

**ANALISA PROFIL PROTEIN *SPIRULINA PLATENSIS*
DENGAN METODE PRESIPITASI YANG BERBEDA
MENGUNAKAN SDS PAGE (*SODIUM DODECYL SULFATE
POLYACRYLAMIDE GEL ELECTROPHORESIS*) DAN
BIOINFORMATIKA**

***PROTEIN PROFILING of SPIRULINA PLATENSIS USING
DIFFERENT PRECIPITATION METHODS BY SDS PAGE
(SODIUM DODECYL SULFATE POLYACRYLAMIDE GEL
ELECTROPHORESIS) AND BIOINFORMATICS***

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian dari syarat-syarat
guna memperoleh gelar Sarjana Teknologi Pangan

Oleh:

RAYMUNDUS PITO WINARJATI

11.70.0095



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS KATOLIK SOEGIJAPRANATA
SEMARANG**

2016

**ANALISA PROFIL PROTEIN SPIRULINA PLATENSIS
DENGAN METODE PRESIPITASI YANG BERBEDA
MENGUNAKAN SDS PAGE (*SODIUM DODECYL SULFATE
POLYACRYLAMIDE GEL ELECTROPHORESIS*) DAN
BIOINFORMATIKA**

***PROTEIN PROFILING of SPIRULINA PLATENSIS USING
DIFFERENT PRECIPITATION METHODS BY SDS PAGE
(SODIUM DODECYL SULFATE POLYACRYLAMIDE GEL
ELECTROPHORESIS) AND BIOINFORMATICS***

Oleh :

Raymundus Pito Winarjati

NIM : 11.70.0095

Program Studi : Teknologi Pangan

Skripsi ini telah disetujui dan dipertahankan

Di hadapan sidang penguji pada tanggal 1 November 2016

Semarang, 11 November 2016

Fakultas Teknologi Pertanian

Universitas Katolik Soegijapranata

Pembimbing I,

Dekan,

Dr. A. Rika Pratiwi, M.Si

Dr. V. Kristina Ananingsih, ST. M.Sc

Pembimbing II,

Ivone Fernandez, S.Si, M.Sc

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang berjudul “**ANALISA PROFIL PROTEIN *SPIRULINAPLATENSIS* DENGAN METODE PRESIPITASI YANG BERBEDA MENGGUNAKAN SDS PAGE (*SODIUM DODECYL SULFATE POLYACRYLAMIDE GEL ELECTROPHORESIS*) DAN BIOINFORMATIKA**” ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari ternyata terbukti bahwa skripsi ini sebagian atau seluruhnya merupakan hasil plagiasi, maka saya rela untuk dibatalkan dengan segala akibat hukumnya sesuai peraturan yang berlaku pada universitas katolik soegijapranata dan/atau peraturan perundang-undangan yang berlaku.

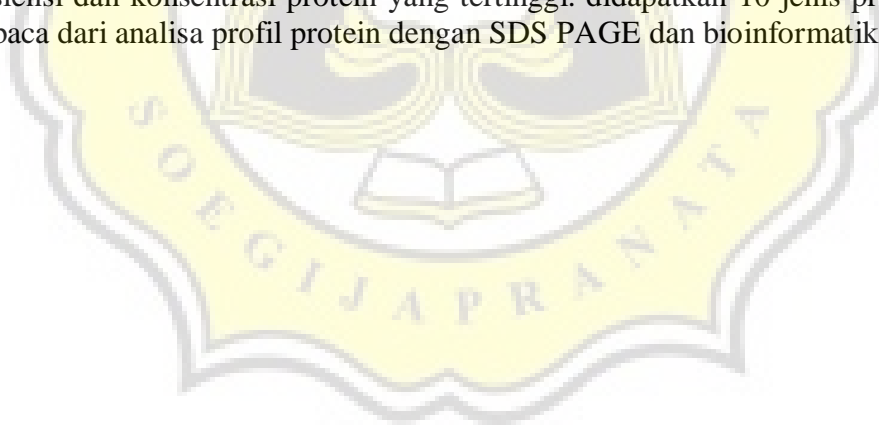
Semarang, 2 November 2016

RAYMUNDUS PITO WINARJATI

11.70.0095

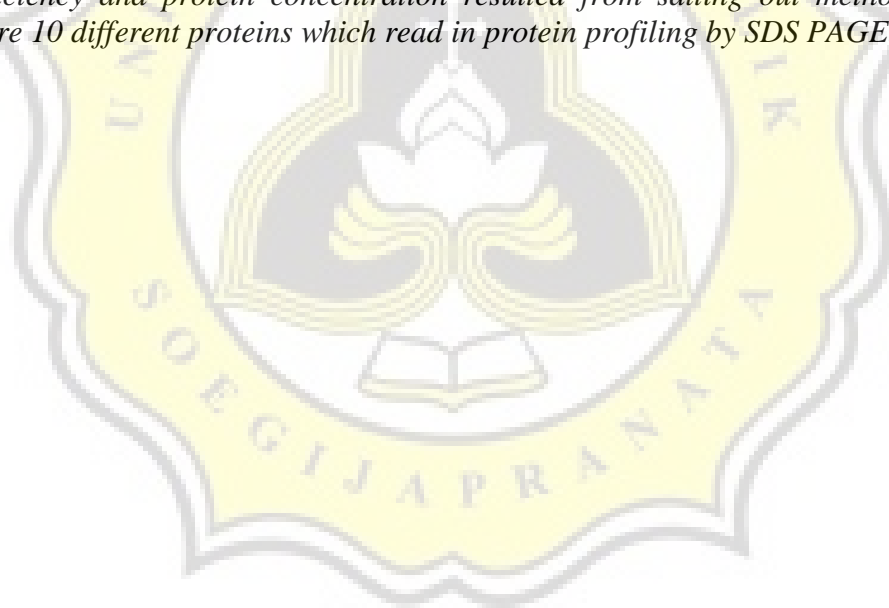
RINGKASAN

Spirulina sp. memiliki kandungan proteinnya yang tinggi (55 – 70 %). Kandungan protein yang tinggi ini telah dimanfaatkan dalam berbagai bidang kesehatan, seperti membantupembentukan otot tubuh, penurunan kandungan gula darah pada penderita diabetes, anti virus, anti kanker, serta hipokolesterol. Untuk mengetahui lebih dalam tentang protein dari *spirulina sp.* serta kegunaannya, maka perlu dilakukan analisa protein. Analisa protein dapat dilakukan dengan SDS PAGE dan berat molekul yang didapat berdasarkan analisa bioinformatika. Hal yang terpenting untuk melakukan analisa profil protein adalah mendapatkan isolat protein yang murni. Isolat yang murni dapat diperoleh dengan melakukan metode presipitasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk membandingkan 3 metode presipitasi protein (TCA/Aseton; aseton; *saltingout*) dari *spirulina sp.* berdasarkan efisiensi isolat protein serta konsentrasi protein, dan menganalisa profil protein dari isolat protein *Spirulina sp.* berdasarkan berat molekulnya dengan menggunakan SDS PAGE dan bioinformatika. Pada penelitian ini *Spirulina sp.* kering diekstrak selnya dengan 2 pelarut berbeda (*aqua bidest* dan buffer tris-HCl) dengan *ultrasonic homogenizer*. Kemudian masing – masing dipresipitasi dengan 3 metode berbeda, TCA/Aseton; aseton; dan *saltingout*. Kemudian dilakukan perhitungan untuk menentukan efisiensi dan konsentrasi isolat protein yang terbaik dari ketiga metode presipitasi. Setelah itu, profil protein dari isolat protein juga dianalisa dengan SDS PAGE dan berat molekul yang dihasilkan kemudian dikonfirmasi pada bank *database* protein untuk menentukan jenis proteinnya. Setelah pengujian, didapatkan bahwa metode presipitasi *salting out* menghasilkan efisiensi dan konsentrasi protein yang tertinggi. didapatkan 10 jenis protein yang terbaca dari analisa profil protein dengan SDS PAGE dan bioinformatika.



SUMMARY

Spirulina platensis is renowned because of its high protein content (55 – 70%). Many studies stated that *spirulina sp.* has functions to decrease glucose in the blood, as an anti-viral, anti-cancer, and also hypocholesterolemic. To get a better understanding of *spirulina sp.* protein, we need to do protein profiling. Protein profiling can be done by SDS PAGE and bioinformatics. The most important thing before protein profiling is to get a pure protein isolate. A pure protein isolate is able to get by doing protein precipitation. The purposes of this research were to compared 3 different protein precipitation methods (TCA/Acetone; acetone; salting out) based on protein isolate efficiency and protein concentration, also to do protein profiling of *spirulina platensis* by SDS PAGE and bioinformatics. We need to do cell disruption for dried *spirulina sp.* by ultrasonic homogenizer in 2 different solvents (aqua bidest and tris-HCl buffer). Then the extract was precipitate in TCA/aseton, aseton, and by salting out. The efficiency of protein isolate from precipitation process was calculated. The concentration of the protein was calculated by Bradford methods. The protein isolate also used for protein profiling by SDS PAGE and the found molecular weight was confirmed to protein bank database to determined protein profile. The highest protein isolates efficiency and protein concentration resulted from salting out methods. There were 10 different proteins which read in protein profiling by SDS PAGE.



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat dan rahmat karunia-Nya, Penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi dengan judul **“ANALISA PROFIL PROTEIN SPIRULINA PLATENSIS DENGAN METODE PRESIPITASI YANG BERBEDA MENGGUNAKAN SDS PAGE (SODIUM DODECYL SULFATE POLYACRYLAMIDE GEL ELECTROPHORESIS) DAN BIOINFORMATIKA”**. Laporan skripsi ini merupakan salah satu syarat guna memperoleh gelar Sarjana Teknologi Pangan di Universitas Katolik Soegijapranata Semarang.

Skripsi ini dapat terselesaikan oleh karena dukungan dari berbagai pihak, baik sebagai pengarah maupun penyemangat bagi penulis. Oleh karena itu, penulis hendak mengucapkan terima kasih kepada:

1. Tuhan Yesus Kristus, yang memberikan hikmat dan penyertaan-Nya kepada penulis dalam penulisan skripsi.
2. Dr V. Kristina Ananingsih, ST, Msi selaku dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Soegijapranata yang telah memberikan dukungan dan pengarahannya yang baik secara langsung maupun tidak langsung kepada penulis.
3. Dr. A. Rika Pratiwi, Msi dan Ivone Fernandez, S.Si, M.Sc selaku dosen pembimbing yang selalu membimbing, membantu, memotivasi, dan mendampingi penulis selama pelaksanaan penelitian skripsi hingga pembuatan laporan skripsi.
4. Mbak Agatha dan Mas Solehyang telah banyak membantu penulis selama pelaksanaan penelitian skripsi di laboratorium.
5. Semua dosen dan karyawan FTP yang telah membantu dalam hal administrasi.
6. Keluarga penulis terutama Papa, Mama, Pita, dan Litayang selalu memberikan semangat, dukungan, dan doa untuk penulis. Terima kasih untuk segala cinta dan perjuangannya.
7. Sherly Putri Santoso yang selalu memberi motivasi, semangat dan perhatian kepada penulis selama melakukan penelitian dan menyusun laporan skripsi.

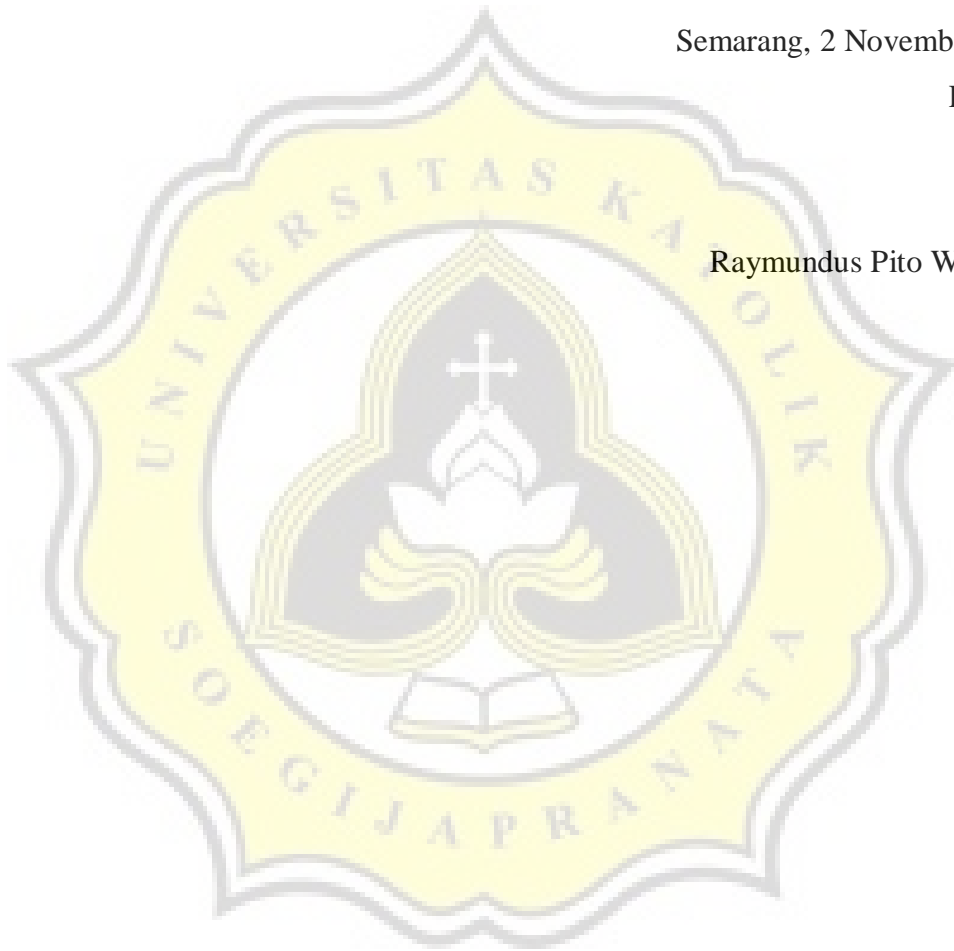
8. Archie, Lulu, Buddy, Daniel, Boli, Danny, Rafael, dan Tamiselaku teman berbagi cerita selama penulis melakukan proses penelitian ini hingga selesai.

Penulis meminta maaf apabila terdapat kesalahan, kekurangan, maupun hal-hal yang kurang berkenan bagi pembaca. Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam laporan ini, sehingga dengan kerendahan hati maka penulis menerima kritik dan saran apabila terdapat kesalahan-kesalahan dalam laporan ini. Semoga laporan penelitian ini bermanfaat bagi penulis dan semuanya.

Semarang, 2 November 2016

Penulis,

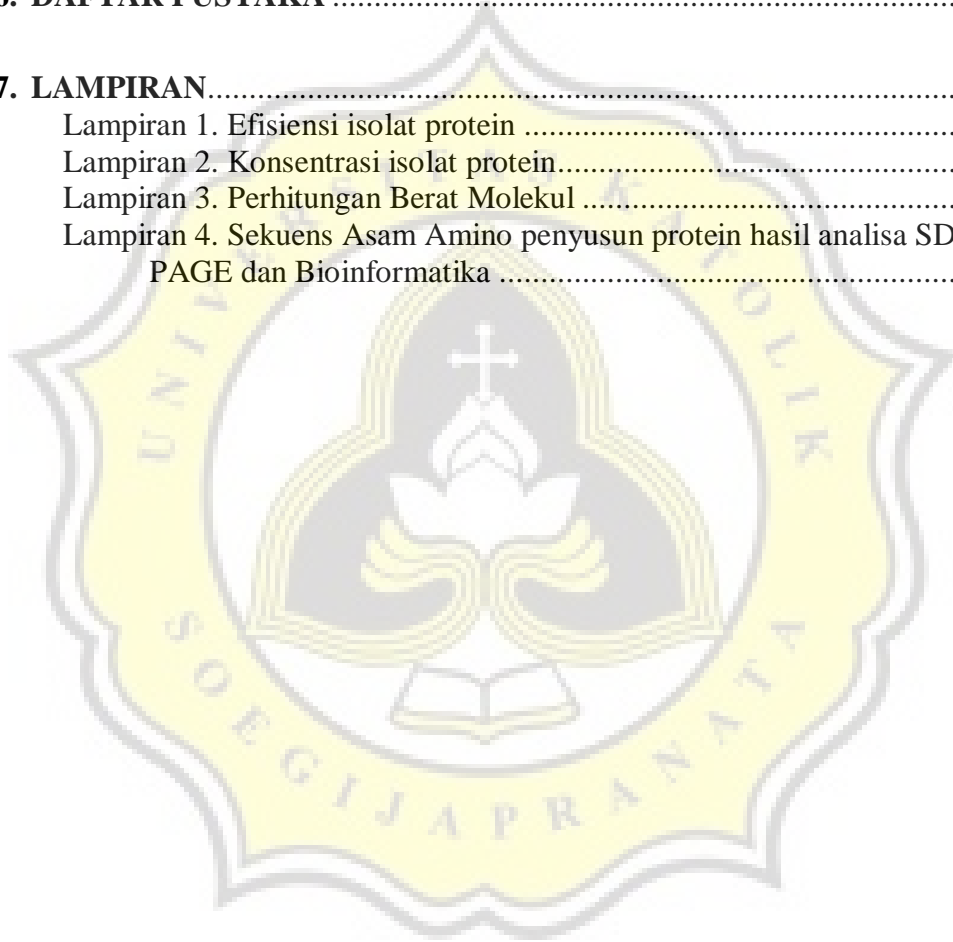
Raymundus Pito Winarjati



DAFTAR ISI

	halaman
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	iii
RINGKASAN	iv
SUMMARY	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Tinjauan Pustaka.....	2
1.2.1. Spirulina platensis.....	2
1.2.2. Ekstraksi Protein.....	3
1.2.3. Presipitasi Protein.....	4
• Trichloroacetic Acid (TCA)/Aseton.....	5
• Aseton.....	5
• Salting Out dengan Ammonium Sulfat ((NH ₄) ₂ SO ₄).....	5
1.2.4. Uji Bradford.....	6
1.2.5. Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS PAGE).....	7
1.3. Tujuan Penelitian.....	9
2. MATERI & METODE	10
2.1. Tempat dan Waktu Penelitian.....	10
2.2. Desain Penelitian.....	10
2.3. Materi.....	11
2.3.1. Alat.....	11
2.3.2. Bahan.....	11
2.4. Metode.....	11
2.4.1. Tahap 1.....	11
2.4.1.1. Ekstraksi sampel.....	11
2.4.1.2. Presipitasi Protein.....	13
• TCA/Aseton.....	13
• Aseton.....	14
• Salting out.....	15
2.4.2. Analisa Konsentrasi Protein dengan Metode Bradford.....	16
• Pembuatan Kurva Standar BSA.....	16
2.4.2.2. Pengukuran Berat Molekul Protein Sampel.....	19
2.4.2.3. Analisa Bioinformatika.....	19
3. HASIL PENELITIAN	21
3.1. Tahap 1.....	21
3.1.1. Hasil Analisa efisiensi isolat protein Spirulina sp.	21
3.1.2. Konsentrasi Protein Spirulina sp. dengan metode Bradford.....	21
3.2. Tahap 2.....	22

3.2.1. Profil protein menggunakan SDS PAGE	22
4. PEMBAHASAN	27
4.1. Efisiensi Isolat Protein	29
4.2. Konsentrasi Protein Berdasarkan Metode Bradford	31
4.3. Profil Protein Spirulina sp. dengan SDS PAGE dan bioinformatika	32
5. KESIMPULAN DAN SARAN	39
5.1. Kesimpulan	39
5.2. Saran	39
6. DAFTAR PUSTAKA	40
7. LAMPIRAN	45
Lampiran 1. Efisiensi isolat protein	45
Lampiran 2. Konsentrasi isolat protein	47
Lampiran 3. Perhitungan Berat Molekul	51
Lampiran 4. Sekuens Asam Amino penyusun protein hasil analisa SDS PAGE dan Bioinformatika	54



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kelebihan dan kelemahan masing-masing metode presipitasi	4
Tabel 2. Bahan – bahan pembuatan <i>Running gel</i> dan <i>Stacking gel</i>	18
Tabel 3. Efisiensi isolat protein	21
Tabel 4. Konsentrasi Protein <i>spirulina platensis</i> dengan menggunakan buffer dan metode presipitasi yang berbeda.....	22
Tabel 5. Profil protein pada gel dengan sampel yang menggunakan buffer <i>aqua bidest</i>	24
Tabel 6. Profil protein pada gel dengan sampel yang menggunakan buffer Tris-HCl pH 7.....	25
Tabel 7. Sepuluh jenis protein hasil elektroforesis dan model 3D-nya.	26
Tabel 8. Hasil absorbansi BSA.....	47
Tabel 9. Hasil perhitungan Rf <i>protein ladder</i> gel dengan sampel yang menggunakan buffer <i>aquabidest</i>	51
Tabel 10. Hasil Perhitungan Rf <i>protein ladder</i> gel dengan sampel yang menggunakan buffer tris-HCl pH 7.....	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Mekanisme reaksi Bradford	7
Gambar 2. Diagram alir penelitian	10
Gambar 3. Diagram alir ekstraksi protein	12
Gambar 4. Diagram alir presipitasi protein dengan TCA/aseton	13
Gambar 5. Diagram alir presipitasi protein dengan aseton	14
Gambar 6. Diagram alir presipitasi protein dengan <i>Salting out</i>	15
Gambar 7. Diagram alir pencarian di Uniprot.....	20
Gambar 8. Profil protein dengan buffer Tris-HCl pH 7.....	23
Gambar 9. Profil protein dengan buffer <i>aqua bidest</i>	23
Gambar 10. Kurva standar BSA	47
Gambar 11. Kurva persamaan linear gel dengan buffer <i>aqua bidest</i>	51
Gambar 12. Kurva persamaan linear gel dengan buffer tris-HCl pH 7	53
Gambar 13. Sekuens asam amino penyusun <i>Malto-oligosyltrehalose synthase</i> ...	54
Gambar 14. Sekuens asam amino penyusun <i>Adenylate cyclase</i>	55
Gambar 15. Sekuens asam amino penyusun 60 kDa <i>chaperonin</i>	56
Gambar 16. Sekuens asam amino penyusun <i>Phosphoglycerate mutase</i>	56
Gambar 17. Sekuens asam amino penyusun <i>Type-2 restriction enzyme</i>	57
Gambar 18. Sekuens asam amino penyusun <i>Gamma-glutamyl phosphate reductase</i>	57
Gambar 19. Sekuens asam amino penyusun <i>Superoxide dismutase</i>	58
Gambar 20. Sekuens asam amino penyusun <i>Phycocyanin α subunit</i>	58
Gambar 21. Sekuens asam amino penyusun <i>Phycocyanin β subunit</i>	58