

# **PENGARUH SUPLEMENTASI ENZIM PAPAIN PADA PAKAN BUATAN TERHADAP TINGKAT METAMORFOSIS DAN KADAR GLIKOGEN DALAM LARVA KEPITING BAKAU (*SCYLLA OLIVACEA*)**

**Nurul Fadhilah**

Universitas Sriwijaya, Palembang, Indonesia

Email : [nfdh1h14@gmail.com](mailto:nfdh1h14@gmail.com)

## **ABSTRAK**

Dalam budidaya larva ikan, pemberian pakan buatan dimungkinkan setelah enzim pencernaan dihasilkan. Untuk meningkatkan kemampuan larva dalam memanfaatkan pakan buatan, penelitian ini mengusulkan penambahan enzim eksternal ke dalam pakan. Tujuan penelitian adalah untuk menentukan dosis optimal enzim papain dan stadia pemberian pakan buatan pra-pencernaan terhadap Tingkat metamorphosis dan kandungan glikogen dalam larva kepiting bakau (*Scylla Olivacea*). Penelitian ini menggunakan desain factorial dalam rancangan acak lengkap, dengan faktor pertama yaitu dosis enzim papain (0%, 1,0%, 2,0%, 3,0%), sedangkan faktor kedua adalah stadia pemberian pakan buaan pra-perencanaan (zoea 2 dan zoea 3). Hasil penelitian menunjukkan bahwa variasi dosis enzim papain dan stadia pemberian pakan buatan pra-perencanaan memberikan pengaruh yang signifikan ( $p<0,05$ ) terhadap Tingkat metamorphosis pada larva yang berumur 9, 10, 12, 13, 16, dan 17 hari. Namun, interaksi antara kedua faktor tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan ( $p>0,05$ ). Tingkat metamorfosis pada dosis enzim papain 0% dan 1,5% membutuhkan waktu lebih lama dan secara signifikan berbeda ( $p<0,05$ ) dibandingkan dengan dosis 3% dan 4,5%. Selain itu, dosis enzim papain juga memengaruhi kandungan glikogen dalam larva, di mana dosis 4,5% menunjukkan kandungan glikogen yang signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan dosis 1,5% dan 3,0%. Meskipun demikian, kandungan glikogen pada dosis 0%, 1,5%, dan 3,0% tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Berdasarkan hasil penelitian, disarankan menggunakan dosis enzim papain sebesar 4,5% untuk menghidrolisis protein pakan dengan efektif.

Kata kunci: enzim papain, metamorfosis, larva kepiting bakau (*Scylla olivacea*), kandungan glikogen

## **PENDAHULUAN**

Kepiting bakau (*Scylla olivacea*) merupakan salah satu komoditas perikanan yang memiliki nilai ekonomis yang signifikan di banyak wilayah, terutama di daerah-daerah pesisir tropis dan subtropis. Budidaya kepiting bakau telah menjadi kegiatan yang penting dalam industri perikanan karena permintaan pasar yang tinggi akan produk ini. Namun, untuk mencapai keberhasilan dalam budidaya tersebut, faktor ketersediaan benih menjadi salah satu aspek kunci yang harus diperhatikan dengan serius.

Saat ini, mayoritas benih kepiting bakau masih diperoleh dari tangkapan liar di alam. Namun, ketersediaan benih yang fluktuatif dan tidak dapat diprediksi menjadi tantangan serius bagi para petani. Untuk mengurangi ketergantungan pada tangkapan liar dan

meningkatkan produksi secara konsisten, strategi yang dapat diambil adalah dengan meningkatkan usaha pemberian.

Pakan merupakan faktor penting dalam kesuksesan budidaya kepiting bakau. Penggunaan pakan buatan, terutama dalam bentuk mikro (microdiet), telah dianggap sebagai solusi yang menjanjikan. Keuntungan utamanya adalah ketersediaan yang terjamin, biaya produksi yang lebih rendah, dan fleksibilitas yang lebih tinggi dalam mengatur komposisi nutrisi. Namun, penggunaan pakan buatan dalam pemeliharaan larva masih memiliki tantangan tersendiri.

Salah satu masalah utama adalah bahwa larva kepiting bakau pada tahap awal pertumbuhannya belum memiliki organ pencernaan yang lengkap. Akibatnya, kemampuan mereka untuk mencerna pakan buatan tidak seoptimal yang diharapkan. Untuk mengatasi hal ini, diperlukan pemahaman yang mendalam tentang proses pencernaan pada larva kepiting bakau.

Studi tentang aktivitas enzim pencernaan, seperti tripsin, lipase, dan amilase, pada berbagai tahap perkembangan larva kepiting bakau telah memberikan wawasan penting. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perubahan signifikan dalam aktivitas enzim tersebut terjadi pada stadia zoea 2 ke zoea 3, yang menunjukkan bahwa larva mulai menjadi lebih siap untuk mencerna pakan buatan.

Namun, untuk meningkatkan efisiensi pencernaan larva dan mempercepat pertumbuhan, beberapa penelitian telah menyarankan penggunaan enzim tambahan dalam pakan. Salah satu enzim yang telah diuji adalah papain, yang dapat membantu dalam pemecahan protein menjadi bentuk yang lebih sederhana, memudahkan penyerapan nutrisi oleh larva. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menentukan dosis yang optimal dari enzim papain dan juga stadia yang tepat untuk memberikan pakan buatan yang telah dipredigest dengan enzim papain. Evaluasi dilakukan berdasarkan laju metamorfosis larva dan kandungan glikogen dalam tubuh mereka, karena kedua faktor tersebut menjadi indikator penting dalam keberhasilan pemeliharaan larva kepiting bakau.

Dengan demikian, upaya untuk meningkatkan efisiensi pemberian dan pemeliharaan larva kepiting bakau melalui penggunaan pakan buatan yang dioptimalkan dengan enzim papain memiliki potensi untuk meningkatkan produksi budidaya kepiting

bakau secara signifikan, sambil mengurangi ketergantungan pada tangkapan liar dan menjaga keberlanjutan industri perikanan.

## METODE

Dalam penelitian ini, larva kepiting bakau yang dipergunakan berasal dari penetasan telur, dengan induk betina yang telah matang gonad dipelihara dalam kurungan kayu di bak beton berisi air laut dengan salinitas sekitar 32 ppt. Setiap kurungan hanya diisi dengan satu induk dan diberi pakan berupa cumi-cumi dan ikan rucah sebanyak 15% dari biomasa per hari, dengan frekuensi dua kali sehari pada jam 06.00 dan 18.00.

Air laut yang digunakan untuk pemeliharaan larva disaring terlebih dahulu dengan menggunakan sand filter, kemudian didisinfeksi dengan kaporit 40 ppm, didiamkan selama 12 jam dengan aerasi kuat, dan dinetralisir dengan thiosulfat 20 ppm selama 1-2 jam sebelum digunakan. Wadah yang digunakan adalah ember plastik hitam berukuran 30 liter, diisi dengan air laut salinitas 30-32 ppt.

Enzim papain yang digunakan adalah Newzime dari Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Jepara. Penyiapan dan penambahan enzim papain ke dalam pakan dilakukan dengan melarutkan bubuk enzim papain dalam 10 ml aquadest, kemudian diinkubasi selama 10-15 menit sebelum disemprotkan ke dalam 100 g pakan buatan dan diinkubasikan selama 60 menit.

Pakan alami yang digunakan adalah *Brachionus* sp. dengan kepadatan 30 individu/ml selama adaptasi terhadap pakan buatan dan pada stadia larva yang masih memerlukan pakan alami. Pakan buatan yang digunakan adalah Jp 0 dan Jp 1, diberikan pada stadia zoea 1 dan zoea 3, dengan jumlah 5,0 mg/l/hari untuk stadia zoea 1-3 dan 10 mg/l/hari untuk stadia zoea 3 sampai megalopa. Pakan diberikan enam kali sehari pada jam 06.00, 09.00, 12.00, 15.00, 18.00, dan 21.00. Komposisi nutrisi pakan terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisis proksimat pakan (% bobot kering)

Komposisi	Pakan JP 0	Pakan JP 1
Protein	45,69	44,53
Lemak	9,01	9,37
Serat kasar	2,13	1,43
BETN	29,16	29,65
Abu	13,99	14,80

Eksperimen dilakukan dengan pola faktorial menggunakan rancangan dasar acak lengkap. Faktor pertama melibatkan variasi dosis enzim papain, yaitu: 0%, 1,5%, 3,0%, dan

4,5%. Sementara itu, faktor kedua adalah stadia pemberian pakan buatan yang telah dipredigest menggunakan enzim papain, yakni stadia zoea 2 dan zoea 3.

Untuk mengevaluasi laju perkembangan larva, setiap hari diambil sampel 10 ekor larva pada jam 10.00 dan dilakukan pengamatan morfologi larva. Laju perkembangan larva dihitung menggunakan Larval Stage Index (LSI). Data indeks stadia larva diperlihatkan dalam Tabel 2 untuk menghitung LSI.

Tabel 2. Pembobotan nilai LSI tiap stadia perkembangan larva

Stadia larva	Nilai Larva Stage Index	Kesimpulan LSI
Zoea 1 (Z-1)	1 – 1,5	1
Zoea 2 (Z-2)	1,6 – 2,5	2
Zoea 3 (Z-3)	2,6 – 3,5	3
Zoea 4 (Z-4)	3,6 – 4,5	4
Zoea 5 (Z-5)	4,6 – 5,5	5
Megalopa	>5,5	6

$$LSI = [(St \times nt) + (St-1 \times nt-1)] : N$$

Keterangan: LSI = Larval Stage Index; St = LSI stadia t; nt = Jumlah larva stadia t (ekor); St-1 = LSI stadia t-1 (sebelum stadia t); nt-1 = Jumlah larva stadia t-1 (ekor); N = Jumlah sampel (ekor).

Pada tahap akhir percobaan, yaitu pada stadia megalopa, dilakukan analisis kandungan glikogen. Penentuan kadar glikogen dilakukan dengan mengambil seluruh bagian tubuh larva karena sulit untuk memisahkan antara hepatopankreas dengan bagian tubuh lainnya. Metode perhitungan kandungan glikogen menggunakan formula tertentu.

$$Glikogen \left( \frac{mg}{g} \right) sampel = \frac{abs.spl/abs.std \times konst.std \times 1/1000}{bobot sampel (g)}$$

Catatan: Abs. spl = absorbansi sampel pada panjang gelombang 670 nm; Abs. stda = absorbansi standar; Kons. std = konsentrasi standar (500  $\mu$ g/mL); Fp = faktor pengenceran (5X); 1/1000 = konversi dari mikrogram menjadi miligram.

Sifat fisik dan kimia air yang diukur mencakup kandungan oksigen terlarut, pH, suhu, dan salinitas. Suhu dan salinitas akan diukur setiap hari, sedangkan pH dan oksigen terlarut akan diukur pada setiap tahap.

Untuk mengevaluasi pengaruh perlakuan terhadap laju metamorfosis dan kandungan glikogen larva, analisis ragam digunakan. Jika terdapat pengaruh yang signifikan, uji W-Tukey akan dilakukan untuk menentukan perlakuan yang memberikan respons terbaik. Kualitas air media dianalisis secara deskriptif sesuai dengan kriteria tingkat kelayakan bagi larva kepiting.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Laju Metamorfosis**

Informasi mengenai laju metamorfosis larva kepiting bakau yang diberi pakan buatan yang sudah dipredigest menggunakan enzim papain pada stadia zoea 2 dan 3 terdapat dalam Tabel 3. Data tersebut mengindikasikan bahwa waktu yang diperlukan untuk mencapai berbagai tahap metamorfosis adalah sebagai berikut: 3 hari dari stadia zoea-1 ke zoea-2, 4 hari dari zoea-2 ke zoea-3, 3 hari dari zoea-3 ke zoea-4, 3 hari dari zoea-4 ke zoea-5, dan 4 hari dari zoea-5 ke megalopa.

Hasil ini konsisten dengan temuan Kasry (1991), yang menyatakan bahwa laju metamorfosis larva kepiting bakau dari stadia zoea hingga megalopa biasanya membutuhkan waktu sekitar 17-26 hari. Secara khusus, waktu yang diperlukan untuk masing-masing tahap zoea biasanya berkisar antara 3-5 hari. Dalam penelitian ini, total waktu metamorfosis dari stadia zoea 1 hingga megalopa adalah 18 hari, sesuai dengan temuan yang diperoleh.

Tabel 3. Rata-rata Larvae Stage Index (LSI) *Scylla olivacea* yang dipelihara pada berbagai dosis enzim papain dan stadia pemberian pakan buatan

Perlakuan	Umur larva (hari)																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	
$E_0Z_2$	LSI	1	1	1,4	1,6	1,6	1,7	2	2,6	2,7	3	3,6	3,6	4	4,6	4,6	5,1	5,2	5,6
	Stadia	Z1	Z1	Z1	Z2	Z2	Z2	Z3	Z3	Z3	Z4	Z4	Z4	Z5	Z5	Z5	Z5	M	
$E_{1,5}Z_2$	LSI	1	1	1,1	1,6	1,6	1,6	2	2,6	2,6	3,1	3,6	3,6	3,8	4,6	4,6	5,1	5,2	5,6
	Stadia	Z1	Z1	Z1	Z2	Z2	Z2	Z3	Z3	Z3	Z4	Z4	Z4	Z5	Z5	Z5	Z5	M	
$E_{3,0}Z_2$	LSI	1	1	1,4	1,6	1,6	1,6	2,3	2,6	3,1	3,4	3,6	3,9	4,5	4,6	4,6	5,1	5,3	5,6
	Stadia	Z1	Z1	Z1	Z2	Z2	Z2	Z3	Z3	Z3	Z4	Z4	Z4	Z5	Z5	Z5	Z5	M	
$E_{4,5}Z_2$	LSI	1	1	1,2	1,6	1,6	1,6	2,3	2,6	3,1	3,5	3,6	4,1	4,5	4,6	4,6	5,2	5,4	5,6
	Stadia	Z1	Z1	Z1	Z2	Z2	Z2	Z3	Z3	Z3	Z4	Z4	Z4	Z5	Z5	Z5	Z5	M	
$E_0Z_3$	LSI	1	1	1,1	1,6	1,6	1,6	2,2	2,6	2,6	2,7	3,6	3,6	4,6	4,6	5,1	5,1	5,6	
	Stadia	Z1	Z1	Z1	Z2	Z2	Z2	Z3	Z3	Z3	Z4	Z4	Z4	Z5	Z5	Z5	Z5	M	
$E_{1,5}Z_3$	LSI	1	1	1,2	1,6	1,6	1,6	2,4	2,6	2,6	3,1	3,6	3,6	3,8	4,6	4,6	5,1	5,1	5,6
	Stadia	Z1	Z1	Z1	Z2	Z2	Z2	Z3	Z3	Z3	Z4	Z4	Z4	Z5	Z5	Z5	Z5	M	

	LSI	1	1	1,3	1,6	1,6	1,6	2,4	2,6	2,7	3,3	3,6	3,7	4,4	4,6	4,6	5,1	5,4	5,6
E <sub>3,0</sub> Z <sub>3</sub>	Stadia	Z1	Z1	Z1	Z2	Z2	Z2	Z2	Z3	Z3	Z3	Z4	Z4	Z4	Z5	Z5	Z5	M	
E <sub>4,5</sub> Z <sub>3</sub>	LSI	1	1	1,2	1,6	1,6	1,6	2,6	2,6	2,9	3,4	3,6	3,9	4,5	4,6	4,6	5,2	5,4	5,6
E <sub>4,5</sub> Z <sub>3</sub>	Stadia	Z1	Z1	Z1	Z2	Z2	Z2	Z3	Z3	Z3	Z3	Z4	Z4	Z4	Z5	Z5	Z5	M	

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa variasi dosis enzim papain dan tahap pemberian pakan yang telah dipredigest berdampak secara signifikan ( $P<0,05$ ) terhadap laju metamorfosis (LSI) larva kepiting bakau pada hari-hari ke-7, 9, 10, 12, 13, 16, dan 17 (lihat Tabel 4). Namun, tidak ada interaksi yang signifikan ( $P>0,05$ ) antara dosis enzim dan tahap pemberian pakan yang telah dipredigest.

Tabel 4. Nilai rata-rata Larva Stage Index (LSI) larva kepiting bakau (*Scylla olivacea*) pada berbagai dosis enzim papain

Dosis	Laju Metamorfosis (Umur/hari)						
	7	9	10	12	13	16	17
0	2.15 ± 0.24 <sup>a</sup>	2.65 ± 0.12 <sup>a</sup>	2.87 ± 0.26 <sup>a</sup>	3.62 ± 0.04 <sup>a</sup>	3.80 ± 0.28 <sup>a</sup>	5.12 ± 0.04 <sup>a</sup>	5.18 ± 0.08 <sup>a</sup>
1.5	2.18 ± 0.32 <sup>a</sup>	2.60 ± 0.00 <sup>a</sup>	3.13 ± 0.05 <sup>b</sup>	3.60 ± 0.00 <sup>a</sup>	3.80 ± 0.31 <sup>a</sup>	5.12 ± 0.04 <sup>a</sup>	5.17 ± 0.05 <sup>a</sup>
3.0	2.38 ± 0.08 <sup>b</sup>	2.97 ± 0.29 <sup>b</sup>	3.38 ± 0.10 <sup>c</sup>	3.85 ± 0.27 <sup>ab</sup>	4.48 ± 0.08 <sup>b</sup>	5.17 ± 0.05 <sup>ab</sup>	5.37 ± 0.08 <sup>b</sup>
4.5	2.47 ± 0.19 <sup>b</sup>	3.03 ± 0.22 <sup>b</sup>	3.47 ± 0.08 <sup>c</sup>	4.03 ± 0.22 <sup>b</sup>	4.52 ± 0.10 <sup>b</sup>	5.25 ± 0.08 <sup>b</sup>	5.43 ± 0.10 <sup>b</sup>

Hasil analisis W-Tukey menunjukkan bahwa Larva Stage Index (LSI) pada dosis enzim papain 0% dan 1,5% tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $P>0,05$ ) pada hari ke-7, 9, 12, 13, dan 17 larva. Namun, laju metamorfosis pada dosis tersebut terbukti lebih lambat dan secara signifikan berbeda ( $P<0,05$ ) jika dibandingkan dengan dosis 3,0% dan 4,5%. Pada hari ke-12 dan 16, tidak terdapat perbedaan signifikan dalam laju metamorfosis antara dosis enzim papain 0%, 1,5%, dan 3,0%. Begitu pula, tidak ada perbedaan yang signifikan dalam laju metamorfosis antara dosis enzim papain 3,0% dan 4,5%.

Aktivitas enzim protease pada larva yang menerima pakan buatan sejak stadia zoea 2 dengan dosis enzim papain 0% dan 1,5% juga tercatat lebih rendah dan berbeda dibandingkan dengan dosis enzim papain 3,0% dan 4,5%. Ini disebabkan oleh kurangnya produksi enzim pada tahap tersebut, sehingga larva belum dapat mencerna protein dengan efektif (Haryati et al., 2017). Temuan penelitian sebelumnya oleh Haryati et al. (2014) juga menunjukkan bahwa enzim protease, lipase, dan  $\alpha$ -amilase pada larva kepiting bakau (*Scylla olivacea*) mulai diproduksi pada stadia zoea 3, di mana pada tahap ini pakan buatan pertama kali dapat diberikan. Aktivitas enzim dipengaruhi oleh konsentrasi enzim; pada dosis enzim

papain 3,0% dan 4,5%, papain mampu mencerna protein secara optimal, sehingga asam amino yang dihasilkan dapat digunakan untuk pertumbuhan, termasuk dalam laju metamorfosis. Konsep ini diperkuat oleh pandangan Sorgeloss et al. (1998), yang menyatakan bahwa kehadiran enzim eksternal dalam pakan dapat mencerna nutrien pakan menjadi bentuk yang lebih sederhana, sehingga larva dapat memanfaatkan pakan dengan lebih efisien.

### Kandungan glikogen larva

Kandungan glikogen pada larva stadia megalopa dapat ditemukan dalam Tabel 5. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa dosis enzim papain dan perbedaan tahap pemberian pakan yang telah dipredigest memiliki dampak yang signifikan ( $P<0,05$ ) terhadap kandungan glikogen pada larva kepiting bakau stadia megalopa. Namun, tidak terdapat interaksi yang signifikan ( $P>0,05$ ) antara dosis enzim papain dan tahap pemberian pakan yang berbeda. Kandungan glikogen pada larva yang menerima pakan yang telah dipredigest pada stadia zoea 3 lebih tinggi daripada pada stadia zoea 2. Hasil uji W-Tukey menunjukkan bahwa kandungan glikogen pada larva yang menerima pakan buatan yang telah dipredigest dengan enzim papain 4,5% secara signifikan lebih tinggi ( $P<0,05$ ) daripada pada larva yang menerima pakan tanpa predigest (enzim papain 0%), tetapi tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $P>0,05$ ) dengan dosis enzim papain 1,5% dan 3,0%. Selain itu, Tidak ada perubahan yang signifikan yang terlihat di kandungan glikogen pada larva yang menerima pakan buatan yang telah dipredigest dengan dosis enzim papain 0%, 1,5%, dan 3,0%

Tabel 5. Rata-rata kandungan glikogen kepiting bakau pada stadia megalopa yang diberi pakan predigest pada dosis enzim papain yang berbeda

Dosis enzim (%)	Kandungan glikogen (%)
0,0	5,8735±0,060 <sup>a</sup>
1,5	6,0965±0,054 <sup>ab</sup>
3,0	6,3315±0,041 <sup>ab</sup>
4,5	6,5185±0,582 <sup>b</sup>

Keterangan : Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan pada taraf 5% ( $P < 0.05$ )

Kandungan glikogen yang lebih tinggi pada larva yang menerima pakan yang telah dipredigest dengan dosis enzim papain 4,5% dibandingkan dengan dosis 0% disebabkan oleh kemampuan pakan untuk mengalami hidrolisis yang optimal pada dosis tersebut. Enzim

papain, yang merupakan protease, bertanggung jawab atas pemecahan protein menjadi asam amino. Asam amino yang dihasilkan dari hidrolisis protein dapat digunakan efisien sebagai sumber energi dan untuk pertumbuhan larva. Dengan protein yang terhidrolisis dengan baik, energi yang tersedia cukup banyak, sehingga karbohidrat yang tidak dimanfaatkan sebagai sumber energi akan disimpan dalam bentuk glikogen.

Glikogen terbentuk di dalam tubuh melalui proses yang disebut glikogenesis. Glukosa, yang berasal dari makanan dan tidak digunakan sebagai sumber energi, akan disimpan. Melalui proses glikogenesis yang melibatkan enzim glycogen synthetase, glukosa akan mengalami metabolisme dan diubah menjadi glikogen. Glikogen inilah yang kemudian berfungsi sebagai cadangan energi.

## KESIMPULAN

Laju metamorfosis larva pada umur 7, 9, 10, 12, 13, 16, dan 17 hari menunjukkan bahwa dosis enzim papain 0,0% dan 1,5% menghasilkan periode metamorfosis yang lebih lama dibandingkan dengan dosis 3,0% dan 4,5%. Seiring dengan itu, kandungan glikogen pada larva yang menerima pakan buatan tanpa proses predigestion, khususnya pada dosis enzim papain 0%, menunjukkan tingkat yang relatif serupa dengan dosis 1,5% dan 3,0%, namun lebih rendah dibandingkan dengan dosis 4,5%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amalia R, Subandiyono, Endang A. 2013. Pengaruh penggunaan papain terhadap tingkat pemanfaatan protein pakan dan pertumbuhan ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 2 (1): 136 - 143
- Gatesoupe F, Luquet P. 1991. Practical diet for mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*: application to larval rearing of sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*. 22:149 - 163
- Gawlicka A, Parent B, Horn MH, Ross N, Opstad I, Torrisen OJ. 2000. Activity of digestive enzymes in yolk-sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): indication of readiness for first feeding. *Aquaculture*. 184:303 - 314.
- Hamzah H. 2005. Efektivitas penambahan enzim papain pada pakan buatan terhadap kelangsungan hidup dan pertumbuhan larva ikan bawal bintang (*Trochinetus blochii* Lacepede 1801). Tesis Program Pascasarjana UNHAS, 53 Hal.
- Handayani, H, W.Widodo. 2011. Nutrisi Ikan. UMM press Malang.

- Haryati, Fujaya Y, Zainuddin, S. Aslamyah, Saade E. 2014. Perkembangan aktivitas enzim pencernaan kepiting bakau (*Scylla* sp.) dari stadia zoea ke megalopa dalam hubungannya dengan kemampuan memanfaatkan pakan buatan. *Jurnal Aquaculture Indonesiana*. Vol. 15 (1): 35 - 41
- Haryati, Fujaya Y, Anugrah. 2015. Pengaruh pergantian pakan alami dengan pakan buatan terhadap aktivitas enzim pencernaan kepiting bakau (*Scylla olivacea*). Prosiding Seminar Nasional Perikanan dan Kelautan XII, jilid I Budidaya Perikanan, hal: 137 - 144.
- Haryati, Fujaya Y, Saade E. 2017. Optimalisasi penggunaan pakan buatan dalam pemberian larva kepiting bakau (*Scylla olivacea*) untuk menunjang penyediaan benih berkelanjutan. Laporan Penelitian UPT tahun I
- Hasan ODS. 2000. Pengaruh penggunaan enzim papain dalam pakan buatan terhadap pemanfaatan protein dan pertumbuhan benih ikan gurame (*Ospronemus Gouramy* Lac.). Tesis Institut Petanian Bogor, 57 Hal.
- Hutabarat GM, Rachmawati D, Pinandoyo. 2015. Performa pertumbuhan lobster air tawar (*Cherax quadraicarinatus*. Melalui penambahan enzim papain dalam pakan buatan. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 4(1): 10 - 18.
- Lauff , M, Hofer R . 1984. Proteolitic enzymes in fish development and the importance of dietary enzymes. *Aquaculture*. 37: 335 - 346
- Pavasovic M, Richardson NA, Anderson AJ, Mann D, Mather PB. 2004. Effect of pH, temperature and diet on the digestive enzyme profiles in the mud crab, *Scylla serrata*. *Aquaculture*. 242: 641 – 654
- Putri, D.S. 215. Pengaruh penggantian pakan alami dengan pakan buatan terhadap kelangsungan hidup dan pertumbuhan larva ikan bawal bintang (*Trachinotus blochii*, Lacepede). Tesis Universitas Hasanuddin
- Redzuari, A., M.N. Azra, A.B. Abol-Munafi, Z.A. Aizam, Y.S. Hii & M. Ikhwanuddin, 2012. Effects of feeding regimes on survival, development and growth of blue swimming crab, *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758) larvae. *World Applied Sci. Journal*. 18: 472-478.
- Sorgeloos P, Cotteu P, Dhert P, Merchie G, Lavens P. 1998. Use of brine shrimp, *Artemia* sp. In larval crustacean nutrition. *Review in Fisheries Science*. (182): 55 – 68
- Suhartono MT. 2005. Protease. Pusat Antar Universitas, Bioteknologi IPB, 76 Hal.8.