

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Protein

2.1.1 Definisi Protein

Protein berasal dari bahasa Yunani “proteious” yang berarti pertama atau utama. Protein merupakan makromolekul yang menyusun lebih dari separuh bagian dari sel. Protein menentukan ukuran dan struktur sel, komponen utama dari sistem komunikasi antar sel serta sebagai katalis berbagai reaksi biokimia di dalam sel (Fatchiyah dkk, 2011).

Protein merupakan makromolekul yang terbentuk dari asam amino yang tersusun dari atom nitrogen, karbon, dan oksigen, beberapa jenis asam amino yang mengandung sulfur (metionin, sistin dan sistein) yang dihubungkan oleh ikatan peptida. Dalam makhluk hidup, protein berperan sebagai pembentuk struktur sel dan beberapa jenis protein memiliki peran fisiologis (Bintang, 2010).

Protein merupakan senyawa yang terdapat dalam setiap sel hidup. Setengah dari berat kering dan 20 % dari berat total seseorang manusia biasa merupakan protein. Hampir setengahnya terdapat di dalam otot, seperlimanya terdapat di dalam tulang dan kartilago, sepersepuluhnya dalam kulit dan sisanya pada jaringan-jaringan lain serta cairan tubuh. Semua enzim yang terdapat dalam tubuh merupakan protein. Berbagai macam hormon merupakan protein atau turunannya. Asam nukleat di dalam sel, yang bertanggung jawab terhadap transmisi informasi genetik dalam reproduksi sel, sering terdapat dalam bentuk kombinasi dengan protein, yaitu nukleoprotein. Hanya urine dan cairan

empedu yang dalam keadaan normal tidak mengandung protein (Muchtadi D, 2009).

Protein merupakan polimer dari sekitar 21 asam amino berlainan yang dihubungkan dengan ikatan peptida. Asam amino keragaman rantai samping yang terbentuk dengan ikatan peptida. Asam amino memiliki keragaman rantai samping adalah yang terbentuk asam-asam amino tersebut disambungkan protein yang berbeda dapat mempunyai sifat yang berbeda, struktur sekunder dan tersier yang sangat berbeda. Rantai samping dapat bersifat polar dan nonpolar. Kandungan bagian asam amino polar yang tinggi dalam protein meningkatkan kelarutannya dalam air (John, 2008).

2.1.2. Sifat-sifat Protein

Sifat fisikokimia setiap protein tidak sama, tergantung pada jumlah dan jenis asam aminonya. Protein memiliki berat molekul yang sangat besar sehingga bila protein dilarutkan dalam air akan membentuk suatu dispersi koloidal. Protein dapat dihidrolisis oleh asam, basa, atau enzim tertentu dan menghasilkan campuran asam-asam amino (Winarno, 2004). Sebagian besar protein bila dilarutkan dalam air akan membentuk dispersi koloidal dan tidak dapat berdifusi bila dilewatkan melalui membran semipermeabel. Beberapa protein mudah larut dalam air, tetapi ada pula yang sukar larut. Namun, semua protein tidak dapat larut dalam pelarut organik seperti eter, kloroform, atau benzena (Yazid, 2006)

Pada umumnya, protein sangat peka terhadap pengaruh-pengaruh fisik dan zat kimia, sehingga mudah mengalami perubahan bentuk. Perubahan atau modifikasi pada struktur molekul protein disebut denaturasi. Protein yang mengalami

denaturasi akan menurunkan aktivitas biologi protein dan berkurangnya kelarutan protein, sehingga protein mudah mengendap. Bila dalam suatu larutan ditambahkan garam, daya larut protein akan berkurang, akibatnya protein akan terpisah sebagai endapan. Apabila protein dipanaskan atau dilarutkan dengan alkohol, maka protein akan menggumpal. Hal ini disebabkan alkohol menarik mantel air yang melingkupi molekul-molekul protein; selain itu penggumpalan juga dapat terjadi karena aktivitas enzim-enzim proteolitik (Yazid, 2006)

Molekul protein mempunyai gugus amino ($-\text{NH}_2$) dan gugus karboksilat ($-\text{COOH}$) pada ujung-ujung rantainya. Hal ini menyebabkan protein mempunyai banyak muatan (polielektrolit) dan bersifat amfoter, yaitu dapat bereaksi dengan asam dan basa. Pada larutan asam atau pH rendah, gugus amino pada protein akan bereaksi dengan ion H^+ , sehingga protein bermuatan positif. Bila pada kondisi ini dilakukan elektroforesis, molekul protein akan bergerak ke arah katoda. Sebaliknya, pada larutan basa atau pH tinggi, gugus karboksilat bereaksi dengan ion OH^- , sehingga protein bermuatan negatif. Bila pada kondisi ini dilakukan elektroforesis, molekul protein akan bergerak ke arah anoda. Adanya muatan pada molekul protein menyebabkan protein bergerak di bawah pengaruh medan listrik (Yazid, 2006)

Setiap jenis protein dalam larutan mempunyai pH tertentu yang disebut titik isoelektrik (TI). Pada pH isoelektrik (pI) molekul protein yang mempunyai muatan positif dan negatif yang sama, sehingga saling menetralkan atau bermuatan nol. Akibatnya protein tidak bergerak di bawah pengaruh medan listrik. Pada titik isoelektrik, protein akan mengalami pengendapan (koagulasi) paling cepat dan

prinsip ini digunakan dalam proses-proses pemisahan atau pemurnian suatu protein (Yazid, 2006)

2.1.3. Fungsi Protein

Menurut Harti (2014) fungsi protein yaitu :

a. Dalam reaksi kimia sebagai enzim

Hampir semua reaksi biologis dipercepat atau dibantu oleh suatu senyawa makromolekul spesifik yang disebut enzim, dari reaksi yang sangat sederhana seperti reaksi transportasi karbondioksida sampai yang sangat rumit seperti replikasi kromosom. Protein besar peranannya terhadap perubahan-perubahan kimia dalam sistem biologis.

b. Sebagai alat pengangkut dan penyimpan

Banyak molekul dengan BM kecil serta beberapa ion dapat diangkut atau dipindahkan oleh protein-protein tertentu, misalnya hemoglobin mengangkut oksigen dalam eritrosit, sedangkan mioglobin mengangkut oksigen dalam otot.

c. Pertahanan tubuh atau imunisasi

Mekanisme biasanya dalam bentuk antibodi, yaitu suatu protein khusus yang dapat mengenal dan menempel atau mengikat benda-benda asing yang masuk ke dalam tubuh seperti virus, bakteri, dan sel-sel asing lain. Pertahanan tubuh biasanya dalam bentuk antibodi, yaitu suatu protein khusus yang dapat mengenal dan menempel atau mengikat benda-benda asing yang masuk ke dalam tubuh seperti virus, bakteri, dan sel-sel asing lain.

d. Pengatur pergerakan

Protein merupakan komponen utama daging, gerakan otot terjadi karena adanya dua molekul protein yang saling bergeseran.

e. Penunjang mekanisme sebagai tendon

Kekuatan dan daya tahan robek kulit dan tulang disebabkan adanya kolagen, suatu protein terbentuk bulat panjang dan mudah membentuk serabut.

f. Media perambatan impuls syaraf

Protein yang mempunyai fungsi ini biasanya berbentuk reseptor, misalnya rodopsin, suatu protein yang bertindak sebagai reseptor penerima warna atau cahaya pada sel-sel mata.

g. Pengendalian pertumbuhan

Protein ini bekerja sebagai reseptor (dalam bakteri) yang dapat mempengaruhi fungsi bagian-bagian DNA yang mengatur sifat dan karakter bahan.

2.1.4. Klasifikasi Protein

Menurut Yazid (2006) protein dapat dibagi menjadi dua golongan utama berdasarkan struktur molekulnya, yaitu :

- a. Protein globuler, yaitu protein berbentuk bulat atau elips dengan rantai polipeptida yang berlipat. Umumnya, protein globuler larut dalam air, asam, basa, atau etanol. Contoh : albumin, globulin, protamin, semua enzim dan antibodi.
- b. Protein fiber, yaitu protein berbentuk serat atau serabut dengan rantai polipeptida memanjang pada satu sumbu. Hampir semua protein fiber

memberikan peran struktural atau pelindung. Protein fiber tidak larut dalam air, asam, basa, maupun etanol. Contoh : kreatinin pada rambut, kolagen pada tulang rawan, dan fibroin pada sutera.

2.1.5. Tingkatan Struktur Protein

Menurut Fatchiyah dkk (2011) protein dapat dikelompokkan menjadi empat tingkat struktur, yaitu :

a. Struktur primer

Struktur primer protein menggambarkan sekuens linear residu asam amino dalam suatu protein. Sekuens asam amino selalu dituliskan dari gugus terminal amino ke gugus terminal karboksil. Struktur 3 dimensi protein tersusun dari struktur sekunder, tersier, dan kuarterner. Faktor yang menentukan untuk menjaga atau menstabilkan ketiga tingkat struktur tersebut adalah ikatan kovalen yang terdapat pada struktur primer.

b. Struktur sekunder

Struktur sekunder dibentuk karena adanya ikatan hidrogen atau hidrogen amida dan oksigen karbonil dari rangkai peptida. Struktur sekunder utama meliputi α -heliks dan β -strands (termasuk β -sheets).

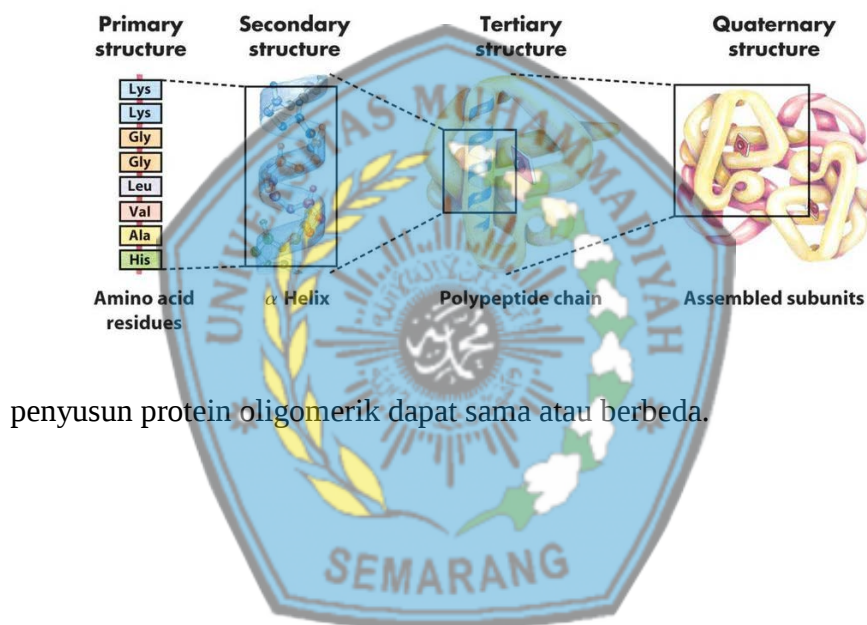
c. Struktur tersier

Struktur tersier menggambarkan rantai polipeptida yang mengalami folded sempurna dan kompak. Beberapa polipeptida folded terdiri dari beberapa protein globular yang berbeda yang dihubungkan oleh residu asam amino. Unit tersebut dinamakan domain. Struktur tersier distabilkan oleh interaksi antara gugus R yang terletak tidak bersebelahan pada rantai polipeptida.

Pembentukan struktur tersier membuat struktur primer dan sekunder menjadi saling berdekatan.

d. Struktur Kuarterner

Struktur kuarterner melibatkan asosiasi dua atau lebih rantai polipeptida yang membentuk multisubunit atau protein oligomerik. Rantai polipeptida



penyusun protein oligomerik dapat sama atau berbeda.

Gambar 1. Tingkatan struktur protein (Sumber : Anonymous, 2018)

2.1.6. Sumber Protein

Menurut Muchtadi (2010) sumber protein bagi manusia dapat digolongkan menjadi dua macam, yaitu sumber protein konvensional dan non-konvensional.

a. Protein konvensional

Protein konvensional merupakan protein yang berupa hasil pertanian dan peternakan pangan serta produk-produk hasil olahannya. Berdasarkan sifatnya, sumber protein konvensional ini lagi dibagi yaitu protein nabati dan hewani.

1. Protein nabati, yaitu protein yang berasal dari bahan nabati (hasil tanaman), terutama berasal dari biji-bijian (sereal) dan kacang-kacangan. Sayuran dan buah-buahan tidak dalam jumlah memberikan kontribusi protein dalam jumlah yang cukup berarti.
2. Protein hewani, yaitu protein yang berasal dari hasil-hasil hewani seperti daging (sapi, kerbau, kambing, dan ayam), telur (ayam dan bebek), susu (terutama susu sapi), dan hasil-hasil perikanan (ikan, udang, kerang, dan lain-lain). Protein hewani disebut sebagai protein yang lengkap dan bermutu tinggi, karena mempunyai kandungan asam-asam amino esensial yang lengkap yang susunannya mendekati apa yang diperlukan oleh tubuh, serta daya cernanya tinggi sehingga jumlah yang dapat diserap (dapat digunakan oleh tubuh) juga tinggi.

b. Protein non-konvensional

Protein non-konvensional merupakan sumber protein baru, yang dikembangkan untuk menutupi kebutuhan penduduk dunia akan protein. Sumber protein non-konvensional berasal dari mikroba (bakteri, khamir, atau kapang), yang dikenal sebagai protein sel tunggal (*single cell protein*), tetapi sampai sekarang produknya belum berkembang sebagai bahan pangan untuk dikonsumsi.

2.1.7. Denaturasi Protein

Denaturasi dapat diartikan suatu perubahan atau modifikasi terhadap struktur sekunder, tersier, dan kuarterner terhadap molekul protein, tanpa terjadinya pemecahan ikatan-ikatan kovalen. Karena itu denaturasi dapat pula diartikan suatu proses terpecahnya ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, ikatan garam, dan terbentuknya lipatan molekul. Bila susunan ruang atau rantai polipeptida suatu molekul protein berubah, maka dikatakan protein ini terdenaturasi (Winarno, 2002).

Selama denaturasi, ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik dipecah, sehingga terjadi peningkatan entropi atau peningkatan kerusakan molekulnya. Denaturasi mungkin dapat bersifat bolak-balik (reversibel), seperti pada kimotripsin yang hilang aktivitasnya bila dipanaskan, tetapi aktivitasnya akan pulih kembali bila didinginkan. Namun demikian, umumnya tidak mungkin memulihkan protein kembali ke bentuk aslinya setelah mengalami denaturasi. Kelarutan protein berkurang dan aktivitas biologisnya juga hilang pada saat denaturasi. Aktivitas biologis protein diantaranya adalah sifat hormonal, kemampuan mengikat antigen, serta aktivitas enzimatik. Protein-protein yang terdenaturasi cenderung untuk membentuk agregat dan endapan yang disebut koagulasi. Tingkat kepekaan suatu protein terhadap pereaksi denaturasi tidak sama, sehingga sifat tersebut dapat digunakan untuk memisahkan protein yang tidak diinginkan dari suatu campuran dengan cara koagulasi (Bintang, 2010).

Denaturasi disebabkan oleh faktor antara lain :

- a. Penyebab fisik

1. Panas

Ketika larutan protein dipanaskan secara bertahap diatas suhu kritis, protein mengalami transisi dari keadaan asli ke terdenaturasi. Mekanisme suhu menginduksi denaturasi protein cukup kompleks dan menyebabkan destabilisasi interaksi nonkovalen di dalam protein. Ikatan hidrogen, interaksi elektrostatik, dan gaya van der Waals bersifat eksotermis, sehingga mengalami destabilisasi pada suhu tinggi dan mengalami stabilisasi pada suhu rendah. Sebaliknya, interaksi hidrofobik bersifat endotermis, sehingga mengalami destabilisasi pada suhu rendah dan mengalami stabilisasi pada suhu tinggi. Ikatan hidrogen antar ikatan peptida kebanyakan terkubur di bagian dalam struktur protein, sehingga tetap stabil pada berbagai kisaran suhu. Akan tetapi, stabilitas interaksi hidrofobik tidak dapat meningkat secara tajam dengan meningkatnya suhu. Hal tersebut disebabkan setelah melewati suhu tertentu, struktur air secara bertahap pecah dan menyebabkan denaturasi interaksi hidrofobik.

2. Tekanan

Denaturasi akibat tekanan terjadi pada suhu 25°C jika tekanan yang diberikan cukup tinggi. Kebanyakan protein mengalami denaturasi pada tekanan 1-12 kbar. Tekanan dapat menyebabkan denaturasi protein karena protein bersifat fleksibel dan dapat dikompresi. Walaupun residu asam amino tersusun rapat di bagian dalam protein globular, biasanya masih terdapat rongga di dalam protein. Akibatnya, protein bersifat dapat dikompresi dan terjadi penurunan volume protein. Penurunan volume tersebut disebabkan

rongga yang hilang dalam struktur protein dan hidrasi protein. Denaturasi akibat tekanan bersifat reversibel.

3. Pengadukan

Pengadukan mekanik kecepatan tinggi seperti pengocokan, pengulenan, dan pembuihan menyebabkan protein terdenaturasi. Banyak protein yang terdenaturasi dan mengalami presipitasi ketidak aduk intensif. Denaturasi terjadi akibat inkorporasi udara dan adsorpsi molekul protein ke dalam antarmuka udara-cairan. Energi untuk antarmuka udara-cairan lebih besar dibandingkan fase curah sehingga protein mengalami perubahan konformasi dipengaruhi oleh fleksibilitas protein. Protein dengan fleksibilitas tinggi lebih cepat berada pada antarmuka udara-cairan, sehingga terdenaturasi lebih cepat dibandingkan protein yang kaku (rigid). Ketika pengadukan tinggi dilakukan menggunakan pengaduk berputar maka akan terbentuk kavitas. Keadaan ini menyebabkan protein mudah terdenaturasi. Pengadukan yang lebih cepat menyebabkan tingkat denaturasi yang lebih tinggi.

b. Penyebab kimiawi

1. pH

Protein bersifat lebih stabil pada pH di titik isoelektrik dibandingkan pH lain. Pada pH netral, kebanyakan protein bermuatan negatif dan hanya sedikit yang bermuatan positif. Rendahnya gaya tolak elektrostatis dibandingkan interaksi yang lain, menjadikan kebanyakan protein bersifat stabil pada pH mendekati netral. Pada pH ekstrem, gaya tolak elektrostatis dalam molekul protein yang disebabkan muatan tinggi mengakibatkan struktur protein membengkak dan

terbuka. Derajat terbukanya struktur protein lebih besar pada pH alkali dibandingkan pada pH asam. Pada kondisi alkali terjadi ionisasi gugus karboksil, fenolik, dan sulfihidri di dalam protein sehingga struktur protein terbuka dengan tujuan mengekspos gugus tersebut pada fase air. Denaturasi protein akibat pH kebanyakan bersifat reversibel. Akan tetapi, pada sejumlah kasus hidrolisis ikatan peptida secara parsial, deamidase residu asparagin dan glutamin, dan kerusakan gugus sulfihidril pada pH alkali dapat menyebabkan denaturasi protein yang bersifat irreversibel.

2. Pelarut Organik

Pelarut organik mempengaruhi stabilitas interaksi hidrofobik protein, ikatan hidrogen, dan interaksi elektrostatis. Rantai samping residu asam amino nonpolar lebih larut pada pelarut organik dibandingkan air. Hal tersebut mengakibatkan interaksi hidrofobik menjadi melemah. Sebaliknya, stabilitas dan pembentukan ikatan hidrogen antarikatan peptida meningkat pada lingkungan dengan permisivitas rendah maka sejumlah pelarut organik dapat meningkatkan atau memperkuat pembentukan ikatan hidrogen antarikatan peptida. Pada konsentrasi rendah, sejumlah pelarut organik dapat menstabilkan beberapa enzim terhadap denaturasi. Pada konsentrasi tinggi, pelarut organik menyebabkan protein terdenaturasi karena efek pelarutan rantai samping nonpolar.

3. Senyawa Organik

Sejumlah senyawa organik seperti urea dan guanidin hidroksida menyebabkan denaturasi protein. Urea dan guanidin pada konsentrasi tinggi membentuk

ikatan hidrogen dan menyebabkan ikatan hidrogen dalam air menjadi terganggu. Rusaknya ikatan hidrogen antar molekul air menjadikan air sebagai pelarut yang baik untuk residu nonpolar. Dampaknya adalah struktur protein terbuka dan terjadi pelarutan residu nonpolar dari bagian dalam molekul protein.

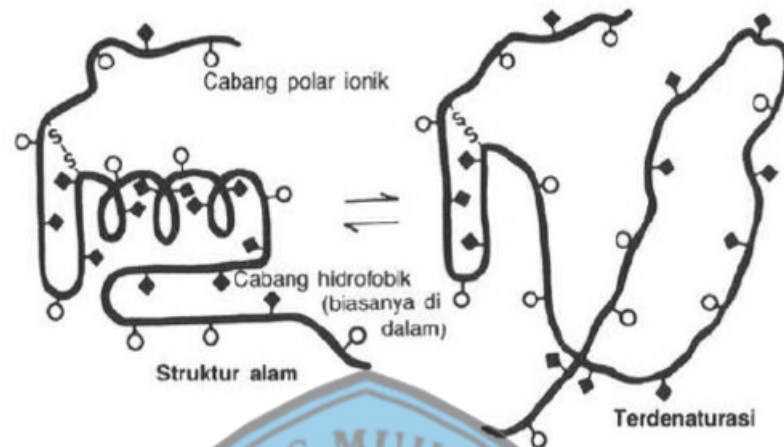
4. Deterjen

Deterjen seperti *Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS) merupakan pendenaturasi protein yang kuat. Deterjen terikat kuat pada protein yang terdenaturasi sehingga menyempurnakan denaturasi. Akibatnya, denaturasi protein menjadi bersifat irreversibel.

5. Garam

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. Pengaruh garam untuk stabilisasi atau destabilisasi struktur protein berkaitan dengan konsentrasi dan pengaruhnya terhadap ikatan air-air. Peningkatan stabilitas protein pada kadar garam rendah disebabkan peningkatan ikatan hidrogen antarmolekul air. Sebaliknya, pada konsentrasi tinggi, garam mendenaturasi

protein karena merusak struktur air sehingga air menjadi pelarut yang baik untuk residu nonpolar protein (Estiasih, 2016)



Gambar 2. Denaturasi protein (Sumber : Winarno, 2002)

2.2. Ikan Bandeng

2.2.1. Definisi Ikan Bandeng

Ikan bandeng (*Chanos-chanos*) merupakan salah satu sumber protein hewani yang sangat penting. Ikan bandeng memiliki nilai protein hewani yang lebih tinggi dibandingkan dengan protein yang berasal dari tumbuh-tumbuhan. Sebab, protein hewani mengandung asam-asam amino yang lengkap dan susunan asam aminonya mendekati susunan asam amino yang ada dalam tubuh manusia (Bambang dkk, 2002).

2.2.2. Klasifikasi Ikan Bandeng

Bandeng (*Chanos-chanos*) adalah ikan pangan populer di Asia Tenggara. Ikan ini merupakan satu-satunya spesies yang masih ada dalam famili Chanidae (bersama enam genus tambahan dilaporkan pernah ada namun sudah punah) dalam bahasa Inggris disebut milkfish (Rusmiyati, 2015).

Klasifikasi ikan bandeng menurut Bunyamin (2013) yaitu sebagai berikut :

Kingdom : Animalia
 Filum : Chordata
 Kelas : Actinopterygii
 Ordo : Gonorynchiformes
 Famili : Chanidae
 Genus : Chanos
 Species : *Chanos-chanos fork*



Gambar 3. Ikan bandeng (Sumber : Perceka, M.L , 2010)

2.2.3. Kandungan Gizi Ikan Bandeng

Ikan bandeng (*Chanos-chanos*) merupakan komoditas perikanan payau yang rasanya cukup enak dan digemari masyarakat. Ikan bandeng memiliki kandungan gizi yang tinggi, aman dan sehat dikonsumsi. Kandungan gizi ikan bandeng dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Komposisi kimia ikan bandeng segar (Saparinto, 2006)

Kandungan Gizi	Kadar (%)
Air	74,00

Protein	20, 00
Lemak	4, 80
Abu	1, 19

Ikan bandeng (*Chanos-chanos*) juga mengandung asam lemak omega 3 yang sangat berguna dalam mencegah serangan penyakit jantung koroner. Selain itu asam lemak omega 3 juga bersifat hipokolesterolemik yang dapat menurunkan kadar kolestrol darah serta mampu meningkatkan daya tahan tubuh dan berperan dalam pertumbuhan otak pada janin serta membantu pertumbuhan sistem saraf (Rusmiyati, 2015).

2.2.4. Morfologi Ikan Bandeng

Secara eksternal ikan bandeng mempunyai bentuk kepala mengecil dibandingkan lebar dan panjang badannya, matanya tertutup oleh selaput lendir (edipose). Sisik ikan bandeng yang masih hidup berwarna perak, mengkilap pada seluruh tubuhnya. Pada bagian punggungnya berwarna kehitaman atau hijau kekuningan dan biasanya albino. Bagian perutnya berwarna perak serta mempunyai sisik lateral dari bagian depan sampai sirip ekor (Rusmiyati, 2015).

Ciri-ciri fisik ikan bandeng mempunyai penampilan yang umumnya simetris dan berbadan ramping, dengan sirip ekor yang bercabang dua. Mereka tidak memiliki gigi, dan umumnya hidup dari ganggang dan invertebrata. Insang terdiri dari tiga bagian tulang, yaitu operculum suboperculum dan radii branhiostegi. Seluruh permukaan tubuhnya tertutup oleh sisik yang bertipe lingkaran yang berwarna keperakan, pada bagian tengah tubuh terdapat garis memanjang dari bagian penutup insang hingga ekor (Rusmiyati, 2015).

2.2.5. Habitat Ikan Bandeng

Ikan bandeng hidup di perairan pantai, muara sungai, hamparan hutan bakau, daerah genangan pasang surut dan sungai. Ikan bandeng dewasa biasanya berada di perairan littoral. Pada musim pemijahan induk ikan bandeng dari pantai dengan karakteristik habitat perairan jernih, dasar perairan berpasir dan berkarang dengan kedalaman antara 10-30 m (Rusmiyati, 2015).

2.3. Jeruk Nipis

2.3.1. Definisi Jeruk Nipis

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) adalah jenis tanaman perdu, memiliki rasa buah asam, daun yang berwarna hijau dan buah memiliki biji. Jeruk nipis mempunyai banyak nama, yaitu *lime* (Inggris), *lima* (Spanyol), *limah* (Arab), jeruk nipis (Indonesia), *jeruk pecel* (Jawa), *limau asam* (Sunda) (Saparinto dkk, 2016).

2.3.2. Klasifikasi Jeruk Nipis

Menurut Saparinto (2016) jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) memiliki klasifikasi sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Sapindales
Famili	: Rutaceae

Genus : Citrus

Spesies : *Citrus aurantifolia*



Gambar 4. Jeruk nipis (Sumber : Huda A, 2012)

2.3.3. Morfologi Jeruk Nipis

Tanaman jeruk nipis memiliki pohon yang berukuran kecil. Buahnya berbentuk agak bulat dengan ujungnya sedikit menguncup dan berdiameter 3-6 cm dengan kulit yang cukup tebal. Saat masih muda buah berwarna kuning, semakin tua warna buah semakin hijau muda atau kekuningan. Rasa buahnya asam segar, bijinya berbentuk bulat telur, pipih, dan berwarna putih kehijauan. Akar tunggangnya berbentuk bulat dan berwarna putih kekuningan (Astarini, 2010).

2.3.4. Kandungan Kimia Jeruk Nipis

Buah jeruk nipis memiliki kandungan seperti vitamin C, vitamin B1, belerang asam sitrun, glikosida, damar, minyak atsiri (nildehid, aktialdehid, linali-lasetat, gerani-lasetat, kadinen, lemon kamfer, felandren, limonen, sitral), asam amino (lisin, triptopan), asam sitrat dan minyak terbang. Jeruk nipis juga mengandung senyawa saponin dan flavonoid yaitu hesperidin, tangeritin, naringin, eriocitrin,

ariocitroside. Hesperidin bermanfaat untuk antiinflamasi, antioksidan, dan menghambat sintesis prostaglandin (Karina. A, 2012).

2.3.5. Kegunaan Jeruk Nipis

Jeruk nipis memiliki fungsi serbaguna dalam rumah tangga yaitu (Sarwono, 2001) :

a. Menghilangkan bau amis ikan

Ikan laut maupun air tawar biasanya berbau amis, setelah dibersihkan dan dicuci diberikan perasan jeruk nipis dan didiamkan selama beberapa menit sebelum diberi bumbu dan dimasak

b. Pelunak daging

Daging sapi, kambing, ayam akan lebih empuk jika sebelum digoreng ditambahkan beberapa tetes perasan air jeruk nipis.

c. Pengganti cuka

Soto, sop, gulai sering menggunakan cuka untuk menambah kelezatannya, namun cuka dapat diganti dengan jeruk nipis karena jeruk nipis memiliki aroma harum dan asam.

2.4. SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrilamide Gel Elektroforesis*)

Elektroforesis adalah suatu teknik pemisahan molekul seluler berdasarkan atas ukurannya, dengan menggunakan medan listrik yang dialirkan pada suatu medium yang mengandung sampel yang akan dipisahkan. Teknik ini dapat digunakan dengan memanfaatkan muatan listrik yang ada pada makromolekul, misalnya DNA yang bermuatan negatif. Jika molekul yang bermuatan negatif

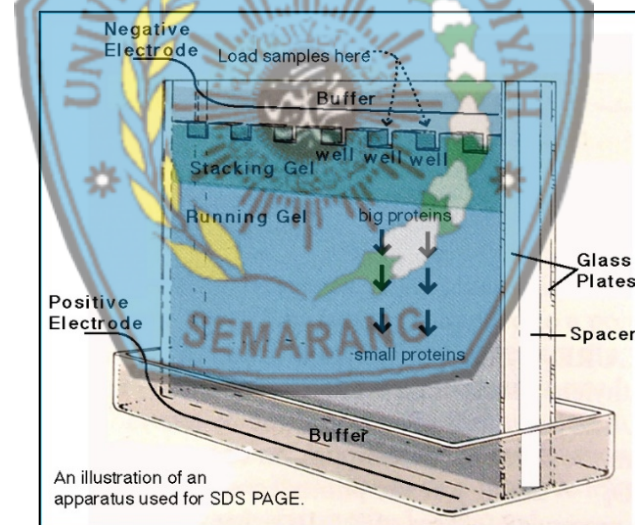
dilewatkan melalui suatu medium, kemudian dialiri arus listrik dari satu kutub ke kutub yang berlawanan muatannya maka molekul tersebut akan bergerak dari kutub negatif ke kutub positif. Kecepatan gerak molekul tersebut tergantung pada rasio muatan terhadap massanya, serta tergantung pula pada bentuk molekulnya (Yuwono, 2008).

Salah satu jenis elektroforesis yang digunakan secara luas pada saat ini adalah elektroforesis SDS gel poliakrilamida (SDS-PAGE). SDS-PAGE dinilai lebih menguntungkan dibandingkan dengan elektroforesis kertas dan elektroforesis pati. Hal ini disebabkan karena besarnya pori medium penyangga, serta perbandingan konsentrasi akrilamida dan bis-metilen akrilamida. Selain itu, gel ini tidak menimbulkan konsentrasi dan bersifat transparan (Bintang, 2010).

Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Elektroforesis (SDS-PAGE) adalah teknik untuk memisahkan rantai polipeptida pada protein berdasarkan kemampuannya untuk bergerak dalam arus listrik, yang merupakan fungsi dari panjang rantai polipeptida atau berat molekulnya (Dunn, 2014). Medium penyangga dibuat dari reaksi polimerasi akrilamida dan bis-akrilamida yang dikatalisis oleh amonium persulfat dan tetra metil etilen diamin (TEMED), SDS bersama merkaptoetanol digunakan untuk merusak struktur tiga dimensi protein. Hal ini terjadi akibat reduksi ikatan disulfida membentuk gugus sulfidril yang dapat mengikat SDS sehingga protein bermuatan sangat negatif dan bergerak ke arah kutub positif (Bintang, 2010).

SDS adalah deterjen anionik yang dapat melapisi protein, sebagian besar sebanding dengan berat molekulnya, dan memberikan muatan listrik negatif pada

semua protein dalam sampel. Protein glikosilasi mungkin tidak bermigrasi, karena diharapkan migrasi protein lebih didasarkan pada massa molekul dan berat rantai polipeptidanya, bukan gula yang melekat. SDS berfungsi untuk mendenaturasi protein karena SDS bersifat deterjen yang mengakibatkan ikatan dalam protein terputus membentuk protein yang dapat terelusi dalam gel begitu juga mercaptoetanol. SDS dapat mengganggu konfirmasi spesifik protein dengan cara melarutkan molekul hidrofobik yang ada di dalam struktur tersier polipeptida. SDS mengubah semua molekul protein kembali ke struktur primernya (struktur linear) dengan cara merenggangkan gugus utama polipeptida. Selain itu SDS juga menyelubungi setiap molekul protein dengan muatan negatif (Saputra, 2014).



Gambar 5. Skema SDS-PAGE (Saputra, 2014)

2.4.1. Gel Poliakrilamida

Gel poliakrilamida bersifat porous dengan ukuran lubang besar berkisar dari 0,6-4,0 nm dan ditentukan dari persen total akrilamida ditambah bis-akrilamida. Migrasi protein di dalam gel poliakrilamida ditentukan oleh muatan molekul dan

ukuran molekul. Gel poliakrilamida dapat digunakan dalam pemisahan berbagai jenis protein dan membandingkan berat molekul protein (Bintang, 2010).

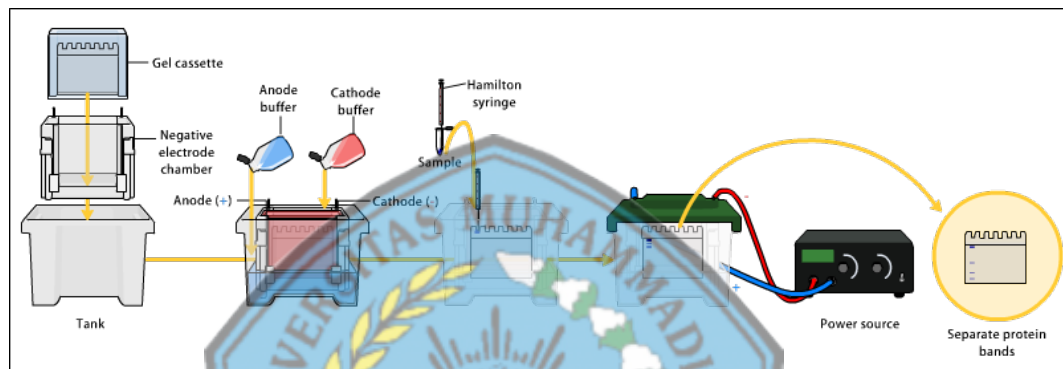
Pada penggunaan elektroforesis SDS-PAGE, gel poliakrilamid yang digunakan terdiri dari 2 macam yaitu *stacking gel* dan *resolving gel*. *Stacking gel* berfungsi sebagai tempat meletakkan sampel, sedangkan *resolving gel* berfungsi sebagai tempat protein yang akan berpindah menuju anoda. *Stacking gel* dan *resolving gel* memiliki komponen yang sama, tetapi keduanya memiliki konsentrasi gel poliakrilamid pembentukan yang berbeda. Konsentrasi *stacking gel* lebih rendah daripada *resolving gel* (Saputra, 2014).

2.4.2. Prinsip Elektroforesis SDS-PAGE

Menurut Saputra (2014), prinsip kerja elektroforesis metode SDS-PAGE yaitu:

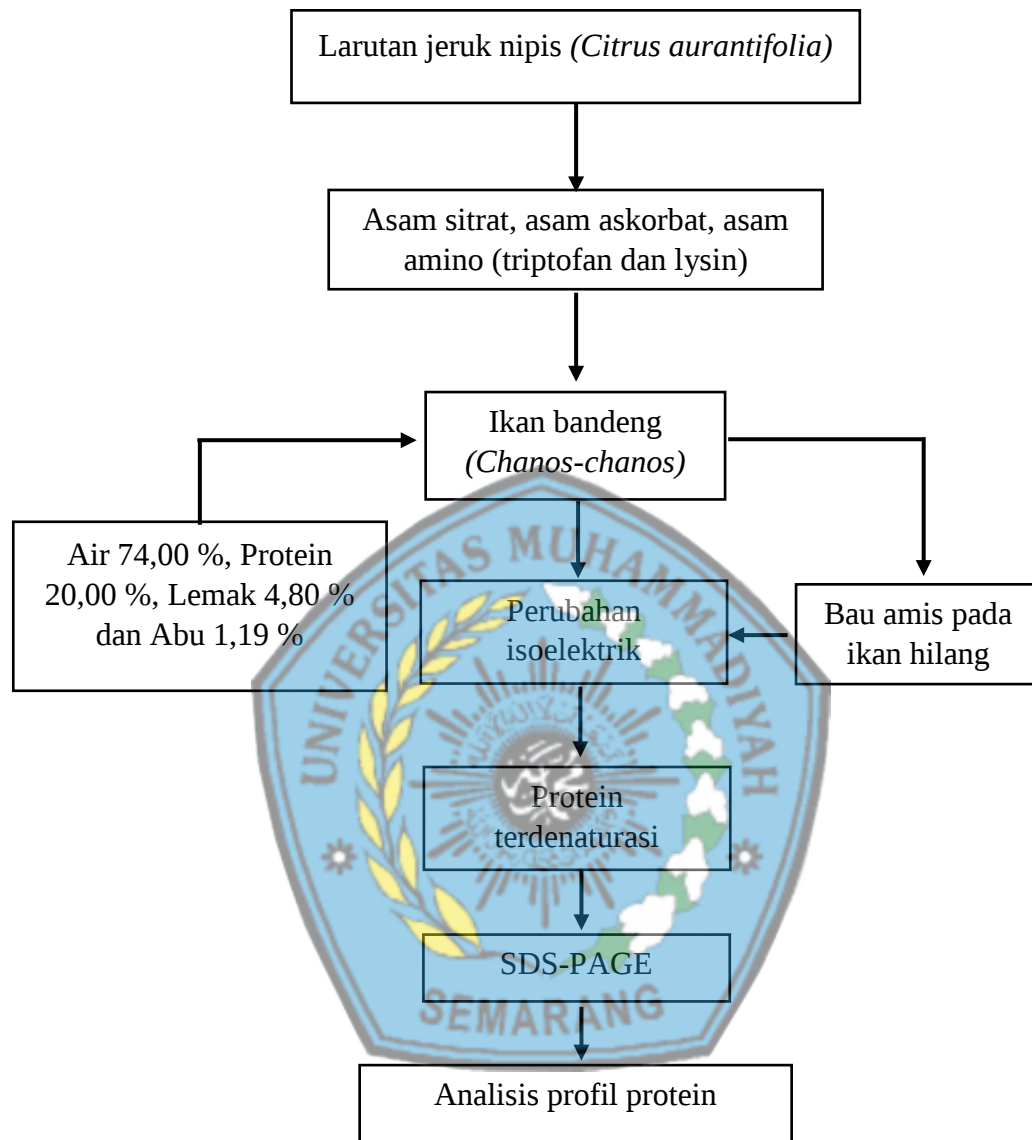
1. Larutan protein yang akan dianalisis dicampur dengan SDS terlebih dahulu, SDS merupakan deterjen anionik yang apabila dilarutkan molekulnya memiliki muatan negatif dalam range pH yang luas. Muatan negatif SDS akan mendenaturasi sebagian besar struktur kompleks protein, dan secara kuat akan tertarik ke arah anoda bila ditempatkan pada suatu medan listrik.
2. Pada saat arus listrik diberikan, molekul bermigrasi melalui gel poliakrilamid menuju kutub positif (anoda), molekul yang kecil akan bermigrasi lebih cepat daripada yang besar, sehingga akan terjadi pemisahan.
3. Molekul protein akan melewati pori-pori gel poliakrilamid sehingga tingkat kemudahan pergerakan melalui pori-pori gel bergantung pada diameter molekul.

4. Akibat molekul protein yang terdenaturasi, diameter protein bergantung pada berat molekul. Molekul protein yang lebih besar akan tertahan dan akibatnya pergerakan molekul protein lebih lambat. Makin besar diameter molekul protein, semakin lambat pergerakan molekul protein.
5. SDS-PAGE akan memisahkan berdasarkan BM-nya.



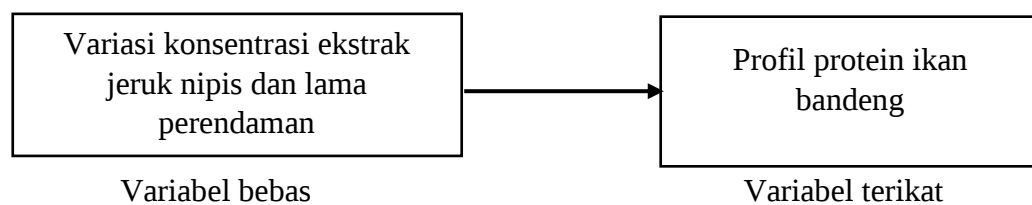
Gambar 6. Prinsip Kerja Elektroforesis SDS-PAGE (Saputra, 2014)

2.5. Kerangka Teori



Gambar 7. Kerangka Teori

2.6. Kerangka Konsep



Gambar 8. Kerangka Konsep