



**PROFIL PROTEIN IKAN BANDENG (*Chanos-chanos*) YANG DIRENDAM
JERUK NIPIS (*Citrus Aurantifolia*)
BERBASIS SDS-PAGE**



**PROGRAM STUDI D IV ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KEPERAWATAN DAN KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG
2018**

***Corresponding Author:**

Sitti Nurjanna J.

Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan kesehatan Universitas Muhammadiyah
Semarang, Semarang Indonesia 50273

Gmail: nurjannahjanuddin@gmail.com

<http://repository.unimus.ac.id>

HALAMAN PERSETUJUAN

Manuscript dengan judul

PROFIL PROTEIN IKAN BANDENG (*Chanos-chanos*) YANG DIRENDAM JERUK NIPIS (*Citrus Aurantifolia*) BERBASIS SDS-PAGE

Telah diperiksa dan disetujui untuk mempublikasikan
Semarang, 17 Oktober 2018



Dra. Endang Tri Wahyuni M, M.Pd
NIK. 28.6.1026.042

***Corresponding Author:**

Sitti Nurjanna J.

Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan kesehatan Universitas Muhammadiyah
Semarang, Semarang Indonesia 50273

Gmail: nurjannahjanuddin@gmail.com

<http://repository.unimus.ac.id>

**SURAT PERNYATAAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya :

Nama : Sitti Nurjanna J.

NIM : G1C217249

Fakultas/Jurusan : Ilmu Keperawatan Dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang / Jasus D-IV Analis Kesehatan

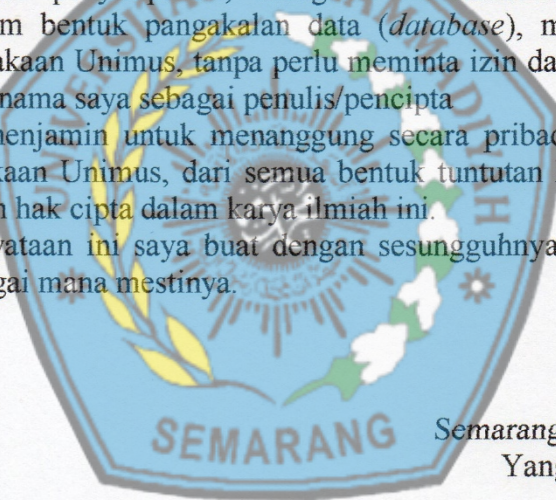
Judul : Profil Protein Ikan Bandeng (*Chanos-chanos*) yang Direndam Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) Berbasis SDS-PAGE

Gmail : nurjannahjanuddin@gmail.com

Dengan ini menyatakan bahwa saya menyetujui untuk :

1. Memberikan hak bebas royalti kepada Perpustakaan Unimus atas penulisan karya ilmiah saya, demi pengembangan ilmu pengetahuan
2. Memberikan hak penyimpanan, mengalih mediakan/mengalih formatkan, mengelola dalam bentuk pangakalan data (*database*), mendistribusikannya, kepada Perpustakaan Unimus, tanpa perlu meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta
3. Bersedia dan menjamin untuk menanggung secara pribadi tanpa melibatkan pihak Perpustakaan Unimus, dari semua bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran hak cipta dalam karya ilmiah ini.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan semoga dapat digunakan sebagai mana mestinya.



Semarang, 17 Oktober 2018
Yang Menyatakan

(Sitti Nurjanna J.)

***Corresponding Author:**

Sitti Nurjanna J.

Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

Gmail: nurjannahjanuddin@gmail.com

<http://repository.unimus.ac.id>

Profil Protein Ikan Bandeng (*Chanos-chanos*) yang Direndam Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) Berbasis SDS-PAGE

Sitti Nurjannah J^{1*}, Sri Darmawati², Endang Tri Wahyuni Maharani³

¹Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang

²Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang

³Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Muhammadiyah Semarang

Abstrak

Info artikel

Milkfish is one of potential animal protein because it is easy to digest but easily decomposes and has a fishy smell. Lime is one of the fruits that has a distinctive aroma to neutralize fishy smell, contain citric acid, ascorbic acid, and amino acids (tryptophan and lysine) which can cause denatured proteins. The purpose of this research was to see the protein profile of milkfish without soaking the lime solution and soaking the lime solution with a variation of concentration is 10%, 15%, and 20% and the variation of soaking time 5, 10, and 15 minutes. The protein profile of milkfish was analyzed using the SDS-PAGE 12% method. The results showed that the protein control bands consist of 22 protein bands (8 major bands and 14 minor bands), after soaking with concentration 10% for 5 and 10 minutes, showing 20 protein bands (7 major bands and 13 minor bands), for 15 minutes there are 19 protein bands (6 major bands and 13 minor bands). Soaking with concentration 15% for 5, 10, and 15 minutes in a row showing 20 protein bands (7 major bands and 13 minor bands), 19 protein bands (6 major bands and 13 minor bands), and 18 protein bands (6 major bands and 12 minor bands). Soaking with concentration 20% for 5 and 10 minutes, there are 19 protein bands (6 major bands and 13 minor bands), for 15 minutes it showing 17 protein bands (6 major bands and 11 minor bands). The higher the concentration of lime and soaking time of lime solution, the more protein is denatured in milkfish. Based on the results showed that citric acid, ascorbic acid and amino acids (tryptophan and lysine) in lime can break peptide bonds in fish so that the resulting protein subunits change.

Keywords :

Milkfish, lime, protein profile, SDS-PAGE

Pendahuluan

Protein merupakan zat yang sangat penting bagi setiap organisme serta merupakan komponen terbesar dari semua sel hidup. Protein dalam tubuh berfungsi sebagai sumber utama energi selain karbohidrat dan lemak, sebagai zat pembangun dan zat pengatur dalam tubuh (Diana, 2009). Protein sangat penting dalam pembentukan sel-sel baru. Kekurangan protein dapat menyebabkan gizi kurang dan gizi buruk termasuk marasmus dan kwashiorkor (Suyadi, 2009).

Ikan bandeng merupakan ikan air payau yang banyak dikonsumsi sebagai sumber protein hewani yang potensial karena mudah

dicerna, namun memiliki kelemahan mudah membusuk. Selain mudah rusak ikan bandeng juga tergolong ikan yang memiliki bau amis sehingga masyarakat pada umumnya menambahkan jeruk nipis dalam proses pengolahannya (Sarfiana, dkk, 2017).

Pengolahan bahan pangan berprotein yang tidak dikontrol dengan baik dapat menyebabkan terjadinya penurunan nilai gizinya. Secara umum pengolahan bahan pangan berprotein dapat dilakukan secara fisik, kimia atau biologis. Secara kimia menggunakan pelarut organik, pengoksidasi, alkali, asam atau belerang dioksida.

*Corresponding Author:

Sitti Nurjannah J.

Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

Gmail: nurjannahjanuddin@gmail.com

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) adalah salah satu buah yang dapat menghilangkan bau amis yang ditimbulkan karena berkurangnya kesegaran ikan. Penambahan asam yang terkandung dalam jeruk nipis akan mempercepat kerja enzim pada pemecahan protein menjadi gugus peptida yang berantai pendek atau asam amino yang mudah larut di dalam air (Petalia P, 2016).

Protein yang terdenaturasi akan menyebabkan kelarutan berkurang. Asam atau basa akan memecah ikatan ion intramolekul yang menyebabkan koagulasi protein. Semakin lama protein bereaksi dengan asam atau basa kemungkinan besar ikatan peptida terhidrolisis sehingga struktur primer protein menjadi rusak (Triyono, 2010).

Karakteristik profil protein dapat diketahui dengan metode elektroforesis SDS-PAGE. SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrilamide Gel Electrophoresis*) adalah salah satu jenis elektroforesis yang digunakan untuk memisahkan rantai polipeptida pada protein berdasarkan kemampuan untuk bergerak dalam arus listrik yang bermigrasi dari kutub negatif ke kutub positif. (Saputra, 2014). Tujuan penelitian ini untuk Mengidentifikasi profil protein pada ikan bandeng yang direndam jeruk nipis dengan variasi konsentrasi dan variasi waktu perendaman berbasis SDS-PAGE.

Bahan dan Metode

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *mikrocentrifuge*, *chamber elektroforesis*, *waterbath*, dan *rotator*. Bahan yang digunakan adalah 2 ekor ikan bandeng yang dibeli di pasar Rejondani Sleman Yogyakarta, jeruk nipis dibuat dalam bentuk larutan dengan variasi konsentrasi 10 % v/v, 15 % v/v, dan 20 % v/v, H₂O steril, polyakrilamid 30 %, TEMED, APS 10 %, SDS 10 %, 1,5 M Tris pH 8,8 dan 6,8, staining 0,1 %, *Coomasie Brilliant Blue* (CBB) R-250, destaining, asam asetat glasial 10 %, butanol, alkohol 70 %, running buffer 1x, biorad assay, PBS pH 7,4, sampel buffer, dan marker protein.

***Corresponding Author:**

Sitti Nurjanna J

Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang. Semarang Indonesia 50273

Gmail: nurjannahjanuddin@gmail.com

Persiapan ikan bandeng

Pemilihan 2 ekor ikan bandeng segar, insang dan isi perut ikan dibersihkan. Ikan yang telah dicuci ditiriskan dalam wadah keranjang plastik.

Preparasi Larutan Jeruk Nipis

Jeruk nipis dibersihkan dengan air mengalir, dipotong lalu diperas hingga larutan terpisah dengan kulit buah (100% v/v). Selanjutnya dibuat konsentrasi 10 % v/v, 15 % v/v dan 20 % v/v, dihitung dengan rumus pengenceran. Konsentrasi 10 % v/v dibuat dengan cara dipipet 50 mL larutan jeruk nipis 100 % dimasukkan ke labu ukur 500 mL, ditambahkan akuades steril sampai tanda batas, dihomogenkan. Dilakukan prosedur yang sama untuk pembuatan larutan jeruk nipis masing masing sebanyak 500 mL konsentrasi 15 % v/v dan 20 % v/v.

Perendaman Sampel Dengan Jeruk Nipis

Ikan bandeng ditimbang sebanyak 10 gram, direndam dalam tiap variasi konsentrasi 10 %, 15 % dan 20 % dan masing-masing direndam selama 5, 10 dan 15 menit, dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Kontrol dibuat 10 gram ikan bandeng tanpa perendaman.

Isolasi Protein

Sampel dihaluskan pada alat penggerus, dan ditambahkan PBS 1x kemudian disentrifus dan diambil supernatannya lalu ditambahkan dengan Biorad Protein Assay (BPA). Kemudian absorbansi sampel dibaca dengan menggunakan spektrofotometer $\lambda 595$ nm untuk mendapatkan nilai konsentrasi protein sampel.

Elektroforesis SDS-PAGE 12 %

Plate yang sudah berisi gel dimasukkan ke dalam *chamber elektroforesis*, dimasukkan running buffer kedalamnya sampai bagian atas dan bawah gel terendam, sampel disiapkan, sampel ditambah 5x sampel buffer dengan perbandingan 4:1 (v/v), setelah itu campuran tersebut dipanaskan selama 2 menit didalam air yang mendidih kemudian diletakkan di dalam es. Dimasukkan 6 μ L sampel kedalam well, selanjutnya dialiri dengan tegangan 100 volt, aliran listrik dimatikan setelah *bromophenol blue* mencapai dasar *separating gel*. Keluarkan gel dari alat pencetak secara perlahan.

Pewarnaan Gel dengan *Coomassie Brilliant Blue (CBB)*

Gel dimasukkan dalam larutan staining, lalu inkubasi sambil digoyang selama kurang lebih 2-3 jam hingga pita protein terwarnai. Selanjutnya untuk menghilangkan warna pada gel yang tidak mengandung protein diberi larutan destaining, hingga gel tampak bersih.

Hasil

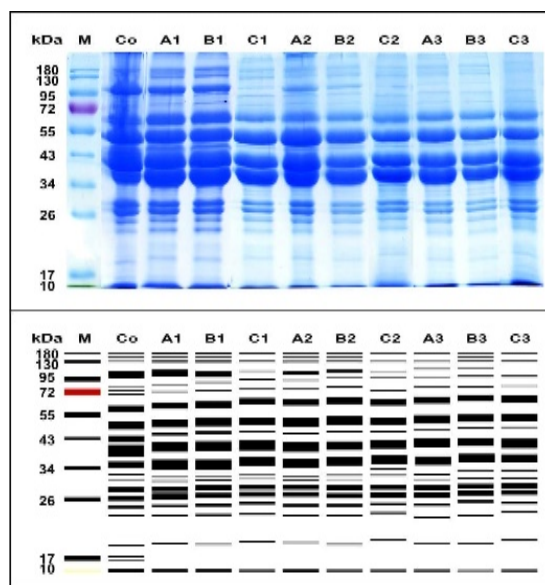
Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan bandeng segar yang direndam dalam larutan jeruk nipis dengan variasi konsentrasi 10 %, 15 %, dan 20 % dengan variasi waktu perendaman 5, 10, dan 15 menit, dan ikan bandeng segar tanpa perendaman. Sampel penelitian dibeli di Pasar Rejondani Sleman Yogyakarta.

Tabel 1. Total konsentrasi protein ikan bandeng yang direndam dengan larutan jeruk nipis pada konsentrasi 10 %, 15 %, 20 % dengan waktu perendaman 5, 10 dan 15 menit.

Konsentrasi dan waktu perendaman	Rata-rata total protein ikan bandeng µg/µl	Persentase penurunan
Kontrol	13,3550	-
10 %, 5 menit	10,4676	22 %
10 %, 10 menit	9,2349	31 %
10 %, 15 menit	8,0177	40 %
15 %, 5 menit	9,1957	31 %
15 %, 10 menit	7,6575	43 %
15 %, 15 menit	6,8110	49 %
20 %, 5 menit	7,8966	41 %
20 %, 10 menit	5,3566	60 %
20 %, 15 menit	4,6529	65 %

Persentase penurunan kadar total protein terendah yaitu pada konsentrasi 10 % dengan waktu perendaman 5 menit yaitu 22 %, sedangkan penurunan kadar total protein tertinggi yaitu pada konsentrasi 20 % dengan waktu perendaman 15 menit yaitu 65 %.

Analisis profil protein dengan menggunakan metode SDS-PAGE 12 % terhadap ikan bandeng tanpa perendaman dan dengan perendaman konsentrasi 10 %, 15 %, dan 20 % dengan waktu perendaman 5, 10, dan 15 menit menunjukkan hasil seperti pada gambar 1.



Gambar 1. Hasil *Elektroforesi SDS-PAGE* ulat sagu (kiri) dan Konversi hasil visualisasi gel SDS-PAGE dengan program *Autocad* (kanan)

Keterangan gambar :

M : Marker protein

Co : Kontrol

A1 : Konsentrasi 10 %, 5 menit

B1 : Konsentrasi 10 %, 10 menit

C1 : Konsentrasi 10 %, 15 menit

A2 : Konsentrasi 15 %, 5 menit

B2 : Konsentrasi 15 %, 10 menit

C2 : Konsentrasi 15 %, 15 menit

A3 : Konsentrasi 20 %, 5 menit

B3 : Konsentrasi 20 %, 10 menit

C3 : Konsentrasi 20 %, 15 menit

Menurut Gunanti (2010) penentuan berat molekul protein dilakukan dengan menghitung RF (*Retardation Factor*) dari masing-masing pita (band) protein dengan rumus sebagai berikut :

$$R_f = \frac{\text{Jarak pergerakan pita protein dari tempat awal}}{\text{Jarak pergerakan warna dari tempat awal}}$$

Untuk menentukan berat molekul protein sampel pada gel, dihitung menggunakan R_f dan diplotkan pada grafik logaritmik dari R_f marker protein yang berat molekulnya telah diketahui (Darmawati dkk., 2010).

*Corresponding Author:

Sitti Nurjanna J

Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang. Semarang Indonesia 50273

Gmail: nurjannahjanuddin@gmail.com

Tabel 2. Tabel berat molekul (kDa) pita mayor dan pita minor

Kode Sampel	Pita Protein	Berat Molekul (kDa)
Co	8 pita mayor	111, 66, 53, 47, 41, 38, 29, dan 28
	14 pita minor	180, 168, 130, 88, 86, 79, 34, 33, 25, 24, 19, 18, 17, dan 10
A1	7 pita mayor	116, 67, 53, 41, 37, 30, dan 29
	13 pita minor	180, 158, 130, 95, 82, 47, 34, 33, 26, 25, 20, 17, dan 10
B1	7 pita mayor	116, 67, 53, 41, 37, 30, dan 29
	13 pita minor	180, 158, 130, 95, 82, 47, 34, 33, 26, 25, 20, 17, dan 10
C1	6 pita mayor	66, 51, 41, 37, 30, dan 29
	13 pita minor	180, 158, 130, 116, 95, 82, 47, 34, 33, 27, 26, 20, dan 10
A2	7 pita mayor	116, 67, 51, 41, 37, 30, dan 29
	13 pita minor	180, 158, 130, 116, 95, 82, 47, 34, 33, 27, 26, 20, 17, dan 10
B2	6 pita mayor	67, 51, 41, 37, 31, dan 30
	13 pita minor	180, 158, 130, 116, 95, 82, 47, 34, 33, 27, 26, 20, dan 10
C2	6 pita mayor	67, 51, 41, 37, 31, dan 30
	12 pita minor	180, 158, 130, 95, 82, 47, 34, 33, 27, 26, 20, dan 10
A3	6 pita mayor	67, 51, 41, 37, 31, dan 30
	13 pita minor	180, 158, 130, 116, 95, 82, 47, 34, 33, 27, 26, 20, dan 10
B3	6 pita mayor	67, 51, 41, 37, 31, dan 30
	13 pita minor	180, 158, 130, 116, 95, 82, 47, 34, 33, 27, 26, 20 dan 10
C3	6 pita mayor	67, 51, 41, 37, 31, dan 30
	11 pita minor	180, 130, 95, 82, 34, 33, 27, 26, 20, dan 10

Hasil penelitian tentang visualisasi representasi pita protein ikan bandeng semakin tinggi konsentrasi dan waktu perendaman menyebabkan perubahan sub unit protein dari pita mayor menjadi pita minor yang memiliki kemiripan berat molekul dan beberapa pita protein mayor perlahan hilang.

Diskusi

Protein adalah komponen nutrisi utama yang terdapat dalam daging. Nilai nutrisi daging yang tinggi disebabkan karena daging mengandung asam-asam amino esensial yang lengkap dan seimbang (Soeparno, 2005). Ikan

*Corresponding Author:

Sitti Nurjanna J

Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

Gmail: nurjannahjanuddin@gmail.com

merupakan salah satu bahan pangan sumber protein hewani yang potensial karena mudah dicerna namun mudah membusuk dan memiliki bau amis. Bau amis dapat dinetralisir menggunakan jeruk nipis (Sarfiana, 2017).

Jeruk nipis adalah salah satu buah yang memiliki aroma khas untuk mengurangi aroma yang kurang sedap seperti bau amis. Jeruk nipis mengandung asam sitrat, asam askorbat, dan asam amino (triptofan dan lysin). Penambahan asam yang terkandung dalam jeruk nipis menyebabkan perbedaan isoelektris sehingga protein menggumpal dan akhirnya larut. Suasana asam juga akan mempercepat kerja enzim pada pemecahan protein menjadi gugus peptida yang berantai pendek atau bentuk lebih sederhana (Petalia P, 2016).

Pita-pita protein yang terbentuk pada gel dapat terpisah karena adanya proses separasi protein. Metode *Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrilamide Gell Elektrophoresis* (SDS-PAGE) adalah metode untuk memisahkan sub unit-sub unit protein berdasarkan berat molekul, melalui matriks poliakrilamid yang dialiri medan listrik. Sistem ini terdiri dari dua macam gel yaitu *running gel* dan *stacking gel*. *Stacking gel* terletak di bagian atas yang fungsinya sebagai gel untuk penempatan sampel yang siap untuk diseparasi, sedangkan *running gel* terletak dibagian bawah yang fungsinya untuk memisahkan protein berdasarkan berat molekulnya (Darmawati, 2010).

Kandungan asam sitrat, asam askorbat dan asam amino (triptofan dan lysin). yang terkandung dalam jeruk nipis menyebabkan perbedaan isoelektris sehingga protein menggumpal dan akhirnya larut. Suasana asam juga akan mempercepat kerja enzim pada pemecahan protein menjadi gugus peptida yang berantai pendek atau bentuk lebih sederhana (Petalia P, 2016).

Semakin tinggi konsentrasi larutan jeruk nipis maka semakin tinggi konsentrasi asam sitrat, asam askorbat, dan asam amino (triptofan dan lysin) dalam jeruk nipis menyebabkan semakin kuat menghidrolisis ikatan peptida sehingga terjadi penurunan

kadar protein (tabel 1) dan terjadi perubahan sub unit protein yang ditunjukkan dengan hilangnya protein mayor yang memiliki berat molekul 111 kDa dan 47 kDa (α -aktinin dan cathepsin D), kemudian terjadi hidrolisa menjadi sub unit – sub unit yang lebih kecil yang ditunjukkan dengan perubahan pita mayor menjadi pita minor (gambar 1).

Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan jeruk nipis dan waktu perendaman maka semakin menurun kadar protein dan semakin terdenaturasi protein pada ikan bandeng.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Sri Darmawati, M.Si selaku pembimbing pertama yang telah memberikan waktu, semangat, ilmu dan bimbingan selama penulisan tugas akhir ini,
2. Dra. Endang Tri Wahyuni M, M.Pd selaku pembimbing kedua yang telah banyak memberikan waktu, ilmu dan bimbingan selama penulisan tugas akhir ini,
3. Kepada kedua orang tua saya, Ayahanda Januddin, Ibunda Munirah, atas do'a dan bimbingan secara material dan moril,
4. Kepada teman-teman mahasiswa(i) DIV Analis Kesehatan kelas F

Display. Ilmu dan Teknologi Pangan
Fakultas Pertanian USU : Medan

Saputra, F, R. 2014. *Aplikasi Metode SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrilamid Gel Elektroforesis) untuk Mengidentifikasi Sumber Gelatin pada Kapsul Keras*. Skripsi. UIN Syarif Hidayatullah : Jakarta

Sarfiana, dkk. 2017. *Penentuan Profil Protein Berbasis SDS-PAGE pada Ikan Tongkol (Euthynnus affinis) yang Direndam dengan Ekstrak Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia)*. Skripsi Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan UNIMUS : Semarang

Soeparno. 2015. *Properti dan Teknologi Produk Susu*. Gadjah Mada University Press : Yogyakarta

Suyadi, E.S. 2009. *Kekurangan Energi Protein (KEP)*. Fakultas FKM Universitas Indonesia

Triyono, A. 2010. *Mempelajari Pengaruh Penambahan Beberapa Asam pada Proses Isolasi Protein Terhadap Tepung Protein Isolat Kacang Hijau (Phaseolus radiatus L)*. Seminar Rekayasa Kimia dan Proses. Fakultas Teknik Universitas Diponegoro : Semarang

Referensi

- Darmawati, S, dkk. 2010. *Analisis Molekuler Protein Pili untuk Mengungkap Hubungan Similaritas 26 Strain Salmonella Thyphi Isolat Jawa*. Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Diana, F. M. 2009. *Fungsi dan Metabolisme Protein dalam Tubuh Manusia*. Jurnal Kesehatan Masyarakat Vol. 4. No. 1.
- Petalia, P., dkk. 2016. *Pengaruh Berbagai Jenis Asam terhadap Perubahan Mutu Ikan Mas Nainura Selama Waktu*

*Corresponding Author:

Sitti Nurjanna J

Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang. Semarang Indonesia 50273

Gmail: nurjannahjanuddin@gmail.com