

**PROFIL PROTEIN HASIL ISOLASI DAGING AYAM, DAGING BABI,
DAN OLAHANNYA DENGAN METODE *Sodium Dodecyl Sulphate*
Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)**

Salmah Orbayinah, Yumna Khoirunnisa

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas
Muhammadiyah Yogyakarta.
Jalan Lingkar Selatan, Bantul Yogyakarta 55183, Indonesia.

Abstract

There are many cases of pork substitution in processed food products. The purpose of this research was to know protein profile of chicken, pork, and reference meatball. The reference meatball is a meatball that made from a mixture of pork and chicken with the different composition of meat.

The methods was experiment laboratory by using SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis*). Raw data was taken from image shooting on the gel after staining procedure have been completed. The description of protein bands was observed visually and analyzed by descriptive analysis. Data were calculated by linear regression to determine molecular weight. Besides that, we have measured protein level samples by biuret method using spectrophotometer UV-Vis.

The result showed that several protein bands is different. Chicken meat sample have 12 protein bands, pork meat sample have 15 protein bands and reference meatball samples have 2 protein bands. Some bands protein that appear showed specific protein. Protein band on chicken that are not found in pork is short chain myosin (LC1) with molecular weight 24,90 kD. Then pork protein that not found in chicken is α -actinin with molecular weight 103,61 kD. Band on meatball sample is troponin T with molecular weight 40,78 kD. This band protein was found in all of meatball sample. There is a band on pork meatball that not found in chicken meatball, predicted is actin with molecular weight 47,04 kD which becomes a spesific pork meatball protein. The result of measurement protein content showed higher protein levels in pork than chicken.

Keywords : Pork meatball, SDS-PAGE, Protein

1. Pendahuluan

Prinsip dalam agama islam telah menjelaskan bahwasannya, semua bahan makanan dan minuman adalah halal kecuali yang diharamkan oleh Allah dan Rosul-

Nya. Beberapa makanan yang diharamkan Allah SWT terdapat dalam qur'an surah Al-Baqarah ayat 173 yang menyatakan keharaman daging babi. Kemudian berdasarkan data sertifikasi halal dari LPPOM MUI pada kategori produk pangan, kosmetika, dan obat-obatan menunjukkan total persentase produk bersertifikat halal sejak tahun 2011 s.d. 2014 adalah 26,11% sedangkan yang belum bersertifikat halal pada tahun yang sama sebesar 73,89%. Selain itu data rumah potong hewan tahun 2013 menunjukkan jumlah rumah potong hewan yang telah bersertifikat halal hanya sebesar 17,14 %. Data tersebut memperlihatkan masih banyaknya produk pangan maupun rumah potong hewan yang belum mempunyai sertifikat halal namun telah bebas beredar dan beroperasi (SIMBI Kemenag, 2014). Hal tersebut menimbulkan adanya kekhawatiran di kalangan masyarakat perihal keaslian daging dalam pembuatan produk olahan. Khususnya bagi umat islam perlu untuk lebih selektif dalam memilih produk pangan berbahan baku hewani.

Upaya analisis protein yang telah terbukti dapat mengidentifikasi pita protein adalah dengan metode SDS-PAGE. Melalui metode tersebut muncul rumusan masalah untuk mengetahui bagaimana profil protein dan berat molekul protein miofibril hasil isolasi daging ayam segar, daging babi segar dan bakso referensi atau buatan sendiri dengan perbandingan komposisi penyusunnya. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi protein hasil isolasi daging ayam, daging babi, dan produk olahannya yaitu bakso, menggunakan metode SDS-PAGE sehingga didapatkan hasil profil protein dari masing-masing sampel yang berupa pita protein dengan berat molekul yang berbeda antara sampel daging ayam, daging babi, dan produk olahannya. Sehingga nantinya dapat digunakan sebagai metode autentikasi

halal produk makanan yang terbuat dari bahan dasar hewani. Sehingga diharapkan dapat memberikan manfaat dalam pengembangan metode analisis protein daging dan produk olahannya dengan metode SDS-PAGE bagi peneliti, mahasiswa maupun kalangan akademisi. Selain itu juga dapat memberikan informasi profil protein daging ayam, daging babi, dan produk olahannya yaitu bakso baik berupa gambaran pita protein maupun berat molekulnya.

2. Metode

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium untuk mengetahui profil protein hasil isolasi pada sampel daging ayam segar, daging babi segar dan bakso referensi atau buatan sendiri dengan perbandingan komposisi penyusunnya.

Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, Sleman, DI.Yogyakarta dan Laboratorium Teknologi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Bantul, DI.Yogyakarta. Waktu penelitian ini dilakukan mulai bulan Februari sampai Mei 2018.

Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daging ayam segar dan daging babi segar didapatkan dari pasar Pathuk Yogyakarta. Bakso referensi merupakan sampel bakso ayam yang mengandung daging babi. Dibuat sendiri

dengan seri konsentrasi 0, 5, 10, 15, 25, 50, dan 100% atas daging babi terhadap daging ayam.

Variabel Penelitian

1. Variabel terikat

Profil protein hasil isolasi

2. Variabel bebas

Daging ayam segar, daging babi segar dan bakso referensi atau buatan sendiri dengan perbandingan komposisi penyusunnya.

Instrumen Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan adalah daging ayam segar, daging babi segar, tepung tapioka, garam, bawang putih, aquabides, *normal saline*, *Radioimmunoprecipitation assay* (RIPA buffer); *phenylmethane sulfonyl fluoride* (PMSF); *sodium dodecyl sulfate* (SDS) 10% dalam aquades; *Bisakrilamide* 30% merk BioRad; Tris-HCl 3M pH 8,8; Tris-HCl 0,5M pH 6,8; *Ammonium peroxydisulfate* (APS) 10%; N,N,N',N'- *Tetramethylethylenediamine* (TEMED) 100% merk BioRad; 10x buffer elektroforesis pH 8,7 ; *loading sampel*; Isobutanol dalam aquades; aquades; *Coomasie brilliant blue*; *destaining solution*; reagen *biuret*; larutan standar *Bovine Serum Albumin* (BSA).

Alat-alat yang digunakan meliputi autoklav *Hiclave HVE-50 Hirayama*, *beaker glass Pyrex*, penangas air *Memmert*, *blender Miyako*, *Sentrifuge Hettich Zentrifugen EBA-20*, *Pisau*, timbangan analitik *Mettler Toledo*, tabung eppendorf *Biologix*, *Vortex Super Mixer Gemmy Industrial*, tabung reaksi *Pyrex*, *Micropipet Bio-Rad*, *Blue tip Biologix*, *Yellow tip Biologix*, *White tip Biologix*, tabung *conical*

Biologix, Kuvet quartz glass Hellma, Shaker Dragonlab, Refrigerated Centrifuge Thermo Fisher untuk isolasi protein dari jaringan hewan. *Aparatus elektroforesis Mini-PROTEAN Tetra System BioRad* untuk pemisahan dan karakterisasi protein. *Shimadzu UVmini-1240 Spectrophotometer* untuk penentuan kadar protein.

3. Hasil dan Pembahasan

Kadar Protein

Penentuan kadar protein yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan metode *biuret* dengan *spectrophotometer UV-Vis* pada λ 540 nm. Pengukuran kadar protein terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengukuran kadar protein

No.	Sampel	Konsentrasi protein (mg/ml)
1.	Bakso ayam 100%	0,3847
2.	Bakso ayam dengan 5 % daging babi	0,5298
3.	Bakso ayam dengan 10 % daging babi	0,5466
4.	Bakso ayam dengan 15% daging babi	0,5493
5.	Bakso ayam dengan 25 % daging babi	0,5534
6.	Bakso ayam dengan 50 % daging babi	0,5569
7.	Bakso babi 100 %	0,5598
8.	Daging ayam	1,1965
9.	Daging babi	1,7821

Hasil pengukuran kadar protein pada sampel bakso menunjukkan bahwa kadar paling besar pada sampel 7 yaitu bakso babi 100%. Kemudian kadar paling kecil pada sampel 1 yaitu bakso ayam 100%. Konsentrasi protein bakso pada penelitian ini adalah 0,3847 – 0,5598 mg/ml. Hasil tersebut menyatakan bahwa kadar protein pada daging ayam lebih rendah dari pada kadar protein daging babi. Selain itu penambahan daging babi pada bakso ayam meningkatkan konsentrasi kadar protein pada bakso. Kadar protein daging ayam 1,1965 mg/ml dan protein

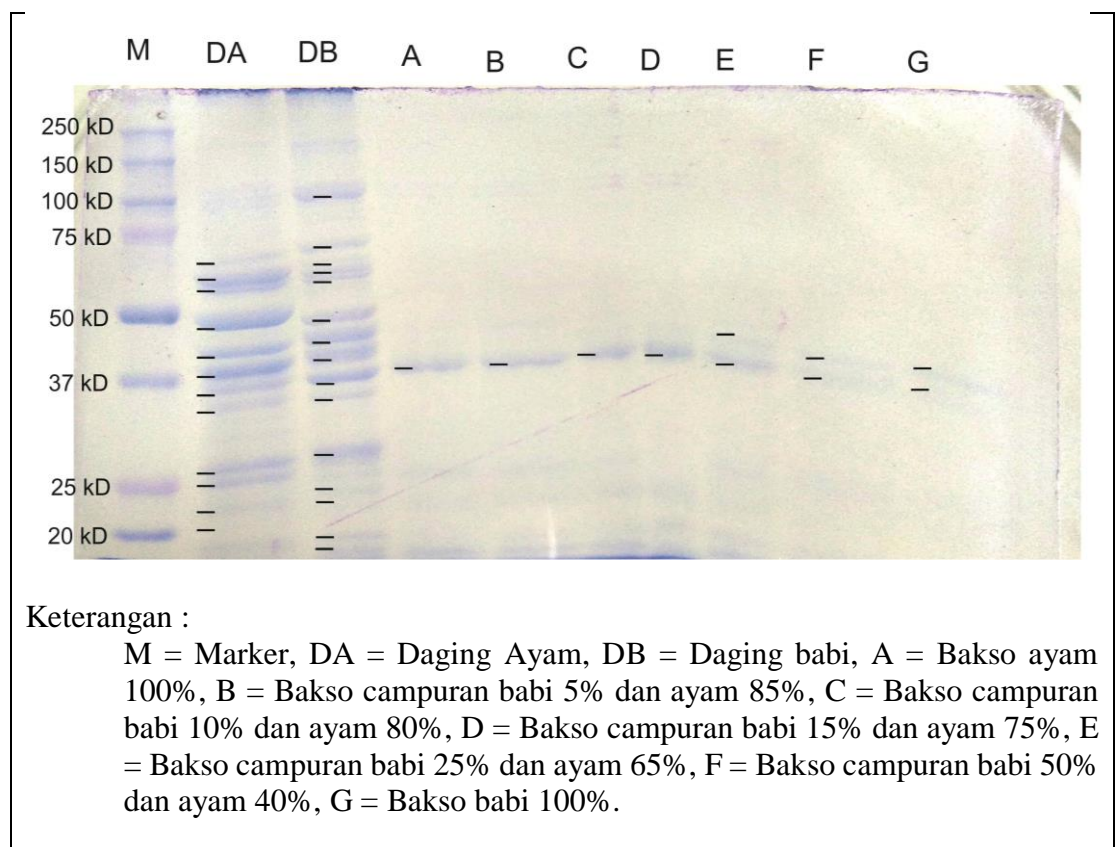
daging babi 1,7821 mg/ml. Konsentrasi pada sampel daging lebih tinggi daripada sampel bakso, dikarenakan sampel daging masih dalam bentuk alami dan belum mengalami proses pengolahan yang dapat menyebabkan denaturasi protein. Sesuai dengan kandungan kimia daging babi dan ayam, daging babi memiliki konsentrasi protein yang lebih tinggi dibandingkan protein daging ayam. Kandungan kimia daging babi meliputi kadar air sebesar 60-70%, lemak 6-10%, dan protein 20-28% (USDA, 2009; Veerman, 2013). Sedangkan secara umum komposisi daging ayam terdiri dari protein 18-20%, lemak 3-7%, air 71-75%, dan abu atau nonprotein 1-3,5% (Hermanianto dkk., 1997).

Pada hasil penelitian tersebut peningkatan kadar protein dengan penambahan persentase daging babi tidak signifikan. Ditunjukkan dari peningkatan yang sedikit. Beberapa faktor dapat menjadi penyebab, antara lain kemungkinan adanya degradasi oleh panas pada masing-masing sampel bakso selama pemasakan tidak sama. Berkaitan dengan temperatur selama pemasakan yang tidak konstan. Walaupun telah diminimalkan dengan penentuan waktu perebusan yang seragam. Kemungkinan yang kedua dapat disebabkan dari teknik sampling yang kurang sempurna. Perlakuan panas pada daging dapat menyebabkan denaturasi protein daging yang juga berpengaruh terhadap fraksi protein didalamnya (Susanto, 2010).

Karakteristik Protein dan Berat Molekul Sampel

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan pita protein pada masing-masing sampel. Pita protein yang terbentuk pada sampel daging ayam segar, daging babi segar, bakso memiliki gambaran yang beragam.

Perbedaan pola pita protein pada masing-masing sampel yang diteliti, baik pada daging babi segar, daging ayam segar, dan bakso referensi dapat dilihat dari jumlah pita protein yang muncul. Berdasarkan Gambar 1, jumlah protein yang muncul pada sampel daging ayam segar terdapat 12 pita protein dan daging babi segar berjumlah 15 pita protein. Sedangkan pada sampel bakso terdapat 2 pita protein yang muncul. Berkurangnya pita protein pada bakso kemungkinan disebabkan oleh degradasi sebagian besar protein. Hal ini menunjukkan bahwa selama dalam proses pembuatan bakso, sebagian protein miofibril telah hilang akibat dari penghancuran daging serta panas yang dihasilkan dari pengolahan (Susanto, 2010).



Gambar 1. Profil pita protein dan berat molekul sampel

Perkiraan pita protein yang terkandung sampel daging babi segar dan daging ayam segar dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Perkiraan pita protein daging babi dan daging ayam segar

No.	Protein	BM (kD)	Sampel segar	
			Daging babi	Daging ayam
1.	<i>α-aktinin</i>	103,61	+	-
2.	Unknown protein	75,07	+	+
3.	<i>Desmin</i>	50,26	+	+
4.	<i>Aktin</i>	43,23	+	+
5.	<i>Troponin T</i>	40,57	+	+
6.	<i>Tropomiosin 1</i>	36,55	+	+
7.	<i>LC1</i>	26,18	-	+
8.	<i>Troponin I</i>	24,10	+	+
9.	<i>Troponin C</i>	21,71	+	+

Keterangan :

- : tidak terdeteksi

+ : terdeteksi

Profil Pita Protein Daging Ayam Segar

Hasil elektroforesis menunjukkan pita protein yang muncul pada daging ayam segar sebanyak 12 pita dengan berat molekul terbesar adalah 75,07 kD dan pita protein terkecil dengan berat molekul 21,41 kD.

Pita protein spesifik daging ayam yang tidak terdapat pada daging babi adalah LC1 atau miosin rantai ringan dengan BM 26,18 kD. Hasil ini menunjukkan kesamaan dengan penelitian sebelumnya. Terdeteksi pita protein pada BM sekitar 26,28 kD. Hasil elektroforesis daging ayam kampung menunjukkan bahwa terdapat pita protein yang secara fungsional masih dalam keadaan alami (Riyanto, 2006).

Profil Pita Protein Daging Babi Segar

Hasil pengamatan pada sampel daging babi segar sebanyak 15 pita protein dengan berat molekul terbesar adalah 103,61 kD dan pita protein terkecil dengan berat molekul 17,63 kD.

Hasil pengamatan menunjukkan pita protein spesifik daging babi yang tidak terdapat pada daging ayam. Diperkirakan adalah α -aktinin pada BM 103,61 kD. Hasil ini memiliki kesamaan dengan penelitian sebelumnya. Terdeteksi pita protein α -aktinin dengan BM 102,05 kD pada sampel daging babi (Susanto, 2010).

Profil Pita Protein Bakso

Terdapat 2 pita protein yang terdeteksi pada sampel bakso. Protein terbesar adalah aktin pada BM 47,04 kD dan yang terkecil adalah LC1 pada BM 25,92 kD.

Perkiraan protein yang terkandung dalam sampel bakso berdasarkan berat molekul yang muncul dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Pita protein pada bakso referensi

No	Protein	BM (kD)	Bakso							Babi 100 %
			Ayam 100%	Ayam 85% Babi 5%	Ayam 80% Babi 10%	Ayam 75% Babi 15%	Ayam 65% Babi 25%	Ayam 40% Babi 50%		
1.	<i>Aktin</i>	47,04	-	-	-	-	+	+	+	
2.	<i>Troponin T</i>	40,78	+	+	+	+	+	+	+	

Keterangan :

- : tidak terdeteksi
- + : terdeteksi

Gambar 1 menunjukkan terdapat perbedaan pita protein pada sampel bakso dengan berat molekulnya. Pita protein yang diperkirakan spesifik pada sampel bakso babi adalah aktin dengan BM 47,04 kD. Pita protein tersebut hanya muncul pada bakso ayam 65% dengan babi 25%, bakso ayam 40% dengan babi 50%, dan bakso babi 100%. Dapat diketahui bahwa protein aktin tersebut muncul pada bakso dengan konsentrasi daging babi diatas 25%. Pita protein tersebut muncul seiring dengan semakin banyaknya daging babi yang ditambahkan pada bakso. Kemudian

terdapat pita protein yang muncul pada semua sampel bakso, yaitu troponin T dengan BM 40,78 kD. Hasil tersebut menunjukkan kesamaan pada penelitian sebelumnya bahwa protein yang terdeteksi pada bakso diantaranya aktin dengan BM 47,04 dan troponin T dengan BM 39,33. Perbedaan terlihat jelas pada tingkat ketebalan sampel bakso. Protein troponin T terdeteksi tipis seiring dengan peningkatan substitusi daging babi sebesar 25%, 50%, dan 100% (Susanto, 2010).

Sampel bakso hanya dapat mendeteksi 2 pita protein, sebagian besar tidak muncul. Menandakan adanya protein yang hilang atau telah terdegradasi. Beberapa protein yang semula terdeteksi pada sampel daging segar dan rebus tidak terdeteksi lagi pada sampel bakso daging. Protein-protein tersebut adalah desmin, tropomiosin 1, miosin rantai ringan (LC1), troponin I dan troponin C. Protein-protein tersebut terdegradasi pada saat penggilingan daging (Susanto, 2010).

Faktor utama yang menyebabkan degradasi atau rusaknya protein pada sampel bakso adalah proses pengolahan dan perebusan bakso. Penggilingan daging bertujuan memecah dinding sel serabut otot sehingga aktin dan miosin yang merupakan pembentuk tekstur bakso dapat diambil sebanyak mungkin. Perubahan struktur fisik daging yang menjadi lebih terbuka akibat *processing* menyebabkan protein miofibril khususnya protein pengatur akan mudah larut ke dalam rebusan. Hal ini juga merupakan penyebab jumlah fraksi protein miofibril yang terdeteksi pada sampel bakso lebih sedikit bila dibandingkan pada sampel daging segar dan daging rebus (Wibowo, 2001; Susanto, 2010).

4. Kesimpulan

1. Terdapat perbedaan profil protein hasil isolasi daging ayam segar, daging babi segar, dan bakso referensi. Perbedaan tersebut dilihat dari adanya perbedaan karakteristik pita protein yang terdeteksi. Daging ayam memiliki 12 pita protein dengan berat molekul terbesar adalah 75,07 kD dan terkecil dengan berat molekul 21,41 kD. Daging babi memiliki 15 pita protein dengan berat molekul terbesar adalah 103,61 kD dan terkecil dengan berat molekul 17,63 kD. Bakso memiliki 2 pita protein dengan berat molekul terbesar 47,04 kD dan terkecil dengan berat molekul 40,78 kD.

2. Didapatkan perbedaan berat molekul setiap sampel. Pada sampel daging ayam terdapat pita protein yang tidak muncul pada daging babi yaitu LC1 atau miosin rantai ringan dengan BM 24,90 kD. Sedangkan pada sampel daging babi terdapat pita protein yang tidak muncul pada daging ayam yaitu α -aktinin dengan BM 103,61 kD. Kemudian pada bakso protein troponin T terdeteksi pada semua sampel dengan BM 40,78 kD. Protein yang hanya ditemukan pada bakso dengan persentase daging babi lebih besar adalah aktin dengan BM 47,04 kD.

5. Saran

Perlu adanya pengujian lebih lanjut untuk memastikan pita protein spesifik pada daging babi. Metode yang dapat digunakan adalah metode immunoblotting dengan antigen dan antibodi protein, sehingga didapatkan hasil yang lebih baik lagi.

6. Rujukan

- Hermanianto, J., Nurwahid. M., dan Azhar. E. 1997. Pengetahuan Bahan Daging dan Unggas. Teknologi dan Industri Pangan.
- Riyanto, Iwan. 2006. *Analisis Kadar, Daya Cerna dan Karakteristik Protein Daging Ayam Kampung dan Hasil Olahannya*. Skripsi: Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor.
- SIMBI KEMENAG. 2014. *Data Produk Tersertifikasi Halal LPPOM MUI*. Direktorat Jenderal Bimbingan Masyarakat Islam. Kementerian Agama Republik Indonesia.
- Susanto, Edy. 2010. Penggunaan SDS-PAGE Untuk Karakterisasi Fraksi Protein Sebagai Alternatif Metode Identifikasi Pencampuran Daging Babi ke Dalam Bakso. Publikasi. Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Islam Lamongan.
- Veerman, dkk,. 2013. Pengaruh Metode Pengeringan Dan Konsentrasi Bumbu Serta Lama Perendaman Dalam Larutan Bumbu Terhadap Kualitas Fisik Dan Sensori Dendeng Babi. Publikasi. Fakultas Pertanian, Universitas Pattimura, Ambon.