



**KARAKTERISTIK MIOFIBRIL KERING  
IKAN KUNIRAN (*Upeneus Sp*) DIEKSTRAK  
MENGUNAKAN ENZIM PAPAIN  
DENGAN METODE PRESS PANAS**

**SKRIPSI**

*Oleh :*

**UCI NOVIAN**  
**011710101028**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2005**

Diterima oleh:  
Fakultas Teknologi Pertanian  
Universitas Jember  
Sebagai Karya Ilmiah Tertulis

---

Dipertahankan pada:

Hari : Senin  
Tanggal : 13 Pebruari 2006  
Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian  
Universitas Jember

Tim Penguji  
Ketua

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

Anggota I

Anggota II

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

Ir. Hj. Siti Hartanti, MS  
NIP. 130 890 066

Mengesahkan,  
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian  
Universitas Jember

Ir. Ach. Marzuki, M, MSIE  
NIP. 130 531 986.

**DOSEN PEMBIMBING:**

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

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

**Ir. Hj. Siti Hartanti, MS. (DPA II)**

## MOTTO

*“Barang Siapa Yang Memberi Kemudahan Kepada Orang Yang Sedang Kesulitan Maka Allah Akan Memudahkan kepadanya Di dunia dan Akhirat”*  
(HR, Ibnu Majah)

*“Dari Penderitaan Aku Mengerti Arti Kebahagiaan, Dari Kegagalan Aku Belajar Mencapai Kesuksesan, Dan Dari Keterpurukan Aku Jadikan Pelajaran Untuk Menuju Kebangkitan”*  
(Inside of Me)

*“Fikirkan itu Sebagai Pelita Hati, Jika Ia Padam Maka Tidak Ada Penerangan Baginya”*  
(Al. Hikam)

## PERSEMBAHAN

**Syukurku Kepada-Mu ya Allah SWT,**

Karya ini Dipersembahkan Kepada :

*Keluargaku tercinta (Mama, Papa, Adekku Tito dan Jevi, Ibu Ti dan Alm. Bpk Sofyan), Thanks atas semua kasih sayang, dukungan dan bimbingannya. Aku sangat menyayangi kalian semua.*

*Tak lupa pula terima kasihku kepada :*

- ☞ Seseorang yang sangat kucintai, kini telah berada di surga (Pramoedya Ananta Toer). Mas, impianmu selama ini telah aku selesaikan. Aku mohon mas tetap bersamaku di setiap langkahku. Kasih sayang, perhatian dan dukunganmu sangat berharga bagiku.
  
- ☞ Dosen-dosen bimbinganku (Pak Bagio, Bu Wiwik dan Ba Tanti). Terima kasih atas kesabaran dan kebaikan hatinya dalam membimbingku menyelesaikan skripsi ini.
  
- ☞ Seseorang yang sangat dekat denganku saat ini (Ahmad Hidayat), thanks ya, kamu telah mengembalikan semangat hidupku.

☞ Sahabat<sup>xx</sup> qu di JC (Jember Club), ada t-Ta, Vivi, Sofie, Yanti, Weni, Maria dan Nita. Thanks atas dukungannya, waktu kebersamaan kita adalah kenangan terindah yang selalu tersimpan dalam hatiku.

☞ Semua pihak yang telah membantuku dalam penyelesaian skripsi ini, aku ucapkan terima kasih. Semoga Allah SWT selalu memberikan rahmat-Nya kepada kita semua.... Amien.....

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulisan Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi) ini dapat selesai. Penulisan skripsi ini dapat selesai berkat bantuan yang begitu besar baik secara moril maupun spiritual, langsung maupun tidak langsung yang telah diberikan oleh berbagai pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada:

1. Ir. Achmad Marzuki M., MSIE selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
2. Dr. Ir. Maryanto, M.Eng selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember selaku Dosen Wali yang telah memberikan bimbingan akademis selama penulis menjalani pendidikan di Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
3. Dr. Ir. Achmad Subagio, M.Agr. selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU), terima kasih telah memberikan kesempatan, fasilitas, bantuan dan bimbingannya selama penelitian dan penulisan skripsi ini berlangsung.
4. Ir. Wiwik Siti Windrati, MP. selaku Dosen Pembimbing Anggota (DPA) I yang telah memberikan bantuan, bimbingannya selama penelitian dan penulisan skripsi ini berlangsung.
5. Ir. Hj. Siti Hartanti, MS. selaku Dosen Pembimbing Anggota (DPA) II yang telah memberikan bantuan, bimbingannya pada penelitian dan penulisan skripsi ini berlangsung.
6. Teman-teman THP 2001, terima kasih atas bantuan dan doanya.

Penulis mohon maaf yang sebesar-besarnya apabila selama dalam penyusunan laporan ini banyak berbuat kesalahan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan memberikan informasi yang berguna bagi semua pihak yang membutuhkan, Amin.

Jember, Februari 2006

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>DOSEN PEMBIMBING</b> .....	<b>iii</b>
<b>MOTTO</b> .....	<b>iv</b>
<b>PERSEMBAHAN</b> .....	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xiii</b>
<b>ABSTRAKSI</b> .....	<b>xiv</b>
<b>I. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Ikan dan Komposisinya .....	4
2.2 Protein Ikan.....	6
2.2.1 Protein Miofibril.....	6
2.2.2 Protein Sarkoplasma .....	7
2.2.3 Protein Stroma .....	7
2.3 Sifat Fungsional Protein .....	8
2.3.1 Kelarutan Protein.....	8
2.3.2 Water Holding Capacity (WHC).....	9
2.3.3 Daya Emulsi .....	9

2.4	Hidrolisis Protein Ikan.....	9
2.4.1	Enzim Papain.....	12
2.4.2	Denaturasi Protein .....	12
2.5	Elektroforesis SDS-PAGE.....	13

### **III.METODOLOGI PENELITIAN**

3.1	Bahan dan Alat.....	15
3.1.1	Bahan Penelitian .....	15
3.1.2	Alat Penelitian .....	15
3.2	Tempat Dan Waktu Penelitian .....	15
3.3	Metode Penelitian.....	16
3.3.1	Persiapan Sampel.....	16
3.3.2	Waktu Inkubasi Sebagai Parameter.....	16
3.4	Parameter Pengamatan .....	18
3.5	Prosedur Analisa .....	19
3.5.1	Kadar Air (Sudarmadji, 1997).....	19
3.5.2	Kadar Abu (Sudarmadji, 1997) .....	19
3.5.3	Kadar Lemak (Sudarmadji, 1997) .....	19
3.5.4	Water Holding Capacity (Subagio,dkk., 2003) .....	20
3.5.5	Kadar Protein Terlarut (Metode Lowry).....	20
3.5.6	Angka Ketengikan (TBA) .....	21
3.5.7	Stabilitas Pengemulsi (Parkington, dkk., 2000) .....	21
3.5.8	Kelarutan Protein Terhadap pH (Metode Bradford).....	22
3.5.9	Kelarutan Protein Terhadap Garam (Metode Bradford).....	22
3.5.10	Penentuan Berat Molekul dengan Elektroforesis SDS-PAGE.....	22

#### **IV. PEMBAHASAN**

4.1 Kandungan Kimia .....	24
4.2 Water Holding Capacity (WHC) .....	26
4.3 Daya Pengemulsi .....	28
4.4 Kelarutan Protein Terhadap pH .....	30
4.5 Kelarutan Protein Terhadap Garam NaCl .....	31
4.6 Angka Ketengikan (TBA) .....	33
4.7 Penentuan Berat Molekul Dengan Elektroforesis SDS-PAGE .....	34

#### **V. KESIMPULAN DAN SARAN**

5.1 Kesimpulan .....	37
5.2 Saran .....	37

<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	38
-----------------------------	----

#### **LAMPIRAN**

## DAFTAR TABEL

	Halaman
<b>Tabel 1.</b> Komposisi Asam-asam Amino Protein Ikan .....	4
<b>Tabel 2.</b> Komposisi Kimia Ikan Kuniran ( <i>Upeneus sp.</i> ) .....	5
<b>Tabel 3.</b> Komposisi Protein Miofibril, Sarkoplasma, dan Stroma pada Daging Ikan.....	6
<b>Tabel 4.</b> ESI Miofibril Kering Ikan Kuniran.....	28
<b>Tabel 5.</b> Hasil Perhitungan Berat Molekul Fraksi Protein Miofibril.....	35

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
<b>Gambar 1.</b> Hidrolisis Ikatan Peptida Oleh Enzim Protease .....	11
<b>Gambar 2.</b> Diagram Alir Preparasi Miofibril Kering Ikan Kuniran .....	17
<b>Gambar 3.</b> Histogram Kandungan Kimia Miofibril Kering Ikan Kuniran.	24
<b>Gambar 4.</b> Histogram WHC Miofibril Kering Ikan Kuniran.....	27
<b>Gambar 5.</b> Kurva EAI Miofibril Kering Ikan Kuniran .....	29
<b>Gambar 6.</b> Grafik Kelarutan terhadap pH Miofibril Kering Ikan Kuniran	30
<b>Gambar 7.</b> Grafik Kelarutan terhadap Garam Miofibril Kering Ikan Kuniran.....	32
<b>Gambar 8.</b> Angka Ketengikan (TBA) Miofibril Kering Ikan Kuniran.....	33
<b>Gambar 9.</b> Elektroforesis SDS-PAGE dari Miofibril Kering Ikan Kuniran.....	36

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
<b>Lampiran 1.</b> Hasil Pengukuran Kandungan Kimia dan WHC pada Miofibril Kering Ikan Kuniran .....	41
<b>Lampiran 2.</b> Persen Water Holding Capacity pada Miofibril Kering Ikan Kuniran .....	42
<b>Lampiran 3.</b> Persen Angka Ketengikan (TBA) pada Miofibril Kering Ikan Kuniran.....	42
<b>Lampiran 4.</b> Hasil Pengukuran Stabilitas Pengemulsi pada Miofibril Kering Ikan Kuniran. ....	43
<b>Lampiran 5.</b> Hasil Pengukuran Kelarutan Protein terhadap Variasi pH dan Konsentrasi Garam (NaCl) pada Miofibril Kering Ikan Kuniran.....	44
<b>Lampiran 6.</b> Berat Molekul Miofibril Kering Ikan Kuniran dengan Elektroforesis SDS-PAGE. ....	45
<b>Lampiran 7.</b> Grafik Persamaan Log BM Elektroforesis SDS-PAGE .....	46

UCI NOVIAN (011710101028), **Karakteristik Miofibril Kering Ikan Kuniran (*Upeneus Sp.*) Diekstrak Menggunakan Enzim Papain Dengan Metode Press Panas**, dibimbing oleh Dr. Ir. Achmad Subagio, M.Agr. (DPU) dan Ir. Wiwik Siti Windrati, MP. (DPA).

## ABSTRAKSI

Ikan Kuniran (*Upeneus Sp.*) merupakan salah satu jenis ikan dengan nilai ekonomis rendah yang memiliki komponen gizi protein yang tinggi, namun tetapi pemanfaatannya belum optimal. Ikan Kuniran memiliki ciri-ciri fisik sebagai berikut: panjang rata-rata 20-22 cm, memiliki ekor dan sebuah garis kuning horisontal sepanjang tubuhnya, serta memiliki sungut dibagian dagu untuk mencari makan di dalam pasir, hidup di daerah beriklim tropis / subtropis dan mendiami pantai yang sedikit berlumpur dengan kedalaman 100 m. Protein ikan terdiri atas protein miofibril, protein sarkoplasma, dan protein stroma. Pada penelitian ini pengembangan produk ikan kuniran lebih diarahkan pada pembuatan miofibril kering diekstrak menggunakan enzim papain dan dikeringkan dengan metode press panas untuk memperpanjang umur simpan.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh informasi tentang sifat-sifat fungsional dari miofibril kering ikan kuniran diekstrak menggunakan enzim papain dengan metode press panas. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai perbaikan maupun penurunan sifat dan karakteristik dari miofibril kering ikan kuniran diekstrak menggunakan enzim papain dengan metode press panas yang dapat digunakan dalam aplikasi pengolahan pangan.

Preparasi sampel berupa Ikan kuniran segar dibuang sisik, isi perut dan kepalanya kemudian dicuci bersih, daging ikan harus berada dalam kondisi dingin dengan cara ditambahkan es batu. Daging yang telah bersih kemudian digiling dengan penggiling daging selama dua kali pengulangan sehingga didapat daging yang halus. Menambahkan aquadest dengan perbandingan 1:1, inkubasi selama 10 menit pada suhu 40<sup>0</sup> C. Setelah itu timbang enzim papain 1/2000 dari berat daging giling masukkan dan aduk, kemudian diinkubasi dengan waktu 30, 45, 60 menit, terus diaduk tiap 3 menit. Setelah diinkubasi dipanaskan pada suhu 90<sup>0</sup> C selama 3 menit untuk inaktivasi enzim, lalu dinginkan. Selanjutnya penyaringan untuk memisahkan daging dari durinya. Tambahkan aquadest pH 7 pada larutan 1:1. Larutan disentrifuse 2 kali dengan kecepatan sama hingga diperoleh endapan miofibril. Endapan miofibril yang telah diperoleh diratakan pada lempengan besi yang dilapisi aluminium foil, kemudian dipress panas dengan menggunakan pompa hidrolik press panas pada suhu 200<sup>0</sup>F, tekanan 1500 Kpa selama 15 menit. Hasil pengepresan berupa rendemen miofibril semi kering dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 50<sup>0</sup>C selama 2-5 jam. Hasil akhir diperoleh protein miofibril kering

Hasil penelitian, menunjukkan kandungan kimia pada inkubasi 60menit paling tinggi dengan kadar protein 18,34%, kadar abu 2,16%, kadar lemak 5,92%, walaupun kadar airnya rendah 7,24%. Nilai WHC untuk variasi inkubasi 30,45,dan 60 menit berturut-turut adalah: 221,49%; 204,07%; dan 210,10%. ESI sampel miofibril kering berturut-turut adalah 31,65; 59,44; dan 54,21. Dengan EAI paling baik pada inkubasi 45 menit. Pada pH 7,8 kelarutan protein terhadap pH tinggi, sedangkan terhadap garam pada konsentrasi garam 0,2M terjadi penurunan kelarutan protein. Angka ketengikan TBA miofibril kering ikan kuniran paling tinggi pada variasi inkubasi 60 menit, sebesar 0,1 Mmol/kg. Hasil elektroforesis SDS-PAGE diperoleh berat molekul (BM) MHC 204314,88D dan Tropomiosin 38586,02D.

**Kata kunci :** Ikan kuniran (*Upeneus Sp.*), Karakterisasi Miofibril Kering Ikan Kuniran, Ekstraksi, Enzim Papain, Preee Panas.

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara kepulauan dimana 75% dari bagian wilayahnya merupakan lautan yang kaya akan keanekaragaman hasil laut terutama hasil perikanan. Akan tetapi pemanfaatan sumber daya perikanan tersebut belum optimal, sebagian besar hasil perikanan dikonsumsi sebagai bahan lauk pauk, karena sifat ikan yang mudah rusak. Pada dasarnya, ikan adalah bahan pangan yang banyak mengandung zat gizi terutama protein, dengan nilai protein tinggi karena terdiri dari asam-asam amino esensial yang sangat dibutuhkan bagi tubuh. Kandungan protein daging ikan berkisar antara 15-24%, sedangkan kadar lemak antara 0,99-11,6%, mineral 2% dan vitamin 0,8% terutama vitamin A dan D (Moelyanto, 1992).

Produksi dan nilai gizi yang tinggi pada daging ikan maka diperlukan diversifikasi dalam pemanfaatan ikan guna meningkatkan ragam produknya. Dengan adanya keanekaragaman produk pangan dari bahan dasar ikan maka diharapkan dapat mengatasi masalah yang berhubungan dengan sifat ikan yang mudah rusak dalam penyimpanan dan produksinya yang melimpah.

Salah satu jenis ikan yang banyak dikonsumsi adalah ikan kuniran (*Upeneus Sp.*). Ikan kuniran merupakan jenis ikan bermutu rendah (inferior) dan harganya relatif murah. Komposisi daging kuniran sebagian besar adalah protein (15,43%) (Anonim, 2003). Protein pada ikan terdiri dari protein miofibril, protein sarkoplasma dan protein stroma. Ketiga jenis protein tersebut dapat dimanfaatkan dalam diversifikasi pengolahan bahan pangan, misalnya: surimie, nugget, kecap, petis dan sebagai bahan pembangkit aroma.

Protein miofibril (protein otot) merupakan bagian terbesar dalam daging ikan yang memiliki kandungan myosin, aktin, tropomyosin dan aktomyosin yang dapat berperan dalam pembentukan gel dan proses koagulasi serta bersifat larut dalam garam (Hall dan Ahmad, 1992). Salah satu cara untuk memisahkan miofibril dari jenis protein lain pada ikan adalah dengan hidrolisis enzimatis.

Hidrolisis enzimatis adalah suatu proses pemecahan substrat (protein ikan) menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana dengan bantuan enzim dan molekul air. Salah satu enzim yang dapat digunakan dalam proses ekstraksi protein miofibril pada ikan kuniran adalah enzim papain. Dalam proses ekstraksi hidrolisis enzimatis, enzim papain membantu pemutusan rantai polipeptida menjadi peptida-peptida pendek dan asam amino dengan cara melepaskan molekul air sehingga terjadi pengikatan (agregasi) pada rantai peptida-peptida pendek, ditandai dengan penurunan integritas daging. Lama hidrolisis yang berbeda menyebabkan munculnya sifat fungsional yang berbeda pada protein miofibril hasil ekstraksi. Hal ini sangat berpengaruh terhadap hasil olahan pangan apabila protein miofibril ikan diaplikasikan dalam diversifikasi pangan.

Sifat dari protein yang mudah terdenaturasi oleh panas menyebabkan waktu/ lama proses hidrolisis sangat berperan penting dalam menghasilkan protein miofibril dengan sifat yang menguntungkan.

Sifat kedua dari protein miofibril yang merugikan adalah mudah rusak selama penyimpanan. Untuk mengatasi hal tersebut, maka penyimpanan protein miofibril harus dalam keadaan kering. Dua teknik untuk memperoleh protein miofibril kering adalah dengan press panas dan pengeringan dingin (Freeze drier). Protein miofibril kering dengan metode press panas memiliki keunggulan dibandingkan dengan menggunakan freeze drier, karena akibat proses pemanasan menyebabkan miofibril dalam keadaan kering sempurna dan aroma dari ikan muncul sehingga dapat menambah cita rasa dan selera untuk mengkonsumsi, apabila diaplikasikan dalam produk pangan. Protein miofibril kering ikan kuniran baik hasil metode pengeringan dengan press panas maupun freeze drier memiliki karakteristik yang berbeda sehingga berpengaruh terhadap pengaplikasian terhadap produk pangan olahan. Oleh karena itu perlu adanya karakterisasi sifat fungsional dari protein miofibril kering agar diperoleh produk pangan yang bermutu dan bernilai gizi tinggi.

## **1.2 Perumusan Masalah**

Hidrolisis enzimatis dapat mempermudah ekstraksi protein miofibril dari jaringan daging ikan melalui pemutusan polipeptida menjadi peptida-peptida pendek dan asam amino. Berbedanya lama proses hidrolisis menyebabkan jumlah rantai peptida pendek dan asam-asam amino yang terbentuk berbeda sehingga akan menghasilkan sifat fungsional dari protein miofibril yang berbeda pula. Permasalahannya belum diketahui bagaimana pengaruh lama inkubasi dan pengepresan panas terhadap karakteristik miofibril kering yang dihasilkan dengan menggunakan bahan ikan kuniran.

## **1.3 Tujuan Penelitian**

- a. Mengetahui pengaruh lama hidrolisis enzimatis terhadap karakteristik miofibril kering ikan kuniran.
- b. Mengetahui pengaruh pengepresan dengan suhu tinggi terhadap karakteristik miofibril kering ikan kuniran.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

- a. Sebagai bahan informasi dalam usaha diversifikasi pengolahan pangan tentang proses hidrolisis enzimatis yang tepat untuk menghasilkan protein miofibril kering yang baik.
- b. Dapat meningkatkan daya dan nilai guna dari ikan yang bernilai ekonomis rendah.
- c. Membantu proses pengaplikasian protein miofibril kering dengan karakteristik yang sudah diketahui.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Ikan dan Komposisinya

Ikan merupakan salah satu bahan pangan yang berprotein tinggi. Pada daging ikan terdapat senyawa-senyawa yang sangat potensial bagi tubuh karena terdiri dari 75% oksigen, 10% hidrogen, 9,5% karbon dan 2,5% nitrogen. Berdasarkan hasil penelitian, daging ikan memiliki komposisi kimia terdiri dari air (60-84%), protein (18-30%), lemak (0,1-2,2%), karbohidrat (0,1%), vitamin dan mineral sisanya (Afrianto dan Liviawaty, 1989).

Menurut Syarief dan Irawati (1986), protein ikan banyak mengandung asam amino essensial yang sangat dibutuhkan oleh tubuh. Selain itu protein ikan juga mempunyai daya cerna yang tinggi. Adapun komposisi asam-asam amino secara lengkap dapat dilihat pada **Tabel 1**.

**Tabel 1.** Komposisi Asam-asam Amino Protein Ikan.

Asam Amino	Jumlah (% protein)
Arginin	6,4
Histidin	2,5
Isoleusin	5,5
Leusin	8,5
Lisin	9
Metionin	3,7
Sistein	1
Fenilalanin	4,7
Tirosin	3,9
Treonin	5,1
Triptofan	1,5
Valin	6,1

*Sumber: Parakkasi, 1980.*

Indonesia memiliki potensi perikanan yang sangat besar. Salah satu jenis ikan di Indonesia yang merupakan jenis ikan rucah (nilai ekonomis rendah) dan memiliki kadar lemak rendah, adalah ikan kuniran (*Upeneus* Sp.). Jumlah ikan kuniran memiliki prosentase yang tinggi di Indonesia, tetapi pemanfaatannya masih rendah (Murtidjo, 2001).

Klasifikasi ikan kuniran dalam sistem taksonomi hewan, sebagai berikut:

Kelas : Actinopterygli (Ray Finned Fishes)

Ordo : Perciformes

Famili : Mullidae (Gost Fish)

Genus : Mulloidcthys

Spesies : *Upeneus* (Anonim, 2003)

Ada beberapa spesies ikan kuniran yang telah dapat diidentifikasi dengan cukup jelas, diantaranya adalah *Upeneus molecuciensis* dan *Upeneus sundaicus*. Kedua jenis ini memiliki ciri-ciri fisik sebagai berikut: panjang rata-rata 20-22 cm, memiliki ekor dan sebuah garis kuning horisontal sepanjang tubuhnya, serta memiliki sungut dibagian dagu untuk mencari makan di dalam pasir. Ikan ini hidup di daerah beriklim tropis / subtropis dan mendiami pantai yang sedikit berlumpur dengan kedalaman 100 m. Secara umum komposisi kimia ikan kuniran dapat dilihat pada **Tabel 2**.

**Tabel 2.** Komposisi Kimia Ikan Kuniran (*Upeneus* Sp.)

Komponen	Jumlah (%)
Protein	15,43
Lemak	0,46
Abu	0,77
Air	84,29

Sumber: Murtidjo, 2001

Menurut Dier dan Dingie (1961), daging ikan secara umum dibedakan menjadi daging merah (gelap) dan daging putih. Perbedaan tersebut terletak pada kandungan mioglobin yang tidak sama dari kedua daging tersebut. Daging putih

memiliki kadar protein lebih tinggi dan kadar lemak lebih rendah dibandingkan dengan daging merah. Sedangkan menurut Suzuki (1981), daging merah terdapat disepanjang tubuh bagian samping di bawah kulit, sedangkan daging putih hampir diseluruh bagian tubuh.

## 2.2 Protein Ikan

Protein adalah molekul yang terbentuk dari bermacam-macam asam amino dalam jumlah besar dan terhubung oleh ikatan peptida. Secara struktur, protein terbentuk dari atom-atom karbon, hidrogen, oksigen dan nitrogen serta banyak juga yang mengandung sulfur dan pospor. Protein ikan merupakan protein pada jaringan daging ikan. Protein merupakan bagian terbesar setelah air, dan diperkirakan mencapai nilai 11%-27% (Shahidi dan Botta, 1994). Protein ikan sangat mudah rusak/ terdenaturasi akibat proses pengolahan (Soeparno, 1992). Protein ikan dapat diklasifikasikan menjadi 3 golongan, yaitu protein *sarkoplasma*, *miofibril* dan *stroma*. Komposisi protein ikan tersebut bervariasi menurut jenis dan spesiesnya. Secara umum komposisi ketiga protein disajikan pada **Tabel 3**.

**Tabel 3.** Komposisi Protein Miofibril, Sarkoplasma, dan Stroma pada Daging Ikan.

Fraksi Protein	Jumlah (%)
Miofibril	65-75
Sarkoplasma	20-30
Stroma	1-3

Sumber: Fennema (1976)

### 2.2.1 Protein Miofibril

Protein miofibril merupakan bagian terbesar dalam jaringan daging ikan, dimana protein ini bersifat larut dalam garam (Hall dan Ahmad, 1992). Miofibril tersusun dari benang-benang yang lebih halus (miofilamen).

Protein miofibril berfungsi untuk kontraksi otot. Protein ini dapat diekstrak dengan larutan garam netral yang berkekuatan ion sedang ( $>0,5$  M). Penampakan protein miofibril ikan mirip dengan otot hewan mamalia, hanya lebih mudah kehilangan aktivitas ATP-asenya dan laju agregasinya lebih cepat. Daging ikan yang ditambahkan garam mengakibatkan protein miofibril larut dalam garam. Protein miofibril yang terlarut mengakibatkan miosin mudah berikatan dengan aktin membentuk aktomiosin. Aktomiosin berperan dalam pembentukan gel (Suzuki, 1981).

### **2.2.2 Protein sarkoplasma**

Protein sarkoplasma merupakan protein yang larut dalam air dan secara normal ditemukan di dalam plasma sel dimana protein tersebut berperan sebagai enzim yang diperlukan untuk metabolisme anaerob sel otot. Protein sarkoplasma/miogen terdiri dari inti sel, mitokondria, mikrosom, subs golsi, fibroblas, serta substrat seperti pasir. Protein sarkoplasma tidak berperan dalam pembentukan gel dan kemungkinan mengganggu proses pembentukan gel *ashi*, misalnya beberapa protease yang merusak miofibril (Hall dan Ahmad, 1992). Hal ini disebabkan karena protein sarkoplasma dapat melekat atau mengendap pada protein miofibril sewaktu daging ikan dipanaskan, fenomena tersebut menghalangi pembentukan gal dalam pemasakan daging ikan (Martin, 1980).

Protein sarkoplasma dapat dihilangkan dengan cara mengekstrak daging ikan menggunakan air dingin, pencucian dengan menggunakan suhu dingin bertujuan untuk mempetahankan protein miofibril agar tidak mengalami kerusakan seperti denaturasi (Suzuki, 1981).

### **2.2.3 Protein stroma**

Protein stroma adalah protein yang membentuk jaringan ikat. Komponen penyusun protein ini adalah kolagen dan elastin. Menurut Hall dan Ahmad (1992), pada pengolahan *surimi* protein stroma tidak dihilangkan karena mudah dilarutkan oleh panas dan merupakan komponen 'netral' pada produk akhir. Protein stroma tidak dapat dihilangkan oleh larutan asam, alkali atau garam berkekuatan ion

tinggi. Selain protein stroma, protein kontraktif seperti konektin dan desmin juga tidak terekstrak. Daging merah ikan pada umumnya mengandung lebih banyak stroma tetapi lebih sedikit mengandung sarkoplasma jika dibandingkan dengan daging putih ikan (Junianto, 2003).

### **2.3 Sifat Fungsional Protein**

Sifat fungsional adalah sifat fisiokimia protein yang mempengaruhi tingkah lakunya dalam sistem pangan selama preparasi bahan, proses pengolahan, penyimpanan dan berperan terhadap kualitas keadaan sensoris dari sistem makanan (Zayas, 1997). Perbedaan sifat fungsional pada tiap jenis protein disebabkan karena perbedaan pada struktur primer, sekunder, tersier dan quartener (Marsili, 1993).

#### **2.3.1 Kelarutan protein**

Kelarutan protein menunjukkan jumlah protein dalam sampel yang dapat larut dalam pelarut dan dipengaruhi oleh pH tinggi (kondisi basa) (Zayas, 1997). Daya larut protein diukur dari nilai atau prosentase protein yang tertinggal dalam suspensi setelah disentrifugasi. Metode yang biasanya digunakan yaitu dengan cara diaduk menggunakan stirrer mekanik, mengakibatkan kondisi yang berbeda dengan cara sentrifugasi. Peningkatan kecepatan sentrifugasi akan menurunkan protein terlarut (Matthews, 1989). Daya larut protein mempengaruhi proses pengolahan produk pangan. Apabila daya larut protein tinggi menyebabkan baik untuk produk pangan.

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.

### **2.3.2 Water Holding Capacity (WHC)**

*Water Holding Capacity* merupakan kemampuan protein untuk menyerap air dan menahannya dalam sistem pangan. Hal ini disebabkan 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. Daya serap air protein fungsional sangat penting perannya dalam makanan panggang (*baked goods*) 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 custards, sosis, dan oat meal (Cheryan, et al., 1976). Disamping itu, sifat menahan air akan memperlambatkan kesegaran makanan, misalnya pada roti dan biskuit (Koswara, 1995).

### **2.3.3 Daya Emulsi**

Daya emulsi adalah kemampuan protein untuk membentuk emulsi dan mempertahankan stabilitas emulsi tersebut. Sifat ini dipengaruhi oleh kadar protein dan tingkat kelarutannya, dimana erat hubungannya dengan *Nitrogen Solubility Index* (NSI) (Koswara, 1995). Emulsi makanan diklasifikasikan sebagai emulsi makro dengan ukuran tetes 0,2-50  $\mu\text{m}$  (Zayas, 1997). Stabilitas emulsi penting karena *emulsifier* tergantung pada kemampuannya memelihara sistem emulsi pada saat mengalami pemasakan atau pemanasan (Sugijanto dan Manulang, 2001). Sifat ini penting dalam pembuatan sosis, mayonnais, dan roti (Richardson, 1975).

## **2.4 Hidrolisis Protein Ikan**

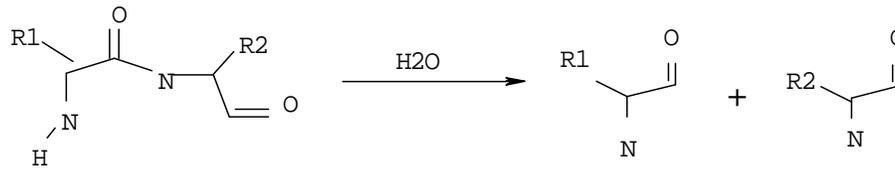
Hidrolisis protein ikan dapat dilakukan dengan asam, basa, maupun enzim. Menurut Pigott dan Tucker (1990), hidrolisis protein ikan akan menghasilkan produk cairan yang dibuat dari ikan dengan penambahan enzim proteolitik untuk mempercepat proses hidrolisis dalam kondisi terkontrol dengan hasil akhir 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<sup>0</sup>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 didapatkan hasil hidrolisa 18-20 macam asam amino. Dengan menggunakan teknik hidrolisis, daging ikan akan menghasilkan senyawa asam amino L, nukleotida dan berbagai macam peptida (Maga, 1998).

Hidrolisa protein secara enzimatik lebih menguntungkan dibandingkan pengguna asam atau basa. Beberapa keuntungannya antara lain adalah pengolahan menjadi lebih cepat dan tingkat kehilangan asam amino lebih rendah. 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.



**Gambar 1. Hidrolisis Ikatan Peptida Oleh Enzim Protease.**

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, seubstrat, 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).

### **2.4.1 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 yang terdapat pada pepaya. Secara praktis getah dari buah pepaya lebih mudah diproses. Berdasarkan sifat kimia dan lokasi aditifnya papain termasuk enzim protease sulfhidril karena punya residu sulfhidril pada sisi aktifnya, aktif dalam ikatan peptida dan bagian dalam dari polimer asam amino. Enzim papain diaktivasi oleh senyawa pereduksi dan dinaktifasi oleh senyawa oksidator. Aktivitas optimum pada pH 5-7 atau temperatur 50-60°C serta akan menurun drastis pada pH dibawah 3 atau diatas 11. berat molekul dari enzim papain adalah 23000 dalton, tersusun atas 121 asam amino dengan tiga ikatan disulfida. Papain punya dua gugus akhir yaitu sistein 25 dan histidin 158 (Suhartono, 1992).

### **2.4.2 Denaturasi protein**

Bila susunan ruang atau polipeptida suatu molekul protein berubah, maka dikatakan protein tersebut mengalami denaturasi. Proses denaturasi protein terjadi jika struktur sekunder, tersier, kuaterner, berubah namun struktur primernya tetap. Bentuk molekulnya mengalami perubahan, karena terjadi pembukaan molekul tanpa mengganggu urutan asam aminonya. Jika ikatan-ikatan yang membentuk konfigurasi molekul tersebut rusak, molekul akan membuka. (Winarno, 1995).

Denaturasi protein dapat terjadi oleh adanya panas, pH, bahan kimia, mekanik dan sebagainya. Masing-masing faktor tersebut mempunyai pengaruh yang berbeda terhadap tingkat denaturasi protein (Gaman, 1984).

## 2.5 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 dan oleh karena itu mampu bergerak apabila ditempatkan dalam medan listrik.

Teknik yang paling sering digunakan adalah SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis). Dasar metode ini adalah molekul pengisi akan bermigrasi di medan listrik pada kecepatan yang dibatasi oleh ukuran berat molekul protein dan suplai tenaga listrik. Medan listrik di sini diaplikasikan sebagai jarak lintas lembaran polimer (poliakrilamida) yang bertindak sebagai pembawa bagi pergerakan molekul. Sebelum memasuki medan listrik, protein didenaturasi dengan kondisi perusakan yang ekstrim (seperti panas, deterjen pendenaturasi, agen reduksi disulfida dan beberapa agen chaotropik seperti urea), dan dilapisi dengan anionik deterjen, SDS. Dalam keadaan terdenaturasi, sebagian besar protein akan mengikat SDS di rasio berat konstan, maka ketika protein berhenti akan mempunyai kepadatan isi yang serupa. Berdasarkan kondisi ini, kecepatan migrasi protein di medan listrik tidak tergantung pada sifat muatan molekul, tetapi lebih banyak dipengaruhi semata-mata oleh ukuran berat molekul. Protein sampel akan diisikan pada sumur-sumur di gel atas, di mana akan kontak dengan buffer tandon, dan Dempet dengan 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 dijalankan, dibutuhkan suatu cara untuk memvisualisasikan band dari protein-protein tersebut. Cara yang paling umum digunakan adalah dengan coomassie blue staining dan silver staining. Silver staining lebih sensitif dibandingkan coomassie blue staining, oleh karena itu dapat dipergunakan untuk mendeteksi keberadaan kontaminan protein minor pada sampel; tetapi tidak direkomendasikan untuk analisa kuantitatif. Coomassie blue staining lebih sedikit mengalami komplikasi dibandingkan dengan silver staining.

Keuntungan dari coomassie blue staining adalah luas warna dari protein yang berbeda dapat terjaga, maka dapat digunakan untuk memperkirakan kuantitatif relatif dari protein yang berbeda dengan membandingkan intensitas pita densitometrik . Berat molekul dan protein target dapat ditetapkan dengan membandingkan dengan mobilitas relatif dari standar tersebut (Copeland, 1994).

### **III. METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Bahan dan Alat**

##### **3.1.1 Bahan Penelitian**

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan kuniran segar yang diperoleh dari pasar Tanjung Jember. Ikan yang akan diolah harus dalam keadaan bersih dari kepala dan isi perut. Sedangkan bahan kimia yang digunakan meliputi aquadest, aquadest pH 7 dingin, enzim papain, NaOH 2N, reagen Mix Lowry, reagen Folin, NaCl, Buffer phospat 0,05M pH 7, larutan Coomassie Blue, Minyak sawit, larutan 0,1% SDS, reagen TBA, 1 isobutanol, etanol, urea 8M dalam buffer phospat pH 7, buffer elektroforesis, stacking gel, resolving gel, coomasie blue staining dan destaining.

##### **3.1.2 Alat Penelitian**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi : Penggiling, timbangan analitis, beaker glass, water bath, penangas air, pompa hidrolis press panas, tabung sentrifuse, tabung reaksi, sentrifuse dingin dan tabungnya, botol timbang, krus porselin, spectronic 21D, magnet stirer, sentrifuse kecil merk Kurabo, muffle, oven, blender, eksikator, vortex, pipet, labu ukur, pH meter, termometer, kain saring, soxhlet dan perlengkapan elektroferesis SDS-PAGE.

#### **3.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pengendalian Mutu Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari 2005 – Mei 2005.

### 3.3 Metode Penelitian

#### 3.3.1 Persiapan Sampel

Ikan segar dibuang sisik, isi perut dan kepalanya kemudian dicuci bersih, daging ikan harus berada dalam kondisi dingin dengan cara ditambahkan es batu. Daging yang telah bersih kemudian digiling dengan penggiling daging selama dua kali pengulangan sehingga didapat daging yang halus. Menimbang berat daging yang telah digiling (gram), menambahkan aquadest dengan perbandingan 1:1. Masukkan campuran daging ikan giling dan air kedalam beaker glass dan inkubasi selama 10 menit pada suhu 45<sup>0</sup> C. Setelah itu timbang enzim papain 1/2000 dari berat daging giling masukkan dan aduk, kemudian diinkubasi dengan waktu 30 menit, 45 menit, 60 menit dan terus diaduk tiap 3 menit. Untuk menginaktivkan enzim, setelah diinkubasi dipanaskan pada suhu 90<sup>0</sup> C selama 3 menit, dinginkan. Selanjutnya dilakukan penyaringan untuk memisahkan duri-duri dengan larutan. Tambahkan aquadest pH 7 pada larutan 1:1. Larutan disentrifuse (8000 rpm, 10 menit, 4<sup>0</sup> 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 miofibril. Endapan miofibril yang telah diperoleh diratakan pada lempengan besi yang dilapisi aluminium foil, kemudian dipress panas dengan menggunakan pompa hidrolis press panas pada suhu 200<sup>0</sup>F, tekanan 1500 Kpa selama 15 menit. Hasil pengepresan berupa rendemen miofibril semi kering dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 50<sup>0</sup>C selama 2-5 jam. Hasil akhir diperoleh protein miofibril kering yang siap dianalisa. Untuk lebih mudahnya dapat dilihat pada **Gambar 2**.

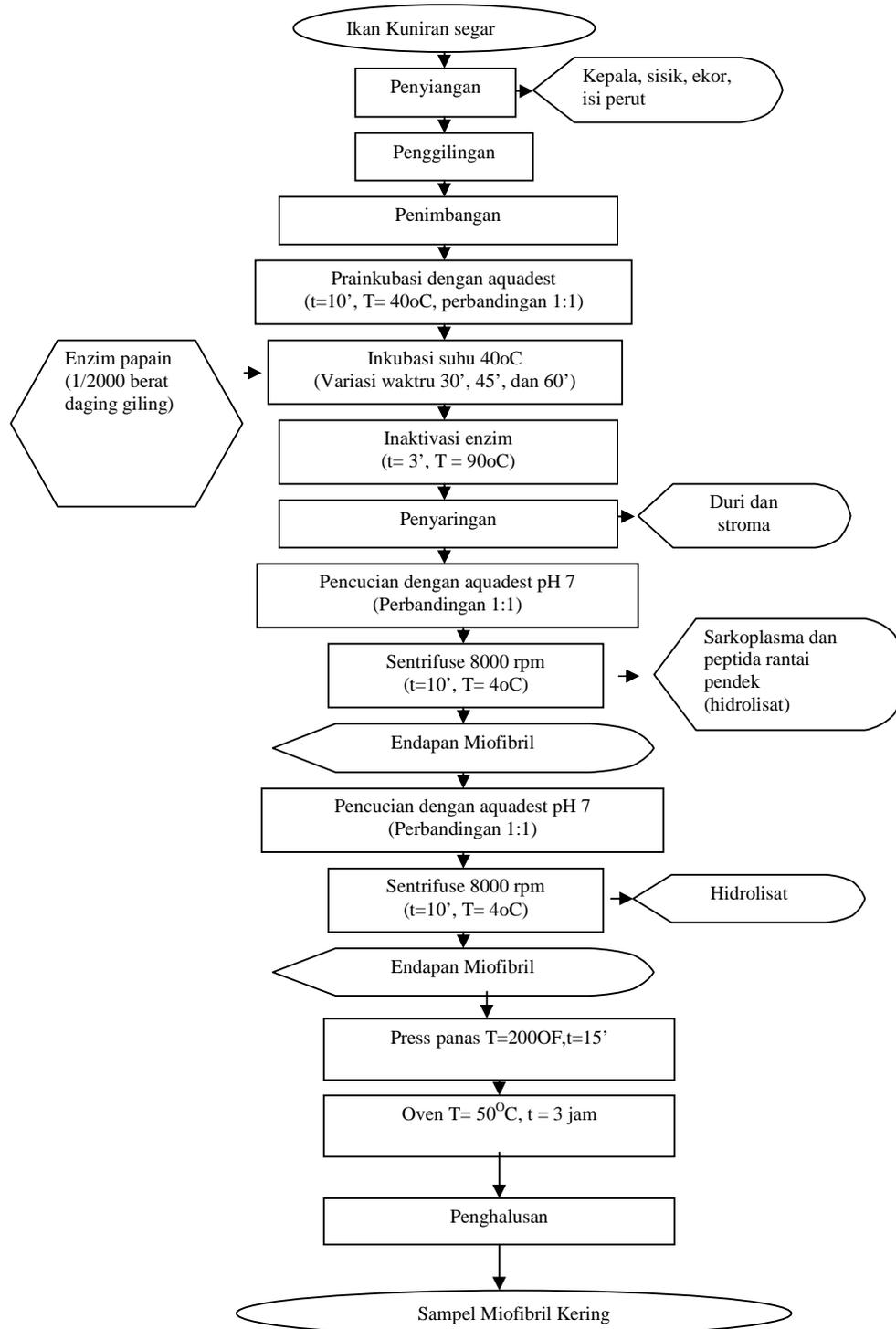
#### 3.3.2 Waktu Inkubasi Sebagai Parameter

Penelitian menggunakan 3 (tiga) variasi perlakuan terhadap waktu inkubasi dengan pengulangan dua kali. Adapun ketiga perlakuan tersebut meliputi :

30' = lama inkubasi 30 menit

45' = lama inkubasi 45 menit

60' = lama inkubasi 60 menit



**Gambar 2.** Diagram Alir Preparasi Miofibril Kering

### 3.4 Parameter Pengamatan

Rendemen protein miofibril kering dengan metode pemanasan dianalisa karakteristiknya meliputi sifat kimia dan fungsional. Adapun parameter pengamatannya meliputi :

1. Kadar air dengan metode oven
2. Kadar abu dengan metode pengabuan langsung
3. Kadar lemak dengan ekstraksi soxhlet
4. Water Holding Capacity (WHC) dengan sentrifuse
5. Kadar protein terlarut dengan metode lowry
6. Angka ketengikan dengan reagen TBA
7. Stabilitas pengemulsi pada minyak sawit dengan waring blender
8. Kelarutan protein terhadap pH dengan metode Bradford
9. Kelarutan protein terhadap garam dengan metode Bradford
10. Berat molekul protein dengan elektroforesis SDS-PAGE

Data hasil pengamatan ditampilkan dalam bentuk tabel dan grafik/histogram. Sedangkan untuk penentuan berat molekul protein menggunakan elektroforesis SDS – PAGE.

### 3.5 Prosedur Analisa

#### 3.5.1 Kadar Air (Sudarmadji, 1997)

Pengukuran kadar air dilakukan dengan menggunakan metode oven. Menimbang botol timbang yang telah dikeringkan dalam oven 15 menit dan didinginkan dalam eksikator (a gram). Menimbang 1 gram sampel dalam botol timbang (b gram). Kemudian dimasukkan ke dalam oven selama 4 – 6 jam. Lalu botol timbang dipindahkan ke dalam eksikator dan ditimbang sampai berat yang konstan (c gram). Selanjutnya dilakukan perhitungan kadar air dengan rumus :

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

#### 3.5.2 Kadar Abu (Sudarmadji, 1997)

Pengukuran kadar abu dilakukan dengan menggunakan pembakaran pada muffle. Krus porselin dikeringkan dalam oven selama 15 menit. Dinginkan dalam eksikator dan timbang (a gram). Menimbang 1 gram sample yang sudah dihaluskan dan dihomogenkan dalam krus tersebut, lalu timbang ( b gram). Kemudian dipijarkan dalam muffle (suhu mencapai 400<sup>o</sup>C – 600<sup>o</sup>C) sampai diperoleh abu berwarna putih keabu-abuan. Pendinginan dilakukan dengan membiarkan krus dan abu tinggal dimuffle selama 1 hari. Kemudian dipindahkan kedalam eksikator selama 15 menit dan timbang (c gram). Selanjutnya dilakukan perhitungan kadar abu dengan rumus :

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

#### 3.5.3 Kadar Lemak (Sudarmadji, 1997)

Pengukuran kadar lemak dilakukan dengan menggunakan metode soxhlet. Kertas saring dengan ukuran tertentu di oven selama 1 jam dan didinginkan dalam eksikator selama 15 menit, lalu timbang. Menimbang 1 gram sampel dan masukkan ke kertas lalu ikat dan timbang. Oven selama 1 hari dan timbang ( b gram ). Kemudian meletakkannya dalam tabung reaksi soxhlet dan pasang alat kondensor di atasnya serta labu lemak dibawahnya. Dituangkan pelarut petroleum benzene ke dalam labu lemak secukupnya sesuai dengan ukuran soxhlet. Lakukan

reflux selama 4 – 6 jam sampai pelarut yang turun ke labu lemak berwarna jernih. Lalu oven kertas dan sampel pada suhu 100°C selama 24 jam. Dinginkan dalam eksikator selama 30 menit dan timbang ( c gram ). Ulangi beberapa kali hingga berat konstan. Selanjutnya dilakukan perhitungan kadar lemak dengan rumus :

$$\text{Kadar lemak} = \frac{(c - b)}{(\text{berat sampel})} \times 100\%$$

#### **3.5.4 Water Holding Capacity (WHC) (Subagio, dkk., 2003)**

Tabung sentrifuge yang kosong dan kering ditimbang (a gram). Pengukuran WHC dilakukan dengan memasukkan 0,5 gram sampel (b gram) kedalam tabung lalu ditambahkan aquadest sebanyak 7X berat sampel. Vortex hingga menyatu dan sentrifuge selama 5 menit pada kecepatan 2000 rpm. Bagian supernatannya dituang, kemudian endapan yang tertinggal beserta tabung ditimbang (c gram).

Selanjutnya dilakukan perhitungan WHC dengan rumus:

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

#### **3.5.5 Kadar Protein Terlarut (Metode Lowry, Sudarmadji dkk, 1997)**

Menimbang sample 0,01 gr yang dilarutkan dalam aquadest 125 µL dan menambahkannya 100 µL NaOH 2 N kemudian dipanaskan selama 10 menit dalam air mendidih dan didinginkan. Selanjutnya ditambahkan 2,5 ml reagen mix lowry dan memvortexnya dan dibiarkan selama 10 menit. Tambahkan 250 µL Folin pada sampel dan divortek. Kemudian sampel dibiarkan 30 menit dan setelah itu ditambahkan / ditera dengan aquadest sampai 10 ml dan divortek. Segera lakukan pengukuran absorbansi dengan panjang gelombang 750 nm. Blanko dibuat dengan cara yang sama tetapi tanpa sample, selanjutnya protein terlarut dapat dihitung dengan rumus persamaan  $y = ax+b$  yang diperoleh dari kurva standart, dimana x = protein terlarut dan y = absorbansi dari sampel.

### 3.5.6 Angka Ketengikan dengan reagen TBA

Menimbang 0,05 gram sampel dan masukkan pada tabung reaksi. Tambahkan 1 ml reagen TBA, kemudian panaskan dalam air mendidih selama 15 menit, dinginkan. Pada saat pemanasan akan terbentuk warna merah pada larutan. Setelah dingin, tambahkan 1 isobutanol dan 3 ml etanol, lalu vortex. Setelah tercampur merata, larutan disentrifuse dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit. Filtrat yang diperoleh ditara dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 535 nm. Dengan prosedur yang sama dibuat blanko dan catat absorbansinya. Nilai angka ketengikan dihitung dengan menggunakan rumus berikut :

$$\text{Mmol TBA/Kg} = \frac{\text{Acm}-(\text{D-P}) \times 1000 \text{ mM/Mml sampel} \times 1000 \text{ gr/Kg}}{1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ Cm}^{-1} \text{ gr bhn} \times 1000 \text{ ml/liter}}$$

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

Menimbang sampel sebanyak 0.3 gram dan ditambahkan 100 ml 0.6 M NaCl dalam buffer Phospat pH 7 0.05 M, biarkan 20 jam dalam suhu 4° C. Kemudian tambahkan 25 ml minyak goeing dan blender selama 2 menit. Untuk pengukuran daya emulsi, setelah diblender langsung diambil 0.5 ml. Sedangkan untuk pengukuran stabilitas emulsi, setelah 10 menit, 20 menit, 1 jam, 2 jam dan 24 jam dilakukan pengambilan 0.5 ml larutan emulsi bagian bawah. Masing-masing ditambahkan 2.5 ml SDS 0.1% dan di Vortex. Amati absorbansinya pada panjang gelombang 500 nm.

$$EAI = \frac{2 \times 2.303}{c \times (1 - \phi) \times 10^4} \times \text{abs} \times \text{dilution}$$

Keterangan: EAI = *Emulsifying Activity Index*, aktivitas emulsi (m<sup>2</sup>/g)

c = Konsentrasi protein (g/ ml)

φ = Fraksi volume minyak (ml/ml) dari emulsi

abs = Absorbansi

Dilution = Fraksi larutan (SDS + emulsi)

$$ESI = \frac{\frac{(2,303 \times \text{Abs waktu ke 0}) \times 24 \text{ jam}}{0,01}}{\frac{(2,303 \times \text{Abs waktu ke 0}) - (2,303 \times \text{Abs waktu ke 24 jam})}{0,01}}$$

### 3.5.8 Kelarutan Protein terhadap pH (Metode Bradford)

Menimbang sample sebanyak 0,1 gram. Untuk masing-masing variasi pH, kemudian dilarutkan dengan 10 ml NaCL 0,7 M dalam buffer fosphat 0,05 M (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 4000rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. Filtrat dibaca absorbansinya dengan metode bradford pada panjang gelombang 595 nm.

### 3.5.9 Kelarutan Protein terhadap Garam (Metode Bradford)

Menimbang sample sebanyak 0,1 gram. Untuk masing-masing variasi NaCl, kemudian dilarutkan dengan 10 ml NaCL 0,7 M dalam buffer fosphat 0,05 M (pada berbagai variasi 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 4000rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. Filtrat dibaca absorbansinya dengan metode bradford pada panjang gelombang 595 nm.

### 3.5.10 Penentuan Berat Molekul dengan elektroforesa SDS-PAGE

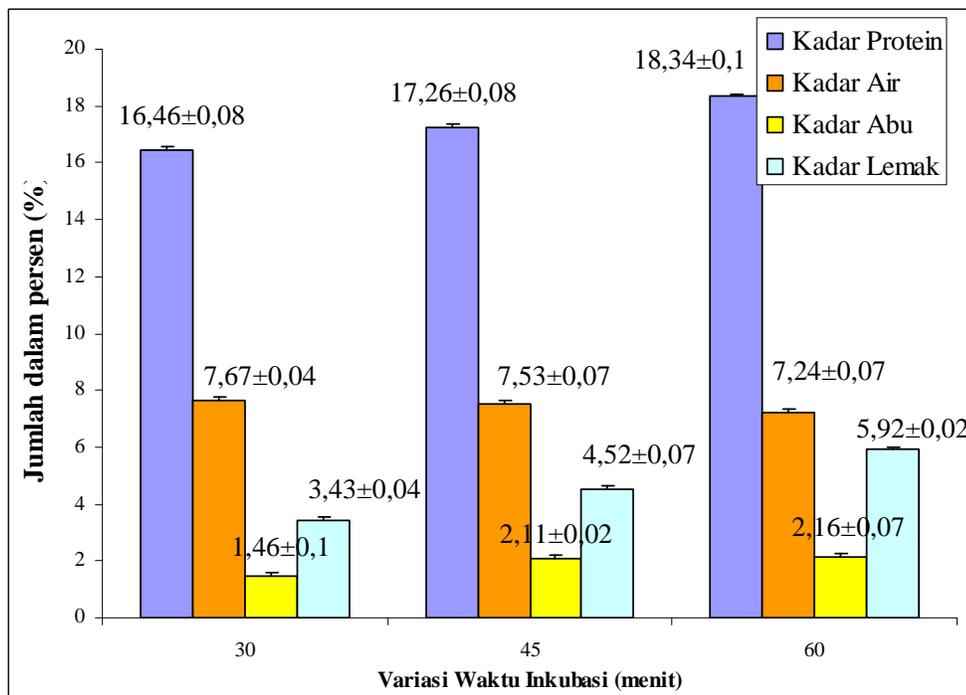
Analisis protein dengan SDS-Page dilakukan pada gel poliakrilamida yang terdiri dari gel bawah (Resolving gel) dan gel atas (Stacking gel). Pembuatan gel Bahan yang diperlukan: Bahan A : Tris HCl 1,5M pH 8,8 Bahan B : SDS 10% Bahan C : Bis akrilamida Bahan D : Amonium persulfat 10% Bahan E : Tris HCl 1,5M pH 6,8 Pembuatan gel bawah terdiri dari 1,25 ml aquadest; 5 ml bahan A; 0,05 ml bahan B dan 2 ml bahan C, kemudian dilakukan aerasi untuk mengeluarkan udara. Setelah itu larutan gel ditambah dengan 50 µl bahan D dan Temed 5 µl. Larutan ini segera disuntikkan diantara 2 lempeng kaca, dan

diatasnya diberi aquades untuk meratakan permukaan gel. Aquades diambil kembali setelah gel terbentuk. Larutan gel atas terdiri dari 1,525 ml aquadest; 0,625 bahan E; 0,025 ml bahan B; dan 0,325 bahan C, kemudian dilakukan aerasi. Kemudian ditambahkan 50  $\mu$ l bahan D dan Temed 5  $\mu$ l. Kemudian larutan gel atas ini dimasukkan dengan bantuan sisir untuk membentuk sumur. Sisir dilepaskan jika gel telah terbentuk. Larutan sampel dilarutkan dalam 2% SDS 8 M urea dalam 50 mm buffer phospat pH 7 sesuai dengan kebutuhan, kemudian diukur konsentrasinya proteinnya dengan metode Lowry untuk mengetahui volume penyuntikan dalam sumur gel. Larutan sampel tersebut kemudian ditambah buffer sampel dengan terlebih dahulu menentukan konsentrasi sampel yang diinginkan, lalu dipanaskan pada suhu 100 °C selama 10 menit untuk memecah struktur 3 dimensi dari protein. Sampel disuntikkan kedalam sumur dengan syringe dan dilakukan running pada 100 mA selama 1-2 jam. Gel hasil elektroforesis dicuci dengan aquadest dan dilakukan pewarnaan dengan larutan Coomassie blue staining gel. Penghilangan pewarnaan yang berlebih atau destaining dengan metanol sambil digoyang selama 1 malam. Pembacaan pita protein yang tampak akan menandakan sub unit atau fraksi protein.

## IV. PEMBAHASAN

### 4.1 Komposisi Kimia

Hasil analisa kandungan kimia yang meliputi kadar protein, kadar air, kadar abu dan kadar lemak pada sampel miofibril kering ikan kuniran (*Upeneus* Sp.) yang diekstrak dengan enzim papain melalui metode press panas, dapat dilihat pada **Gambar 3**.



**Gambar 3. Histogram Kandungan Kimia Miofibril Kering**

Pada **Gambar 3**, tampak bahwa kadar protein dari miofibril kering ikan kuniran dari prosentase paling tinggi sampai terendah adalah pada variasi lama inkubasi 60', 45', dan 30' dengan persentase 18,34%; 17,26%; dan 16,46%. Hasil tersebut disebabkan peran enzim papain sebagai enzim protease pada saat hidrolisa, dengan cara membantu pemutusan ikatan polipeptida pada rantai protein menjadi peptida-peptida pendek dengan melepaskan molekul air. Hasil tersebut lebih kecil dari hasil perhitungan kadar protein miofibril kering hasil pengeringan

freeze drier sebesar  $\pm 38\%$ . Hal ini disebabkan pada saat pengepresan dengan suhu tinggi, protein terdenaturasi kembali sehingga banyak struktur protein yang berubah dan tidak dapat dianalisa kelarutannya yang berakibat pada kadar protein yang sangat rendah dalam sampel. Apabila waktu hidrolisa semakin lama maka semakin banyak jumlah peptida-peptida pendek dan asam amino yang dihasilkan, menyebabkan perubahan dalam protein yaitu gugus  $\text{NH}_3^+$  dan  $\text{COO}^-$  meningkat sehingga kelarutan protein meningkat pula, akibatnya kadar protein tinggi.

Dari **Gambar 3.** terlihat hasil pengukuran kadar air dari prosentase terendah hingga tertinggi adalah inkubasi 60', 45' dan 30' dengan nilai 7,24%; 7,5%; dan 7,67%. Pada lama hidrolisis 30', pemutusan rantai polipeptida menjadi peptida-peptida pendek masih sedikit dan adanya kemampuan matrik protein untuk berikatan dengan molekul air, menyebabkan molekul air mudah terperangkap dalam matrik, sehingga terjadi peningkatan kadar air dalam bahan. Sedangkan untuk hidrolisis 45' dan 60' memberikan waktu lebih bagi enzim papain untuk membantu pemutusan ikatan polipeptida pada protein miofibril, sehingga banyak diperoleh rantai peptida-peptida pendek. Banyaknya matrik protein yang terurai menyebabkan lemahnya sifat hidrofilik protein untuk mengikat molekul air yang berakibat pada berkurangnya kadar air bahan. Nilai kadar air yang tinggi pada sampel juga dipengaruhi oleh kondisi sampel yang higroskopis, kelembaban nisbi saat penyimpanan dan nilai WHC.

Kadar abu merupakan jumlah mineral/ zat an organik yang ada dalam bahan pangan. Kadar abu dipengaruhi oleh 2 faktor, yaitu intrinsik dan ekstrinsik. Faktor intrinsik meliputi spesies, umur spesies, dan jenis kelamin. Sedangkan faktor ekstrinsik berupa habitat, musim dan jenis makanan yang tersedia dalam habitatnya. Dari **Gambar 3.** tampak pula adanya kenaikan kadar abu seiring dengan lamanya inkubasi, dengan urutan 30', 45', dan 60, dan nilainya sebesar 1,46%, 2,11%, dan 2,16%. Hal ini disebabkan pada saat proses hidrolisa berlangsung bersamaan dengan pemutusan polipeptida menjadi peptida-peptida pendek oleh enzim papain, mengakibatkan banyaknya mineral-mineral anorganik yang terlepas pada jaringan-jaringan otot dari ikan.

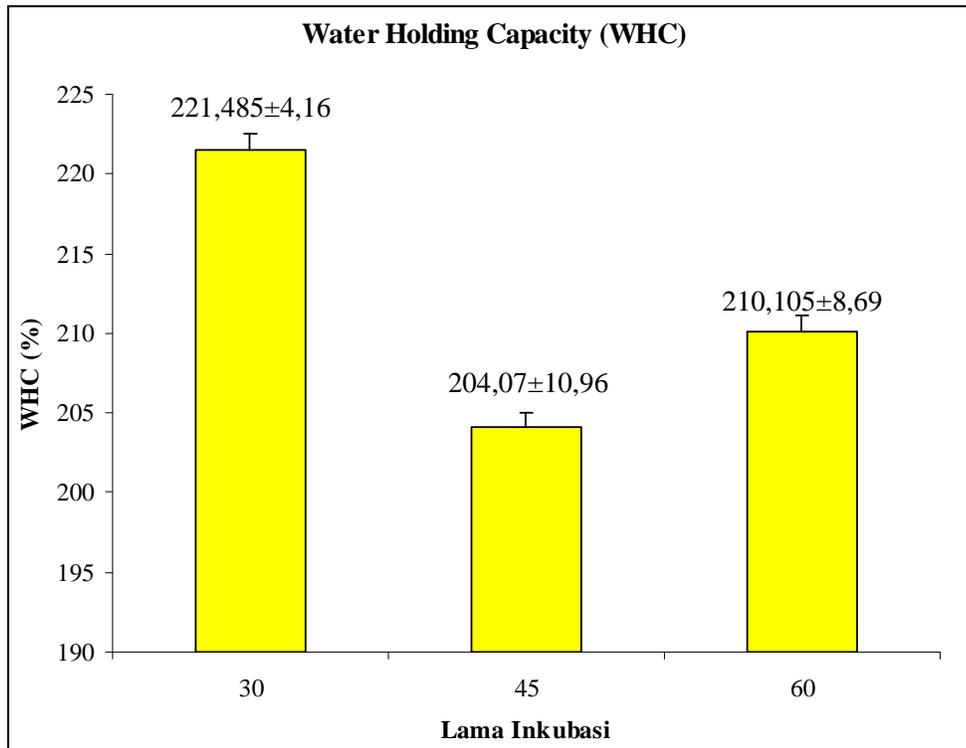
Dari **Gambar 3.** dapat dilihat bahwa nilai kadar lemak dari sampel semakin meningkat dengan meningkatnya lama waktu inkubasi. Kadar lemak dari miofibril kering pada variasi waktu inkubasi 30' lebih rendah dari pada waktu inkubasi 45' dan 60'. Hal tersebut disebabkan adanya proses hidrolisa yang masih berjalan sedikit sehingga rantai polipeptida (matriks) belum banyak yang terbuka/terpotong akibatnya lemak yang terdapat dalam jaringan daging ikan belum banyak yang terekstraksi menjadi asam lemak. Sedangkan pada variasi inkubasi 60' matriks protein sudah banyak yang terbuka (rantai peptida terpotong menjadi lebih pendek) sehingga lemak mudah terekstrak namun lemak masih belum terurai menjadi senyawa penyusunnya, sehingga kadar lemaknya tetap tinggi.

Total jumlah kesemua komponen kandungan kimia tidak kurang dari 100%, dikarenakan pada saat pengepresan dengan suhu tinggi, beberapa komposisi kimia menguap atau rusak sehingga tidak dapat teranalisa.

#### **4.2 Water Holding Capacity (WHC)**

WHC adalah kemampuan protein untuk menangkap air dan menahannya dalam sistem pangan. Nilai WHC sangat berperan penting dalam pengolahan makanan, karena dapat menentukan kekuatan ulet tidaknya adonan yang berpengaruh pada tekstur produk akhir.

Dari hasil pengukuran didapatkan bahwa untuk variasi lama inkuasi 30'; 45'; dan 60' nilai WHC berturut-turut adalah: 221,49%; 204,07%; dan 210,10%. Histogram WHC miofibril kering ditunjukkan pada **Gambar 4.**



**Gambar 4. Histogram WHC Miofibril Kering**

Dari **Gambar 4.** terlihat bahwa pada variasi lama waktu inkubasi 30' memiliki nilai WHC yang paling tinggi, hal ini disebabkan pada saat proses hidrolisa, enzim papain membantu pembentukan peptida-peptida pendek, terjadi pembalikan gugus hidrofilik dari bagian dalam ke arah luar, sehingga banyak molekul air yang terikat oleh gugus hidrofilik, akibatnya nilai WHC tinggi. Sedangkan pada variasi waktu 45' dan 60' nilai WHC lebih rendah bila dibandingkan dengan nilai WHC dari lama inkubasi 30', disebabkan yang lebih banyak terekspos keluar adalah gugus hidrofo akibat molekul air sulit berikatan dengan matrik protein sehingga nilai WHC rendah.

Nilai WHC hasil pengeringan freeze drier pada sampel protein miofibril kering ikan kuniran sebesar  $\pm 300\%$ , lebih tinggi dari pada nilai WHC hasil pengeringan press panas. Hal ini disebabkan karena proses pengepresan dengan oven dengan suhu tinggi menyebabkan protein mengalami denaturasi kembali

sehingga struktur molekulnya berubah yang berpengaruh terhadap jumlah dari gugus hidrofilik dan hidrofob pada matriks protein.

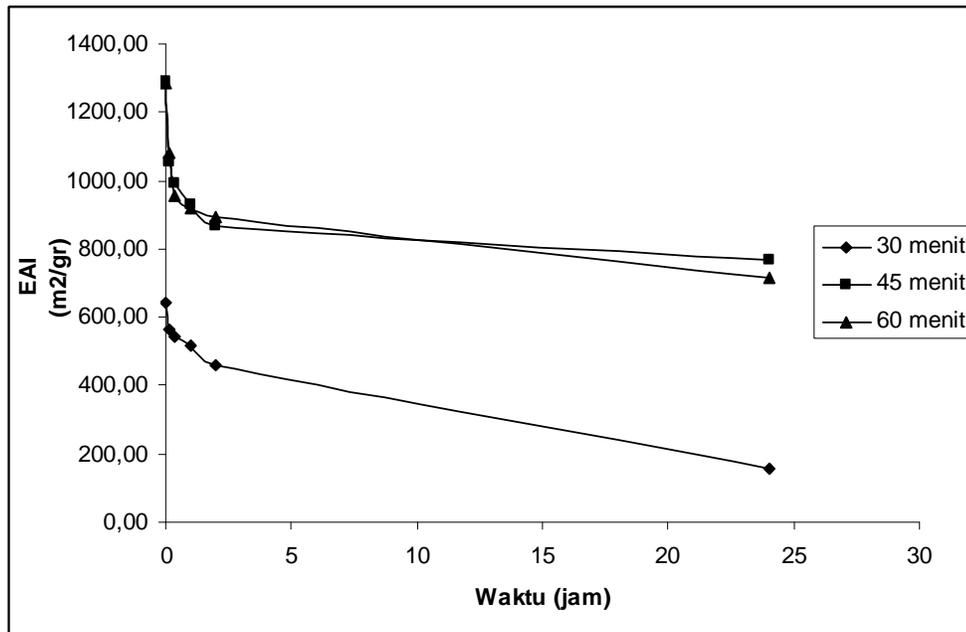
### 4.3 Daya Pengemulsi

Daya pengemulsi adalah kemampuan protein untuk membentuk emulsi dan mempertahankan stabilitasnya dalam sistem pangan. Sifat ini dipengaruhi oleh kadar protein dan tingkat kelarutannya. Nilai ESI adalah kemampuan protein untuk mempertahankan kestabilan sistem emulsinya. Sedangkan EAI adalah kemampuan membentuk wilayah (areal stabil) dalam emulsinya (Winarno, F.G, 1984).

Dari hasil perhitungan diperoleh bahwa pada variasi lama inkubasi 30';45' dan 60' nilai ESI (nilai stabilitas pengemulsi) sampel miofibril kering berturut-turut adalah 31,65; 59,44; dan 54,21 (*tabel 4.*). Sedangkan untuk EAI (nilai aktivitas pengemulsi) miofibril kering pada masing-masing variasi lama inkubasi dapat dilihat pada **Gambar 5**.

**Tabel 4. ESI Miofibril Kering Ikan Kuniran**

Variasi Waktu Inkubasi (Menit)	Waktu Emulsi (jam)	ESI
30	24	31,65
45	24	59,44
60	24	54,21



**Gambar 5. Kurva EAI Miofibril Kering**

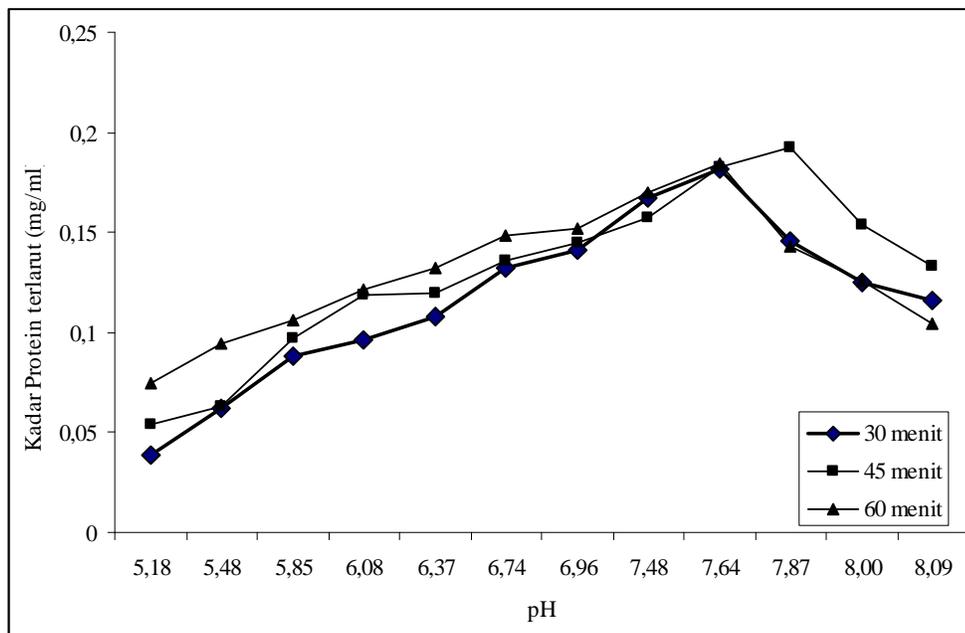
Dari **Gambar 5.** didapatkan bahwa nilai aktivitas emulsi (EAI) dari sampel miofibril kering tertinggi pada lama inkubasi 45' bila dibandingkan dengan variasi lama waktu inkubasi yang lain. Hal tersebut disebabkan karena membran / film yang dibentuk myosin pada sistem emulsi lebih tebal sehingga dapat menjaga agar globula minyak tetap terdispersi dalam larutan. Pada lama inkubasi 30', nilai ESI-nya terendah, disebabkan belum banyak terbentuk rantai peptida pendek dan asam amino hasil kerja enzim papain sehingga jumlah gugus  $\text{NH}_3^+$  dan  $\text{COO}^-$  rendah berpengaruh terhadap tingkat kelarutan protein yang rendah pula. Sedangkan untuk lama inkubasi 45' dan 60' memiliki nilai ESI yang tinggi dan hampir sama. Hal ini disebabkan dengan lama inkubasi tersebut enzim papain telah banyak membentuk peptida-peptida pendek yang berarti gugus  $\text{NH}_3^+$  dan  $\text{COO}^-$  meningkat sehingga kelarutannya tinggi. Tingginya daya kelarutan akan memudahkan protein tersebar dalam larutan sehingga dapat terakumulasi antar permukaan minyak dan air secara lebih merata. Hal ini menyebabkan dispersi minyak dalam larutan lebih merata dan ukuran globula minyak lebih kecil. Selain itu berat molekul dari protein miofibril pada inkubasi 45' dan 60'

lebih kecil, sehingga lebih mudah terdispersi dalam globula minyak. Dari pengukuran stabilitas pengemulsi dapat diketahui bahwa lama inkubasi 45' menunjukkan hasil emulsi yang paling stabil dan memiliki nilai ESI terbesar, sehingga bisa berfungsi sebagai emulsifier yang baik.

Nilai ESI dan EAI untuk miofibril kering ikan kuniran hasil pengeringan freeze drier sebesar  $\pm 70$ , lebih besar dari pada nilai ESI dan EAI dari miofibril kering dengan press panas. Hal ini disebabkan suhu tinggi pada proses press panas dan oven menyebabkan keadaan sampel kering sempurna. Sehingga sulit untuk terdispersi dalam globula minyak.

#### 4.4 Kelarutan Protein Terhadap pH

Hasil pengukuran kadar protein terlarut terhadap variasi pH pada masing-masing variasi lama inkubasi akan ditunjukkan pada **Gambar 6**.



**Gambar 6. Grafik Kelarutan terhadap pH miofibril Kering**

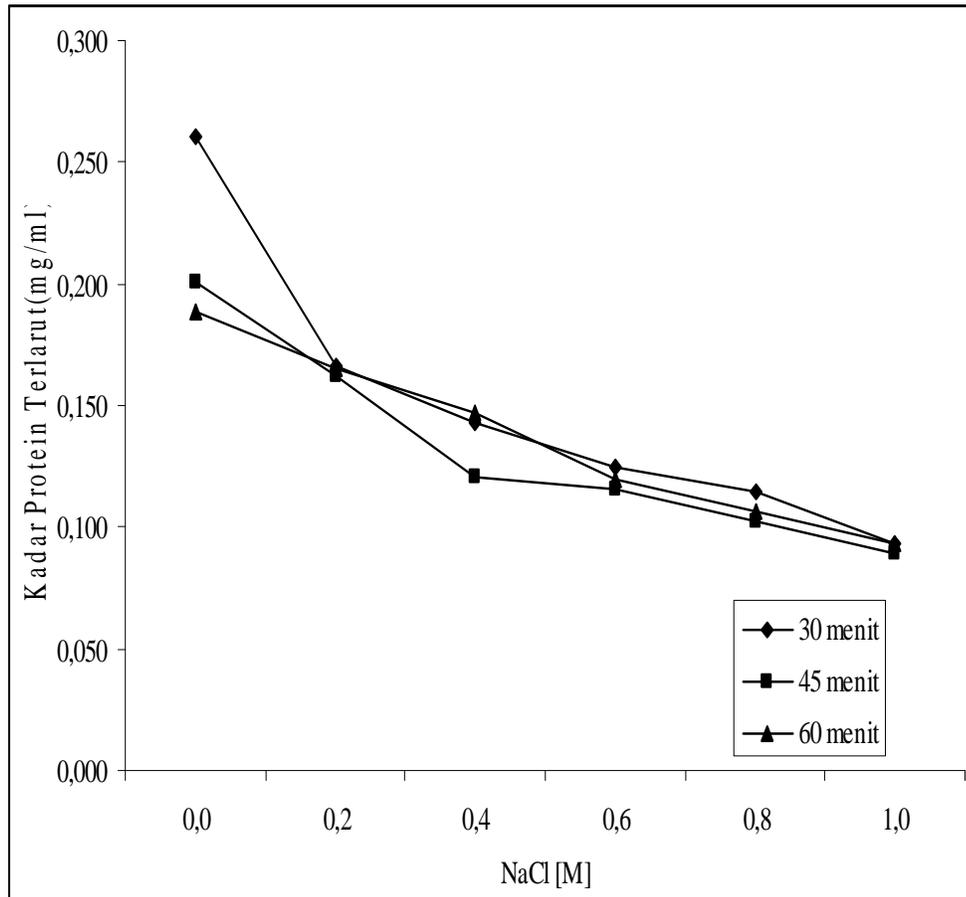
Dari **Gambar 6.** terlihat bahwa makin lama inkubasi (untuk variasi waktu 30'; 45'; dan 60') kadar protein terlarut akan makin meningkat hingga mencapai pH 7,8. Hal ini disebabkan pada saat proses hidrolisa yang lama menyebabkan terbentuknya banyak rantai-rantai peptida pendek sehingga banyak terbentuk gugus  $\text{NH}_3^+$  dan  $\text{COO}^-$  akibat kinerja dari enzim papain yang siap untuk berikatan dengan molekul dari larutan pH asam dan basa. Dalam pH rendah, gugus karboksil ( $\text{COO}^-$ ) bereaksi dengan  $\text{H}^+$ , sehingga protein bermuatan (+), sedangkan pada pH tinggi, gugus amina ( $\text{NH}_3^+$ ) bereaksi dengan  $\text{H}^-$  sehingga bermuatan (-). Tetapi pada pH isoelektrik (pH= 7), kedua gugus saling meniadakan muatan sehingga keduanya tidak bermuatan (zwitter ion).

Untuk variasi pH kadar protein terlarut dari tiap sampel menunjukkan grafik yang naik hingga mencapai pH 7,8, namun setelah itu kelarutan protein menurun, disebabkan protein mengalami kejenuhan pada larutan, sehingga tidak ada gugus dari protein yang berikatan dengan molekul larutan, yang berakibat terjadinya pengendapan.

Kelarutan protein terhadap pH pada tiap sampel menunjukkan grafik yang hampir sama, kemungkinan disebabkan jumlah dari gugus amino dan karboksil bebas yang terbentuk sama, sehingga hasil pembentukan ikatan dengan molekul larutan juga sama.

#### **4.5 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 7.**

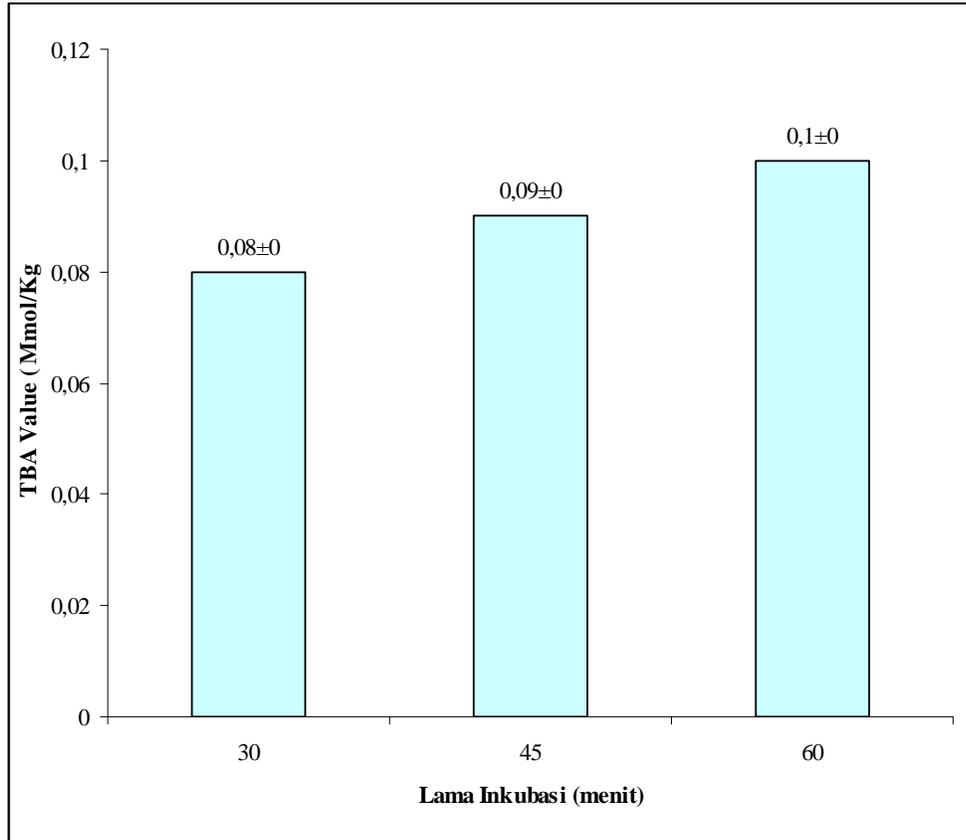


**Gambar 7. Grafik Kelarutan terhadap Garam Miofibril Kering**

Dari **Gambar 7.** tampak semua variasi inkubasi 30, 45 dan 60 menit mulai konsentrasi garam 0,2 M terjadi penurunan kelarutan kadar protein terlarut. Hal ini disebabkan karenapada suhu inkubasi 40' sudah terjadi agregasi (pengikatan) miofibril utamanya pada komponen myosin sehingga kelarutannya berkurang. Saat inaktivasi enzim (suhu 90<sup>0</sup>) 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 pada konsentrasi garam yang lebih tinggi.

#### 4.6 Angka Ketengikan (TBA)

Angka ketengikan (TBA) pada sampel miofibril kering ikan kuniran dapat dilihat pada **Gambar 8**.



**Gambar 8. Angka Ketengikan (TBA) Miofibril Kering Ikan Kuniran**

Dari **Gambar 8**, dapat dilihat bahwa terjadi kenaikan angka ketengikan (TBA) dengan semakin lamanya hidrolisa. Nilai angka ketengikan paling tinggi terdapat pada variasi lama inkubasi 60 menit. Pada lama variasi inkubasi 60 menit dari **Gambar 4**, memiliki kadar lemak yang paling tinggi sehingga kemungkinan kerusakan lemak akibat panas bisa terjadi lebih banyak dibandingkan yang lainnya, mengakibatkan angka TBA tinggi. Adanya panas selama inkubasi 60 menit dan proses pres panas saat pengeringan dapat menimbulkan otooksidasi radikal asam lemak tidak jenuh dalam lemak pada bahan yang bersifat mudah rusak/ tengik selama penyimpanan.

Kemudian radikal ini dengan  $O_2$  membentuk peroksida aktif yang dapat membentuk hidroperoksida yang bersifat sangat tidak stabil dan mudah pecah menjadi senyawa dengan rantai karbon yang lebih pendek oleh radiasi energi tinggi, energi panas, katalis logam atau enzim. Senyawa-senyawa dengan rantai C lebih pendek ini adalah asam-asam lemak, aldehida-aldehida, dan keton yang bersifat volatil dan menimbulkan bau tengik pada lemak (Winarno, 1995).

#### **4.7 Penentuan Berat Molekul dengan Elektroferesis SDS-PAGE**

Miofibril kering ikan kuniran, selanjutnya ditentukan berat molekulnya dengan menggunakan elektroferesis SDS-PAGE. Berat Molekul protein yang dapat ditentukan dengan berbagai metode fisikokimia berkisar antara 12000 bagi protein kecil seperti sitokrom, yang hanya mempunyai 104 residu, sampai BM setinggi 1000.000 atau lebih, pada protein dengan rantai polipeptida yang panjang, atau protein yang mempunyai beberapa rantai polipeptida (Lehninger, 1997).

Untuk dapat mengetahui berat molekul dari masing-masing protein digunakan kit penciri protein (marker) dengan kisaran berat molekul 272.000 hingga 14.200 Dalton. Nilai  $R_f$  didapatkan dari hasil pembagian antara jarak perpindahan sampel dengan jarak perpindahan pelarut. Dari berat molekul kit penciri protein (marker) tersebut kemudian diperoleh persamaan antara  $R_f$  dan log BM sebagai berikut :  $\text{Log BM} = -1,6086R_f + 5,5784$

Persamaan  $\text{Log BM} = -1,6086R_f + 5,5784$  digunakan untuk mengetahui perkiraan berat molekul miofibril kering dari masing-masing variasi inkubasi, dengan memasukkan nilai  $R_f$  dari masing-masing sampel kedalam persamaan. Hasil perhitungan berat molekul fraksi protein miofibril dapat dilihat pada **Tabel 6**.

**Tabel 5. Hasil Perhitungan Berat Molekul Fraksi Protein Miofibril**

Jenis Protein	Berat Molekul (D) Pada Variasi Inkubasi		
	30 menit	45 menit	60 menit
<b>MHC(Myosin Heavy Chain)</b>	204314,88D	204314,88D	204314,88D
<b>Tropomiosin</b>	38586,02D	38586,02D	38586,02D

Dari **Tabel 5.** didapatkan bahwa MHC pada masing-masing variasi waktu inkubasi memiliki BM 204314,88 D, nilai ini mendekati nilai BM MHC pada literatur yaitu sebesar 220000 D (Zayas 1997). Untuk tropomiosin didapatkan nilai BM sebesar 38586,02 D, yang melebihi BM tropomiosin pada literatur yaitu sebesar 35000 D. Hal ini terjadi karena adanya proses hidrolisa enzimatis dengan menggunakan enzim papain pada saat hidrolisis dan proses pres panas, sehingga menyebabkan berat molekul dari miofibril kering ikan kuniran semakin rendah meskipun berat molekul dari masing-masing variasi sama semua, tetapi memiliki ketebalan band yang berbeda. Dari gambar elektroforesis SDS-PAGE dari miofibril kering ikan kuniran pada **Gambar 9.** dapat dilihat bahwa band paling tebal pada hasil elektroforesis, yaitu pada lama inkubasi 60'. Hal ini disebabkan waktu hidrolisis yang semakin lama menyebabkan terbentuk rantai-rantai peptida pendek yang semakin kompleks (lebih pendek) dan jumlahnya lebih banyak.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

1. Kadar Protein, kadar Abu dan Kadar Lemak dari miofibril kering ikan kuniran mengalami kenaikan dengan semakin lamanya waktu inkubasi. Sedangkan Kadar air dari miofibril kering ikan kuniran mengalami penurunan dengan semakin lamanya waktu inkubasi.
2. Dari hasil pengukuran nilai WHC dari miofibril kering ikan kuniran mengalami kenaikan pada waktu inkubasi 30 dan 60 menit, sedangkan pada waktu inkubasi 45 menit mengalami penurunan akibat adanya perbedaan tekanan pompa hidrolik dari pres panas.
3. Nilai ESI dan stabilitas emulsi yang paling baik dari miofibril kering ikan kuniran dihasilkan pada variasi lama inkubasi 45 menit.
4. Kelarutan protein dari miofibril kering ikan kuniran terhadap variasi pH pada masing –masing variasi lama waktu inkubasi, paling tinggi terletak antara pH 7 – 7,5. Sedangkan kelarutan protein dari miofibril kering ikan kuniran terhadap variasi garam pada masing masing variasi lama inkubasi akan semakin menurun.
5. Dengan adanya proses hidrolisa dan perlakuan pres panas akan dihasilkan berat molekul miofibril kering ikan kuniran dengan BM 204314.88 D dan 38586,02 D.

### 5.2 Saran

Diharapkan dikemudian hari ada penelitian lanjutan tentang pemanfaatan miofibril kering dari ikan kuniran yang diekstrak dengan enzim papain dan dipres panas pada produk-produk makanan olahan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto dan Liviawaty. 1989. *Pengantar dan Pengolahan Ikan*. Yogyakarta: Kanisius
- Anonim. 2003. *Upeneus sp, Summary, Spesies Summary*. [www.fishbase.org](http://www.fishbase.org).
- Cheryan, M., T. D McCune., A. I Nelson., dan L. K Ferrier. 1976. *Preparation and Properties of Soy-Fortified Cereal Weaning Foods*. Boston: First International Congress on Engineering and Food.
- Copeland, R. A. 1994. *Methods for Protein Analysis*. New York: Chapman and Hall.
- Fennema, O.R. 1976. *Principle of Food Science*. New York: Marcel Decker Inc.
- Gaman, F.M dan K.B Sherington. 1984. *Ilmu pangan: Pengantar Ilmu Pangan, Nutrisi dan Mikrobiologi, Edisi II*. Terjemahan Murtijati, Gardjito, S. Naruki; A. Murdiyati, Sardjono dari *The Science of Food An Introduction to Food Science, Nutrition and Microbiology, Second Edition*. Yogyakarta: UGM Press.
- Hall, G.M dan N.H Ahmad. 1992. *Surimi and Fish Mince Product*. Dalam G.M Hall. 1992. *Fish Processing Technology (Eds)*. New York: Blackie Academic and Profesional.
- Harper. 1999. *Biokimia*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Junianto. 2003. *Teknik Penanganan Ikan*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Koswara, S.. 1995. *Teknologi Pengolahan Kedelai*. Jakarta: Pustaka Sinar Harapan.
- Maga, J. A. 1998. *Umami Flavor of Meat*, in Shadidi, F. Ed. *Flavor of Meat, Meat Product and Seafood*. London: Blackie Academic and Professional.
- Marsili, R. 1993. *Protein Power: Functionality and Versatility*. <http://www.foodproductdesign.com/archive/1993/0993ap2.html>. Diakses 18 Januari 2005.

- Martin, M. Jr. 1980. *Protein Functionally in Food System*. New york: Marcel Decker Inc.
- Matthews. 1989. *Legumes*. New York and Basel: Marcel Dekker Inc.
- Moelyanto. 1992. *Pengawetan Pangan dan Pengolahan Hasil Perikanan*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Murdjito, B.A 2001. *Pembuatan Tepung Ikan*. Jakarta: Kanisius.
- Parakkasi, A. 1980. *Ilmu Gizi dan Makanan Ternak*. Bogor: Fakultas Pertanian IPB.
- Parkington, Xiong, et al. 2000. *Chemical and Functional Properties of Oxidatively Modified Beef Heart Surimi Stored at 2<sup>0</sup> 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*. Dalam: Sandy Oktavian. 2003. *Pembuatan Kerupuk dari Hidrolisat Ikan Kuniran (Upeneus, Sp) Dengan Penambahan Gluten*. Karya Tulis Ilmiah Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Richardson. 1975. Dalam: Marsili, R. 1993. *Protein Power: Functionality and Versatility*.<http://www.foodproductdesign.com/archive/1993/0993ap2>. Diakses 18 Januari 2005.
- Shahidi, F dan J.R. Botta. 1994. *Sea Food: Chemistry, Processing, Technology and Quality* Published by Blacue Academic and Profesional and Imprint of Chapman and Hall Wester Cledden Road. Bishopbriggs. Glasgow. Dalam Skripsi Darmawan 2001.
- Soeparno. 1992. *Ilmu dan teknologi Daging*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- 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. XIV no. 2:136-143
- Sudarmadji, S. 1984. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- \_\_\_\_\_, S. B Haryono dan Suhardi. 1997. *Analisa bahan Makanan Dan Pertanian*. Jakarta: Gramedia Pustaka Umum.

- Sugijanto 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.
- Suhartono, T. M. 1992. *Protease*. Bogor: IPB.
- Suzuki, T. 1981. *Fish and Krill Protein Dalam Processing Technology*. London: Applied Science Publishing, Ltd.
- Syarief dan Irawati. 1986. *Pengetahuan Bahan Untuk Industri Pertanian*. Jakarta: PT. Mediyatama Sarana Perkasa.
- Winarno, F. G dan Fardiaz, S. 1984. *Biofermentasi dan Biosintesa Protein* . Bandung: Angkasa Bandung.
- \_\_\_\_\_. 1985. *Kedelai Bahan Pangan Masa Depan*. Dalam Utomo, J.S. *Teknologi Pengolahan dan Produk-Produk Olahan Kacang Komak*. Prosiding Seminar Nasional Pangan 14 September 1999:107-120. Yogyakarta.
- \_\_\_\_\_. 1995. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Zayas, J. F. 1997. *Functionality Of Protein In Food*. Jerman: Springer Berlin.