

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ayam

Usaha pemeliharaan dan perkembangan ayam mulai berkembang pesat di Amerika dan Eropa pada abad ke-19. Melalui penyilangan atau perkawinan antar ayam kemudian diarahkan untuk mendapatkan kelompok jenis ayam ternak baru yang memiliki nilai ekonomi tinggi. Pada tahun 1935 ditemukan *strain* ayam dengan kecepatan pertumbuhan badan yang tinggi melalui penggunaan konversi pakan yang hemat. Kemudian *strain* ayam tersebut dikenal sebagai ayam broiler/ayam pedaging (Rahayu I *et al*, 2011).

Ayam broiler ialah salah satu jenis ayam potong yang paling banyak dikonsumsi. Bila sering mendengar ayam potong, dengan warna putih itulah ayam broiler. Bulunya tebal dengan tingkat perkembangan yang jauh lebih cepat bila dibandingkan dengan ayam buras. Ayam broiler memiliki jaringan ikat yang lunak, pada umumnya dipelihara untuk kemudian dipotong dalam rentang waktu antara 5-7 minggu. Pada waktu tersebut ayam telah mencapai berat sekitar 1,3 sampai 1,8 kg (Rahayu I *et al*, 2011).

Menurut Kasih *et al* (2012), masyarakat Indonesia saat ini lebih banyak mengenal daging ayam broiler sebagai daging ayam potong yang biasa dikonsumsi karena kelebihan yang dimiliki seperti kandungan atau nilai gizi tinggi sehingga mampu memenuhi kebutuhan nutrisi dalam tubuh, mudah diperoleh, dagingnya yang lebih tebal, serta memiliki tekstur yang lebih lembut dibandingkan dengan daging ayam kampung dan mudah didapatkan di pasaran

maupun supermarket dengan harga yang terjangkau. Namun selain kelebihan, daging ayam broiler mempunyai kelemahan. Kandungan gizi daging ayam broiler yang cukup tinggi menjadi tempat yang baik untuk perkembangan mikroorganisme pembusuk yang akan menurunkan kualitas daging sehingga berdampak pada daging menjadi mudah rusak.

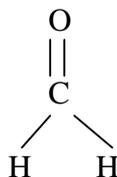
Ditinjau dari segi mutu, daging ayam memiliki kandungan gizi yang lebih tinggi dibandingkan hewan ternak lainnya. Daging ayam mempunyai kandungan protein yang lebih tinggi, komposisi protein ini sangat baik karena mengandung asam amino esensial yang mudah dicerna dan diserap oleh tubuh. Kandungan gizi yang dimiliki jenis daging ayam adalah setiap 100 gram daging ayam mengandung 74% air, 22% protein, 13 mg zat kalsium, 190 mg zat fosfor, 1,5 mg zat besi, vitamin A, C, E, dan lemak (Maya Ina Sholaikah, 2015).

2.2. Formalin

Formalin adalah senyawa formaldehid dalam air dengan konsentrasi rata-rata 37% dan metanol 15% sisanya adalah air (Fadli, Ibrahim, & Sadimantara, 2016). Formalin adalah zat kimia yang mengandung unsur karbon, hidrogen dan oksigen dan mempunyai nama lain formaldehid.

Formalin adalah bahan kimia dikenal dengan rumus molekul HCOH dengan bobot tiap mililiter 1,08 gram dan bobot molekulnya 30,03. Formaldehid merupakan cairan jernih yang tidak berwarna dengan bau yang menusuk, uapnya merangsang selaput lendir hidung, tenggorokan, dan terasa terbakar. Penguapan formalin mengakibatkan sebagian formalin akan hilang tetapi sebagian besar akan berubah menjadi triokmetilena. Formalin memiliki gugus karboksil yang sangat

aktif dapat bereaksi dengan gugus NH_2 pada tubuh membentuk senyawa yang mengendap dari protein (Astawan, 2006).



Gambar 1. Struktur Formaldehid

Formalin merupakan bahan tambahan kimia yang efisien, tetapi dilarang ditambahkan pada bahan pangan (makanan), namun ada kemungkinan formaldehid digunakan dalam pengawetan susu, tahu, mie, ikan asin, ikan basah, dan produk pangan lainnya (Cahyadi, 2008). Formalin bukan pengawet makanan tetapi banyak digunakan oleh industri kecil untuk mengawetkan produk makanan karena harganya yang murah sehingga dapat menekan biaya produksi, dapat membuat kenyal, utuh, tidak rusak, praktis dan efektif mengawetkan makanan (Astawan, 2006). Formalin ini biasanya digunakan sebagai bahan baku industri lem, desinfektan untuk pembersih lantai, kapal, gudang dan pakaian, germisida dan fungisida pada tanaman sayuran, serta pembasmi lalat dan serangga lainnya.

Formalin dasarnya merupakan gas, maka jika ingin digunakan harus dilarutkan dulu dengan memasukkan dalam air dan metanol agar bisa langsung digunakan. Formalin mempunyai sifat fisik larut dalam air atau metanol. Formalin sendiri terdapat di alam, hal ini karena gas methane terdapat dimana-mana yang jika teroksidasi maka akan menjadi formaldehid, seperti ada di daun-daun busuk, sampah, gas buangan, asap rokok dan sebagainya.

2.2.1. Dampak Formalin Terhadap Kesehatan

Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 033 tahun 2012 ditegaskan bahwa penggunaan formalin sebagai bahan tambahan makanan dilarang digunakan dalam makanan. Hal ini mengingat bahaya serius yang akan dihadapi jika formalin masuk ke dalam tubuh manusia, formalin akan menekan fungsi sel sehingga dapat menyebabkan kematian sel dan keracunan. Dilihat dari struktur kimianya, formalin memiliki unsur aldehida yang bersifat mudah bereaksi dengan protein, sehingga di dalam tubuh manusia formalin akan menyerang organ tubuh yang banyak mengandung protein, seperti lambung. Mengonsumsi makanan yang mengandung formalin tidak akan menimbulkan efek dalam waktu yang singkat karena kadar formalin yang biasa digunakan cenderung rendah. Namun, apabila makanan berformalin tersebut terus menerus dikonsumsi tanpa disadari, manusia telah menumpuk zat berbahaya tersebut di dalam tubuhnya yang dapat menjadi bibit pencetus berbagai macam penyakit seperti infeksi ginjal, kanker, dan gangguan kecerdasan pada anak-anak (Imansyah, 2006).

Formalin sangat berbahaya jika terhirup akan menyebabkan rasa terbakar pada hidung, tenggorokan, sukar bernafas, sakit kepala dan menyebabkan kanker paru-paru. Formalin jika terkena kulit akan menyebabkan kemerahan pada kulit, gatal, dan kulit terbakar sedangkan jika terkena mata akan menyebabkan mata memerah, gatal, berair, kerusakan mata, pandangan kabur, bahkan buta dan jika tertelan akan menyebabkan mual, muntah-muntah, perut terasa perih, diare, sakit kepala, pusing, gangguan jantung, kerusakan hati, kejang, bahkan koma dan kematian (Noriko N *et al*, 2011).

Menurut Alsuhendra dan Ridawati (2013), beberapa efek negatif yang ditimbulkan dari keracunan formalin jika masuk ke dalam tubuh manusia yaitu:

(1). Keracunan yang bersifat akut, merupakan efek yang langsung terlihat akibat jangka pendek, dan gejala yang ditimbulkan yaitu hilangnya kesadaran, muntah, elserasi pada mukosa gastrointestinal, diare, gagal ginjal, ulserasi pada mulut, dan esophagus. Dalam konsentrasi tinggi, formalin dapat menyebabkan diare berdarah, kencing darah, muntah darah, iritasi lambung, dan akhirnya menyebabkan kematian

(2). Keracunan yang bersifat kronis, merupakan efek yang terlihat setelah terkena dalam jangka waktu yang lama dan berulang, dan gejala yang ditimbulkan yaitu iritasi gastrointestinal, muntah, pusing, sakit perut, nyeri usus dan gangguan peredaran darah. Dalam jangka panjang, keracunan formalin yang bersifat kronis juga dapat menimbulkan gangguan menstruasi, infertilitasi, kerusakan pada hati, otak, limpa, pankreas, sistem syaraf pusat dan ginjal.

2.3. Protein

Protein berasal dari bahasa Yunani dari kata *proteios* yang berarti “pertama atau paling utama” adalah senyawa organik kompleks berbobot molekul yang merupakan polimer dan monomer-monomer asam amino yang dihubungkan satu sama lain dengan ikatan peptida (Bintang M, 2010).

Protein merupakan suatu zat makanan yang sangat penting bagi tubuh, karena disamping berfungsi sebagai bahan bakar dalam tubuh juga berfungsi sebagai zat pembangun dan pengatur. Protein adalah makromolekul yang terbentuk dari asam amino yang tersusun dari atom C, H, O dan N (Winarno, 2004).

Protein sebagai zat pembangun karena protein merupakan bahan pembentukan jaringan-jaringan yang baru yang selalu terjadi dalam tubuh, terutama pada masa pertumbuhan, protein juga menggantikan jaringan tubuh yang rusak dan yang perlu dirombak serta mempertahankan jaringan yang telah ada (Sari, 2011).

Protein dikatakan berfungsi sebagai bahan bakar karena protein mengandung karbon yang digunakan tubuh sebagai bahan bakar. Protein akan dibakar manakala keperluan tubuh akan energi tidak terpenuhi oleh karbohidrat dan lemak. Apabila tubuh memerlukan energi tambahan, maka pembakaran protein menjadi energi di dalam tubuh akan didahulukan sehingga pada saat itu sebagian protein tidak digunakan untuk pembentukan jaringan (Sari, 2011).

Menurut Rohman A dan Sumantri (2007) protein merupakan salah satu kelompok makronutrien tidak seperti bahan nutrient lain karbohidrat dan lemak. Protein lebih berperan dalam pembentukan biomolekul daripada sebagai sumber energi, meskipun demikian bila organisme sedang kekurangan energi maka protein ini juga dapat digunakan sebagai sumber energi. Kandungan energi protein rata-rata 4 kilo kalori/gram atau setara dengan kandungan energi karbohidrat.

Protein dapat berfungsi sebagai (1). Penyusun senyawa biomolekul seperti nukleoprotein (terkandung dalam inti sel, tepatnya kromosom), enzim, hormon, antibodi, dan sarana kontraksi otot, (2). Pembentukan sel-sel baru, (3). Pengganti sel-sel pada jaringan yang rusak, dan (4). Sebagai sumber energi (Rohman A dan Sumantri, 2007).

2.3.1. Struktur Kimia Protein

Struktur protein khususnya polipeptida merupakan suatu polimer yang terbentuk dari berbagai asam amino melalui ikatan peptida. Protein merupakan polimer dari asam amino, disebut juga polipeptida. Antara asam amino terdapat ikatan peptida yaitu ikatan antara gugus karboksil suatu asam amino dengan gugus amino dari asam amino lain.

Protein mempunyai struktur yang kompleks. Struktur protein memegang peranan penting dalam menentukan aktivitas biologisnya. Struktur protein terdiri dari empat tingkatan, yaitu struktur primer, sekunder, tersier, dan kuartener.

1. Struktur primer yaitu urutan asam amino rantai polipeptida suatu protein.
2. Struktur sekunder adalah hubungan antara gugus C=O pada jembatan peptida 1 dengan gugus NH pada jembatan peptida asam amino yang lain dengan jarak tertentu.
3. Struktur tersier yaitu dibentuk dengan mengemas unsur-unsur struktur sekunder kedalam satu atau beberapa unit globular kompak yang disebut domain.
4. Struktur kuartener adalah ikatan yang spesifik dalam membentuk konfigurasi protein yang spesifik untuk satu macam protein. Struktur protein yang berkaitan dengan kenyataan bahwa beberapa protein dapat terdiri lebih dari satu rantai polipeptida yang sama atau berbeda (Panil, 2007).

2.3.2. Sifat Protein

Protein merupakan molekul yang sangat besar, sehingga mudah mengalami perubahan bentuk fisik maupun biologis. Banyak faktor yang menyebabkan

perubahan sifat alamiah protein misalnya : panas, asam, basa, pelarut organik, pH, garam, logam berat, maupun sinar radiasi radiokatif. Perubahan sifat fisik yang mudah diamati adalah menjadi tidak larut atau pematatan, ada protein yang larut dalam air dan ada pula yang tidak larut dalam air, tetapi semua protein tidak larut dalam pelarut lemak seperti misalnya etil eter. Daya larut protein akan berkurang jika ditambahkan garam, akibatnya protein akan terpisah sebagai endapan. Apabila protein dipanaskan atau ditambahkan alkohol, maka protein akan menggumpal. Hal ini disebabkan alkohol menarik air yang melingkupi molekul-molekul protein. Adanya gugus amino dan karboksil pada ujung-ujung rantai molekul protein, menyebabkan protein mempunyai banyak muatan dan bersifat amfoter (dapat bereaksi dengan asam maupun basa). Dalam larutan asam (pH rendah), gugus amino bereaksi dengan H^+ , sehingga protein bermuatan positif. Bila pada kondisi ini dilakukan elektrolisis, molekul protein akan bergerak kearah katoda. Sebaliknya, dalam larutan basa (pH tinggi) molekul protein akan bereaksi sebagai asam atau bermuatan negatif, sehingga molekul protein akan bergerak menuju anoda (Winarno, 2002).

2.4. Formalin dan Reaksinya Terhadap Protein

Dalam ikatan gugusnya formalin memiliki unsur aldehida yang bersifat asam. Sifat asam inilah yang menyebabkan formalin mudah bereaksi dengan gugus peptida pada protein yang bersifat basa. Reaksi ionik antara peptida (memiliki ion N) dengan aldehida (memiliki ion OH) akan menyebabkan denaturasi ketika ion-ionnya berada dititik isoelektrik (ion bermuatan nol). Denaturasi terjadi akibat perubahan suasana basa pada protein saat terjadi reaksi

ionik. Peristiwa ini menyebabkan perubahan struktur pada ikatan peptida dimana asam amino mengalami kerusakan. Kerusakan ini mengakibatkan lipatan-lipatan yang dibentuk polipeptida menjadi putus. Putusnya lipatan-lipatan ini menyebabkan struktur material yang mengandung formalin menjadi rigid atau tegar karena strukturnya sudah tidak seperti pegas lagi. Hal ini menyebabkan makanan yang mengandung formalin memiliki tekstur yang lebih kaku (Fatmawati, 2012).

Pecahnya peptida akibat reaksi asam-basa menyebabkan material tidak akan diserang bakteri pembusuk penghasil senyawa asam. Itulah penyebab makanan menjadi awet. Reaksi antara formalin dan protein yang terkandung dalam makanan menyebabkan kandungan asam aminonya sukar dicerna dan diserap oleh tubuh. Padahal protein memiliki peran dalam pembentukan jaringan baru dalam tubuh. Dengan berkurangnya kandungan protein dalam makanan tentunya nilai nutrisi yang dikonsumsi akan berkurang (Fatmawati, 2012).

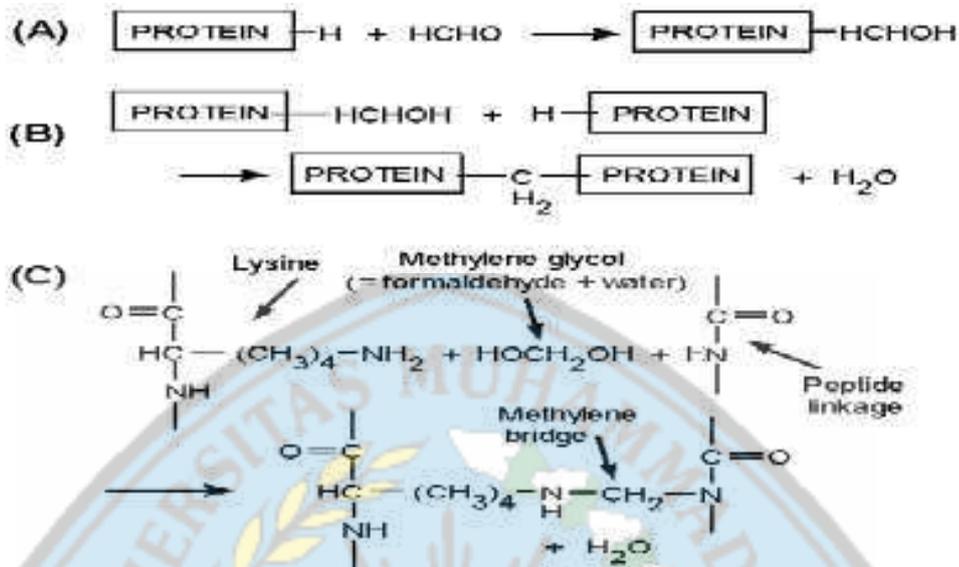
Formalin memiliki unsur aldehida yang bersifat mudah bereaksi dengan protein, karena itu ketika formalin disiramkan pada makanan seperti ayam, formalin akan mengikat unsur protein mulai dari bagian permukaan ayam hingga terus meresap ke bagian dalamnya. Protein yang mulai berkurang setelah terikat unsur kimia dari formalin maka akan menyebabkan ayam tersebut terasa lebih kenyal. Protein yang telah rusak tidak akan diserang bakteri pembusuk yang menghasilkan senyawa asam, itulah sebabnya makanan berformalin lainnya menjadi lebih awet (Yulizar, 2015). Selama perendaman larutan formalin terjadi peningkatan penyerapan formalin seiring dengan turunnya kandungan protein, hal

ini menunjukkan terjadi reaksi antara protein (asam amino) dengan formaldehid membentuk senyawa methylene (Purawisastra & Sahara, 2011).

(Yulizar, 2015), juga menyebutkan bahwa formaldehid membunuh bakteri dengan membuat jaringan, sehingga sel bakteri akan kering dan membentuk lapisan baru di permukaan. Artinya formalin tidak saja membunuh bakteri, tetapi juga membentuk lapisan baru yang melindungi lapisan dibawahnya supaya tahan terhadap bakteri lain. Melihat sifatnya, formalin juga sudah tentu akan menyerang protein yang banyak terdapat di dalam tubuh manusia seperti pada lambung, terlebih bila formalin yang masuk ke tubuh itu memiliki dosis.

Sifat antimikrobia dari formaldehid merupakan hasil dari kemampuannya menginaktivasi protein dengan cara mengkondensasi dengan amino bebas dalam protein menjadi campuran lain. Kemampuan dari formaldehid meningkat seiring dengan peningkatan suhu. Mekanisme formalin sebagai pengawet adalah jika formaldehid bereaksi dengan protein sehingga membentuk rangkaian-rangkaian antara protein yang berdekatan. Akibat dari reaksi tersebut, protein mengeras dan tidak dapat larut. Hal inilah yang menyebabkan formalin digunakan sebagai pengawet makanan terutama yang mengandung protein (Cahyadi, 2008).

Reaksi antara formalin dengan protein dapat dilihat pada gambar dibawah berikut:



Gambar 2. Reaksi Formalin dengan protein (Iskandar, 2008).

2.5. SDS-PAGE

Elektroforesis merupakan suatu cara untuk memisahkan fraksi-fraksi suatu campuran berdasarkan atas pergerakan partikel koloid yang bermuatan di bawah pengaruh medan listrik. Cara elektroforesis telah digunakan untuk analisa virus, asam nukleat, enzim dan protein. Serta molekul-molekul organik dengan berat molekul rendah seperti asam amino. SDS adalah detergen anionik yang dapat melapisi protein, sebagian besar sebanding dengan berat molekulnya dan memberikan muatan listrik negatif pada semua sampel (Saputra, 2014).

Sodium Dodecil Sulphate Polyacrylamid Gel Elektroforesis (SDS-PAGE) berfungsi untuk mendenaturasi protein karena SDS bersifat sebagai deterjen yang mengakibatkan ikatan dalam protein terputus membentuk protein yang dapat terelusi dalam gel begitu juga *mercatofenial*. SDS dapat mengganggu konfirmasi

spesifik protein dengan cara melarutkan molekul hidrophobik yang ada di dalam struktur tersier polipeptida. SDS mengubah semua molekul protein kembali ke struktur primernya dengan cara merenggangkan gugus utama polipeptida. Selain itu juga SDS menyelubungi setiap molekul protein dengan muatan negatif.

SDS adalah teknik untuk memisahkan rantai polipeptida pada protein berdasarkan kemampuannya untuk bergerak dalam arus listrik, yang merupakan fungsi dari panjang rantai polipeptida atau berat molekulnya. Hal ini didapatkan dengan ditambahkan detergen SDS dan pemanasan untuk merusak struktur tiga dimensi pada protein dengan terlepasnya ikatan *disulfide* yang selanjutnya direduksi menjadi gugus sulfidhidril. SDS akan membentuk kompleks dengan protein dan kompleks ini bermuatan negatif karena gugus anionik dari SDS (Saputra, 2014).

Analisa menggunakan SDS-PAGE ini poliakrilamid yang digunakan terdiri dari dua yaitu *stacking gel* dan *resolving gel*. *Stacking gel* terletak dibagian atas yang berfungsi sebagai gel untuk meletakkan sampel, sedangkan *resolving gel* terletak dibagian bawah yang berfungsi untuk memisahkan protein berdasarkan berat molekulnya, dimana protein akan berpindah bergerak menuju anoda. *Stacking gel* dan *resolving gel* memiliki komposisi yang sama yang membedakan hanya konsentrasi gel poliakrilamid pembentuknya, dimana *stacking gel* lebih rendah dari pada *resolving gel*. Proses destaining dilakukan untuk menghilangkan warna pada gel yang tidak mengandung protein diberi larutan destaining. Kemudian untuk menentukan berat molekul protein yang diinginkan dihitung

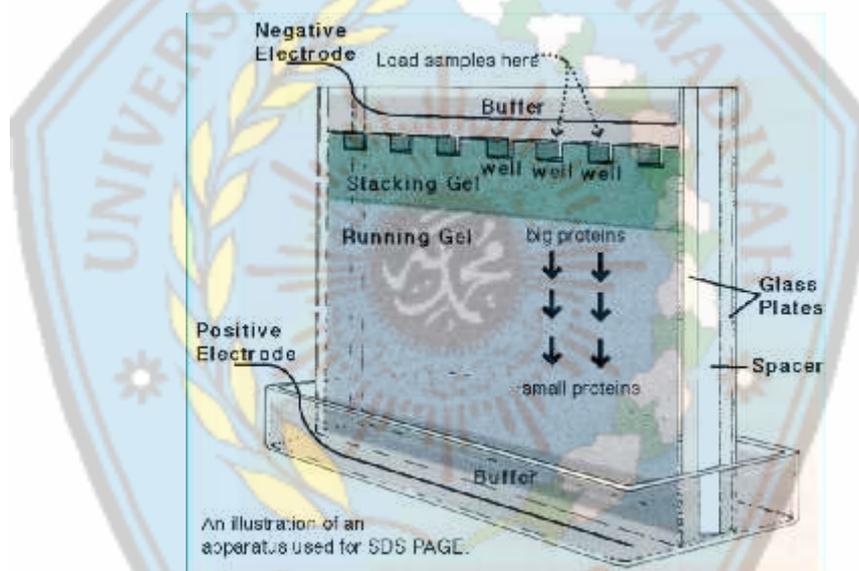
menggunakan R_f dan diplotkan pada grafik logaritma dari R_f marker protein yang berat molekulnya telah diketahui (Saputra, 2014).

Komponen penting yang membentuk gel poliakrilamida adalah akrilamida, bisakrilamida, ammoniumpersulfate dan TEMED (N,N,N',N'tetrametilendiamin). Akrilamida sebagai senyawa utama yang menyusun gel merupakan senyawa karsinogenik. Bis-akrilamida berfungsi sebagai *cross-linking* agen yang membentuk kisi-kisi bersama polimer akrilamida. Ammonium persulfat (APS) berfungsi sebagai inisiator yang mengaktifkan akrilamida agar bereaksi dengan molekul akrilamida yang lainnya membentuk rantai polimer yang panjang. TEMED berfungsi sebagai katalisator reaksi polimerisasi akrilamid menjadi gel poliakrilamid sehingga dapat digunakan dalam pemisahan protein. (Saputra, 2014).

Prinsip dasar analisa dengan SDS-PAGE adalah :

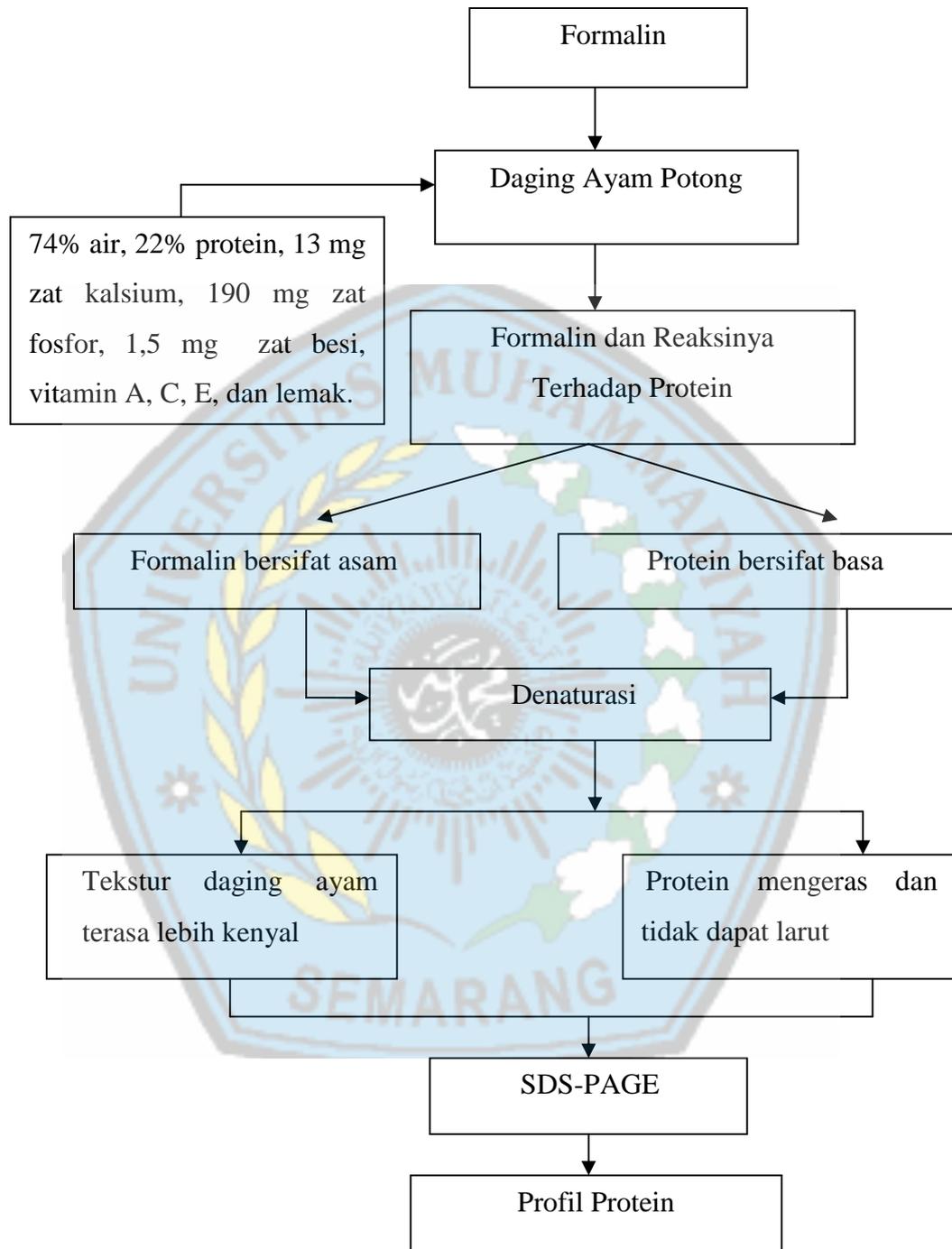
1. Larutan protein yang akan dianalisis dicampur dengan SDS terlebih dahulu, SDS merupakan detergent anionik yang apabila dilarutkan molekulnya memiliki muatan negatif dalam range pH yang luas. Muatan negatif SDS akan mendenaturasi sebagian besar struktur kompleks protein, dan secara kuat tertarik ke arah anoda bila ditempatkan pada suatu medan listrik.
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. Pada proses elektroforesis dengan SDS dilakukan di dalam gel poliacrilamida, molekul protein akan melewati pori-pori gel, sehingga kemudahan pergerakan melalui pori tergantung pada diameter molekul.
4. Molekul yang lebih besar akan tertahan dan akibatnya bergerak lebih lambat. Karena molekul terdenaturasi, diameternya tergantung dari berat molekulnya. Makin besar diameter molekulnya, semakin lambat gerakannya.
5. Dengan demikian, SDS-PAGE akan memisahkan molekul berdasarkan berat molekulnya (Saputra, 2014).



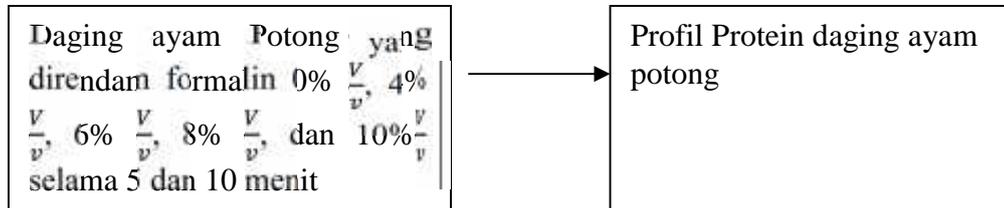
Gambar 3. Skema SDS-PAGE
(Sumber: Saputra, 2014).

2.6. Kerangka Teori



Gambar 4. Kerangka Teori

2.7. Kerangka Konsep



Gambar 5. Kerangka Konsep

