



Analisis Profil Protein Daging Kerbau dengan Variasi Konsentrasi Garam serta Pengasapan Berbasis SDS-PAGE

Analysis of Buffalo Meat Protein Profile with Salt Concentration and Fumigation Based on SDS-PAGE

Marselaonety La'lang¹, Sri Darmawati^{2,3}, Aprilia Indra Kartika³

¹Program Studi DIV Analisis Kesehatan, ²Laboratorium Mikrobiologi,

³Laboratorium Biologi Molekuler,

Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang.

sellabongle@gmail.com, sridarmawati@gmail.com, apriiaindrak@gmail.com

Abstrak

Daging kerbau memiliki nilai gizi protein dan susunan asam amino lengkap. Kandungan air dan protein yang tinggi menyebabkan daging mudah busuk sehingga perlu dilakukan pengawetan penggaraman serta pengasapan. Protein daging kerbau dapat dipengaruhi oleh pengolahan bahan pangan, seperti kadar pemberian garam dan pengasapan. Tujuan penelitian untuk menganalisis profil protein daging kerbau dengan variasi konsentrasi garam (b/b) 10%, 20%, 30% dan 40% penggaraman 3 jam serta pengasapan 2 jam. Profil protein daging kerbau dapat dianalisis menggunakan metode SDS – PAGE 12%. Hasil penelitian dari profil protein daging (kontrol), penggaraman 3 jam konsentrasi garam 10%, 20%, 30% dan 40% berturut – turut 28 sub unit protein, 26 sub unit protein, 25 sub unit protein, 23 sub unit protein dan 21 sub unit protein, sedangkan daging yang diasapkan tanpa garam, daging penggaraman 3 jam serta pengasapan 2 jam konsentrasi garam 10%, 20%, 30% dan 40% berturut – turut 22 sub unit protein, 24 sub unit protein, 20 sub unit protein, 13 sub unit protein dan 12 sub unit protein. Semakin tinggi konsentrasi garam maka kandungan protein yang terdapat dalam daging kerbau akan rusak dan semakin sedikit hal ini menyebabkan denaturasi protein yang ditandai dengan berkurangnya sub unit protein. Namun protein daging kerbau lebih banyak rusak apabila diasapkan.

Kata kunci: Daging Kerbau, Penggaraman, Pengasapan, Profil Protein, SDS-PAGE.

Abstract

Buffalo meat has protein nutritional value and complete amino acid composition. The high water and protein content makes it easy for the meat to rot, so it is necessary to preserve salting and fumigation. Buffalo meat protein can be affected by the processing of food ingredients, such as levels of salt and fumigation. The purpose of the study was to analyze the protein profile of buffalo meat with a variation of salt concentration (b/b) 10%, 20%, 30% and 40% for 3 hours salting and 2 hours fumigation. Protein profiles of buffalo meat can be analyzed using the SDS-PAGE 12% method. The results of the study of meat protein profile (control), salting 3 hours salt concentration of 10%, 20%, 30% and 40% respectively 28 sub-units of protein, 26 sub-units of protein, 25 sub-units of protein, 23 sub-units of protein, and 21 protein sub-units, while smoked meat without salt, 3-hour salting meat and 2-hour salt concentration 10%, 20%, 30% and 40% respectively 22 sub-units of protein, 24 sub-units of protein, 20 sub-units of protein, 13 sub-units of protein and 12 sub-units of protein. The higher concentration of salt, the protein content contained in buffalo meat will be damaged and the less it causes protein denaturation which is characterized by reduced protein subunits. But buffalo meat protein is more damaged when smoked.

Keywords: Buffalo Meat, Salting, Fumigating, Protein Profiles, SDS-PAGE

PENDAHULUAN

Kerbau di Indonesia memiliki peranan utama sebagai tenaga kerja di persawahan, pengolah tanah dan hewan penarik gerobak. Kerbau mempunyai arti sosial budaya yang tinggi bagi masyarakat Tanah Toraja karena dijadikan ritual pesta dan kurban sembelihan pada upacara kematian (Rambu solo') yaitu adu kerbau (Ma'pasilaga Tedong). Menurut Jahidin (2011) fungsi dan peran kerbau yaitu sebagai pembajak sawah dan penyumbang protein dalam



daging.

Daging kerbau mengandung protein yang berkualitas tinggi mengandung vitamin B kompleks dan beberapa mineral. Kandungan air dan protein yang tinggi pada daging kerbau menyebabkan daging mudah mengalami kerusakan sehingga dapat menurunkan daya gunanya, untuk mencegah atau menghambat terjadinya kerusakan maka dilakukan suatu usaha pengawetan (Jahidin, 2011).

Proses pengawetan ada beberapa cara yaitu penggaraman, pendinginan, pelayuan, pengasapan, pengeringan, pengalengan, dan pembekuan (BPP Teknologi 2007). Kebiasaan masyarakat Indonesia dengan mengawetkan daging menggunakan asam dan Garam. Berbeda dengan masyarakat Toraja daging direndam garam lalu dijemur dibawah sinar matahari atau diasapkan. Protein daging kerbau dapat dipengaruhi oleh pengolahan bahan pangan, seperti kadar pemberian garam dan pengasapan terhadap konsentrasi dan profil protein, (Jahidin, 2011).

Protein merupakan salah satu jenis gizi makro yang penting bagi kehidupan manusia berfungsi sebagai zat pembangun dan pengatur. Protein daging terdiri dari protein sederhana dan protein terkonjugasi dengan radikal non protein. Berdasarkan asalnya protein dapat dibedakan dalam 3 kelompok yaitu protein sarkoplasma, protein miofibril dan protein jaringan ikat. Protein sarkoplasma adalah protein larut air (*water soluble* protein) karena umumnya dapat di ekstrak oleh air dan larutan garam encer. Protein miofibril terdiri atas aktin dan miosin, serta sejumlah kecil troponin dan aktinin. Protein ini sifat larut dalam larutan garam (*salt soluble* protein). Protein jaringan ikat merupakan fraksi protein yang tidak larut, terdiri atas protein kolagen, elastin dan retikulin (Muchtadi, 1992). Protein otot terdiri atas sekitar 70% protein struktur atau protein fibril sekitar 30% protein larut dalam air. Protein miofibril mengandung sekitar 32%-38% miosin yang banyak pada otot, 13% - 17% aktin, 7% tropomiosin dan 6% protin strom. (Dalilah, 2006).

Profil protein pada daging kerbau dapat diketahui dengan menggunakan elektroforesis, salah satunya dengan menggunakan metode SDS-PAGE yang bertujuan untuk memisahkan protein dalam sampel berdasarkan berat molekul. Gel poliakrilamid SDS-PAGE terdiri dari 2 *stacking gel* dan *resolving gel*. *Stacking gel* berfungsi sebagai tempat meletakkan sampel dimana terdapat beberapa well, sedangkan *resolving gel* merupakan tempat dimana protein akan bergerak menuju anoda. Keunggulan Poliakrilamid yaitu tidak bereaksi tidak membentuk matriks dengan sampel, tidak menghambat pergerakan sampel yang memungkinkan pemisahan protein secara sempurna (Saputra 2014). Tujuan penelitian untuk menganalisis profil protein daging kerbau dengan variasi konsentrasi garam b/b 10%, 20%, 30% dan 40% selama 3 jam serta pengasapan selama 2 jam.

METODE

Desain penelitian adalah eksperimen. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biomolekuler Universitas Muhammadiyah Semarang pada bulan mei –juni 2018 dengan metode SDS-PAGE. Alat dan bahan yang digunakan adalah Neraca Analitik *chamber* elektroforesis, sisiran elektroforesis, *glassplate*, spaser, mikropipet, mikrotube, *power supply*, vortex, sentrifus, *waterbath*, *yellowtip*, *bluetip*, *whitetip*, *erlenmeyer*, rotator, cawan mortil, spektrofotometer, *beaker glass*, *deep fryer*, spatula, kuvet, tabung konikel, dan termometer. Bahan yang dibutuhkan adalah daging kerbau, dH_2O , *polyacrylamid* 30%, 1,5 M tris (pH 6,8 dan 8,8), 10% SDS, 10% APS, TEMED, *bromophenol blue*, gliserin, *coomassie brilliant blue R-250*, metanol, *asam asetatglasial*, Garam meja dan kayu bakar. yang diperoleh dari pasar Bintoro Demak Jawa Tengah, kemudian dipotong ukuran tipis sebanyak 9 bagian dengan ketebalan 0,5 cm, lebar 4,5 cm, panjang 11,5 cm lalu dilakukan penggaraman serta pengasapan. Perlakuan pertama yaitu daging kerbau dengan penambahan variasi konsentrasi garam (b/b) 10% (5 gr garam dalam 50 gr daging), 20% (10 gr garam dalam 50 gr daging), 30% (15 gr



garam dalam 50 gr daging) dan 40% (20 gr garam dalam 50 gr daging) dengan lama perendaman 3 jam pada suhu ruangan, kontrol yang digunakan yaitu daging tanpa garam dan pengasapan. Perlakuan kedua yaitu daging kerbau dengan penambahan garam (b/b) variasi konsentrasi 10%, 20%, 30% dan 40% serta pengasapan selama 2 jam menggunakan kayu, ada 2 kontrol yang digunakan yaitu daging tanpa perlakuan serta daging yang diasapkan tanpa garam. Sampel yang telah diberi perlakuan kemudian masing-masing dihaluskan dalam cawan mortil ditambahkan PBS 1x pH 7,4 sebanyak 35-50 ml lalu dihomogenkan. Campuran ini dimasukkan ke dalam tabung konikel dan dihomogenkan menggunakan vortex kemudian disentrifius dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Daging yang telah disentrifius diambil Supernatannya yaitu protein. Konsentrasi protein diperoleh dengan cara diukur menggunakan spektrofotometer. Pembuatan blanko 1000 μ l dilakukan menggunakan 800 μ l akuades ditambahkan 200 μ l reagen biorat absorbansi dibaca pada panjang gelombang 595 nm. Analisis profil protein dilakukan dengan elektroforesis metode SDS – PAGE 12% profil protein dilakukan dengan elektroforesis metode SDS–PAGE 12% yaitu memisahkan protein menjadi sub unit- sub unit dalam bentuk pita protein di bawah medan listrik dengan tegangan 100 volt hingga *bromophenol blue* keluar dari bagian bawah gel. Gel kemudian diwarnai dengan CBB (*Comassie Brilliant Blue*) 0,1% R-250 selama 30-60 menit hingga pita-pita protein terwarnai, untuk menghilangkan warna pada gel yang tidak terikat oleh protein menggunakan larutan *destaining*. Pencucian menggunakan larutan *destaining* dilakukan 3-4 kali hingga gel tampak bersih (Darmawati, 2012). Berat molekul (BM) protein sampel ditentukan dengan menghitung *Retardation Factor* (RF) dan diplotkan pada grafik logaritmik dari Rf marker protein dan berat molekulnya yang telah diketahui.

HASIL

Tabel 1:

Hasil total protein daging kerbau dengan variasi konsentrasi garam (perendaman 3 jam)

No.	Konsentrasi Penggaraman % b/b	Total Protein (μ g/ μ l)
1	K (0)	23,65
2	10	23,41
3	20	21,68
4	30	19,62
5	40	19,50

Sumber : Data Primer, 2018

Tabel 1 menunjukkan bahwa daging kerbau yang tidak diberi perlakuan (kontrol) memiliki total protein yang paling besar yaitu 23, 65 μ g/ μ l dibandingkan dengan daging yang diberi perlakuan variasi konsentrasi garam. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar konsentrasi garam yang digunakan untuk merendam daging maka semakin rendah konsentrasi proteinnya.

Tabel 2:

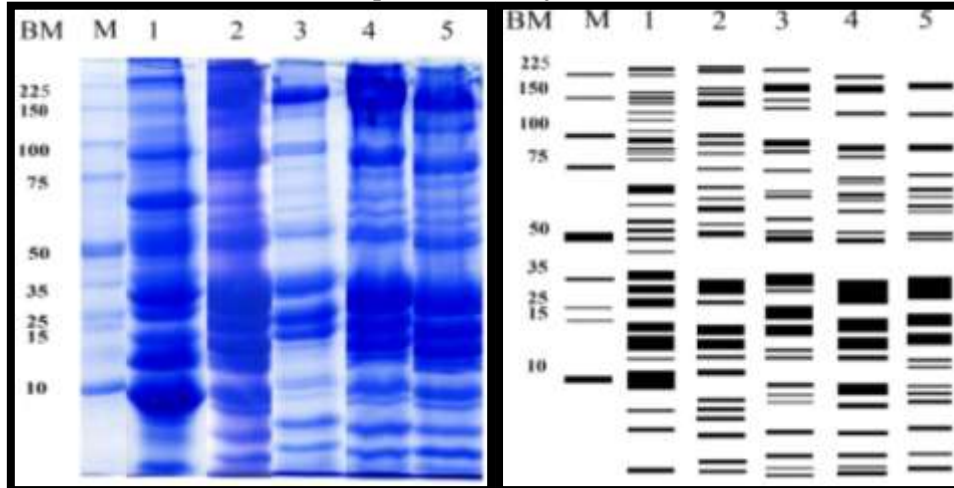
Hasil total protein daging kerbau dengan variasi konsentrasi garam (perendaman 3 jam serta pengasapan 2 jam)

No.	Konsentrasi Penggaraman % b/b	Total Protein (μ g/ μ l)
1	A	9,55
2	10	11,65
3	20	8,42
4	30	4,60
5	40	3,97

Sumber : Data Primer, 2018

Analisa profil protein daging kerbau berdasarkan variasi konsentrasi garam 10%, 20%, 30% dan 40% dengan perendaman garam selama 3 jam.

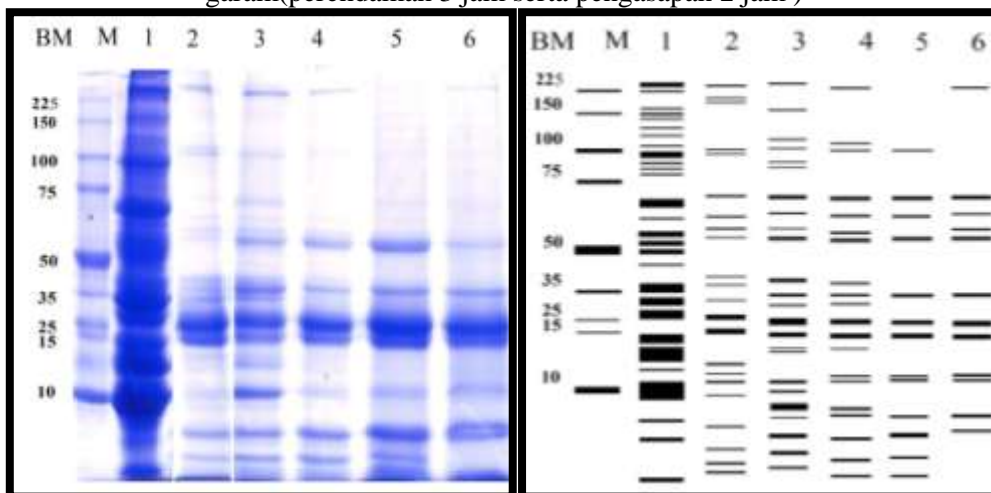
Gambar 1:
Hasil SDS-PAGE dan Visualisasi total protein daging kerbau dengan variasi konsentrasi garam (perendaman 3 jam)



Keterangan: BM Berat Molekul, M= Marker, 1 = Kontrol, 2= Kontrol Asap, 3= 10% b/b, 4= 20% b/b, 5 =30% b/b, 6=40% b/b

Penambahan garam yang semakin tinggi menyebabkan sub unit protein menipis bahkan menghilang. Proses penggaraman menyebabkan turunnya kelarutan protein. Hal ini karena terbentuknya ikatan silang dari disulfida sehingga menyebabkan kelarutan protein menurun (Tasman, 2015).

Gambar 2:
Hasil SDS-PAGE dan Visualisasi total protein daging kerbau dengan variasi konsentrasi garam (perendaman 3 jam serta pengasapan 2 jam)



Keterangan: BM Berat Molekul, M= Marker, 1 = Kontrol, 2= 10% b/b, 3= 20% b/b, 4= 30% b/b, 5 =40% b/b.

Perendaman garam selama 3 jam serta pengasapan selama 2 jam menyebabkan sub unit protein semakin banyak menipis dan menghilang. Hal ini disebabkan pengaruh garam dan juga panas. Menurut (Ghozali, et, al. 2004) Penurunkualitas protein terjadi karena denaturasi (kerusakan struktur) protein selama pengasapan karena suhu panas.



Tabel 3:
Profil protein daging kerbau dengan penggaraman 3 jam

Pita Gel 1	Kontrol	Konsentrasi Garam			
		10%	20%	30%	40%
Mayor	12	7	6	6	5
Minor	16	19	19	17	16
Jumlah	28	26	25	23	21

Tabel 4:
Profil protein daging kerbau dengan penggaraman 3 jam serta pengasapan 2 jam)

Pita Gel 2	Asap	Konsentrasi Garam			
		10%	20%	30%	40%
Mayor	2	6	4	4	3
Minor	20	18	16	9	9
Jumlah	22	24	20	13	12

Berat molekul protein diukur dengan menggunakan protein standar (marker) yang telah diketahui berat molekulnya dengan cara membandingkan nilai *Retardation factor* (Rf) dan diplotkan pada grafik logaritmik menggunakan rumus oleh Leammli (1970).

$$Rf = \frac{\text{Jarak pergerakan pita protein dari tempat awal}}{\text{Jarak pergerakan warna dari tempat awal}}$$

Tabel 5:
Berat molekul (kDa) daging kerbau dengan penggaraman 3 jam serta pengasapan 2 jam (konsentrasi 10%, 20%, 30% dan 40%)

Konsentrasi garam	Berat Molekul (kDa)
Kontrol	240, 225, 200, 175, 150, 135, 120, 100, 92, 90, 83, 75, 66, 61,55, 52,50, 46, 37, 32, 27, 19, 13, 12, 8, 7, 6 dan 2.
10%	240, 225, 175, 150, 135, 110, 100, 83, 74, 70, 65,61, 55, 40, 30, 25, 19, 14, 12, 11, 10,5, 9, 7, 4, 3 dan 1.
20%	240, 225, 150, 110, 100, 90, 75, 74, 66, 61, 55, 50, 40, 32, 30, 21, 15, 14, 12, 10,5, 10, 7, 6, 4 dan 2.
30%	240, 225, 140, 110, 100, 90, 83, 74, 70, 65, 58, 55, 40, 30, 27, 21, 19, 12, 10,5, 10, 7, 4 dan 3
40%	240, 140, 100, 90, 83, 74, 70, 65, 58, 55, 40, 30, 21, 14, 13,5, 12, 10,5, 10, 6, 4 dan 3

Konsentrasi garam	Berat Molekul (kDa)
Kontrol	240, 225, 200, 175, 150, 135, 120, 100, 92, 90, 83, 75, 66, 61,55, 52, 50, 46, 37, 32, 27, 19, 13, 12, 8, 7, 6 dan 2.
Asap	225, 175, 150, 110, 100, 70, 65,58, 55, 37, 33, 32, 25, 19, 13,5, 10,5, 10, 8, 6, 4,5, 2 dan 1.
10%	225, 150, 110, 100, 83,75, 70, 61, 55, 52, 40, 33, 32, 25, 19, 14, 13, 12, 10,5, 9, 6, 4, 3 dan 2..
20%	225, 110, 100, 70, 61, 55, 52, 37, 33, 32, 25, 19, 14, 12, 10,5, 10, 6, 4, 3 dan 1..
30%	100, 70, 61, 52, 33, 25, 19, 10,5, 10, 6, 4, 3 dan 1.
40%	225, 70, 52, 50, 46, 33, 25, 19, 10,5, 10, 6 dan 5.

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil protein pada daging kerbau menggunakan metode SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfat – Polyacrylamide Gel Electrophoresis*). Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan garam memberi pengaruh terhadap protein daging kerbau yang ditandai dengan berkurangnya sub unit protein, namun pemberian garam pada konsentrasi 10% hanya memberikan pengaruh sedikit terhadap sub unit protein dibandingkan dengan konsentrasi 20%, 30% dan 40%. Pengasapan sangat berpengaruh terhadap protein daging kerbau dimana terjadi penurunan sub



unit protein lebih banyak hilang setelah penambahan garam serta diasapkan selama 2 jam. Penggunaan kadar garam yang tepat akan mengikat protein agar tidak terjadi peningkatan kelarutan, namun tingginya kadar garam akan mendenaturasi protein dalam daging kerbau. Kadar garam yang digunakan sebesar 15% dapat menghalangi kerusakan protein dalam proses penggaraman sehingga semakin besar konsentrasi garam maka kadar protein akan semakin berkurang (Tasman, 2015). Hal ini berkaitan dengan kemampuan garam untuk mengikat air secara kuat dan mengubah sifathidrasi protein. Pada konsentrasi rendah garam menstabilkan struktur protein karena meningkatkan hidrasi protein dan terikat lemah pada protein. Denaturasi protein dapat terjadi dikarenakan pengaruh panas, pH, bahan kimia, mekanik. Denaturasi adalah suatu proses terpecahnya ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, ikatan garam dan terbukanya lipatan molekul (Warsito, 2015), selama denaturasi protein ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik dipecah sehingga terjadi peningkatan kerusakan molekulnya (Bintang, 2010).

Jenis protein pada daging kerbau yang hilang akibat penggaraman dan pengasapan dalam penelitian ini yaitu miosin dengan berat molekul 200 kDa, miosin merupakan protein yang banyak pada otot yaitu sekitar 38% (Dalilah, 2006). Prokolagen 120 kDa yaitu bagian dari kolagen yaitu material yang mempunyai kekuatan dan struktur yang berbentuk serat dan komponen utama tendon (urat daging), lapisan kulit dalam dermis (Muchtadi, 1992). Protease (CAF, CANP) 83 dan 90 kDa, Protease disebut juga peptidase atau proteinase, merupakan enzim golongan hidrolase yang akan memecah protein menjadi molekul yang lebih sederhana. Desmin 55 kDa bagian dari protein filamen, Desmin adalah salah satu penanda protein paling awal untuk jaringan otot pada embriogenesis. 46 kDa G-Aktin yang bergabung membentuk suatu filament. Salah satu contoh protein kontraktil adalah Aktin berhubungan erat dengan filamen tebal pada otot kerangka adalah filamen tipis, yang terdiri dari protein aktin. Protein kontraktil juga dikenal sebagai protein motil, di dalam sel organisme protein ini berperan untuk berkontraksi, mengubah bentuk, atau bergerak seperti aktin dan miosin. Kedua protein ini merupakan filamen yang berfungsi untuk bergerak di dalam sistem kontraktil dan otot kerangka. (Lehninger, 1988). Catepsin B 27 kDa anggota sistein protease enzim proteolitik yaitu enzim yang mengkatalisis pemecahan protein melalui hidrolisis ikatan peptida. Haemoglobin 13 kDa sebagai transport dan penyimpanan, mentransport oksigen dalam otot (Price, 1987). Protein miofibril terdiri atas aktin dan miosin, serta sejumlah kecil troponin dan aktinin. Protein ini sifat larut dalam larutan garam (*salt soluble* protein). Protein jaringan ikat merupakan fraksi protein yang tidak larut, terdiri atas protein kolagen, elastin dan retikulin (Muchtadi, 1992).

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa profil protein daging kontrol 28 sub unit. Penggaraman 3 jam konsentrasi garam (b/b) 10%, 20%, 30% dan 40% berturut-turut 26, 25, 23 dan 21 sub unit protein. Profil protein pengasapan tanpa penggaraman 22 sub unit protein. Penggaraman 3 jam serta pengasapan 2 jam konsentrasi garam (b/b) 10%, 20%, 30% dan 40% berturut-turut 24, 20, 13 dan 12 sub unit protein sehingga dapat disimpulkan bahwa penambahan kadar garam yang semakin tinggi pada daging kerbau mempengaruhi konsentrasi serta profil protein hal ini menyebabkan denaturasi protein yang ditandai dengan menipisnya serta hilangnya sub unit – sub unit protein, sedangkan penambahan garam dan dilanjutkan dengan pengasapan selama 2 jam menyebabkan sub unit protein semakin menghilang, dengan demikian pengawetan daging kerbau menggunakan garam lebih baik dibandingkan dengan pengasapan. Adapun pengawetan daging menggunakan garam serta pengasapan disarankan agar masyarakat mengawetkan daging kerbau dengan kadar garam 10% b/b atau 1 sendok teh garam dengan 50 gram daging kerbau dikarenakan konsentrasi ini tidak terlalu berpengaruh pada kandungan protein.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Bintang, M. 2010. *Biokimia Teknik Penelitian*. Erlangga. Jakarta.
- BPP Teknologi. 2007. *Dendeng Sayat*. BPP Teknologi. Jakarta.
- Dalilah, E. 2006. Evaluasi Nilai Gizi Dan Karakteristik Protein. *Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor*, 1–72.
- Darmawati, S, Haribi, R dan Anwar, S. 2012. Analisis Molekuler Profil Protein Pilih Untuk Mengungkap Hubungan Similaritas 26 Strain Salmonella Typhi Isolate Jawa. *Prosiding Seminar Unimus. Jurnal Universitas Muhammadiyah Semarang*.
- Jahidin Jaya Putra. 2011 *Aspek Mikrobiologi Dendeng Asap Dengan Daging Yang Berbeda Pada Pengasapan Tempurung Kelapa*. Fakultas Peternakan. Universitas Jambi. Jambi. *Jurnal Ilmiah Ilmu-ilmu Peternakan. Vol. XVII.No 1*.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227:680-85
- Muchtadi, T. R. & Sugiyono. 1992. Ilmu Pengetahuan Bahan Pangan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Price J.F. dan B.S.Schweigert, B.S. 1987. *The nutritional content and value of meat and meat product* Dalam: *The Science of Meat and Meat Product* 3rd Edition. Food and Nutritional Press. Westport.
- Saputra, F,R. 2014. *Gelatin Pada Kapsul Keras*. Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Tasman, Lestari. 2015. Kumpulan Teori untuk Kajian Pustaka Penelitian Kesehatan. Yogyakarta : Nuha medika.
- Warsito, H, Rindiani MP dan Fafa Nurdyansyah. 2015. *Ilmu Bahan Makanan Dasar*. Nuha Medik.