

UJI BIOLOGIS EKSTRAK KASAR DAN ISOLAT ALBUMIN IKAN GABUS (*Ophiocephalus striatus*) TERHADAP BERAT BADAN DAN KADAR SERUM ALBUMIN TIKUS MENCIT

Oleh:
***Matheus Nugroho**

*) Tenaga Pengajar Fakultas Pertanian Universitas Yudharta Pasuruan

Abstrak

Tujuan penelitian ini untuk menentukan kualitas biologis ekstrak kasar dan isolat albumin ikan gabus yang optimal terhadap berat badan dan kadar serum albumin tikus mencit. Analisa data penelitian ini adalah uji kualitas biologis ekstrak kasar dan isolat albumin pada tikus mencit, perbedaan hasil tiap perlakuan dianalisa dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktor tunggal. Hasil terbaik uji kualitas biologis ekstrak albumin kasar dan isolat albumin pada tikus Mencit (*Mus musculus L.*) adalah berat badan tertinggi 28,48 g, pada mencit yang diberi perlakuan ekstrak albumin kasar. Kadar albumin serum tertinggi 2,22 g/dl pada mencit yang diberi perlakuan ekstrak albumin kasar.

Kata kunci : ikan gabus (*Ophiocephalus striatus*), kualitas biologis ekstrak kasar dan isolat albumin, tikus mencit (*Mus musculus L.*)

Abstract

The objective of this study to determine the biological quality of crude extracts and albumin isolates of gabus fish that optimal towards body weight and albumin serum content of murine rodents. Analysis of data of this study is to test the biological quality of crude extract and isolate albumin in rats mice, differences in the results of each treatment group were analyzed by Randomized Design (RAK) a single factor. The best results test of the biological quality of crude albumin extract and albumin isolates in murine rodents (*Mus musculus L.*) is the highest weight 28.48 g, in rodent treated crude albumin extract. The highest contents of serum albumin 2.22 g / dl in rodent treated crude albumin extract.

Key words : gabus fish (*Ophiocephalus striatus*), the biological quality of crude extract and isolate albumin, murine rodents (*Mus musculus L.*)

Pendahuluan

Salah satu protein sederhana dalam plasma darah adalah albumin. Albumin dalam tubuh disintesa di dalam hati dengan jumlah sangat kecil. Kekurangan albumin dalam serum dapat mempengaruhi pengikatan dan pengangkutan senyawa-senyawa endogen dan eksoden, termasuk obat-obatan, karena seperti diperkirakan distribusi obat keseluruhan tubuh itu pengikatannya melalui fraksi albumin (Goldstein *et al.*, 1968; Vallner, 1977; Tandra *et al.*, 1988). Jika kadar albumin serum berada dibawah nilai normal, maka fraksi obat yang terikat protein tersebut berkurang, dengan kata lain fraksi obat bebas banyak sehingga keadaan ini dapat menimbulkan pengaruh obat yang tidak diinginkan.

Pengadaan albumin terutama untuk kasus bedah saat ini mencapai 91%, 2/3 albumin tersebut dipakai di bagian bedah dan sisanya 1/3 bagian dipergunakan untuk penanganan penyakit dalam. Harga serum albumin untuk infus mencapai kurang lebih Rp. 1.500.000,- per botol kemasan 100 ml-20% albumin (Alexander *et al.*, 1979; Tullis, 1997).

Ikan gabus diketahui mengandung protein yang lebih tinggi dibandingkan jenis ikan

lainnya. Kadar protein ikan gabus mencapai 25,5%, lebih tinggi dibandingkan protein ikan bandeng (20,0%), ikan emas (16,05), ikan kakap (20,0%), maupun ikan sarden (21,1%). Kadar albumin ikan gabus bisa mencapai 6,22% (Carvalo, 1998).

Hasil penelitian Suprayitno (2003) tentang tingkat kesembuhan luka pada tikus putih yang mengalami penurunan kadar albumin (1,8 g/dl) memberikan hasil yang signifikan. Uji coba telah dilakukan oleh instalasi gizi dan bagian bedah RSUD. Dr. Syaiful Anwar Malang selama 1979-1998, berupa pemberian filtrat dari 2 kg/hari ikan gabus terhadap pasien pasca operasi, ibu yang baru melahirkan dan beberapa pasien luka tusukan, yang mempunyai kadar albumin rendah (2,8 g/dl), selama 2-4 hari terjadi peningkatan albumin tubuh menjadi 4,4-5,5 g/dl (kadar albumin normal tubuh manusia), dan permukaan luka mengalami penutupan. Proses pengukusan tersebut dilakukan pada suhu air mendidih (Soemarko, 1997).

Para praktisi kesehatan telah memanfaatkan ekstrak ikan gabus sebagai makanan tambahan (menu ekstra) untuk penderita terindikasi hipoalbuminemias, luka bakar, dan diet setelah operasi. Dari berbagai studi kasus dan penelitian diketahui

bahwa ekstra ikan gabus secara nyata dapat meningkatkan kadar albumin pada kasus-kasus albuminemia dan mempercepat proses penyembuhan luka pada kasus pasca operasi (Asikin, 1999; Sugihastutik, 2002; Nilasanti, 2003). Mudjiharto (2007) menjelaskan bahwa ikan gabus merupakan bahan sumber albumin yang potensial. Albumin ikan gabus dapat digunakan sebagai biofarma dan bahan substitusi albumin manusia. Agustini (2006) menjelaskan bahwa albumin ikan gabus secara nyata dapat meningkatkan kadar albumin serum dan mempercepat penutupan luka pada tikus percobaan.

Pengaruh perlakuan suhu tinggi menyebabkan perubahan melemahnya enzim proteinase dan nilai daya cerna protein (Nielsen *et al.*, 1988; Deshpande and Damodaran, 1989). Perlakuan panas pada albumin akan menghasilkan perubahan struktur yang tidak dapat balik (*irreversible*), yang terlihat dengan meningkatnya protein yang tidak larut dalam air. Pengaruh perlakuan panas pada struktur albumin juga dapat melepaskan terbukanya struktur albumin, sehingga diperlukan perlakuan panas yang tepat pada struktur protein tersebut (Stryer, 1981; Slavik, 1982;

Arakawa *et al.*, 1991; Wicker *et al.*, 1986 dan Arntfield *et al.*, 1989).

Albumin, sebagaimana protein umumnya sangat retan terhadap pengaruh suhu, sehingga penerapan suhu yang tepat sangat diperlukan dalam proses untuk menghasilkan ekstrak ikan yang berkualitas baik. Karena pemanasan akan mempengaruhi permisiabilitas dinding sel sehingga proses pengeluaran plasma dari jaringan bisa lebih cepat. Penerapan suhu proses antara 70-80°C memberikan hasil yang baik. Pemanasan pada suhu 90°C selama 10 menit telah menggumpalkan sebagian besar protein plasma, sehingga tidak dapat diekstrak (de Man, 1977).

Berdasarkan hasil penelitian pada ikan gabus dan ikan tomang didapatkan kadar albumin sebesar 1332,7 mg/100 g dan 1188,05 mg/100 g (Carvallo, 1998). Analisa kadar albumin pada filtrat ikan gabus hasil pengukusan suhu 98°C adalah 19,4% (Martini, 1998). Hasil analisa sterilisasi ikan gabus pada suhu 121°C selama 25 menit didapatkan kadar albumin filtrat adalah $116,419 \pm 22,660$ mg/100 g (Hidayati, 1999).

Hal ini semua memperkuat alasan untuk memperoleh isolat albumin hasil ekstraksi secara pengukusan ikan gabus untuk diuji kualitas biologis terhadap tikus mencit. Ekstrak albumin ikan gabus

diharapkan dapat sebagai pengganti serum albumin impor dalam upaya membantu mempertahankan dan meningkatkan nilai gizi dan kesehatan manusia, sehingga dapat mengurangi anggaran biaya kesehatan yang makin mahal.

Materi dan Metode

Peralatan yang dipergunakan pembuatan ekstrak kasar ikan gabus antara lain : pisau, gunting, waterbath, thermokopel, thermometer 100°C, timbangan gelas ukur, kain saring, plastik dan press hidrolik. Peralatan untuk analisa kadar albumin antara lain : kuvet diameter 1 cm, Shimadzu spectrophotometer UV-100-02 dan spectrophotometer SMA *autoanalyzer*.

Kolom filtrasi gel ukuran (2,5 x 60 cm) dengan bahan isian sephadex G-75 untuk memurnikan ekstrak kasar albumin.

Bahan-bahan yang digunakan untuk ekstraksi adalah ikan gabus yang diperoleh dari bendungan Karangkates dalam keadaan hidup dan aquadest. Bahan untuk uji kadar albumin menggunakan metode *brom cresol green* adalah *buffer succinate* (7 mmol/l pH 4,2), brom cresol green 0,15 mmol/l, brij 35 dan aquadest dapar succinate (0,01 M; pH 4,2), untuk kadar albumin setelah pemurnian kolom filtrasi gel pengujinya dengan

UV, bahannya antara lain BSA standar 0,5 g/l, buffer phosphat 0,1 M pH 7,1 dan aquadest.

Bahan yang digunakan untuk pemurnian ekstrak kasar albumin terdiri dari 1 g sephadex G-7, buffer phosphat (0,1 M pH 7,1), *glasswool* dan natrium azid 0,2%.

Analisa data yang digunakan dalam penelitian adalah uji kualitas biologis ekstrak kasar dan isolat albumin pada tikus mencit, perbedaan hasil setiap perlakuan dianalisa dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktor tunggal.

Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan Tabel 1. Menunjukkan bahwa berat badan dan kadar albumin serum tikus mencit, sebagai parameter status gizi mengalami peningkatan setelah pemberian ekstrak kasar ikan gabus 15 ml/hari. Berat badan tikus setelah diberi makan gapplek dan isolat albumin ikan gabus (setelah pemurnian kolom filtrasi gel sephadex G-75) bertambah 5,4% dibandingkan berat badan sebelum perlakuan, dan bertambah 32% dibandingkan berat badan tikus kontrol (diberi pakan gapplek, tanpa ekstrak kasar ataupun isolat albumin). Begitu juga dengan tikus yang diberi perlakuan pakan gapplek dan ekstrak kasar (tanpa pemurnian), berat badan bertambah 14,9% dibandingkan berat badan

sebelum perlakuan, dan bertambah 58% dibandingkan berat badan tikus kontrol, sementara berat badan tikus kontrol mengalami

penurunan 22,7%, jika dibandingkan berat badan sebelum perlakuan.

Tabel 1. Berat Badan dan Kadar Albumin Serum Tikus Mencit setelah perlakuan 15 hari (n = 18)

Ransum Pakan	Berat Badan (g)		Kadar Albumin (g/dl)
	Pra	Pasca	
1. Gaplek + air putih + isolat albumin (n1)	22,67	23,89b (5,4;32)%	1,95b (33%)
2. Gaplek + air putih + ekstrak kasar (n2)	24,79	28,48c (14,9;58)%	2,22b (51%) (14%)
3. Gaplek + air putih (nc)	23,35	18,04a (22,7%)	1,47a (0%)
		BNT ($\alpha = 0,01$)	BNT ($\alpha = 0,01$)

Keterangan :

angka berat badan dan kadar albumin yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama adalah tidak berbeda nyata, pada uji BNT ($\alpha=0,01$)

- Pra = pra perlakuan; pasca = paska perlakuan
- Gaplek dan air putih diberikan ad libitum (tidak terbatas)
- Ekstrak kasar dan isolat albumin yang diberikan = 15 ml/hari
- n1 = tikus percobaan 1; n2 = tikus percobaan 2; nc = tikus kontrol

Protein rendah (15%), dapat menurunkan secara bermakna berat badan tubuh hewan coba itu. Pengurangan berat badan ini terutama disebabkan karena berkurangnya lemak tubuh akibat konsumsi lemak yang terbatas di dalam gaplek (0,7%). Beberapa peneliti tersebut menyatakan bahwa ada korelasi yang tinggi ($r = 0,90-$

0,97) antara lemak tubuh dan berat badan. Pertambahan berat badan untuk tikus yang diberi ekstrak ikan gabus (ekstrak kasar ataupun isolat albumin), diduga karena kandungan lemak ekstrak ikan gabus cukup memadai untuk konsumsi tubuh, yaitu 1,7% berat basah dan 4% berat kering (Sediaoetama, 1985).

Hasil analisis ragam (Tabel 1.) menunjukkan bahwa perlakuan ransum pakan yang berbeda, yaitu kombinasi gaplek dan ekstrak ikan gabus (isolat albumin dan ekstrak kasar), dengan yang hanya diberi gaplek, ternyata berpengaruh sangat nyata terhadap berat badan tikus ($\alpha = 0,01$).

Berdasarkan data (Tabel 1.) menunjukkan bahwa berat badan tikus tertinggi adalah 28,48 g, dan terjadi pada perlakuan kombinasi antara gaplek dan ekstrak kasar, sementara untuk perlakuan kombinasi gaplek dan isolat albumin berat badan adalah 23,89 g.

Berdasarkan data (Tabel 1.) menunjukkan bahwa kadar albumin serum tikus untuk perlakuan kombinasi pakan gaplek dan isolat albumin (setelah pemurnian kolom filtrasi gel sephadex G-75), bertambah 33% dibandingkan kadar albumin serum tikus kontrol (gaplek tanpa ekstrak ikan gabus). Begitu juga kadar albumin serum tikus untuk perlakuan kombinasi pakan gaplek dan ekstrak kasar, jika dibandingkan dengan tikus kontrol hasilnya bertambah 51%, sementara bila kadar albumin serum tikus hasil perlakuan kombinasi pakan gaplek dan isolat albumin hasilnya bertambah 14%. Bertambahnya kadar albumin serum tikus setelah diberi ekstrak ikan gabus (ekstrak kasar dan isolat albumin), diduga

adanya asam-asam amino penyusun albumin yang terdapat pada ekstrak ikan gabus, sementara berkurangnya kadar albumin serum tikus kontrol, bila dibandingkan dengan tikus percobaan yang diberi perlakuan ekstrak ikan gabus adalah karena akibat kandungan protein (albumin) dalam gaplek sangat kurang. Rusli *et al.* (2006) menjelaskan hasil penelitian mengenai peningkatan kadar albumin pada tikus putih setelah pemberian ekstrak ikan gabus 2 ml/200 g = 0,36 g/dl; ekstrak ikan gabus 2,5 ml/200 g = 0,56 g/dl; ekstrak ikan gabus 3 ml/200 g = 1,0 g/dl. Ekstrak ikan gabus dapat meningkatkan kadar albumin tikus putih yang telah mengalami kerusakan hati akibat induksi karbontetraklorida.

Pike and Brown (1984), menjelaskan dalam penelitiannya, bahwa pengurangan kadar albumin serum tikus setelah diberi diet gaplek adalah akibat konsumsi asam amino yang sangat kurang dan dalam waktu yang relatif lama, sehingga sintesis protein albumin oleh hepar mengalami hambatan. Pada saat pembedahan untuk pengambilan darah, secara visual terlihat adanya kecenderungan *cardiac vascular* tikus kontrol mudah pecah, hal tersebut diduga tikus dengan kadar proteininya yang rendah, ketahanan tubuhnya

menjadi berkurang. Koneman (1971), menjelaskan dalam penelitiannya bahwa tikus yang lapar gizi, individu tersebut cenderung mudah terserang infeksi. Peningkatan kadar albumin serum tikus yang diberi ekstrak kasar mencapai 51%, hal ini diduga kandungan protein ekstrak kasar masih kompleks dan tinggi (protein globulin dan lipoprotein), dengan komposisi asam amino yang relatif masih lengkap, yang meliputi asam amino esensial dan asam amino non esensial dibandingkan isolat albumin. Buchanan (1978), melaporkan bahwa pengurangan albumin serum tikus juga dipengaruhi oleh hambatan sintesa fraksi globulin oleh hepar, sebab pada kondisi kadar globulin turun

tikus mudah terserang infeksi, sehingga menurunkan kondisi normal albumin serum. Suryadi *et al.*, (1991) menjelaskan bahwa menurunnya sintesa albumin karena akibat kurang gizi, hal tersebut dapat tercermin dari kadar biokimia darah, yang meliputi turunnya fraksi-fraksi albumin, globulin, lipoprotein dan total protein dalam tubuh. Tandra *et al.* (1988), menyatakan bahwa asam amino utama penyusun albumin adalah asam aspartat dan glutamat. Suprayitno (2003), menyatakan kadar asam amino tertinggi dalam albumin ikan gabus adalah asam glutamat, leusin dan asam aspartat, seperti tersaji pada Tabel 2.

Tabel 2. Kadar asam amino dalam albumin yang terdapat 100 gram dari setiap gram bagian yang dapat dimakan Ikan gabus

NO	Jenis Asam Amino	Albumin Ikan Gabus (%)
1	Fenialanin	7,5
2	Isoleusin	8,34
3	Leusin	14,98
4	Metionin	0,81
5	Valin	8,66
6	Treonin	8,34
7	Lisin	17,02
8	Histidin	4,16
9	Asam Aspartat	17,02
10	Asam Glutamat	30,93
11	Alanin	10,07
12	Prolin	5,19
13	Serin	11,02
14	Glisin	6,99
15	Sistein	0,16
16	Tirosin	7,49

Sumber : Suprayitno (2003)

Hasil analisis ragam (Tabel 1.) menunjukkan bahwa perlakuan ransum pakan berbeda, yang meliputi gapplek dengan ekstrak ikan gabus (isolat albumin dan ekstrak kasar), dan yang hanya diberi gapplek, ternyata berpengaruh sangat nyata terhadap kadar albumin serum tikus ($\alpha = 0,01$), tetapi untuk perbandingan antara perlakuan kombinasi gapplek dan isolat albumin dengan gapplek dan ekstrak kasar, hasil analisis ragam tidak berbeda nyata, hal ini menunjukkan

bahwa meskipun kedua jenis ekstrak ikan gabus mempunyai kadar albumin yang berbeda yaitu 1,77 mg/g untuk isolat albumin, dan 152 mg/g untuk ekstrak kasar, namun karena proses absorpsi protein terlarut dalam saluran cerna tubuh tikus menghasilkan kadar albumin serum tikus yang tidak berbeda nyata, artinya secara kuantitas protein dalam isolat albumin hasil pemurnian kolom filtrasi gel sephadex G-75 jauh lebih mudah terabsorpsi dalam

saluran cerna tikus, dibandinkan protein ekstrak kasar.

Kesimpulan

Uji kualitas biologis ekstrak albumin kasar dan isolat albumin pada tikus Mencit (*Mus musculus L.*) adalah berat badan tertinggi 28,48 g, pada mencit yang diberi perlakuan ekstrak albumin kasar. Kadar albumin serum tertinggi 2,22 g/dl pada mencit yang diberi perlakuan ekstrak albumin kasar.

Saran

Berdasarkan hasil terbaik penelitian tersebut diatas, disarankan untuk dilakukan penelitian lanjutan lainnya yang terkait yaitu bagaimana pengaruh ekstrak albumin ikan gabus terhadap kadar protein dan perkembangan pembentukan jaringan sel baru akibat luka pada tikus mencit

Daftar Pustaka

Agustini, D.F., 2006. Pengaruh Pemberian Serbuk Albumin Ikan Terhadap Penutupan Luka Pada Tikus Putih Wistar (*Rattus norvegicus*). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang. Tidak Diterbitkan. Hal. 102

Alexander, M.R. J.J. Ambre, B.I. Liskon and D.C. Trash, 1979.

- Therapeutic Use Of Albumin. *JAMA*, 241 : 2527-2529.
- Arakawa, T., Y.A. Kita and L. Narhi, 1991. Protein-Ligand Interaction as a Method to Study Surface Properties of Proteins. Pages 87-125 in: *Methods of Biochemical Analysis*. C. H. Suelter, ed. J. Wiley & Sons: New York
- Arntfield, S.D., E.D. Murray, M.A.H. Ismond and A.M. Bernatsky, 1989. Role of The Thermal Denaturation-Aggregation Relationship in Determining The Rheological Properties of Heat Induced Networks for Ovalbumin and Vicilin. *J. Food Sci.* 54: 1624-1631
- Asikin, A., 1999. The Impact of Snakehead Filtrate Extra Menu Administration for Pre and Post-operative Patients in Saiful Anwar General Hospital Malang, (Thesis). (in Indonesian)
- Buchanan, N., 1978. Drug Kinetics in Protein – Energy Malnutrition. *S. Afr. J. Med.*, Page. 53:327
- Carvallo, Y. N., 1998. Study Profit Asam Amino, Albumin, Mineral Zn pada Ikan Gabus (*Ophiocephalus sriatus*) dan Ikan Tomang (*Ophiocephalus*

- Micropeltus). Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. Hal 28-30.
- De Man, J. M., 1997. Kimia Pangan. Edisi 2. Penerbit Institut Teknologi Bandung. Bandung. 550 hal
- Deshpande, S.S. and S. Damodaran, 1989. Structure Digestibility Relationship of Legume Proteins. *J. Food Sci.*, 54: 108-113
- Goldstein, A., L. Aronow and S. M. Kalman, 1968. Principles of Drug Action-The Basis of Pharmacology. New York. Page, 45-112.
- Hidayati, O., 1999. Study Kadar Albumin, Zn dan TVB Filtrat Ikan Gabus (*Ophiocephalus sriatus*) pada Lama Sterilisasi dan Penyimpanan yang Berbeda. Laporan Penelitian. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. Hal 36.
- Koneman, E.W., 1971. Inflammation. Dalam Mincler, J., H.B. Anstall dan T.M. Mincler (eds) Pathobiology = an Introduction. The C.V. Mosby Co. St. Louis. Page. 184-204
- Martini, N. D., 1998. Pengaruh Lama Pengukusan Terhadap Kandungan Albumin, Asam Amino dan Zn pada Ikan Gabus (*Ophiocephalus sriatus*). Laporan Penelitian. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. Hal. 36.
- Mudjiharto, 2007. Fish as Human Serum Albumin Substitute. <http://www.prasetya.brawijaya.ac.id>. Retrieved 18 August 2009
- Nielsen, S., 1998. Food Analysis. London. Glisers
- Nilasanti, I., 2003. Administration of Snakehead Fish as an Extra Menu for Hypoalbuminemia Patient in Bapelkes Ward General Hospital Ngudi Waluyo Wlingi, Blitar. (Thesis), Polytechnic of Health MoH Malang. (in Indonesian)
- Pike, R. and M. Brown, 1984. Nutrition: an integrated approach. New York: Macmillan
- Rusli, Jumain dan M. Saud. 2006. Terapi Albumin dalam Ekstrak Ikan Gabus Terhadap Kerusakan Hati Tikus Putih. Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Makasar. Hal. 95-98
- Sediaoetama, A.D., 1985. Ilmu Gizi. Jilid 1. Dian Rakyat. Jakarta. Hal : 10-125
- Slavik, J., 1982. Anilinonaphthalene Sulphonate as a Probe of

- Membrane Composition and Function. *Biochim. Biophys. Acta*, 694, 1–25
- Soemarko, 1997. Pengaruh Diet Ikan Kutuk dan Telur Terhadap Peningkatan Albumin dan Penutupan Luka Operasi. Rumah Sakit Dr. Saiful Anwar. Malang. Hal 1-28.
- Stryer, L., 1981. Biochemistry. 2nd. 949 pp. San Fransisco:W.H. Freeman & Co.
- Sugihastutik, 2002. Administration of Snakehead Fish Filtrate for Hypoalbuminemia Patients in General Hospital Dr. Subandi Jember (Thesis). Polytechnic of Health MoH Malang. (in Indonesian)
- Suprayitno, E. 2003. Penyembuhan Luka dengan Ikan Gabus. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang
- Suyardi, A., S. Sayogo dan E.R. Soegih, 1996. Kadar Biokimia Darah pada Wanita Hamil Trimester III dengan Keadaan Gizi Kurang di Rumah Sakit Bersalin DKI Jaya. *J. Medika Tandra*, H., H.W. Soemartono dan A. Tjokoprawiro, 1988. Metabolisme dan Aspek Klinik Albumin. *J. Med.*, 3 : 249-258.
- Tullis, J. L., 1997. Albumin 2 Guidelines for Clinical Use. *JAMA*, 237 : 460-463.
- Vallner, J. J., 1977. Binding of Drugs By Albumin and Plasma Protein. *J. Pharm Sci.*, 66 ; 447-449.
- Wicker, L., T.C. Lanier, D.D. Hamann and T. Akahane, 1986. Thermal Transitions in Myosin-ANS Fluorescence and Gel Rigidity. *J. Food Sci.* 51: 1540-1543, 1562