

**KARAKTERISASI PROFIL PROTEIN SERUM
TIKUS RUMAH YANG DIISOLASI DENGAN KOMBINASI
AMMONIUM SULFAT 50% DAN KOLOM SEPHADEX G75**

PUBLIKASI ILMIAH

Diserahkan Guna untuk Memenuhi Sebagian Syarat yang Diperlukan untuk
Mendapatkan Derajat Sarjana Peternakan pada
Program Studi Peternakan



IKA SUSILAWATI

B1D 018 113

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS MATARAM
MATARAM
2023**

**KARAKTERISASI PROFIL PROTEIN SERUM
TIKUS RUMAH YANG DIISOLASI DENGAN KOMBINASI
AMMONIUM SULFAT 50% DAN KOLOM SEPHADEX G75**

PUBLIKASI ILMIAH

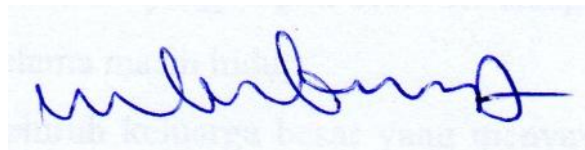
OLEH

**IKA SUSILAWATI
B1D 018 113**

Diserahkan Guna untuk Memenuhi Sebagian Syarat yang Diperlukan untuk
Mendapatkan Derajat Sarjana Peternakan pada
Program Studi Peternakan

PROGRAM STUDI PETERNAKAN

**Menyetujui
Pada Tanggal: 20 Desember 2023
Pembimbing Utama**



Prof. Ir. Sulaiman N. Depamede, M.Biotech., Ph.D.
NIP. 195904301987031001

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS MATARAM
MATARAM**

2023

**KARAKTERISASI PROFIL PROTEIN SERUM
TIKUS RUMAH YANG DIISOLASI DENGAN KOMBINASI AMMONIUM
SULFAT 50% DAN KOLOM SEPHADEX G75**

INTISARI

Oleh

**IKA SUSILAWATI
B1D 018 113**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengarakterisasi protein serum tikus yang diisolasi dengan kombinasi ammonium sulfat 50% dan kolom Sephadex G-75. Tikus rumah adalah salah satu hewan yang biasanya tinggal di rumah-rumah dan sering dijumpai di pemukiman masyarakat. Tikus rumah merupakan hewan yang dapat membawa bibit penyakit, sehingga tidak baik untuk dikonsumsi. Ditemukan banyak pedagang nakal yang mengganti bahan dasar daging sapi atau daging ayam dengan daging tikus yang dicampurkan pada olahan makanan agar mendapatkan keuntungan lebih. Berdasarkan pemikiran di atas maka perlu diteliti tentang karakter protein dalam serum tikus. Diharapkan akan memudahkan untuk membedakan apakah suatu makanan telah dicampur dengan daging tikus atau tidak. Dalam melakukan karakterisasi protein spesifik serum atau daging ternak meliputi beberapa tahapan, antara lain melakukan isolasi protein menggunakan ammonium sulfat dan suatu kolom untuk purifikasi protein. Pada penelitian ini dilakukan isolasi dan karakterisasi protein serum tikus rumah dengan ammonium sulfat 50% dikombinasikan dengan kolom Sephadex G-75. Pada penelitian ini serum tikus diperoleh dari darah yang diambil pada bagian pembuluh jantung tikus. Dilakukan pemisahan antara darah dengan serum, kemudian protein serum diisolasi pertamanya menggunakan ammonium sulfat 50% kemudian dengan kolom Sephadex G-75 untuk memperoleh fraksi sampel dengan kemurnian yang tinggi. Berat molekul selanjutnya ditentukan menggunakan metode SDS-PAGE. Sampel yang diukur diantaranya terdiri dari serum tikus tanpa perlakuan, serum tikus yang diisolasi dengan ammonium sulfat 50% dan serum yang diisolasi dengan kombinasi ammonium sulfat 50% dan kolom Sephadex G75 yang terdiri dari fraksi 6, fraksi 9 dan fraksi 11. Hasil menunjukkan bahwa pada serum tanpa perlakuan terdapat kesalahan teknis sehingga tampak pita protein sebanyak 1 buah dengan berat molekul 44.35 kDa, sementara itu untuk sampel yang diisolasi dengan ammonium sulfat 50% terdapat 6 buah pita dengan berat molekul 172.08 kDa, 141.78 kDa, 79.30 kDa, 53.83 kDa, 44.35 kDa, 34.26 kDa. Fraksi 6 terdapat 7 buah pita dengan berat molekul 161.32 kDa, 141.78 kDa, 74.34 kDa, 44.35 kDa, 26.46 kDa, 19.16 kDa, 10.71 kDa. Fraksi 9 terdapat 2 buah pita dengan berat molekul 151.24 kDa, dan 15.79 kDa. Dan untuk fraksi 11 terdapat 2 buah pita dengan berat molekul 132.92 kDa, 90.23 kDa, 47.31 kDa. Dari penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa protein serum tikus dapat dikarakterisasi menggunakan kombinasi ammonium sulfat 50% dan kolom Sephadex G-75. Isolasi menggunakan kolom Sephadex G-75 memberikan hasil yang lebih murni.

Kata kunci: Karakterisasi protein serum tikus, isolasi protein, ammonium sulfat 50%, kolom Sephadex G-75, SDS-PAGE.

**CHARACTERIZATION OF SERUM PROTEIN PROFILE
HOUSE MICE ISOLATED WITH A COMBINATION OF AMMONIUM
SULFATE 50% AND SEPHADEX G75 COLUMN**

ABSTRACT

By

**IKA SUSILAWATI
B1D 018 113**

The purpose of this study was to characterize mouse serum proteins isolated with a combination of ammonium sulfate 50% and Sephadex column G-75. House mice are one of the animals that usually live in houses and are often found in community settlements. House mice are animals that can carry disease seeds, so they are not good for consumption. Found many rogue traders who replace the basic ingredients of beef or chicken meat with rat meat mixed in processed foods in order to get more profit. Based on the above thinking, it needs to be investigated about the character of proteins in mouse serum. It is hoped that it will make it easier to distinguish whether a food has been mixed with rat meat or not. Specific protein characterization in serum or livestock meat includes several stages, including protein isolation using ammonium sulfate and a column for protein Purification. In this study, isolation and characterization of house mouse serum protein with ammonium sulfate 50% combined with Sephadex G-75 column. In this study, isolation and characterization of house mouse serum protein with ammonium sulfate 50% combined with Sephadex G-75 column. In this study, mouse serum was obtained from blood taken from the heart vessels of mice. Separation between blood and serum was carried out, then serum protein was isolated first using ammonium sulfate 50% and then with Sephadex G-75 column to obtain high purity sample fraction. The molecular weight is further determined using the SDS-PAGE method. Samples measured include rat serum without treatment, rat serum isolated with ammonium sulfate 50% and serum isolated with a combination of ammonium sulfate 50% and Sephadex G75 column consisting of fraction 6, fraction 9 and fraction 11. The results showed that in serum without treatment there were technical errors so that the protein bands appeared as much as 1 piece with a molecular weight of 44.35 kDa, while for samples isolated with ammonium sulfate 50% there were 6 pieces of bands with a molecular weight of 172.08 kDa, 141.78 kDa, 79.30 kDa, 53.83 kDa, 44.35 kDa, 34.26 kDa. Fraction 6 contained 7 bands with molecular weight 161.32 kDa, 141.78 kDa, 74.34 kDa, 44.35 kDa, 26.46 kDa, 19.16 kDa, 10.71 kDa. Fraction 9 contained 2 bands with molecular weights of 151.24 kDa, and 15.79 kDa. And for fraction 11 there are 2 pieces of tape with molecular weight 132.92 kDa, 90.23 kDa, 47.31 kDa. From this study, it can be concluded that the protein of rat serum can be characterized using a combination of ammonium sulfate 50% and Sephadex G-75 column. Insulation using Sephadex G-75 columns gives a purer result.

Keywords: Rat serum protein characterization, Protein isolation, Ammonium sulfate 50%, Column Sephadex G-75, SDS-PAGE.

PENDAHULUAN

Makanan adalah kebutuhan yang paling dasar yang perlu dijamin kehalalannya (Hasanah *et al.*, 2015). Salah satu makanan yang populer di Indonesia adalah bakso, yang bahan dasarnya terbuat dari daging sapi atau daging ayam. Namun karena harganya yang relatif tinggi yaitu daging sapi dengan harga 110.000 – 120.000 rupiah per kilogramnya, dan harga daging ayam 30.000 – 40.000 rupiah per kilogramnya, maka untuk menekan harga agar mendapatkan keuntungan lebih ditemukan banyak pedagang nakal yang mengganti bahan dasar daging sapi atau daging ayam dengan daging tikus yang dicampurkan pada saat proses penggilingan bakso (Rosyidi *et al.*, 2019).

Tikus rumah adalah salah satu hewan yang biasanya tinggal di rumah-rumah dan sering dijumpai di pemukiman masyarakat. Reproduksi tikus ini berlangsung sangat singkat, yaitu empat kali kelahiran dalam setahun, dimana jumlah tikus setiap satu kelahiran berkisar antara 12 hingga 25 ekor tikus. Hidup dari tikus ini sangat bergantung pada manusia, proses reproduksinya akan terhambat apabila bahan makanan tidak tersedia (Lydia, 2016).

Tikus rumah merupakan hewan yang dapat membawa bibit penyakit, sehingga tidak baik untuk dikonsumsi apalagi diolah dengan cara tidak benar (Risma *et al.*, 2019). Endoparasit tikus antara lain cacing, virus, jamur, protozoa, bakteri, dan rickettsia. Endoparasit tikus tersebut merupakan penyebab berbagai penyakit bagi manusia yang ditularkan melalui gigitan ektoparasit maupun penularan langsung melalui kontak dengan liur, feses (kotoran),

dan urin tikus yang terinfeksi (Ristiyanto *et al.*, 2006).

Berdasarkan pemikiran di atas maka perlu diteliti tentang karakter protein dalam serum tikus. Dengan mengetahui karakteristik tersebut, maka diharapkan akan mudah untuk membedakan apakah suatu makanan yang berasal dari ternak sapi atau ayam telah dicampur dengan daging tikus atau tidak. Dalam melakukan karakterisasi protein spesifik serum atau daging ternak meliputi beberapa tahapan, antara lain melakukan isolasi protein menggunakan ammonium sulfat dan suatu kolom untuk purifikasi protein. Pada penelitian ini dilakukan isolasi dan karakterisasi protein serum tikus rumah dengan ammonium sulfat 50% dikombinasikan dengan kolom Sephadex G-75.

MATERI DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2022 – Februari 2023, bertempat di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Fakultas Peternakan Universitas Mataram.

Materi Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah serum tikus rumah dari darah 3 ekor tikus rumah yang diambil dari beberapa rumah di sekitar tempat tinggal yang berlokasi di kota Mataram.

Bahan Penelitian

Serum tikus, *ponceau*, reagent bradford, BSA (*Bovine Serum Albumin*) larutan garam fisiologis NaCl 0.9% (Saline), ammonium sulfat, es batu dalam ice box, running

buffer, separating gel, stacking gel, staining, destaining.

Alat Penelitian

Micropipet, tabung plain, alat suntik, sentrifius, tip, microplate, vortex, electrophoresis power supply, sephadex G-75, shaker.

Pengambilan Darah dan Pemisahan Serum Tikus

Sebelum dilakukan pengambilan darah, tikus dibius menggunakan chloroform hingga pingsan dalam wadah bejana yang ditutup, selanjutnya tikus dibedah membujur pada bagian caput hingga caudal tepat di bagian abdomen, selanjutnya tikus dibentangkan, hingga organ dalam tikus terlihat jelas. Darah kemudian diambil menggunakan spuit pada bagian pembuluh jantung. Darah didiamkan selama kurang lebih 1 jam dalam suhu ruangan. Darah tikus didiamkan selama kurang lebih 1 jam dalam suhu ruangan kemudian disentrifius dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit. Bagian yang berada pada posisi mengendap di dasar tabung plain merupakan sub darah yang disebut pellet, sedangkan serum berada pada bagian atas tabung yang berat jenisnya lebih rendah sehingga sub tersebut disebut supernatant. Setelah serum dan darah terpisah, kemudian serum diambil menggunakan micro pipet dan dimasukkan ke microtube yang sudah diberi kode.

Isolasi Protein Serum dengan Ammonium Sulfat 50%

Serum tikus yang dibekukan dalam lemari pendingin kemudian di-thawing terlebih dahulu. Selanjutnya serum tikus diambil

masing-masing sebanyak 2 mL dan dibagi menjadi 4 microtube masing-masing diisi serum sebanyak 0,5 mL, selanjutnya ditambahkan ammonium sulfat 50% masing-masing microtube diisi sebanyak 0,5 mL, sehingga tiap microtube memiliki volume masing-masing sebanyak 1 mL. Larutan serum dan ammonium sulfat tersebut disimpan sambil digoyangkan dalam ice box berisi batu es selama 60 menit. Selanjutnya disentrifius menggunakan kecepatan 12000 rpm selama 5 menit. Setelah selesai, supernatant dibuang dan pellet atau endapannya diambil dan ditambahkan NaCl 0.9% (garam infus) sebanyak 0,25 mL masing-masing ke dalam 4 microtube tersebut dan divortex hingga homogen.

Isolasi Protein Serum dengan Kombinasi Kolom Sephadex G-75

Endapan yang diperoleh dari isolasi menggunakan ammonium sulfat 50% kemudian diisolasi kembali dengan kolom sephadex G-75 untuk memperoleh fraksi dengan tingkat kemurnian yang lebih tinggi. Endapan yang sudah dilarutkan dengan saline (NaCl 0.9%) kemudian dimasukkan dalam kolom.

Ditransfer sebanyak 10 ml sephadex G-75 ke kolom. Kemudian ujung dasar kolom ditutup. Sephadex G-75 kemudian dicuci di dalam kolom menggunakan NaCl 0.9% dengan cara ditambahkan 20 ml secara bertahap 1-2 ml NaCl. Pada saat kolom dicuci, bagian ujung bawah kolom dibuka sehingga terjadi aliran buffer. Cairan sephadex tidak boleh dibiarkan mengering Setelah dilakukan pencucian, selang di ujung bawah kolom kemudian ditutup. Kemudian pada permukaan sephadex G-75 ditambahkan larutan pellet atau

endapan serum tikus yang diisolasi dengan ammonium sulfat 50% sesaat sebelum kolom kering. Setelah isolat serum tikus ammonium sulfat 50% terserap oleh sephadex G-75, tambahkan 1 mL NaCl ke atas sephadex G-75 dengan hati-hati agar G75 tidak berhamburan.

Selanjutnya tetesan dari kolom ditampung menggunakan microtube. Lot 1 ditampung dengan 15 buah microtube, tube 1 – 5 diisi sebanyak 1 mL dan tube 6 – 15 diisi masing-masing sebanyak 0,5 mL, begitupun dengan lot 2; tube 1 – 5 diisi sebanyak 1 mL dan tube 6 – 15 diisi masing-masing sebanyak 0,5 mL. Hasil tetesan lot 1 dan 2 kemudian disampling diteteskan ke dalam microplate masing-masing sebanyak 25 μ l pada 15 lubang sumuran microplate untuk dilakukan uji kualitatif konsentrasi protein dengan cara yang lebih sederhana dalam masing-masing sumuran yang sudah berisi 25 μ l fraksi dari lot 1(1 – 15) dan lot 2 (1 – 15), ditambahkan cairan Bradford sebanyak 25 μ l di masing-masing sumuran.

Pengukuran Berat Molekul Serum dengan Metode SDS PAGE

Berat molekul dari serum pra dan pasca isolasi menggunakan ammonium sulfat 50% dan kombinasi kolom sephadex G-75 diukur menggunakan metode SDS PAGE yaitu dengan cara membuat stacking dan separating gel nya terlebih dahulu. Separating gel (10%) terbuat dari 30% acrylamide, 4x separation buffer, dH₂O, 10% APS, dan TEMED setelah dicampurkan kemudian dimasukkan dalam plate (tempat lapisan gel) dengan menggunakan mikropipet sebanyak (6 ml). Setelah gel terbentuk campuran stacking gel dituang diatas

separating gel sebanyak (1,5 ml). Stacking gel (3.5%) yang terbuat dari 30% acrylamide, 4x upper buffer, dH₂O, dan TEMED. Selanjutnya dipasangkan sisiran pada bagian atas gel. Setelah gel terbentuk, kemudian gel dimasukkan ke dalam electrophoresis power supply yang sudah dinyalakan sebelumnya, dan diisi dengan larutan buffer, selanjutnya sisiran diangkat dengan hati-hati dan diinjeksi masing-masing sebanyak 10 uL dalam tiap sumur. Sebelum dilakukan pengukuran sampel dan fraksi diencerkan terlebih dahulu, diambil serum murni sebanyak 10 uL kemudian diencerkan menggunakan 30 uL saline dan 5x loading buffer sebanyak 10 uL, sedangkan untuk sampel serum yang diisolasi menggunakan ammonium sulfat 50% diambil sebanyak 15 uL kemudian diencerkan menggunakan saline 25 uL dan 5x loading buffer sebanyak 10 uL, dan untuk fraksi 11, 9, dan 6 masing-masing diambil sebanyak 40 uL kemudian diencerkan menggunakan 5x loading buffer sebanyak 10 uL. Selanjutnya sumuran 5 diisi dengan marker dengan merk pabrik SMBio yang menjadi penanda dengan kemampuan mendeteksi berat molekul sampel dari 245 kDa hingga 5 kDa, sumuran 6 diisi dengan serum tikus murni, sumuran 7 diisi dengan serum yang diisolasi dengan ammonium sulfat 50%, sumuran 8 diisi dengan fraksi 11, sumuran 9 diisi dengan fraksi 9, dan sumuran 10 diisi dengan fraksi 6. Selanjutnya running dilakukan selama 2 jam dengan arus konstan 100 mA dan tegangan 100 Volt sampai sampel berada 0.5 cm di atas dasar gel. Pewarnaan gel hasil running dilakukan dengan merendam gel

dalam larutan staining selama 30 – 60 menit. Warna gel dihilangkan dengan perendaman dalam larutan destaining sambil digoyang-goyang atau dibiarkan semalaman. Gel yang sudah diperoleh kemudian di-scan di atas kotak cahaya untuk diambil gambar. Penentuan berat molekul relatif protein serum tikus dilakukan dengan bantuan protein standar dan kemudian dibuat persamaan regresi linier dengan harga log berat molekul sebagai sumbu y dan harga Rf sebagai sumbu x.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemisahan Serum Tikus

Darah yang diambil dari tiga ekor tikus rumah diperoleh total darah kurang lebih sebanyak 15 cc kemudian dimasukkan ke tabung plain yang sudah diberi kode 1, 2, 3 yang berarti darah dari tikus 1, 2, dan 3. Berikut hasil pemisahan darah dengan serum dengan gaya sentrifugal ditampilkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Serum tikus

Total serum yang diperoleh adalah sebanyak 5 cc, serum kemudian disimpan pada suhu -20°C dalam lemari pendingin. tampak bahwa adanya perbedaan warna pada masing-masing serum, serum tikus yang diperoleh sebanyak kurang lebih 5 cc, dan serum yang diperoleh berwarna bening, merah muda, dan

merah muda yang agak pekat, adanya perbedaan warna tersebut disebabkan karena pada bagian jantung, darah sulit diperoleh sehingga terjadi lisis. Menurut Akbid *et al* (2001) lisis terjadi ketika eritrosit pecah sehingga terdapat kandungan hemoglobin dalam serum yang dapat terjadi antara lain disebabkan karena pada waktu pengambilan sampel, hisapan darah ke tabung terlalu cepat atau pada saat darah dimasukkan ke dalam tabung plain disemprotkan terlalu kuat, dan terlalu banyaknya tusukan pada bagian tubuh hewan uji coba.

Isolasi Protein Serum Tikus Menggunakan Ammonium Sulfat 50%



Gambar 2. Hasil pemurnian serum dengan menggunakan ammonium sulfat 50%

Gambar 2 menunjukkan bahwa serum yang dimurnikan dengan ammonium sulfat 50% membentuk endapan seperti garam. Menurut Suhito (2016), ammonium sulfat digunakan sebagai bahan untuk mengisolasi protein karena sifatnya yang sangat larut, murah, dan memiliki tingkat pemurnian tertinggi serta tidak mengubah pH yang dapat mengakibatkan denaturasi protein. Amanu *et al* (2015a) menggunakan larutan ammonium sulfat 50% jenuh yang ditambahkan ke dalam serum. Alviyulita *et al* (2014) melaporkan bahwa penggunaan kristal ammonium sulfat pada tingkat kejenuhan 60% optimal untuk

memisahkan enzim papain. Subangkit (2013) menggunakan larutan amonium sulfat 100% jenuh yang ditambahkan ke dalam serum sebanyak 40% dari volume serum.

Pelet yang terbentuk kemudian diresuspensikan menggunakan larutan NaCl 0.9% kemudian dilanjutkan dengan kromatografi kolom gel filtrasi sephadex G75 (2.5 x 40 cm) fraksi ditampung sebanyak 30 tabung masing-masing 1 ml dengan kecepatan alir 1ml/menit (Alexander *et al.*, 2004).

Isolasi Protein Serum Tikus Menggunakan Kolom Sephadex G-75

Proses isolasi menggunakan kolom sephadex G-75 dapat meningkatkan kemurnian serum, proses isolasi seperti ditunjukkan pada Gambar 3.



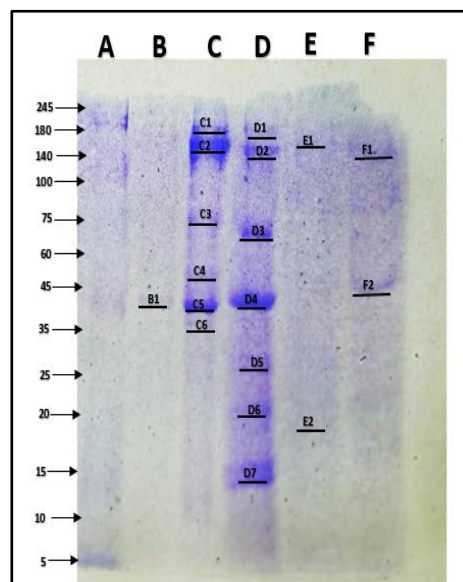
Gambar 5. Proses isolasi protein sampel menggunakan kolom Sephadex G-75.

Pada Gambar 3 tampak bahwa larutan sampel sudah diserap oleh gel ditunjukkan oleh warna merah akibat pewarnaan ponceau yang berfungsi sebagai penanda untuk mempermudah dalam pengamatan sampel yang mulai turun perlahan ke ujung tabung yang berada di bawah. Molekul protein serum yang lebih kecil akan diserap oleh gel di dalam

kolom, sedangkan molekul yang lebih besar akan keluar menuju larutan buffer.

Proses isolasi protein menggunakan kolom sephadex G-75 yang bersifat semipermeabel dilakukan untuk membersihkan sisa ammonium sulfat yang masih tertinggal di dalam larutan fraksi sampel serum yang sudah diisolasi dengan ammonium sulfat dengan prinsip osmosis. Sisa ammonium sulfat dan kotoran lainnya akan keluar dari dalam membran dialisa menuju larutan buffer dan protein serum akan tertahan karena ukuran pori-pori kolom sephadex G-75 yang lebih kecil dari ukuran protein sampel (Herlina *et al.*, 2019).

Pembacaan Profil Protein Fraksi Serum Tikus dengan Metode SDS-PAGE



Gambar 4. Hasil pengukuran SDS-PAGE serum tikus

Keterangan gambar 4:

- Kolom A: marker SMBio (245 – 5 kDa)
- Kolom B: serum tikus tanpa perlakuan (terdapat kesalahan teknis)
- Kolom C: serum tikus dengan ammonium sulfat 50%
- Kolom D: fraksi 6 (isolasi dengan ammonium sulfat 50% dan sephadex G-75)
- Kolom E: fraksi 9 (isolasi dengan ammonium sulfat 50% dan sephadex G-75)
- Kolom F: fraksi 11 (isolasi dengan ammonium

Gambar 4 menunjukkan hasil analisis SDS-PAGE terhadap profil protein serum tikus pra dan pasca isolasi dengan menggunakan ammonium sulfat 50% dan kombinasi kolom sephadex G-75. Pada kolom B (serum tikus tanpa perlakuan) terdapat kesalahan teknis. Serum yang diisikan ke dalam sumuran telah mengalami pengenceran sehingga tidak tampak adanya pita-pita protein. Sedangkan pada kolom C yang diisi dengan serum yang sudah dimurnikan dengan ammonium sulfat 50% terbentuk 5 pita, selanjutnya untuk kolom D yang diisi dengan fraksi 6 terbentuk 7 pita, untuk kolom E yang diisi dengan fraksi 9 terbentuk 2 pita, dan untuk kolom F yang diisi dengan fraksi 11 terbentuk 2 pita. Menurut Sudjadi (2012) untuk mengetahui tingkat kemurnian suatu protein secara umum dapat diukur bahwa semakin sedikit jumlah pita yang terbentuk menunjukkan protein tersebut semakin murni. Pada Gambar 7 dilihat bahwa jumlah pita fraksi pasca isolasi dengan ammonium sulfat menunjukkan jumlah pita sebanyak 6 buah, sementara untuk fraksi 8 tampak 7 buah pita, kemudian untuk fraksi 9 tampak 2 buah pita yang sangat tipis, begitupun dengan fraksi 11 tampak 2 buah pita yang tipis. Ini menunjukkan fraksi nomor 9 dan 11 memiliki kandungan lebih murni.

Pita yang didapat dari hasil SDS-PAGE ini menunjukkan pita yang tipis, diduga karena konsentrasi protein pada rentang sangat rendah dan konsentrasi berpengaruh pada ketebalan pita protein pada hasil

SDS-PAGE. Tebal tipisnya pita protein yang terbentuk pada hasil SDS-PAGE menunjukkan kandungan atau banyaknya protein yang mempunyai berat molekul yang sama, yang berada pada posisi pita yang sama. Hal ini sesuai dengan prinsip pergerakan molekul bermuatan yaitu molekul bermuatan dapat bergerak bebas di bawah pengaruh medan listrik. Molekul dengan muatan dan ukuran yang sama akan terakumulasi pada zona atau pita yang sama atau berdekatan (Asadayanti, 2010).

Menurut Utami (2007), protein yang memiliki berat molekul paling kecil bergerak cepat sehingga tertarik sampai bagian bawah gel, sedangkan protein yang memiliki berat molekul paling besar akan berada pada bagian atas dari gel. Namun pada gambar 7 di atas, menunjukkan bahwa pita protein dari sampel serum pasca isolasi bergerak lebih jauh menuju dasar gel, akan tetapi ketebalan dan jumlah pita dari serum pasca isolasi tampak jauh lebih tebal dibandingkan dengan serum pra isolasi (serum tikus tanpa perlakuan). Sementara menurut Bintang (2010) bahwa tebal tipisnya pita yang terbentuk dari pita protein menunjukkan konsentrasi atau banyaknya protein yang memiliki berat molekul sama yang berada pada posisi pita yang sama, karena semakin tinggi konsentrasi sampel semakin tebal pita yang terbentuk. Hal ini sejalan dengan prinsip pergerakan molekul bermuatan, yakni molekul bermuatan dapat bergerak bebas di bawah pengaruh medan listrik, molekul dengan muatan dan ukuran yang sama akan terakumulasi pada zona atau pita yang sama atau berdekatan.

Tabel 1: Nilai x dan y marker

No	kDa	Migrasi marker (cm)	Rf (x)	Log Marker (y)
1	245	0.4	0.066667	2.389166
2	180	0.8	0.133333	2.255273
3	140	1	0.166667	2.146128
4	100	1.4	0.233333	2
5	75	1.8	0.3	1.875061
6	60	2.2	0.366667	1.778151
7	45	2.6	0.433333	1.653213
8	35	3.1	0.516667	1.544068
9	25	3.6	0.6	1.39794
10	20	4.2	0.7	1.30103
11	15	4.8	0.8	1.176091
12	10	5.4	0.9	1
13	5	5.8	0.966667	0.69897

Tabel 2. Hasil perhitungan berat molekul sampel

Ket.	Nama Sampel	Kode	Migrasi Sampel (Cm)	Rf Sampel (x)	Nilai Persamaan (y)	BM (kDa)
B	Serum tikus tanpa perlakuan	B1	2.8	0.46666667	1.646973333	44.35
		C1	0.7	0.11666667	2.235743333	172.08
		C2	1	0.16666667	2.151633333	141.78
		C3	1.9	0.31666667	1.899303333	79.30
C	Serum dengan AS (50%)	C4	2.5	0.41666667	1.731083333	53.83
		C5	2.8	0.46666667	1.646973333	44.35
		C6	3.2	0.533333333	1.534826667	34.26
		D1	0.8	0.133333333	2.207706667	161.32
D	Fraksi 6	D2	1	0.16666667	2.151633333	141.78
		D3	2	0.333333333	1.871266667	74.34
		D4	2.8	0.46666667	1.646973333	44.35
		D5	3.6	0.6	1.42268	26.46
		D6	4.1	0.683333333	1.282496667	19.16
		D7	5	0.833333333	1.030166667	10.71

		E1	0.9	0.15	2.17967	151.24
E	Fraksi 9	E2	4.4	0.733333333	1.198386667	15.79
		F1	1.1	0.183333333	2.123596667	132.92
F	Fraksi 11	F2	2.7	0.45	1.67501	47.31

Tabel 1 dan 2 menunjukkan hasil estimasi berat molekul dari sampel serum tikus pra dan pasca isolasi menggunakan kombinasi ammonium sulfat 50% dan kolom sephadex G-75. Hasil elektroforesis diperoleh berat molekul sampel serum tikus tanpa perlakuan yaitu sebesar 44.35 kDa. Sementara itu, terlihat adanya warna keunguan yang tebal dan lebih banyak pada sumuran 7. Hal ini menandakan pada sumuran yang diisi dengan fraksi pasca isolasi dengan ammonium sulfat masih terdapat banyak jenis protein. Hasil pita protein yang didapat pada tahapan isolasi dengan kromatografi filtrasi gel menggunakan sephadex G-75 (sumuran 6, 9, dan 11) menunjukkan adanya 2 jenis protein dengan berat molekul antara 15.79 kDa. dan 161.32 kDa. Sementara pada penelitian Isnaini (2018) SDS-PAGE serum tikus hasil imunisasi menggunakan vaksin antirabies menunjukkan adanya 14 pita protein dengan berat molekul 11.3–228.6, untuk pita protein yang dominan memiliki berat molekul 160.4 kDa kDa. Sedangkan pada serum hasil imunisasi menggunakan antibodi anti-idiotipe tampak 15 pita protein dengan berat molekul 11.3–235.3 kDa. Pita protein yang dominan memiliki berat molekul 206.7 kDa. dengan penambahan adjuvan kitosan terdapat pita protein dengan berat molekul 161.7–177 kDa yang diduga merupakan IgG dan menghasilkan pita protein dengan jumlah yang lebih banyak.

Pada sampel serum pasca isolasi dengan ammonium sulfat 50% membentuk jumlah pita yang lebih banyak yaitu berkisar pada berat molekul 172.08 kDa, 141.78 kDa, 79.30 kDa, 53.83 kDa, 44.35 kDa, 34.26 kDa. Selanjutnya untuk sampel serum pasca isolasi dengan kolom sephadex G-75 yang terdiri dari fraksi 6, fraksi 9 dan fraksi 11, secara berturut-turut, fraksi 6 memiliki berat molekul sebesar 161.32 kDa, 141.78 kDa, 74.34 kDa, 44.35 kDa, 26.46 kDa, 19.16 kDa, 10.71 kDa. Fraksi 9 memiliki berat molekul sebesar 151.24 kDa, dan 15.79 kDa. Dan untuk fraksi 11 memiliki berat molekul sebesar 132.92 kDa, 90.23 kDa, 47.31 kDa, 20.44 kDa, dan 14.80 kDa.

Serum yang dimurnikan dengan kombinasi ammonium sulfat 50% dan kolom sephadex G-75 menunjukkan jumlah pita yang lebih banyak dibandingkan serum pra isolasi, namun memiliki warna keunguan yang lebih tebal. Menurut Fusvita (2006) bahwa pada umumnya makin murni suatu sampel maka makin spesifik proteinnya, yang ditandai dengan jumlah pita yang semakin sedikit.

Sedangkan untuk perbedaan tebal dan tipisnya pita yang terbentuk disebabkan oleh perbedaan jumlah dari molekul-molekul yang termigrasi, pita tebal merupakan fiksasi dari beberapa pita. Pita yang memiliki kekuatan ionik lebih besar akan termigrasi lebih jauh daripada pita yang berkekuatan ionik kecil. Protein yang digunakan sebagai ciri

genetik untuk mempelajari keragaman individu dalam satu populasi. Ada atau tidaknya pita pada jarak migrasi tertentu menunjukkan ada atau tidaknya protein yang termigrasi dan berhenti pada jarak tersebut selama proses elektroforesis (Leksana, 2018).

KESIMPULAN

Terdapat perbedaan profil SDS-PAGE protein serum tikus rumah yang diisolasi dengan kombinasi ammonium sulfat 50% dan kolom Sephadex G-75. Berat molekul serum tikus tanpa perlakuan dan pasca isolasi dengan kombinasi ammonium sulfat dan kolom sephadex G-75 adalah sebagai berikut; serum tikus tanpa perlakuan memiliki berat molekul 44.35 kDa, sedangkan untuk sampel serum pasca isolasi dengan ammonium sulfat 50% adalah 172.08 kDa, 141.78 kDa, 79.30 kDa, 53.83 kDa, 44.35 kDa, 34.26 kDa. Secara berturut-turut, fraksi 6 memiliki berat molekul sebesar 161.32 kDa, 141.78 kDa, 74.34 kDa, 44.35 kDa, 26.46 kDa, 19.16 kDa, 10.71 kDa. Fraksi 9 memiliki berat molekul sebesar 151.24 kDa, dan 15.79 kDa. Dan untuk fraksi 11 memiliki berat molekul sebesar 132.92 kDa, 90.23 kDa, 47.31 kDa.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan berkaitan dengan aktifitas biologis atau imunologis dari fraksi-fraksi protein yang diperoleh dari penelitian skripsi ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbid, Arwin. A. P. 2001. Pendekatan Imunologis Berbagai Penyakit Alergi dan Infeksi. Bagian ilmu kesehatan anak FKUI. Jakarta.
- Alexander S., Strete D., Mary J. 2004. *Laboratory Exercise in Organismal and Molecular Microbiology*. New York: McGraw Hill.
- Alviyulita M, Hasibuan PRM, Hanum F. 2014. Pengaruh penambahan ammonium sulfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan waktu perendaman buffer fosfat terhadap perolehan Crude Papain dari daun pepaya (*Carica Papaya*, L). *Jurnal Teknik Kimia USU* 3(3):8–12.
- Amanu S, Rifai AB, Yulianah L, Dwiwahyu P. 2015a. Evaluation of coagulation test kit for red sea bream iridovirus. *Journal of Agricultural Science and Technology B* 5:437–440.
- Anam K. 2010. Pengukuran Kadar Protein dengan Metode Bradford. Bogor: Bioteknologi Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Asadayanti, D.D, Jenie, B.S. L., Kusumaningrumi, H. D dan Nurhidayat, N., 2010. Peningkatan Kadar Lovastatin Angkak oleh *Monascus purpureus* Ko-Kultur dengan *Endomycopsis burtonii*. *Berita Biologi Jurnal Ilmu-ilmu Hayati* 10 (3), 313-321.
- Bintang, M. 2010. Biokimia Teknik Penelitian. Erlangga. Jakarta.
- Fusvita A, Maryam R, Pribadi E. S. 2016. Karakterisasi antibodi poliklonal terhadap aflatoksin M1. *Jurnal Sain Veteriner* 34(1):9–15.

- Hasanah, Arifah Nur Uswatun. 2015. Karakterisasi Asam Lemak Sapi Dan Asam Lemak Babi Secara Voltametri Siklik. Yogyakarta: Universitas Negeri Sunan Kalijaga.
- Herlina N, Setiyono A, Juniantito V, Said S. 2019. Induksi dan purifikasi antibodi anti-Coxiella burnetii untuk deteksi post mortem Q fever pada ruminansia. *Acta Veterinaria Indonesiana* 7(1):1–10.
- Isnaini Nurul Fatimah, Khomaini Hasan, Rini Sundari. 2018. Profil protein serum tikus yang diimunisasi menggunakan antibodi anti-idiotipe dengan penambahan adjuvan kitosan. Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani.
- Leksana Aditya Kris Nugraha, Ida Ayu Pasti Apsari, Ida Bagus Ngurah Swacita. 2018. Penentuan Kadar Protein dan Fraksi Protein Crude Antigen *Cysticercus cellulosae* dari Isolat Lokal. *Jurnal Buletin Veteriner Udayana. Volume 11 No. 2: 220-228*
- Levine M. 1995. Determination of optimal vitamin C requirements in humans. dalam: *The American Journal of Clinical Nutrition*. 62 (suppl): 1347S- 1356S
- Lydia M. Ivak dalam. Populasi dan Habitat Tikus Rumah (*Rattus rattus diardii*). *Jurnal Agroforesti*. XI (1) Modal Dunia terhadap pergerakan Indeks Harga Saham Gabungan (IHSG) di Muchtadi, 2016. Teknik Evaluasi Nilai Gizi Protein. Program Pascasarjana.
- Risma Dewi Saputri, Luffiyya Yulia Sari, Muhammad Hernanda, Rini Marlina, Riandy Putra. Identifikasi Lemak Tikus Pada Bakso Daging Sapi di Km 9 Palembang dengan Instrumen Fourier Transform Infrared (FTIR). *ALKIMIA. Jurnal Ilmu Kimia dan Terapan Vol. 3 No. 2 2019*.
- Ristiyanto, Farida DH, Gambiro PY, 2006. Studi Epidemiologi Leptospirosis di Daratan Rendah (Kabupaten Demak, Jawa Tengah).
- Rosyidi, Nabila Nisrina dan Khamidinal. 2019. Analisis Lemak Daging Tikus Dalam Bakso Tikus di Sleman Menggunakan Spektroskopi Inframerah (FTIR). *IJHS*. 1: 19-29.
- Subangkit M. 2013. Kajian Diagnostik Patologi Penyakit Marek Menggunakan Metode Imunohistokimia. Tesis S2. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor. p24–39.
- Suhito IR. 2016. Ekstraksi, Purifikasi, dan Karakterisasi Alkalin Protease dari Limbah Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). Skripsi S1. Universitas Surabaya. Surabaya. p12–3.
- Utami, E.S., Soemardi, I., Taryono., Semiarti, E. 2007. Sintesis Protein Selama Embriogenesis Somatik Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* L.). *Jurnal Biodiversitas*. 8 (3): 188-19.