



Profil Protein Ikan Gurami (*Osphronemus Gouramy*) Sebelum dan Sesudah Penggaraman Berbasis SDS-PAGE

Profile of Gouramy Protein (*Osphronemus Gouramy*) Before and After Salting Based SDS-PAGE

Suardi^{1*}, Ana Hidayanti Mukarromah², Stalis Norma Ethica³

¹Magister Imunologi, Sekolah Pascasarjana, Universitas Airlangga

*email : suardi1717@gmail.com

²Laboratorium Kimia, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan,
Universitas Muhammadiyah Semarang

³Laboratorium Biomolekuler, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan,
Universitas Muhammadiyah Semarang

Abstract

Fish is a potential source of animal protein, but has a weakness that is easy to rot. To avoid decay can be preserved by salting the fish. In this study wet salting was carried out to analyze the effect of salting on fish protein. The sample used was a type of gourami with 5 tails. 1 for the sample before salting and 4 for salting each salted at 10, 20, 30 and 40% b/v after that it was left to stand for 12 hours. The research method used was the Gel Electrophoresis method (SDS-PAGE) to determine molecular weight (MW), looking at the purity and damage of proteins in the sample. The samples of gourami before salting showed 16 bands, 8 major bands and 8 minor ribbons. Samples of gourami with a salt concentration of 10% b/v showed 16 bands, 7 major bands and 9 minor bands. Samples of gourami with a salt concentration of 20% b/v showed 14 bands, 7 major bands and 7 minor bands. Samples of gourami with a salt concentration of 30% b/v showed 10 bands, 3 major bands and 7 minor bands. Samples of gourami with a salt concentration of 40% b/v showed 9 bands, 3 major bands and 6 minor bands. Thus it can be concluded that salting of fish can affect the gourami protein, which is the higher the salt content added, the protein found in the fish will be denatured. The salting process of 10% b/v in gourami meat is the most recommended salting process compared to the salting process of 20, 30 and 40% b/v.

Keywords; Gouramy, salting, protein profile, spectrophotometer, SDS-PAGE

Abstrak

Ikan merupakan sumber protein hewani yang potensial, namun memiliki suatu kelemahan yaitu mudah membusuk. Untuk menghindari pembusukan dapat dilakukan pengawetan dengan penggaraman pada ikan. Pada penelitian ini dilakukan penggaraman basah untuk menganalisis pengaruh penggaraman terhadap protein ikan. Sampel yang digunakan adalah jenis ikan gurami sebanyak 5 ekor. 1 ekor untuk sampel sebelum penggaraman dan 4 ekor dilakukan penggaraman masing-masing digarami dengan kadar 10, 20, 30 dan 40% b/v setelah itu didiamkan selama 12 jam. Metode penelitian yang digunakan adalah metode Elektroforesis Gel (SDS- PAGE) untuk menentukan berat molekul (BM), melihat kemurnian dan kerusakan protein pada sampel. Pada sampel ikan gurami sebelum penggaraman menunjukkan 16 pita, 8 pita mayor dan 8 pita minor. Sampel ikan gurami dengan konsentrasi garam 10% b/v menunjukkan 16 pita, 7 pita mayor dan 9 pita minor. Sampel ikan gurami dengan konsentrasi garam 20% b/v menunjukkan 14 pita, 7 pita mayor dan 7 pita minor. Sampel

ikan gurami dengan konsentrasi garam 30% b/v menunjukkan 10 pita, 3 pita mayor dan 7 pita minor. Sampel ikan gurami dengan konsentrasi garam 40% b/v menunjukkan 9 pita, 3 pita mayor dan 6 pita minor. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa penggaraman pada ikan dapat berpengaruh terhadap protein ikan gurami yaitu makin tinggi kadar garam yang ditambahkan maka protein yang terdapat pada ikan akan terdenaturasi. Proses penggaraman 10% b/v pada daging ikan gurami merupakan proses penggaraman yang paling disarankan dibandingkan proses penggaraman 20,30 dan 40% b/v.

Kata kunci; ikan gurami, penggaraman, profil protein, spektrofotometer, SDS-PAGE

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan dengan wilayah laut yang lebih luas daripada wilayah daratannya. Luas seluruh wilayah Indonesia dari jalur laut adalah 5 juta km², yang terdiri dari luas daratan 1,9 juta km², laut teritorial 0,3 juta km² dan perairan kepulauan seluas 2,8 juta km². Artinya seluruh laut Indonesia memiliki luas 3,1 juta km² atau sekitar 62% dari seluruh wilayah Indonesia. Selain itu, Indonesia juga merupakan negara dengan pantai terpanjang di dunia dengan total panjang garis pantai sekitar 81.000 km. Luas laut yang besar ini menjadikan Indonesia unggul pada sektor perikanan dan kelautan (Zulkarnain dkk, 2013).

Protein ikan sangat diperlukan oleh manusia, selain karena mudah dicerna, juga mengandung asam amino dengan pola yang hampir sama dengan pola asam amino yang terdapat pada manusia. Ikan merupakan sumber protein hewani yang potensial, namun memiliki suatu kelemahan yaitu mudah membusuk. Untuk menghindari pembusukan dapat dilakukan pengawetan dengan penggaraman pada ikan (Syahrudin, 2013).

Garam yang umum digunakan oleh masyarakat untuk menggarami ikan adalah jenis garam dapur (NaCl). Garam ini dipilih oleh masyarakat karena secara ekonomis lebih murah dan mudah didapat. Penelitian sebelumnya tentang pengaruh penggaraman terhadap protein ikan layang yang merupakan ikan air laut telah dilakukan oleh Syahrudin (2013). Penelitian tersebut menggunakan teknik penggaraman kering (NaCl) dengan variasi konsentrasi 0, 10, 20, 30, dan 40% b/b, yang kemudian didiamkan selama 12 jam. Pada penelitian tersebut dibuktikan bahwa pada konsentrasi NaCl 0% b/b, profil protein pada ikan masih normal, namun pada kadar NaCl 10% b/b sampai 40% b/b, profil protein sudah mengalami denaturasi. Semakin tinggi konsentrasi garam pada ikan terlihat profil proteinnya makin terdenaturasi. Dengan adanya temuan masalah tersebut peneliti ingin mengetahui hubungan proses penggaraman dengan profil protein terhadap jenis ikan lain terutama ikan air tawar menggunakan teknik penggaraman basah.

METODE

Jenis penelitian dalam metode ini adalah kualitatif dengan desain penelitian berupa penelitian eksperimen dan objek penelitiannya adalah ikan gurami yang dibeli di pasar Kobong Semarang (buka malam hari pukul 20:00 WIB) dalam keadaan mati lalu dimasukkan ke dalam *freezer* dengan suhu 13 derajat, keesokan harinya, pukul 08:00 WIB dilakukan penggaraman dengan variasi konsentrasi 10, 20, 30, dan 40% b/v direndam selama 12 jam. Data diolah secara deskriptif ditabulasi dan disajikan dalam bentuk narasi untuk melihat proses penggaraman pada konsentrasi berapa yang menunjukkan kerusakan protein ditinjau dari profil protein secara kualitatif. Penelitian ini dilakukan di laboratorium Biologi Molekuler Universitas Muhammadiyah Semarang.

Alat yang digunakan adalah *power supply*, vortex, sarung tangan, pisau, beker gelas, timbangan, wadah penampung, pisau, tempat buang cairan biologis, sentrifus, *water bath*, *yellowtip*, *bluetip*, *whiletip*, *erlenmeyer* dan *rotator*, alat penggerus, *spektrofotometer* dan *erlenmeyer*. Bahan yang digunakan adalah ikan gurami, NaCl, Air, *bisacrylamid (elektrophoresis persulfate)*, TEMED (katalis dalam proses polimerisasi), APS (*amodium persulfate*), *bromophenol blue*, *coomassie brilliant blue*, *aquadest* dan PBS (*phospat buffered saline*).

Prosedur penelitian meliputi pembuatan NaCl 10% b/v dalam volume larutan 1000 ml mula-mula ditimbang 100 g NaCl dan dimasukkan ke dalam *beker glass*, dilarutkan dengan 1000 ml *aquadest*, campuran diaduk hingga larut dalam *aquadest*. Dilakukan perlakuan yang sama untuk konsentrasi NaCl 20, 30 dan 40% b/v. Kemudian dilakukan persiapan sampel ikan gurami, pilih lima ekor ikan gurami yang hampir berukuran sama kemudian lakukan pembersihan pada ikan (insang dan isi perut dibuang) lalu cuci dengan air mengalir. Pindahkan ikan gurami ke wadah penampung untuk dilakukan proses penggaraman. Lima ekor ikan gurami masing-masing dipisah, 1 ekor untuk sampel sebelum penggaraman dan 4 ekor masing-masing digarami NaCl 10, 20, 30 dan 40% b/v diamkan selama 12 jam. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan total protein ikan gurami yang telah direndam dengan NaCl. Sampel digerus sampai halus sambil menambahkan PBS 1X Ph 7,4 sampai homogen. Masukkan sampel ke dalam *microtube* sebanyak 1500 ul kemudian *sentrifuge* selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Kemudian diambil supernatan kemudian ukur dengan *spektrofotometer* dibaca pada λ 595 nm. Rumus yang digunakan adalah $y = ax + b$. Selanjutnya separasi protein ikan dilakukan menggunakan SDS-PAGE menurut metode Laemmli (1970). Mula-mula disiapkan *glass plate*, sisir, dan *spaser* yang telah dibersihkan menggunakan detergen dan alkohol 70% untuk mencetak gel. Setelah alat pencetak gel disiapkan, dimasukkan *separating* gel yang telah dibuat ke dalam alat pencetak gel, ditunggu hingga terjadi polimerisasi. Selanjutnya *stacking* gel dimasukkan di atas *separating* gel dengan cepat, lalu dimasukkan sisir di atasnya, kemudian dibiarkan hingga terjadi polimerisasi. Setelah terjadi polimerisasi, sisir diangkat dari atas *stacking* gel secara perlahan. Setelah terjadi polimerisasi, gel kemudian dimasukkan dalam alat elektroforesis, dimasukkan *running buffer* ke dalamnya. Supernatan ikan gurami yang sudah digarami dengan kadar 10% b/v dimasukkan pada sumuran yang telah disediakan sebanyak 20 μ l, lalu dialiri listrik dengan tegangan 100 volt. Setelah *bromophenol blue* mencapai dasar *stacking* gel tegangan ditambah menjadi 200 volt dan aliran listrik dimatikan setelah *bromophenol blue* mencapai dasar *separating* gel. Gel dikeluarkan dari alat pencetak secara perlahan, kemudian dimasukkan dalam larutan pewarna dengan 0,1% *coomassie brilliant blue R-250* selama 30 – 60 menit hingga pita protein terwarnai. Selanjutnya untuk menghilangkan warna pada gel, gel yang tidak mengandung protein diberi larutan *destaining* yang diganti 3-4 kali sehingga gel akhirnya tampak bersih. Kemudian penentuan berat molekul protein yang diinginkan dihitung menggunakan Rf dan diplotkan pada grafik logaritma dari Rf *marker* protein yang berat molekulnya telah diketahui (Darmawati, dkk 2010).

HASIL DAN PEMBAHASAN

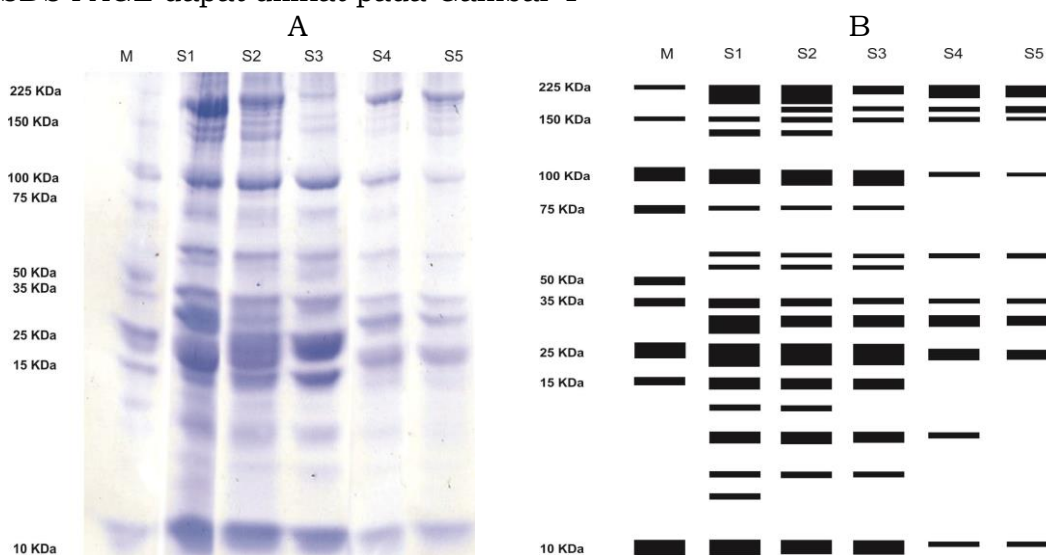
Spektrofotometer adalah suatu alat yang digunakan untuk menentukan senyawa baik secara kuantitatif maupun kualitatif dengan mengukur transmittansi ataupun absorbansi dari suatu cuplikan sebagai fungsi dari konsentrasi (Khopkar, 2003). Hasil pembacaan *spektrofotometer* digunakan untuk menentukan konsentrasi total protein ikan gurami sebelum perendaman

dan sesudah perendaman dengan variasi penggaraman 10, 20, 30 dan 40% b/v selama 12 jam, hasilnya ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Variasi Penggaraman, Absorbansi, dan Total Protein Ikan Gurami

No	Sampel (% garam)	Absorbansi	Total Protein ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)
1	Sebelum penggaraman	0,586	12,94
2	10	0,532	11,78
3	20	0,468	10,40
4	30	0,411	9,18
5	40	0,325	7,33

Berdasarkan Tabel 1 menunjukkan konsentrasitotal protein yang diperoleh untuk dapat divisualisasikan pada SDS-PAGE. Hasil visualisasi profil protein ikan gurami sebelum dan sesudah penggaraman selama 12 jam dengan metode SDS PAGE dapat dilihat pada Gambar 1



Gambar 1. Hasil Analisa Profil Protein Ikan Gurami Sebelum dan Sesudah Penggaraman Selama 12 Jam dengan Metode SDS PAGE

Keterangan;

A. Hasil *elektroforesis* SDS PAGE dari lima ekor ikan gurami sebelum penggaraman dan sesudah penggaraman selama 12 jam.

B. Visualisasi profil protein lima ekor ikan gurami sebelum penggaraman dan sesudah penggaraman selama 12 jam.

M = *Marker*

S1 = Sampel ikan gurami yang tidak digarami

S2 = Sampel ikan gurami yang digarami dengan kadar 10% b/v.

S3 = Sampel ikan gurami yang digarami dengan kadar 20% b/v.

S4 = Sampel ikan gurami yang digarami dengan kadar 30% b/v.

S5 = Sampel ikan gurami yang digarami dengan kadar 40% b/v.

Pita protein pada gel terbentuk oleh pengaruh separasi protein. Aliran listrik mempengaruhi molekul protein bermigrasi dari kutub negatif menuju kutub positif dan molekul protein tersebut bermigrasi berdasarkan berat molekul dan tingkat migrasi dalam medan listrik. Berdasarkan penelitian yang dilakukan diperoleh hasil pada sampel ikan gurami sebelum penggaraman memiliki 16 pita protein dengan nilai berat molekul 225 kDa, 150 kDa, 146 kDa, 100 kDa, 66

kDa, 61 kDa, 52 kDa, 35 kDa, 33 kDa, 25 kDa, 15 kDa, 24 kDa, 13 kDa, 12 kDa, 11 kDa, 10 kDa. Sampel ikan gurami dengan konsentrasi garam 10% direndam selama 12 jam memiliki 16 pita protein dengan nilai berat molekul 225 kDa, 173 kDa, 50 kDa, 146 kDa, 100 kDa, 66 kDa, 61 kDa, 52 kDa, 35 kDa, 33 kDa, 25 kDa, 15 kDa, 14 kDa, 13 kDa, 12 kDa, 10 kDa. Sampel ikan gurami dengan konsentrasi garam 20% direndam selama 12 jam memiliki 14 pita protein dengan nilai berat molekul 225 kDa, 173 kDa, 150 kDa, 100 kDa, 66 kDa, 61 kDa, 52 kDa, 35 kDa, 33 kDa, 25 kDa, 15 kDa, 13 kDa, 12 kDa, 10 kDa. Sampel ikan gurami dengan konsentrasi garam 30% direndam selama 12 jam memiliki 10 pita protein dengan nilai berat molekul 225 kDa, 173 kDa, 150 kDa, 100 kDa, 61 kDa, 52 kDa, 35 kDa, 33 kDa, 15 kDa, 10 kDa. Sampel ikan gurami dengan konsentrasi garam 40% direndam selama 12 jam memiliki 9 pita protein dengan nilai berat molekul 225 kDa, 173 kDa, 150 kDa, 100 kDa, 61 kDa, 52 kDa, 35 kDa, 33 kDa, 10 kDa.

Pada sampel ikan gurami sebelum penggaraman menunjukkan 16 pita, 8 pita mayor dan 8 pita minor. Sampel ikan gurami dengan konsentrasi garam 10% b/v menunjukkan 16 pita, 7 pita mayor dan 9 pita minor. Sampel ikan gurami dengan konsentrasi garam 20% b/v menunjukkan 14 pita, 7 pita mayor dan 7 pita minor. Sampel ikan gurami dengan konsentrasi garam 30% b/v menunjukkan 10 pita, 3 pita mayor dan 7 pita minor. Sampel ikan gurami dengan konsentrasi garam 40% b/v menunjukkan 9 pita, 3 pita mayor dan 6 pita minor. Semakin tinggi kadar garam yang ditambahkan maka protein yang terdapat pada ikan akan terdenaturasi jadi untuk melakukan penggaraman, konsentrasi 10% b/v yang paling disarankan karena protein yang terdapat pada ikan tersebut terjadi sedikit perubahan pada pita proteinya. Hal ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Syahrudin (2013) yang menjelaskan bahwa semakin tinggi kadar penggaraman yang dilakukan maka pita akan semakin menipis atau terdenaturasi.

PENUTUP

berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa pita protein ikan gurami sebelum penggaraman menunjukkan masih banyak atau tebal namun dengan adanya perlakuan penggaraman dengan variasi konsentrasi garam 10, 20, 30 dan 40% b/v terlihat pita protein menipis bahkan ada yang menghilang. Proses penggaraman 10% b/v pada daging ikan gurami merupakan proses penggaraman yang paling disarankan dibandingkan proses penggaraman 20, 30 dan 40% b/v karena pita-pita protein masih terlihat walaupun mulai menipis tetapi tidak menghilang, menunjukkan protein masih lengkap walaupun kadar berkurang dan proses penggaraman 40% b/v pada daging ikan gurami kurang disarankan karena menyebabkan pita-pita protein utama banyak yang hilang yaitu dari 16 pita normal menjadi 9 pita yang menunjukkan bahwa nilai nutrisi protein telah jauh berkurang. Disarankan untuk meneliti lebih lanjut mengenai profil protein ikan gurami dengan metode pengawetan yang berbeda seperti metode pengawetan dengan pengasapan. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai profil protein dengan menggunakan jenis ikan yang berbeda misalnya ikan nila, lele atau kakap.

DAFTAR PUSTAKA

- Darmawati S, Artama TW, Anwar S. 2010. Analisis Molekuler Protein Pilli Untuk Mengungkap Hubungan Similaritas 26 Strain Salmonella TyphiIsolat. Prosiding Seminar Unimus. Jurnal Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Gunanti. 2010. Karakteristik Protein Lernata Cyprenacea dengan Metode Elektroforesis SDS-PAGE. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 2(2).
- Khopkar S M. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI-Press.

- Syahrudin H. 2013. Pengaruh Penggaraman terhadap Protein Ikan Layang (*Decapterus Curell*). *Calyptra: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*. 2(1).
- Zulkarnain M, Pudji P, Indrayani E. 2013. Analisis Pengaruh Nilai Produksi Perikanan Budidaya Terhadap Produk Domestik Bruto Sektor Perikanan Di Indonesia. *ECSOFiM*. 1(1).