

**ANALISIS PROFIL PROTEIN DAGING AYAM DAN DAGING BABI SERTA PRODUK
OLAHAN SOSIS DENGAN METODE *Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel
Electrophoresis (SDS-PAGE)***

***ANALYSIS OF THE PROTEIN PROFILE OF CHICKEN, PORK AND PROCESSED PRODUCTS
SAUSAGES WITH THE METHOD OF Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis
(SDS-PAGE)***

Adinda Dwi Yulianingsih¹⁾, Salmah Orbayinah¹⁾

**¹⁾Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta
dynda.dwi27@gmail.com**

INTISARI

Pencampuran bahan olahan makanan merupakan masalah besar dalam industri makanan di Indonesia. Salah satu daging yang sering menjadi bahan campuran produk olahan adalah daging babi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui profil protein daging ayam, daging babi, sosis referensi dan sosis pasar.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental laboratorik dengan menggunakan SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis*). Data diambil dari pemotretan gambar pada gel setelah proses pewarnaan selesai. Gambaran pita protein diamati secara visual dan dianalisis dengan analisis deskriptif. Data dihitung pada regresi linier untuk menentukan berat molekul. Selain itu, telah diukur kadar protein sampel dengan metode biuret menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan pada pita protein. Sampel daging ayam memiliki 13 pita protein dan daging babi memiliki 14 pita protein. Beberapa pita menunjukkan protein spesifik. Pita protein yang hanya terdeteksi pada ayam adalah Troponin C dengan BM 18,56 kDa dan α aktinin dengan BM 97,88 kDa. Troponin I terdeteksi pada sampel daging ayam dengan BM 21,59 kDa dan pada sampel daging babi dengan BM 25,1 kDa. Hasil pengukuran kadar protein menunjukkan metode SDS-PAGE mampu membedakan profil protein daging ayam, daging babi serta produk olahannya.

Kata kunci : Sosis daging babi, SDS-PAGE, Protein.

ABSTRACT

Mixing processed food ingredients is a big problem in the food industry in Indonesia. One of the meats that are often a mixture of processed products is pork. The purpose of this research was to know protein profile of chicken, pork, reference sausage and comersil sausage. The methods was experiment laboratory by using SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis*). Raw data was taken from image shooting on the gel after running and staining procedure have been completed. The description of protein bands was observed visually and analyzed by descriptive analysis. Data were calculated by linear regression to determine molecular weight. Besides that, we have measured protein level samples by biuret method using spectrophotometer UV-Vis.

The results showed that there were differences in protein bands. Chicken meat samples have 13 protein bands and pork has 14 protein bands. Some ribbons show specific proteins. Protein bands that were only detected in chickens were Troponin C with molecular weight 18.56 kDa and α actinin with molecular weight 97.88 kDa. Troponin I was detected in chicken meat samples with molecular weight 21.59 kDa and in pork samples with molecular weight 25.1 kDa.

Keywords: pork sausage, SDS-PAGE, Protein.

PENDAHULUAN

Di Indonesia kehalalan suatu produk menjadi hal yang sangat penting. Hal ini, dikarenakan mayoritas penduduk Indonesia beragama Islam. Oleh karena itu, jaminan akan produk halal menjadi suatu hal yang penting untuk mendapatkan perhatian dari pemerintah. Banyaknya produk makanan yang belum bersertifikat halal mengakibatkan konsumen sulit membedakan makanan yang halal dan haram. Meskipun sudah banyak produk bersertifikat halal, banyak oknum penjual yang masih mencampur bahan olahannya dengan bahan haram.

Pada dasarnya Indonesia sudah mempunyai beberapa regulasi yang bisa membantu melindungi umat Muslim dari produk haram. Seperti UU No. 8 tahun 1999 tentang Perlindungan Konsumen dan Keputusan Menag RI No. 519 Tahun 2001 tentang Lembaga Pelaksana Pemeriksaan Pangan Halal (Cholil *et.al*, 2009).

Pencampuran bahan olahan makanan merupakan masalah besar dalam industri makanan di Indonesia. Salah satu daging yang sering menjadi bahan campuran produk olahan adalah daging babi. Daging babi (*Sus scrofa domestica*) merupakan salah satu jenis daging yang biasanya digunakan dalam campuran produk olahan daging sapi, ayam dan kambing.

Seiring perkembangan teknologi yang semakin pesat, sudah banyak metode yang

digunakan untuk menguji cemaran daging babi di dalam produk olahan. Beberapa metode yang sudah pernah digunakan untuk menguji cemaran daging babi, metode yang paling sering digunakan adalah metode elektroforesis.

Elektroforesis merupakan suatu teknik yang digunakan untuk mengidentifikasi enzim atau protein. Prinsip kerja elektroforesis dengan cara memisahkan molekul-molekul dengan muatan yang berbeda yaitu molekul biologis yang mempunyai muatan listrik, yang besarnya tergantung pada jenis molekul, pH, dan komponen medium pelarutnya dalam larutan akan bergerak ke arah elektroda yang polaritasnya berlawanan dengan muatan molekul. Pada dasarnya teknik elektroforesis digunakan untuk mengetahui pita dari protein yang dianalisis mengarah ke kutub positif atau kutub negatif (Nur dan Adijuwana, 1987).

Salah satu metode elektroforesis adalah *Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE). Pemisahan protein dengan metode SDS-PAGE bertujuan untuk memisahkan protein dalam sampel berdasarkan berat molekul. Prinsip dasar SDS-PAGE ini adalah denaturasi protein oleh *Sodium Dodecyl Sulphate* yang dilanjutkan dengan pemisahan molekul berdasarkan berat molekulnya dengan metode elektroforesis yang menggunakan gel, dalam hal ini digunakan *polyacrylamide*.

MATERI DAN METODE

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni sampai Agustus 2018 di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada (UGM), Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta dan Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta (UMY), Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta.

Materi Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel daging ayam segar dan daging babi segar, sampel sosis referensi dan sampel sosis komersil.

Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis sampel adalah : Daging ayam dan daging babi segar, tepung tapioka, garam, bawang putih, aquabides, marker protein, *sodium dodecyl sulfate* (SDS) 10%; *Ammonium Persulfate* (APS); Tris HCL pH 8,8; Tris HCL pH 6,8; *loading buffer*; *normal saline*; *phenylmethane sulfonyl fluoride* (PMSF); *N,N,N',N'-Tetramethylenediamine* (TEMED) 100% (BioRad); 10x buffer elektroforesis pH 8,7; isobutanol; *Coomasie brilliant blue*; *destaining solution*; *reagen biuret*. Bahan yang digunakan untuk *running buffer* SDS-PAGE adalah tris, *glycine*, SDS. Bahan yang digunakan untuk 5 ml dapar sampel adalah 0,5 M tris HCl pH 6,8 ; *glycerol* 70% (v/v), SDS 10% (b/v), 2-merkaptanol dan biru bromfenol 1% (b/v).

Bahan yang digunakan untuk 1 liter dapar elektroda adalah tris HCl 25 mM, glisin 250 mM pH 8,3 dan SDS 0,1%.

Alat-alat yang digunakan adalah : Alat-alat yang digunakan meliputi autoklav (*Hiclave HVE-50 Hirayama*), *beaker glass Pyrex*, penangas air (*Memmert*), *blender (Miyako)*, *Centrifuge (Hettich Zentrifugen EBA-20)*, Pisau, timbangan analitik (*Mettler Toledo*), tabung eppendorf (*Biologix*), *Vortex (Super Mixer Gemmy Industrial)*, tabung reaksi (*Pyrex*), *Micropipet (Bio-Rad)*, *Blue tip (Biologix)*, *Yellow tip (Biologix)*, *White tip (Biologix)*, tabung (*conical Biologix*), *Kuvet (quartz glass Hellma)*, *Refrigerated Centrifuge (Thermo Fisher)* untuk isolasi protein dari jaringan hewan. *Aparatus elektroforesis Mini-PROTEAN Tetra System (BioRad)* untuk pemisahan dan karakterisasi protein. *Shimadzu UVmini-1240 Spectrophotometer* untuk penentuan kadar protein.

Metode Penelitian

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik. Dalam penelitian ini perlakuan yang digunakan ; pertama substitusi daging babi dengan daging ayam kedalam sosis masing-masing 0%; 10%; 25%; 50%; 75%; 90%; dan 100% dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 30 menit. Variable yang diamati adalah karakteristik fraksi protein.

Prosedur Penelitian

1. Persiapan

Semua alat yang akan digunakan disterilisasi dengan metode panas basah dalam autoklav pada suhu 121°C selama 20 menit.

2. Pembuatan Sosis Daging

- Daging ayam dipotong kecil-kecil kemudian dihaluskan menggunakan blender.
- Daging yang sudah halus ditambahkan dengan bahan tambahan lainnya seperti tepung tapioka 10%, bawang putih dan garam dengan konsentrasi daging yang berbeda-beda.

Komposisi Sosis

Sampel	Konsentrasi	Daging Ayam (gram)	Daging Babi (gram)	Bahan lainnya (gram)
DA	100% DA	25	-	-
DB	100% DB	-	25	-
1	SA 10% DB	21,375	1,125	2,5
2	SA 25% DB	20,25	2,25	2,5
3	SA 50% DB	16,875	5,625	2,5
4	SA 75% DB	11,25	11,25	2,5
5	SA 90% DB	5,625	16,875	2,5
6	SA 100%	22,5	-	2,5
7	SB 100%	-	22,5	2,5

- Campur daging yang sudah dihaluskan dengan bahan tambahan hingga homogen.
- Adonan yang sudah homogen dimasukkan kedalam selongsong (*casing*) sosis.
- Adonan sosis dikukus pada suhu 100°C selama 30 menit. Kemudian sosis diangkat dan ditiriskan untuk pengujian selanjutnya (Olympias dkk, 2016).

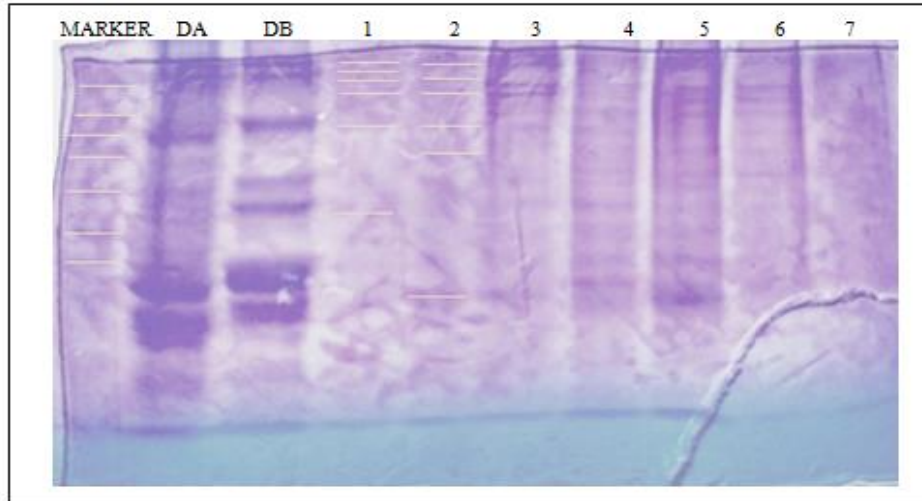
Pengujian Sampel

Sosis yang telah dibuat akan diuji sebagai berikut :

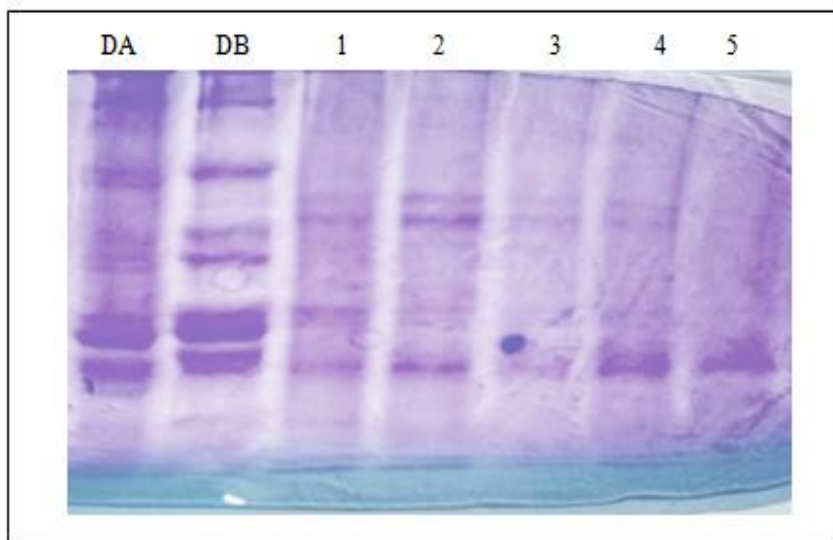
- Isolasi protein : dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi.
- Karakteristik fraksi protein : sampel dianalisis dengan menggunakan SDS-PAGE.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini merupakan penelitian kualitatif yang bertujuan untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan pita protein antara daging sapi, daging babi, sosis referensi dan pada sosis komersil. Pada proses awal penelitian, penggunaan volume sampel daging dan sosis diambil sebanyak 10 µl namun pada sampel sosis referensi dan sosis komersil pita protein tidak menunjukkan adanya migrasi sampel sosis yang berupa pita protein. Hal ini disebabkan karena kadar protein yang rendah dapat mempengaruhi jumlah pita protein yang muncul (Riyanto, 2006). Setelah semua sampel diuji hasilnya menunjukkan beberapa pita protein muncul pada sampel sosis referensi dan sosis komersil, kemudian dilakukan identifikasi ada tidaknya pita, sehingga pengaruh kadar untuk tebal tipisnya pita tidak mempengaruhi hasil. Pola protein yang terbentuk dapat dilihat pada gambar 1 dan 2.



Gambar Gel 1. Hasil elektroforesis marker protein dan sampel.
 Keterangan gambar: Marker = Marker; DA = Daging Ayam; DB = Daging Babi; 1 = Sosis Ayam 100%; 2 = Sosis ayam 10% babi; 3 = Sosis ayam 25% babi; 4 = Sosis ayam 50% babi; 5 = Sosis ayam 75% babi; 6 = Sosis ayam 90% babi; 7 = Sosis babi 100%.



Gambar 2 Gel 2, Hasil elektroforesis sampel sosis komersil
 Keterangan : DA = Daging Ayam; DB = Daging Babi; 1 = Sosis komersil 1; 2 = Sosis komersil 2; 3 = Sosis komersil 3; 4 = Sosis komersil 4; 5 = Sosis komersil 5.

Perbedaan pola protein pada masing-masing sampel yang diteliti baik sampel daging segar, sosis referensi dan sosis komersil dapat dilihat pada gambar 1 dan 2. Perbedaan tersebut dapat dilihat dari tingkat ketebalan maupun jumlah pita-pita protein yang muncul.

Berdasarkan gambar 1, jumlah protein yang muncul pada sampel daging ayam sejumlah 13 pita protein, sampel daging babi sejumlah 14 pita protein. Pada sampel sosis referensi untuk sosis ayam 100% didapatkan pita protein sebanyak 6 pita protein, sampel sosis ayam dengan 10% babi terdapat 6 pita protein, sampel sosis ayam 25% babi terdapat 6 pita protein, sosis ayam 50% babi terdapat 12 pita protein, sampel sosis ayam 75% babi terdapat 10 pita protein, sampel sosis ayam 90% babi terdapat 8 pita protein, dan pada sampel babi 100% terdapat 2 pita protein.

Pada gambar 2, pita protein yang muncul pada sampel sosis komersil cukup beragam. Untuk sampel sosis komersil (S.1) pita yang muncul sebanyak 5 pita protein, sampel sosis komersil (S.2) pita yang muncul sebanyak 5 pita protein, sampel sosis komersil (S.3) pita yang muncul sebanyak 4 pita protein, sampel sosis komersil (S.4) pita

yang muncul sebanyak 4 pita protein, dan pada sampel sosis komersil (S.5) pita yang muncul sebanyak 3 pita protein.

Pita protein yang terkandung di dalam sampel sosis pasar hanya sedikit yang muncul, berkurangnya pita protein ini dapat disebabkan oleh degradasi sebagian besar protein. Faktor lain yang mempengaruhi pita protein yang muncul hanya sedikit adalah pada proses pengolahan sosis terjadi penambahan garam, pengukusan dan penggilingan yang menyebabkan terjadinya denaturasi protein (Winarno, 2004 ; Susanto, 2010).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan jumlah pita protein yang beragam pada setiap sampel sosis referensi maupun sosis komersil. Berdasarkan pita protein yang telah dianalisis sehingga mendapatkan berat molekul maka dapat kita ketahui perkiraan fraksi protein yang terkandung dalam sampel. Berikut adalah fraksi protein yang muncul pada pita yang terbentuk.

Hasil fraksi protein gel 1

No.	Protein	BM (kDa)	Range ≤ 10 %	Sampel								
Miofibril				DA	DB	1	2	3	4	5	6	7
1	Miosin	200	180 – 220	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Aktin	42	37,8 – 46,2	+	+	+	-	-	+	-	-	-
3	Tropomiosin	33	29,7 – 36,3	+	+	-	-	+	+	-	-	-
4	Troponin C	18	16,2 – 19,8	+	-	-	-	-	-	-	-	-
5	Troponin I	23	20,7 – 25,3	+	+	-	-	-	-	+	-	-
6	Troponin T	38	34,2 – 41,8	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Aktinin												
7	α aktinin	95	85,5 – 103,5	+	-	+	-	-	-	+	+	-
8	β aktinin	37	33,3 – 40,7	+	+	-	-	-	-	-	-	-
9	γ aktinin	35	31,5 – 38,5	+	+	-	-	-	-	-	-	-
10	Eu aktinin	42	37,8 – 46,2	+	+	-	-	-	+	-	-	-
Yang lain												
11	Desmin	55	49,5 – 60,5	+	+	-	-	-	+	+	+	-
12	Miosin Cleaving Enzim (LC ₁)	24 – 27	24 – 27	+	+	+	+	+	-	-	-	-

Keterangan : + (terdeteksi) dan - (tidak terdeteksi)

Hasil fraksi protein gel 2

No.	Protein	BM (kDa)	Range ≤ 10 %	Sampel				
Miofibril				S.1	S.2	S.3	S.4	S.5
1	Miosin	200	180 – 220	-	-	-	-	-
2	Aktin	42	37,8 – 46,2	-	-	-	-	-
3	Tropomiosin	33	29,7 – 36,3	+	+	+	+	-
4	Troponin C	18	16,2 – 19,8	-	-	-	-	-
5	Troponin I	23	20,7 – 25,3	+	+	-	-	-
6	Troponin T	38	34,2 – 41,8	-	-	-	-	-
Aktinin								
7	α aktinin	95	85,5 – 103,5	-	-	-	-	-
8	β aktinin	37	33,3 – 40,7	+	-	-	-	-
9	γ aktinin	35	31,5 – 38,5	+	+	+	+	-
10	Eu aktinin	42	37,8 – 46,2	-	-	-	-	-
Yang lain								
11	Desmin	55	49,5 – 60,5	-	-	-	-	-
	Miosin							
12	Cleaving Enzim (LC ₁)	24 – 27	24 – 27	-	-	-	-	-

Keterangan : + (terdeteksi) dan - (tidak terdeteksi).

Dari tabel hasil fraksi protein pada sampel gel 1 dapat dilihat perbedaan antara daging ayam dan daging babi. Pada sampel daging ayam terdapat troponin C dengan BM 18,56 kDa dan α aktinin BM 97,88 kDa yang tidak terdapat pada sampel daging babi. Dari hasil perhitungan fraksi protein, daging ayam memiliki ciri protein yang lebih spesifik dibandingkan dengan daging babi. Hasil dari elektroforesis menunjukkan bahwa hasil pita protein yang muncul pada daging ayam sebanyak 13 pita dan pada daging babi pita protein yang muncul sebanyak 14 pita.

Pada sampel sosis referensi 1, 5 dan 6 yang mana pada sampel sosis referensi tersebut terdapat daging babi masih terdeteksi pita-pita α aktinin, tetapi pada sampel 2, 3, 4 dan 7 yang mana sampel sosis tersebut masih terdapat campuran daging babi yang tidak terdeteksi α aktinin. Hal ini bisa dikarenakan proses preparasi sampel yang kurang maksimal dan pada saat proses pembuatan sosis, protein mengalami denaturasi saat proses pemanasan. Tingkat pemanasan dapat berpengaruh terhadap protein. protein α aktinin bersifat lebih labil dan tidak larut pada kisaran 50°C (Susilo, 2003; Susanto,

2010). Selain itu menurut Dalilah (2006) penambahan bahan-bahan lain seperti tepung tapioka, garam dan bumbu-bumbu juga dapat mempengaruhi kadar protein.

Hasil elektroforesis pada sampel sosis komersil (S.1) dan sampel sosis komersil (S.2) terdapat pita troponin I, sedangkan pada sampel sosis komersil (S.3), (S.4) dan (S.5) tidak terdapat pita troponin I sedangkan pada pita LC₁ tidak ada satupun pita yang terdeteksi pada sampel sosis komersil. Menurut penelitian Susanto (2010) daging ayam memiliki protein yang spesifik yakni munculnya pita troponin I dan LC₁, sedangkan pada penelitian yang saya lakukan hanya muncul pita troponin I pada beberapa sampel sosis dan tidak ada satupun pita LC₁ yang terdeteksi pada sampel sosis komersil. Hal ini dikarenakan terdapat pita protein pada satu spesies yang tidak ditemukan pada spesies lain ataupun sebaliknya, maka dapat dikatakan spesifik walaupun kemunculannya bervariasi (Nazar, 2007).

KESIMPULAN

Dari data yang telah diteliti memperlihatkan hasil bahwa :

1. Metode SDS-PAGE mampu membedakan profil protein daging ayam, daging babi serta produk olahannya berdasarkan perbedaan berat molekul masing-masing sampel.
2. Terdapat perbedaan profil protein hasil isolasi daging ayam segar dan daging babi segar. Perbedaan tersebut dilihat dari adanya

perbedaan karakteristik pita protein yang terdeteksi. daging ayam memiliki 13 pita protein dengan berat molekul terbesar adalah 166,1 kDa dan berat molekul terkecil adalah 14,79 kDa. Daging babi memiliki 14 pita protein dengan berat molekul terbesar adalah 166,1 kDa dan berat molekul terkecil adalah 15,95 kDa. Terdapat pita troponin I pada sampel daging ayam dan daging babi, tetapi pada sampel daging babi tidak terdapat pita troponin C dan α aktinin yang terdapat pada sampel daging ayam. Pita protein desmin, Eu aktinin dan α aktinin hanya terdapat pada beberapa sampel sosis referensi. Pita troponin I hanya muncul pada sosis referensi sampel sosis babi 25% ayam. Pita protein troponin I terdapat pada sampel sosis pasar (S.1) dan (S.2) tetapi pita protein desmin, Eu aktinin dan α aktinin hanya terdapat pada beberapa sampel sosis komersil.

REFERENSI

- Cholil., Suhadi., Zainal Abidin Bagir, Mustaghfroh Rahayu, Budi Asyhari. 2009. *Laporan Tahunan Kehidupan Beragama di Indonesia 2009*. Program Studi Agama dan Lintas Budaya (Center for Religious and Cross Cultural Studies/CRCS). Sekolah Pascasarjana, Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Nur, M. dan H. Adjuwana. 1987. *Teknik Separasi dalam Analisis Pangan*. Pusat Antar Universitas. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Olympias, dkk. 2015. *Kualitas Sosis Daging Sapi yang Difortifikasi dengan Minyak Ikan KOD dan Minyak Jagung dan Diproses Menggunakan Metode Pemasakan yang Berbeda*. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Riyanto, I. (2006). *Analisis Kadar, Daya Cerna dan Karakteristik Protein Daging Ayam Kampung dan Hasil olahannya*, Skripsi. Program Studi Teknologi Hasil Ternak, Fakultas Peternakan IPB, Bogor.
- Susanto, Eko. 2010. *Pengolahan Bandeng Duri Lunak (Channos channos Forsk)*. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Jurusan Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro Semarang
- Winarno, F. G. 2004. *Keamanan pangan jilid 1*. M-Brio Press, Bogor

