

ANALISIS PROTEIN PADA INSANG UDANG *Macrobrachium sintangense* (de Man) AKIBAT PERLAKUAN SALINITAS YANG BERBEDA

Anita Munawwaroh, M.Si.

IKIP Budi Utomo, Jl. Citandui No. 46 Malang
email: munawwarohanita86@gmail.com

ABSTRACT

The study aimed to know the effect of different salinity on shrimp of protein content and protein profiles. The animal in this study was *Macrobrachium sintangense* shrimp with average length \pm 50 mm which has acclimation for three days. The shrimp was treated at different salinity, the salinity 0 ‰, 5 ‰, 10 ‰, 15 ‰ and 20 ‰ for seven days. Protein content and protein profiles by taking shrimp gill. Shrimp gill test showed that has a different protein content, protein profiles due to treatment of different salinity. The result was conclude that salinity 0 ‰, 5 ‰, 10 ‰, 15 ‰ and 20 ‰ affect protein content and protein profiles of *M. sintangense*.

Keywords: Salinity, Protein, *M. Sintangense*

PENDAHULUAN

Udang air tawar di Indonesia didominasi oleh dua famili, yaitu Palaemonidae dan Atyidae. Anggota famili Palaemonidae yang paling banyak ditemukan di Indonesia adalah dari genus *Macrobrachium* (Holthuis, 1980), salah satunya adalah *Macrobrachium sintangense* (Wowor *et al.*, 2009). *M. sintangense* adalah jenis udang yang hidup di perairan tawar dan dapat dijumpai di daerah dataran tinggi maupun dataran rendah (Sastrapraja *et al.*, 1977).

Udang air tawar berperan dalam menjaga keseimbangan ekosistem dalam suatu perairan. Udang air tawar berfungsi sebagai salah satu rantai makanan. Selain itu, udang air tawar merupakan mangsa dari hewan akuatik yang lebih besar, seperti ikan (Wowor *et al.*, 2009). Jika udang air tawar tidak terdapat di perairan, maka perairan akan mengalami pembusukan yang akan meningkatkan zat

amoniak dan bersifat racun, yang secara langsung dapat mempengaruhi kehidupan hewan perairan lainnya.

Salinitas merupakan salah satu faktor lingkungan yang berpengaruh pada organisme. Salinitas berpengaruh pada pengaturan ion-ion internal, yang secara langsung memerlukan energi untuk transpor aktif ion-ion dalam mempertahankan lingkungan internal. Hal ini sangat berpengaruh pada proses fisiologis suatu organisme yang dapat berakibat pada mortalitas (Astuti, 2008).

Perubahan salinitas dapat menyebabkan percepatan metabolisme, dan meningkatnya protein yang dapat memberikan energi ekstra atau asam amino pada udang sehingga mendapatkan pertumbuhan maksimal.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh salinitas yang berbeda terhadap kadar protein dan profil

protein udang regang (*Macrobrachium sintangense* (de Man)).

METODE PENELITIAN

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah Udang Regang (*Macrobrachium sintangense* (de Man)) yang diperoleh dari Pasar Burung Bratang, Surabaya. Udang-udang tersebut dipilih dengan panjang rata-rata \pm 50mm. Selama masa aklimasi (3 hari) diberi makan pakan udang berbentuk butiran. Media uji yang digunakan berupa air laut dan air tawar (air PDAM). Air PDAM yang digunakan sebagai bahan media diendapkan selama 24 jam

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain: akuades, insang udang, *buffer* ekstrak, larutan *bradford*, es, *acrylamid-bis* (30% T, 2,67% C), 1.5 M tris-HCl pH 8,8, 0,5 M tris-HCl pH 6,8, *buffer sampel* pH 6,8, 10 % SDS, *bufferrunning* (tris base 2 g, SDS 1 g, glycine 14,4; pH 8,3), *ammonium persulphate* 10 % (dibuat fresh saat akan digunakan), *coomassie blue staining* (methanol 40%, asam asetat glacial 10%, dan *coomassie blue* 0,1%, akuades 50%), larutan *destaining* (methanol 40%, asam asetat glacial 10%, akuades 50%), *aquabidest*.

Alat-alat yang digunakan antara lain: akuarium kaca, bak plastik, aerator, jaring, pipet, penggaris, pipet volume berukuran 0,5 mL, labu ukur 1000 mL, thermometer, DO meter, refractometer, pH meter, kamera, *Mini protein electrophoresis set* dan *Power supply*, *Beker glass* 50 mL, mortar, *pestle*, mikro pipet (1-10 μ L, 10-100 μ L, 100-1.000 μ L), tip : *blue tip*, *yellow tip*, *white tip*, tabung *eppendorf*, *refrigerator*, *shaker*, sentrifus, spektrofotometer.

Pada penelitian ini dilakukan beberapa tahapan sebagai berikut:

1. Tahap Aklimasi dan Perlakuan

Udang Regang yang digunakan ditempatkan pada akuarium dengan salinitas 0 ‰ dan diaklimasi selama 3 hari, kemudian 50 % udang redang yang masih hidup dipindahkan pada salinitas 5 ‰ dan diaklimasi selama 3 hari. Dari aklimasi salinitas 5 ‰, 50 % udang redang yang masih hidup dipindahkan pada salinitas 10 ‰ dan diaklimasi selama 3 hari, kemudian 50 % udang redang yang masih hidup dipindahkan pada salinitas 15 ‰ dan diaklimasi selama 3 hari. Dari aklimasi salinitas 15 ‰, 50 % udang redang yang masih hidup dipindahkan pada salinitas 20 ‰ dan di aklimasi selama 3 hari. Setelah tahap aklimasi, masing-masing perlakuan dilakukan pengamatan setiap hari selama 7 hari. Pada tiap perlakuan, parameter kualitas air (pH, DO, suhu, dan salinitas) diukur setiap hari. Media diberi aerasi dan udang diberi pakan berbentuk butiran.

2. Tahap uji

Sampel insang udang dihaluskan dengan mortar. Hasil *homogenate* ditambahkan sebanyak 300-500 μ L *buffer* ekstrak dalam keadaan dingin. Kemudian di inkubasi dalam *refrigerator* selama 30 menit dengan dishaker sekali selama 10 menit, setelah itu di sentrifugasi pada 1.600 rpm selama 10 menit dengan suhu 4 °C. Supernatan yang didapatkan di sentrifugasi pada 14.000 rpm selama 10 menit dengan suhu 4°C. Pelet (endapan) ditambahkan 100 μ L PBS pH 7,4 dan diresuspensi sehingga didapatkan protein hasil ekstraksi.

Penentuan kadar protein total dilakukan dengan Uji *Bradford*. Seba-

nyak 10 µL protein sampel protein dimasukkan ke dalam 790 µL akuades steril kemudian ditambahkan 200 µL larutan *bradford*. Pengukuran kadar protein didasarkan pada OD₅₉₅ sampel menggunakan spektrofotometer dengan kurva standar protein BSA (*bovine serum albumin*), profil protein dari insang udang diidentifikasi menggunakan SDS-PAGE dengan *marker* berat molekul medium range tertentu. Protein divisualisasikan dengan pewarnaan *Coomassie Brilliant Blue*.

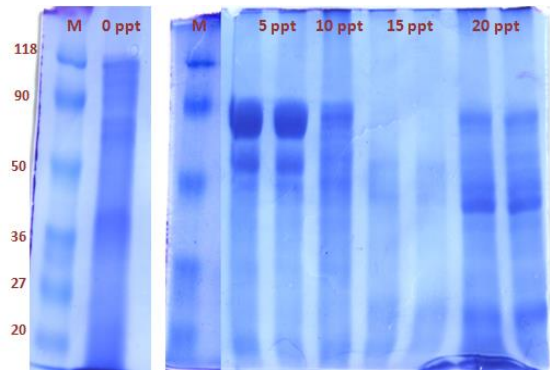
HASIL

Hasil uji *Bradford* digunakan untuk mengetahui kadar protein insang udang dapat dilihat pada Tabel 1. Dari tabel tersebut diperoleh kadar protein tertinggi pada salinitas 0 ‰.

Tabel 1. Kadar Protein Insang udang *Macrobracium sintangen*

Salinitas (‰)	Absorbansi (λ 595 nm)	Kadar Protein (µg/mL)
0	0,335	11,036
5	0,139	4,036
10	0,205	6,393
15	0,137	3,964
20	0,281	9,107

Pengaruh pemaparan pada salinitas 0 ‰, 5 ‰, 10 ‰, 15 ‰ dan 20 ‰ terhadap profil protein dapat dilihat pada gambar 1. Penanda atau marker protein yang digunakan, menunjukkan terdapat enam macam protein standar dengan kisaran berat molekul antara 20 kDa hingga 118 kDa. Berat molekul masing-masing pita penanda protein adalah 118 kDa, 90 kDa, 50 kDa, 36 kDa, 27 kDa, dan 20 kDa.



Gambar 1. Gel elektroforesis protein insang udang

Hasil perhitungan berat molekul insang udang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Berat Molekul Protein Insang Udang pada Berbagai Salinitas

Berat Molekul	Salinitas 0 ppt	Salinitas 5 ppt	Salinitas 10 ppt	Salinitas 15 ppt	Salinitas 20 ppt
20	+	-	-	-	-
25	-	+	+	+	+
30	+	+	+	+	+
34	-	+	-	+	-
35	-	-	+	-	+
37	-	+	-	-	-
38	+	-	-	-	-
41	-	-	-	+	-
47	-	+	+	+	-
48	-	-	-	-	+
52	-	-	-	+	+
53	+	-	-	-	-
54	-	+	+	-	-
58	-	+	+	+	+
65	-	-	-	+	-
67	-	-	+	-	-
69	+	+	-	-	+
73	-	-	+	-	-
83	-	-	-	-	+
85	+	-	-	-	-
88	-	-	+	-	+
91	-	+	-	-	-
92	+	-	-	-	-
109	+	-	-	-	-

PEMBAHASAN

Salinitas adalah tingkat keasinan atau kadar garam terlarut dalam air (Fujaya,1999). Salinitas perairan menggambarkan kandungan garam pada suatu

perairan. Garam yang dimaksud adalah garam dapur (NaCl) yang merupakan berbagai ion yang terlarut dalam air. Pada umumnya salinitas disebabkan oleh 7 ion utama antara lain: natrium (Na), kalium (K), Kalsium (Ca), Klorit (Cl), Magnesium (Mg), Sulfat (SO₄), dan Bikarbonat (HCO₃). Salinitas dinyatakan dalam satuan gram/kg atau promil ‰ (Effendi, 2003).

Salinitas adalah salah satu faktor eksternal yang sangat berpengaruh terhadap fisiologis hewan-hewan akuatik. Masing-masing spesies memiliki rentang toleransi fisiologis yang spesifik terhadap faktor tersebut sehingga mekanisme adaptasinya pun juga berbeda.

Hasil uji kadar protein menunjukkan adanya perbedaan kadar protein pada setiap perlakuan salinitas. Dimana kadar protein pada salinitas 0 ‰ sebesar 11,036 µg/mL, salinitas 5 ‰ sebesar 4,036 µg/mL, salinitas 10 ‰ sebesar 6,393 µg/mL, salinitas 15 ‰ sebesar 3,964 µg/mL dan salinitas 20 ‰ sebesar 9,107 µg/mL. Perubahan salinitas dapat menyebabkan percepatan metabolisme, dan meningkatnya protein dapat memberikan udang energi ekstra atau asam amino untuk meningkatkan kapasitas osmoregulasi dan untuk mendapatkan pertumbuhan maksimal (Rosas *et al.*, 2001).

Pada penelitian ini digunakan media uji dengan salinitas 0 ‰, 5 ‰, 10 ‰, 15 ‰ dan 20 ‰ yang dapat mempengaruhi ekspresi protein yang terdapat pada insang Udang Regang. Ekspresi protein diperoleh dengan metode elektroforesis menggunakan SDS-Page. Dimana pada perlakuan salinitas 0 ‰ dan pada salinitas 5 ‰, pita protein yang muncul pada gel elektroforesis dengan berat molekul antara 91-

109 kDa dan antara 30-38 kDa terlihat lebih tebal dari lainnya yang diduga adalah protein Na⁺- K⁺ ATPase, seperti yang dikemukakan oleh Peterson *et al* (1978) dalam Lucu *et al* (2003) bahwa sub unit α pada protein udang *Artemia salina* sebesar 95-101 kDa dan sub unit β sebesar 38-40 kDa merupakan protein Na⁺- K⁺ ATPase. Sedangkan pada perlakuan salinitas 10 ‰, 15 ‰ dan 20 ‰ tidak terlihat tebal.

Ketika terjadi perubahan salinitas, tantangan utama bagi hewan air adalah untuk mengatur tekanan osmolalitasnya, dengan mengatur volume sel dan menjaga stabilitas enzim (Hochachka, 2002 dalam Erchao *et al.*, 2011). Na⁺K⁺ATPase telah diyakini penting dalam regulasi ion dan keseimbangan air dengan memompa ion Na⁺ ke hemolimfe (Towle, 1981;1984). Albert *et al.* (1994) dalam Bahrus (2007) menjelaskan suatu model sistematis dari siklus pemompaan Na⁺/K⁺ ATPase sebagai berikut: (1) binding Na⁺ dan (2) berikutnya fosforilasi oleh ATP pada permukaan sitoplasma dengan mengaktifkan ATPase (3) menyebabkan protein mengalami suatu perubahan penyesuaian yang mentransfer Na⁺ melintasi membran dan melepaskannya pada bagian luar. (4) kemudian binding K⁺ pada permukaan ekstraseluler dan diikuti (5) defosforilasi mengembalikan protein pada penyesuaian aslinya, (6) yang mentransfer K⁺ melintasi membran dan melepaskannya di dalam sitosol.

Berdasarkan penjelasan di atas menunjukkan bahwa udang yang mengalami perubahan salinitas (0 ‰, 5 ‰, 10 ‰, 15 ‰ dan 20 ‰) dapat mempertahankan kelangsungan hidupnya dengan melakukan osmoregulasi. Terjadinya osmoregulasi pada udang adalah

akibat adanya gradien konsentrasi ion-ion (terutama Na^+ dan K^+) antara intraseluler dan ekstraseluler. Melalui pompa Na^+/K^+ , udang akan melakukan transpor aktif ion Na^+ dan K^+ untuk mempertahankan konsentrasi ion dalam tubuhnya sehingga fungsi fisiologis organ-organ dalam tubuhnya dapat berjalan normal (Becker dan Beamer, 1991 dalam Bahrus, 2007).

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan:

1. Ada perbedaan kadar protein insang udang regang akibat perlakuan salinitas yang berbeda yaitu salinitas 0 ‰, 5 ‰, 10 ‰, 15 ‰ dan 20 ‰ yang diperoleh dari hasil spektrofotometer.
2. Ada perbedaan profil protein insang udang regang akibat perlakuan salinitas yang berbeda yaitu salinitas 0 ‰, 5 ‰, 10 ‰, 15 ‰ dan 20 ‰ yang diperoleh dari hasil elektroforesis.

RUJUKAN

Astuti, O. 2008. Pengaruh Salinitas Terhadap Perkembangan dan Kelangsungan Hidup Menjadi Megalopa Rajungan. *Tesis*. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.

Bahrus, M., S. 2007. Mekanisme Pompa Natrium Kalium (Na^+/K^+) pada Osmoregulasi Ikan Bertulang Sejati (Teleost). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. Vol I (I): 24-33.

Effendi, H. 2003. *Telaah Kualitas Air bagi Pengelolaan Sumberdaya dan Lingkungan Perairan*. Jurusan MSP FPIK IPB. Bogor.

Erchao, L., Leticia, A., Gabriel, L., Gabriela, G., Gérard, C., Carlos, R., Liqiao, C., and Alain, V., W. 2011. Glutamate dehydrogenase and Na^+/K^+ ATPase expression and growth response of *Litopenaeus vannamei* to different salinities and dietary protein levels. *Journal of Oceanology and limnology*. Vol 29 (2): 343-349

Fujaya, Y. 1999. *Dasar Pengembangan Teknik Perikanan*. Rineka Cipta: Jakarta.

Holthuis, L. B. 1980. Shrimps and prawns of the world an annotated catalog of species of interest to fisheries. *FAO Fish Synop* 125:340-350.

Lucu, C., dan Towle, D., W. 2003. Na^+/K^+ ATPase in gill of aquatic crustacea. Review. *Comparative Biochemistry and Physiology* 135: 195–214.

Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., Le Priol, Y., Pascual, C., Rossignol, J., Contreras, F., Sanchez, A. and van Wormhoudt, A. 2001. Metabolism and growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*: effect of salinity and dietary carbohydrates levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 259 (1): 1–22.

Sastrapradja, S., Adisoemarto, S., Suyanto, A., Mussadarim, B., Sabar, F., Anggraitoningsih, W., Rahayuningsih, Y. 1977. *Sumber Protein Hewani*. Lipi. Bogor.

Wowor, D., Muthu, V., Meier, R., Balke, M., Cai, Y., Ng PKL. 2009. Evolution of life history traits in asian freshwater prawns of genus *Macrobrachium* (Custacea: Decapoda: Palaemonidae) based on

multilocus molecular phylogenetic analysis. Molecular Phylogenetics and Evolution, 52: 340-350.