

#### 4. PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian dosis kromanon deamina yang berbeda terhadap profil protein sehingga dapat tervisualisasi menggunakan SDS-PAGE guna untuk menentukan adanya penambahan fraksi maupun berat molekul protein yang dapat ditemukan pada bagian sayap ayam broiler.

Terdapat dua tahap yang dilakukan untuk penelitian ini, yaitu *in vivo* dengan memberikan minuman yang telah ditambahkan dengan kromanon deamina untuk dikonsumsi ayam broiler selama 35 hari. Penambahan kromanon deamina tersebut bertujuan untuk meningkatkan kadar protein pada daging ayam broiler bagian sayap. Sedangkan hasil penelitian dilakukan secara *in vitro* yaitu dengan melakukan pengamatan pada pita protein pada gel elektroforesis dengan metode SDS-PAGE yang dapat diamati pada Gambar 15. dengan didapatkan beragam pita protein yang berhasil tervisualisasi. Selain itu, pada pemberian dosis kromanon deamina yang semakin tinggi terdapat fraksi protein yang dapat tervisualisasi pada berat molekul yang lebih besar akibat jumlah proteinnya yang semakin banyak. Untuk mendapatkan pita protein sehingga dapat tervisualisasi dapat menggunakan metode elektroforesis berupa SDS-PAGE. Sedangkan analisis perhitungan berat molekul menggunakan program OriginPro 2019b dengan aplikasi *Gel Molecular Weight Analyze* yang kemudian untuk mengidentifikasi nama protein tersebut dapat diakses melalui *website* Uniprot.org.

##### 4.1. Pengaruh Aplikasi Kromanon Deamina Terhadap Profil Protein

SDS-PAGE merupakan salah satu metode elektroforesis yang efektif dan umum digunakan untuk menentukan karakteristik protein berdasarkan pemisahan berat molekulnya dengan bantuan medan listrik. Partikel yang bermuatan tersebut akan melewati suatu matriks akibat adanya pengaruh medan listrik dengan kecepatan yang berbeda dan beberapa partikel tertahan pada jarak tertentu. Proses *running* tersebut dilakukan hingga partikel berada titik akhir proses elektroforesis. Selain itu, untuk mendapatkan pita protein agar dapat tervisualisasi maka diharapkan bahwa protein tersebut memiliki jumlah yang berlimpah (Reddy & Nomula, 2012; Manns, 2011).

Hasil penelitian pada Tabel 2., menunjukkan bahwa pita protein yang dapat tervisualisasi terdapat pada berat molekul 58,914 kDa hingga 15,604 kDa dengan prediksi nama protein didasarkan hasil pencarian pada *website* Uniprot seperti pada Tabel 3. dengan melakukan pendekatan terhadap berat molekulnya. Sedangkan berdasarkan penelitian Petracci *et al* (2012) dan Doherty *et al* (2004) menunjukkan bahwa pada profil protein yang ditemukan pada berat molekul 58 kDa ialah *Pyruvate kinase* (58,8 kDa); pada berat molekul 42 kDa ialah  $\beta$ -*Actin* (42 kDa); pada berat molekul 36 kDa ialah *Annevin V* (36,2 kDa); pada berat molekul 32 kDa ialah *Tropomyosin a-chain* (32,8 kDa); pada berat molekul 22 kDa ialah *Adenylate kinase isozyme 1*; pada berat molekul 15 kDa ialah *Hemoglobin a-A chain* (15,4 kDa). Sedangkan pada berat molekul 24 kDa maupun 19 kDa belum ada penelitian yang menemukan serta menjelaskan mengenai profil protein tersebut.

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 2. dan Tabel 3., bahwa pita protein pertama yang tervisualisasi menggunakan SDS-PAGE terdapat pada berat molekul 58,914 kDa dengan jenis protein yaitu *Acetylcholine receptor subunit gamma*. Menurut Jones (2009), reseptor tersebut terletak pada membran sel otot akan berkerja dalam mengontrol kontraksi otot ketika *neurotransmitter acetylcholine* bereaksi dan terlepas dari neuron motorik. *Acetylcholine receptor subunit gamma* merupakan salah satu jenis *subunit* protein dari *acetylcholine* yang ditemukan dalam jaringan otot hewan. Subunit *gamma* dengan subunit *epsilon* ( $\epsilon$ ) yang terbentuk pada protein *Acetylcholine receptor* secara beriringan memiliki peran yang penting dalam proses embrionik makhluk hidup (Schnölzer *et al.*, 2010; Lin *et al.*, 2008). Pemberian kromanon deamina pada dosis 0,05 cc/kg berat badan (C) hingga dosis 0,125 cc/kg berat badan (F) ayam broiler dapat memvisualisasikan fraksi protein pada berat molekul paling tinggi dengan metode SDS-PAGE. Hal ini karena senyawa kromanon amina yang berada dalam tubuh ayam mengalami deaminasi ketika berhubungan dengan senyawa lain yang ikatannya lebih kuat sehingga ion  $\text{NH}_2^+$  akan terlepas dan membentuk kumpulan amina baru, yang memungkinkan terbentuknya protein baru (PT Indoherb Sains Medika, 2019). Diduga bahwa protein baru tersebut merupakan protein yang sebelumnya telah ada pada tubuh ayam broiler namun karena jumlah proteinnya yang semakin banyak maka protein tersebut dapat tervisualisasi dengan metode SDS-PAGE sehingga muncul fraksi protein yang lebih tebal pada

kromanon deamina pada dosis yang lebih tinggi. Sesuai dengan teori Manns (2011) bahwa banyaknya jumlah protein yang tersedia dan tidak mengalami denaturasi akan mempengaruhi hasil elektroforesis sehingga pita proteinnya dapat tervisualisasi. Pada hasil penelitian skripsi terhadap ayam broiler (Widjaya, 2015) bahwa penambahan kromanon deamina dengan dosis 0,05 dan 0,1 (cc/kg berat badan ayam broiler) mampu meningkatkan kadar protein, dengan peningkatan kadar protein pada bagian sayap ayam sebesar 0,781%. Sehingga semakin tinggi pemberian dosis kromanon deamina yang diberikan maka dapat meningkatkan jumlah fraksi protein yang dapat tervisualisasi melalui proses SDS-PAGE karena jumlah proteinnya yang semakin banyak.

Selain itu, jenis protein *Agmatinase, mitochondrial* (36,477 kDa); *Deleted in azoospermia-like* (32,860 kDa); dan *Thymidine kinase, cytosolic* (24,841 kDa) yang terdapat pada pita ketiga, keempat, dan kelima juga dapat tervisualisasi secara jelas pada semua perlakuan dosis kromanon deamina. Hal ini berarti bahwa pemberian kromanon deamina dengan dosis yang berbeda tidak mempengaruhi penambahan fraksi protein pada berat molekul 36 kDa hingga 24 kDa. Sedangkan pada pita protein kesembilan, dosis kromanon deamina yang diberikan dengan perlakuan A hingga perlakuan E menghasilkan pita protein dengan berat molekul paling rendah sebesar 15,604 kDa dengan jenis protein yaitu *Centromere protein S* namun pita protein tersebut tidak tervisualisasikan pada perlakuan F. Menurut Amano (2009) bahwa CENP-S berasal dari purifikasi dengan CENP-M atau CENP-U dan terverifikasi sebagai komponen CCAN yang tidak hanya ditemukan pada daging ayam. Selain itu, CENP-S dengan beberapa kombinasi menjadikan protein pertama yang teridentifikasi dapat berperan dalam rangkaian kinetokor (tempat melekatnya kromosom). Pita protein yang hanya tervisualisasi pada beberapa perlakuan diketahui karena jumlah protein yang terdapat pada berat molekul tersebut sangat berlimpah sehingga ketika dilakukan proses *running* dengan SDS-PAGE maka pita protein tersebut dapat tervisualisasi. Seperti teori Manns (2011) bahwa banyaknya jumlah protein yang tersedia dan tidak mengalami denaturasi akan mempengaruhi hasil elektroforesis sehingga pita proteinnya dapat tervisualisasi. Sedangkan pada pita protein kedelapan dengan berat molekul 18,563 kDa dengan jenis protein *Destrin* tersebut hanya dapat tervisualisasi pada perlakuan B dan C.

Pada Tabel 2., bahwa pita protein kedua dan keenam yang terdapat pada perlakuan A hingga perlakuan E mendapatkan jenis protein yaitu *UBX domain-containing protein 2B* (40,841 kDa) dan *Interleukin-18* (22,277 kDa) yang kemudian pada perlakuan F mendapatkan jenis protein lain yaitu *Forkhead box protein D3* (40,989 kDa) dan *Guanylyl cyclase-activating protein 1* (22,812 kDa). Selain itu, terdapat pula jenis protein lainnya yaitu *Basigin* (42,418 kDa) yang hanya terdapat pada perlakuan C dan D dan jenis protein *Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit M* (42,588 kDa) yang terdapat pada perlakuan F. Sedangkan pada pita protein ketujuh didapatkan jenis protein yaitu *Centromere protein M* (19,638 kDa) yang terdapat pada perlakuan A dan B tetapi pada perlakuan C, D, dan E terdapat protein jenis lainnya yaitu *Alpha-crystallin A chain* (19,807 kDa). Selain itu, adanya profil protein yang terbentuk pada berat molekul 36,870 kDa yaitu *Lipid droplet-associated hydrolase* yang hanya berada pada perlakuan C dan D. Diketahui bahwa pemberian kromanon dengan dosis yang berbeda sekalipun tidak mempengaruhi penambahan fraksi pada berat molekul tersebut, meskipun berdasarkan perhitungan menggunakan program OriginPro diketahui bahwa berat molekul yang didapatkan berbeda namun diduga bahwa jenis protein tersebut adalah sama. Menurut Manns (2011) bahwa SDS-PAGE merupakan salah satu metode dalam pemisahan protein berdasarkan struktur primernya dengan berat molekul maupun ukuran yang berbeda, bukan merupakan pemisahan sekuen asam amino. Sehingga ketika terdapat beberapa jenis protein dengan jumlah asam amino yang hampir sama dan melewati gel matriks maka protein tersebut akan tervisualisasi dalam satu pita protein yang sama dan tidak dapat dipisahkan satu sama lain. Sedangkan program OriginPro merupakan program teliti yang perhitungannya dilakukan berdasarkan grafik yang memiliki puncak dan dinyatakan sebagai pita protein, meskipun secara visual pita-pita protein tersebut terlihat sejajar (Seifert, 2014). Hal ini didukung dengan teori Azad (2018) bahwa setiap protein membentuk karakteristik yang berbeda akibat jenis asam amino penyusun, jumlah asam amino, dan urutan asam aminonya.