

PENENTUAN AKTIFITAS ENZIM α -AMILASE DAN KADAR GLUKOSA DARAH PADA ITIK LOKAL

(Determination of α -Amylase Enzyme Activity and Blood Glucose Level
in Local Duck)

Prayitno, Ismoyowati dan Ida Farida

Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto

ABSTRACT

A α -amylase is included in hydrolase's enzyme (E.C. 3.2.1.3), which catalyzed the breaking down of α -1,3-glycosidic bound on amylase chain and produced glucose as end product. In mammalian and poultry, α -amylase enzyme has a function as starch breaking down or changed glycogen to glucose. It was used as energy resource in the body. A α -amylase enzyme is protein that resulted in expression from one or several genes, so that has various characteristics among individual. To study the existence and the characteristic of α -amylase enzyme, therefore it has been conducted a research about the connection of α -amylase enzyme unit number with glucose content in Tegal, Magelang and Mojosari duck blood (each of them consisted of 28 birds). This research used Completely Randomized Design (CRD) with seven replicates for each treatment. The result research showed that either the unit number of α -amylase enzyme activity or glucose content in these local breed of duck has a highly significant different ($P < 0.01$). This result showed that genetic factor (breed of duck) has influenced either enzyme unit number or their catalytic activity on substrate, so the capability to form blood glucose inter breed of duck also different. It was suggested that their enzyme characteristics have strong connection with the sequence of amino acid as α -amylase enzyme protein composer, which was the result of gene expression. From the result, it was concluded that the unit number and catalytic activity of α -amylase enzyme and blood glucose content in the breed of local duck was affected by genetic factor (breed of duck).

Key words: Enzyme, K-Amylase, Blood, Glucose, Duck

PENDAHULUAN

Itik adalah salah satu spesies unggas yang banyak dipelihara oleh masyarakat pedesaan dengan tujuan utama untuk menghasilkan telur. Menurut Dirjenak (1999) bahwa populasi ternak itik di Indonesia mencapai 26.248.051 ekor dengan produksi telur kurang lebih 140.181 ton. Sebagai penghasil telur, ternak itik di Indonesia menempati peringkat kedua setelah ayam ras petelur.

Itik lokal merupakan plasma nutfah asli Indonesia yang mempunyai mutu genetika tinggi dan berpotensi untuk

dikembangbiakkan sebagai penghasil telur yang produktif. Diantara bangsa itik lokal Indonesia yang produksi telurnya tinggi adalah itik Tegal, Magelang dan Mojosari. Data morfologi (bentuk fisik luar dan produksi) bangsa itik ini telah banyak dipublikasikan, akan tetapi kajian mengenai fisiologis maupun molekulernya belum banyak diungkap. Keadaan ini merupakan faktor penghambat untuk melakukan proses seleksi bibit unggul dan dalam mengatur pola perkawinan baik inter maupun antar bangsa itik lokal. Dimungkinkan susunan gen pada bangsa-bangsa itik tersebut

karakteristiknya spesifik. Kemungkinan lain gen tersebut pada masing-masing terbentuk dari 1 campuran beberapa gen dengan pola segregasi serta daya menurun dari tetua ke keturunannya belum banyak diketahui.

Enzim merupakan molekul protein yang tersusun oleh sederetan asam amino dengan struktur kompleks sebagai produk langsung dari sebuah atau beberapa gen melalui proses transkripsi DNA dan translasi RNA. Prinsip dasar dalam proses sintesis maupun faktor yang mempengaruhi sifat-sifat enzim yang dihasilkan oleh setiap makhluk hidup hampir terdapat kesamaan. Oleh karena itu protein penyusun enzim α -amilase yang diproduksi dalam tubuh itik antara spesies itik satu dan lainnya dimungkinkan terdapat kesamaan maupun keragaman. Karena urutan asam amino penyusun protein enzim α -amilase dari setiap individu itik sangat ditentukan oleh urutan basa-basa nitrogen pada gen yang mengkodennya. Oleh karenanya dimungkinkan jumlah unit enzim aktifitas katalitiknya serta kemampuannya memecuk glukosa antara itik Tegal, Magelang dan Mojosari juga ada kesamaan atau perbedaan. Penelitian pada plasma darah ayam dengan teknik elektroforesis yang telah dilakukan oleh Grunder (1990) ditemukan enzim α -amilase-I, II dan III. Enzim α -amilase-I dikontrol oleh empat alel $Amy-I^A$, I^B , I^C dan I^D ($Amy-I^{A,B,C,D}$) kodominan yang bersifat polimorfisme, sedangkan enzim α -amilase-II oleh alel $Amy-I^{A,B,C}$ dan α -amilase-III dikontrol oleh dua alel homozigot dominan yaitu $Amy-I^A I^A$.

Glukosa merupakan produk utama pada lintasan metabolisme karbohidrat dalam tubuh. Glukosa dalam darah merupakan hasil hidrolisis pati dan atau glikogen dalam tubuh. Jumlah molekul glukosa dalam darah sangat vital karena merupakan sumber energi utama atau digunakan untuk sintesis biomolekul dalam tubuh itik. Oleh karena itu ketersediaan glukosa dalam darah harus optimal agar kinerja itik juga optimal. Jumlah unit enzim maupun aktifitas katalitiknya banyak dipengaruhi oleh struktur protein penyusunnya yang berkaitan erat dengan faktor genetik. Maka antara individu itik Tegal, Magelang dan Mojosari dimungkinkan terdapat kesamaan dan atau keragaman konsentrasi glukosa dalam darahnya. Menurut Yopardhi (2000) bahwa, peningkatan kadar glukosa dalam darah dapat disebabkan oleh adanya pemecahan cadangan glikogen dalam otot secara enzimatis, sintesis asam amino dan gliserol atau adanya penurunan aliran glukosa ke dalam sel darah. Berdasarkan asumsi di atas maka dengan mengamati kesamaan dan perbedaan sifat enzim α -amilase pada itik Tegal, Magelang maupun Mojosari secara tidak langsung dapat digunakan untuk mempelajari kesamaan dan keragaman gennya.

Tujuan utama penelitian ini adalah untuk mengetahui hubungan antara jumlah unit aktifitas enzim α -amilase dengan kadar glukosa dalam darah itik Tegal, Magelang dan Mojosari serta kemungkinan keterkaitannya terhadap karakteristik reproduksi dan produksinya. Berdasarkan hasil kajian awal ini diharapkan penelitian mengenai enzim α -

amylase dapat dikembangkan lebih lanjut untuk mempelajari dan atau menduga susunan gen pada itik Tegal, Magelang dan Mojosari guna menetapkan marker genetic untuk dijadikan pedoman dalam melakukan seleksi bibit unggul sesuai yang diinginkan serta menentukan pola perkawinannya.

METODE PENELITIAN

Materi penelitian adalah itik Tegal, Magelang dan Mojosari berjenis kelamin betina umur 6 bulan masing-masing 28 ekor. Reagen kupri alkalis yang terdiri dari empat bagian reagen Somogy A dan satu bagian Somogy B (v/v) serta reagen arsenomolibdat untuk penentuan gula reduksi. Reagen *Folin ciocalteu* untuk penentuan kadar protein. Larutan pati satu persen untuk penentuan aktifitas enzim α -amilase. Larutan glukosa untuk standar penentuan gula reduksi dan bovin serum albumen untuk standar penentuan protein. Alat utama yang digunakan adalah *magnetic stirrer*, *water batch incubator*, spektrofotometer dan kufet.

Cara mendapatkan sampel dari masing-masing bangsa itik adalah dengan mengambil darah menggunakan *shyrink* sebanyak 5 ml, kemudian dibiarkan selama 2 jam atau sampai sel darah membeku dalam posisi kemiringan 60 derajat. Setelah serum memisah kemudian diambil dan ditentukan aktifitas enzim α -amilase dan kadar glukosa darahnya. Penentuan aktifitas digunakan metode Nishise *et al.*, (1988) dan Wuryastuti (1991) dimodifikasi. Sebagai substrat digunakan larutan pati 1 persen dalam 0,1 M buffer asetat pH 5,5 dengan standar glukosa. Kadar glukosa darah

ditentukan dengan metode Somogy-Nelson menurut Soedigdo (1988). Protein serum ditentukan dengan metode Lowry dan Folin (Soedigdo, 1988). Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan dan tujuh ulangan. Sebagai perlakuan adalah bangsa itik (Tegal, Magelang, dan Mojosari), sedangkan ulangan adalah jumlah unit sampel itik dari masing-masing bangsa. Satu unit sampel terdiri dari empat ekor itik. Guna mengetahui pengaruh bangsa (perlakuan) terhadap jumlah unit enzim α -amilase serta aktifitasnya dan kadar glukosa darah dilakukan analisis ragam yang dilanjutkan uji beda nyata jujur menurut Steel dan Torrie (1993). Untuk mengetahui hubungan antara jumlah unit enzim α -amilase dengan kadar glukosa darah dilakukan analisis regresi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah Unit dan Aktifitas α -Amilase

Hasil penentuan aktifitas enzim α -amilase dari serum itik Tegal, Magelang dan Mojosari menunjukkan adanya keragaman baik jumlah unit aktifitas katalitik maupun jumlah unit enzimnya seperti tertera pada Tabel 1.

Pada Tabel 1 menunjukkan bahwa jumlah unit aktifitas enzim α -amilase tertinggi adalah terdapat pada itik Mojosari. Akan tetapi bila ditinjau dari jumlah unit enzimnya pada itik Tegal adalah paling tinggi. Itik Magelang mempunyai jumlah unit aktifitas dan jumlah unit enzim α -amilase terendah.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa jumlah unit aktifitas enzim α -amilase pada itik Magelang berbeda

sangat nyata ($P < 0,01$) baik dengan itik Tegal maupun itik Mojosari, sedangkan antara itik Tegal dan Mojosari hanya berbeda nyata ($P < 0,05$). Keadaan ini menggambarkan adanya perbedaan kemampuan katalitik dari protein α -amilase yang diproduksi oleh masing-masing bangsa itik. Fenomena tersebut dikarenakan kemampuan katalitik suatu enzim dipengaruhi oleh struktur protein penyusunnya, sedangkan struktur protein dipengaruhi urutan asam amino sebagai produk ekspresi lokus gen. Keragaman aktifitas α -amilase dapat mencerminkan adanya perbedaan susunan gen antara itik Tegal, Magelang dan Mojosari.

Ditinjau dari jumlah unit enzim α -amilasena, pada itik Mojosari menunjukkan jumlah unit enzim lebih rendah dibandingkan unit enzim itik Tegal, namun aktifitas katalitiknya lebih tinggi. Keadaan tersebut menggambarkan bahwa jumlah protein enzim yang tinggi tidak

selalu mempunyai kemampuan katalitik yang tinggi.

Diduga kemampuan katalitik enzim α -amilase pada masing-masing bangsa itik banyak dipengaruhi oleh urutan asam amino protein penyusun enzim tersebut, sehingga strukturnya juga berbeda. Struktur protein (terutama tersier) berperan dalam menentukan bentuk pusat aktif enzim dan dipengaruhi oleh urutan asam amino penyusunnya, sedangkan asam amino merupakan produk dari gen yang urutannya ditentukan urutan basa nitrogen dalam rantai DNA pada gen yang mengkodonya.

Berdasarkan adanya perbedaan jumlah unit enzim serta aktifitas katalitik enzim α -amilase yang terdapat pada itik Tegal, Magelang dan Mojosari ternyata mencerminkan bahwa gen-gen yang mengkodonya juga berbeda.

Tabel 1. Rataan Jumlah Unit Aktifitas dan Jumlah Unit Enzim α -Amilase pada Berbagai Bangsa Itik Lokal

Bangsa Itik	Jumlah Unit Aktifitas ($\mu\text{mol gula reduksi/ml/menit}$)	Jumlah Unit Enzim (jumlah unit aktifitas/mg protein/ml)
Tegal	4,30 ^{b,q}	0,006
Magelang	2,19 ^{a,p}	0,001
Mojosari	7,77 ^{b,r}	0,003

^{ab} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan ada perbedaan pada ($P < 0,01$)

^{pqr} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan ada perbedaan pada ($P < 0,05$)

Bila suatu enzim menunjukkan aktifitas normal dapat diasumsikan bahwa secara kuantitatif enzim diproduksi dalam jumlah normal. Sebaliknya bila aktifitas enzim menyimpang dari keadaan normal, maka jumlah enzim yang diproduksi mengalami perubahan (Sofro, 1991). Harris (1980) menyatakan bahwa enzim α -amilase mempunyai keragaman secara kuantitatif karena adanya gen regulator yang berperan dalam pembentukan protein enzim tersebut. Penelitian pada plasma darah ayam dengan teknik elektroforesis yang telah dilakukan oleh Grunder (1990) ditemukan enzim α -amilase-I, II dan III. Enzim α -amilase-I dikontrol oleh empat alel $Amy-I^A, I^B, I^C$ dan I^D ($Amy-I^{A,B,C,D}$) ko-dominan yang bersifat polimorfisme, sedangkan α -amilase-II oleh alel $Amy-I^{A,B,C}$ dan α -amilase-III dikontrol oleh dua alel homozigot dominan $Amy-I^A I^A$.

Kadar Glukosa Darah

Hasil penentuan kadar glukosa dalam serum, antar bangsa itik lokal

menunjukkan perbedaan konsentrasi yang cukup besar seperti tertera pada Tabel 2.

Setelah dilakukan analisis ragam menunjukkan bahwa kadar glukosa darah antara itik Tegal, Magelang dan Mojosari berbeda sangat nyata ($P < 0,01$). Hasil ini menggambarkan bahwa tinggi dan rendahnya kadar glukosa dalam darah itik ada kecenderungan secara tidak langsung dipengaruhi oleh faktor genetik (bangsa).

Diduga pengaruh gen terhadap kadar glukosa darah adalah berkaitan dengan adanya perbedaan (keragaman) baik jumlah unit aktifitas maupun jumlah unit enzim α -amilase antara itik Tegal, Magelang dan Mojosari. Enzim α -amilase diduga ikut berperan dalam pembentukan glukosa dalam darah itik. Menurut Yopardhi (2000) bahwa peningkatan kadar glukosa darah dapat disebabkan oleh adanya pemecahan cadangan glikogen dalam otot secara enzimatis, sintesis asam amino dan gliserol atau adanya penurunan aliran glukosa ke dalam sel darah.

Tabel 2. Rataan Kadar Glukosa Darah pada Berbagai Bangsa Itik Lokal

Bangsa itik	Kadar Glukosa darah ($\mu\text{g/ml}$)
Tegal	1672,19 ^b
Magelang	1332,70 ^a
Mojosari	3227,62 ^c

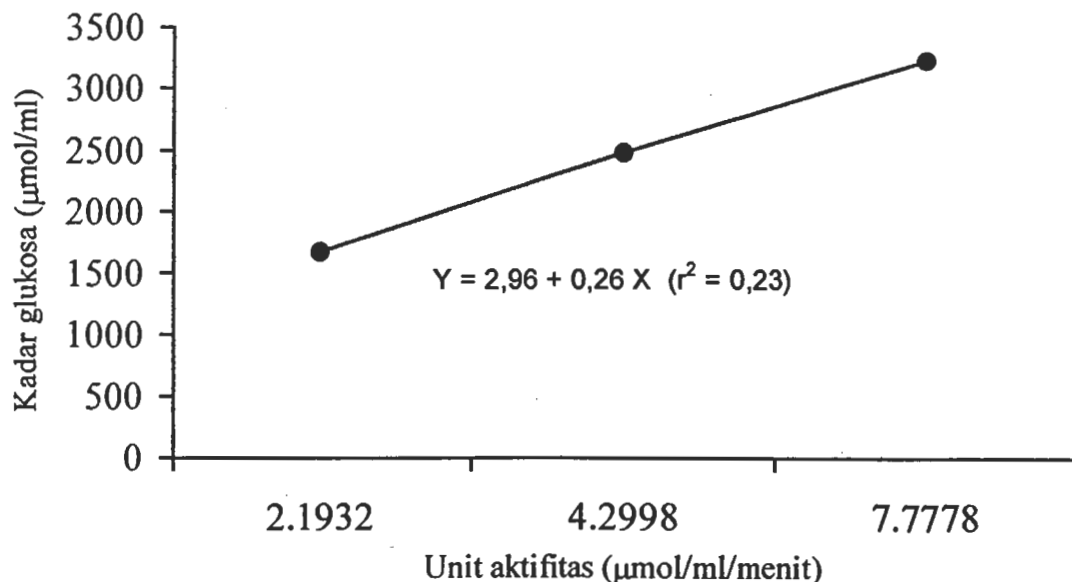
^{abc} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan ada perbedaan pada ($P < 0,01$)

Hubungan Jumlah Unit Aktifitas α -amilase dengan Kadar Glukosa Darah

Hasil analisis regresi ternyata jumlah unit aktifitas α -amilase pada itik Tegal, Magelang dan Mojosari menunjukkan hubungan linier positif dengan kadar glukosa darah dan membentuk persamaan garis $Y = 0,26 + 2,96 X$ dengan koefisien determinasi ($r^2=0,23$). Hasil ini menunjukkan bahwa jumlah unit aktifitas enzim α -amilase mempunyai pengaruh 23 persen terhadap glukosa darah. Karena glukosa merupakan produk akhir dalam suatu lintasan metabolisme karbohidrat melalui proses glikolisis, glikogenolisis, glikogenesis dan glukoneogenesis maka dimungkinkan selain enzim α -amilase masih banyak enzim yang mengkatalisis pada lintasan reaksi tersebut.

Berdasarkan rata-rata jumlah unit aktifitas α -amilase (Tabel 1), kadar glukosa darah (Tabel 2) dan persamaan regresi linier, menunjukkan bahwa semakin tinggi jumlah unit aktifitas α -amilase kadar glukosa darah juga cenderung meningkat.

Semakin tinggi produksi enzim α -amilase, maka dibutuhkan energi semakin banyak. Oleh karenanya diperlukan suplai atau cadangan glukosa dalam darah lebih banyak. Diduga semakin tinggi aktifitas katalitik enzim, maka kemampuan menghidrolisis substrat (karbohidrat kompleks) menjadi produk (glukosa dan derivatnya) semakin cepat, sehingga jumlah glukosa yang dihasilkan dalam darah juga semakin banyak seperti halnya dijumpai pada itik Mojosari.



Gambar 1. Hubungan Jumlah Unit Aktifitas Enzim α -Amilase dengan Kadar Glukosa Darah pada Beberapa Bangsa Itik Lokal

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan jumlah unit aktifitas dan unit enzim α -amilase antara itik Tegal, Magelang dan Mojosari. Jumlah unit aktifitas dan jumlah unit enzim α -amilase serta kadar glukosa darah cenderung dipengaruhi oleh faktor genetik (bangsa itik). Selain itu terdapat hubungan positif antara jumlah unit aktifitas enzim α -amilase dengan kadar glukosa darah pada itik lokal.

DAFTAR PUSTAKA

- Direktorat Jenderal Peternakan. 1999. Statistik Peternakan. Departemen Pertanian, Jakarta.
- Grunder, A.A. 1990. Poultry Breeding and Genetic. In: Development in Animal and Veterinary Science. R.D. Crawford (Ed). Elsevier, Amsterdam.
- Harris, H. 1980. Dasar-dasar Genetika Biokemis Manusia. Cetakan yang Pertama. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Nishise, H., A. Fuji, M. Ueno, V. Vongsuvanlert and Y. Tani. 1988. Production of raw cassava starch-digestive glucoamylase by *Rhizopus sp.* in liquid culture. *J. Ferment. Technol.* 66 (4): 397-402.
- Soedigdo, P. 1988. Metode Penelitian Biokimia. PAU. Bioteknologi ITB, Bandung.
- Sofro, A.S.M. 1991. Keanekaragaman Genetik. PAU. Bioteknologi UGM, Yogyakarta.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1993. Principles and Procedure of Statistics. 2nd ed. McGraw Hill International Book Company, London.
- Wuryastuti, H. 1991. Teknik Pemeriksaan Darah Mamalia. Petunjuk Laboratorium. PAU. Bioteknologi UGM, Yogyakarta.
- Yopardhi, W.S. 2000. Effect of work on blood glucose, triglycerides and lactic acid concentrations of Bali cattle. *Buletin Peternakan* 24: 12-26