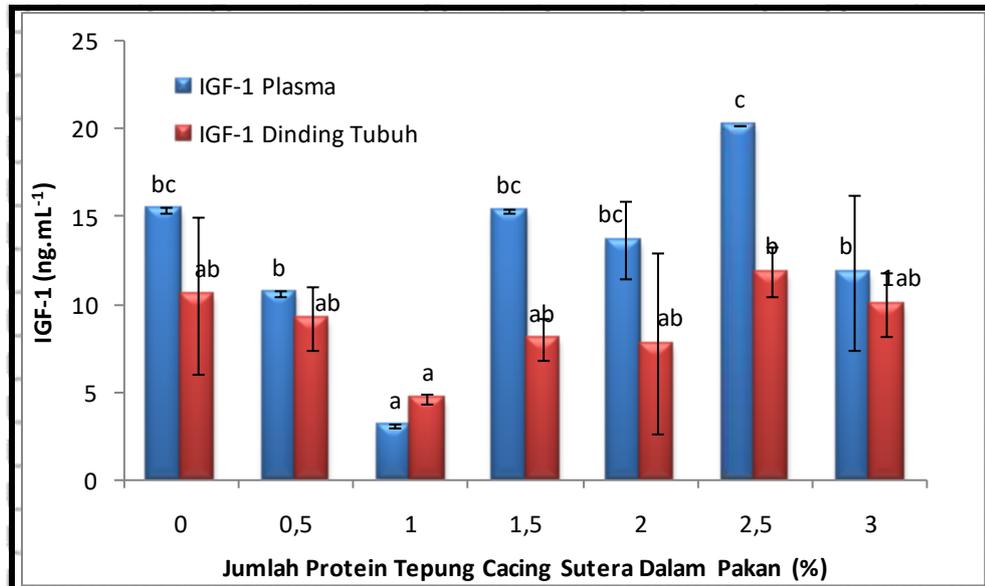


pakan 1,0% tepung cacing sutera. PER kelompok 1,0% ini secara statistik berbeda dengan kelompok perlakuan pakan lainnya. Secara umum indeks PER pada eksperimen 2 lebih baik dibandingkan dengan yang diperoleh pada eksperimen 1 meskipun tidak berbeda secara statistik (Tabel 12).

Merujuk pada Liu *et al.* (2009), Zamora and Jeffs (2012) diyakini bahwa tingginya FCR dan rendahnya PER teripang pasir terutama disebabkan oleh kebiasaan makan teripang pasir dan bukan disebabkan oleh bahan baku pakan.

### 5.2.5 IGF-1 Sebagai Indikator Status Nutrisi Teripang Pasir

Kadar IGF-1 yang diperoleh pada eksperimen 2 berturut-turut berkisar antara 3,10-20,20 ng.mL<sup>-1</sup> untuk plasma dan 4,66-11,88 ng.mL<sup>-1</sup> untuk dinding tubuh seperti yang ditampilkan pada Gambar 22. Produksi IGF-1 plasma yang diperoleh pada eksperimen 2 jauh lebih rendah dibandingkan produksi IGF-1 plasma pada eksperimen 1 yang berkisar 14,1-32,6 ng.mL<sup>-1</sup>.



Gambar 22. Kadar IGF-1 teripang pasir yang diberi pakan berbahan tepung cacing sutera.



Produksi IGF-1 plasma dan IGF-1 dinding tubuh tertinggi pada eksperimen 2 memperlihatkan pola yang sama. Produksi IGF-1 tertinggi dihasilkan oleh teripang pasir yang diberi 2,5% tepung cacing sutera dan terendah ditemukan pada teripang pasir yang diberi 1,0% tepung cacing sutera. Substitusi tepung cacing sutera hingga 3,0% tidak meningkatkan produksi IGF-1 plasma maupun IGF-1 dinding tubuh melebihi produksi IGF-1 yang diproduksi teripang yang diberi 2,5% tepung cacing sutera.

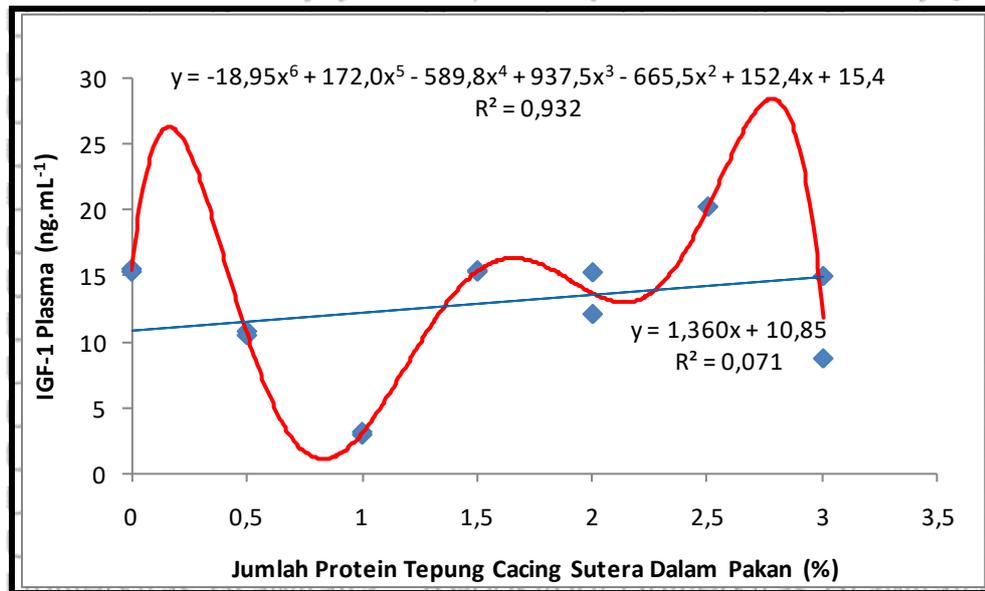
Hasil pengujian pengaruh persentase tepung cacing sutera dalam pakan terhadap produksi IGF-1 plasma dan IGF-1 dinding tubuh berturut-turut ditampilkan pada Gambar 23 dan 24. Gambar 23 memperlihatkan hubungan antara dosis protein tepung cacing sutera dalam pakan dengan produksi IGF-1 plasma, teripang pasir memiliki model polynomial pangkat 6 dengan persamaan  $y = -18,95x^6 + 172,0x^5 - 589,8x^4 + 937,5x^3 - 665,5x^2 + 152,4x + 15,4$ . Koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang dihasilkan sebesar 0,9325 yang menunjukkan sebesar 93,25% keragaman produksi IGF-1 plasma dijelaskan oleh pemberian pakan berbahan tepung cacing sutera. Koefisien korelasi sebesar 0,9657 menunjukkan adanya hubungan yang sangat kuat antara pemberian pakan berbahan cacing sutera terhadap pertumbuhan teripang pasir.

Produksi IGF-1 plasma terlihat berfluktuasi dengan adanya pemberian pakan berbahan tepung cacing sutera. Produksi IGF-1 plasma akan meningkat pada pemberian pakan dengan persentase 0%, 0,8% dan 2,3% tepung cacing sutera. Produksi IGF-1 plasma akan menurun pada pemberian pakan dengan persentase 0,3%, 1,7% dan 2,8% tepung cacing sutera.

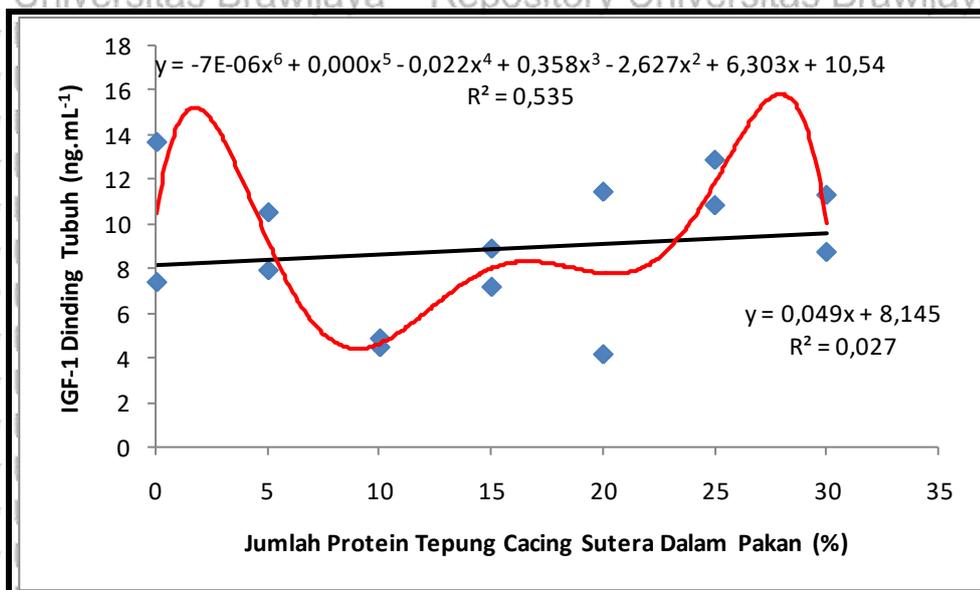
Gambar 24 memperlihatkan hubungan antara pemberian pakan berbahan tepung cacing sutera dengan produksi IGF-1 dinding tubuh yang memiliki model polynomial pangkat 6 dengan persamaan  $y = -7E-06x^6 + 0,000x^5 - 0,022x^4 + 0,358x^3 - 2,627x^2 + 6,303x + 10,54$ . Model ini dianggap yang terbaik untuk



menggambarkan pengaruh pemberian pakan berbahan cacing sutera terhadap sintesis IGF-1 dinding tubuh teripang pasir karena menghasilkan koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang besar.



Gambar 23. Hubungan antara jumlah protein tepung cacing sutera dalam pakan formula (%) terhadap produksi IGF-1 plasma teripang pasir.



Gambar 24. Hubungan antara jumlah protein tepung cacing sutera dalam pakan formula (%) terhadap produksi IGF-1 dinding tubuh teripang pasir.



Koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,535 menunjukkan sebesar 53,5% keragaman produksi IGF-1 dinding tubuh dijelaskan oleh pemberian pakan berbahan tepung cacing sutera. Koefisien korelasi sebesar 0,8118 menunjukkan terjadinya hubungan yang sangat kuat antara pemberian pakan berbahan cacing sutera terhadap pertumbuhan teripang pasir. Produksi IGF-1 dinding tubuh yang dihasilkan diprediksi berfluktuasi yang diyakini berhubungan dengan keunikan pola makan teripang pasir.

Koefisien determinasi antara dosis protein tepung cacing sutera dalam pakan dengan sintesis IGF-1 terlihat cukup kuat pada dinding tubuh ( $R^2 = 0,535$ ) dan bahkan sangat kuat pada plasma ( $R^2 = 0,932$ ). Nilai ini mirip dengan koefisien determinasi yang dilaporkan untuk ikan barramundi ( $R^2 = 0,5905$ ) maupun Atlantic salmon ( $R^2 = 0,667$ ) (Dyer *et al.*, 2004). Koefisien determinasi ini memperlihatkan bahwa protein yang berasal dari tepung cacing sutera memiliki pengaruh yang kuat terhadap sirkulasi IGF-1 teripang pasir.

Teripang pasir yang diberi cacing sutera 1,0% memperlihatkan kadar plasma IGF-1 yang sangat rendah bahkan jauh lebih rendah dari plasma IGF-1 teripang pasir yang dipuasakan pada eksperimen 1 ( $14,1 \text{ ng.mL}^{-1}$ ). Hal ini diyakini dengan kualitas yang baik dari cacing sutera seperti komposisi asam amino yang cukup lengkap sehingga dalam kurun waktu kurang dari 6 minggu mampu mencukupi kebutuhan teripang pasir. Diduga telah terpenuhinya kebutuhan nutrisi ini menyebabkan teripang uji pada eksperimen 2 melakukan adaptasi terhadap nutrisi dengan menekan sintesis IGF-1 yang berimbas pada penurunan pertumbuhan.

Dengan menggunakan IGF-1 sebagai indikator status nutrisi maka cacing sutera diyakini cukup berpotensi sebagai sumber protein bagi teripang pasir.

Berdasarkan hasil ini maka substitusi cacing sutera dalam pakan maksimal adalah 2,5% dari total protein 10% protein dibutuhkan untuk mendukung



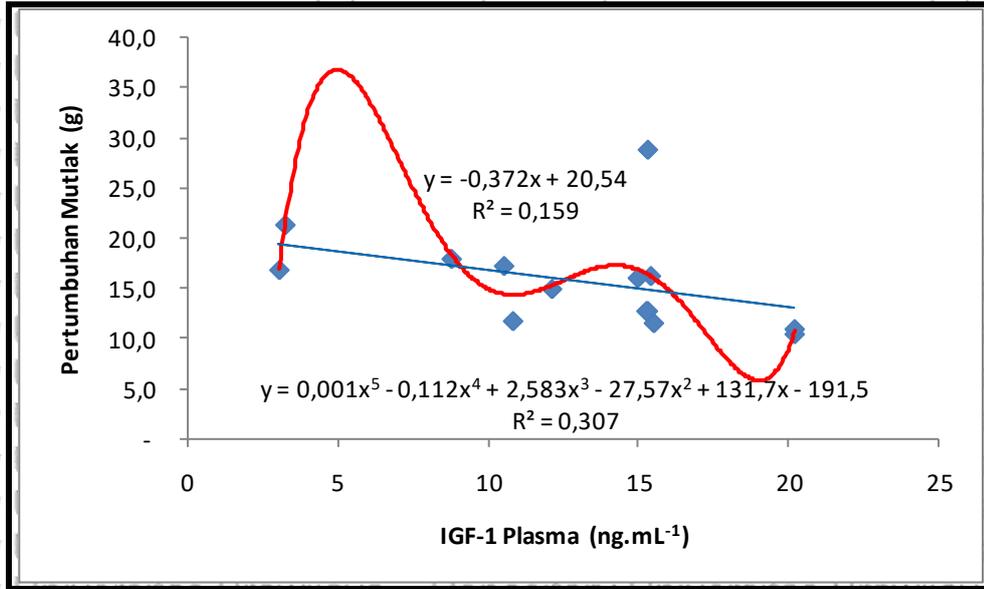
pertumbuhan teripang pasir dengan substitusi sebesar 1% tepung cacing sutera menghasilkan pertumbuhan terbaik. Peningkatan jumlah cacing sutera dalam pakan tidak memberikan kontribusi yang lebih.

### 5.2.6. IGF-1 Sebagai Indikator Pertumbuhan Teripang Pasir

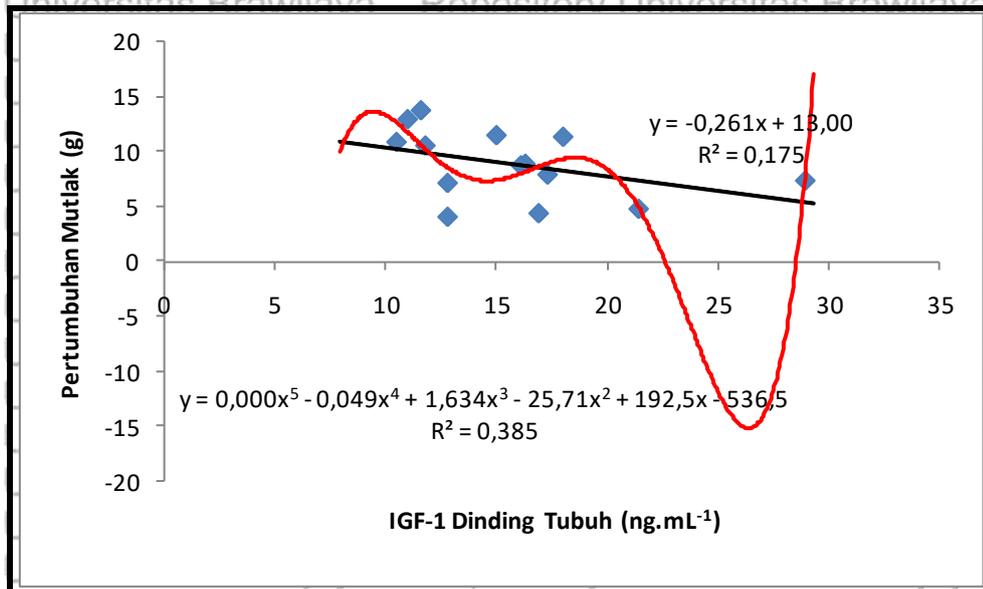
Plasma IGF-1 telah banyak dilaporkan sebagai indikator pertumbuhan berbagai hewan vertebrata. Pada eksperimen 1 IGF-1 plasma maupun IGF-1 dinding tubuh teripang pasir juga memperlihatkan pola yang serupa dengan publikasi lainnya yaitu bahwa pertumbuhan teripang pasir yang tinggi ditandai dengan peningkatan IGF-1 baik plasma maupun dinding tubuh.

Hasil eksperimen 2 menunjukkan hasil yang berbeda dengan publikasi lainnya maupun dengan hasil eksperimen 1. Pertumbuhan mutlak tertinggi pada eksperimen ini ditemukan pada teripang pasir yang diberi pakan 1,0% cacing sutera namun rata-rata plasma dan dinding tubuh IGF-1 yang dihasilkan adalah yang terendah (Tabel 12). Kadar plasma IGF-1 teripang pasir yang diberi 1,0% cacing sutera ini jauh lebih rendah daripada kadar plasma IGF-1 teripang yang dipasakan (0% protein) pada eksperimen 1. Kadar plasma dan dinding tubuh IGF-1 tertinggi dihasilkan oleh teripang yang diberi 2,5% cacing sutera yang memiliki pertumbuhan mutlak terendah pada eksperimen 2.

Hubungan antara produksi IGF-1 plasma terhadap pertumbuhan mutlak teripang pasir menghasilkan model kubik dengan persamaan  $y = 0,001x^5 - 0,112x^4 + 2,583x^3 - 27,57x^2 + 131,7x - 191,5$  dan koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,307 (Gambar 25). Hal ini menunjukkan hanya sebesar 30,7% keragaman pertumbuhan teripang dapat dijelaskan oleh produksi IGF-1 plasma. Koefisien korelasi yang diperoleh adalah sebesar 0,5547 yang menunjukkan adanya hubungan yang cukup kuat antara sintesis IGF-1 plasma dengan pertumbuhan mutlak.



**Gambar 25.** Hubungan antara IGF-1 plasma terhadap pertumbuhan mutlak teripang pasir yang diberi pakan formula berbahan tepung cacing sutera.



**Gambar 26.** Hubungan antara IGF-1 dinding tubuh terhadap pertumbuhan mutlak teripang pasir yang diberi pakan formula berbahan tepung cacing sutera.

Hubungan antara produksi IGF-1 dinding tubuh terhadap pertumbuhan mutlak teripang pasir juga menghasilkan model kubik dengan persamaan

$$y = 0,000x^5 - 0,049x^4 + 1,634x^3 - 25,71x^2 + 192,5x - 536,5 \text{ dengan koefisien}$$



determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,385 seperti yang ditampilkan pada Gambar 26. Hal ini menunjukkan sebesar 38,5% keragaman pertumbuhan teripang dapat dijelaskan oleh produksi IGF-1 dinding tubuh. Nilai  $R^2$  yang rendah ini menyebabkan model ini tidak dapat digunakan untuk memprediksi pertumbuhan yang dapat dihasilkan. Koefisien korelasi yang diperoleh adalah sebesar 0,7274 yang menunjukkan adanya hubungan yang cukup kuat antara sintesis IGF-1 plasma dengan pertumbuhan mutlak.

Hasil eksperimen 2 ini sepiantas memperlihatkan hasil yang berbeda dengan berbagai hasil penelitian yang menyatakan adanya korelasi linier dan positif antara pertumbuhan mutlak dan kadar IGF-1 dimana peningkatan pertumbuhan organisme dicirikan dengan peningkatan kadar IGF-1. Sirkulasi IGF-1 yang tinggi merupakan karakteristik pertumbuhan yang tinggi. Untuk menjawab perbedaan ini maka pola pertumbuhan teripang pasir perlu dicermati.

Pola pertumbuhan teripang pasir pada eksperimen 2 dapat dilihat pada Gambar 21 yang telah ditampilkan pada halaman sebelumnya. Gambar 21 memperlihatkan bahwa selama 2 minggu pertama teripang tumbuh dengan pesat. Memasuki minggu 3-4 pertumbuhan teripang pasir menurun tajam kecuali untuk kelompok teripang yang diberi pakan 0% tepung cacing sutera. Penurunan pertumbuhan bahkan terus berlanjut hingga pada minggu ke-5 dan 6 bahkan beberapa kelompok teripang pasir terlihat mengalami pertumbuhan negatif. Diduga selama 4 minggu pertama teripang pasir yang diambil langsung dari alam dan dipuasakan selama sehari sebelum eksperimen ini dimulai, mampu memanfaatkan pakan yang ada tetapi setelah itu kemampuannya memanfaatkan nutrisi yang tersedia mulai mengalami penyesuaian dengan kualitas dan kuantitas pakan yang tersedia sehingga pertumbuhannya menurun.

Hal ini menandakan tidak terjadi peningkatan pertumbuhan pada 2 minggu terakhir dan terindikasi penurunan bahkan terhentinya laju pertumbuhan teripang



pasir. Pola pertumbuhan yang terindikasi menurun dibandingkan minggu-minggu sebelumnya diyakini dipicu oleh adaptasi teripang pasir terhadap nutrisi yang tersedia seperti yang dikemukakan oleh Yingst (1976). Adaptasi pakan dan metabolisme teripang pasir ini diduga menjadi penyebab melambatnya bahkan terhentinya pertumbuhan seperti yang dikemukakan oleh Yuan *et al.*, 2006; Tsiresy *et al.*, 2011; Zamora and Jeffs, 2012. Pertumbuhan yang melambat bahkan terhenti ini diindikasikan dengan menurunnya kadar IGF-1 teripang pasir seperti yang dipublikasikan antara lain oleh Dyer *et al.* (2004)

Berdasarkan pola pertumbuhan ini maka sebenarnya hasil eksperimen 2 ini sejalan dengan publikasi lainnya. Adanya perlambatan pertumbuhan maupun pertumbuhan yang negatif dapat dideteksi melalui penurunan kadar IGF-1 baik pada plasma maupun dinding tubuh. Hal ini membuktikan bahwa kadar IGF-1 sangat sensitif terhadap penambahan bobot atau pertumbuhan mutlak.

Pengukuran kadar IGF-1 dan korelasinya dengan pertumbuhan tampaknya lebih akurat untuk waktu yang singkat dibandingkan dengan pengukuran untuk jangka panjang. Hal ini sejalan dengan Dyer *et al.* (2004) yang menyatakan pengukuran IGF-1 dan korelasinya dengan penambahan bobot untuk waktu singkat lebih akurat.

Berapakah rentang waktu untuk dapat melakukan pengambilan sampel cairan coelomic teripang pasir untuk diukur kadar IGF-1 masih perlu diuji. Dikhawatirkan bila periode pengambilan cairan coelomic yang terlalu dekat akan menyebabkan teripang stress bahkan mengalami *eviscerated* atau pengeluaran organ dalam tubuhnya. Pengamatan selama eksperimen diketahui pengeluaran organ dalam tubuh tidak selalu menyebabkan kematian teripang tetapi akan mengakibatkan terjadinya perlambatan pertumbuhan.

Pada penelitian dengan ikan, Dyer *et al.* (2004) menduga waktu 2 minggu cukup untuk dapat memberikan hasil yang akurat. Hasil penelitian dengan ikan



tampaknya berbeda dengan teripang pasir. Hasil eksperimen 1 dan 2 mengisyaratkan waktu pengambilan cairan coelomic untuk pengujian kadar IGF-1 akan sangat dipengaruhi oleh kualitas pakan. Pakan dengan kualitas yang tinggi terbukti lebih cepat meningkatkan produksi IGF-1 baik IGF-1 plasma maupun dinding tubuh yang berujung peningkatan pertumbuhan. Pada teripang pasir, pertumbuhan yang tinggi terjadi hanya dalam beberapa waktu karena dengan cepat akan diadaptasikan melalui kebiasaan makan dan adaptasi asimilasi nutrisi di dalam tubuh yang berujung pada perlambatan pertumbuhan.

Hasil eksperimen 1 dan 2 mengindikasikan bahwa pertumbuhan teripang pasir memang lambat. Berdasarkan eksperimen 1 dan 2 terlihat bahwa teripang pasir yang mencapai pertumbuhan mutlak yang tinggi cenderung memperlambat laju pertumbuhannya. Hal ini juga tercermin pada konsentrasi IGF-1 yang dihasilkan. Teripang pasir dengan penambahan bobot yang tinggi memperlihatkan penurunan produksi IGF-1 plasma maupun IGF-1 dinding tubuh.

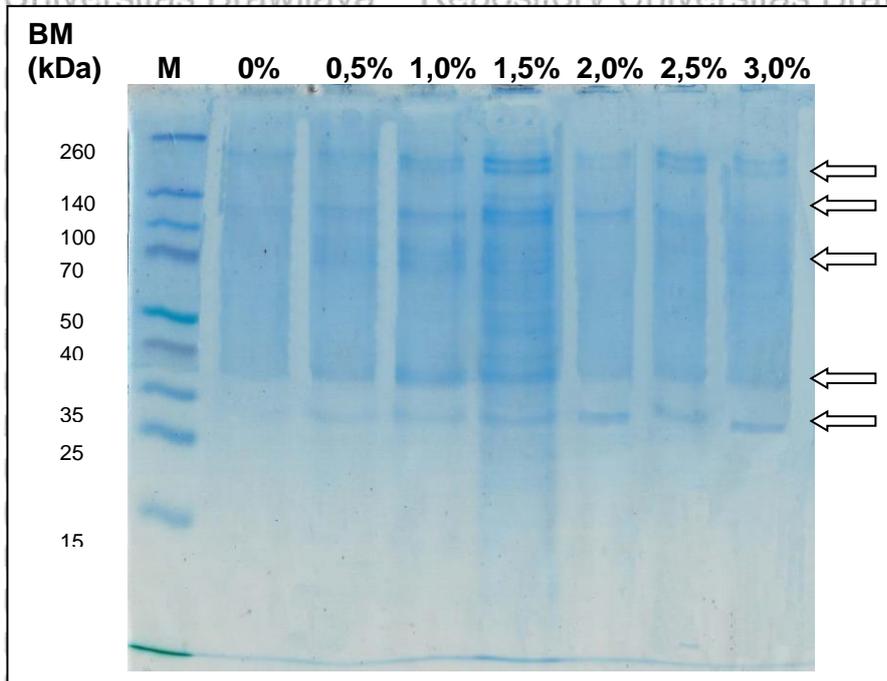
Diduga rata-rata konsentrasi plasma IGF-1 teripang pasir tertinggi sekitar 36,3 ng.mL<sup>-1</sup> dan bila konsentrasi tersebut telah tercapai akibat adanya peningkatan pertumbuhan maka diduga teripang pasir akan menyesuaikan cara makan dan proses metabolisme tubuhnya. Penurunan kadar IGF-1 diyakini merupakan respons teripang pasir untuk mempertahankan metabolismenya.

Hasil eksperimen ini membuktikan bahwa pertumbuhan teripang pasir dipengaruhi oleh IGF-1. Pertumbuhan teripang pasir yang sedang berlangsung ditandai dengan tingginya sintesis IGF-1. Hal ini membuktikan bahwa IGF-1 sangat sensitif terhadap pertumbuhan sehingga berpotensi sebagai penanda pertumbuhan teripang pasir.



### 5.2.7. Profil Protein Terpapang Pasir

Hasil separasi cairan coelomic terpapang pasir yang diberi pakan berbahan tepung cacing sutera dengan menggunakan SDS-PAGE ditunjukkan pada Gambar 27. Hasil estimasi berat molekul dari pita protein pada setiap sampel plasma coelomic ditampilkan pada Tabel 13. Sedikitnya ada 5 pita protein dengan berat molekul berkisar antara 28,3 - 161,7 kDa yang berhasil diseparasi dari plasma coelomic terpapang pasir. Plasma terpapang pasir yang diberi pakan berbahan baku cacing sutera 0% dan 2,0% memunculkan hanya 4 pita protein dan tidak memunculkan 1 pita protein dengan berat molekul 83,3 kDa. Tidak diketahui mengapa pita protein 83,3 kDa tidak muncul pada kedua perlakuan pakan tersebut.



**Gambar 27.** Profil protein plasma darah terpapang pasir yang diberi pakan berbahan cacing sutera  
 Keterangan: BM (kDa) = Berat molekul (kDa),  
 M= Marker  
 0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30% = dosis cacing sutera

Hasil SDS PAGE plasma IGF-1 antara eksperimen 1 dan 2 (Tabel 7 dan 13)

terlihat perbedaan dalam jumlah maupun berat molekul pita protein yang muncul.

Pada eksperimen 1 memunculkan 7 pita protein sedangkan eksperimen 2 hanya memunculkan 5 pita protein. Ada 4 pita protein yang sama-sama muncul pada

kedua eksperimen yaitu pita protein dengan berat molekul 161 kDa, 83 kDa, 38 kDa dan 28 kDa. Ada 2 pita protein yang tidak muncul pada eksperimen 2

namun terdapat pada eksperimen 1 yaitu 149 kDa dan 49,8 kDa. Sementara pita protein 101 kDa hanya muncul pada eksperimen 1 dan pita protein dengan berat

118 hanya muncul pada eksperimen 2.

**Tabel 13.** Deskripsi berat molekul fraksi-fraksi protein plasma darah teripang pasir yang diberi pakan berbahan cacing sutera berdasarkan migrasi protein pada SDS PAGE 12%

Berat Molekul (kDa)	Perlakuan						
	0%	5%	10%	15%	20%	25%	30%
161,7	√	√	√	√	√	√	√
118,4	√	√	√	√	√	√	√
83,3	√	√	√	√	√	√	√
38,6	√	√	√	√	√	√	√
28,3	√	√	√	√	√	√	√

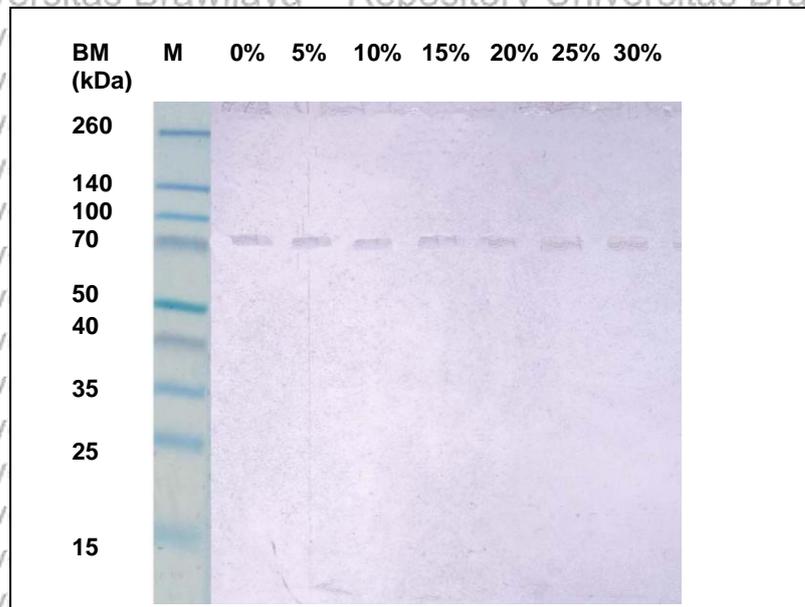
Perbedaan hasil SDS PAGE plasma antara kedua eksperimen ini diduga

berhubungan dengan pertumbuhan dan sintesis IGF-1. Diketahui bahwa IGF-1 berperan penting dalam proses pertumbuhan namun keberadaan IGF-1 dalam plasma bisa terdapat dalam bentuk yang berbeda. IGF-1 bisa terdapat dalam bentuk ternary complex, atau binary complex maupun IGF-1 bebas.

Hasil deteksi komponen IGF-1 dengan menggunakan Western Blot dapat dilihat pada Gambar 28. Hasil uji Western Blot menunjukkan hanya ada satu komponen IGF-1 saja yang terdeteksi pada plasma teripang pasir yang diberi pakan berbahan cacing sutera ini. Adapun komponen tersebut memiliki berat



molekul sekitar 70-100 kDa yang diduga merupakan kelompok IGF binding protein (IGFBP).



**Gambar 28.** Hasil uji Western Blot plasma darah teripang pasir yang diberi pakan berbahan cacing sutera

Keterangan: BM (kDa) = Berat molekul (kDa),

M= Marker

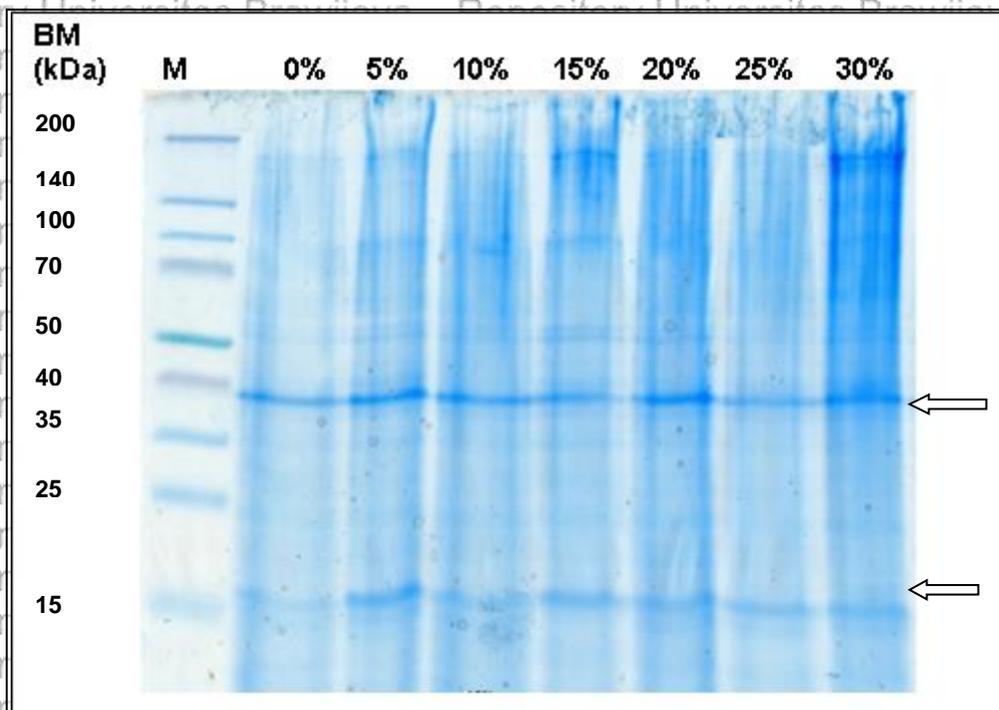
0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30% = dosis cacing sutera

IGF-1 ternary complex terdiri dari IGF-1, IGFBP-3 (IGF binding protein-3 dengan berat molekul antara 46-53 kDa) dan non IGF-1 binding glycoprotein atau Acid Labile Unit (ALS dengan berat molekul sekitar 88 kDa). IGF-1 dapat juga berada dalam bentuk permeable binary complex IGF-1 yang terdiri dari IGF-1 dan IGF binding protein. IGF-1 ternary complex merupakan pool IGF-1 dimana IGF-1 yang tersintesis tidak langsung didistribusikan ke sel target melainkan disimpan sementara waktu dan baru dilepaskan bila dibutuhkan sebagai IGF-1 bebas atau permeable binary complex dengan IGFBP3 (Duan, 1997).

Hasil western blot plasma teripang pasir pada eksperimen 1 memperlihatkan adanya 3 komponen IGF-1 (Gambar 17) sedangkan hasil western blot pada



eksperimen 2 (Gambar 28) memperlihatkan hanya ada 1 komponen IGF-1. IGF-1 diketahui meregulasi pertumbuhan organisme. Berdasarkan data pola pertumbuhan teripang pasir yang diberi pakan berbahan cacing sutera (Gambar 21) diyakini telah terjadi perlambatan pertumbuhan yang diakibatkan oleh adaptasi metabolisme teripang. Hal ini menyebabkan turunnya produksi IGF-1 yang dapat saja memicu respons yang berbeda akibat perbedaan kebutuhan sel seperti yang dikemukakan oleh Laron (2001). Hal ini diduga menyebabkan hanya terdapat 1 komponen IGF-1 seperti yang ditunjukkan pada hasil western blot eksperimen 2.



**Gambar 29.** Profil protein dinding tubuh teripang pasir yang diberi pakan berbahan cacing sutera

Keterangan: BM (kDa) = Berat molekul (kDa),

M= Marker

0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30% = dosis cacing sutera

Separasi dengan SDS PAGE pada isolat protein dinding tubuh teripang pasir yang diberi pakan berbahan tepung cacing sutera memunculkan hanya ada 2 pita protein dengan berat molekul masing-masing 38,6 kDa dan 15 kDa seperti



yang ditampilkan pada Gambar 29 dan Tabel 14. Hasil separasi SDS PAGE ini memperlihatkan tidak adanya perbedaan antara teripang pasir yang diberi pakan hanya tepung ikan sebagai sumber protein dengan teripang pasir yang diberi substitusi cacing sutera dalam pakan.

**Tabel 14.** Deskripsi berat molekul fraksi-fraksi protein dinding tubuh teripang pasir yang diberi pakan berbahan cacing sutera berdasarkan migrasi protein pada SDS PAGE 12%.

Berat Molekul (kDa)	Persentase Tepung Cacing Sutera					
	0%	1%	1%	2%	2%	3%
38,6	↓	↓	↓	↓	↓	↓
15	↓	↓	↓	↓	↓	↓

Membandingkan pemunculan pita protein eksperimen 1 yaitu 4 pita protein (Gambar 18 dan Tabel 8) dan hanya 2 pita protein pada eksperimen 2 (Gambar 29 dan Tabel 14) terlihat bahwa adanya penambahan cacing sutera dalam pakan menyebabkan perubahan protein yang terekspresi. Diduga hal ini terjadi sebagai akibat perlambatan bahkan terhentinya pertumbuhan yang merujuk pada keunikan kebiasaan makan dan pemanfaatan nutrisi teripang pasir dan adanya regulasi IGF-1 sehingga menyebabkan hanya terdapat 2 pita protein yang tersisa dan mendominasi protein dinding tubuh teripang pasir. Perubahan protein yang terekspresi juga telah dilaporkan pada ikan *Sparus aurata* yang diberi pakan dengan sumber protein yang berbeda (Wacyk *et al.*, 2012)

Kedua pita protein yang tersisa yang ditemukan pada dinding tubuh teripang pasir masing-masing memiliki berat molekul 38,6 kDa dan 15 kDa. Kedua pita ini diyakini bukan merupakan ekspresi protein yang disebabkan adanya penambahan protein dari cacing sutera pada pakan. Hal ini disebabkan kedua pita protein ini juga tampak sangat jelas mendominasi hasil SDS PAGE dinding tubuh teripang yang hanya diberi tepung ikan sebagai sumber utama protein



pada eksperimen 1 maupun eksperimen 2. Kedua pita protein ini juga tampak mendominasi dinding tubuh teripang yang tidak diberi pakan maupun teripang yang diambil langsung dari alam (Gambar 18 dan Tabel 8). Bechtel *et al.* (2013) melaporkan dinding tubuh teripang *Parastichopus californicus* hanya terdiri dari beberapa pita protein yang didominasi oleh hanya 1 pita protein dengan berat molekul 183 kDa.

### 5.2.8 Kandungan Proksimat Teripang Pasir Yang Diberi Pakan Berbasis Cacing Sutera

Hasil uji proksimat teripang pasir yang diberi pakan berbeda dosis cacing sutera ditampilkan pada Tabel 15. Kadar protein kasar berkisar antara 29,76-38,64%. Kadar protein tertinggi terdapat pada teripang pasir yang diberi campuran 1,0% tepung cacing sutera dan yang terendah pada kelompok teripang pasir yang diberi pakan 0% cacing sutera. Kadar protein kelompok teripang yang diberi 0% tepung cacing sutera (=10% protein) pada eksperimen 2 tidak berbeda dengan teripang yang diberi pakan 10% protein tepung ikan pada eksperimen 1 yaitu sebesar 28,49%.

Kadar protein yang ditemukan pada dinding tubuh teripang yang diberi tepung cacing sutera (0,5-3,0%) menunjukkan kenaikan yang cukup tinggi dibandingkan dengan teripang yang hanya diberi tepung ikan (0% cacing sutera).

Peningkatan kandungan protein terbesar diamati pada kelompok 1,0% diikuti kelompok 3,0% dan 2,0% dimana ketiga kelompok ini memiliki pertumbuhan mutlak tertinggi, FCR terendah dan PER yang tinggi.

Hal ini sejalan dengan berbagai publikasi bahwa pertumbuhan yang tinggi menyebabkan pemanfaatan pakan yang lebih baik dan berimbas pada pemanfaatan protein untuk pertumbuhan menjadi lebih efisien (Li *et al.*, 2006).

Kadar protein yang tinggi yang dihasilkan oleh pertumbuhan yang tinggi

umumnya ditandai dengan peningkatan konsentrasi IGF-1 seperti yang ditemukan pada beberapa species vertebrata seperti ikan (Li et al., 2006).

**Tabel 15.** Hasil analisis proksimat dinding tubuh teripang pasir yang diberi pakan berbahan cacing sutera.

Sampel	Dinding Tubuh Teripang Pasir (%)					
	Air	Protein	Lemak	Abu	Serat Kasar	BETN
0,0%	5,68	29,76	0,24	43,22	0,11	20,99
0,5%	6,62	33,34	0,29	44,90	0,09	14,76
1,0%	6,30	38,64	0,56	44,42	0,04	10,04
1,5%	5,69	34,58	0,35	45,79	0,04	13,55
2,0%	6,51	36,29	0,28	45,90	0,04	10,98
2,5%	6,46	31,58	0,51	48,05	0,03	13,37
3,0%	5,51	36,29	0,58	46,26	0,03	11,33

Keterangan:

Hasil analisis Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya.

\*BETN = 100 – Protein – Lemak – Kadar Abu – Serat Kasar

Tabel 15 memperlihatkan komposisi proksimat dinding tubuh teripang pasir.

Data menunjukkan meskipun teripang yang digunakan dalam uji proksimat ini masih berukuran kecil tetapi telah terlihat mengandung protein yang cukup tinggi.

Protein dalam tubuh dapat berupa cadangan makanan maupun sebagai zat pembangun dan zat pengatur seperti enzim, antibody, hormon dan lain-lain.

Kandungan protein yang tinggi ini menunjukkan bahwa teripang pasir memiliki nilai gizi yang baik.

Merujuk pada hasil separasi dinding tubuh dengan menggunakan SDS PAGE (Gambar 29) terlihat ada 2 pita protein yang tampak jelas yaitu 36-38 kDa dan 15 kDa. Meskipun dalam penelitian ini tidak dilakukan identifikasi kedua pita protein tersebut tetapi hal ini menarik untuk diketahui dimana dinding tubuh teripang yang memiliki kadar protein yang tinggi hanya didominasi oleh 2 pita protein.



Tabel 15 memperlihatkan kandungan lemak kasar teripang pasir yang rendah padahal teripang ini diberi pakan mengandung sejumlah cacing sutera yang memiliki kandungan lemak yang cukup tinggi. Hasil uji proksimat cacing sutera memperlihatkan cacing sutera selain mengandung protein yang tinggi juga mengandung lemak kasar yang tinggi pula. Kandungan lemak yang cukup tinggi ini bahkan dapat menjadi kendala bagi hewan konsumernya. Cacing sutera yang digunakan dalam pakan uji eksperimen 2 mengandung lemak kasar yang mencapai 12,3%. Hasil uji proksimat pakan eksperimen 2 (Tabel 3) menunjukkan kandungan lemak kasar pakan berkisar 8-9%.

Kadar lemak kasar teripang pasir pada eksperimen 2 ini bahkan lebih rendah dibandingkan kandungan lemak teripang pasir yang dihasilkan pada eksperimen 1 (Tabel 9). Hal ini merupakan suatu karakteristik yang baik dan membuktikan teripang pasir sebagai bahan makanan yang sehat dengan kandungan protein yang tinggi namun rendah lemak.

Kadar abu teripang pasir berkisar antara 43-48%. Hasil ini tidak berbeda dengan hasil yang diperoleh pada eksperimen 1. Tingginya kandungan abu

Kadar abu yang tinggi dikarenakan dinding tubuh yang digunakan untuk pakan uji terdiri dari daging dan juga kulit teripang. Kulit teripang merupakan dinding tubuh yang terdiri dari kutikula yang merupakan lapisan pelindung yang ditutupi kapur dan memiliki duri-duri yang adalah butir-butir kapur mikroskopis yang tersebar pada lapisan dermis yang tersusun dari kalsium karbonat (Conand, 1990).

### 5.2.9 Profil Asam Amino Teripang Pasir

Hasil analisa kadar dan jenis asam amino dalam cacing sutera *Tubifex* sp, dinding tubuh teripang baik yang diambil langsung dari alam maupun hasil uji



perlakuan dapat dilihat pada Tabel 16. Tabel 16 menunjukkan cacing sutera mengandung total asam amino yang tinggi mencapai hampir 43% yang terdiri dari berbagai asam amino baik yang tergolong asam amino esensial maupun asam amino non esensial. Lima jenis asam amino cacing sutera yang tertinggi adalah asam glutamat, asam aspartat, leusin, arginin dan alanin.

Jenis asam amino yang terdapat dalam jumlah besar baik pada dinding tubuh teripang yang diambil langsung dari alam, atau teripang yang dipuasakan selama 6 minggu maupun teripang hasil perlakuan pakan berbasis cacing sutera adalah sama. Kandungan 5 jenis asam amino tertinggi pada teripang uji ini berturut-turut dari yang tertinggi adalah asam glutamat, glisin, asam aspartat, alanin dan arginin. Tiga jenis asam amino yang terdapat dalam jumlah terbatas adalah histidin, methionin dan lisin

Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian Chen (2004) meskipun dalam kadar yang berbeda. Perbedaan ini diduga disebabkan perbedaan ukuran dan umur teripang sampel yang digunakan antara penelitian ini dengan Chen (2004). Penelitian ini menggunakan teripang berukuran sekitar 40-50 g yang tergolong sebagai teripang muda sedangkan tidak ada informasi tentang ukuran teripang yang digunakan Chen (2004) namun diduga teripang pasir yang berukuran lebih besar yang tergolong teripang dewasa. Asam amino yang terdapat dalam jumlah terbatas yaitu histidin, sistin dan lisin.

Bechtel *et al.* (2013) juga melaporkan asam glutamat, glisin, asam aspartat dan arginin sebagai asam amino yang terdapat sangat melimpah pada dinding tubuh teripang *Parastichopus californicus*. Asam amino yang terdapat dalam jumlah terbatas yaitu histidin, lisin dan hidroprolin.

Tabel 16 menunjukkan bahwa kandungan asam amino teripang pasir menunjukkan peningkatan sejalan dengan meningkatnya pertumbuhan. Teripang yang tidak diberi pakan memiliki kandungan asam amino yang terendah. Hal ini

**Tabel 16.** Kandungan asam amino cacing sutera *Tubifex* sp dan teripang pasir yang diberi pakan berbahan cacing sutera *Tubifex* sp.

Asam Amino (%b/b)	Cacing Sutera <i>Tubifex</i> sp	Teripang pasir <i>Holothuria scabra</i>								
		Langsung dari alam	Tanpa Pakan (0% Protein)	Persentase Cacing Sutera <i>Tubifex</i> sp Dalam Pakan						
				0%	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%	2,5%	3,0%
Asam Amino Non Esensial										
Asam glutamat	6,51	2,89	2,30	3,05	3,15	4,51	3,42	4,12	4,15	4,13
Glisin	1,93	2,70	2,13	2,34	2,12	3,76	2,28	3,04	3,80	3,81
Asam aspartat	4,69	1,85	1,48	1,85	1,95	2,73	2,06	2,42	2,16	2,16
Alanin	3,38	1,49	1,14	1,53	1,50	2,22	1,66	2,01	2,60	2,63
Serin	2,20	0,68	0,49	0,78	0,73	0,97	0,76	0,92	1,02	1,03
Tirosin	1,42	0,48	0,38	0,50	0,55	0,76	0,58	0,66	0,48	0,46
SubTotal	20,13	10,09	7,92	10,05	10,00	14,95	10,76	13,17	14,21	14,22
Asam Amino Esensial										
Arginin	3,39	1,40	1,13	1,49	1,51	2,18	1,62	1,95	1,35	1,32
Leusin	3,93	0,97	0,77	1,04	1,12	1,54	1,16	1,35	1,28	1,25
Valin	2,80	0,74	0,59	0,77	0,85	1,18	0,89	1,02	1,09	1,07
Isoleusin	2,37	0,66	0,56	0,64	0,72	0,98	0,81	0,84	0,81	0,80
Threonin	2,16	0,56	0,58	0,90	0,89	1,22	0,93	1,10	1,12	1,11
Lisin	3,29	0,55	0,48	0,72	0,77	1,16	0,78	0,92	0,82	0,79
Fenilalanin	2,36	0,55	0,44	0,55	0,65	0,90	0,68	0,75	0,52	0,57
Methionin	1,28	0,22	0,16	0,27	0,27	0,40	0,32	0,37	0,27	0,29
Histidine	1,22	0,08	0,09	0,18	0,20	0,27	0,21	0,23	0,17	0,19
Sub Total	22,80	5,73	4,80	6,56	6,98	9,83	7,40	8,53	7,43	7,39
Total	42,93	15,82	12,72	16,61	16,98	24,78	18,16	21,70	21,64	21,61

Keterangan: Hasil analisis Laboratorium Terpadu Institut Pertanian Bogor



sejalan dengan berbagai publikasi tentang manfaat asam amino, antara lain oleh Halver (1989) yang menyatakan bahwa asam amino yang diperoleh dari pakan akan digunakan untuk membentuk protein baru yang berguna bagi maintenance, pertumbuhan dan reproduksi.

Berbagai penelitian telah menyatakan asam amino berperan penting dalam nutrisi dan metabolisme organisme. Peranan asam amino telah banyak diteliti pada hewan darat namun belum banyak penelitian tentang peranan asam amino pada invertebrata laut. Asam glutamat dan alanin dilaporkan berfungsi meregulasi *food intake* pada beberapa jenis ikan (Kim *et al.*, 2003; Shamushaki *et al.*, 2007). Arginin dilaporkan sebagai asam amino yang sangat penting yaitu sebagai precursor untuk sintesis protein nitric oxide (NO), urea, polyamines, proline, glutamate, creatin dan agmatin pada hewan darat (Wu and Morris, 1998).

Arginin juga berperan dalam meregulasi endokrin dan fungsi reproduksi maupun sebagai ekstra jalur signaling endokrin (Jobgen *et al.*, 2006). Arginin dapat menstimulasi pelepasan berbagai hormon seperti insulin, growth hormone (GH) dan glucagon pada ikan (Mommsen *et al.*, 2001). Tetapi peran arginin bagi organisme akuatik belum diketahui.

Hasil eksperimen ini menunjukkan bahwa asam glutamat dan arginin meningkat tajam pada teripang yang diberi pakan dibandingkan dengan teripang yang tidak diberi pakan. Teripang yang diberi 0% cacing sutera memiliki kadar asam glutamat dan arginin yang rendah dibandingkan dengan teripang yang diberi pakan berbahan cacing sutera. Teripang yang diberi 1,0% tepung cacing sutera memiliki kadar asam glutamat dan arginin yang tertinggi.

Teripang pasir yang diberi substitusi tepung cacing sutera 2,5% memiliki kandungan asam glutamat yang tinggi namun kandungan arginin yang rendah bahkan lebih rendah daripada kandungan arginin teripang di alam. Kelompok teripang yang diberi pakan 2,5% cacing sutera memiliki kadar asam glutamat



yang tertinggi kedua setelah teripang yang diberi 1,0% cacing sutera. Teripang yang diberi 2,5% cacing sutera memiliki pertumbuhan mutlak terendah namun berdasarkan Gambar 21 terlihat kelompok teripang ini masih bertumbuh dan belum mengalami perlambatan pertumbuhan. Hal ini diyakini merupakan sumbangan dari tepung cacing sutera sebagai bahan baku pakan yang memiliki kadar asam glutamat yang tinggi.

Kadar alanin pada teripang yang diberi 2,5% tepung cacing sutera merupakan yang tertinggi kedua setelah teripang yang diberi 3,0% tepung cacing sutera. Alanin dilaporkan dapat memstimulasi feeding respons pada beberapa jenis ikan (Shamushaki *et al.*, 2007). Alanin diyakini juga berperan dalam feeding response kelompok teripang yang diberi 2,5% tepung cacing sutera. Gambar 21 menunjukkan kelompok teripang ini masih dalam masa pertumbuhan yang membutuhkan pasokan nutrisi untuk mendukung pertumbuhannya.

Leusin berperan dalam menstimulasi sintesis protein muscle dan menghambat proteolisis pada mamalia (Nakashima *et al.*, 2007). Sepanjang pengetahuan penulis belum ada publikasi tentang peranan leusin pada teripang pasir. Kandungan leusin tertinggi dihasilkan oleh kelompok teripang pasir yang diberi pakan 1% tepung cacing sutera. Kelompok teripang ini diketahui memiliki pertumbuhan mutlak yang tertinggi kelompok teripang hasil perlakuan pakan. Hasil eksperimen ini memperlihatkan adanya sumbangan dari cacing sutera sebagai bahan baku pakan. Tabel 16 memperlihatkan cacing sutera memiliki kandungan leusin yang tinggi bahkan mencapai 4 kali kandungan leusin teripang pasir di alam.

Glisin merupakan salah satu asam amino yang terdapat melimpah pada teripang pasir. Tabel 16 memperlihatkan bahwa kelompok teripang yang diberi pakan 0% dan 0,5% tepung cacing sutera memiliki kadar glisin yang rendah



bahkan lebih rendah dari kadar glisin teripang di alam. Hal ini diduga diakibatkan rendahnya kadar glisin pada cacing sutera. Kadar glisin teripang pasir meningkat seiring semakin tingginya substitusi tepung cacing sutera dalam pakan.

Secara umum kandungan individu asam amino cacing sutera lebih tinggi dibandingkan kandungan individu asam amino teripang pasir. Bersama tepung ikan yang terkenal seimbang akan asam amino esensial maupun non esensial, tepung cacing sutera memberikan sumbangan yang baik bagi pertumbuhan teripang pasir. Rata-rata kadar asam amino teripang pasir meningkat seiring meningkatnya persentase tepung cacing sutera dalam pakan. Hal ini membuktikan bahwa tepung cacing sutera merupakan sumber protein yang baik. Hasil eksperimen ini menyarankan penggunaan tepung cacing sutera sebagai bahan baku pakan dengan menambahkan glisin untuk dapat memenuhi kebutuhan glisin teripang pasir.

#### 5.2.10. Aplikasi pada usaha budidaya teripang

Substitusi sejumlah tertentu tepung ikan dengan tepung cacing sutera dilakukan sebagai salah satu upaya untuk meningkatkan pertumbuhan teripang pasir yang terkenal sangat lambat. Dalam eksperimen ini telah digunakan substitusi cacing sutera sebesar 0%, 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5% dan 3% dari total 10% protein dalam pakan.

Substitusi cacing sutera dalam pakan menghasilkan teripang pasir dengan pertumbuhan yang cukup tinggi yang dapat dideteksi melalui kadar IGF-1 terutama plasma IGF-1. Temuan ini sejalan dengan publikasi lainnya yang menyatakan IGF-1 sebagai penanda pertumbuhan organism budidaya (Perez-Sanchez and LeBail, 1999; Dyer *et al.*, 2004).

Eksperimen ini juga memperlihatkan bahwa cacing sutera merupakan sumber protein yang baik bagi pertumbuhan teripang pasir. Hasil penelitian ini

memperlihatkan suplementasi cacing sutera dengan konsentrasi 1% mampu memenuhi kebutuhan nutrisi teripang pasir sehingga meningkatkan pertumbuhan teripang pasir dengan pesat. Karena telah terpenuhi kebutuhannya maka teripang pasir yang diberi substitusi 1% cacing sutera diyakini mengadaptasikan laju konsumsi dan asimilasi lebih cepat dibandingkan kelompok teripang pasir perlakuan lainnya yang berujung pada penurunan sintesis IGF-1 baik plasma maupun dinding tubuh.

Perhitungan biaya yang diperlukan untuk pembuatan pakan berbahan cacing sutera ditampilkan pada Tabel 17. Penambahan cacing sutera dalam pakan teripang pasir menghasilkan kadar protein yang lebih tinggi dibandingkan pemberian pakan yang hanya terdiri dari tepung ikan sebagai sumber proteinnya. Tabel 17 memperlihatkan biaya produksi pakan terendah adalah pakan 0% tepung cacing sutera dan tertinggi pada 3,0% tepung cacing sutera.

**Tabel 17.** Perhitungan biaya bahan baku per 100 g pakan uji berbahan cacing sutera

Bahan (Rp)	Substitusi Cacing Sutera Dalam Pakan						
	0,0%	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%	2,5%	3,0%
Tepung ikan	248	235	222	211	198	186	173
Tepung cacing		180	360	520	700	880	1.060
Minyak ikan	750	750	750	750	750	750	750
Tepung tapioka	481	479	478	476	475	473	473
Vitamin mix	387	387	387	387	387	387	387
Mineral mix	387	387	387	387	387	387	387
Perekat	849	857	857	865	865	872	872
<b>Total</b>	<b>3.101</b>	<b>3.274</b>	<b>3.441</b>	<b>3.595</b>	<b>3.762</b>	<b>3.935</b>	<b>4.101</b>

Pertumbuhan terbaik dan kadar protein tertinggi dihasilkan oleh pakan dengan substitusi 1% tepung cacing sutera. Biaya produksi pakan 1% tepung cacing sutera lebih besar dibandingkan biaya produksi 0% dan 0,5% tepung cacing sutera. Hal ini disebabkan harga cacing sutera yang lebih tinggi dibandingkan harga tepung ikan. Tetapi bila melihat pertumbuhan yang



dihasilkan baik laju pertumbuhan maupun kadar protein yang terdapat dalam bentuk dinding tubuh tampaknya biaya ini diyakini tidak akan menjadi masalah. Hasil penelitian ini merekomendasikan penggunaan pakan dengan kandungan protein 10% dengan substitusi tepung cacing sutera sebesar 1% dari total 10% protein.

Hasil eksperimen 1 dan 2 memperlihatkan adanya hal-hal yang perlu diperhatikan guna memperoleh hasil yang lebih baik. Diantaranya adalah waktu pengambilan sampel darah teripang pasir. IGF-1 sangat berhubungan dengan pertumbuhan dan lebih menggambarkan pertumbuhan yang terjadi pada saat yang berdekatan dengan pengambilan cairan darah tersebut. Hal ini berarti waktu pengambilan sampel darah teripang juga perlu disesuaikan. Hingga saat ini belum diketahui waktu yang tepat untuk pengambilan sampling darah.

Pola pertumbuhan teripang (Gambar 15 dan 21) memberikan gambaran bahwa pengambilan sampel darah pada 2 minggu ke-3 untuk beberapa perlakuan pakan terjadi pada saat teripang pasir telah melewati pertumbuhan dan berada dalam kondisi perlambatan bahkan terhentinya pertumbuhan.

Gambar 15 memperlihatkan pertumbuhan yang tinggi terjadi pada 4 minggu pertama setelah itu terjadi perlambatan pertumbuhan. Untuk itu perlu adanya penelitian lanjutan untuk mencari solusi terbaik guna menemukan waktu yang tepat untuk melakukan sampling darah teripang pasir.

### 5.2.11 Kebaruan Penelitian

Kebaruan atau novelty penelitian ini adalah bahwa ditemukan protein baru pada teripang pasir dengan berat molekul 38,6 kDa dan 15 kDa pada suplementasi protein baik dari tepung ikan maupun substitusi dengan tepung cacing sutera. Kedua jenis protein ini juga tampak mendominasi teripang pasir yang diambil langsung dari alam maupun teripang pasir yang tidak diberi pakan,



baik pada teripang pasir dengan pertumbuhan yang tinggi maupun rendah.

Protein 38,6 kDa dan 15 kDa pada teripang pasir diyakini mampu menginduksi IGF-1. IGF-1 diketahui dapat disintesis pada berbagai jenis sel dan berhubungan dengan pertumbuhan organisme. Sintesis IGF-1 diketahui berikatan dengan IGF-1R dan mengakibatkan adanya proses signaling yang berimbas pada respon pertumbuhan.



## VI. KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil kedua eksperimen ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Kadar IGF-1 merupakan alat baik untuk mengevaluasi kebutuhan protein dalam formula pakan. Secara umum teripang pasir membutuhkan protein 10-35% dalam formula pakan. Dosis protein terbaik untuk memenuhi kebutuhan teripang pasir adalah 10% protein namun dalam penelitian ini menghasilkan kadar IGF-1 yang lebih rendah. Penelitian ini membuktikan kadar IGF-1 yang rendah ini disebabkan keunikan teripang pasir dalam proses pengambilan pakan dan metabolisme untuk menekan laju pertumbuhannya.
2. IGF-1 sangat sensitif terhadap pertumbuhan sehingga dapat digunakan untuk mendeteksi pertumbuhan teripang pasir. Pertumbuhan teripang pasir yang berbeda secara signifikan dapat terdeteksi melalui fluktuasi IGF-1.
3. IGF-1 memungkinkan untuk digunakan sebagai tool untuk mengevaluasi performa bahan baku pakan formula seperti tepung cacing sutera. Hasil penelitian ini memperlihatkan cacing sutera merupakan sumber protein yang baik bagi pertumbuhan teripang pasir. Suplementasi cacing sutera mampu meningkatkan produksi IGF-1 teripang pasir dimana IGF-1 diketahui yang berikatan dengan IGF-1R dan mengakibatkan adanya proses signaling yang berimbas pada respon pertumbuhan.
4. Substitusi sejumlah tertentu tepung cacing sutera menyebabkan perubahan pada profil protein teripang pasir. Substitusi cacing sutera mampu memicu sintesis komponen IGF-1 yang berbeda pada plasma teripang pasir. Penambahan cacing sutera dalam pakan teripang pasir juga menghasilkan kadar protein dan asam amino yang lebih tinggi dibandingkan pemberian



pakan yang hanya terdiri dari tepung ikan sebagai sumber proteinnya.

Meskipun tidak diidentifikasi, teripang pasir yang diberi protein yang berasal dari tepung ikan maupun tepung ikan dan tepung cacing sutera sama-sama menghasilkan pita protein 38,6 kDa dan 15 kDa.

## 6.2. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian tentang waktu yang tepat untuk pengambilan sample darah teripang untuk diketahui konsentrasi IGF-1 sebagai indikator pertumbuhan dan efisiensi pakan.
2. Perlu adanya penelitian guna mengetahui protein yang mendominasi dinding tubuh teripang pasir dan manfaatnya.