

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Protein

2.1.1. Definisi Protein

Protein berasal dari bahasa Yunani "*proteios*" yang berarti pertama atau utama. Protein merupakan makromolekul yang menyusun lebih dari separuh bagian dari sel. Protein menentukan ukuran dan struktur sel, komponen utama dari sistem komunikasi antar sel serta sebagai katalis berbagai reaksi biokimia di dalam sel. Karena itulah sebagian besar aktivitas penelitian biokimia tertuju pada protein khususnya hormon, antibodi, dan enzim (Fatchiyah dkk, 2011).

Protein adalah zat makanan yang mengandung nitrogen yang diyakini sebagai faktor penting untuk fungsi tubuh, sehingga tidak mungkin ada kehidupan tanpa protein (Muchtadi, 2010). Protein merupakan makromolekul yang terdiri dari rantai asam amino yang dihubungkan oleh ikatan peptida membentuk rantai peptida dengan berbagai panjang dari dua asam amino (dipeptida), 4-10 peptida (oligopeptida), dan lebih dari 10 asam amino (polipeptida) (Gandy dkk, 2014). Tiap jenis protein mempunyai perbedaan jumlah dan distribusi jenis asam amino penyusunnya. Berdasarkan susunan atomnya, protein mengandung 50-55% atom karbon (C), 20-23% atom oksigen (O), 12-19% atom nitrogen (N), 6-7% atom hidrogen (H), dan 0,2-0,3% atom sulfur (S) (Estiasih, 2016).

2.1.2. Sifat-sifat Protein

Sifat fisikokimia setiap protein tidak sama, tergantung pada jumlah dan jenis asam aminonya. Protein memiliki berat molekul yang sangat besar sehingga bila protein dilarutkan dalam air akan membentuk suatu dispersi koloidal. Protein

dapat dihidrolisis oleh asam, basa, atau enzim tertentu dan menghasilkan campuran asam-asam amino (Winarno, 2004). Sebagian besar protein bila dilarutkan dalam air akan membentuk dispersi koloidal dan tidak dapat berdifusi bila dilewatkan melalui membran semipermeabel. Beberapa protein mudah larut dalam air, tetapi ada pula yang sukar larut. Namun, semua protein tidak dapat larut dalam pelarut organik seperti eter, kloroform, atau benzena (Yazid, 2006).

Pada umumnya, protein sangat peka terhadap pengaruh-pengaruh fisik dan zat kimia, sehingga mudah mengalami perubahan bentuk. Perubahan atau modifikasi pada struktur molekul protein disebut denaturasi. Protein yang mengalami denaturasi akan menurunkan aktivitas biologi protein dan berkurangnya kelarutan protein, sehingga protein mudah mengendap. Bila dalam suatu larutan ditambahkan garam, daya larut protein akan berkurang, akibatnya protein akan terpisah sebagai endapan. Apabila protein dipanaskan atau ditambahkan alkohol, maka protein akan menggumpal. Hal ini disebabkan alkohol menarik mantel air yang melingkupi molekul-molekul protein; selain itu penggumpalan juga dapat terjadi karena aktivitas enzim-enzim proteolitik (Yazid, 2006).

Molekul protein mempunyai gugus amino ($-\text{NH}_2$) dan gugus karboksilat ($-\text{COOH}$) pada ujung-ujung rantainya. Hal ini menyebabkan protein mempunyai banyak muatan (polielektrolit) dan bersifat amfoter, yaitu dapat bereaksi dengan asam dan basa. Pada larutan asam atau pH rendah, gugus amino pada protein akan bereaksi dengan ion H^+ , sehingga protein bermuatan positif. Bila pada kondisi ini dilakukan elektroforesis, molekul protein akan bergerak ke arah katoda. Sebaliknya, pada larutan basa atau pH tinggi, gugus karboksilat bereaksi dengan

ion OH^- , sehingga protein bermuatan negatif. Bila pada kondisi ini dilakukan elektroforesis, molekul protein akan bergerak ke arah anoda. Adanya muatan pada molekul protein menyebabkan protein bergerak di bawah pengaruh medan listrik (Yazid, 2006).

Setiap jenis protein dalam larutan mempunyai pH tertentu yang disebut titik isoelektrik (TI). Pada pH isoelektrik (pI), molekul protein yang mempunyai muatan positif dan negatif yang sama, sehingga saling menetralkan atau bermuatan nol. Akibatnya protein tidak bergerak di bawah pengaruh medan listrik. Pada titik isoelektrik, protein akan mengalami pengendapan (koagulasi) paling cepat dan prinsip ini digunakan dalam proses-proses pemisahan atau pemurnian suatu protein (Yazid, 2006).

2.1.3. Tingkatan Struktur Protein

Menurut Fatchiyah, dkk (2011), protein dapat dikelompokkan menjadi 4 tingkatan struktur, yaitu:

a. Struktur primer

Struktur primer protein menggambarkan sekuens linear residu asam amino dalam suatu protein. Sekuens asam amino selalu dituliskan dari gugus terminal amino ke gugus terminal karboksil.

b. Struktur sekunder

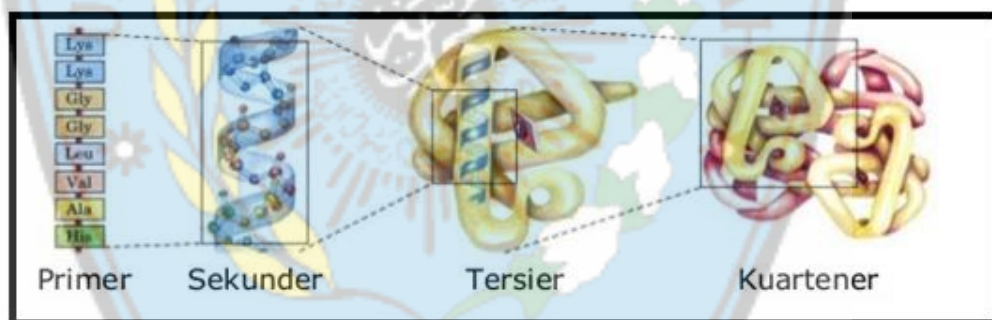
Struktur sekunder dibentuk karena adanya ikatan hidrogen antara hidrogen amida dan oksigen karbonil dari rangka peptida. Struktur sekunder utama meliputi α -heliks dan β -strands (termasuk β -sheets).

c. Struktur tersier

Struktur tersier menggambarkan rantai polipeptida yang mengalami folded sempurna dan kompak. Beberapa polipeptida folded terdiri dari beberapa protein globular yang berbeda yang dihubungkan oleh residu asam amino. Struktur tersier distabilkan oleh interaksi antara gugus R yang terletak tidak bersebelahan pada rantai polipeptida. Pembentukan struktur tersier membuat struktur primer dan sekunder menjadi saling berdekatan.

d. Struktur kuartener

Struktur kuartener melibatkan asosiasi dua atau lebih rantai polipeptida yang membentuk multisubunit atau protein oligomerik. Rantai polipeptida penyusun protein oligomerik dapat sama atau berbeda.



Gambar 1. Tingkatan struktur protein (Gilalogie, 2015)

2.1.4. Klasifikasi Protein

Menurut Yazid (2006) protein dapat dibagi menjadi 2 golongan utama berdasarkan struktur molekulnya, yaitu:

- a. Protein globuler, yaitu protein berbentuk bulat atau elips dengan rantai polipeptida yang berlipat. Umumnya, protein globuler larut dalam air, asam, basa, atau etanol. Contoh: albumin, globulin, protamin, semua enzim dan antibodi.

- b. Protein fiber, yaitu protein berbentuk serat atau serabut dengan rantai polipeptida memanjang pada satu sumbu. Hampir semua protein fiber memberikan peran struktural atau pelindung. Protein fiber tidak larut dalam air, asam, basa, maupun etanol. Contoh: keratin pada rambut, kolagen pada tulang rawan, dan fibroin pada sutera.

2.1.5. Sumber Protein

Menurut Muchtadi (2010) sumber protein bagi manusia dapat digolongkan menjadi 2 macam, yaitu sumber protein konvensional dan non-konvensional.

a. Protein konvensional

Protein konvensional merupakan protein yang berupa hasil pertanian dan peternakan pangan serta produk-produk hasil olahannya. Berdasarkan sifatnya, sumber protein konvensional ini dibagi lagi menjadi dua golongan yaitu protein nabati dan protein hewani.

1. Protein nabati, yaitu protein yang berasal dari bahan nabati (hasil tanaman), terutama berasal dari biji-bijian (serealia) dan kacang-kacangan. Sayuran dan buah-buahan tidak memberikan kontribusi protein dalam jumlah yang cukup berarti.
2. Protein hewani, yaitu protein yang berasal dari hasil-hasil hewani seperti daging (sapi, kerbau kambing, dan ayam), telur (ayam dan bebek), susu (terutama susu sapi), dan hasil-hasil perikanan (ikan, udang, kerang, dan lain-lain). Protein hewani disebut sebagai protein yang lengkap dan bermutu tinggi, karena mempunyai kandungan asam-asam amino esensial yang lengkap yang susunannya mendekati apa yang diperlukan oleh tubuh, serta

daya cernanya tinggi sehingga jumlah yang dapat diserap (dapat digunakan oleh tubuh) juga tinggi.

b. Protein non-konvensional

Protein non-konvensional merupakan sumber protein baru, yang dikembangkan untuk menutupi kebutuhan penduduk dunia akan protein. Sumber protein non-konvensional berasal dari mikroba (bakteri, khamir, atau kapang), yang dikenal sebagai protein sel tunggal (*single cell protein*), tetapi sampai sekarang produknya belum berkembang sebagai bahan pangan untuk dikonsumsi.

2.1.6. Pencernaan Protein

Menurut Sugeng (2013), protein hanya dapat diserap oleh tubuh manusia jika sudah diurai dalam bentuk yang sederhana. Penguraian protein dalam sistem pencernaan manusia melibatkan seluruh organ pencernaan manusia melibatkan seluruh organ pencernaan dan kerja dari enzim protease melalui serangkaian proses.

a. Pencernaan protein dalam rongga mulut dan kerongkongan

Proses pencernaan protein melibatkan kerja gigi dan ludah di dalam rongga mulut. Gigi dalam hal ini berfungsi untuk memperkecil ukuran makanan sedangkan ludah (*saliva*) berfungsi untuk melumasi (*lubricating*) rongga mulut. Saliva akan membasahi makanan sewaktu dikunyah agar makanan yang kering menjadi massa yang semi-padat sehingga akan lebih mudah ditelan. Tidak terjadi perubahan protein di dalam mulut, karena saliva tidak mengandung enzim protease.

b. Pencernaan protein dalam lambung

Protein yang tertampung di dalam lambung akan bereaksi dengan enzim pepsin yang berasal dari getah lambung. Enzim pepsin hanya akan terbentuk jika asam lambung (HCl) menemukan protein dan melakukan penguraian rangkaiannya. Penguraian rangkaian protein dalam lambung secara biokimia akan menstimulasi pepsin pasif menjadi pepsin aktif. Enzim pepsin memecah ikatan protein menjadi gugus yang lebih sederhana, yaitu pepton dan proteosa. Kedua gugus ini merupakan polipeptida pendek yang masih belum dapat diabsorpsi oleh jonjot usus.

c. Pencernaan protein dalam usus halus

Poli-peptida pendek yang dihasilkan dari reaksi enzim pepsin dan protein kemudian akan bercampur dengan enzim protease (erepsin) di dalam usus halus. Protease berasal dari pankreas yang disalurkan ke usus halus melalui dinding membran. Protease mengandung beberapa prekursor antara lain prokarboksipeptida, kimotripsinogen, tripsinogen, proelastase, dan collagenase. Masing-masing prekursor protease ini akan menghidrolisis polipeptida menjadi jenis asam amino yang berbeda-beda. Setelah protein berhasil diurai menjadi asam amino, selanjutnya jonjot usus yang terdapat pada dinding usus penyerapan (*ileum*) akan menyerap asam amino yang dihasilkan dari proses pencernaan protein untuk dikirimkan melalui aliran darah ke seluruh sel-sel tubuh.

d. Pencernaan protein dalam usus besar dan anus

Jika asam amino yang dihasilkan dari proses pencernaan protein memiliki jumlah yang berlebih, asam amino tersebut kemudian akan dirombak menjadi senyawa-senyawa seperti amoniak (NH_3) dan amonium (NH_4OH). Pada tahap selanjutnya, semua senyawa ini kemudian dibuang melalui saluran kencing atau bersama dengan feses.

2.1.7. Fungsi Protein

Menurut Ngili (2013), protein memiliki fungsi-fungsi biologis sebagai berikut:

a. Katalis enzim

Enzim merupakan protein katalis yang mampu meningkatkan laju reaksi sampai 10^{12} kali laju awalnya.

b. Alat transport dan penyimpanan

Banyak ion dan molekul kecil diangkut dalam darah maupun di dalam sel dengan cara berikatan pada protein pengangkut. Contohnya, hemoglobin merupakan protein pengangkut oksigen. Zat besi disimpan dalam berbagai jaringan oleh protein ferritin.

c. Fungsi mekanik

Protein menjalankan perannya sebagai pembentuk struktur. Misalnya, protein kolagen yang menguatkan kulit, gigi, serta tulang. Membran yang mengelilingi sel dan organel juga mengandung protein yang berfungsi sebagai pembentuk struktur sekaligus menjalankan fungsi biokimia lainnya.

d. Pengatur pergerakan

Kontraksi otot terjadi karena adanya interaksi antara dua tipe protein filamen, yaitu aktin dan miosin. Miosin juga memiliki aktivitas enzim yang berfungsi

untuk memudahkan perubahan energi kimia ATP menjadi energi mekanik. Pergerakan flagela sperma disebabkan oleh protein.

e. Pelindung

Antibodi merupakan protein yang terlibat dalam perusakan sel asing yang masuk ke dalam tubuh seperti virus, bakteri, dan sel-sel asing lain.

f. Proses informasi

Rangsangan luar seperti sinyal hormon atau intensitas cahaya dideteksi oleh protein tertentu yang meneruskan sinyal ke dalam sel. Contoh protein rodopsin yang terdapat dalam membran sel retina.

2.1.8. Penilaian Kualitas Protein

Menurut Tirtawinata (2006), kualitas protein dalam bahan makanan ditentukan oleh beberapa faktor antara lain:

a. Skor protein

Menentukan jenis dan jumlah asam amino secara kimiawi. Makin lengkap jenisnya dan cukup jumlahnya, makin tinggi kualitas protein tersebut. Untuk menentukan kualitas protein, kandungan asam amino esensial harus dibandingkan dengan kandungan asam amino esensial dari protein acuan.

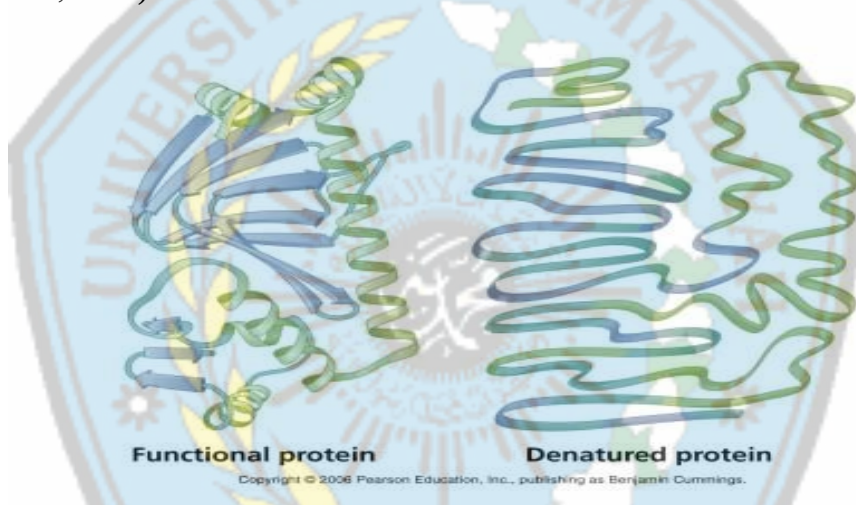
b. Derajat cerna

Derajat cerna (digestibility) suatu protein adalah suatu presentase protein yang dapat dicerna, diserap dan dimetabolisme oleh tubuh. Contoh: protein nabati mempunyai derajat cerna yang rendah, karena proteinnya terletak dalam sel yang berdinding selulosa. Enzim pencernaan tidak dapat menghidrolisis selulosa. Protein yang mudah dicerna (dihidrolisis) oleh enzim-enzim

pencernaan, serta mengandung asam-asam amino esensial yang lengkap serta dalam jumlah yang seimbang, merupakan protein yang berNilai gizi tinggi. Protein hewani mempunyai derajat cerna yang lebih tinggi daripada protein nabati.

2.1.9. Denaturasi Protein

Denaturasi protein adalah fenomena transformasi struktur protein yang berlipat menjadi terbuka. Perubahan konformasi protein mempengaruhi sifat protein (Estiasih, 2016).



Gambar 2. Denaturasi Protein (Putri, 2014)

Selama denaturasi, ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik dipecah, sehingga terjadi peningkatan entropi atau peningkatan kerusakan molekulnya. Denaturasi mungkin dapat bersifat bolak-balik (reversibel), seperti pada kimotripsin yang hilang aktivitasnya bila dipanaskan, tetapi aktivitasnya akan pulih kembali bila didinginkan. Namun demikian, umumnya tidak mungkin memulihkan protein kembali ke bentuk aslinya setelah mengalami denaturasi. Kelarutan protein berkurang dan aktivitas biologisnya juga hilang pada saat denaturasi. Aktivitas biologis protein di antaranya adalah sifat hormonal, kemampuan mengikat

antigen, serta aktivitas enzimatis. Protein-protein yang terdenaturasi cenderung untuk membentuk agregat dan endapan yang disebut koagulasi. Tingkat kepekaan suatu protein terhadap pereaksi denaturasi tidak sama, sehingga sifat tersebut dapat digunakan untuk memisahkan protein yang tidak diinginkan dari suatu campuran dengan cara koagulasi (Bintang, 2010).

Denaturasi disebabkan oleh beberapa faktor antara lain:

a. Penyebab Fisik

1. Panas

Ketika larutan protein dipanaskan secara bertahap di atas suhu kritis, protein mengalami transisi dari keadaan asli ke terdenaturasi. Mekanisme suhu menginduksi denaturasi protein cukup kompleks dan menyebabkan destabilisasi interaksi nonkovalen di dalam protein. Ikatan hidrogen, interaksi elektrostatik, dan gaya van der Waals bersifat eksotermis, sehingga mengalami destabilisasi pada suhu tinggi dan mengalami stabilisasi pada suhu rendah. Sebaliknya, interaksi hidrofobik bersifat endotermis, sehingga mengalami destabilisasi pada suhu rendah dan mengalami stabilisasi pada suhu tinggi. Ikatan hidrogen antar ikatan peptida kebanyakan terkubur di bagian dalam struktur protein, sehingga tetap stabil pada berbagai kisaran suhu. Akan tetapi, stabilitas interaksi hidrofobik tidak dapat meningkat secara tajam dengan meningkatnya suhu. Hal tersebut disebabkan setelah melewati suhu tertentu, struktur air secara bertahap pecah dan menyebabkan denaturasi interaksi hidrofobik.

2. Tekanan

Denaturasi akibat tekanan terjadi pada suhu 25°C jika tekanan yang diberikan cukup tinggi. Kebanyakan protein mengalami denaturasi pada tekanan 1-12 kbar. Tekanan dapat menyebabkan denaturasi protein karena protein bersifat fleksibel dan dapat dikompresi. Walaupun residu asam amino tersusun rapat di bagian dalam protein globular, biasanya masih terdapat rongga di dalam protein. Akibatnya, protein bersifat dapat dikompresi dan terjadi penurunan volume protein. Penurunan volume tersebut disebabkan rongga yang hilang dalam struktur protein dan hidrasi protein. Denaturasi akibat tekanan bersifat reversibel.

3. Pengadukan

Pengadukan mekanik kecepatan tinggi seperti pengocokan, pengulenan, dan pembuihan menyebabkan protein terdenaturasi. Banyak protein yang terdenaturasi dan mengalami presipitasi ketidak aduk intensif. Denaturasi terjadi akibat inkorporasi udara dan adsorpsi molekul protein ke dalam antarmuka udara-cairan. Energi untuk antarmuka udara-cairan lebih besar dibandingkan fase curah sehingga protein mengalami perubahan konformasi dipengaruhi oleh fleksibilitas protein. Protein dengan fleksibilitas tinggi lebih cepat berada pada antarmuka udara-cairan, sehingga terdenaturasi lebih cepat dibandingkan protein yang kaku (rigid). Ketika pengadukan tinggi dilakukan menggunakan pengaduk berputar maka akan terbentuk kavitas. Keadaan ini menyebabkan protein mudah terdenaturasi. Pengadukan yang lebih cepat menyebabkan tingkat denaturasi yang lebih tinggi.

b. Penyebab Kimiawi

1. pH

Protein bersifat lebih stabil pada pH di titik isoelektrik dibandingkan pH lain. Pada pH netral, kebanyakan protein bermuatan negatif dan hanya sedikit yang bermuatan positif. Rendahnya gaya tolak elektrostatis dibandingkan interaksi yang lain, menjadikan kebanyakan protein bersifat stabil pada pH mendekati netral. Pada pH ekstrem, gaya tolak elektrostatis dalam molekul protein yang disebabkan muatan tinggi mengakibatkan struktur protein membengkak dan terbuka. Derajat terbukanya struktur protein lebih besar pada pH alkali dibandingkan pada pH asam. Pada kondisi alkali terjadi ionisasi gugus karboksil, fenolik, dan sulfhidril di bagian dalam protein sehingga struktur protein terbuka dengan tujuan mengekspos gugus tersebut pada fase air. Denaturasi protein akibat pH kebanyakan bersifat reversibel. Akan tetapi, pada sejumlah kasus hidrolisis ikatan peptida secara parsial, deamidasi residu asparagin dan glutamin, dan kerusakan gugus sulfhidril pada pH alkali dapat menyebabkan denaturasi protein yang bersifat irreversibel.

2. Pelarut Organik

Pelarut organik mempengaruhi stabilitas interaksi hidrofobik protein, ikatan hidrogen, dan interaksi elektrostatis. Rantai samping residu asam amino nonpolar lebih larut pada pelarut organik dibandingkan air. Hal tersebut mengakibatkan interaksi hidrofobik menjadi melemah. Sebaliknya, stabilitas dan pembentukan ikatan hidrogen antarikatan peptida meningkat

pada lingkungan dengan permisivitas rendah maka sejumlah pelarut organik dapat meningkatkan atau memperkuat pembentukan ikatan hidrogen antarikatan peptida. Pada konsentrasi rendah, sejumlah pelarut organik dapat menstabilkan beberapa enzim terhadap denaturasi. Pada konsentrasi tinggi, pelarut organik menyebabkan protein terdenaturasi karena efek pelarutan rantai samping nonpolar.

3. Senyawa Organik

Sejumlah senyawa organik seperti urea dan guanidin hidroksida menyebabkan denaturasi protein. Urea dan guanidin pada konsentrasi tinggi membentuk ikatan hidrogen dan menyebabkan ikatan hidrogen dalam air menjadi terganggu. Rusaknya ikatan hidrogen antarmolekul air menjadikan air sebagai pelarut yang baik untuk residu nonpolar. Dampaknya adalah struktur protein terbuka dan terjadi pelarutan residu nonpolar dari bagian dalam molekul protein.

4. Deterjen

Deterjen seperti *Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS) merupakan pendenaturasi protein yang kuat. Deterjen terikat kuat pada protein yang terdenaturasi sehingga menyempurnakan denaturasi. Akibatnya, denaturasi protein menjadi bersifat irreversibel.

5. Garam

Garam mempengaruhi stabilitas struktural protein. Hal ini berkaitan dengan kemampuan garam untuk mengikat air secara kuat dan mengubah sifat hidrasi protein. Pada konsentrasi rendah, garam menstabilkan struktur

protein karena meningkatkan hidrasi protein dan terikat lemah pada protein. Sebaliknya, garam juga dapat menyebabkan ketidakstabilan struktur protein karena menurunkan hidrasi protein dan berikatan kuat dengan protein. Pengaruh garam untuk stabilisasi atau destabilisasi struktur protein berkaitan dengan konsentrasi dan pengaruhnya terhadap ikatan air-air. Peningkatan stabilitas protein pada kadar garam rendah disebabkan peningkatan ikatan hidrogen antarmolekul air. Sebaliknya, pada konsentrasi tinggi, garam mendenaturasi protein karena merusak struktur air sehingga air menjadi pelarut yang baik untuk residu nonpolar protein (Estiasih, 2016).

2.2. Ikan

2.2.1. Pengertian Ikan

Ikan merupakan kelompok organisme bertulang belakang (vertebrata) yang hidup di dalam air, bernapas dengan menggunakan insang, dan memiliki anggota gerak berupa sirip (Omar, 2012).

2.2.2. Kelebihan dan Kekurangan Ikan

Kelebihan produk perikanan dibandingkan produk hewani lainnya antara lain:

1. Kandungan protein yang cukup tinggi (20%) dalam tubuh ikan yang tersusun atas asam-asam amino yang berpola mendekati pola kebutuhan asam amino dalam tubuh manusia.
2. Daging ikan mudah dicerna oleh tubuh karena mengandung sedikit jaringan pengikat (tendon).

3. Daging ikan mengandung asam-asam lemak tak jenuh dengan kadar kolesterol sangat rendah yang dibutuhkan oleh tubuh manusia.
4. Daging ikan mengandung sejumlah mineral seperti K, Cl, P, S, Mg, Ca, Fe, Ma, Zn, F, Ar, Cu, dan Y serta vitamin A dan D dalam jumlah yang cukup untuk memenuhi kebutuhan manusia (Adawiyah, 2008).

Adapun kekurangan ikan sebagai produk hewani antara lain:

1. Ikan memiliki kandungan air yang tinggi (80%), pH tubuh ikan yang mendekati netral, dan daging ikan yang sangat mudah dicerna oleh enzim autolisis menyebabkan daging sangat lunak, sehingga menjadi media yang baik untuk pertumbuhan bakteri pembusuk.
2. Kandungan asam lemak tak jenuh mengakibatkan daging ikan mudah mengalami proses oksidasi sehingga menyebabkan bau tengik (Adawiyah, 2008).

2.2.3. Kandungan Gizi Ikan

a. Kandungan Protein

Kandungan protein ikan umumnya lebih tinggi dibandingkan protein hewan darat. Protein ikan mengandung asam amino nonesensial. Jumlah dan jenis-jenis asam aminonya sama dengan yang terdapat pada daging sapi. Protein daging ikan memiliki kelebihan dibandingkan dengan daging sapi yaitu argininnya, sedangkan pada daging sapi lisin dan histidin lebih banyak. Asam amino alanin, isoleusin, dan mentionin pada ikan umumnya rendah (Adawiyah, 2008).

Kandungan asam amino esensial daging ikan dapat dikatakan sempurna, artinya semua jenis asam amino esensial terdapat pada daging ikan, tetapi perlu diperhatikan beberapa asam amino tidak mencukupi kebutuhan manusia diantaranya fenilalanin, triptofan, dan metionin. Kandungan protein pada daging ikan cukup tinggi, mencapai 20% dan tersusun atas sejumlah asam amino yang berpola mendekati pola kebutuhan asam amino di dalam tubuh manusia. Daging ikan mempunyai Nilai biologis sebesar 90%. Nilai biologis adalah perbandingan antara jumlah protein yang dapat diserap dengan jumlah protein yang dikeluarkan oleh tubuh. Artinya, apabila berat daging ikan yang dimakan 100 g, jumlah protein yang akan diserap oleh tubuh lebih kurang 90%, dan hanya 10% yang terbuang (Adawiyah, 2008).

b. Kandungan Lemak

Jenis-jenis asam lemak yang terdapat pada ikan lebih banyak daripada asam lemak hewan darat. Lemak daging ikan mengandung asam-asam lemak jenuh dengan panjang rantai C_{14} - C_{22} dan asam-asam lemak tidak jenuh dengan jumlah ikatan 1-6. Meskipun daging ikan mengandung lemak cukup tinggi (0,1-2,2%), akan tetapi karena 25% dari jumlah tersebut merupakan asam-asam lemak tak jenuh yang sangat dibutuhkan oleh manusia dan kadar kolesterol yang sangat rendah, daging ikan tidak berbahaya bagi manusia, juga bagi orang-orang yang kelebihan kolesterol (Adawiyah, 2008).

Asam lemak bebas juga terdapat dalam daging ikan artinya tidak terikat sebagai ester, jumlahnya sedikit yaitu 0,1-0,4% saja. Lebih dari 25 macam asam lemak yang terdapat pada ikan. Pada umumnya terdiri atas asam-asam

lemak yang mempunyai berat molekul tinggi dengan jumlah asam lemak jenuh 17-21% dan asam lemak tidak jenuh 79-83% dari seluruh asam lemak yang ada dalam daging ikan. Daging ikan sangat mudah mengalami oksidasi karena banyak mengandung asam lemak tak jenuh. Oleh karena itu, sering timbul bau tengik pada ikan, terutama pada hasil olahan maupun awetan yang disimpan tanpa menggunakan kemasan dan antioksidan (Adawiyah, 2008).

c. Kandungan Karbohidrat

Karbohidrat dalam ikan merupakan polisakarida, yaitu glikogen yang strukturnya berupa dengan amilum. Glikogen terdapat di dalam sarkoplasma di antara miofibril-miofibril. Glikogen dalam daging bersifat tidak stabil, mudah berubah menjadi asam laktat melalui proses glikolisis. Pemecahan itu berlangsung sangat cepat sehingga pH daging ikan turun yang dapat menyebabkan aktivitas otot menjadi naik. Jumlah karbohidrat dalam ikan sangat sedikit, yaitu kurang dari 1%. Karbohidrat dalam ikan berupa glikogen antara 0,05 – 0,85%, glukosa 0,038%, asam laktat 0,006-0,43% (Adawiyah, 2008).

d. Kandungan Vitamin dan Mineral

Vitamin yang terdapat pada daging ikan ada dua golongan, yaitu vitamin yang larut dalam air seperti vitamin B₁, riboflavin (B₂), adermin atau peridoksin (B₆), asam folat, sianokobalamin, kobalamin (B₁₂), karnitin, biotin, niasin, inositol, dan asam pantotenat. Vitamin C yang terkandung dalam daging ikan hanya sedikit, sedangkan vitamin yang larut dalam lemak seperti vitamin A, vitamin D, atau tokoferot (vitamin E). Vitamin- vitamin tersebut umumnya

lebih banyak terdapat pada organ bagian dalam tubuh ikan ketimbang dagingnya (Adawiyah, 2008).

Garam mineral yang terdapat pada ikan berupa garam fosfat, kalsium, natrium, magnesium, sulfur, dan klorin. Garam-garam mineral tersebut digolongkan sebagai makroelemen karena jumlahnya dominan, antara lain zat besi, tembaga, mangan, kobalt, seng, molybdenum, iodin, bromine, dan florin. Sebaran garam mineral dalam daging ikan tidak merata. Bagian tulang ikan banyak mengandung garam mineral fosfat, misalnya kalsium fosfat dan magnesium, dan klorin. Kalium dan kalsium sering kali menjadi bagian dari protein kompleks. Zat besi banyak terdapat pada darah sebagai inti heme, sitokrom, dan beberapa enzim (Adawiyah, 2008).

2.3. Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

2.3.1. Taksonomi Ikan Nila

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub Filum	: Vertebrata
Kelas	: Pisces
Sub Kelas	: Acanthoptergii
Ordo	: Perciformes
Sub Ordo	: Percoidea
Famili	: Cichlidae
Genus	: Oreochromis
Spesies	: <i>Oreochromis niloticus</i> (Sonatha dan Puspita, 2016)



Gambar 3. Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)
(Rukmana dan Herdi, 2015)

2.3.2. Morfologi Ikan Nila

Morfologi ikan Nila terdiri atas bentuk tubuhnya yang panjang dan ramping serta mata besar yang menonjol dengan bagian tepi berwarna putih. Sisik ikan Nila berukuran besar, kasar, dan berbentuk etonoid dengan garis-garis atau gurat-gurat vertikal berwarna gelap pada siripnya. Sisik terdiri atas dua lapisan, yaitu epidermis luar dan lapisan di bawah epidermis. Epidermis luar yang tipis dibentuk oleh sel-sel epithelial. Pada epidermis ditemukan kelenjar-kelenjar yang dapat mengeluarkan lendir. Lapisan di bawahnya adalah dermis, kutin, dan klorium. Sisik ikan Nila terbentuk dari lempeng-lempeng tulang rawan yang lentur dan saling tumpang tindih (Rukmana dan Herdi, 2015).

Secara umum, ciri khas ikan Nila memiliki garis vertikal berwarna hitam pada sirip ekor, punggung, dan dubur. Pada bagian sirip ekor (*caudal*) dengan bentuk membulat terdapat warna kemerahan dan dapat digunakan sebagai indikasi kematangan gonad. Pada rahang terdapat bercak kehitaman. Perbandingan panjang total dan tinggi badan tubuh ikan Nila adalah 3:1. Ikan Nila memiliki 5 buah sirip, yaitu sirip punggung (*dorsal fin*), sirip dada (*pectoral fin*), sirip perut

(*ventral fin*), sirip anus (*anal fin*), dan sirip ekor (*caudal fin*) (Rukmana dan Herdi, 2015).

Sistem reproduksi ikan Nila terdiri atas indung telur (Nila betina) dan testis (Nila jantan). Indung telur dan testis ikan Nila semuanya terletak pada rongga perut di sebelah kandung kemih dan kanal alimentari. Keadaan gonad sangat menentukan kedewasaan ikan Nila. Kedewasaan ikan ini meningkat seiring makin meningkatnya fungsi gonad. Pada umumnya, ikan Nila mempunyai sepasang gonad yang terletak pada bagian posterior rongga perut di sebelah bawah ginjal (Rukmana dan Herdi, 2015).

2.3.3. Habitat Ikan Nila

Habitat ikan Nila berada di perairan tawar, seperti kolam, sawah, sungai, danau, waduk, rawa, situ, dan genangan air lainnya. Ikan ini juga dapat beradaptasi dan hidup di perairan payau dan perairan laut dengan teknik adaptasi bertahap. Habitat yang ideal untuk ikan Nila adalah perairan tawar yang memiliki suhu antara 14-38°C atau suhu optimal 25-30°C. Kemasaman air yang optimal untuk perkembangbiakan dan pertumbuhan ikan Nila ada pada angka pH 7-8 (Rukmana dan Herdi, 2015).

2.3.4. Tingkah Laku Ikan Nila

Ikan Nila dapat memijah sepanjang tahun. Ikan Nila mulai memijah pada umur 4 bulan atau panjang badan sekitar 9,5 cm. Pembiakan terjadi setiap tahun tanpa adanya musim tertentu dengan interval waktu kematangan telur sekitar 2 bulan. Induk betina matang kelamin dapat menghasilkan telur antara 250-1.100 butir (Rukmana dan Herdi, 2015).

Ikan Nila jantan mempunyai naluri membuat sarang berbentuk lubang di dasar perairan yang lunak sebelum mengajak pasangannya untuk memijah. Satu siklus atau daur hidup ikan Nila meliputi tahap-tahap yang terdiri atas stadium telur, larva, benih, dewasa, dan induk. Daur hidup dari telur sampai menjadi induk berlangsung selama 5-6 bulan. Ikan Nila dapat berpijah 6-7 kali per tahun. Proses pemijahan berlangsung sangat cepat, berkisar 50-60 detik. Tiap proses berpijah menghasilkan 20-40 butir telur yang dibuahi. Telur ikan Nila berbentuk bulat kecil dengan diameter 2,8 mm, berwarna abu-abu hingga kekuning-kuningan, tidak lekat, tenggelam dalam air, dan dierami dalam mulut induk betina (Rukmana dan Herdi, 2015).

2.3.5. Kebiasaan Makan Ikan Nila

Ikan Nila tergolong ikan pemakan segala (omnivora) sehingga bisa mengonsumsi makanan berupa hewan atau tumbuhan. Karena itu, ikan ini sangat mudah dibudidayakan. Ketika masih berbentuk benih, makanan yang disukainya berupa zooplankton (plankton hewani), seperti *Rotifera sp.*, *Moina sp.*, atau *Daphnia sp.* Selain itu, benih ikan Nila juga memakan alga atau lumut yang menempel di bebatuan yang ada di habitat hidupnya. Saat pembudidayaan, Nila juga memakan tanaman air yang tumbuh di kolam budi daya. Jika telah mencapai ukuran dewasa, ikan Nila bisa diberi berbagai makanan tambahan seperti pelet (Khairuman dan Khairul, 2011).

2.3.6. Kandungan dan Manfaat Gizi Ikan Nila

Ikan Nila merupakan bahan pangan yang sangat baik mutu gizinya, terutama kandungan protein. Berdasarkan data dari Balai Besar Riset Pengolahan Produk

dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan (BBP4KP, 2010), ikan Nila mengandung protein antara 15,32 – 18,80% (Rukmana dan Herdi, 2015).

Mutu protein ikan Nila sebanding dengan mutu protein daging. Ikan Nila juga kaya akan mineral, seperti kalsium dan fosfor. Ikan Nila tidak mengandung karbohidrat, sehingga cocok untuk program diet. Salah satu komponen gizi yang terkandung dalam ikan Nila serta diduga berperan dalam meningkatkan kecerdasan otak, mencegah penyempitan dan penyumbatan pembuluh darah otak adalah Docosa Hexaenoic Acid (DHA), yang merupakan asam lemak tak jenuh ganda berupa rantai panjang Omega-3, terdiri atas 22 atom karbon, 32 atom hidrogen dan 2 atom oksigen (Rukmana dan Herdi, 2015).

Menurut Rukmana dan Herdi (2015), manfaat ikan Nila bagi tubuh antara lain:

1. Mencegah kanker prostat

Ikan Nila memiliki kandungan selenium yang sangat tinggi. Selenium berperan sebagai antioksidan alami yang baik. Selenium memiliki kemampuan untuk mengurangi aktivitas radikal bebas dalam tubuh, sehingga menurunkan kemungkinan stress oksidatif pada semua sistem organ dan mutasi sel-sel sehat menjadi kanker.

2. Sistem kekebalan tubuh dan fungsi tiroid

Selenium, selain dapat mencegah kanker prostat, juga berperan bagi kesehatan untuk sistem kekebalan tubuh. Selenium dapat membantu melindungi tubuh dari racun dan benda asing. Selenium juga berperan penting dalam regulasi kelenjar tiroid yang bertugas mengontrol banyak

fungsi hormonal. Berfungsinya kelenjar tiroid akan menjamin keseimbangan metabolisme yang baik, fungsi organ yang tepat, dan reaksi kimia di seluruh tubuh.

3. Kesehatan otak

Ikan Nila mengandung kalium dan omega-3 yang berperan dalam peningkatan kekuatan otak dan fungsi neurologis. Kalium akan meningkatkan oksigenasi ke otak dan juga sangat penting untuk keseimbangan cairan tubuh yang memfasilitasi respons gugup dan deposisi hara di bagian tubuh yang tepat, termasuk otak.

4. Kesehatan Jantung

Ikan Nila merupakan sumber omega-3, yang secara langsung terkait dengan penurunan kadar kolesterol dan trigliserida dalam sistem kardiovaskuler manusia. Asam lemak omega-3 membantu mencegah aterosklerosis, serangan jantung, dan stroke.

5. Pertumbuhan dan perkembangan

Ikan Nila mengandung protein yang tinggi, yaitu lebih dari 15% dari kebutuhan harian per porsi. Protein hewani pada ikan Nila sangat bermanfaat untuk pertumbuhan otot, perbaikan sel, dan aktivitas metabolisme berbagai organ yang tepat.

6. Berat badan

Ikan Nila tinggi protein, tetapi rendah kalori dan lemak, sehingga ikan Nila sering sering menjadi makanan pilihan untuk orang yang mencoba menurunkan berat badan (diet), tanpa tersiksa oleh diet ketat.

7. Kesehatan tulang

Salah satu kandungan mineral yang paling tinggi pada ikan Nila adalah fosfor. Fosfor adalah bagian penting dari perkembangan materi tulang dan pemeliharaan gigi dan kuku. Fosfor membantu mencegah osteoporosis atau penurunan kepadatan mineral tulang.

8. Penuaan dini

Selenium yang dikenal sebagai antioksidan dapat meremajakan atau merangsang vitamin E dan C. Kedua vitamin tersebut meningkatkan kualitas dan kesehatan kulit (Rukmana dan Herdi, 2015).

2.4. Asam Cuka

2.4.1. Definisi Asam Cuka

Asam asetat, asam etanoat, atau asam cuka adalah senyawa kimia asam organik yang dikenal sebagai pemberi rasa asam dan aroma dalam makanan. Asam cuka memiliki rumus empiris $C_2H_4O_2$. Rumus ini seringkali ditulis dalam bentuk CH_3-COOH , CH_3COOH , atau CH_3CO_2H . Asam asetat pekat (*asam asetat glasial*) adalah cairan higroskopis tak berwarna, dan memiliki titik beku $16,7^\circ C$. Cuka mengandung 3–9% volume asam asetat, menjadikannya asam asetat adalah komponen utama cuka selain air. Asam asetat berasa asam dan berbau menyengat. Selain diproduksi untuk cuka konsumsi rumah tangga, asam asetat juga diproduksi sebagai prekursor untuk polivinil asetat dan selulosa asetat. Meskipun digolongkan sebagai asam lemah, asam asetat pekat bersifat korosif dan dapat menyerang kulit (Fiwka, 2016).

Asam ini ialah salah satu asam karboksilat yang paling sederhana setelah asam format. Asam cuka jika dilarutkan dalam air akan menjadi sebuah asam lemah, itu berarti ia hanya terdisosiasi sebagian menjadi ion H^+ dan CH_3COO^- . Asam asetat merupakan bahan baku industri terpenting dan pereaksi kimia. Asam cuka digunakan dalam produksi polimer seperti polietilena tereftalat, polivinil asetat dan selulosa asetat dan dalam bermacam – macam serat dan kain. E260 ialah kode asam asetat dalam industri makanan yang digunakan sebagai pengatur keasaman. Dalam kegiatan sehari – hari asam asetat sering digunakan untuk pelunak air (Fiwka, 2016).



Gambar 4. Asam Cuka (Fiwka, 2016)

2.4.2. Sifat-sifat Kimia Asam Cuka

H atau asam hidrogen pada gugus karboksil ($-COOH$) dalam asam karboksilat seperti asam cuka dilepaskan sebagai ion proton atau H^+ melalui proses ionisasi $CH_3CO_2H \rightarrow CH_3CO_2^- + H$. Asam cuka merupakan asam lemah monoprotik dengan Nilai $pK_a=4,76$. Nilai basa konjugatnya adalah asetat (CH_3COO^-). Sebuah larutan 1.0 M asam cuka atau kira-kira sama dengan konsentrasi pada cuka rumah

tangga yang memiliki pH sekitar 2,4 ini menandakan bahwa sekitar 0,4% molekul asam asetat bisa terdisosiasi (Fiwka, 2016).

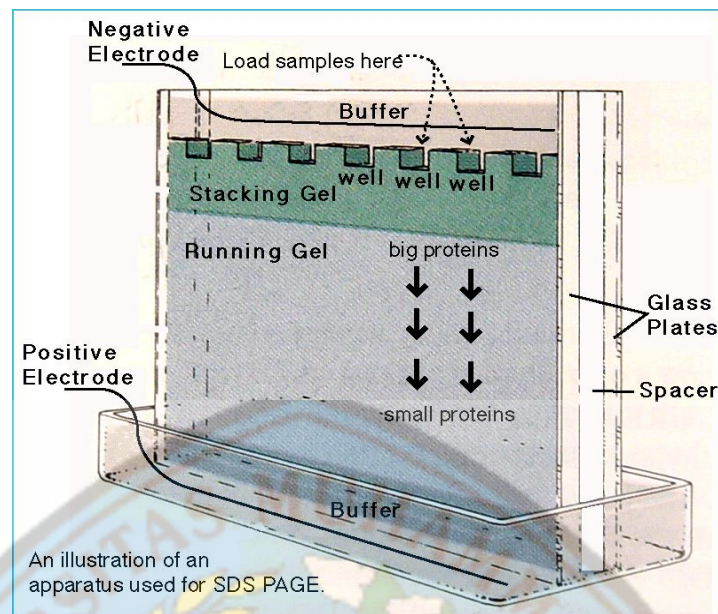
Asam cuka padat ini menunjukkan bahwa molekul-molekul asam asetat berpasangan dan membentuk dimer yang dihubungkan oleh ikatan hidrogen. Dimer juga dapat dideteksi pada uap yang bersuhu 120°C (248°F). Dimer juga terjadi pada larutan encer di dalam pelarut yang tidak berikatan dengan hidrogen, dan terkadang pada cairan asam asetat murni. Dimer akan dirusak dengan adanya pelarut berikatan hidrogen seperti air. Entalpi disosiasi pada dimer tersebut diperkirakan 65,0–66,0 kJ/mol, entropi disosiasi sekitar 154–157 J mol⁻¹ K⁻¹. Sifat dimerisasi ini juga dimiliki oleh asam karboksilat sederhana lainnya (Fiwka, 2016).

Asam asetat cair merupakan pelarut polar atau protik hidrofilik, ini mirip atau sama seperti air dan etanol. Asam cuka memiliki konstanta dielektrik yang sedang yaitu 6,2 sehingga ia mampu melarutkan baik senyawa polar seperti garam anorganik serta gula maupun senyawa non-polar seperti minyak dan unsur-unsur seperti sulfur dan iodin. Asam cuka dapat bercampur dengan mudah dengan pelarut polar atau nonpolar lainnya seperti air, kloroform dan heksana. Dengan Nilai alkana yang lebih tinggi (dimulai dari oktana), asam asetat tidak akan lagi bercampur dengan sempurna, dan campurannya akan terus menurun berbanding lurus dengan kenaikan rantai n-alkana. Sifat kelarutan dan kemudahan bercampur dari asam asetat ini membuat asam cuka digunakan dengan luas dalam industri kimia, contohnya di gunakan sebagai pelarut dalam produksi dimetil tereftalat (Fiwka, 2016).

2.5. SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrilamide Gel Electrophoresis*)

Elektroforesis adalah sebuah metode untuk separasi atau pemisahan sebuah molekul seperti protein, fragmen DNA, dan RNA. Elektroforesis digunakan dalam pemisahan molekul bermuatan berdasarkan tingkat migrasinya dalam sebuah medan listrik. Sebuah arus listrik dilewatkan melalui medium yang mengandung sampel yang akan dipisahkan. Teknik ini digunakan dengan memanfaatkan muatan listrik yang ada pada makromolekul, misalnya DNA yang bermuatan negatif. Jika molekul yang bermuatan negatif dilewatkan melalui suatu medium, maka molekul tersebut akan bergerak dari muatan negatif menuju muatan positif. Kecepatan gerak molekul tersebut bergantung pada rasio muatan terhadap massa dan berat molekulnya (Yuwono, 2008).

Salah satu jenis elektroforesis yang digunakan secara luas pada saat ini adalah elektroforesis SDS gel poliakrilamida (SDS-PAGE). SDS-PAGE adalah teknik yang digunakan untuk memisahkan rantai polipeptida protein berdasarkan kemampuan untuk bergerak dalam arus listrik (Anam, 2009). SDS-PAGE dinilai lebih menguntungkan dibandingkan elektroforesis kertas dan elektroforesis pati. Hal ini disebabkan karena besarnya pori penyangga, serta perbandingan konsentrasi akrilamida dan bis-metilen akrilamida. Selain itu, gel ini tidak menimbulkan konveksi dan bersifat transparan (Bintang, 2010).



Gambar 5. Skema SDS-PAGE (Saputra, 2014)

Medium penyangga dibuat dari reaksi polimerisasi akrilamida dan bis-akrilamida yang dikatalisis oleh amonium persulfat dan tetra metil etilen diamin (TEMED), SDS bersama merkaptotanol digunakan untuk merusak struktur tiga dimensi protein. Hal ini terjadi akibat reduksi ikatan disulfida membentuk gugus sulfidril yang dapat mengikat SDS sehingga protein bermuatan sangat negatif dan bergerak ke arah kutub positif (Bintang, 2010).

2.5.1. SDS (*Sodium Dodecyl Sulphate*)

SDS adalah deterjen yang mempunyai sifat polar dan nonpolar yang dapat mengikat protein sedemikian rupa sehingga bagian nonpolar dari SDS tersembunyi ke dalam bagian nonpolar (hidrofobik) dari protein, sedangkan gugus sulfat dari SDS yang bermuatan negatif berhubungan langsung atau terekspos pada pelarut. SDS berfungsi untuk mendenaturasi protein karena SDS bersifat sebagai deterjen yang mengakibatkan ikatan dalam protein terputus membentuk protein yang dapat terelusi dalam gel begitu juga merkaptotanol. SDS dapat

mengganggu konformasi spesifik protein dengan cara melarutkan molekul hidrofobik yang ada di dalam struktur tersier polipeptida. SDS mengubah semua molekul protein kembali ke struktur primernya (struktur linear) dengan cara meregangkan gugus utama polipeptida. SDS juga menyebabkan seluruh rantai peptida bermuatan negatif (Fatchiyah, 2011).

2.5.2. Gel Poliakrilamida

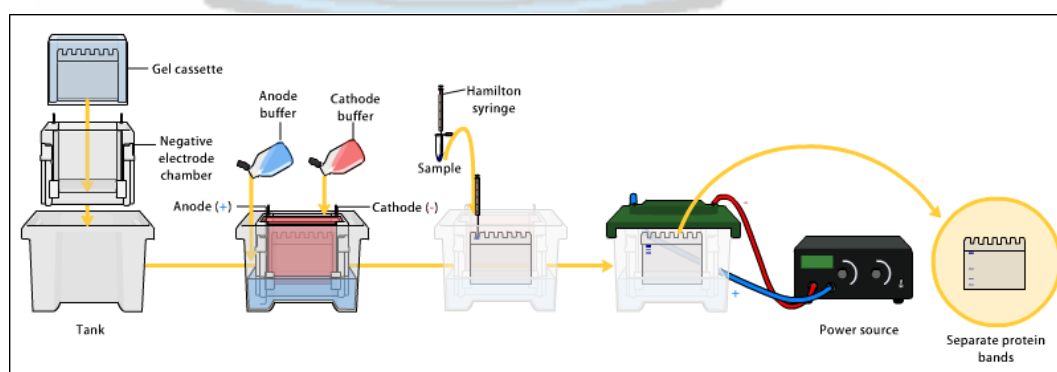
Gel poliakrilamida bersifat porous dengan ukuran lubang besar berkisar dari 0,6-4,0 nm dan ditentukan dari persen total akrilamida ditambah bis-akrilamida dalam campuran gel, serta perbandingan relatif akrilamida dan bis-akrilamida. Migrasi protein di dalam gel poliakrilamida ditentukan oleh muatan molekul dan ukuran molekul. Gel poliakrilamida dapat digunakan dalam pemisahan berbagai jenis protein dan membandingkan berat molekul protein (Bintang, 2010).

Pada penggunaan elektroforesis SDS-PAGE, gel poliakrilamida yang digunakan yang digunakan terdiri dari 2 macam yaitu *stacking gel* dan *resolving gel*. *Stacking gel* berfungsi sebagai tempat meletakkan sampel, sedangkan *resolving gel* berfungsi sebagai tempat protein yang akan berpindah menuju anoda. *Stacking gel* dan *resolving gel* memiliki komponen yang sama, tetapi keduanya memiliki konsentrasi gel poliakrilamid pembentukan yang berbeda. Konsentrasi *stacking gel* lebih rendah daripada *resolving gel* (Saputra, 2014).

2.5.3. Prinsip Elektroforesis SDS-PAGE

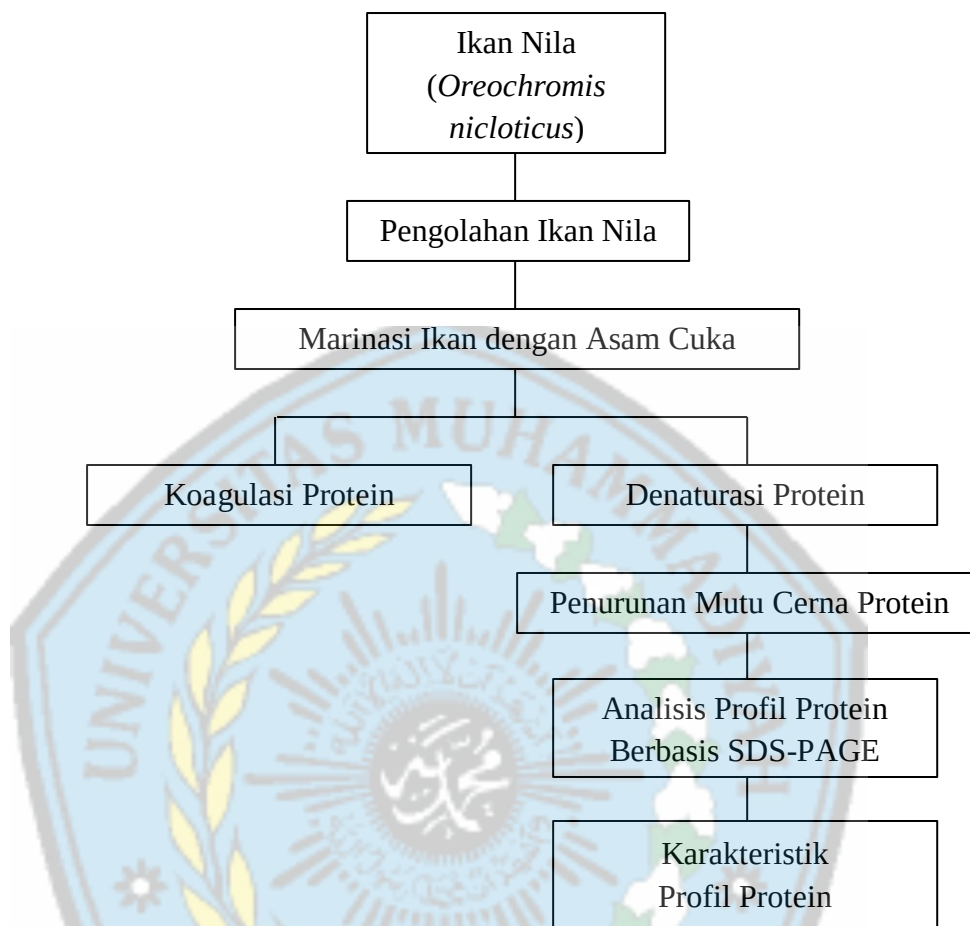
Menurut Saputra (2014), prinsip kerja elektroforesis metode SDS-PAGE yaitu:

1. Larutan protein yang akan dianalisis dicampur dengan SDS terlebih dahulu, SDS merupakan detergen anionik yang apabila dilarutkan molekulnya memiliki muatan negatif dalam range pH yang luas. Muatan negatif SDS akan mendenaturasi sebagian besar struktur kompleks protein, dan secara kuat akan tertarik ke arah anoda bila ditempatkan pada suatu medan elektrik.
2. Pada saat arus listrik diberikan, molekul bermigrasi melalui gel poliakrilamid menuju kutub positif (anoda), molekul yang kecil akan bermigrasi lebih cepat daripada yang besar, sehingga akan terjadi pemisahan.
3. Molekul protein akan melewati pori-pori gel poliakrilamid sehingga tingkat kemudahan pergerakan melalui pori-pori gel bergantung pada diameter molekul.
4. Akibat molekul protein yang terdenaturasi, diameter protein bergantung pada berat molekul. Molekul protein yang lebih besar akan tertahan dan akibatnya pergerakan molekul protein lebih lambat. Makin besar diameter molekul protein, semakin lambat pergerakan molekul protein.
5. Dengan demikian, SDS-PAGE akan memisahkan molekul berdasarkan BM-nya.



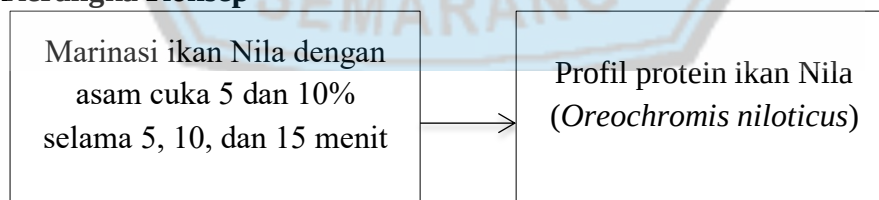
Gambar 6. Prinsip Kerja Elektroforesis SDS-PAGE (Saputra, 2014)

2.6. Kerangka Teori



Gambar 7. Kerangka Teori

2.7. Kerangka Konsep



Gambar 8. Kerangka Konsep