

REVIEW: ANALISIS PROFIL PROTEIN IKAN DENGAN METODE SDS-PAGE

REVIEW: ANALYSIS OF FISH PROTEIN PROFILES BY SDS-PAGE METHOD

Marni Kaimudin

Balai Riset dan Standardisasi Industri Ambon

Jl. Kebun Cengkeh Ambon

Email: marnikaimudin72@gmail.com

Diajukan: 30/03/2020; Diperbaiki: 19/08/2020; Diterima: 25/11/2020; Diterbitkan: 07/12/2020

ABSTRAK

Ikan merupakan bahan makanan yang mengandung berbagai macam senyawa bioaktif dan memiliki absorpsi protein yang lebih tinggi dari hewan lainnya yang berfungsi sebagai zat pembangun, pengatur dan pembakar bagi tubuh. Struktur protein tidak stabil terhadap beberapa faktor antara lain; pH, radiasi, temperatur dan pelarut organik. Metode yang digunakan adalah deskripsi korelasi berdasarkan perlakuan penggaraman, pengendapan ammonium sulfat dan isopropyl dan sebagai pembandingan dilakukan analisis profil protein terhadap tumbuhan dengan perlakuan pengendapan ammonium sulfat. Tujuan penelitian yaitu untuk melihat perubahan profil protein pada ikan dengan metode SDS-PAGE berdasarkan data sekunder. Profil protein ikan yang diperoleh dengan metode SDS-PAGE mempunyai berat molekul sekitar 17-152 kDa. Profil protein pada tumbuhan (fitase *Bacillus subtilis*) sebesar 36,6 kDa. Perbedaan profil protein pada ikan dan tumbuhan disebabkan oleh struktur molekul penyusun yang berbeda.

Kata kunci: Ikan, penggaraman, isopropyl, SDS-PAGE, profil protein.

ABSTRACT

*Fish is a food ingredient that contains a variety of bioactive compounds and has a higher absorption of protein than other animals that function as builders, regulators and burners for the body. The structure of the protein is unstable due to several factors including; pH, radiation, temperature and organic solvents. The method used is the description of correlations based on salting, deposition of ammonium sulfate and isopropyl and as a comparison, an analysis of protein profiles is carried out on plants with ammonium sulfate deposition treatment. The research objective was to see the changes in the protein profile in fish with the SDS-PAGE method based on secondary data. The fish of protein profile obtained by the SDS-PAGE method has a molecular weight of around 17-152 kDa. Protein profile in plants (phytase *Bacillus subtilis*) is 36.6 kDa. The difference in protein profiles in fish and plants are due to the different molecular building blocks.*

Keywords: Fish, salting, isopropyl, SDS-PAGE, protein profile

PENDAHULUAN

Ikan merupakan bahan makanan yang di dalamnya terkandung berbagai macam senyawa bioaktif yang secara ekonomi, harganya lebih murah dan absorpsi protein lebih tinggi dibandingkan dengan produk hewan lainnya seperti daging sapi dan ayam. Salah satu penyebabnya yaitu serat-serat protein daging ikan lebih pendek dibandingkan serat-serat protein daging sapi dan ayam (Pandit dkk, 2007).

Protein ikan menurut Depkes (2008) dalam Wahyudi dan Maharani (2017) memberi kontribusi terbesar dalam kelompok sumber protein hewani sekitar 57,2%. Protein ikan menurut Kordi (2011) sangat penting disebabkan fungsinya sebagai zat pembangun, pengatur dan

pembakar dalam tubuh. Sebagai zat pembangun, protein ikan dapat membentuk jaringan baru untuk pertumbuhan, mengganti jaringan yang rusak maupun bereproduksi. Fungsinya sebagai zat pengatur, protein ikan berperan dalam pembentukan enzim dan hormon penjaga dan pengatur berbagai metabolisme didalam tubuh ikan. Sebagai zat pembakar, karena unsur karbon yang terkandung berfungsi sebagai sumber energi pada saat kebutuhan energi tidak terpenuhi oleh karbohidrat dan lemak. Selain itu, protein ikan mudah dicerna oleh tubuh dan memiliki kandungan asam amino dengan pola yang hampir sama dengan pola asam amino yang ada dalam tubuh manusia (Almatsier, 2002).

Disamping peranan terpentingnya, kekurangan yang dimiliki ikan adalah kandungan

air yang tinggi sekitar 80%, pH tubuh ikan mendekati netral dan daging ikan sangat mudah dicerna oleh enzim autolysis hingga menyebabkan daging sangat lunak yang bisa menjadi media yang baik untuk pertumbuhan bakteri pembusuk. Disamping itu, kandungan asam lemak tak jenuhnya mengakibatkan daging ikan mudah mengalami proses oksidasi yang menyebabkan bau tengik. Kekurangan-kekurangan inilah yang dapat menghambat usaha pemasaran hasil perikanan dan akan menimbulkan kerugian besar disaat produksi ikan melimpah. Olehnya itu, proses pengolahan yang memberikan nilai tambah baik dari segi gizi, rasa, bau, bentuk/tekstur, maupun daya awet (Adawyah, 2011).

Protein secara umum terdiri dari 20 macam asam amino yang berikatan secara kovalen satu sama lain yang membentuk suatu rantai polipeptida. Struktur protein tidak stabil terhadap beberapa faktor antara lain pH, radiasi, temperatur dan pelarut organik. Penggolongan protein berdasarkan sumbernya, kita kenal protein hewani dan protein nabati (Sari, 2011). Berdasarkan strukturnya, dikenal protein primer, sekunder, tersier dan kuaterner yang lebih lanjut digolongkan menjadi protein sederhana dan protein gabungan. Dimana, protein sederhana merupakan protein yang hanya terdiri atas molekul-molekul asam amino dan protein gabungan merupakan protein yang berkaitan dengan senyawa bukan protein antara lain; mukoprotein, lipoprotein dan nucleoprotein (Marzuki dan Amirullah, 2010).

Protein dapat dipisahkan atau dimurnikan berdasarkan berat molekul, muatan dan afinitas elektronnya (Nelson dan Cox, 2005). Metode pemisahannya dikenal dengan istilah elektroforesis yang merupakan metode yang dapat digunakan untuk menentukan berat molekul protein (BM), pendeteksian kemurnian dan kerusakan dari protein atau asam nukleat serta penetapan titik isoelektrik protein (Bintang, 2010).

Profil protein merupakan gambaran kandungan protein yang terdapat pada sampel dimana molekul protein dipisahkan secara spesifik berdasarkan berat molekulnya dengan metode SDS-PAGE (Roy *et al.*, 2012). Umumnya, analisis profil protein dari daging dilakukan dengan pemisahan protein menjadi molekul yang lebih sederhana dengan menggunakan teknik elektroforesis SDS-PAGE dan secara jelasnya, dilakukan berdasarkan pengukuran jarak perpindahan (Rf) dalam mengidentifikasi profil protein pada masing-masing sampel (Hermanto dan Meutia, 2009).

SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamid Gel Electrophoresis*) menurut Sudjadi (2012) dalam Wahyudi dan Maharani

(2017) yaitu salah satu metode elektroforesis yang dipakai dalam menganalisa pita protein secara kualitatif yang umumnya dipakai untuk penentuan berat molekul suatu protein dan memonitor pemurnian protein. Protein dalam gel diperlihatkan dengan pewarnaan *Coomasie Brilliant Blue*. Lebih lanjut oleh Putranto dkk. (2006) bahwa elektroforesis protein dengan SDS-PAGE menggunakan sistem gel *discontinue* yang terdiri atas *stacking* gel dan *separating* gel. Proses elektroforesis dijalankan pada arus 20 mA dan tegangan 50 volt. Gel kemudian diwarnai dengan *commasie brilliant blue R250*

Tujuan penulisan ini adalah mereview analisis protein ikan dengan metode SDS-PAGE berdasarkan data sekunder.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan adalah bersifat deskriptif korelasi. Adapun pendekatan yang digunakan adalah pendekatan *cross sectional* dengan cara review atau pengumpulan data sekunder hasil-hasil penelitian yang didasarkan pada perlakuan penggaraman (Wahyudi dan Maharani, 2017) dan pengendapan Ammonium sulfat dan isopropyl (Mabrur dkk., 2018).

Deskripsi Penelitian Ekstraksi Protein Ikan

Ikan yang sudah dikeringkan dan dihaluskan kemudian ditimbang 1 g. Dilarutkan dalam 9,5 ml *physiological saline* (NaCl 0.9%) dalam beker gelas 50 mL lalu dihomogenkan dengan *magnetic bar* dan *magnetic stirrer* pada suhu 4 °C selama 1 menit. Kemudian diaduk konstan selama 20 menit pada suhu 2 °C setelah itu disentrifuse selama 30 menit pada suhu 4 °C dengan kecepatan 4000 rpm. Supernatan dimasukkan ke dalam lemari pendingin (*freezer*) -18°C sebelum dianalisis SDS-PAGE.

SDS-PAGE

Gel yang digunakan dalam elektroforesis gel yaitu *stacking gel* 4% dan *separating gel* 12,5%. Menyiapkan *supernatant* dengan penambahan *buffer* dengan perbandingan 1:1, dipanaskan pada suhu 100 °C selama 5 menit. Memasukan masing-masing sampel sebanyak 20 µl kedalam sumur-sumur gel. Elektroforesis dijalankan pada arus 20 mA selama 40-50 menit atau sampai pelacak warna (*tracking dye*) mencapai jarak 0,5 cm dari dasar gel.. Lalu gel direndam selama 60 menit dalam larutan *staining* yang berisi *Coomasie Brilliant Blue R-250* 1 g dalam 450 ml methanol : 100 ml asam asetat glasial : 450 ml air pada suhu kamar. Kemudian dilakukan tahap penghilangan warna

(*destaining*). Berat molekul pada masing-masing pita protein kemudian dihitung sesuai kurva standar (10,5 – 175 kDa).

Pembuatan Gel

Separating gel dibuat, ditambahkan butanol untuk menutupi permukaan dan dibiarkan sampai terjadi polimerisasi kemudian dibersihkan dengan aquades dan ditambahkan stacking gel. Sisir dimasukkan dan dibiarkan sampai terjadi polimerisasi. Sisir diangkat maka akan terbentuk sumuran (*well*). Dimasukkan sampel ke *well* dengan perbandingan 4:1 (16 µl sampel : 4 µl sampel buffer). Tambahkan *running buffer* pada alat dan *power supply* dihidupkan. Ditunggu hingga proses *running* selesai yang ditandai dengan turunnya *Bromo Phenol Blue* sampai ke dasar. Kemudian gel diwarnai dengan *Commasie Brilliant Blue R-250* selama 120 menit hingga pita protein terwarnai. *Destaining gel* 3–4 kali hingga gel tampak bersih, dimasukkan gel ke dalam larutan asam asetat glasial 10%, kemudian di *press* dan dikeringkan selama 48 jam di ruangan gelap. Untuk menentukan berat molekul protein, dihitung menggunakan *Rf* dan diplotkan pada grafik logaritma dari *Rf* marker protein yang berat molekulnya telah diketahui (Darmawati dkk., 2012; Wahyudi dan Maharani, 2017).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Prinsip analisis SDS-PAGE menurut Yuanita dkk. (2010) adalah pemisahan protein berdasarkan ukuran molekul. Detergen ionik (SDS) digunakan untuk membentuk kompleks protein yang bermuatan negatif, sehingga protein bergerak menuju ke arah positif. Gel SDS-PAGE diamati dan didokumentasikan. Berat molekul (*Mr*) protein sampel ditentukan berdasarkan kurva standar dari persamaan garis antara log berat molekul protein marker dengan nilai *Rf* masing-masing pita protein marker.

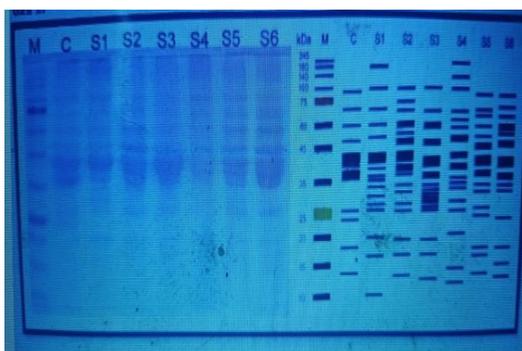
Rf ditentukan berdasarkan rumus yang dikemukakan oleh Nisa (2016) :

$$Rf = \frac{\text{Jarak migrasi protein}}{\text{Jarak tracking dye}} \dots\dots\dots (1)$$

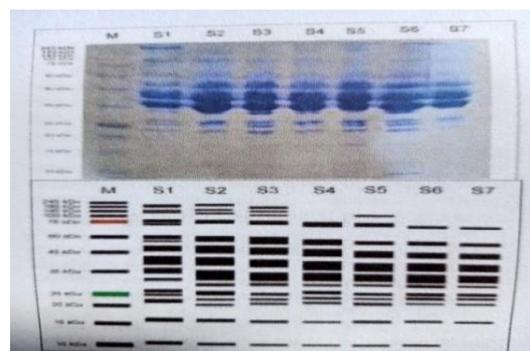
Berdasarkan hasil analisis elektroforesis dengan metode SDS-PAGE yang dilakukan (Wahyudi dan Maharani, 2017) (Gambar 1) dimana ikan tenggiri yang tidak dilakukan penggaraman dan penggaraman berkonsentrasi 10, 20, dan 30% b/b dengan lama penggaraman 12, 24 dan 36 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada konsentrasi penggaraman 10% b/b selama 12 jam memiliki lebih banyak pita protein mayor dibandingkan penggaraman 20 dan 30% b/b selama 12 jam dan 10, 20 dan 30% b/b selama 24 dan 36 jam. Pada penggaraman 30% b/b selama 36 jam tidak dilanjutkan karena semua pita protein mayor tebal sudah terdenaturasi menjadi pita protein mayor tipis dan pita protein minor.

Sebagaimana yang dikemukakan oleh Tasman (2015) bahwa Proses penggaraman menyebabkan turunnya kelarutan protein. Keadaan ini terjadi karena terbentuknya ikatan silang dari disulfida yang menyebabkan kelarutan protein menurun. Penggunaan kadar garam yang tepat akan mengikat protein agar tidak terjadi peningkatan kelarutan. Kadar garam yang digunakan sebesar 15% dapat menghalangi kerusakan protein dalam proses penggaraman, sehingga semakin besar konsentrasi garam maka kadar protein akan semakin berkurang.

Estiasih (2016) mengemukakan bahwa garam mempengaruhi stabilitas struktural protein. Hal ini berkaitan dengan kemampuan garam untuk mengikat air secara kuat dan mengubah sifat hidrasi protein. Pada konsentrasi rendah, garam menstabilkan struktur protein karena meningkatkan hidrasi protein dan terikat lemah pada protein. Sebaliknya, garam juga dapat menyebabkan ketidakstabilan struktur protein karena menurunkan hidrasi protein dan berikatan kuat dengan protein.



Gambar 1. Profil Ikan Tenggiri Dengan Variasi Lama Penggaraman



Gambar 2. Profil Protein Daging Ikan Bandeng

Pengaruh garam untuk stabilisasi atau destabilisasi struktur protein berkaitan dengan konsentrasi dan pengaruhnya terhadap ikatan air. Peningkatan stabilitas protein pada kadar garam rendah disebabkan oleh peningkatan ikatan hidrogen antar molekul air. Sebaliknya, pada konsentrasi tinggi, garam mendenaturasi protein karena merusak struktur air sehingga air menjadi pelarut yang baik untuk residu nonpolar protein.

Feri dkk. (2017) melakukan penelitian terhadap perbedaan profil protein terhadap daging ikan Bandeng sebelum dan sesudah penggaraman. Penggaraman dengan konsentrasi 10 dan 20 % selama 30 menit (Gambar 2). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa jumlah total pita protein pada profil protein yang paling sedikit mengalami perubahan dibandingkan kontrol. Namun berdasarkan analisis berat molekul, terlihat bahwa profil protein yang paling mendekati kontrol baik dari segi jumlah total pita protein maupun distribusi pita mayor dan minor adalah yang berasal dari sampel dengan konsentrasi penggaraman 10% selama 30 menit. Terlihat pada Gambar 2 bahwa sampel S2-S4 ada terjadi penipisan dengan pengurangan pada pita-pita protein dari 14 menjadi 11 pita dan sampel S5-S7 juga terjadi pengurangan pita dari 12 menjadi 10 pita yang artinya semakin tinggi kadar penggaraman maka semakin tinggi pula tingkat denaturasi protein. Sedangkan pada sampel konsentrasi yang sama dengan waktu berbeda dapat dilihat bahwa sampel S2 dengan S5 dari 14 menjadi 12 pita, S3 dengan S6 dari 14 menjadi 11 pita, dan S4 dengan S7 dari 11 menjadi 10 pita yang artinya semakin lama waktu penggaraman maka semakin tinggi pula tingkat denaturasi protein pada ikan yang ditandai pita-pita protein berkurang atau menipis.

Dari hasil yang diperolehnya, Feri dkk. (2017) merekomendasikan bahwa kondisi penggaraman merupakan hal yang paling disarankan. Dimana dari hasil yang diperoleh, memperlihatkan bahwa terjadi denaturasi protein paling sedikit pada sampel ikan bandeng yang digunakan. Proses denaturasi protein yang ditandai dengan keluarnya cairan dan pengerasan pada daging ikan.

Sebagaimana dikemukakan oleh Eddy dalam Feri dkk. (2017) bahwa secara garis besar, selama proses penggaraman berlangsung terjadi penetrasi garam ke dalam tubuh ikan dan keluarnya cairan dari tubuh ikan karena adanya perbedaan konsentrasi, akan melarutkan kristal garam atau mengencerkan larutan garam. Pada saat itulah terjadi pengentalan cairan tubuh yang masih tersisa dan penggumpalan protein (*denaturasi*) serta

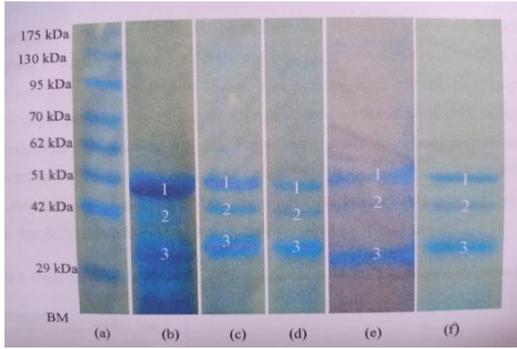
pengerutan sel-sel tubuh ikan sehingga sifat dagingnya berubah.

Hasil penelitian Feri dkk. (2017) sejalan dengan penelitian Syahrudin (2013) tentang pengaruh penggaraman terhadap protein ikan layang yang menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi garam pada ikan terlihat proteinnya makin terdenaturasi. Penggaraman pada ikan bandeng sebagaimana pada ikan yang lain dapat menyebabkan protein ikan terdenaturasi. Analisis konsentrasi garam yang digunakan dan lama waktu penggaraman perlu dilakukan untuk mengetahui proses penggaraman terbaik ditinjau dari kualitas protein.

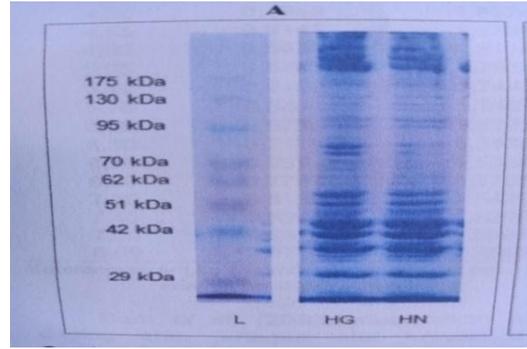
Syahrudin (2013) melaporkan (Gambar 3) bahwa pada perlakuan ikan Layang dengan variabel bebas adalah konsentrasi garam NaCl 10, 20, 30 dan 40% dari berat total ikan (w/w). Berat molekul pada masing-masing pita protein kemudian dihitung sesuai kurva standar (10,5 – 175 kDa).

Berdasarkan dari data hasil penelitian bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap total N pada semua sampel segar (3,09%), 10% (2,59%), 20% (3,16%), 30% (2,70%), dan 40% (3,19%). Pada sampel yang tidak diberi NaCl (0,32%). Hasil ini menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang signifikan disebabkan karena sampel telah mengalami pembusukan/ degradasi oleh mikroorganisme sehingga banyak jaringan yang sudah mengalami kerusakan dan menunjukkan total N sangat kecil. Dalam metode ini tidak dapat dilakukan pada sampel (ikan) yang mengalami pembusukan karena pada proses pembusukan kemungkinan bakteri pengurai dapat menguraikan protein maupun karbohidrat menjadi CO₂ dan NH₃ sehingga NH₃ banyak yang hilang karena proses pengeringan (di bawah sinar matahari) sehingga dapat menyebabkan hasil yang diperoleh (N total) sangat kecil yang ditunjukkan dengan sampel 0%, diperoleh N total sebesar 0,32%.

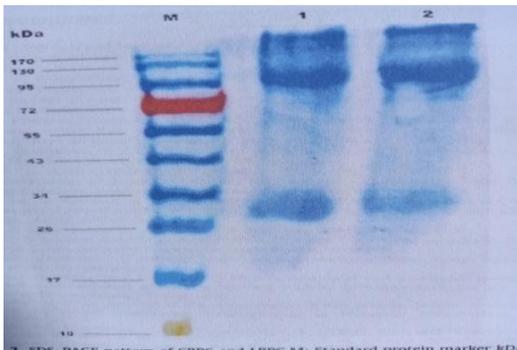
Hasil yang diperoleh juga menunjukkan telah terjadi migrasi protein berdasarkan berat molekulnya yang menggambarkan bahwa semua sampel diambil pada jenis ikan yang sama yang terlihat pada keberadaan 3 *band* yang mirip pada setiap sampel. *band* yang pertama (sekitar 49,02 kDa) pada sampel 0% terlihat tebal kemudian pada sampel 10%, 20%, 30%, dan 40% makin menipis yang menunjukkan bahwa denaturasi protein dapat dipengaruhi oleh adanya penambahan garam yang menyebabkan molekul protein terpotong menjadi lebih kecil yang dapat lolos dari pori-pori gel sehingga *band* tersebut terlihat tipis.



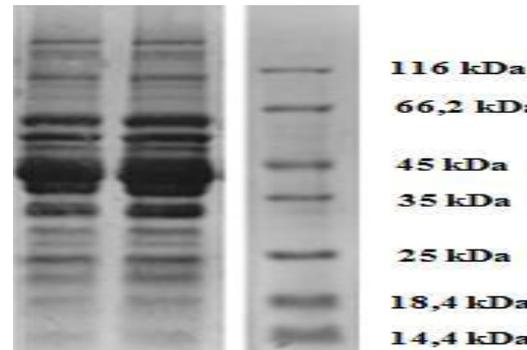
Gambar 3. Profil Protein Daging Ikan Layang



Gambar 4. Profil Protein Daging Ikan Haruan



Gambar 5. Profil Protein Ikan Gabus (*Channa striatus*) dan ikan Kakap (*Lates calcarifer*)



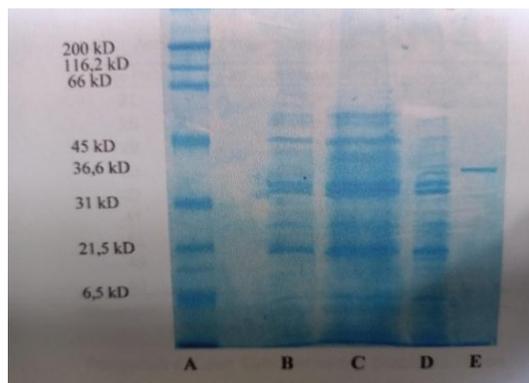
Gambar 6. Hasil Elektrofesis Ekstrak Protein Ikan Tongkol

Selain dapat menyebabkan denaturasi akibat dari penambahan garam, dengan adanya perlakuan penambahan garam dapat juga berfungsi untuk mengawetkan. Hal ini terlihat dari sampel 0% yang menunjukkan adanya *smr* yaitu banyaknya molekul yang menumpuk dibawah keberadaan 3 *band* utama sehingga terlihat lebih gelap yang menandakan bahwa sampel ikan tersebut terdegradasi oleh mikroorganisme sedangkan pada sampel 10%, 20%,30%, dan 40% tidak menunjukkan adanya *smr*. Kejenuhannya meningkat 10% dari kejenuhan semula. Kemudian diinkubasi dan disentrifus dengan car yang sama. Supernatan dibuang dan pellet disuspensi dengan *Tris* HCl 10 mM pH 8,0.

Berdasarkan hasil elektrofesis yang telah dilakukan Mabur dkk. (2018) (Gambar 4), didapatkan bahwa jumlah band (pita) protein yang terseparasi dari haruan yang berasal dari dua lokasi berbeda memiliki perbedaan dalam jumlah band protein. Ikan haruan yang berasal dari gambutmemiliki band yang lebih banyak yaitu sebanyak 27 buah sedangkan haruan yang berasal dari Nagara mempunyai jumlah band protein sebanyak 23 buah. Berat protein yang terseparasi bervariasi dari 24-191 kDa.

Penelitian Mabur dkk. (2018) menganalisis profil protein melalui pengendapan Ammonium sulfat yang konsentrasinya paling tinggi. 10 μ L Sampel protein ditambah dengan 40 μ L *Laemmli sample buffer*. Kemudian di vortex sampai homogen dan dipanaskan menggunakan waterbath selama 5 menit pada suhu 70 $^{\circ}$ C. Protein diendapkan secara dua tahap Ammonium sulfat dengan kejenuhan 20-80%. Tahap pertama adalah dengan penambahan Ammonium sulfat padat untuk kejenuhan tertentu. Kemudian, diinkubasi selama 30 menit pada suhu 0 $^{\circ}$ C. Larutan protein kemudian disentrifus kecepatan 15.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4 $^{\circ}$ C. Kemudian ekstrak protein ditambahkan lagi dengan Ammonium sulfat padat.

Hasil penelitian Mabur dkk. (2018) juga menunjukkan bahwa perbedaan asal geografis haruan mempengaruhi profil protein dan jumlah band. Perbedaan kondisi geografi menyebabkan teradinya perbedaan genetik. Hal ini menunjukkan bahwa kondisi lingkungan atau daerah asal mempengaruhi keanekaragaman genetik Haruan, sehingga informasi mengenai profil protein pada Haruan dapat dimanfaatkan untuk analisis keragaman genetik populasi Haruan.



Gambar 7. Profil Protein Ekstrak Fitase *Bacillus subtilis*

Selain perlakuan penggaraman dan pengendapan ammonium sulfat, Galla dkk. (2012) melakukan analisis profil protein ikan segar dengan perlakuan menggunakan isopropanol dengan rasio solid terhadap pelarut 1: 3 (b / v) pada suhu kamar (RT) 28 ± 2 C selama 2 jam (Gambar 5). Pelarut didekantasi dan ekstraksi diulang selama tiga kali untuk menghilangkan lipid secara maksimal. Residunya adalah dikeringkan dalam pengering vakum pada suhu 45 ± 2 C selama 8 jam. Kemudian dihilangkan lemak dengan penggilingan menjadi bubuk menggunakan mixer dan dilewatkan hingga 180 mesh untuk mendapatkan konsentrat protein telur C. *Striatus* (CRPC) dan *L. calcarifer* (LRPC). Konsentrat protein telur adalah disiapkan dalam rangkap dua, dikemas dalam polietilen poliester metalik (MPE) kantong laminasi dan disimpan pada suhu 4 °C.

Hasil penelitian Galla dkk. (2012) menunjukkan bahwa profil protein ikan Gabus (*Channa Striatus*) dan ikan Kakap (*Lates calcarifer*) dengan analisis profil SDS-PAGE dari CRPC dan LRPC menunjukkan bahwa hasil serupa pita protein berat molekul antara 170 dan 10 kDa. Band di kedua konsentrat protein telur cocok dengan penanda 170 kDa (MBP - galactosidase), 95 kDa (*triadin*), 55 kDa (*fosfatase*). Terlepas dari itu, band di >30 dan >170 kDa terlihat di kedua konsentrat protein.

Chalid dkk. (2019) juga melaporkan hasil analisis profil protein ikan Tongkol dengan perlakuan larutan *bufer fosfat* (BPS) 0.05 M pH 7.5 sebanyak 10 mL dan 0.02 mL *aprotinin* (*inhibitor protease*) menggunakan blender selama 3 menit. Suspensi ikan tongkol disentrifuse pada kecepatan 5000 x g pada 4 °C selama 15 menit. Supernatan dikeringkan dengan *freeze dryer* dan disebut dengan ekstrak protein ikan tongkol. Ekstrak protein ikan tongkol dilarutkan dengan 2 mL *phosphate buffer saline* (PBS) dari 0,1 gr sampel yang telah dihomogenkan.

Berdasarkan hasil analisis profil protein Chalid dkk. (2019) yang ditunjukkan dengan Gambar 6, angka 1 dan 2 mewakili variasi konsentrasi ekstrak protein ikan Tongkol yaitu 15 dan 20 µg/L. Berat molekul ikan Tongkol ditunjukkan oleh pita protein SDS-PAGE dengan *software Gel Anayzer 2010a* Diperoleh 15 pita protein ekstrak ikan Tongkol yaitu protein dengan kisaran berat molekul antara 17-152 kDa.

Sebagai pembandingan profil protein pada ikan, Yuanita dkk. (2010) telah melakukan penelitian pada tumbuhan. Pemurnian terhadap ekstrak kasar enzim fitase hasil isolasi dilakukan melalui pengendapan dengan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_3$, dialisis dan filtrasi gel. Prinsip pengendapan dengan ammonium sulfat adalah *salting out*, dimana Ammonium sulfat mampu mengikat molekul air yang mengelilingi protein sehingga terjadi pengendapan protein. Pengendapan protein akan memekatkan enzim dan memisahkan protein berdasar sifat ioniknya (Gambar 7).

Berdasarkan hasil SDS-PAGE, pada sumur B yang merupakan enzim fitase yang diisolasi dari supernatan, terlihat masih banyak terdapat pita-pita protein baik protein yang merupakan enzim fitase maupun pengotor. Hal ini terindikasi dengan masih rendahnya aktivitas fitase. Sumur C dan D merupakan hasil pengendapan dengan ammonium sulfat 80% dan dialisis, yang bertujuan memisahkan enzim dari senyawa-senyawa yang tidak dikehendaki. Aktivitas kadar protein tertinggi terdapat pada fraksi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_3$ 60-80% dibandingkan dengan hasil fraksi yang lain. Fraksi yang memiliki aktivitas fitase dan kadar protein tertinggi kemudian dialisis menggunakan membrane selofan dan buffer Tris-HCl 0,1 M pada pH 7.

Hasil pemurnian dengan kolom Sephadex G-100 pada fraksi ke-7 menunjukkan hasil satu pita tunggal dengan berat molekul (M_r) sekitar 36,6 kDa. Hal ini berarti bahwa telah dihasilkan protein murni dengan aktivitas fitase sebesar 0,235 U/ml yang ditunjukkan dengan adanya pita

tunggal pada elektroforegram SDS-PAGE. Pita tersebut diperkirakan enzim fitase isolat *Bacillus subtilis* HG yang ditandai dengan tingginya aktivitas fitase pada fraksi tersebut.

KESIMPULAN

Profil protein merupakan gambaran kandungan protein yang terdapat pada sampel dimana molekul protein dipisahkan berdasarkan berat molekulnya dengan metode SDS-PAGE. Secara kualitatif metode SDS-PAGE digunakan untuk penentuan berat molekul suatu protein dan memonitor pemurnian protein yang diperlihatkan dengan pewarnaan Coomassie Brilliant Blue. Perolehan berat molekul ikan antara 17-152 kDA berbeda dengan tumbuhan (fitase *Bacillus subtilis*) sebesar 36,6 kDA yang disebabkan adanya perbedaan struktur molekul penyusun protein yang berbeda pada ikan dan tumbuhan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah mendukung hingga penulisan ini selesai.

DAFTAR PUSTAKA

- Adawyah, R., 2011. *Pengolahan dan Pengawetan Ikan*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Almatsier, S., 2002. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Bintang, M., 2010. *Biokimia: Teknik Penelitian*. Jakarta: Erlangga.
- Chalid, S.Y., Syah, D., Giriwono, P.E., Rungkat, F., dan Zakaria, Z., 2019. Profil dan Sensitivitas Protein Alergen Ikan Tongkol (*Thunnus albacares*) sebagai Reagen Skin Prick Test (SPT). *Jurnal Kimia Valensi*, 5(1), 44-55.
- Darmawati, S., Haribi, R., dan Anwar, S., 2012. Analisis Molekuler Profil Protein Pilli untuk Mengungkap Hubungan Similaritas 26 Strain *Salmonella typhi* Isolat Jawa. *Seminar Hasil-Hasil Penelitian-LPPM UNIMUS*.
- Estiasih, T., 2016. *Kimia dan Fisik Pangan*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Feri, Ethica, S.N., dan Mukaromah, A.H., 2017. Profil Protein Daging Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) Menggunakan SDS-Page Sebelum dan Sesudah Penggaraman. *Prosiding Seminar Nasional Hasil-Hasil Penelitian Dan Pengabdian Masyarakat, Universitas Muhammadiyah Semarang*.
- Galla, N.R., Karakala, B., Akula, S., dan Pamidighantam, P.R., 2012. Physico-chemical, Amino Acid Composition, Functional and Antioxidant Properties of Roe Protein Concentrates Obtained from *Channa striatus* and *Lates calcarifer*. *Food Chemistry*, 132(3), 1171-1176.
- Hermanto, S., dan Meutia, C.D.K., 2009. Perbedaan Profil Protein Produk Olahan (Sosis) Daging Babi dan Sapi Hasil Analisa SDS-PAGE. *Jurnal Kimia Valensi*, 1(4), 181-186.
- Kordi, G.H., 2011. *Buku Pintar Budi Daya 32 Ikan Laut Ekonomis*. Yogyakarta: Lily Publisher.
- Mabrur, Rahmy, U.S.A., Sasmita, R., dan Badruzaufari. 2018. Profil Protein Ikan Haruan (*Channa striata*) Asal Kalimantan Selatan. *Prosiding Seminar Nasional Lahan Basah*, 3(1), 39-45.
- Marzuki, I., dan Amirullah, F., 2010. *Kimia dalam Keperawatan I*. Makassar: Pustaka As Salam.
- Nelson, D.L., and Cox, M.C. 2005., *Lehninger: Principles of Biochemistry (4th edn)*. New York: W. H. Freeman & Co.
- Nisa, N., 2016. *Identifikasi, Profil Protein dan Analisis Warna Filet Dori*. Thesis. Institut Pertanian Bogor.
- Pandit, I.G.S., Suryadhi, N.T., Arka, I.B., dan Adiputra, N., 2007. Pengaruh Penyanganan dan Suhu Penyimpanan terhadap Mutu Kimiawi, Mikrobiologis dan Organoleptik Ikan Tongkol (*Auxis thazard*, Lac). *Indonesian Journal of Biomedical Sciences*, 1(3), 1-6.
- Putranto, W.S., Budiarti, S., Suhartono, M.T., Wibawan, I.W.T., dan Hayati, Z., 2006. Pemurnian Ekstraseluler Hyaluronidase Streptococcus agalactiae (Streptokokus Grup B). *Jurnal Ilmu Ternak*, 6(1), 16–22.
- Roy, V. K., Kumar, N. S., and Gurusubramanian, G. 2012. Proteins-Structure, Properties and Their Separation by SDS- Polyacrylamide Gel Electrophoresis. *Science Vision*, 12(4), 170–181.
- Sari, M. 2011. *Identifikasi Protein Menggunakan Fourier Transform Infrared (FTIR)*. Skripsi. Universitas Indonesia.

- Sudjadi. 2012. *Bioteknologi Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Syahrudin, H. 2013. Pengaruh penggaraman terhadap protein ikan layang (*Decapterus rucell*). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 2(1), 1–11.
- Tasman. 2015. *Proses Penggaraman dan Pengeringan serta Pengaruhnya terhadap Protein Ikan*.
- Wahyudi, R., dan Maharani, E.T.W., 2017. Profil Protein pada Ikan Tenggiri dengan Variasi Penggaraman dan Lama Penggaraman Dengan Menggunakan Metode SDS-Page. *Seminar Nasional Pendidikan, Sains Dan Teknologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Muhammadiyah Semarang*, 34-41.
- Yuanita, L., Puspita, A., Surodjo, S., Hidayati, S., Al Amin, F., dan Budiman, A., 2010. Isolasi, Pemurnian dan Karakterisasi Fitase *Bacillus Subtilis* dari Holiwood Gresik. *Berkala Penelitian Hayati*, 15(2), 113–119.