EKSTRAKSI INSULIN DARI IKAN DAN UJI KEMURNIANNYA

Oleh:

Pipih Suptijah[1]

ABSTRACT

Insulin one of hormon prepared from the pancreas of cattle, especially from B cell of langerhans island. Fish insulin associated with gall bladder or bite duct. Further more fish insulin is normally more stable after the death of the fish, compared with insulin of cattle. Insulin easy to sparated and prepared from fish continously by DNA recombinand.

Insulin is used for the treatment of diabetes, in case to prepared the insulin who valid for all of the religions, fish insulin is prepared. The preparation procedure concist of fixing by pieric acid, extraction and refin. The results 16.5% insulin in form solution or 10% insulin in form cristalin, so Tanikama 1965 procedure is better for fish insulin extraction.

TLC analysis produce two spot simmilar with the standar (control) IR spectrofotomtric produce amida and keton component for standar and amida, carboksilat and alkil component for fish. HPLC analysis produce six amino acid for standar and five amino acid for fish.

All of amino acid in side change of fish insulin is similar to amino acid of hormon insulin. That the reason of fish insulin have no alergen posibility.

RINGKASAN

Insulin adalah suatu hormon yang diproduksi dari pankreas hewan (babi, sapi) khususnya dihasilkan oleh sel B pulau langerhan. Insulin ikan terletak pada gall gladdin atau bite duct pada pankreas ikan biasanya lebih stabil setelah ikan mati dibandingkan insulin biatang lain, sehingga mudah dipisahkan untuk selanjutnya diproduksi secara DNA rekombinan.

Insulin digunakan untuk pengobatan penyakit diabetes, dalam usahanya untuk menyediakan insulin yang aman bagi semua agama maka sebaiknya digunakan insulin ikan.

Prosedur penyediaan insulin terdiri dari fixasi insulin dengan asam picrat, ekstraksi dengan alkohol-HCL dan pemurnian dengan basa. Hasil percobaan diperoleh 16.5% insulin dalam bentuk cair atau 10% dalam bentuk kristal, maka metode Tanikama (1965) cukup baik untuk ekstraksi insulin ikan.

Analisis TLC menunjukkan adanya dua spot yang hampir sama dengan standar analisis spektrofotometer infra merah menunjukkan adanya komponen amida dari keton dalam standar serta adanya komponen amida, karboksilat dari alkit dalam insulin ikan.

Analisis HPLC menunjukkan adanya cairan asam amino dari standar serta larutan asam amino dari ikan. Semua asam amino pankreas samping pada insulin ikan sama dengan asam amino insulin manusia, insulin-insulin ikan tidak mengandung sifat alergi.

[1] Staf Pengajar Jurusan Pengolahan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan IPB. Bogor

ISSN-0854-9230

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Ditinjau dari hasil kemajuan yang telah dicapai sub bidang perikanan pada saat ini, dapatlah diasumsikan bahwa prospek perikanan dimasa mendatang cukup cerah. kalau dilihat dari pesatnya kemajuan teknologi terapan dan bioteknologi pada sub bidang perikanan, khususnya, program pasca panenlah yang diharapkan menghasilkan produk jadi yang lebih berharga, bermutu dan bermanfaat.

Salah satu bagian yang cukup menarik adalah pemanfaatan limbah perikanan, khususnya limbah tuna, yang berasal dari proses pembekuan dan pengalengan. Potensi ikan tuna di Indonesia cukup besar, yaitu mencapai 178.386 ton. Produksi ikan tuna pada tahun 1991 sebesar 78.383 ton atau 43,9% dari potensi yang dimiliki, ikan tuna cukup prospektif untuk dimanfaatkan atau diolah. Perkiraan besarnya limbah tuna pada unit pembekuan (dalam ton) pada tahun 1980, 1981 dan 1982 sebesar 838, 1.081 dan 938, sedangkan pada unit pengalengan yang berkapasitas produksi 12 ton/hari menghasilkan limbah sebesar 14.560 ton/tahun (Tambunan *et al.*, 1985). Jumlah ini cukup besar dan potensial, mengingat ikan tuna mempunyai jerohan yang besar, diantaranya mengandung bagian yang cukup penting sebagai sumber insulin, yaitu pankereas.

Insulin adalah suatu hormon yang dihasilkan oleh sel beta pulau lengerhan pada jaringan epetilium pankreas yang mengatur tingkat kenormalan gula darah pada manusia yang relatif konstan dibawah kondisi metabolisme normal. Hormon ini berpengaruh terhadap metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak, serta berkaitan erat dengan penyakit diabetes millitus. Pada penderita ini, pulau lengerhan tidak mampu memproduksi insulin yang cukup untuk mengtur tingkat gula darah pada batas normal, yang menyebabkan rasa haus terus, seirng buang air kecil, penurunan berat badan, rasa lapar, lelah, mengantuk gangguan infeksi kulit, sehingga tubuh merana dan akhirnya orang mati dalam keadaan koma.

Selama ini insulin diproduksi dari hewan, seperti sapi, biri-biri, babi dan recombinan DNA. Sedangkan insulin dari ikan yang mempunyai struktur lebih mirip dengan insulin manusia masih belum banyak digunakan, hanya terbatas pada penelitian saja. Oleh karena itu perlu kiranya diusahakan pengadaan insulin dari ikan demi efektifitas dan daya penyembuhan yang lebih baik. Untuk itulah disusun serangkaian penelitian dengan metode yang paling tepat, cepat dan efisien guna memproduksi insulin dari ikan. Selain itu ditinjau dari segi ekonomi harganya lebih murah dibanding obat oral (berupa tablet) dan lebih mudah diterima masyarakat karena kehalalannya.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ikan tuna (*Thunnus* sp)

Ikan tuna termasuk dalam keluarga *Scombridae*, kelomopok ikan pelagis besar, tubuhnya seperti cerutu, mempunyai dua sirip punggung, sirip depan biasanya pendek dan terpisah dari sirip belakang serta mempunyai finlet di belakang sirip punggung dan dubur. Sirip dada terletak agak keatas, sirip perut kecil, sirip ekor bercagak agak dalam dengan jari-jari penyokong menutup seluruh ujung hypural (Dirjen Perikanan, 1983).

Tubuh ikan tuna tertutup oleh sisik kecil-kecil berwarna biru tua dan agak gelap pada bagian atas tubuhnya mempunyai sirip yang berwarna kuning ceran dengan pinggiran berwarna agak gelap.

Penyebaran ikan tuna "albacore" meliputi Laut Banda, Laut Maluku, Laut Flores, Laut Sulawesi, Samudera Hindia, Utara Irian jaya, perairan utara Aceh, barat Sumatera, Selatan Jawa, Utara Sulawesi, Teluk Tomini, Laut Maluku, Laut Banda dan Laut Halmahera (Nikijuluw, 1986). Sedangkan daerah penangkapan "Yellow fin tuna" adalah perairan bagian barat Samudera pasifik tengah, Laut Banda, Laut Sulawesi, Samudera Hindia, Selat Sunda, Laut Maluku dan Barat Sumatera. Sedangkan "Big eye tuna" diperoleh dari Samudera Hindia dan Pasifik Tengah.

Musim penangkapan ikan-ikan tuna di perairan pantai barat Sumatera dapat dilakukan sepanjang tahun dengan puncaknya pada bulan September sampai dengan Desember, sedangkan perairan Selatan Jawa dari bulan Mei sampai dengan Oktober (Anonymous, 1983).

2.2. Pankreas

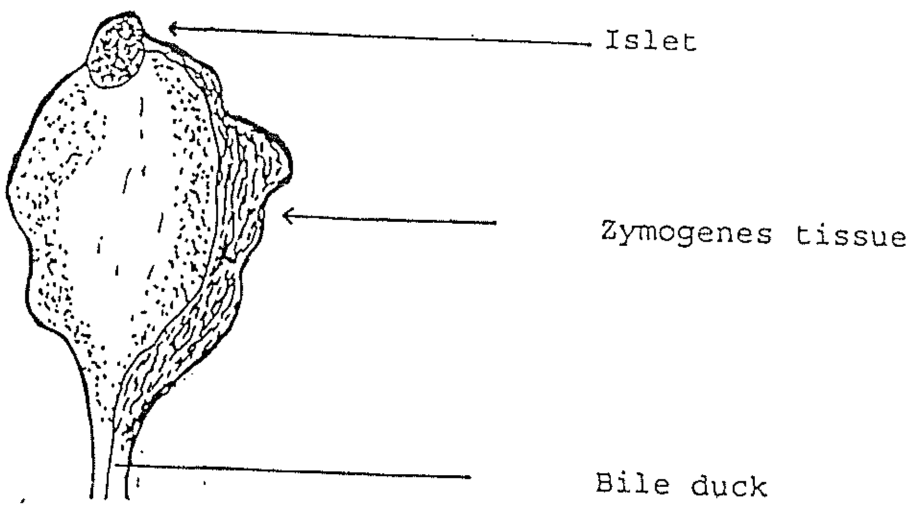
Pankeras adalah suatu glandula tubula alveolar yang memiliki bagian endokrin dan eksokrin. Bagian eksokrin menghasilkan N_aHCO_3 serta enzim pencernaan yang melalui saluran pankreas, enzim itu dialirkan ke duodenum dekat dengan muara saluran empedu. Sedangkan bagian endokrin atau daerah pulau-pulau langerhan menghasilkan hormon insulin (sel beta) dan glukagon (sel alfa) yang langsung masuk pada peredaran darah (Turner dan Joseph, 1988).

Menurut Pearce tahun 1995 Pankreas merupakan kelenjar mejemuk bertandan, strukturnya sangat mirip dengan kelenjar lidah, terdiri atas tiga bagian yaitu:

1. Kepala penkreas yang paling lebar, terletak disebelah kanan rongga abdomen dan didalam lekukan deodenum dan praktis melinkgarinya.
2. Badan pankreas merupakan bagian utama pada organ itu dan letaknya dibelakang lambung dan didepan vertebrata lumbalis pertama.
3. Ekor pankreas adalah bagian yang runcing disebelah kiri dan sebenarnya menyentuh limpa.

ISSN-0854-9230

Pankreas ikan-ikan tergolong elasmobranchi, seperti ikan hiu, ikan pari mempunyai susunan islet langerhan (Pulau-pulau kecil) yang teratur dan terdapat dalam jaringan ephitelium yang sama persis pada binatang mamalia. Sedangkan pada ikan golongan teleosteri, seperti Cod, Haddock dan Halibut islet langerhan (pulau-pulau kecil) tidak tampak jelas (Brody, 1965). Letak organ yang mengandung insulin pada pankreas dapat ditunjukkan seperti gambar dibawah ini.



Gambar 1. Letak organ yang mengandung insulin pada pankreas (Brody, 1965).

Ditinjau dari segi penyediaan bahan baku, bahwa pankreas ikan terletak pada tempat yang spesifik sehingga pemisahan bahan baku tidak akan mengganggu bahan baku lainnya, apabila bahan baku diproses lebih lanjut Brody, 1965).

2.3. Insulin

Insulin adalah suatu hormon yang dihasilkan oleh sel beta pulau langerhan pada jaringan epitilium pankreas (Brody, 1965). Sedangkan menurut Pearce tahun 1995 insulin adalah sebuah protein yang dapat dicernakkan oleh enzim pencerna oleh karena itu tidak dapat diberikan melalui mulut melainkan dengan suntikan subkutan. Hormon ini berpengaruh terhadap metabolisme karbohidrat, protein dan lemak serta berkaitan dengan penyakit diabetes mellitus (Brody, 1965).

Selama ini insulin diproduksi dari hewan seperti sapi, babi, biri-biri, ikan dan teknologi rekombinan DNA (Suharto dan Handoko, 1987). Insulin pada ikan dihasilkan dari goongan Cyclostomata, Elasmobranchi, Halocephali, Choanichthyes, Chondrostei, Halostei dan Teleostei, dengan kandungan insulinnya yang bervariasi tergantung umur, musim dan migrasi pemijahan (Randal, 1969). Terkonsentrasi pada bagian-bagian: gall blader, bile duck dan mesentery (Brody, 1965).

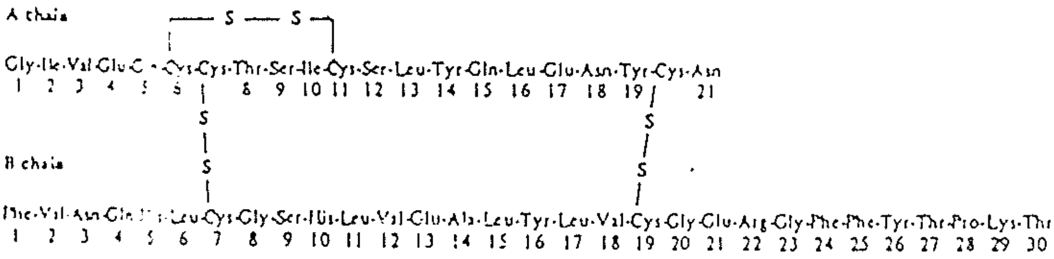
Pada prinsipnya semua jenis ikan laut dapat diekstrak insulinnya (Tanikawa, 1965). Dijepang insulin berasal dari ikan Paus, Albacore dan Yelow fin tuna.

Selama ini insulin yang digunakan penderita diabetes diekstrak dari pankreas biri-biri dan babi. Sedangkan insulin yang diekstrak dari pankreas ikan tau binatang perairan lainnya belum banyak digunakan yang ternyata lebih efektif bagi manusia penderita diabetes dengan hasil yang lebih memuaskan (Mc Cormick, 1924).

2.4. Komposisi Kimia Insulin

Insulin adalah protein yang mempunyai struktur primer spesifik dan merupakan polipeptida besar dengan berat molekul kira-kira 6000. Polipeptida ini terdiri dari 51 asam amino tersusun dalam 2 rantai: rantai A yang terdiri dari 21 asam amino dan rantai B terdiri dari 30 asam amino. Antara rantai A dan B terdapat 2 jembatan disulfida yaitu antara A-7 dengan B-7 dan B-19 dengan A-20. Selain itu masih terdapat jembatan disulfida antara asam amino ke-6 dan ke-11 pada rantai A (Suharto dan Handoko, 1987). Pada rantai B terdiri atas N-terminal-gli dan C-terminal-asn, kedua rantai ini terbentuk sebagai proinsulin yang dengan adanya proses proteolitik terbentuklah insulin dan diperkirakan sekitar 3,3% mengandung sulfur (Brody, 1965). Struktur kimia insulin dapat dilihat pada Gambar 2.

ISSN-0854-9230



Gambar 2. Struktur kovalen insulin manusia (Langer, 1985).

Penggunaan asam performat atau alkali, sebagai zat pereduksi dalam oksidasi insulin, menyebabkan ikatan disulfida yang menghubungkan rantai A dan B terputus sehingga menginaktifkan insulin (Brody, 1965). Menurut struktur insulin berbagai spesies berbeda dalam susunan asam aminonya. Perbedaan tersebut tidak menyebabkan perbedaan aktifitas biologi tetapi menyebabkan perbedaan imunologi (Martin *et al.*, 1987). Struktur insulin berbagai spesies mamalia dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Variasi asam amino rantai A dan B pada spesies mamalia.

Spesies	Variasi asam amino	
	Ratai A (8 9 10)	Rantai B (30)
Manusia	Thr-Ser-Ile	Thr
Babi	Thr-Ser-Ile	Ala
Anjing	Thr-Ser-Ile	Ala
Ikan paus	Thr-Ser-Ile	Ala
Sapi	Ala-Ser-Val	Ala
Kambing	Ala-Ser-Val	Ala
Kelinci	Thr-Ser-Ile	Ser
Biri-biri	Ala-Gly-Val	Ala
Kuda	Thr-Gly-Ile	Ala

Sumber: Ganong (1961)

Insulin yang diekstrak dari pankreas sapi atau babi berupa kristal putih tidak berbau. Penambahan dengan Zn membentuk kristal yang bersifat: tidak larut dalam pH netral tetapi larut dalam pH rendah. Semua asam amino terkandung dalam insulin kecuali metionin, triptopan, dan hidroksi prolin. Insulin dapat rusak dan tidak berfungsi lagi akibat enzim proteolitik yang terdapat dalam empedu (Brody, 1965).

2.5. Biosintesis dan Macam-macam Insulin

Insulin yang dihasilkan oleh sel beta yang memenuhi 60-80% pulau langerhan dan sebagian besar (+ 85%) terletak dicorpus dan cauda pankreas (Sumarto *et al*, 1986).

Menurut Soedjono *et al* tahun 1986 preparat insulin konvesional mengandung 3 komponen: Komponen A, B, dan C. Komponen A dan B mengandung pro insulin dan impuritis lain yang tidak mempunyai efek biologi tetapi berpengaruh terhadap dalam hal alergi dan imunologi. Sedangkan komponen C mengandung insulin murni.

Tabel 2. Macam-macam sediaan insulin

Tipe Insulin	Waktu	
	Puncak aksi	Lama aksi
Zinc insulin	2-3	5-7
lente insulin	10-20	24-28
Protamin zinc	16-24	36
Ultra lente	18-24	36
Monotard	8-14	22
Insulin (BHI)		

Sumber: Arthur dan Guyton (1961).

2.6. Ekstraksi

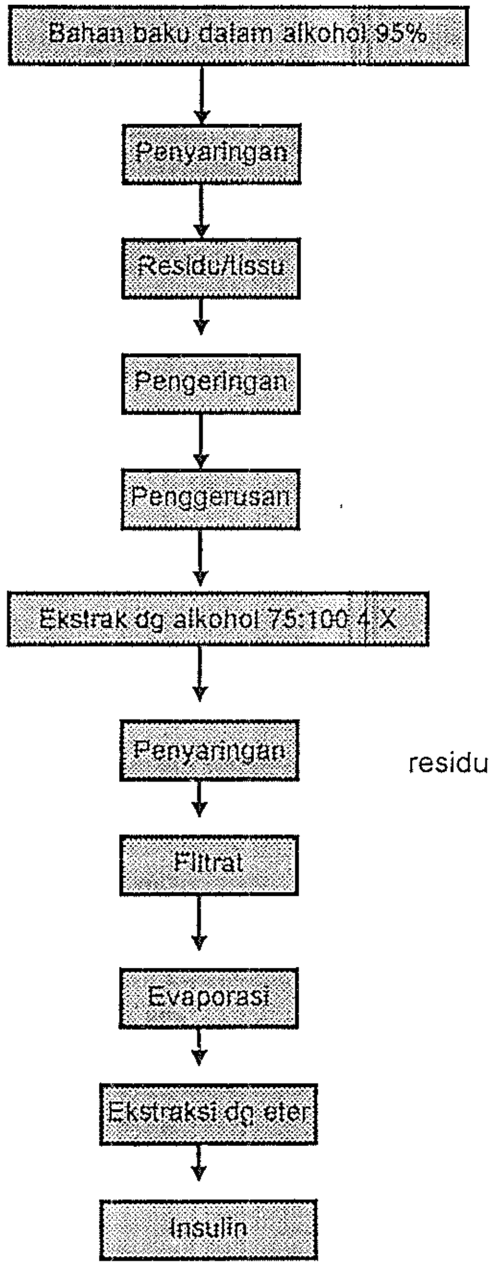
Ekstraksi adalah peristiwa pemindahan zat terlarut (Solut) diantara dua pelarut yang tidak saling bercampur. Pelarut yang digunakan untuk proses ekstraksi haruslah sesuai dimana zat yang akan diekstrak harus larut sempurna, dapat diperoleh kembali melalui penguapan serta harus aman dan sifat racun sekecil mungkin.

Ekstraksi yang dilakukan dalam dua cara yaitu aqueus phase dan organik phase. Pada prinsipnya ekstraksi tunggal dengan corong pemisah yang sederhana dapat dikatakan berhasil untuk memisahkan solut dari suatu fase ke fase lain, tetapi ekstraksi beberapa kali dengan pelarut yang lebih sedikit akan lebih efektif dibanding ekstraksi satu kali dengan semua pelarut sekaligs (Nur *et al.*, 1988).

2.7. Kromatografi

Kromatografi adalah suatu metode analitik untuk pemurnian dan pemisahan senyawa-senyawa organik dan anorganik (Khopkar, 1990). Kromatografi merupakan suatu metode pemisahan yang memerlukan waktu yang sngat singkat dan lebih efektif dibandingkan dengan pemisahan lain. Dengan kromatografi dapat dilakukan pemisahan yang tidak dapat dilakuian dengan metode lain. Pada prinsipnya kromatografi sebagai proses yang berdasarkan pada distribusi diferensial dari komponen sampel diantara dua fase. Salah satu dalah fase diam (fase stationer), fase lainnya adalah fase mobil, bergerak diantara celah-celah atau pada permukaan fase stationer. Pergerakan ini mengakibatkan pergerakan diferensial dari komponen-komponen sampel (Nur dan Adijuwana, 1989).

Berdasarkan fase diam dan fase bergeraknya terdapat empat jenis kromatografi, yaitu kromatografi cair-padat, kromatografi gas-padat, kromatografi cair-cair dan kromatografi gas-cair (Fardiaz, 1989).



Gambar 3. Pemisahan insulin menurut Mc cormikck (1924)

III. TUJUAN DAN MANFAT PENELITIAN

3.1. Tujuan Penelitian

Dalam usaha pendayagunaan hasil-hasil perikanan salah satunya yang cukup penting yaitu produk yang mempuyai kontribusi dibidang kesehatan; diantaranya insulin ikan, mengingat semakin meningkatnya penderita diabetes yang selama ini ditretmen dengan insulin yang diproduksi dari binatang (biasanya sapi dan babi) maka kiranya perlu diupayakan pengadaan insulin ikan.

Untuk meningkatkan pengadaan yang lebih efektif dan halal maka tujuan penelitian ini diantaranya berusaha mengekstraksi insulin dari pankreas ikan tuna yang biasanya sebagai limbah serta menguji kemurniannya sesuai dengan standar klinis.

3.2. Manfaat Penelitian

Insulin mempunyai keterkaitan yang erat dengan penyekit diabetes yaitu sebagai treatmen, guna menurunkan tingkat gula darah dan urine yang disebabkan tidak berfungsinya pankreas dalam meproduksi insulin yang cukup untuk menjaga keseimbangan gula darah dan urin. Selama ini insulin yang digunakan diproduksi dari pankreas biri-biri atau binatang lainnya. Menurut Mc Cormick 1924 dalam (1) bahwa: insulin yang diekstraksi dari pankreas ikan atau binatang perairan lainnya ternyata lebih efektif bagi penderita diabetes dengan hasil yang lebih memuaskan. Manfaat lain apabila dilihat dari segi penyediaan bahan baku tidak akan mengganggu bahan-bahan lainnya, apabila bahan diproses lebih lanjut.

Maka dari itu diharapkan hasil penelitian ini dapat mewujudkan kontribusi dibidang perikanan untuk bidang klinis. Selain itu dapat pula dikatakan sebagai salah satu metoda pemanfaatan limbah hasil perikanan yang ditunjang oleh segi ilmu pengetahuan dan teknologi tepat guna.

IV. METODOLOGI PENELITIAN

4.1. Bahan dan Alat

Bahan baku yang akan digunakan adalah pankreas ikan tuna yang merupakan limbah dari industri pembekuan fillet tuna.

Bahan kimia yang diperlukan adalah asam pikrat, aceton, asam klorida, natrium hidroksida, natrium sulphat, alkohol 75% alkohol 95%, aquades, ninhdrin, insulin standar, silika gel dan bahan kimia lain untuk analisa.

Alat yang digunakan dalam proses ekstraksi insulin ikan tuna antara lain gelas beker, stirer, pipet, gunting, penyaring gelas, corong pisah, evaporator vakum, centrifuge (refreegeration centrifuge), perlengkapan KLT (champber dan pelat tipis), High Performance Liquid (Chromatography (HPLC) merek Water's untuk analisa asam amino, kertas saring, dan spektrophotometer.

4.2. Metode Penelitian

4.2.1. Metode Ekstraksi

Ekstraksi insulin dari ikan dapat dilakukan dalam beberapa tahap diantaranya: fiksasi komponen insulin secara kimia, kemudian ekstraksi insulin dan terakhir pemurnian. Bahan baku dari bahan segar atau yang telah dibekukan (Tanikawa, 1971).

Pengumpulan bahan baku

Disiapkan kira-kira 100 gram jaringan, tempatkan dalam beker glass yang berisi hampir setengahnya alkohol 75% yang diasamkan dengan asam klorida. Dijauhkan dari sinar matahari dan menghindarkan percampuran dengan empedu dan jaringan lain.

Fiksasi komponen insulin

Bahan-bahan yang mengandung pulau langerhan di blender dengan penambahan asam pikrat sampai homogen, kemudian dipindahkan kelarutan asam pikrat jenuh, kemudian ditambahkan aseton untuk memisahkan protein-protein lainnya.

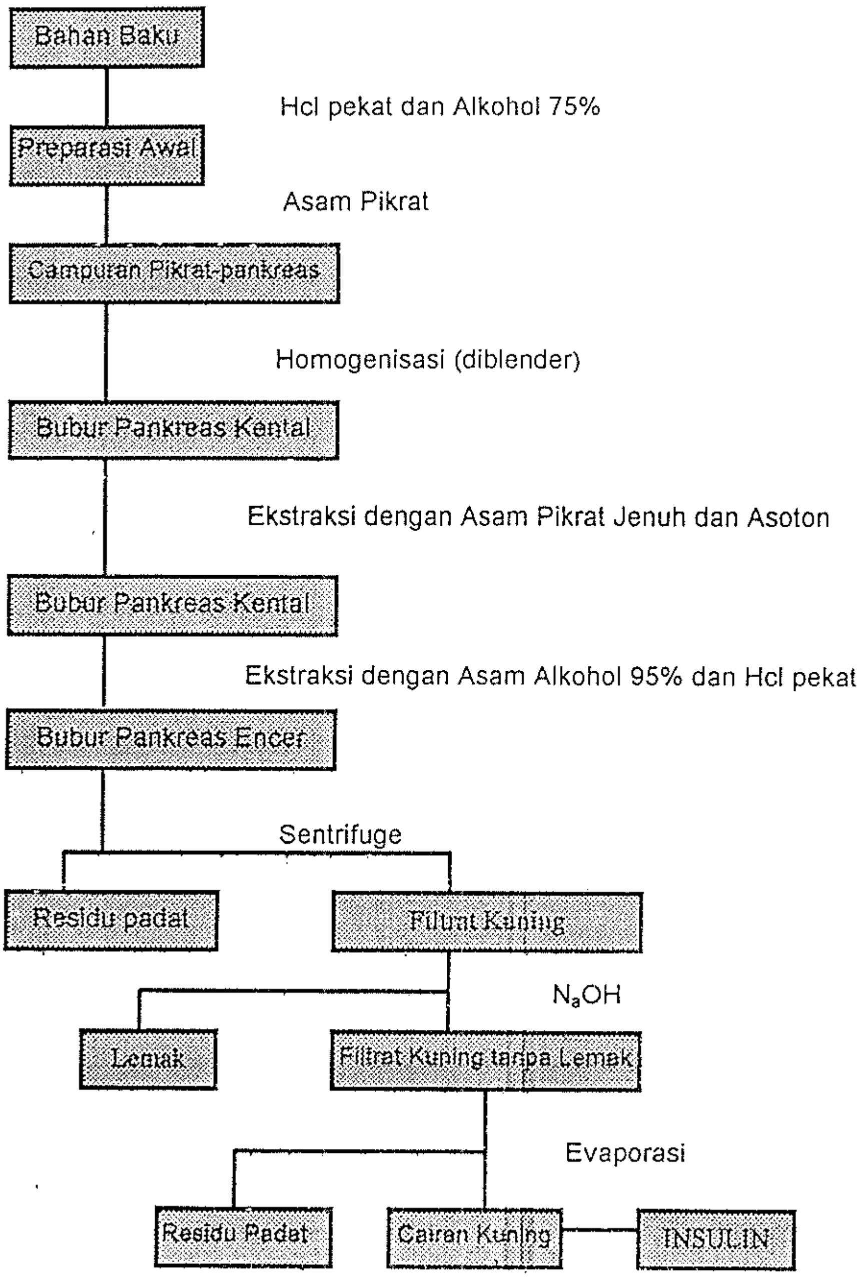
Ekstraksi insulin

- Dengan menggunakan campuran hidroklorik-alkohol sehingga membentuk larutan campuran: air-insulin-hidroklorik.

Pemurnian

Membutuhkan alkohol untuk menaikkan pH sekitar 5, yaitu pH dimana insulin dapat mengendap, diulang beberapa kali untuk menaikkan rendemen.

ISSN-0854-9230



Gambar 4. Proses Ekstraksi Insulin Ikan (Modifikasi Tanikawa, 1965)

ISSN-0854-9230

V. HASIL DAN PEMBAHASAN

Insulin yang terkandung dalam pulau-pulau lengerhans pankreas hewani mempunyai fungsi penting dalam metabolisme karbohidrat, kerusakan produksi insulin dapat menyebabkan kelainan metabolisme, sehingga berpengaruh pada kesehatan.

Selama ini insulin yang digunakan dalàm pengobatan, diproduksi dengan metode DNA rekombinan dengan cetakan insulin hewan. Adapun insulin yang paling mirip dengan insulin manusia adalah insulin sapi atau babi, walaupun metode produksi insulin menggunakan cara DNA rekombinan tetapi apabila sebagai cetakannya digunakan insulin babi maka produksi akhirnya sama saja dengan insulin babi.

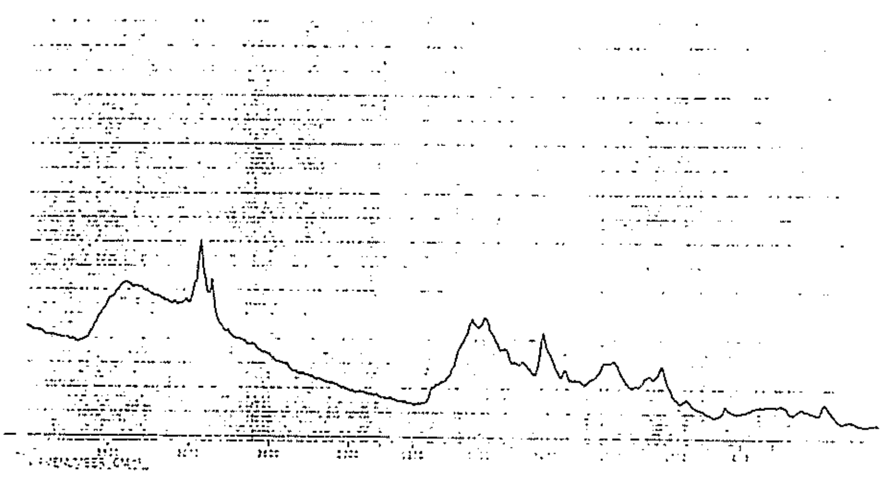
Berdasarkan literatur insulin ikan mempunyai jumlah asam amino yang lebih sederhana pada rantai tertenu sehingga kemungkinan terjadinya alergen lebih kecil dibanding hewan lain, tetapi mempunyai fungsi yang sama dengan yang lain maka untuk mengantisipasi pengadaan insulin rekombinan yang lebih sederhana, aman dan halal sepatutnyalah diproduksi insulin ikan disamping sebagai usaha meningkatkan pemanfaatan hasil perikanan serta sebagai diversifikasi produk.

Diperoleh kepastian bahwa ekstraksi insulin dengan metode Tanikawa (1965) dapat berjalan dan berhasil dengan baik walaupun randemen masih perlu dioptimalkan.

5.1. Fiksasi Insulin

Dalam proses ekstraksi insulin terdapat tahapan fiksasi insulin yang dalam penelitian ini digunakan asam pikrat. Tahapan ini penting dilakukan untuk méngeluarkan insulin dari organ-organ pankreas hewan sehingga insulin dapat dengan mudah diekstraksi. Tahap dilakukan tahap fiksasi, insulin dalam organ atau reseptor sulit dilepaskan sehingga ekstraksi tidak berjalan, ini terbukti dari identifikasi dengan spektrofotometer infra merah ternyata tidak mengandung relung yang diharapkan atau sesuai dengan standar. Hal ini dapat dilihat pada grafik infra merah pada Gambar 5 dibawah ini.

$$\text{Insulin - reseptor + pikrat} \longrightarrow \text{Insulin-pikrat + reseptor (residu)}$$



Gambar 5. Grafik Spektro infra merah tanpa asam pikrat.

5.2. Ekstraksi Insulin

Dengan perlakuan penambahan aseton diharapkan insulin yang terfiksasi oleh asam pikrat dapat terlarut dalam aseton atau dengan adanya pengadukan dalam waktu tertentu serta penambahan pelarut dengan keasaman tertentu ekstraksi dapat berjalan dengan baik.

Sesuai dengan ketentuan bahwa keberhasilan ekstraksi didukung oleh perlakuan sebagai berikut: pengocokan, ulangan, waktu ekstraksi dan lain-lain, maka pada waktu peneltian ini dilakukan ekstraksi satu kali ulangan dalam waktu 30 menit serta pengocokan dengan cara blender, cara ini terpilih mengingat kondisi sampel yang harus diproses dalam keadaan dingin dimana pengocokan dapat menimbulkan kenaikan suhu sehingga waktu pun harus dibatasi.

Dari hasil yang diperoleh telah teruji bahwa ekstraksi yang dilakukan cukup berhasil walaupun masih perlu dioptimalkan, mungkin dengan pemilihan larutan pengekstrak yang lebih baik, yaitu yang lebih non polar. Rendemen diperoleh sekitar 16% dalam bentuk larut dan masih berwarna asam pikrat. Setelah pengkristalan diperoleh kristal putih sekitar 65% dari cairan hasil. Jadi kira-kira diperoleh 10% berat bersih.

Pengujian atau identifikasi hasil dilakukan pada cairan hasil tidak pada kristal, mengingat alat-alat pengidentifikasi menggunakan sampel cair.

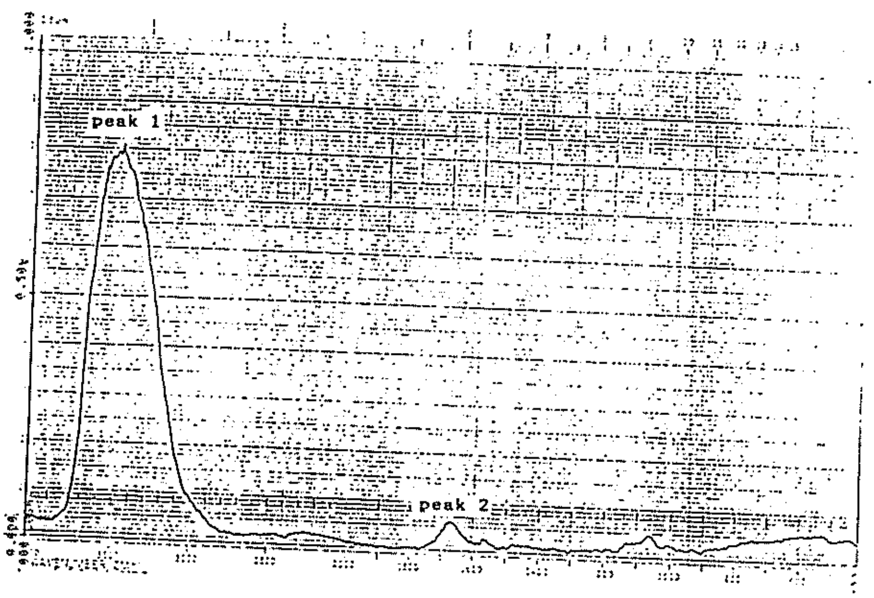
5.3. Identifikasi dengan TLC

Diperoleh Rf yang sama dengan standar dengan pewarnaan menggunakan ninhidrin harus disertai dengan pemanasan sampai 90°C mengingat reaksi ninhidrin dengan asam amino berlangsung pada suhu tinggi. Spot tampak setelah benar-benar kering itupun cepat menghilang warnanya pelarut yang digunakan aseton dan etanol, dengan perbandingan 8 : 2.

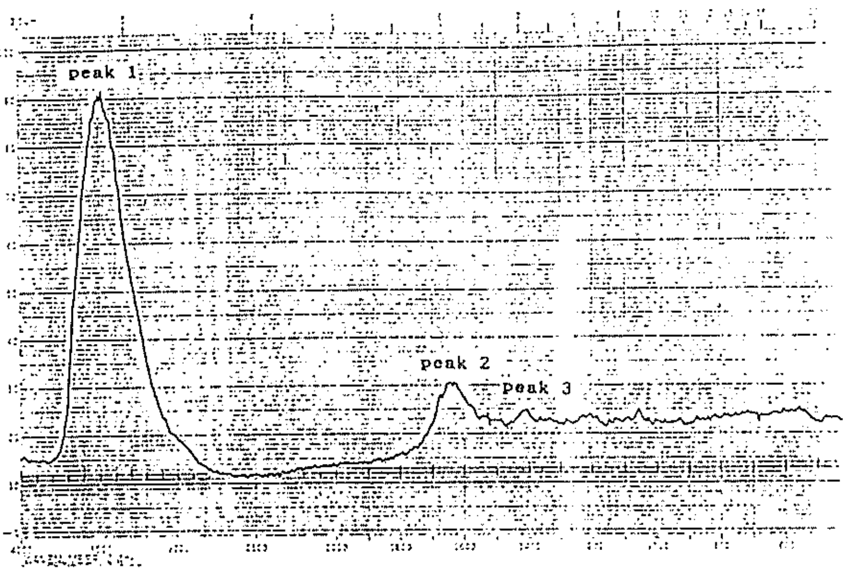
Dari hasil identifikasi dengan TLC diperoleh gambaran bahwa ekstraksi insulin yang dilakukan dapat diperoleh hasil, yang mempunyai komposisi kimia, berat molekul dan struktur yang hampir sama dengan standar. Sedikit perbedaan yang terdeteksi yaitu pada ekstrak insulin ikan terdapat spot warna pada titik awal, hal ini menunjukkan adanya ketidakmurnian pada ekstrak, berupa pigmen. Dari kenyataannya ekstrak insulin yang diperoleh masih berwarna asam pikrat dan ini akan hitam pada pengkristalan.

5.3. Identifikasi dengan Spektrofotometer Infra merah

Hasil identifikasi dengan infra red memberikan gambaran atau kromatografi yang sama antara ekstrak insulin dengan standar artinya ekstrak insulin menunjukkan jumlah relung atau peak yang sama yaitu relung pada panjang gelombang. Grafik infra red ekstrak insulin dengan standar dapat dilihat pada Gambar 6 dan Gambar 7.



Gambar 6. Spektrofotometer infra merah insulin standar



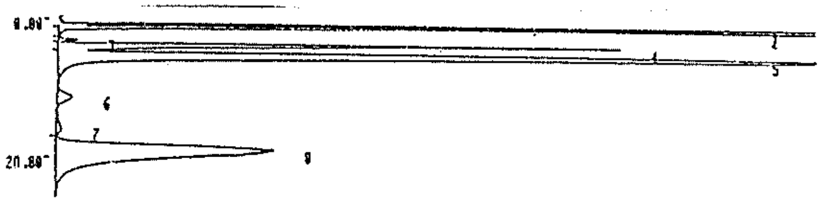
Gambar 7. Grafik Spektrofotometer infra merah insulin ikan tuna (*Thunnus* sp).

Dari identifikasi dengan spektrofotometer infra merah ini dapatlah dijelaskan bahwa ekstrak insulin mengandung gugus fungsi dan komposisi gugus utama serta struktur utama yang sama dengan standar. Dalam hal ini relung atau peak pada kromatogram infra merah hanya menggambarkan keberadaan gugus fungsi atau rantai utama pada insulin serta komposisi secara umum.

5.4. Identifikasi dengan HPLC

Insulin yang terdiri dari beberapa asam amino menurut literatur insulin manusia pada gugus atau rantai utama mengandung 9 asam amino, sedangkan insulin babi dan sapi mengandung 8 asam amino dan ternyata insulin ikan hanya mengandung 5 asam amino, ini menandakan bahwa walaupun jumlah asam aminonya berbeda tapi secara keseluruhan gugus fungsinya sama. Jenis asam amino yang terkandung pada insulin standar dan insulin ikan tuna dapat dilihat pada Tabel 2 dan 3 serta Gambar 8. Perbedaan terletak pada jumlah asam amino pada gugus utama. dimana pada insulin ikan hanya terdapat 5 asam amino, sedangkan pada insulin standar terdapat 6 asam amino. Hal ini menunjukkan kelebihan insulin ikan dibanding insulin standar yaitu pada rantai utama mempunyai asam amino yang lebih sedikit sehingga kemungkinan terjadinya alergen lebih kecil serta pada produksinya dengan metode DNA-recombinan akan lebih cepat dan produksinya lebih tinggi.

Dengan dapat diproduksinya insulin ikan, diharapkan dengan metode DNA rekombinan dapat digunakan untuk memproduksi insulin dengan menggunakan insulin ikan sebagai bahan dasar sehingga akan tersedia insulin sebagai obat yang lebih baik dalam arti lebih aman bagi penderita dan halal. Dapat dikatakan bahwa insulin ikan sebagai bagian dari kontribusi dibidang kesehatan.

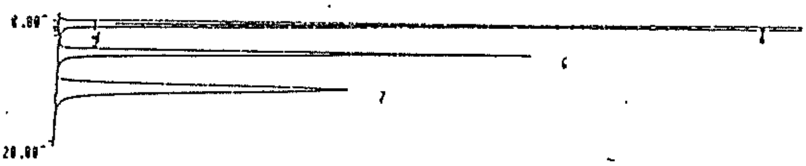


CAL . METHOD 00

SF	PA	PB
.100000+03	.100000+01	.100000+01

NO.	NAME	RT	A OR H	MK	CONC
1		1.216	2738329	M	20.2956
2		1.716	2680608	M	19.8678
3		3.516	31549	M	0.2338
4		4.290	1316201	M	9.7552
5		5.770	4058707		30.0818
6		11.550	97720		0.7242
7		16.123	52754	M	0.3909
8		19.476	2516328		18.6502
	TOTAL		13492199		100.0000

SAMPLE 6 13:38 MAY 14 0096



CAL . METHOD 00

SF	PA	PB
.100000+03	.100000+01	.100000+01

NO.	NAME	RT	A OR H	MK	CONC
1		0.723	5337	M	0.0341
2		1.203	9039812	M	57.0841
3		1.703	2925749	M	18.7363
4		2.643	10656	M	0.0682
5		3.176	7015	M	0.0449
6		5.870	1571802		10.0662
7		11.423	2055094	M	13.1650
	TOTAL		15615330		100.0000

Gambar 8. Kromatograminsulin standara (a) dan ikan (b).

Tabel 3. Jenis asam amino pada insulin standar

No.	Asam amino	Konsentrasi µg/g contoh	Waktu Retensi
1	Asam aspartat	0.282	1.216
2	Sistein	0.776	1.716
3	Asam glutamat	2.960	5.770
4	Lisin	0.139	11.550
5	Prolin	0.449	16.123
6	Serin	44.981	19.476

Tabel 4. Jenis asam amino pada insulin ikan

No.	Asam amino	Konsentrasi µg/g contoh	Waktu Retensi
1.	Arginin	0.736	0.732
2.	Asam aspartat	0.932	1.203
3.	Sistein	0.847	1.703
4.	Asam glutamat	1.146	5.870
5.	Lisin	0.293	11.423

VI. KESIMPULAN DAN SARAN

1. Pankreas ikan tuna merupakan sumber insulin yang cukup potensial untuk didayagunakan, selain dapat mengantisipasi kebutuhan insulin inti yang lebih halal, juga sebagai insulin diversifikasi produk perikanan serta meningkatkan nilai tambah dan serta sekaligus memanfaatkan limbah hasil perikanan.
2. Metode ekstraksi yang digunakan sudah dapat dikembangkan dengan ketentuan sederhana, mudah dan cepat tapi masih perlu dioptimasikan prosesnya serta cara pemurnian yanag baik.
3. Rendemen yang diperoleh dalam bentuk cair sebesar 16.5% dengan keadaan masih berwarna. Pada saat pengkristalan diperoleh kristal putih sekitar 10%. Jadi masih perlu ditingkatkan lagi.
4. Kemurnian yang diperoleh setelah diidentifikasi dengan TLC spektro IR dan HPLC. Cukup tepat adanya kesamaan dengan standar. Dimana gugus fungsi dan rantai utamanya mempunyai nilai yang sama.

DAFTAR PUSTAKA

Anonymous. 1983. Prosiding Rakernas Perikanan Tuna Dan Cakalang. Pusat Peneltian Pengembangan Pertanian, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Departemen Pertanian. Jakarta.

Brody J. 1965. Fishery By Products Technology, The AVS Publishing Company · INC, Estport Connecticut.

Darbon P. And Vincent C. 1989. Biotechnologi. Marine, Biofutur, Journal Of Europen Biotechnologi France Edition.

Ilyas, S. Dan Suparno. 1985. Peneltian dan Pengembangan Limbah Pertanian. Dalam F.G Winarno, A.F.S Boediman, Toga Silitonga Dan B. Soweardi (Eds.). Limbah Pertanian. Kantor Menteri Muda Urusan Peningkatan Produksi Pangan. Jakarta.

Lange. 1987. Biokimia (Harper,S Review Of Biochemistry), ECG Penerbit Buku Kedokteran, Edisi 19.

Nikijuw, V.P.H. 1986. Status Dan Potensi Perikanan Tuna Dan Cakalang Di Indonesia. J. Litbang Pertanian V (1) : 10.

Ockerman HW. Hansen CL. 1988, Animal By Product Processing, Ellis Howard Ltd, Chicester England.

Stansby, M.E. And H.S. Olcot. 1963. Composition Of Fish. In Stansby, M.E. And J.A. Dassow (Eds.). Industrial Fishery Technology. Reinhold Publishing Co. New York.

Tambunan, T.M. J. Patadungan, S. Djajosewono, Sri Turmati Dan Iskandar Ismanadji. 1985. Pemanfaatan Limbah Perikanan Dan Masalahnya. Dalam F.G. Winarno, A.F.S. Boediman, Toga Silitonga dan B. Soewardi (Eds.). Limbah Pertanian Kantor Menteri Muda Urusan Peningkatan Produksi Pangan. Jakarta.

Windsor And Barlow. 1981. Introduction To Fishery By Products. Whitable Litho Lt. Whittable. Kent.

ISSN-0854-9230