

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Isolasi Protein

Isolasi protein merupakan suatu cara yang digunakan untuk memisahkan protein dari makromolekul lain yang tidak diinginkan. Teknik isolasi protein ini harus mempertimbangkan sifat-sifat fisik dan kimiawi dari protein tersebut agar tidak terjadi perubahan konformasi dan aktifitasnya. Pada proses isolasi protein terdapat beberapa cara, salah satunya adalah menggunakan teknik gel elektroforesis. Teknik ini memiliki fungsi kerja yaitu memisahkan protein berdasarkan berat molekulnya dalam suatu tegangan listrik tertentu. Teknik ini menggunakan *loading buffer* yang berfungsi untuk mendenaturasi protein tersebut sehingga protein yang semula tidak bermuatan menjadi bermuatan negatif. Molekul sampel yang bermuatan negatif akan bergerak melalui dalam matriks gel menuju ke elektroda positif.

B. Analisis Kadar Protein

Pada penelitian ini dilakukan penelitian yang bersifat 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 5.

Tabel 5. Hasil pengukuran kadar protein

No.	Sampel	Konsentrasi protein (mg/ml)
1	Daging Babi	1,4551
2	Daging Sapi	1,0810
3	Sosis Sapi 100%	1,0904
4	Sosis Sapi dengan 10% Daging Babi	1,3173
5	Sosis Sapi dengan 25% Daging Babi	1,5986
6	Sosis Sapi dengan 50% Daging Babi	1,4519
7	Sosis Sapi dengan 75% Daging Babi	2,4156
8	Sosis Sapi dengan 90% Daging Babi	2,8408
9	Sosis Babi 100%	1,0944
10	Sosis (S.1)	0,3889
11	Sosis (S.2)	0,6217
12	Sosis (S.3)	0,7221
13	Sosis (S.4)	2,3643
14	Sosis (S.5)	1,6695

Pada hasil pengukuran kadar protein untuk sampel sosis referensi kadar paling besar ada pada sampel sosis referensi yakni sosis sapi dengan 90% daging babi dan kadar paling kecil ada pada sampel sosis komersil yakni S.1. Konsentrasi protein sosis pada sosis referensi dan sosis komersil pada penelitian ini adalah 0,3889 - 2,8408 mg/ml. Sedangkan untuk kadar protein antara daging sapi dan daging babi menunjukkan kadar protein daging babi lebih tinggi daripada daging sapi.

Kadar protein daging sapi 1,0810 mg/ml dan kadar protein daging babi 1,4551 mg/ml. Hal ini juga menunjukkan bahwa komposisi sampel daging babi memiliki kadar protein yang lebih besar daripada sampel daging sapi. Adanya perbedaan konsentrasi kadar protein antara daging sapi dan daging babi tersebut diduga karena berbedanya jaringan otot yang diambil. Jaringan otot yang diambil pada daging sapi adalah bagian has luar (*sirloin*) dan pada daging babi bagian lurus dalam (*pork fillet*) (Hermanto,2009). Komposisi daging sangat dipengaruhi oleh kandungan lemaknya. Kandungan lemak daging dan air yang meningkat menyebabkan kandungan protein menurun (Soeparno, 1998).

Pada hasil penelitian ini peningkatan kadar protein dengan penambahan persentase daging babi secara signifikan meningkat. Dalam sosis referensi terlihat bahwa adanya penambahan daging babi dengan konsentrasi yang bervariasi mempengaruhi kadar protein, semakin banyak daging babi yang dicampurkan dalam sosis daging menyebabkan semakin tinggi konsentrasi kadar proteinnya.

C. Penentuan Berat Molekul Sampel

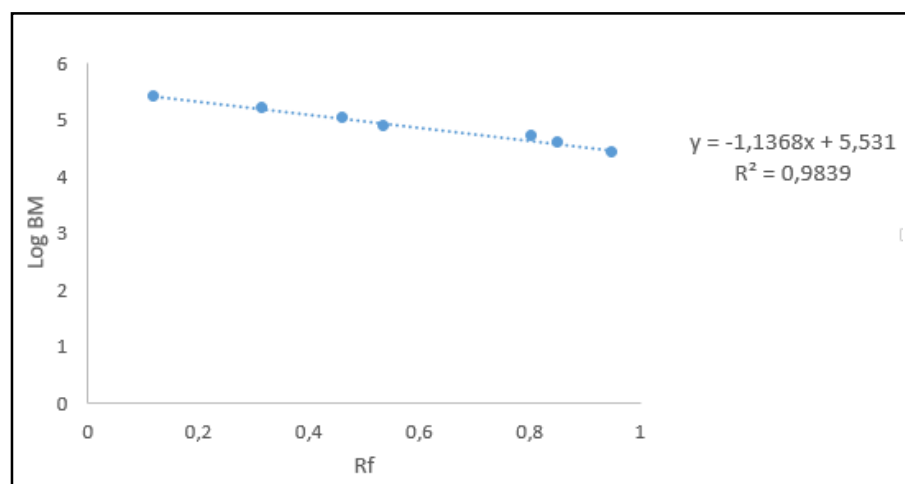
Pada penentuan berat molekul ini persamaan berat molekul sampel dihitung menggunakan persamaan garis linier yang didapat dari kurva standar. Kurva standar didapat dari nilai mobilitas relatif (Rf) dan logaritma berat molekul (Log BM) protein marker. Dari pita protein yang muncul dapat ditentukan berat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

Tabel 6. Nilai Log BM dan Rf Marker Protein

No	BM	Log BM	Run (cm)	Band cm	Rf
1	250000	5,398	4,1	0,5	0,1220
2	150000	5,176	4,1	1,3	0,3171
3	100000	5,0	4,1	1,9	0,4634
4	75000	4,875	4,1	2,2	0,5366
5	50000	4,699	4,1	3,3	0,8049
6	37000	4,568	4,1	3,5	0,8537
7	25000	4,398	4,1	3,9	0,9512

Keterangan : satuan BM dalam dalton (D)

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



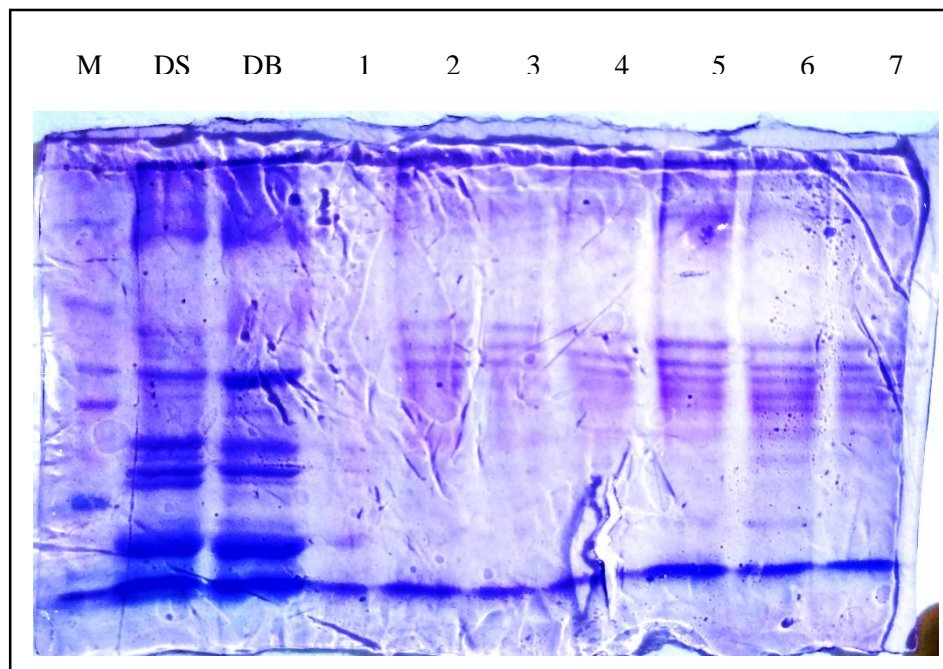
Gambar 8. Kurva Regresi Linier Standar Marker Protein

Persamaan regresi linier didapat $y = -1,1368x + 5,531$ 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 yakni memasukkan nilai Rf pada persamaan regresi linier sehingga semua sampel mendapatkan nilai berat molekulnya masing-masing. Hasil yang didapat saat nilai Rf sudah dimasukkan akan menjadi hasil dari log BM. Kemudian diubah ke antilog agar mendapatkan berat molekul untuk pita protein yang sudah terbentuk.

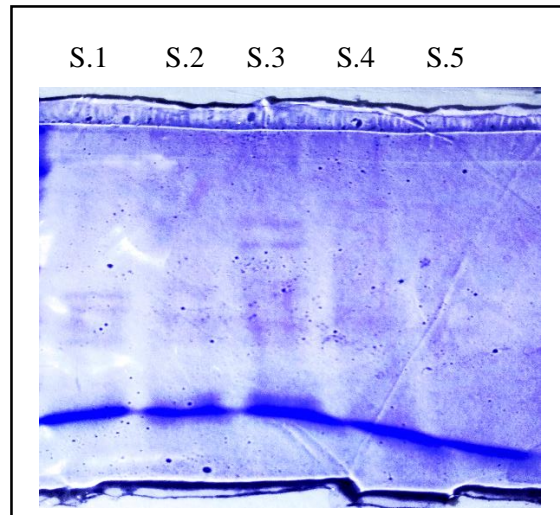
D. Karakteristik Protein dan Berat Molekul Sampel

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan pita protein pada tiap sampel. Pada pita protein yang muncul dari sampel daging sapi, daging babi, sosis referensi dan sosis komersil memiliki gambaran yang beragam. Sampel yang diteliti memuat perbedaan pola pita protein yang bisa dilihat dari perbedaan jumlah pita yang muncul.



Gambar 9. Gel 1, Hasil Elektroforesis Marker Protein dan Sampel Referensi

Keterangan : DS (Daging Sapi), DB (Daging Babi), 1 (Sosis Sapi 100%), 2 (Sosis Sapi dengan 10% Daging Babi), 3 (Sosis Sapi dengan 25% Daging Babi), 4 (Sosis Sapi dengan 50% Daging Babi), 5 (Sosis Sapi dengan 75% Daging Babi), 6 (Sosis Sapi dengan 90% Daging Babi), 7 (Sosis Babi 100%)



Gambar 10. Gel 2, Hasil Elektroforesis Sampel

Keterangan : Sosis Komersil (S.1), Sosis Komersil (S.2), Sosis Komersil (S.3), Sosis Komersil (S.4), Sosis Komersil (S.5)

Tabel 7. Berat Molekul sampel pada gel 1

No	Berat Molekul (KDa)								
	DS	DB	1	2	3	4	5	6	7
1	261,41	100,97	130,35	130,35	122,28	261,41	257,83	257,83	257,83
2	119,20	80,49	114,72	114,72	107,63	244,85	240,67	240,67	112,81
3	104,58	70,62	100,97	100,97	94,72	119,20	112,81	105,30	98,29
4	91,75	58,03	46,93	88,87	88,87	104,58	98,29	91,75	85,64
5	80,49	50,91	-	64,58	64,58	97,95	91,75	85,64	79,94
6	75,39	47,69	-	53,32	53,32	85,94	79,94	74,62	74,62
7	58,03	44,67	-	34,11	-	75,39	74,62	69,65	60,69
8	54,36	41,84	-	-	-	61,96	60,69	60,69	52,88
9	47,69	36,70	-	-	-	-	52,88	56,65	40,14
10	44,67	30,16	-	-	-	-	40,14	49,36	-
11	34,38	-	-	-	-	-	-	40,14	-
12	30,16	-	-	-	-	-	-	32,65	-

Keterangan tabel : DS (Daging Sapi), DB (Daging Babi), 1 (Sosis Sapi 100%), 2 (Sosis Sapi dengan 10% Daging Babi), 3 (Sosis Sapi dengan 25% Daging Babi), 4 (Sosis Sapi dengan 50% Daging Babi), 5 (Sosis Sapi dengan 75% Daging Babi), 6 (Sosis Sapi dengan 90% Daging Babi), 7(Sosis Babi 100%)

Berdasarkan tabel 7, terlihat bahwa jumlah protein yang muncul pada sampel daging sapi berjumlah 12 pita protein, sampel daging babi berjumlah 10 pita protein. Pada sampel sosis referensi untuk sosis sapi 100% pita yang muncul berjumlah 4 pita protein, sosis sapi dengan 10%

daging babi pita yang muncul berjumlah 7 pita protein, sosis sapi dengan 25% daging babi pita yang muncul berjumlah 6 pita protein, sosis sapi dengan 50% daging babi pita yang muncul berjumlah 8 pita protein, sosis sapi dengan 75% daging babi pita yang muncul sebanyak 10 pita protein, sosis sapi dengan 90% daging babi pita yang muncul sejumlah 12 pita protein dan pada sosis babi 100% pita yang muncul sejumlah 9 pita protein.

Tabel 8. Berat Molekul sampel pada gel 2

No	Berat Molekul (KDa)				
	S.1	S.2	S.3	S.4	S.5
1	78,66	64,21	153,64	198,13	-
2	67,43	50,61	131,10	-	-
3	57,81	-	54,79	-	-
4	49,56	-	46,75	-	-
5	-	-	26,83	-	-

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

Pada tabel 8 pita protein yang muncul pada sampel sosis komersil cukup beragam. Untuk S.1 pita yang muncul sebanyak 4 pita protein, pada sampel S.2 pita yang muncul sebanyak 2 pita protein, sampel S.3 pita yang muncul sebanyak 5 pita protein, sampel S.4 hanya 1 pita protein dan pada sampel S.5 tidak ditemukannya pita protein. Dari hasil pengujian, pita protein yang terkandung di dalam sosis komersil hanya sedikit yang muncul, berkurangnya pita protein ini dapat disebabkan oleh degradasi sebagian besar protein. Selain itu pada proses pengolahan sosis terjadi penambahan garam, pengukusan dan penggilingan menyebabkan terjadinya denaturasi (Winarno, 2004 ; Susanto, 2010).

E. Analisis Profil Protein

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan profil protein yang berada pada daging sapi dan daging babi serta produk olahannya yakni sosis. Sebelumnya penelitian ini sudah dilakukan oleh Edy Susanto (2010) perbedaannya adalah pada penelitian sebelumnya sampel yang diteliti menggunakan sampel dari bakso sedangkan pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah sampel yang berasal dari sosis sapi. Penelitian lain yang dilakukan oleh Dalilah (2006) juga terdapat perbedaan yakni sampel sosis yang digunakan berasal dari daging sapi beku (-27°C) sedangkan pada penelitian ini sampel yang digunakan menggunakan daging sapi segar. Selain itu perbedaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya adalah pada penelitian ini menambahkan sampel sosis komersil yang di jual di sekitar Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

Analisis profil protein menggunakan metode elektroforesis dengan konsentrasi akrilamid sebesar 10% dalam range inilah berat molekul target protein akan dicari. Kemudian untuk konsentrasi dari gel pemisah (*separating gel*) pada 10-15% optimum digunakan pada berat molekul 10 kD-80 kD. Hasil pita protein yang tampak akan didokumentasikan dan diamati secara visual.

Pada pembuatan gel elektroforesis, semakin tinggi konsentrasi gel menyebabkan pori-pori yang terbentuk semakin kecil, sehingga saat dilakukan pengujian protein yang mampu melewati gel elektroforesis adalah protein yang memiliki berat molekul yang lebih kecil. Beberapa hal yang

dapat menyebabkan penurunan persentase protein seperti proses penambahan garam yang terlalu banyak dapat menyebabkan penurunan kadar protein, garam dapat memecahkan ikatan hidrogen pada protein sehingga menyebabkan denaturasi protein dengan cara tersebut protein larut air semakin tinggi sehingga kadar protein dalam sosis akan turun (Anshori, 2002). Proses pemanasan dengan suhu terlalu tinggi. Hal ini dapat menyebabkan denaturasi protein. Denaturasi protein adalah perubahan konformasi yang fundamental dalam semua bagian molekulnya yang dapat menyebabkan kehilangan aktivitas biologis. Protein otot mengalami denaturasi pada kisaran suhu 50°C-80°C (Tornberg, 2004). Berikut ini adalah standar fraksi protein yang terdapat dalam daging menurut Price & Schweigert (1987):

Tabel 9. Jenis Protein dalam Daging dan Berat Molekulnya

Protein	BM (KDa)	Range ≤ 10%
Miofibril		
Miosin	200	180 – 220
Aktin	42	37,8 – 46,2
Tropomiosin	33	29,7 – 36,3
Troponin C	18	16,2 – 19,8
Troponin I	23	20,7 – 25,3
Troponin T	38	34,2 – 41,8
Aktinin		
α aktinin	95	85,5 – 103,5
β aktinin	37	33,3 – 40,7
γ aktinin	35	31,5 – 38,5
Eu aktinin	42	37,8 – 46,2
Yang lain		
Desmin	55	49,5 – 60,5
Miosin Cleaving Enzim (LC ₁)	24 – 27	24 – 27

Berikut ini adalah perkiraan pita protein yang ada pada gel 1 dan gel 2 :

Tabel 10. Perkiraan pita protein pada Sampel Gel 1

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

Keterangan : X = terdeteksi dan - = tidak terdeteksi

Tabel 11. Perkiraan pita protein pada Sampel Gel 2

No	Protein	BM (KDa)	Range $\leq 10\%$	Sampel				
				S.1	S.2	S.3	S.4	S.5
Miofibril								
1	Miosin	200	180 – 220	-	-	-	X	-
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	X	X	X	-	-
12	Miosin Cleaving Enzim (LC ₁)	24 – 27	24 – 27	-	-	X	-	-

Keterangan : X = terdeteksi dan - = tidak terdeteksi

Pada tabel 10 pola protein yang terdapat pada kolom DS dan DB menunjukkan bahwa daging babi memiliki ciri protein yang spesifik dibandingkan dengan daging sapi. Hal ini terlihat dari munculnya protein

Troponin T dengan berat molekul 100,97 kDa dan α aktinin dengan berat molekul 36,7 kDa (Susanto, 2010). Hasil dari elektroforesis menunjukkan bahwa pita protein yang muncul pada daging sapi sebanyak 12 pita protein dan pada daging babi pita protein yang muncul sebanyak 11 pita. Sampel sosis referensi 1 tidak terdapat pita α aktinin dikarenakan mengandung daging 100%, pada sampel sosis referensi 2,3 dan 4 pita α aktinin terdeteksi namun Troponin T masih tidak terdeteksi. Namun pada sampel sosis referensi 5,6 dan 7 pita α aktinin dan Troponin T dapat terdeteksi. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa semakin tinggi kandungan babi yang tercampur dalam sosis sapi maka protein spesifik babi semakin mudah untuk ditemukan.

Hasil elektroforesis pada tabel 11 sampel sosis komersil S.1, S.2 dan S.3 terdapat pita desmin dengan berat molekul 54,79 kDa, pada sampel S.4 terdapat pita protein miosin dengan berat molekul 198,13 kDa dan pada sampel S.5 tidak ditemukan pita protein. Pita protein spesifik daging sapi yang tidak terdapat pada daging babi adalah LC₁ dengan berat molekul 26,83 kDa yang terdapat pada sampel S.3. Hasil ini menunjukkan kesamaan dengan penelitian sebelumnya pada berat molekul sekitar 26,28 kDa (Riyanto, 2006). Apabila terdapat pita protein pada satu spesies yang tidak ditemukan pada spesies lain ataupun sebaliknya, maka dapat dikatakan spesifik walaupun kemunculannya bervariasi (Nazar, 2007).

Faktor utama yang mempengaruhi munculnya pita protein adalah perlakuan pemanasan yang dapat mengakibatkan denaturasi protein

sehingga mengurangi pita protein yang dominan. Proses pengukusan menyebabkan penurunan konsentrasi asam amino, semakin lama pengukusan terjadi maka penurunan konsentrasi asam amino lebih besar (Cavalli *et al*, 2006). Pengaruh pengolahan dengan menggunakan panas dapat mengakibatkan terjadinya jumlah penyusutan asam amino hingga 40% tergantung dari jenis, suhu dan lamanya proses pengolahan (Hawab, 1999). Selain itu menurut Dalilah (2006) penambahan bahan-bahan lain seperti tepung tapioka, garam dan bumbu-bumbu juga dapat mempengaruhi kadar protein.