

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Protein

2.1.1 Pengertian Protein

Protein merupakan makromolekul yang terbentuk dari asam amino yang tersusun dari atom nitrogen, karbon, dan oksigen, beberapa jenis asam amino yang mengandung sulfur (metionin, sistin dan sistein) yang dihubungkan oleh ikatan peptida. Dalam makhluk hidup, protein berperan sebagai pembentuk struktur sel dan beberapa jenis protein memiliki peran fisiologis (Bintang, 2010).

Protein merupakan polimer dari sekitar 21 asam amino berlainan yang dihubungkan dengan ikatan peptida. Asam amino keragaman rantai samping yang terbentuk dengan ikatan peptida. Asam amino memiliki keragaman rantai samping adalah yang terbentuk asam-asam amino tersebut disambungkan protein yang berbeda dapat mempunyai sifat yang berbeda, struktur sekunder dan tersier yang sangat berbeda. Rantai samping dapat bersifat polar dan nonpolar. Kandungan bagian asam amino polar yang tinggi dalam protein meningkatkan kelarutannya dalam air (John, 2008).

Protein adalah zat pembangun yang penting dalam siklus kehidupan manusia. Protein digunakan sebagai zat pembangun tubuh untuk mengganti dan memelihara sel tubuh yang rusak, reproduksi, mencerna makanan dan kelangsungan proses normal dalam tubuh. Sumber protein adalah kacang-kacangan dan hasil olahannya, telur, teri, ikan segar, daging, udang, susu dan

sebagainya perlu ditambahkan dalam menu makanan sebagai zat tambahan darah untuk mencegah dan mengatasi anemia (Adriani dan Wirjatma, 2012).

2.1.2 Fungsi dan Peranan Protein

Protein mempunyai beberapa fungsi protein:

- a. Membentuk jaringan dalam masa pertumbuhan dan perkembangan tubuh.
- b. Memelihara jaringan tubuh, memperbaiki serta mengganti jaringan yang rusak atau mati.
- c. Menyediakan asam amino yang diperlukan untuk membentuk enzim pencernaan dan metabolisme serta antibodi yang diperlukan.
- d. Mengatur keseimbangan air yang terdapat dalam tiga kompartemen, yaitu intraseluler, ekstraseluler/intraseluler dan intravaskuler (Adriani dan Wirjatma 2012).

Protein memiliki peran yang penting bagi tubuh, namun menurut Kurniawan (2014), terlalu banyak mengonsumsi protein hewani akan membuat sistem pencernaan sulit untuk diuraikan dan diserap secara menyeluruh karena sisa-sisa makanan yang tidak dapat diserap oleh tubuh akan menumpuk dan akhirnya membusuk didalam usus. Racun yang dihasilkan oleh sisa-sisa makanan yang menumpuk akan dinetralkan oleh hati. Kondisi inilah yang mengakibatkan sebagian besar enzim didalam usus dan hati menguras energinya hanya untuk melindungi tubuh dari racun-racun yang ada di dalam pencernaan. Kerugian yang didapatkan oleh tubuh adalah protein akan terbuang sia-sia melalui urine.

2.1.3 Sumber Protein

a. Protein Nabati

Hampir sekitar 70% penyediaan protein di dunia berasal dari bahan nabati (hasil tanaman), terutama berasal dari biji-bijian (sereal) dan kacang-kacangan. Sayuran dan buah-buahan tidak memberikan kontribusi protein dalam jumlah yang cukup berarti, sebagian besar penduduk dunia menggunakan sereal (terutama beras, gandum dan jagung) sebagai sumber utama kalori, yang ternyata sekaligus juga merupakan sumber protein yang penting.

b. Protein Hewani

Hasil-hasil hewani yang umum digunakan sebagai sumber protein adalah daging, telur, susu dan ikan. 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 (Muchtadi, D 2010)

2.1.4 Tingkatan Struktur Protein

Menurut Fatmahanik (2011), protein dapat dikelompokkan menjadi tiga tingkat struktur, yaitu :

a. Struktur polimer

Struktur polimer menggambarkan sekuens linier residu asam amino dalam suatu protein. Sekuens asam amino selalu dituliskan dari struktur sekunder, tersier, dan kuartener. Faktor yang menentukan untuk menjaga atau menstabilkan ketiga tingkat struktur tersebut adalah ikatan kovalen yang terdapat dalam struktur primer.

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 yang kompak. Beberapa polipeptida *folded* terdiri dari beberapa protein *glubar* yang berbeda dihubungkan oleh residu asam amino. Unit tersebut dinamakan domain. 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 multi sub unit atau protein oligomerik. Rantai polipeptida yang membentuk multi sub unit atau protein oligomerik. Rantai polipeptida penyusun protein oligomerik dapat sama atau berbeda.

2.1.5 Klasifikasi Protein

- a. Protein bentuk serabut terdiri atas beberapa rantai peptida berbentuk spiral yang terjalin satu sama lain sehingga menyerupai batang yang kaku. Karakteristik protein berbentuk serabut adalah rendahnya daya larut, mempunyai kekuatan mekanis yang tinggi dan terhadap enzim pencernaan. Protein ini terdapat dalam unsur-unsur struktur tubuh. *Kolagen* merupakan protein utama jaringan ikat, kolagen tidak larut di air mudah berubah menjadi

gelatin bila direbus dalam air, asam encer atau alkali. Sebanyak 30% total manusia adalah kolagen.

b. Protein Globular

Protein globular berbentuk bola, terdapat dalam cairan organ tubuh. Protein ini larut dalam larutan garam dan asam encer, mudah berubah di bawah pengaruh suhu, konsentrasi garam serta mudah mengalami denaturasi.

c. Protein Konjugasi

Protein konjugasi adalah protein sederhana yang terikat dengan bahan-bahan nonasam amino. Gugus non asam amino ini dinamakan gugus prostetik (Sumardjo, 2007).

2.1.6 Pencernaan Protein

Protein dicerna atau dihidrolisis di dalam tubuh, untuk membedakan asam amino agar dapat diserap dan didistribusikan oleh darah keseluruh organ dan jaringan tubuh. Asam amino merupakan produk akhir dari perombakan protein. Proses perubahan protein menjadi asam amino berlangsung didalam saluran pencernaan, terutama usus halus, akan dihasilkan 20 jenis asam amino yang berbeda (Afrianto dan Liviawaty, 2007).

Protein yang berbentuk polipeptida (polimer dari asam amino) akan diubah menjadi peptida yang lebih sederhana oleh enzim pepsin dan tripsin. Selanjutnya, dengan bantuan amino peptidase, peptida ini akan diubah lagi menjadi asam amino. Asam amino akan diserap oleh darah dan diangkut keseluruh bagian tubuh. Didalam jaringan tubuh, asam amino akan diubah

kembali menjadi protein dan selanjutnya disimpan sebagai cadangan dalam bentuk protein tubuh (Afrianto dan Liviawaty, 2007).

2.1.7 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

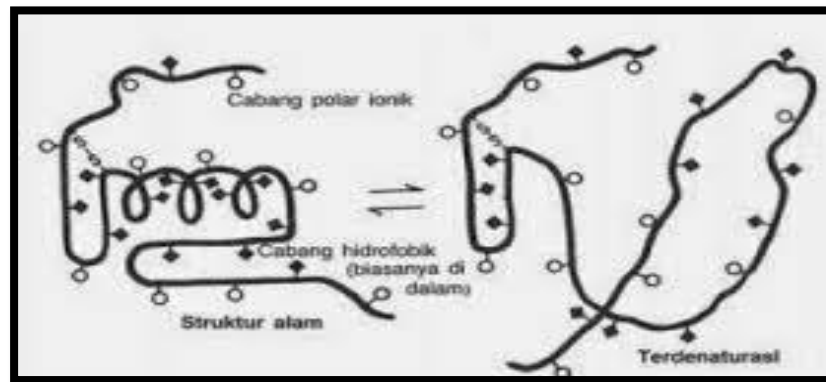
Derajat cerna (digestibility) suatu protein adalah suatu presentase protein yang dapat dicerna, diserap dan dimetabolisme oleh tubuh. Contoh: protein nabati mempunyai derajat cerna yang rendah, karena proteinnya terletak dalam sel yang berdinding selulosa. Enzim pencernaan tidak dapat menghidrolisis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

2.1.8 Denaturasi Protein

Denaturasi merupakan suatu perubahan struktur sekunder, tersier, dan kuaterner terhadap molekul protein tanpa terjadinya pemecahan ikatan kovalen.

Denaturasi didefinisikan juga sebagai suatu proses terpecahnya ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, ikatan garam, dan terbentuknya lipatan molekul. Denaturasi protein adalah perubahan konformasi yang fundamental dalam semua bagian molekulnya yang penting yang menyebabkan kehilangan aktivitas biologi dan fungsi alamianya, perlakuan panas, pH ekstrim, alkohol gangguan fisik dan kimia dapat memicu terjadinya denaturasi. Denaturasi oleh panas dapat mempermudah hidrolisis protein oleh protase dalam usus halus. Akan tetapi panas juga dapat menurunkan mutu protein akibat perombakan dan terpisainya gugus amino epsilon dari lisin protein asli yang menghambat hidrolisis oleh tripsin (Dalilah, 2006). Proses denaturasi protein ditunjukkan dalam Gambar 1.

Pengembangan atau pemekaran molekul protein yang terdenaturasi akan membuka gugus reaktif yang terdapat pada rantai polipeptida. Selanjutnya akan terjadi pengikatan kembali pada gugus reaksi yang sama atau berdekatan. Apabila unit ikatan yang terbentuk cukup banyak, sehingga protein tidak mampu terdispersi sebagai koloid, maka protein tersebut mengalami koagulasi. Koagulasi terjadi setelah pengembangan molekul protein yang terdenaturasi. Setelah protein terdenaturasi unit ikatan gugus reaktif pada rantai polipeptida yang terbentuk cukup banyak sehingga protein tidak terdispersi lagi sebagai suatu koloid. Koagulasi dapat terjadi pada suhu di atas 90 °C (Dalilah, 2006).



Gambar 1. Denaturasi protein (Dalilah, 2006)

2.2 Ikan

Ikan merupakan salah satu bahan makanan yang mengandung berbagai macam zat. Absorpsi protein ikan lebih tinggi dibandingkan dengan produk hewani lain seperti daging sapi dan ayam karena daging ikan mempunyai serat-serat protein lebih pendek dari pada serat-serat protein daging sapi atau ayam. Jenisnya beragam dan mempunyai beberapa kelebihan, diantaranya adalah mengandung omega 3 dan omega 6, serta kelengkapan komposisi asam amino (Sharifuddin, 2010).

Ikan didefinisikan sebagai hewan bertulang belakang (vertebrata) yang hidup dalam air dan secara sistematis ditempatkan pada filum Chordata dengan karakteristik memiliki insang yang berfungsi mengambil oksigen yang terlarut dari air dan sirip digunakan untuk berenang. Ikan dapat ditemukan hampir di semua tipe perairan di dunia dengan bentuk dan karakter yang berbeda-beda (Adrim, 2010).

Masyarakat Indonesia sendiri banyak menjadikan ikan sebagai sumber protein harian. Selain itu, ikan sebagai sumber vitamin dan mineral. Kandungan

nutrisi ikan yang paling menonjol adalah asam lemak omega-3. Namun hanya hanya jenis ikan-ikan tertentu yang mengandung asam lemak omega-3 lebih tinggi dibandingkan dengan jenis ikan lainnya. Beberapa jenis ikan dengan kandungan asam lemak omega-3 tinggi (diatas 1 g per 100 g masak) diantaranya adalah ikan haring, salmon, tuna, dan ikan putih (Sharifuddin, 2010).

Kandungan asam lemak omega-3 pada ikan memiliki peranan penting bagi kesehatan manusia. Salah satu penyakit yang dapat dicegah dan dapat diobati dengan asam lemak omega-3 adalah penyakit jantung. Selain itu, konsumsi secara rutin dapat menurunkan resiko kanker payudara, prostat, usus dan paru-paru (Subroto, 2008).

2.2.1 Jenis protein yang terdapat dalam tubuh ikan umumnya didasarkan pada fungsi daya larutnya

Berdasarkan daya larutnya, protein dibedakan menjadi tiga :

- a. Protein serat (*fibrous proteins*), yaitu jenis protein yang tidak mudah larut (tidak mudah dicerna), seperti kolagen, elastin, dan keratin. Kolagen banyak terdapat dalam jaringan lambung, tulang, sirip, tulang insang, dan saluran darah. Elastin terdapat diantara tendon dan jaringan *stretch* lainnya. Keratin banyak pada rambut hewan darat dan hanya sedikit pada ikan.
- b. Protein kontraktil (*contractile proteins*), yakni kompleks protein otot, misalnya aktin, tropomiosin B, dan miosin. Protein kontraktil mudah dicerna dan mempunyai nilai nutrisi yang tinggi.
- c. Protein globular (*globular proteins*), adalah protein yang dapat diekstrak dari jaringan dengan menggunakan air laut atau larutan garam. Protein globular

juga terdapat pada enzim, hormon, serum dan darah (Afrianto dan Liviawaty, 2006).

2.2.2 Fungsi protein dalam ikan

Ikan menggunakan protein secara efisien sebagai sumber energi, sebagian besar energi yang dapat dicerna (*digestible energy*) dalam protein dapat dimetabolisme dengan lebih baik oleh ikan dibandingkan dengan hewan lainnya. Demikian pula, peningkatan panas akibat mengonsumsi protein pada ikan lebih rendah, yang berarti nilai energi produktif yang diberikan oleh protein kepada ikan lebih besar. Secara garis besar fungsi utama protein didalam tubuh ikan adalah sebagai berikut:

- a. Merupakan sumber energi bagi ikan, terutama pada komponen lemak dan karbohidrat yang terdapat didalam tidak dapat memenuhi kebutuhan energi.
- b. Berperan dalam pertumbuhan maupun pembentukan jaringan tubuh.
- c. Berperan dalam perbaikan jaringan tubuh yang rusak.
- d. Merupakan komponen utama dalam pembentukan enzim, hormon dan antibodi.
- e. Turut berperan dalam pembentukan gamet.
- f. Berperan dalam proses osmoregulasi di dalam tubuh (Dalilah, 2006).

2.2.3 Nilai Gizi Ikan

Ikan terdiri dari ikan tawar dan ikan laut. Keduanya adalah makanan sumber protein yang sangat penting untuk pertumbuhan tubuh. Ikan mengandung 18% protein yang terdiri dari asam-asam amino esensial yang tidak mudah pada

waktu Pemasakan. Kandungan lemaknya 1-20% adalah lemak yang mudah dicerna serta langsung dapat digunakan oleh jaringan tubuh. Sebagian besar Kandungan lemaknya berupa asam lemak tidak jenuh yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan dapat menurunkan kolesterol darah (Peritiwadi, 2016).

Protein dalam ikan tersusun dari asam amino yang dibutuhkan oleh tubuh untuk pertumbuhan. Selain itu, protein ikan amat mudah dicerna dan diabsorpsi. Asam amino yang dikandungnya cukup banyak dan bervariasi sesuai yang dibutuhkan tubuh. Para ahli menemukan komposisi asam amino dalam bahan makanan hewani sesuai dengan komposisi jaringan di dalam tubuh manusia. Oleh karena itu, protein dari ikan, daging, susu, telur dan unggas mempunyai nilai gizi yang tinggi (Adriani dan Wirjatma, 2012).

Absorpsi protein ikan lebih tinggi dibandingkan daging sapi, ayam dan lain-lain. Daging ikan mempunyai serat protein lebih pendek dari pada serat-serat protein daging sapi atau ayam. Oleh karena itu, ikan dan hasilnya banyak dimanfaatkan oleh orang-orang yang mengalami kesulitan pencernaan sebab mudah dicerna (Adriani dan Wirjatma, 2012).

2.2.4 Akibat Defisiensi Konsumsi Ikan

Ikan merupakan sumber protein hewani kualitas tinggi selain daging dan telur. Ikan mengandung berbagai macam asam amino esensial, minyak ikan yang mengandung berbagai macam vitamin. Ikan juga mengandung berbagai macam mineral yang diperlukan oleh tubuh. Banyak penyakit yang muncul akibat kekurangan asupan ikan sehari-hari, di antaranya:

- a. Marasmus, *kwashiorkor* dan *marasmic- kwashiorkor* yang terjadi karena kurangnya *intake* protein.
- b. GAKY (gangguan akibat kekurangan yodium). Ikan laut banyak mengandung yodium yang dibutuhkan untuk pertumbuhan. Apabila yodium dalam tubuh berkurang, maka akan menyebabkan penyakit gondok dan kretinisme pada usia pertumbuhan.
- c. Gangguan mata, karena kurangan asupan vitamin A menyebabkan penyakit buta senja dan *bitot's spot* (Adriani dan Wirjatma, 2012).

(BBP2B-KB, dalam Retti, dkk, 2013) kandungan beberapa jenis ikan yang sering ditemukan di Indonesia dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Perbandingan kadar beberapa jenis ikan

Nama ikan	Nama Latin	Kadar Air(%)	Kadar Abu (%)	Kadar Protein(%)	Kadar Lemak (%)
Bandeng	<i>Chanos chanos</i>	70,45	2,15	22,84	1,15
Bawal		76,72	1,45	20,71	1,02
Cakalang		74,09	1,53	23,48	0,76
Gabus	<i>Channa striata</i>	78,60±0,09	0,98±0,08	17,61±0,19	1,34±0,12
Gurami	<i>Ospheronemus gauramy</i>	72,96-75,48	0,95-1,03	18,71-20,67	2,79-0,55
Kakap merah	<i>Lutjanus sp</i>	80,51	1,33	17	0,55
Kambung	<i>Rastrelliger sp.</i>	73,91	3,22	21,4	0,22
Kerapu		81,2	1,11	16,97	0,47
Lele	<i>Clarias batracus</i>	77,99	1,63	19,91	1,96
Mas	<i>Cyprinus caprio</i>	75,4	1,3	19,4	3,9

Nila	<i>Oreochromis niloticus</i>	81	1,08	16,05	1,34
Teri	<i>Stolephorus sp.</i>	75,72	2,38	18,83	1,24

2.3 Ikan kakap merah

Klasifikasinya dalam taksonomi adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Subfilum : Vertebrata

Kelas : Pisces

Subkelas : Teleostei

Ordo : Percomorphi

Subordo : Percoidea

Famili : Lutjanidae

Genus : Lutjanus

Spesies : *Lutjanus sp.*

Morfologi ikan kakap merah ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2, ikan kakap merah (*Lutjanus sp.*). (Andriani, 2012)

Kakap merah dikenal sebagai ikan yang memiliki tubuh berwarna merah, memiliki daging yang tebal, putih dan citra rasanya yang gurih dan khas. Ikan kakap sangat disukai masyarakat. Kakap merah dapat hidup di air tawar, sehingga dapat dipelihara di berbagai lingkungan perairan dan wadahbudidaya (Sharifuddin, 2010).

Ikan kakap merah (*Lutjanus sp*) mempunyai tubuh yang memanjang dan melebar, gepeng atau lonjong, kepala cembung atau sedikit cekung. Jenis ikan ini umumnya bermulut lebar dan agak menonjol ke muka, gigi konikel pada taring-taringnya tersusun dalam satu atau dua baris dengan serangkaian gigi caninnya yang berada pada bagian depan (Sharifuddin A, 2010).

Ikan kakap merah mempunyai penutup insang bergerigi dengan ujung berbentuk tonjolan yang tajam, sirip punggung berjari-jari keras 11 dan lemah 14, sirip dubur berjari-jari keras 3 lemah 8-9. Sirip punggung umumnya berkesinambungan dan berlekuk pada bagian antara yang berduri keras dan bagian yang berduri lunak. Batas belakang ekornya agak cekung dengan kedua ujung sedikit tumpul (Sharifuddin, 2010).

Warna ikan bervariasi, mulai dari yang kemerahan, kekuningan, kelabu hingga kecoklatan. Ikan mempunyai garis-garis berwarna gelap dan terkadang dijumpai adanya bercak kehitaman pada sisi tubuh sebelah atas tepat di bawah awal sirip punggung berjari lunak (Sharifuddin, 2010).

2.3.1 Kandungan Gizi Yang terdapat pada Ikan Kakap merah

Ikan kakap merah dengan porsi 250 g mengandung 32,5 mg mineral selenium. Selenium adalah mineral untuk mencegah terjadinya oksidasi lemak.

250 g porsi kakap merah mengandung 168 mg fosfor. Fosfor dalam ikan ini adalah nutrisi yang berkaitan dengan kesehatan tulang dan kepadatan tulang. 85% dari fosfor ditemukan pada tulang ikan tersebut. Kakap merah mengandung protein sekitar 33% dari nilai kebutuhan harian yang direkomendasikan. 250 g porsi ikan kakap merah mengandung 17,4 mg protein. Protein diperlukan untuk produksi hormon, enzim, jaringan dan antibodi. Kakap merah mengandung protein lengkap, yang berarti semua asam amino esensial yang ada dalam makanan. Kakap merah menyediakan hampir seluruh nilai kebutuhan vitamin D harian yang direkomendasikan. Vitamin D penting untuk metabolisme kalsium, yang membantu kesehatan tulang (Adriani dan Wirjatma, 2012).

2.4 Asam Cuka (Pengawetan)

Nama asam asetat berasal dari kata Latin *asetum*, “vinegar”. Asam asetat, asam *etanoat* atau asam cuka adalah senyawa kimia asam organik yang merupakan asam karboksilat yang paling penting di perdagangan, industri, dan laboratorium dan dikenal sebagai pemberi rasa asam dan aroma dalam makanan. Asam cuka memiliki rumus kimia $\text{CH}_3\text{-COOH}$, CH_3COOH , atau $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ (Andriani, 2007).

Asam asetat dan asam laktat adalah asam organik yang aman digunakan sebagai preservatif makanan. Selain itu berdasarkan penelitian, asam organik adalah substansi antimikroba yang digunakan dalam pangan dan oleh FDA telah diakui aman digunakan sebagai preservatif bahan makanan. Dengan penambahan preservatif diharapkan dapat memperpanjang masa simpan dan mencegah kerusakan pada bahan pangan. Aktivitas antimikroba dari asam organik berupa

asam asetat ditentukan oleh besarnya nilai pKa yang merupakan prosentase molekul asam yang tidak terdisosiasi. Kondisi derajat asam rendah serta banyaknya prosentase molekul asam organik yang tidak terdisosiasi akan meningkatkan kemampuan sebagai antimikroba (Andriani, 2007).

Asam asetat merupakan cairan jernih, tidak berwarna, berbau khas menusuk, rasa asam yang tajam, dan dapat larut dalam air. Asam asetat (CH_3COOH) memiliki berat molekul 60,05 dan nilai pKa 4,75.). Asam asetat dan aman digunakan sebagai preservasi dan lebih efektif digunakan sebagai bahan preservasi karena tidak ada batas maksimal penggunaannya. Menurut Suparto dan Dian (2006) penggunaan asam asetat dan asam laktat dalam jangka waktu lama tidak membahayakan kesehatan karena dapat dimetabolisir oleh tubuh dan diekskresikan (Andriani, 2007).

Faktor-faktor yang mempengaruhi bahan pangan khususnya pada ikan yang mempunyai sifat penurunan mutu sangat cepat (Reti dkk, 2013) antara lain adalah :

a. Pertumbuhan dan aktivitas mikrobiologi

Mikroba patogen menghasilkan zat kimia yang bersifat racun. Mikroba mengubah komposisi makanan dengan menghidrolisis pati dan solulosa, menguraikan lemak, menguraikan protein, membentuk lendir, gas, busa, asam, serta racun. Penguraian protein menimbulkan bau busuk dalam makanan.

b. Aktivitas enzim

Enzim mempercepat reaksi-reaksi kimia dalam makanan dan menyebabkan perubahan komposisi pada makanan. Enzim dapat berasal dari

makanan itu sendiri atau dari mikroba yang mencemari makanan. Pada hewan mati, enzim bekerja tidak terkendali sehingga pada potongan daging dan ikan tekstur berubah dan muncul bau amoniak.

c. Faktor lingkungan

Temperatur, oksigen, dan cahaya mempengaruhi proses pembusukan makanan. Pemanasan yang berlebihan menyebabkan kerusakan struktur protein, kerusakan protein, kerusakan vitamin, pemecahan lemak, serta mempercepat proses enzimatik. Oksigen memicu pertumbuhan mikroba, merusak vitamin A, Vitamin C, dan warna makanan.

2.5 SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Polyarilmaide Gel Elektroforesis*)

Elektroforesis adalah sebuah metode untuk separasi atau pemisahan sebuah molekul seperti protein, fragmen, DNA dan RNA dari campuran molekul yang serupa. Elektroforesis digunakan untuk memisahkan molekul bermuatan berdasarkan perbedaan tingkat migrasinya dalam sebuah medan listrik. Sebuah arus listrik dilewatkan melalui medium yang mengandung sampel yang akan dipisahkan. Teknik ini dapat 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 tergantung pada rasio muatan terhadap massanya dan bentuk molekulnya (Yuwono, 2008).

SDS (*sodium dodecyl sulphat*) merupakan detergen anionik yang apabila dilarutkan molekulnya memiliki muatan negatif dalam reagen pH yang luas.

Fungsi utama SDS dalam SDS-PAGE adalah memberikatan muatan negatif pada protein yang akan dianalisis, selain itu dapat mendenaturasi protein, mempermudah, menyamakan kondisi, dan menyederhanakan protein (bentuk, ukuran, dan muatan). Muatan negatif SDS akan menghancurkan sebagian struktur kompleks protein dan secara kuat tertarik ke arah anoda bila ditempatkan pada suatu medan listrik (Anam, 2009).

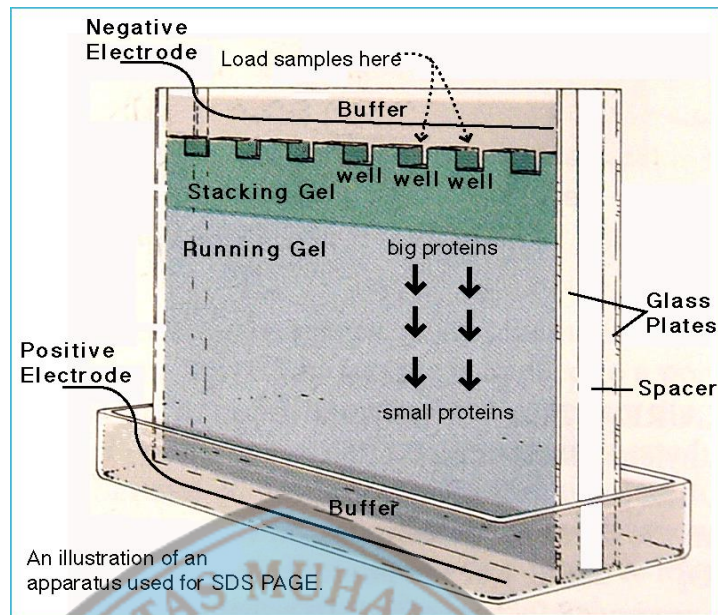
Dalam larutan, protein enzim akan bermuatan pada pH larutan dan titik isolistrik PI) enzim. Pada titik isolistriknya, protein tidak akan bergerak di bawah pengaruh medan listrik. Pada keadaan pH dibawah PI, protein akan bergerak sebagai kation di mana kecepatannya naik bersamaan dengan turunnya pH, kation ini akan bergerak ke arah elektroda negatif. Pada keadaan pH di atas PI protein akan bergerak sebagai anion dan kecepatannya akan naik bersamaan dengan meningkatnya pH, anion ini akan bergerak ke arah elektroda positif (Bintang, 2010).

Sodium Dodecyl sulphate polyarilmaide Gel Elektroforesis (SDS-PAGE) adalah teknik yang digunakan untuk memisahkan rantai polipeptida pada protein berdasarkan kemampuan untuk bergerak dalam arus listrik, yang merupakan fungsi dari panjang rantai polipeptida atau berat molekulnya. 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 *mercatoefaniol*. SDS dapat mengganggu konfirmasi spesifik protein dengan cara melarutkan molekul hidrophobik yang ada di dalam struktur primernya (struktur linear) dengan cara merenggangkan gugus utama

polipeptida. Selain itu SDS juga menyelubung setiap molekul protein dengan muatan negatif (Saputra 2014).

Salah satu jenis elektroforesis yang digunakan secara luas pada saat ini adalah elektroforesis SDS gel poliakrilamida (SDS-PAGE). SDS-PAGE dinilai lebih menguntungkan dibandingkan dengan elektroforesis kertas dan elektroforesis pati. Hal ini disebabkan karena besarnya pori medium penyangga, serta perbandingan konsentrasi akrilamida dan bis-metilen akrilamida. Selain itu, gel ini tidak menimbulkan konsentrasi dan bersifat transparan. (Bintang, 2010)

Pada analisis menggunakan SDS-PAGE, poliakrilamid yang digunakan terdiri dari dua macam, yaitu *stacking gel* dan *resolving gel*. *stacking gel* berfungsi sebagai gel tempat meletakkan sampel, sedangkan *resolving gel* merupakan tempat protein yang akan berpindah, lalu bergerak menuju anoda. *stacking gel* dan *resolving gel* memiliki komposisi yang sama. Yang membedakan keduanya hanyalah konsentrasi gel poliakrilamid pembentukannya, yaitu konsentrasi gel *stacking gel* lebih rendah dibandingkan konsentrasi gel *resolving gel* (Bintang, 2010).



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

2.5.1 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).

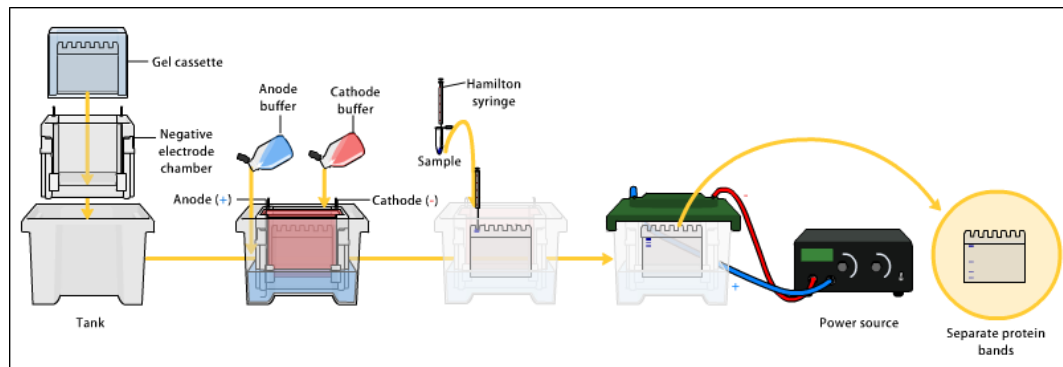
Pada penggunaan elektroforesis SDS-PAGE, gel poliakrilamida yang digunakan terdiri dari 2 macam yaitu *stacking gel* dan *resolving gel*. *Stacking gel* berfungsi sebagai tempat meletakkan sampel, sedangkan *resolving gel* berfungsi sebagai tempat protein yang akan berpindah menuju anoda. *Stacking gel* 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).

2.5.2 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.

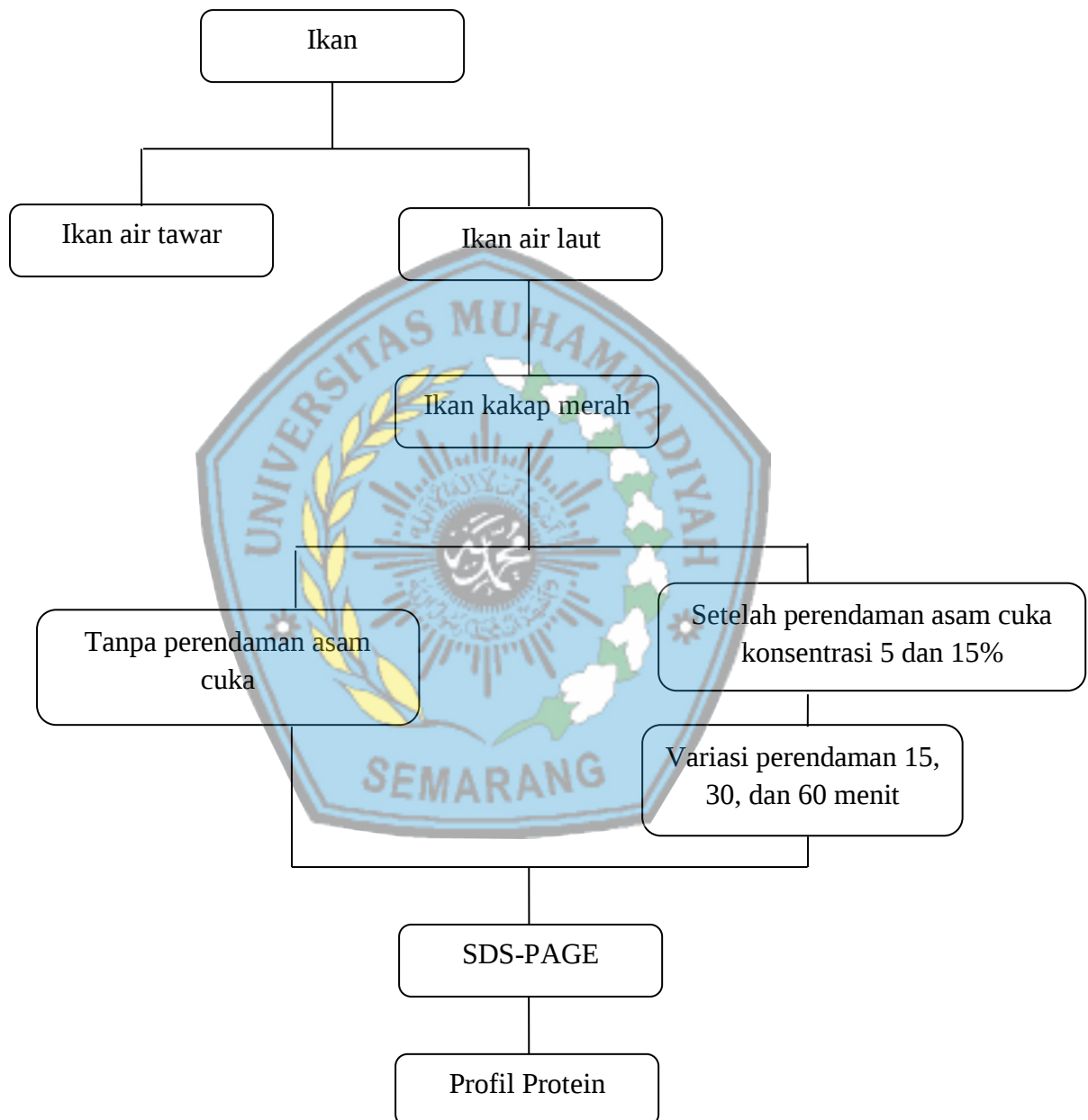


Gambar 4. Prinsip Kerja Elektroforesis SDS-PAGE (Saputra, 2014)



2.6 Kerangka Teori

Kerangka teori penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Kerangka teori