

**KARAKTERISTIK MIOFIBRIL KERING
IKAN KUNIRAN (*Upeneus Sp*) DIEKSTRAK
MENGUNAKAN ENZIM PAPAIN**

**KARYA ILMIAH TERTULIS
(SKRIPSI)**

**Diajukan Guna Memenuhi Salah Satu Syarat
Untuk Menyelesaikan Pendidikan Program Strata Satu
Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember**

ST 641.3
IND
K
24 FEB 2005

Oleh :

VIVI INDRAWATI

011710101030

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2005

Diterima Oleh:

Fakultas Teknologi Pertanian

Universitas Jember

Sebagai Karya Ilmiah Tertulis

Dipertahankan pada:

Hari : Sabtu

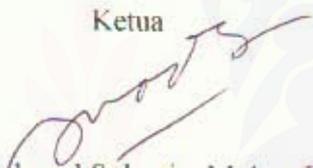
Tanggal : 12 Pebruari 2005

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian

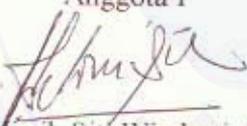
Universitas Jember

Tim penguji

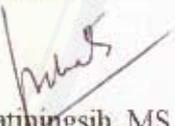
Ketua


Dr. Ir. Achmad Subagio, M.Agr, Phd.
NIP. 131 975 306

Anggota I

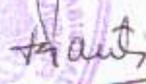

Ir. Wiwik Siti Windrati, MP.
NIP. 130 787 732

Anggota II


Ir. Sukatipingsih, MS.
NIP. 130 890 066

Mengesahkan

Dekan Fakultas Teknologi Pertanian


Ir. Hj. Siti Hartanti, MS.
NIP. 130 350 763

DOSEN PEMBIMBING:

Dr. Ir. Achmad Subagio, M.Agr. Phd. (DPU)

Ir. Wiwik Siti Windrati, MP. (DPA I)

Ir. Sukatiningsih, MS. (DPA II)

motto

Seorang pemenang mencerna hasil kesuksesan orang lain, tetapi mereka sendiri menjadi model bagi kesuksesan mereka

Seorang pemenang tahu bahwa mereka bukanlah makhluk yang sempurna, mereka bercita-cita tinggi, bersiap-siap untuk jatuh, memperbaiki diri, dan akhirnya meraih kesuksesan.

Jadikanlah sabar dan sholat sebagai penolongmu

(Al- Baqarah: 45)

PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, segala puji bagi Allah SWT Dzat yang Maha Sempurna atas terselesainya Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi) ini yang kupersembahkan setulusnya untuk:

- ♣ *Mama – papaku, atas segala doa dan keikhlasannya dalam merawatku, membimbingku, dan meringankan setiap langkahku (maafkan semua kesalahanku, tiada yang kucintai melebihi kalian....)*
- ♣ *Kakak-kakakku (mbak Kris, mbak Wiwik, mas Wawan, mas Heni, mbak Lien), maaf aku banyak ngerepotin, manja, dan sering bikin bingung kalian... I love you all.*
- ♣ *Keponakan – keponakan kecilku: Icha, Devi, Tafa, Atta. Cepet gede ya, jadi anak yang shaleh dan pintar. Moga-moga kalian selalu dalam lindungan Allah.*
- ♣ *Dosen pembimbingku: bapak Dr. Ir. Achmad Subagio, M. Agr, Phd. Atas kesabaran dan kebaikannya dalam membimbingku. Terimakasih banyak Pak, moga-moga dibalas dengan limpahan berkah dan kasih sayang oleh-Nya. Maaf jika saya kurang maksimal belajarnya; ibu Wiwik Siti Windarti, M.P, terimakasih atas bimbingan dan kesabarannya, moga-moga ibu selalu dalam rahmat-Nya; ibu Sukatiningsih, M.S. Maaf bu kalau saya banyak kesalahan.*
- ♣ *Bagus Gusti PN. Thank's for everything....Your support....Your love....Your attention....I hope you always like that...*
- ♣ *My best friends –JC (Nita, Maria, Uci, Dina, Weni, Sita, Era, Sofi...) Inget kita pernah tertawa bersama. Terus berjuang yah!!!*
- ♣ *Andi WS. Thank's pernah nemenin aku. Doain aku cepet kerja ya mas.*
- ♣ *Semua temen-temenku di Lab Dalmut: Ade (jangan suka marahan de!) Uci (berjuanglah, kamu bisa!); Annisah rahmy (temen seperjuanganku yang mungil); mas Hery-Ibnul (thank's, kalian sukses jahilin aku); Dony, Sari, Bayu, Sinta, Fitri (cepat lulus rek!!.....)*
- ♣ *Dan Almamaterku yang kucintai.....*

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT atas segala kemudahan yang diberikan sehingga penulisan karya ilmiah tertulis yang berjudul "**Karakteristik Miofibril Kering Ikan Kuniran (*Upeneus Sp*) Diekstrak Menggunakan Enzim Papain**" dapat terselesaikan dengan baik

Penulisan karya ilmiah ini ditujukan untuk memenuhi persyaratan akademik dalam rangka menyelesaikan program kesarjanaan (strata satu) di Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada semua pihak yang telah membantu antara lain:

1. Ir. Hj. Siti Hartanti, MS., selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
2. Dr. Ir. Achmad Subagio, M. Agr, Phd., selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU).
3. Ir. Wiwik Siti Windrati, MP., selaku Dosen Pembimbing Anggota I.
4. Ir. Sukatiningsih, MS., selaku Dosen Pembimbing Anggota II.
5. Ir. Unus, MS., selaku dosen wali.
6. Para teknisi laboratorium Pengendalian Mutu (Mbak Ketut dan Mbak sari... terimakasih banyak atas bantuannya).
7. Karyawan-karyawati bagian Akademik (mbak Sri, mas Adri, mbak Ani, mbak Tutik)
8. Anggota tim penelitian ikan Kuniran (Ade-Uci).
9. Semua teman-teman angkatan 2001.

Penulis meyakini bahwa tidak ada hal yang sempurna. Oleh karena itu penulis mohon maaf jika ada hal yang kurang berkenan di hati pembaca. Penulis juga menerima segala kritik dan saran yang dapat membantu kesempurnaan tulisan ini.

Jember, Pebruari 2005

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
DOSEN PEMBIMBING.....	iii
MOTTO.....	iv
PERSEMBAHAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
ABSTRAKSI.....	xii
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Permasalahan.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Ikan Kuniran.....	4
2.2 Jaringan Daging Ikan.....	5
2.3 Komponen Protein Ikan.....	5
2.3.1 Protein Miofibril.....	6
2.3.2 Protein Sarkoplasma.....	7
2.3.3 Protein Stroma.....	8
2.4 Hidrolisis Protein Secara Enzimatis.....	8
2.4.1 Hidrolisis Protein Ikan.....	9
2.4.2 Enzim Papain.....	10
2.5 Denaturasi Protein.....	11

2.6	Sifat fungsional Protein.....	12
2.6.1	Kelarutan Protein.....	13
2.6.2	Water Holding Capacity.....	14
2.6.3	Daya Emulsi.....	15
2.7	Elektroforesis.....	16
2.8	Gelasi.....	18
III. METODOLOGI PENELITIAN.....		20
3.1	Bahan dan Alat.....	20
3.1.1	Bahan Penelitian.....	20
3.1.2	Alat Penelitian.....	20
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian.....	20
3.3	Metode Penelitian.....	20
3.4	Parameter Pengamatan.....	23
3.5	Analisa data.....	23
3.6	Prosedur Analisa.....	23
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN		
4.1	Rendemen Kering.....	29
4.2	Kadar Air.....	31
4.3	Kadar Abu.....	32
4.4	Kadar Lemak.....	33
4.5	Water Holding Capacity.....	34
4.6	Kadar Protein Terlarut.....	35
4.7	Stabilitas Pengemulsi.....	36
4.8	Kelarutan Protein terhadap pH.....	37
4.9	Kelarutan Protein terhadap garam.....	39
4.10	Daya Gelasi.....	40
4.11	Berat Molekul Protein dengan Elektroforesis.....	41
V. KEIMPULAN DAN SARAN		
5.1	Kesimpulan.....	43
5.2	Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA		
LAMPIRAN		

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Sifat Fungsional Protein dalam Berbagai Sistem atau Produk Makanan.....	13
Tabel 2.	Hasil Perhitungan Berat Molekul Fraksi Protein Miofibril.....	42



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Ikan Kuniran.....	4
Gambar 2.	Model Tata Letak Protein dalam Miofibril Daging.....	7
Gambar 3.	Hidrolisis Ikatan Peptida oleh Enzim Protease.....	8
Gambar 4.	Diagram Alir Preparasi Miofibril Kering.....	22
Gambar 5.	Histogram Rendemen Miofibril Kering.....	29
Gambar 6.	Sampel miofibril Kering.....	30
Gambar 7.	Histogram Kadar Air.....	31
Gambar 8.	Histogram Kadar Abu.....	32
Gambar 9.	Histogram Kadar Lemak.....	33
Gambar 10.	Histogram Water Holding Capacity.....	34
Gambar 11.	Histogram Kadar Protein Terlarut.....	35
Gambar 12.	Grafik Nilai Aktivitas Pengemulsi (EAI).....	37
Gambar 13.	Grafik Kelarutan Protein terhadap pH.....	38
Gambar 14.	Grafik Kelarutan Protein terhadap Garam.....	39
Gambar 15.	Histogram Nilai Tekstur Gel Miofibril.....	40
Gambar 16.	Bentuk Gel Protein Miofibril.....	41
Gambar 17.	SDS-PAGE Fraksi Protein Miofibril.....	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Pengukuran Pengaruh Lama Inkubasi terhadap Kadar Air, Kadar Abu, Kadar Lemak, dan WHC pada miofibril Kering Ikan Kuniran.....	47
Lampiran 2. Hasil Pengukuran Pengaruh Lama Inkubasi terhadap Kadar Protein Terlarut dan Stabilitas Pengemulsi.....	48
Lampiran 3. Hasil pengukuran Pengaruh Lama Inkubasi terhadap Kelarutan Protein pada Variasi pH dan Garam, serta Tekstur Gel Miofibril.....	49
Lampiran 4. Kurva Standar Elektroforesis dan Hasil Pengukuran Intensitas Warna dengan Colour Reader.....	50
Lampiran 5. Kurva Standar Metode Lowry.....	51

VIVI INDRAWATI (011710101030), **Karakteristik Miofibril Kering Ikan Kuniran (*Upeneus Sp*) Diekstrak menggunakan Enzim Papain**, dibimbing oleh Dr. Ir. Achmad Subagio, M. Agr. Phd. (DPU) dan Ir. Wiwik Siti Windrati, MP. (DPA).

ABSTRAKSI

Ikan Kuniran (*Upeneus Sp*) merupakan salah satu jenis ikan inferior (bermutu rendah) yang pemanfaatannya kurang optimal. Protein ikan kuniran diklasifikasikan menjadi protein miofibril, sarkoplasma, dan stroma. Miofibril merupakan protein dengan prosentase terbesar yaitu sekitar 70-80%. Miofibril dapat dipisahkan dari komponen lainnya dengan jalan hidrolisis enzimatis (misalnya dengan enzim papain). Produk hasil hidrolisis ini nantinya dapat dimanfaatkan bagi penganekaragaman produk pangan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama inkubasi terhadap karakterisasi miofibril kering, serta mengetahui lama inkubasi yang paling tepat sehingga dihasilkan miofibril kering dengan karakteristik yang paling baik. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi pihak yang membutuhkan serta dapat memperbaiki nilai ekonomi bagi ikan inferior yang selama ini pemanfaatannya kurang optimal.

Miofibril kering pada tiap variasi lama inkubasi dikarakterisasi sifat kimianya yang meliputi jumlah rendemen kering, kadar air, kadar abu, kadar lemak, water holding capacity (WHC), kadar protein terlarut, stabilitas emulsi, kelarutan terhadap pH, kelarutan terhadap garam, daya gelasi, dan berat molekul protein.

Pengolahan data dilakukan secara diskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa makin lama inkubasi jumlah rendemen kering makin turun, tertinggi pada lama inkubasi 30' sebesar 2,93%. Kadar air, kadar abu, kadar lemak, kadar protein terlarut, WHC, stabilitas emulsi, dan tekstur gel miofibril tertinggi tampak pada lama inkubasi 45 menit berturut – turut sebesar 1,79%; 2,625%; 23,57%; 41,46%; 370,905%; 82,2069 jam; dan 56 g/5 mm. Kelarutan terhadap variasi pH dan garam tertinggi pada lama inkubasi 30 menit. Berat Molekul untuk MHC (Miosin Heavy Chain) = 211477,91 D, dan untuk Tropomiosin = 31373,29 D.

Lama inkubasi 45 menit memiliki nilai tertinggi untuk kadar air, kadar abu, kadar protein terlarut, WHC, stabilitas emulsi (ESI), serta tekstur gel. Hal ini memungkinkan sampel tersebut dapat memberikan hasil lebih baik pada beberapa produk pangan.

Kata kunci: ikan kuniran, hidrolisis, karakteristik, enzim papain

I. PENDAHULUAN



1.1 Latar Belakang

Sebagai salah satu bahan pangan sumber protein hewani, ikan mempunyai senyawa-senyawa yang potensial bagi tubuh manusia. Unsur – unsur tersebut terdiri dari protein, lemak, sedikit karbohidrat, vitamin, dan garam-garam mineral. Protein merupakan unsur terbesar setelah air, Oleh karenanya ikan merupakan sumber protein hewani yang potensial.

Komposisi daging ikan sangat bervariasi antara ikan satu dengan lainnya baik jumlah maupun komponen penyusunnya. Pada umumnya ikan dan hasil perikanan lainnya mengandung protein dan jumlahnya relatif tidak banyak bervariasi tetapi kandungan lemaknya dapat bervariasi besar sekali. Adanya variasi komposisi dalam daging ikan disebabkan oleh faktor yang dapat berasal dari ikannya sendiri (faktor intrinsik) dan dapat juga berasal dari faktor luar (faktor ekstrinsik) Yang tergolong faktor intrinsik adalah spesies, jenis kelamin, umur ikan, dan sifat warisan. Sedangkan yang termasuk faktor ekstrinsik adalah daerah kehidupan ikan (habitat), musim, dan jenis makanan yang tersedia (Hadiwiyoto,1993).

Ikan Kuniran (*Upeneus sp*) merupakan salah satu jenis ikan inferior (bermutu rendah) yang pemanfaatannya kurang maksimal. Selain itu kurangnya pengetahuan, informasi, kreativitas, dan modal dalam bidang penanganan pasca panen menyebabkan sumber-sumber perikanan yang ada belum dapat dimanfaatkan secara optimal.

Protein ikan diklasifikasikan menjadi protein miofibril, protein sarkoplasma, dan protein stroma. Protein miofibril mempunyai prosentase terbesar yaitu sekitar 70-80%. Protein tersebut sangat mudah mengalami kerusakan (denaturasi) akibat proses pengolahan (Soeparno, 1992). Protein miofibril terdiri dari myosin, aktin, tropomyosin, dan aktomiosyn yang dapat berperan dalam pembentukan gel dan proses koagulasi (Novak *et all*, 1977).

Salah satu cara untuk memisahkan miofibril dari komponen ikan lainnya adalah dengan hidrolisis enzimatis. Cara enzimatis dianggap lebih

menguntungkan karena prosesnya lebih cepat dan tingkat kehilangan asam amino lebih kecil. Dalam penelitian ini digunakan enzim papain karena lebih mudah diperoleh dan harganya lebih murah dibanding enzim protease lainnya. Enzim ini akan menurunkan integritas daging/otot melalui pemutusan ikatan peptida sehingga dapat mempermudah pelepasan daging dari tulang/durinya. Dengan adanya pemutusan ikatan peptida dari rantai protein/polipeptida, maka miofibril lebih mudah terekstrak dari protein daging ikan.

Lama proses inkubasi selama hidrolisis enzimatis merupakan faktor yang paling berpengaruh terhadap mutu dan karakteristik miofibril yang dihasilkan. Waktu inkubasi yang berbeda akan menunjukkan karakteristik yang berbeda. Untuk itu diperlukan penelitian mengenai pengaruh lama inkubasi terhadap karakteristik protein miofibril kering sehingga dapat diketahui waktu inkubasi yang tepat untuk memperbaiki pengaplikasiannya dalam produk-produk pangan (misalnya dalam pembuatan meat ball, sosis, pembangkit aroma dan sebagainya).

1.2 Permasalahan

Hidrolisis enzimatis dapat mempermudah ekstraksi protein miofibril dari daging ikan melalui pemutusan ikatan peptida. Lama inkubasi yang berbeda selama hidrolisis enzimatis akan menghasilkan protein miofibril dengan karakteristik yang berbeda. Permasalahannya adalah belum diketahui bagaimana pengaruh lama inkubasi terhadap karakteristik miofibril kering yang dihasilkan pada ikan Kuniran (*Upeneus Sp*)

1.3 Tujuan Penelitian

- a. Mengetahui pengaruh lama inkubasi terhadap karakteristik miofibril kering ikan Kuniran (*Upeneus Sp*).
- b. Mengetahui waktu inkubasi yang tepat sehingga dihasilkan miofibril kering dengan karakteristik yang paling baik.

1.4 Manfaat Penelitian

- a. Memberikan informasi kepada pihak yang membutuhkan (khususnya industri pengolahan makanan) tentang waktu inkubasi yang tepat untuk menghasilkan karakteristik miofibril kering yang baik
- b. Memperbaiki nilai ekonomi bagi ikan inferior yang selama ini pemanfaatannya kurang optimal.
- c. Hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu penelitian selanjutnya.



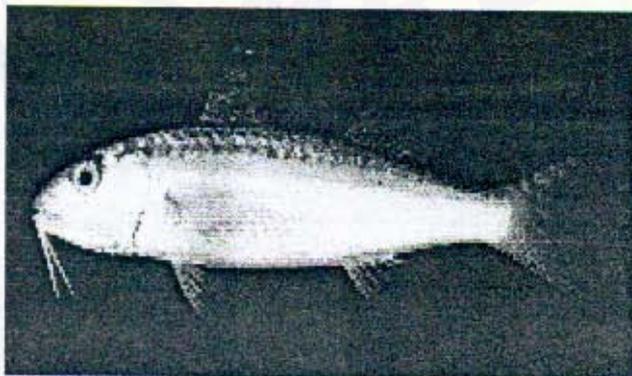
II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Kuniran

Ikan Kuniran (*Upeneus sp*) merupakan salah satu jenis ikan runcah (*Trashfish*) dengan kandungan lemak rendah (Murdjito, 2001). Ikan Kuniran mengandung protein sebesar 15,43%, lemak 0,46%, abu 0,77% dan air 84,29%. Klasifikasi ikan Kuniran dalam sistem tata nama (Taksonomi) hewan adalah sebagai berikut:

- Kelas : *Actinopterygii (Ray-finned fishes)*
Ordo : *Perciformes*
Family : *Mullidae (Goatfish)*
Genus : *Mulloidichthys*
Spesies : *Upeneus* (Anonim, 2003).

Beberapa spesies ikan Kuniran yang dapat diidentifikasi dengan cukup jelas, diantaranya adalah *Upeneus moluccensis* dan *Upeneus sundaicus*. Kedua spesies ini merupakan spesies ikan Kuniran yang paling banyak terdapat di perairan Indonesia dan biasanya hidup di dasar perairan (demersal). Ciri-ciri fisik ikan Kuniran sebagai berikut: panjang rata-rata 20-22 cm, memiliki ekor dan sebuah garis berwarna kuning horizontal sepanjang tubuhnya, serta memiliki sungut dibagian dagu yang digunakan untuk mencari makanan di dalam pasir. Secara lebih jelas bentuk ikan Kuniran akan ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1. Ikan Kuniran (*Upeneus sp*)

2.2 Jaringan Daging Ikan

Secara umum jaringan daging ikan dapat dikelompokkan menjadi tiga bagian, yaitu striated muscle, smooth muscle, dan heart muscle. Striated muscle (otot lurik) umum terdapat dalam daging mamalia/ikan. Smooth muscle/lionin, umumnya terdapat pada jantung yang berfungsi khusus (Suzuki, 1981).

Dier dan Dingle (1961) mengemukakan, daging ikan dibedakan menjadi daging merah (gelap) dan daging putih. Perbedaan tersebut terletak pada kandungan mioglobin yang tidak sama dari kedua dagingnya. Menurut Stanbys dan Oloott (1983), daging putih memiliki kadar protein lebih tinggi dan kadar lemak yang lebih rendah dibandingkan dengan daging merah. Selanjutnya menurut Suzuki (1981), daging merah terdapat disepanjang tubuh bagian samping dibawah kulit, sedangkan daging putih terdapat hampir diseluruh bagian tubuh.

Daging pada bagian punggung dan perut tersusun oleh segmen-segmen yang disebut miomer/miotoma. Miotoma merupakan jaringan pengikat dan kumpulan miotoma disebut miosepta. Penyusun miotoma adalah suatu bendel benang-benang daging yaitu endomiosin yang merupakan sel daging ikan. Satu sel daging ikan tersusun oleh benang-benang halus yang disebut miofibril. Antara miofibril satu dan lainnya terdapat cairan sel (sarkoplasma).

2.3 Komponen Protein Ikan

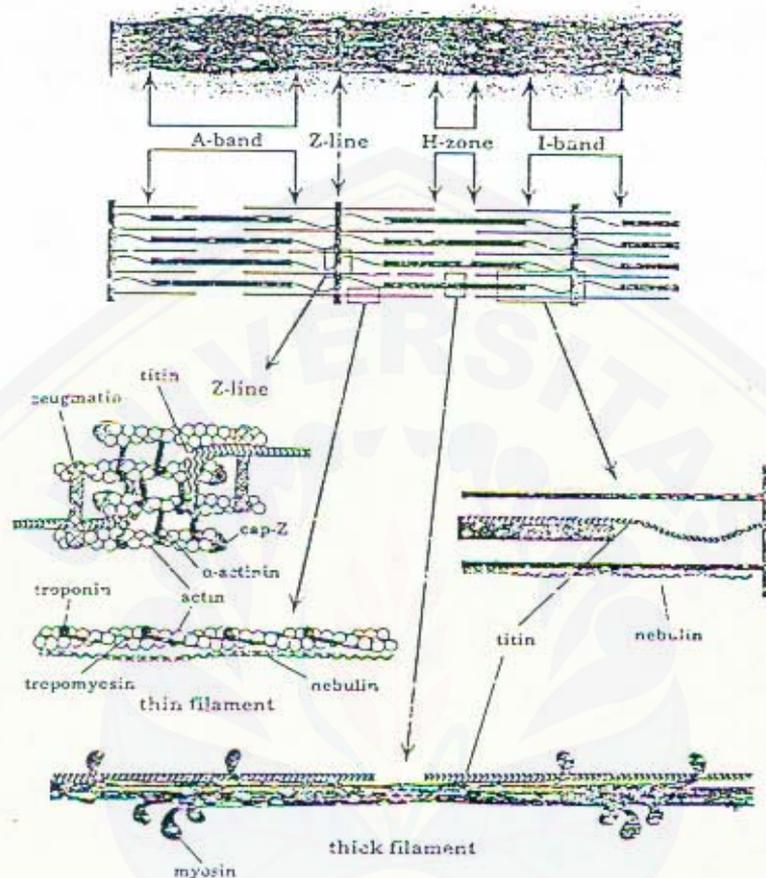
Protein daging ikan berkisar antara 15-24% dan yang lainnya adalah air yang berkisar antara 66-84%, lemak 0,1-22%, karbohidrat 1-3%, dan bahan anorganik 0,8-2% (Suzuki, 1981). Protein ikan terdiri dari protein miofibril, protein sarkoplasma, dan protein stroma. Komposisi ketiga jenis protein pada daging ikan terdiri dari 70-80% miofibril, 20-30% sarkoplasma, dan 2-3% stroma. Protein ikan sangat mudah rusak/terdenaturasi akibat proses pengolahan (Soeparno, 1992). Protein otot ikan terdiri dari dua kelompok utama yaitu protein terlarut (*soluble proteins*) yang terdiri atas sarkoplasma dan protein struktural (*struktural proteins*) yang terdiri atas miofibril (Crepax, 1952). Protein ikan bersifat tidak stabil. Jika diasamkan hingga pH 4,5-5 akan terjadi pengendapan/salting out. Sebaliknya jika dipanaskan akan menggumpal.

2.3.1 Protein miofibril

Protein miofibril merupakan protein struktural yang larut dalam larutan garam netral dengan kekuatan ionik yang tinggi (misalnya 0,5M) Protein ini sangat berperan dalam pembentukan gel dan proses koagulasi, terutama dari aktomiosin (Fennema, 1976). Miofibril tersusun dari benang-benang yang lebih halus lagi (miofilamen). Ada 2 macam miofilamen yaitu miofilamen tebal/ myosin berukuran 100°A dan miofilamen tipis (aktin) berukuran 10°A . Satu miofilamen tebal dikelilingi oleh enam mikrofilamen tipis. Kedua miofilamen ini bergabung ini bergabung membentuk aktomiosin yang menyebabkan daging menjadi kaku. Miofilamen-miofilamen tersebut merupakan benang-benang lurus yang pada tempat-tempat tertentu membentuk ikan yang tampak seperti huruf Z bergandengan pada mikroskop. Oleh karena itu disebut pita Z yang satu dengan lainnya bervariasi antara 2,5-3 μm . Satu jarak disebut sarkomer. Jadi empat miofibril tersusun atas banyak sarkomer.

Antara pita Z satu dengan lainnya akan tampak daerah gelap dan terang. Daerah ini terjadi karena tumpang tindih antara miofilamen tebal dan tipis. Dalam miofibril terkandung 55-60% myosin dan kurang lebih 20% aktin. Miosin adalah protein filamen tebal yang dominan dan proporsi asam amino basik dan asidiknya tinggi. Miosin memiliki pH isoelektrik kira-kira 5,4, serta mengandung asam amino prolin yang lebih rendah dan lebih fibrus daripada aktin. Struktur molekul miosin membentuk batang korek api dengan bagian tebal pada salah satu ujung. Bagian tebal ini disebut kepala myosin yang jumlahnya dua buah dan bagian berbentuk batang panjang disebut ekor myosin. Bagian antara kepala dengan ekor disebut leher myosin, sedangkan aktin adalah protein filamen tipis yang banyak mengandung asam amino prolin. Molekul-molekul tunggal secara individu atau monomer-monomer aktin yang berbentuk globular disebut G-aktin (Globular aktin) (Soeparno, 1992).

Untuk memperjelas struktur dan tataletak protein miofibril dalam daging ditunjukkan pada gambar 2 sebagai berikut:



Gambar 2. Model dari tata letak protein dalam miofibril daging (Xiong, 1997)

2.3.2 Protein sarkoplasma

Daging ikan umumnya mengandung 20-30% protein sarkoplasma yang larut dalam air dan juga larut dalam larutan buffer. Sarkoplasma merupakan protein terbesar kedua yang mengandung bermacam-macam protein larut air yang disebut miogen. Protein sarkoplasma/miogen terdiri dari albumin, mioalbumin, dan mioprotein. Dalam sarkoplasma terdapat inti sel, mitokondria, mikrosom, subs golgi, fibrobias, serta substrat seperti pasir. Dinding selnya terdiri beberapa lapisan. Lapisan satu merupakan endomiosin, yang kedua terletak dibawah endomiosin disebut dengan sarkolema dan lapisan ketiga terletak dibawah

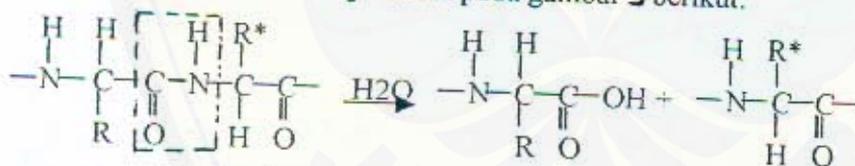
sarkolema merupakan banang-benang jala yang disebut sarkoplasma retikulum (Martin,1980).

2.3.3 Protein stroma

Sekitar 2-3% dalam daging ikan berupa protein stroma yang membentuk jaringan ikat/penghubung. Stroma terdiri dari kolagen dan elastin. Keduanya merupakan protein yang terdapat dibagian luar sel otot (Martin, 1980). Protein ini membentuk jaringan ikat dan tidak dapat diekstrak dengan air, larutan asam, larutan alkali, atau larutan garam pada konsentrasi 0,01-0,1M. Daging merah ikan pada umumnya mengandung lebih banyak stroma tetapi lebih sedikit mengandung sarkoplasma jika dibandingkan dengan daging putih ikan (Junianto,2003).

2.4 Hidrolisis Protein Secara Enzimatis

Proses hidrolisis adalah proses pemecahan substrat menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana dengan bantuan molekul air. Pada proses hidrolisis protein, protein diubah menjadi peptida, asam amino, ammonia, dan senyawa pembentuk cita rasa (Winarno,1995). Pemutusan ikatan peptida saat hidrolisis oleh enzim protease akan dijelaskan pada gambar 3 berikut:



Gambar 3. Hidrolisis Ikatan Peptida Oleh Enzim Protease

Hidrolisis ikatan peptida akan menyebabkan beberapa perubahan pada protein yaitu kandungan NH_3^+ dan COO^- akan bertambah sehingga meningkatkan kelarutan, berat molekul protein atau peptida berkurang, dan struktur globular dari protein akan rusak (Nielsen,1997). Apabila menggunakan enzim, hidrolisis baru sempurna setelah beberapa hari yaitu pada kondisi yang terpilih dan terkontrol dengan baik. Proses hidrolisis dapat dipersingkat untuk menghindari terbentuknya peptida yang menghasilkan rasa pahit (Yean,1998).

Ketika protein dihidrolisis, terjadi perubahan citarasa yang disebabkan oleh pembentukan peptida-peptida pendek dan asam-asam amino, serta lepasnya komponen-komponen citarasa nonprotein dari bahan baku. Setiap komponen bahan baku mempunyai karakter yang khas, yang mungkin ditimbulkan dari komponen nonprotein. Hidrolisis menyebabkan penurunan kemampuan interaksi komponen aroma tersebut. Protein pangan yang memiliki berat molekul 6000 dalton umumnya berperan pada rasa gurih (Winarno, 1995).

2.4.1 Hidrolisis Protein ikan

Hidrolisis protein ikan dapat dilakukan dengan asam, basa, maupun enzim. Menurut Pigott dan Tucker (1990), hidrolisis protein ikan akan menghasilkan produk cairan yang dibuat dari ikan dengan penambahan enzim proteolitik untuk mempercepat proses hidrolisis dalam kondisi terkontrol dengan hasil akhir berupa campuran komponen protein. Produk hasil hidrolisis ini berperan penting dalam fortifikasi makanan dan minuman untuk memperkaya protein dan nilai gizi makanan, sehubungan dengan tingginya kelarutan dan pencernaan.

Hidrolase merupakan sejumlah enzim dimana mencakup semua enzim yang melibatkan air dalam pembentukan produknya. Enzim proteolitik membantu pemutusan ikatan peptida pada rantai protein dan dapat meningkatkan kadar protein terlarut. Makin banyak rantai peptida yang dapat diputus dari polimer asam amino penyusun protein ikan maka semakin besar pula protein yang mudah larut. Proses penguraian oleh enzim ini semakin cepat bila suhunya meningkat hingga mencapai puncaknya pada suhu 37°C.

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi hasil hidrolisis protein ikan antara lain suhu, waktu hidrolisis, dan konsentrasi enzim yang ditambahkan. Sedangkan tingkat kerusakan asam amino dipengaruhi oleh kemurnian protein dari bahan awal, serta kondisi dan bahan penghidrolisis yang digunakan. Lama proses hidrolisis merupakan faktor yang paling berpengaruh terhadap hasil hidrolisa. Waktu hidrolisis yang berlebih menyebabkan jumlah peptida dan asam amino menurun dan jumlah padatan tidak fungsional meningkat. Bila hidrolisis dilakukan dengan sempurna maka akan diperoleh hasil hidrolisa dengan 18-20

macam asam amino. Dengan menggunakan teknik hidrolisis, daging akan menghasilkan senyawa asam amino L, nukleotida dan berbagai macam peptida (Maga, 1998).

Hidrolisa protein secara enzimatik lebih menguntungkan dibandingkan penggunaan asam atau basa. Beberapa keuntungannya antara lain adalah pengolahan menjadi lebih cepat, tingkat kehilangan asam amino lebih rendah dan biaya produksi relatif lebih murah. Disamping itu penggunaan hidrolisis secara enzimatik akan menghasilkan asam-asam amino bebas dan peptida dengan rantai pendek yang lebih bervariasi. Akan tetapi enzim yang digunakan harus sesuai dengan proses tersebut. Pemilihan enzim bergantung pada beberapa faktor seperti stabilitas, harga, dan lain-lain.

2.4.2 Enzim Papain

Enzim adalah suatu katalisator biologis yang dihasilkan oleh sel-sel hidup dan dapat membantu mempercepat bermacam-macam reaksi biokimia. Dengan adanya katalisator ini, reaksi dapat dipercepat kira-kira 10^{12} sampai 10^{20} kali jika dibandingkan dengan tanpa katalisator (Winarno dan Fardiaz, 1984).

Papain adalah enzim pemecah protein (endopeptidase) yang terdapat pada getah pepaya baik di daun, batang, maupun buah. Secara praktis getah dari buah pepaya lebih mudah diproses. Getah pepaya sedikitnya mengandung tiga jenis enzim yaitu papain (10%), khimopapain (45%), dan lizosim (20%). Berdasarkan sifat-sifat kimia dan lokasi aktifnya, papain termasuk enzim protease sulfidril karena enzim papain memiliki residu sulfidril (-SH) pada sisi aktifnya, aktif dalam ikatan peptida dan bagian dalam dari polimer asam amino. Diaktivasi oleh senyawa pereduksi dan diinaktivasi oleh senyawa oksidator. Aktivitas optimum terjadi pada pH 5-7 atau temperatur 50-60°C serta akan menurun drastis pada pH dibawah 3,0 atau diatas pH 11,0. Papain memiliki berat molekul 23.000 Kda, tersusun atas 121 asam amino dengan tiga ikatan disulfida. Papain memiliki dua gugus akhir yaitu sistein 25 dan histidin 158 (Suhartono, 1992).

Faktor - faktor yang mempengaruhi hidrolisis oleh enzim adalah konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, pH, dan suhu. Masing-masing akan dijelaskan sebagai berikut:

a. Konsentrasi substrat

Jika konsentrasi substrat tinggi dan kondisi lain konstan, maka percepatan reaksi akan meningkat hingga mencapai keadaan dimana enzim tersebut dikatakan sudah “jenuh” oleh substrat (Winarno, 1995).

b. Konsentrasi enzim

Kecepatan awal suatu reaksi yang dikatalisis enzim selalu sebanding dengan konsentrasi enzim. Namun penambahan enzim yang berlebihan justru akan menurunkan kecepatan reaksi (Winarno, 1995).

c. PH

Perubahan keaktifan enzim akibat perubahan pH disebabkan karena perubahan ionisasi enzim, substrat, atau kompleks enzim-substrat. Aktivitas bisa pulih kembali ketika enzim itu dikembalikan pada pH optimal (Harper, 1999).

d. Suhu

Kecepatan reaksi mula – mula meningkat dengan kenaikan suhu dan peningkatan energi kinetik pada molekul-molekul yang berinteraksi. Suhu yang terlalu tinggi dapat mempercepat kerusakan enzim, sebaliknya apabila suhu berada dalam batas tertentu (optimal) maka enzim akan makin aktif (Winarno, 1995).

2.5 Denaturasi Protein

Bila susunan ruang atau rantai polipeptida suatu molekul protein berubah, maka dikatakan protein ini terdenaturasi. Sebagian besar molekul globuler mudah mengalami denaturasi. Jika ikatan-ikatan yang membentuk konfigurasi tersebut rusak, molekul akan mengembang. Kadang – kadang perubahan ini memang dikehendaki dalam pengolahan makanan, tetapi sering pula merugikan sehingga perlu dicegah. Proses denaturasi terjadi jika struktur sekunder, tersier, dan kuarterner berubah namun struktur primernya tetap. Bentuk molekulnya berubah

karena terjadi pembukaan molekul tanpa mengganggu urutan asam aminonya. Jika ikatan-ikatan yang membentuk konfigurasi molekul tersebut rusak, maka molekul akan membuka (Winarno, 1984).

Ada dua macam denaturasi yaitu pengembangan rantai peptida dan pemecahan molekul protein menjadi unit yang lebih kecil tanpa disertai pengembangan molekul. Terjadinya kedua jenis denaturasi ini tergantung kepada keadaan molekul. Yang pertama terjadi pada rantai polipeptida, sedangkan yang kedua terjadi pada bagian molekul yang tergabung dalam ikatan sekunder. Ikatan-ikatan yang dipengaruhi oleh proses denaturasi ini adalah: (a) ikatan hydrogen; (b) ikatan hidrofobik misalnya pada leusin, valin, fenilalanin, triptofan yang saling berlekatan membentuk suatu micelle dan tidak larut dalam air; (c) ikatan ionic antara gugus bermuatan positif dan negatif; dan (d) ikatan intramolekuler seperti yang terdapat pada gugus disulfida dalam sistin (Winarno, 1984).

Protein yang terdenaturasi berkurang kelarutannya. Lapisan molekul protein bagian dalam yang bersifat hidrofobik berbalik keluar, sedangkan bagian dalam yang bersifat hidrofil terlipat kedalam. Pelipatan atau pembalikan terjadi khususnya bila larutan protein telah mendekati pH isolistrik dan akhirnya protein akan menggumpal/mengendap. Denaturasi protein dapat dilakukan dengan berbagai cara yaitu oleh panas, pH, bahan kimia, mekanik, dan sebagainya (Winarno, 1984).

2.6 Sifat fungsional protein

Protein mempunyai sifat fungsional yang merupakan sifat selain nutrisi, dimana sifat ini akan mempengaruhi fungsi komponen dalam bahan pangan. Sifat fungsional adalah sifat fisikokimia protein yang mempengaruhi tingkah lakunya dalam system makanan selama preparasi, proses, penyimpanan, dan konsumsi, serta berperan terhadap kualitas dan keadaan sensoris dari system makanan (Zayas, 1997).

Tiap jenis protein memiliki sifat fungsional yang berbeda. Hal ini disebabkan karena perbedaan pada struktur primer, sekunder, tersier, dan

quarterner dari protein (Marsili,1993). Beberapa sifat fungsional protein dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Sifat Fungsional Protein dalam berbagai sistem atau produk makanan.

Sifat fungsional	Mekanisme	Sistem makanan	Sumber protein
Kelarutan	Hidrofilik	Minuman	Protein whey
Viskositas	Pengikatan air, bentuk dan ukuran hidrodinamik	Sup, gravy, salad	Protein whey
Pengikatan air	Ikatan H, hidrasi ion	Daging, cake, roti	Protein otot/urat, protein telur
Gelasi	Penarikan air, immobilisasi, dan formasi jaringan	Daging, gel, cake, bakery, keju	Protein otot/urat, protein telur, protein susu
Kohesi/Adhesi	Hidrofobik, ikatan H, ikatan ionik	Daging, saos, pasta, bakery, makanan panggang	Protein otot/urat, protein telur, protein whey
Elastisitas	Hidrofobik, ikatan disulfida	Daging, bakery	Protein otot/urat
Emulsifikasi	Penyerapan pada formasi film interfase	Saus, sup, cake, bologna	Protein otot/urat, protein telur, protein susu
Buih	Penyerapan interfasial, formasi film	Whipped topping, es krim, cake	Protein telur, protein susu
Pengikatan lemak dan flavor	Hidrofobik	Daging buatan, bakery	Protein telur, protein susu

Sumber: Kinsella et al (1985)

2.6.1 Kelarutan Protein

Kelarutan protein menunjukkan jumlah protein dalam sample yang dapat larut dalam pelarut dan dipengaruhi oleh pH (Zayas, 1997). Kelarutan protein pada berbagai pH dipengaruhi oleh kandungan protein dengan asam amino yang bergugus R bermuatan positif.

Daya larut protein diukur dari nilai atau prosentase protein yang tertinggal dalam suspensi setelah disentrifugasi. Besarnya nilai daya larut tergantung dari metode preparasi slurry dan kondisi sentrifugasi. Metode yang biasa digunakan yaitu dengan cara diaduk menggunakan stirer mekanik, mengakibatkan kondisi

yang berbeda dengan cara sentrifugasi. Peningkatan kecepatan sentrifugasi akan menurunkan protein terlarut (Matthews, 1989).

Menurut Zayas (1997) ada 4 faktor yang mempengaruhi kelarutan protein yaitu pH, kekuatan ion, pemanasan, dan kondisi pemrosesan. Pada kondisi pemrosesan seperti pH dari ekstraksi, presipitasi, dan netralisasi untuk pengeringan akan juga mempengaruhi kelarutan protein.

Peningkatan sifat hidrofobik protein dapat meningkatkan ketidaklarutan protein. Banyaknya gugus hidrofobik yang tidak suka air akan meningkatkan interaksi hidrofobik antar sisi nonpolar protein sehingga kontak dengan molekul air menjadi berkurang. Adanya hidrolisa oleh enzim dapat meningkatkan rasio jumlah gugus hidrofilik sehingga kelarutannya meningkat. Tetapi lama proses hidrolisa sangat berpengaruh pada kelarutan protein. Makin lama waktu hidrolisa, jumlah gugus hidrofobik dari protein akan bertambah. Ini menyebabkan dominasi gugus hidrofilik menurun dan kelarutan protein akan berkurang (Zayas, 1997).

Ukuran dan berat molekul juga berpengaruh terhadap sifat kelarutan protein. Makin kecil ukuran dan BM protein menyebabkan peningkatan daya kelarutannya, ini disebabkan karena meningkatnya jumlah gugus amino dan karboksil yang dapat terionisasi dan meningkatkan hidrofilisitas (Clemente et al, 1999).

2.6.2 Water Holding Capacity (WHC)

Water Holding Capacity merupakan kemampuan protein untuk menyerap air dan menahannya dalam system pangan. Hal ini disebabkan karena protein bersifat hidrofilik dan mempunyai celah-celah polar seperti gugus karboksil dan aminonya yang dapat mengion. Adanya kemampuan mengion ini menyebabkan daya serap protein fungsional dipengaruhi oleh pH makanan. WHC juga didefinisikan sebagai kemampuan struktur makanan untuk mencegah terlepasnya air dari struktur tiga dimensi protein. Kemampuan protein untuk mengikat air disebabkan interaksi antara molekul air dengan protein melalui ikatan hydrogen. Struktur air ditahan oleh protein dengan ikatan hydrogen antara grup polipeptida dari protein. Kemampuan WHC protein berhubungan dengan gugus hidrofilik

polar seperti gugus imino, amino, karboksil, hidroksil, karbonil, dan sulfidril. Kapasitas protein untuk mengikat air dipengaruhi oleh tipe dan jumlah grup polar pada rantai polipeptidanya (Zayas, 1997).

Daya serap air protein fungsional sangat penting peranannya dalam makanan panggang karena dapat meningkatkan rendemen adonan dan memudahkan penanganannya. Jumlah air yang diikat oleh protein mempengaruhi tekstur "mouthfeel" dan volume makanan. Sifat ini penting dalam produk-produk custard, sosis, dan oat meal. Disamping itu sifat menahan air akan memperlama kesegaran makanan, misalnya pada roti dan biskuit (Koswara, 1995).

2.6.3 Daya Emulsi

Daya emulsi adalah kemampuan protein untuk membentuk emulsi dan mempertahankan stabilitas emulsi tersebut. Sifat ini dipengaruhi oleh kadar protein dan tingkat kelarutannya serta berhubungan erat dengan *Nitrogen Solubility Index* (NSI) (Koswara, 1995). Emulsi makanan diklasifikasikan sebagai emulsi makro dengan ukuran tetes 0,2-50 μm (Zayas, 1997). Stabilitas emulsi penting karena *emulsifier* tergantung pada kemampuannya memelihara sistem emulsi pada saat mengalami pemasakan atau pemanasan (Sugijanto dan Manulang, 2001).

Kemampuan protein untuk membentuk emulsi dapat dinyatakan sebagai aktivitas emulsi atau EAI (*Emulsifying Activity Index*). Aktivitas emulsi dikatakan sebagai area interfacial (antar permukaan) maksimal per gram protein yang dapat distabilkan (Zayas, 1997). Pengukuran EAI dilakukan dengan metode spektrofotometri yaitu dengan mengukur densitas optik dari larutan emulsi. Adanya minyak yang terdispersi dalam larutan emulsi akan mempengaruhi besarnya densitas optik larutan tersebut. Daya emulsi dinyatakan sebagai nilai EAI pada menit ke 0.

Makin besar kelarutan protein menyebabkan daya emulsinya juga makin besar. Hidrolisa protein pada sistem emulsi berperan dalam meningkatkan kelarutan dan daya emulsi. Protein akan menurunkan tegangan permukaan antara air dan minyak dikarenakan akumulasi bahan pengemulsi pada antar permukaan

fase minyak dan air yang diemulsifikasi. Protein sebagai bahan pengemulsi menyusun pada suatu sudut yang tepat pada permukaan minyak-air dan membentuk suatu lapisan film dengan susunan bagian yang bersifat hidrofob dari protein yang akan mengikat erat pada fase minyak, sebaliknya sisi hidrofilik akan mengarah pada fase cair (Sugiharto, 1998).

Tingginya daya kelarutan akan memudahkan protein tersebar dalam larutan sehingga dapat terakumulasi pada antar permukaan minyak dan air secara lebih merata. Hal ini menyebabkan dispersi minyak dalam larutan lebih merata dan ukuran globula minyak lebih kecil. Disamping itu berat molekul bahan pengemulsi juga mempengaruhi daya emulsi. Bahan pengemulsi yang mempunyai BM rendah akan menurunkan tegangan permukaan lebih besar dibandingkan bahan pengemulsi yang mempunyai BM tinggi (Sugiharto, 1998).

Stabilitas emulsi diartikan sebagai kemampuan suatu emulsi untuk tetap stabil dan tidak berubah terhadap koalesen dan flokulasi (Zayas, 1997). Stabilitas emulsi penting karena emulsifier yang baik tergantung pada kemampuan protein untuk memelihara sistem emulsi pada saat mengalami pemanasan atau pemanasan. Protein dengan daya emulsi sangat tinggi mungkin tidak memberikan stabilitas emulsi. Stabilitas emulsi dari protein tergantung pada karakteristik film yang dibangunnya pada antar muka minyak dan air.

2.7 Elektroforesis

Elektroforesis merupakan teknik pemisahan untuk karakterisasi makromolekul, berat molekul, dan penetapan kemurnian protein. Teknik ini didasarkan pada kenyataan bahwa molekul-molekul seperti DNA, RNA, dan protein memiliki muatan sehingga dapat bergerak apabila ditempatkan dalam medan listrik,

Teknik yang paling sering digunakan dalam ilmu pengetahuan protein adalah SDS-PAGE (sodium dodecyl sulphate-poliacrilamide gel electrophoresis). Dasar metode ini adalah molekul pengisi akan bermigrasi di medan listrik pada kecepatan yang dibatasi oleh ukuran dan suplai listrik. Disini medan listrik diaplikasikan sebagai jarak lintas lembaran polimer (poliakrilamida) yang

bertindak sebagai pembawa bagi pergerakan molekul. Sebelum memasuki medan listrik, protein didenaturasi dengan kondisi perusakan yang keras (seperti panas, deterjen pendenaturasi, agen reduksi disulfida, dan beberapa agen chaotropik seperti urea), dan dilapisi dengan anionic deterjen, SDS. Dalam keadaan terdenaturasi, sebagian besar protein mengikat SDS di ratio berat konstan, maka ketika protein berhenti akan mempunyai kepadatan isi yang mirip/serupa. Berdasarkan kondisi ini, kecepatan migrasi protein di medan listrik adalah tidak tergantung pada sifat muatan molekul, tetapi lebih banyak dipengaruhi semata-mata oleh ukuran molekul. Protein sample akan diisikan di sumur pada gel atas, dimana akan kontak dengan buffer tandon, dengan dempet katoda. Buffer penampung bawah demikian halnya juga akan tersambung dengan anoda. Ketika arus listrik dinyalakan, SDS-lapisan protein akan bermigrasi ke gel dasar (bawah), di bawah pengaruh medan listrik.

Setelah running dilakukan, maka diperlukan cara untuk memvisualisasikan band dari protein-protein tersebut. Cara yang paling umum digunakan adalah dengan staining gel dengan pencelup ikatan protein. Dua cara yang sering dipakai adalah coomassie blue staining dan silver staining. Silver staining lebih sensitif dibandingkan coomassie blue sehingga dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan kontaminan minor pada sample, tetapi tidak direkomendasikan untuk analisa kuantitatif. Coomassie blue lebih minim komplikasi dibandingkan silver staining. Keuntungan dari coomassie blue adalah luas warna dari protein yang berbeda dapat dijaga, sehingga dapat dimanfaatkan untuk memperkirakan jumlah kuantitatif dari protein (Copeland, 1994).

Poliakrilamida adalah polimer yang paling umum digunakan untuk elektroforesis gel protein. Gel itu sendiri terbentuk dari polimerisasi akrilamida dengan mekanisme radikal bebas. Pemecahan berat molekul yang dicapai dengan SDS-PAGE tergantung pada bagian ukuran liang dari polimer gel.

Elektroforesis gel/system buffer dapat dilakukan secara homogen/kontinyu atau multiphase (diskontinyu). Sistem homogen mengandung ion buffer yang sama dan pH pada saat preparasi sample, buffer elektroda, dan gel. Sampel dimasukkan secepatnya ke dalam gel resolving dimana pemisahan terjadi. Sistem

buffer multiphase gel stacking berbeda pH atau komposisi buffer digunakan untuk konsentrasi dan mempertajam konstituen sample sebelum dimasukkan dalam gel resolving.

Pada praktek umumnya dimasukkan campuran protein pada satu atau lebih jalur (lines) dari sel untuk menyajikan sebagai berat molekul standart (markers). Berat molekul dan protein target dapat ditetapkan dengan membandingkan dengan mobilitas relatif dari standart tersebut.

2.8 Gelasi

Gel merupakan bentuk semi-solid dari beberapa rantai yang membentuk jaringan pada media cair, biasanya dibentuk oleh myosin dan aktomiosin. Pembentukan gel dipengaruhi oleh ph, pemanasan, kekuatan ion, serta jenis ion. Proses pembentukan gel adalah sebagai berikut:



Keterangan:

XPN = jumlah native protein

XPD = jumlah protein yang terdenaturasi oleh panas

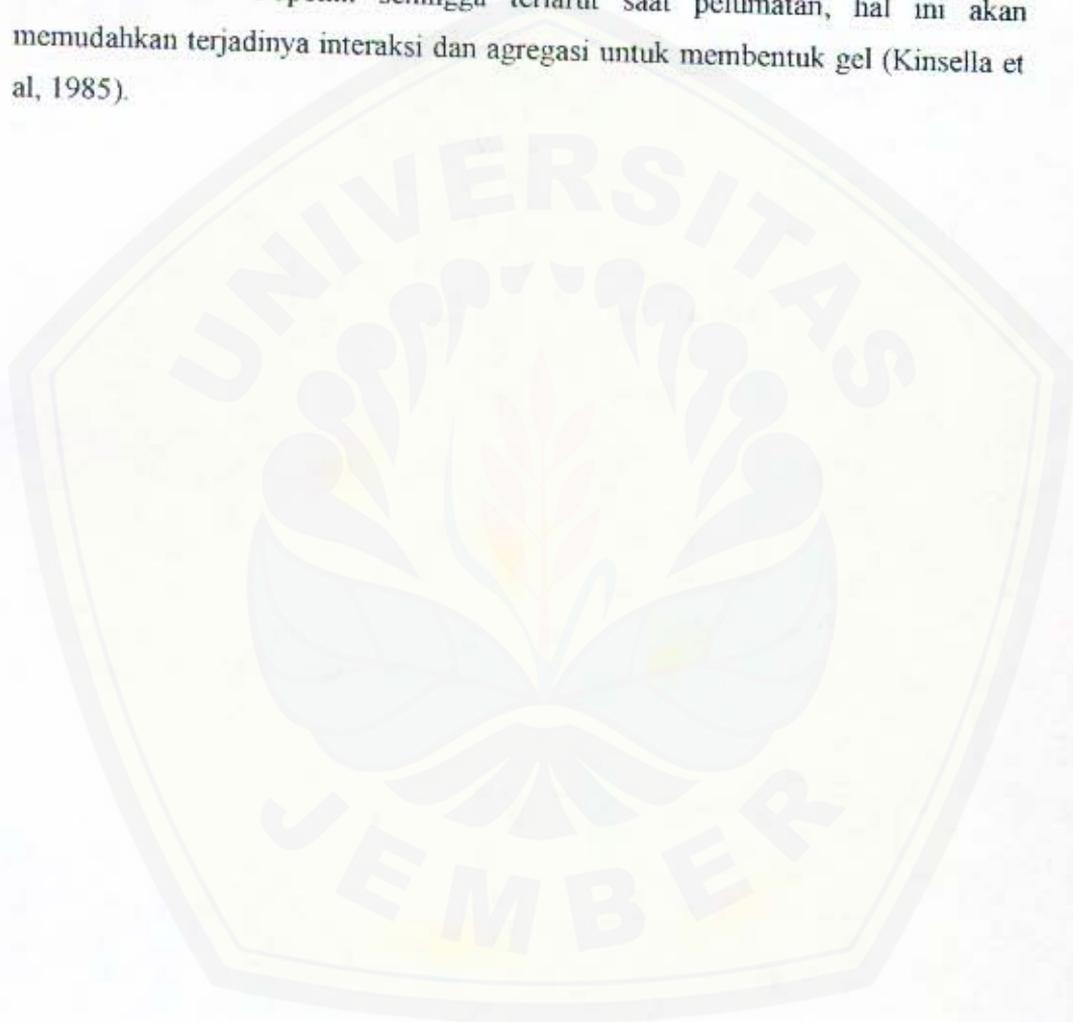
(PD)X = jumlah molekul aggregate yang terbentuk selama pemanasan dan jika didinginkan akan membentuk gel (Zayas, 1997)

Ketika protein terdenaturasi, terjadi pemutusan ikatan peptida sehingga memungkinkan terjadinya agregasi antar peptida membentuk jaringan tiga dimensi (matriks). Pembentukan matriks terutama terjadi pada struktur sekunder protein. Selama pemanasan, matriks akan menyerap air sehingga matriks lebih kompak dan gel tidak mudah pecah. Agregasi terjadi oleh adanya ikatan hydrogen, interaksi hidrofob, ikatan van deer wals, serta ikatan kovalen disulfida. Pembentukan gel pada myosin melalui beberapa tahap yaitu:

1. Pada suhu 35°C terbentuk dimer dan oligomer melalui interaksi antar kepala myosin dengan ikatan disulfida dan pembukaan rantai ekor myosin
2. Pada suhu 40°C terbentuk jaringan globuler dengan ikatan antara kepala dan ekor miosin
3. Pada suhu 48°C terbentuk aggregate dengan bersatunya dua/lebih oligomer

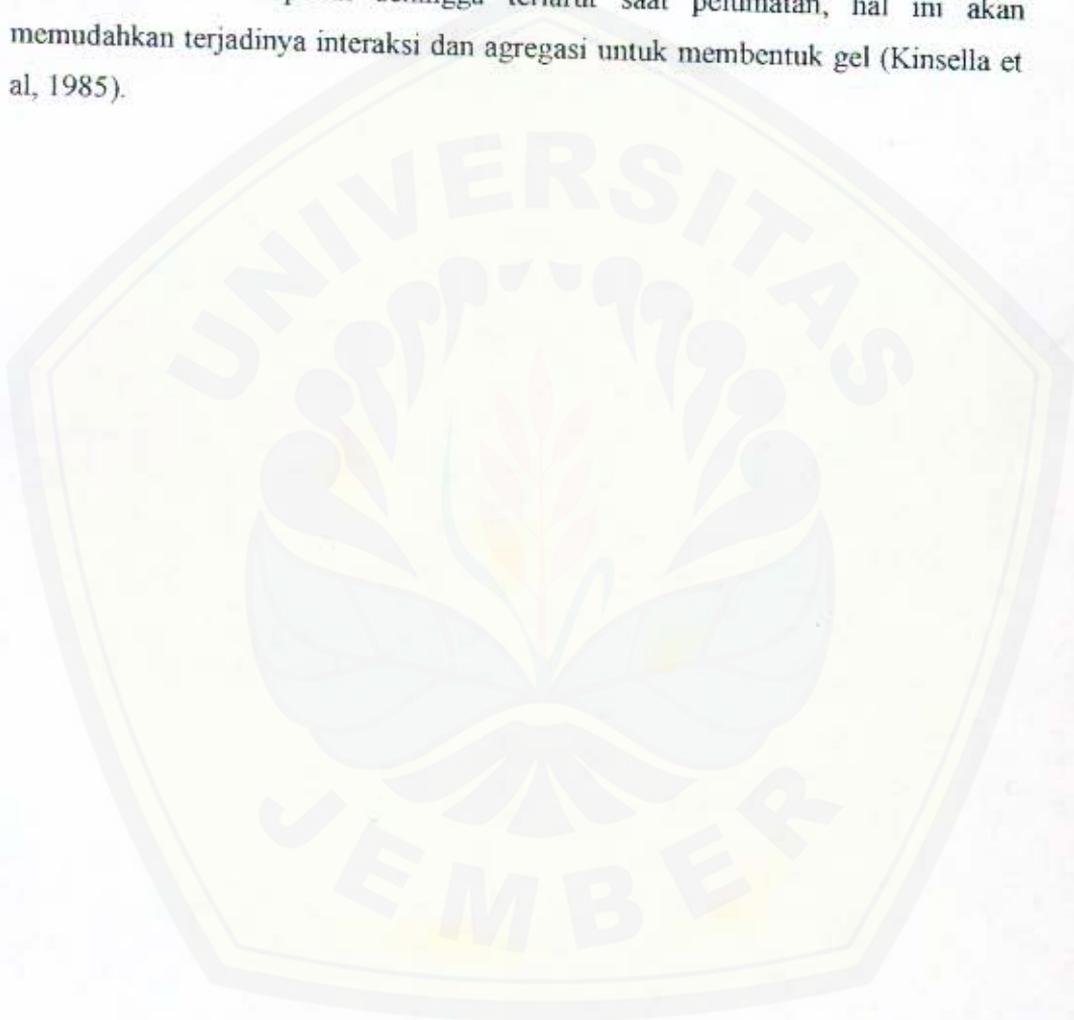
4. Pada suhu 50-60°C terjadi agregasi oligomer secara lebih lanjut untuk mendukung terbentuknya jaringan gel (Kinsella et al, 1985).

Kelarutan merupakan factor yang cukup penting dalam pembentukan gel. Miofibril merupakan protein yang larut garam (NaCl) pada konsentrasi 0,5-1M. NaCl akan memecah miofibril menjadi aktomiosin kompleks, myosin, aktin, tropomiosin dan troponin sehingga terlarut saat pelumatan, hal ini akan memudahkan terjadinya interaksi dan agregasi untuk membentuk gel (Kinsella et al, 1985).

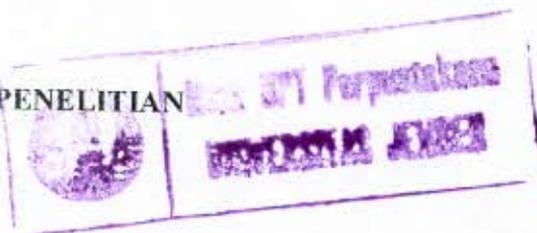


4. Pada suhu 50-60°C terjadi agregasi oligomer secara lebih lanjut untuk mendukung terbentuknya jaringan gel (Kinsella et al, 1985).

Kelarutan merupakan factor yang cukup penting dalam pembentukan gel. Miofibril merupakan protein yang larut garam (NaCl) pada konsentrasi 0,5-1M. NaCl akan memecah miofibril menjadi aktomiosin kompleks, myosin, aktin, tropomiosin dan troponin sehingga terlarut saat pelumatan, hal ini akan memudahkan terjadinya interaksi dan agregasi untuk membentuk gel (Kinsella et al, 1985).



III. METODOLOGI PENELITIAN



3.1 Bahan dan Alat

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan baku utama berupa ikan kuniran yang diperoleh dari pasar lokal Kepatihan Kabupaten Jember. Ikan disimpan dalam wadah ditambah bongkahan es untuk mempertahankan kesegarannya. Sampai dilaboratorium ikan harus sudah dicuci serta disiangi kepala dan isi perutnya. Sedangkan bahan – bahan kimia yang digunakan antara lain aquadest dingin, aquadest pH 7, enzim papain, NaOH, mix lowry, folin, NaCl, buffer fosphat, SDS, Coomassie blue, minyak sawit, Urea 8M dalam buffer fosphat pH 7, Tris-HCl buffer, buffer elektroforesis, stacking gel, resolving gel, commassie blue staining dan destaining.

3.1.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan adalah penggiling, timbangan, beaker glass, water bath, spatula, sendok, sentrifuse dan tabungnya, saringan, freeze drier, labu ukur, termometer, pipet, vortex, spectronic 21D, penangas, tabung reaksi, botol timbang, krus porselen, kertas saring, soxhlet, eksikator, muffle, oven, blender, peralatan elektroforesis (bio rad), pHmeter, sentrifuse kecil (kurabo).

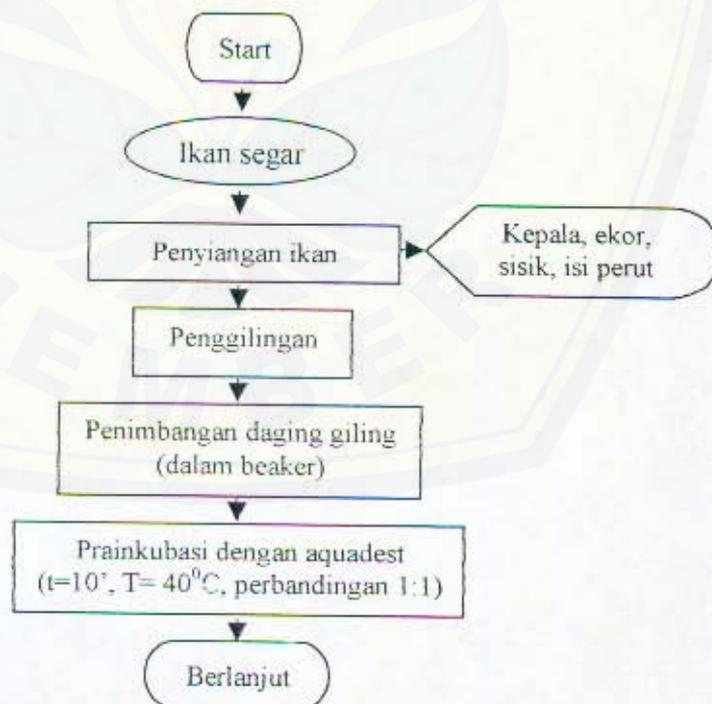
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

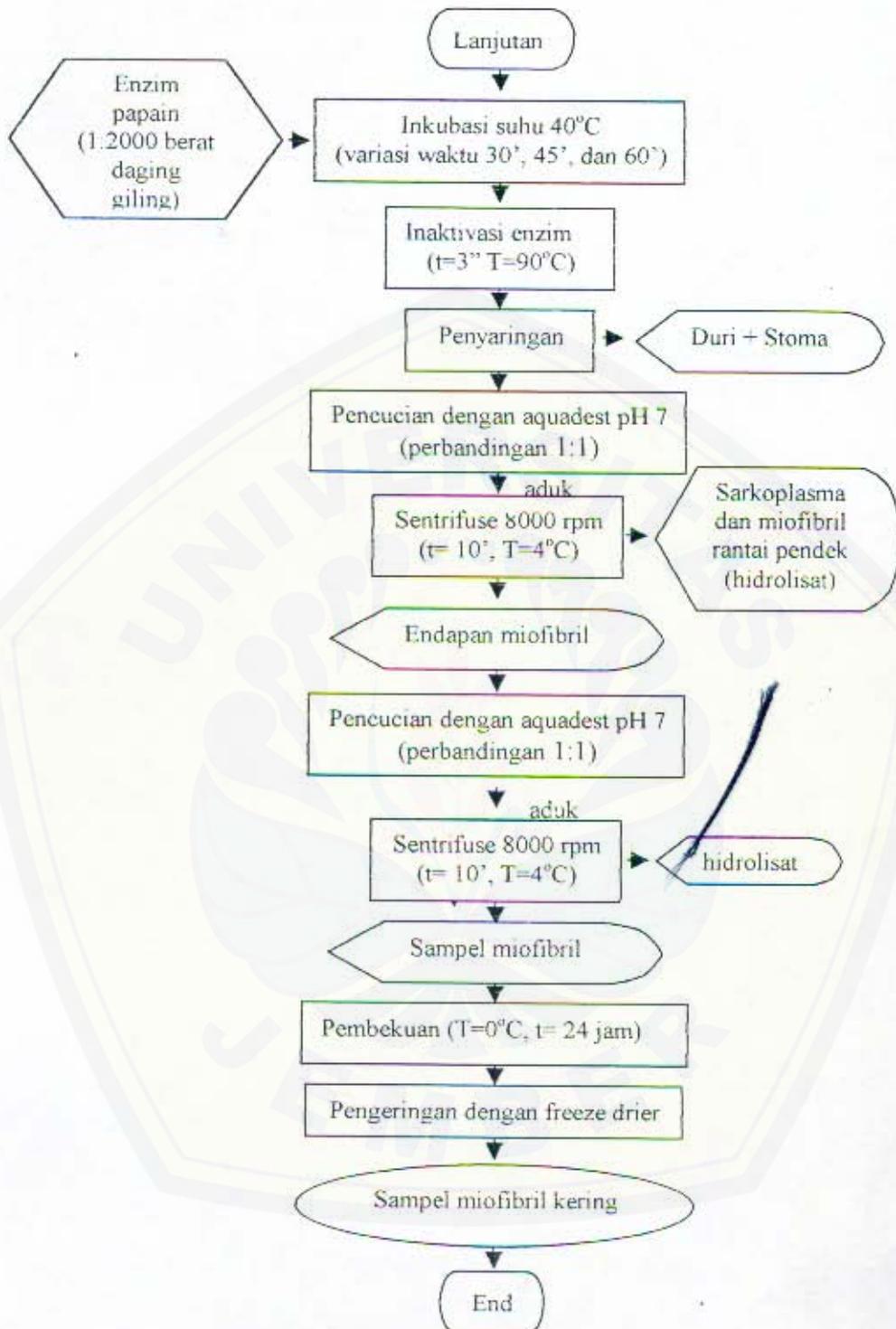
Penelitian dilakukan di Laboratorium Pengendalian Mutu Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Penelitian dilakukan pada bulan Juli 2004 – Desember 2004.

3.3 Metode Penelitian

Preparasi miofibril kering sebagai berikut: ikan disiangi kepala dan isi perutnya, dicuci bersih kemudian digiling sampai relatif halus (dilakukan pada kondisi dingin dengan merendam pada air es). Kemudian daging ditimbang dalam beaker glass dengan berat yang sesuai kapasitas timbangan, lalu ditambah aquadest

dengan perbandingan berat daging dan volume aquadest 1:1. Setelah diaduk kemudian diinkubasi dalam water bath bersuhu 40°C selama 10 menit. Kemudian ditambahkan enzim papain dengan perbandingan berat enzim 1:2000 dari berat daging giling. Campuran itu diinkubasi dengan variasi waktu 30, 45, dan 60 menit dengan suhu 40°C . Setelah itu dilakukan inaktivasi enzim dengan merendam campuran dalam air bersuhu 90°C selama 3 menit. Campuran disaring untuk membuang duri kemudian ditambah aquadest pH 7 dengan perbandingan Aquadest 1:1 dengan volume campuran di beaker. Setelah itu hasilnya disentrifuse dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit dengan suhu 4°C . Endapan hasil sentrifuse diambil dan ditambah aquadest pH 7 kembali dengan perbandingan tetap 1:1. Setelah diaduk kemudian disentrifuse kembali dengan kecepatan sama hingga diperoleh endapan berupa miofibril yang kemudian dikondisikan dalam freezer bersuhu 0°C selama 24 jam hingga beku dan dikeringkan dengan freeze drier. Setelah kering akan diperoleh sample miofibril untuk keperluan analisa. Untuk lebih mudahnya akan ditunjukkan dalam diagram alir berikut:





Gambar 4. Diagram alir preparasi miofibril kering

3.4 Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan yang dilakukan meliputi:

- a. Rendemen kering dengan neraca timbang
- b. Kadar air dengan metode pemanasan/oven
- a. Kadar abu dengan muffle
- b. Kadar lemak dengan ekstraksi soxhlet
- c. Water holding capacity (WHC) dengan sentrifuse
- d. Kadar protein terlarut dengan metode lowry
- e. Stabilitas pengemulsi pada minyak sawit dengan waring blender
- f. Kelarutan protein terhadap pH dengan metode Bradford
- g. Kelarutan protein terhadap garam dengan metode Bradford
- h. Tekstur gel miofibril dengan Rheo tex
- i. Berat molekul protein dengan elektroforesis

3.5 Analisa Data

Penelitian menggunakan 3 (tiga) perlakuan dengan pengulangan dua kali.

Adapun ketiga perlakuan tersebut meliputi:

30' = Lama inkubasi 30 menit

45' = Lama inkubasi 45 menit

60' = Lama inkubasi 60 menit

Data hasil pengamatan ditampilkan dalam bentuk tabel, dan untuk mempermudah interpretasi data, maka dibuat grafik atau histogram.

3.6 Prosedur Analisa

Setelah preparasi miofibril dilakukan, selanjutnya dilakukan analisa data yang meliputi:

1. Rendemen kering dengan neraca timbang

Sampel miofibril kering ditimbang beratnya dan dibandingkan dengan berat daging awal sebelum proses hidrolisa.

$$\text{Rendemen kering} = \frac{\text{berat bahan kering}}{\text{berat daging awal}} \times 100\%$$

2. Kadar air dengan metode pemanasan/oven (Sudarmadji, dkk, 1984).

Analisis kadar air dilakukan dengan menimbang botol sample yang telah kering dan dieksikator selama 15 menit hingga konstan (A gr). Menimbang sample 1gr dalam botol timbang (B gr). Kemudian botol timbang beserta isinya dimasukkan ke dalam oven ($T=100^{\circ}\text{C}$, $t= 24$ jam), lalu dimasukkan ke dalam eksikator dan ditimbang lagi setelah kering sampai didapat berat konstan (C gr).

$$\text{Kadar air} = \frac{B-C}{B-A} \times 100\%$$

3. Kadar abu dengan muffle (Sudarmadji, dkk, 1984)

Sampel ditimbang (1 gr) dalam krus porselen kering yang telah diketahui beratnya, kemudian sample dipijarkan dalam muffle sampai suhu 600°C sampai diperoleh abu berwarna keputih-putihan (biarkan dalam muffle hingga dingin, $t=24$ jam), selanjutnya sampel dioven selama beberapa jam ($T=100^{\circ}\text{C}$). Setelah itu didinginkan dalam eksikator dan ditimbang berat abu setelah dingin.

$$\text{Kadar abu} = \frac{(\text{Berat krus} + \text{abu}) - \text{berat krus}}{(\text{Berat Krus} + \text{sample}) - \text{berat krus}} \times 100\%$$

4. Kadar lemak dengan ekstraksi soxhlet (Sudarmadji, dkk, 1984)

Menimbang kertas saring yang telah dioven ($T=60^{\circ}\text{C}$, $t=24$ jam), menimbang juga sample sebanyak 1 gr. Sampel dibungkus dengan kertas saring yang sudah dioven dan diikat dengan tali. Selanjutnya dioven bersama-sama pada suhu 60°C selama 24 jam. Menimbang bahan kering dengan kertas saring yang telah dioven dengan melepas tali terlebih dahulu. Selanjutnya sample diekstraksi dengan soxhlet dengan penambahan petroleum benzen selama 4-5 jam. Hasil ekstraksi dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C . Selanjutnya didinginkan pada

eksikator. Menimbang residu hasil ekstraksi berulang kali hingga beratnya konstan.

$$\text{Kadar lemak} = \frac{\text{Berat bahan awal} - \text{Berat bahan kering}}{\text{Berat bahan awal}} \times 100\%$$

5. Water Holding Capacity (WHC) dengan sentrifuse (Subagio, dkk, 2003)

Menimbang tabung sentrifuse kecil kosong (a gr). Menimbang sample 0,2 gr (b gr) dalam botol sentrifuse. Tambahkan aquadest 10 ml dalam botol sentrifuse. Selanjutnya divortex hingga tercampur merata. Sentrifuse dilakukan dengan kecepatan sedang hingga terpisah antara air dan endapan. Air dibuang dan sisa air ditisu. Selanjutnya menimbang berat tabung sentrifuse beserta endapannya hingga konstan (c gr).

$$\text{WHC} = \frac{(c-a)-b}{b} \times 100\%$$

6. Kadar protein terlarut dengan metode lowry (Sudarmadji, dkk, 1984).

Menimbang sample 0,005 gr dan dilarutkan dalam 125 uL aquadest(dalam tabung reaksi). Menambahkan 100 uL NaOH 2N dalam larutan. Selanjutnya larutan dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit, setelah itu didinginkan selama 5 menit. Menambahkan 2,5 ml mix lowry, divortex hingga rata dan dibiarkan selama 10 menit. Kemudian menambahkan 250 uL folin dalam larutan dan divortex kembali. Biarkan larutan selama 30 menit, tera hingga 10 ml dan baca absorbansinya pada panjang gelombang 750 nm. Blanko dibuat dengan cara yang sama namun tanpa penambahan sample. Selanjutnya protein terlarut dapat dihitung dari rumus kurva standart sebagai berikut:

$$Y = 0,2447X + 0,4637$$

Dimana: X = kadar protein terlarut (mg)

Y = absorbansi sampel

7. Stabilitas pengemulsi pada minyak sawit (Parkington, dkk, 2000).

Menimbang sample sebanyak 0,3 gr dan dilarutkan dengan 100 ml NaCl 0,6M dalam buffer fosfat 0,05M pH 7. Biarkan selama 20 jam pada suhu 4°C. Larutan ditambah dengan minyak sawit 25 ml dan diblender selama 2 menit. Hasilnya diambil 0,5 ml (variasi waktu 0', 10', 20', 1 jam, 2 jam, dan 24 jam) dan dicampur dengan 2,5 ml SDS 0,1% dalam tabung reaksi. Tera larutan hingga 5 ml dan divortex. Kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 500 nm.

$$EAI = \frac{2 \times 2,303}{C \times (1-\emptyset) \times 10^4} \times \text{Abs} \times \text{Dilution}$$

8. Kelarutan protein terhadap pH dengan metode Bradford .

Menimbang sample sebanyak 0,1 gr untuk masing-masing variasi pH, kemudian dilarutkan dengan 10 ml NaCl 0,7M dalam buffer fosfat 0,05M (pada berbagai pH). Larutan diinkubasi selama 2 jam pada suhu 4°C dan distirer/ dihomogenisasi. Setelah itu larutan diinkubasi lagi selama 20 jam pada suhu 4°C dan distirer kembali sesudahnya. Larutan kemudian disentrifuse 4000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. Filtrat dibaca absorbansinya dengan metode Bradford pada panjang gelombang 595 nm.

9. Kelarutan protein terhadap garam dengan metode Bradford.

Menimbang sample sebanyak 0,1 gr untuk masing-masing variasi (NaCl), kemudian dilarutkan dengan 10 ml NaCl 0,7M dalam buffer fosfat 0,05M (pada berbagai konsentrasi NaCl). Larutan diinkubasi selama 2 jam pada suhu 4°C dan distirer/ dihomogenisasi. Setelah itu larutan diinkubasi lagi selama 20 jam pada suhu 4°C dan distirer kembali sesudahnya. Larutan kemudian disentrifuse 4000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C.

Filtrat dibaca absorbansinya dengan metode Bradford pada panjang gelombang 595 nm.

10. Tekstur gel miofibril dengan Rheo tex

Menimbang sample sebanyak 1,5 gr kemudian dilarutkan dalam 1,5 ml air dan ditambah NaCl 2,5%. Campuran tersebut dilumatkan selama 30 menit dengan spatula dalam botol film. Hasil pelumatan diinkubasi pada suhu 40°C selama 20' kemudian dipanaskan pada suhu 90°C selama 20 menit hingga terbentuk gel. Gel yang terbentuk diukur teksturnya dengan rheo tex menggunakan jarak (distance 5 mm). Pengukuran dilakukan tiga kali dan hasil akhir didapat dari nilai rata-rata angka rheo tex.

$$\text{Tekstur} = \frac{(X1+X2+X3)}{3} \quad (\text{g/5 mm})$$

11. Berat molekul protein dengan elektroforesis pada SDS-PAGE

Protein terlarut dengan metode Lowry adalah sebagai berikut: menimbang 0,15 gr sample dan dilarutkan dengan 1 ml larutan 2% SDS 8M urea dalam 50 ml buffer phosphat pH 7 dan divortex. Setelah larut kemudian disentrifuse. Hasil sentrifuse diambil atasnya sebanyak 25 uL dan ditambah 100 uL NaOH 2N dan divortex. Selanjutnya larutan dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit, setelah itu didinginkan selama 5 menit. Menambahkan 2,5 ml mix lowry, divortex hingga rata dan dibiarkan selama 10 menit. Kemudian menambahkan 250 uL folin dalam larutan dan divortex kembali. Biarkan larutan selama 30 menit, tera hingga 10 ml dan baca absorbansinya pada panjang gelombang 750 nm. Setelah diketahui kadar protein terlarut, protein dianalisa dengan SDS -PAGE yang dilakukan pada gel poliakrilamida yang terdiri atas gel bawah (Resolving gel) dan gel atas (Stacking gel). Bahan-bahan yang diperlukan untuk pembuatan gel adalah sebagai berikut: Bahan A: Tris HCl 1,5M pH 8,8; Bahan B: SDS 10%; Bahan C: Bis Akrilamida; Bahan D: Amonium Perisulfat 10%; Bahan E: Tris HCl 1,5M pH 6,8. Agar terbentuk gel

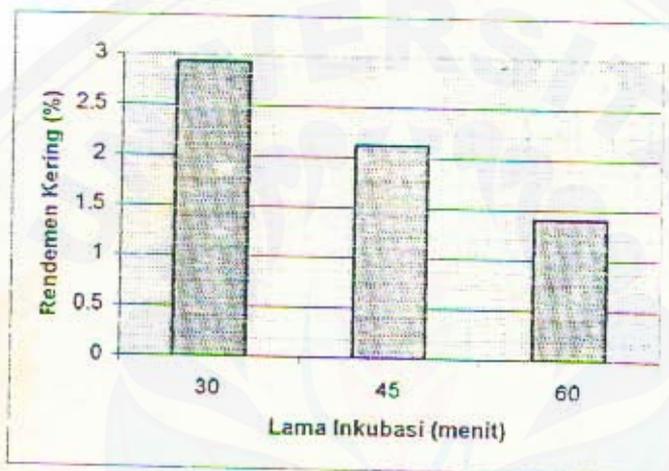
bawah dibutuhkan: 1,25 ml Aquadest; 5 ml bahan A; 0,005 ml bahan B; 2 ml bahan C; 50 uL bahan D; dan 5uL Temed. Campuran larutan ini harus segera dimasukkan pada celah dari 2 lempeng kaca elektroforesis. Sedangkan gel atas terbentuk dari: 1,525 ml Aquadest; 0,625 bahan E; 0,025 bahan B; 0,325 bahan C; 50 uL bahan D; dan 5uL Temed. Gel atas dibentuk dan dimasukkan dengan bantuan sisir elektroforesis. Kemudian larutan sample dengan kandungan protein 20 ug dilarutkan dalam buffer elektroforesis dan divortex. Larutan dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit. Masing-masing sample larutan dimasukkan dalam sumur elektroforesis. Running dilakukan pada 100mA selama 2 jam. Kemudian gel poliakrilamida dicuci dengan aquadest dan staning dengan dietil eter lalu diwarnai dengan Coomassie Blue. Selanjutnya destining dengan metanol sambil digoyang agar penghilangan warna sempurna. Band - band yang terlihat pada gel poliakrilamida menunjukkan fraksi atau sub unit protein yang dapat dibaca pada SDS-PAGE dari protein miofibril ikan kuniran.



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Rendemen Kering.

Pengukuran rendemen kering dilakukan dengan neraca timbang, yaitu dengan membandingkan antara berat sample kering dan berat daging giling awal. Dari hasil perhitungan didapatkan jumlah rendemen kering pada variasi lama inkubasi 30', 45', dan 60' berturut-turut sebesar 2,93%; 2,13%; dan 1,41%. Histogram rendemen kering dapat dilihat pada gambar 5 berikut:



Gambar 5. Histogram Rendemen Miofibril Kering

Dari gambar 5 didapatkan bahwa makin lama waktu inkubasi saat hidrolisis menyebabkan jumlah rendemen kering makin turun. Saat hidrolisa, enzim proteolitik akan membantu pemutusan ikatan peptida pada rantai protein dan dapat meningkatkan kadar protein terlarut. Makin lama waktu hidrolisa maka makin banyak rantai peptida yang dapat diputus dan jumlah peptida rantai pendek akan makin banyak. Peptida rantai pendek akan ikut larut dalam air bersama sarkoplasma sehingga jumlah rendemen kering berkurang. Jika waktu hidrolisis berlebih maka jumlah peptida dan asam amino akan menurun dan jumlah padatan tidak fungsional meningkat, dan jika diteruskan akan terjadi denaturasi karena rusaknya konfigurasi molekul protein. Terbentuknya peptida-peptida pendek menyebabkan jumlah komponen myosin sebagai komponen utama mofibril akan makin kecil.

Bentuk miofibril kering untuk masing-masing variasi lama inkubasi dapat dilihat pada gambar 6 berikut:

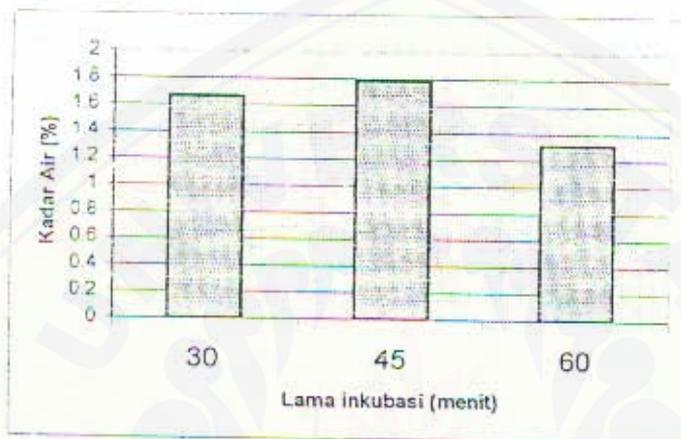


Gambar 6. Sampel Miofibril Kering

Dari gambar 6 terlihat bahwa pada lama inkubasi 45 menit warna sampel menjadi lebih gelap (coklat) dibandingkan sampel dengan lama inkubasi 30', sedangkan pada sampel dengan lama inkubasi 60' warna yang diperoleh paling pucat. Hal ini tergantung nilai C pada masing-masing sampel. Berdasarkan hasil perhitungan, diperoleh nilai C untuk variasi lama inkubasi 30'; 45'; dan 60 menit berturut-turut adalah 12,12; 12,39 dan 10,90. Makin tinggi nilai C, maka warna sampel akan makin gelap (intensitas warnanya lebih tinggi). Dalam penelitian, ikan yang digunakan tidak seragam karena keterbatasan alat. Pada lama inkubasi 45 menit, ikan yang digunakan mempunyai kandungan pigmen heme (pada mioglobin dan hemoglobin) yang lebih tinggi sehingga warnanya lebih gelap, selain itu kandungan minyak/ lemaknya paling tinggi. Intensitas warna memiliki hubungan dengan kandungan minyak pada ikan, dimana dengan makin tingginya kandungan minyak maka akan menyebabkan intensitas warna makin tinggi (warna makin gelap). Dari gambar 5 juga terlihat bahwa makin lama inkubasi, tekstur miofibril kering makin halus karena rantai peptida makin pendek.

4.2 Kadar Air

Kadar air diukur dengan pengeringan oven pada suhu 100°C selama 24 jam. Dari hasil pengukuran didapatkan kadar air pada miofibril kering untuk variasi lama inkubasi 30', 45', dan 60' berturut – turut adalah 1,665%; 1,790%; dan 1,32%. Histogram kadar air miofibril kering dapat dilihat pada gambar 7 berikut:



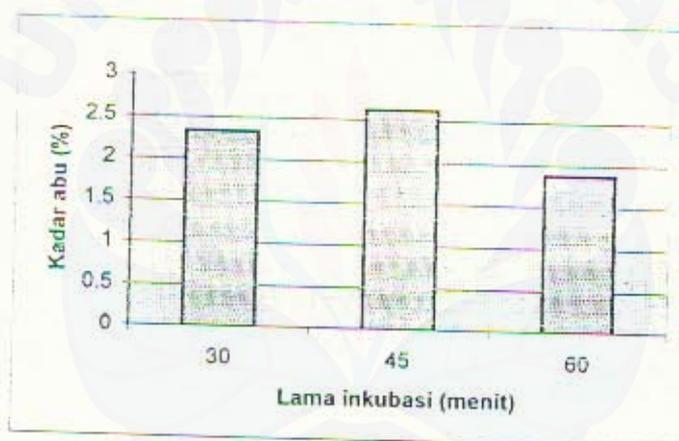
Gambar 7. Histogram Hasil Pengukuran Kadar Air Miofibril Kering

Dari gambar 7 terlihat bahwa kadar air tertinggi tampak pada lama inkubasi 45'. Ini disebabkan karena makin lama inkubasi, tingkat pemutusan ikatan peptida akan makin tinggi sehingga rantai peptida makin pendek dan gaya tarik-menarik polipeptida pada protein menjadi lemah. Akibatnya terjadi peningkatan sifat hidrofilik air dan air lebih mudah terperangkap dalam matriks protein. Pada lama inkubasi 30', jaringan tiga dimensi (matriks) protein belum banyak yang terbuka (terputus ikatan peptidanya) sehingga kurang dapat memerangkap air selama proses hidrolisa. Sedangkan pada lama inkubasi 60' kadar air paling rendah disebabkan terlalu banyak rantai peptida yang terurai oleh aktivitas enzim sehingga matriks sudah tidak terbentuk lagi dan jumlah padatan tidak fungsional meningkat (protein mulai berubah strukturnya). Adanya pemutusan rantai peptida yang pendek menjadi lebih pendek lagi menyebabkan kemampuan dalam mengikat air berkurang.

Selain itu kadar air juga dipengaruhi oleh kelembaban nisbi. Kondisi miofibril kering yang bersifat higroskopis akan mudah menyerap air dari udara sekitar. Kelembaban nisbi yang kecil menyebabkan terjadinya peningkatan kadar air saat penyimpanan.

4.3 Kadar Abu

Kadar abu menunjukkan jumlah mineral atau zat anorganik yang ada dalam bahan pangan. Dalam proses pembakaran, bahan-bahan organik terbakar tetapi zat anorganiknya tidak sehingga disebut abu. Hasil pengukuran kadar abu pada variasi lama inkubasi 30', 45', dan 60' berturut-turut adalah: 2,335%; 2,625%; dan 1,87%. Histogram kadar abu miofibril kering dapat dilihat pada gambar 8 berikut:



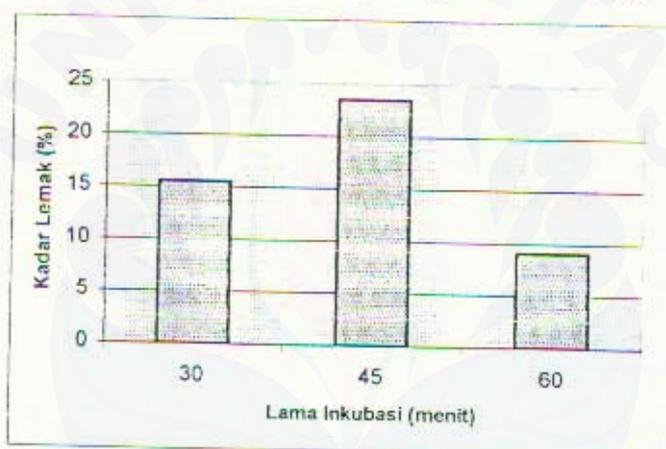
Gambar 8. Histogram Hasil Pengukuran Kadar Abu Miofibril Kering

Dari gambar 8 terlihat bahwa kadar abu pada lama inkubasi 45' berbeda dengan variasi waktu 30'. Hal ini mungkin disebabkan oleh faktor intrinsik (ikannya sendiri) dan dapat juga berasal dari faktor luar (faktor ekstrinsik) Yang tergolong faktor intrinsik adalah spesies, jenis kelamin, umur ikan, dan sifat warisan. Sedangkan yang termasuk faktor ekstrinsik adalah daerah kehidupan ikan (habitat), musim, dan jenis makanan yang tersedia (Hadiwiyoto,1993). Faktor intrinsik dan ekstrinsik yang berbeda dari ikan yang berbeda dapat menyebabkan jumlah mineral dalam tubuh ikan berbeda. Keterbatasan alat dan faktor kebusukan

ikan tidak memungkinkan setiap variasi dibuat dalam waktu yang bersamaan sehingga hasil yang diperoleh dapat berbeda. Pada lama inkubasi 60' kadar abu paling rendah karena waktu hidrolisa berlebih menyebabkan banyak mineral yang hilang/larut dalam air bersama sarkoplasma dan jumlah padatan tidak fungsional meningkat sehingga kadar abu yang diperoleh sedikit.

4.4 Kadar Lemak

Pengukuran kadar lemak dilakukan dengan ekstraksi soxhlet. Dari hasil pengukuran didapatkan bahwa kadar lemak pada variasi lama inkubasi 30', 45', dan 60' berturut-turut adalah: 15,58%; 23,57%, dan 9,135%. Histogram kadar lemak miofibril kering dapat dilihat pada gambar 9 berikut:



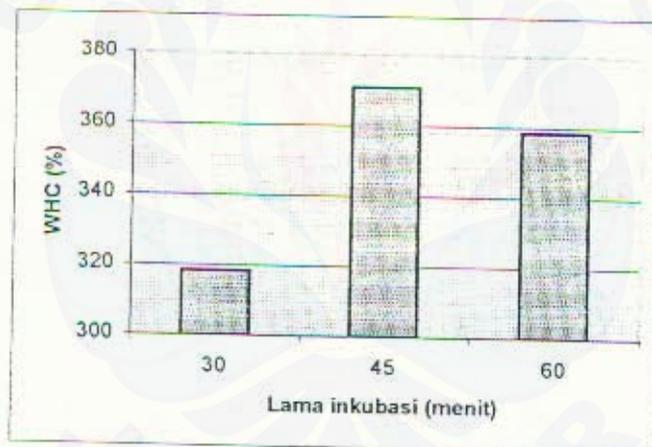
Gambar 9. Histogram Hasil Pengukuran Kadar Lemak Miofibril Kering

Dari gambar 9 terlihat bahwa kadar lemak pada lama inkubasi 30' lebih rendah dibandingkan pada lama inkubasi 45' karena rantai polipeptida (matriks) belum banyak yang terbuka/terpotong sehingga lemak dalam jaringan daging belum banyak terekstraksi. Kadar lemak tertinggi tampak pada lama inkubasi 45' karena matriks protein sudah banyak yang terbuka (rantai peptida terpotong menjadi lebih pendek) sehingga lemak mudah terekstrak dan lemak masih belum terurai menjadi senyawa penyusunnya. Pada lama inkubasi 60' kadar lemak turun drastis karena waktu hidrolisis yang terlalu lama menyebabkan lemak terurai menjadi gliserol dan asam lemak. Reaksi ini dipercepat oleh aktivitas enzim lipase yang ada dalam lemak. Enzim tersebut terdapat pada semua jaringan yang

mengandung minyak. Dengan adanya enzim lipase, lemak akan diuraikan menjadi asam lemak bebas. Semakin lama proses hidrolisis berlangsung, jumlah asam lemak bebas akan meningkat. Saat ekstraksi, asam lemak bebas tidak ikut terlarut sehingga kadar lemak berkurang. Kadar lemak juga berhubungan dengan intensitas warna. Makin rendah kandungan lemak, warna akan makin pucat (Winamo, 1984).

4.5 Water Holding Capacity (WHC)

Menurut Soeparno (1992), Water Holding Capacity adalah kemampuan daging untuk mengikat air yang ditambahkan selama ada pengaruh kekuatan dari luar, misalnya pemotongan daging, pemanasan, penggilingan, dan tekanan. Dari hasil pengukuran didapatkan bahwa untuk variasi lama inkubasi 30', 45', dan 60' nilai WHC berturut-turut adalah: 318,425%; 370,905%; dan 358,515%. Histogram WHC miofibril kering ditunjukkan pada gambar 10 berikut:



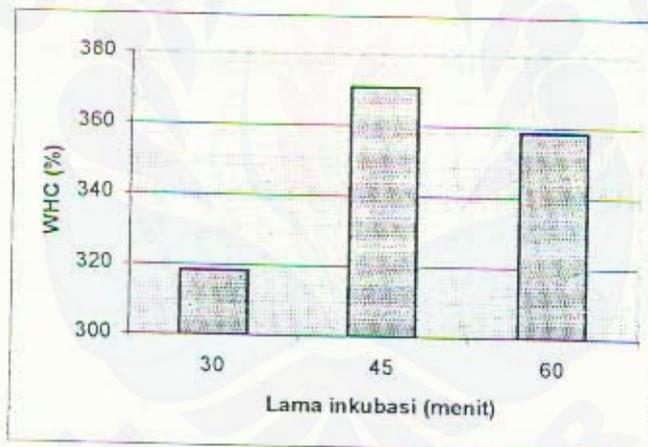
Gambar 10. Histogram Water Holding Capacity Miofibril Kering

Dari gambar 10 terlihat bahwa pada lama inkubasi 30' nilai WHC paling kecil. Hal ini disebabkan karena Pada lama inkubasi 30', jaringan tiga dimensi (matriks) protein belum banyak yang terbuka (matriks masih kokoh) sehingga kurang dapat menyerap air yang ditambahkan dari luar. Nilai WHC tertinggi tampak pada lama inkubasi 45' disebabkan karena ikatan peptida yang terputus

mengandung minyak. Dengan adanya enzim lipase, lemak akan diuraikan menjadi asam lemak bebas. Semakin lama proses hidrolisis berlangsung, jumlah asam lemak bebas akan meningkat. Saat ekstraksi, asam lemak bebas tidak ikut terlarut sehingga kadar lemak berkurang. Kadar lemak juga berhubungan dengan intensitas warna. Makin rendah kandungan lemak, warna akan makin pucat (Winamo, 1984).

4.5 Water Holding Capacity (WHC)

Menurut Soeparno (1992), Water Holding Capacity adalah kemampuan daging untuk mengikat air yang ditambahkan selama ada pengaruh kekuatan dari luar, misalnya pemotongan daging, pemanasan, penggilingan, dan tekanan. Dari hasil pengukuran didapatkan bahwa untuk variasi lama inkubasi 30', 45', dan 60' nilai WHC berturut-turut adalah: 318,425%; 370,905%; dan 358,515%. Histogram WHC miofibril kering ditunjukkan pada gambar 10 berikut:



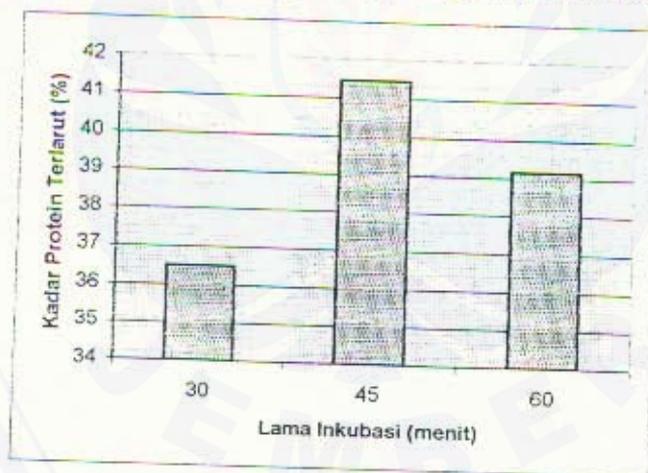
Gambar 10. Histogram Water Holding Capacity Miofibril Kering

Dari gambar 10 terlihat bahwa pada lama inkubasi 30' nilai WHC paling kecil. Hal ini disebabkan karena Pada lama inkubasi 30', jaringan tiga dimensi (matriks) protein belum banyak yang terbuka (matriks masih kokoh) sehingga kurang dapat menyerap air yang ditambahkan dari luar. Nilai WHC tertinggi tampak pada lama inkubasi 45' disebabkan karena ikatan peptida yang terputus

makin banyak. Hal ini menyebabkan rantai peptida akan makin pendek dan gaya tarik menarik polipeptida pada protein makin lemah. Akibatnya terjadi peningkatan sifat hidrofilik air dan air lebih mudah terperangkap dalam matriks protein. Sedangkan pada variasi waktu 60' nilai WHC paling rendah disebabkan terlalu banyak rantai peptida yang terurai oleh aktivitas enzim sehingga matriks sudah tidak terbentuk lagi dan jumlah padatan tidak fungsional meningkat (protein mulai berubah strukturnya). Adanya pemutusan rantai peptida yang pendek menjadi lebih pendek lagi menyebabkan kemampuan dalam menyerap dan mempertahankan air berkurang sehingga nilai WHC turun.

4.6 Kadar Protein Terlarut

Pengukuran kadar protein terlarut menggunakan metode lowry. Dari hasil pengukuran diperoleh bahwa kadar protein terlarut untuk variasi waktu 30', 45', dan 60' berturut turut adalah: 36,51%; 41,46%; dan 39,17%. Histogram kadar protein terlarut miofibril kering ditunjukkan pada gambar 11 berikut:



Gambar 11. Histogram Kadar Protein Terlarut Miofibril Kering

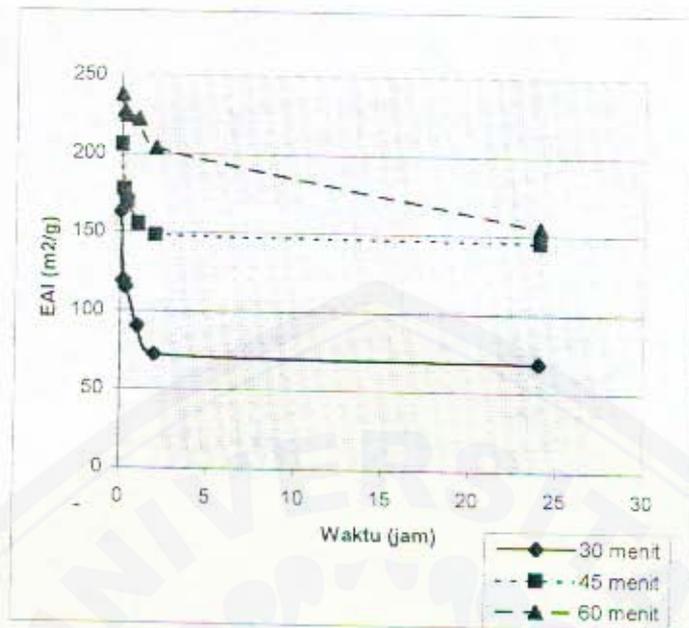
Dari gambar 11 tampak bahwa pada lama inkubasi 30' kadar protein terlarut paling kecil karena rantai peptida belum banyak yang terputus. Pada variasi suhu 45' kadar protein terlarut makin naik karena dengan pemutusan ikatan peptida yang lebih banyak oleh enzim proteolitik seiring dengan makin lamanya proses hidrolisa akan menyebabkan perubahan dalam protein yaitu gugus

NH_3^+ dan COO^- meningkat yang akan menambah kelarutan protein. Namun pada lama inkubasi 60' kadar protein terlarut turun karena terjadi pemutusan ikatan peptida yang terlalu banyak dan protein mulai terdenaturasi sehingga susunan rantai polipeptidanya berubah. Protein yang terdenaturasi akan berkurang kelarutannya. Lapisan molekul protein bagian dalam yang bersifat hidrofobik berbalik keluar, sedangkan bagian luar yang bersifat hidrofil terlipat kedalam sehingga akhirnya protein akan menggumpal atau mengendap terutama jika larutan protein telah mendekati pH isolistrik (Winarno, 1984).

4.7 Stabilitas pengemulsi.

Nilai stabilitas emulsi (ESI) merupakan kemampuan protein untuk mempertahankan kestabilan sistem emulsinya, sedangkan nilai aktifitas emulsi (EAI) menunjukkan kemampuan protein untuk membentuk wilayah (area) stabil dalam sistem emulsinya (Winarno, 1984).

Dari hasil perhitungan diperoleh bahwa pada variasi lama inkubasi 30';45';dan 60', nilai ESI (nilai stabilitas pengemulsi) sample miofibril kering berturut-turut adalah 41,64706 jam; 82,2069 jam; dan 68,8 jam.. Nilai ESI tertinggi adalah pada lama inkubasi 45' yang menunjukkan bahwa sample tersebut memiliki kemampuan lebih baik dalam mempertahankan sifat pengemulsinya. Pada lama inkubasi 45', membran/film yang dibentuk myosin pada sistim emulsi lebih tebal sehingga dapat menjaga agar butir-butir lemak tetap terdispersi dalam larutan. Sedangkan untuk EAI (nilai aktifitas pengemulsi) pada masing-masing variasi lama inkubasi dapat dilihat pada gambar 12.

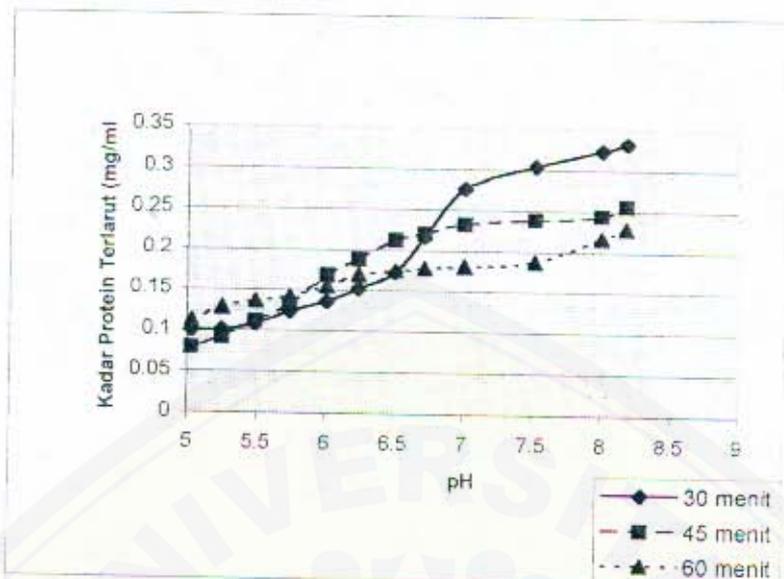


Gambar 12 Grafik EAI (Nilai Aktivitas Pengemulsi) Miofibril Kering

Dari gambar 12 diketahui bahwa lama inkubasi 45' menunjukkan hasil emulsi yang paling stabil dan memiliki nilai ESI terbesar, sehingga bisa berfungsi sebagai emulsifier yang baik. Dari grafik juga didapatkan bahwa makin lama waktu inkubasi, nilai aktifitas pengemulsi (EAI) dari sample miofibril kering akan makin besar karena ukuran molekul miofibril makin kecil sehingga lebih cepat terdispersi pada globula minyak.

4.7 Kelarutan Protein terhadap pH

Kelarutan protein terhadap pH diukur dengan metode Lowry. Hasil pengukuran kadar protein terlarut terhadap variasi pH pada masing – masing variasi lama inkubasi akan ditunjukkan pada gambar 13.



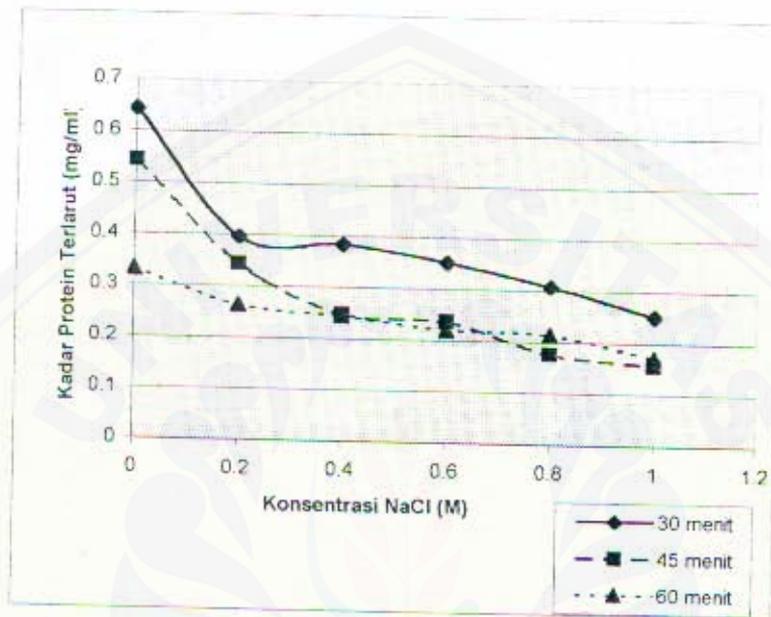
Gambar 13. Grafik Kelarutan terhadap pH Miofibril Kering

Dari gambar 13 tampak bahwa makin lama inkubasi (untuk variasi waktu 30';45';dan 60') kadar protein terlarut akan makin turun seiring dengan makin banyaknya rantai polipeptida yang terputus saat hidrolisa, terutama pada variasi waktu 60' karena protein mulai terdenaturasi. Sedangkan untuk variasi pH kadar protein terlarut dari tiap variasi sample menunjukkan grafik yang naik. Jadi makin tinggi pH, kadar protein terlarut juga makin tinggi.

Adanya gugus amino dan karboksil bebas pada ujung - ujung rantai molekul protein menyebabkan protein mempunyai banyak muatan (polielektrolit) dan bersifat amfoter (dapat bereaksi dengan asam maupun basa). Dalam larutan asam (pH rendah), gugus karboksil akan bereaksi dengan H^+ sehingga protein bermuatan positif. Sebaliknya dalam larutan basa (pH tinggi), molekul protein akan bereaksi sebagai asam atau bermuatan negatif. Pada pH tertentu yang disebut titik isoelektrik, muatan gugus amino dan karboksil bebas akan saling menetralkan sehingga molekul bermuatan nol dan protein akan mengendap/salting out (Winarno,1984).

4.9 Kelarutan Protein terhadap Garam

Beberapa protein larut dalam garam encer dan kelarutannya dapat berubah seiring dengan perubahan konsentrasi garam. Grafik hasil pengukuran kelarutan protein terhadap variasi konsentrasi garam (NaCl) akan ditunjukkan dalam gambar 14 berikut:



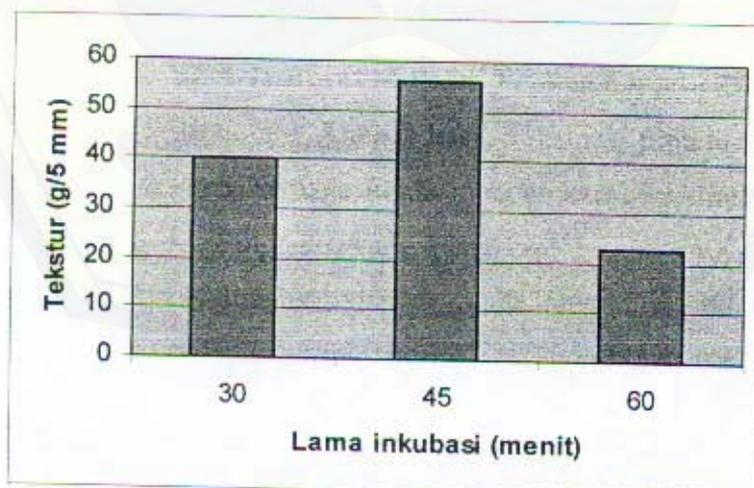
Gambar 14. Grafik Kelarutan Protein Miofibril terhadap Garam

Dari gambar 14 tampak bahwa makin lama waktu inkubasi dan makin tinggi konsentrasi garam (NaCl), kadar protein terlarut akan makin turun. Hal ini disebabkan karena pada suhu inkubasi 40°C sudah terjadi agregasi (pengikatan) miofibril utamanya pada komponen myosin sehingga kelarutannya berkurang. Saat inaktivasi enzim (suhu 90°C) terjadi agregasi lebih lanjut sehingga miofibril lebih cepat menggumpal. Makin lama inkubasi, agregasi yang terjadi akan makin banyak sehingga kelarutannya dalam garam akan makin berkurang dan terjadi pengendapan/ salting out pada konsentrasi garam yang lebih tinggi.

4.10 Daya Gelasi

Gel ikan merupakan bentukan dari pasta daging ikan mentah (surimi) yang mengalami hasil pemanasan. Komponen utama dalam pembentukan gel ikan mentah adalah miofibril. Apabila miofibril ikan lumat mentah dipanaskan, maka protein miofibril berangsur-angsur akan kehilangan daya perekatnya dan berubah menjadi adonan gel lentur. Dalam miofibril tersebut terkandung sejumlah aktin dan miosin yang telah mengalami aktomiosin selama fase pasca mortem. Adanya pemanasan akan meningkatkan agregasi pada MHC (Myosin Heavy Chain). Agregasi yang makin cepat menyebabkan ikatan disulfida (S-S) pada protein makin banyak sehingga terbentuk ikatan $\frac{1}{2}$ (MHC-S-S-MHC). Agregat yang berkumpul berikatan lagi sehingga membentuk jaringan tiga dimensi (matriks) yang akhirnya membentuk gel.

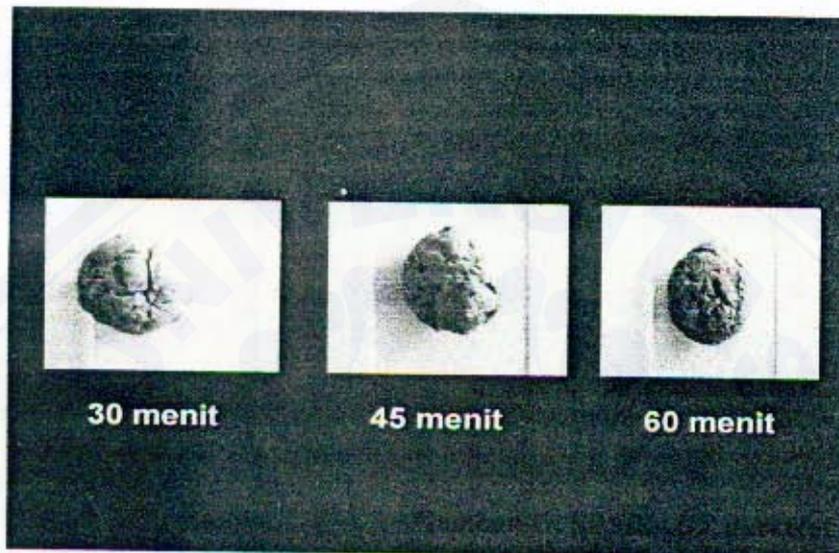
Parameter tekstur gel daging biasanya dipaparkan dalam istilah kekenyalannya dan daya tahan gel tersebut terhadap tekanan/ gigitan. Dari hasil perhitungan diperoleh tekstur gel miofibril pada variasi waktu 30'; 45'; dan 60' berturut-turut adalah: 40 g/5 mm; 56 g/5mm; dan 22,67 g/5mm. Histogram tekstur gel miofibril kering dapat dilihat pada gambar 15 berikut:



Gambar 15. Histogram Nilai Tekstur Gel Miofibril

Dari gambar 15 terlihat bahwa variasi waktu 45' menunjukkan nilai tekstur gel yang terbesar, menandakan bahwa gel yang terbentuk paling kenyal/paling baik. Ini disebabkan pada variasi waktu 45', agregasi miosin yang terjadi pada sampel

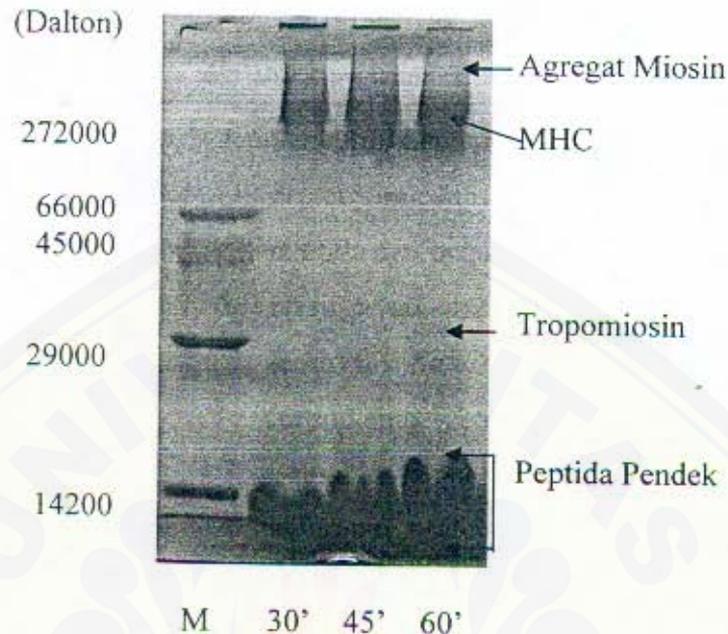
makin cepat sehingga membentuk matriks jaringan dan gel yang lebih kokoh. Sedangkan pada variasi waktu 60' tekstur gelnnya paling kecil, disebabkan karena proses hidrolisa berlebih sehingga protein berubah strukturnya dan matriks sudah rapuh. Ini menyebabkan gel yang terbentuk lebih rapuh dan mudah pecah. Bentuk gel miofibril secara lebih jelas dapat dilihat pada gambar 16 berikut:



Gambar 16. Bentuk Gel Protein Miofibril

4.11 Berat Molekul Protein dengan Elektroforesis

Analisa hasil fraksinasi protein miofibril dilakukan dengan elektroforesis SDS page untuk menentukan berat molekulnya. Adanya SDS (Sodium Dodecyl Sulphate) dan 2 merkaptoetanol serta pemanasan akan memecah struktur tiga dimensi dari protein, terutama ikatan disulfida menjadi subunit-subunit polipeptida secara individual. SDS dan protein akan membentuk ikatan kompleks karena SDS akan membungkus rantai polipeptida yang tidak terikat dengan muatan negatif yang sama. SDS-Protein mempunyai muatan yang sama sehingga dapat dikatakan bahwa pergerakan kompleks pada gel tidak dipengaruhi oleh besarnya muatan, melainkan berdasarkan ukuran molekul protein. Komplek SDS-Protein yang ukuran molekulnya lebih besar akan bergerak lebih lambat dibandingkan kompleks yang ukuran molekulnya lebih kecil. Hasil elektroforesis sampel miofibril kering dapat dilihat pada gambar 17.



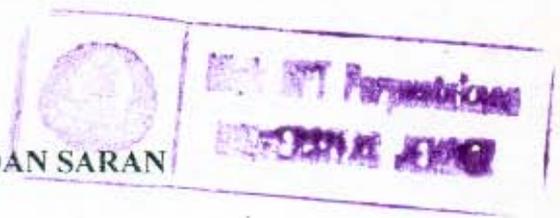
Gambar 17. SDS-PAGE dari fraksi protein miofibril ikan kuniran.
M: Marker; MHC: Myosin Heavy Chain

Dari gambar 17 terlihat bahwa makin lama waktu hidrolisis, peptida pendek yang terbentuk akan makin banyak. Untuk mengetahui berat molekul dari masing-masing protein dapat diketahui dengan menggunakan kit penciri protein (marker) dengan kisaran berat molekul rendah. Hasil perhitungan berat molekul fraksi protein miofibril dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Perhitungan Berat Molekul Fraksi Protein Miofibril

Jenis Protein	Berat Molekul pada variasi lama inkubasi		
	30 menit	45 menit	60 menit
MHC (Myosin Heavy Chain)	211477,91 D	211477,91 D	211477,91 D
Tropomiosin	31373,29 D	31373,29 D	31373,29 D

Dari tabel 2 didapatkan bahwa MHC memiliki BM 211477,91 D, nilai ini mendekati nilai BM MHC pada literatur yaitu sebesar 220000 D (Zayas 1997).. Untuk tropomiosin didapatkan nilai BM sebesar 31373,29 D, mendekati nilai pada literatur yaitu sebesar 35000 D.



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Semakin lama waktu inkubasi menyebabkan jumlah rendemen kering protein miofibril semakin berkurang karena terjadi pemutusan rantai peptida dan pelarutan peptida rantai pendek selama proses hidrolisa.
2. Hasil pengukuran kadar air, kadar abu, kadar lemak, WHC, kadar protein terlarut, serta tekstur gel mula-mula naik pada variasi waktu 45 menit dan turun kembali pada variasi 60 menit karena proses hidrolisa berlebih.
3. Semakin lama inkubasi nilai EAI, kelarutan protein terhadap pH dan kelarutan protein terhadap garam akan semakin turun. Pada kelarutan terhadap pH makin tinggi pH kadar protein terlarut akan makin besar pada masing-masing variasi waktu.
4. Hasil terbaik ditunjukkan pada variasi 45 menit dimana variasi tersebut memiliki nilai tertinggi untuk kadar abu : 2,625 %, WHC : 370,905%, kadar protein terlarut : 41,46%, ESI : 82,2069 jam, dan tekstur gel = 56 g/5mm.
5. Hasil perhitungan berat molekul (BM) untuk Miosin Heavy Chain (MHC), Tropomiosin, dan peptida pendek berturut-turut adalah: 211477,91 D; 31373,29 D; dan 16301,97 D.

5.2 Saran

Diharapkan ada penelitian lanjutan tentang pemanfaatan miofibril kering dengan variasi lama inkubasi terbaik (45 menit) untuk produk-produk pangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2003. *Upeneus Sp, Summary, Species Summary*. www.fishbase.org.
- Clemente, A., J. Vioque, R. Sanchez – Vioque, J. Predoche, J. Bautista, dan F. Millan. 1999. **Protein Quality of Chickpea (*Cicer arietinum L*) Protein Hidrolisates**. *Jurnal Food Chemistry* Vol. 67: 269-274.
- Copeland, R.A. 1994. **Methods for Protein Analysis**. New York: Chapman and Hall.
- Crepax, P. 1952. **Electrophoresis Properties of Extracts of Muscles Possesing Different Morphological Properties**. *Acta: Biochem. Biophys.*
- Dyer, W.J dan J.R Dingle. 1961. **Fish Protein With Special Reference to Freezing**. Di dalam: G. Borgatrom (ed). *Fish as Food Vol I*. London: Academic Press.
- Fennema, O.R. 1976. **Principle of Food Science**. New York: Marcel Decker Inc.
- Hadiwiyoto, S. 1993. **Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan Jilid I**. Yogyakarta: Liberty.
- Harper. 1999. **Biokimia**. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Hermawan, T.S. 1998. **Pengaruh Asap Cair Tempurung Kelapa terhadap Stabilitas Oksidatif dan Penerimaan Konsumen Produk Ikan dari Asap**. Yogyakarta: THP, FTP.
- Ismargini. 1975. **Mempelajari Pengaruh Penggunaan Bahan Pengikat dan Lama Pemasakan terhadap Mutu Sosis Ikan Tongkol (*Eutynus Sp*)**. Bogor: FATETA IPB.
- Junianto. 2003. **Teknik Penanganan Ikan**. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Kinsella and Shetty. 1985. **ACS Symp**. Dalam: Damodaran, S. 1997. **Food Protein and Their Application**. New York: Marcel Decker, Inc.
- Koswara, S. 1995. **Teknologi Pengolahan Kedelai**. Jakarta: Pustaka Sinar Harapan.
- Maga, J.A. 1998. **Umami Flavor of Meat**. In **Flavor of Meat, Meat Products and Seafood**. London: Shahidi, F. ed. Blackie Academic and Professional.

- Marsili, R. 1993. **Protein Power: Functionally and Versatility**. <http://www.Foodproductdesign.com/archieve/1993/0993ap2.html>.
- Martin, M., Jr. 1980. **Protein Functionally in Food System**. New York: Marcel Decker Inc.
- Murdjito, B.A. 2001. **Pembuatan Tepung Ikan**. Jakarta: Kanisius.
- Nielsen. 1997. **Food Protein and Their Application**. New York: Marcel Decker Inc.
- Novak, A.F., R.M. Rao dan D.A Smith. 1977. **Fish Protein**. Dalam: H.O. Graham (ed). *Food Colloids*. Westport Connecticut: The Avi Pub. Co. Inc.
- Parkington, Xiong, Blanchard, Srinivasan, and Froning. 2000. **Chemical and Functional Properties of Oxidatively Modified Beef Heart Surimi Stored at 2°C**. *Food Chemistry and Toxicology*. Vol 65 no. 3: 428-433.
- Pigot, G.M. dan B.W Tucker. 1990. **Utility Fish Flesh Effectively While Maintaining Nutritional Qualities**. New York: Marcel Decker Inc.
- Soeparno. 1992. **Ilmu dan Teknologi Daging**. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Stansby, M.E. dan H.S. Oloot. 1963. **Competition of fish**. Di Dalam: *Industrial Fishery Technology*. London: Reinhold Pub. Corp.
- Subagio, A., Yuli, W., dan Wiwik, S.W. 2003. **Pengaruh Penambahan Isolat Protein Koro Pedang (*Canavalia ensiformis L.*) terhadap Karakteristik Cake**. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Vol XVI no. 2: 136-143.
- Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi. 1984. **Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian**. Yogyakarta: Liberty.
- Suhartono, M.T. 1992. **Protease**. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

- Sugiharto, R. 1998. **Uji Stabilitas Suatu Model Sistem Emulsi**. Jurnal Teknologi dan Industri Hasil Pertanian. Vol 2(2).
- Sugijanto, R. dan Manulang. 2001. **Pembuatan Protein Konsentrat Wheat Pollard Sebagai Pemanfaatan Hasil Samping Penggilingan Gandum**. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan Vol. XII no. 1:54-69.
- Suzuki, T. 1981. **Fish and Krill Protein Technology**. London: Applied Science Pub. Ltd.
- Winarno, F.G. 1984. **Kimia Pangan dan Gizi**. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- _____ dan Fardiaz, S. 1984. **Biofermentasi dan Biosintesa Protein**. Bandung: Angkasa.
- _____ . 1995. **Enzim Pangan**. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Xiong, Y. L. 1997. **Structure function relationships of muscle protein**. In Damodaran, S. and Paraf, A. eds. **Food proteins and Their Applications**. New York: Marcel Decker.
- Yean, Y.S. 1998. **Tecnological Approaches to Utilizing Bycath in Low Cost Products for Human Consumption**. China: Apfic Symposium.
- Zayas, J.F. 1997. **Functionally of Protein In Food**. Berlin: Springer.

Lampiran 1. Hasil Pengukuran Pengaruh Variasi Lama Inkubasi terhadap Kadar Air, Kadar Abu, Kadar Lemak dan WHC pada Miofibril Kering Ikan Kuniran.

Lama Inkubasi (menit)	% Kadar Air		Rerata	STDEV
	Ulangan 1	Ulangan 2		
30	1.64	1.69	1.665	0.035355
45	1.73	1.85	1.79	0.084853
60	1.25	1.39	1.32	0.098995

Lama Inkubasi (menit)	% Kadar Abu		Rerata	STDEV
	Ulangan 1	Ulangan 2		
30	2.26	2.41	2.335	0.106066
45	2.58	2.67	2.625	0.06364
60	1.82	1.92	1.87	0.070711

Lama Inkubasi (menit)	% Kadar Lemak		Rerata	STDEV
	Ulangan 1	Ulangan 2		
30	15.34	15.82	15.58	0.339411
45	23.82	23.32	23.57	0.353553
60	9.1	9.17	9.135	0.049497

Lama Inkubasi (menit)	% WHC		Rerata	STDEV
	Ulangan 1	Ulangan 2		
30	332.98	303.87	318.425	20.58388
45	392.93	348.88	370.905	31.14805
60	357.8	359.23	358.515	1.011163

Lampiran 2. Hasil Pengukuran Pengaruh Lama Inkubasi terhadap Kadar Protein Terlarut (Lowry) dan Stabilitas Pengemulsi (ESI)

Lama Inkubasi (menit)	Absorbansi		Kadar Protein Terlarut (%)		Rerata	STDEV
	UL 1	UL 2	UL 1	UL 2		
30			36.38	36.64	36.51	0.183848
45			41.7	41.22	41.46	0.339411
60			38.92	39.42	39.17	0.353553

Lama Inkubasi	Waktu Emulsi (jam)	Abs	Turbidity	EAI (m ² /g)	ESI (jam)
a. 30 menit	0	0.236	54.3508	163.0524	
	0.167	0.173	39.8419	119.5257	0.625587
	0.333	0.167	38.4601	115.3803	1.138957
	1	0.131	30.1693	90.5079	2.247619
	2	0.105	24.1815	72.5445	3.603053
	24	0.1	23.03	69.09	41.64706
b. 45 menit	0	0.298	68.6294	205.8882	
	0.167	0.257	59.1871	177.5613	1.213805
	0.333	0.245	56.4235	169.2705	1.87234
	1	0.225	51.8175	155.4525	4.082192
	2	0.215	49.5145	148.5435	7.180723
	24	0.211	48.5933	145.7799	82.2069
c. 60 menit	0	0.344	79.2232	237.6696	
	0.167	0.329	75.7687	227.3061	3.829867
	0.333	0.325	74.8475	224.5425	6.029053
	1	0.321	73.9263	221.7789	14.95652
	2	0.295	67.9385	203.8155	14.04082
	24	0.224	51.5872	154.7616	68.8

Lampiran 3. Hasil Pengukuran Pengaruh Lama Inkubasi terhadap Kelarutan Protein (pada variasi pH dan konsentrasi garam) serta tekstur gel miofibril.

a. Kelarutan Protein pada Variasi pH

Variasi pH	Kadar Protein Terlarut (30 menit)	Kadar Protein Terlarut (45 menit)	Kadar Protein Terlarut (60 menit)
PH 5,03	0,100 mg/ml	0,079 mg/ml	0,112 mg/ml
PH 5,25	0,101 mg/ml	0,092 mg/ml	0,128 mg/ml
PH 5,49	0,108 mg/ml	0,112 mg/ml	0,136 mg/ml
PH 5,74	0,124 mg/ml	0,132 mg/ml	0,142 mg/ml
PH 6,01	0,136 mg/ml	0,168 mg/ml	0,155 mg/ml
PH 6,24	0,152 mg/ml	0,188 mg/ml	0,169 mg/ml
PH 6,51	0,172 mg/ml	0,212 mg/ml	0,174 mg/ml
PH 6,72	0,216 mg/ml	0,220 mg/ml	0,178 mg/ml
PH 7,01	0,276 mg/ml	0,232 mg/ml	0,180 mg/ml
PH 7,52	0,304 mg/ml	0,238 mg/ml	0,187 mg/ml
PH 8,00	0,324 mg/ml	0,244 mg/ml	0,216 mg/ml
PH 8,18	0,332 mg/ml	0,256 mg/ml	0,228 mg/ml

b. Kelarutan Protein pada Variasi Konsentrasi Garam (NaCl)

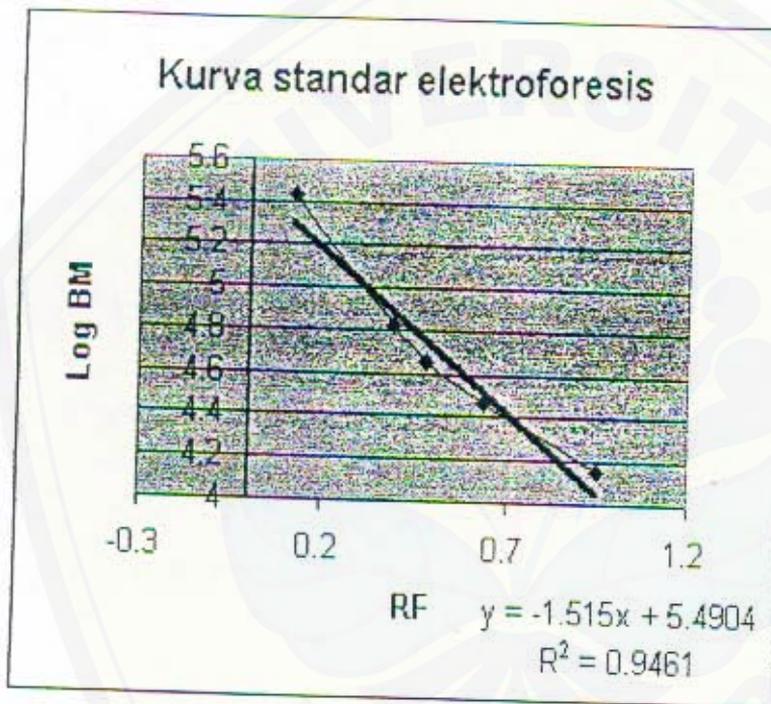
(NaCl)	Kadar Protein Terlarut (30 menit)	Kadar Protein Terlarut (45 menit)	Kadar Protein Terlarut (30 menit)
0 M	0,644 mg/ml	0,544 mg/ml	0,332 mg/ml
0,2 M	0,396 mg/ml	0,344 mg/ml	0,264 mg/ml
0,4 M	0,384 mg/ml	0,248 mg/ml	0,244 mg/ml
0,6 M	0,352 mg/ml	0,236 mg/ml	0,220 mg/ml
0,8M	0,308 mg/ml	0,176 mg/ml	0,214 mg/ml
1M	0,252 mg/ml	0,156 mg/ml	0,172 mg/ml

c. Tekstur Gel Miofibril

Lama Inkubasi (menit)	Tekstur gel (g/5 mm)			Rerata	STDEV
	UI 1	UI 2	UI 3		
30	40	37	43	40	3
45	59	55	54	56	2,645751
60	21	22	25	22,67	2,081666

Lampiran 4. Kurva Standart Elektroforesis dan Hasil Pengukuran Intensitas Warna dengan Colour Reader

RF	log BM	BM
0.125	5.434569	272000
0.391	4.819544	66000
0.484	4.653213	45000
0.641	4.462398	29000
0.953	4.152288	14200



Hasil Pengukuran Intensitas Warna

Lama Inkubasi	dL	da	db	L	a	b	c	H	W
30'	-38.9	2.5	5.2	55.5	-3.2	11.7	12.12	105.5	53.9
45'	-43.3	1.4	5.1	51.0	-4.3	11.6	12.39	110.5	49.5
60'	-36.9	1.2	3.4	57.5	-4.6	9.9	10.90	114.9	56.1

Lampiran 5. Kurva Standart Metode Lowry

X	Y
0.45	0.525
0.5	0.552
0.6	0.592
0.7	0.64
0.8	0.667
0.9	0.696
1	0.738
1.125	0.754
1.25	0.765
1.375	0.803
1.5	0.845
2	0.924

