

**KARAKTERISASI PROFIL PROTEIN EKSTRAK DAGING
TIKUS RUMAH (*Rattus-rattus*) YANG DIISOLASI
MENGUNAKAN 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



MUHAMMAD EDI NASUTION

B1D 018 184

PROGRAM STUDI PETERNAKAN

FAKULTAS PETERNAKAN

UNIVERSITAS MATARAM

MATARAM

2023

**KARAKTERISASI PROFIL PROTEIN EKSTRAK DAGING
TIKUS RUMAH (*Rattus-rattus*) YANG DIISOLASI
MENGUNAKAN KOMBINASI AMMONIUM SULFAT 50%
DAN KOLOM SEPHADEX G75**

PUBLIKASI ILMIAH

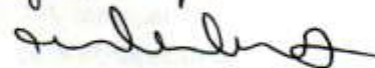
OLEH

**MUHAMMAD EDI NASUTION
B1D 018 184**

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

PROGRAM STUDI PETERNAKAN

**Menyetujui
Pada Tanggal: 21 Desember 2023
Pembimbing Utama**

ase u/syant stugri


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

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS MATARAM
MATARAM**

2023

**KARAKTERISASI PROFIL PROTEIN EKSTRAK DAGING TIKUS
RUMAH (*Rattus-rattus*) YANG DIISOLASI MENGGUNAKAN
KOMBINASI AMMONIUM SULFAT 50% DAN KOLOM SEPHADEX
G75**

(ABTRAKS)

Oleh

MUHAMMAD EDI NASUTION

B1D018184

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui profil protein ekstrak daging tikus rumah. Isolasi dilakukan menggunakan kombinasi Amonium Sulfat 50% dan kolom Sephadex G75. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Fakultas Peternakan Universitas Mataram. Isolasi ekstrak daging tikus rumah menggunakan garam Ammonium Sulfat, karena kelarutannya sangat tinggi dan relatif murah. Penambahan Ammonium Sulfat pada tahap isolasi protein berfungsi untuk mempertahankan kestabilan protein dan mengendapkan protein dari sampel ekstrak daging tikus rumah. Isolasi dengan menggunakan Ammonium Sulfat 50% menghasilkan endapan protein. Endapan protein tersebut selanjutnya dilewatkan pada kolom sephadex G75 dengan dua ulangan (n-2). Dari perlakuan ini diperoleh 25 fraksi pada ulangan pertama dan 30 fraksi pada ulangan kedua. Hasil analisis Bradford menunjukkan pola fraksi yang sama antara ulangan satu dan dua. Hasil analisis SDS-PAGE menunjukkan bahwa secara deskriptif terdapat perbedaan jumlah pita antara ekstrak daging tikus sebelum diisolasi (sampel asli) dan sesudah dilakukan isolasi menggunakan Ammonium Sulfat 50%, dan setelah dilewatkan pada kolom Sephadex G75. Pada sampel ekstrak daging tikus asli terdapat 9 pita protein, pada penambahan Ammonium Sulfat 50% terdapat 2 pita protein dan setelah dilewatkan pada kolom Sephadex G75 pada fraksi 3A dan 6A terdapat 2 pita protein sedangkan pada fraksi 20A tidak diperoleh pita protein. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak daging tikus rumah dapat diisolasi dengan menggunakan kombinasi Ammonium Sulfat 50% dan kolom Sephadex G75. Purifikasi menggunakan kolom Sephadex G75 memberikan hasil yang lebih murni.

Kata kunci: Profil protein ekstrak daging tikus rumah *Rattus-rattus*, ammonium sulfat 50%, sephadex G75 " SDS-PAGE, semi-kuantitatif

**CHARACTERIZATION OF THE PROTEIN PROFILE OF RATTUS
MEAT EXTRACT ISOLATED USING A COMBINATION OF
AMMONIUM SULPHATE 50% AND SEPHADEX COLUMN G75**

ABSTRACT

By

MUHAMMAD EDI NASUTION

B1D018184

The aim of this research was to determine the protein profile of house rat meat extract. Isolation was carried out using a combination of 50% Ammonium Sulfate and a Sephadex G75 column. This research was carried out at the Microbiology and Biotechnology Laboratory, Faculty of Animal Husbandry, Mataram University. Isolation of house mouse meat extract using Ammonium Sulfate salt, because its solubility is very high and relatively cheap. The addition of Ammonium Sulfate at the protein isolation stage functions to maintain protein stability and precipitate protein from house mouse meat extract samples. Isolation using 50% Ammonium Sulfate produces protein precipitates. The protein precipitate was then passed over a Sephadex G75 column with two repetitions (n-2). From this treatment, 25 fractions were obtained in the first repetition and 30 fractions in the second repetition. The results of the Bradford analysis showed the same fraction pattern between replications one and two. The results of the SDS-PAGE analysis showed that descriptively there was a difference in the number of bands between the rat meat extract before isolation (original sample) and after isolation using 50% Ammonium Sulfate, and after being passed over the Sephadex G75 column. In the original rat meat extract sample there were 9 protein bands, with the addition of 50% Ammonium Sulfate there were 2 protein bands and after passing it through the Sephadex G75 column in fractions 3A and 6A there were 2 protein bands while in fraction 20A no protein bands were obtained. The conclusion of this research is that house rat meat extract can be isolated using a combination of 50% Ammonium Sulfate and a Sephadex G75 column. Purification using the Sephadex G75 column provides purer results.

Keywords: Protein profile of *Rattus-rattus* house rat meat extract, ammonium sulfate 50%, sephadex G75, SDS-PAGE, semi-quantitative

PENDAHULUAN

Salah satu makanan yang sangat digemari dan banyak peminatnya terutama di Indonesia adalah makanan berupa daging, mengandung banyak protein dan dapat menyediakan asam amino esensial bagi tubuh. Daging didefinisikan sebagai bagian dari hewan potong yang dimakan manusia, tidak hanya penampilannya yang enak tetapi juga merupakan sumber protein hewani yang berkualitas tinggi. Indonesia memiliki banyak sekali pengonsumsi daging, baik itu ayam, sapi, kambing dan lain sebagainya.

Undang-undang No. 33 tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal, Pasal 3 Penyelenggaraan Jaminan Produk Halal (JPH) bertujuan: a. memberikan kenyamanan, keamanan, keselamatan, dan kepastian ketersediaan produk halal bagi masyarakat dalam mengonsumsi dan menggunakan produk; dan b. meningkatkan nilai tambah bagi pelaku usaha untuk memproduksi dan menjual produk halal. Peristiwa yang saat ini menjadi problem dalam kehalalan produk mengharuskan adanya pengurusan sertifikat halal oleh para produsen untuk memberikan jaminan kehalalan dan keamanan dalam peredaran jenis produk kepada konsumen (Pradana, 2019). Pencampuran daging sapi dengan daging yang lainnya dalam pembuatan olahan menjadi solusi yang efektif bagi pelaku usaha untuk menurunkan harga produksi pembuatan berbagai olahan.

Salah satu daging yang dapat digunakan dalam mencampur suatu olahan adalah daging tikus, karena tikus sangat mudah diperoleh dan menjadi hewan jenis hama. Hal ini yang mendorong pelaku usaha

melakukan pemalsuan dengan mencampurkan daging sapi dengan daging tikus, sehingga hal ini sangat merugikan konsumen terutama konsumen muslim karena agama Islam melarang mengonsumsi daging tikus dalam olahan apapun.

Cara melihat bahwa produk olahan tersebut sudah tercampur atau tercemar oleh daging tikus dengan melihat pita proteinnya. Beberapa metode analisis yang telah diusulkan untuk menganalisa daging tikus, seperti e-nose, GM-MS, spektrofotometri, ELISA, Gold Nanoparticle, dan FTIR, telah digunakan. Beberapa metode tersebut memerlukan waktu yang lama dan biaya yang banyak, sehingga perlu adanya suatu teknik analisis yang cepat terhadap analisis daging. Salah satu metode yang cukup akurat dan sederhana untuk mendeteksi daging adalah dengan menggunakan metode SDS-PAGE (Sari dkk.,2015)

SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis*) merupakan metode yang digunakan untuk memisahkan protein berdasarkan ukuran berat molekulnya (Davidson, 2003). Prinsip kerja SDS PAGE melibatkan denaturasi awal protein komponen dengan deterjen anionik yang juga mengikat protein, memberikan semua protein muatan negatif sebanding dengan massa molekul protein. Langkah ini diikuti dengan elektroforesis melalui akrilamida matriks gel berpori yang memisahkan protein berdasarkan massa molekul. Molekul-molekul yang lebih kecil akan bergerak lebih cepat pada gel, sedangkan molekul yang lebih besar akan bergerak secara lambat sehingga menghasilkan pita yang dekat dengan well pada gel (Machsun, 2017). Hal

ini dibuktikan oleh Garfin (2003) dan Wibowo (2010) menyebutkan bahwa SDSPAGE dapat digunakan untuk menentukan bagaimana sampel dimurnikan penyusun kompleks protein dalam sampel.

Penelitian tentang Karakterisi Profil Protein Ekstrak Daging Tikus Rumah yang Diisolasi dengan Kombinasi Ammonium Sulfat 50% dan Kolom Sephadex G75 belum banyak diteliti, terutama di NTB. Untuk itu perlu dilakukan penelitian terkait hal tersebut sebagai sumber informasi untuk penelitian lebih lanjut terkait pencemaran bahan pangan yang aman, sehat, utuh dan halal.

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 ekstrak daging tikus rumah dari 3 ekor tikus rumah yang diambil dari beberapa rumah di sekitar tempat tinggal yang berlokasi di Kabupaten Lombok Timur.

Bahan Penelitian

Ekstrak daging tikus rumah, ammonium sulfat, reagent bradford, BSA (Bovine Serum Albumin) larutan garam fisiologis NaCl 0.9% (Saline), running buffer, separating gel, stacking gel, staining, destaining, Sephadex G-75.

Alat Penelitian

Tip, es batu dalam ice box, microtube, micropipet, sentrifius, beker glass, gelas ukur,

electrophoresis power supply, multi well plate, shaker, incubator, glove, Sephadex G-75, shaker.

Koleksi Sampel

Daging tikus diambil sebanyak 20 gram menggunakan timbangan analitik Kern ABJ dan diletakkan kedalam beaker glass 100 ml dan ditutup rapat dengan aluminium foil. Kemudian digerus secara terpisah menggunakan mortar sampai halus (lumat) dan ditambahkan larutan NaCl 0,9% (saline) sebanyak 20 ml secara bertahap dengan menggunakan gelas ukur. Setelah daging benar-benar halus dan homogen oleh larutan NaCl, larutan gerusan daging dimasukkan ke dalam tabung falcon 50 ml untuk disentrifus. Larutan daging disentrifus menggunakan Tomy sentrifus pada putaran 5000 rpm selama 15 menit pada suhu 40°C. Pasca sentrifugasi, supernatan dipisahkan dari endapannya menggunakan pipet disposable. Supernatan inilah yang menjadi ekstrak daging tikus rumah

Isolasi protein ekstrak daging tikus rumah menggunakan Ammonium Sulfat 50%

Siapkan Ammonium Sulfat jenuh (100%). Siapkan sampel ekstrak daging tikus sebanyak 1 ml di dalam 4 tabung mikro selanjutnya volume masing-masing tabung mikro tersebut disedot sebanyak 0,5 ml dan diberi nomor 1 dan 2. Ditambahkan masing-masing ke dalam tabung mikro 0,5 ml Ammonium Sulfat jenuh sehingga setiap tabung mikro volumenya menjadi 1 ml. Diletakkan sampel ekstrak daging tikus yang telah ditambahkan Ammonium Sulfat jenuh 0,5 ml ke es batu dalam ice box kemudian segera divortex (getarkan) dalam es selama 60 menit.

Semua tabung mikro yang telah berisi protein dan Ammonium Sulfat

disentrifius dengan kecepatan maximal selama 5 menit. Buang supernatan dan larutkan endapan dengan NaCl 0,9 % masing-masing 0,25 ml per tabung. Gabungkan larutan endapan 1 dan 2 menjadi 1 tube sehingga berisi larutan endapan 0,5 ml. Ditambahkan 10 mikro poncean kemudian siap untuk proses isolasi berikutnya.

Isolasi Protein ekstrak daging tikus rumah menggunakan Kolom Sephadex G75

Siapkan kolom Sephadex G 75, Transfer 10 ml Sephadex G75 ke kolom dan tutup ujung kolom. Sephadex G75 di dalam kolom dicuci dalam 2 tahapan menggunakan NaCl 0,9 % dengan cara menambahkan 20 ml secara bertahap 1-2 ml. Saat mencuci kolom, bagian bawah kolom dibuka sehingga terjadi aliran buffer dan jangan sampai Sephadex G75 kering, setelah pencucian tutup selang diujung bawah. Menambahkan larutan pellet (1 dan 2) dengan volume 0,5 ml di atas permukaan Sephadex G75. Setelah larutan terserap oleh Sephadex G75, sesaat sebelum kolom kering, tambahkan 1 ml NaCl ke atas Sephadex G75 dengan hati-hati agar G75 tidak berhamburan. Disiapkan 55 tube yang sudah diberi nomor/kode. Tampung tetesan dari kolom masing-masing 1 ml untuk nomor (1-5) dan 0,5 ml untuk tabung nomor (6-30). Dilakukan pengisian hasil isolasi protein menggunakan kolom Sephadex G75 pada multi well plate sebanyak 10 mikro per tube pada 55 sumuran tersebut kemudian ditambahkan 10 mikro Reagent Bradford pada masing-masing sumuran. Dilakukan pembacaan gradasi warna konsentrasi protein ekstrak daging tikus

Pengukuran Berat Molekul

Ekstrak daging tikus diambil sebanyak dan dimasukkan kedalam tabung plain. Lalu diencerkan menggunakan larutan NaCl (saline)

Diambil 40 µl dan ditambahkan 10 µl loading buffer kedalam tube baru. Kemudian rebus sampel pada air mendidih pada suhu 100°C selama 4 menit. Setelah 4 menit sampel diangkat dan didinginkan. Setelah sampelnya benar-benar dingin, sampel dimasukan sebanyak 5 µl pada sumuran sampel gel. Ranning SDS-PAGE selama 2 jam dengan tegangan 100 V yang telah berisi dengan dH₂O. Setelah 2 jam rakitan gel diangkat dan dibuka , kemudian dimasukan kedalam wadah plastik lalu dicuci menggunakan dH₂O dengan cara digoyang selama beberapa detik. Larutan dH₂O dibuang dan diganti dengan larutan straining Coomasie Brilliant Blue(CBB) dan digoyangkan menggunakan shaker selama 2 jam pada suhu kamar. Larutan CBB disedot dan dipindahkan kedalam tabung baru. Kemudian gel direndam dalam larutan destaining sambil digoyang menggunakan shaker untuk pelunturan warna. Larutan destaining diganti beberapa kali sampai pita protein terlihat jelas. Kemudian dilakukan pembacaan hasil dengan menghitung berat molekul pita protein ekstrak daging tikus yang dihitung berdasarkan nilai *Rf* (*retention factor*) seperti rumus yang disarankan oleh Hames (1998) sebagai berikut:

$$Rf = \frac{\text{jarak migrasi protein}}{\text{jarak migrasi gel}}$$

$$Y = (-1,3627 \times Rf_{\text{protein}}) + 2,339$$

$$Y = \log MW$$

$$\text{Jadi } MW = 10^y =$$

$$10^{-1,3526 (Rf_{\text{protein}}) + 0,8003}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Dan Pemurnian Ekstrak Daging Tikus Rumah Menggunakan Ammonium Sulfat 50%

Isolasi protein merupakan langkah-langkah untuk memurnikan protein dari suatu bahan yang lainnya. Isolasi protein bertujuan untuk memurnikan protein hingga tingkat kemurnian yang tinggi sehingga dapat dilakukan analisis lebih lanjut. Isolasi protein pada penelitian ini dilakukan dengan menambahkan Ammonium Sulfat dengan konsentrasi 50% ke dalam sampel ekstrak daging tikus. Penambahan Ammonium Sulfat pada langkah isolasi protein berfungsi untuk mengendapkan molekul-molekul protein dari sampel ekstrak daging tikus. Ammonium Sulfat digunakan untuk memecahkan ikatan IgG dengan H₂O didalam serum dengan proses salting out sehingga protein akan mengendap. Salting out terjadi akibat pengendapan yang dilakukan dengan penambahan zat kimia tertentu, yaitu Ammonium Sulfat 50%, kemudian berinteraksi dengan molekul protein dan molekul air. Protein yang ditambahkan Ammonium Sulfat 50% menghasilkan endapan yang relatif lebih banyak dibandingkan dengan hasil penelitian sebelumnya yang telah dilakukan (Wibi, 2022) yaitu penambahan Ammonium Sulfat 50% menghasilkan endapan relatif lebih banyak dibandingkan dengan Ammonium Sulfat 25%.

Pada penelitian ini konsentrasi ammonium sulfat yang digunakan adalah 50% dengan endapan protein yang dihasilkan relatif banyak (Gambar 1).



Gambar 1. Pellet setelah diisolasi dengan Ammonium Sulfat 50% (Tanda panah menunjukkan bahwa ammonium sulfat yang ditambahkan pada larutan sampel ekstrak daging tikus menghasilkan endapan berupa isolat protein).

Isolasi dan Pemurnian Ekstrak Daging Tikus Menggunakan Kombinasi Ammonium Sulfat 50% dan Kolom Sephadex G75

Pada penelitian ini proses penyiapan kolom Sephadex G75 yang dipakai diisi dengan 10 ml Sephadex G75. Sebelum digunakan, kolom yang telah diisi Sephadex G75 dicuci dalam 2 tahapan. Pada tahapan pertama kolom terlebih dahulu dicuci dengan larutan NaCl 0,5 M sebanyak 10 ml. Kemudian pada tahapan kedua Sephadex G75 dalam kolom dicuci dengan larutan NaCl 0,9% sebanyak 20 ml. Hal ini dilakukan untuk membersihkan kotoran atau sisa-sisa pemakaian sebelumnya yang kemungkinan masih ada. Setelah bersih baru ditambahkan sampel, berupa larutan pellet isolate ekstrak daging tikus Ammonium Sulfat 50% sebanyak 0,5 ml di atas permukaan Sephadex G75. Setelah larutan terserap oleh Sephadex G75, sebelum kolom kering segera ditambahkan 10 ml NaCl ke atas Sephadex G75 dengan hati-hati agar G75 tidak berhamburan. Larutan dibiarkan dan mengalir ketika tinggal 1,5 ml dalam kolom, aliran yang keluar dari kolom tersebut ditampung menjadi fraksi-fraksi dengan volume 0,5 ml per tabung fraksi. Pada penelitian ini

perlakuan dengan kolom sephadex G75 terhadap sampel pellet ekstrak daging tikus hasil perlakuan ammonium sulfat 50% di ulang sebanyak dua kali (n=2). Fraksi yang diperoleh dari masing-masing perlakuan sebanyak 25 fraksi pada ulangan pertama dan sebanyak 30 fraksi pada ulangan kedua. Fraksi-fraksi tersebut disimpan pada suhu 4°C sampai digunakan untuk tahap selanjutnya.

Analisis Kadar Protein Ekstrak Daging Tikus Rumah

Metode Bradford menggunakan reagen berupa zat warna CBB G-250. Sebelum direaksikan dengan protein, warna reagen bradford yang dalam kondisi asam karena adanya asam ortofosfat adalah merah. Setelah reagen ditambahkan kedalam tabung berisi protein maka warna yang terlihat adalah biru. Hal tersebut disebabkan adanya ikatan antara pewarna dengan asam amino penyusun protein. CBB G-250 pada kondisi asam (kation) berwarna merah (absorbansi maksimum pada panjang gelombang 470 nm), pada

kondisi netral berwarna hijau (absorbansi maksimum pada panjang gelombang 650 nm), dan pada kondisi basa (anion) berwarna biru (absorbansi maksimum pada panjang gelombang 595 nm) (Compton dan Jones 1985; Georgiou *et al.* 2008). BSA merupakan standar protein yang komposisinya diketahui dapat digunakan sebagai acuan atau standar untuk pengujian konsentrasi protein pada sampel lain. Wahana dkk (2014) menjelaskan bahwa BSA adalah protein yang memiliki berat molekul 66 kDA dan memiliki komposisi asam amino yang cukup banyak yakni 20 macam. BSA memiliki kandungan asam amino yang lebih lengkap dibandingkan dengan protein lainnya. Pereaksi yang digunakan pada metode ini adalah CBB G 250 (*Commassie Brilliant Blue*).

Pada penelitian ini kadar protein untuk masing-masing fraksi setelah dilewatkan pada kolom sephadex G75 dianalisis menggunakan reagen Bradford pada panjang gelombang OD590. Hasilnya disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji kadar fraksi protein sampel ekstrak daging tikus setelah dilewatkan pada kolom sephadex G75

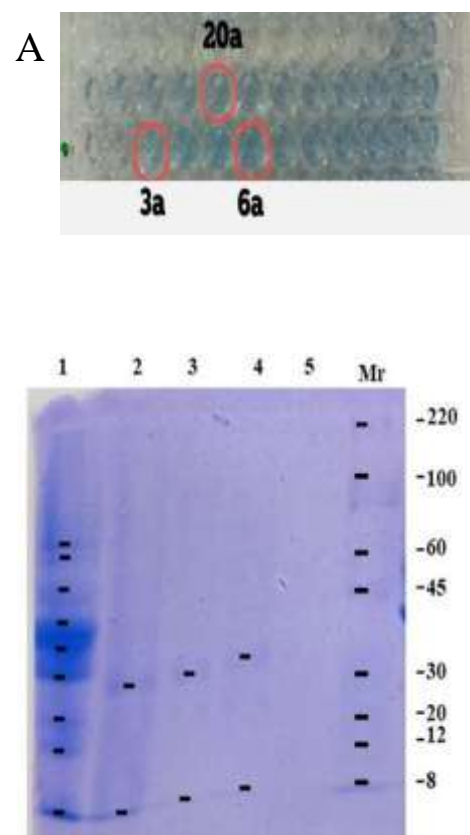
NO	SAMPEL	VOLUME	BRADFORD	OD590
1	EDT asli	10	40	9,66
2	Fraksi1	10	40	0,1399
3	Fraksi2	10	40	0,0853
4	Fraksi3	10	40	0,1213
5	Fraksi4	10	40	0,1654
6	Fraksi5	10	40	0,1180
7	Fraksi6	10	40	0,1507
8	Fraksi7	10	40	0,1415
9	Fraksi8	10	40	0,0911
10	Fraksi9	10	40	0,1278
11	Fraksi10	10	40	0,1061
12	Fraksi11	10	40	0,1060
13	Fraksi12	10	40	0,0962
14	Fraksi13	10	40	0,0969

15	Fraksi14	10	40	0,0924
16	Fraksi15	10	40	0,0914
17	Fraksi16	10	40	0,0957
18	Fraksi17	10	40	0,0872
19	Fraksi18	10	40	0,0921
20	Fraksi19	10	40	0,0909
21	Fraksi20	10	40	0,0910
22	Fraksi21	10	40	0,0982
23	Fraksi22	10	40	0,0889
24	Fraksi23	10	40	0,1009
25	Fraksi24	10	40	0,0902
26	Fraksi25	10	40	0,0733

Seperti yang disajikan pada tabel 1 dapat dilihat bahwa kadar protein ekstrak daging tikus yang paling tinggi terdapat pada fraksi 4 dengan kadar protein sebanyak 0,1654 mg/mL, sedangkan kadar protein ekstrak daging tikus yang paling rendah terdapat pada fraksi 25 dengan kadar protein sebanyak 0,0733 mg/mL. Adanya perbedaan pada konsentrasi tersebut diduga hal ini dikarenakan pada proses pencucian awal sampel sehingga protein yang terlarut akan lebih banyak daripada proses pencucian selanjutnya.

Analisis profil pita protein ekstrak daging tikus dilakukan menggunakan SDS-PAGE

Fraksi ekstrak daging tikus yang mewakili fraksi awal dan pertengahan (Gambar 3A) dimasukkan kedalam sumuran SDS-PAGE, masing-masing untuk ekstrak daging tikus asli dan yang sudah ditambahkan Ammonium Sulfat 50% sebanyak 3 µl, ekstrak daging tikus hasil fraksi 3a 6a 20a sebanyak 5 µl dan Mr.sigma sebanyak 8 µl (Gambar 3B).



Gambar 3. A. Fraksi-fraksi yang dianalisis menggunakan SDS-PAGE 10% (fraksi 3a, 6a dan 20a). B. Hasil SDS-PAGE dan jumlah protein ekstrak daging. 1: daging tikus; 2: daging tikus+Ammonium Sulfat 50%; 3: fraksi 3a; 4: fraksi 6a; 5: fraksi 20a; Mr: marker (SIGMA).

Hasil SDS-PAGE (gambar 3), nampak bahwa secara deskriptif terdapat perbedaan jumlah pita protein antara sebelum dan sesudah dilakukan pemurnian dengan

Ammonium Sulfat 50% serta setelah dilewatkan pada kolom Sephadex G75. Pada gambar 3B terlihat jelas bahwa ekstrak daging tikus asli terdapat 9 pita protein. Ekstrak daging tikus+Ammonium Sulfat 50% dan fraksi 3a-6a ekstrak daging tikus terdapat 2 pita protein, fraksi 20a tidak terdapat pita protein. Dari hasil tersebut terdapat perbedaan jumlah pita protein ekstrak daging tikus asli, ekstrak daging tikus+Ammonium Sulfat 50%, beserta fraksi 3a, fraksi 6a, dan fraksi 20a. 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. Dari gambar 3B nampak bahwa pita-pita ekstrak daging tikus terbentuk cukup baik meskipun ada yang kurang jelas pada SDS-PAGE. Ilminingtyas dkk. (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 atau konsentrasinya sangat rendah.

Analisis Berat Molekul Pita Protein Ekstrak Daging Pada SDS-PAGE

Pada analisis ukuran berat molekul pita-pita protein pada SDS-PAGE Gambar 3B, disajikan pada tabel 2 tersebut dapat dilihat ada beberapa pita protein yang memiliki berat molekul yang sama pada pita protein ekstrak daging tikus asli, ekstrak daging tikus yang ditambahkan Ammonium Sulfat 50% dan fraksi ekstrak daging tikus rumah yakni pada berat molekul 35,6 kDa dan 13,4 kDa. Yang membedakan hanya jumlah pita proteinnya. Pada lajur yang berisi fraksi 20A, tidak ditemukannya pita pada elektroforegram.

Tabel 2. Hasil Berat Molekul Sampel

No	Sampel	Panjang pita	Rf	Log MW	Berat Molekul (KDa)
D.Tikus asli					
1.	Pita 1	12	0,266667	1,975613	94,53951
2.	Pita 2	14	0,311111	1,915049	82,23352
3.	Pita 3	17	0,377778	1,824202	66,71173
4.	Pita 4	22	0,488889	1,672791	47,07508
5.	Pita 5	23	0,511111	1,642509	43,90449
6.	Pita 6	26	0,577778	1,551662	35,6174
7.	Pita 7	31	0,688889	1,400251	25,13339
8.	Pita 8	34	0,755556	1,309404	20,3894
9.	Pita 9	41	0,911111	1,097429	12,51494
10.	D.Tikus+Ammonium Sulfat 50%				
11.	Pita 1	26	0,577778	1,551662	35,6174
12.	Pita 2	40	0,888889	1,127711	13,41872
13.	Fraksi 3a				
14.	Pita 1	26	0,577778	1,551662	35,6174
15.	Pita 2	40	0,888889	1,127711	13,41872
16.	Fraksi 6a				
17.	Pita 1	25	0,555556	1,581944	38,18954
18.	Pita 2	40	0,888889	1,127711	13,41872

Pada Tabel 2 diperoleh jumlah pita protein yang berbeda pada masing-masing sampel yang dianalisis, Ekstrak daging tikus asli mempunyai 9 pita protein dengan berat molekul yaitu 94,5 kDa, 82 kDa, 66,7 kDa, 47 kDa, 43,9 kDa, 36,6 kDa, 25,1 kDa, 20,3 kDa dan 12,5 kDa sedangkan pada ekstrak daging yang ditambahkan ammonium sulfat 50% yakni 35,6 kDa dan 13,4 kDa sedangkan fraksi 3a dan fraksi 6a mempunyai 2 pita protein dengan berat molekul berurutan yakni 35,6 kDa, 13,4 kDa dan 38,1 kDa, 13,4 kDa sedangkan pada fraksi 20a tidak mempunyai pita protein. Analisis yang dilakukan oleh Edison (2017) dengan metode SDS-PAGE menunjukkan adanya perbedaan antara banyaknya jumlah pita protein. Bahwa daging sapi mempunyai 10 pita protein, daging kambing 12 pita protein dan daging ayam 6 pita protein. Hal yang lebih menarik adalah ekstrak daging ayam rebus menghasilkan pola pita protein yang sangat berbeda dibandingkan dengan pola pita protein daging sapi atau kambing. Hal ini memungkinkan besar berhubungan dengan perbedaan spesies yang sangat jauh antara unggas dan mamalia.

Cahyarini *et al.*, (2004) menjelaskan hasil penelitiannya bahwa perbedaan tebal dan tipis pita protein yang terbentuk disebabkan karena perbedaan jumlah molekul-molekul yang bermigrasi. Molekul protein dengan pita dan muatan yang sama akan terakumulasi pada zona atau pita yang berdekatan sehingga akan terbentuk pita dengan intensitas yang lebih terang (Sutiman *et al.*, 1996). Hal ini sesuai pendapat Albert *et al.*, (2002) yang menjelaskan bahwa ketebalan pita protein menunjukkan kadar protein, dimana

protein dengan intensitas yang lebih tebal memiliki kadar protein yang lebih banyak. Perbedaan yang lebih spesifik juga terlihat dari jumlah berat molekul antara daging tikus, daging sapi, daging kambing dan daging ayam juga sangat berbeda. Dimana daging ayam mempunyai berat molekul 27,9 kDa, daging kambing 29,8 kDa, daging sapi 31,9 kDa (Edison 2017). Sedangkan dalam penelitian ini daging tikus memiliki berat molekul 12,5 kDa

Kisaran berat molekul protein pada fraksi daging tikus pada penelitian skripsi ini apakah memiliki biologis yang serupa dengan pita-pita protein daging dari spesies hewan/ternak yang dilaporkan sebelumnya, masih perlu diteliti lebih lanjut

KESIMPULAN

Hasil analisis SDS-PAGE menunjukkan terdapat perbedaan jumlah profil pita protein antara ekstrak daging tikus asli yang mempunyai 9 pita protein, ekstrak daging tikus yang ditambahkan ammonium sulfat 50% mempunyai 2 pita protein, fraksi 3a dan 6a mempunyai 2 pita protein yang diisolasi menggunakan kolom sephadex G75. Terdapat indikasi kemurnian protein meningkat pada beberapa fraksi dari kolom sephadex G75 yang ditunjukkan oleh jumlah pita yang semakin sedikit pada SDS-PAGE

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut, khususnya untuk menganalisis dan mengidentifikasi isolat protein ekstrak daging tikus rumah.

DAFTAR PUSTAKA

Albert B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. 2002. Molecular Biology of The

- Cell. Edisi ke-4. Garland Science: New York.
- Cahyarini RD, Yunus A, Purwanto E. 2004. Identifikasi keragaman genetik beberapa varietas lokal kedelai di Jawa Berdasarkan Analisis Isozim. *J. Agrosains*. 6 (2):79-83.
- Compton, S.J. and Jones, C.G., 1985. Mechanism of dye response and interference in the Bradford protein assay. *Analytical Biochemistry* 151(2),369-374.
- Davidson, org., 2003. SDS-PAGE (Polyacrylamide Gel Elektroforesis). <http://www.davidson.edu/academic/biology/SDSPAG>. Diakses:24 Agustus 2022.
- Edison. 2017. Profil Pita Protein Ekstrak Daging Sapi, Kambing, Ayam dan Babi Rebus Pada SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis) Dimensi Tunggal. Skripsi. Universitas Mataram
- Garfin, D.E. (2013) Gelelectrophoresis of proteins. In: Davey J., and Lord, M. (Eds) *Essential cell biology* vol. 1, chapter 7: cell structure, a practical approach. Oxford: Oxford University Press
- Georgiou, C.D., Grintzalis, K., Zervoudakis, G. and Papapostolou, I., 2008. Mechanism of Coomassie brilliant blue G-250 binding to proteins: A hydrophobic assay for nanogram quantities of proteins. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 391, 391-403.
- Ilminingtyas, D., Hadiwiyoto, S., Wisesa, D., & Naruki, S. (2000). Pembentukan fraksi-fraksi protein selama fermentasi peda= The Format of protein fractions during fermentation of "Peda". *Agrosains*, 13(2000).
- Machsun, I. R., & Zulaika, E. (2017). Profil Protein Bakteri Ureolitik. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 6(2), E61-E63.
- Pradana, R. (2019). *Peran Majelis Ulama Indonesia Dalam Pemberian Sertifikat Halal Pada Produk Makanan (Studi Di Majelis Ulama Indonesia Kota Medan)* (Doctoral dissertation). Protein Sci.
- Sari, Agustin, Krisna, Wardani, Elok, Puji, Kurnia,. 2015. Deteksi Molekuler Cemaran Daging Babi Pada Bakso. *Jurnal. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP Universitas Brawijaya Malang*
- Sudjadi, S. Astuti, P., D Utami, E., Nugrahani, & A. W. (2012). Genistein abrogates G2 arrest induced by curcumin in p53 deficient T47D cells. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20, 1-7.
- Wahana, A.G., M.K. Budiasa., dan W. Bebas. 2014. Penambahan Bovine Serum Albumin Mempertahankan Motilitas Progresif Spermatozoa Kalku pada Penyimpanan Suhu 4C. *Indonesia Medicus Veterinus*, 3(4) : 317-322.
- Wibowo, M.S. (2010))
Elektroforesis. Bandung: School of Pharmacy. ITB.