

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Albumin adalah salah satu jenis protein globular yang tersusun dari molekul polipeptida yang berbentuk bulat dan elips (Yuniati et al., 2024). Albumin tergolong ke dalam protein yang memiliki kemampuan untuk larut dalam air, memiliki ukuran molekul 66.000 Da dengan struktur molekul yang stabil dan memiliki kontribusi yang mencapai 80% untuk tekanan osmosis koloidal (oncotic) dalam plasma darah (Yuliana et al., 2019). Albumin umumnya digunakan sebagai bahan campuran untuk mempercepat proses penyembuhan. Hal tersebut dikarenakan, albumin dapat mempercepat proses regenerasi suatu sel (Yuniati et al., 2024). Selain itu, albumin juga berfungsi sebagai alat transport untuk hormon, enzim, asam lemak, ion logam dan juga obat (Yuliana et al., 2019). Mekanisme dari sebuah albumin dalam proses regenerasi sel yaitu albumin akan terlibat pada *scavenger* bebas oksigen radikal yang akan terlibat dalam proses *pathogenesis* penyakit inflamasi. Mekanismenya, albumin akan menghambat dari adanya proses radikal bebas oksigen oleh polimorfonuklear leukocytes. Berdasarkan data IMS Health, menunjukkan bahwa potensi pasar nasional dari albumin mencapai Rp 400 M pada tahun 2014 dan akan terus meningkat setiap tahunnya. Sehingga, berdasarkan hal tersebut menunjukkan bahwa kebutuhan akan albumin dalam negeri masih sangat tinggi. Salah satu sumber bahan baku yang dapat digunakan proses ekstraksi albumin yaitu ikan gabus.

Ikan gabus (*Channa striata*) adalah jenis ikan air tawar yang termasuk dalam famili Channidae (G. K. Rahayu et al., 2021). Ikan ini mampu bertahan hidup selama musim kemarau dengan menggali lumpur yang terdapat pada danau, kanal dan juga rawa. Ciri-ciri dari ikan gabus yaitu memiliki tubuh yang memanjang, kepala yang memiliki sisik yang berbentuk pipih dan lebar, memiliki mata yang terletak pada bagian anterior kepala, memiliki sirip di punggung yang lebih panjang dibandingkan dengan sirip pada ekor, memiliki warna tubuh pada bagian punggung yaitu hijau kehitaman dan warna putih dan krem pada bagian perut (Rizki & Abdullah, 2021). Ukuran dari ikan gabus terbagi antara tiga yaitu untuk ukuran kecil memiliki berat 600 g, ukuran sedang sebesar 600-900 g dan ukuran besar memiliki berat lebih dari 900 g. Komposisi gizi ikan gabus yaitu mengandung 13% kadar air, 23% kadar abu, 64% protein, dan 2% lemak. Berdasarkan komposisi gizi dari ikan gabus tersebut dapat dikatakan bahwa albumin memiliki kadar protein yang lebih tinggi dibandingkan jenis komposisi nutrisi lainnya (Permatasari et al., 2021). Manfaat ikan gabus yaitu dikarenakan, ikan gabus memiliki kandungan protein yang tinggi dan banyak dalam bentuk albumin dan secara ilmiah dapat dikatakan bahwa ikan gabus dapat meningkatkan kadar albumin dalam tubuh dan juga dapat mempercepat proses penyembuhan luka pasca-operasi (Tungadi, 2020). Kandungan albumin ikan gabus yaitu 3,3076 gr/dL dan pada ikan gabus jenis toman yaitu 3,6147 g/dL (Nurilmala M et al., 2020). Pemanfaatan ekstrak protein ikan gabus dinilai masih kurang maksimal hal tersebut dikarenakan terdapat makromolekul lain seperti lemak yang melekat pada komponen albumin, yang dapat menghambat kemurnian dan efektivitas

albumin yang diekstraksi. Oleh karena itu, diperlukan proses ekstraksi yang tepat untuk memisahkan protein dari komponen lainnya sehingga, pemilihan menggunakan metode ekstraksi menjadi sebuah pertimbangan dalam proses ekstraksi albumin.

Salah satu metode ekstraksi yang telah banyak diaplikasikan adalah UAE. Teknologi ekstraksi modern seperti Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) menawarkan keunggulan signifikan dalam hal efisiensi dan kualitas ekstrak yang dihasilkan. UAE memanfaatkan gelombang ultrasonik berfrekuensi tinggi (umumnya 20–100 kHz). Mekanisme dalam proses ekstraksi albumin pada metode ultrasound yaitu gelombang ultrasonik yang dihasilkan akan menyebabkan terjadinya peningkatan suhu dan tekanan cairan pada sekitar gelembung mikro, sehingga akan menyebabkan terjadinya kerusakan sel dan membran dan juga terjadi penetrasi pelarut ke dalam bahan (Kumoro et al., 2024). penggunaan metode UAE dinilai dapat meningkatkan proses ekstraksi albumin ikan gabus dikarenakan pada metode ini menggunakan energi kavitasi yang membantu mengoptimalkan proses ekstraksi. Menurut penelitian (Hidayatullah et al., 2023) menunjukkan bahwa ekstraksi albumin pada ikan gabus jauh lebih baik dengan menggunakan akuades pada suhu 56°C dan memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan menggunakan metode asam, metode MAE metode memasak dan UAE pada suhu 56°C yaitu dengan kadar albumin 16,7% Hidayatullah et al (2023). Selain itu, pada penelitian Kumoro et al., (2024) menunjukkan bahwa ekstraksi albumin ikan gabus dengan metode UAE dengan frekuensi 25 kHz pada suhu 40°C dan 200 W menghasilkan kadar protein sebesar 73,17% dibandingkan dengan menggunakan metode ekstraksi secara konvensional sehingga, berdasarkan hal tersebut, ekstraksi albumin dengan menggunakan metode tersebut dapat optimal dalam proses ekstraksi albumin pada ikan gabus. Selain itu, berdasarkan penelitian (Kumoro et al., 2024) yang mengekstraksi ikan gabus dengan metode UAE, akan tetapi, dalam penelitian tersebut memiliki kekurangan yaitu menggunakan pelarut yang tidak ramah lingkungan dan memerlukan perlakuan lebih lanjut. Selain itu, pada penelitian (Hidayatullah et al., 2023) mengekstraksi albumin ikan gabus dengan berbagai jenis metode ekstraksi termasuk metode UAE akan tetapi, pada penelitian tersebut tidak mengontrol perlakuan frekuensi dan juga lama waktu ekstraksi sehingga, berdasarkan pernyataan tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengoptimalkan proses ekstraksi albumin ikan gabus dengan metode UAE.

1.2 Rumusan Masalah

Ikan gabus (*Channa striata*) adalah jenis ikan air tawar yang termasuk dalam famili Channidae. Ikan ini mampu bertahan hidup selama musim kemarau dengan menggali lumpur yang terdapat pada danau, kanal dan juga rawa. Ikan gabus ini tergolong ke dalam jenis ikan yang tinggi akan kandungan protein salah satunya yaitu albumin. Albumin adalah salah satu jenis protein globular yang tersusun dari molekul polipeptida yang berbentuk bulat. Albumin dalam pemanfaatan secara luas salah satunya untuk mempercepat proses penyembuhan. Albumin saat ini ditemukan banyak ditemukan pada bahan pangan salah satunya ikan gabus. Metode UAE

(ultrasonic assisted extraction) menjadi salah satu metode yang dapat digunakan dalam mengoptimalkan proses ekstraksi albumin yaitu dengan. Akan tetapi saat ini optimalisasi metode ini masih belum dikaji lebih lanjut. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kondisi optimum dari proses ekstraksi albumin ikan gabus.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu:

1. Untuk menganalisis pengaruh frekuensi dan lama waktu ekstraksi albumin menggunakan metode UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*)
2. Untuk memperoleh kondisi ekstraksi albumin ikan gabus yang optimum menggunakan metode UAE (ultrasound assisted extraction) berdasarkan kadar protein, albumin, berat molekul dan gugus fungsi.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat sumber informasi terkait proses optimum dalam produksi albumin ikan gabus menggunakan metode metode UAE (ultrasound assisted extraction).

BAB II. METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan Juni-Agustus 2025, Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Pangan dan Laboratorium Analisa dan Pengendalian Mutu Pangan, Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Departemen Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin, Makassar.

2.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam proses penelitian ialah, timbangan analitik, pipet ukur, pipet volume, tabung reaksi, gelas ukur, spektrofotometer, erlenmeyer, dan Fourier Transform Infrared Spectrophotometer (FTIR), ultrasonicator (Tomi) Spesifikasi 20 kHz-60 kHz,

Bahan-bahan yang digunakan dalam proses penelitian ialah ikan gabus, Bovine Serum Albumin (BSA), folin-ciocalteu, NaOH, $C_4H_4K_2O_6$ (kalium tartarat), $CuSO_4$, indikator BCG, dan HCl 0,125 N, reagen bromokresol hijau (BGG) 0,01%, NaOH, HCl 0,02 M dan akuades,

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Preparasi Sampel

Ikan gabus disiangi dengan cara dibersihkan dari kepala, isi perut, kulit dan sisiknya. Kemudian, ikan gabus difillet untuk memperoleh dagingnya. Kemudian, daging ikan dihaluskan hingga diperoleh sampel daging ikan gabus.

2.3.2 Ekstraksi Albumin Ikan Gabus

Ikan gabus hasil *defatting* menggunakan enzim lipase ditimbang dan diberikan pelarut berupa akuades dengan perbandingan sampel dan pelarut sebanyak 1:6. Lalu, dihomogenkan menggunakan ultraturax selama 1 menit. Kemudian dilakukan ekstraksi albumin menggunakan metode UAE berdasarkan perlakuan frekuensi dan lama waktu ekstraksi. Proses ekstraksi dilakukan dengan mengontrol suhu sampel tetap terjaga agar tidak terjadi denaturasi. Setelah itu, sampel disentrifus dingin menggunakan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan antara komponen padatan dan ekstrak. Hasil sampel yang diambil adalah berupa hidrolisat protein. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya diuji kadar protein terlarut, kadar albumin, berat molekul metode SDS PAGE, dan komposisi fisikokimia menggunakan FTIR.

2.4 Desain Penelitian

Desain dari penelitian ini yaitu dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor yaitu frekuensi dan lama waktu ekstraksi. Perlakuan yang ada selanjutnya akan diuji kadar protein terlarut, berat molekul metode SDS-PAGE, kadar albumin, dan pengujian FTIR.

Tabel 1. Perlakuan Tahap Proses Ekstraksi Protein Metode UAE

Faktor	Kode Sampel	Keterangan
A (Frekuensi)	A1	25 kHz
	A2	35 kHz
	A3	45 kHz
B (Waktu ekstraksi)	B1	15 menit
	B2	30 menit
	B3	45 menit

Perlakuan

A1B1	Frekuensi 25 kHz selama 15 menit
A1B2	Frekuensi 25 kHz selama 30 menit
A1B3	Frekuensi 25 kHz selama 45 menit
A2B1	Frekuensi 35 kHz selama 15 menit
A2B2	Frekuensi 35 kHz selama 30 menit
A2B3	Frekuensi 35 kHz selama 45 menit
A3B1	Frekuensi 45 kHz selama 15 menit
A3B2	Frekuensi 45 kHz selama 30 menit
A3B3	Frekuensi 45 kHz selama 45 menit

2.5 Parameter Pengujian

2.5.1 Analisis Kadar Protein Terlarut (Lowry *et al.*, 1951)

2.5.1.1 Pembuatan Larutan Standar Protein (Bovine Serum Albumin)

Padatan BSA ditimbang sebanyak 28 mg. Kemudian, dilarutkan menggunakan akuades hingga 20 mL. Selanjutnya, sampel dihomogenkan. Kemudian, sebanyak 4,5 mL larutan standar BSA diambil dan dilakukan pengujian kadar protein.

2.5.1.2 Pembuatan Reagen A

Prosedur pembuatan reagen A dilakukan dengan menyiapkan larutan folin ciocalteu dan akuades. Selanjutnya kedua larutan dicampurkan dengan perbandingan 1:1. Lalu, dihomogenkan hingga diperoleh larutan reagen A.

2.5.1.3 Pembuatan Reagen B

NaOH sebanyak 0,4 g ditimbang dan dilarutkan dengan akuades sebanyak 100 ml. Selanjutnya sebanyak 1,93 g NaOH ditambahkan. Kemudian dihomogenkan hingga diperoleh larutan reagen B.

2.5.1.4 Pembuatan Reagen C

$C_4H_4K_2O_6$ sebanyak 1 g ditimbang dan dilarutkan dengan akuades sebanyak 100 ml. Selanjutnya sebanyak 0,5 g $CuSO_4$, ditambahkan. Kemudian dihomogenkan hingga diperoleh larutan reagen C.

2.5.1.5 Pembuatan Reagen D

Reagen B dipipet sebanyak 25 mL. Selanjutnya, ditambahkan dengan reagen C sebanyak 0,5 mL. Kemudian dihomogenkan hingga diperoleh larutan reagen D.

2.5.1.6 Pembuatan Kurva Standar

BSA (*Bovine Serum Albumin*) pada penelitian ini digunakan sebagai standar. Konsentrasi pada masing-masing diantaranya 0.02; .04; 0.08; 0.16; dan 0.32 mg/mL. Kemudian, sebanyak 2 mL dari setiap tabung diambil dan dimasukkan kedalam tabung reaksi lainnya. Selanjutnya sebanyak 2,75 mL reagen D ditambahkan dan dihomogenkan. Setelah itu, diinkubasi pada suhu ruang selama 15 menit. Selanjutnya, sebanyak 0,25 mL reagen A ditambahkan, dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Kemudian, sampel diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 650 nm.

2.5.1.7 Pengukuran Kadar Protein

Sampel sebanyak 2 ml dan diberi perlakuan yang sama seperti pada pembuatan kurva standar. Selanjutnya, diukur nilai absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 650 nm. Kemudian, disubstitusikan pada persamaan kurva standar ($y = 0,6811x + 0,051$) yaitu :

$$Y = ax + b$$

$$X = \frac{y-b}{a} FP$$

Keterangan:

Y = Absorbansi

X = Kadar protein (mg/mL)

FP = Faktor pengenceran

2.5.2 Analisis Berat Molekul Metode SDS-PAGE (Wahyudi, 2017)

Pewarnaan sampel dilakukan dengan cara gel direndam dalam larutan yang berwarna selama 1 jam dan dihomogenkan dengan *shaker* pada kecepatan 35 rpm. Kemudian, setelah melalui proses pewarnaan, gel tersebut dicuci menggunakan akuades. Selanjutnya, gel direndam kembali pada larutan *destaining*. Prosedur tersebut diulangi setiap 12 jam sekali hingga diperoleh gel yang jernih. Selanjutnya, ketika diperoleh hasil visualisasi gel, lalu dilakukan perhitungan perkiraan berat molekul dari masing-masing sampel. Perhitungan dilakukan dengan cara mengukur dari jarak migrasi pita protein. Nilai R_f dihitung menggunakan rumus berikut :

$$R_f = \frac{X_1}{X_2}$$

Ket :

X_1 = Jarak migrasi protein

X_2 = Jarak migrasi warna

Selanjutnya, dibuat kurva standar. Lalu, masing-masing pita plot ditentukan nilai R_f berdasarkan kurva standar. Nilai R_f pada masing-masing perlakuan dengan cara membagi jarak setiap pita dengan jarak migrasi total. Kemudian, dihitung log BM dari setiap BM pita marker, Bm dari pita pada sampel dihitung menggunakan persamaan linear ($Y = a + bx$), dimana nilai log BM sebagai sumbu x dan R_f sebagai sumbu Y.

2.5.3 Pengujian Kadar Albumin (Niga et al., 2022)

Analisis kadar albumin yaitu membutuhkan reagen dari pereaksi albumin yakni, bromokresol hijau (BGG). Pengujian dilakukan dengan mengukur nilai absorbansi pada sampel. Hasil dari ekstrak sampel dengan penyaringan diambil sebanyak 0,5 mL. Kemudian, ditambahkan reagen BGG 0,01% sebanyak 2,5 mL. Selanjutnya, diinkubasi selama 10-15 menit. Kemudian sampel diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang 636 nm.

2.5.4 Pengujian Komposisi Kimia dan Profil Fungsional (FTIR) (Saputri et al., 2023)

Analisis komposisi kimia dan profil fungsional dilakukan dengan menggunakan instrumen *Fourier Transform Infrared Spectrophotometry* (FTIR) pada sampel albumin ikan gabus. Pembacaan spektra IR menggunakan gelombang antara 4000 cm^{-1} hingga 650 cm^{-1} .

2.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari tahapan penelitian akan dianalisis dengan *two-way analysis of variance* (ANOVA) untuk melihat adanya perbedaan, dan ketika diperoleh hasil yang berbeda nyata, kemudian dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) Serangkaian analisis data menggunakan software SPSS 16.0.