



Pengaruh Penambahan Enzim Protease Getah Reubek (*Calotropis gigantea*) terhadap Protein Tubuh Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Susi Elamanidar^{*1}, Nurhayati¹, Lia Handayani²

¹Budidaya Perairan Fakultas Perikanan, Universitas Abulyatama, Aceh Besar, 23372, Indonesia.

²Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan, Universitas Abulyatama, Aceh Besar, 23372, Indonesia.

*Email korespondensi: susielamanidar@gmail.com

Diterima 31 Januari 2022; Disetujui 25 Juli 2022; Dipublikasi 30 Juli 2022

Abstract: Biduri plant (*Calotropis gigantea*) is an association mangrove plant that has sap all over its body. The biduri sap contains alkaloids, glycosides, flavonoids, polyphenols, tannins, saponins, steroids, and triterpenoids. Protease enzymes function to increase utilization, growth of protein in feed and can break down protein into amino acids that will be used for fish growth. This study aims to determine the dose of reubek sap protease enzyme that affects fish body protein, growth, feed conversion ratio, and feed utilization efficiency. This study used a factorial Completely Randomized Design (CRD) consisting of 3 treatments with 2 replications, as treatment A (addition of 0% reubek sap), treatment B (addition of 1% reubek sap), and treatment C (addition of 2% reubek sap). The results of the ANOVA test showed that the addition of reubek sap protease enzymes in feed had no significant effect ($p < 0.05$) on absolute weight growth, absolute length growth, daily growth rate, feed conversion ratio, and feed utilization efficiency. The results showed that treatment A (the addition of 0% reubek sap) had a good effect on protein retention of 96.25%, absolute length growth 1.42 ± 0.23 , daily growth rate 5.88 ± 0.09 , feed conversion ratio 2.28 ± 0.85 , and feed utilization efficiency 47.11 ± 17.46 .

Keywords: Biduri, *Calotropis gigantea*, Protease enzyme, Protein, reubek

Abstrak: Tanaman biduri (*Calotropis gigantea*) merupakan tanaman mangrove asosiasi yang memiliki getah di seluruh tubuhnya. Getah biduri mengandung senyawa alkaloid, glikosida, flavonoid, polifenol, tanin, saponin, steroid, dan triterpenoid. Enzim protease berfungsi untuk meningkatkan pemanfaatan, pertumbuhan protein dalam pakan dan dapat memecah protein menjadi asam amino yang akan digunakan untuk pertumbuhan ikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dosis enzim protease getah reubek yang berpengaruh terhadap protein tubuh ikan, pertumbuhan, rasio konversi pakan, dan efisiensi pemanfaatan pakan. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari 3 perlakuan 2 ulangan, sebagai perlakuan A (penambahan getah reubek 0%), perlakuan B (penambahan getah reubek 1%), dan perlakuan C (penambahan getah reubek 2%). Berdasarkan hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa penambahan enzim protease getah reubek dalam pakan tidak berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap pertumbuhan berat mutlak, pertumbuhan panjang mutlak, laju pertumbuhan harian, rasio konversi pakan, dan efisiensi pemanfaatan pakan. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan A (penambahan getah reubek 0%) memberikan pengaruh yang baik terhadap retensi protein sebesar 96,25%, pertumbuhan panjang mutlak $1,42 \pm 0,23$, laju pertumbuhan harian $5,88 \pm 0,09$, rasio konversi pakan $2,28 \pm 0,85$, dan efisiensi pemanfaatan pakan $47,11 \pm 17,46$.

Kata kunci : Biduri, *Calotropis gigantea*, Enzim protease, Getah reubek , Protein

Protein merupakan salah satu nutrisi yang diperlukan ikan sebagai sumber energi dan pertumbuhan. Rendahnya nilai protein efisiensi rasio menyebabkan pertumbuhan kultivan kurang maksimal. Pemberian protein yang cukup dalam pakan perlu dilakukan agar pakan tersebut dapat diubah menjadi protein tubuh secara efisien. Menurut Subandiyono dan Hastuti (2010), protein mempunyai berbagai macam peran dan fungsi, diantaranya protein berperan sebagai struktur atau pembentuk tubuh, seperti kolagen yang merupakan jaringan ikat berserat dan mempunyai struktur padat. Menurut Yuniastuti A (2008), mengemukakan bahwa protein memiliki mutu tinggi apabila mengandung semua jenis asam amino esensial yang lebih sederhana sehingga mudah diserap tubuh dan dapat memberikan manfaat optimal bagi pertumbuhan.

Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk menyederhanakan bentuk protein adalah merupakan polipeptida menjadi monomer yang lebih sederhana sehingga lebih mudah dicerna dengan penambahan enzim protease. Protease merupakan jenis enzim hidrolase yang bekerja dengan mendegradasi protein dan banyak dimanfaatkan pada nutrisi pangan, seperti pengempuk daging, pembuatan keju, pembuatan roti, pembuatan hidrolisat protein, dan lain sebagainya. Enzim protease dapat mengkatalisis pencegahan protein dengan memecah ikatan paptida pada protein sehingga membentuk asam amino, yang mana daya proteolitik yang ada dalam asam amino enzim protease yang dapat digunakan sebagai anti inflamasi.

Enzim protease diproduksi dari makhluk hidup

yang meliputi: mikroorganisme, hewan maupun tanaman. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan enzim protease adalah tanaman biduri.

Tanaman biduri (*Calotropis gigantea*) merupakan tanaman mangrove asosiasi yang terdapat disepanjang zona tropis dan subtropiks asia dan afrika. Biduri merupakan tanaman bergetah, dari seluruh bagian tanaman ini menghasilkan getah berwarna putih dan cukup lengket (Susanti, 2005). Menurut Witono (2013), bagian getah menghasilkan protease paling tinggi aktivitas proteolitiknya, disusul daun dan pucuk batang tanaman.

Getah biduri juga mengandung senyawa alkaloid, glikosida, flavonoid, tannin, saponin, steroid, asam amino dan triterpenoid (Subramanian dan Saratha, 2010). Saponin merupakan senyawa kimia yang banyak terdapat dalam tanaman getah reubek. Hal ini berdasarkan hasil penelitian Nadziroh (2014), hasil uji fitokimia daun widuri melalui pengujian ekstrak n-heksana, *kloroform* dan etanol, senywa steroid merupakan kandungan yang banyak terdapat dalam daun widuri dan diikuti oleh senyawa triterpenoid dan tanin. Sebelumnya juga telah dilakukan penelitian mengenai aplikasi getah tanaman biduri pada ikan nila, yang menunjukkan bahwa terdapat perbaikan pada vili usus ikan dengan penambahan getah sebanyak 1%/500 gr pakan (Farida, Nurhayati & Handayani, 2022)

Berdasarkan uraian diatas dapat disimpulkan bahwa penambahan enzim protease getah reubek terhadap protein tubuh ikan nila dalam pakan dilakukan untuk dapat meningkatkan kandungan protein, pencernaan protein, asam amino,

kelangsungan hidup, efisiensi pemanfaatan pakan, pertumbuhan secara maksimal dan optimal pada kultivan ikan nila.

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Adapun alat yang digunakan dalam pengujian ikan dengan metode penambahan enzim protease getah reubek terhadap protein tubuh pada ikan nila ini adalah sebagai berikut: resirkulasi, aquarium, kertas lakmus, thermometer, timbangan, gunting, gelas ukur, sendok, kertas saring corong, alat tulis, kamera filter, oven cawan petri, toples penggaris, dan pencetak pakan. Sedangkan bahan yang digunakan adalah: getah reubek 600 ml, ammonium sulfat 650 g, ikan nila 3-5 cm, pakan komersil 1 kg, aquades 70 % CMC, dan atraktan (minyak ikan).

Prosedur Penelitian

Pembuatan Enzim Protease Getah Reubek

Proses pembuatan enzim protease getah reubek dilakukan dengan menuangkan aquades dalam gelas takaran sebanyak 350 ml, lalu dicampurkan ammonium sulfat sebanyak 650 g diaduk hingga larut, untuk membuat tingkat kejenuhan 65%. Getah reubek yang telah didapatkan sebanyak 600 ml ditambahkan kadar aquades sebanyak 400 ml diaduk hingga larut, dilanjutkan penambahan ammonium sulfat kedalam larutan getah reubek yang telah dilarutkan, diaduk hingga 1jam. kemudian kedua bahan campuran didinginkan dalam lemari pendingin selama 24 jam. Selanjutnya bagian menggumpal yang ada dipermukaan dipisahkan dan disaring menggunakan kertas saring lalu endapan yang dihasilkan kemudian dipanaskan atau dikeringkan didalam *freezer* drayer pada suhu 45 °C.

Penambahan Getah Reubek dalam Pakan

Endapan kasar getah reubek yang sudah dikeringkan dengan oven ditimbang terlebih dahulu untuk mengetahui berapa protease kasar yang dihasilkan, kemudian endapan kasar getah reubek tersebut dihaluskan. Endapan getah reubek yang halus dibagi buat untuk penelitian dengan presentase 1; 2%, dan kontrol, dibagi dengan 2 perlakuan setiap presentase tersebut. Pakan komersil yang sudah dihaluskan sebanyak 4 kg, pakan tersebut ditimbang setiap masing-masing 3 perlakuan 1000 gr, dan selanjutnya dicampurkan dengan tepung CMC (pengental) sebanyak 1% dan tambahkan atraktan (minyak ikan) 0,2 %. Tambahkan air sebanyak 70 %, aduk sampai merata. Digiling dan dicetak atau dibentuk sesuai dengan ukuran mulut ikan. Pakan yang sudah kering dipotong-totong sesuai kebutuhan ikan.

Persiapan Wadah Penelitian

Persiapan yang dilakukan adalah menyiapkan aquarium sebagai bahan penelitian sebanyak 6 buah, kemudian aquarium tersebut dibersihkan dan dicuci hingga bersih, kemudian dibilas dengan air bersih dan dikeringkan selama 24 jam. Setelah kering aquarium diisi dengan volume airnya 72 liter pada masing-masing aquarium. Pada setiap aquarium dilengkapi dengan sistem resirkulasi bertujuan untuk memberikan kondisi stabil dan optimal untuk ikan, sehingga mencegah kondisi stress dan mewujudkan pertumbuhan yang lebih baik.

Persiapan Ikan Uji

Ikan uji yang digunakan adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan jumlah 360 ekor dengan ukuran 3-5 cm. Ikan uji yang digunakan dalam penelitian ini terlebih dahulu diaklimatisasi

selama 24 jam dengan tujuan agar ikan tersebut dapat menyesuaikan diri terhadap kondisi lingkungan. Selama diaklimatisasi ikan diberi pakan komersial dengan pemberian pakan 2 kali sehari yaitu pagi dan sore. Kemudian ikan tersebut dipilih berdasarkan kondisi normal yang sehat dan tidak sakit dengan bobot yang relatif sama. Setelah ikan diaklimatisasi, kemudian dilanjutkan dengan mengukur panjang dan bobot ikan nila untuk data panjang awal dan bobot awal tubuh ikan.

Setelah itu dilakukan pengambilan sampel 7 hari sekali untuk mendapatkan pertumbuhan panjang dan bobot ikan. Selanjutnya ikan tersebut diisi 36 ekor dalam setiap aquarium. Pengukuran panjang menggunakan penggaris sedangkan pengukuran bobot menggunakan timbangan digital. Pemeliharaan ikan uji dilakukan selama 30 hari dengan frekuensi pemberian pakan 2x sehari pada pukul 08.00 dan 17.00 WIB dengan *feeding rate* 8% dari bobot biomassa. Untuk menjaga kualitas air dan oksigen maka selama pemeliharaan diberikan sistem resirkulasi.

Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan mengaplikasikan 3 perlakuan dan 2 ulangan. Rancangan perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah perlakuan A = getah reubek 0%, perlakuan B = getah reubek 1%, perlakuan C = getah reubek 2%.

Parameter Pengamatan

Retensi Protein

Retensi protein dihitung melalui analisis

proksimat protein tubuh ikan uji pada awal dan akhir penelitian. Rumus perhitungan retensi protein menurut Guo *et al.* (2012), sebagai berikut:

$$RP = \frac{Pt - Po}{Pp} \times 100\%$$

Keterangan:

RP = Retensi protein (%)

Pt = Jumlah protein tubuh ikan pada akhir pemeliharaan (g)

Po = Jumlah protein tubuh ikan pada awal pemeliharaan (g)

Pp = Jumlah protein pakan yang dikonsumsi (g)

Tingkat Kelangsungan Hidup

Tingkat kelangsungan hidup merupakan persentase jumlah ikan yang hidup diawal penelitian dengan jumlah ikan yang hidup diakhir penelitian. Cara menghitung tingkat kelangsungan hidup menurut (Effendi, 1979).

$$SR = \frac{Nt}{No} \times 100\%$$

Keterangan:

SR = Kelangsungan hidup benih (%)

Nt = Jumlah biota pada akhir penelitian (ekor)

No = Jumlah biota pada awal penelitian (ekor)

Pertumbuhan Bobot Mutlak

Pertumbuhan bobot mutlak dihitung dengan mengikuti rumus (Effendi, 1997), sebagai berikut:

$$GR = Wt - Wo$$

Keterangan:

GR = Pertumbuhan mutlak (g/hari)

Wt = Berat rata-rata pada akhir penelitian (g)

Wo = Berat rata-rata pada awal penelitian (g)

Pertumbuhan Panjang Mutlak

Pertumbuhan mutlak didefinisikan sebagai pertumbuhan total dari Panjang bobot akhir dikurangi panjang bobot awal. Pertumbuhan panjang

mutlak dihitung mengikuti rumus yang digunakan oleh (Effendi, 1997):

$$L = L_t - L_o$$

Keterangan:

- L = Pertumbuhan panjang mutlak (cm)
- L_t = Panjang rata-rata ikan pada akhir penelitian (cm)
- L_o = Panjang rata-rata ikan pada awal penelitian (cm)

Laju Pertumbuhan Harian

Laju pertumbuhan spesifik merupakan pertambahan panjang dan bobot tubuh ikan berdasarkan masa waktu pemeliharaan. Pertumbuhan harian spesifik dihitung berdasarkan formula De Silva dan Anderson (1995), dalam Muclisin (2003), yaitu:

$$SGR = \frac{\ln(W_2) - \ln(W_1)}{T} \times 100$$

Keterangan:

- SGR = Laju pertumbuhan harian (%/ hari)
- W₂ = Berat rata-rata ikan pada akhir penelitian (gr)
- W₁ = Berat rata-rata ikan pada awal penelitian (g)
- T = Waktu penelitian (hari)

Rasio Konservasi Pakan

Rasio konversi pakan atau *Feed Conversion Ratio* (FCR) dihitung menggunakan rumus Steffens (1989), sebagai berikut:

$$FCR = \frac{F}{(W_t + D) - W_o}$$

Keterangan:

- FCR = Rasio konversi pakan
- F = Berat pakan yang dikonsumsi (g)
- W_t = Biomassa hewan uji di akhir pemeliharaan (g)
- D = Bobot ikan mati (g)
- W_o = Biomassa hewan uji di awal pemeliharaan (g)

Efisiensi Pemanfaatan Pakan

Efisiensi pemanfaatan pakan merupakan presentase perbandingan selisih berat ikan diakhir dan awal masa pemeliharaan dengan jumlah pakan yang diberikan. Tacon (1987), menjelaskan EPP

dapat dihitung menggunakan rumus:

$$EPP = \frac{(W_t + D) - W_o}{F} \times 100\%$$

Keterangan:

- EPP = Efisiensi pemanfaatan pakan
- W_t = Biomassa ikan uji pada akhir penelitian (g)
- W_o = Biomassa ikan uji pada awal penelitian (g)
- D = Total bobot ikan mati (g)
- F = Jumlah pakan ikan yang dikonsumsi selama penelitian (g)

Parameter Pendukung Penelitian

Pengukuran kualitas air ini dilakukan pada awal, tengah dan akhir masa pemeliharaan ikan nila. Parameter kualitas air yang diukur adalah suhu, dan pH.

Analisa Data

Data hasil penelitian tingkat kelangsungan hidup, pertumbuhan bobot mutlak, pertumbuhan panjang mutlak, laju pertumbuhan, rasio konservasi pakan dan efisiensi pemanfaatan pakan dianalisis dengan menggunakan sidik ragam (ANOVA). Sedangkan data retensi protein dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian yang telah dilakukan selama 30 hari ditemukan nilai retensi protein tubuh ikan nila, *Survival Rate* (SR), Pertumbuhan Bobot Mutlak (PBM), Pertumbuhan Panjang Mutlak (PPM), Laju Pertumbuhan Harian (LPH), Rasio Konversi Pakan (FCR) dan Efisiensi Pemanfaatan Pakan (EPP) disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Retensi protein dan kinerja pertumbuhan ikan nila

Parameter	Perlakuan		
	A (0%)	B (1%)	C (2%)
Retensi protein (%)	96,25	62,45	59,26
<i>Survival Rate</i> (%)	98,6±1,98 ^a	100±0,00 ^a	100±0,00 ^a
PBM (gram)	1,82±0,52 ^a	2,01±0,63 ^a	1,45±0,77 ^a
PPM (cm)	1,42±0,23 ^a	1,23±0,32 ^a	1,05±0,35 ^a
LPH (%)	5,88±0,09 ^a	4,06±0,52 ^a	3,71±1,59 ^a
FCR	2,28±0,85 ^a	2,97±0,73 ^a	3,48±2,11 ^a
EPP (%)	47,11±17,46 ^a	34,78±8,55 ^a	35,36±21,52 ^a

Keterangan: yang tertera diatas merupakan nilai rata-rata ± standar deviasi huruf superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan nilai yang tidak berpengaruh nyata ($p < 0.05$).

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan, nilai retensi protein tertinggi terdapat pada perlakuan A dengan nilai 96,25%, kemudian diikuti dengan perlakuan B dengan nilai 62,45%, dan terendah perlakuan C dengan nilai 59,26%. Berdasarkan perhitungan nilai retensi protein, penambahan enzim protease sebagai suplemen pada pakan ikan nila tidak menunjukkan peningkatan nilai retensi protein yang lebih baik dibandingkan pakan kontrol (tanpa penambahan enzim protease). Rendahnya nilai retensi protein pada perlakuan B dan C, disebabkan karena getah reubek tidak hanya mengandung enzim protease, melainkan terdapat juga kandungan lain seperti alkaloid, glikosida, saponin. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Subramanian dan Saratha (2010), yang menyatakan bahwa getah reubek mengandung senyawa alkaloid, glikosida, flavonoid, polifenol, tannin, saponin, steroid, dan triterpenoid. Kandungan tersebut diduga sebagai zat antinutrisi yang mampu membatasi asupan nutrisi yang masuk ke dalam tubuh ikan sehingga mempengaruhi retensi protein.

Berdasarkan hasil perhitungan, pertumbuhan

bobot mutlak tertinggi ditemukan pada perlakuan B sebesar 2,01±0,63 gr, diikuti perlakuan A sebesar 1,81±0,52 gr, dan yang terendah pada perlakuan C sebesar 1,45±0,35 g. Pertumbuhan panjang mutlak tertinggi ditemukan pada perlakuan A sebesar 1,42±0,23 cm, diikuti pada perlakuan B sebesar 1,23±0,32 cm, dan yang terendah pada perlakuan C sebanyak 1,05±0,35 cm. Sedangkan laju pertumbuhan harian ikan nila menunjukkan bahwa perlakuan tertinggi ditemukan pada perlakuan A sebesar 5,88±0,09, diikuti pada perlakuan B sebesar 4,06±0,52, dan terendah perlakuan C sebesar 3,71±1,59. Berdasarkan hasil analisis sidik ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa penambahan enzim getah reubek tidak berpengaruh nyata ($p < 0.05$) terhadap pertumbuhan bobot mutlak, pertumbuhan panjang mutlak dan laju pertumbuhan harian benih ikan nila.

Berdasarkan hasil penelitian, rasio konversi pakan menunjukkan bahwa nilai FCR yang baik terdapat pada perlakuan A sebesar 2,28±0,85, diikuti perlakuan B sebesar 2,97±0,73 dan perlakuan C 3,48±2,11. Sedangkan efisiensi pemanfaatan pakan ikan nila menunjukkan bahwa efisiensi pemanfaatan pakan terbaik ditemukan pada perlakuan A sebanyak 47,11±17,46, diikuti perlakuan C sebanyak 35,36±21,52, dan terendah pada perlakuan B sebanyak 34,78±8,55. Berdasarkan hasil analisis sidik ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa pengaruh penambahan enzim getah reubek tidak berpengaruh nyata ($p < 0.05$) terhadap rasio konversi pakan dan efisiensi pemanfaatan pakan ikan nila. Tingginya rasio konversi pakan pada perlakuan C dapat disimpulkan bahwa jika nilai *feeding rate*

semakin tinggi maka akan mengakibatkan nilai FCR juga tinggi. Nilai konversi pakan yang tinggi disebabkan karena kandungan nutrisi dalam pakan yang tidak seimbang sehingga kemampuan ikan nila dalam mencerna pakan rendah dan efisiensi pakan tidak maksimal (Ningsih, 2020).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan selama 30 hari terhadap penambahan enzim getah reubek (*Colotropis gigantea*) terhadap protein tubuh ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dapat disimpulkan bahwa penambahan enzim protease dalam pakan berpengaruh nyata terhadap retensi protein ikan nila. Perlakuan A memberikan hasil tertinggi terhadap retensi protein sebesar 96,25%. Sedangkan penambahan enzim protease dalam pakan tidak berpengaruh nyata terhadap *Survival Rate* (SR), pertumbuhan bobot mutlak, pertumbuhan panjang mutlak, pertumbuhan laju harian, rasio konversi pakan dan efesiesi pemanfaatan pakan.

Saran

Mengharapkan untuk penelitian selanjutnya penambahan enzim getah reubek (*Colotropis gigantea*) terhadap protein tubuh ikan di uji terhadap ikan lain dan dilakukan penambahan dosis yang lebih banyak dari pada penelitian sebelumnya.

DAFTAR PUSTAKA

Effendi, M. I. (1979). *Biologi Perikanan*. Bogor: Yayasan Pustaka Nusantara.
Farida, Z., Nurhayati, N., & Handayani, L. (2022). Aplikasi Penggunaan Enzim

Protease Kasar Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea*) Pada Pakan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *TILAPIA*, 3(1), 84–93.

Guo Z, Zhu XM, Liu JS, Han D, Yang YX, Lan Z, Xie S. 2012. Effects of dietary Protein Level on Growth Performance, Nitrogen, and Energy Budget of Juvenile Hybrid Sturgeon (*Acipenser baerii* ♀ x *A. Gueldenstaedtii* ♂). *Aquaculture*, 338-341: 89-95.

Nadziroh, M. (2014). Uji Sitotoksisitas Ekstrak Daun Widuri (*Calotropis gigantea*. L) terhadap larva Udang *Artemia salina* Leanch dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya [Skripsi]. Malang (ID): Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim.

Ningsih, F. N. H. (2020). Pengaruh Pemberian Pakan Dengan Feeding Rate dan Kadar Protein yang Berbeda terhadap Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Medan (ID): Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara

Steffens, W. (1989). *Principle of Fish Nutrition*. England (UK): Ellis Horwood Limited, West Sussex.

Subandiyono, dan Hastuti, S. (2010). *Buku Ajaran Nutrisi Ikan*. Lembaga Pengembangan dan Penjaminan Mutu Pendidikan Universitas Diponegoro. Semarang.

Subramanian, S.P., dan Saratha, V. (2010). Evaluation of Antifungal Activity of *Calotropis gigantea* Latex Extract: An In

Vitro Study. International Journal
Pharmaceutical Sciences and Research,
1(9):88-96.

Susanti S.P. (2005). Karakterisasi Enzim
Protease dari Getah Tanaman Biduri
(*Calotropis gigantea*) Hasil Ekstraksi
menggunakan Amonium Sulfat. [Skripsi].
Jember (ID): Jurusan Teknologi Hasil
Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember.

Tacon. (1987). The Nutrition and Feeding of
Farmed Fish and Shrimp-A Training
Manual. Brazil: FAO of The United
Nations.

Witono, Y. (2008). Deklorofilasi Ekstrak
Protease Dari Tanaman Biduri
(*Calotropis gigantea*) Dengan Absorban
Celite. Berkala Penelitian Hayati, 13(2),
115–121

Yuniastuti A. (2008). Gizi dan Kesehatan.
Yogyakarta: Graha Ilmu.