

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Kadar Protein

Pada penelitian ini merupakan penelitian kualitatif yang bertujuan untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan pita protein antara daging sapi, daging babi, sosis referensi dan pada sosis komersil. Pada proses awal penelitian, penggunaan volume sampel daging dan sosis diambil sebanyak 10 μ l namun pada sampel sosis referensi dan sosis komersil pita protein tidak menunjukkan adanya migrasi sampel sosis yang berupa pita protein. Hal ini disebabkan karena kadar protein yang rendah dapat mempengaruhi jumlah pita protein yang muncul (Riyanto, 2006).

Oleh karena itu, peneliti melakukan penyesuaian kadar pada sampel daging dan sosis agar pita protein dapat terlihat. Penyesuaian kadar dilakukan dengan mengambil sebanyak 13 μ l pada setiap sampel yang selanjutnya dilakukan pengujian ulang. Setelah semua sampel diuji hasilnya menunjukkan beberapa pita protein muncul pada sampel sosis referensi dan sosis komersil, kemudian dilakukan identifikasi ada tidaknya pita, sehingga pengaruh kadar untuk tebal tipisnya pita tidak mempengaruhi hasil. Pengukuran kadar protein sosis referensi dan sosis komersil dilakukan untuk mengetahui kadar protein dalam sampel sosis tersebut.

Penentuan kadar protein pada penelitian ini menggunakan metode *biuret* dengan *spectrophotometer UV-Vis* pada panjang gelombang 540 nm. Pada panjang gelombang ini pengukuran kadar protein menghasilkan hasil yang paling optimal. Hasil pengukuran kadar protein terdapat dalam tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Kadar Protein

No	Sampel	Kadar Protein
----	--------	---------------

1	Daging Ayam	1,083
2	Daging Babi	1,455
3	Sosis Ayam 100% (1)	0,637
4	Sosis Ayam 10% Babi (2)	0,804
5	Sosis Ayam 25% Babi (3)	0,823
6	Sosis Ayam 50% Babi (4)	1,439
7	Sosis Ayam 75% Babi (5)	0,892
8	Sosis Ayam 90% Babi (6)	1,525
9	Sosis Babi 100% (7)	1,126
10	Sosis Komersil (S.1)	0,862
11	Sosis Komersil (S.2)	0,449
12	Sosis Komersil (S.3)	0,360
13	Sosis Komersil (S.4)	0,308
14	Sosis Komersil (S.5)	1,121

Dari tabel pengukuran kadar protein tersebut didapatkan hasil kadar protein pada sosis referensi menunjukkan bahwa kadar protein yang paling besar terdapat pada sampel sosis ayam 90% babi yaitu 1,525 dan sampel terkecil terdapat pada sampel sosis ayam 100% yaitu 0,637. Semakin besar konsentrasi daging babi yang ditambahkan maka kadar protein semakin tinggi. Sedangkan pada hasil pengukuran kadar protein sampel daging ayam dan daging babi, sampel daging ayam memiliki kadar protein yang lebih rendah daripada daging babi yaitu sebesar 1,083. Hal ini disebabkan perbedaan jaringan otot yang diambil saat perlakuan isolasi protein selain itu diduga pula karena perlakuan pada saat ekstraksi protein belum optimal (Hermanto, 2009).

Pengukuran kadar protein pada sosis komersil, sampel tertinggi adalah sampel sosis komersil (S.5) sebesar 1,121 dan yang paling rendah adalah sampel sosis komersil (S.4) sebesar 0,308. Konsentrasi pada sampel daging lebih tinggi daripada sampel sosis, dikarenakan sampel daging masih dalam bentuk segar dan belum mengalami proses pengolahan yang dapat menyebabkan denaturasi protein (Susanto, 2010).

Menurut hasil penelitian tersebut, peningkatan kadar protein dengan penambahan konsentrasi daging babi menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan. Faktor ini dikarenakan adanya degradasi sampel karena pemanasan pada proses pengolahan. Hal ini juga dikarenakan adanya penambahan bahan lain seperti tepung tapioka, garam dan bawang putih yang menyebabkan perubahan pada kadar protein (Dalilah, 2006).

B. Penentuan Berat Molekul Sampel

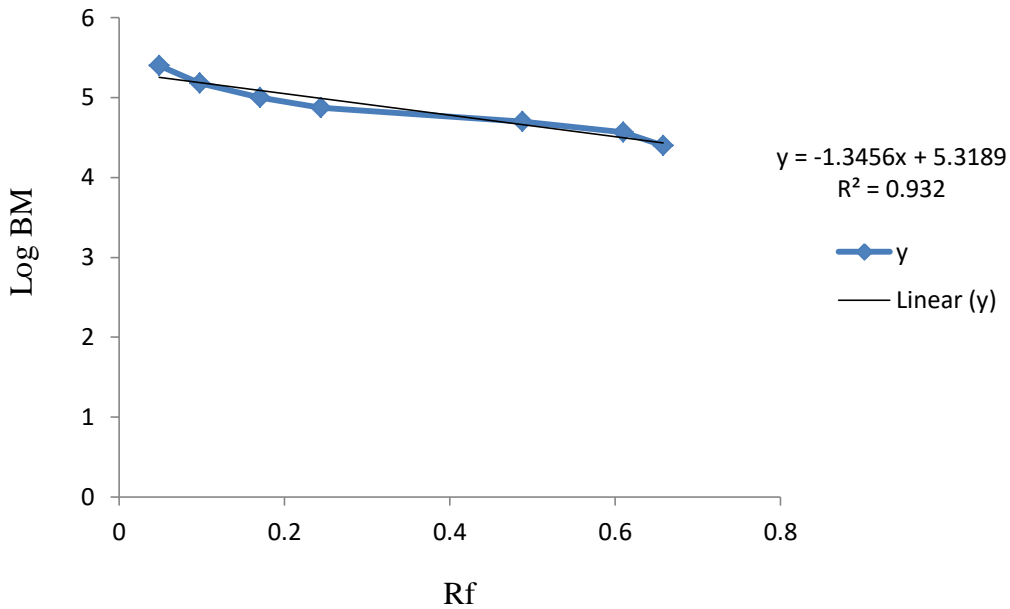
Pada penentuan berat molekul ini persamaan berat molekul sampel dihitung menggunakan persamaan garis linier yang didapat dari kurva baku standar. Kurva baku standar didapat dari nilai Rf dan logaritma berat molekul (Log BM) protein marker. Dari pita protein yang muncul dapat ditentukan berat molekulnya (Riyanto, 2006).

Tabel 1. Nilai Log BM dan Rf Marker Protein

NO	BM	Log BM	Run (cm)	Band (cm)	Rf
1	250000	5,39794	4,1	0,2	0,0488
2	150000	5,17609	4,1	0,4	0,0976
3	100000	5	4,1	0,7	0,1707
4	75000	4,87506	4,1	1	0,2439
5	50000	4,69897	4,1	2	0,4878
6	37000	4,5682	4,1	2,5	0,6098
7	25000	4,39794	4,1	2,7	0,6585

Keterangan : Satuan BM dalam Dalton (D)

Kemudian dimasukkan kedalam persamaan regresi linier dengan $y = \log \text{BM}$ dan $x = \text{Rf}$ yang dapat dilihat pada kurva standar di bawah ini :



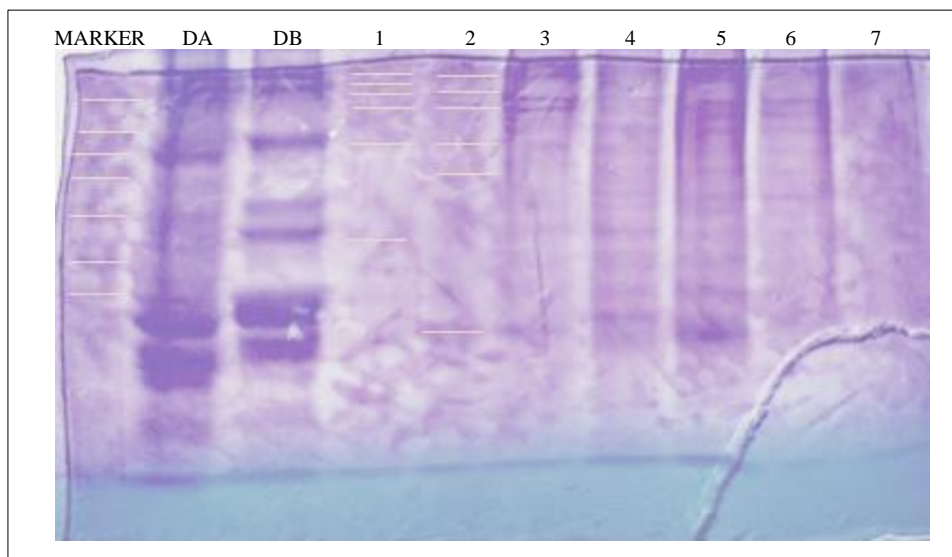
Gambar 1. Kurva Regresi Linier Standar Marker Protein

Persamaan regresi linier kurva standar berat molekul marker adalah $y = -1.3456x + 5.3189$ kemudian nilai Rf dimasukkan sebagai x. perhitungan Rf dilakukan dengan mengukur jarak pergerakan sampel kemudian membandingkan dengan jarak *tracking dye* (Riyanto, 2006). Agar semua sampel dapat dianalisis berat molekulnya maka dilakukan perlakuan yang sama yaitu dengan cara memasukkan nilai Rf pada persamaan regresi linier sehingga semua sampel mendapatkan nilai berat molekulnya masing-masing. Hasil yang didapat dari nilai Rf akan menjadi hasil dari log BM. Hasil yang didapatkan dari perhitungan log BM kemudian diubah ke antilog agar mendapatkan berat molekul untuk pita protein yang sudah terbentuk.

C. Karakteristik Protein dan Berat Molekul Sampel

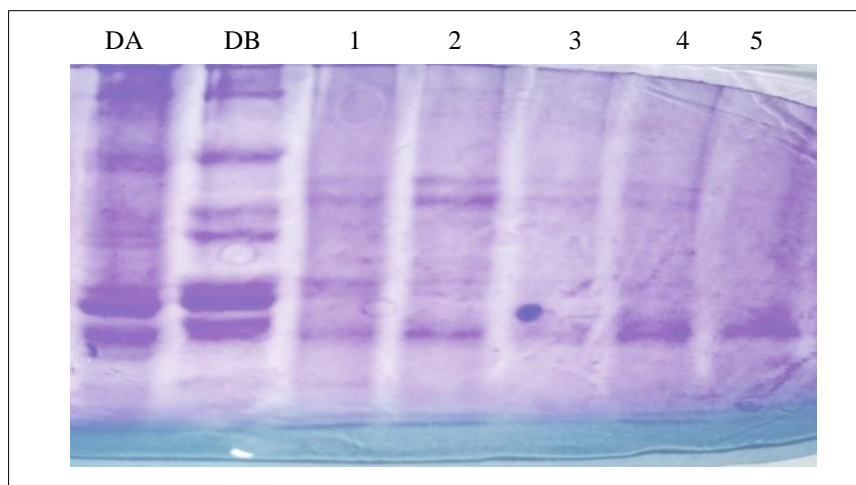
Dari penelitian yang sudah dilakukan, didapatkan perbedaan hasil pita protein pada tiap sampel. Pita protein yang muncul pada sampel daging ayam, daging babi, sosis referensi dan sosis pasar memiliki gambaran yang beragam. Sampel yang diteliti memuat

perbedaan pola pita protein yang bisa dilihat dari perbedaan pita protein yang muncul. Berkurangnya pita protein pada sosis kemungkinan disebabkan oleh degradasi sebagian besar protein. Hal ini menunjukkan bahwa selama dalam proses pembuatan sosis, sebagian protein miofibril telah hilang akibat dari penghancuran daging serta panas yang dihasilkan dari pengolahan (Susanto, 2010).



Gambar 2. Gel 1, Hasil elektroforesis marker protein dan sampel.

Keterangan gambar: Marker = Marker; DA = Daging Ayam; DB = Daging Babi; 1 = Sosis Ayam 100%; 2 = Sosis ayam 10% babi; 3 = Sosis ayam 25% babi; 4 = Sosis ayam 50% babi; 5 = Sosis ayam 75% babi; 6 = Sosis ayam 90% babi; 7 = Sosis babi 100%.



Gambar 3. Gel 2, Hasil elektroforesis sampel sosis komersil
 Keterangan : DA = Daging Ayam; DB = Daging Babi; 1 = Sosis komersil 1; 2 = Sosis komersil 2; 3 = Sosis komersil 3; 4 = Sosis komersil 4; 5 = Sosis komersil 5.

Tabel 2. Berat Molekul sampel pada gel 1

Ke ter an ga n ta bel: D A = Da gin g Ay am ; D B = Da gin g Ba bi; 1 =	No	Berat Molekul (kDa)								
		DA	DB	1	2	3	4	5	6	7
	1	166,1	166,1	179,1	179,1	179,1	142,8	166,1	179,1	142,8
	2	154,0	154,0	142,8	154,0	142,8	132,4	132,4	132,4	132,4
	3	113,8	142,8	132,4	142,8	132,4	122,7	122,7	122,7	-
	4	97,88	113,8	122,7	132,4	122,7	105,5	113,8	113,8	-
	5	57,67	105,5	105,5	113,8	105,5	97,88	97,88	97,88	-
	6	53,46	84,15	27,08	25,11	27,08	78,02	84,15	84,15	-
	7	39,52	67,08	-	-	-	72,34	72,34	72,34	-
	8	33,97	57,67	-	-	-	67,08	67,08	57,67	-
	9	29,21	53,46	-	-	-	62,19	57,67	-	-
	10	25,11	36,65	-	-	-	57,67	23,28	-	-
	11	21,59	31,50	-	-	-	45,97	-	-	-
	12	18,56	27,08	-	-	-	31,50	-	-	-
	13	14,79	25,11	-	-	-	-	-	-	-
	14	-	15,95	-	-	-	-	-	-	-

Sosis Ayam 100%; 2 = Sosis ayam 10% babi; 3 = Sosis ayam 25% babi; 4 = Sosis ayam 50% babi; 5 = Sosis ayam 75% babi; 6 = Sosis ayam 90% babi; 7 = Sosis babi 100%.

Berdasarkan tabel 5, terlihat bahwa jumlah protein yang muncul pada sampel daging ayam sejumlah 13 pita protein, sampel daging babi sejumlah 14 pita protein. Pada sampel sosis referensi untuk sosis ayam 100% didapatkan pita protein sebanyak 6 pita protein, sampel sosis ayam dengan 10% babi terdapat 6 pita protein, sampel sosis ayam 25% babi terdapat 6 pita protein, sosis ayam 50% babi terdapat 12 pita protein, sampel

sosis ayam 75% babi terdapat 10 pita protein, sampel sosis ayam 90% babi terdapat 8 pita protein, dan pada sampel babi 100% terdapat 2 pita protein.

Tabel 3. Berat Molekul pada gel 2

No	Berat Molekul (kDa)				
	S.1	S.2	S.3	S.4	S.5
1	167,8	167,8	75,99	75,99	75,99
2	81,67	75,99	65,79	65,79	65,79
3	70,71	65,79	32,00	32,00	20,77
4	34,40	32,00	20,77	20,77	-
5	22,32	20,77	-	-	-

Keterangan tabel : S.1 = Sosis komersil 1; S.2 = Sosis komersil 2;
S.3 = Sosis komersil 3; S.4 = Sosis komersil 4; S.5 = Sosis komersil 5

Pada tabel 6, pita protein yang muncul pada sampel sosis komersil cukup beragam. Untuk sampel sosis komersil (S.1) pita yang muncul sebanyak 5 pita protein, sampel sosis komersil (S.2) pita yang muncul sebanyak 5 pita protein, sampel sosis komersil (S.3) pita yang muncul sebanyak 4 pita protein, sampel sosis komersil (S.4) pita yang muncul sebanyak 4 pita protein, dan pada sampel sosis komersil (S.5) pita yang muncul sebanyak 3 pita protein. Hasil pita protein dari kedua gel tersebut menunjukkan perbedaan yang signifikan. Pita protein yang terkandung di dalam sampel sosis pasar hanya sedikit yang muncul, berkurangnya pita protein ini dapat disebabkan oleh degradasi sebagian besar protein. Faktor lain yang mempengaruhi pita protein yang muncul hanya sedikit adalah pada proses pengolahan sosis terjadi penambahan garam, pengukusan dan penggilingan yang menyebabkan terjadinya denaturasi protein (Winarno, 2004 ; Susanto, 2010).

7	α aktinin	95	85,5 – 103,5	+	-	+	-	-	-	+	+	-
8	β aktinin	37	33,3 – 40,7	+	+	-	-	-	-	-	-	-
9	γ aktinin	35	31,5 – 38,5	+	+	-	-	-	-	-	-	-
10	Eu aktinin	42	37,8 – 46,2	+	+	-	-	-	+	-	-	-
Yang lain												
11	Desmin	55	49,5 – 60,5	+	+	-	-	-	+	+	+	-
12	Miosin Cleaving Enzim (LC ₁)	24 – 27	24 – 27	+	+	+	+	+	-	-	-	-

Keterangan : + (terdeteksi) dan – (tidak terdeteksi)

Tabel 6. Fraksi Protein pada Sampel Gel 2

No.	Protein	BM (kDa)	Range \leq 10 %	Sampel				
Miofibril				S.1	S.2	S.3	S.4	S.5
1	Miosin	200	180 – 220	-	-	-	-	-
2	Aktin	42	37,8 – 46,2	-	-	-	-	-
3	Tropomiosin	33	29,7 – 36,3	+	+	+	+	-
4	Troponin C	18	16,2 – 19,8	-	-	-	-	-
5	Troponin I	23	20,7 – 25,3	+	+	-	-	-
6	Troponin T	38	34,2 – 41,8	-	-	-	-	-
Aktinin								
7	α aktinin	95	85,5 – 103,5	-	-	-	-	-
8	β aktinin	37	33,3 – 40,7	+	-	-	-	-
9	γ aktinin	35	31,5 – 38,5	+	+	+	+	-
10	Eu aktinin	42	37,8 – 46,2	-	-	-	-	-
Yang lain								
11	Desmin	55	49,5 – 60,5	-	-	-	-	-
12	Miosin Cleaving Enzim (LC ₁)	24 – 27	24 – 27	-	-	-	-	-

Dari tabel hasil fraksi protein pada sampel gel 1 dapat dilihat perbedaan antara

Keterangan : + (terdeteksi) dan – (tidak terdeteksi).

daging ayam dan daging babi. Pada sampel daging ayam terdapat troponin C dengan BM

18,56 kDa dan α aktinin BM 97,88 kDa yang tidak terdapat pada sampel daging babi.

Dari hasil perhitungan fraksi protein, daging ayam memiliki ciri protein yang lebih

spesifik dibandingkan dengan daging babi. Hasil dari elektroforesis menunjukkan bahwa

hasil pita protein yang muncul pada daging ayam sebanyak 13 pita dan pada daging babi

pita protein yang muncul sebanyak 14 pita.

Pada sampel sosis referensi 1, 5 dan 6 yang mana pada sampel sosis referensi tersebut terdapat daging babi masih terdeteksi pita-pita α aktinin, tetapi pada sampel 2, 3, 4 dan 7 yang mana sampel sosis tersebut masih terdapat campuran daging babi yang tidak terdeteksi α aktinin. Hal ini bisa dikarenakan proses preparasi sampel yang kurang maksimal dan pada saat proses pembuatan sosis, protein mengalami denaturasi saat proses pemanasan. Tingkat pemanasan dapat berpengaruh terhadap protein. protein α aktinin bersifat lebih labil dan tidak larut pada kisaran 50°C (Susilo, 2003; Susanto, 2010). Selain itu menurut Dalilah (2006) penambahan bahan-bahan lain seperti tepung tapioka, garam dan bumbu-bumbu juga dapat mempengaruhi kadar protein.

Hasil elektroforesis pada tabel 9 sampel sosis komersil (S.1) dan sampel sosis komersil (S.2) terdapat pita troponin I, sedangkan pada sampel sosis komersil (S.3), (S.4) dan (S.5) tidak terdapat pita troponin I sedangkan pada pita LC₁ tidak ada satupun pita yang terdeteksi pada sampel sosis komersil. Menurut penelitian Susanto (2010) daging ayam memiliki protein yang spesifik yakni munculnya pita troponin I dan LC₁, sedangkan pada penelitian yang saya lakukan hanya muncul pita troponin I pada beberapa sampel sosis dan tidak ada satupun pita LC₁ yang terdeteksi pada sampel sosis komersil. Hal ini dikarenakan terdapat pita protein pada satu spesies yang tidak ditemukan pada spesies lain ataupun sebaliknya, maka dapat dikatakan spesifik walaupun kemunculannya bervariasi (Nazar, 2007).