

ISOLASI ALBUMIN DAN KARAKTERISTIK BERAT MOLEKUL HASIL EKSTRAKSI SECARA PENGUKUSAN IKAN GABUS (*Ophiocephalus striatus*)

The Isolation of Albumin and Characteristics of Molecular Weight from Extraction Result by Steaming of Fish Gabus (*Ophiocephalus striatus*)

Matheus Nugroho

Dosen Program Studi Teknologi Hasil Perikanan
Fakultas Pertanian Universitas Yudharta Pasuruan

Diserahkan tanggal 8 April 2013, Diterima tanggal 2 Juli 2013

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini untuk adalah isolasi albumin dan penentuan berat molekul dari ekstraksi secara pengukusan ikan gabus (*Ophiocephalus striatus*). Metode penelitian adalah ekstraksi secara pengukusan *waterbath* dengan suhu kisaran 40-90 °C, dan lama 25-35 menit, untuk mendapatkan rendemen dan kadar albumin ekstrak kasar ikan gabus yang optimal. Tahap selanjutnya adalah isolasi albumin dan penentuan berat molekulnya dari hasil ekstraksi yang optimal. Analisa data penelitian ini adalah analisa deskriptif untuk melihat foto hasil elektroforesis. Sementara untuk hasil analisa pengukuran isolasi albumin secara filtrasi gel sephadex G-75 dilakukan dengan Rancangan Petak terbagi (RPB). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada interaksi antara berbagai faktor perlakuan. Kadar albumin isolat albumin tertinggi sebesar 1.77 mg g⁻¹, pengaruh suhu pengukusan 40 °C selama 30 menit, pada pengambilan 5 ml fraksi ke-2. Elektroforesis SDS-PAGE dengan jumlah protein paling kompleks adalah isolat albumin pengaruh suhu pengukusan 40 °C selama 30 menit, terletak pada 5 ml fraksi ke-1, 5 ml fraksi ke-2 dan 5 ml fraksi ke-3. Pita protein terdiri dari 2 pita mayor dan 5 pita minor dengan berat molekul 14.6-133 kD.

Kata kunci : ikan gabus (*Ophiocephalus striatus*), isolasi albumin, berat molekul

ABSTRACT

*The objective of this study for the isolation of albumin and determination of molecular weight of extraction by steaming of fish gabus (*Ophiocephalus striatus*). The research method is the extraction of a steaming *waterbath* with the temperature range 40-90 °C, and the long 25-35 minutes, to obtain recovery and albumin levels of crude extract of fish gabus that optimal. The next stage is the isolation of albumin and its molecular weight determination of the optimal extraction. Analysis of data of this study is a descriptive analysis to see photos of electrophoresis. While analyzing the results of measurements for albumin isolation by gel filtration Sephadex G-75 made with split plot design (RPB). The results showed that there is interaction between the various treatment factors. The highest levels of albumin albumin isolates of 1.77 mg g⁻¹, the effect of steaming temperature of 40 °C for 30 minutes, 5 ml fractions on the uptake-2. SDS-PAGE electrophoresis with the most complex of the protein albumin is isolate the influence of steaming temperature 40 °C for 30 minutes, located at 5 ml-1 fraction, 5 ml of fraction-2 and 5 ml fractions to-3. Protein bands consist of two major bands and 5 minor bands with molecular weight 14.6 to 133 kD.*

Key words : fish gabus (*Ophiocephalus striatus*), albumin isolation, molecular weight

PENDAHULUAN

Albumin merupakan protein plasma yang paling tinggi jumlahnya sekitar 60% dan memiliki berbagai fungsi yang sangat penting bagi kesehatan yaitu pembentukan jaringan sel baru, mempercepat pemulihan jaringan sel tubuh yang rusak serta memelihara keseimbangan cairan di dalam pembuluh darah dengan cairan di dalam rongga interstitial dalam batas-batas normal, kadar albumin dalam darah 3.5-5 g dl⁻¹. Kekurangan albumin dalam serum dapat mempengaruhi pengikatan dan pengangkutan senyawa-senyawa endogen dan eksoden, termasuk obat-obatan, karena seperti diperkirakan distribusi obat keseluruh tubuh itu pengikatannya melalui fraksi albumin (Goldstein *et al.*, 1968; Vallner, 1977; Tandra *et al.*, 1988).

Pengadaan albumin terutama untuk kasus bedah saat ini mencapai 91%, 2/3 albumin tersebut dipakai di bagian bedah dan sisanya 1/3 bagian dipergunakan untuk penanganan penyakit dalam. Harga serum albumin untuk infus mencapai kurang lebih Rp. 1,500,000.- per botol kemasan 100 ml - 20% albumin (Alexander *et al.*, 1979; Tullis, 1997).

Ikan gabus merupakan ikan yang mempunyai kandungan kadar albumin yang cukup tinggi. Hasil penelitian Suprayitno (2003) pernah diujicobakan di instalasi gizi serta bagian bedah RSUD Saiful Anwar Malang. Uji coba tersebut dilakukan pada pasien pascaoperasi dengan kadar albumin rendah (1.8 g dl⁻¹). Dengan perlakuan 2 kg ikan gabus masak per hari, telah meningkatkan kadar albumin darah pasien menjadi normal (3.5-5.5 g dl⁻¹). Caranya, daging ikan gabus dikukus atau di-steam sehingga memperoleh filtrate, yang dijadikan menu ekstra bagi penderita hipoalbumin dan luka. Pemberian menu ekstrak filtrat ikan gabus tersebut berkorelasi positif dengan peningkatan kadar albumin plasma dan penyembuhan luka pascaoperasi.

Pengaruh perlakuan suhu tinggi menyebabkan perubahan melemahnya enzim proteinase dan nilai daya cerna protein (Nielsen, 1998). Menurut Stryer (1968), Slavik (1982) dan Arakawa *et al.* (1991) dalam Folawiyo and Apenten (1996), menjelaskan bahwa perlakuan panas pada albumin akan menghasilkan perubahan struktur yang tidak dapat balik (*irreversible*), yang terlihat dengan meningkatnya protein yang tidak larut dalam air. Pengaruh perlakuan panas pada struktur albumin juga dapat albumin, sehingga diperlukan panas yang tepat pada struktur

protein tersebut (Stryer, 1968; Slavik, 1982; Arakawa *et al.*, 1991; Wicker *et al.*, 1986 dan Arntfield *et al.*, 1989 dalam Folawiyo and Apenten, 1996).

Berdasarkan hasil penelitian pada ikan gabus dan ikan tomang didapatkan kadar albumin sebesar 1332.7 mg (100 g)⁻¹ dan 1188.05 mg (100 g)⁻¹ (Carvalho, 1998). Analisa kadar albumin pada filtrat ikan gabus hasil pengukusan suhu 98 °C adalah 19.4% (Martini, 1998). Hasil analisa sterilisasi ikan gabus pada suhu 121 °C selama 25 menit didapatkan kadar albumin filtrat adalah 116.419 ± 22.660 mg (100 g)⁻¹ (Hidayati, 1999). Berdasarkan data hasil penelitian tersebut diatas memperkuat untuk memperoleh isolat albumin dan karakteristik berat molekul hasil ekstraksi secara pengukusan ikan gabus, sebagai pengganti serum albumin dalam upaya membantu mempertahankan dan meningkatkan nilai gizi dan kesehatan manusia.

METODE PENELITIAN

Peralatan yang dipergunakan pembuatan ekstrak kasar ikan gabus antara lain : pisau, gunting, waterbath, thermokopel, thermometer 100 °C, timbangan gelas ukur, kain saring, plastik dan press hidrolik. Peralatan untuk analisa kadar albumin antara lain : kuvet diameter 1 cm, Shimadzu spectrophotometer UV-100-02 dan spectrophotometer SMA *autoanalyzer*. Peralatan untuk pemurnian ekstrak kasar albumin adalah kolom filtrasi gel ukuran (2.5 cm x 60 cm) dengan bahan isian sephadex G-75 untuk memurnikan ekstrak kasar albumin. Pendeteksian berat molekul albumin, peralatannya 1 unit elektroforesis apparatus merk Bio-Rad yang dihubungkan dengan power supply berkekuatan 300 volt dan 120 mA, dan ditempatkan pada refrigerator, preparasi sampel meliputi (sampel plate, *scapel*, pinset, *deep freezer*, mistar, pipet, pisau, dan neraca digital), penyiapan gel (gelas ukur, erlenmeyer, neraca digital, pipet, pemanas, sarung tangan, kaca, plastik tipis, gel plate dan vacuum pump), pewarnaan (peralatan yang digunakan pemetong, kaca, mika tipis, pemberat, pipet, neraca digital, *gel plate* dan *incubator*), pembuatan buffer (peralatan yang digunakan gelas ukur, pipet dan erlenmeyer).

Bahan-bahan yang digunakan untuk ekstraksi adalah ikan gabus yang diperoleh dari bendungan Karangates dalam keadaan hidup dan aquadest. Bahan untuk uji kadar albumin menggunakan metode *brom cresol green* adalah *buffer succinate* (7 mmol l⁻¹ pH 4.2), brom

cresol green 0.15 mmol l⁻¹, brij 35 dan aquadest dapar succinate (0.01 M; pH 4.2), untuk kadar albumin setelah pemurnian kolom filtrasi gel pengujiannya dengan UV, bahannya antara lain BSA standar 0,5 g l⁻¹, buffer phosphat 0.1 M pH 7.1 dan aquadest. Sementara untuk pemurnian ekstrak kasar albumin bahan-bahan yang digunakan terdiri dari 1 g sephadex G-7, buffer phosphat (0.1 M pH 7.1), glasswool dan natrium azid 0.2%. Bahan analisa elektroforesis meliputi: gel pemisah 12.5% (acrylamid 30% 4.126 ml, 1,5 M tris pH 8.8 2.5 ml, 10% SDS 100 µl, TEMED 20 µl, 10% amonium persulfat 25 µl), gel penumpuk 4% (acrylamid 30% 1.03 ml, 0.5 m tris pH 6.8 H₂O 2.650 ml, 10% SDS 50 µl, 10% amonium persulfat 15 µl), *running buffer* (glycine 14.4 g, tris base 1.0 g, ad aquadest 100 ml), *reducing sampel buffer* (RBS) (H₂O (aqua bid) 3 ml, 0.5 M tris pH 6.8 1 ml, glycerol 10% 1.6 ml, SDS 10% 1.6 ml, mercaptoetanol 0.4 ml dan *bromophenol blue* 0.4 ml), bahan pewarnaan (*staining*) (*comassie brilliant blue* 0.1 g, methanol absolut 40 ml, asam asetat 10 ml, dan ad aquadest 100 ml), *destaining* (methanol 20 ml, asam asetat 10 ml dan ad aquadest 100 ml).

Tujuan penelitian adalah isolasi albumin dan karakteristik berat molekul hasil ekstraksi secara pengukusan ikan gabus (*Ophiocephalus striatus*). Prosedur penelitian pada tahap I meliputi: pemurnian dengan Kromatografi kolom Filtrasi-Gel (Modifikasi kato *et al.*, 1981); pendeteksian berat molekul albumin (Hames and Rickwood, 1990).

Analisa data yang digunakan dalam penelitian adalah deskriptif kualitatif untuk melihat foto hasil elektroforesis. Sedangkan

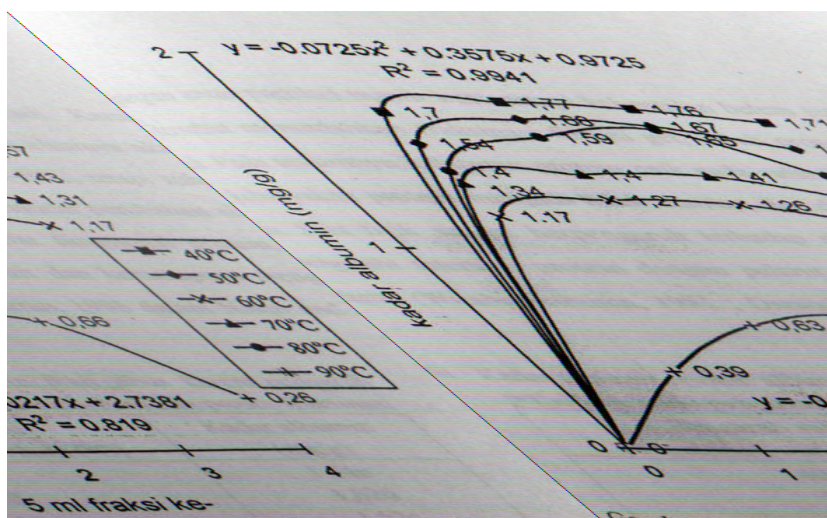
untuk hasil analisa pengukuran pemurnian secara filtrasi gel sephadex G-75 dilakukan dengan Rancangan Petak Terbagi (RPB).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Secara umum kadar albumin isolat albumin ikan gabus berkisar antara 0,26-1,77 mg/g. Korelasi antara suhu pengukusan waterbath dengan kadar albumin isolat albumin ikan gabus mengikuti persamaan regresi $Y = -0,02x + 2,7381$ dengan nilai $r = 0,905$, sementara untuk fraksinasi kadar albumin isolat albumin ikan gabus persamaan regresi $Y = -0,0725x^2 + 0,3575x + 0,9725$ dengan nilai $r = 0,997$. Berdasarkan tingkat korelasinya (R^2), maka perlakuan suhu pengukusan dan fraksinasi berpengaruh besar terhadap kadar albumin isolat albumin ikan gabus.

Gambar 1. menunjukkan bahwa kadar albumin ikan gabus tertinggi untuk tiap-tiap perlakuan suhu pengukusan 40-90°C, dengan lama pengukusan 30 menit, terdapat pada 5 ml fraksi ke-2 dan 5 ml fraksi ke-3. Berdasarkan hasil tersebut maka diduga bahwa molekul-molekul-molekul kecil, termasuk dalam hal ini albumin masuk pori-pori gel, sementara molekul yang lebih besar akan ditolak, sehingga molekul besar akan berada dalam fase mobil dan melewati partikel-partikel gel sephadex G-75.

Soemitro *et al.* (1992), menyatakan kecepatan pergerakan molekul-molekul besar ini sangat tergantung pada berat molekulnya. Protein yang mempunyai berat molekul besar akan lebih dulu keluar sebagai eluat, dan diikuti oleh protein yang memiliki berat molekul lebih rendah.



Gambar 1. Kadar albumin isolat albumin ikan gabus setelah pemurnian kolom filtrasi gel sephadex G-75

Hasil uji F menunjukkan bahwa pengaruh suhu pengukusan *waterbath* dan fraksinasi, dan interaksinya terhadap kadar albumin isolat albumin berpengaruh sangat nyata. Hasil analisis lanjut dengan uji BNT ($\alpha = 0.01$) disajikan pada Tabel 1. Hasil uji BNT menunjukkan bahwa kadar albumin isolat albumin tertinggi oleh pengaruh suhu pengukusan *waterbath* sebesar 1.74 mg g^{-1} , dengan suhu *waterbath* $40 \text{ }^\circ\text{C}$ (suhu daging $36 \text{ }^\circ\text{C}$). Diduga hal ini berkaitan dengan kelarutan albumin yang cenderung belum turun dan kerusakannya relatif belum terjadi. Secara visual tampak partikel-partikel isolat albumin tidak terpisah dan mengendap bila dibiarkan, kekuatan ketegangan antar partikel masih kuat, tetapi kekentalan belum terjadi. Karakteristik fisik memudahkan fraksinasi filtrasi gel, sebab proses elusinya akan lebih mudah. Pada umumnya kelarutan protein naik pada suhu $0-40 \text{ }^\circ\text{C}$, tetapi suhu diatas $40 \text{ }^\circ\text{C}$ kebanyakan protein menjadi tidak stabil, dan ditandai perubahan sifat fisik protein. Sifat fisik sangat berpengaruh terhadap sifat fungsional protein, karena mempengaruhi interaksi protein dengan pelarut air, dan kemampuan mengikat air oleh daging (Wirahadikusuma, 1981; Damodaran, 1996 dalam Nakai and Modler, 1996).

Kadar albumin isolat albumin ikan gabus tertinggi oleh pengaruh fraksinasi adalah 1.40 mg g^{-1} , terdapat pada 5 ml fraksi ke-3. Hal ini diduga molekul-molekul yang lebih kecil seperti albumin dapat menembus ke dalam pori-pori butiran dan tertahan selama aliran ke bawah kolom, tetapi ini sebaliknya moleku-molekul protein besar yang bukan albumin tidak dapat menembus dalam butiran dan melewati kolom dengan lebih cepat bersama bufer. Protein

dengan berat molekul menengah akan mengalir dengan kecepatan antara, tergantung pada tingkat kemampuan menembus butiran sephadex G-75. Kato *et al* (1981), menyatakan bahwa molekul-molekul protein terlarut akan menembus jaringan gel dalam jumlah banyak atau sedikit tergantung dari bentuk molekulnya, dan ikatan-ikatan yang terjadi dengan molekul gelnya sendiri, sehingga besar dan bentuk dari molekul zat terlarut akan menentukan pembagian antara zat yang masuk dalam molekul gel dan yang ikut fase mobil.

Hasil uji BNT ($\alpha = 0.01$) Tabel 2. menunjukkan interaksi pengaruh suhu pengukusan *waterbath* pada seluruh fraksi dengan kadar albumin isolat albumin optimal sebesar 1.77 mg g^{-1} , oleh pengaruh suhu *waterbath* $40 \text{ }^\circ\text{C}$ (suhu daging $36 \text{ }^\circ\text{C}$) dan terletak pada 5 ml fraksi ke-2. Optimalnya kadar albumin tersebut diduga pada suhu pengukusan *waterbath* $40 \text{ }^\circ\text{C}$ belum terjadi perubahan secara besar terhadap sifat karakteristik protein daging ikan, dan kelarutan protein dalam isolat albumin relatif tinggi. Hal ini dibuktikan dari karakteristik fisik isolat albumin yang secara visual tampak belum terjadi penggumpalan. Kondisi tersebut akan mempermudah fraksinasi kolom filtrasi gel, sebab partikel-partikel yang terlarut dalam isolat albumin ukuran dan bentuknya relatif tidak terlalu besar dari pori-pori gel, proses elusi akan lancar dan tidak tertahan di permukaan gel sephadex G-75. Namun sebaliknya jika partikel-partikel yang terlarut dalam isolat albumin lebih besar, maka proses elusi akan tertahan, dan dapat merusak gel sephadex itu sendiri, sebab partikel-partikel tersebut mendukung sekali untuk pertumbuhan bakteri.

Tabel 1. Kadar albumin isolat albumin ikan gabus karena pengaruh perlakuan suhu pengukusan *waterbath* dan proses fraksinasi

Pengaruh suhu pengukusan <i>waterbath</i> ($^\circ\text{C}$)	Kadar albumin (mg g^{-1})
40	1.74e
50	1.62d
60	1.52c
70	1.37b
80	1.22b
90	0.49a
BNT ($\alpha = 0.01$)	0.1758
Pengaruh fraksinasi (5 ml fraksi ke-)	Kadar albumin (mg g^{-1})
1	1.26a
2	1.39bc
3	1.40c
4	1.24a
BNT ($\alpha = 0.01$)	0.0465

Keterangan: angka kadar albumin yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama, menunjukkan hasil tidak berbeda nyata pada uji BNT ($\alpha = 0.01$)

Tabel 2. Kadar albumin isolat albumin ikan gabus karena pengaruh suhu pengukusan *waterbath* (°C) dengan fraksinasi

Interaksi suhu pengukusan <i>waterbath</i> dengan fraksinasi		
Suhu <i>waterbath</i> (°C)	5 ml fraksi ke-	Kadar Albumin (mg g ⁻¹)
40	1	1.70h
	2	1.77j
	3	1.76ij
	4	1.71h
50	1	1.54fg
	2	1.68h
	3	1.67h
	4	1.57g
60	1	1.40f
	2	1.59g
	3	1.65gh
	4	1.43f
70	1	1.34f
	2	1.40f
	3	1.41f
	4	1.31e
80	1	1.17e
	2	1.27e
	3	1.26e
	4	1.17de
90	1	0.39a
	2	0.63bc
	3	0.66c
	4	0.26a
BNT ($\alpha = 0.01$)		0.2012

Keterangan: angka kadar albumin yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama, menunjukkan hasil tidak berbeda nyata pada uji BNT ($\alpha = 0.01$)

Foegeding *et al.* (1996), menjelaskan pemanasan albumin suhu < 50 °C tidak menurunkan kelarutannya, albumin mulai turun kelarutannya pada suhu antara 50-70 °C, yang ditandai terbentuknya gel, kelarutan menurun secara besar pada suhu 70-80 °C, ditandai gel albumin terbentuk secara kuat.

Kecenderungan kadar albumin optimal terdapat pada pengambilan 5 ml fraksi ke-2, hal ini diduga karena molekul-molekul bukan albumin yang lebih besar dari ukuran pori-pori sephadex G-75 telah membengkak sebagai akibat pengaruh pemanasan dan tidak dapat masuk dalam partikel-partikel gel. Molekul-molekul tersebut bersama cairan bufer akan mengalir melalui rongga-rongga antar partikel sephadex G-75, sehingga molekul-molekul yang bukan albumin akan lebih dulu keluar, dan terdapat pada pengambilan 5 ml fraksi ke-1. Sudarmadji (1996), menjelaskan hasil penelitiannya bahwa molekul-molekul kecil akan masuk dalam partikel gel, dan akan ikut mengalir dengan cairan dengan kecepatan yang tergantung pada ukuran dan bentuknya. Kato *et al.* (1981), menjelaskan hasil fraksinasi ovalbumin putih

telur pengaruh *freeze-dried* suhu 50 °C, dengan rata-rata konsentrasi ovalbumin (%) tertinggi terdapat pada fraksi II dan III, sementara fraksi I, IV dan V cenderung menurun konsentrasi ovalbumin.

Pendeteksian Berat Molekul Albumin dengan SDS-PAGE

Hasil elektroforesis yang tersaji pada Gambar 2. menunjukkan bahwa isolat albumin perlakuan suhu pengukusan *waterbath* 80 °C (suhu daging 55 °C), dan dilanjutkan fraksinasi kolom filtrasi gel sephadex G-75 untuk pengambilan 5 ml fraksi ke-2 setelah dielektroforesis menghasilkan enam pita protein, terdiri dari dua pita mayor yaitu pita 5 dan 8 dengan berat molekul 66.3 kD dan 11.2 kD, dan empat pita minor yaitu pita 1, 2, 3 dan 4 dengan berat molekul 145.3 kD, 115.1 kD, 108.5 kD dan 81.1 kD; untuk 5 ml fraksi ke-3 setelah dielektroforesis menghasilkan lima pita protein, yang terdiri dari dua pita mayor yaitu pita 5 dan 8 dengan berat molekul 66.3 kD dan 11.2 kD, dan tiga pita minor yaitu pita 2, 3, dan 4 dengan berat molekul masing-masing sekitar

121.9 kD, 102.4 kD dan 85.9 kD; sedangkan untuk 5 ml fraksi ke-4 setelah dielektroforesis menghasilkan empat pita protein, yang terdiri dari dua pita mayor yaitu pita 5 dan 8 dengan berat molekul 66.2 kD dan 11.2 kD, dan dua pita minor yaitu pita 2 dan 3 dengan berat molekul 121.9 kD dan 108.5 kD.

Hasil elektroforesis tersebut menunjukkan bahwa dari 3 fraksi pengambilan kolom filtrasi gel sephadex G-75 setelah melalui elektroforesis menghasilkan pita-pita protein pada elektroforegram poliakrilamid SDS adalah pada fraksi ke-2 sampai ke-4, hal tersebut dapat dilihat pada lajur B, C, dan D Gambar 2. Pada fraksi ke-2 sampai ke-4 ketebalan pita protein yang hampir sama, maka diduga pada 5 ml fraksi ke-2, 5 ml fraksi ke-3 dan 5 ml fraksi ke-4 mempunyai kesamaan dalam hal jumlah kandungan albumin yang terlarut. Isolat albumin hasil fraksinasi kolom filtrasi gel dengan kandungan albumin relatif sama pada pengambilan 5 ml fraksi ke-2 sampai dengan 5 ml fraksi ke-4.

Kato *et al.* (1981), menjelaskan hasil fraksinasi ovalbumin putih telur, rata-rata konsentrasi ovalbumin (%) tertinggi terdapat pada fraksi II dan III, sementara fraksi I, IV dan V cenderung menurun konsentrasi ovalbumin. Sutiman *et al.* (1996) memaparkan hasil penelitiannya bahwa molekul protein dengan muatan dan ukuran yang sama akan terakumulasi pada zona atau pita yang berdekatan. Lebih lanjut dijelaskan, bahwa pita yang lebih banyak menunjukkan bahwa sampel tersusun atas protein kompleks.

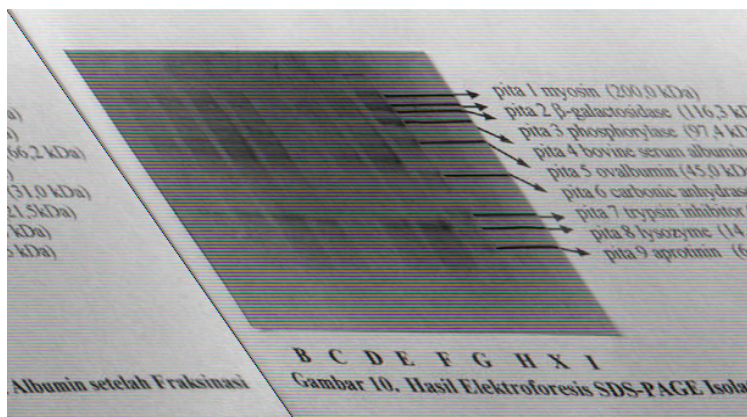
Hasil elektroforesis pada Gambar 2. isolat albumin perlakuan suhu pengukusan *waterbath* 60 °C (suhu daging 45 °C), selanjutnya dilakukan fraksinasi kolom filtrasi gel sephadex G-75, pada pengambilan 5 ml fraksi ke-1, menghasilkan enam pita protein yang terdiri dari dua pita mayor yaitu pita 5 dan pita 8 dengan berat molekul 66.3 kD dan 11,2 kD, dan empat pita minor yaitu fraksi 1, 2, 3 dan 4 dengan berat molekul sekitar 145.3 kD, 115.1 kD, 102.4 kD dan 85.9 kD; untuk 5 ml fraksi ke-2 setelah dielektroforesis menghasilkan enam pita protein yang terdiri dari satu pita mayor yaitu pita 8 dengan berat molekul 11.2 kD, serta lima pita minor yaitu pita 1, 2, 3, 4 dan 5 dengan berat molekul masing-masing adalah 154.2 kD, 121.9 kD, 102.4 kD, 85.9 kD dan 66.3 kD; untuk 5 ml fraksi ke-3 setelah dielektroforesis menghasilkan enam pita protein, terdiri dari dua pita mayor yaitu pita 5 dan 8 dengan berat molekul 66.2 kD dan 13.3 kD, serta empat pita minor yaitu 1, 2, 3 dan 4 dengan berat molekul masing-masing adalah

154.2 kD, 129.3 kD, 108.5 kD dan 85.9 kD; sementara untuk 5 ml fraksi ke-4 setelah dielektroforesis menghasilkan enam pita protein yang terdiri dari dua pita mayor yaitu pita 5 dan 8 dengan berat molekul 66.3 kD dan 14.1 kD, serta empat pita minor yaitu 1, 2, 3 dan 4 dengan berat molekul masing-masing 154.2 kD, 121.9 kD, 108.5 kD dan 81.1 kD.

Berdasarkan hasil elektroforesis tersebut menunjukkan bahwa isolat albumin perlakuan suhu pengukusan *waterbath* 60 °C (suhu daging 45 °C), jumlah kandungan protein terlarut untuk setiap fraksi dari kolom gel sephadex G-75 masih tinggi. Hal ini dibuktikan dengan jumlah pita protein pada keempat fraksi adalah hampir sama (lajur E, F, G dan H pada Gambar 2.). Melihat hal tersebut, maka diduga isolat albumin hasil pengukusan suhu *waterbath* 60 °C, di albumin plasmanya belum terjadi denaturasi. Kandungan albumin tertinggi terjadi pada 5 ml fraksi ke-1, 5 ml fraksi ke-3 dan 5 ml fraksi ke-4, hal ini terlihat dari kondisi ketebalan pita protein yang hampir sama pada pita ketiga fraksi tersebut (lajur E, G dan H pada Gambar 6.), dan ketebalan terletak pada pita protein 5 dengan berat molekul 66.2-66.3 kD. Raeker and Johson (1995), menyatakan hasil penelitiannya bahwa terjadinya permulaan denaturasi albumin plasma adalah pada suhu pemanasan 69.1±0.3 °C, sementara puncak denaturasi plasma terjadi pada suhu pemanasan 78±0,2 °C.

Hasil Elektroforesis (Gambar 2.) isolat albumin perlakuan suhu pengukusan *waterbath* 90 °C (suhu daging 66 °C), dan dilanjutkan fraksinasi kolom filtrasi gel sephadex G-75 untuk pengambilan 5 ml fraksi ke-1 tidak didapatkan pita protein. Hasil elektroforesis (Gambar 2.) isolate albumin perlakuan suhu pengukusan *waterbath* 90 °C (suhu daging 60 °C), dan dilanjutkan fraksinasi kolom filtrasi gel sephadex G-75 untuk 5 ml fraksi ke-2, tidak didapatkan pita protein. Begitu juga untuk pengambilan 5 ml fraksi ke-3 dan 4 pada suhu pemanasan yang sama setelah dielektroforesis tidak menghasilkan pita protein.

Hasil elektroforesis tersebut menunjukkan bahwa isolate albumin perlakuan suhu pengukusan *waterbath* 90 °C (suhu daging 66 °C), jumlah kandungan dan kualitas protein yang terlarut dalam isolate albumin adalah rendah, diduga pada suhu pengukusan *waterbath* 90 °C protein sudah mengalami denaturasi. Keempat fraksi hasil kolom filtrasi gel sephadex G-75, setelah dielektroforesis tidak satupun pita protein terdeteksi (lihat lajur I Gambar 2., lajur J, K dan L Gambar 3.).



Gambar 2. Hasil Elektroforesis SDS-PAGE Isolat Albumin setelah Fraksinasi

Keterangan :

- X = kit pencari protein : myosin, β-galactosidase, phosphorylase B, bovine serum albumin, ovalbumin, carbonic anhydrase, trypsin inhibitor, lysozyme dan aprotinin
- B = isolat albumin 5 ml fraksi ke-2 suhu *waterbath* 80°C (suhu daging 55°C)
- C = isolat albumin 5 ml fraksi ke-3 suhu *waterbath* 80°C (suhu daging 55°C)
- D = isolat albumin 5 ml fraksi ke-4 suhu *waterbath* 80°C (suhu daging 55°C)
- E = isolat albumin 5 ml fraksi ke-1 suhu *waterbath* 60°C (suhu daging 45°C)
- F = isolat albumin 5 ml fraksi ke-2 suhu *waterbath* 60°C (suhu daging 45°C)
- G = isolat albumin 5 ml fraksi ke-3 suhu *waterbath* 60°C (suhu daging 45°C)
- H = isolat albumin 5 ml fraksi ke-4 suhu *waterbath* 60°C (suhu daging 45°C)
- I = isolat albumin 5 ml fraksi ke-1 suhu *waterbath* 90°C (suhu daging 66°C)

Weissler *et al.* (1981) menjelaskan dalam penelitiannya, bahwa ketika BSA dan alpha-lactalbumin dipanaskan pada suhu 78 °C selama 15 menit, maka akan menurunkan jumlah zone yang terdeteksi. Foegeding *et al.* (1986) memaparkan juga hasil penelitiannya, bahwa pada pemanasan lebih dari 90 °C albumin mulai mencapai gel maksimum. Lebih lanjut diterangkan pada suhu 70 °C kelarutan albumin berkisar 81% sehingga suhu pengukusan *waterbath* 90 °C akan menurunkan kelarutan albumin dalam isolate albumin ikan gabus.

Hasil elektroforesis (Gambar 3.) isolate albumin perlakuan suhu pengukusan *waterbath* 40 °C (suhu daging 36 °C), dan dilanjutkan fraksinasi kolom filtrasi gel sephadex G-75, untuk pengambilan 5 ml fraksi ke-1, didapatkan tujuh pita protein, terdiri dari dua pita mayor yaitu pita 5 dan 8 dengan berat molekul 66.2 kD dan 14.6 kD, dan lima pita minor yaitu 1, 2, 3, 4 dan 6 dengan berat molekul masing-masing berturut-turut 133 kD, 108.8 kD, 103.5 kD, 84.7 kD dan 37.9 kD; untuk 5 ml fraksi ke-2, setelah dielektroforesis didapatkan tujuh pita protein, terdiri dari dua pita mayor yaitu pita 5 dan 8 dengan berat molekul 66.2 kD dan 14.6 kD, dan lima pita minor yaitu 1, 2, 3, 4 dan 6 dengan berat molekul berturut-turut adalah 133 kD, 114.4 kD, 103.5 kD, 84.7 kD dan 39.9 kD ; untuk 5 ml fraksi ke-3, setelah dielektroforesis didapatkan tujuh pita protein, terdiri dari dua

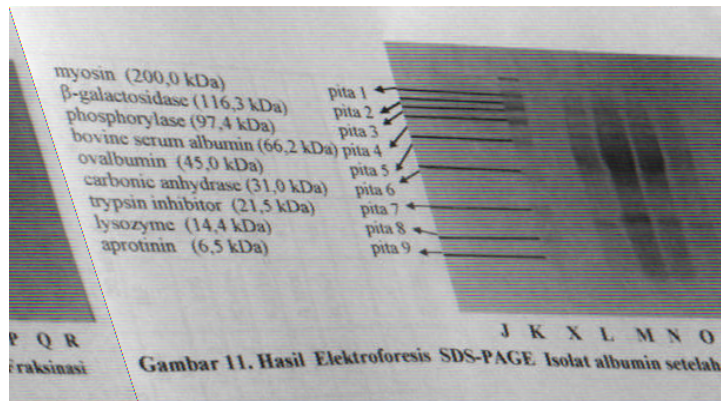
pita mayor yaitu pita 5 dan 8 dengan berat molekul 66.2 kD dan 14.6 kD, dan lima pita minor yaitu 1, 2, 3, 4 dan 6 dengan berat molekul berturut-turut adalah 133 kD, 114.4 kD, 108.8 kD, 84.7 kD dan 41.9 kD ; sedangkan untuk 5 ml fraksi ke-4 setelah dielektroforesis didapatkan lima pita protein, terdiri dari satu pita mayor, yaitu pita 8 dengan berat molekul 14.6 kD, dan empat pita minor yaitu 3, 4, 5 dan 6 dengan BM berturut-turut adalah 103.5 kD, 84.7 kD, 66.5 kD dan 39.9 kD.

Hasil elektroforesis tersebut menunjukkan, bahwa isolat albumin perlakuan suhu pengukusan *waterbath* 40 °C (suhu daging 36 °C), jenis dan kandungan protein yang terlarut dalam isolat albumin masih kompleks dan tinggi, hal tersebut terlihat dari banyaknya jumlah dan jelasnya ketebalan pita protein yang terdeteksi setelah dielektroforesis, selain itu tiap-tiap fraksi pengambilan dari kolom filtrasi gel sephadex G-75, setelah dielektroforesis menghasilkan jumlah pita protein yang lebih konstan. Hal tersebut terlihat dari (lajur M, N, O dan P Gambar 11.) keempat fraksi memiliki jumlah pita protein sama yaitu tujuh pita. Diduga keempat fraksi tersebut jumlah kandungan proteinnya hampir sama, sedangkan untuk ketebalan pita terdapat kesamaan untuk pengambilan 5 ml fraksi ke-1 sampai dengan 5 ml fraksi ke-3, masing-masing terdapat dua pita mayor. Diduga ketiga fraksi awal ini muatan

berat molekul albuminnya memiliki kadar yang hampir sama.

Widowati dan Wijaya (1997) melaporkan hasil penelitiannya, bahwa pita mayor itu memiliki ketebalan dan intensitas warna yang lebih besar dibandingkan pita-pita lainnya, sehingga berkesimpulan bahwa pita mayor itu merupakan pita protein yang memiliki konsentrasi lebih tinggi dibandingkan dengan

pita-pita lainnya (pita minor). Foegeding *et al.* (1986) menunjukkan hasil penelitiannya, pada pemanasan BSA (bovine serum albumin) 40 °C sampai dengan 70 °C didapatkan jumlah zone relatif kompleks (7 pita) dan dua diantaranya tebal dengan *soluble protein* berkisar antara 6,5-3,5 mg ml⁻¹, tetapi pada pemanasan 80 °C keatas jumlah zone berkurang drastis (1 pita) dan tipis dengan *soluble protein* berkisar 1-1,5 mg ml⁻¹.



Gambar 11. Hasil Elektroforesis SDS-PAGE Isolat albumin setelah

Gambar 3. Hasil Elektroforesis SDS-PAGE Isolat Albumin setelah Fraksinasi

Keterangan :

- X = kit penciri protein : myosin, β -galactosidase, phosphorylase B, bovine serum albumin, ovalbumin, carbonic anhydrase, trypsin inhibitor, lysozyme dan aprotinin
- J = isolat albumin 5 ml fraksi ke-2 suhu *waterbath* 90°C (suhu daging 66°C)
- K = isolat albumin 5 ml fraksi ke-3 suhu *waterbath* 90°C (suhu daging 66°C)
- L = isolat albumin 5 ml fraksi ke-4 suhu *waterbath* 90°C (suhu daging 66°C)
- M = isolat albumin 5 ml fraksi ke-1 suhu *waterbath* 40°C (suhu daging 36°C)
- N = isolat albumin 5 ml fraksi ke-2 suhu *waterbath* 40°C (suhu daging 36°C)
- O = isolat albumin 5 ml fraksi ke-3 suhu *waterbath* 40°C (suhu daging 36°C)
- P = isolat albumin 5 ml fraksi ke-4 suhu *waterbath* 40°C (suhu daging 36°C)
- Q = isolat albumin 5 ml fraksi ke-2 suhu *waterbath* 90°C (suhu daging 66°C)
- R = isolat albumin 5 ml fraksi ke-3 suhu *waterbath* 90°C (suhu daging 66°C)

Hasil elektroforesis (Gambar 3.) isolate albumin perlakuan suhu pengukusan *waterbath* 90 °C (suhu daging 66 °C), yang merupakan konversi dari perlakuan suhu pengukusan *waterbath* 90 °C sebelumnya (lihat lajur I Gambar 1., lajur J, K dan L Gambar 3.), pada pengambilan 5 ml fraksi ke-2 dan ke-3 tidak dihasilkan pita protein.

Hasil elektroforesis tersebut menunjukkan bahwa pada suhu pengukusan *waterbath* 90 °C (suhu daging 66 °C), yang merupakan hasil konversi dari suhu pengukusan *waterbath* 90 °C sebelumnya, ternyata juga punya kecenderungan yang sama pita protein hilang dan tidak terdeteksi (lajur Q dan R Gambar 3.). Hal ini diduga kelarutan protein dalam isolat albumin rusak akibat denaturasi panas, dan terjadinya perubahan sifat karakteristik isolate albumin, yaitu terbentuknya gel. Soepomo (1992), dalam uraiannya mengenai pengolahan daging

menyatakan, bahwa semakin tinggi suhu pemasakan dan atau lama waktu pemasakan, makin besar protein yang rusak sampai mencapai tingkat yang konstan sehingga diperoleh hasil sampai cukup rendah. Iliminingtyas *et al.* (2000) memaparkan hasil penelitiannya, bahwa perubahan pola protein hasil SDS-PAGE menunjukkan adanya perubahan yang terjadi pada protein, penipisan dan hilangnya pita protein menunjukkan terjadinya perubahan sifat pada protein tersebut.

KESIMPULAN

Kadar albumin isolat albumin tertinggi sebesar 1.77 mg g⁻¹, pengaruh suhu pengukusan 40 °C selama 30 menit, pada pengambilan 5 ml fraksi ke-2. Elektroforesis SDS-PAGE dengan jumlah protein paling kompleks adalah isolat albumin pengaruh suhu pengukusan 40 °C

selama 30 menit, terletak pada 5 ml fraksi ke-1, 5 ml fraksi ke-2 dan 5 ml fraksi ke-3. Pita protein terdiri dari 2 pita mayor dan 5 pita minor dengan BM 14.6-133 kD.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, M.R.; Ambre, J.J.; Liskon, B.I. and D.C. Trash. 1979. Therapeutic Use Of Albumin. *JAMA*. 241 : 2527-2529.
- Arntfield, S. D.; Murray, E. D. and M. A. H. Ismond. 1986. Effect of Salt on the Thermal Stability of Storage Proteins from Fababean (*Vice faba*). *J. Food Sci.* 51 : 371-377.
- Carvallo, Y. N. 1998. Study Profit Asam Amino, Albumin, Mineral Zn pada Ikan Gabus (*Ophiocephalus sriatus*) dan Ikan Tomang (*Ophiocephalus Micropeltus*). Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. Hal 28-30.
- Foegeding, E. A.; Allen, C. E. and W. R. Dayton. 1986. Effect of Heating Rate on Thermally Formed Myosin, Fibrinogen and Albumin Gels. *J. Food Sci.*, 51: 104-107.
- Folawiyo, Y. L. and O. R. K. Apenten, 1996. The Effect of Heat Acid Treatment on The Structure of Rapeseed Albumin (Napin). *J. Food Sci.*, 61 : 237-239.
- Hames, B. D. and D. Rickwood. 1990. Gel Electrophoresis of Protein : A Practical Approach. Second Edition. Oxford University Press, New York. Page: 17.
- Hidayati, O. 1999. Study Kadar Albumin, Zn dan TVB Filtrat Ikan Gabus (*Ophiocephalus sriatus*) pada Lama Sterilisasi dan Penyimpanan yang Berbeda. Laporan Penelitian. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. Hal 36.
- Kato, Y.; Watanabe, K. and Y. Sato. 1981. Effect of Maillard Reaction on Some Physical Properties of Ovalbumin. *J. Food Sci.* 62: 1861-1820.
- Martini, N. D. 1998. Pengaruh Lama Pengukusan Terhadap Kandungan Albumin, Asam Amino dan Zn pada Ikan Gabus (*Ophiocephalus sriatus*). Laporan Penelitian. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. Hal. 36.
- Nakai, S. and H.W. Modler. 1996. Food Proteins Properties and Characterization. Food Science and Technology (Series Editor). American Food and Nutrition Center. Page: 168-224.
- Nielsen, S. 1998. Food Analysis. London. Glisers
- Raeker, M.O. and Johnson. 1985. Thermal and Functional Properties of Bovine Blood Plasma and Egg White Proteins. *J. Food Sci.*, 60:687
- Soemitro, S.; Marianti, L. dan A. Safari. 1992. Percobaan Biokimia Penentuan Struktur Protein. Pusat dan Antar Universitas Bioteknologi. Institut Teknologi Bandung. Hal: 23.
- Soepomo. 1992, Ilmu Teknologi Daging. Gadjah Mada University Press. Jogjakarta. Hal. 20-40.
- Sudamadji, S. 1996. Teknik Analisa Biokimiawi. Liberty. Jogjakarta. Hal: 97-220.
- Suprayitno, E. 2003. Penyembuhan Luka dengan Ikan Gabus. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang
- Sutiman, B. S.; Rahayu, S.; Fatchyah; Widyawati, S. dan E. A, Laras. 1996. Teknik Biologi Molekuler. Jurusan Biologi. MIPA Unibraw. Malang. Hal. 25-90.
- Weissler, N. L.; Mangino, M. E.; Harper, W. J. and R. Raman. 1981. Identification of Serum Albumin in Protein Complexes to Dissociation by Sodium Dodecyl Sulfate. *J. Food Sci.* 46 : 979-978.
- Widowati, S. dan Wijaya, S.K. 1997. Isolasi dan Karakterisasi Globulin 7S dan 11S dari Sepuluh Varietas Kedelai Indonesia. Dalam Budianto, S ; Zakaria, F ; Hariyadi dan Satiyowiharjo, B (ed). Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pangan. Denpasar.
- Wirahadikusuma, M. 1981. Biokimia Proteina, Enzima dan Asam Nukleat. Penerbit ITB. Bandung. Hal 26-38