**PERENDAMAN MENGGUNAKAN AMONIAK (NH₃) MENURUNKAN KADAR PROTEIN TOTAL IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)**

Tasya Haditya^{1*}, Tuti Alawiyah², Nur Hidayah³

¹²Fakultas Kesehatan, Universitas Sari Mulia, Jl. Pramuka No. 02, Banjarmasin

³Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Sari Mulia, Jl. Pramuka No. 02, Banjarmasin

*Email : tasyahaditya07@gmail.com

Detail Artikel

Diterima : 10 Juni 2022
Direvisi : 22 September 2022
Diterbitkan : 28 Oktober 2022

Kata Kunci

Ammonia (NH₃)
Protein
Tilapia
Visible Spectrophotometry

Penulis Korespondensi

Name : Tasya Haditya
Affiliation : Fakultas Kesehatan,
Universitas Sari Mulia
E-mail :
tasyahaditya07@gmail.com

ABSTRACT

*This study was aimed to examine the effect of exposure ammonia (NH₃) on the total protein content of Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Ammonia is an alkaline substance and is often found as a contaminant in fish pond cultivation media. Protein is a macromolecular substance that is susceptible to denaturation by the influence of pH. This research uses True Experimental with Post Test Only Control Group Design approach. The test method was carried out qualitatively and quantitatively. The qualitative testing method was carried out using the biuret and ninhydrin tests while the quantitative testing method used visible spectrophotometry. A total of 3 Tilapia fish were divided into 4 equal parts, namely the control group, the 1 hour, 2 hour, and 3 hour immersion group. The immersion was carried out with 100 ml of 50 ppm ammonium hydroxide. The results of the qualitative analysis obtained are the results of all positive samples in the biuret and ninhydrin tests. The results of the quantitative analysis obtained were a decrease*

in total protein levels at intervals of 0,1,2,3 hours with a total decrease in fish 1 of 241.53 ppm, fish 2 of 501.64 ppm and fish 3 of 501.64 ppm. It can be concluded that the administration of ammonia with different intervals of exposure (control, 1 hour, 2 hours, 3 hours) showed a significant effect on the total protein content of Tilapia, namely a decrease in the total protein content.

A B S T R A K

*Amonia merupakan suatu zat yang bersifat alkali dan kerap ditemui sebagai cemaran pada media budidaya tambak ikan. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh paparan ammonia (NH₃) terhadap kadar protein total ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Protein adalah zat makro molekul yang rentan mengalami denaturasi oleh pengaruh pH, baik suasana asam maupun basa. Penelitian menggunakan True Experimental dengan pendekatan Post Test Only Control Group Design. Metode uji dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Metode pengujian kualitatif dilakukan dengan uji biuret dan ninhidrin sedangkan metode pengujian kuantitatif menggunakan spektrofotometri visibel. Sebanyak 3 ekor ikan Nila dibagi menjadi 4 bagian sama banyak, yaitu kelompok kontrol, kelompok rendaman 1 jam, 2 jam, dan 3 jam. Perendaman dilakukan dengan ammonium hidroksida 50 ppm sebanyak 100 ml. Hasil analisis kualitatif yang diperoleh ialah hasil semua sampel positif pada uji biuret dan ninhidrin. Hasil analisis kuantitatif yang diperoleh ialah adanya penurunan kadar protein total pada interval 0,1,2,3 jam dengan total penurunan pada ikan 1 sebesar 241.53 ppm, ikan 2 sebesar 501.64 ppm dan pada ikan 3 sebesar 501.64 ppm. Dapat disimpulkan bahwa pemberian zat ammonia dengan interval lama paparan yang berbeda (kontrol, 1 jam, 2 jam, 3 jam) menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap kadar protein total ikan Nila, yaitu terjadi penurunan kadar protein total. Penurunan kadar protein ini dapat dicegah dengan cara pengelolaan yang baik pada media air budidaya dan melakukan pemantauan kadar cemaran ammonia secara berkala.*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah negara maritime dengan potensi laut dan perikanan yang melimpah (Pratama, 2020). Perikanan menjadi salah satu sector penting bagi negara guna mendukung perekonomian nasional, kemajuan perikanan di Indonesia tidak terlepas dari berkembangnya budi daya ikan di masyarakat tiap tahunnya guna memenuhi kebutuhan sumber protein yang terus meningkat (Kementrian Kelautan dan Perikanan RI, 2018). Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu komoditas ikan air tawar yang banyak dibudidaya oleh masyarakat Indonesia, hal ini dikarenakan ikan Nila adalah ikan air tawar yang cepat untuk dikembangbiakkan dan memiliki protein yang tinggi (Lumban Gaol, 2017). Dalam proses budi daya ikan ada beberapa permasalahan yang kerap ditemui, salah satunya ialah habitat yang tercemar oleh berbagai kontaminan. Salah satu kontaminan yang sering ada dalam media budi daya adalah amonia.

Amonia ialah suatu zat kimia yang bersifat alkali kuat yang dipandang sebagai substansi potensial yang sangat toksik pada budidaya ikan (Sutomo, 1989). Berdasarkan Standar Parameter Kimia Kualitas Air Budidaya Ikan pada PP No. 82 Tahun 2001 standar nilai amonia maksimum yaitu <0,02 mg/L, serta konsentrasi mematikan amonia untuk ikan berkisar dari 0,56-2,37 ppm dalam waktu 24-96 jam (Royan et al., 2019). Nilai amonia yang tinggi dapat menimbulkan beberapa efek, seperti menghambat pertumbuhan, turunnya kadar

sel darah dan oksigen, kerusakan struktural pada berbagai organ, bahkan kematian (Sutomo, 1989).

Protein memiliki peran yang sangat beragam dalam tubuh, yaitu sebagai katalis enzimatik, protein imun, koordinasi gerak, penunjang mekanis, transport dan penyimpanan (Sismindari et al., 2016). Protein bisa didapat melalui beragam sumber protein hewani dan nabati, salah satu sumber protein hewani yang tinggi protein ialah ikan Nila, yaitu mengandung protein sekitar 20,08 persen dalam 100 gram ikan nila. Kandungan protein ini lebih besar dari ikan lele, gurami, tongkol dan cakalang (United States Department of Agriculture Food, 2016). Protein merupakan makro molekul yang terdiri dari rantai asam amino yang dihubungkan oleh ikatan peptide membentuk rantai peptida, selain itu protein bersifat poli elektrolit (memiliki banya kmuatan) sehingga sangat sensitive terhadap asam dan basakuat (amfoter) (Gandy, 2014). Oleh karena itu ingin dilihat apakah ada pengaruh dari berbagai lama waktu paparan amonia yang bersifat alkali terhadap kadar protein total ikan Nila dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis.

METODE PENELITIAN

Alatdan Bahan

Alat yang digunakan yaitu Spektrofotometer UV-Vis (Spectroquant Pharo 300), blender, sentrifus, neraca analitik, pipet tetes, erlenmeyer, labu ukur, rak tabung, tabung reaksi, gelas beaker, pipet volume, gelas ukur, sendok tanduk, plastic *wrap*, spatula, corong, batang pengaduk, kertas saring, lampu bunsen, penjepit. Adapun bahan yang digunakan ialah daging ikan Nila, amonium hidroksida (NH₄OH) 25%, aquadest, larutan BSA Induk (*Bovine Serum Albumin*), reagen biuret (natrium hidroksida, kalium natrium tartrat p.a, tembaga (II) sulfat p.a), ammonium sulfat kristal p.a, buffer asetat pH 5 (asam asetat p.a & natrium asetat p.a), ninhydrin 0,1%.

Pengujian Kualitatif

Uji kualitatif dilakukan dengan 2 uji, yaitu uji biuret dan uji nin hidrin. Uji biuret dilakukan dengan menambahkan 2 mL reagen biuret kedalam 2 mL filtrate daging ikan Nila kelompok kontrol, sedangkan uji nin hidrin dilakukan dengan menambahkan 2 mL nin hidrin 0,1% kedalam 2 mL filtratikan, lalu dididihkan.

Preparasi Sampel

Uji kuantitatif dilakukan dengan merendam 20 gram daging fillet ikan nila tiap kelompok perlakuan pada 100 mL ammonium hidroksida 50 ppm dengan lama perendaman sesuai kelompok masing-masing (1 jam, 2 jam, 3 jam). Setelah itu daging ikan yang telah direndam di blender dengan 100 mL aquadest dan disaring, lalu ditambahkan aquadest ad 100 mL (Fendri et al., 2019).

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum dan Pembuatan Kurva Baku

Timbang 0,1 g BSA (*Bovine Serum Albumin*) dan dilarutkan dengan 100 mL aquadest, didapatkan larutan 1000 ppm. Ambil 2,2 mL dan tambahkan 0,8 mL reagen biuret, lalu ukur serapan panjang gelombang maksimum pada rentang 400-800 nm (Umniyatie et al., 2016).

Pembuatan kurva baku dilakukan dengan membuat larutan 20,40,60,80 ppm pada labu ukur 25 mL. Selanjutnya ambil 2,2 mL masing-masing larutan dan tambahkan 0,8 mL reagen biuret, lalu ukur absorbansi tiap larutan (Umniyatie et al., 2016).

Dekstruksi Sampel dan Pengukuran Kadar Protein Total

Pengukuran kadar protein dilakukan dengan menyiapkan 5 mL filtratikan ditambahkan ammonium sulfat Kristal hingga jenuh. Lalu sentrifus dengan kecepatan 11.000 rpm selama 10 menit, bagian yang mengendap diambil dan dilarutkan dengan buffer asetat pH 5 ad 5 mL. Lalu pipet 2,2 mL larutan dan tambahkan 0,8 mL reagen biuret dan ukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum (Fendri et al., 2019). Ukur kadar protein dengan memasukkan dalam persamaan Lambert-Beer, yaituy = a+bx.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Hasil Uji Biuret

Uji	Sampel	Hasil	Kesimpulan
Biuret	Ikan 1	Ungu Muda	Positif (+)
	Ikan 2	Ungu Muda	Positif (+)
	Ikan 3	Ungu Muda	Positif (+)

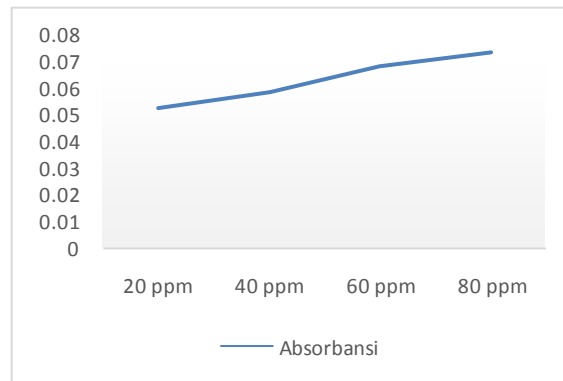
Pengujian kualitatif yang pertama ialah uji biuret, larutan sampel uji yaitu filtrate daging ikan 1, 2 dan 3 berwarna ungu muda yang menunjukkan hasil positif mengandung protein. Hal ini dikarenakan dalam larutan basa, ion Cu²⁺ yang berasal dari pereaksi biuret tembaga sulfat (CuSO₄) akan bereaksi dengan gugus -CO dan -NH dari rantai peptida yang menyusun protein membentuk kompleks berwarna ungu (Yuliani, 2018).

Tabel 2. Hasil Uji Ninhidrin

Uji	Sampel	Hasil	Kesimpulan
Ninhidrin	Ikan 1	BiruKeunguan	Positif (+)
	Ikan 2	BiruKeunguan	Positif (+)
	Ikan 3	BiruKeunguan	Positif (+)

Uji kualitatif yang kedua yaitu uji ninhidrin, ketiga larutan sampel berwarna biru keunguan yang menunjukkan hasil positif mengandung protein. Hal ini dikarenakan adanya

interaksi ninhidrin dengan asam amino bebas yang memiliki gugus -NH₂ dan tidak dipakai dalam membuat rantai peptida dengan asam amino yang lainnya. (Yuliani, 2018).



Gambar 1. Panjang Gelombang Maksimum Serapan

Pada uji kuantitatif, tahap pertama yang dilakukan ialah skrining panjang gelombang maksimum, didapatkan hasil skrining yaitu puncak gelombang maksimum pada panjang 549 nm dan nilai regresi linier yaitu $a = 0,0455$, $b = 0,000329$ dan $r = 0,99316$.

Tabel 3. Kadar Protein Total Sampel

No	Jam	Kadar Ikan (ppm)	Kadar Ikan 1 (ppm)	Kadar Ikan 2 (ppm)	Kadar Ikan 3 (ppm)
1	Jam ke-0	510,93	548,09	585,25	
2	Jam ke-1	492,35	436,62	455,19	
3	Jam ke-2	436,62	250,82	362,3	
4	Jam ke-3	269,40	46,45	83,61	

Tabel 4. Uji ANOVA One Way

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	289584.164	3	96528.055	15.322	.001
Within Groups	50398.374	8	6299.797		
Total	339982.538	11			

Setelah dilakukan pengukuran kadar protein total ikan Nila dari tiap kelompok (0 jam, 1 jam, 2 jam, 3 jam), didapatkan hasil kadar protein total yang menurun pada tiap waktunya, lalu data dianalisis dengan metode ANOVA *One way* (nilai *Confidence Interval* sebesar 95%) untuk melihat apakah interval waktu perendaman berpengaruh terhadap kadar protein total ikan. Dari hasil yang didapatkan yaitu nilai *p-value* sebesar 0.001, karena nilai *p-value* (0,001) < α (0,05) maka H_0 ditolak dan hal ini menunjukkan terdapat perbedaan kadar ikan pada waktu kontrol, 1 jam, 2 jam, dan 3 jam (ada pengaruh waktu terhadap kadar ikan). Dari hasil analisis statistic menunjukkan bahwa pemberian zat ammonia dengan interval lama paparan yang berbeda (kontrol, 1 jam, 2 jam, 3 jam) memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar protein total ikan Nila, yaitu terjadi penurunan kadar protein total.

Penurunan kadar protein total terjadi karena adanya proses denaturasi pada sampel. Denaturasi dapat mengubah sifat protein menjadi sukar larut dalam air, hal ini dapat disebabkan oleh pemanasan, penambahan asam / basa, penambahan enzim, dan adanya logam berat. Denaturasi dapat diartikan sebagai perubahan atau modifikasi terhadap struktur sekunder, tersier, dan kuaterner molekul protein, tanpa terjadinya pemecahan ikatan kovalen. Karena itu denaturasi dapat juga dikatakan sebagai suatu proses terpecahnya hydrogen interaksi hidrofobik, ikatan garam dan terbentuknya lipatan molekul (Triyono, 2010)

Proses denaturasi yang terjadi adalah akibat dari sifat amonia yang bersifat basa. Molekul protein memiliki gugus amino (-NH₂) dan gugus karboksilat (-COOH) pada ujung-ujung rantainya, hal ini menyebabkan protein memiliki banyak muatan (polielektrolit) dan bersifat amfoter, yaitu dapat bereaksi dengan asam dan basa. Setiap protein mempunyai pH tertentu yang disebut titik isoelektrik (TI). Pada pH isoelektrik (pI), molekul protein mempunyai muatan positif dan negatif yang sama, sehingga saling menetralkan atau bermuatan nol. Sedangkan pada larutan basa atau pH tinggi, gugus karboksilat akan bereaksi dengan ion OH⁻, sehingga protein bermuatan negatif (Yazid & Nursanti, 2006).

Titik isoelektris adalah saat dimana pada pH asam amino berada pada bentuk amfoter (*zwitter ion*), dan pada saat titik isoelektris ini kelarutan protein menurun dan mencapai angka terendah, protein akan mengendap dan menggumpal. Pada saat titik isoelektris ini jumlah kation dan anion yang terbentuk sama banyaknya. Berdasarkan struktur molekulnya, pada dasarnya asam amino merupakan senyawa yang bermuatan ganda atau *zwitter ion*, keadaan ini mudah berubah karena dipengaruhi oleh keadaan sekitar atau pH lingkungan. Pada pH rendah (suasana asam) asam amino akan bermuatan positif sedangkan pada pH tinggi (suasana basa) akan bermuatan negatif. Pada pH 4,8-6,3 (pH isoelektris) asam amino

akanberada pada keadaan dipolar atau *ion zwitter*. Pada keadaan ini kelarutan protein dalam air paling kecil sehingga protein akan menggumpal dan mengendap (Suhartono & Atika, 2017).

Kebanyakan protein bersifat stabil pada pH atau titik isoelektris. Pada pH ekstrem, gaya tolak elektrostatis dalam molekul protein yang disebabkan muatan tinggi mengakibatkan struktur protein membengkak dan terbuka. Derajat terbukanya struktur protein lebih besar pada pH alkali dibandingkan pada pH asam. Pada kondisi alkali, terjadi ionisasi gugus karboksil, fenolik, dan sulfhidril di bagian dalam protein sehingga struktur protein terbuka dengan tujuan mengekspos gugus tersebut pada fase air. Denaturasi protein akibat pH kebanyakan bersifat *reversible*. Akan tetapi, pada sejumlah kasus hidrolisis ikatan peptide secara parsial, deamidasi dua speragin dan glutamin, dan kerusakan gugus sulfhidril pada pH alkali dapat menyebabkan denaturasi protein yang bersifat *irreversible* (Estiasih et al., 2016).

SIMPULAN

Pemberian zat ammonia dengan interval lama paparan yang berbeda (kontrol, 1 jam, 2 jam, 3 jam) memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar protein total ikan Nila, yaitu terjadi penurunan kadar protein total.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih yang setulus-tulusnya kami sampaikan kepada pihak Universitas Sari Mulia Banjarmasin yang telah memberikan dukungan kepada kami untuk melakukan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Estiasih, T., Harijono, Waziiroh, E., Fibrianto, K., & Hastuti, S. B. (2016). *Kimia dan Fisik Pangan* (1st ed.). Bumi Aksara. <http://inlislite.uin-suska.ac.id/opac/detail-opac?id=13048>
- Fendri, S. T. J., Ifmaily, I., & Rakmah Syarti, S. (2019). Analisis Protein Pada Rinuak, Pensi dan Langkitang dengan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Katalisator*, 4(2), 119. <https://doi.org/10.22216/jk.v4i2.4425>
- Gandy, J. W. (2014). *Gizi dan Dietetika Edisi 2*. Buku Kedokteran EGC.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan RI. (2018). *Pengolahan Data Produksi Kelautan dan Perikanan*. <https://statistik.kkp.go.id/home.php?m=total&i=2#panel-footer>
- Lumban Gaol, V. L. (2017). *Kandungan Gizi Dan Daya Terima Bakso Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) Dengan Penambahan Tepung Labu Kuning (*Cucurbita Moschata*)* [Universitas Sumatera Utara]. <https://repositori.usu.ac.id/bitstream/handle/123456789/16641/121000394.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Pratama, O. (2020). *KKP / Kementerian Kelautan dan Perikanan*.

<https://kkp.go.id/djprl/artikel/21045-konservasi-perairan-sebagai-upaya-menjaga-potensi-kelautan-dan-perikanan-indonesia>

- Royan, M. R., Solim, M. H., & Santanumurti, M. B. (2019). Ammonia-eliminating potential of *Gracilaria* sp. and zeolite: A preliminary study of the efficient ammonia eliminator in aquatic environment. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 236(1), 1–9. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/236/1/012002>
- Sismindari, Rumiya, Riris, J. I., & Meiyanto, E. (2016). *Biokimia Farmasi* (S. Utari (ed.); 1st ed.). Gadjah Mada University Press.
- Suhartono, S., & Atika, W. (2017). Isolasi dan Uji Aktivitas Protease dari Aktinobakteri Isolat Lokal (AKJ-09) Aceh. *Jurnal Unsyiah*, 1(3).
- Sutomo. (1989). Pengaruh Amonia terhadap Ikan dalam Budidaya Sistem Tertutup. *Oseana*, 14(1), 19–26. www.oseanografi.lipi.go.id
- Triyono, A. (2010). Mempelajari Pengaruh Penambahan Beberapa Asam Pada Proses Isolasi Protein Terhadap Tepung Protein Isolat Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus* L). *Seminar Rekayasa Kimia Dan Proses*.
- Umniyatie, S., Rakhmawati, A., & Yulianti, E. (2016). the Optimation of Cellulase Enzyme of Mold Isolated From Agriculture Land in Wukirsari After Merapi Eruption. *Jurnal Sains Dasar*, 4(1), 77–86. <https://doi.org/10.21831/jsd.v4i1.8445>
- United States Department of Agriculture Food. (2016). *National Nutrient Database for Standard Reference*. Amerika Serikat.
- Yazid, E., & Nursanti, L. (2006). *Penuntun Praktikum Biokimia Untuk Mahasiswa Analisis* (O. H. Sudiyarto (ed.); 1st ed.). ANDI. <https://opac.perpusnas.go.id/DetailOpac.aspx?id=513952>
- Yuliani, D. (2018). *Petunjuk Praktikum Biokimia*. <http://kimia.uin-malang.ac.id/wp-content/uploads/2019/07/Buku-Petunjuk-Praktikum-Biokimia-I.pdf>