

Analisis Glikoprotein dalam Daging *Mytilus viridis*, *Anadara granosa*, dan *Anadara maculosa*

ZUHELMI AZIZ^{1*}, THAMRIN WIKANTA², TIRTA SUBAGIO¹

¹Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta 12640

²Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial-Ekonomi Kelautan dan Perikanan, Jakarta

Diterima 11 Desember 2006, Disetujui 1 Februari 2007

Abstract: Mussels is known to have ability living in clean or polluted waters environment due to it has a specific immunity system. The immunity mechanism is carried out by a glycoprotein that play role as an immunomodulator with high activity. Extraction of glycoprotein from fresh green mussel (*Mytilus viridis*), blood mussel (*Anadara granosa*) and bulu mussel (*Anadara maculosa*) have been carried out, by boiling the mussels for 30 minutes and 60 minutes, precipitation of glycoprotein with ethanol, then purification of glycoprotein through the Sephadex G-100 column. The amino acids composition of the glycoprotein was analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC) with normal phase pico tag column, using 1 ml/min isocratic elution with sodium acetate buffer-acetonitril mixture, and detection with UV detector. Result showed that the yield of glycoprotein from 60 minutes boiling was higher than from 30 minutes boiling. The glycoprotein content of green mussel, blood mussel and bulu mussel were 11,97%, 8,36%, and 18,93% from 60 minutes boiling, and 10,32%, 7,93%, and 9,07 from 30 minutes boiling, respectively. It can be concluded that the amino acids composition in the glycoprotein from both treatment were not proportional, but the 60 minutes boiling was given higher result.

Key words : glycoprotein, amino-acid, *Mytilus viridis*, *Anadara granosa*, *Anadara maculosa*

PENDAHULUAN

Kerang dapat hidup di lingkungan yang bersih maupun tercemar. Bila hidup di lingkungan perairan yang tercemar maka ia akan memiliki sistem pertahanan tubuh yang spesifik termasuk melawan zat-zat yang bersifat racun dan karsinogenik. Kerang mengandung senyawa glikoprotein yang dapat berperan sebagai zat imunomodulator dengan aktivitas tinggi⁽¹⁾.

Glikoprotein adalah senyawa kompleks antara protein dengan rantai oligosakarida (glikan) yang terikat secara kovalen. Glikoprotein terdapat pada tubuh manusia, hewan, virus, bakteri, jamur dan tumbuhan dengan fungsi yang beragam, misalnya sebagai: molekul struktural, pelumas dan bahan pelindung, molekul pengangkut (vitamin, lipid, mineral dan unsur runutan), molekul imunoplogik, hormon, enzim, tempat pengenalan/pengikatan sel-sel, lektin dan zat antibeku. Berat molekul glikoprotein berkisar antara 15.000 sampai lebih

dari 1.000.000⁽⁵⁾.

Banyak kasus penyakit sebagai akibat dari terjadinya penyimpangan atau gangguan metabolisme dalam sistem reseptor pada membran sel. Glikoprotein sebagai salah satu komponen membran sel memegang peranan penting dalam mempertahankan kondisi metabolisme normal di dalam membran sel. Kerusakan sistem membran sel dapat terjadi akibat fraksi protein atau karbohidrat mengalami mutasi atau kerusakan oleh bahan kimia atau virus sehingga menyebabkan sinyal-sinyal reaksi untuk proses metabolisme tidak dapat berjalan dengan lancar atau menjadi terganggu. Akibat selanjutnya adalah timbul rasa tidak nyaman pada tubuh yang dirasakan sebagai kelainan atau penyakit⁽¹⁾.

Air rebusan daging kerang *Patinoplectan yanoensis* yang selama ini tidak pernah digunakan, ternyata mengandung senyawa glikoprotein yang dapat berperan sebagai zat imunomodulator atau sebagai antitumor⁽⁶⁾.

Kandungan glikoprotein dalam daging kerang diperkirakan sekitar 0,5% sehingga tidak mungkin bagi kita untuk mendapatkan glikoprotein dari kerang secara langsung. Oleh karena itu, penelitian

* Penulis untuk korespondensi, Hp 08129294176,
e-mail: zuhelmi_azis@yahoo.com

ini dilakukan untuk mendapatkan glikoprotein dari daging kerang, dengan kemungkinan selanjutnya dapat dibuat menjadi sediaan sebagai makanan suplemen (*supplement food*).

Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi glikoprotein dan analisis komposisi asam amino glikoprotein dari jenis kerang hijau (*Mytilus viridis*), kerang darah (*Anadara granosa*) dan kerang bulu (*Anadara maculosa*) yang diambil dari nelayan di pantai teluk Jakarta pada bulan Desember 2002.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Bahan yang digunakan adalah tiga jenis kerang, yaitu kerang hijau, kerang darah, dan kerang bulu, diperoleh dari Pusat Pelelangan Ikan Muara Angke, Jakarta, pada bulan Desember 2002. Sampel kerang segar dibuang kulitnya, lalu daging kerang dicuci, digiling, dan disimpan dalam wadah tertutup rapat. Bila tidak dapat dikerjakan analisis kimia secara langsung maka sampel disimpan dalam pendingin beku.

METODE. Analisis kimia. Terhadap sampel kerang segar dilakukan analisis kimia yang meliputi susut pengeringan, kadar protein kasar (total nitrogen), dan kadar nonprotein nitrogen (NPN). Susut pengeringan ditentukan dengan metoda gravimetrik, kadar protein kasar dan NPN dengan metode Kjeldahl⁽¹⁾.

Ekstraksi glikoprotein. Ekstraksi glikoprotein menggunakan metode Sasaki *et al.*⁽⁶⁾ dengan sedikit modifikasi. Sejumlah 500 gram daging kerang di dalam 100 ml larutan NaCl 10% direbus pada suhu 100°C, masing-masing selama 30 menit dan 60 menit. Larutan panas lalu disaring melalui kertas saring Whatman No. 1, filtrat yang didapat dibiarkan dingin pada suhu kamar, lalu disimpan dalam lemari pendingin selama 1 jam. Selanjutnya ditambahkan etanol ke dalam filtrat dingin (perbandingan 1:2, v/v) sehingga terjadi endapan glikoprotein. Untuk menyempurnakan pengendapan, larutan disentrifugasi

dengan kecepatan 12.000 rpm pada suhu 4°C selama 10 menit. Filtrat dibuang dan endapan yang diperoleh dilarutkan dalam 0,01 M dapar fosfat pH 7,4, lalu dimurnikan dengan cara dilewatkan melalui kolom kromatografi *Sephadex G-100* untuk menghilangkan garam dan menyaring protein dengan berat molekul antara 5.000-10.000. Filtrat yang didapat dibekukan (*freeze drying*) pada suhu -40°C, tekanan 200×10^{-3} mbar. Ekstrak glikoprotein yang didapat berbentuk serbuk, lalu ditimbang dan dilakukan analisis kadar air dan kadar asam amino.

Analisis asam amino. Ekstrak glikoprotein yang didapatkan dianalisis kandungan asam aminonya menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dengan kolom *pico tag* fasa normal, suhu 38°C, eluen dapar Na-asetat 1 M pH 5,75/asetonitril 60% (40:60, v/v), elusi isokratik, kecepatan alir 1 ml/menit, detektor UV pada $\lambda = 254 \text{ nm}^{(2)}$. Kadar asam amino dibandingkan dengan asam amino standar dari sigma (*product number AAS18, certificate of analysis 14H8621*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Susut pengeringan. Analisis susut pengeringan suatu produk pangan diperlukan untuk dapat menghitung kadar senyawa/substansi dalam satuan berat kering. Produk laut basah lazimnya mengandung kadar air berkisar 70-85%. Hasil analisis susut pengeringan menunjukkan kerang hijau, kerang darah, dan kerang bulu, masing-masing memiliki susut pengeringan 74,72%, 77,23%, dan 80,92%. Hasil analisis disajikan pada Tabel 1.

Kadar protein. Analisis kadar protein dilakukan terhadap daging kerang yang masih segar. Kadar protein kasar ditentukan berdasarkan jumlah nitrogen total. Unsur nitrogen disamping terdapat pada protein juga pada non-protein, seperti pada ammonia dan gula amino (N-asetil glukosamin, N-asetil galaktosamin). Oleh karena itu, kadar protein sesungguhnya dihitung berdasarkan selisih

Tabel 1. Susut pengeringan, protein dan nonprotein nitrogen (NPN) dari sampel segar kerang hijau, kerang darah dan kerang bulu

Jenis kerang	Susut pengeringan	Kadar rata-rata (%)		
		Protein kasar *)	NPN	Protein
Kerang hijau (<i>Mytilus viridis</i>)	74,72 ± 0,87	9,59 ± 0,12	1,45 ± 0,04	8,14 ± 0,15
Kerang darah (<i>Anadara granosa</i>)	77,23 ± 1,84	10,59 ± 0,16	0,95 ± 0,02	9,64 ± 0,25
Kerang bulu (<i>Anadara maculosa</i>)	80,92 ± 0,54	9,29 ± 0,03	1,11 ± 0,02	8,18 ± 0,05

Catatan : *) dihitung dari total nitrogen

antara kadar total nitrogen dengan kadar non-protein nitrogen (NPN) dikalikan suatu faktor (6,25). Hasil analisis kadar protein terhadap 3 jenis sampel daging kerang segar, yaitu kerang hijau, kerang darah, dan kerang bulu, masing-masing 8,14%, 9,64%, dan 8,18%. Hasil analisis kadar protein dan NPN dapat dilihat pada Tabel 1.

Identifikasi glikoprotein. Untuk memastikan bahwa ekstrak yang didapatkan adalah benar glikoprotein berarti harus menunjukkan reaksi positif mengandung protein dan karbohidrat. Oleh karena itu, terhadap ekstrak glikoprotein yang didapatkan tersebut dilakukan identifikasi. Identifikasi glikoprotein dilakukan dengan reaksi warna menggunakan pereaksi biuret untuk uji protein dan pereaksi Molisch untuk uji karbohidrat. Berdasarkan hasil identifikasi dapat disimpulkan bahwa ekstrak tersebut adalah benar glikoprotein karena terbukti memberikan hasil reaksi positif mengandung protein dan karbohidrat. Hasil identifikasi disajikan pada Tabel 2.

Kadar glikoprotein. Analisis kadar glikoprotein dilakukan terhadap daging kerang dengan dua perlakuan berbeda untuk mengetahui pengaruh lama perebusan terhadap kadar glikoprotein dalam daging

kerang. Hasil analisis kadar glikoprotein untuk masing-masing jenis kerang dengan lama perebusan 30 menit, yaitu kerang hijau 10,32%, kerang darah 7,93%, dan kerang bulu 9,03%, sedangkan dengan lama perebusan 60 menit, kerang hijau 11,97%, kerang darah 8,73%, dan kerang bulu 18,94%, disajikan pada Tabel 3. Tampak bahwa makin lama waktu perebusan menghasilkan kadar glikoprotein yang makin tinggi. Hal ini diduga karena makin lama waktu perebusan maka ikatan-ikatan glikoprotein makin banyak yang terputus dari jaringan daging kerang sehingga akhirnya menjadi larut.

Kadar glikoprotein dari 3 jenis kerang dengan waktu perebusan sama, hasilnya berbeda cukup jauh. Hal ini diduga karena adanya perbedaan dalam hal habitat dan makanan yang dikonsumsi kerang. Sampel kerang yang digunakan didapatkan dari nelayan langsung tanpa dijelaskan dari lokasi mana masing-masing kerang tersebut dipanen dan bagaimana kondisi habitat kerang tersebut hidup dalam kaitan dengan ketersediaan makanannya.

Analisis susut pengeringan disamping dilakukan terhadap bahan baku (kerang hijau, kerang darah dan kerang bulu), juga dilakukan terhadap ekstrak

Tabel 2. Hasil identifikasi glikoprotein terhadap ekstrak dari sampel segar kerang hijau, kerang darah dan kerang bulu sesuai lama perebusan

No	Jenis uji	Syarat	Kerang hijau		Kerang darah		Kerang bulu	
			30 menit	60 menit	30 menit	60 menit	30 menit	60 menit
1	Uji Biuret							
	+ NaOH 10%	warna	warna	warna	warna	warna	warna	warna
	+ CuSO ₄ 1%	ungu	ungu	ungu	ungu	ungu	ungu	ungu
2	Uji Molish							
	+ Naftol/EtOH	cincin	cincin	cincin	cincin	cincin	cincin	cincin
	+ H ₂ SO ₄ pekat	ungu	ungu	ungu	ungu	ungu	ungu	ungu

Tabel 3. Kadar glikoprotein dan air glikoprotein dari sampel kerang hijau, kerang darah dan kerang bulu

Jenis kerang	Waktu perebusan (menit)	Kadar rata-rata (%)	
		Air glikoprotein	Glikoprotein
Kerang hijau (<i>Mytilus viridis</i>)	30	22.155 ± 0.68	10.32 ± 0.18
	60	25.48 ± 0.03	11.97 ± 0.04
Kerang darah (<i>Anadara granosa</i>)	30	22.63 ± 0.50	7.93 ± 0.17
	60	25.10 ± 0.75	8.37 ± 0.14
Kerang bulu (<i>Anadara maculosa</i>)	30	26.00 ± 0.25	9.07 ± 0.65
	60	20.69 ± 0.61	18.94 ± 0.12

glikoprotein yang didapatkan dari masing-masing kerang tersebut, seperti terlihat pada Tabel 3. Hasil yang didapatkan untuk sampel dengan lama perebusan 30 menit adalah kadar air glikoprotein kerang hijau 22,16%, kerang darah 22,63%, kerang bulu 26,00%, sedangkan untuk sampel dengan lama perebusan 60 menit adalah kadar air glikoprotein kerang hijau 25,48%, kerang darah 25,10%, kerang bulu 20,69%. Proses pengeringan ekstrak menggunakan suhu rendah/beku (-40°C) dan tekanan rendah (200×10^{-3} mbar) tetapi menghasilkan susut pengeringan tinggi. Hal ini kemungkinan karena analisis susut pengeringan dilakukan pada suhu 105°C selama 4 jam, sehingga tidak hanya air yang

terikat pada ekstrak yang menguap tetapi beberapa senyawa glikoprotein suku rendah pada ekstrak tersebut terurai dan menguap mengakibatkan pengurangan bobot ekstrak menjadi sangat besar.

Hasil analisis statistik menggunakan uji-t terhadap kadar glikoprotein dari masing-masing daging kerang yang direbus dengan 2 waktu berbeda, terlihat adanya perbedaan bermakna untuk kerang hijau dan kerang bulu, sedangkan untuk kerang darah tidak ada perbedaan bermakna. Hasil uji statistik ditampilkan pada Tabel 4.

Analisis asam amino penyusun glikoprotein. Pada penelitian ini digunakan 18 jenis asam amino standar sebagai pembanding, yang terdiri dari asam

Tabel 4. Uji-t terhadap kadar glikoprotein sampel kerang hijau, kerang darah dan kerang bulu

No.	Jenis kerang	t-hitung	t-tabel	Kesimpulan
1	Kerang hijau	8.948	4.303	Berbeda bermakna
2	Kerang darah	2.009	4.303	Tidak berbeda bermakna
3	Kerang bulu	83.743	4.303	Berbeda bermakna

Tabel 5. Kadar asam amino pada glikoprotein dari sampel kerang hijau, kerang darah dan kerang bulu

No.	Jenis asam amino	Kerang hijau (%)		Kerang darah (%)		Kerang bulu (%)	
		30 menit	60 menit	30 menit	60 menit	30 menit	60 menit
1	Asam sisteat	-	-	-	-	-	-
2	Asam aspartat	2.48	2.55	0.85	1.10	0.95	3.30
3	Asam glutamate	3.35	2.57	0.53	1.16	0.60	1.79
4	Serin	2.06	1.71	0.05	0.10	0.09	2.58
5	Glisin	1.75	1.73	0.20	0.28	0.23	1.67
6	Histidin	2.31	3.04	1.03	1.45	1.13	1.62
7	Arginin	3.01	3.70	0.93	1.62	1.07	4.32
8	Treonin	3.03	2.85	1.54	2.01	1.66	2.89
9	Alanin	1.42	1.43	0.02	0.58	0.25	1.44
10	Prolin	3.13	3.40	0.42	1.27	0.53	4.61
11	Trosin	4.13	3.48	0.33	1.31	0.45	4.18
12	Valin	2.13	2.60	0.99	1.28	1.14	2.32
13	Metionin	4.98	3.99	0.28	0.49	0.46	6.07
14	Sistein	1.98	2.72	0.98	1.20	0.79	1.44
15	Isoleusine	2.62	2.48	0.36	2.88	0.45	2.81
16	Leusine	2.91	5.10	1.68	1.33	1.68	3.78
17	Fenilalanin	2.56	4.71	0.63	1.57	0.88	1.16
18	Lisin	1.17	2.57	0.80	0.97	0.86	3.21

sisteat, asam aspartat, asam glutamat, serin, glisin, histidin, arginin, treonin, alanin, prolin, tirosin, valin, metionin, sistein, isoleusin, leusin, fenilalanin dan lisin. Pada kromatogram KCKT hasil analisis dari standar asam amino, muncul 18 puncak asam amino, tetapi pada kromatogram KCKT hasil analisis dari sampel hanya muncul 17 puncak asam amino, kecuali asam sisteat, masing-masing dengan waktu retensi yang sama sesuai dengan waktu restensi asam amino standar. Asam amino sisteat tidak terdeteksi diduga karena mengalami kerusakan saat proses hidrolisis oleh HCl. Jadi pada glikoprotein dari 3 jenis kerang yang dianalisis (kerang hijau, kerang darah dan kerang bulu) hanya dapat dideteksi 17 asam amino. Hasil analisis ditampilkan dalam Tabel 5.

Untuk perhitungan secara kuantitatif, dilakukan dengan membandingkan luas puncak masing-masing asam amino yang dihasilkan dari sampel dengan yang dihasilkan dari standar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar asam amino hasil perebusan selama 60 menit lebih tinggi dari pada hasil perebusan selama 30 menit, tetapi peningkatan kadar tersebut tidak bersifat linier karena ada yang 3 kali lipat, 2 kali lipat, bahkan kadarnya ada yang hampir sama antara kedua waktu perebusan tersebut. Perbedaan yang terjadi kemungkinan disebabkan oleh: (1) terjadi kerusakan asam amino selama proses ekstraksi (perebusan) pada suhu 90-100°C; (2) penggunaan sentrifuga dengan kecepatan 12.000 rpm menjadikan struktur protein rusak.

Untuk mengetahui ada/tidaknya perbedaan bermakna antara kadar asam amino yang dihasilkan dengan perebusan selama 30 menit dan 60 menit dari masing-masing daging kerang, maka dilakukan analisis statistik menggunakan uji-t, dengan hasil seperti terlihat pada Tabel 4. Hasil uji-t umumnya menunjukkan hasil t-hitung > t-tabel, dan hanya sedikit t-hitung yang lebih kecil dari dari t-tabel (kerang hijau: glisin (1,098) dan alanin (1,143). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara jumlah asam amino yang dihasilkan dengan perebusan selama 30 menit dan 60 menit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah asam amino yang dihasilkan pada perebusan selama 60 menit lebih banyak dari pada perebusan selama 30 menit. Jadi isolasi glikoprotein dengan waktu perebusan selama 60 menit lebih baik dari pada perebusan selama 30 menit, dan hasilnya menunjukkan perbedaan yang bermakna.

SIMPULAN

Ekstraksi glikoprotein dari masing-masing daging kerang yang dilakukan selama 60 menit menghasilkan kadar glikoprotein lebih banyak dari pada selama 30 menit. Ekstraksi glikoprotein dari masing-masing daging kerang yang dilakukan selama 60 menit menghasilkan kadar asam amino yang lebih banyak dari pada selama 30 menit.

Waktu perebusan yang sama terhadap 3 jenis kerang yang diteliti menghasilkan kadar glikoprotein yang berbeda cukup jauh, diduga karena adanya perbedaan lokasi dan habitat tempat hidup kerang tersebut sehingga berbeda ketersediaan makanannya.

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai kadar dan komposisi karbohidrat penyusun glikoprotein. Hal tersebut penting agar dapat diketahui tentang manfaat bagi kesehatan dari masing-masing jenis karbohidrat yang terkandung dalam glikoprotein tersebut apabila dijadikan sebagai makanan suplemen.
2. Perlu dilakukan penelitian penentuan kadar asam amino dengan metode lain untuk membandingkan dengan metode yang sudah ada.
3. Perlu dilakukan penelitian perebusan dengan menggunakan penangas air agar suhu perebusan dapat dikontrol.

DAFTAR PUSTAKA

1. Balai Penelitian Perikanan Laut. Prosedur analisis kimia ikan dan produk olahan hasil-hasil perikanan. Jakarta: Balai penelitian Perikanan Laut; 1998. hal.1-16.
2. Millipore corporation. Liquid chromatography: analysis of amino acid in feeds and foods using modification of the pico-tag method. Millipore Corporation; 1987. p.1-10.
3. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1995. hal.1002-16.
4. Copeland RA. Method for protein analysis. London: Chapman and Hall; 1993. p.26-38.
5. Murray RK. Glikoprotein. dalam: Murray, R.K., D. Anner, P.A. Mayes dan V.M. Rodwell (Eds.). Biokimia Harper. Eds. 24. Jakarta: EGC; 2002. p.668-86.
6. Sasaki T, Uchida H, Uchida NA, Takasuka N, Tachibana Y, Nakamichi K. Antitumor and immunomodulatory effect of scallop. Nippon Suisan Gakkaishi. 1987. 53(2): 287-72.

7. Skoog, DA, Leary JJ. Principles of Instrumental Analysis. 4 ed. New York: Saunders College Publishing; 1996. p. 628-67.