

**PENGARUH KONSENTRASI NATRIUM SULFAT TERHADAP
PRESIPITASI ALBUMIN IKAN GABUS
(*Ophiocephalus striatus*)**

**LAPORAN SKRIPSI
TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN**

Oleh :
ELLY HERLINA ARISTIANI
NIM. 0210830028



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERIKANAN
MALANG
2007**

**PENGARUH KONSENTRASI NATRIUM SULFAT TERHADAP
PRESIPITASI ALBUMIN IKAN GABUS
(*Ophiocephalus striatus*)**

**Penyusunan Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Perikanan Fakultas Perikanan
Universitas Brawijaya Malang**

Oleh :
**ELLY HERLINA ARISTIANI
0210830028**

Dosen Penguji I

(Prof. Dr. Ir. Eddy Supravitno, MS)
Tanggal :

Dosen Penguji II

(Ir. Bambang Budi, MS)
Tanggal :

**Menyetujui,
Dosen Pembimbing I**

(Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP)
Tanggal :

Dosen Pembimbing II

(Ir. Sri Dayuti)
Tanggal :

**Mengetahui,
Ketua Jurusan**

(Ir. Maheno S. W., MS)
Tanggal :



RINGKASAN

ELLY HERLINA ARISTIANI. Pengaruh Konsentrasi Natrium Sulfat terhadap Presipitasi Albumin Ikan Gabus (*Ophiocephalus striatus*) di bawah bimbingan **Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP** dan **Ir. Sri Dayuti.**

Albumin adalah protein globuler dengan berat molekul 69.000. Albumin disintesa di hati dan dikatabolisme oleh semua jaringan metabolisme (Anonymous, 2006^a). Fungsi dari albumin diantaranya adalah mempertahankan tekanan osmotik, untuk pengangkutan hormon tiroid, pengikat ion kalsium dan penyangga pH (Anonymous, 2006^b). Selama ini albumin yang didapatkan masih dalam bentuk crude albumin. Salah satu cara untuk memperoleh albumin adalah dengan metode presipitasi dengan penambahan natrium sulfat. Natrium sulfat dapat mengatasi masalah dalam industri karena natrium sulfat tidak reaktif dengan stainless steel, dimana stainless steel merupakan bahan utama dalam bangunan untuk fasilitas pemurnian (Anonymous, 2006^c). Untuk itu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh konsentrasi natrium sulfat pada proses presipitasi albumin ikan gabus.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Nutrisi Fakultas Perikanan, Laboratorium Biomolekuler Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, Laboratorium Klinik Pattimura Malang, dan Laboratorium Kimia FTP UGM Yogyakarta. Penelitian dilakukan selama dua bulan yaitu pada bulan Maret – Mei 2007. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi natrium sulfat terhadap presipitasi albumin ikan gabus dan berapa konsentrasi natrium sulfat yang optimal dalam mempresipitasi albumin ikan gabus.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dan rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan yaitu natrium sulfat konsentrasi 15 %, 20 %, 25 %, 30 % dan 35 % dengan tiga kali ulangan. Analisis data dilakukan dengan menggunakan minitab 13 dan untuk perlakuan

terbaik menggunakan metode De Garmo. Parameter yang digunakan meliputi kadar albumin, kadar protein, rendemen, HPLC, spektrofotometer dan elektroforesis.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penambahan natrium sulfat pada konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata terhadap presipitasi albumin ikan gabus. Perlakuan terbaik diperoleh pada penambahan konsentrasi natrium sulfat 20 % dengan kadar albumin sebesar 0,297 g/dl dan kadar protein sebesar 0,500 g/dl.

Saran yang dapat saya berikan dalam penelitian yaitu perlu adanya penelitian lanjutan untuk pemurnian albumin ikan gabus dari hasil presipitasi dengan natrium sulfat, hingga diperoleh albumin murni tanpa dikotori oleh komponen garam sehingga aman untuk dikonsumsi manusia. Selain itu juga diperlukan penelitian lanjutan dengan menggunakan range konsentrasi natrium sulfat yang lebih luas.



KATA PENGANTAR

Bismillahirrohmanirrohim,

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayahnya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan laporan skripsi dengan judul "Pengaruh Konsentrasi Natrium Sulfat terhadap Presipitasi Albumin Ikan Gabus (*Ophiocephalus striatus*)" dengan baik.

Tersusunnya laporan ini tidak terlepas dari dukungan berbagai pihak, untuk itu penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ibu Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP selaku Dosen Pembimbing I yang telah banyak memberikan banyak dukungan, bimbingan, arahan, nasehat, motivasi dan waktu dalam penyusunan laporan ini hingga selesai
2. Ibu Ir. Sri Dayuti selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, arahan, nasehat dan motivasi serta waktunya hingga selesainya penulisan laporan ini
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Eddy Suprayitno, MS dan Ir. Bambang Budi, MS selaku Dosen Penguji
4. Ibu Dra. Sri Widyarti, MSi selaku ketua Laboratorium Biomolekuler Fakultas MIPA dan mbak Ika selaku laboran atas kebaikannya memberikan pengarahan, nasehat dan informasi berkenaan dengan penelitian ini
5. Semua pihak yang telah membantu dan memberikan dorongan sehingga memudahkan tersusunnya laporan skripsi ini

Akhirnya penulis berharap semoga karya tulis ini dapat bermanfaat dan dapat memberikan informasi bagi semua pihak yang berminat dan memerlukan.

Malang, September 2007

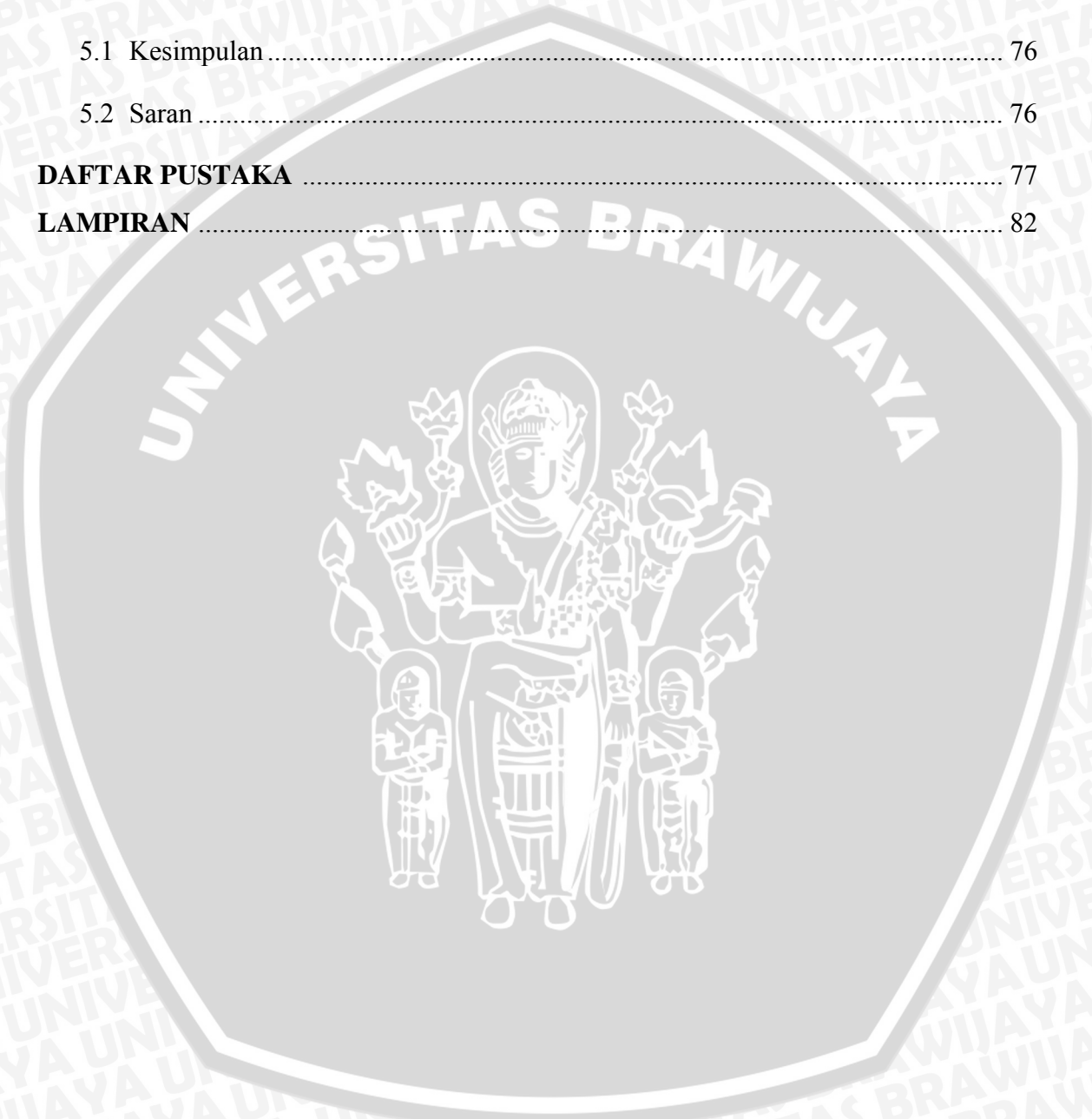
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	iv
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Kegunaan Penelitian	5
1.5 Hipotesa	5
1.6 Tempat dan Waktu	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Ikan Gabus	6
2.1.1 Karakteristik Ikan Gabus	6
2.1.2 Komposisi Kimia Ikan Gabus	8
2.2 Protein Ikan	9
2.2.1 Pengertian Protein	9
2.2.2 Protein Ikan Gabus	13
2.2.3 Manfaat Protein	14
2.3 Albumin Ikan Gabus	17
2.3.1 Pengertian Albumin	17
2.3.2 Manfaat Albumin	20
2.4 Presipitasi Natrium Sulfat	21
2.5 Spektrofotometri	24
2.6 Elektroforesis	24

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	28
3.1 Bahan dan Alat.....	28
3.1.1 Bahan yang Digunakan	28
3.1.2 Alat yang Digunakan	29
3.2 Metode Penelitian	30
3.2.1 Metode	30
3.2.2 Variabel.....	31
3.3 Perlakuan dan Rancangan Percobaan	31
3.4 Pelaksanaan Penelitian.....	33
3.4.1 Alur Pelaksanaan Penelitian	33
3.4.2 Pembuatan Ekstrak Ikan Gabus	35
3.4.3 Presipitasi Albumin Ikan Gabus	37
3.5 Parameter Uji	39
3.5.1 Analisa Kadar Albumin	39
3.5.2 Analisa Kadar Protein.....	40
3.5.3 Analisa Asam Amino.....	41
3.5.4 Spektrofotometri	43
3.5.5 Elektroforesis.....	43
3.5.5.1. Persiapan Gel	44
3.5.5.2. Injeksi Sampel.....	45
3.5.5.3. Running Sampel.....	46
3.5.5.4. Pewarnaan dan Pencucian Gel.....	47
3.5.5.5. Visualisasi.....	48
3.5.6 Penghitungan Rendemen Ekstraksi.....	48
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	49
4.1 Hasil Penelitian.....	49
4.2 Kadar Albumin	50
4.3 Kadar Protein	58
4.4 Rendemen	66
4.5 Perlakuan Terbaik.....	66

4.6 Profil Asam Amino.....	67
4.7 Spektrofotometri.....	71
4.8 Elektroforesis.....	71
5. KESIMPULAN DAN SARAN	76
5.1 Kesimpulan.....	76
5.2 Saran.....	76
DAFTAR PUSTAKA	77
LAMPIRAN	82



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Kimia Daging Ikan	9
2. Klasifikasi Protein Berdasarkan Kelarutannya	10
3. Penggolongan Protein Ikan Berdasarkan Kelarutan dan Letak Terdapatnya	13
4. Kandungan Gizi Ikan Gabus Segar (per 100 g bahan).....	14
5. Fungsi-Fungsi Protein.....	16
6. Jenis Utama Protein Plasma Darah	17
7. Kandungan Asam Amino Ikan Gabus	19
8. Skema Rancangan Percobaan	32
9. Hasil Kadar Albumin	49
10. Hasil Kadar Protein.....	49
11. Rerata Kadar Albumin Endapan	51
12. Rerata Kadar Albumin Supernatan	56
13. Rerata Kadar Protein Endapan	59
14. Rerata Kadar Protein Supernatan.....	63
15. Pembacaan Kromatogram Endapan.....	68
16. Profil Asam Amino Endapan	68
17. Identifikasi Jenis Protein pada Endapan	74
18. Identifikasi Jenis Protein pada Supernatan	74



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Gabus	8
2. Struktur Asam Amino	11
3. Asam Amino Berdasarkan Rantai Samping	12
4. Struktur dan Ikatan Albumin	18
5. Hofmeister Series	24
6. Ekstraktor Vakum	29
7. Prosedur Penelitian secara Umum	34
8. Hasil Ekstraksi Albumin	35
9. Prosedur Pembuatan Crude Albumin	36
10. Prosedur Presipitasi Albumin	37
11. Sampel Hasil Sentrifus	39
12. Endapan Setelah Dilarutkan	39
13. Prosedur Analisa Albumin Metode BCG	40
14. Prosedur Analisa Protein Metode Biuret	41
15. Prosedur Analisa Asam Amino Metode HPLC	42
16. Prosedur Spektrofotometri	43
17. Prosedur Persiapan Gel	44
18. Prosedur Injeksi Sampel	46
19. Prosedur Running Sampel	47
20. Prosedur Pewarnaan dan Pencucian Gel	47
21. Molekul Protein dalam Air	52
22. Molekul Protein dalam Larutan Garam	52
23. Grafik Hubungan Konsentrasi Natrium Sulfat dan Kadar Albumin Endapan	53
24. Kekuatan Ion dan Pelipatan Protein	55
25. Grafik Hubungan Konsentrasi Natrium Sulfat dan Kadar Albumin Supernatan	57
26. Mekanisme Pengendapan Protein	60
27. Grafik Hubungan Konsentrasi Natrium Sulfat dan Kadar Protein Endapan	61

28. Grafik Hubungan Konsentrasi Natrium Sulfat dan Kadar Protein Supernatan 64

29. Kromatogram Asam Amino Endapan..... 67

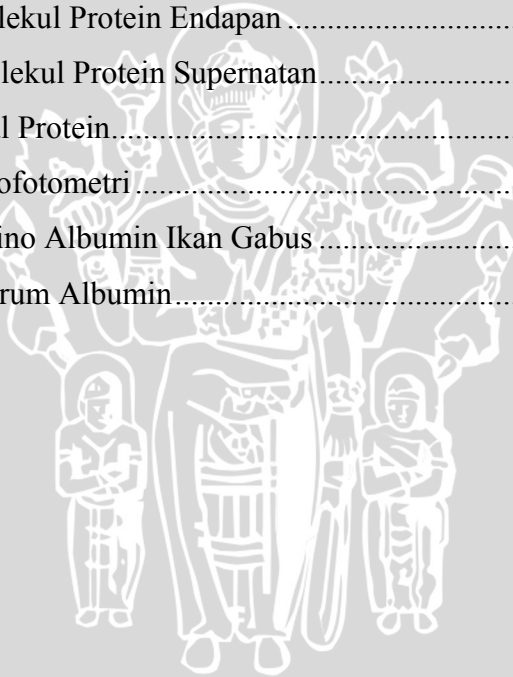
30. Denaturasi Protein..... 70

31. Hasil Analisa Elektroforesis 73



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1 Analisa Data Albumin Endapan.....	82
2 Analisa Data Albumin Supernatan.....	84
3 Analisa Data Protein Endapan	86
4 Analisa Data Protein Supernatan	88
5 Data Rendemen Ekstraksi.....	90
6 Perlakuan Terbaik Metode De Garmo	91
7 Kurva Standar Berat Molekul	92
8 Pengukuran Berat molekul Protein Endapan	93
9 Pengukuran Berat Molekul Protein Supernatan.....	94
10 Standar Berat Molekul Protein.....	95
11 Kurva Standar Spektrofotometri.....	97
12 Komposisi Asam Amino Albumin Ikan Gabus	98
13 Komposisi Human Serum Albumin.....	99



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Protein adalah unsur utama dari material terlarut dalam plasma darah. Protein yang terdapat dalam plasma darah mempunyai keanekaragaman dalam sifat-sifat dan fungsi yang menarik. Protein yang paling banyak dalam plasma darah adalah albumin serum, sedangkan protein dengan kelimpahan kedua adalah γ -globulin (Page, 1989).

Albumin adalah protein globuler dengan berat molekul 69.000. Albumin disintesa di hati dan dikatabolisme oleh semua jaringan metabolisme (Anonymous, 2006^a). Fungsi dari albumin diantaranya adalah mempertahankan tekanan osmotik, untuk pengangkutan hormon tiroid, pengangkutan hormon lain (terutama yang larut lemak), pengangkutan asam lemak (asam lemak bebas), pengangkutan bilirubin tak terkonjugasi, pengangkutan racun, pengikat ion kalsium dan penyangga pH (Anonymous, 2006^b).

Ikan Gabus (*Ophiochepalus striatus*) memiliki kadar protein tinggi yaitu 25,2 g/100gr daging, dengan kandungan albumin 62,24 g/dl (Suprayitno, *et al.*, 2002). Ikan gabus mempunyai kandungan albumin yang tidak ditemukan pada ikan konsumsi lainnya seperti lele, nila, mas, gurami dan sebagainya. Ikan gabus juga populer di masyarakat pedesaan. Ikan ini digunakan untuk mempercepat penyembuhan luka setelah dikhitan dengan cara mengkonsumsinya (Anonymous, 2003).

Ekstrak dari 2 kilogram ikan gabus per hari diberikan pada sejumlah pasien yang memiliki kadar albumin rendah (1,8 g/dl). Hasilnya setelah delapan hari, kadar albumin pada darah pasien menjadi normal, yakni 3,5-5,5 g/dl dan luka operasi sembuh tanpa efek samping. Dengan ekstrak ikan gabus tersebut, biayanya akan jauh lebih murah.

Perbandingannya jika dengan "Human Serum Albumin" (HSA), harganya Rp. 1,3 juta, maka dengan ikan gabus sekitar Rp. 500.000 (Pamuji dan Hidayat, 2003).

Selama ini untuk mendapatkan ekstrak albumin ikan Gabus menggunakan cara yang masih sederhana yaitu pengukusan dengan menggunakan suhu tinggi dan waktu yang cukup lama. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Ciptarini dan Diastuti (2006) mendapatkan albumin ikan gabus dengan menggunakan alat vakum. Menurut Fasikhun (2005), pompa vakum berguna untuk menjaga agar ruangan yang ditempati oleh sampel tetap terjaga kevakumannya. Namun, albumin yang dihasilkan masih dalam bentuk "crude" albumin. Oleh karena itu dibutuhkan salah satu cara untuk mendapatkan albumin dalam bentuk murni.

Pemisahan albumin dari protein kompleks dapat dilakukan dengan penggunaan macam-macam pelarut atau elektrolit untuk memisahkan protein berdasarkan dengan karakteristik kelarutannya. Metode ini disebut dengan metode "salting-out". Metode ini dapat memisahkan protein plasma menjadi tiga kelompok besar yaitu fibrinogen, albumin dan globulin dengan menggunakan konsentrasi natrium sulfat atau ammonium sulfat yang bervariasi (Harper, 1975).

Natrium sulfat adalah agen presipitasi yang paling banyak digunakan pada pengukuran kuantitatif serum albumin dan globulin. Yang paling utama, natrium sulfat merupakan garam yang stabil dan bisa didapatkan pada tingkat kemurnian tinggi (Robinson, *et al.*, 1938). Natrium sulfat dapat mengatasi masalah dalam industri karena natrium sulfat tidak reaktif dengan stainless steel, dimana stainless steel merupakan bahan utama dalam bangunan untuk fasilitas pemurnian (Anonymous, 2006^c). Pada konsentrasi garam yang semakin tinggi, maka ikatan-ikatan antara molekul albumin-

albumin lebih besar daripada ikatan molekul air-albumin, yang menyebabkan albumin mengendap (Voet, *et al.*, 1990).

Dengan menentukan kelarutan kurva serum manusia, Majoor pada 1942 menyimpulkan bahwa pada natrium sulfat pada konsentrasi 21.5 % merupakan teori yang kurang kuat, lebih baik menggunakan konsentrasi 26.8 %. Lebih jauh Milne (1947) menyatakan bahwa konsentrasi 19.6 % akan memisahkan globulin menjadi dua fraksi, yaitu pseudoglobulin dan euglobulin. Sedangkan Howe (1921) menyatakan bahwa albumin didapatkan pada konsentrasi larutan natrium sulfat 22,5 %.

Yoeman (1960) melakukan penelitian dengan menggunakan larutan natrium sulfat dengan konsentrasi 21,5 %, 26 %, 26,8 %, 27 % dan 27.2 % untuk kemudian dielektroforesis. Dari penelitian tersebut didapatkan bahwa penggunaan larutan natrium sulfat dengan konsentrasi 27,2 % dapat menghasilkan persentase albumin lebih banyak yaitu lebih dari 99 % albumin pada filtrat.

Untuk menentukan hasil albumin ikan gabus terbaik pada filtrat, maka dilakukan penelitian pendahuluan dengan menggunakan larutan natrium sulfat konsentrasi 24 %, 25,5 %, 27 %, 28,5 % dan 30 %. Dari penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa kadar albumin filtrat tertinggi terdapat pada konsentrasi 24 %. Untuk mengetahui bagaimana pengaruh konsentrasi natrium sulfat secara nyata, maka dilakukan penelitian dengan menggunakan larutan natrium sulfat dengan konsentrasi 15 %, 20 %, 25 %, 30 % dan 35 %.

1.2 Rumusan Masalah

Pemisahan albumin dari "crude" albumin dapat dilakukan dengan menggunakan prinsip "salting out" menggunakan garam. Natrium sulfat merupakan salah satu jenis

garam yang bisa digunakan untuk memisahkan protein. Dengan menggunakan konsentrasi natrium sulfat yang berbeda dapat memisahkan plasma protein menjadi 3 kelompok besar yaitu fibrinogen, albumin dan globulin.

Penelitian mengenai fraksionasi natrium sulfat pada pemisahan albumin dan globulin telah dilakukan sejak lama. Howe (1921) menyatakan bahwa albumin dapat didapatkan dengan menggunakan natrium sulfat 22,5 %. Majoor pada 1942 menyatakan bahwa konsentrasi natrium sulfat 26 % paling baik untuk memisahkan albumin. Sedangkan Milne (1947) dan Yeoman (1960) menyatakan bahwa konsentrasi optimal untuk memisahkan albumin dari globulin berturut-turut adalah 27 % dan 27,2 %.

Sampai saat ini belum diketahui bagaimana pengaruh pemberian konsentrasi natrium sulfat yang berbeda terhadap kadar albumin pada "crude" albumin ikan gabus serta konsentrasi natrium sulfat untuk mendapatkan albumin. Berdasarkan hal tersebut, maka permasalahan pada penelitian ini adalah :

1. Bagaimana pengaruh konsentrasi natrium sulfat terhadap presipitasi albumin ikan gabus ?
2. Berapa konsentrasi natrium sulfat yang optimal dalam mempresipitasi albumin ikan gabus ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi natrium sulfat terhadap presipitasi albumin ikan gabus
2. Untuk mengetahui konsentrasi natrium sulfat yang optimal dalam mempresipitasi albumin ikan gabus

1.4 Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah dan pengetahuan tambahan mengenai pengaruh konsentrasi natrium sulfat terhadap presipitasi albumin ikan gabus.

1.5 Hipotesa

1. Ada pengaruh konsentrasi larutan natrium sulfat terhadap presipitasi albumin ikan gabus
2. Diduga semakin tinggi konsentrasi natrium sulfat yang ditambahkan dalam proses presipitasi, maka albumin yang terpresipitasi akan semakin meningkat

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Nutrisi Fakultas Perikanan, Laboratorium Biomolekuler Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, Laboratorium Klinik Pattimura, dan Laboratorium Kimia FTP UGM Yogyakarta. Penelitian dilakukan selama dua bulan yaitu pada bulan Maret – Mei 2007.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Gabus (*Ophiocephalus striatus*)

2.1.1 Karakteristik Ikan Gabus

Ikan gabus (*Ophiocephalus striatus*) termasuk golongan ikan karnivora yang memakan ikan-ikan spesies lain. Ikan gabus tubuhnya bulat panjang, silindris, kepala pipih dorsoventral dan bersisik yang pola susunannya seperti sisik ular. Kepala ikan gabus itu juga seperti kepala ular pada umumnya (Brotowidjoyo, *et al.*, 1995). Tubuh ikan gabus makin ke belakang makin pipih dan ditutupi oleh sisik yang berwarna hitam dengan sedikit belang pada bagian punggung, sedangkan perutnya berwarna putih (Asmawi, 1986). Badan ikan gabus berbentuk subsilindris, kepala "depressed", dan ekor berbentuk "rounded". Permukaan dorsal dan bagian samping berwarna gelap dan bercoreng dengan kombinasi warna hitam dan abu-abu, dan putih pada bagian perut. Bagian kepala mirip seperti kepala ular, mulut memiliki gigi yang penuh (Eli, 2006).

Ikan gabus merupakan jenis ikan yang mempunyai sifat jahat terhadap ikan-ikan lainnya (Achjar dan Rismunandar, 1986). Ikan gabus muda makan plankton, udang renik yang biasanya terdapat banyak di sungai, dan daun-daun lunak tumbuhan air. Setelah besar ikan gabus makan ikan-ikan yang lebih kecil dari lain spesies (Brotowidjoyo, *et al.*, 1995). Ikan gabus hidupnya sebagai predator yang memangsa ikan-ikan kecil, udang, kepiting, katak, cacing, atau insekta. Sehingga kehadirannya akan menjadi pengganggu ikan yang sedang dipelihara (Kriswantoro, 1986).

Ikan gabus biasa didapati di danau, rawa, sungai dan saluran-saluran air hingga ke sawah-sawah. Seringkali ikan gabus terbawa banjir ke parit-parit di sekitar rumah, atau memasuki kolam-kolam pemeliharaan ikan dan menjadi hama yang memangsa

ikan-ikan peliharaan di sana. Jika sawah, kolam, atau parit mengering, ikan ini akan berupaya pindah ke tempat lain, atau bila terpaksa, akan mengubur diri di dalam lumpur hingga tempat itu kembali berair. Oleh sebab itu ikan ini acap kali ditemui 'berjalan' di daratan. Khususnya di malam hari di musim kemarau, mencari tempat lain yang masih berair. Fenomena ini adalah karena gabus memiliki kemampuan bernapas langsung dari udara, dengan menggunakan semacam organ labirin (seperti pada ikan lele atau betok) namun lebih primitif (Anonymous, 2006^d). Ikan gabus sering hidup di perairan tercemar, menggenang, dan seperti banyak ikan lain dalam tipe lingkungan ini, ikan ini telah mengembangkan organ-organ pernapasan tambahan. Bilik-bilik insang berkantung-kantung kecil yang terlipat dan dilengkapi secara baik dengan pembuluh-pembuluh darah guna menyerap zat asam. Bila air mengering, ikan ini membenamkan dirinya ke dalam lumpur, tetapi mampu juga bergerak melintasi daratan dengan gerakan-gerakan mendayung yang khas dengan sirip-sirip dadanya (Anonymous, 1989).

Gabus dikenal dengan nama lain bako, aruwan, tola dan kayu (Jangkaru, 1999).

Klasifikasi ikan gabus menurut Saanin (1984), adalah sebagai berikut :

Filum	: Chordata
Kelas	: Pisces
Sub kelas	: Teleostei
Super ordo	: Acanthopterygii
Ordo	: Labyrinthici
Sub ordo	: Ophiocephalidei
Famili	: Ophiocephalidae
Genus	: Ophiocephalus
Spesies	: <i>Ophiocephalus striatus</i>

Adapun gambar ikan gabus dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Ikan Gabus

2.1.2 Komposisi Kimia Ikan Gabus

Sumber daya gizi hasil laut kaya akan kandungan protein yang berkualitas tinggi, kandungan lemak (asam lemak omega-3) tinggi, serta kaya akan berbagai mineral seperti Fe, Zn, Se, dan vitamin A (Rifai, *et al.*, 1994). Daging ikan merupakan bahan biologik yang secara kimiawi sebagian besar tersusun oleh unsur-unsur organik, yaitu oksigen (75 %), hidrogen (10 %), karbon (9,5 %) dan nitrogen (2,5 %). Unsur-unsur anorganik terbanyak terdapat pada daging ikan adalah kalsium, fosfor dan sulfur. Komponen-komponen kimiawi daging ikan tidak berdiri sendiri melainkan merupakan suatu senyawa yang kadang-kadang kompleks sifatnya. Senyawa-senyawa tersebut dapat digolongkan sebagai protein, lipid, karbohidrat, garam mineral, zat warna (pigmen), vitamin dan air yang sebagian merupakan zat-zat makanan yang sangat berguna bagi manusia (Hadiwiyoto, 1993). Secara umum komposisi kimia daging ikan disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Kimia Daging Ikan

No	Komposisi kimia	Ikan mas (%)	Tawes (%)	Gabus (%)
1.	Air	80	82	77
2.	Lemak	2	5,1	1,5
3.	Putih telur (protein)	16	9,7	20
4.	Mineral	1	1,5	1,3
5.	Lain-lain	1	2,7	0,2

Sumber : Rismunandar (1986)

2.2 Protein Ikan

2.2.1 Pengertian Protein

Protein merupakan senyawa linier, polimer tak bercabang yang terdiri atas 20 α -asam amino yang mengkodekan DNA (Davidson and Sittman, 1999). Protein merupakan molekul kompleks dan penggolongannya kebanyakan pada kelarutan dalam berbagai pelarut. Protein dikelompokkan ke dalam golongan utama berikut : Protein sederhana, protein konjugasi, dan protein turunan.

1. Protein Sederhana. Protein sederhana hanya menghasilkan asam amino saja jika dihidrolisis. Protein sederhana antara lain albumin, globulin, glutelin, prolamin, skleroprotein dan histon (de Man, 1997).
2. Protein gabungan. Protein gabungan disebut juga dengan protein konjugasi (Toha, 2001). Protein konjugasi mengandung bagian asam amino yang terikat pada bahan nonprotein seperti lipid, asam nukleat, atau karbohidrat. Beberapa protein konjugasi yang penting yaitu fosfoprotein, lipoprotein, nukleoprotein, glikoprotein dan kromoprotein (de Man, 1997).

3. Protein turunan adalah senyawa yang diperoleh dengan metode kimia atau dengan metode enzimatik dan dipilah ke dalam turunan primer dan turunan sekunder, bergantung pada derajat perubahan yang terjadi (de Man, 1997).

Protein dibagi menjadi dua kelompok utama menurut kelarutannya. Klasifikasi protein berdasarkan kelarutannya disajikan pada Tabel 2. Menurut Page (1989), kedua kelompok kelarutan utama adalah :

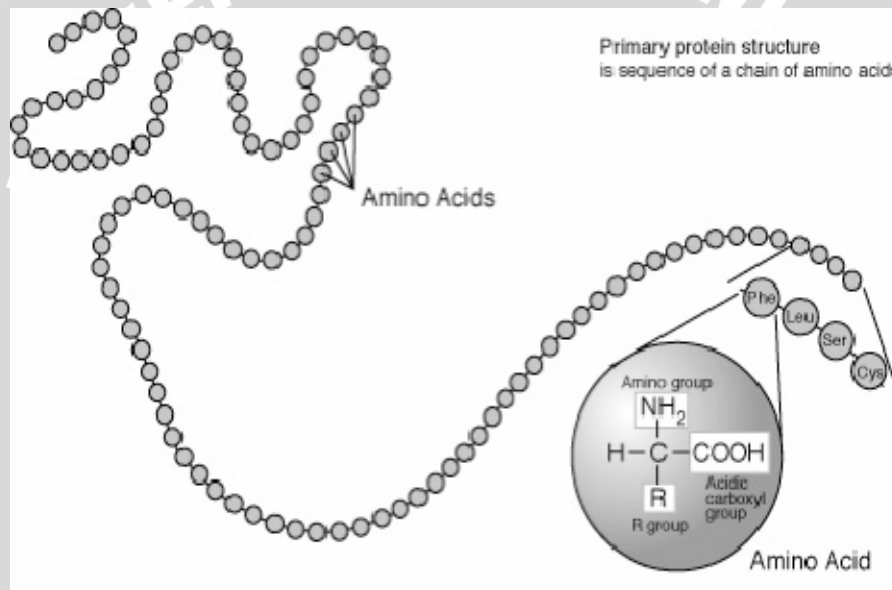
1. Protein berserat. Protein berserat tidak larut dalam larutan garam dalam air. Konformasi keseluruhan dari molekul protein pada umumnya serat panjang, seperti halnya kolagen (ligamen) dan α -keratin (rambut) atau lembaran seperti dalam elastin.
2. Protein berbentuk bola. Tersirat dari namanya, protein ini berbentuk bola dalam konformasi dan larut dalam larutan garam dalam air. Hampir semua enzim, antibodi, hormon protein dan protein transpor adalah protein berbentuk bola.

Tabel 2. Klasifikasi Protein Berdasarkan Kelarutannya

Jenis	Kelarutan
Albumin	Larut dalam air dan larutan garam. Tidak mempunyai asam amino khusus.
Globulin	Sedikit larut air, larut dalam larutan garam. Tidak mempunyai asam amino khusus.
Protamin	Sedikit larut dalam 70-80 % etanol tetapi tidak larut dalam air dan etanol absolut. Kaya akan arginin.
Histon	Larut dalam larutan garam.
Skleroprotein	Tidak larut air atau larutan garam. Kaya kan gli, ala, pro.

Sumber : Martin, *et al.* (1987)

Protein mengandung asam amino. Semua asam amino memiliki rantai karbon alfa, kelompok amino, dan kelompok karboksil, tetapi masing – masing 20 asam amino memiliki rantai samping yang berbeda (kelompok – R) (Seidman and Mowery, 2006^g). Asam amino yang disambung-sambungkan dengan ikatan peptida membentuk struktur primer protein. Susunan asam amino menentukan sifat struktur sekunder dan tersier. Pada gilirannya ini akan mempengaruhi sifat-sifat fungsi protein (de Man, 1997). Struktur primer protein dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Asam Amino (Seidman and Mowery, 2006^g)

Asam amino dapat digolongkan dalam 2 kelompok yaitu asam amino esensial dan non esensial (Poedjiadi, 1994). Asam amino mempunyai peranan penting dalam metabolisme sel hidup. Asam-asam amino dapat digolongkan berdasarkan kemampuan sintesis tubuh yaitu asam amino non esensial (alanin, prolin, glisin, serin, sistein, tirosin, asparagin, glutamin, asam aspartat, dan asam glutamat) dan asam amino esensial (arginin, untuk anak-anak, histidin, isoleusin, leusin, lisin, metionin, fenilalanin, treonin,

triptofan dan valin) (Toha, 2001). Sedangkan menurut polaritas dan muatannya asam amino terbagi atas 4 macam. Kelompok asam amino dapat dilihat pada Gambar 3.

	NONPOLAR, HYDROPHOBIC	R GROUPS	POLAR, UNCHARGED	
Alanine Ala A MW = 89	$\begin{matrix} ^- \text{OOC} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH}_3 \end{matrix}$		$\begin{matrix} \text{H} - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N} \text{H}_3^+ \end{matrix}$	Glycine Gly G MW = 75
Valine Val V MW = 117	$\begin{matrix} ^- \text{OOC} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH} \begin{matrix} / \text{CH}_3 \\ \backslash \text{CH}_3 \end{matrix} \end{matrix}$		$\begin{matrix} \text{HO} - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N} \text{H}_3^+ \end{matrix}$	Serine Ser S MW = 105
Leucine Leu L MW = 131	$\begin{matrix} ^- \text{OOC} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH} \begin{matrix} / \text{CH}_3 \\ \backslash \text{CH}_3 \end{matrix} \end{matrix}$		$\begin{matrix} \text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 - \text{CH} - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N} \text{H}_3^+ \end{matrix}$	Threonine Thr T MW = 119
Isoleucine Ile I MW = 131	$\begin{matrix} ^- \text{OOC} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH} \begin{matrix} / \text{CH}_3 \\ \backslash \text{CH}_2 - \text{CH}_3 \end{matrix} \end{matrix}$		$\begin{matrix} \text{HS} - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N} \text{H}_3^+ \end{matrix}$	Cysteine Cys C MW = 121
Phenylalanine Phe F MW = 131	$\begin{matrix} ^- \text{OOC} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{C}_6\text{H}_5 \end{matrix}$		$\begin{matrix} \text{HO} - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N} \text{H}_3^+ \end{matrix}$	Tyrosine Tyr Y MW = 181
Tryptophan Trp W MW = 204	$\begin{matrix} ^- \text{OOC} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2 \end{matrix}$		$\begin{matrix} \text{NH}_2 \\ \\ \text{C} = \text{O} - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N} \text{H}_3^+ \end{matrix}$	Asparagine Asn N MW = 132
Methionine Met M MW = 149	$\begin{matrix} ^- \text{OOC} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{S} - \text{CH}_3 \end{matrix}$		$\begin{matrix} \text{NH}_2 \\ \\ \text{C} = \text{O} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N} \text{H}_3^+ \end{matrix}$	Glutamine Gln Q MW = 146
Proline Pro P MW = 115	$\begin{matrix} ^- \text{OOC} \\ \\ \text{CH} - \text{CH}_2 \\ \quad \quad \\ \text{HN} - \text{CH}_2 \quad \quad \text{CH}_2 \end{matrix}$		POLAR BASIC $\begin{matrix} \text{NH}_3^+ - \text{CH}_2 - (\text{CH}_2)_3 - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N} \text{H}_3^+ \end{matrix}$	Lysine Lys K MW = 146
Aspartic acid Asp D MW = 133	POLAR ACIDIC $\begin{matrix} ^- \text{OOC} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{C} \begin{matrix} / \text{O} \\ \backslash \text{O} \end{matrix} \end{matrix}$		$\begin{matrix} \text{NH}_2 \\ \\ \text{N} \text{H}_2^+ = \text{C} - \text{NH} - (\text{CH}_2)_3 - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N} \text{H}_3^+ \end{matrix}$	Arginine Arg R MW = 174
Glutamine acid Glu E MW = 147	$\begin{matrix} ^- \text{OOC} \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{C} \begin{matrix} / \text{O} \\ \backslash \text{O} \end{matrix} \end{matrix}$		$\begin{matrix} \text{C} = \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \quad \quad \\ \text{HN} \quad \quad \text{NH} \end{matrix}$	Histidine His H MW = 155

Gambar 3. Asam Amino Berdasarkan Rantai Samping (Seidman and Mowery, 2006⁸)

2.2.2 Protein Ikan Gabus

Protein terdapat baik dalam produk hewan maupun dalam produk tumbuhan dalam jumlah yang berarti. Pada umumnya, kualitas protein hewan lebih tinggi daripada kualitas protein tumbuhan. Protein tumbuhan dapat ditingkatkan mutu gizinya dengan pencampuran atau dengan modifikasi genetika melalui persilangan (de Man, 1997).

Menurut Hadiwiyoto (1993), protein ikan secara umum dapat digolongkan berdasarkan kelarutannya dalam air, letaknya atau fungsinya. Berdasarkan kelarutannya dalam air, protein ikan digolongkan menjadi tiga golongan, yaitu protein yang mudah larut dalam air dan protein yang sukar larut atau yang larut dalam air setelah diberi garam pada konsentrasi tertentu. Berdasar letaknya dalam daging ikan, protein ikan dapat digolongkan menjadi tiga macam, yaitu protein sarkoplasma, protein miofibrillar dan protein jaringan pengikat. Berdasarkan fungsinya, senyawa golongan protein dikelompokkan dalam dua macam, yaitu senyawa-senyawa protein penyusun sel dan jaringan, dan senyawa-senyawa pembentuk atau pembuat enzim, koenzim dan hormon. Penggolongan protein daging ikan berdasarkan kelarutan dan lokasi terdapatnya disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Penggolongan Protein Ikan Berdasarkan Kelarutan dan Letak Terdapatnya

Kelarutan	Lokasi terdapatnya	Nomenklatur
Sangat mudah larut dalam air	Sarkoplasma	Miogen, protein sarkoplasma
Tidak mudah larut dalam air	Jaringan ikan dan dinding sel	Stroma, protein jaringan ikat
Sedikit larut air, mudah larut jika terdapat garam	Benang-benang daging (myofibril, miofilamen)	Protein miofibril, protein struktural

Sumber : Hadiwiyoto (1993)

Menurut Dolaria (2002) ikan Gabus merupakan salah satu ikan air tawar bergizi tinggi dengan kandungan gizi sebagai berikut air (77,01 %), protein (19,74 %), lemak (0,6 %) dan abu (1,78 %). Kandungan gizi secara lengkap dapat disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Kandungan Gizi Ikan Gabus Segar (per 100 g bahan)

Komponen	Jumlah
Air (g%)	69
Energi (kal)	74
Protein (g%)	25,2
Lemak (g %)	1,7
Karbohidrat (g %)	0
Ca (mg %)	62
P (mg %)	176
Fe (g %)	0,9
Vitamin A (SI / 100 g)	150
Vitamin B1 (mg %)	0,04
Vitamin C (mg %)	0

Sumber: Sediaoetama (2000)

2.2.3 Manfaat Protein

Protein merupakan komponen utama dalam semua sel hidup. Fungsinya terutama adalah sebagai unsur pembentuk sel, misalnya dalam rambut, wol, kolagen, jaringan penghubung, membran sel dan lain-lain (Wirahadikusumah, 1989). Protein juga memegang peranan penting pada pembentukan jaringan (Hadiwiyoto, 1993). Kolagen, sebagai protein yang paling banyak terdapat dalam tubuh dapat memberikan struktur pada kulit dan tulang (Davidson dan Sittman, 1999).

Protein merupakan zat gizi yang sangat penting bagi tubuh, karena secara umum protein berfungsi sebagai bahan bakar dalam tubuh, protein transport (albumin, hmglobin, mioglobin), membentuk konjugat bersama senyawa lain dalam struktur jaringan (kolagn, elastin, keratin, lipoprotein), protein bergerak (miosin, aktin), protein nutrien dan penyimpanan (kasein, ovelbumin), protein pertahanan tubuh (fibrinogen, antibody), protein pengatur dan hormonal (insulin) (Winarno, 2002)

Protein dapat pula berfungsi sebagai protein yang aktif, seperti misalnya enzim, yang berperan sebagai katalis segala proses biokimia dalam sel (Wirahadikusumah, 1989). Enzim adalah protein yang mempunyai aktivitas katalisa. Hampir semua reaksi kimia biomolekul organik di dalam sel dikatalisa oleh enzim. Dalam kehidupan terdapat lebih dari 2000 jenis enzim yang masing-masing dapat mengkatalisa reaksi kimia yang berbeda (Lehninger, 1988).

Protein juga berfungsi untuk pertahanan tubuh atau imunisasi, penunjang mekanis, alat pengangkut dan alat penyimpan. Sebagai sistem imun, dalam bentuk antibodi, yaitu suatu protein khusus yang dapat mengenal dan menempel atau mengikat benda-banda asing yang masuk dalam tubuh seperti virus, bakteri dan sel-sel asing lainnya (Susanto dan Widyaningsih, 2004).

Selain itu protein juga memegang peranan pada proses pencernaan, misalnya dalam menstimulir cairan pencerna. Dalam keadaan tertentu protein dapat memberikan energi, meskipun fungsi utamanya bukan penghasil energi (Hadiwiyoto, 1993).

Protein merupakan suatu unsur seluler, meliputi kira-kira 50 % berat kering dari sel. Fungsi protein berkisar dari katalitik dalam enzim, hingga toksik dalam hal racun bakteri dan ular Page (1989). Beberapa jenis utama protein dan fungsinya disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Fungsi-Fungsi Protein

Fungsi	Jenis	Contoh
• Katalik	Enzim	Katalase pepsin
• Struktural	Protein struktural	Kolagen, elastin, keratin
• Motil (mekanik)	Protein kontraktil	Aktin, miosin
• Penyimpanan (dari zat makanan)	Protein angkutan	Kasein, ovalbumin (telur), feritin (penyimpanan besi).
• Pengangkutan (dari zat makanan)	Protein angkutan	Albumin serum (asam lemak), hemoglobin (oksigen).
• Pengatur (dari metabolisme sel)	Protein hormon Enzim pengatur	Insulin Fosfofruktokinase
• Perlindungan (kekebalan darah)	Antibodi Protein penggumpal	Imunoglobulin Trombin, fibrinogen
• Tanggap toksik	Protein toksik	Toksin bisa ular, toksin bakteri

Sumber : Page (1989)

Protein yang terdapat dalam plasma darah mempunyai keragaman dalam sifat-sifat dan fungsi-fungsi tertentu. Protein yang paling banyak terdapat dalam plasma darah adalah albumin serum. Albumin serum bertugas sebagai protein transpor bagi asam lemak. Fungsinya sangat penting untuk mempertahankan tekanan osmosa darah terhadap tekanan osmosa jaringan. α -Globulin merupakan protein serum kedua kelimpahannya. Protein ini sebagai antibodi yang membentuk suatu sistem pembelaan terhadap protein asing dan antigen-antigen lain. α -Globulin merupakan dasar kekebalan terhadap tetanus, polio, difteri dan banyak penyakit lain. Fibrinogen merupakan protein utama lain dalam plasma darah yang berfungsi untuk penggumpalan darah. Fibrinogen merupakan protein yang dapat larut yang diubah menjadi polimer berserat yang tidak larut dan disebut

fibrin (Page, 1989). Fungsi-fungsi protein yang terdapat dalam bagian plasma darah antara lain disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Jenis Utama Protein Plasma Darah

Protein	Fungsi
Albumin	Pengaturan osmosa, transpor asam lemak
α_1 Globulin	Famili mencakup protein berdensitas tinggi
α_2 Globulin	Famili mencakup protrombin (pengumpul darah) dan seruloplasmin (pengangkut tembaga)
β Globulin	Famili mencakup loprotein berdensitas sangat rendah dan lipoprotein berdensitas rendah dan transgerin (pengangkut besi)
Fibrinogen	Pengumpul darah
γ Globulin	Antibodi

Sumber : Page (1989)

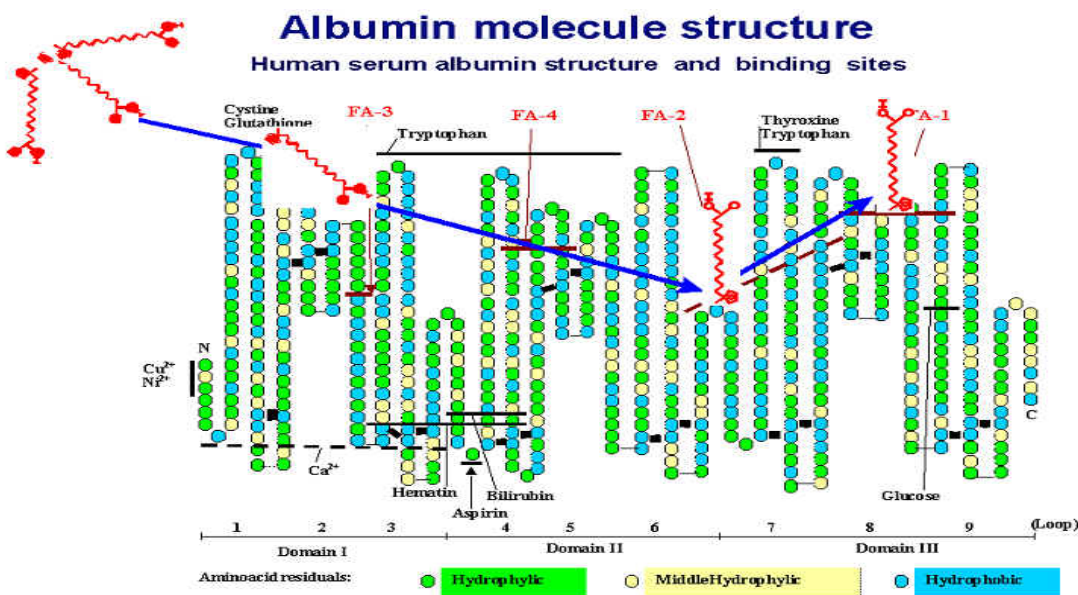
2.3 Albumin Ikan Gabus

2.3.1 Pengertian Albumin

Protein adalah unsur utama dari material terlarut dalam plasma darah (Page, 1989). Plasma darah adalah darah yang telah dipisahkan sel darah merah dan darah putihnya. Plasma darah mengandung protein yang disebut fibrin yang tak larut, tetapi terbentuk dari protein yang terlarut dalam plasma yang disebut fibrinogen. Sedangkan serum darah adalah plasma darah yang telah kehilangan fibrinogennya (Sudarmadji, *et al.*, 1989). Plasma normal mengandung 60 sampai 80 g/L protein. Protein yang banyak terdapat dalam plasma adalah albumin (Montgomery, 1993). Menurut Davidson dan Sittman (1999), albumin menyumbang 55-60 % dari total protein plasma.

Bentuk tiga dimensi dari suatu protein disebut sebagai konformasi. Untuk albumin, memiliki konformasi globular. Protein globular berbentuk bulat, mempunyai

jalinan rantai protein yang banyak dan rapi (Anonymous, 1991). Penyusun protein globular adalah rantai polipeptida berlipat dengan gugus R polar pada sebelah luar dan gugus R hidrofob pada sebelah dalam molekul protein (Toha, 2001). Contoh albumin antara lain : albumin telur, laktalbumin, albumin serum dalam protein air dadih susu, leukosin sereal dan legumen dalam biji polong (de Man, 1997). Gambar struktur dan ikatan albumin dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur dan Ikatan Albumin (Anonymous, 2007^a)

Albumin mempunyai berat molekul 69.000. Albumin disintesa di hati dan dikatabolisme oleh semua jaringan metabolisme. Stabilitas albumin kira-kira 7-10 hari pada suhu ruangan, 1 bulan pada 4°C (refrigerasi) dan tidak terbatas ketika dibekukan (Anonymous, 2006^a). Albumin terlarut dalam air dan larutan garam, serta terkoagulasi oleh panas (Considine dan Considine, 1984). Suhu koagulasi juga berbeda tergantung dari jenis albuminnya. Albumin telur terkoagulasi pada suhu 56°C, albumin serum sapi

pada suhu 67°C dan albumin susu sapi pada suhu 72°C (de Man, 1997). Serum albumin terdiri dari 584 residu asam amino (Parker, 1993). Susunan asam amino ikan gabus disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Kandungan Asam Amino Ikan Gabus

Jenis Asam Amino	Kandungan ($\mu\text{g}/\text{mg}$)
Fenilalanin	0,750
Isoleusin	0,834
Leusin	1,496
Metionin	0,081
Valin	0,866
Treonin	0,834
Lisin	1,702
Histidin	0,415
Aspartat	1,734
Glutamat	3,093
Alanin	1,007
Prolin	0,519
Serin	1,102
Glisin	0,699
Sistein	0,016
Tirosin	0,749

Sumber : Ditalia (2004)

Albumin merupakan protein utama dalam plasma manusia $\pm 3,4 - 4,7 \text{ g/dl}$) dan menyusun sekitar 60% dari total protein plasma. Sekitar 40% dari albumin terdapat dalam plasma, dan 60% lainnya ditemukan dalam ruang ekstraseluler (Murray, *et al.*, 1993). Albumin merupakan kelompok protein yang terdistribusi secara luas pada jaringan hewan dan tumbuhan (Considine dan Considine, 1984). Albumin banyak terdapat dalam serum darah dan bagian putih telur. Kira-kira setengahnya ditemukan dalam mitokondria, dan sedikit terdapat pada nukleat dan lisosom (Toha, 2001).

2.3.2 Manfaat Albumin

Serum albumin, terdiri dari 584 residu asam amino, adalah protein yang paling banyak terdapat pada serum manusia, dan sangat penting untuk fungsi fisiologi. Protein ini bertanggung jawab kurang lebih 80 % terhadap total regulasi osmotik dalam darah, dan mengangkut asam lemak diantara jaringan adipose. Albumin memberikan kontribusi yang besar pada tekanan osmotik plasma koloid dikarenakan ukurannya yang kecil dan melimpah (35-50 % dari berat total protein plasma) (Parker, 1993).

Albumin bertanggung jawab bagi pengangkutan kebanyakan bilirubin dan kalsium yang terikat protein di dalam plasma. Albumin mengikat zat warna yang dimasukkan ke dalam sirkulasi dan banyak obat-obatan, misalnya salisilat, metabolit misalnya FFA dan hormon misalnya tiroid (Baron, 1984).

Albumin dapat digunakan untuk mengatasi berbagai penyakit terutama yang diakibatkan oleh berkurangnya jumlah protein darah, misalnya luka bakar, infeksi darah, patah tulang, pasca operasi dan infeksi paru-paru (Anonymous, 2002).

Adanya albumin pada urin merupakan jenis proteinuria. Adanya albumin menunjukkan adanya kegagalan mekanisme penyaringan ginjal. Hal tersebut dapat disebabkan adanya kegagalan ginjal misalnya glomerulonephritis atau "nephritic syndrome", atau hal itu merupakan tanda bahwa ginjal telah rusak akibat hipertensi (Smith, 1990).

Montgomery, *et al* (1993) menjelaskan bahwa albumin mempunyai dua fungsi utama, yaitu mengangkut molekul-molekul kecil melewati plasma dan cairan sel serta memberi tekanan osmotik di dalam kapiler. Fungsi pertama albumin sebagai pembawa molekul-molekul kecil erat kaitannya dengan bahan metabolisme dan berbagai macam obat yang kurang larut. Bahan metabolisme tersebut adalah asam-asam lemak bebas dan

bilirubin. Albumin berperan membawa senyawa kimia tersebut dan peran ini disebut protein pengangkut non spesifik. Fungsi utama albumin lainnya adalah menyediakan 80% pengaruh osmotik plasma. Hal ini disebabkan albumin merupakan protein plasma, yang jika dihitung atas dasar berat mempunyai jumlah paling besar dan albumin mempunyai berat molekul rendah dibanding fraksi protein plasma lainnya.

Fungsi lain dari albumin yaitu untuk mempertahankan tekanan osmotik, pengangkutan hormon tiroid, pengangkutan hormon lainnya (terutama yang larut lemak), pengangkutan asam lemak (asam lemak bebas), pengangkutan bilirubin tak terkonjugasi, pengangkutan obat-obatan, pengikat ion kalsium (Ca^{2+}) dan sebagai penyangga pH (Anonymous, 2006^b).

2.4 Presipitasi Natrium Sulfat

Pemisahan protein dari campuran yang terdiri atas berbagai macam sifat asam basa, ukuran dan bentuk protein dapat dilakukan dengan cara elektroforesis, kromatografi, pengendapan dan perbedaan kelarutannya. Untuk memisahkan protein melalui perbedaan kelarutannya adalah dengan cara presipitasi. Berbagai protein globuler mempunyai daya kelarutan yang berbeda di dalam air. Variabel yang mempengaruhi kelarutan ini adalah : pH, kekuatan ion, sifat dielektrik pelarut dan suhu (Wirahadikusumah, 1989).

Pengendapan protein dengan penambahan garam didasarkan pada pengaruh yang berbeda penambahan garam tersebut pada kelarutan protein globuler. Proses ini disebut "salting in", dan tidak dipengaruhi oleh sifat garam netral, tetapi dipengaruhi oleh konsentrasi dan jumlah muatan pada tiap ion dalam larutan. Efek "salting in" disebabkan oleh perubahan kecenderungan berdisosiasi gugus-gugus dalam protein. Bila konsentrasi

garam netral yang ditambahkan tersebut dinaikkan terus, maka kelarutan protein menjadi berkurang, sampai pada konsentrasi garam yang sangat tinggi, protein akan mengalami pengendapan. Efek ini disebut "salting out". Cara "salting in" dan "salting out" ini dapat dipakai untuk pemisahan protein dalam campuran, karena tiap jenis protein mempunyai respon yang berbeda pula terhadap konsentrasi garam netral (Wirahadikusumah, 1989).

Protein plasma terdiri atas campuran kompleks yang terdiri tidak hanya protein sederhana tetapi juga protein konjugasi (glikoprotein) dan beberapa variasi lipoprotein. Pemisahan protein tunggal dari protein kompleks dilakukan dengan menggunakan pelarut atau elektrolit untuk memisahkan fraksi protein yang berbeda sesuai dengan karakteristik kelarutannya. Peristiwa ini disebut dengan "salting out" (Harper, 1975).

"Salting out" umumnya digunakan pada penentuan fraksi protein pada pengujian laboratorium secara klinis. Proses ini digunakan untuk memisahkan protein plasma dari 3 kelompok besar (fibrinogen, albumin, dan globulin) dengan menggunakan konsentrasi natrium sulfat atau ammonium sulfat yang bervariasi (Murray, *et al.*, 1993). "Salting out" untuk pemisahan albumin dari globulin dalam serum atau plasma telah dilakukan oleh para fisiologis dan biokemis selama bertahun-tahun. Beberapa metode telah dilakukan untuk mendapatkan kadar albumin dalam serum (Yeoman, 1960).

Howe (1921), menyatakan bahwa penggunaan natrium sulfat karena natrium sulfat dapat dilakukan untuk menentukan protein plasma atau serum dalam sejumlah kecil darah. Menurut Martin (1985), karena analisis fraksi protein lebih membutuhkan analisis nitrogen, natrium sulfat lebih diutamakan.

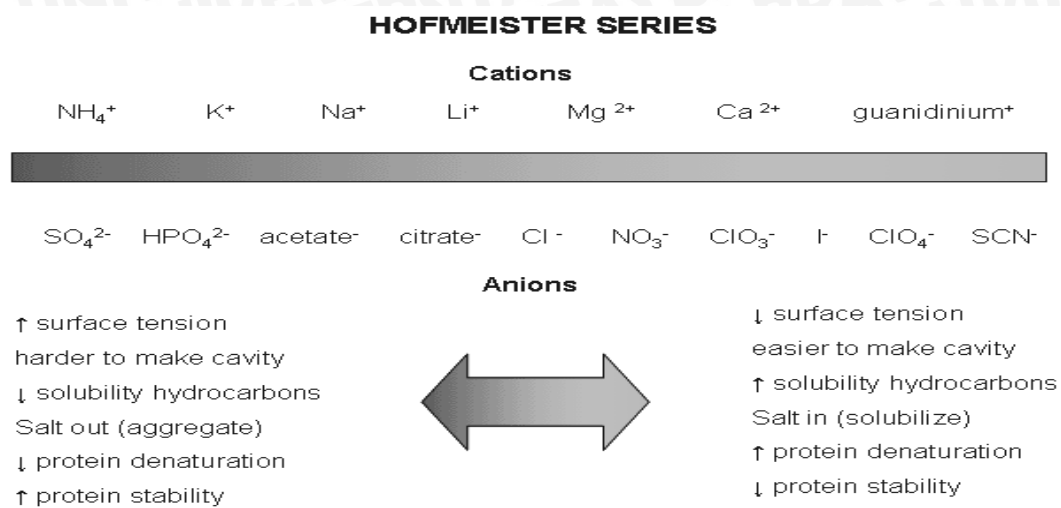
Natrium sulfat adalah suatu agen pengendap ("precipitant") yang paling banyak digunakan pada penentuan kuantitatif serum albumin dan globulin. Natrium sulfat merupakan garam yang stabil dan bisa didapatkan pada tingkat kemurnian tinggi

(Robinson, *et al.*, 1938). Kerugian dari presipitasi natrium sulfat adalah hasilnya bisa berkurang dan fraksinasinya harus dilakukan pada suhu yang tepat (biasanya 25°C), sebagaimana kelarutan Na_2SO_4 sangat bergantung pada suhu (Page, *et al.*, 1994).

Natrium sulfat adalah senyawa penting dari natrium. Dalam bentuk anhidra, natrium sulfat berupa kristal putih padat dengan rumus kimia Na_2SO_4 . Secara kimia, natrium sulfat sangat stabil, tidak bereaksi terhadap agen pengoksidasi atau pereduksi pada suhu normal. Na_2SO_4 merupakan tipe ion sulfat, yang terdiri dari ion Na^+ dan SO_4^{2-} . Natrium sulfat memiliki karakteristik kelarutan pada air yang tidak biasa dijumpai. Kelarutannya meningkat lebih dari 10 kali antara suhu 0°C sampai 32°C. Natrium sulfat merupakan garam netral, yang membentuk larutan dengan pH 7 (Anonymous, 2007^b).

Menurut Parker (1993), larutan garam netral berkonsentrasi tinggi cenderung akan mengendapkan protein, konsentrasi untuk pengendapan bervariasi dari protein satu ke protein yang lain. Dengan menambahkan garam secara bertingkat pada larutan protein, dan menyentrifus endapan pada masing-masing tingkatan, sejumlah fraksi akan didapatkan, dimana protein yang diinginkan akan mengumpul dan protein lainnya akan tertinggal pada larutan, yang selanjutnya disebut dengan supernatan.

Keefektifan garam dalam mempresipitasi protein terbagi atas garam chaotropik dan antichaotropik. Garam antichaotropik adalah garam yang paling efisien sebagai agen presipitasi. Garam ini meningkatkan efek hidrofobik pada larutan dan meningkatkan pengumpulan protein dikarenakan oleh adanya permukaan hidrofobik. Garam chaotropik pada bagian kanan adalah garam yang menurunkan efek hidrofobik, sehingga dapat mempertahankan keberadaan protein pada larutan (Janson dan Ryden, 1998). Sifat-sifat garam sebagai agen presipitasi ditunjukkan pada Hofmeister series. Hofmeister series dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Hofmeister Series (Jakubowski, 2006).

2.5 Spektrofotometri

Beberapa metode telah ditemukan untuk mengukur konsentrasi protein, yang salah satunya berdasar pada spektroskopi sinar UV. Metode ini menggunakan kemampuan alami protein yang dapat menyerap (atau menghamburkan) cahaya pada daerah UV dari spektrum elektromagnetik. Prinsip dasar dari metode ini yaitu kurva kalibrasi penyerapan dan konsentrasi protein dipersiapkan dengan menggunakan rangkaian larutan protein dari konsentrasi yang telah diketahui. Absorbansi larutan kemudian dianalisis dan diukur pada panjang gelombang yang sama dan konsentrasi protein dapat dilihat dari kurva kalibrasi. Kelebihan dari metode ini adalah cepat dan sederhana dalam penanganannya serta sangat sensitif pada konsentrasi protein rendah (Anonymous, 2007^c).

2.6 Elektroforesis

Protein memerlukan beberapa teknik pemurnian sebelum dapat digunakan, dianalisis atau diteliti. Salah satu metode untuk analisis suatu bahan adalah dengan

menggunakan elektroforesis, karena sederhana, cepat dan memiliki sensitivitas tinggi. Elektroforesis digunakan untuk menginvestigasi bahan dengan muatan tunggal dan juga digunakan sebagai teknik pemisahan (Lehninger, 1988).

Sejauh ini teknik yang paling sering digunakan untuk menentukan berat molekul protomer, pertama-tama dengan mendenaturasikan oligomer dengan cara mendidihkan dalam detergen yang mengandung β -merkaptobenzenol dan dipisahkan pada gel yang mengandung detergen ionik sodium dodesil sulfat (SDS). Proses ini disebut dengan elektroforesis (Martin, *et al.*, 1987).

Elektroforesis merupakan teknik pemisahan senyawa yang tergantung dari pergerakan molekul bermuatan. Jika suatu larutan campuran protein diletakkan diantara dua elektroda, molekul yang bermuatan akan berpindah ke salah satu elektroda dengan kecepatan tergantung pada muatan bersihnya dan tergantung pada medium penyangga yang digunakan (Montgomery, *et al.*, 1993). Elektroforesis merupakan salah satu cara untuk memisahkan protein berdasarkan titik isoelektrik molekul protein di bawah pengaruh medan listrik dan komponen-komponen protein menjadi jelas dengan adanya pewarnaan sehingga terlihat berupa pita-pita (Peranginangin, 1998).

Menurut James (1996), elektroforesis didasarkan pada prinsip bahwa partikel bermuatan atau ion, ditarik menuju elektrode yang muatannya berlawanan dalam medan listrik. Anion yang bermuatan negative bergerak menuju anoda yang bermuatan positif dan begitu sebaliknya. Jika campuran dari ion-ion ditempatkan pada pusat atau tengah dari medium yang sesuai dan potensial listrik diterapkan pada medium tersebut, ion-ion akan terpisah sesuai pergerakan diatas menuju elktrodenya masing-masing.

Elektroforesis dalam larutan detergen tidak hanya memisahkan berbagai subunit protein secara individu tetapi juga memberi kemungkinan untuk memperkirakan berat

molekul. Ini karena detergen (biasanya yang dipakai adalah SDS = Sodium Dodesil Sulfat) mengelilingi protein, menetralkan seluruh muatan alamiah dan merusak struktur sekunder dan tersier. Akibatnya molekul-molekul protein terpisahkan menurut ukurannya masing-masing ketika melewati pori-pori gel elektroforesis. Pada elektroforesis yang disertai kehadiran detergen ini, protein-protein yang lebih kecil bergerak lebih cepat daripada molekul protein yang lebih besar (Schumm, 1993).

Untuk elektroforesis gel poliakrilamid (PAGE = Polyakrilamide gel electrophoresis), larutan protein diberikan pada tabung dapar atau lempeng poliakrilamid berikatan silang 2 – 10 % dengan pemasukan metilen bisakrilamid ("bis") atau reagen berikatan silang yang sejenis kemudian diberikan arus langsung. Dapat dilihat dengan diwarnai dengan comassie blue, etidin bromide, dsb. Variasi yang terkenal adalah PAGE yang dilakukan pada keadaan denaturasi. Protein dididihkan dan selanjutnya dilakukan elektroforesis dengan adanya agen denaturasi, urea atau natrium dodesil sulfat (SDS = Sodium Dodesil Sulfat) untuk menimbulkan keadaan yang mempermudah pemisahan yang sepenuhnya berdasarkan ukuran molekul. SDS-PAGE dilakukan dengan luas untuk menentukan subunit berat molekul protein dengan membandingkan mobilitasnya dengan mobilitas standar yang berat molekulnya telah diketahui (Martin, *et al.*, 1987).

Dalam suatu sistem elektroforesis yang mempunyai elektroda positif dan negatif, asam amino akan bergerak menuju elektroda yang berlawanan dengan muatan ion asam amino yang terdapat dalam larutan. Oleh karena muatan ion itu tergantung pada pH larutan, maka pH larutan dapat diatur sedemikian rupa, sehingga ion asam amino tidak bergerak ke arah elektroda positif maupun negatif dalam sistem elektroforesis (Poedjiadi, 1994).

Elektroforesis gel merupakan tipe elektroforesis yang paling sering dilakukan di laboratorium. Gel poliakrilamid dibentuk oleh polimerisasi akrilamid ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$) dan bisakrilamid (N,N-metilenbisakrilamid) ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}=\text{CH}_2$). Reaksi pembentukan polimer ini diawali oleh suatu sistem yang menghasilkan radikal bebas. Umumnya polimerisasi diawali dengan menambahkan ammonium persulfat (APS) menjadi sulfat radikal bebas, yang selanjutnya akan mengawali reaksi polimerisasi akrilamid dan bisakrilamid. Tanpa adanya bisakrilamid akan terbentuk rantai polimerisasi akrilamid yang panjang, yang menghasilkan larutan kental namun bukan berupa gel. Dengan penambahan bisakrilamid, pada rantai akrilamid tersebut akan terbentuk ikatan lintas silang ("cross-link") pada interval tertentu sehingga terbentuk jaringan dengan besar pori tertentu. Konsentrasi akrilamid menentukan ukuran pori-pori gel yang terbentuk sehingga ukuran pori dapat diatur dengan mengatur konsentrasi akrilamid. Makin rendah konsentrasi akrilamid yang digunakan, makin besar ukuran pori-pori gel (Soewoto, 2001).

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat

3.1.1 Bahan yang Digunakan

Penelitian yang dilakukan terbagi atas 5 rangkaian prosedur. Prosedur tersebut antara lain ekstraksi albumin untuk mendapatkan "crude" albumin, presipitasi protein, analisa profil asam amino, spektrofotometri dan elektroforesis.

Untuk ekstraksi albumin, bahan-bahan yang diperlukan antara lain ikan gabus yang telah mati dan aquades. Dalam proses ini dihasilkan "crude" albumin. Ikan gabus didapatkan dari Pasuruan sedangkan aquades sebagai pelarut didapatkan dari Panadia Corporation, Jl. Taman Sulfat X Malang.

Dalam tahap preparasi sampel, bahan yang dibutuhkan adalah "crude" albumin. Crude albumin kemudian disentrifuse sehingga didapatkan serum albumin yang siap untuk dipresipitasi. Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan larutan natrium sulfat yaitu natrium sulfat dan aquades. Natrium sulfat didapatkan dari Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan buffer fosfat antara lain $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ dan Na_2HPO_4 . Bahan-bahan tersebut didapatkan dari Laboratorium Biomolekuler Fakultas MIPA Universitas Brawijaya. Bahan yang diperlukan untuk presipitasi protein adalah serum albumin dan larutan natrium sulfat serta buffer fosfat yang telah dipersiapkan sebelumnya.

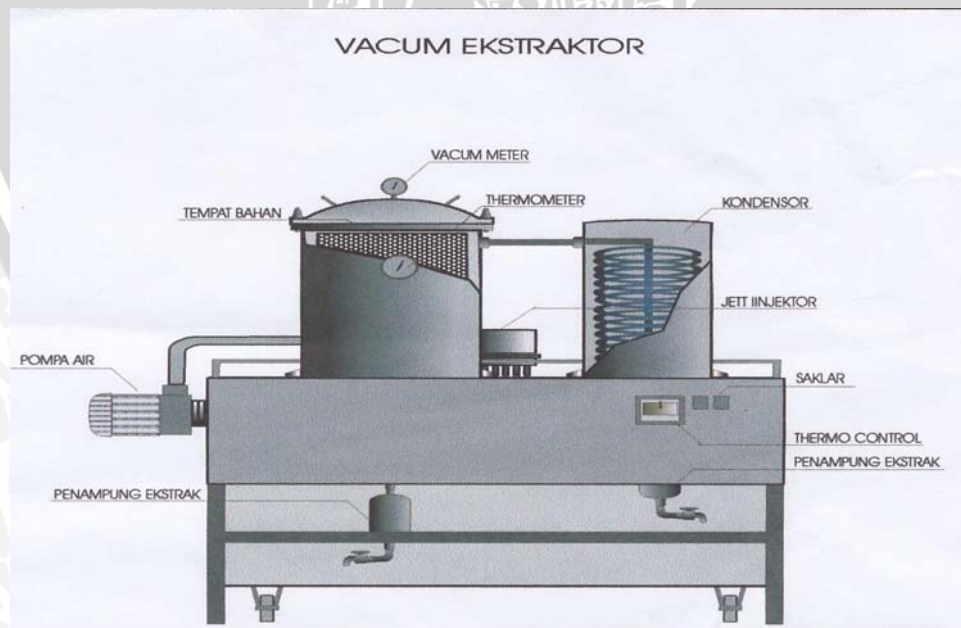
Dalam spektrofotometri, bahan-bahan yang digunakan yaitu larutan bradford, PBS (Phosphor Bisulfat) dan aquades. Dalam elektroforesis terdapat 3 tahapan, yaitu "separating gel", "stacking gel" dan pewarnaan gel. Bahan-bahan yang diperlukan

elektroforesis adalah akrilamid-bis, 1 M Hidroksi metil aminometan (tris), Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) 10 %, gliserol 50 %, bromophenol blue 1%, stok akrilamid, Amonium Persulfat (APS) 10 %, larutan buffer (pH 8,3), aquabides, tetramethyl-ethylenediamine (TEMED), Resolving Sample Buffer (RSB), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, Na_2HPO_4 , urea, glisin, larutan staining, coomasie blue R-250, methanol, asam asetat glasial, larutan destaining dan methanol.

Untuk uji protein menggunakan NaOH dan CuSO_4 encer. Uji albumin menggunakan larutan reagensia dan aquades, buffer succinate, brij dan brom cresol green. Untuk uji profil asam amino menggunakan HCl 6 N dan 0,02 N, NaOH 0,01 N.

3.1.2 Alat yang Digunakan

Alat yang digunakan dalam pembuatan "crude" albumin antara lain seperangkat ekstraksi vakum, timbangan, beaker glass, gelas ukur, stop watch serta peralatan rumah tangga berupa pisau, telenan dan baskom. Ekstraksi vakum dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Ekstraktor Vakum

Alat yang dibutuhkan dalam preparasi sampel yaitu eppendorf, pipet mikro, beaker glass dan alat sentrifus suhu 4°C. Untuk pembuatan larutan natrium sulfat dan larutan buffer menggunakan timbangan, beaker glass, hotplate dan magnetic stirer. Untuk presipitasi protein menggunakan mesin sentrifus suhu dingin, eppendorf, pipet, beaker glass, timbangan analitik dan vortex.

Alat yang digunakan dalam analisa elektroforesis adalah erlenmeyer, sentrifus, beaker glass, eppendorf, pelat pembentuk gel, sisir pembentuk sumur, chamber elektroforesis, densitometer, pipet mikro dan syringe. Alat yang digunakan dalam analisa albumin, protein dan spektrofotometri adalah spektrofotometer, beaker glass, eppendorf. Untuk analisa profil asam amino menggunakan Amino Acid Analyzer.

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Eksperimen adalah mengadakan kegiatan percobaan untuk melihat suatu hasil (Surakhmad, 1998). Eksperimen dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap obyek penelitian serta diadakannya kontrol terhadap variabel tertentu (Hasan, 2004). Tujuan penelitian ini adalah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat antara konsentrasi natrium sulfat serta berapa besar hubungan tersebut.

Pada penelitian ini dilakukan pengujian pengaruh pemberian konsentrasi natrium sulfat terhadap kualitas albumin ikan gabus. Pemberian natrium sulfat dilakukan setelah dilakukan pengestraksian albumin ikan gabus pada alat ekstraktor. Hal ini bertujuan untuk memisahkan albumin dari crude albumin dengan menerapkan prinsip pengendapan protein dengan penambahan garam.

3.2.2 Variabel

Variabel adalah konstruk yang sifat-sifatnya sudah diberi nilai dalam bentuk bilangan. Nilai suatu variabel dapat dinyatakan dengan angka atau kata-kata (Hasan, 2004). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi natrium sulfat sedangkan variabel terikatnya adalah kadar albumin endapan dan supernatan dan kadar protein endapan dan supernatan.

3.3 Perlakuan dan Rancangan Percobaan

Pada penelitian ini dilakukan eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). RAL merupakan rancangan yang paling sederhana jika dibandingkan dengan rancangan-rancangan lainnya. Dalam rancangan ini tidak terdapat kontrol lokal, sehingga sumber keragaman yang diamati hanya perlakuan dan galat (Hanafiah, 1995). Menurut Sugito (1995), bila dalam suatu percobaan hanya ada satu faktor atau satu macam perlakuan saja, sudah barang tentu tidak perlu dilakukan perancangan perlakuan melainkan secara langsung diacak penempatannya sesuai dengan lingkungan dan bahan percobaan yang ada. Bila bahan atau lingkungan percobaan dapat dianggap homogen, dapat menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL).

Dalam penelitian ini terdapat faktor tunggal yaitu konsentrasi natrium sulfat yang ditambahkan yang terdiri dari 5 taraf perlakuan yaitu konsentrasi 15% (A), 20% (B), 25% (C), 30% (D), dan 35% (E). Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali sehingga pada penelitian ini memerlukan $5 \times 3 = 15$ unit percobaan. Menurut Sugito (1995), terdapat tiga alasan mengapa suatu perlakuan perlu dilakukan pengulangan. Alasan tersebut yaitu untuk mengadakan pendugaan terhadap galat percobaan, untuk

meningkatkan ketelitian percobaan dan untuk meningkatkan jangkauan hasil percobaan.

Skema rancangan percobaan penelitian ini disajikan pada tabel 8.

Tabel 8. Skema Rancangan Percobaan

Konsentrasi Larutan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
15 % (A)	A1	A2	A3		
20 % (B)	B1	B2	B3		
25 % (C)	C1	C2	C3		
30 % (D)	D1	D2	D3		
35 % (E)	E1	E2	E3		

Keterangan :

A1 = endapan albumin yang diperoleh dengan penambahan natrium sulfat konsentrasi 15 % ulangan 1

A2 = endapan albumin yang diperoleh dengan penambahan natrium sulfat konsentrasi 20 % ulangan 2

Dan seterusnya sampai E3.

Model matematik Rancangan Acak lengkap adalah :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \Sigma_{ij}$$

$$i = 1,2,3,\dots,t$$

$$j = 1,2,3,\dots,r$$

dengan : Y_{ij} = nilai pengamatan pada perlakuan ke-i ulangan ke-j

μ = nilai tengah umum

τ_i = pengaruh perlakuan ke-i

Σ_{ij} = kesalahan (galat) percobaan pada perlakuan ke-i ulangan ke-j

t = perlakuan

r = ulangan

Perhitungan analisa sebagai berikut :

$$FK = \frac{\left(\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r Y_{ij} \right)^2}{tr}$$

$$JK_{\text{total}} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r Y_{ij}^2 - FK$$

$$JK_{\text{perlakuan}} = \frac{\sum_{i=1}^t \left(\sum_{j=1}^r Y_{ij} \right)^2}{n} - FK$$

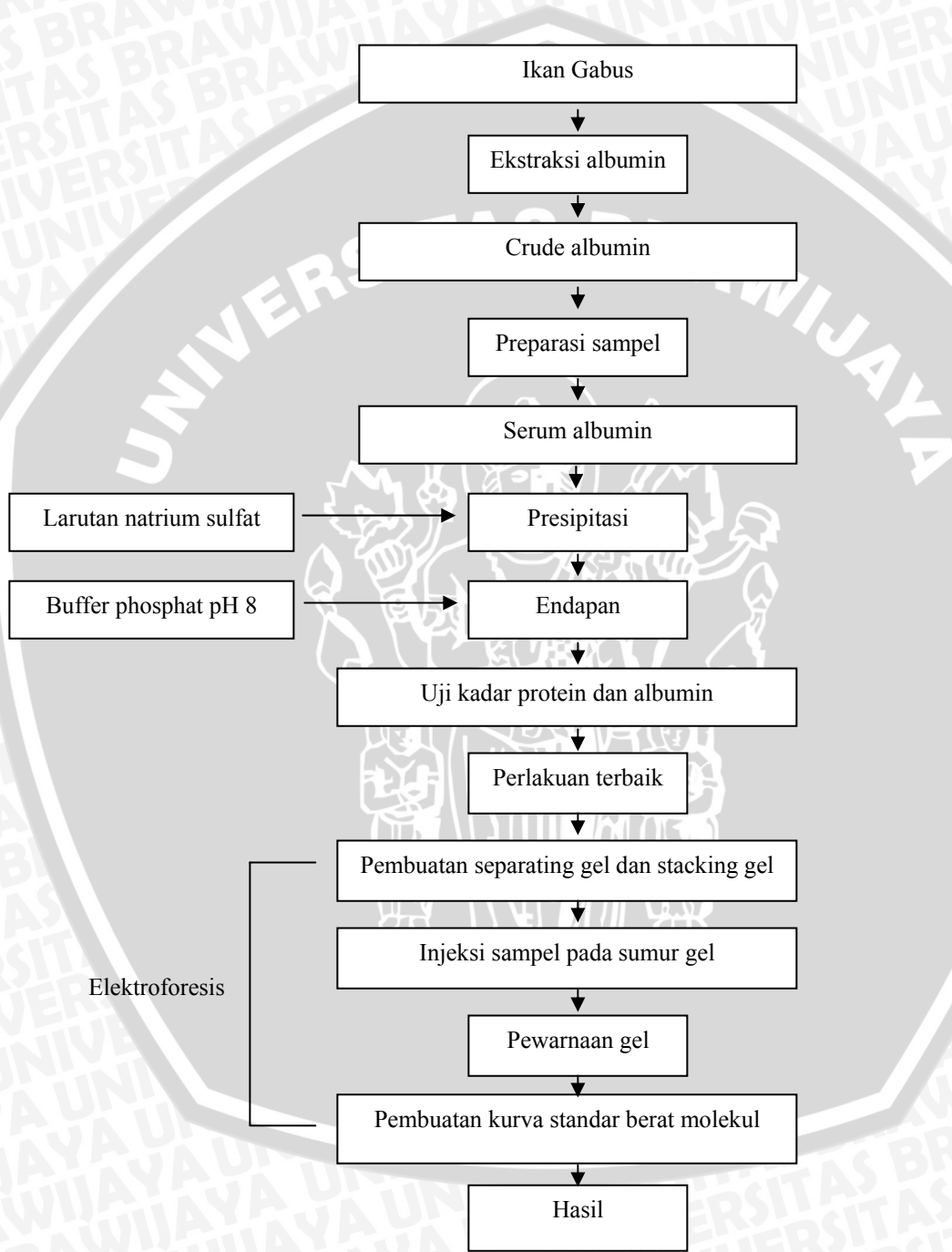
Apabila dari hasil perhitungan didapatkan perbedaan yang nyata ($F_{\text{hit}} > F_{5\%}$), maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata terkecil (BNT) untuk menentukan yang terbaik (Hanafiah, 1995). Namun dalam penelitian ini, data analisa menggunakan program minitab 14 dimana data dilihat pola sebarannya terlebih dahulu. Jika data menyebar normal, maka dilanjutkan dengan uji ANOVA (Analysis of Variance). Tetapi jika data tidak menyebar normal, maka dilanjutkan dengan uji Kruskal-Wallis (Iriawan dan Astuti, 2006).

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Alur Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini dibagi menjadi lima tahap yaitu tahap pembuatan ekstrak ikan gabus, tahap presipitasi albumin, tahap analisa profil asam amino, tahap spektrofotometri, dan tahap elektroforesis. Tahap presipitasi albumin memiliki empat tahapan yaitu preparasi sampel, pembuatan larutan natrium sulfat, pembuatan buffer fosfat serta presipitasi protein. Tahap elektroforesis memiliki empat tahapan, yaitu

tahapan persiapan "separating gel" dan "stacking gel", injeksi sampel pada sumur gel dan pewarnaan gel, dan pembuatan kurva standar berat molekul. Gambaran umum alur penelitian disajikan pada Gambar 7.



Gambar 7. Prosedur Penelitian secara Umum (Modifikasi Saraswati, 2007)

3.4.2 Pembuatan Ekstrak Ikan Gabus

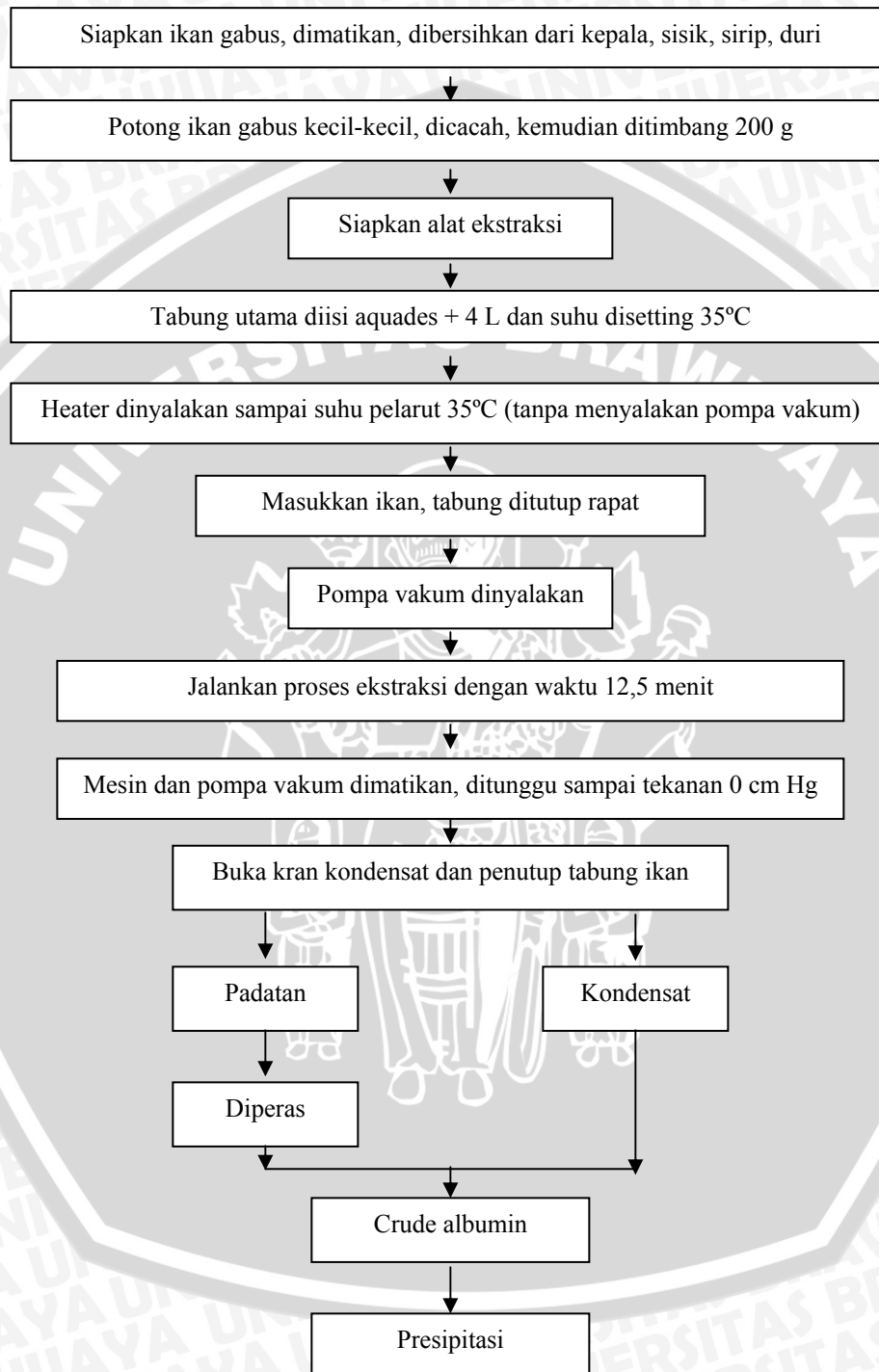
Ketaren (1986) menjelaskan bahwa ekstraksi adalah suatu cara untuk mendapatkan suatu zat dari bahan yang diduga mengandung zat tersebut. Dari pengertian tersebut, ekstraksi albumin ikan gabus dapat diartikan proses mengeluarkan albumin dari jaringan ikan gabus dengan menggunakan pelarut sehingga didapatkan albumin. Hasil ekstraksi albumin dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Hasil Ekstraksi Albumin

Tujuan dari proses tahap pertama ini adalah untuk mendapatkan filtrat ikan gabus. Ikan gabus hidup dimatikan dan dibuang bagian kepala, isi perut, sirip dan duri. Ikan gabus dipotong kecil-kecil, dicuci kemudian ditimbang sebanyak 200 g. Alat ekstraksi disiapkan, diisi dengan pelarut hingga mencapai ketinggian $\frac{1}{2}$ dari batas selang indikator (± 4 L) dan kain saring dipasang di tempat umpan kemudian atur suhu pada 35°C . Daging ikan dimasukkan dalam alat ekstraksi kemudian tabung ekstraksi ditutup. Hidupkan pompa vakum sampai tercapai tekanan -68 cmHg. Jalankan proses ekstraksi selama 12,5 menit. Setelah proses ekstraksi berakhir, daging ikan diperas, ekstrak ikan gabus dan hasil kondensat diambil. Kemudian dapat dilakukan pengukuran berat akhir ikan serta berat dan volume ekstrak albumin yang didapatkan, sehingga dihasilkan

rendemen. Diagram alir proses pembuatan ekstrak ikan gabus dalam penelitian ini disajikan pada Gambar 9.

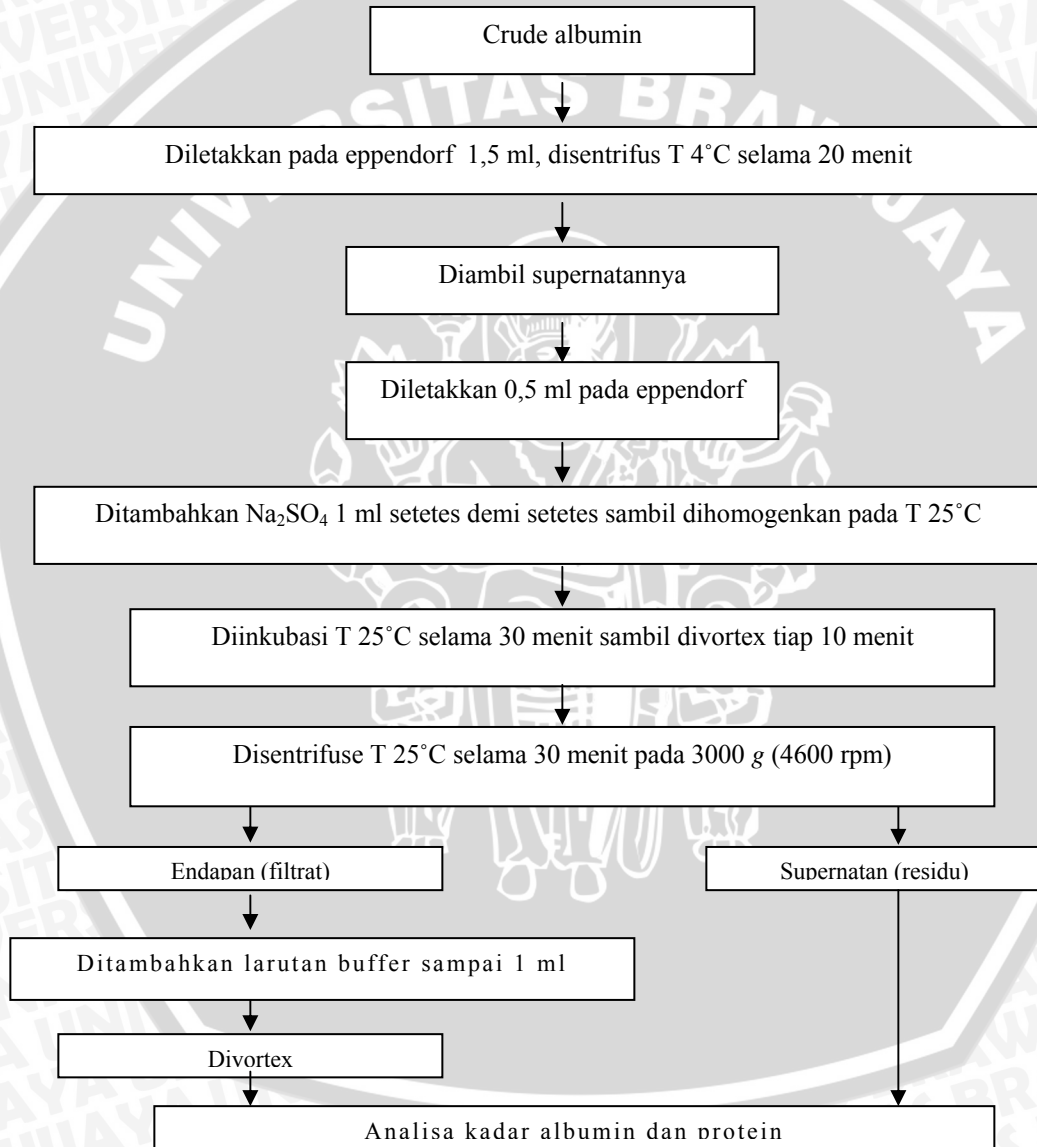


Gambar 9. Prosedur Pembuatan Crude Albumin (Modifikasi Saraswati, 2007)

3.4.3 Presipitasi Albumin Ikan Gabus

Pemisahan albumin dengan fraksi protein dalam filtrat ikan gabus menggunakan prinsip pengendapan protein dengan penambahan garam. Garam yang digunakan disini adalah natrium sulfat dengan rentang konsentrasi 15%, 20%, 25%, 30%, dan 35%.

Diagram alir pemisahan albumin dalam penelitian ini disajikan pada Gambar 10.



Gambar 10. Prosedur Presipitasi Albumin (Modifikasi Page, *et al.*, 1994)

Untuk tahap fraksinasi albumin oleh natrium sulfat, pertama-tama sampel berupa ekstrak albumin disentrifus dengan menggunakan mesin sentrifus pada 10.000 g pada suhu 4°C selama 20 menit (Page, *et al.*, 1994). Sentrifus dengan kecepatan tinggi, yaitu pada 10.000 sampai 12.000 g berfungsi untuk memisahkan ekstrak dari partikel lain (Anonymous, 2005^a).

Setelah menghasilkan serum albumin, kemudian serum dimasukkan pada masing-masing tabung eppendorf. Pada tabung eppendorf, ditempatkan serum sebanyak 0,5 ml, dan larutan natrium sulfat sebanyak 1 ml ditambahkan sedikit demi sedikit sambil larutan dihomogenkan (Yeoman, 1960). Penambahan larutan setetes demi setetes dilakukan hingga terjadi pengendapan. Adanya titik yang terkonsentrasi pada suatu tempat akan menunjukkan terjadinya pengendapan protein (Wang, 2007). Penambahan larutan natrium sulfat pada serum dilakukan pada suhu 25°C (Page, *et al.*, 1994). Untuk mencegah denaturasi yang tidak ada gunanya, kebanyakan pemurnian protein dilakukan pada suhu yang rendah yaitu antara 0 sampai 40°C. Selain itu lebih nyaman apabila dilakukan pada ruangan laboratorium biasa daripada ruangan dingin (Wang, 2007). Presipitasi dilakukan selama 30 menit dimana terjadi pengendapan.

Larutan dalam eppendorf disentrifus pada 3000 g selama 30 menit pada suhu 25°C (Page, *et al.*, 1994). Dari penelitian sebelumnya, dapat diketahui bahwa pemisahan globulin dari albumin dapat dilakukan dengan aman pada suhu 25°C. Dan oleh karena itu, tidak perlu dilakukan pada suhu 37°C (Robinson, *et al.*, 1938). Hasil akhir sentrifus didapatkan supernatan dan endapan. Hasil sentrifus dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Sampel Hasil Sentrifus

Endapan kemudian didissolvasikan dengan menggunakan buffer fosfat pH 8 untuk mempertahankan konformasi awal protein dan kemudian dapat diujikan kadar albuminnya dengan menggunakan metode Brom Cresol Green. Endapan yang telah dilarutkan kembali dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Endapan Setelah Dilarutkan

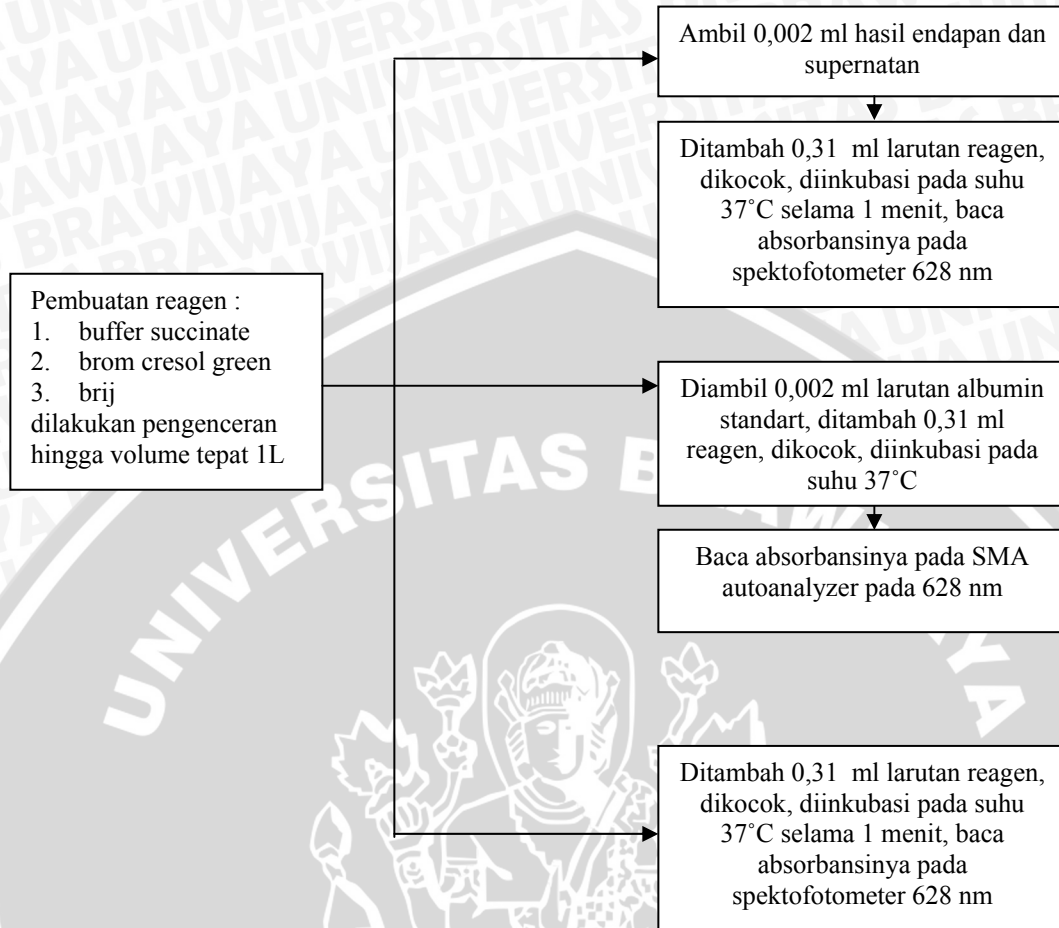
3.5 Parameter Uji

3.5.1 Analisa Kadar Albumin

Analisa kadar albumin menggunakan metode Brom Cressol Green (BCG). Analisa dengan metode BCG lebih efektif untuk pengukuran kadar albumin jika pembacaannya tidak lebih dari 30 menit (Pesce dan Kaplan, 1987). Perhitungan =

$$\frac{\text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi S tan dar}} \times \text{actual value}_{\text{precinom}} \text{ ® } \mu \text{ (g/L).}$$

Prosedur analisa kadar albumin dengan metode BCG disajikan pada Gambar 13.



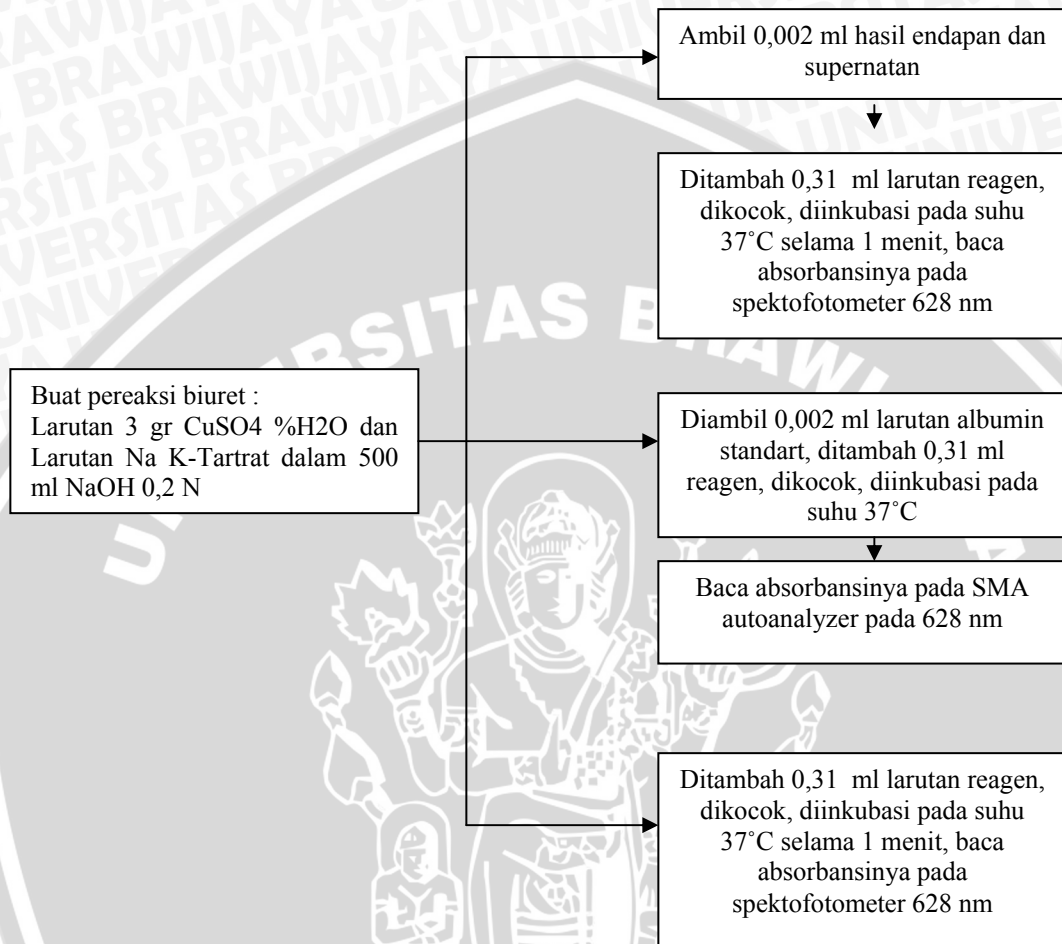
Gambar 13. Prosedur Analisa Albumin Metode BCG (Anonymous, 2005^a)

3.5.2 Analisa Kadar Protein

Uji kadar protein pada penelitian ini menggunakan metode biuret. Uji ini untuk menunjukkan adanya senyawa-senyawa yang mengandung gugus amida asam (-CONH₂) yang berada bersama gugus amida asam yang lain atau gugus yang lain. Uji biuret tidak hanya untuk protein tetapi zat lain seperti biuret atau malonamida juga memberikan reaksi positif yang ditandai dengan adanya warna merah-violet atau biru-violet (Sudarmadji, *et al.*, 1989). Perhitungan = $\frac{\text{AbsorbansiSampel}}{\text{AbsorbansiS tan dar}} \times \text{actualvalue}$

$$\text{Perhitungan} = \frac{\text{AbsorbansiSampel}}{\text{AbsorbansiS tan dar}} \times \text{actualvalue}$$

precinom ® μ (g/L). Prosedur pengukuran bahan untuk kadar protein dengan metode biuret secara lengkap disajikan pada Gambar 14.

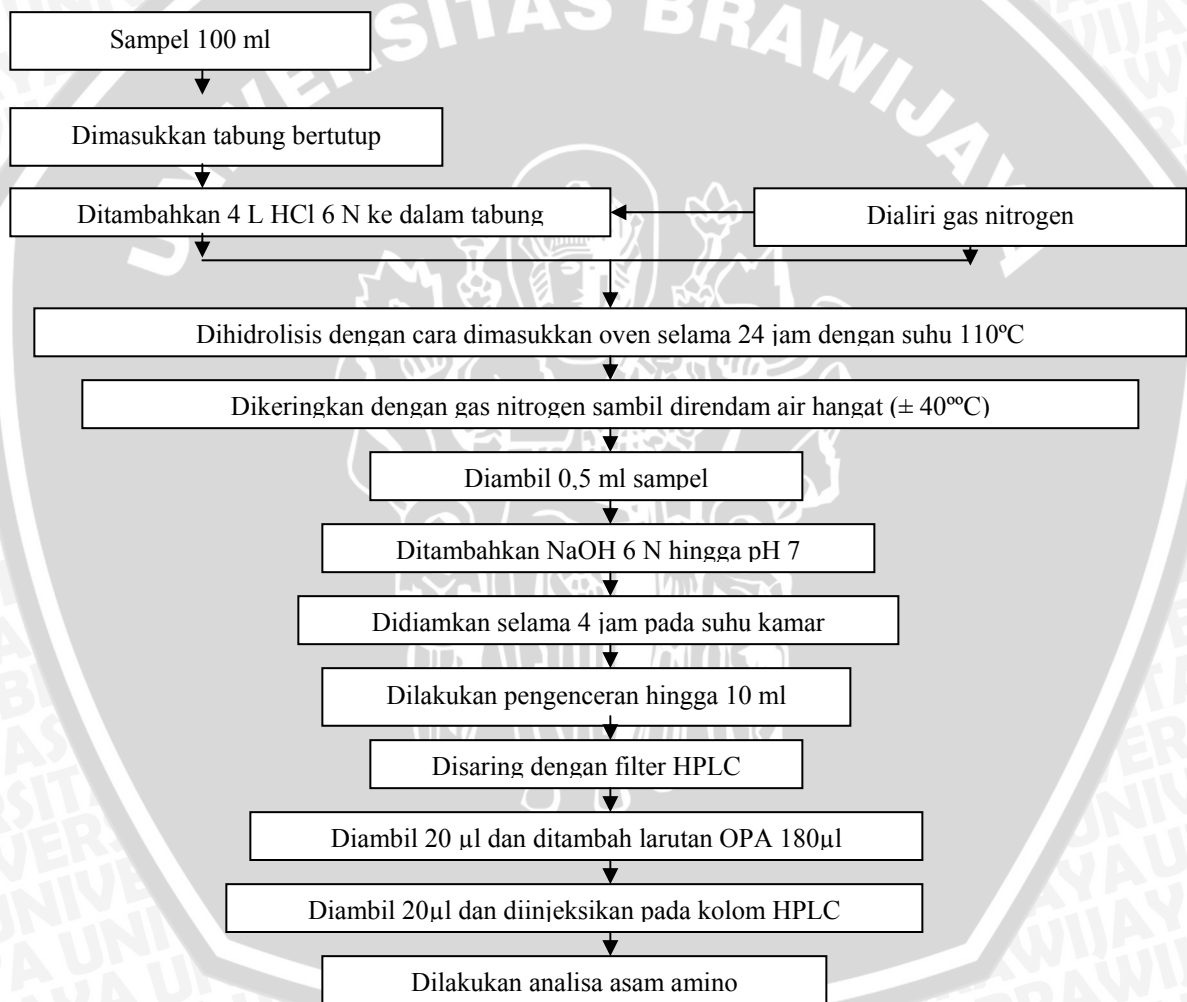


Gambar 14. Prosedur Analisa Protein Metode Biuret (Anonymous, 1998)

3.5.3 Analisa Asam Amino

Prinsip kerja HPLC tidak berbeda dengan prinsip kromatografi yang lain, yaitu pemisahan komponen-komponen sampel dengan cara melewati sampel pada suatu kolom, yang selanjutnya dilakukan pengukuran kadar masing-masing komponen tersebut dengan suatu detektor. Kerja detektor bermacam-macam, tetapi pada dasarnya membandingkan respon dari komponen sampel dengan respon dari larutan standar.

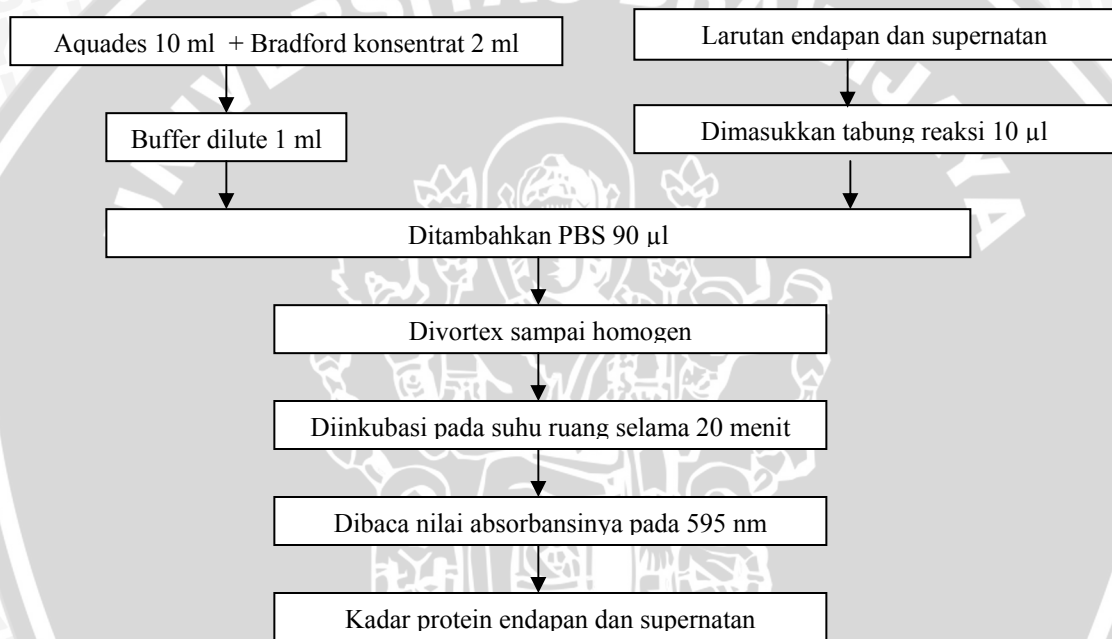
Dengan kata lain, penentuan kadar pada dasarnya adalah membandingkan respon sampel dengan respon standar. Untuk analisis dengan HPLC diperlukan standar yang betul-betul murni, biasanya disebut HPLC grade. Untuk mendapatkan hasil analisis yang tepat juga diperlukan fase gerak dengan kemurnian tinggi (Anonymous, 2005^b). Analisa asam amino hanya dilakukan pada perlakuan yang terbaik. Analisa asam amino dengan menggunakan HPLC disajikan pada Gambar 15.



Gambar 15. Prosedur Analisa Asam Amino Metode HPLC (Khak, 2007)

3.5.4 Spektrofotometri

Spektrofotometri merupakan suatu teknik analisis menggunakan alat spektrofotometer yang mekanisme kerjanya berdasarkan pada banyaknya cahaya yang diserap oleh suatu substansi dalam larutan (Sudarmadji, 1996). Untuk mengukur kadar protein suatu sampel menggunakan spektrofotometer. Analisa kadar protein dengan spektrofotometer disajikan pada Gambar 16.



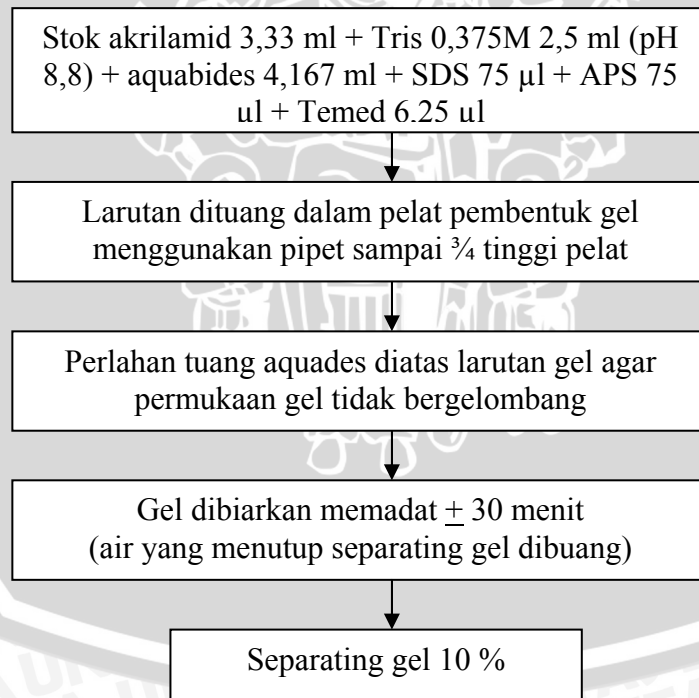
Gambar 16. Prosedur Spektrofotometri (Sapthayani, 2004)

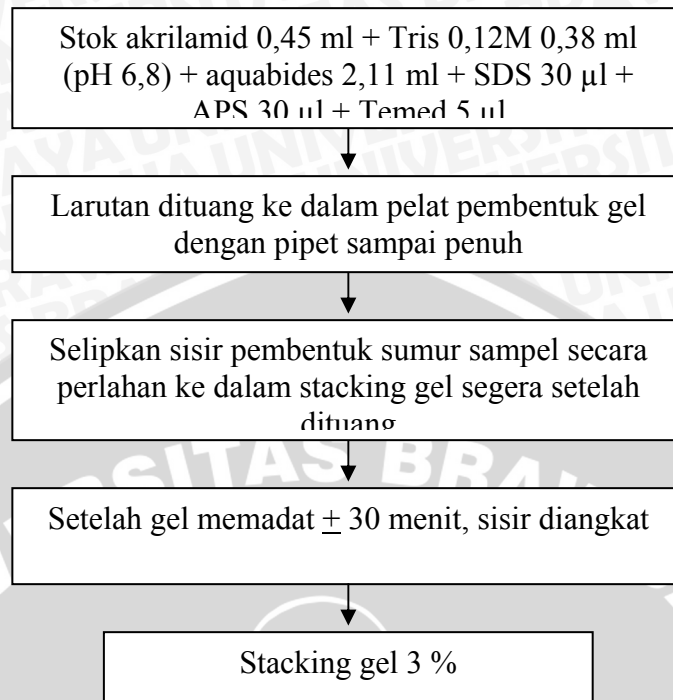
3.5.5 Elektroforesis

Sampel stok sebanyak 20 µl dimasukkan dalam eppendorf dan ditambahkan Resolving Sample Buffer (RSB) dengan perbandingan antara sampel dan RSB adalah 1:1. Selanjutnya sampel elektroforesis ini dipanaskan pada suhu $100^{\circ}\text{C} \pm 10$ menit dengan maksud untuk mendenaturasi struktur protein sehingga berubah dari struktur aslinya menjadi bentuk linier (Sudarmadji, 1996).

3.5.5.1 Persiapan Gel

Plate atau tempat lapisan gel dibuat dengan merangkai 2 lempeng kaca dengan jarak ± 1 mm. Gel dibuat dua lapis yaitu gel sebagai tempat pengumpul sampel ("stacking gel") dan gel sebagai media untuk memisahkan protein ("separating gel"). Media penyangga yang digunakan dalam penelitian ini adalah gel polikrilamid konsentrasi 10 %. Gel polikrilamid tersusun dari akrilamid dan bisakrilamid yang akan membentuk polimer bila terdapat radikal bebas. Polimerisasi ini dikatalis oleh ammonium persulfat (APS) yang dapat menghasilkan radikal bebas sedang pembentukan radikal bebas dari APS dikatalis oleh tetrametil-etilendiamin (TEMED) (Sapthayani, 2004). Adapun tahapan persiapan gel disajikan pada Gambar 17.

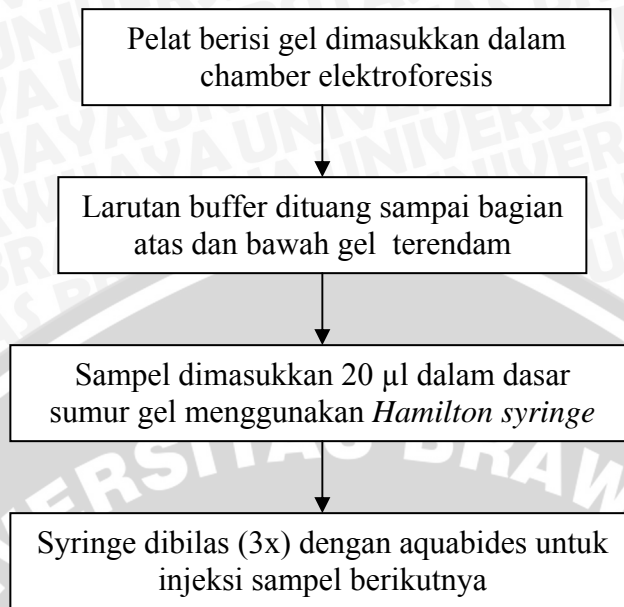




Gambar 17. Prosedur Persiapan Gel (Sapthayani, 2004)

3.5.5.2 Injeksi Sampel

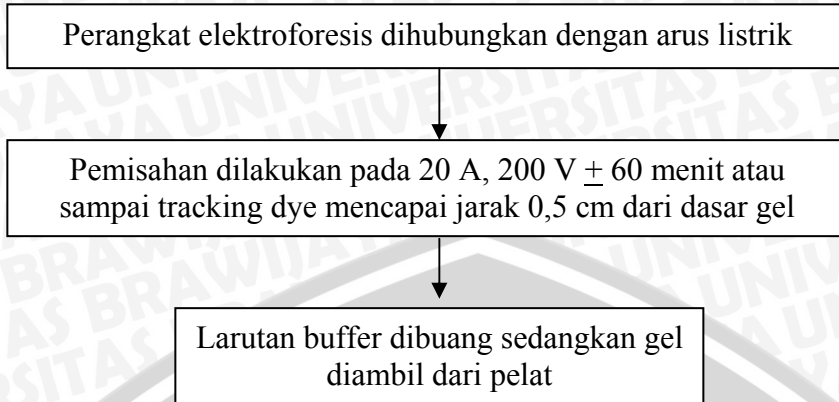
Lempeng kaca yang sudah berisi gel dimasukkan dalam "chamber" elektroforesis, larutan buffer dituang sampai bagian atas dan bawah gel terendam. Bila terbentuk gelembung udara pada dasar gel atau sumur sampel, harus dihilangkan. Kemudian sampel sebanyak 20 µl dimasukkan hati-hati ke dalam dasar sumur gel menggunakan "hamilton syringe" (suntikan). Selanjutnya "syringe" dibilas sampai 3 kali dengan aquabides sebelum dipakai untuk memasukkan sampel yang berbeda pada sumur gel berikutnya (Sapthayani, 2004). Tahapan injeksi sampel disajikan pada Gambar 18.



Gambar 18. Prosedur Injeksi Sampel (Sapthayani, 2004)

3.5.5.3 Running Sampel

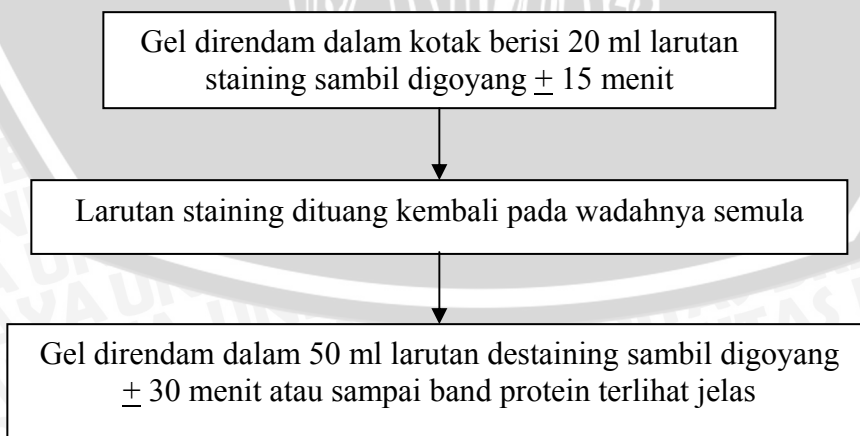
Untuk memulai proses pemisahan, perangkat elektroforesis dihubungkan dengan arus listrik dan larutan buffer. Sebelumnya lingkungan penyangga perlu dijenuhi dengan larutan buffer agar terjadi aliran listrik. Kemudian proses pemisahan dilakukan pada "constant current" 20 Amper (A), 200 Volt (V), selama kurang lebih 60 menit atau sampai "tracking dye" mencapai jarak 0,5 cm dari dasar gel. Jika arus listrik dialirkan, maka migrasi komponen-komponen protein dimulai. Protein akan terseparasi tergantung pada mobilitasnya, dimana protein dengan mobilitas tinggi akan berhenti bergerak pada bagian bawah gel sedang protein dengan mobilitas rendah akan berhenti bergerak pada bagian atas gel. Dengan demikian, pada jalur pergerakan protein akan didapatkan jajaran pita-pita protein yang sudah terseparasi berdasarkan berat molekulnya (Sapthayani, 2004). Tahapan dalam proses pemisahan protein disajikan pada Gambar 19.



Gambar 19. Prosedur Running Sampel (Sapthayani, 2004)

3.5.5.4 Pewarnaan dan Pencucian Gel

Untuk tahap pewarnaan diperlukan larutan staining untuk mewarnai protein pada gel dan larutan destaining untuk menghilangkan warna pada gel dan memperjelas band protein yang terbentuk. Tahap awal yaitu dengan merendam gel dalam kotak yang berisi 20 ml "staining solution" sambil digoyang selama kurang lebih 15 menit. Setelah itu larutan staining dituang kembali pada wadahnya. Selanjutnya gel direndam dalam 50 ml desatining solution sambil digoyang selama kurang lebih 30 menit atau sampai band protein terlihat jelas. Tahapan dalam pewarnaan gel disajikan pada Gambar 20.



Gambar 20. Prosedur Pewarnaan dan Pencucian Gel (Sapthayani, 2004)

Dalam satu sampel protein bisa ditemukan lebih dari satu bahkan puluhan band dalam gel poliakrilamid. Pada kondisi tidak diwarnai, protein tersebut tidak terlihat karena memang protein dalam sampel tidak berwarna. Setelah diwarnai dengan "staining solution" (larutan pewarna) yang mengandung commassie brilliant blue R-250, protein yang tidak berwarna tersebut menjadi biru karena mengikat commassie blue. Pada kondisi ini kita bisa mengetahui keberadaan dan mengukur mobilitas protein untuk kemudian ditentukan berat molekulnya (Sapthayani, 2004).

3.5.5.5 Visualisasi

Untuk visualisasi, elektroforegram dapat diproses dengan 2 cara yaitu dengan cara difoto untuk mendapatkan data kualitatif yaitu mengetahui profil protein yang berupa band-band atau pita-pita protein, sedangkan untuk data kuantitatifnya dapat dilakukan dengan menggunakan alat yang disebut "densitometric scanning". Densitometer adalah alat yang digunakan untuk mengetahui derajat atau kadar dari suatu band atau pita protein yang ada dalam "fotografic film" ataupun gel. Kebanyakan dari densitometer ini menggunakan "photoelectric cell" yang secara sederhana, cahaya yang berasal dari "photosensitive cell" akan memperlihatkan konsentrasi atau berat dari sampel (Sapthayani, 2004).

3.5.6 Penghitungan Rendemen Ekstraksi

Rendemen ekstraksi dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Rendemen perasan daging} = \frac{\text{BeratAkhir}}{\text{BeratAwalSampel}} \times 100\%$$

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian meliputi kadar albumin endapan, albumin supernatan, protein endapan dan protein supernatan. Hasil penelitian secara keseluruhan disajikan pada Tabel 9 dan Tabel 10 di bawah ini.

Tabel 9. Hasil Kadar Albumin

Perlakuan Ulangan	Kadar Albumin Endapan (g/dl)			Kadar Albumin Supernatan (g/dl)		
	1	2	3	1	2	3
A (15 %)	0.22	0.17	0.2	0.04	0.07	0.06
B (20 %)	0.33	0.25	0.28	0.06	0.04	0.05
C (25 %)	0.17	0.21	0.23	0.07	0.11	0.1
D (30 %)	0.29	0.3	0.3	0.05	0.08	0.07
E (35 %)	0.25	0.24	0.28	0.02	0.04	0.04

Tabel 10. Hasil Kadar Protein

Perlakuan Ulangan	Kadar Protein Endapan (g/dl)			Kadar Protein Supernatan (g/dl)		
	1	2	3	1	2	3
A (15 %)	0.25	0.27	0.24	0.29	0.21	0.25
B (20 %)	0.54	0.52	0.43	0.37	0.34	0.24
C (25 %)	0.52	0.42	0.56	0.41	0.38	0.32
D (30 %)	0.34	0.36	0.38	0.33	0.39	0.37
E (35 %)	0.39	0.39	0.36	0.35	0.2	0.18

4.2 Kadar Albumin

Pemisahan suatu protein dari campuran yang terdiri atas berbagai macam sifat asam basa, ukuran dan bentuk protein, dapat dilakukan salah satunya dengan cara perbedaan kelarutan. Untuk memisahkan protein melalui perbedaan kelarutannya adalah dengan cara presipitasi. Berbagai protein globuler mempunyai daya kelarutan yang berbeda di dalam air. Variabel yang mempengaruhi kelarutan ini adalah : pH, kekuatan ion, sifat dielektrik pelarut dan suhu (Wirahadikusumah, 1989).

Pemisahan protein dengan cara presipitasi dapat dilakukan menggunakan larutan jenuh atau setengah jenuh misalnya dengan garam netral, antara lain : natrium sulfat, magnesium sulfat atau ammonium sulfat (Anonymous, 2005^d). Garam netral dengan konsentrasi tinggi cenderung untuk mengendapkan protein. Konsentrasi yang dibutuhkan untuk mengendapkan bervariasi antara protein satu ke protein yang lain (Parker, 1993). Pemisahan protein tunggal dari suatu protein kompleks berdasarkan pada sifat kelarutannya disebut dengan metode "salting out" (Murray, *et al.*, 1993). Cara ini digunakan terutama bila diinginkan satu macam protein saja, sedangkan protein lain tidak diperlukan (Poedjiadi, 1994).

Dalam penelitian ini, natrium sulfat yang digunakan dalam proses presipitasi albumin adalah 15 %, 20 %, 25 %, 30 % dan 35 %. Hasil analisa ragam (Lampiran 1) menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi natrium sulfat memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar albumin endapan yang terpresipitasi. Jika melihat tabel distribusi F, nilai $F_{(5\%;4,10)} = 3,48$. Karena nilai $F = 8,76$ lebih besar dari $F_{(5\%;4,10)} = 3,48$; maka dapat diketahui bahwa terdapat pengaruh perbedaan konsentrasi natrium sulfat terhadap kadar albumin endapan.

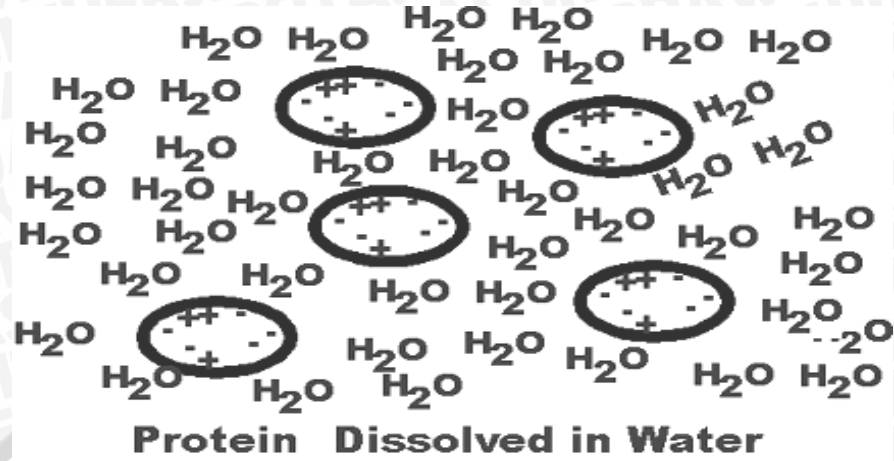
Kesimpulan ANOVA menyatakan ada perbedaan pengaruh konsentrasi natrium sulfat terhadap kadar albumin endapan. Hasil analisa lebih lanjut dapat dilihat pada Tabel 11. Adapun perhitungannya dapat dilihat pada Lampiran 1.

Tabel 11. Rerata Kadar Albumin Endapan

Perlakuan	Endapan (g/dl)	Notasi
A1	0,197	a
A3	0,203	a
A5	0,257	ab
A2	0,287	b
A4	0,297	b

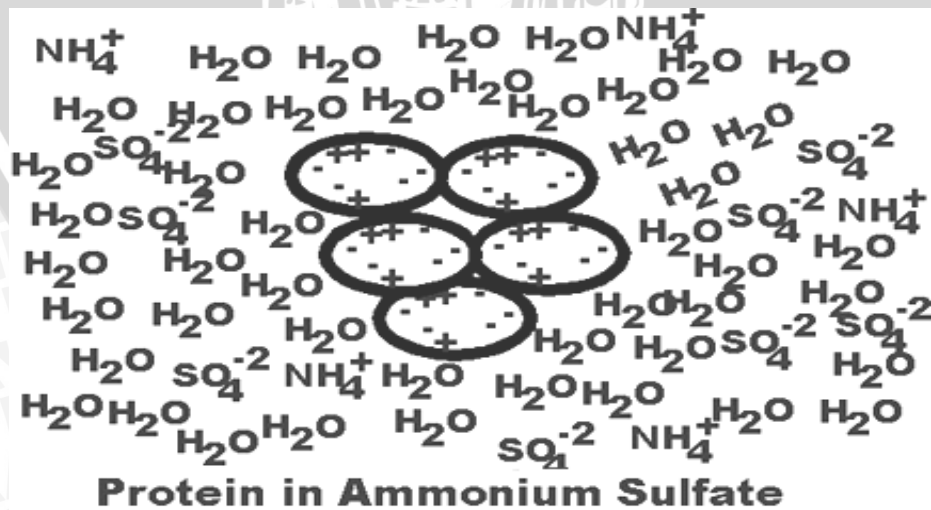
Pada Tabel 11 dapat diketahui bahwa kadar albumin endapan tertinggi terdapat pada perlakuan A4 dengan konsentrasi natrium sulfat 30 % yaitu sebesar 0,297 g/dl. Perlakuan A4 nilainya tidak berbeda nyata dengan perlakuan A2 (20 %) dan A5 (35%), namun berbeda nyata dengan perlakuan A1. Hal ini dikarenakan pada konsentrasi natrium sulfat rendah, kelarutan albumin dalam larutan natrium sulfat masih tinggi sehingga albumin yang mengendap sedikit.

Menurut Campbell (2001), penambahan konsentrasi garam pada suatu tingkat yang tinggi akan mengakibatkan protein terendapkan dari suatu larutan tanpa terjadi denaturasi apabila dilakukan dengan benar. Protein pada suatu larutan air sangat tinggi tingkat hidrasinya, dengan kata lain, kelompok ionik pada permukaan protein menarik dan mengikat erat molekul air. Protein yang terhidrasi oleh molekul air dapat dilihat pada Gambar 21.



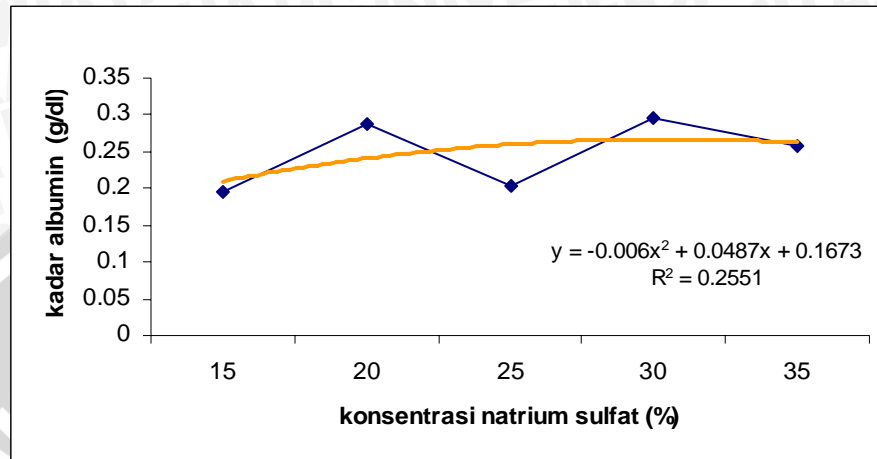
Gambar 21. Molekul Protein dalam Air (Campbell, 2001).

Pada saat diberikan banyak garam pada larutan protein, ion garam menarik molekul air menjauh dari protein. Hal ini terjadi karena ion garam memiliki muatan yang lebih besar daripada protein. Sehingga saat garam ditambahkan, ion garam mengikat molekul air, molekul protein akhirnya berinteraksi dengan molekul protein lainnya dan mulai mengumpul membentuk suatu "agregate". Sehingga pada saat garam ditambahkan kembali, protein akan mulai mengendap (Campbell, 2001). Pengendapan protein dengan penambahan garam dapat dilihat pada Gambar 22.



Gambar 22. Molekul Protein dalam Larutan Garam (Campbell, 2001).

Grafik hubungan konsentrasi natrium sulfat terhadap kadar albumin dapat dilihat pada Gambar 23.



Gambar 23. Grafik Hubungan Konsentrasi Natrium Sulfat dan Kadar Albumin Endapan

Dari grafik pada Gambar 23 dapat diketahui bahwa dengan semakin meningkatnya konsentrasi natrium sulfat maka rata-rata hasil kadar albumin endapan semakin tinggi. Rata-rata hasil kadar albumin endapan tertinggi terdapat pada konsentrasi 30 %, yaitu sebesar 0,297 g/dl dan hasil kadar albumin terendah terdapat pada natrium sulfat konsentrasi 15 % yaitu sebesar 0,197 g/dl.

Rendahnya kadar albumin pada konsentrasi natrium sulfat 15 % menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut kurang optimal untuk mempresipitasi albumin. Pada garam konsentrasi rendah, kelarutan protein selalu meningkat sedikit. Proses ini disebut dengan "salting in" (Anonymous, 2006^f).

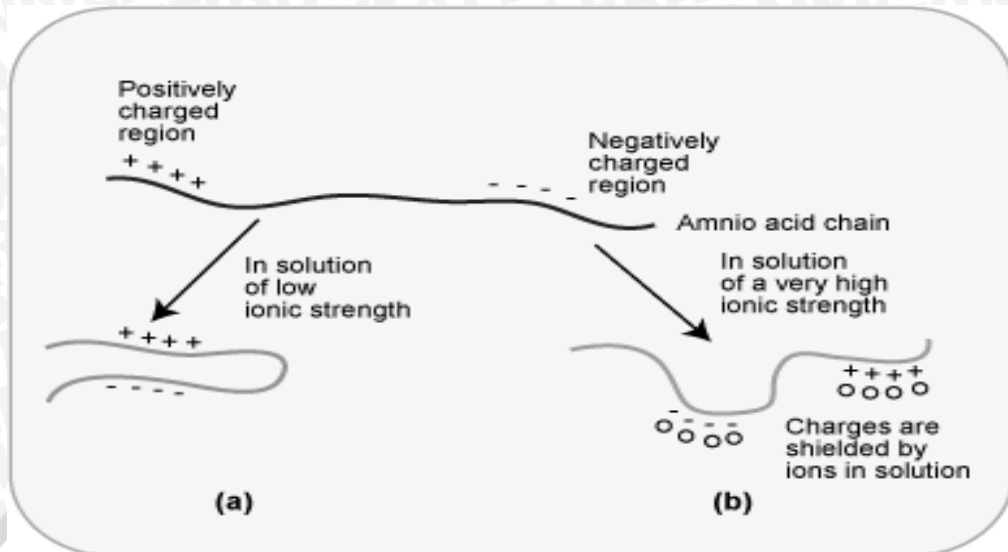
Pada "salting in" tidak dipengaruhi oleh sifat garam netral, tetapi dipengaruhi oleh konsentrasi dan jumlah muatan pada tiap ion dalam larutan. Dalam proses ini, garam divalen lebih efektif daripada garam monovalen (Wirahadikusumah, 1989).

"Salting in" pada konsentrasi rendah dijelaskan oleh teori Debye-Huckel. Teori tersebut menyatakan bahwa protein dikelilingi oleh ion garam sehingga mengurangi energi bebas elektrostatik protein dan meningkatkan aktivitas pelarut, sehingga meningkatkan kelarutan protein (Anonymous, 2006^f). Sehingga dengan konsentrasi natrium sulfat yang rendah dapat meningkatkan kelarutan albumin.

Tingginya kadar albumin pada konsentrasi natrium sulfat 30 % menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut optimal untuk mempresipitasi albumin. Penambahan garam sedikit demi sedikit pada larutan protein kemudian menyentrifusnya, sejumlah fraksi protein yang diinginkan akan terendapkan (Parker, 1993). Perilaku protein pada larutan konsentrasi garam tinggi dijelaskan oleh Kirkwood. Kelimpahan ion garam akan mengurangi kelarutan protein, sehingga protein akan mengendap (Anonymous, 2006^f).

Pengendapan albumin juga dipengaruhi oleh besarnya ikatan molekul albumin – albumin. Ikatan antara molekul-molekul albumin akan mengakibatkan molekul-molekul albumin terkoagulasi dalam bentuk interaksi hidrofobik antara yang satu dengan yang lain, sehingga albumin akan mengendap (Seidman dan Mowery, 2006^a).

Penambahan garam pada larutan akan menyebabkan konsentrasi larutan tinggi, sehingga kekuatan ion protein rendah. Saat kekuatan ion protein rendah, gugus protein yang terionisasi dikelilingi oleh ion lawan sehingga terjadi interaksi antar protein - protein dan akibatnya kelarutan protein akan menurun (Lehninger, 1988). Dengan menurunnya kelarutan protein, maka pengendapan protein akan mudah terjadi. Pengaruh konsentrasi ion pada pengendapan protein dapat dilihat pada Gambar 24.



Gambar 24. Kekuatan Ion dan Pengendapan Protein (Seidman dan Mowery, 2006^b).

Akibat tertariknya molekul air dari permukaan albumin, maka kelarutan albumin dalam suatu campuran akan berkurang. Pada konsentrasi garam yang semakin tinggi, maka ikatan-ikatan antara molekul albumin-albumin lebih besar daripada ikatan molekul air-albumin, yang menyebabkan albumin mengendap.

Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa pada konsentrasi 35 % kadar albumin kembali menurun. Menurut Voet dan Voet (2004), kelarutan albumin akan kembali meningkat seiring dengan meningkatnya kekuatan ion protein.

Hasil analisa ragam albumin supernatan (Lampiran 2) menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi natrium sulfat memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar albumin supernatan. Jika melihat tabel distribusi F, nilai $F_{(5\%;4,10)} = 3,48$. Karena nilai $F = 6,54$ lebih besar dari $F_{(5\%;4,10)} = 3,48$, maka dapat diketahui bahwa terdapat adanya pengaruh perbedaan konsentrasi natrium sulfat terhadap kadar albumin supernatan.

Kesimpulan ANOVA menyatakan ada perbedaan pengaruh konsentrasi natrium sulfat terhadap kadar albumin supernatan. Hasil analisa lebih lanjut dapat dilihat pada Tabel 12. Adapun perhitungannya dapat dilihat pada Lampiran 2.

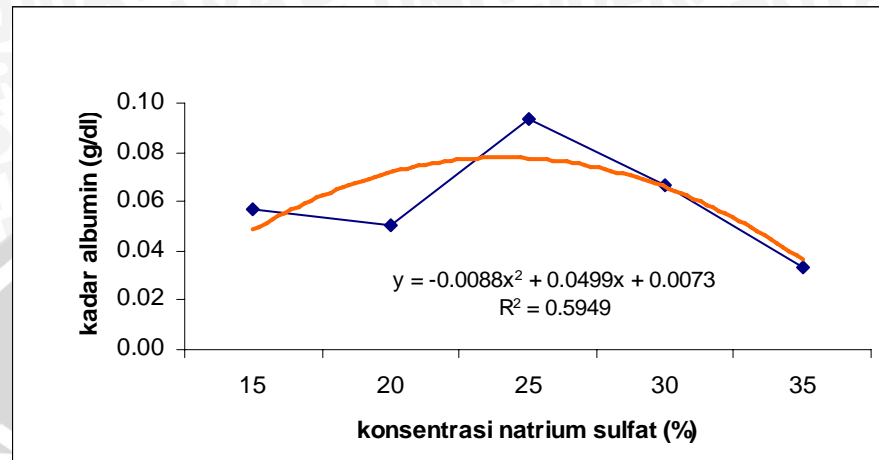
Tabel 12. Rerata Kadar Albumin Supernatan

Perlakuan	Supernatan (g/dl)	Notasi
A5	0.030	a
A2	0.050	ab
A1	0.060	ab
A4	0.070	b
A3	0.090	bc

Pada Tabel 12 dapat diketahui bahwa kadar albumin supernatan tertinggi terdapat pada perlakuan A3 dengan konsentrasi natrium sulfat 25 % yaitu sebesar 0,090 g/dl. Perlakuan A3 (konsentrasi 25 %) tidak berbeda nyata dengan perlakuan A4 (konsentrasi 30 %) namun berbeda nyata dengan perlakuan A1 (konsentrasi 15 %), perlakuan A2 (konsentrasi 20 %) dan perlakuan A5 (konsentrasi 35 %). Pada perlakuan A2 dan A1 tidak berbeda nyata dan menghasilkan kadar albumin supernatan yang kecil.

Adanya perbedaan kadar albumin supernatan di atas disebabkan oleh tinggi rendahnya konsentrasi larutan natrium sulfat yang digunakan untuk mempresipitasi protein. Menurut Seidman dan Mowery (2006^b), kekuatan ionik dari suatu larutan dapat dinaikkan atau diturunkan, sehingga dapat merubah kelarutan beberapa protein. Semakin tinggi konsentrasi natrium sulfat, maka semakin tinggi kekuatan ionik larutan, sehingga menyebabkan banyaknya albumin yang terendapkan. Dengan banyaknya albumin yang terendapkan, maka albumin yang terlarut di supernatan sedikit.

Grafik hubungan konsentrasi natrium sulfat terhadap kadar albumin supernatan dapat dilihat pada Gambar 25.



Gambar 25. Grafik Hubungan Konsentrasi Natrium Sulfat dan Kadar Albumin Supernatan

Dari Gambar 25 dapat dilihat bahwa dengan semakin meningkatnya konsentrasi natrium sulfat maka rata-rata hasil kadar albumin supernatan semakin rendah. Kadar albumin supernatan terendah terdapat pada konsentrasi 35 %. Pada konsentrasi ini ikatan molekul albumin-albumin semakin meningkat sehingga albumin cenderung akan mengendap. Oleh karena banyaknya albumin yang mengendap, maka semakin sedikit pula albumin yang tertinggal di supernatan.

Penambahan garam pada larutan protein dapat membentuk endapan. Adanya garam yang berlebihan dapat melawan molekul protein untuk berikatan dengan molekul air, sehingga kekuatan pelarut di sekeliling molekul protein berkurang. Molekul protein berkumpul kemudian mengendap (McKee dan McKee, 2003).

Menurut Parker (1993), larutan garam netral berkonsentrasi tinggi cenderung akan mengendapkan protein, konsentrasi untuk pengendapan bervariasi dari protein satu ke protein yang lain. Dengan menambahkan garam secara bertingkat pada larutan

protein, dan menyentrifus endapan pada masing-masing tingkatan, sejumlah fraksi akan didapatkan, dimana protein yang diinginkan akan mengumpul dan protein lainnya akan tertinggal pada larutan, yang selanjutnya disebut dengan supernatan. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi natrium sulfat 35% pengendapan semakin banyak sehingga albumin yang tertinggal pada supernatan juga semakin sedikit.

Kadar albumin supernatan tertinggi terdapat pada konsentrasi 25%. Menurut McKee dan McKee (2003), adanya ion garam yang mengikat kelompok ion protein dapat mengurangi muatan antar molekul protein. Molekul air kemudian membentuk lingkungan pelarut di sekeliling kelompok molekul sehingga kelarutan protein meningkat. Dengan kelarutan protein yang meningkat, maka protein yang tertinggal di supernatan juga banyak.

Kelarutan protein dapat bertambah dengan adanya penambahan konsentrasi garam. Dengan meningkatnya konsentrasi garam pada suatu larutan, ion-ion garam tersebut menyelimuti molekul protein sehingga muatan ion antar protein berkurang yang kemudian meningkatkan kelarutan protein (Voet dan Voet, 2006).

4.3 Kadar Protein

Protein adalah molekul organik yang terbanyak di dalam sel. Lebih dari 50% berat kering sel terdiri atas protein (Soewoto, *et al.*, 1987). Tiap jenis protein ditandai oleh adanya susunan kimia yang khas, bobot molekuler yang khas serta urutan asam amino yang khas (Page, 1989).

Hasil analisa ragam (Lampiran 3) menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi natrium sulfat memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar protein endapan yang terpresipitasi. Jika melihat tabel distribusi F, nilai $F_{(5\%;4,10)} = 3,48$. Karena nilai

$F = 16,79$ lebih besar dari $F_{(5\%;4,10)} = 3,48$, maka dapat diketahui bahwa terdapat adanya pengaruh perbedaan konsentrasi natrium sulfat terhadap kadar protein endapan.

Kesimpulan ANOVA menyatakan ada perbedaan pengaruh konsentrasi natrium sulfat terhadap kadar albumin endapan. Hasil analisa lebih lanjut dapat dilihat pada Tabel 13. Adapun perhitungannya dapat dilihat pada Lampiran 3.

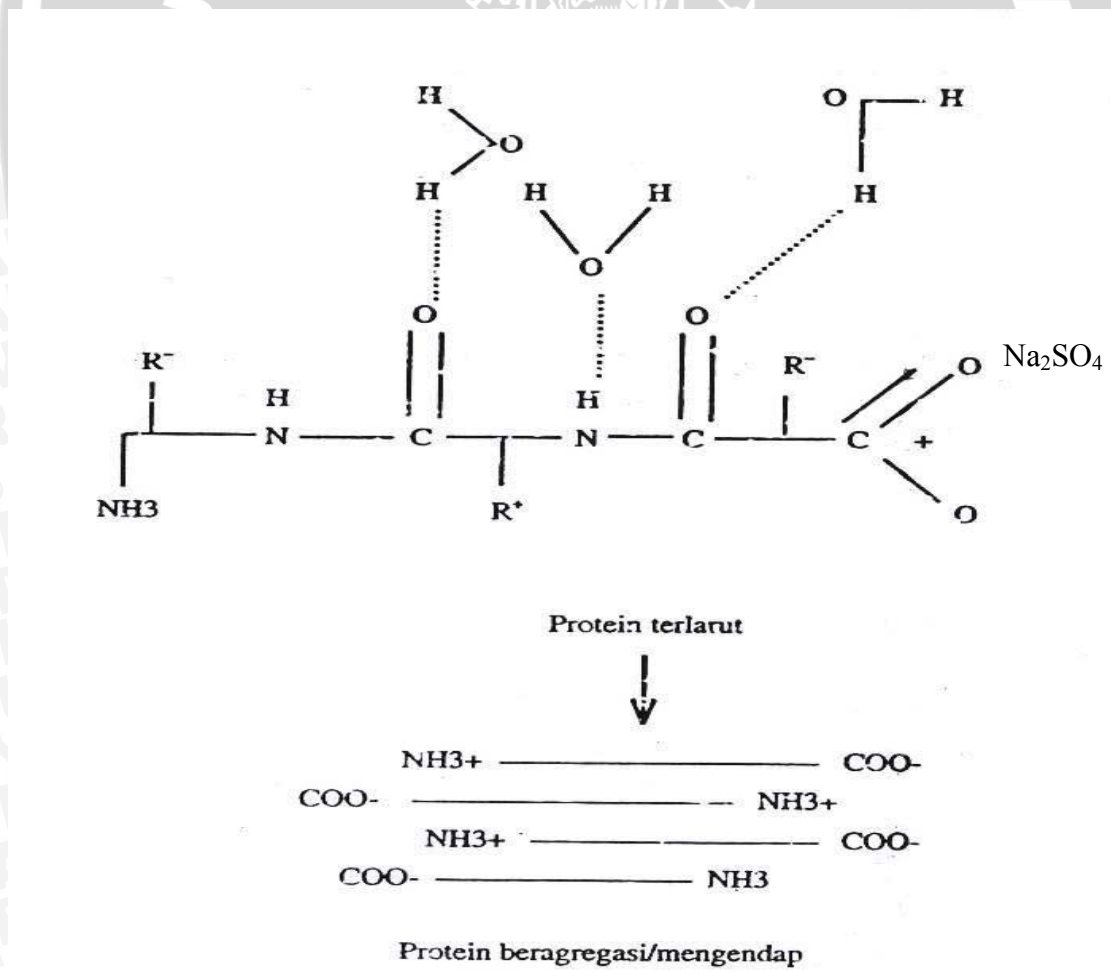
Tabel 13. Rerata Kadar Protein Endapan

Perlakuan	Endapan (g/dl)	Notasi
A1	0.253	a
A4	0.36	ab
A5	0.38	b
A2	0.497	c
A3	0.5	c

Pada Tabel 13 dapat diketahui bahwa kadar protein endapan tertinggi terdapat pada perlakuan A3 dengan konsentrasi natrium sulfat 25 % yaitu sebesar 0,5 g/dl. Perlakuan A3 tidak berbeda nyata dengan perlakuan A2, namun berbeda nyata dengan perlakuan A1, A4 dan A5. A1 berbeda nyata dengan perlakuan A5, namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan A4. Menurut Anonymous (2006^f), pada garam konsentrasi rendah, kelarutan protein meningkat sedikit demi sedikit ("salting in"). Tetapi pada konsentrasi garam tinggi, kelarutan protein menurun tajam ("salting out"). Kelarutan garam divalen lebih efisien dalam mengendapkan protein, karena di dalam air, garam tersebut akan berdisosiasi mejadi 3 ion, yang masing-masing berinteraksi sempurna dengan air (Soewoto, *et al.*, 2001).

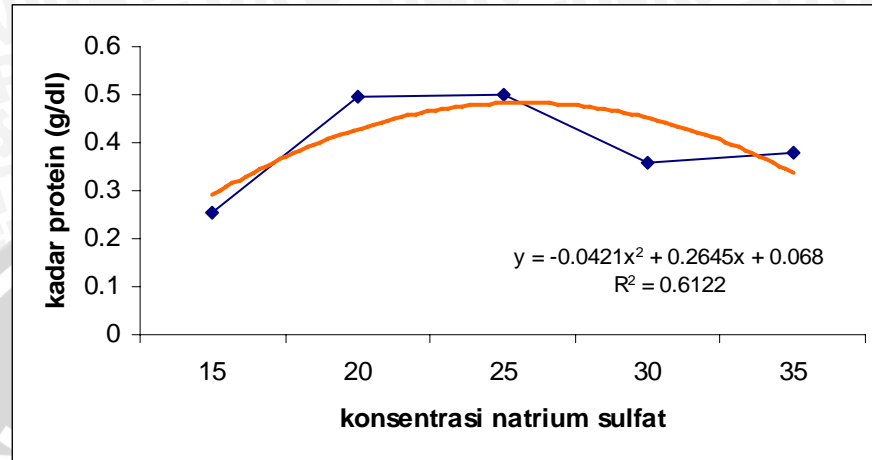
Pada molekul protein terdapat asam amino hidrofilik dan asam amino hidrofobik. Asam amino hidrofobik selalu membentuk daerah hidrofobik yang terlindung ketika

asam amino hidrofilik berinteraksi dengan molekul pelarut, sehingga protein membentuk ikatan hidrogen dengan permukaan molekul air. Jika permukaan protein cukup hidrofilik, maka protein akan dapat dilarutkan dalam air. Ketika konsentrasi garam dinaikkan, beberapa molekul air berinteraksi dengan ion garam, sehingga akan mengurangi jumlah molekul air yang berinteraksi dengan muatan protein. Semakin meningkatnya jumlah ion garam, interaksi protein-protein lebih kuat daripada interaksi antara air dan garam. Molekul protein menjadi mengental dengan membentuk interaksi hidrofobik antara protein satu dengan yang lain (Anonymous, 2006^e). Mekanisme terjadinya pengendapan protein oleh garam dalam konsentrasi tinggi dapat dilihat pada Gambar 26.



Gambar 26. Mekanisme Pengendapan Protein (Jakubowski, 2006).

Grafik hubungan konsentrasi natrium sulfat terhadap kadar protein endapan dapat dilihat pada Gambar 27.



Gambar 27. Grafik Hubungan Konsentrasi Natrium Sulfat dan Kadar Protein Endapan

Dari Gambar 27 di atas dapat diketahui bahwa dengan semakin meningkatnya konsentrasi natrium sulfat maka rata-rata hasil kadar protein endapan semakin tinggi. Rata-rata hasil kadar protein endapan tertinggi terdapat pada konsentrasi 25 %, yaitu sebesar 0,5 g/dl dan hasil kadar protein terendah terdapat pada natrium sulfat konsentrasi 15 % yaitu sebesar 0,253 g/dl.

Rendahnya kadar protein endapan pada konsentrasi 15 % menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut kurang optimal untuk mempresipitasi protein. Menurut Wang (2007), pada konsentrasi rendah, adanya garam dapat menstabilkan muatan pada kelompok molekul protein, sehingga air dapat menarik protein pada larutan dan meningkatkan kelarutan protein. Hal ini biasa disebut dengan "salting in". Karena meningkatnya kelarutan protein, maka protein yang terendapkan semakin sedikit. Sehingga pada konsentrasi 15 % hanya sedikit sekali protein yang terendapkan bila dibandingkan dengan konsentrasi yang lain.

Pada konsentrasi natrium sulfat 25 % tercapai kadar protein endapan tertinggi. Saat konsentrasi garam dinaikkan, titik maksimum kelarutan protein dapat tercapai. Penambahan lebih lanjut pada konsentrasi garam dapat mengurangi kemampuan air untuk melarutkan protein. Sehingga, protein akan mulai mengendap saat tidak ada molekul air yang cukup untuk berinteraksi dengan molekul protein. Fenomena pengendapan protein dengan adanya garam yang berlebih disebut dengan "salting out" (Wang, 2007).

Menurut West, *et al.*, (1970), pada konsentrasi garam tinggi, misalnya natrium sulfat, dapat terjadi "salting out" pada larutan. "Salting out" berhubungan dengan berkurangnya aktivitas air, yang dapat mengurangi interaksi antara air dan kelompok protein polar. Kelarutan dari protein tergantung oleh sifat dan distribusi grup hidrofilik polar dan grup hidrofobik nonpolar pada molekul. Kelompok polar ionik dari molekul protein berinteraksi secara elektrostatis dengan molekul yang sama dan dengan molekul permukaan, sehingga cenderung untuk membentuk endapan dan mengurangi kelarutan. Pada umumnya, pengendapan protein lebih sempurna pada atau dekat dengan pH isoelektrik.

Setiap keadaan yang menyebabkan ditariknya air yang mengelilingi molekul protein sangat mengurangi kelarutan protein, sehingga protein mengendap. Larutan garam berkonsentrasi tinggi bersifat demikian. Selain itu, larutan garam berkonsentrasi tinggi akan menetralkan muatan protein, sehingga kelarutan semakin berkurang (Soewoto, *et al.*, 2001).

Bila konsentrasi garam netral yang ditambahkan dinaikkan terus, maka kelarutan protein menjadi berkurang, sehingga protein akan mengalami pengendapan (Wirahadikusumah, 1989). Menurut Janson dan Ryden (1998), presipitasi protein dari

suatu ekstrak dapat dilakukan dengan penambahan garam, pelarut organik atau polimer organik atau dengan pH yang bervariasi dari larutan.

Hasil analisa ragam (Lampiran 4) menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi natrium sulfat tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar protein supernatan yang terpresipitasi. Jika melihat tabel distribusi F, nilai $F_{(5\%;4,10)} = 3,48$. Karena nilai $F = 3,04$ lebih kecil dari $F_{(5\%;4,10)} = 3,48$, maka dapat diketahui bahwa tidak ada pengaruh perbedaan konsentrasi natrium sulfat terhadap kadar protein supernatan.

Kesimpulan ANOVA menyatakan tidak ada pengaruh nyata konsentrasi natrium sulfat terhadap kadar protein supernatan, sehingga tidak perlu dilakukan analisa lebih lanjut. Data rerata kadar protein supernatan dapat dilihat pada Tabel 14. Adapun perhitungannya dapat dilihat pada Lampiran 4.

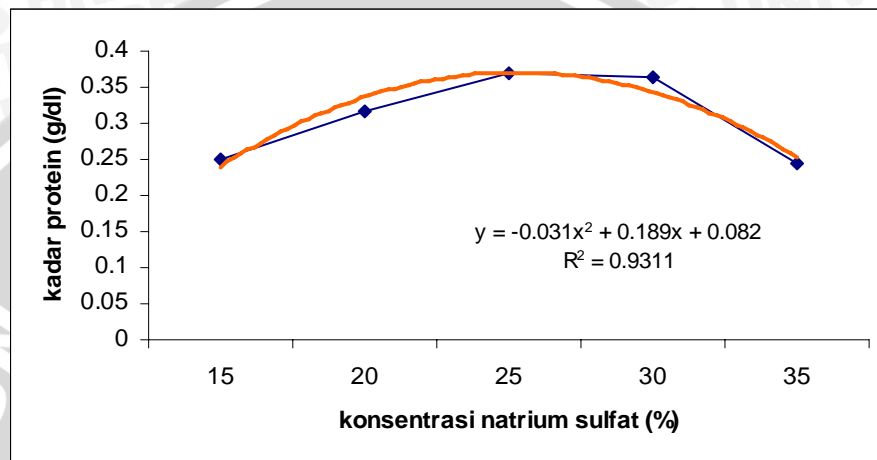
Tabel 14. Rerata Kadar Protein Supernatan

Perlakuan	Supernatan (g/dl)
A5	0.243
A1	0.250
A2	0.317
A4	0.363
A3	0.370

Pada Tabel 14 dapat diketahui bahwa kadar protein supernatan tertinggi terdapat pada perlakuan A3 dengan konsentrasi natrium sulfat 25 % yaitu sebesar 0,370 g/dl. Sedangkan kadar protein supernatan terendah terdapat pada perlakuan A5 dengan konsentrasi natrium sulfat 35 %. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi larutan natrium sulfat memberikan perbedaan tinggi rendahnya kadar protein

supernatan. Menurut Seidman dan Mowery (2006^b), kekuatan ionik larutan dapat dinaikkan dan diturunkan, sehingga akan merubah tingkat kelarutan protein.

Grafik hubungan konsentrasi natrium sulfat terhadap kadar protein supernatan dapat dilihat pada Gambar 28.



Gambar 28. Grafik Hubungan Konsentrasi Natrium Sulfat dan Kadar Protein Supernatan

Dari Gambar 28 dapat diketahui bahwa dengan semakin meningkatnya konsentrasi natrium sulfat maka rata-rata hasil kadar protein supernatan semakin tinggi. Rata-rata hasil kadar protein supernatan tertinggi terdapat pada konsentrasi 25 %, yaitu sebesar 0,370 g/dl dan hasil kadar protein terendah terdapat pada natrium sulfat konsentrasi 35 % yaitu sebesar 0,243 g/dl.

Rendahnya kadar protein supernatan pada konsentrasi 35% menunjukkan bahwa pada konsentrasi garam tinggi, protein akan semakin banyak yang mengendap sehingga yang tertinggal pada supernatan sedikit. Pada konsentrasi 15 % kadar protein supernatan juga rendah. Hal ini dapat disebabkan adanya albumin supernatan yang rendah sehingga menyebabkan kadar protein supernatan juga rendah.

Konsentrasi 25 % merupakan konsentrasi dimana kadar protein supernatan tertinggi. Hal ini disebabkan ikatan molekul protein-protein meningkat sehingga kelarutannya juga meningkat. Menurut West *et al.*, (1970), pada saat sejumlah kecil garam ditambahkan pada protein yang terlarut pada air murni, maka koefisien aktivitas protein berkurang dan kelarutannya meningkat.

Protein merupakan makromolekul karena memiliki BM (berat molekul) besar. Pada umumnya protein mudah larut dalam air karena protein mempunyai kedua sifat berikut. Gugus CO dan NH yang ada pada ikatan peptida dapat berinteraksi dengan molekul air melalui ikatan hidrogen, sedangkan berbagai rantai samping, yang diantaranya ada yang hidrofilik, bahkan juga bermuatan, sangat mudah berinteraksi dengan molekul air. Selain itu, muatan listrik yang sama dalam 2 partikel molekul protein yang sama akan bertolakan sehingga membantu meningkatnya kelarutan protein ("salting in") (Soewoto, *et al.*, 2001).

Untuk larut dalam air, suatu molekul harus dapat berinteraksi dengan molekul air dengan cara membentuk ikatan hidrogen sehingga molekul tersebut tersebar rata di antara molekul-molekul air. Adanya muatan listrik pada molekul terlarut sangat membantu kelarutan, karena muatan yang sama saling menjauhi, sehingga agregasi molekul tidak terjadi (Soewoto, *et al.*, 2001). Interaksi antara muatan protein berkurang pada air murni dengan konstanta dielektrik tinggi. Molekul air polar berinteraksi dengan molekul protein polar, sehingga cenderung untuk meningkatkan kelarutan (West, *et al.*, 1970).

4.4 Rendemen

Rendemen diperoleh dari perbandingan masa akhir ekstrak hasil perasan dengan masa awal daging ikan gabus. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan ekstraktor vakum pada suhu pemanasan 35°C selama 12,5 menit. Berdasarkan hasil penelitian diketahui rendemen perasan ikan gabus berkisar antara 18,61 % - 20,19 %. Hasil rendemen dapat dilihat pada lampiran 5. Dari hasil analisa diketahui kadar albumin hasil perasan berkisar 2,04 – 2,67 g/dl, sedangkan kadar protein hasil perasan berkisar antara 3,96 – 5,12 g/dl.

Adanya perbedaan kadar albumin dan protein dapat dikarenakan oleh faktor intrinsik dan ekstrinsik. Menurut Hadiwiyoto (1993), faktor – faktor yang mempengaruhi komposisi kimia ikan meliputi faktor intrinsik dan faktor ekstrinsik. Faktor intrinsik yaitu umur ikan, jenis kelamin, kebiasaan makan dan tingkat kematangan seksual. Sedangkan faktor ekstrinsik atau faktor dari luar yaitu kehidupan ikan, persediaan makan dan musim.

4.5 Perlakuan Terbaik

Perlakuan terbaik ditentukan dengan menggunakan metode De Garmo. Adapun prosedur perhitungan De Garmo tercantum pada Lampiran 6.

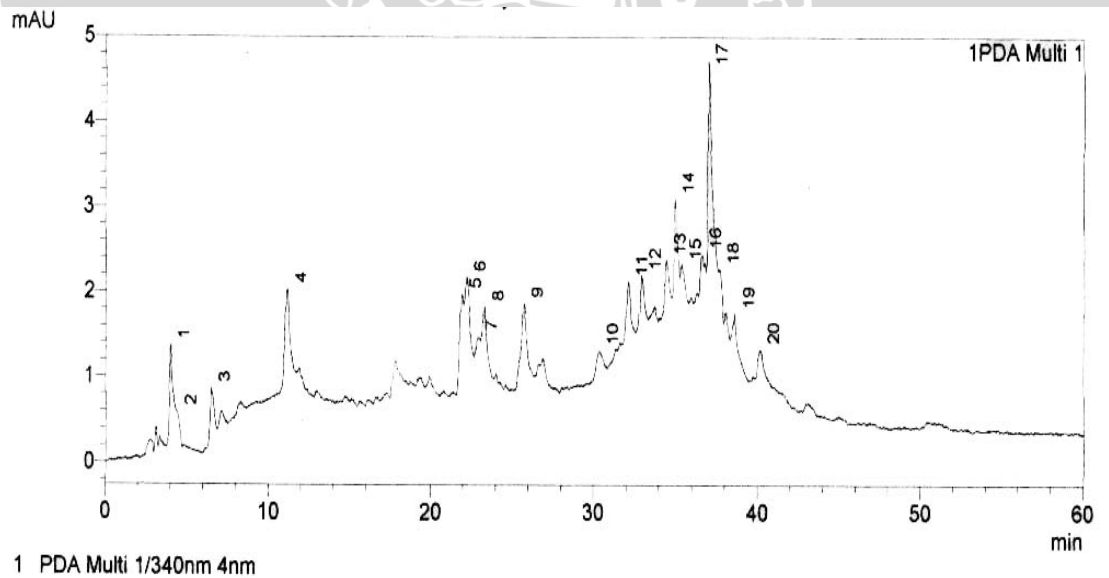
Pada perhitungan perlakuan terbaik, perlakuan konsentrasi natrium sulfat 20 % menunjukkan nilai efektivitas paling tinggi, yaitu 0,864 dengan karakteristik : kadar albumin endapan sebesar 0,287 g/dl; kadar albumin supernatan sebesar 0,050 g/dl; kadar protein endapan sebesar 0,497 g/dl; dan kadar protein supernatan sebesar 0,317 g/dl.

4.6 Profil Asam Amino

Protein mempunyai molekul besar dengan bobot molekul bervariasi antara 5000 sampai jutaan. Dengan cara hidrolisis oleh asam atau oleh enzim, protein akan menghasilkan asam-asam amino. Ada 20 jenis asam amino yang terdapat dalam molekul protein. Asam-asam amino ini terikat satu sama lain oleh ikatan peptida. Protein mudah dipengaruhi oleh suhu tinggi, pH dan pelarut organik (Poedjiadi, 1994).

Albumin memiliki struktur primer yang terdiri dari 610 asam amino yang tersusun pada rantai peptida tunggal. Struktur sekunder nampak menjadi satu, yang mana rantainya terlipat ke belakang dan dapat membentuk lapisan yang tidak terlipat dengan cara menurunkan pH dan melipat kembali dengan cara meningkatkan pH kembali (Harper, 1975).

Hasil analisa HPLC menghasilkan kromatogram asam amino endapan yang dapat dilihat pada Gambar 29 dan Tabel 15.



Gambar 29. Kromatogram Asam Amino Endapan

Tabel 15. Pembacaan Kromatogram Endapan

No	Asam Amino	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	As. Aspartat	3.982	20191	1210	6.207	7.025
2	-	4.373	5953	422	1.830	2.452
3	As. Glutamat	6.493	10507	627	3.230	3.643
4	Serin	11.129	22685	1102	6.974	6.397
5	-	21.893	16320	1174	5.017	6.815
6	Arginin	22.189	36326	1343	11.168	7.801
7	Glisin	22.923	12566	587	3.863	3.409
8	Threonin	23.287	19482	908	5.989	5.272
9	Alanin	25.714	19647	883	6.040	5.126
10	-	30.352	5159	251	1.586	1.456
11	Triptofan	32.093	10840	660	3.333	3.832
12	Metionin	32.910	10315	612	3.171	3.553
13	Valin	34.419	12330	656	3.791	3.810
14	Phenil Alanin	34.964	21260	1320	6.536	7.666
15	Isoleusin	35.343	8587	504	2.640	2.928
16	Leusin	36.595	9612	633	2.955	3.673
17	Lisin	37.006	63046	2965	19.382	17.217
18		37.664	7750	597	2.383	3.468
19		38.614	5873	417	1.805	2.420
20		40.177	6826	351	2.099	2.038
Total			325275	17221	100.000	100.000

Hasil analisa tersebut menghasilkan 9 asam amino esensial dan 5 asam amino non esensial. Asam amino esensial antara lain arginin, treonin, metionin, valin, fenilalanin, isoleusin, leusin, triptopan dan lisin. Asam amino non esensial antara lain asam aspartat, asam glutamat, serin, glisin dan alanin. Profil asam amino albumin ikan gabus hasil presipitasi natrium sulfat dengan metode HPLC dapat dilihat pada Tabel 16.

Tabel 16. Profil Asam Amino Endapan

Asam Amino	Hasil Analisa (%)
As. Aspartat	6,207
As. Glutamat	3,230
Serin	6,974
Arginin *	11,168

Asam Amino	Hasil Analisa (%)
Glisin	3,863
Threonin *	5,989
Alanin	6,040
Triptopan*	3,333
Metionin *	3,171
Valin *	3,791
Phenil Alanin *	6,536
Iso leusin *	2,640
Leusin *	2,955
Lisin *	19,382
Total	85,279

Keterangan: * = asam amino essensial

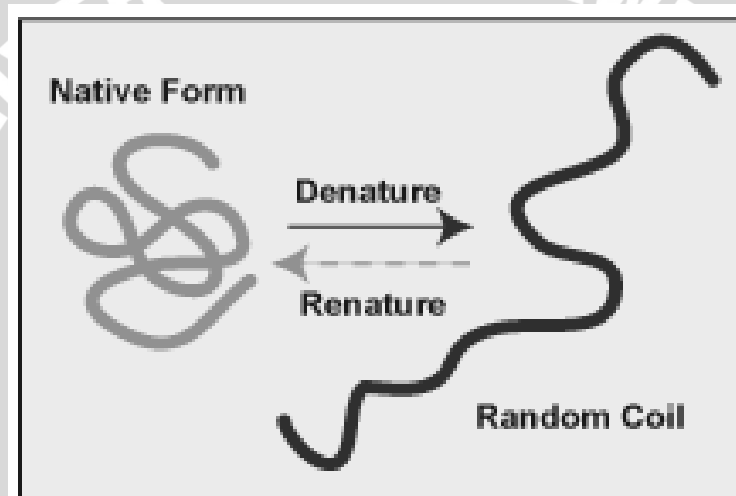
Kandungan total asam amino albumin ikan gabus hasil presipitasi natrium sulfat sebesar 85,279 %. Berdasarkan analisa HPLC, kadar asam amino tertinggi adalah lisin yaitu sebesar 19,382 % dan yang tidak terdeteksi adalah histidin dan tyrosin. Histidin mempunyai sifat basa. Tirosin merupakan molekul asam amino yang mempunyai gugus fenol dan bersifat asam lemah (Poedjiadi, 1994).

Pada hasil analisa profil asam amino dapat dilihat bahwa pada sampel terbaik dengan konsentrasi natrium sulfat 20 % tidak mengandung asam amino yang lengkap. Menurut Poedjiadi (1994), protein yang tidak mengandung asam amino esensial lengkap atau sangat sedikit mengandung asam amino esensial sehingga tidak dapat memenuhi kebutuhan pertumbuhan dan keseimbangan nitrogen, dinamakan protein tidak sempurna.

Asam amino yang tidak terdeteksi ini dapat dikarenakan denaturasi. Denaturasi ini dapat terjadi karena adanya panas pada saat analisa HPLC. Dalam analisa ini terdapat prosedur memasukkan sampel pada oven dengan suhu 110°C. Menurut Poedjiadi

(1994), disamping pH, suhu tinggi dan ion logam berat, denaturasi dapat pula terjadi oleh adanya gerakan mekanik, alkohol, aseton, eter dan detergen.

Selama denaturasi protein, ikatan hidrogen, hidrofobik dan elektrostatik pecah tetapi ikatan peptida atau disulfida tidak (Martin, *et al.*, 1987). Secara fisika, denaturasi dapat dipandang sebagai suatu perubahan konformasi rantai polipeptida yang tidak mempengaruhi struktur primernya. Proses denaturasi dapat dilukiskan seperti dilihat pada Gambar 30.



Gambar 29. Denaturasi Protein (Seidman and Mowery, 2006).

Sekali protein mengalami denaturasi, maka sangatlah sukar untuk mengembalikannya ke konformasi semula, meskipun bukan mustahil sama sekali. Pemulihan ini sukar, meskipun penyebab denaturasi tadi telah dilenyapkan. Ini biasanya karena protein telah mengalami perubahan sesudah sintesis dengan cara perubahan bagian tertentu dari residu asam-asam amino tertentu, pembentukan ikatan disulfida atau pemotongan sepenggal peptida. Protein yang telah berubah tidak dapat kembali ke struktur yang pada mulanya dihasilkan, bahkan meskipun ditempatkan dalam lingkungan yang sama (Schumm, 1993).

4.7 Spektrofotometri

Menurut Montgomery, *et al.*, (1993), penyerapan cahaya oleh protein terutama disebabkan oleh ikatan peptida, sisa tirosin, triptofan dan fenilalanin, bersama-sama dengan sifat-sifat spektral lainnya yang disumbangkan oleh gugus-gugus nonprotein yang berikatan.

Dalam penelitian ini dapat diketahui kadar protein supernatan dan endapan hasil presipitasi. Dari hasil analisa untuk perlakuan terbaik yaitu pada larutan natrium sulfat konsentrasi 20 %, diperoleh nilai kadar protein endapan sebesar 14,36 mg/ml dan kadar protein supernatan sebesar 6,232 mg/ml.

4.7 Elektroforesis

Elektroforesis adalah perpindahan partikel muatan pada suatu larutan elektrolit yang terjadi ketika arus listrik dilewatkan melalui larutan. Beberapa komponen protein dari campuran, misalnya plasma pada nilai pH di atas dan di bawah titik isoelektriknya akan berpindah pada tempat yang berbeda pada larutan karena memiliki muatan permukaan yang berbeda (Harper, 1975).

Pada penelitian ini menggunakan sistem elektroforesis vertikal. Menurut Janson dan Ryden (1998), kelebihan dari elektroforesis vertikal adalah tidak mahal, menggunakan peralatan yang sederhana, dapat digunakan untuk volume sampel yang besar, dapat mendinginkan secara mudah dan baik saat blotting.

Dalam elektroforesis dapat menggunakan media SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrilamide Gel Electrophoresis). Dalam metode SDS-PAGE ini protein dielektroforesis pada buffer yang mengandung SDS. Protein berada dalam kondisi disosiasi atau denaturing, dimana SDS akan mengikat bagian hidrofobik dan residu asam

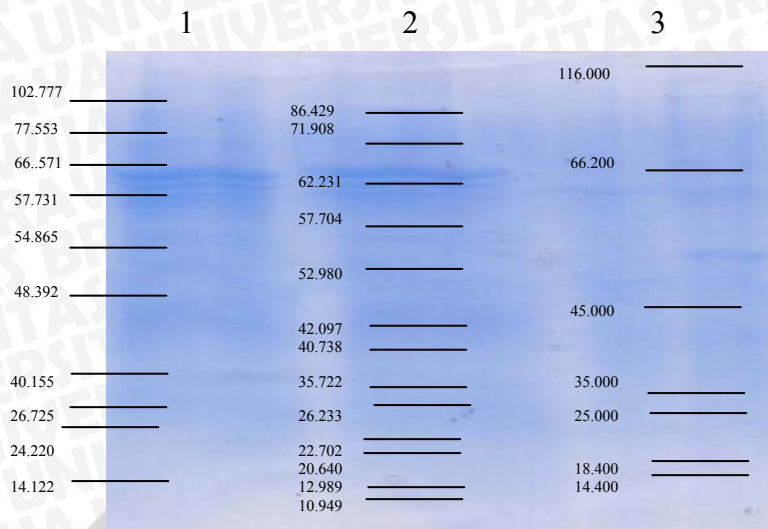
amino sehingga menyebabkan perubahan struktur tiga dimensi protein. SDS juga menyebabkan terputusnya ikatan disulfida (struktur sekunder) dan menyebabkan bagian luar molekul protein terselubung oleh muatan negatif dari SDS sehingga protein akan terpisahkan berdasarkan berat molekulnya. Pada saat elektroforesis protein akan bergerak dari elektroda negatif menuju elektroda positif sampai pada jarak tertentu pada gel poliakrilamid tergantung berat molekulnya (Fatchiyah, *et al.*, 2006).

Elektroforesis dalam larutan detergen tidak hanya memisahkan bagian subunit protein secara individu, akan tetapi juga memberi kemungkinan untuk memperkirakan berat molekul. Ini karena detergen mengelilingi molekul protein, menetralkan seluruh muatan alamiah dan merusak struktur sekunder dan tersier. Akibatnya molekul-molekul protein terpisahkan menurut ukurannya masing-masing ketika melewati pori-pori gel elektroforesis. Protein-protein yang lebih kecil bergerak lebih cepat daripada molekul protein yang lebih besar (Schumm, 1993).

Elektroforesis digunakan untuk menentukan berat molekul suatu protein. Berat molekul tersebut dapat ditentukan dengan mengukur mobilitas molekul protein atau pergerakan pita protein dalam gel poliakrilamid berdasar kurva standar protein marker. Mobilitas atau pergerakan protein dikenal dengan istilah Rf ("Retadaction factor") dan dapat diukur menggunakan rumus berikut :

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

Gambar elektroforegram hasil elektroforesis dapat dilihat pada Gambar 31.



Keterangan :

1. Sumur 1 (endapan)
2. Sumur 2 (supernatan)
3. Marker

Gambar 31. Hasil Analisa Elektroforesis

Dari hasil analisa elektroforesis pada albumin endapan dan supernatan diperoleh elektroforegram yang menunjukkan pita-pita ("band") protein. Protein standar ("marker") dijadikan sebagai standar untuk menentukan berat molekul dari setiap pita protein yang terbentuk dalam gel poliakrilamid. Pada kurva berat molekul, nilai Rf ditempatkan sebagai sumbu x dan berat molekul (fungsi dari log berat moleku) ditempatkan sebagai sumbu y. Dari kurva standar molekul dapat diperoleh persamaan regresi linier $y = -1,7446x + 5,784$ dimana $y = \log$ berat molekul standar dan $x =$ nilai Rf dari pita elektroforegram. Persamaan tersebut dapat digunakan untuk menentukan berat molekul pada endapan dan supernatan berdasarkan nilai Rf dari pita yang muncul. Data perhitungan nilai Rf dan kurva standar berat molekul dapat dilihat pada Lampiran 7.

Dari hasil perhitungan didapatkan bahwa pada endapan terdapat 9 pita protein dan pada supernatan terdapat 13 pita protein. Kisaran berat molekul endapan yaitu 14.122 - 102.777 kDa dan kisaran berat molekul supernatan 10.949 – 86.492 kDa. Perhitungan berat molekul dari protein endapan dan supernatan dapat dilihat pada Lampiran 8 dan Lampiran 9.

Dari hasil elektroforegram, dapat dilakukan pendugaan jenis protein berdasarkan berat molekul standar. Identifikasi jenis protein pada endapan dapat dilihat pada Tabel 17 sedangkan jenis protein pada supernatan dapat dilihat pada Tabel 18.

Tabel 17. Identifikasi Jenis Protein pada Endapan

Berat Molekul (kDa)	Jenis Protein
102.777	C2 component
77.553	Transferin
66.571	Albumin
57.731	Antithrombin III
54.865	Pre albumin
48.392	β_2 Glycoprotein I
40.155	α_1 Acid glycoprotein
26.725	α_1 microglobulin
24.220	Factor D
14.122	Lysozime

Tabel 18. Identifikasi Jenis Protein pada Supernatan

Berat Molekul (kDa)	Jenis Protein
86.429	Haptoglobin tipe 1-1
71.908	C9 component
62.231	β_2 Glycoprotein II
57.704	Antithrombin III
52.980	GC globulin
42.097	Zn α_2 glycoprotein
40.738	α_1 Acid glycoprotein
35.722	β_2 Glycoprotein III
26.233	α_1 microglobulin
22.702	κ Bence Jones Protein

Berat Molekul (kDa)	Jenis Protein
20.640	Retinol binding protein
12.989	Post γ globulin
10.949	Basic Protein B1

Dari tabel tersebut menunjukkan bahwa pergerakan albumin dalam elektroforesis lebih cepat daripada globulin. Molekul yang lebih kecil dan lebih memiliki muatan tinggi, melakukan perpindahan yang cepat, yang kemudian diikuti dengan molekul lainnya (Harper, 1975). Menurut Montgomery (1993), albumin memiliki titik isoelektrik sebesar 4,8 jadi memiliki muatan negatif cukup besar pada pH fisiologis. Hal ini menerangkan mengapa albumin mempunyai mobilitas anoda yang relatif tinggi pada elektroforegram protein plasma.

Dari tabel di atas dapat diketahui bahwa tidak semua jenis molekul albumin dapat terpresipitasi, masih terdapat jenis globulin di endapan. Pada presipitasi plasma protein menunjukkan bahwa albumin dan globulin mempunyai kesesuaian dalam kelarutan dan karakteristik "salting out", sehingga sulit untuk memisahkan albumin dan globulin (White, *et al.*, 1959).

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Penggunaan natrium sulfat pada konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata terhadap presipitasi albumin ikan gabus.
2. Perlakuan terbaik diperoleh dengan pemberian konsentrasi natrium sulfat 20 % dengan kadar albumin endapan sebesar 0,287 g/dl dan kadar protein endapan sebesar 0,497 g/dl.

5.2 Saran

Dari penelitian disarankan agar :

1. Dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mempresipitasi protein dengan konsentrasi natrium sulfat dalam kisaran persentase yang lebih luas.
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memurnikan albumin ikan gabus dari hasil presipitasi dengan natrium sulfat, hingga diperoleh albumin murni yang dapat dikonsumsi oleh manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Achjar, M. dan Rismunandar. 1986. **Perikanan Darat**. Sinar Baru. Bandung.
- Anonymous. 1989. **Ensiklopedi Indonesia Seri Fauna**. Intermedia. Jakarta.
- _____. 1991. **Protein Chemistry of Albumen Photographs**. albumen.stanford.edu/library/c20/messier1991a.htm.
- _____. 1998. **Total protein II-HA; Biuret Method**. Wako Pure Chemical Industries. Osaka.
- _____. 2002. **Filtrat Ikan Kutuk untuk Kesehatan**. www.suamerdeka.com.
- _____. 2003. **Potensi Serum Albumin dari Ikan Gabus**. www.kompas.com.
- _____. 2005^a. **Introduction to Protein Techniques. Lecture 1. ISU Protein Facility**. www.protein.iastate.edu/542B_lectures.pdf.
- _____. 2005^b. **HPLC**. www.infolab-online.com.
- _____. 2005^c. **Albumin**. Elitech. Perancis.
- _____. 2005^d. **Salting Out**. www.biology-online.org.htm.
- _____. 2006^a. **Albumin**. www.google.com
- _____. 2006^b. **Albumin**. <http://en.wikipedia.org/wiki/albumin>.
- _____. 2006^c. **Protein Purification**. www.biotech.vt.edu/classes/bion_4784/9-ProteinPurification/ProteinPurification.html.
- _____. 2006^d. **Ikan Gabus**. id.wikipedia.org.
- _____. 2006^e. **Salting Out**. en.wikipedia.org.htm.
- _____. 2006^f. **Salt Induced Precipitation of Protein**. <http://sosnick.uchicago.edu3/prec.htm>.
- _____. 2007^a. **Albumin Molecule Structure Human Serum Albumin Structure and Binding Sites**. www.medinnovation.de/background/alb_struc.htm.
- _____. 2007^b. **Sodium Sulfate**. <http://en.wikipedia.org/wiki/sodiumsulfate>.

_____. 2007°. **Analysis of Protein**. www-unix.oit.umass.edu.

Asmawi, S. 1986. **Pemeliharaan Ikan dalam Karamba**. Gramedia. Jakarta.

Baron, D. N. 1984. **Patologi Klinik**. Alih Bahasa : Petrus dan Gunawan. EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.

Brotowidjoyo, M. D., D. Tribawono dan E. Mulbyantoro. 1995. **Pengantar Lingkungan Perairan dan Budidaya Air**. Liberty. Yogyakarta.

Campbell, W. H. 2001. **Ammonium Sulfate Fractionation of Protein Mixtures**. www.bio.mtu.edu/campbell/bl4820/lectureslec5/482w51.htm.

Ciptarini, D.A dan Nina D. 2006. **Ekstraksi Crude Albumin Ikan Gabus (*Ophiocephalus striatus*) dengan Menggunakan Ekstraktor Vakum**. Laporan Akhir. Politeknik Negeri Malang. Malang.

Considine, D. M. and G. D. Considine. 1984. **Encyclopedia of Chemistry**. Van Nostrand Reinhold Company. New York.

Davidson, V. L. and D. B. Sittman. 1999. **NMS Biochemistry**. 4th Edition. Lippincott Williams & Wilkins. Missisipi.

De Man, J. M. 1997. **Kimia Makanan**. ITB. Bandung.

Ditalia, A. 2004. **Identifikasi Protein Ikan Gabus (*Ophiocephalus striatus*) pada Perairan Danau dan Perairan Payau dengan Teknik Elektroforesis**. Skripsi. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang.

Dolaria, N. 2002. **Komposisi Bahan Pangan Segar dan Olahan Hasil Perikanan**. [Http://www.dkp.go.id](http://www.dkp.go.id)

Eli. 2006. **Channa Striata Snakehead Murrel**. www.fishbase.com.

Fasikhun. 2005. **Pengaruh Iradisi Neutron 14 MeV terhadap Konduktivitas Panas Bahan Al dan Fe-Ni-Cr**. www.digilib.its.ac.id.

Hadiwiyoto, S. 1993. **Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan**. Liberty. Yogyakarta.

Hanafiah, K. A. 1995. **Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi**. Raja Grafindo Persada. Jakarta.

Harper, H. A. 1975. **Review of Physiological Chemistry**. 15th Edition. Lange Medical Publication Maruzen Company Limited. New york.

Hasan, I. 2004. **Analisis Data Penelitian dengan Statistik**. Bumi Aksara. Jakarta.

- Howe, P. E. 1921. **The Determination of Protein in Blood : A Micro Method.** www.jbc.org.
- Iriawan, N. dan S. P. Astuti. 2006. **Mengolah Data Statistik dengan Mudah Menggunakan Minitab 14.** Andi. Yogyakarta.
- Jakubowski. 2006. **Protein Structure.** <http://employees.csbsju.edu/hjakubowski/classes/ch331/protstructure/olhydrophobprot.htm>
- James, C. S. 1996. **Analytical Chemistry of Food.** Blackie Academic and Professional. New York.
- Jangkaru, Z. 1999. **Memelihara Ikan di Kolam Tadah Hujan.** Penebar Swadaya. Jakarta.
- Janson, J. C., and L. Ryden. 1998. **Protein Purification.** John Wiley and Sons. New York.
- Ketaren, S. 1986. **Minyak dan Lemak Pangan.** UI Press. Jakarta.
- Khak, Muhammad. 2007. **Panduan Praktikum Biokimia.** Universitas Gajahmada. Yogyakarta.
- Kriswantoro, M. 1986. **Mengenal Ikan Air Tawar.** BP Karya Bani. Jakarta.
- Lehninger, A. L. 1988. **Dasar-Dasar Biokimia.** Jilid I. Alih Bahasa : Maggy Thenawidjaja. Erlangga. Jakarta.
- Martin, D. W., P. A. Mayes and V. W. Rodwell. 1987. **Biokimia (Review of Biochemistry).** Edisi 19. Alih bahasa : Iyan Dharmawan. EGC. Jakarta.
- McKee, T and J. R. McKee. 2003. **Biochemistry The Molecular Basis of Life.** Mc Graw Hill. New York.
- Milne, J. 1947. **Serum Protein fractionation : A Comparison of Sodium Sulfate Precipitation and Electrophoresis.** www.jbc.org.
- Montgomery, R., R. L. Dryer, T. W. Conway, and A. A. Spector. 1993. **Biokimia.** Alih Bahasa : Ismadi. Gajahmada University Press. Yogyakarta.
- Murray, R. K., D. K. Granner., P. A. Mayes., and V. W. Rodwell. 1993. **Harper's Biochemistry.** Appleton and Lange. New York.
- Page, Baines and Thorpe. 1994. **Basic Protein and Peptide Protocols.** Humana Press. Totowa. New Jersey.

- Page, D. S. 1989. **Prinsip-Prinsip Biokimia**. Alih Bahasa : R. Soendoro. Erlangga. Jakarta.
- Pamuji, H. dan R. Hidayat. 2003. Gabus Temuan Sang Profesor. www.gatra.com
- Parker, S. P. 1993. **McGraw-Hill Encyclopedia of Chemistry**. McGraw-Hill, Inc. New York.
- Pesce, A. J. and L. A. Kaplan. 1987. **Method in Clinical Chemistry**. Mosby Company. Washington.
- Poedjiadi, A. 1994. **Dasar-Dasar Biokimia**. UI Press. Jakarta.
- Peranginangin, R. 1998. **Penelitian Pengenalan Spesies Daging Ikan Segar Secara Poliakrilamid Gel Iso Elektrik Fokusing**. Prosiding Simposium Perikanan Indonesia II Ujung Pandang 2-3 Desember 1997. Puslitbang perikanan dan Japan International Cooperation Agency. Universitas Hasanudin.
- Puspitasari, Y. E. 2007. **Pengaruh Suhu dan Lama Pemanasan dengan Menggunakan Ekstraktor Vakum terhadap Crude Albumin Ikan Gabus (*Ophiocephalus striatus*)**. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Rianto, E. 1993. **Analisis Asam Amino dengan Kromatografi Pertukaran Ion Laboratorium Dasar Bersama Unair**. Surabaya.
- Rifai, M. A., A. Nontji, Erwidodo, F. Jalal, D. Fardiaz dan T. S. Fallah. 1994. **Risalah Widyakarya Pangan dan Gizi**. LIPI. Jakarta.
- Robinson, H. W., J. W. price and C. G. Hogden. 1938. **The Estimation of Albumin and Globulin in Blood Serum**. www.jbc.org.
- Saanin, H. 1984. **Taksonomi dan Kunci Identifikasi Ikan 2**. Binacipta. Bogor.
- Sapthayani, N. 2004. **Studi Profil Protein Ikan Gabus (*Ophiocephalus striatus*) pada Jenis Kelamin yang Berbeda dengan Metode Elektroforesis**. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya.
- Saraswati, V. P. 2007. **Pengaruh Lama Pemanasan Menggunakan Ekstraktor Vakum terhadap Rendemen dan Kualitas Albumin Ikan Gabus (*Ophiocephalus striatus*)**. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya.
- Schumm, D. E. 1993. **Intisari Biokimia**. Alih Bahasa : M. Sadikin. Binarupa Aksara. Jakarta.
- Sediaoetama, A. D. 2000. **Ilmu Gizi untuk Mahasiswa dan Profesi**. Dian Rakyat. Jakarta.

Seidman, L., and J. Mowery. 2006^a. **Salting Out : Amonium Sul;fate Precipitation.**
http://matcmadison.edu/biotech/resources/proteins/labManual/chapter_4/section4_2.htm

_____. 2006^b. **Protein Structure. Structure and Function.**
http://matcmadison.edu/biotech/resources/proteins/labManual/chapter_2.htm

Smith, T. 1990. **Complete Family Health Encyclopedia.** Dorling Kindersley. London.

Soewoto, H., M. Sadikin., M. M. V. Kurniawati., S. I. Wanandi., D. Retno., P. Abadi.,
A. R. Prijanti., I. P. Harahap., S. W. A. Jusman. 2001. **Biokimia Eksperimen
Laboratorium.** Widya Medika. Jakarta.

Sudarmadji, S. 1996. **Teknik Analisa Biokimia.** Liberty. Yogyakarta.

Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 1989. **Analisa Bahan Makanan dan
Pertanian.** Liberty bekerjasama dengan PAU Pangan dan Gizi UGM.
Yogyakarta.

Susanto, T. dan T. D. Widyaningsih. 2004. **Dasar – Dasar Ilmu Pangan dan Gizi.**
Akademika. Yogyakarta.

Sugito, Y. 1995. **Metodologi Penelitian.** Lembaga Penerbitan Fakultas Pertanian
Universitas Brawijaya. Malang.

Toha, A. H. A. 2001. **Biokimia : Metabolisme Biomolekul.** Alfabeta. Bandung.

Voet, D and J. G. Voet. 2004. **Biochemistry.** John Wiley & Sons, Inc. New York.

Wang, N. S. 2007. **Enzime Purification by (Salt) Ammonium Sulfate Precipitation.**
www.glue.umd.edu.

West, E. S., W. R. Todd., H. S. Mason and J. T. V. Bruggen. 1970. **Textbook of
Biochemistry.** The Macmillan Company. London.

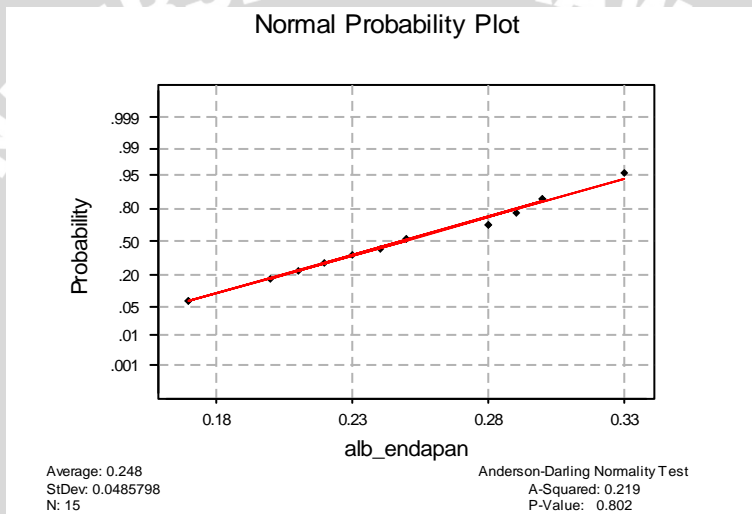
Winarno, F. G. 2002. **Kimia Pangan dan Gizi.** Gramedia. Jakarta.

Wirahadikusumah, M. 1989. **Biokimia Protein, Enzim dan Asam Nukleat.** 1989. ITB.
Bandung.

Yeoman, W. B. 1960. **The Albumin / Globulin Ratio in Serum.** www.jbc.org.

Lampiran 1. Analisa Data Albumin Endapan

Konsentrasi (%)	1	2	3	JUMLAH	RATA2
15	0.22	0.17	0.2	0.59	0.196667
20	0.33	0.25	0.28	0.86	0.286667
25	0.17	0.21	0.23	0.61	0.203333
30	0.29	0.3	0.3	0.89	0.296667
35	0.25	0.24	0.28	0.77	0.256667



One-way ANOVA: alb_endapan versus konsentrasi

Source	DF	SS	MS	F	P
konsentr	4	0.025707	0.006427	8.76	0.003
Error	10	0.007333	0.000733		
Total	14	0.033040			

Individual 95% CIs For Mean
Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev
15	3	0.19667	0.02517
20	3	0.28667	0.04041
25	3	0.20333	0.03055
30	3	0.29667	0.00577
35	3	0.25667	0.02082

Pooled StDev = 0.02708

Fisher's pairwise comparisons

Family error rate = 0.245
 Individual error rate = 0.0500

Critical value = 2.228

Intervals for (column level mean) - (row level mean)

	15	20	25	30
20	-0.13926 -0.04074			
25	-0.05593 0.04260	0.03407 0.13260		
30	-0.14926 -0.05074	-0.05926 0.03926	-0.14260 -0.04407	
35	-0.10926 -0.01074	-0.01926 0.07926	-0.10260 -0.00407	-0.00926 0.08926

Regression Analysis: alb_endapan versus konsentrasi

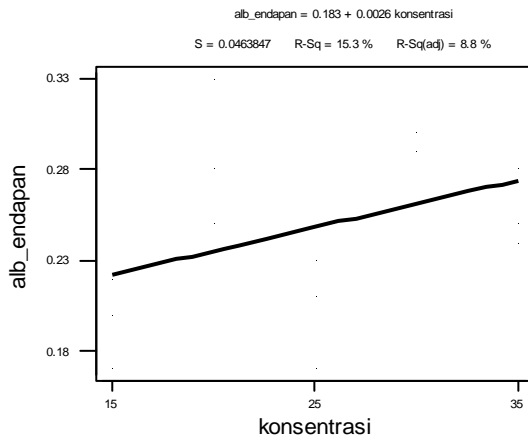
The regression equation is
 $alb_endapan = 0.183 + 0.0026 \text{ konsentrasi}$

S = 0.0463847 R-Sq = 15.3 % R-Sq(adj) = 8.8 %

Analysis of Variance

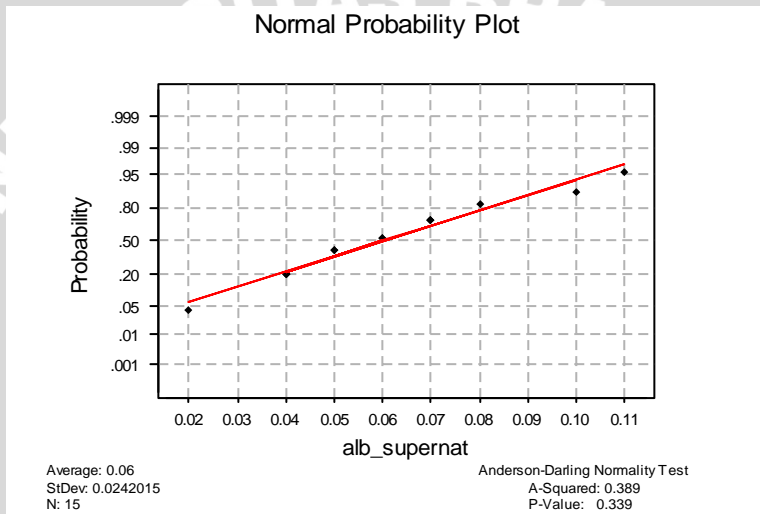
Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	1	0.00507	0.0050700	2.35645	0.149
Error	13	0.02797	0.0021515		
Total	14	0.03304			

Regression Plot



Lampiran 2. Analisa Data Albumin Supernatan

Konsentrasi (%)	1	2	3	JUMLAH	RATA2
15	0.04	0.07	0.06	0.17	0.06
20	0.06	0.04	0.05	0.15	0.05
25	0.07	0.11	0.1	0.28	0.09
30	0.05	0.08	0.07	0.2	0.07
35	0.02	0.04	0.04	0.1	0.03



Analysis of Variance for alb_supe

Source	DF	SS	MS	F	P
konsentr	4	0.005933	0.001483	6.54	0.007
Error	10	0.002267	0.000227		
Total	14	0.008200			

Individual 95% CIs For Mean
Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev
15	3	0.05667	0.01528
20	3	0.05000	0.01000
25	3	0.09333	0.02082
30	3	0.06667	0.01528
35	3	0.03333	0.01155

Pooled StDev = 0.01506

Fisher's pairwise comparisons

Family error rate = 0.245
 Individual error rate = 0.0500

Critical value = 2.228

Intervals for (column level mean) - (row level mean)

	15	20	25	30
20	-0.02072 0.03405			
25	-0.06405 -0.00928	-0.07072 -0.01595		
30	-0.03739 0.01739	-0.04405 0.01072	-0.00072 0.05405	
35	-0.00405 0.05072	-0.01072 0.04405	0.03261 0.08739	0.00595 0.06072

Regression Analysis: alb_supernat versus konsentrasi

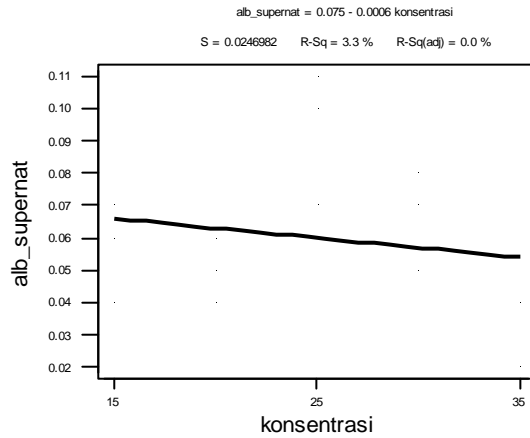
The regression equation is
 $alb_supernat = 0.075 - 0.0006 \text{ konsentrasi}$

S = 0.0246982 R-Sq = 3.3 % R-Sq(adj) = 0.0 %

Analysis of Variance

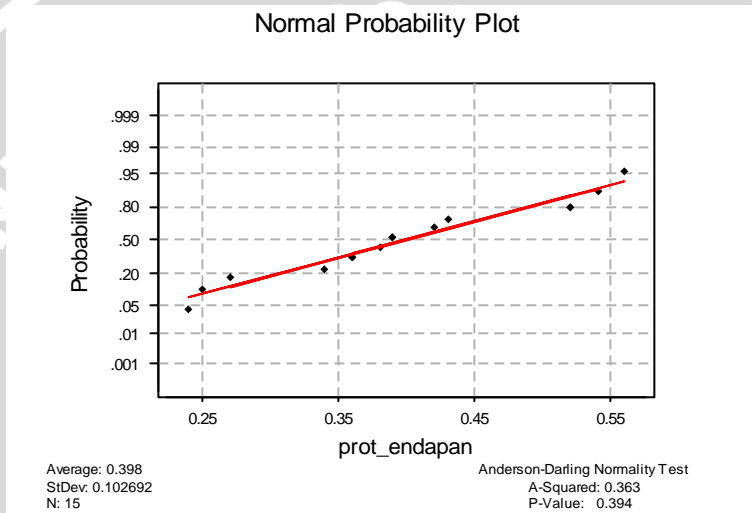
Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	1	0.00027	0.00027	0.442623	0.517
Error	13	0.00793	0.00061		
Total	14	0.00820			

Regression Plot



Lampiran 3. Analisa Data Protein Endapan

Konsentrasi (%)	1	2	3	JUMLAH	RATA2
15	0.25	0.27	0.24	0.76	0.253333
20	0.54	0.52	0.43	1.49	0.496667
25	0.52	0.42	0.56	1.5	0.5
30	0.34	0.36	0.38	1.08	0.36
35	0.39	0.39	0.36	1.14	0.38



One-way ANOVA: prot_endapan versus konsentrasi

Source	DF	SS	MS	F	P
konsentr	4	0.12851	0.03213	16.79	0.000
Error	10	0.01913	0.00191		
Total	14	0.14764			

Individual 95% CIs For Mean
Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev
15	3	0.25333	0.01528
20	3	0.49667	0.05859
25	3	0.50000	0.07211
30	3	0.36000	0.02000
35	3	0.38000	0.01732

Pooled StDev = 0.04374

Fisher's pairwise comparisons

Family error rate = 0.245
 Individual error rate = 0.0500

Critical value = 2.228

Intervals for (column level mean) - (row level mean)

	15	20	25	30
20	-0.32291 -0.16376			
25	-0.32624 -0.16709	-0.08291 0.07624		
30	-0.18624 -0.02709	0.05709 0.21624	0.06043 0.21957	
35	-0.20624 -0.04709	0.03709 0.19624	0.04043 0.19957	-0.09957 0.05957

Regression Analysis: prot_endapan versus konsentrasi

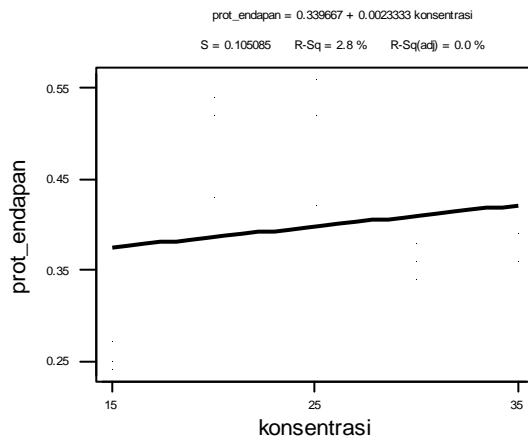
The regression equation is
 $prot_endapan = 0.339667 + 0.0023333 \text{ konsentrasi}$

S = 0.105085 R-Sq = 2.8 % R-Sq(adj) = 0.0 %

Analysis of Variance

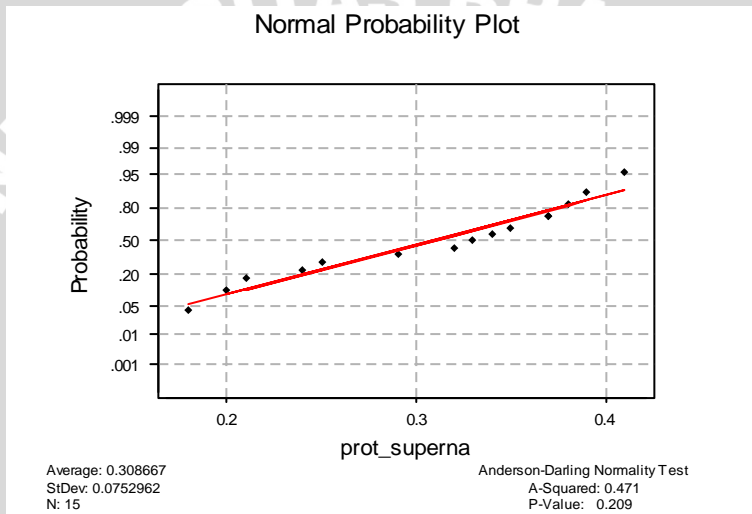
Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	1	0.004083	0.0040833	0.369773	0.554
Error	13	0.143557	0.0110428		
Total	14	0.147640			

Regression Plot



Lampiran 4. Analisa Data Protein Supernatan

Konsentrasi (%)	1	2	3	JUMLAH	RATA2
15	0.29	0.21	0.25	0.75	0.25
20	0.37	0.34	0.24	0.95	0.316667
25	0.41	0.38	0.32	1.11	0.37
30	0.33	0.39	0.37	1.09	0.363333
35	0.35	0.2	0.18	0.73	0.243333



One-way ANOVA: prot_supernatan versus konsentrasi

Analysis of Variance for prot_sup

Source	DF	SS	MS	F	P
konsentr	4	0.04357	0.01089	3.04	0.070
Error	10	0.03580	0.00358		
Total	14	0.07937			

Individual 95% CIs For Mean
Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev
15	3	0.25000	0.04000
20	3	0.31667	0.06807
25	3	0.37000	0.04583
30	3	0.36333	0.03055
35	3	0.24333	0.09292

Pooled StDev = 0.05983

Fisher's pairwise comparisons

Family error rate = 0.245
 Individual error rate = 0.0500

Critical value = 2.228

Intervals for (column level mean) - (row level mean)

	15	20	25	30
20	-0.17551 0.04218			
25	-0.22885 -0.01115	-0.16218 0.05551		
30	-0.22218 -0.00449	-0.15551 0.06218	-0.10218 0.11551	
35	-0.10218 0.11551	-0.03551 0.18218	0.01782 0.23551	0.01115 0.22885

Regression Analysis: prot_superna versus konsentrasi

The regression equation is
 $prot_superna = 0.292 + 0.0006667 \text{ konsentrasi}$

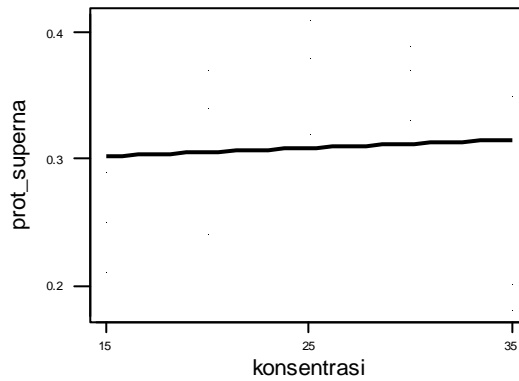
S = 0.0779744 R-Sq = 0.4 % R-Sq(adj) = 0.0 %

Analysis of Variance

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	1	0.0003333	0.0003333	5.48E-02	0.819
Error	13	0.0790400	0.0060800		
Total	14	0.0793733			

Regression Plot

$prot_superna = 0.292 + 0.0006667 \text{ konsentrasi}$
 S = 0.0779744 R-Sq = 0.4 % R-Sq(adj) = 0.0 %



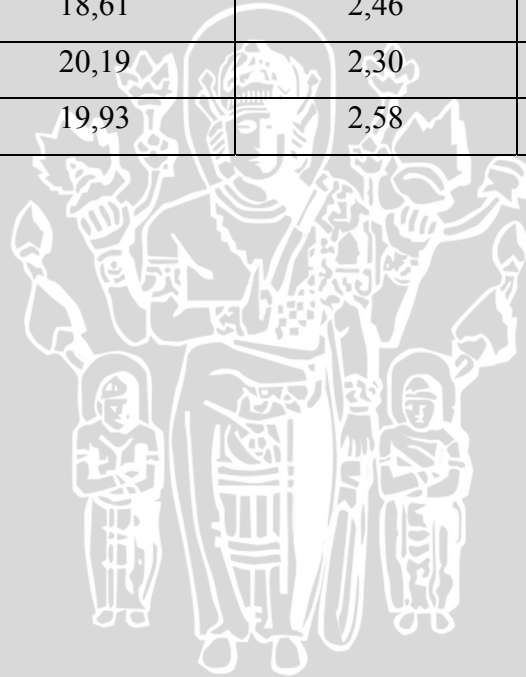
Lampiran 5. Data Rendemen Ekstraksi

Data Rendemen Ekstraksi

No	Tekanan	Suhu bahan	Massa awal	Massa akhir	Volume (ml)			Massa (g)		
					Filtrat	Kondensat	Perasan	Filtrat	Kondensat	Perasan
1	72	35	200	161,89	0	0	39	0	0	37,23
2	72	35	200	159,22	0	0	42	0	0	40,39
3	72	35	200	160,12	0	2	40	0	1,07	38,79

Hasil Crude Albumin

Ulangan (g/dl)	Rendemen (%)	Albumin (g/dl)	Total Protein (g/dl)
1	18,61	2,46	4,72
2	20,19	2,30	4,39
3	19,93	2,58	5,08



Lampiran 6. Perlakuan Terbaik Metode De Garmo

perlakuan	albumin endapan			albumin supernatan			protein endapan			protein supernatan			total
	BV	1			0.25			1			0.25		
	BN	0.4			0.1			0.4			0.1		
	n	NE	NP	n	NE	NP	n	NE	NP	n	NE	NP	
A1	0.197	0	0	0.060	0.500	0.050	0.253	0	0	0.250	0.945	0.094	0.144
A2	0.287	0.900	0.360	0.050	0.667	0.067	0.497	0.988	0.395	0.317	0.417	0.042	0.864
A3	0.203	0.060	0.024	0.090	0	0	0.500	1	0.400	0.370	0	0	0.424
A4	0.297	1	0.400	0.070	0.333	0.033	0.360	0.433	0.173	0.363	0.055	0.006	0.612
A5	0.257	0.600	0.240	0.030	1	0.100	0.380	0.514	0.206	0.243	1	0.100	0.646

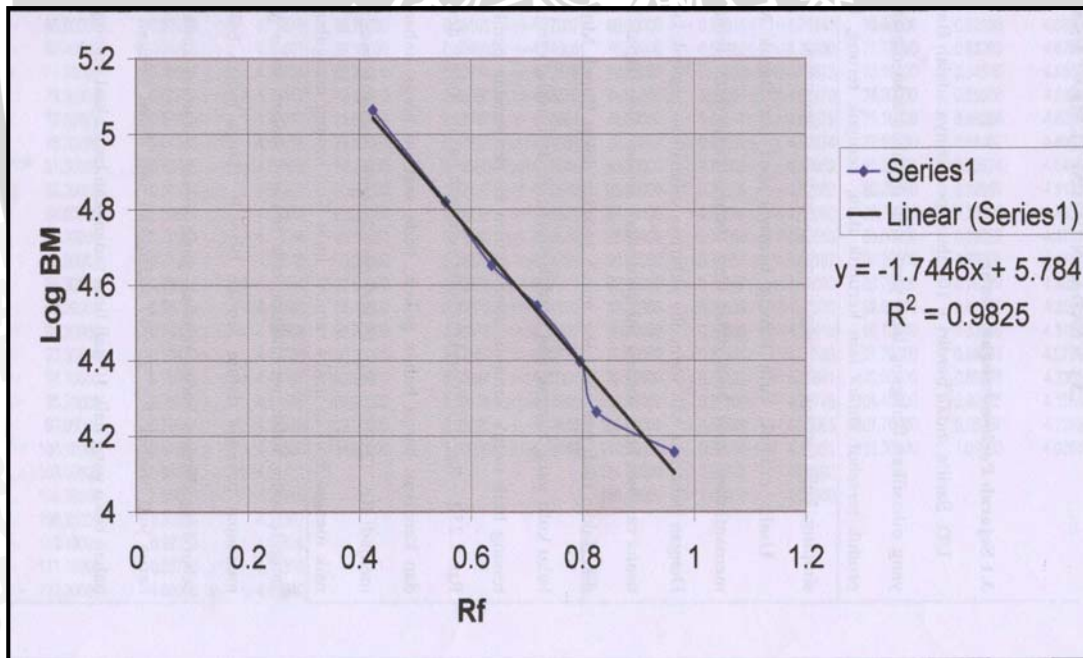


Lampiran 7. Kurva Standar Berat Molekul

Data Berat Molekul Protein Standar

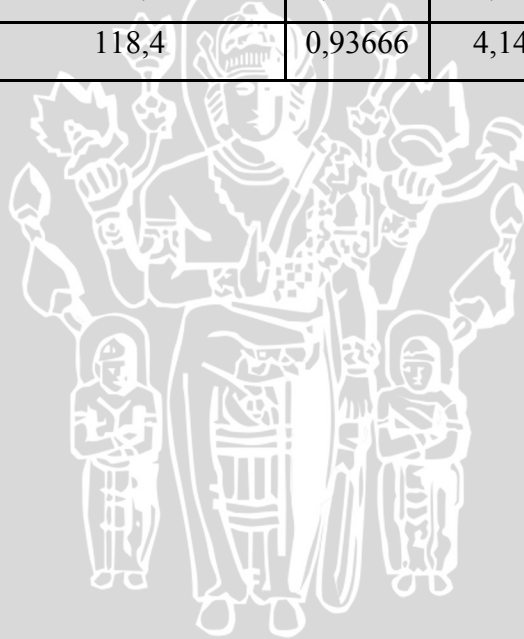
No	Nama Protein	Rf (x)	BM	Log BM (y)
1	β galaktosidase	0,42491468	116000	5.064458
2	Bovine Serum Albumin	0,55460751	66200	4.820858
3	Ovalbumin	0,63737201	45000	4.6532125
4	Lactate dehydrogenase	0,71843003	35000	4.544068
5	Restriction endonuclease	0,79607509	25000	4.39794
6	β lactoglobulin	0,82508532	18400	4.2648178
7	Lysozyme	0,96416382	14400	4.1583625

Kurva Standar Berat Molekul



Lampiran 8. Pengukuran Berat Molekul Protein Endapan

	Jarak/A (mm)	Jarak Warna/B (mm)	Rf (x)	Log BM (y)	BM (kDa)
1	52,4	118,4	0,44257	5,01190	102,777
2	60,7	118,4	0,51267	4,88960	77,553
3	65,2	118,4	0,55068	4,82329	66,571
4	69,4	118,4	0,58615	4,76141	57,731
5	70,9	118,4	0,59882	4,73930	54,865
7	74,6	118,4	0,63007	4,68478	48,392
9	80,1	118,4	0,67652	4,60374	40,155
17	95,0	118,4	0,80236	4,38419	24,220
22	110,9	118,4	0,93666	4,14991	14,122



Lampiran 9. Pengukuran Berat Molekul Protein Supernatan

	Jarak/A (mm)	Jarak Warna/B (mm)	Rf (x)	Log BM (y)	BM (kDa)
3	59,4	122,3	0,48569	4.93666	86.429
4	65,0	122,3	0,53148	4.85678	71.908
5	69,4	122,3	0,56746	4.79401	62.231
6	71,7	122,3	0,58626	4.76121	57.704
7	74,3	122,3	0,60752	4.72412	52.980
10	81,3	122,3	0,66476	4.62426	42.097
11	82,3	122,3	0,67294	4.61000	40.738
13	86,3	122,3	0,70564	4.55294	35.722
20	95,7	122,3	0,78250	4.41885	26.233
22	100,1	122,3	0.81848	4.35608	22.702
23	103,0	122,3	0.84219	4.31471	20.640
27	117,1	122,3	0.95748	4.11358	12.989
28	122,3	122,3	1.00000	4.03940	10.949

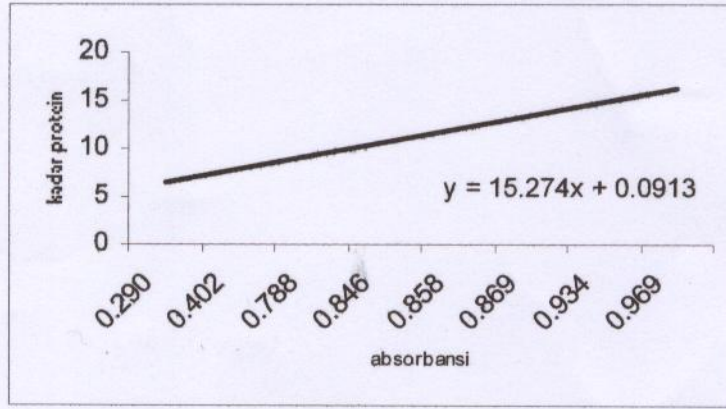


Lampiran 10. Standar Berat Molekul Protein

Protein	Symbol	Molecular Weight	Amount in Normal Serum (plasma) (mg/100ml)
Prealbumin, thyroxine binding	TBPA	54,980	10-40
Retinol binding protein	RBP	21,000	3-6
Albumin	Alb	66,500	3,500-5,000
Galactoglycoprotein	GGP	81,000	-
α globulin			
α_1 acid glikoprotein	α_1 S	40,000	55-140
α_1 antitripsin	α_1 AT	54,000	200-400
α_1 fetoprotein	α_1 F	66,300	1 μ g
9.5 S α_1 glycoprotein	α_1 M ₁ SAP	250,000	3-8
GC globulin	Gc	52,000	20-55
Ceruloplasmin	Cp	132,000	15-60
3.8 S histidine rich α_2 glycoprotein	HRG	58,500	5-15
α_2 macroglobulin	α_2 M	725,000	150-420
4 S α_2 β_1 glycoprotein	-	60,000	Trace
α_1 B glycoprotein	α_1 B	68,000	15-30
α_1 T glycoprotein	α_1 T	85,000	5-12
α_1 antichiotrypsin	α_1 X	68,000	30-60
α_1 microglobulin	α_1 m	26,000	4-9
Zn α_2 glycoprotein	Zn α_1	41,000	2-15
α_2 HS glycoprotein	α_2 HS	49,000	40-85
Pregnancy associated α_2 glycoprotein	α_2 PAG	360,000	Trace
3.1 S leucine rich α_2 glycoprotein	LRG	49,600	2-3
8 S α_3 glycoprotein	8S α_3	220,000	3-5
Serum cholinesterase	CE	348,000	0.5-1.5
Thyroxine binding globulin	TBG	54,000	1-2
Inter α trypsin inhibitor	I α I	160,000	20-70
Transcortin	TC	55,700	7
Haptoglobin	HP		
Type 1-1	-	86,000	100-220
Type 2-1	-	200,000	160-300
Type 2-2	-	400,000	120-260
β globulins			
Hemopexin	Hpx	60,000	50-115
Transferin	Tf	79,500	200-320
β_2 microglobulin	β_2 m	11,730	Trace
β_2 glycoprotein I	β_2 I	48,000	15-30
β_2 glycoprotein II (C3 proactivator)	GGG C3PA	63,000 -	12-30 -
β_2 glycoprotein III	β_2 III	35,000	5-15

Protein	Symbol	Molecular Weight	Amount in Normal Serum (plasma) (mg/100ml)
C reactive protein	CRP	105,000	<1
Fibronectin	Fn	440,000	25-40
Low molecular weight proteins			
Lysozyme		14,000	0.5-1.5
Basic protein B1	B1	11,000	-
Basic protein B2	B2	8,800	<1
0.6 S γ_2 globulin	-	5,100	<1
2 S γ_2 globulin	-	14,000	0.1
Post γ globulin	P γ	13,260	-
Complement components			
C	C		
C1q component	C1q	400,000	10-25
C1r component	C1r	166,000	-
C1s component	C1s	83,000	1-2
C2 component	C2	102,000	2-3
C3 component	C3	185,000	55-120
C4 component	C4	200,000	20-50
C5 component	C5	185,000	4-15
C6 component	C6	105,000	7
C7 component	C7	92,500	6
C8 component	C8	163,000	8
C9 component	C9	71,000	23
Other complement factor			
C1 esterase inhibitor	C1-INA	104,000	15-35
Factor B	B	90,000	-
Factor D	D	24,000	-
Factor H	H	155,000	-
C4 binding protein	C4bp	540,000	-
Properdin	P	220,000	-
Coagulation proteins			
Antithrombin III	ATIII	58,000	20-40
Prothrombin	FII	72,000	5-10
Antihemophilic factor (factor VIII)	AHF, FVIII	100,000	1-2
Plasminogen	Pmg	92,000	6-25
Fibrin stabilizing factor (factor XIII)	FXIII	320,000	1-4
Fibrinogen	F1	340,000	200-450
Immunoglobulin			
Ig	Ig		
Immunoglobulin G	IgG	150,000	800-1800
Immunoglobulin A	IgA	160,000	90-450
Immunoglobulin M	IgM	950,000	60-250
Immunoglobulin D	IgD	175,000	<15
Immunoglobulin E	IgE	190,000	<0.06
κ Bence Jones Protein	κ BJP	23,000	Trace
γ Bence Jones Protein	γ BJP	23,000	Trace

Lampiran 11. Kurva Standar Spektrofotometri



Lampiran 12. Komposisi Asam Amino Albumin Ikan Gabus (Puspitasari; Probosari; Saraswati, 2007)

No	Asam amino	A	B	C
1	Aspartat	0.072	0.283	0.608
2	Threonin	0.084	0.102	0.023
3	Serin	0.081	0.098	0.134
4	Glutamate	0.286	0.368	0.504
5	Glisin	0.140	0.146	0.254
6	Alanin	0.150	0.160	0.254
7	Sistein	0.017	0.030	0.009
8	Valin	0.127	0.122	0.192
9	Metionin	-	0.037	-
10	Isoleusin	0.098	0.095	0.159
11	Leusin	0.169	0.178	0.290
12	Tirosin	0.025	0.063	0.057
13	Fenilalanin	0.132	0.135	0.222
14	Hidroksilisin	-	-	-
15	Lisin	0.197	0.205	0.351
16	Ammonia	0.026	0.022	0.033
17	Histidin	0.062	0.067	0.351
18	Arginin	0.109	0.139	0.121
19	Hidroksiprolin	-	0.298	-
20	Prolin	0.082	0.117	0.147
	jumlah	2.057	2.663	3.565

Sumber : A. Puspitasari, Y. E. (2007)
 B. Probosari, K. R. (2007)
 C. Saraswati, V. P. (2007)

Lampiran 13. Komposisi Human Serum Albumin (Montomery, *et al.*, 1993)

Esensial	
Arg	4.50
His	2.90
Ile	1.70
Leu	11.60
Lis	10.80
Met	1.10
Phe	6.10
Thr	5.40
Trp	0.10
Val	8.40
Non Esensial	
Ala	-
Asn	-
Asp	10.00
Sis	6.70
Gln	-
Glu	1.50
Gli	2.70
Hil	0
Hip	0
Pro	5.70
Ser	4.50
Tir	3.30