

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Kadar Protein

Penelitian ini merupakan penelitian kualitatif dengan tujuan untuk melihat ada tidaknya perbedaan pita protein antara daging ayam, daging babi, dan bakso. Namun dalam proses penelitian penggunaan volume sampel daging dan bakso sebanyak 10 μ l tidak menunjukkan hasil migrasi sampel bakso yang berupa pita protein. Penyebabnya adalah pada 10 μ l sampel yang diuji memiliki konsentrasi protein yang lebih tinggi pada daging ayam dan daging babi segar dibandingkan sampel bakso. Jumlah pita protein yang relatif sedikit dapat disebabkan oleh kadar protein dalam bakso yang rendah (Gamman dan Sherington, 1992 ; Riyanto, 2006).

Hal ini menunjukkan perlunya penyesuaian kadar pada sampel daging dan bakso untuk memunculkan pita protein. Setelah semua sampel menunjukkan hasil pita protein selanjutnya diidentifikasi ada tidaknya pita, sehingga pengaruh kadar seperti tebal tipisnya pita tidak mempengaruhi hasil. Pengukuran kadar protein bakso dilakukan untuk mengetahui kadar protein dalam sampel bakso. Hubungannya dalam penelitian kualitatif ini selain untuk menentukan kadar juga untuk menentukan berapa penyesuaian volume sampel baik untuk daging maupun bakso yang akan dimasukkan ke dalam sumuran. Setelah dioptimasi pada sampel daging ayam dan babi digunakan volume 10 μ l sedangkan pada sampel bakso digunakan volume 20 μ l.

Penentuan kadar protein yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan metode *biuret* dengan *spectrophotometer UV-Vis* pada λ 540 nm. Panjang gelombang ini dipilih karena merupakan panjang gelombang yang paling optimal yang digunakan dalam pengukuran kadar protein. Hasil pengukuran kadar protein terdapat pada Tabel 4.

Tabel 4. 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. Hasil juga menunjukkan sampel daging

babi memiliki kadar protein yang lebih besar dibandingkan daging ayam. 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).

Menurut penelitian sebelumnya kadar protein bakso merupakan kadar protein yang rendah dibandingkan dengan produk olahan lain seperti sosis, abon, dendeng dan daging panggang. Hal ini dikarenakan kadar protein bakso mengalami perubahan yang signifikan. Perubahan yang terjadi adalah penurunan kadar protein. Penurunan kadar protein selama pembuatan bakso mencapai 10%. Penurunan ini dapat disebabkan oleh penambahan bahan

tambahan selama proses pembuatan bakso. Salah satu bahan tambahan yang digunakan saat proses pembuatan bakso adalah tepung tapioka (Riyanto, 2010). Selain itu sampel bakso juga telah mengalami pemanasan dan pencampuran dengan bahan-bahan lain seperti bumbu dan tepung, yang semakin membuat konsentrasi protein berkurang (Susanto, 2011).

B. Analisis Profil Protein

Analisis profil protein dengan metode elektroforesis yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan konsentrasi akrilamid sebesar 10%. Pada range berat molekul inilah target protein akan dicari. Konsentrasi *separating gel* atau gel pemisah pada 10-15% optimum digunakan pada berat molekul yang berkisar 10 kD-80 kD. Hasil pita protein didokumentasi dan diamati secara visual.

Pada gel elektroforesis, semakin tinggi konsentrasi gel yang digunakan mengakibatkan pori-pori yang terbentuk pada gel poliakrilamid akan semakin kecil. Dengan demikian protein yang dapat melewati gel tersebut merupakan protein yang memiliki berat molekul lebih kecil. Maka dapat diartikan bahwa protein daging yang terdapat di dalam sampel bakso secara umum mempunyai berat molekul lebih kecil dari pada daging dalam bentuk segar sebelum diolah (Susanto, 2010). Penelitian lain menyatakan, perbedaan pita protein dapat dipengaruhi oleh proses penghancuran daging pada proses pembuatan bakso yang menyebabkan sebagian protein daging mengalami kerusakan dan hilang serta kelarutan yang meningkat pada saat direbus (Sumitro, 1996; Dalilah, 2006).

C. Penentuan Berat Molekul Sampel

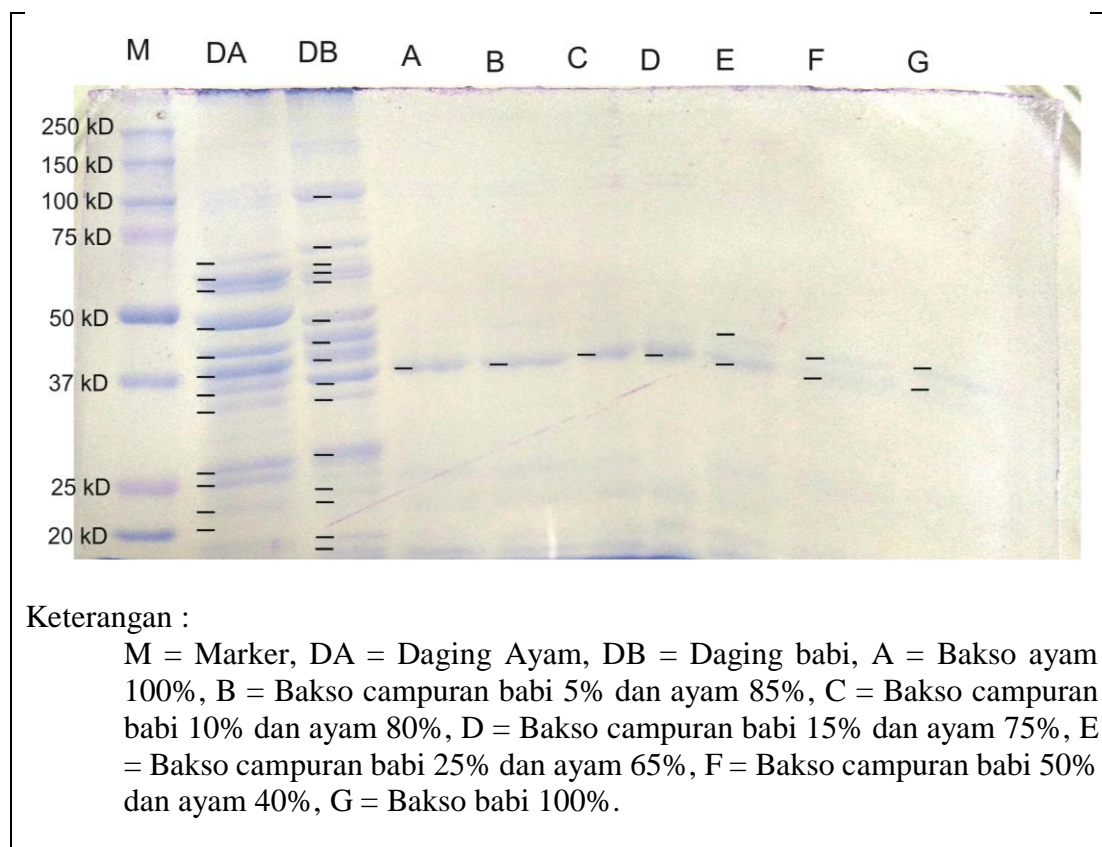
Persamaan berat molekul sampel dihitung dengan menggunakan persamaan garis linier yang diperoleh dari kurva standar. Kurva standar didapat dari hubungan antara mobilitas relatif (Rf) dengan logaritma berat molekul (Log BM) protein marker. Pita-pita protein yang terbentuk merupakan monomer-monomer yang dapat ditentukan berat molekulnya (Nur dan Adjuana, 1989 ; Riyanto, 2006).

Data marker protein digunakan untuk mendapatkan persamaan regresi linier. Selanjutnya dari persamaan regresi linier tersebut didapatkan persamaan $y = -1,1765 x + 5,3548$ kemudian dimasukkan nilai Rf sebagai x untuk mendapat log BM. Selanjutnya diubah ke antilog sehingga didapat berat molekul masing-masing pita protein yang terbentuk. Nilai berat molekul sampel diperoleh dengan memasukkan nilai Rf pada persamaan regresi setiap sampel. Perhitungan Rf dilakukan dengan mengukur jarak pergerakan sampel kemudian dibandingkan dengan jarak *tracking dye* (Riyanto, 2006). Setiap sampel yang dianalisis dapat ditentukan berat molekulnya. Berat molekul pada sampel ada yang menunjukkan persamaan ada pula perbedaan.

D. 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 8, 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 8. Profil pita protein dan berat molekul sampel

Perkiraan pita protein yang terkandung sampel daging babi segar dan daging ayam segar dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Perkiraan pita protein daging babi dan daging ayam segar

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

Keterangan :

- : tidak terdeteksi

+ : terdeteksi

Hasil tersebut menunjukkan pita protein yang terdeteksi memiliki berat molekul dibawah 120 kD. Hal ini menunjukkan bahwa protein yang diperoleh adalah jenis protein miofibril yang terdapat dalam filamen tipis (Susanto, 2010). Filamen tipis tersebut tersusun atas tiga macam protein yaitu aktin, tropomiosin, dan troponin (Raharjo, 1999 ; Susanto, 2010). Aktin mempunyai berat molekul sekitar 46 kD (Susanto, 2010). Troponin dengan berat molekul 39 kD - 40 kD dan tropomiosin dengan berat molekul 34 kD-35 kD (Kerth, 2002 ; Susanto, 2010). Miosin rantai ringan atau LC1 merupakan polipeptida dengan berat molekul 16 kD-21 kD (Raharjo, 1999 ; Susanto, 2010).

Salah satu faktor yang diperkirakan menjadi sebab utama perbedaan migrasi sampel adalah dari aspek sampel yang diidentifikasi. Sampel yang digunakan memiliki volume yang berbeda dan akan mempengaruhi migrasi

sampel. Kemurnian sampel merupakan faktor penting dalam proses elektroforesis SDS-PAGE. Sampel yang terlalu encer, asam, sangat kental atau yang mengandung senyawa pengganggu seperti kalium, guanidin hidroklorida, dan deterjen ionik dapat mempengaruhi analisis SDS-PAGE (Anthony, *et.all.*, 2002; Maknunah 2015). Adapun beberapa faktor lain yang mempengaruhi migrasi sampel, yaitu medium penyangga, sampel, buffer, dan medan listrik (Bintang, 2010; Mustollah, 2016).

E. 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).

F. 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).

G. 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 6.

Tabel 6. Pita protein pada bakso referensi

No	Protein	BM (kD)	Bakso							Babi 100 %
			Ayam 100%	Ayam 85% Babi	Ayam 80% Babi	Ayam 75% Babi	Ayam 65% Babi	Ayam 40% Babi	Ayam 50% Babi	
1.	Aktin	47,04	-	-	-	-	+	+	+	
2.	Troponin T	40,78	+	+	+	+	+	+	+	

Keterangan :

- : tidak terdeteksi

+ : terdeteksi

Gambar 8 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 46,37 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).

Perubahan karakteristik protein dapat diakibatkan oleh proses pengolahan. Seperti pada produk olahan bakso yang mengalami penghalusan, pencampuran bahan, dan pemanasan. Perubahan ini dapat menyebabkan kerusakan protein dalam produk. Kerusakan protein terdeteksi dengan elektroforesis SDS-PAGE. Kerusakan yang terjadi akibat proses pengolahan merupakan kerusakan fungsional protein. Semakin banyak kerusakan protein yang terjadi maka jumlah pita protein yang terbentuk semakin sedikit. Lamanya waktu sangat berpengaruh pada kualitas protein karena pemanasan yang lama menyebabkan kerusakan pada protein, sehingga beberapa protein terdegradasi dan tak terdeteksi (Dalilah, 2006).

Apabila dilihat dari kedua pita antara daging segar dan bakso masih terdapat pita yang sama berat molekulnya. Dengan artian ada protein pada daging segar masih terdapat pada bakso. Pita protein tersebut adalah protein aktin dan troponin T. Sehingga karakteristik protein tertentu ada yang masih dapat bertahan pada suhu tinggi. Tingkat pemanasan yang berpengaruh terhadap protein miofibril berbeda-beda. Protein α -aktinin bersifat labil dan tidak larut pada kisaran 50°C, miosin pada kisaran 55°C, aktin pada kisaran 70°C-80°C, tropomiosin dan troponin lebih dari 80°C (Susilo, 2003 ; Susanto, 2010).