

REVIEW PENGUJIAN MUTU ENZIM PADA PAKAN TERNAK TAHUN 2010-2012

**NI MADE RIA ISRIYANTHI, UNANG PATRIANA, SRI WERDININGSIH,
ROSANA ANITA SARI DAN ENUH RAHARDJO JUSA**

Unit Uji Farmasetik dan Premiks

Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan Gunungsindur-Bogor, 16340

ABSTRAK

Telah dilakukan bahwa ada peningkatan yang sangat signifikan terhadap jumlah produk enzim pada pakan ternak yang diuji mutunya di Unit Uji Farmasetik dan Premiks Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH) tahun 2010 – 2012, yaitu 10 produk di tahun 2010, 21 produk di tahun 2011 dan 27 produk di tahun 2012. Enzim phytase merupakan enzim yang paling banyak digunakan dalam industri peternakan hingga mencapai total 21 produk selama 3 tahun terakhir. Pada tahun 2012 tercatat bahwa komposisi multienzim pada pakan lebih banyak dibandingkan dengan enzim tunggal, dimana sediaan multienzim yang terbanyak diuji adalah 9 adalah kombinasi ketiga enzim yaitu enzim phytase, protease dan xylanase adalah 4.

Kata kunci : pengujian mutu, enzim phytase, multienzim, pakan ternak

ABSTRACT

It has been done that there is a very significant increase in the number of feed enzyme products on animals are tested at National Veterinary Drugs Assay laboratory (NVDAL) in 2010-2012, which was 10 products in 2010, 21 products in 2011 and 27 products in 2012. In addition of enzyme phytase is the most widely used enzyme to reach a total of 21 products over the last 3 years. In 2012 it was noted that the composition of the multi-enzyme feed more than a single enzyme, which is the most tested multi-enzyme composition is a combination of all three enzymes the enzyme phytase, protease and xylanase.

Key words: quality assay, enzyme phytase, multi-enzyme, feed

PENDAHULUAN

Pakan merupakan faktor terpenting dalam menunjang industri peternakan sebagai upaya meningkatkan bobot badan ternak dan performa ternak yang diharapkan. Peningkatan populasi, produksi daging, susu dan telur sangat tergantung dari penyediaan pakan yang baik dan berkualitas. Pada peternakan di Indonesia, dibutuhkan 50% sampai 80% pakan ternak dari total biaya produksi. Peternak berupaya mengurangi biaya pakan dengan meningkatkan kualitas terdalem beberapa tahun terakhir, penggunaan enzim pada pakan ternak di Indonesia menunjukkan peningkatan. Pakan unggas dengan kandungan protein dari sumber-sumber nabati dapat memberikan pengaruh konversi yang tidak baik atau berdampak pada performa ternak yang kurang baik. Penambahan enzim diharapkan dapat memperbaiki pencernaan NSP (*Non Starch Polysaccharides*) tanaman yang sekaligus juga meningkatkan daya cerna protein. Bertujuan untuk mengetahui peningkatan penggunaan enzim pada pakan ternak dari tahun 2010 sampai 2012 dan sediaan enzim yang paling banyak digunakan pada industri peternakan, berdasarkan data sampel yang diuji di BBPMSOH.

Materi dan Metode

Dengan meningkatnya jumlah produk enzim pada pakan, maka dibutuhkan metode pengujian yang dapat memenuhi persyaratan yang sesuai dengan standar, sehingga menghasilkan obat hewan yang berkualitas.

Salah satu sediaan enzim pada pakan yaitu enzim phytase sudah pernah dilaporkan (2), mengatakan bahwa pengujian dengan menggunakan metode produsen dan megazyme memberikan hasil uji yang tidak berbeda nyata, sehingga kedua metode tersebut dapat digunakan. Pengujian terhadap aktivitas enzim phytase yang tertera dalam label yaitu komposisi enzim tunggal maupun multienzim dapat menggunakan metode yang sama dalam pengujiannya yaitu metode Megazyme(1).

Metoda Megazyme

Bahan(revisi)

- 20 ml HCl 0,66 M
- 0,5 ml NaOH 0,75 M
- Trichloroacetic acid 50%

- Destilated Water (DW)
- Kits Megazyme Botol 1 (sodium acetate buffer)
- Kits Megazyme Botol 2 (phytase suspension)
- Kits Megazyme Botol 3 (glycine buffer)
- Kits Megazyme Botol 4 (Alkaline Phosphate Suspension/ALP)
- Kits Megazyme Botol 5 (phosphorus standard solution)
- Colour reagen (ascorbic acid 10% ; ammonium molybdate 5% = 5:1)

Bahan-bahan yang diperlukan meliputi kit Megazyme, asam askorbat, asam sulfat (H_2SO_4) ammonium molybdat, *trichloroacetic acid* (TCA), asam klorida (HCl) dan natrium hidroksida (NaOH).

Alat :

Beaker gelas 100 ml, *pipette tips* (Eppendorf), micropipette, Sentrifus, heated waterbath (set as $40^\circ C$), *vortex mixer*, *spectrophotometer*

Prosedur Pengujian:

Prosedur pengujian phytase dibagi menjadi 4 tahapan yaitu ekstraksi sampel, reaksi dephosphorilasi enzymatic, pembuatan kurva kalibrasi phosphor dan penentuan phosphor dengan colourimetric.

A. Tahap ekstraksi sampel

Timbang 1 gram sampel dilarutkan dengan 20 ml HCL 0,66 M. Sampel diaduk (stirer) selama 3 jam pada suhu ruang kemudian disentrifuse dengan kecepatan 13.000 rpm selama 10 menit untuk mendapatkan supernatannya. Ambil supernatan sebanyak 0,5 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi untuk dinetralkan dengan menambahkan 0,5 ml NaOH 0,75 M. Dari tahap ekstraksi sampel ini diperoleh sampel 1 (sampel ekstraksi) yang digunakan dalam tahap selanjutnya.

B. Tahap reaksi dephosphorilasi enzymatic

Siapkan dua tabung reaksi, satu tabung reaksi untuk *free phosphor* (*free P*) dan satu lagi tabung reaksi untuk total *phosphor* (total P).

Bahan	Tabung I (<i>free phosphor</i>)	Tabung II (<i>total phosphor</i>)
DW	0,62 ml	0,60 ml
Botol 1 (sodium acetate buffer)	0,20 ml	0,20 ml
Sampel 1 (sampel ekstraksi)	0,05 ml	0,05 ml
Botol 2 (phytase suspension)	-	0,02 ml

Homogenkan kedua tabung reaksi dengan vortex dan inkubasi dengan waterbath 40°C selama 10 menit

DW	0,02 ml	-
Botol 3 (glycine buffer)	0,20 ml	0,20 ml
Botol 4 (ALP)	-	0,02 ml

Homogenkan kedua tabung reaksi dengan vortex dan inkubasi dengan waterbath 40°C selama 15 menit

Trichloroacetic acid 50%	0,30 ml	0,30 ml
--------------------------	---------	---------

Sentrifuse kedua tabung reaksi pada 13.000 rpm selama 10 menit.

Setelah disentrifuse ambil supernatan dari kedua tabung reaksi tersebut (sampel 2)

C. Pembuatan kurva kalibrasi fosfor

Bahan	Std 0 (0µg)	Std 1 (0,5µg)	Std 2 (2,5µg)	Std 3 (5µg)	Std 4 (7,5µg)
DW	5 ml	4,95 ml	4,75 ml	4,5 ml	4,25 ml
Botol 5 (standar fosfor)	-	0,05 ml	0,25 ml	0,5 ml	0,75 ml

D. Penentuan *phosphor* dengan *colorimetric*

Bahan	Volume
Standar phosphor (std 0-4) atau sampel 2	1 ml
Colour reagen	0,50 ml

Homogenkan kedua tabung reaksi dengan vortex dan inkubasi dengan waterbath 40°C selama 1 jam. Selanjutnya dibaca dengan spektrofotometer pada 655 nm

Aktifitas enzim dihitung dengan persamaan rumus sebagai berikut :

$$M = \frac{P (\mu\text{g})}{\Delta\text{Aphosphor}}$$

$$\text{Mean M} = \frac{(\text{Mstd1} + \text{Mstd2} + \text{Mstd3} + \text{Mstd4})}{4}$$

$$C = \frac{\text{mean M} \times 20 \times F \times \Delta\text{Aphosphor}}{10.000 \times 1,0 \times v}$$

dimana,

mean M = nilai rata-rata standar phosphor

20 = volume ekstrak sampel awal

F =

ΔA = selisih absorbansi antar standar

10.000 =konversi dari $\mu\text{g/g}$ ke $\text{g}/100\text{g}$

1,0 = berat sampel

v = volume sampel yang digunakan dlm tahap 3 pengujian

10 mg sampel dilarutkan dalam 20 mL HCl 0,66 M dan diaduk selama minimum 3 jam dalam suhu ruang. Ekstrak diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung kemudian disentrifus dengan kecepatan 13.000 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil sebanyak 0,5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi untuk dinetralkan dengan menambah 0,5 mL larutan NaOH 0,75 M. Dua tabung reaksi disiapkan sebagai *free phosphor* (*free P*) dan total *phosphor* (total P). Masing-masing tabung diisi dengan air suling sebanyak 0,62 mL (*free P*) dan 0,60 mL (total P), kemudian ditambahkan 0,20 mL Kit I dan 0,05 mL ekstrak sampel pada kedua tabung. Pada tabung total P ditambahkan 0,02 mL Kit II. Semua tabung dicampur hingga homogen dengan *vortex mixer* dan diinkubasi dalam *waterbath* pada suhu 40°C selama 10 menit. Pada tabung *free P* ditambahkan 0,02 mL air suling. Selanjutnya ditambahkan 0,02 mL Kit III pada kedua tabung. Pada tabung total P ditambahkan Kit IV. Semua tabung dicampur hingga homogen dengan *vortex mixer* dan diinkubasi dalam *waterbath* suhu 40°C selama TCA 50%. Kedua tabung disentrifus dengan kecepatan 13.000 rpm selama 10 menit. Supernatan dari masing-masing

tabung diambil sebanyak 1,0 mL, dimasukkan ke dalam tabung reaksi lain dan ditambahkan 0,5 mL pereaksi warna. Kedua tabung dicampur hingga homogen dengan *vortex mixer* dan diinkubasi dalam *waterbath* pada suhu 40°C selama 60 menit. Selanjutnya, kurva standar fosfor dibuat dengan menggunakan Kit V. Pengukuran serapan dilakukan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 655 nm. Aktifitas enzim dihitung dengan persamaan rumus sebagai berikut :

$$U = \frac{C \times F}{S \times M \times 30}$$

Keterangan :

U : aktifitas enzim phytase

C : aktifitas dihitung dengan persamaan regresi linier

F : total waktu pengenceran terhadap reaksi

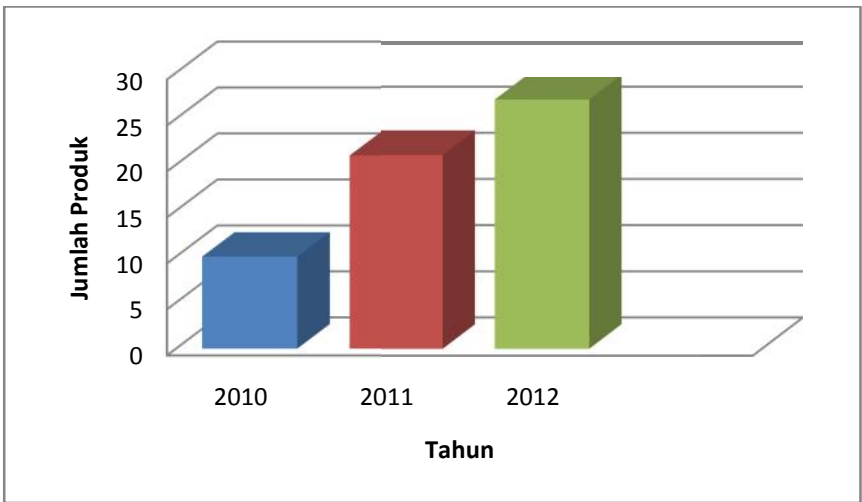
S : volume sampel

M : berat sampel (g)

30 : waktu reaksi (menit)

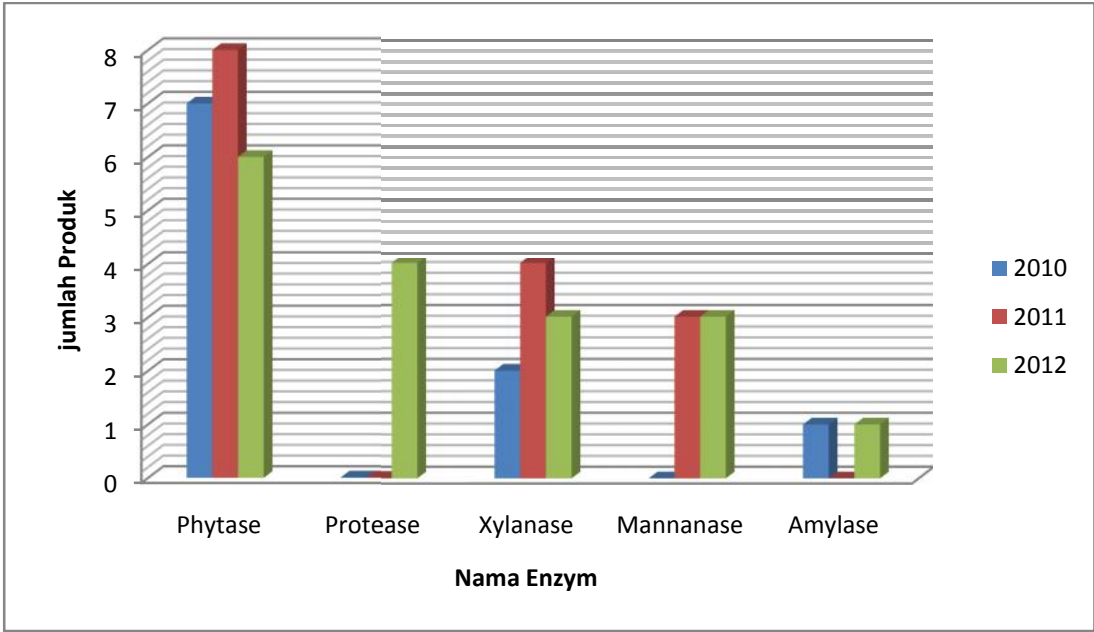
HASIL DAN PEMBAHASAN

Seperti yang terlihat pada Gambar 1. adanya peningkatan yang sangat signifikan pada jumlah sampel enzim pada pakandari tahun 2010 sampai tahun 2012, yaitu 10 produk di tahun 2010, 21 produk di tahun 2011 dan 27 produk di tahun 2012. Hal ini disebabkan karena penambahan enzim pada pakan dapat mengurangi faktor anti nutrisi yang biasanya terdapat dalam bahan baku asal tanaman. Peran anti nutrisi dapat menghambat pencernaan nutrisi yang mengakibatkan pada penurunan energi metabolis bahan, pertumbuhan yang rendah, konversi pakan yang buruk, kotoran basah yang menghasilkan telur-telur yang kotor dan masalah litter. Sehingga tujuan penambahan enzim pada pakan adalah untuk meningkatkan pencernaan bahan, membuat nutrisi-nutrisi tertentu secara biologis lebih tersedia, dan mengurangi dampak pencemaran yang ditimbulkan oleh kotoran unggas (ayam) atau ramah lingkungan.



Gambar 1. Jumlah produk enzim sebagai imbuhan pakanyang diuji mutunya di Unit Uji Farmasetik dan PremiksBBPMSOH tahun 2010-2012

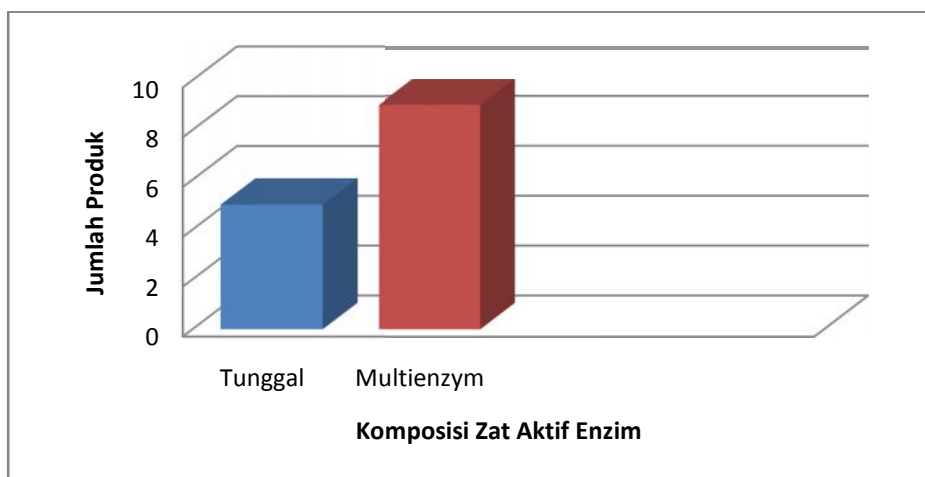
Dalam industri pakan ternak, terdapat berbagai macam enzim yang dapat menjadi pilihan untuk ditambahkan pada pakan yaitu enzim *phytase*, *protease*, *xylanase*, *mannanase*, *amylase*, *lipase*, dan *glucanase*. Berdasarkan data sampel berbagai imbuhan pakan enzim yang diuji dari tahun 2010 sampai tahun 2012 di BBPMSOH, enzim pythase merupakan sediaan enzim yang paling banyak digunakan sebagai imbuhan pakan dengan jumlah mencapai 21 produk dalam 3 tahun terakhir (Gambar 2.).



Gambar 2. Jumlah produk enzim dengan komposisi zat aktif enzim tunggal yang diuji di BBPMSOH dari tahun 2010-2012

Pada peternakan di Indonesia penggunaan enzim phytase pada pakan layer (ayam petelur) mencapai sekitar 95 %. Enzim phytase yang dikembangkan dari *Aspergillus niger* berfungsi menghilangkan efek antinutrisi asam phytate dalam pakan, serta dapat mengurangi penggunaan sumber energi dan posfor (P) anorganik dalam pakan (misalnya DCP/Di Calcium Phosphate). Enzim phytase dapat membebaskan mineral fosfor dari ikatan phytate, sehingga diperoleh tambahan fosfor yang dapat dimanfaatkan secara langsung oleh tubuh ayam dan dapat menurunkan ekskresi P pada feses. Keuntungan lainnya dalam industri peternakan adalah enzim phytase dari mikroorganisme mempunyai kisaran pH optimum yang luas, tahan suhu tinggi dan mempunyai aktivitas spesifik lebih tinggi sehingga dapat diaplikasikan dalam pembuatan pakan ternak (4).

Berdasarkan data sampel tahun 2012 yang diuji ke BBPMSOH sediaan enzim kombinasi dalam pakan lebih banyak dari pada sediaan enzim tunggal seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3. Penggunaan multienzim yang terbanyak diuji adalah kombinasi ketiga enzim yaitu phytase, protease dan xylanase.



Gambar 3. Perbandingan jumlah komposisi produk enzim tunggal dengan multienzim di dalam pakan di tahun 2012

Dilihat dari masing-masing manfaat dan kerja ketiga enzim tersebut, telah dilakukan penelitian pemanfaatan xylanase (3, 5) untuk penambahan pakan ayam boiler dengan xylanase yang berasal dari *T.longibrachiatum* ternyata mampu mengurangi viskositas pencernaan,

sehingga meningkatkan pencapaian berat dan efisiensi konversi makanan. Manfaat enzim protease adalah mengubah proteosa, pepton, dan polipeptida menjadi asam amino, yang dapat meningkatkan nutrisi yang diserap oleh ayam broiler.

Penggunaan produk multienzim pada pakan semakin meningkat karena dapat meningkatkan kualitas pakan dari berbagai bahan pakan. Penambahan multi enzim dengan kandungan utama xylanase, amylase dan protease 1-2 kg/ton pada pakan ayam pedaging berbahan dasar jagung dan kedelai, dapat meningkatkan bobot badan dan menurunkan, Feed Conversion Rate FCR sebesar 10.5%(6). Selain itu, penambahan multienzim dalam pakan ternak juga dapat meningkatkan kesehatan ternak, menurunkan kematian dan mengurangi polusi lingkungan.

Interaksi dan pengaruh dari kombinasi berbagai penambahan enzim pada pakan masih perlu dilakukan penelitian dikemudian hari, mengingat banyaknya penggunaan multienzim pada penambahan pakan ternak. Pada prinsipnya pemilihan produk multienzim pada pakan harus mempunyai aktivitas yaitu merusak dinding sel dengan enzim cellulose, menurunkan viskositas dan menghilangkan anti nutrisi asam pitat dengan enzim phytase.

KESIMPULAN

Di Indonesia, terjadi peningkatan penggunaan enzim pada pakan, hal ini disebabkan penambahan enzim pada pakan ternak bertujuan untuk memperbaiki dan meningkatkan nilai pencernaan dari bahan baku tertentu pada ternak, sehingga dapat meningkatkan kesehatan dan performa ternak serta menurunkan angka kematian. Serta pada industri pakan sangat menguntungkan karena dapat menurunkan biaya pakan dengan peningkatan kualitas pakan, yang merupakan produk ramah lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

1. **Anonim, 2007.** Phytic Acid (Phytate)/ Total Phosphorus Assay Prosedur, Megazyme International Ireland Ltd., Ireland.
2. **Ambarwati & Emma A, 2010.** Buletin Pengujian Mutu Obat Hewan no 15. Pengujian Phytase menggunakan metode Megazyme dan metode produsen
3. **Beg, QK, M. Kapoor, L. Mahajan, & G.S. Hoondal. 2001.** J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 56:326-338. Microbial xylanase and their industrial applications, a review

4. **Cao, L., W. Wang., C. Yang., Y. Yang., J. Diana., A. Yakupitiyage., Z. Luo And D. Li, 2007.** Application of Microbial Phytase in Fish Feed. *J. Enzyme and Microbial Technology*. 40: 497-507.
5. **Nur Richana, 2002.** Buletin *AgroBio* 5(1):29-36. Produksi dan prospek enzim xilanase dalam pengembangan bioindustri di Indonesia
6. **Putra Wibawa, A.A.Pt., Budi Rahayu Tanama Putri dan A.A. Ayu Trisnadewi, dilakukan tahun 2006.** Fakultas Peternakan Universitas Udayana. Aplikasi penambahan multienzym dalam ransum ayam pedaging.