



## Perbandingan Metode Isolasi Fosvitin dari Kuning Telur Ayam Buras untuk Karakterisasi Aktivitas Bioaktif

<sup>1</sup>I Gusti Ayu Sri Andayani, <sup>2</sup>Dedy Iswaini, <sup>3</sup>Sulaiman N Depamede, <sup>4</sup>Djoko Kisworo, <sup>5</sup>Bulkaini, <sup>6\*</sup>Made Sriasih

<sup>1,5,6</sup>Magister Manajemen Sumberdaya Peternakan, Universitas Mataram, Mataram, Indonesia

<sup>2,3,4</sup>Laboratorium Bioteknologi dan Hasil Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Mataram, Mataram, Indonesia

Corresponding authors e-mail: [madesriasihphd@unram.ac.id](mailto:madesriasihphd@unram.ac.id)

Received: April 2025; Revised: May 2025; Accepted: June 2025; Published: June 2025

**Abstrak:** Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan prosedur isolasi fosvitin dari kuning telur ayam berdasarkan tingkat kemurnian, efisiensi waktu, dan aktivitas fungsionalnya. Prosedur yang dibandingkan meliputi metode-metode yang telah dipublikasikan sebelumnya serta metode modifikasi yang dikembangkan dalam penelitian ini. Fosvitin diisolasi dari 10 sampel telur ayam buras yang dikumpulkan dari peternakan di wilayah Mataram dengan menggunakan pendekatan stratified random sampling. Proses isolasi melibatkan beberapa tahapan berurutan, yaitu sedimentasi, sentrifugasi, dialisis, dan liofilisasi. Analisis komparatif terhadap kedua prosedur dilakukan berdasarkan karakteristik profil protein menggunakan SDS-PAGE serta spektroskopi Fourier Transform Infrared (FTIR) untuk mengidentifikasi interaksi gugus fosfat dan ikatan ion logam. Hasil SDS-PAGE menunjukkan bahwa kedua prosedur menghasilkan pita protein  $\alpha$ -fosvitin (35 kDa) dan  $\beta$ -fosvitin (45 kDa). Spektrum FTIR mengonfirmasi bahwa kedua sampel fosvitin mengandung tingkat gugus fosfat yang tinggi, yang menunjukkan fosforilasi yang kuat dan stabilitas protein yang baik. Dari perspektif kimia dan biologis, prosedur modifikasi tidak menunjukkan perbedaan kualitatif dibandingkan dengan metode yang telah ada sebelumnya. Namun, protokol modifikasi tersebut lebih cepat sekitar 30 menit dan tidak memerlukan tahap penyesuaian pH, sehingga dapat menjadi alternatif isolasi fosvitin dari kuning telur yang lebih efisien waktu dan lebih sederhana.

**Kata Kunci:** Kuning telur; fosvitin; ayam buras; FTIR; SDS-PAGE

**Abstract:** This study aims to compare fosvitin isolation procedures from chicken egg yolk based on purity level, time efficiency, and functional activity. The procedures compared include previously published methods and modified methods developed in this study. Fosvitin was isolated from 10 samples of native chicken eggs collected from farms in the Mataram area using a stratified random sampling approach. The isolation process involved several sequential steps: sedimentation, centrifugation, dialysis, and lyophilization. A comparative analysis of the two procedures was conducted based on protein profile characteristics using SDS-PAGE and Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy to identify phosphate group interactions and metal ion binding. SDS-PAGE results showed that both procedures yielded  $\alpha$ -fosvitin (35 kDa) and  $\beta$ -fosvitin (45 kDa) protein bands. FTIR spectra confirmed that both fosvitin samples contained high levels of phosphate groups, indicating strong phosphorylation and good protein stability. From a chemical and biological standpoint, the modified procedure showed no qualitative differences compared to the previously established method. However, the modified protocol was approximately 30 minutes faster and did not require a pH adjustment step, making it a simpler and more time-efficient alternative for isolating fosvitin from egg yolk.

**Keywords:** Egg yolk; fosvitin; native chicken; FTIR; SDS-PAGE

**How to Cite:** Andayani, I., Iswaini, D., Depamede, S., Kisworo, D., Bulkaini, B., & Sriasih, M. (2025). Perbandingan Metode Isolasi Fosvitin dari Kuning Telur Ayam Buras untuk Karakterisasi Aktivitas Bioaktif. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 13(2), 1519-1529. doi:<https://doi.org/10.33394/bioscientist.v13i2.14304>



<https://doi.org/10.33394/bioscientist.v13i2.14304>

Copyright© 2025, Andayani et al

This is an open-access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) License.



### PENDAHULUAN

Telur merupakan salah satu bahan pangan hewani yang memiliki nilai gizi tinggi dan mudah dicerna, serta mengandung hampir semua zat yang dibutuhkan tubuh, termasuk protein berkualitas tinggi, lemak, vitamin, dan mineral esensial. Telur ayam tidak hanya dikenal sebagai sumber pangan, tetapi juga sebagai bahan baku yang kaya zat bioaktif yang bermanfaat untuk berbagai industri, termasuk pangan, kedokteran, farmasi, dan bioteknologi. Komponen bioaktif dalam telur terbagi atas

kuning telur, putih telur/albumin, dan cangkang, masing-masing memiliki struktur dan komposisi kimia yang berbeda (Agus *et al.*, 2022).

Kuning telur mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti fosfolipid, imunoglobulin, dan fosvitin, yang berperan penting dalam fungsi imun, pengangkutan lipid, dan mineralisasi. Kuning telur juga mengandung senyawa lipofilik seperti lutein dan zeaxanthin yang bermanfaat untuk kesehatan mata dan bersifat antioksidan. Sementara itu, putih telur merupakan sumber utama protein albumin seperti ovalbumin, serta mengandung lisozim dan sistatin yang memiliki sifat antimikroba dan potensial sebagai agen terapeutik. Kuning telur memiliki peran penting dalam mendukung pertumbuhan embrio, dengan kandungan nutrisi yang kompleks seperti fosfolipid, lipoprotein, serta protein penting seperti fosvitin yang dikenal memiliki kapasitas tinggi dalam mengikat mineral seperti besi dan kalsium, serta memiliki aktivitas antioksidan. Keberadaan zat-zat bioaktif ini menjadikan telur tidak hanya sebagai sumber nutrisi, tetapi juga sebagai bahan fungsional yang bernilai tinggi untuk pengembangan produk pangan sehat dan inovasi dalam bidang kesehatan.

Phosvitin, salah satu protein yang paling bernilai, memiliki sifat unik seperti aktivitas antimikroba, kemampuan mengikat ion mineral ( $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{Fe}^{2+}$ ), dan emulsifikasi yang kuat (Lesnierowski & Stanierski, 2018; Yilmaz & Agagunduz, 2020). Terapi menggunakan phosvitin mulai diteliti dan dikembangkan juga sebagai sumber antioksidan. Mengonsumsi phosvitin dalam jumlah yang dianjurkan sebagai bahan pangan fungsional mengacu pada definisi pangan fungsional. Pangan fungsional menurut Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM) adalah pangan yang secara alamiah maupun telah melalui proses, mengandung satu atau lebih senyawa yang berdasarkan kajian-kajian ilmiah dianggap mempunyai fungsi-fungsi fisiologis tertentu yang bermanfaat bagi kesehatan. Dari sisi nilai ekonomi, phosvitin komersial yang tersedia di pasaran memiliki nilai jual yang cukup tinggi. Phosvitin komersial (Sigma-Aldrich) dijual dengan harga mencapai Rp. 109.480/mg (<https://www.sigmaaldrich.com/ID/en/product/sigma/p1253>). Harga yang tinggi ini mencerminkan tingginya nilai fungsional dari phosvitin sebagai senyawa bioaktif yang memiliki potensi besar dalam industri pangan fungsional.

Beberapa faktor yang mempengaruhi kualitas dan bioaktivitas phosvitin adalah sumber telur, metode isolasi dan tingkat kemurnian phosvitin. Metode isolasi, termasuk teknik pengendapan dan kromatografi berperan dalam mempertahankan struktur dan aktivitas fungsional phosvitin (Betschart *et al.*, 2022). Kemurnian phosvitin juga menentukan bioaktivitasnya, tanpa kontaminasi senyawa lain. Tantangan utama dalam isolasi phosvitin adalah efisiensi metode yang digunakan. Metode konvensional, seperti ekstraksi menggunakan natrium klorida dan pelarut organik, sering kali tidak efisien karena membutuhkan waktu lama, memiliki tingkat kemurnian yang bervariasi, serta bergantung pada bahan kimia yang berpotensi mencemari lingkungan (Marcet *et al.*, 2021). Selain itu, proses pemurnian phosvitin sering kali menghasilkan rendemen yang rendah, sehingga meningkatkan biaya produksi dan membatasi aplikasinya secara luas.

Sebagai alternatif, penelitian terbaru menunjukkan bahwa metode berbasis sentrifugasi dan tekanan hidrostatik dapat meningkatkan efisiensi ekstraksi phosvitin dengan mempercepat pemisahan dari butiran kuning telur serta mempertahankan stabilitasnya (Pauline *et al.*, 2020). Metode ini tidak hanya lebih ramah lingkungan karena mengurangi penggunaan pelarut organik, tetapi juga memungkinkan peningkatan hasil dan kemurnian phosvitin, sehingga lebih sesuai untuk aplikasi industri pangan dan farmasi.

Meskipun demikian, masih diperlukan kajian lebih lanjut untuk membandingkan efektivitas metode isolasi yang ada dan memodifikasi teknik yang lebih praktis, efisien, serta menghasilkan fosvitin dengan kualitas yang lebih baik. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk membandingkan metode isolasi fosvitin yang telah dikembangkan dengan metode modifikasi yang diharapkan lebih cepat, lebih praktis, dan tetap menghasilkan fosvitin dengan tingkat kemurnian serta bioaktivitas yang optimal. Metode ini memisahkan kuning telur menjadi fraksi granular dan plasma, memungkinkan isolasi butiran kaya fosvitin dengan kandungan lipid yang lebih rendah, meningkatkan konsentrasi protein (Marcet *et al.*, 2022). Teknik ini meningkatkan transfer fosvitin dari butiran kuning telur ke fraksi plasma, memperkaya kandungan fosfor dan besinya, sehingga meningkatkan nilai gizinya (Marcet *et al.*, 2023).

## METODE

### Waktu dan tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan April - Juli 2024. Penelitian diawali dengan isolasi, karakterisasi protein fosvitin dari telur ayam buras yang dilakukan di Laboratorium Riset Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Mataram dan Laboratorium Bioteknologi dan Hasil Ternak Fakultas Peternakan, Universitas Mataram. Pengujian spektrofotometer Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) dilakukan di laboratorium Kimia Analitik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mataram.

### Bahan penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu : 10 butir telur ayam buras, fosvitin komersial (Sigma-Aldrich), destilated water (dH<sub>2</sub>O), etanol 96%, metanol 96%, NaCl, gel akrilamid(10%), protein marker (GangNam Stain-Prestained Protein Ladder iNtRON Bio), selulosa tube/visking tubing (Carolina), pewarna Commasie Brilliant Blue (SIGMA), destaining gel (methanol:asam acetat glasial), KBR (Kalium Bromida),

Adapun alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: egg mixer, alat pemisah telur, glove, tabung eppendorf 1,5 ml, rak tabung eppendorf, tabung Falcon 15 dan 50 ml, vortex mixer, magnetik stirrer, pH meter (Precisa), mikropipet Socorex (200 µl – 1000 µl), (20 µl – 200 µl), dan (2 µl – 20 µl), tip pipet, glassware (beaker, gelas ukur, corong kaca, labu ukur, batang pengaduk), freeze dryer (Christ Alpha-Buch & Holm), waterbath, centrifuge refrigerator (TOMY), SDS PAGE (Mini-Protein Tetra Vertical Electrophoresis Cell-BIORAD), neraca analitik (Precisa), FTIR (Shimadzu).

### Metode Isolasi

#### 1. Metode Ko *et al.* (2011)

Kuning telur dipisahkan dari telur ayam segar (tidak lebih dari 7 hari pasca panen). 10 butir kuning telur ( $\pm 150$  g) dihomogenkan dengan dua volume aquabides (300 ml), kemudian pH larutan kuning telur yang sudah dihomogenkan diatur hingga pH 7, menggunakan HCl 6 N dan disentrifugasi pada  $3.220 \times g$  selama 30 menit pada suhu 4°Celsius. Endapan yang mengandung butiran kuning telur dikumpulkan, dan lipid serta fosfolipid diekstraksi dari butiran kuning telur menggunakan empat volume etanol 85%. Larutan homogen disentrifugasi pada kecepatan  $3.220 \times g$  selama 10 menit. Supernatan dibuang, ulangi kembali proses ekstraksi dengan etanol. Supernatan dibuang dan endapan bebas lemak dihomogenisasi dengan sembilan volume larutan NaCl 10% atau (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Atur pH menjadi 4 kemudian disentrifugasi pada kecepatan  $3.220 \times g$  selama 30 menit pada suhu 4°Celsius.

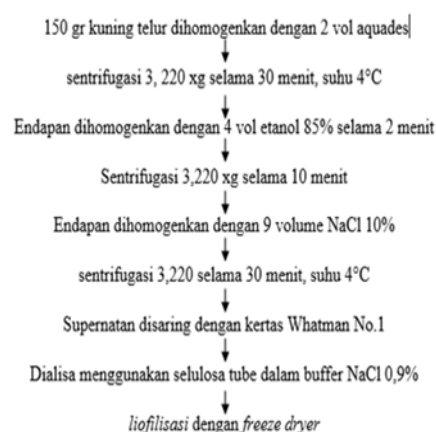
Supernatan disaring melalui kertas saring Whatman No. 1 untuk menghilangkan partikel mengambang, kemudian didialisa dengan NaCl 0,9% menggunakan selulosa tube. Hasil dialisa diliofilisasi menggunakan freeze dryer (Gambar 1.A).

## 2. Metode modifikasi Ko et al (2011) & Almeida et al (2019)

Pada prinsipnya metode modifikasi hampir sama, tetapi tidak ada proses pengaturan pH pada tahap awal dan akhir sebelum dialisa. Kuning telur dipisahkan dari telur ayam segar (tidak lebih dari 7 hari pasca panen). Kuning telur sebanyak 10 butir ( $\pm 150$  g) dihomogenkan dengan dua volume aquabides (300 ml). Setelah dihomogenkan, selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 3,220 x g selama 30 menit pada suhu 4°Celsius. Endapan yang mengandung butiran kuning telur dikumpulkan, dan lipid serta fosfolipid diekstraksi dari butiran kuning telur menggunakan empat volume etanol 85%. Larutan homogen disentrifugasi pada kecepatan 3,220 xg selama 10 menit. Supernatan dibuang, proses ekstraksi dengan etanol diulang kembali. Supernatan dibuang dan endapan bebas lemak dihomogenisasi dengan sembilan volume larutan NaCl 10% atau (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3,220 x g selama 30 menit pada suhu 4°Celsius. Supernatan disaring melalui kertas saring Whatman No. 1 untuk menghilangkan partikel mengambang, kemudian didialisa dengan NaCl 0,9% menggunakan selulosa tube. Hasil dialisa diliofilisasi menggunakan freeze dryer (Gambar 1.B)



**Gambar 1.A.** Ko et al. (2011)



**Gambar 1.B.** Modifikasi penelitian ini

### Freeze dry supernatan hasil isolasi

Filtrat dikeringkan hingga menjadi serbuk menggunakan pengering freeze dryer (Andayani et al., 2020). Proses diliofilisasi menggunakan pengering beku (evaporator vacum) suhu 40°Celsius dengan tekanan  $\pm 220$  mbar. Filtrat kental masing-masing 1 ml dimasukkan kedalam eppendorf tube yang telah dilubangi bagian penutupnya dan larutan dibekukan pada suhu -60°Celsius.

### Analisa Profil Protein dengan SDS- PAGE

SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis) adalah teknik analisis protein yang digunakan untuk memisahkan protein berdasarkan ukuran molekulnya. Gel poliakrilamida terdiri dari gel pemisah 10% dan gel separating 3,5% Phosvitin hasil isolasi diencerkan dengan destilated water menjadi larutan 1 mg protein/ml. Sebanyak 10  $\mu$ l larutan phosvitin dicampurkan dengan 20  $\mu$ l larutan penyangga sampel (2% SDS, 10% gliserol, 0,00125% bromofenol biru, dan 5%  $\beta$ -merkaptotanol dalam 62,5 mM Tris-HCl, pH 8,0), dipanaskan pada suhu 95° C dalam pemanas blok selama 5 menit, dan kemudian dimasukkan ke dalam sel Protean II (Bio-Rad Laboratory Inc.). Standar berat molekul protein marker (Gangnam Stain-

Prestained Protein Ladder iNtRON Bio) digunakan sebagai penanda. Elektroforesis dijalankan pada 200 V dan 100 mA selama 40 menit. Protein dalam gel diwarnai dengan menggunakan metode Coomassie Brilliant Blue. Gel direndam selama 1 malam dalam larutan asam asetat 10%. Kemurnian phosvitin dianalisa dengan melihat gambaran pita-pita protein hasil elektroforesis dibandingkan dengan standar. Gel direndam kedalam pewarna Coomassie Brilliant Blue (CBB) selama 7 - 24 jam. Pencucian menggunakan larutan destaining selama 24 jam sampai terlihat pita protein. Pita protein yang terbentuk diamati dan dibandingkan setiap pita yang terlihat dengan kontrol (Nurhaerani *et al.*, 2019).

### Fourier Transform Infra Red (FTIR)

Untuk analisa spektrofotometer digunakan FTIR Spektrofotometer, sampel yang digunakan berupa serbuk phosvitin komersil "Sigma- Aldrich" sebagai kontrol dan serbuk dari hasil dialisa kuning telur ayam ras dan buras dalam KBr (Kalium Bromida). Perangkat lunak origin digunakan untuk mengevaluasi spektrum. Setiap pengukuran sampel dikompensasikan dengan uap atmosfer. Puncak pertama untuk memastikan daerah amida, perbedaan elemen struktur sekunder dalam fraksi kuning telur. Area puncak turunan kedua spektrum ditentukan dengan cara integrasi. Integrasi dilakukan dari maksimum ke minimum setiap puncak. Luas total semua puncak terintegrasi dari setiap spektrum didefinisikan sebesar 100%. Daerah puncak dinyatakan dalam proporsi (%) dari elemen struktur sekunder yang sesuai (Lilienthal *et al.*, 2015)

### Analisa Data

Data dianalisis secara statistik deskriptif untuk menggambarkan karakteristik hasil secara umum (Nasution, 2017). Estimasi berat molekul protein dilakukan secara manual melalui perbandingan nilai Rf dengan kurva kalibrasi  $\log(Mr)$  dari protein marker pada gel SDS-PAGE. Sementara itu, analisis FTIR digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi berdasarkan pola serapan spektrum inframerah dari sampel.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

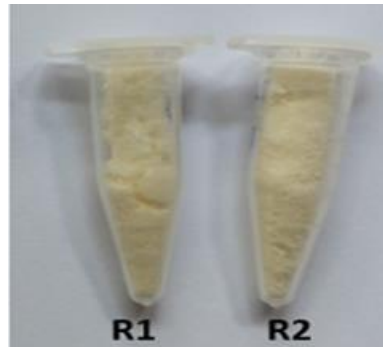
### Isolasi dan purifikasi Phosvitin

Penelitian ini menggunakan dua metode presipitasi untuk isolasi phosvitin yaitu metode Ko *et al.* (2011) dengan kode R1, dan metode modifikasi Ko *et al.* (2011) dan Almeida *et al.* (2019) dengan kode R2. Kedua metode menggunakan pelarut etanol 85% pada tahapan ekstraksi. Etanol dapat menyebabkan pengendapan protein dengan mengurangi kelarutan protein dalam air (Xin *et al.*, 2022). Ketika etanol ditambahkan, akan mengganggu interaksi air-protein, yang menyebabkan protein seperti phosvitin mengendap dari larutan. Ini memungkinkan pemisahan phosvitin dari komponen lain dalam kuning telur.

Pada tahap ekstraksi, etanol digunakan untuk menghilangkan lipid dan lipoprotein secara selektif dari larutan ekstraksi, dapat menghasilkan fosfatidilkolin kemurnian tinggi dengan kolesterol minimal (Liu & Liu, 2022), lipid cenderung lebih larut dalam etanol daripada phosvitin sehingga phosvitin dapat diisolasi dengan lebih murni. Etanol efektif dalam memurnikan phosvitin, metode lain seperti ekstraksi cairan subkritis juga menunjukkan potensi dalam menghilangkan lipid secara selektif tanpa merusak kualitas protein (Castellani *et al.*, 2003). Penggunaan garam memutus ikatan HDL-phosvitin, phosvitin yang larut akan mengambang bebas. Kemudian melalui teknik sentrifugasi lebih lanjut memisahkan pellet dengan supernatan. Tahapan dialisa menghilangkan garam dari larutan dapat dioptimalkan untuk meningkatkan proses

pemurnian protein. Hal ini mengindikasikan bahwa beberapa teknik ekstraksi dapat dioptimalkan untuk meningkatkan proses pemurnian protein. Dari kedua metode didapatkan supernatan dan endapan granula.

Kedua hasil isolasi didialisa dan di *freeze dry*. Erni *et al.* (2018) menjelaskan bahwa penggunaan *freeze dry* lebih efektif, pemanasan dapat merusak asam amino dimana ketahanan protein oleh panas sangat terkait dengan asam amino penyusun protein itu sendiri. Protein akan terdenaturasi pada suhu 60-90 C selama kurang dari 1 jam. Pasca proses *freeze dryer* menghasilkan serbuk putih kekuningan. Karakteristik warna kuning dan orange kuning telur biasanya diperoleh dari pemberian pakan aditif (Moreno *et al.*, 2020). Hasil isolasi disajikan pada Gambar 2.



Keterangan: R1 (metode Ko *et al.*); R2 metode modifikasi

**Gambar 2.** Hasil isolasi phosvitin

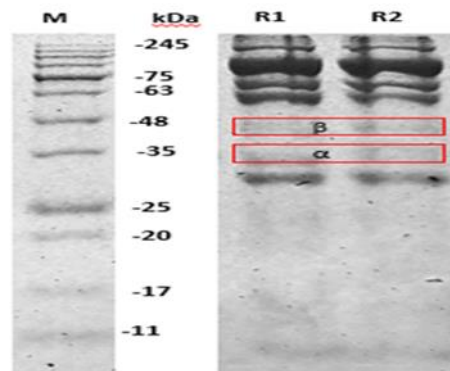
Serbuk telur merupakan salah satu pengawetan telur agar daya simpannya (*self life*) dapat diperpanjang. Pengeringan beku (*freeze drying*) merupakan salah satu strategi yang dapat digunakan dalam pembuatan tepung, mengurangi kadar air hingga batas tertentu (Wulandari & Arief., 2022). Hasil *freeze dry* kode R1 diperoleh 0,326 g serbuk berwarna kekuningan dan halus, sedangkan R2 0,217 g serbuk berwarna kekuningan halus. Warna serbuk hasil *freeze dry* pada phosvitin dapat menjadi indikator kemurnian, komposisi, dan kondisi akhir dari protein tersebut. Serbuk yang lebih putih biasanya menunjukkan kemurnian tinggi, sedangkan warna kekuningan bisa mengindikasikan adanya sisa lipid atau protein lain.

Faktor-faktor seperti pH, suhu, dan konsentrasi garam selama isolasi juga memengaruhi warna serbuk (Yu *et al.*, 2023). Demikian pula kandungan mineral seperti besi dan fosfor dalam phosvitin yang dapat berinteraksi dengan komponen lain. Jika warna berbeda dari yang diharapkan, ini mungkin menunjukkan perlunya analisis lebih lanjut terkait kontaminasi atau degradasi selama proses isolasi. Produk dari *freeze drying* memiliki struktur kaku akibat proses sublimasi sehingga tidak mengerut pada saat kering dan saat rehidrasi sehingga kondisinya sama dengan bentuk segarnya (Fitriyani *et al.*, 2017).

### Profil Protein

Hasil analisis SDS-PAGE menunjukkan bahwa profil protein pada pelet R1 dan R2 menghasilkan 7 pita protein, hasil analisa SDS-PAGE disajikan pada Gambar 3. Hasil penelitian Yilmaz & Ağagündüz (2020),  $\alpha$ -phosvitin terdiri dari 3 atau 4 subunit kecil dengan berat molekul berkisar antara 30 sampai 45 kDa. Sedangkan  $\beta$ -phosvitin mengandung 4 atau 5 subunit dengan berat molekul sebagian besar 45 kDa, dan terdiri dari 217 residu asam amino (Hoon, 2016; Betschart *et al.*, 2022). Kadar  $\alpha$ -phosvitin dan  $\beta$ -phosvitin dalam phosvitin yang diekstraksi bergantung pada jenis telur ayam dan metode yang digunakan untuk memisahkan dan memurnikan phosvitin.

Penanda protein (marker) digunakan untuk menentukan berat molekul relatif pita yang muncul. Hasil SDS-PAGE pelet phosvitin menunjukkan adanya pita 28-245 kDa (R2: 9,672). Hasil isolasi menunjukkan pita yang signifikan pada rentang 35 kDa dan 45 kDa, menandakan keberadaan subunit  $\alpha$ -phosvitin dan  $\beta$ -phosvitin. Sub unit  $\alpha$ -phosvitin pada ayam buras menunjukkan potensi aktivitas antioksidan yang baik dan stabilitas pengikatan ion mineral (seperti Fe dan Ca), yang berperan penting dalam aplikasi bahan pangan fungsional (Liu & Liu, 2022).



Keterangan: 1. Marker (GangNam Stain/Tris-Glycine 4-20%); 2. Serbuk metode Ko *et al.* (2011)-R1; 3. Serbuk metode modifikasi-R2

**Gambar 3.** SDS PAGE hasil isolasi kuning telur ayam Buras

Isolasi kuning telur ayam buras menghasilkan pita yang terpisah dengan baik pada kedua metode. Kedua pita subunit pada ayam buras mengindikasikan komposisi lebih kompleks yang mungkin dipengaruhi oleh pakan alami atau lingkungan pemeliharaan yang berbeda. Profil ini mendukung potensi antioksidan dan pengikatan logam yang lebih efektif pada ayam buras, memperkuat nilai gizi dan bioaktivitasnya. Perbedaan dalam ekspresi  $\alpha$ -phosvitin dan  $\beta$ -phosvitin antara ayam ras dan buras menunjukkan bahwa faktor genetik dan lingkungan mungkin mempengaruhi profil protein phosvitin.

Isolasi phosvitin pada proses pengendapan butiran phosvitin menggunakan NaCl 10%, serta penurunan pH menjadi 4 sebelum dialisis bertujuan untuk menghilangkan pengotor. Perbedaan kelarutan phosvitin dengan HDL juga dipengaruhi konsentrasi NaCl yang digunakan (Anton *et al.*, 2007; Ren & Wu., 2014; Marcet *et al.*, 2023). Sifat ionik dari larutan NaCl yang digunakan mempengaruhi juga durasi waktu isolasi (Marcet *et al.*, 2023).

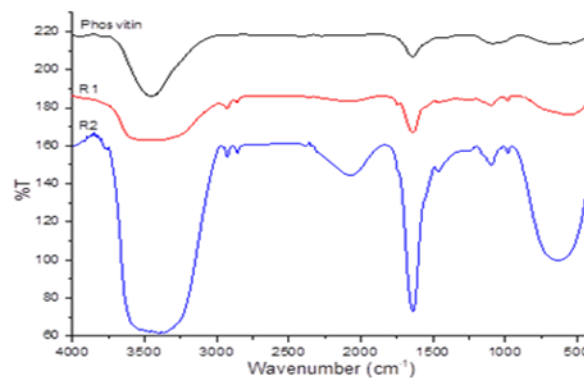
Beberapa peneliti melakukan penyesuaian pH pada hasil ekstraksi phosvitin, tetapi tidak merubah kelarutan phosvitin hingga pH 1.5 tercapai (Castellani *et al.*, 2003). Penyesuaian pH menjadi 3 sebelum dialisa sudah cukup untuk mendapatkan phosvitin dengan kemurnian yang baik, akan tetapi terjadi kehilangan hasil phosvitin (Marcet *et al.*, 2023). Titik isoelektrik phosvitin ditemukan pada pH 4 (Ternes, 1989). Penyesuaian pH pada metode Ko *et al.* (2011) membutuhkan waktu yang lebih lama dibandingkan metode modifikasi. Metode modifikasi menghasilkan pemisahan pita protein yang sama dengan metode Ko *et al.* (2011) walaupun tanpa perlakuan pH dilihat dari hasil elektroforesis.

### Hasil FTIR

Perubahan struktur sekunder protein dalam kuning telur dipengaruhi oleh keberadaan phosvitin, yaitu protein utama yang diyakini berperan penting dalam proses hematopoiesis dengan mengangkut zat besi selama tahap awal perkembangan embrio. Melalui analisis FTIR, dapat diidentifikasi keberadaan senyawa seperti dikalsium fosfat dihidrat dan hidroksiapatit berdasarkan ciri khas puncak spektrumnya,

sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 2. Phosvitin memiliki pola interaksi spesifik dengan ion kalsium, yang tercermin dalam perubahan struktur yang dapat diamati melalui FTIR dan berkaitan dengan pembentukan kompleks kalsium-fosfat (Zhang *et al.*, 2017). Pemahaman terhadap spektrum FTIR phosvitin ini memberikan informasi penting untuk menilai potensi penggunaannya dalam berbagai produk fungsional, termasuk suplemen nutrisi, bahan kosmetik, dan agen antioksidan

Spektrum FTIR dari phosvitin menunjukkan sejumlah puncak karakteristik yang mengindikasikan keberadaan berbagai gugus fungsi dalam molekulnya (Gambar 4). Beberapa puncak utama dan interpretasinya berada disekitar  $3300\text{-}3400\text{ cm}^{-1}$  (Stretching -OH atau -NH). Puncak di rentang ini biasanya menunjukkan keberadaan gugus hidroksil (-OH) atau amino (-NH).



Keterangan: a. Standar Phosvitin; b. R1; c. R2

**Gambar 4.** Hasil Spektrofotometer FTIR

Pada sampel hasil isolasi, kedua metode menunjukkan gugus fosfat yang terikat dengan protein serta gugus amino yang ada dalam rantai peptida. Sekitar  $2900\text{ cm}^{-1}$  (Stretching C-H alifatik), puncak ini mengindikasikan adanya ikatan C-H alifatik, yang mungkin berasal dari rantai samping asam amino dalam protein phosvitin. Pada rentang sekitar  $1650\text{ cm}^{-1}$  (Amida I, C=O stretching), puncak ini berhubungan dengan vibrasi stretching dari gugus karbonil (C=O) dalam ikatan peptida, yang merupakan karakteristik utama dari struktur sekunder protein (heliks alfa dan lembaran beta).

Puncak sekitar  $1540\text{ cm}^{-1}$  adalah puncak modifikasi dari N-H bending dan C-N stretching dalam ikatan peptida, yang juga merupakan ciri khas dari protein. Menunjukkan bahwa struktur protein phosvitin cukup stabil, yang penting dalam fungsinya untuk mengikat ion logam dan berperan sebagai antioksidan. Puncak pada  $1200\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$  adalah dari gugus fosfat, mengonfirmasi bahwa phosvitin memiliki tingkat fosforilasi yang tinggi, yang sesuai dengan sifat khasnya sebagai protein yang kaya akan fosfat. Ini adalah karakteristik khas dari phosvitin dan menunjukkan keberadaan gugus fosfat yang terikat secara kovalen dengan protein. Kesamaan antara spektrum FTIR phosvitin metode (Ko *et al.*, 2011) dan modifikasi dengan standar phosvitin sebagai kontrol memperkuat validitas metode isolasi yang digunakan. Puncak yang terkait dengan gugus fosfat (sekitar  $1200\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$ ) menunjukkan bahwa kedua jenis phosvitin memiliki kandungan fosfat yang sebanding, yang merupakan ciri khas utama dari phosvitin. Hasil FTIR memberikan gambaran yang jelas mengenai struktur kimia phosvitin, dengan penekanan pada kandungan fosfat yang tinggi dan stabilitas struktur proteinnya pada kedua metode isolasi yang digunakan.

## KESIMPULAN

Penelitian ini berhasil membandingkan dua metode isolasi fosvitin dari kuning telur ayam buras, yaitu metode Ko et al. (2011) dan metode modifikasi berdasarkan Ko et al. dan Almeida et al. (2019). Hasil SDS-PAGE menunjukkan bahwa kedua metode menghasilkan pita protein pada kisaran 35 kDa dan 45 kDa yang menunjukkan keberadaan  $\alpha$ - dan  $\beta$ -fosvitin, konsisten dengan karakteristik fosvitin dalam literatur. Spektrum FTIR dari kedua sampel juga menunjukkan keberadaan gugus fosfat yang tinggi dan struktur protein yang stabil, mendukung sifat bioaktif fosvitin. Meskipun tidak terdapat perbedaan signifikan dalam hasil karakterisasi, metode modifikasi menunjukkan efisiensi waktu proses  $\pm 30$  menit lebih singkat karena tidak memerlukan penyesuaian pH. Oleh karena itu, metode ini dapat dipertimbangkan sebagai alternatif yang lebih efisien untuk isolasi fosvitin, khususnya untuk keperluan penelitian dan pengembangan produk pangan fungsional.

## REKOMENDASI

Penelitian lanjutan disarankan untuk menguji bioaktif fosvitin, pengikatan mineral fosvitin secara *in vivo*, serta formulasi awal produk pangan fungsional seperti minuman suplemen atau serbuk nutrisi berbasis fosvitin. Hambatan yang perlu diperhatikan mencakup variasi biologis sumber telur dan kemungkinan degradasi protein selama proses isolasi.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Program Magister Manajemen Sumberdaya Peternakan, Laboratorium Bioteknologi dan Hasil Ternak, Fakultas Peternakan dan Laboratorium Kimia Analisis Fakultas MIPA Universitas Mataram, atas dukungan fasilitas dan kesempatan penelitian ini. Penulis menghargai kontribusi dan bimbingan serta bantuan teknis dari seluruh tim laboratorium yang telah membantu dalam proses pengumpulan data dan analisis.

## DAFTAR PUSTAKA

- Andayani, I. G. A. S., Sulastri, S., Hananto, D. A., & Sriasih, M. (2020). Ekstrak daun jati (*Tectona grandis*) alternatif pewarna pada penghitungan jumlah dan viabilitas sel kultur dibandingkan dengan pewarna trypan blue. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 8(2), 205–211.
- Agus, A., Hanim, C., Al Anas, M., & Agussalim, A. (2022). Feed, animal and human health: Designing functional egg. In *Proceedings of the 6th International Seminar of Animal Nutrition and Feed Science (ISANFS 2021)* (Vol. 21, pp. 313–319). <https://doi.org/10.2991/absr.k.220401.065>
- Almeida, N. M., Dias, F. F. G., Rodrigues, M., & Moura Bell, J. L. (2019). Effects of processing conditions on the simultaneous extraction and distribution of oil and protein from almond flour. *Processes*, 7(844). <https://doi.org/10.3390/pr7110844>
- Anton, M., Castellani, O., & Guérin-Dubiard, C. (2007). Fosvitin. In *Bioactive Egg Compounds* (pp. 17–24). Springer. <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-540-37885-3#page=21>
- Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM). (2011). *Klaim dalam label & iklan pangan olahan*. <https://standarpangan.pom.go.id/dokumen/peraturan/2011/2011HK.03.1.23.11.11.09909-Pengawasan>
- Betschart, M. U., Sarem, M., Shastri, V. P., & Lüdeke, S. (2022). Reversible,  $\beta$ -sheet-dependent self-assembly of the phosphoprotein fosvitin is controlled by the

- concentration and valency of cations. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 19. <https://doi.org/10.1039/D1CP05493G>
- Castellani, O., Martinet, V., David-Briand, E., Guérin-Dubiard, C., & Anton, M. (2003). Egg yolk phosvitin: Preparation of metal-free purified protein by fast protein liquid chromatography using aqueous solvents. *Journal of Chromatography B*, 791(1–2), 273–284. [https://doi.org/10.1016/S1570-0232\(03\)00230-7](https://doi.org/10.1016/S1570-0232(03)00230-7)
- Erni, N., Kadirman, & Ratnawaty. (2018). Pengaruh suhu dan lama pengeringan terhadap sifat kimia dan organoleptik tepung umbi talas (*Colocasia esculenta*). *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian*, 4, 95–105.
- Fitriyani, N., Hintono, H., & Pramono, Y. B. (2017). Sifat fungsional whole egg hasil freeze drying dengan umur telur yang berbeda. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 6(3), 1–4. <https://doi.org/10.17728/jatp.205>
- Hoon, S. (2016). Cytotoxic and antigenotoxic activities of phosvitin from egg yolk. *Iowa State University Animal Industry Report*.
- Ko, K. Y., Nam, K. C., Jo, C., Lee, E. J., & Ahn, D. U. (2011). A simple and efficient method for preparing partially purified phosvitin from egg yolk using ethanol and salts. *Poultry Science*, 90(5), 1096–1104. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-01138>
- Lesnierowski, G., & Stangierski, J. (2018). What's new in chicken egg research and technology for human health promotion? A review. *Trends in Food Science & Technology*, 71, 46–51. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.10.022>
- Lilienthal, S., Drotleff, A. M., & Ternes, W. (2015). Changes in the protein secondary structure of hen's egg yolk determined by Fourier transform infrared spectroscopy during the first eight days of incubation. *Poultry Science*, 94, 68–79. <https://doi.org/10.3382/ps/peu051>
- Liu, Y., & Liu, X. (2022). Effect of four extraction processes with acetone-ethanol protocols on the properties of egg yolk phosphatidylcholine and the structure of residual protein. *Journal of Oleo Science*, 72(1), 49–58. <https://doi.org/10.5650/jos.ess22219>
- Marcet, I., Ridella, F., Díaz, M., & Rendueles, M. (2023). New processes to extract and purify phosvitin by using aqueous salt solutions, precipitation and ultrafiltration techniques. *Separations*, 10(407). <https://doi.org/10.3390/separations10070407>
- Marcet, I., Sáez-Orviz, S., Rendueles, M., & Díaz, M. (2022). Egg yolk granules and phosvitin: Recent advances in food technology and applications. *LWT - Food Science and Technology*, 153, 112442. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112442>
- Moreno, J. A., Díaz-Gómez, J., Fuentes-Font, L., Angulo, E., Gosálvez, L. F., Sandmann, G., Portero-Otin, M., Capell, T., Zhu, C., Christou, P., & Nogareda, C. (2020). Poultry diets containing (keto)carotenoid-enriched maize improve egg yolk color and maintain quality. *Animal Feed Science and Technology*, 260, 114334. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114334>
- Nasution, L. M. (2017). Statistik deskriptif. *Jurnal Hikmah*, 14(1), 49–55.
- Nurhaerani, Wariata, W., Kisworo, D., & Depamede, S. N. (2019). Purification of polyclonal antibody against pork extracts antigens using protein A column as material for developing halal food detection kit. *AIP Conference Proceedings*, 2019(9), 70012–70015. <https://doi.org/10.1063/1.5141328>
- Duffuler, P., Giarratano, M., Naderi, N., Suwal, S., Marciniak, A., Perreault, V., Offret, C., Brisson, G., House, J. D., Pouliot, Y., & Doyen, A. (2020). High hydrostatic pressure induced extraction and selective transfer of  $\beta$ -phosvitin from the egg yolk granule to plasma fractions. *Food Chemistry*, 321, 126696. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126696>

- Ren, J., & Wu, J. (2014). Preparation of high purity egg phosvitin using anion exchange chromatography. *Food Chemistry*, 158, 186–191. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.120>
- Ternes, W. (1989). Characterization of water-soluble egg yolk proteins with isoelectric focusing. *Journal of Food Science*, 54, 764–765. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1989.tb04704.x>
- Wulandari, Z., & Arief, I. I. (2022). Review: Tepung telur ayam: Nilai gizi, sifat fungsional dan manfaat. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*, 10(2), 62–68. <https://doi.org/10.29244/jipthp.10.2.62-68>
- Xin, X., Zhang, G., Xue, H., Qiu, W., Hu, H., Tu, Y., & Zhao, Y. (2022). Effects of ethanol treatment on the physicochemical properties, microstructure and protein structures of egg yolk gels. *Food Chemistry*, 405(Pt B), 135041. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.135041>
- Yilmaz, B., & Agagunduz, D. (2020). Bioactivities of hen's egg yolk phosvitin and its functional phosphopeptides in food industry and health. *Journal of Food Science*, 85(10), 2969–2976.
- Zhang, X., Huang, X., & Ma, M. (2017). Role of phosphorylation of phosvitin in the phase transformation of mineralization. *International Journal of Biological Macromolecules*. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.158>