



**ANALISIS PROFIL PROTEIN TULANG
IKAN NILA (*Oreochromis Niloticus*) SEBELUM DAN
SESUDAH DIMASAK MENGGUNAKAN METODE SDS-PAGE**

SKRIPSI

Oleh

Alodia Geralda Khansa Subagiono

NIM 151610101002

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2019



**ANALISIS PROFIL PROTEIN TULANG IKAN NILA (*Oreochromis
Niloticus*) SEBELUM DAN SESUDAH DIMASAK MENGGUNAKAN
METODE SDS-PAGE**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran Gigi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh

Alodia Geralda Khansa Subagiono

NIM 151610101002

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2019

SKRIPSI

ANALISIS PROFIL PROTEIN TULANG IKAN NILA (*Oreochromis Niloticus*) SEBELUM DAN SESUDAH DIMASAK MENGGUNAKAN METODE SDS-PAGE

Oleh

Alodia Geralda Khansa Subagiono

NIM 151610101002

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Prof. Dr. drg. IDA Ratna Dewanti, M. Si.

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Erawati Wulandari, M. Kes.

Penguji :

Dosen Penguji Ketua : Dr. drg. IDA Susilawati, M. Kes.

Dosen Penguji Anggota : drg. Dyah Setyorini, M. Kes.

PERSEMBAHAN

Karya tulis ini saya persembahkan untuk:

1. Bangsa Indonesia;
2. Ayahanda Yoyok Subagiono S.T. dan Ibunda Santi Widyawati, S.H. M.Kn. yang saya cintai;
3. Adik-adikku Athaya Griselda Khansa Subagiono dan Ameyza Geavalda Khansa Subagiono yang saya banggakan;
4. Kakek, nenek dan keluarga besar;
5. Dosen pembimbing dan dosen penguji yang selalu saya jadikan panutan;
6. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi yang saya hormati;
7. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTTO

“Allah akan mengangkat (derajat) orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu beberapa derajat . Dan Allah Maha mengetahui apa yang kalian kerjakan.”

(terjemahan QS. Al-Mujadalah ayat 11)

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya.”

(terjemahan QS. Al Baqarah ayat 286)

“Barang siapa menelusuri jalan untuk mencari ilmu padanya, Allah akan memudahkan baginya jalan menuju surga.”

(HR. Muslim)

*) Mirchandani, D. 2004. *Al-Qur'anku Dengan Tajwid Blok Warna (Arab-Latin-Terjemahan)*. Jakarta : Lautan Lestari.

***) Mirchandani, D. 2004. *Al-Qur'anku Dengan Tajwid Blok Warna (Arab-Latin-Terjemahan)*. Jakarta : Lautan Lestari.

****) HR. Muslim dalam Baqi, M. F. A. 2010. *Kumpulan Hadits Shahih Bukhari Muslim*. Solo : Penerbit Insan Kamil.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Alodia Geralda Khansa Subagiono

NIM : 151610101002

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Analisis Profil Protein Tulang Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) Sebelum dan Sesudah Dimasak Menggunakan Metode SDS-PAGE” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 2019

Yang menyatakan,

Alodia Geralda Khansa Subagiono

NIM. 151610101002

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Analisis Profil Protein Tulang Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) Sebelum dan Sesudah Dimasak Menggunakan Metode SDS-PAGE” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Senin, 15 April 2019

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

Dosen Penguji Ketua

Dosen Penguji Anggota

Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes.
NIP 196109031986022001

drg. Dyah Setyorini, M.Kes.
NIP 196604012000032001

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Pendamping

Prof. Dr. drg. I D.A. Ratna Dewanti, M.Si.
NIP 196705021997022001

drg. Erawati Wulandari, M.Kes.
NIP 196708191993032001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember,

drg. Rahardyan Parnaadji, M. Kes. Sp. Pros.
NIP 196901121996011001

RINGKASAN

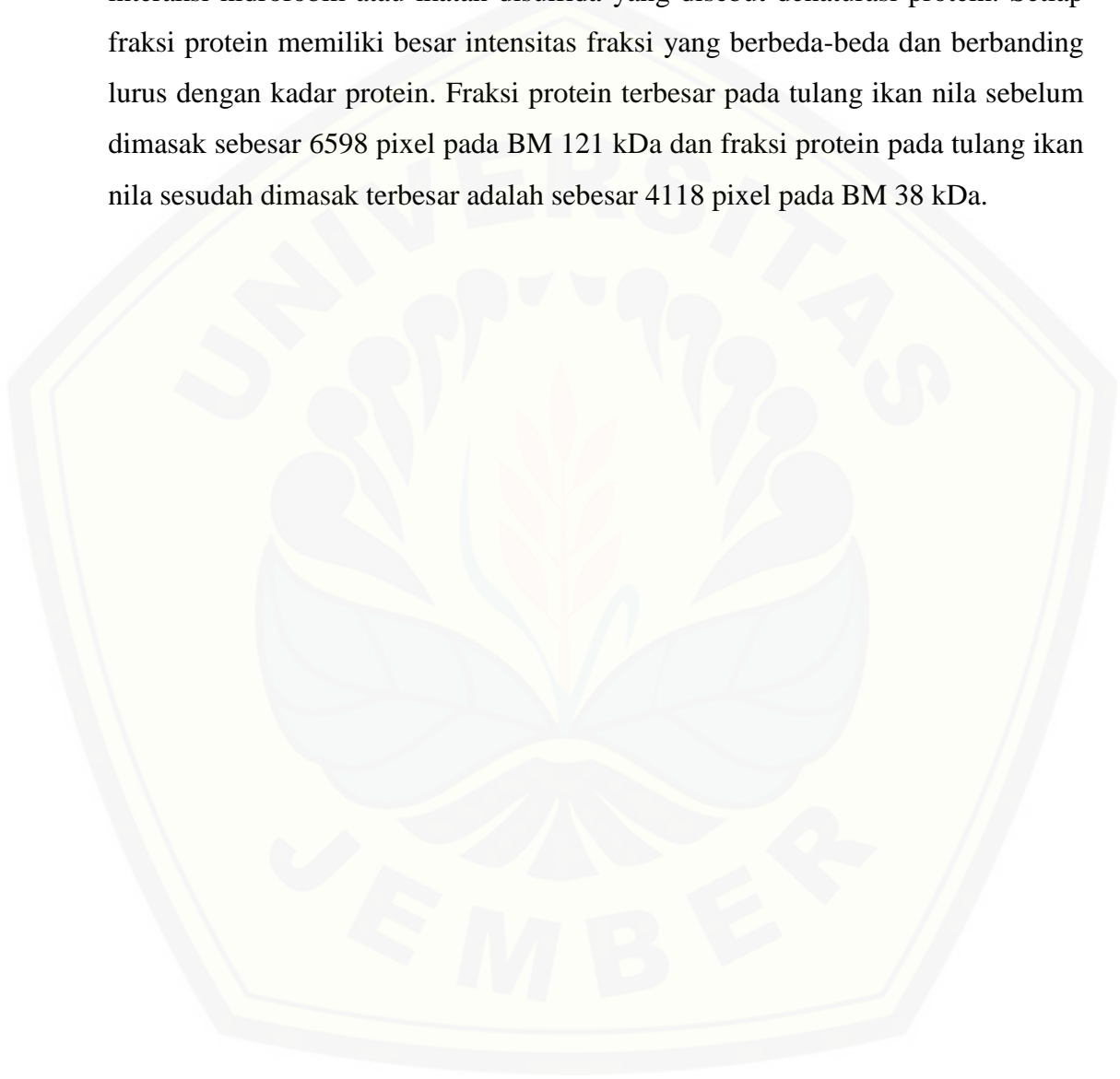
Analisis Profil Protein Tulang Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) Sebelum dan Sesudah Dimasak Menggunakan Metode SDS-PAGE; Alodia Geralda Khansa Subagiono; 151610101002; 2019; 48 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Ikan nila merupakan ikan yang memiliki tingkat pertumbuhan cepat, mudah dibudidayakan, mudah didapat dan mudah dikonsumsi karena tidak terdapat duri-duri halus. Permintaan konsumsi dan jumlah produksi ikan nila di Indonesia yang terus meningkat, berakibat pada banyaknya jumlah limbah yang dihasilkan. Salah satu limbah yang berpotensi memiliki manfaat dalam bidang kedokteran gigi adalah tulang ikan, akan tetapi penelitian ilmiah terhadap protein tulang ikan belum banyak dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil protein yang terdapat pada tulang ikan nila sebelum dan sesudah dimasak.

Jenis penelitian ini merupakan jenis penelitian deskriptif analitik. Tulang ikan nila dibagi menjadi 2 bagian yaitu tulang ikan nila sebelum dimasak dan sesudah dimasak. Tahapan pertama yang dilakukan yaitu proses pembuatan ekstrak tulang ikan nila sebelum dan sesudah dimasak. Kemudian dilanjutkan dengan melakukan elektroforesis menggunakan SDS-PAGE dengan arus listrik 50-95 V. Proses ini dihentikan setelah warna biru mencapai dasar gel kurang lebih tiga sampai 5 jam. Protein yang terpisah diwarnai dengan *Coomassie Brilliant Blue* dan dilakukan pencucian dengan aquades sampai pita protein terlihat dengan jelas. Analisis profil protein menggunakan metode SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfat Poly Acrylamide Gel*) dengan parameter profil protein berupa berat molekul, jumlah fraksi protein dan intensitas fraksi protein.

Hasil dari penelitian ini adalah profil protein hasil SDS-PAGE yang teridentifikasi pada tulang ikan nila sebelum dimasak terdapat 10 fraksi protein, yaitu 183 kDa, 121 kDa, 83 kDa, 46 kDa, 44 kDa, 40 kDa, 38 kDa, 30 kDa, 21 kDa dan 8 kDa, sedangkan pada tulang ikan nila sesudah dimasak didapatkan 8 fraksi protein, yaitu 183 kDa, 121 kDa, 83 kDa, 46 kDa, 38 kDa, 21 kDa, dan 8 kDa. Tulang ikan nila sesudah dimasak mempunyai pita protein lebih banyak

berada di bawah dengan berat molekul lebih kecil sedangkan pada tulang ikan nila sebelum dimasak pita protein terlihat di bagian atas dengan berat molekul lebih besar. Hal ini menunjukkan bahwa proses pemanasan menyebabkan terjadinya kerusakan ikatan sekunder dan tersier protein akibat terpecahnya ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik atau ikatan disulfida yang disebut denaturasi protein. Setiap fraksi protein memiliki besar intensitas fraksi yang berbeda-beda dan berbanding lurus dengan kadar protein. Fraksi protein terbesar pada tulang ikan nila sebelum dimasak sebesar 6598 pixel pada BM 121 kDa dan fraksi protein pada tulang ikan nila sesudah dimasak terbesar adalah sebesar 4118 pixel pada BM 38 kDa.



PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala anugrah dan rahmatnya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Analisis Profil Protein Tulang Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) Sebelum dan Sesudah Dimasak Menggunakan Metode SDS-PAGE”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan bimbingan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada :

1. Allah SWT atas berkat rahmat-Nya saya dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. drg. Rahardyan Parnaadji, M. Kes. Sp. Pros., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
3. Prof. Dr. drg. IDA Ratna Dewanti, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan, saran, motivasi, meluangkan waktunya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan, serta melibatkan penulis dalam penelitiannya;
4. drg. Erawati Wulandari, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan, saran, motivasi, meluangkan waktunya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
5. Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes., selaku Dosen Penguji Ketua yang telah memberi kritik, saran dan motivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
6. drg. Dyah Setyorini, M.Kes., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberi kritik, saran dan motivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
7. Dr. drg. Zahreni Hamzah M.S., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan, motivasi dan semangat selama saya berada di Fakultas Kedokteran Gigi;
8. Kedua orang tuaku tercinta, Ibunda Santi Widyawati, S.H. M.Kn. dan Ayahanda Yoyok Subagiono, S.T. yang tak kenal lelah mendoakan, memberi dukungan, perhatian, serta kasih sayang yang teramat tulus selama ini;

9. Kedua saudaraku tersayang Athaya Griselda Khansa Subagiono dan Ameyza Geavalda Khansa Subagiono yang selalu memberikan dukungan kepada saya;
10. Teknisi laboratorium Politeknik Negeri Jember Pak Franky dan Bu Netty yang telah membantu penelitian saya;
11. Teman “Rainbow”, Luly, Mbak Wenny, Mbak Fio, Mbak Agis, Mbak Ibana dan Mas Dito, yang selalu bekerja sama, saling membantu dan memberi semangat dalam menyelesaikan skripsi ini;
12. Teman “Geng Kuning”, Purbo, Tuing, Widya, Blora, Wulan, Shinta, Mbak Mura, Mbak Anes, Wifqi, Mala dan Fitrop, yang selalu solid dan bersaing dalam semua hal kebaikan;
13. Teman “RELA”, Rembrant, Erna, Luly dan Mimi, yang selama ini telah menghibur dan dapat memberikan semangat lebih dalam mengerjakan skripsi;
14. Mas Angga, yang selalu memberikan semangat;
15. Aprillya Sakila, yang selalu mendengarkan keluh kesah serta memberikan semangat;
16. Seluruh teman-teman FKG 2015, terimakasih atas solidaritasnya, bantuan, semangat yang diberikan selama ini.
17. Semua pihak yang turut terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, terimakasih untuk kalian semua.

Jember, 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN BIMBINGAN	iii
PERSEMBAHAN	iv
MOTTO	v
PERNYATAAN	vi
PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Ikan Nila	4
2.1.1 Klasifikasi Ikan Nila	5
2.1.2 Morfologi Ikan Nila	7
2.1.3 Protein Ikan Nila	7
2.2 Tulang Ikan	8
2.2.1 Pemanfaatan Tulang Ikan	9
2.2.2 Protein Tulang Ikan Nila	10
2.3 Protein	11
2.3.1 Klasifikasi Protein.....	14
2.3.2 Denaturasi dan Degradasi Protein	17

2.4 Metode SDS-PAGE (<i>Sodium Dedosil Sulfat</i> Poliakrilamid Gel Elektroforesis)	18
2.5 Immunomodulator	20
2.6 <i>Tissue Engineering</i>	21
2.7 Kerangka Konsep.....	22
2.6 Hipotesis.....	23
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	24
3.1 Jenis Penelitian.....	24
3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	24
3.2.1 Tempat Penelitian	24
3.2.2 Waktu Penelitian.....	24
3.3 Identifikasi Variabel Penelitian	24
3.3.1 Variabel Bebas	24
3.3.2 Variabel Terikat	24
3.3.3 Variabel Terkendali	24
3.4 Definisi Operasional Penelitian	25
3.4.1 Limbah Tulang Ikan Nila.....	25
3.4.2 Profil Protein Tulang Ikan Nila	25
3.4.3 Metode SDS-PAGE	25
3.5 Sampel Penelitian.....	25
3.6 Alat dan Bahan.....	25
3.6.1 Alat.....	25
3.6.2 Bahan	26
3.7 Prosedur Penelitian.....	26
3.7.1 Persiapan Sampel Tulang Ikan Nila Sebelum Dimasak	26
3.7.2 Persiapan Sampel Tulang Ikan Nila Setelah Dimasak	29
3.7.3 Elektroforesis dengan Teknik SDS-PAGE	29
3.8 Analisis Data.....	32
3.9 Alur Penelitian	33

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	34
4.1 Hasil Penelitian	34
4.1.1 Profil SDS-PAGE Tulang Ikan Nila Sebelum dan Sesudah Dimasak	34
4.1.2 Intensitas Fraksi Protein Tulang Ikan Nila Sebelum dan Sesudah Dimasak	35
4.2 Pembahasan	37
4.2.1 Profil SDS-PAGE Protein Tulang Ikan Nila Sebelum dan Sesudah Dimasak	37
4.2.2 Intensitas Fraksi Protein Tulang Ikan Nila Sebelum dan Sesudah Dimasak	41
BAB 4. KESIMPULAN DAN SARAN	43
5.1 Kesimpulan	43
5.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	50

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Kandungan Gizi Ikan	4
Tabel 2.2 Asam Amino Pada Ikan Nila	8
Tabel 2.3 Kandungan Gizi Tepung Tulang Ikan	10
Tabel 4.1 Berat molekul dan jumlah fraksi protein tulang ikan nila sebelum dan sesudah dimasak dengan dan tanpa pemanasan	35
Tabel 4.2 Intensitas fraksi protein ekstrak pada tulang ikan nila sesudah Dimasak	37

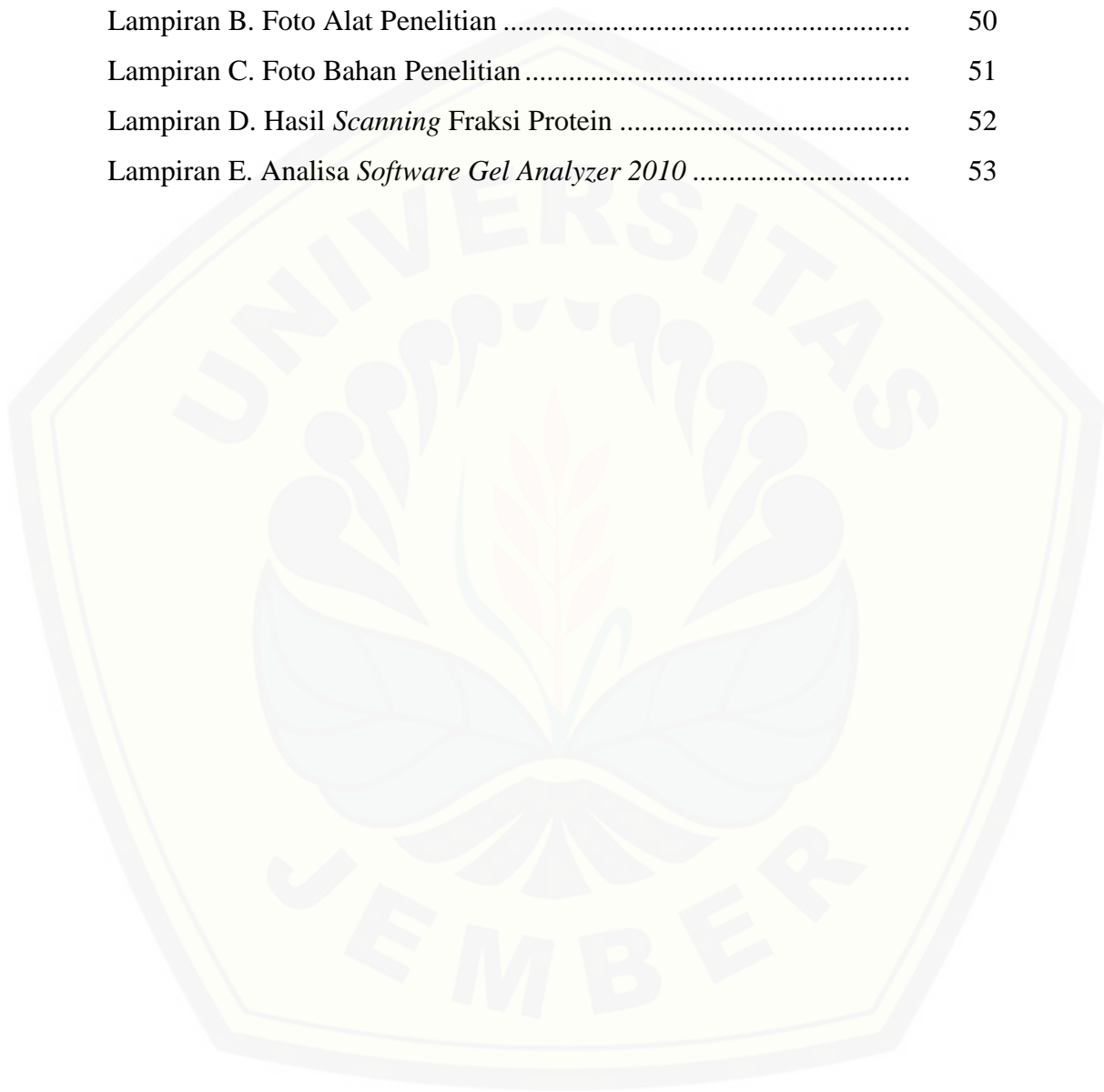
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Ikan Nila Hitam (<i>Oreochromis niloticus</i>)	6
Gambar 2.2 Ikan Nila Merah (<i>Oreochromis sp.</i>)	6
Gambar 2.3 Struktur Skeletal Ikan	9
Gambar 2.4 Struktur Asam Amino	11
Gambar 2.5 Ikatan Peptida.....	12
Gambar 2.6 Asam amino bersifat netral, asam, dan basa	12
Gambar 2.7 Asam amino esensial dan nonesensial	13
Gambar 2.8 Asam amino polar dan nonpolar	13
Gambar 2.9 Asam amino alifatik dan siklik.....	14
Gambar 2.10 Asam amino glikogenik dan ketogenik.....	14
Gambar 2.11 Struktur Protein	15
Gambar 2.12 Ilustrasi denaturasi protein globular	18
Gambar 2.13 Elektroforesis SDS-PAGE	19
Gambar 2.14 Pita protein yang terlihat setelah pewarnaan dengan Coomassie Blue	20
Gambar 2.15 Kerangka Konsep	22
Gambar 3.1 Daging ikan nila dipisahkan dari tulang.....	26
Gambar 3.2 Tulang ikan nila sebelum dimasak.....	27
Gambar 3.3 Proses penghalusan tulang ikan menjadi bubuk.....	27
Gambar 3.4 Pelarutan tulang ikan yang telah halus dengan buffer fosfat	28
Gambar 3.5 Sampel dalam sentrifuge	28
Gambar 3.6 Supernatan ekstrak tulang ikan nila	28
Gambar 3.7 Perebusan ikan nila.....	29
Gambar 3.8 Sampel yang telah ditambahkan dengan <i>sample loading</i> <i>buffer</i>	29
Gambar 3.9 Sampel dalam <i>waterbath</i>	29
Gambar 3.10 Pemasangan <i>comb</i> dalam rangkaian alat elektroforesis	30

Gambar 3.11 Memasukkan sampel dan <i>protein marker</i> ke dalam <i>comb</i>	30
Gambar 3.12 Proses Elektroforesis SDS-PAGE	31
Gambar 3.13 Pewarnaan dengan <i>CBB</i>	31
Gambar 3.14 Pencucian dengan akuades sampai pita protein terlihat jelas	31
Gambar 3.15 Alur Penelitian.....	33
Gambar 4.1 Hasil <i>scanning</i> SDS-PAGE profil protein tulang ikan nila \ sebelum dan sesudah dimasak	34
Gambar 4.2 Hasil <i>scanning</i> intensitas fraksi protein pada tulang ikan nila sebelum dimasak	36
Gambar 4.3 Hasil <i>scanning</i> intensitas fraksi protein pada tulang ikan nila sesudah dimasak	36

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Identifikasi Ikan	49
Lampiran B. Foto Alat Penelitian	50
Lampiran C. Foto Bahan Penelitian	51
Lampiran D. Hasil <i>Scanning</i> Fraksi Protein	52
Lampiran E. Analisa <i>Software Gel Analyzer 2010</i>	53



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan merupakan salah satu jenis makanan yang banyak dikonsumsi masyarakat Indonesia untuk memenuhi kebutuhan protein hewani dibandingkan dengan produk lainnya karena kandungan protein, mineral dan vitaminnya. Salah satu ikan yang sering dikonsumsi masyarakat adalah ikan nila. Produksi ikan nila dari tahun ke tahun terus mengalami peningkatan. Nilai produksi Ikan Nila lebih besar jika dibandingkan dengan ikan patin (85.429 ton), ikan lele (132.180), dan ikan gurami (22.635), yaitu sebesar 197.455 ton (Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2015). Ikan nila merupakan ikan yang memiliki tingkat pertumbuhan yang cepat, mudah dibudidayakan, mudah didapat dan memiliki daging yang cukup tebal serta tidak terdapat duri-duri halus sehingga mudah untuk dikonsumsi oleh masyarakat (Cahyono, 2010). Ikan nila memiliki kandungan protein yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan ikan mujair, ikan mas dan belut yaitu sebesar 17,5% (Said, 2007). Ikan nila diklasifikasikan menjadi dua jenis yaitu, ikan nila hitam dan ikan nila merah. Ikan nila hitam memiliki keunggulan pertumbuhan dan tingkat produktivitas yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan ikan nila merah (Arifin, 2016).

Permintaan konsumsi dan jumlah produksi ikan di Indonesia terus meningkat sehingga berakibat pada banyaknya jumlah limbah ikan yang dihasilkan (Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2015). Limbah yang merupakan hasil samping dari pengolahan ikan adalah kepala, tulang, sisik dan kulit ikan. Limbah tersebut dapat mencapai 20 juta ton, dimana setara dengan 25% dari total produksi penangkapan ikan di dunia (Jung dkk., 2008). Limbah hasil pengolahan ikan secara langsung dan tidak langsung dapat memberikan dampak yang kurang baik terhadap lingkungan karena menyebabkan adanya pencemaran (Murniyati dkk., 2014; Ghaly dkk., 2013). Tulang ikan merupakan limbah perikanan yang jumlahnya mencapai 15 % dari keseluruhan berat ikan (Toppe dkk., 2007).

Tulang ikan pada bidang kesehatan dapat dimanfaatkan sebagai suplemen dalam bentuk sediaan kapsul, sebagai bahan implan dalam penggantian tulang

(*bone substitution*), katup jantung, dan juga sambungan pinggul (Adawiyah dan Selviastuti, 2014; Aisyah dkk., 2012; Mutmainah dkk., 2017). Limbah tulang ikan di bidang kedokteran gigi dapat dijadikan sebagai inovasi bahan *tissue engineering* atau *bone graft* untuk mengatasi kerusakan tulang alveolar. Proses penyembuhan tulang alveolar dapat dipercepat menggunakan suatu bahan yang dapat merangsang regenerasi kolagen dan jaringan tulang yang baru (Permana dkk., 2012). Tulang ikan nila dapat menjadi sumber kolagen dan gelatin yang bermanfaat di dalam bidang kesehatan (Liu, 2016). Kandungan glisin yang terdapat pada tulang ikan nila diduga dapat digunakan sebagai imunomodulator karena glisin dapat merangsang produksi dan pelepasan interleukin (IL-2) dan antibodi sel B sehingga berkontribusi untuk meningkatkan fagositosis (Ridhowati, 2011).

Tulang secara umum memiliki 60% bahan anorganik yang terdiri dari kalsium (Ca), fosfor (P) dan mineral lainnya, 30% bahan organik berupa protein dan lemak serta 10% air (Kalfas dkk., 2001; Boskey, 2013). Tulang juga memiliki jaringan kompleks yang terdiri dari kolagen tipe I fibrosa dan kristal hidroksiapatit ($(Ca)_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) (Liu, 2016). Pada tulang ikan terdapat komponen penyusun berupa 30% protein dan sebagian besar bioapatit, termasuk hidroksiapatit, *carbonated apatite* atau dahlite (Szipak, 2011). Kandungan protein pada tulang ikan nila mencapai 31,52% (tiap 100 gram tepung tulang ikan nila) (Vignesh, 2012).

Protein dapat mengalami denaturasi dan degradasi protein akibat pemanasan. Denaturasi protein dapat menyebabkan adanya pengembangan rantai peptida atau penguraian protein sedangkan degradasi protein merupakan suatu pemecahan protein dari ikatan-ikatan yang terdapat di dalamnya. Degradasi pada dasarnya berkaitan dengan terjadinya perubahan sifat karena ikatan rantai utama makromolekul terputus sehingga massa protein berkurang atau rantai menjadi lebih pendek.

Tulang ikan nila dimasak dengan cara direbus dengan suhu 100°C karena protein akan mengalami denaturasi dan degradasi apabila dipanaskan di atas suhu *temperature melting* (Tm) (Yazid, 2006). Tulang ikan nila sebelum dan sesudah

dimasak kemudian dilakukan analisis profil protein menggunakan metode SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis*). Metode SDS-PAGE dipilih karena bersifat peka terhadap perbedaan muatan dan berat molekul yang cukup kecil dan menghasilkan pemisahan yang baik. Secara kimiawi *poly acrylamide gel* bersifat *inert* dan dapat dibentuk dengan mudah dari polimerisasi akrilamida (Berg, 2015).

1.2 Perumusan Masalah

Bagaimana profil protein pada tulang ikan nila sebelum dan sesudah dimasak?

1.3 Tujuan

Mengetahui profil protein yang terdapat pada tulang ikan nila sebelum dan sesudah dimasak.

1.4 Manfaat

1. Meningkatkan pengetahuan mengenai profil protein pada tulang ikan nila sebelum dan sesudah dimasak.
2. Memberikan informasi mengenai tulang ikan nila untuk dijadikan pertimbangan peneliti selanjutnya sebagai bahan *tissue engineering*, *scaffold*, *bone graft* dan imunomodulator.
3. Sebagai informasi tambahan dan menjadi acuan untuk melakukan penelitian lebih lanjut.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Nila

Ikan nila merupakan nama yang diberikan berdasarkan ketetapan Direktur Jenderal Perikanan tahun 1972. Nama nila diambil dari nama spesies ikan tersebut yaitu *nilotica* dimana nama tersebut merupakan nama yang berasal dari daerah asal ikan tersebut yaitu Sungai Nil di Benua Afrika, yang kemudian diubah menjadi nila (Khairuman, 2012).

Ikan nila mempunyai nilai gizi yang cukup tinggi, sehingga tepat untuk digunakan sebagai penyedia protein hewani yang murah dan mudah didapat. Dibandingkan dengan jenis ikan lainnya, ikan nila memiliki beberapa keunggulan, yaitu memiliki tingkat pertumbuhan yang cepat dimana ikan nila dapat mencapai bobot 300-500g/ekor selama 6 bulan. Ikan nila juga mudah dibudidayakan, baik di air tawar maupun air payau. Ikan nila mempunyai sifat omnivora, sehingga dalam budidayanya sangat efisien, karena biaya pakannya rendah. Daging ikan nila juga cukup tebal dan tidak terdapat duri-duri halus sehingga mudah untuk dikonsumsi (Cahyono, 2010). Ikan nila biasanya oleh masyarakat diolah dengan cara digoreng, dibuat sup dan lain-lain (Nugroho, 2017). Jika dibandingkan dengan ikan mujair, ikan mas dan belut, ikan nila memiliki kandungan protein yang lebih tinggi (Tabel 2.1).

Tabel 2.1 Kandungan Gizi Ikan

No	Jenis Ikan	Protein (%)	Lemak (%)	Air (%)
1	Ikan Nila	17,5	4,1	74,8
2	Ikan Mas	16,0	5,6	80,0
3	Ikan Mujair	14,9	2,0	80,0
4	Ikan Belut	14,0	27,0	58,0

(Sumber : Said, 2007)

2.1.1 Klasifikasi Ikan Nila

Pada awalnya ikan nila masuk ke dalam jenis *Tilapia nilotica* atau ikan yang berasal dari golongan tilapia yang tidak mengerami larva atau telur dalam mulut induknya. Seiring dengan perkembangannya, akhirnya diketahui bahwa ikan nila mengerami telur dan larva hanya pada mulut induk betinanya saja sehingga para pakar memutuskan nama ilmiah yang sesuai untuk ikan ini adalah *Oreochromis niloticus*. Ikan nila mempunyai klasifikasi ilmiah sebagai berikut (Khairuman, 2012) :

filum	: <i>Chordata</i>
subfilum	: <i>Vertebrata</i>
kelas	: <i>Pisces</i>
subkelas	: <i>Acanthopterigii</i>
ordo	: <i>Percomorphi</i>
subordo	: <i>Percaidae</i>
famili	: <i>Cichlidae</i>
genus	: <i>Oreochromis</i>
spesies	: <i>Oreochromis niloticus</i> (nila hitam) <i>Oreochromis sp.</i> (nila merah)
nama asing	: <i>Nile tilapia</i>
nama lokal	: Nila

Menurut warna badannya, ikan nila dibagi menjadi dua jenis, yaitu ikan nila hitam dan ikan nila merah (Cahyono, 2010).

a. Ikan nila hitam

Ikan nila hitam (Gambar 2.1) masuk ke Indonesia pada tahun 1969 yang didatangkan secara resmi oleh Balai Penelitian Perikanan Air Tawar (BPPAT) dari Taiwan. Tubuh ikan nila hitam berwarna kehitaman dimana semakin kearah perut warnanya akan semakin terang. Ikan nila hitam memiliki garis vertikal sebanyak 9-11 buah dan garis melintang pada sirip ekor sebanyak 6-12 buah (Kordi, 2010). Ikan nila hitam biasanya disebut strain GIFT (*Genetic Improvement for Farmed Tilapia*) yang telah terbukti memiliki keunggulan

pertumbuhan dan produktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan jenis ikan nila lainnya (Arifin, 2016).



Gambar 2.1 Ikan Nila Hitam (*Oreochromis niloticus*)
(Sumber : Andriani, 2018)

b. Ikan nila merah

Ikan nila merah (Gambar 2.2) masuk ke Indonesia pada tahun 1981 dan didatangkan dari Filipina yang merupakan nila hibrida. Silsilah ikan nila merah diduga sebagai ikan hasil persilangan antara mujair (*Oreochromis mossambicus*) atau *Oreochromis niloticus* dengan spesies lain, seperti *Oreochromis aureus* atau *Oreochromis hornorum*. Ikan nila merah memiliki tubuh yang berwarna merah termasuk bagian sirip dan bagian punggungnya. Sedangkan, bagian perut berwarna putih kemerahan. Akan tetapi, akibat adanya perkawinan dan persilangan alami antargenus ataupun antarspesies, dapat mengakibatkan timbulnya keragaman pada ikan nila merah, yaitu seperti muncul warna merah kekuningan, merah agak jingga, merah berbekak atau berbintik hitam dan merah keputih-putihan (Kordi, 2010). Ikan nila merah termasuk dalam strain hibrida (Arifin, 2016).



Gambar 2.2 Ikan Nila Merah (*Oreochromis sp.*)
(Sumber : Andriani, 2018).

2.1.2 Morfologi Ikan Nila

Secara umum, tubuh ikan nila berbentuk agak memanjang dan pipih ke samping dengan warna putih kehitaman yang semakin terang ke arah perut. Ikan nila memiliki perbandingan panjang total tubuh dan tinggi badan sebesar 3 : 1. Ikan nila juga memiliki sisik yang berukuran besar dan terdapat pola garis – garis vertikal yang sangat jelas di sirip ekor dan sirip punggung ikan nila. Jumlah garis vertikal di sirip ekor sebanyak enam buah dan di sirip punggung sebanyak delapan buah. Ikan nila merupakan ikan yang memiliki mata besar dan menonjol (Khairuman, 2012).

Ikan nila termasuk ke dalam jenis ikan yang mudah berkembang biak. Berdasarkan makanan yang dimakan, ikan nila termasuk dalam kelompok hewan pemakan segala jenis makanan (*omnivora*). Makanan ikan nila dapat berupa plankton hewani, plankton tumbuhan, daun-daun tumbuhan halus dan lain-lain. Selain itu, ikan nila juga bisa diberi makanan tambahan berupa dedak (Khairuman, 2012).

2.1.3 Protein Ikan Nila

Protein ikan bersifat tidak stabil dan memiliki sifat yang mudah berubah atau terdenaturasi. Protein pada ikan apabila diasamkan hingga mencapai pH 4,5-5 maka akan terjadi pengendapan. Protein ikan apabila dilakukan pemanasan seperti pemasakan, perebusan dan penggorengan dapat mengalami denaturasi, degradasi, menggumpal atau terkoagulasi (Suprayitno, 2017).

Protein yang paling banyak ditemukan pada ikan nila adalah kolagen. Kolagen yang paling banyak ditemukan yaitu kolagen tipe 1. Kolagen ikan adalah protein struktural kompleks yang membantu menjaga kekuatan dan kelenturan kulit, ligamen, tulang, sendi, otot, tendon, mata, darah dan pembuluh darah (Kumar, 2011). Protein pada ikan nila juga merupakan protein komplet karena mengandung semua asam amino esensial di dalamnya (Sanchez, 2012). Banyaknya asam amino yang terdapat pada seluruh bagian ikan nila dapat dilihat pada tabel 2.2.

Tabel 2.2 Asam Amino Pada Ikan Nila

Asam Amino	Seluruh bagian (%)
Metionin	1,16
Sistein	0,41
Lisin	2,19
Fenilalanin	1,03
Leusin	2,21
Isoleusin	1,23
Treonin	1,51
Valin	1,27
Histidin	0,76
Arginin	2,01
Alanin	2,11
Triptofan	0,20
Tirosin	0,96
Asam Aspartat	2,73
Serin	1,55
Asam Glutamat	4,41
Prolin	1,86
Hidroksiprolin	0,63
Glisin	2,43

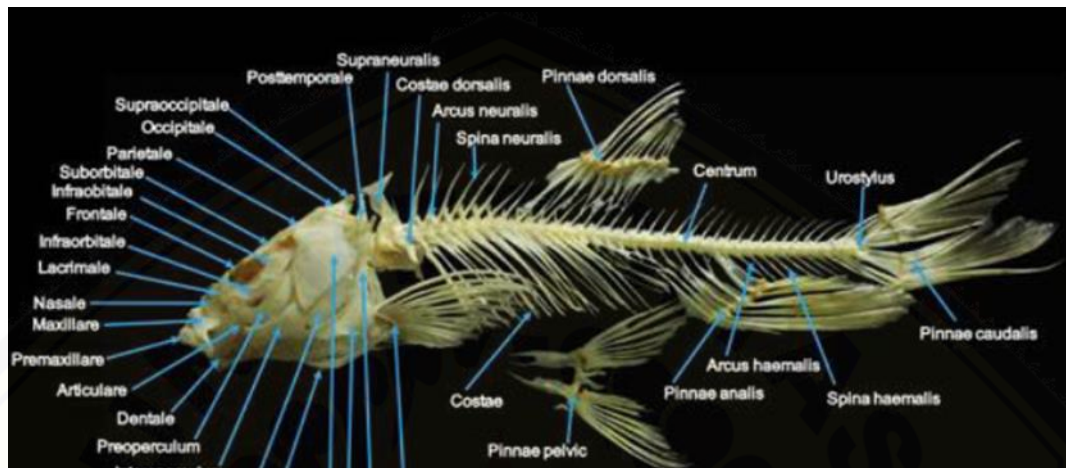
(Sumber : Gonzales and Brown, 2006)

2.2 Tulang Ikan

Tulang adalah jaringan ikat yang termineralisasi yang menunjukkan empat jenis sel yaitu, osteoblas, sel-sel lapisan tulang, osteosit, dan osteoklas. Tulang menyediakan fungsi penting di dalam tubuh, yaitu sebagai aktivator, dukungan dan perlindungan jaringan lunak, penyimpanan kalsium dan fosfor, serta menyimpan sumsum tulang (Silva, 2015). Tulang terdiri dari:

- 60% bahan anorganik (hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) dimana terdiri dari kandungan kalsium (Ca) dan fosfor (P) dalam jumlah yang banyak dan mineral dalam jumlah sedikit seperti bikarbonat (HCO_3^-), magnesium (Mg), natrium (Na), kalium (K), tembaga (Cu), seng (Zn), mangan (Mn), dan lainnya),
- 30% bahan organik ($\pm 90\%$ kolagen tipe I, $\pm 5\%$ protein nonkolagen (NCPs), $\pm 2\%$ lipid menurut beratnya); dan
- 10% air (Kalfas dkk., 2001; Boskey, 2013).

Tulang ikan merupakan salah satu hasil samping dari hasil pengolahan produk perikanan (Gambar 2.3). Tulang ikan mengandung 60-70 % mineral, dengan komponen penyusun berupa 30% protein kolagen dan sebagian besar bioapatit, termasuk hidroksiapatit, carbonated apatite atau dahlite (Szapak, 2011).



Gambar 2.3 Struktur Skeletal Ikan (Sumber : Akmal dkk., 2018)

2.2.1 Pemanfaatan Tulang Ikan

Tulang ikan telah banyak dimanfaatkan, terutama dalam bidang pangan, diantaranya adalah limbah tulang ikan nila sebagai tepung kalsium, tepung tulang ikan kakap merah dalam susu dan pemanfaatan nanokalsium dari limbah tulang ikan nila pada beras analog (Murniyati dkk., 2014; Anggraen, 2016). Tepung tulang ikan juga dapat dimanfaatkan pada fortifikasi makanan, yaitu fortifikasi tepung tulang ikan tuna pada biskuit. Adanya penambahan tepung tulang ikan tuna berpengaruh terhadap warna, rasa, dan aroma dari biskuit namun tidak pada kriteria bentuk, kerenyahan, keremahan, dan kesukaan panelis. Kandungan gizi pada produk biskuit yang ditambahkan dengan tepung tulang ikan tuna yaitu kadar air 4,86, protein 1,76, karbohidrat 8,67, lemak 3,28, kalsium 18,90, fosfor 1,89, besi 33,08, magnesium 6,22, serta vitamin D 0,394 (Marta'ati dan Handajani, 2015).

Tulang ikan juga dapat dimanfaatkan dalam pembuatan permen jelly karena memiliki kandungan gelatin. Gelatin dari tulang ikan nila yang ditambahkan pada permen jelly memenuhi spesifikasi mutu permen jelly yang

ditetapkan oleh Standar Nasional Indonesia (SNI) 01- 3547-1994 yaitu mengandung kadar air sebanyak 17,06%, kandungan gula total sebanyak 48,23%, pH 4,78, tingkat kekenyalan sebesar 14,20 N, nilai hedonik spesifikasi tekstur permen jelly berkisar antara 7,42-8,08, nilai hedonik spesifikasi rasa permen jelly berkisar antara 7,36-8,10 dan tidak mengandung bakteri *Escherichia coli* (Maryani, 2010).

Tulang ikan di Jepang dimanfaatkan untuk memproduksi kalsium dalam bentuk tepung yang dapat dikonsumsi karena tepung tulang ikan memiliki nilai gizi yang cukup baik (Murniyati dkk., 2014). Jumlah zat gizi pada tepung tulang ikan menurut *International Seafood of Alaska* dapat dilihat pada tabel 2.3.

Tabel 2.3 Kandungan Gizi Tepung Tulang Ikan

Zat Gizi	Jumlah zat gizi pada tepung tulang ikan (%)
Kadar air	3,6
Abu	33,1
Protein	34,2
Lemak	5,6
Kalsium	11,9
Fosfor	11,6

(Sumber : Internasional Seafood of Alaska, 2002)

Tulang ikan juga dimanfaatkan dalam bidang kesehatan antara lain, tulang ikan bandeng dapat dijadikan sebagai suplemen dengan dalam bentuk sediaan kapsul. Kandungan dalam suplemen tersebut adalah 100% ekstrak tulang ikan bandeng (Adawiyah dan Selviastuti, 2014). Tulang ikan juga dapat digunakan sebagai bahan implan dalam penggantian tulang (*bone substitution*), katup jantung, dan juga sambungan pinggul. Tulang ikan juga dapat dimanfaatkan sebagai hidroksiapatit untuk bahan pengganti tulang atau bone graft. Hal ini dikarenakan hidroksiapatit memiliki sifat biokompatibilitas yang sempurna apabila diimplankan pada tulang (Aisyah dkk., 2012; Mutmainah dkk., 2017).

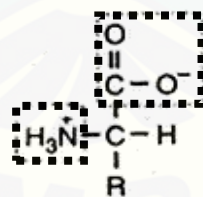
2.2.2 Protein Tulang Ikan Nila

Tulang nila dapat menjadi sumber kolagen dan gelatin yang bermanfaat. Kolagen mengandung $\pm 35\%$ glisin, $\pm 11\%$ alanin, dan kandungan prolin serta hidroksiprolin yang tinggi (Katili, 2009). Kolagen memiliki daya tahan yang kuat,

terhadap tekanan terutama sifat lentur dalam tulang. Protein ini tidak larut dalam air, asam, alkali atau larutan garam sampai konsentrasi 0,1 M. Kolagen dapat mengembang karena daya ikat pada strukturnya melemah saat diberi perlakuan pada pH di bawah 4 atau di naikkan sampai pH 10 (Peranginangin, 2014). Tulang adalah jaringan kompleks yang terdiri dari kolagen tipe I berserat. Glisin dan prolin adalah asam amino yang paling banyak ditemukan. Sistein juga dapat ditemukan dalam jumlah rendah dalam kolagen tulang ikan nila. Metionin, histidin, dan tirosin diamati dalam jumlah yang mirip dengan jumlah kolagen dari spesies ikan lain (Liu, 2016). Protein non kolagen yang menyusun tulang yaitu, *osteopontin*, *sialoposphoprotein* dan *bone sialoprotein*. Protein – protein tersebut memiliki aktifitas untuk mengikat kalsium yang bertanggung jawab pada regulasi hidroksiapatit (Zurick et al, 2012).

2.3 Protein

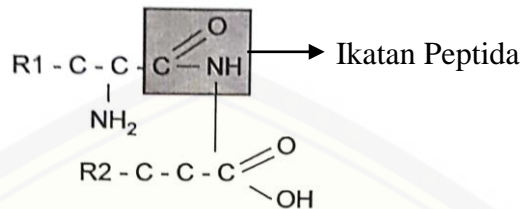
Protein adalah makromolekul yang tersusun dari lima puluh atau lebih asam amino yang saling berikatan (James, 2008). Protein memiliki berat molekul besar, dari ribuan hingga jutaan. Asam amino adalah unit monomerik yang membentuk protein dan merupakan produk primer penguraian protein. Suatu asam amino mengandung sebuah gugus amino dan gugus karboksil (Gambar 2.4).



Gambar 2.4 Struktur Asam Amino
(Sumber : Marks, 2012).

Dalam molekul protein, asam amino saling dirangkai melalui gugus karboksil satu asam amino dan gugus amino dari asam amino lain sehingga terjadi ikatan peptide (Gambar 2.5). Dua molekul asam amino yang saling diikatkan disebut ikatan dipeptida. Tiga molekul asam amino yang saling diikatkan dinamakan tripeptida. Beberapa molekul asam amino kurang dari sepuluh yang saling diikatkan dinamakan oligopeptida dan apabila kurang dari lima puluh

dinamakan polipeptida (Suprayitno, 2017). Ikatan peptida merupakan suatu ikatan yang berasal dari penggabungan OH dan NH₂ dan penarikan satu molekul air (H₂O) (Panil,2008).

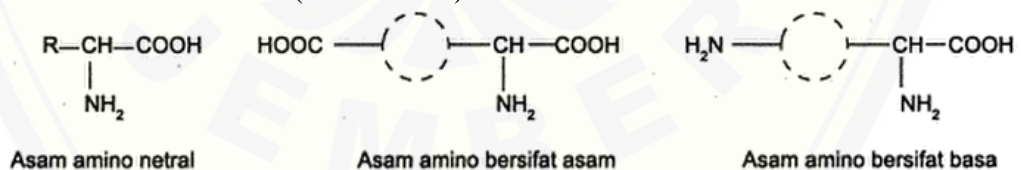


Gambar 2.5 Ikatan Peptida
(Sumber : Panil, 2008).

Protein memiliki struktur yang sangat kompleks yang terbentuk dari urutan asam amino yang memiliki karakteristik yang berbeda (Haryanto,2015). Berbagai protein yang berbeda dapat diciptakan hanya dari 20 buah asam amino yang umum karena asam amino dapat berikatan dalam berbagai kombinasi yang berbeda. Asam amino penyusun protein diklasifikasikan menjadi beberapa kelompok :

- a. Asam amino bersifat basa, asam, dan netral

Asam amino bersifat basa memiliki rantai samping yang mengandung gugus amino berupa hetero-atom nitrogen, sedangkan asam amino yang bersifat asam memiliki rantai samping yang mengandung gugus karboksil dan asam amino netral memiliki rantai samping selain yang terdapat pada asam amino bersifat basa dan asam (Gambar 2.6).

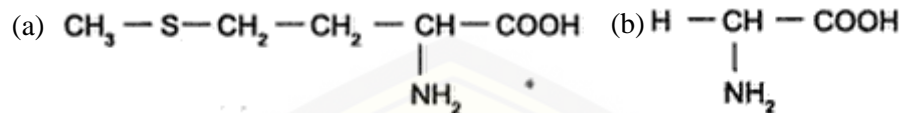


Gambar 2.6 Asam amino bersifat netral, asam, dan basa
(Sumber : Sumardjo, 2009).

- b. Asam amino esensial dan nonesensial

Asam amino esensial merupakan asam amino yang tidak dapat disintesis di dalam tubuh manusia sehingga untuk memenuhi kebutuhan asam amino tersebut harus diperoleh dari protein yang terdapat pada makanan seperti valin, leusin, isoleusin, fenilalanin, triptofan, treonin, metionin, lisin, arginin, dan

histidin. Asam amino nonesensial merupakan asam amino yang dapat disintesis di tubuh manusia seperti glisin, alanin, tirosin, serin, prolin, hidroksiprolin, sistein, sistin, asam aspartat, asam glutamate (Gambar 2.7).



Gambar 2.7 Asam amino esensial dan nonesensial, (a) Metionin; (b) Glisin
(Sumber : Sumardjo, 2009).

c. Asam amino polar dan nonpolar

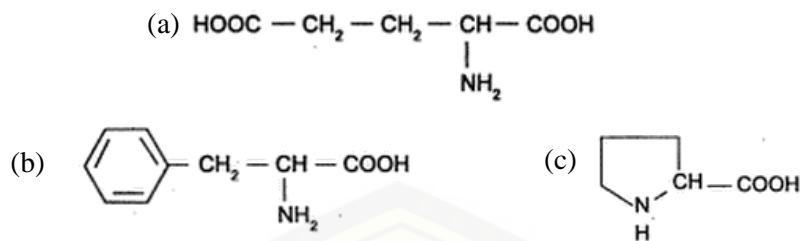
Asam amino yang bersifat polar merupakan asam amino yang menyukai air (hidrofilik). Asam amino polar dibagi menjadi asam amino polar bermuatan seperti lisin, arginine, asam aspartate, asam glutamat, dan histidin, dan asam amino polar tidak bermuatan seperti asparagine, glutamin, serin, treonin, sistein dan tirosin. Asam amino yang bersifat nonpolar merupakan asam amino yang tidak menyukai air (hidrofobik) seperti glisin, valin, leusin, isoleusin, metionin, fenilalanin, prolin, dan alanin (Gambar 2.8).



Gambar 2.8 Asam amino polar dan nonpolar, (a) Lisin; (b) Valin
(Sumber : Sumardjo, 2009).

d. Asam amino alifatik dan siklik

Berdasarkan keistimewaan struktur kimia, asam amino dibagi menjadi asam amino alifatik yang merupakan asam amino dengan rantai samping terbuka atau tidak berbentuk lingkaran seperti glisin, alanin, valin, leusin, serin, treonin, asam aspartat, asam glutamat, metionin, arginin, asparagin, glutamin, isoleusin, sistein, dan lisin. Asam amino siklik merupakan asam amino dengan rantai tertutup atau membentuk lingkaran yang dibedakan menjadi asam amino aromatik seperti fenilalanin dan tirosin dan asam amino heterosiklik yaitu prolin, hidroksiprolin, histidin dan tritofan (Gambar 2.9).

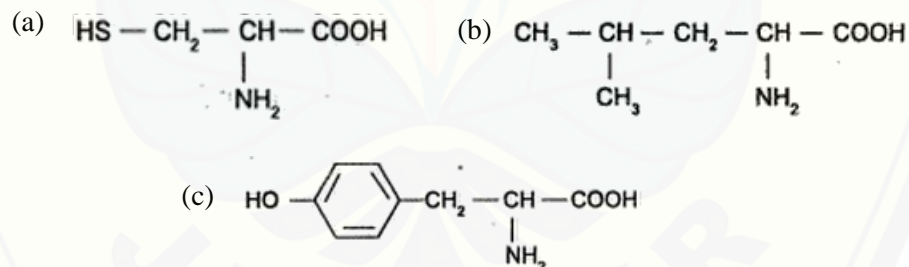


Gambar 2.9 Asam amino alifatik dan siklik, (a) Asam Glutamat; (b) Fenilalanin; (c) Prolin

(Sumber : Sumardjo, 2009).

e. Asam amino glikogenik dan ketogenik

Beberapa asam amino di dalam tubuh dapat diubah menjadi glukosa atau glikogen melalui reaksi biokimiawi dimana asam amino tersebut dinamakan asam amino glikogenik seperti glisin, alanin, sistein, serin, treonin, asam aspartat, asam glutamat, arginin, metionin, valin, histidin, dan prolin. Asam amino juga dapat diubah menjadi senyawa-senyawa keton dinamakan asam amino ketogenik seperti leusin. Pada beberapa asam amino termasuk dalam keduanya seperti fenilalanin, isoleusin, lisin, triptofan, dan tirosin (Gambar 2.10).



Gambar 2.10 Asam amino glikogenik dan ketogenik, (a) Sistein; (b) Leusin; (c) Tirosin

(Sumber : Sumardjo, 2009).

2.3.1 Klasifikasi Protein

a. Berdasarkan struktur molekulnya, protein diklasifikasikan menjadi :

1. Struktur Primer

Struktur primer dari suatu protein merupakan urutan asam amino dalam rantai yang disatukan oleh ikatan peptida (Gambar 2.11). Setiap protein

memiliki struktur primer yang berbeda dengan asam amino yang berbeda di tempat yang berbeda sepanjang rantai.

2. Struktur Sekunder

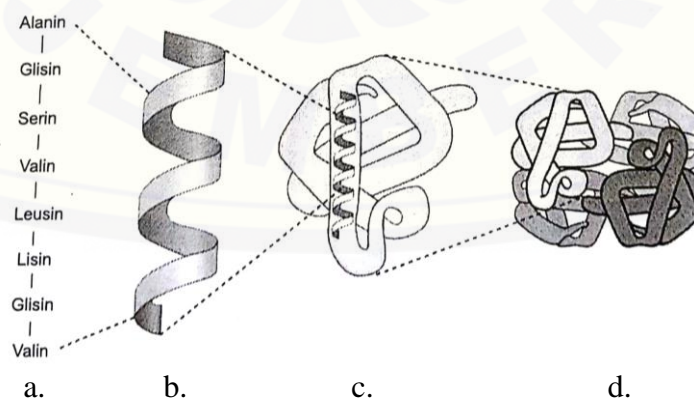
Struktur sekunder merupakan rangkaian asam amino yang membentuk struktur membelit, melingkar dan melipat (Gambar 2.11). Daerah dari struktur sekunder dikelompokkan menjadi heliks- α dan lembar- β yang merupakan hasil dari ikatan hidrogen dengan hidrogen amida dan oksigen karbonil dari ikatan peptida.

3. Struktur Tersier

Struktur Tersier merupakan gabungan dari struktur sekunder protein yang terjadi setelah proses pelipatan (*folding*). Interaksi non kovalen antara gugus R dari asam amino dan kovalen jembatan disulfida berperan dalam menentukan struktur tersier. Bentuk protein globular melibatkan interaksi antara residu asam amino yang mungkin terletak sangat jauh satu sama lain pada urutan primer rantai polipeptida dan melibatkan heliks- α dan lembar- β (Gambar 2.11).

4. Struktur Kuartener

Struktur kuartener merupakan struktur tiga dimensi suatu protein yang terdiri dari subunit (Gambar 2.11). Subunit tersebut disatukan oleh jenis interaksi nonkovalen yang sama yang berperan pada struktur tersier, yaitu interaksi elektrostatik, hidrofobik dan ikatan hidrogen (Marks, 2012).



Gambar 2.11 Struktur Protein (a. Struktur Primer, b. Struktur Sekunder, c. Struktur Tersier, d. Struktur Kuartener)
(Sumber : Marks, 2012).

b. Berdasarkan sumbernya, protein diklasifikasikan menjadi :

1. Protein Nabati

Protein nabati merupakan protein yang ditemukan pada tanaman, yang dibentuk dari bahan-bahan yang terdapat di dalam tanah dan air melalui proses biokimiawi yang rumit. Protein nabati yang baik merupakan protein yang ditemukan pada kacang – kacangan.

2. Protein Hewani

Protein hewani merupakan protein yang ditemukan pada hewan. Protein hewani umumnya mengandung asam- α -amino yang sama dengan yang ada pada tubuh manusia. Oleh karena itu protein hewani dianggap protein yang paling baik (Panil, 2008).

c. Berdasarkan fungsinya, protein diklasifikasikan menjadi :

1. Enzim merupakan protein yang berfungsi sebagai katalis enzimatik.

Hampir semua reaksi kimia dalam proses biologi dikatalis oleh makromolekul yang disebut enzim yang merupakan satu jenis protein.

2. Protein transport merupakan protein yang berfungsi dalam proses transport oksigen dari paru-paru ke seluruh tubuh. Hemoglobin merupakan protein yang mengikat oksigen di dalam eritrosit dan myoglobin merupakan jenis protein yang mentransport oksigen dalam otot.

3. Protein penyimpanan merupakan protein yang dapat mengubah energi kimia menjadi energi gerak.

4. Protein kontraktil yang berperan untuk mengubah bentuk atau bergerak. Salah satunya adalah filamen yang berperan dalam koordinasi gerak.

5. Protein struktur yang berperan dalam struktur biologi dan perlindungan tubuh. Salah satunya adalah protein kolagen yang merupakan komponen serat utama dalam kulit, tulang, tendon, tulang rawan dan gigi.

6. Protein pertahanan yang melindungi tubuh dari serangan organisme lain yang disebut antibodi. Antibodi merupakan protein yang sangat spesifik dan dapat mengenal serta berkombinasi dengan benda asing seperti virus, bakteri dan sel yang berasal dari organisme lain.

7. Protein pengatur yang berfungsi mengatur aktivitas sel atau fisiologi. Salah satunya adalah hormon (Katili, 2009).

2.3.2 Denaturasi dan Degradasi Protein

Denaturasi protein terjadi karena adanya kerusakan ikatan sekunder dan tersier protein akibat terpecahnya ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik atau ikatan disulfida (Sumardjo, 2009). Protein dapat dikatakan terdenaturasi apabila susunan ruang atau rantai polipeptida suatu molekul protein berubah. Ada dua macam denaturasi yaitu, pengembangan rantai peptida dan pemecahan protein menjadi unit lebih kecil tanpa disertai pengembangan molekul. Proses pertama kali terjadi pada pengembangan polipeptida, sedangkan yang kedua terjadi pada bagian molekul yang bergabung dalam ikatan sekunder (Vaclavik, 2008).

Denaturasi protein dapat terjadi akibat beberapa faktor. Faktor yang dapat menyebabkan terjadinya denaturasi protein diantaranya pemanasan, suasana asam atau basa yang ekstrim, kation logam berat dan penambahan garam jenuh. Faktor-faktor tersebut dapat mengakibatkan perubahan sifat protein seperti aktivitas sebagai enzim dan hormone berkurang, kelarutannya dalam garam-garam atau asam-asam encer menurun, kemampuannya membentuk kristal berkurang dan stabilitasnya menurun sehingga menggumpal (Sumardjo, 2009).

Rantai-rantai peptida yang membentuk protein, satu sama lainnya dihubungkan oleh gaya-gaya yang lemah dan pada denaturasi, gaya-gaya yang lemah atau ikatan sekunder, seperti ikatan hidrogen, ikatan ionik dan interaksi hidrofobik dapat dihilangkan. Rantai-rantai peptida yang awalnya tergulung dan terlipat sekarang membentangkan diri (Gambar 2.12).

Temperatur yang merupakan titik tengah dari proses denaturasi yang disebut dengan *temperature melting* (T_m) yang pada umumnya protein mempunyai nilai T_m kurang dari 100 °C, apabila diatas suhu T_m maka protein akan mengalami denaturasi. Protein yang mengalami denaturasi akan menurunkan aktivitas biologinya dan berkurang kelarutannya, sehingga mudah mengendap (Yazid, 2006).



Gambar 2.12 Ilustrasi denaturasi protein, (A) Protein; (B) Terjadi denaturasi sehingga beberapa ikatan dalam protein terputus; (C) Rantai peptida dalam protein yang awalnya terlipat dapat membentangkan diri karena ikatan peptida terputus (Sumber : Sumardjo, 2009).

Degradasi protein merupakan suatu pemecahan protein dari ikatan-ikatan yang terdapat di dalamnya. Degradasi protein dapat terjadi akibat adanya pemanasan atau kontaminasi dengan zat kimia. Degradasi pada dasarnya berkaitan dengan terjadinya perubahan sifat karena ikatan rantai utama makromolekul. Pada struktur linear, reaksi tersebut dapat mengurangi massa molekul atau panjang rantainya (Suprayitno, 2017).

2.4 Metode SDS-PAGE (*Sodium Dedosil Sulfat Poliakrilamid Gel Elektroforesis*)

Elektroforesis merupakan proses bergerakinya molekul bermuatan pada suatu medan listrik (Berg, 2015). Elektroforesis protein sering digunakan di laboratorium dimana teknik ini berguna untuk menganalisis protein dan juga dapat digunakan untuk isolasi dan purifikasi (pemurnian) protein. Prinsip kerja alat ini didasarkan pada perbedaan kecepatan gerak dari masing-masing protein dalam suatu media yang dialiri dengan arus listrik (Panil 2008).

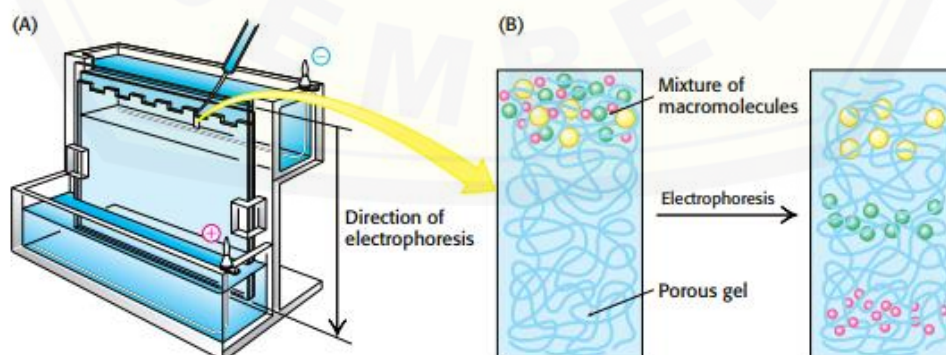
Elektroforesis juga dapat diartikan sebagai suatu cara analisis kimiawi yang didasarkan pada pergerakan molekul-molekul protein bermuatan di dalam medan listrik (titik isoelektrik). Pergerakan molekul dalam medan listrik tersebut dipengaruhi oleh bentuk, ukuran, besar muatan dan sifat kimia dari molekul protein.

Pemisahan protein dilakukan berdasarkan perbedaan ukuran dan berat molekul serta muatan listrik yang terdapat pada makro-molekul tersebut. Bila arus

listrik dialirkan pada suatu medium penyangga yang telah berisi protein plasma maka komponen-komponen protein tersebut akan mulai bermigrasi (Pratiwi, 2001).

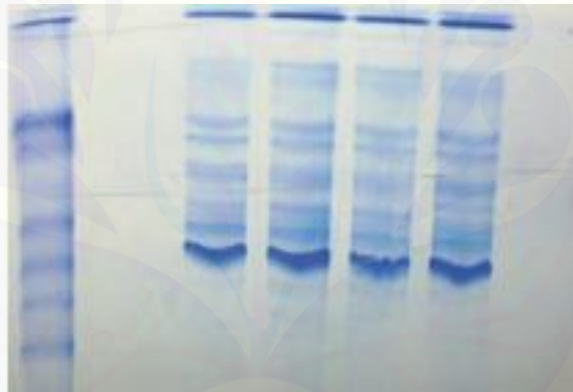
Proses elektroforesis memerlukan media penyangga. Salah satu media penyangga yang dapat digunakan adalah gel. Elektroforesis menggunakan gel dapat mengurangi arus listrik yang timbul akibat perbedaan suhu yang kecil yang diperlukan agar pemisahan menjadi efektif. Gel juga dapat bertindak sebagai saringan molekul yang meningkatkan terjadinya pemisahan (Gambar 2.13 (A)). Molekul yang lebih kecil dari pori-pori gel dapat bergerak dengan mudah di dalam gel sedangkan molekul yang berukuran besar hampir tidak dapat bergerak. Molekul yang berukuran sedang dapat bergerak di dalam gel sesuai dengan ukurannya (Berg, 2015).

Media penyangga berupa gel pada elektroforesis dapat menggunakan gel poliakrilamid yang biasa disebut dengan metode SDS-PAGE (Gambar 2.13 (B)). Secara kimiawi, gel poliakrilamid bersifat inert dan dapat dibentuk dengan mudah dari polimerisasi akrilamida (Berg, 2015). SDS (*Sodium Dodesil Sulfat*) merupakan suatu deterjen anionik yang akan memutus hampir semua interaksi kovalen dalam protein alami. SDS (*Sodium Dodesil Sulfat*) berfungsi untuk mendenaturasi protein karena SDS bersifat deterjen yang mengakibatkan ikatan dalam protein terputus membentuk protein yang dapat terelusi dalam gel. Elektroforesis SDS-PAGE bersifat cepat, peka dan menghasilkan pemisahan yang baik (Berg, 2015).



Gambar 2.13 Elektroforesis SDS PAGE, (A) Alat elektroforesis gel poliakrilamid; (B) Penyaringan oleh gel yang berpori (Sumber : Berg, 2015).

Setelah didenaturasi, protein dapat dipisahkan berdasarkan massanya dengan metode SDS-PAGE. Campuran protein mula-mula dilarutkan dalam larutan SDS dan ditambahkan dengan merkaptoetanol atau ditiotreititol untuk mereduksi ikatan disulfida. Anion SDS akan berikatan pada rantai utama dengan erbandingan satu SDS untuk tiap dua residu asam amino, sehingga terbentuk kompleks SDS dengan protein terdenaturasi. Kompleks SDS dengan protein yang terdenaturasi kemudian dilakukan elektroforesis dengan gel poliakrilamida. Arah elektroforesis dilakukan dari atas ke bawah. Setelah terjadi pemisahan, protein dalam gel dapat dilihat setelah diwarnai dengan perak atau zat pewarna biru seperti biru Coomassie, yang nantinya akan terlihat seperti pita-pita protein (Gambar 2.14).



Gambar 2.14 Pita protein yang terlihat setelah pewarnaan dengan *Coomassie Brilliant Blue* (Sumber : Berg, 2015).

2.5 Imunomodulator

Imunomodulator merupakan suatu senyawa alami maupun sintetis yang membantu mengatur atau menormalkan sistem kekebalan tubuh. Imunomodulator memperbaiki sistem kekebalan tubuh yang tidak seimbang. Imunomodulator alami kurang kuat apabila dibandingkan dengan imunomodulator yang diresepkan dan juga lebih kecil kemungkinannya untuk menyebabkan efek samping. Manfaat imunomodulator berasal dari kemampuan mereka untuk merangsang mekanisme pertahanan alami dan adaptif, seperti sitokin, yang memungkinkan tubuh untuk membantu dirinya sendiri. Imunomodulator dibagi menjadi dua jenis yaitu,

imunosupresan dan imunostimulan. Imunosupresan adalah agen yang menekan sistem kekebalan tubuh dan digunakan untuk mengendalikan respon imun patologis pada penyakit autoimun, penolakan cangkok, dan lain-lain. Imunostimulan adalah agen yang dipertimbangkan untuk meningkatkan daya tahan tubuh terhadap infeksi, meningkatkan tingkat kekebalan respon imun, dan pada individu dengan gangguan respon imun sebagai agen imunoterapi (Patil, 2012).

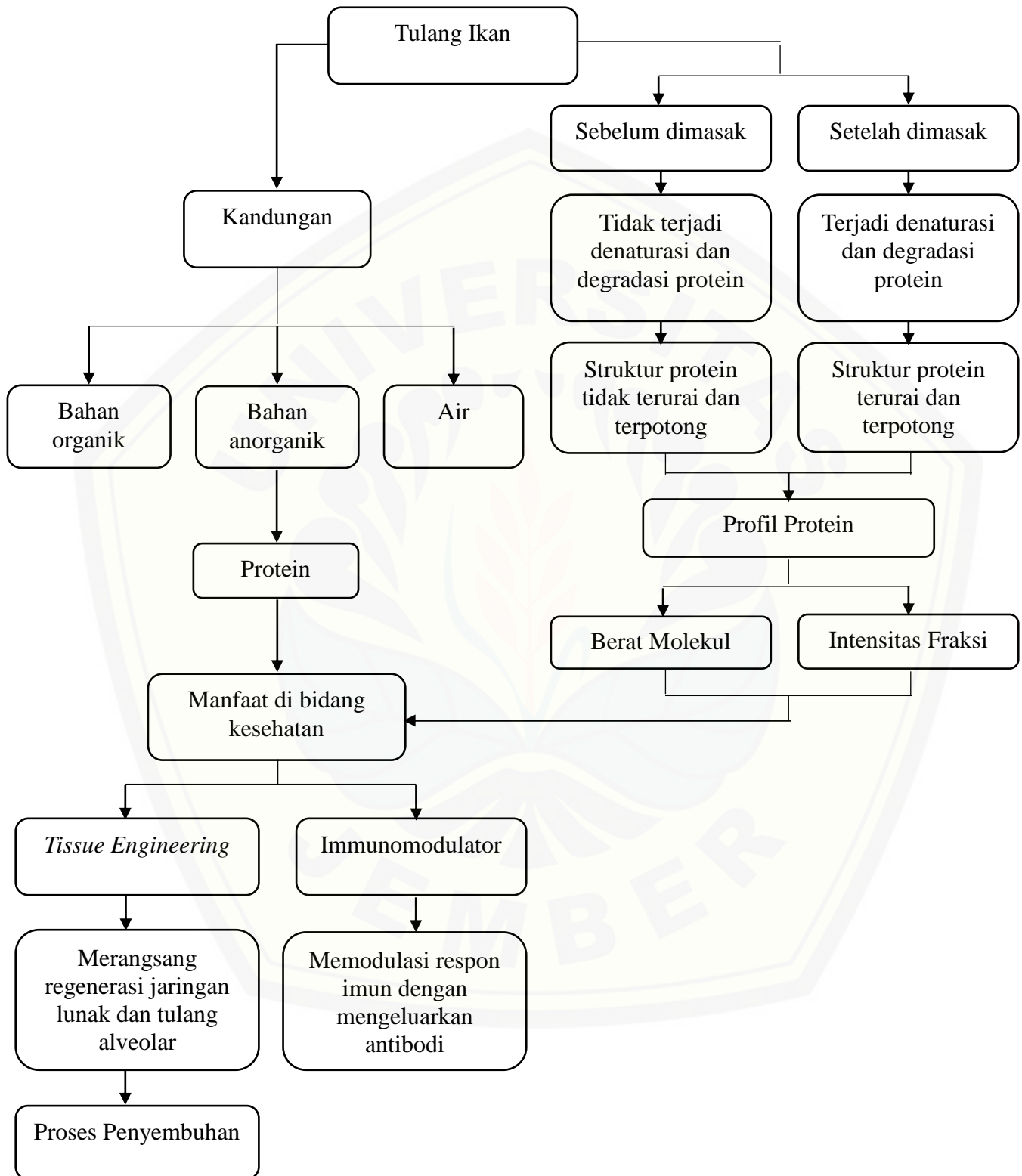
Beberapa asam amino memiliki fungsi sebagai immunomodulator. Glisin dapat merangsang produksi dan pelepasan IL-2 dan antibodi sel B sehingga berkontribusi untuk meningkatkan fagositosis. Glisin dan asam glutamat merupakan komponen esensial bagi sel untuk mensintesis glutathione yang dapat merangsang aktivasi dan proliferasi sel NK. Arginin dapat meningkatkan imunitas sel dengan mempromosikan aktivasi dan proliferasi sel T (Ridhowati, 2011).

2.6 Tissue Engineering

Tissue Engineering merupakan suatu ilmu dalam biomedik yang bertujuan untuk pengembangan, pengganti, pemulihan, dan peningkatan fungsi jaringan (Saxena, 2005). *Tissue engineering* terdiri dari tiga komponen yaitu, sel, *signaling molecules/ growth factors*, dan bahan pembawa (*scaffold*). Scaffold dapat berasal dari tulang hewan dan berfungsi untuk memfasilitasi proliferasi dan produksi matriks, memberikan keuntungan (Rantam, 2014).

Kombinasi antara ketiga komponen yang telah disebutkan diharapkan akan menghasilkan konstruksi jaringan yang mempunyai fungsi, struktur, dan sifat mekanik hampir sama atau lebih baik dari jaringan asal yang digantikan. Kerusakan atau kehilangan jaringan tubuh akibat adanya luka atau penyakit tertentu dapat diatasi dengan menggunakan teknik *tissue engineering* dan jaringan baru yang terbentuk dapat berintegrasi dengan jaringan aslinya sendiri. Proses *tissue engineering* meliputi pengambilan sel dari daerah donor, penempatan sel pada *scaffold*, menstimulasi proliferasi sel, mempertahankan atau meningkatkan diferensiasi sel, dan pada akhirnya adalah proses transplantasi kepada pasien (Permana, dkk, 2012).

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 2.15 Kerangka Konsep

Penjelasan Kerangka Konsep

Tulang ikan memiliki kandungan anorganik, organik, dan air. Salah satu kandungan organik yang menyusun tulang ikan adalah protein. Proses pemanasan dapat menyebabkan protein pada tulang ikan terdenaturasi dan terdegradasi sehingga protein dapat terurai, terputus, dan terpotong. Denaturasi protein tersebut dapat berpengaruh pada berat molekul dan intensitas dari protein. Dilihat dari berat molekul dan intensitas protein, tulang ikan memiliki banyak manfaat di bidang kesehatan. Salah satunya adalah sebagai bahan *tissue engineering* dan imunomodulator. Protein tulang ikan dapat dimanfaatkan sebagai *tissue engineering* dengan merangsang regenerasi pembentukan jaringan lunak dan tulang alveolar. Protein pada tulang ikan juga dapat dimanfaatkan sebagai imunomodulator dengan memodulasi respon imun untuk mengeluarkan antibodi. Fungsi protein sebagai imunomodulator dipengaruhi oleh berat molekul dari protein tersebut.

2.6 Hipotesis

Teridentifikasi profil protein berupa keberadaan, berat molekul dan intensitas protein SDS-PAGE tulang ikan nila sebelum dan sesudah dimasak.

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan penelitian deskriptif analitik yaitu melakukan penelitian dengan tujuan utama membuat gambaran atau deskripsi tentang profil protein SDS-PAGE tulang ikan nila sebelum dan sesudah dimasak secara objektif.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biosains Politeknik Negeri Jember.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2018 – Oktober 2018.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah pengolahan tulang ikan nila sebelum dan sesudah dimasak.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dari penelitian ini adalah profil protein tulang ikan nila.

3.3.3 Variabel Kendali

Variabel kendali dari penelitian ini adalah teknik ekstraksi, waktu penyimpanan sampel dan teknik SDS-PAGE.

3.4 Definisi Operasional

3.4.1 Limbah Tulang Ikan Nila

Limbah tulang ikan nila didapat dengan cara memisahkan bagian daging dan tulang ikan nila menggunakan pisau sampai tulang bersih sebelum dan sesudah dimasak.

3.4.2 Profil Protein Tulang Ikan Nila

Profil protein merupakan deskripsi tentang keberadaan dan ketebalan pita protein berdasarkan berat molekul dan intensitas dari fraksi protein yang terdapat pada tulang ikan nila sebelum dan sesudah dimasak yang didapatkan berdasarkan hasil elektroforesis dengan SDS-PAGE.

3.4.3 Metode SDS-PAGE

SDS-PAGE merupakan metode yang digunakan untuk mengidentifikasi profil protein dari tulang ikan nila sebelum dan sesudah dimasak yang dihitung berdasarkan ukuran dari berat molekul *protein marker*.

3.5 Sampel Penelitian

Sampel dari penelitian ini adalah tulang ikan nila. Ikan nila yang digunakan merupakan ikan nila segar sebanyak ± 2 kilogram yang didapatkan dari Sentra Budidaya Ikan Nila di Kabupaten Jember.

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat

- a. Kompor
- b. Pisau
- c. Panci
- d. Termometer
- e. Gelas Beaker
- f. Blender
- g. Ependorf

- h. Mikropipet
- i. Sentrifuge
- j. Waterbath
- k. Rangkaian alat elektroforesis
- l. Alat hitung waktu

3.6.2 Bahan

- a. Tulang ikan nila
- b. Buffer fosfat
- c. Akuades
- d. *Sample loading buffer* (Tris-ClO, 5 MpH 6,8, SDS 10 %, *glycerol* 10%, *bromophenol blue*)
- e. *Acrylamide*
- f. TEMED (*Tetramethylethylenediamine*)
- g. APS 10 % (*Amonium persulfat*)
- h. *Coomassie Brilliant Blue* (CBB)
- i. *Protein Marker* (Blue Prestained Protein Standard merk Nacalai 02525)

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Persiapan Sampel Tulang Ikan Nila Sebelum Dimasak

a. Pembersihan dan Pencucian Tulang Ikan Nila

Pertama-tama daging ikan nila yang belum dimasak dipisahkan dari tulangnya menggunakan pisau (Gambar 3.1).



Gambar 3.1 Daging ikan nila dipisahkan dari tulang

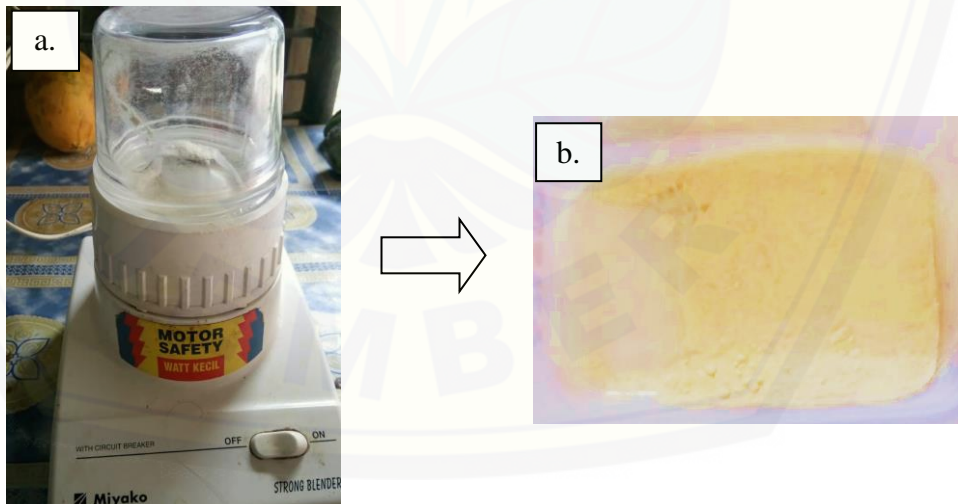
Tulang ikan yang didapat kemudian dipisahkan dari kepala dan ekor (Gambar 3.2). Kemudian tulang ikan dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan daging-daging ikan yang masih menempel pada tulang sampai cukup bersih, kemudian ditiriskan (Singkuku, 2017).



Gambar 3.2 Tulang ikan nila sebelum dimasak

b. Pembuatan Ekstrak Tulang Ikan Nila

1. Persiapan ekstraksi tulang ikan dilakukan dengan menghaluskan tulang ikan menggunakan blender (Gambar 3.3).



Gambar 3.3 Proses penghalusan tulang ikan menjadi bubuk
(a. Tulang ikan diblender; b. bubuk tulang ikan)

2. Tulang ikan yang telah halus dilarutkan menggunakan buffer fosfat dengan perbandingan 1 : 2 (b/v) (Rachmania dkk, 2017). Selanjutnya disimpan di dalam ependorf (Gambar 3.4).



Gambar 3.4 Pelarutan tulang ikan yang telah halus dengan buffer fosfat

3. Selanjutnya, dilakukan sentrifugasi menggunakan sentrifuge (Gambar 3.5) pada kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit (Atma, 2018).



Gambar 3.5 Sampel dalam sentrifuge

4. Setelah dilakukan sentrifugasi didapatkan supernatant (Gambar 3.6) yang akan digunakan dalam proses elektroforesis menggunakan SDS-PAGE.



Gambar 3.6 Supernatant ekstrak tulang ikan nila

3.7.2 Persiapan Sampel Tulang Ikan Nila Setelah Dimasak

- a. Ikan nila direbus (Gambar 3.7) dengan suhu 100°C yang dilihat menggunakan termometer selama 5 menit (Atma, 2018).



Gambar 3.7 Perebusan ikan nila

- b. Proses pembersihan, pencucian hingga pembuatan ekstrak tulang ikan nila pada tulang ikan nila sesudah dimasak sama seperti pada tulang ikan sebelum dimasak.

3.7.3 Elektroforesis dengan Teknik SDS-PAGE

- a. Ambil sampel dengan mikropipet sebanyak 5 μ l, kemudian tambahkan dengan *sample loading buffer* (Gambar 3.8).



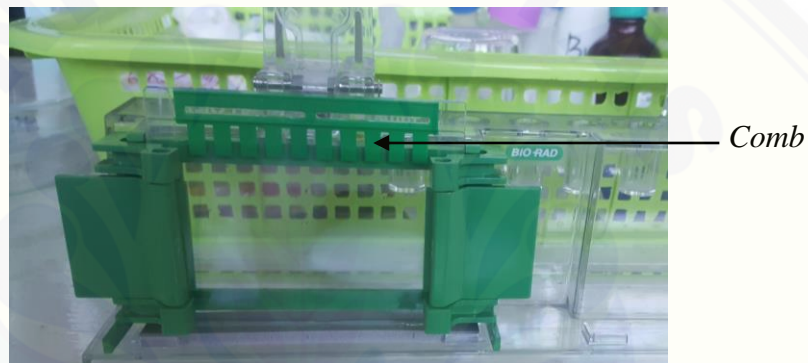
Gambar 3.8 Sampel yang telah ditambahkan dengan *sample loading buffer*

- b. Memanaskan sampel dalam *waterbath* selama 5 menit (Gambar 3.9).



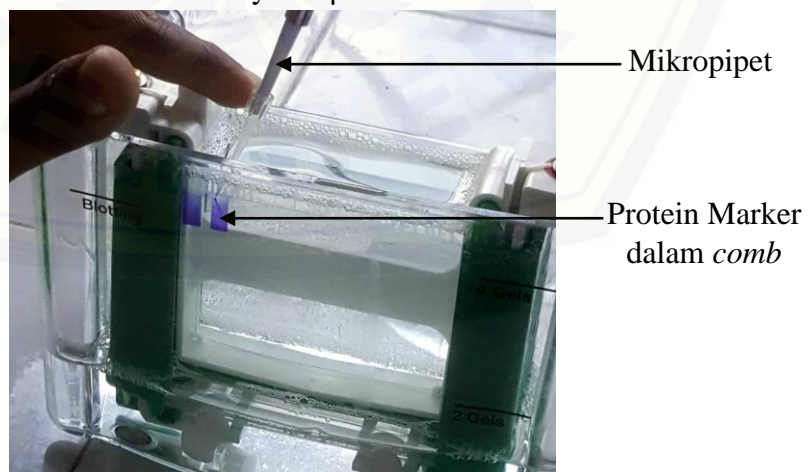
Gambar 3.9 Sampel dalam *waterbath*

- c. Mencetak *lower gel* 12,5 %. Bahan-bahan *running gel* 12,5 % (*acrylamide* 4,15 ml, 4x LGB (*Lower Gel Buffer*) 2,5 ml, *aquadest* 1,1 ml, TEMED 5 μ l, APS 10% 30 μ l) dicampur sampai homogen kemudian campuran tersebut dimasukkan ke dalam rangkaian plate elektroforesis.
- d. Mencetak *Upper gel*. Cara pembuatan *upper gel* sama seperti mencetak *lower gel*. Bahan-bahan *Upper gel* 5 % (*acrylamide* 0,9 ml, 4x UGB 1,5 ml, *aquadest* 3,6 ml, TEMED 9 μ l, APS 10 % 20 μ l) dicampur hingga homogen kemudian campuran tersebut dimasukkan di atas *lower gel* yang telah mengeras hingga penuh. Setelah itu, *comb* dimasukkan untuk membuat sumur-sumur dalam buffer (Gambar 3.10).



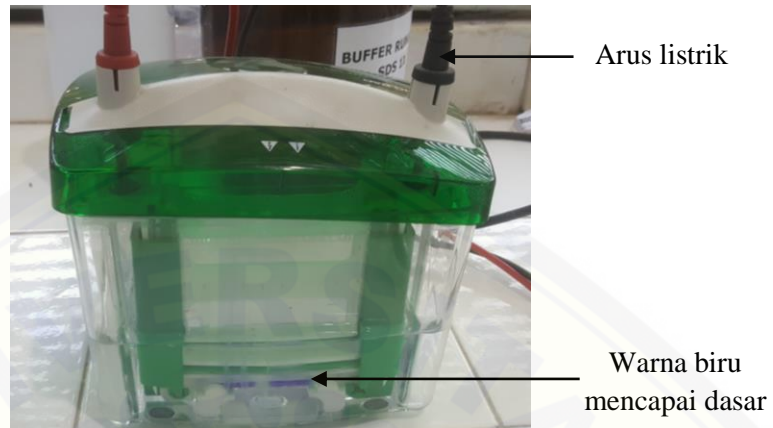
Gambar 3.10 Pemasangan *comb* dalam rangkaian alat elektroforesis

- e. Sampel dan *protein marker* yang telah dibuat dimasukkan ke dalam lubang *comb* (Gambar 3.11). *Protein marker* menggunakan *Blue Prestained Protein Standard* merk Nacalai 02525 sebanyak 3 μ l.



Gambar 3.11 Memasukkan sampel dan *protein marker* ke dalam *comb*

- f. Pemisahan protein dengan SDS-PAGE dilakukan dengan arus listrik 50-95 V. Proses ini dihentikan setelah warna biru mencapai dasar gel kurang lebih tiga sampai 5 jam (Gambar 3.12).



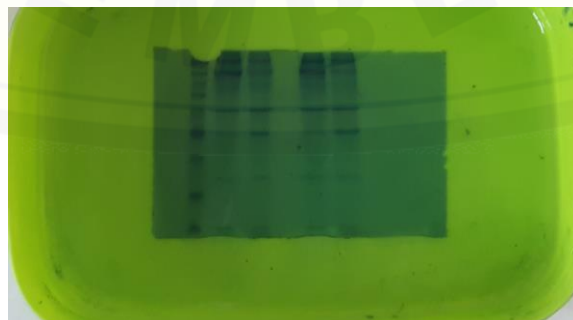
Gambar 3.12 Proses Elektroforesis SDS-PAGE

- g. Protein yang terpisah diwarnai dengan *Coomassie Brilliant Blue* (CBB) (Gambar 3.13).



Gambar 3.13 Pewarnaan dengan CBB

- h. Selanjutnya dilakukan pencucian dengan akuades sampai pita protein terlihat jelas (Gambar 3.14).



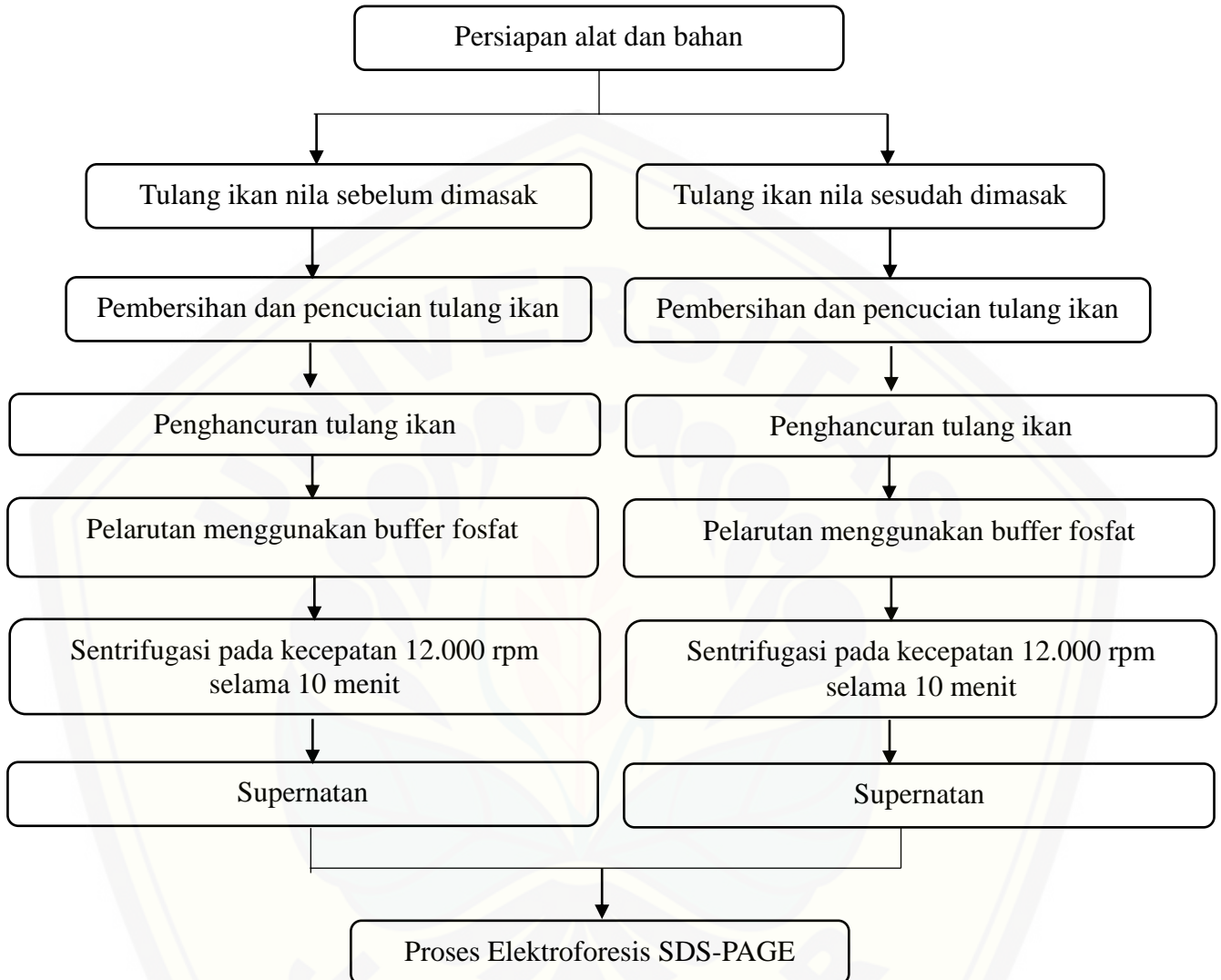
Gambar 3.14 Pencucian dengan akuades sampai pita protein terlihat jelas

- i. Melakukan analisis profil protein dengan melakukan perhitungan berat molekul (BM) dan intensitas protein menggunakan *software gel analyzer* (Laemmli, 1970; Hames, 2002).

3.8 Analisis Data

Hasil pembacaan pita-pita elektroforesis protein tulang ikan nila dianalisis dengan menggunakan analisis deskriptif untuk melihat profil protein pada tulang ikan nila sebelum dan sesudah dimasak. Pita-pita elektroforesis protein menunjukkan fraksi protein hasil SDS-PAGE yang nantinya akan menunjukkan berat molekul dan intensitas berdasarkan perhitungan menggunakan fraksi *protein marker* yang telah diketahui berat molekul sebelumnya.

3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.15 Alur Penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Profil protein hasil SDS-PAGE yang teridentifikasi pada tulang ikan nila sebelum dimasak terdapat 10 fraksi protein, yaitu 183 kDa, 121 kDa, 83 kDa, 46 kDa, 44 kDa, 40 kDa, 38 kDa, 30 kDa, 21 kDa dan 8 kDa, sedangkan pada tulang ikan nila sesudah dimasak didapatkan 8 fraksi protein, yaitu 183 kDa, 121 kDa, 83 kDa, 46 kDa, 38 kDa, 21 kDa, dan 8 kDa. Intensitas fraksi protein terbesar pada tulang ikan nila sebelum dimasak sebesar 6598 pixel pada BM 121 kDa dan intensitas fraksi protein pada tulang ikan nila sesudah dimasak terbesar adalah sebesar 4118 pixel pada BM 38 kDa.

5.2 Saran

1. Diperlukan penelitian lanjutan untuk mengetahui manfaat dari tulang ikan nila di bidang kesehatan sebagai imunomodulator, *scaffold* dan bahan *tissue engineering*;
2. Diperlukan penelitian lanjutan menggunakan metode lain seperti metode SDS-PAGE dua dimensi, sequencing dan western blot untuk mengidentifikasi nama protein secara spesifik pada fraksi protein tulang ikan nila sebelum dan sesudah dimasak;
3. Diperlukan penelitian lanjutan untuk mengetahui sifat dan karakter dari fraksi protein, seperti alergenitas dan imunogenik;
4. Diperlukan penelitian lanjutan untuk melihat profil protein pada konsentrasi gel elektroforesis SDS-PAGE yang berbeda;
5. Diperlukan penelitian lanjutan menggunakan protein marker yang memiliki broad range untuk melihat profil protein pada tulang ikan nila di atas BM 200 kDa dan di bawah BM 9 kDa;
6. Diperlukan penelitian lanjutan untuk melihat profil protein pada tulang ikan nila dengan lama pemanasan selama kurang dari 5 menit dan lebih dari 5 menit.

DAFTAR PUSTAKA

- Adawiyah, A. R. dan R. Selviastuti. 2014. Serburia Suplemen Tulang Ikan Bandeng dengan Cangkang Kapsul Alginat untuk Mencegah Osteoporosis. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa*. 4(1): 54-59.
- Ahmed, Nouh Eid. 2008. GelAnalyzer 3 ©: The first Arabic Bioinformatic software for gel analysis. *Journal of Cell and Molecular Biology*. 7(1):79-80.
- Aisyah, D., I. Mamat, M. Sontang, Z. Rosufila, dan N. M. Ahmad. 2012. Program Pemanfaatan Sisa Tulang Ikan untuk Produk Hidroksiapatit: Kajian di Pabrik Pengolahan Kerupuk Lekor Kuala Trengganu-Malaysia. *Indonesian Journal of Community Engagement*. 2(1): 14-29.
- Aldian, T.W., Tri W.P., Wiwit A.F.W., dan Hamidy.Y.P. 2016. Tingkat kepadatan fibroblas pada luka sayat menciit dengan pemberian gel lidah buaya (Aloe chinensis Baker). *Jurnal Ilmu Keperawatan*. 4(1): 1-11.
- Andriani, Yuli. 2018. *Budidaya Ikan Nila*. Yogyakarta : Deepublish.
- Arifin, M.Y. 2016. Pertumbuhan dan Survival Rate Ikan Nila (*Oreochromis. Sp*) Strain Merah dan Strain Hitam Yang Dipelihara Pada Media Bersalinitas. *Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi*. 16(1): 159-166.
- Atma, Y., Ramdhani, H., Mustopa, A. Z. Pertiwi, M. dan Maisarah, R. 2018. Karakteristik Fisikokimia Gelatin Tulang Ikan Patin (*Pangasius sutchi*) Hasil Ekstraksi Menggunakan Limbah Buah Nanas. *Jurnal Agritech*. 38(1): 56-63.
- Baratawidjaja, Karnen G. 2013. *Imunologi Dasar Edisi Ke 10*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Berg, J.M.; Tymoczko, J.L.; and Stryer, L. 2015. *Biochemistry 8th Edition*. United States : W.H.Freeman and Company.
- Boskey, A. L. 2013. Bone Composition: Relationship to Bone Fragility and Antiosteoporotic Drug Effects. *BoneKey Reports 2*. 2(447).
- Cahyono, B. 2010. *Budi Daya Ikan Air Tawar*. Yogyakarta : Kanisius.
- Coico, Richard dan Sunshine, Geoffrey. 2015. *Immunology : A Short Course, 7th Edition*. New Jersey : John Wiley and Sons, Inc.

- Elgert, Klaus D. 2009. *Immunology: Understanding The Immune System 2nd Edition*. New Jersey : John Wiley and Sons, Inc.
- Ghaly, Ramakrishnan, Brook, Budge dan Dave. 2013. Fish Processing Wastes as a Potential Source of Proteins, Amino Acids and Oils: A Critical Review. *Journal Microbial and Technology*. 5(4): 107-129.
- Hames, B. D. 2002. *Gel Electrophoresis Proteins Third Edition*. United States : Oxford University Press Inc.
- Harahap, M. R. 2018. Elektroforesis: Analisis Elektronika Terhadap Biokimia Genetika. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Teknik Elektro*. 2(1): 21-26.
- Haryanto, T. dan Ardi, B. S. 2015. Penggunaan Fitur Kimia Fisik Dan Posisi Atom Untuk Prediksi Struktur Sekunder Protein. *Jurnal Edukasi dan Penelitian Informatika*. 1(2): 1-6.
- James, J., Baker, C., Swain, H. 2008. *Prinsip-Prinsip Sains Untuk Keperawatan*. Jakarta: Penerbit Airlangga
- Kalfas, I. H. 2001. Principle of Bone Healing. *Neurosurg Focus*. 10(4): 7-10
- Katili, A. S. 2009. Struktur dan Fungsi Protein Kolagen. *Jurnal Pelangi Ilmu*. 2(5): 19-29.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2015. *Analisis Data Pokok Kelautan dan Perikanan 2015*. Jakarta: Pusat Data Statistik dan Informasi.
- Khairuman, H., dan Amri, K. 2012. *Pembesaran Nila di Kolam Air Deras*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Kordi, M. G. H. 2010. *Panduan Lengkap Memelihara Ikan Air Tawar di Kolam Terpal*. Yogyakarta : Andi.
- Kumar, H.M., Spandana, V., dan Poonam, T. 2011. Extraction And Determination of Collagen Petide And Its Clinical Importance From Tilapia Fish Scales (*Oreochromis niloticus*). *International Research Journal of Farmacy*. 2(10): 97-99.
- Liu, H. dan Huang, K. 2016. Structural Characteristics of Extracted Collagen from Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) Bone: Effects of Ethylenediaminetetraacetic Acid Solution and Hydrochloric Acid Treatment. *International Journal of Food Properties*. 19: 63-75.
- Marks, D. B., Marks, A. D. dan Smith, C. M. 1996. *Basic Medical Biochemistry : a clinical approach*. Philadelphia : Wolters Kluwer Health, Lippincott

- Williams & Wilkins. Terjemahan oleh Brahm U. Pendit. 2012. *Biokimia Kedokteran Dasar : Sebuah Pendekatan Klinis*. Jakarta : EGC.
- Marta'ati, M. dan S. Handajani. 2015. Pengaruh Penambahan Tepung Tulang Ikan Tuna (*Thunus sp.*) dan Proporsi Jenis Shortening Terhadap Sifat Organoleptik *Rich Biscuit*. *E-Journal Boga*. 4(1): 153-161.
- Masyitoh, Miftah Dewi, Dewanti, I.D.A.R., Setyorini, D. 2016. Analisis Profil Protein Ekstrak Aquades dan Etanol Daun Mimba (*Azadirachta Indica A. Juss*) dengan Metode SDS-PAGE. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 4(3): 533-539.
- Mills ENC, Valovirta E, Madsen C, Taylor S L, Vieths S, Anklam E, Baumgartner S, Koch P, Crevel RWR, Frewer L. 2004. *European Union Forum: Information provision for allergic consumers—where are we going with food allergen labelling*. *Allergy*. 59:1262–1268.
- Murniyati, Dewi, F. R., dan Peranginangin, R. 2014. *Teknik Pengolahan Tepung Kalsium Dari Tulang Ikan Nila*. Jakarta : Penerbit Swadaya.
- Mutmainah, S. Chadijah, dan W. O. Rustiah. 2017. Hidroksiapatit dari Tulang Ikan Tuna Sirip Kuning (*Tunnus albacores*) dengan Metode Presipitasi. *Jurnal Al-Kimia*. 5(2): 119-126.
- Nugroho, E. 2017. *Panen Nila 500 Gram Per Ekor*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Panil, Z. 2008. *Memahami Teori dan Praktik Biokimia Dasar Medis*. Jakarta : EGC.
- Patil, U.S., Jeydeokar, A.V. dan Bandawane, D.D. 2012. Immunomodulators: A Pharmacological Review. *International Joournal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 4(1): 30-36.
- Peranginangin, R., Murniyati, Nurhayati, Rahmad, W. 2014. *Pengolahan Kolagen Kulit Ikan Nila*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Permana, H. J., Rizqi, F., dan Defrigunawan, A. I. 2012. Inovasi Tissue Engineering Menggunakan Limbah Ikan Sebagai Biomaterial Pengisi Soket Pasca Ekstraksi. *Jurnal Material Kedokteran Gigi*. 1(2): 106-111.
- Pertiwi, M., Atma, Y., Mustopa, A.Z., dan Maisarah, R. 2018. Karakteristik Fisik dan Kimia Gelatin dari Tulang Ikan Patin dengan PreTreatment Asam Sitrat. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 7(2): 83-91.
- Pratiwi, R. 2001. Mengenal Metode Elektroforesis. *Oseana*. 26(1): 25-31.

- Rachmania, R. A., Wahyudi, P., Wardani, A. M. dan Insani, D. R. 2017. Profil Berat Molekul Enzim Protease Buah Nanas (*Ananas Comosus L.Merr*) Dan Pepaya (*Carica Papaya L.*) Menggunakan Metode SDS-PAGE. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*. 13(1) : 52 – 65.
- Rantam, F.A., Ferdiansyah, dan Purwati. 2014. *Stem Cell : Mesenchymal, Hematopoetik, dan Model Aplikasi Edisi Kedua*. Surabaya : Airlangga University Press.
- Ridhowati, S. 2015. Profil Asam Amino Dan Asam Lemak Pada Teripang Pasir (*Holothuria Scabra*) Olahan Belitung. *Jurnal Matematika, Saint dan Teknologi*. 16(2) : 20-27.
- Robbin. 2007. *Buku Ajar Patologi Volume 1*. Jakarta : RGC.
- Said, A. 2007. *Budidaya Mujair & Nila*. Jakarta : Azka Press.
- Sanchez, F.H. dan Morales, M.E.A. 2012. Nutritional Richness and Importance of the Consumption of Tilapia in the Papaloapan Region. *Revista Electronica de Veterinaria*. 13(6): 1-12.
- Saxena, A.K. 2005. Tissue Engineering: Present Concepts and Strategies. *Journal Indian Association Pediatrics Surgery*. 10(1): 14-19.
- Schwartz S.I., Shires G.T., Spencer F.C. 2000. *Intisari Prinsip-Prinsip Ilmu Bedah Edisi 6*. Jakarta: EGC.
- Silva, R. F., dkk. 2015. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. *BioMed Research International Hindawi Publishing Corporation*. 2015: 1-17.
- Singkuku, F.T., Onibala, H. dan Agustin, A. T. 2017. Ekstraksi Kolagen Tulang Ikan Cakalang (*Katsuwonus Pelamis L.*) Menjadi Gelatin Dengan Asam Klorida. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*. 5(3) : 163-166.
- Sinlae, R.N., Suwiti, N.K., dan Suardana, I.W. 2015. Karakteristik Protein Dan Asam Amino Daging Sapi Bali Dan Wagyu Pada Penyimpanan Suhu Dingin 4°C. *Buletin Veteriner Udayana*. 7(2): 146-156.
- Sumardjo, Damin. 2009. Pengantar Kimia (Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksakta). Jakarta : EGC.
- Sugiharsono, Akbar Cendia, Dewanti, I.D.A Ratna, Sulistyani, Erna. 2014. Analisis Profil Protein Ekstrak Biji Mimba (*Azadirachta Indica A. Juzz*) dengan Pemanasan Basah sebelum Ekstraksi melalui Metode SDS-PAGE.

- Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Siswa*. 2014: 1-7.
- Sunarto. 2011. Karakteristik Pola Pita Protein Anodonta Woodiana Lea Akibat Terpapar Logam Berat Cadmium (Cd). *Jurnal Ekosains*. 3(1): 41-46.
- Suprayitno, E. dan Sulistiyani, T. D. 2017. *Metabolisme Protein*. Malang : UB Press.
- Szpak, P. 2011. Fish Bone Chemistry and Ultrastructure: Implications for Taphonomy and Stable Isotope Analysis. *Journal of Archaeological Science*. (38): 3358-3372.
- Toppe J, S. Albrektsen, B. Hope, dan A. Aksnes. 2007. *Chemical Composition, Mineralcontent and Amino Acid and Lipid Profiles in Bones from Various Fish Species. Journal Comparative Biochemistry and Physiology Part B*: 395-401.
- Vacklavik, V. A. and Christian E. W. 2008. *Essentials of Food Science*. New York : Springer Science Business Media LLC.
- Vignesh, R. and Srinivasan, M. 2012. Nutritional quality of processed head and bone flours of Tilapia (*Oreochromis mossambicus*, Peters 1852) from Parangipettai estuary, South East Coast of India. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. S368-S372.
- Yanuhar, U. 2009. Mekanisme Infeksi Vibrio Pada Reseptor Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 1(1): 15-20.
- Yazid, E. dan Nursanti, L., 2006. *Penuntun Praktikum Biokimia*. Yogyakarta : Penerbit Andi.
- Yoshida S, Sudo T, Niimi M, Tao L, Sun B, Kambayashi J, Watanabe H, Luo E, Matsuoka H. 2008. Inhibition of collagen-induced platelet aggregation by anopheline antiplatelet protein, a saliva protein from a malaria vector mosquito. 111(4).
- Zahidah, I.I., Esfandiari dan Choliq. 2014. Profil Protein Total, Albumin, Globulin dan Rasio Albumin Globulin Sapi Pejantan. *JITV*. 19(2): 123-129.
- Zurick, Kevin M., Qin, Chunlin., and Bernards, M. T. 2012. Mineralization Induction Effects of Osteopontin, Bone Sialoprotein, and Dentin Phosphoprotein on a Biomimetic Collagen Substrate.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3619013/>. [Diakses pada 22 Februari 2016].



LAMPIRAN

Lampiran A. Surat Keterangan Identifikasi Ikan



PEMERINTAH KABUPATEN JEMBER
DINAS PERIKANAN

Jl. Letjend Suprpto Nomor 139 Telp. (0331) 5101314
JEMBER - 68122

HASIL ANALISA

Berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen hewan yang dikirim ke Dinas Perikanan Kabupaten Jember oleh ;

Nama : ALODIA GERALDA KHANSA SUBAGIONO
NIM : 151610101002
Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Jember

Maka dapat disimpulkan hasilnya bahwa specimen tersebut adalah :

Kingdom : *Animalia*
Filum : *Chordata*
Subfilum : *Vertebrata*
Kelas : *Osteichthyes*
Subkelas : *Acanthopterygii*
Ordo : *Percomorphi*
Subordo : *Percoidea*
Famili : *Cichlidae*
Genus : *Oreochromis*
Spesies : *Oreochromis niloticus*
Nama Inggris : *Nile Tilapia*
Nama Indonesia : *Nila*

Demikain surat keterangan ini dibuat, untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 13 Agustus 2018

An. KEPALA DINAS PERIKANAN
KABUPATEN JEMBER
Kepala Bidang Perikanan Budidaya



Ir. TIGO DEWANTO
Pembina

NIP. 19670829 199303 1 002

Lampiran B. Foto Alat Penelitian



a. Glass Beaker



b. Thermometer



c. Alat Hitung Waktu



c. Ependorf



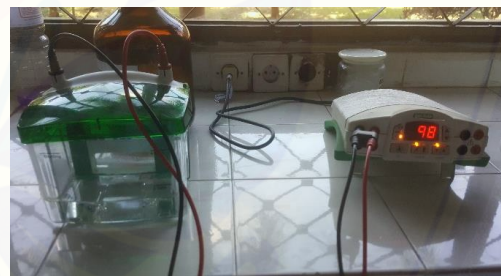
d. Mikropipet



e. Sentrifuge

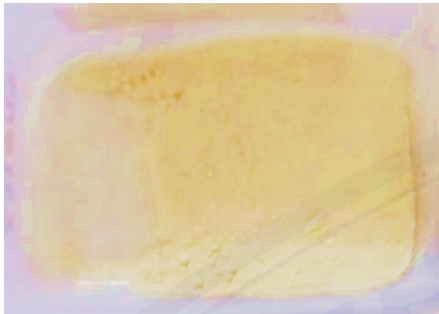


e. Waterbath



f. Alat Elektroforesis

Lampiran C. Foto Bahan Penelitian



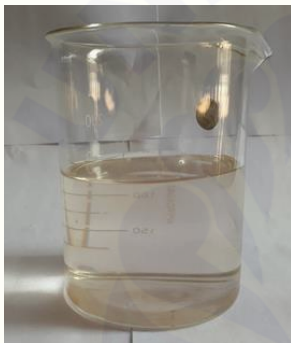
a. Tulang Ikan Nila



b. Buffer Fosfat



c. Buffer Loading



d. Acrylamide



e. TEMED



f. APS

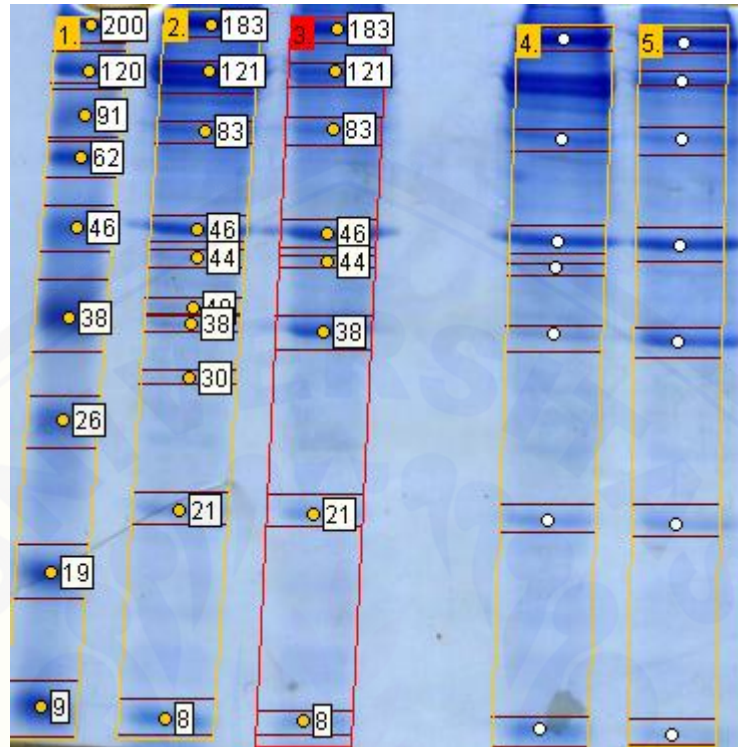


g. Coomassie Brilliant Blue (CBB)



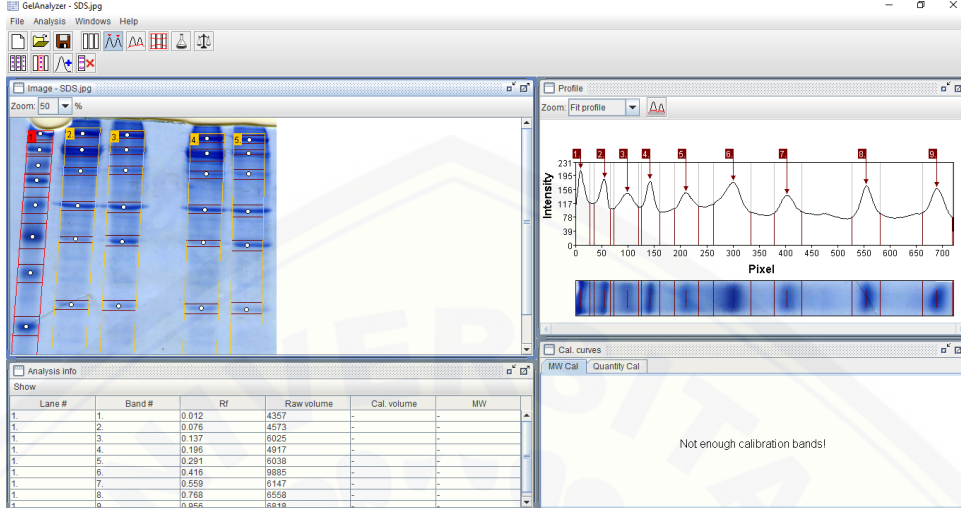
h. Protein Marker

Lampiran D. Hasil Scanning Fraksi Protein

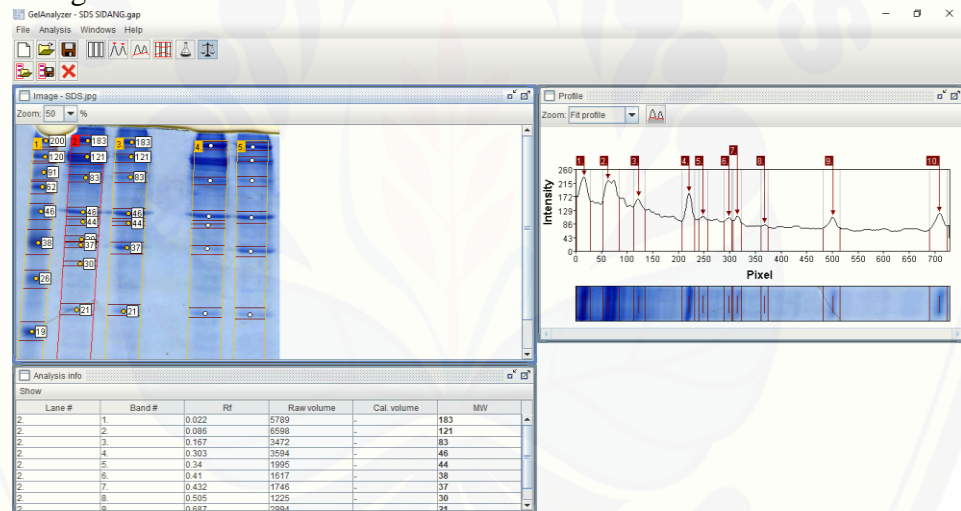


Lampiran E. Analisa Software Gel Analyzer 2010

a. Protein Marker



b. Tulang Ikan Nila Sebelum Dimasak



c. Tulang Ikan Nila Setelah Dimasak

