

**KARAKTERISASI PROTEIN SERUM AYAM BROILER
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



INDRA RAHMAT RIYADI

B1D018118

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

**KARAKTERISASI PROTEIN SERUM AYAM BROILER
YANG DIISOLASI DENGAN KOMBINASI
AMMONIUM SULFAT 50% DAN KOLOM SEPHADEX G75
PUBLIKASI ILMIAH**

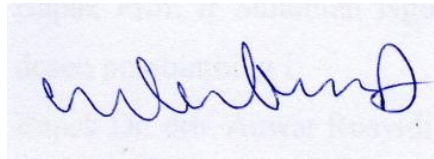
OLEH

**INDRA RAHMAT RIYADI
B1D018118**

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

PROGRAM STUDI PETERNAKAN

**Menyetujui
Pada Tanggal: 18 Desember 2023
Pembimbing Utama**



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

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS MATARAM
MATARAM
2023**

INTISARI

Oleh

INDRA RAHMAT RIYADI

B1D018118

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengarakterisasi protein serum ayam broiler yang diisolasi dengan kombinasi ammonium sulfat 50% dan kolom Sephadex G-75. Ayam broiler merupakan salah satu komoditi yang menghasilkan produk berupa daging dengan berbagai keunggulan. Namun ayam broiler juga memiliki kelemahan, yaitu sangat rentan terhadap penyakit. Serum umum digunakan sebagai bahan untuk pemeriksaan kondisi fisiologis suatu ternak. Serum dapat digunakan untuk berbagai macam pengujian seperti, mendeteksi infeksi penyakit, bakteri, parasit, virus, toksin. Dengan begitu, waktu penyakit dapat diprediksi serta penanganan penyakit dapat diantisipasi lebih dini. Berdasarkan hal tersebut maka perlu diteliti tentang karakter protein dalam serum ayam broiler, maka diharapkan akan membuka peluang untuk mengembangkan pemeriksaan fisiologi ternak unggas, khususnya ayam broiler berbasis protein serum. Pada penelitian ini serum diambil dengan cara menampung darah dari ayam broiler yang disembelih pada bagian lehernya. Kontainer yang telah berisi darah diletakkan dalam ice box yang berisi batu es dan segera dibawa ke laboratorium. Kemudian darah disentrifius untuk memperoleh serum. Kemudian protein serum diisolasi pertama-tama 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 ayam broiler tanpa perlakuan, serum ayam broiler yang diisolasi dengan ammonium sulfat 50% dan serum yang diisolasi dengan kombinasi ammonium sulfat 50% dan kolom Sephadex G75 yang terdiri dari fraksi 4, fraksi 8 dan fraksi 13. Hasil menunjukkan bahwa pada serum tanpa perlakuan tampak pita protein sebanyak 4 dengan berat molekul 134.57 kDa, 73.31 kDa, 56.91 kDa, 29.47 kDa., sementara itu, untuk sampel yang diisolasi dengan ammonium sulfat 50% tampak 3 pita dengan berat molekul 121.61 kDa, 51.43 kDa, dan 28.02 kDa, sedangkan untuk fraksi 4 terdapat 2 pita protein dengan berat 32.61 kDa. Kemudian untuk fraksi 8 terdapat pita protein dengan berat molekul 20.68 kDa, dan untuk fraksi 13 juga terdapat pita protein dengan berat molekul 18.69 kDa. Dari penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa protein serum ayam broiler dapat diisolasi 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 ayam broiler, isolasi protein, ammonium sulfat, kolom Sephadex G-75, SDS-PAGE.

ABSTRACT

By

INDRA RAHMAT RIYADI

B1D018118

The purpose of this study was to characterize the serum protein of broiler chickens isolated with a combination of ammonium sulfate 50% and Sephadex column G-75. Broiler chicken is one of the commodities that produce products in the form of meat with various advantages. But broiler chickens also have a disadvantage, they are very susceptible to disease. Serum is commonly used as a material for examining the physiological condition of a livestock. Serum can be used for a variety of tests such as, detect infectious diseases, bacteria, parasites, viruses, toxins. That way, the time of the disease can be predicted and the treatment of the disease can be anticipated earlier. Based on this it needs to be researched about the character of protein in broiler chicken serum, it is expected that it will open up opportunities to develop physiological examination of poultry, especially broiler chickens based on serum protein. In this study serum was taken by collecting blood from broiler chickens slaughtered on the neck. The container containing blood is placed in an ice box containing ice cubes and immediately taken to the laboratory. Then the blood is centrifuged to obtain serum. Then the serum protein was isolated first using ammonium sulfate 50% then with Sephadex G-75 column to obtain a sample fraction with high purity. The molecular weight is further determined using the SDS-PAGE method. samples measured consisted of untreated broiler chicken serum, broiler chicken serum isolated with ammonium sulfate 50% and serum isolated with combination of ammonium sulfate 50% and Sephadex G75 column consisting of fraction 4, fraction 8 and fraction 13. The results showed that in serum without treatment there were protein bands with molecular weights 134.57 kDa, 73.31 kDa, 56.91 kDa, 29.47 kDa., meanwhile, for samples isolated with ammonium sulfate 50% appears 3 bands with a molecular weight 121.61 kDa, 51.43 kDa, and 28.02 kDa, while for fraction 4 appears. The 2 bands with molecular kDa and 32.61 kDa. Then for fraction 8 appear protein bands with molecular weights 20.68 kDa, and for fraction 13 also appear protein bands with molecular weight and 18.69 kDa. The conclusion of this study is that the serum protein of broiler chickens can be isolated using a combination of 50% Ammonium sulfate and Sephadex G-75 column. Isolation using Sephadex G75 column gives purer protein results.

Keywords: Broiler chicken serum protein characterization, protein isolation, ammonium sulfate, Sephadex column G-75, SDS-PAGE.

PENDAHULUAN

Ayam broiler merupakan salah satu komoditi yang menghasilkan produk berupa daging dengan berbagai keunggulan seperti, pertumbuhan yang sangat cepat, dengan bobot badan yang relatif tinggi yaitu mencapai 1,5 – 2 kg per ekor, dalam waktu yang relatif pendek yaitu berkisar antara 30 – 35 hari. Namun, selain keunggulannya tersebut, ayam broiler juga memiliki kelemahan, yaitu sangat rentan terhadap penyakit (Rukmini *et al.*, 2019).

Serum umum digunakan sebagai bahan untuk pemeriksaan kondisi fisiologis suatu ternak. Serum dapat digunakan untuk berbagai macam pengujian seperti, mendeteksi infeksi penyakit, bakteri, parasit, virus, toksin, hormon, enzim, maupun kandungan mineral dan logam berat (Vieths *et al.*, 2008). Dengan begitu, kelompok ternak yang mempunyai resiko tinggi terkena suatu penyakit dapat diidentifikasi, demikian pula waktu penyakit dapat diprediksi serta penanganan penyakit dapat diantisipasi lebih dini (Indrawati, 2012).

Serum mengandung berbagai komponen seperti ion-ion anorganik, ion-ion organik, dan sebagian besar protein dengan ukuran molekul besar. Ion-ion anorganik seperti natrium, kalium, dan kalsium bersama dengan ion-ion organik seperti karbonat dan fosfat berperan dalam menjaga keseimbangan elektrolit dan fungsi fisiologis tubuh. Sementara itu, protein-protein besar dalam serum seperti antibodi, antigen, hormon, dan substansi lainnya memiliki peran penting dalam sistem kekebalan tubuh dan regulasi proses fisiologis. Substansi exogenous juga dapat ditemukan

dalam serum, yang dapat berasal dari luar tubuh seperti obat-obatan atau zat kimia (Sadikin, 2002).

Pada kondisi normal, serum darah pada mamalia tampak jernih dan mirip dengan air. Komposisi serum ini sangat bervariasi dan mengandung berbagai macam substansi penting yang memiliki peran signifikan dalam fungsi fisiologis tubuh. Di antara komponen-komponen tersebut terdapat elektrolit, seperti sodium, bikarbonat, kalsium, potassium, dan lainnya, yang sangat vital untuk menjaga keseimbangan cairan tubuh serta berperan dalam fungsi saraf dan otot. Selain itu, serum juga mengandung enzim tertentu, seperti alkali fistase, lipase pancreas, dan enzim hati, yang berperan dalam proses pencernaan dan metabolisme tubuh. Terdapat juga komponen-komponen lain seperti bilirubin yang merupakan produk pemecahan hemoglobin, kreatinin sebagai indikator fungsi ginjal, serta nutrisi penting seperti glukosa dan trigliserida yang merupakan sumber energi utama bagi tubuh. Selain itu, asam urat juga hadir dalam serum dan berfungsi sebagai indikator kondisi kesehatan dan metabolisme purin (Baynes, 2009).

Penelitian tentang serum ayam umumnya berkaitan dengan kondisi fisiologis ayam, masih jarang tentang isolasi protein serum ayam. Penelitian yang dilakukan oleh Gusti *et al* (2019) pada ayam buras yang terjangkit penyakit tetelo atau *Newcastle disease* menggunakan uji hambatan hemaglutinasi untuk mengevaluasi keberadaan antibodi spesifik terhadap penyakit tersebut. Namun, dalam konteks karakterisasi protein serum ayam broiler yang diisolasi menggunakan kombinasi

ammonium sulfat 50% dan kolom Sephadex G75, penelitian serupa masih terbatas. Meskipun metode isolasi telah diterapkan dalam penelitian, fokus pada serum ayam broiler masih memerlukan lebih banyak eksplorasi. Diperlukan pendekatan lebih lanjut untuk memahami secara mendalam komponen protein dalam serum ayam broiler, menggali sifat-sifat dan karakteristiknya dengan teknik yang telah disebutkan guna meningkatkan pemahaman akan potensi serta aplikabilitasnya. Gusti *et al* (2019) pada penelitian dan studi lainnya yang terkait dapat memberikan landasan yang kuat dalam konteks perbandingan dengan hasil-hasil penelitian sebelumnya yang berkaitan dengan serum unggas dan karakterisasi proteinnya.

Berdasarkan pemikiran di atas maka perlu diteliti tentang karakter protein dalam serum ayam broiler karena ayam broiler merupakan komoditi yang sangat rentan terhadap penyakit. Dengan mengetahui karakteristik protein serumnya, maka diharapkan akan membuka peluang untuk mengembangkan pemeriksaan fisiologi ternak unggas, khususnya ayam broiler berbasis protein serum.

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 pada

penelitian ini adalah serum ayam broiler dari darah 30 ekor ayam broiler yang diambil di tempat pemotongan ayam yang berlokasi di UD. Mega broiler Jl. Baitulrahman Karangpule Kota Mataram.

Bahan Penelitian

Serum ayam broiler, *ponceau*, reagent bradford, saline, ammonium sulfat, es batu dalam ice box, running buffer, separating gel, stacking gel, staining, destaining.

Alat Penelitian

Micropipet, sentrifius, tip, microplate, vortex, electrophoresis power supply, sephadex G-75, shaker.

Pengambilan Darah dan Serum Ayam Broiler

Darah ditampung dari ayam broiler yang disembelih pada bagian lehernya, darah ditampung menggunakan kontainer yang sudah diberi label, kemudian diisi hingga volume yang sudah ditentukan yaitu antara 5 – 10 ml. Kontainer ditutup rapat kembali agar darah tidak tumpah kemudian disimpan dalam ice box yang berisi batu es ditutup rapat. Selanjutnya darah yang ditampung dibawa ke laboratorium untuk uji selanjutnya. Darah kemudian dimasukkan ke dalam 30 buah microtube, selanjutnya dipisahkan antara darah dengan serum menggunakan sentrifius dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Serum yang didapatkan kemudian dilakukan pemurnian menggunakan ammonium sulfat 50% dan kolom Sephadex G-75.

Pemurnian Protein Serum Ayam Broiler dengan Amonium Sulfat 50%

Serum ayam broiler yang diperoleh dari 30 sampel digabung (*pool*) dan diambil sebanyak 2 mL, kemudian dibagi menjadi 4 microtube masing-masing diisi serum sebanyak 0,5 mL. Selanjutnya ditambahkan ammonium sulfat 100% jenuh, masing-masing microtube diisi sebanyak 0,5 mL, sehingga tiap microtube memiliki volume masing-masing sebanyak 1 mL dan konsentrasi ammonium sulfat menjadi 50%. Larutan serum dan ammonium sulfat tersebut diinkubasi dalam ice box yang berisi batu es sambil digoyangkan selama 60 menit. Selanjutnya larutan tersebut disentrifius pada kecepatan 12000 rpm selama 5 menit. Pellet atau endapannya diambil dan dilarutkan dengan menambahkan larutan NaCl 0.9% sebanyak 0,25 mL masing-masing ke dalam 4 microtube tersebut dan dihomogenkan menggunakan vortex. Selanjutnya larutan endapan 1 digabung dengan larutan endapan 2 dan larutan endapan 3 digabung dengan larutan endapan 4 sehingga menjadi AS 1 dan AS 2. Gambar 1 berikut ini adalah hasil isolasi protein serum ayam broiler yang dimurnikan menggunakan ammonium sulfat 50% dan endapan hasil pemurniannya.



(a)



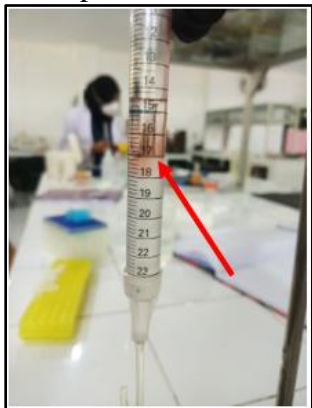
(b)

Gambar 1. Penambahan ammonium sulfat 50% pada serum ayam broiler (1a) endapan hasil isolasi protein serum dengan ammonium sulfat 50% (1b)

Pemurnian Protein menggunakan Kolom Sephadex G-75

Persiapan kolom: ditransfer sebanyak 10 mL Sephadex G-75 ke dalam kolom. Kemudian ujung 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 0.9%. Pada saat kolom dicuci, bagian ujung bawah kolom dibuka sehingga terjadi aliran buffer. Cairan Sephadex tidak boleh dibiarkan mengering. Setelah dilakukan pencucian, bagian ujung bawah kolom ditutup, kemudian sesaat sebelum permukaan kolom kering, tambahkan 1 mL larutan isolat ditetesi *Ponceau* masing-masing sebanyak 10 μ l. Pemberian

Ponceau untuk memudahkan pengamatan saat proses isolasi menggunakan kolom Sephadex G-75. Kemudian AS 1, hasil purifikasi serum ammonium sulfat 50% ke atas Sephadex G-75 dengan hati-hati agar tidak berhamburan. Setelah endapan terserap oleh kolom G-75 kemudian segera ditambahkan NaCl 0.9% dengan hati-hati, sementara tetesan fraksi dari kolom ditampung. Fraksi-fraksi ditampung dengan 15 buah microtube, tube 1 – 5 diisi sebanyak 1 mL dan tube 6 – 15 diisi masing-masing sebanyak 0,5 mL. Isolasi protein serum ayam broiler menggunakan kolom Sephadex G-75 yang sebelumnya sudah dimurnikan menggunakan ammonium sulfat 50% ditunjukkan pada Gambar 2.

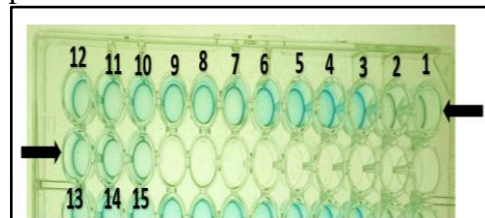


Gambar 2. Hasil fraksi protein serum menggunakan kolom Sephadex G-75

Gambar 2 menunjukkan kolom Sephadex G-75 yang digunakan dalam penelitian ini. Protein serum sudah diserap oleh gel, protein yang tampak ditandai dengan warna merah (tanda panah) akibat pewarnaan *Ponceau*, secara perlahan menurun hingga pada dasar kolom

Hasil tetesan setiap fraksi kemudian diambil sampling masing-masing sebanyak 25 μ l dan dimasukkan ke dalam lubang atau

sumuran microplate untuk dilakukan uji kualitatif konsentrasi protein. Menurut Bradford (1976), reagent Bradford adalah larutan pereaksi kimia yang digunakan untuk menentukan konsentrasi protein dalam larutan. Reaksi bergantung pada komposisi asam amino dari protein yang diukur. Pada kondisi asam, pewarna akan berubah menjadi biru jika bereaksi dengan protein, namun jika tidak ada protein yang terikat, maka warna larutan akan tetap coklat. Ke dalam masing-masing sumuran yang telah berisi sampel fraksi ditambahkan cairan Bradford sebanyak 25 μ l. selanjutnya dilakukan pengamatan sederhana terhadap terjadinya gradasi warna yang terbentuk pada setiap sumuran terbentuknya warna biru-ungu menunjukkan tingkat konsentrasi protein dalam fraksi ditampilkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil fraksi protein setelah ditambahkan bradford pada kolom Sephadex G-75

Proses yang sama dilakukan terhadap hasil isolasi ke-dua menggunakan ammonium sulfat 50% (gabungan ammonium sulfat kedua), dilewatkan pada kolom Sephadex G-75. Hasil dari reagen Bradford menunjukkan bahwa fraksi 4, 8, dan 13 memiliki tingkat konsentrasi protein yang signifikan atau sesuai dengan yang diinginkan yaitu dapat dilihat dari warna biru yang lebih tajam. Perubahan warna yang teramati dapat mengindikasikan bahwa fraksi-fraksi ini memiliki

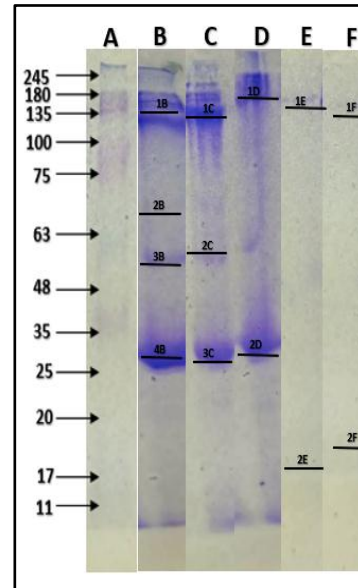
jumlah protein yang cukup untuk dilanjutkan ke tahap selanjutnya.

Penentuan Berat Molekul Protein dengan SDS-PAGE

Pada penelitian ini, seumuran yang digunakan adalah sumuran A, B, C, D, E, dan F. Sumur 5 diisi dengan penanda (*marker*) (Sigma), sumur B diisi dengan serum ayam asli, sumur C diisi dengan serum ayam + amonium sulfat 50%, sumur D diisi dengan serum ayam fraksi – 4, sumur E diisi dengan serum ayam fraksi – 8, sumur F diisi dengan serum ayam fraksi – 13. 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. Gel yang sudah diperoleh kemudian di-*scan* di atas kotak cahaya untuk diambil gambarnya. Berat molekul diestimasi dengan melihat pita-pita protein yang terbentuk pada gel dengan menggunakan metode Hames (1998) yaitu, SDS-PAGE dikerjakan sesuai dengan 4 tahapan terdiri dari penyiapan gel, penyiapan sampel, proses elektroforesis dan penentuan berat molekul protein.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Berat Molekul Protein Serum Ayam Broiler dengan SDS-PAGE



Gambar 4. Hasil SDS-PAGE serum ayam broiler

Keterangan Gambar 64:

- Sumur A** diisi marker Mr. Sigma yang memiliki penanda berat molekul berikisar antara 11 – 245 kDa (kilo dalton)
- Sumur B** diisi serum ayam broiler sebelum diberi perlakuan
- Sumur C** diisi serum dengan perlakuan ammonium sulfat 50%
- Sumur D** diisi fraksi ke-4 (pasca perlakuan AS 50% dan Sephadex G-75)
- Sumur E** diisi fraksi ke-8 (pasca perlakuan AS 50% dan Sephadex G-75)
- Sumur F** diisi fraksi ke-13 (pasca perlakuan AS 50% dan Sephadex G-75)

Hasil uji SDS-PAGE ini untuk mengukur berat molekul pita protein dan untuk melihat kemurnian protein serum antara serum asli hingga serum setelah ditambahkan ammonium sulfat 50% dan setelah dilewatkan pada kolom Sephadex G75 yang ditunjukkan pada Gambar 4. keunguan yang pekat, berbeda dengan sumur C (serum ayam broiler dengan perlakuan ammonium sulfat 50% terbentuk sebanyak 3 pita yang terlihat lebih tipis dibandingkan dengan pita-pita pada sumur B. Pada sumur D (diisi fraksi 4 pasca perlakuan kombinasi ammonium

sulfat 50% dan kolom Sephadex G-75) terbentuk 2 pita dengan warna pita terlihat tipis, sementara itu untuk sumur E dan F yang masing-masing diisi dengan fraksi 8 dan 13 pasca perlakuan kombinasi ammonium sulfat 50% dan kolom Sephadex G-75 terbentuk 2 pita dengan warna pita yang sangat tipis.

Menurut Sudjadi (2012), semakin murni protein suatu sampel, maka semakin sedikit pita-pita yang muncul pada gel. Sementara untuk warna pada pita-pita tersebut menunjukkan bahwa pita-pita pada serum ayam broiler asli (pra isolasi), memiliki warna yang lebih pekat atau tebal, dibandingkan dengan serum pasca isolasi, sebagaimana pendapat Bintang (2010) bahwa 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.

Marker atau penanda merupakan campuran molekul dengan ukuran berbeda-beda yang dapat digunakan untuk menentukan ukuran molekul dalam pita sampel dengan meng-elektroforesis marker tersebut pada lajur di gel yang paralel dengan sampel. Pita-pita pada lajur marker tersebut dapat dibandingkan dengan pita sampel untuk menentukan ukurannya. Jarak pita dari sumur gel berbanding terbalik terhadap logaritma ukuran molekul (Bintang, 2010). Sehingga persamaan $y = -1.319X + 2.3488$ ditabulasikan dalam Tabel 1.

Tabel 1: Hasil perhitungan berat molekul sampel

Nama Sampel	Kode	Migrasi Sampel (Cm)	Rf Sampel (X)	Nilai Persamaan (Y)	BM sampel (kDa)
Serum Murni (B)	1B	1	0.166667	2.128967	134.5757
	2B	2.2	0.366667	1.865167	73.31058
	3B	2.7	0.45	1.75525	56.91805
	4B	4	0.666667	1.469467	29.47587
Serum dengan AS (50%) (C)	1C	1.2	0.2	2.085	121.6186
	2C	2.9	0.483333	1.711283	51.43791
	3C	4.1	0.683333	1.447483	28.02098
Fraksi 4 (D)	2D	3.8	0.633333	1.513433	32.6162
Fraksi 8 (E)	2E	4.7	0.783333	1.315583	20.68156
Fraksi 13 (F)	2F	4.9	0.816667	1.271617	18.69032

Penentuan berat molekul dari penelitian ini merupakan hasil karakterisasi protein yang diperoleh data hasil running elektroforesis. Tabel 1 menunjukkan bahwa estimasi berat molekul untuk sampel serum ayam sebelum perlakuan yaitu

sebesar 134.57 kDa, 73.31 kDa, 56.91 kDa, 29.47 kDa. Serum ayam dengan perlakuan ammonium sulfat 50% menunjukkan berat molekul 121.61 kDa, 51.43 kDa dan 28.02 kDa, sedangkan untuk fraksi pasca perlakuan kombinasi ammonium sulfat 50% dan kolom Sephadex G-

75 yang terdiri dari fraksi 4, 8, dan 13 masing-masing menunjukkan berat molekul antara lain: fraksi 4 menunjukkan berat molekul 32.61 kDa, fraksi 8 menunjukkan berat molekul 20.68 kDa dan untuk fraksi 13 menunjukkan berat molekul 18.69 kDa. Perbedaan pita yang diperoleh dikarenakan tingkat kemurnian yang berbeda dan berdasarkan dari jauh jarak pergerakan pitanya yang dihitung dengan persamaan linear ($Y = -a + bX$).

Menurut Octavia *et al* (2015), hasil pengujian elektroforesisnya memperlihatkan bahwa pita hanya terbentuk pada ekstrak kasar dan pelet hasil pengendapan saja dengan berat molekul 217,96 kDa, 163,15 kDa, 129,41 kDa dan 76,84 kDa. Hal ini menandakan bahwa pada fraksi hasil pemurnian tidak memperlihatkan pita karena kecilnya jumlah protein dan aktivitas enzim serta terjadinya penumpukan pita pada berat molekul yang rendah. Hal ini sesuai teori (Ilminingtyas *et al.*, 2000) bahwa pada sampel yang tidak menunjukkan pita disebabkan karena terjadinya perubahan sifat pada protein tersebut.

Diduga bahwa pita-pita yang tampak pada gel dipengaruhi oleh beberapa faktor eksternal seperti, pH besarnya pH sangat berpengaruh pada metode elektroforesis protein karena akan mempengaruhi titik isoelektrik protein sehingga dapat mempengaruhi tingkat dan arah pergerakan protein. Suhu : suhu akan mempengaruhi denaturasi protein dimana pada Elektroforesis digunakan suhu 90-95°C untuk mendenaturasi protein. Voltage : voltage yang digunakan juga mempengaruhi pergerakan protein dimana dengan voltage yang tinggi maka pergerakan protein dalam gel

elektroforesis akan lebih cepat, sebaliknya jika voltage yang digunakan rendah maka pergerakan protein dalam gel akan lambat (Martin, 1996).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat perbedaan profil SDS-PAGE antara serum ayam broiler murni dan serum setelah isolasi dengan kombinasi ammonium sulfat 50% dan kolom Sephadex G-75. Terdapat perbedaan jumlah pita protein antara serum murni dan serum setelah isolasi dengan kombinasi ammonium sulfat 50% dan kolom Sephadex G-75 dengan serum pra isolasi. Berat molekul masing-masing sampel dan fraksi dirincikan sebagai berikut: pada sampel serum sebelum perlakuan memiliki berat molekul 134.57 kDa, 73.31 kDa, 56.91 kDa, 29.47 kDa. Serum ayam setelah perlakuan dengan ammonium sulfat 50% menunjukkan ada protein dengan berat molekul 121.61 kDa, 51.43 kDa dan 28.02 kDa, sedangkan untuk fraksi sampel setelah perlakuan dengan kombinasi ammonium sulfat 50% dan kolom Sephadex G-75 dirincikan sebagai berikut, fraksi 4 menunjukkan berat molekul 32.61 kDa, fraksi 8 menunjukkan berat molekul 20.68 kDa dan untuk fraksi 13 menunjukkan berat molekul 18.69 kDa.

Saran

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

penelitian skripsi ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin, M, Zuhrawati N.A, Herrialfian. 2017. Kadar Total Protein Plasma pada Ayam Broiler yang Diberi Substitusi Fermentasi Tepung Daun Kelor (*Moringa oleifera*) dalam Pakan Komersial. *JIMVET*. 01(3): 499-503.
- Baynes Jhon. 2009. *Medical Biochemistry*, ed3. Edinburgh: Mosby Elsevier.
- Bintang, M. 2010. *Biokimia Teknik Penelitian*. Erlangga. Jakarta
- Bradford, M.M. 1976. "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle dye binding". *Analytical Biochemistry*. 72, 248-254.
- Gusti, A.K, Nirhayu. 2019. Seroprevalansi Penyakit Tetelo (*Newcastle disease*) pada Ayam Buras di Kecamatan Kerambitan, Kabupaten Tabanan, Bali. *Indonesia Medicus Veterinus* 8 (4): 496 – 501.
- Hames B.D. (ed). 1998. *Gel Electrophoresis of Proteins: A Practical Approach*, 3rd edn, Oxford University Press, Oxford, New York.
- 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.
- Ilminingtyas D, Hadiwiyoto S, Wisesa S, Naruki S. 2000. Pembentukan Fraksi-fraksi Protein selama Fermentasi Pedas. *J Agrosains* 13(1): 1-17.
- Indrawati, S. 2012. Peran Bank Serum Hewan dalam Menyidik Suatu Penyakit Hewan Secara Seroepidemiologis dan Retrospektif. Balai Besar Penelitian Veteriner. Bogor.
- Khodijah, S. 2003. Pola Elektroforesis Protein Globulin 7S dan 11S Dari Kacang Komak (*Lablab purpureus* (L.) sweet). Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Martin, R. 1996. *Gel electrophoresis: Nucleid acids*. Oxford: Bros Scientific Publishers Ltd.
- Nooralabettu K.P. 2014. Optimisation of Ammonium Sulfate Precipitation Method to Achieve High Throughput Concentration of Crude Alkaline Phosphatase from Brown shrimp (*Metapenaeus monoceros*) Hepatopancreas. *Int. J. Anal Bio-Sci*. 2 (1) : 7-16
- Octavia, M. D., Halim, A., Afrinda, M. 2015. Karakterisasi Kompleks Inklusi Simvastatin – B₂-Siklodekstrin Metoda Co-Grinding Dengan Variasi Waktu Penggilingan. *Jurnal Farmasi Higea*, Vol. 7, No. 1, p. 30–43.
- Rachmania Rizky Arcinthy, Priyo Wahyudib, Aniza Mutia Wardania, Dini Rohmatul Insani., 2017. Profil Berat

Molekul Enzim Protease Buah Nanas (*Ananas comosus L.Merr*) DAN PEPAYA (*Carica papaya L.*). *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia, Vol. 13, No. 1, Hal. 52 – 65.*

Rukmini, N. K. S., Mardewi, N. K., dan Rejeki, I. G. A. D. S. 2019. Kualitas Kimia Daging Ayam Broiler Umur 5 Minggu yang Dipelihara pada Kepadatan Kandang yang Berbeda. *Jurnal Lingkungan dan Pembangunan, 3(1), 31– 37.*

Sadikin, M. (2002). Biokimia Darah. Widya Medika : Jakarta.

Sholaikah, M.I., 2015. Profil Protein Jaringan Otot Daging Ayam Potong Pra-Penyembelihan Electrical Stunning dan Non Electrical Stunning. UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.

Sudjadi. 2012. Bioteknologi Kesehatan: Kanisius. Yogyakarta.

Vieths. S., G. Reese, B.K. Ballmer-Weber, K. Beyer, P. Burney, M.Fernandez-Rivas, C. Summers, R. Van Ree And C. Mills. 2008. The Serum Bank of EuroPrevall – The prevalence, cost and basis of food allergy across Europe. *Food Chem. Toxicol. 46: S12 – S14.*

Wingfield, P.T., 2016. Protein Precipitation Using Ammonium Sulfate. *Curr Protoc Protein Sci.*