

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Gambaran Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan bandeng segar yang direndam dalam larutan jeruk nipis dengan variasi konsentrasi 10 %, 15 %, dan 20 % dengan variasi waktu perendaman 5, 10, dan 15 menit, dan ikan bandeng segar tanpa perendaman. Sampel penelitian dibeli di Pasar Rejondani Sleman Yogyakarta.

4.2 Analisis Total Protein Secara Spektrofotometer

Tabel 5. Total konsentrasi protein ikan bandeng yang direndam dengan larutan jeruk nipis pada konsentrasi 10 %, 15 %, 20 % dengan waktu perendaman 5, 10 dan 15 menit.

Konsentrasi dan waktu perendaman	Rata-rata total protein ikan bandeng $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	Persentase penurunan
Kontrol	13,3550	-
10 % dalam 5 menit	10,4676	22 %
10 % dalam 10 menit	9,2349	31 %
10 % dalam 15 menit	8,0177	40 %
15 % dalam 5 menit	9,1957	31 %
15 % dalam 10 menit	7,6575	43 %
15 % dalam 15 menit	6,8110	49 %
20 % dalam 5 menit	7,8966	41 %
20 % dalam 10 menit	5,3566	60 %
20 % dalam 15 menit	4,6529	65 %

4.3 Hasil Analisis Profil Protein Metoda SDS-PAGE

Analisis profil protein dilakukan dengan metode SDS-PAGE 12 % terhadap ikan bandeng yang direndam larutan jeruk nipis, ditunjukkan pada Gambar. 10.

A

B



Gambar 10. A. Hasil *Elektrofresis SDS-PAGE* dan B. Visualisasi representasi pita protein ikan bandeng

Keterangan gambar :

M : Marker	B2 : Konsentrasi 15 %, 10 menit
Co : Konrol	C2 : Konsentrasi 15 %, 15 menit
A1 : Konsentrasi 10 %, 5 menit	A3 : Konsentrasi 20 %, 5 menit
B1 : Konsentrasi 10 %, 10 menit	B3 : Konsentrasi 20 %, 10 menit
C1 : Konsentrasi 10 %, 15 menit	C3 : Konsentrasi 20 %, 15 menit
A2 : Konsentrasi 15 %, 5 menit	

4.4 Analisis Protein Ikan Bandeng

Ikan bandeng yang sudah direndam larutan jeruk nipis maupun ikan bandeng segar tanpa perendaman diisolasi proteinnya, kemudian dipisahkan dengan SDS-PAGE 12 % menurut metode Laemli (1970) dan diwarnai dengan *Coomasie Brilliant Blue* (CBB) (Gambar 10.). Menurut Gunanti (2010) penentuan berat molekul protein dilakukan dengan menghitung R_f (*Retardation factor*) dari masing-masing pita protein :

$$R_f = \frac{\text{Jarak pergerakan protein dari tempat awal}}{\text{Jarak pergerakan warna dari tempat awal}}$$

Tabel 6. Berat molekul ikan bandeng tanpa perendaman dan dengan perendaman menggunakan variasi konsentrasi dan waktu perendaman

Berat Molekul (kDa)	Berat Molekul (kDa) Ikan Bandeng											
	M	Co	A1	B1	C1	A2	B2	C2	A3	B3	C3	
180	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	
168		√										
158			√	√	√	√	√	√	√	√		
130	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	
116		√	√	√	√	√	√		√	√		
111		√										
100												
95	√		√	√	√	√	√	√	√	√	√	
88		√										
86		√										
82			√	√	√	√	√	√	√	√	√	
79		√										
72	√											
68												
67			√	√		√	√	√	√	√	√	
66		√			√							
55	√											
53		√	√	√								
51					√	√	√	√	√	√	√	
47		√			√	√	√	√	√	√	√	
46			√	√								
43	√											
41		√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	
39												
38		√										
37			√	√	√	√	√	√	√	√	√	
34	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	
33		√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	

Lanjutan tabel 6

Berat Molekul (kDa)	Berat Molekul (kDa) Ikan Bandeng										
	M	Co	A1	B1	C1	A2	B2	C2	A3	B3	C3
30			√	√	√	√	√	√	√	√	√
29		√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
28		√									
27					√	√	√	√	√	√	√
26	√		√	√	√	√	√	√	√	√	√
25		√	√	√							
24		√									
20			√	√	√	√	√	√	√	√	√
19		√									
18		√									
17		√	√	√		√					
10	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√

Keterangan Tabel :

M : Marker

Co : KONTROL

A1 : Konsentrasi 10 % 5 menit

B1 : Konsentrasi 10 % 10 menit

C1 : Konsentrasi 10 % 15 menit

A2 : Konsentrasi 15 % 5 menit

B2 : Konsentrasi 15 % 10 menit

C2 : Konsentrasi 15 % 15 menit

A3 : Konsentrasi 20 % 5 menit

B3 : Konsentrasi 20 % 10 menit

C3 : Konsentrasi 20 % 20 menit

Keterangan : untuk mengetahui Berat Molekul (BM) sampel. Rf yang sudah diketahui nilainya diplotkan pada grafik logaritma dengan BM Marker yang sudah diketahui nilainya (Lampiran 5.)

Tabel 7. Tabel berat molekul (kDa) pita mayor dan pita minor

Kode Sampel	Pita Protein	Berat Molekul (kDa)
Co	8 pita mayor	111, 66, 53, 47, 41, 38, 29, dan 28
	14 pita minor	180, 168, 130, 88, 86, 79, 34, 33, 25, 24, 19, 18, 17, dan 10
A1	7 pita mayor	116, 67, 53, 41, 37, 30, dan 29
	13 pita minor	180, 158, 130, 95, 82, 47, 34, 33, 26, 25, 20, 17, dan 10
B1	7 pita mayor	116, 67, 53, 41, 37, 30, dan 29
	13 pita minor	180, 158, 130, 95, 82, 47, 34, 33, 26, 25, 20, 17, dan 10
C1	6 pita mayor	66, 51, 41, 37, 30, dan 29
	13 pita minor	180, 158, 130, 116, 95, 82, 47, 34, 33, 27, 26, 20, dan 10.
A2	7 pita mayor	116, 67, 51, 41, 37, 30, dan 29
	13 pita minor	180, 158, 130, 116, 95, 82, 47, 34, 33, 27, 26, 20, 17, dan 10
B2	6 pita mayor	67, 51, 41, 37, 31, dan 30
	13 pita minor	180, 158, 130, 116, 95, 82, 47, 34, 33, 27, 26, 20, dan 10
C2	6 pita mayor	67, 51, 41, 37, 31, dan 30
	12 pita minor	180, 158, 130, 95, 82, 47, 34, 33, 27, 26, 20, dan 10
A3	6 pita mayor	67, 51, 41, 37, 31, dan 30
	13 pita minor	180, 158, 130, 116, 95, 82, 47, 34, 33, 27, 26, 20, dan 10
B3	6 pita mayor	67, 51, 41, 37, 31, dan 30
	13 pita minor	180, 158, 130, 116, 95, 82, 47, 34, 33, 27, 26, 20 dan 10
C3	6 pita mayor	67, 51, 41, 37, 31, dan 30
	11 pita minor	180, 130, 95, 82, 34, 33, 27, 26, 20, dan 10

4.5 Pembahasan

Protein adalah komponen nutrisi utama yang terdapat dalam daging. Nilai nutrisi daging yang tinggi disebabkan karena daging mengandung asam-asam amino esensial yang lengkap dan seimbang (Soeparno, 2005). Ikan merupakan salah satu bahan pangan sumber protein hewani yang potensial karena mudah dicerna namun mudah membusuk dan memiliki bau amis. Bau amis dapat dinetralkan menggunakan jeruk nipis (Sarfiana, 2017).

Jeruk nipis adalah salah satu buah yang memiliki aroma khas untuk mengurangi aroma yang kurang sedap seperti bau amis. Jeruk nipis mengandung asam sitrat, asam askorbat, dan asam amino (triptofan dan lysin). Penambahan asam yang terkandung dalam jeruk nipis menyebabkan perbedaan isoelektris sehingga protein menggumpal dan akhirnya larut. Suasana asam juga akan mempercepat kerja enzim pada pemecahan protein menjadi gugus peptida yang berantai pendek atau bentuk lebih sederhana (Petalia P, 2016).

Pita-pita protein yang terbentuk pada gel dapat terpisah karena adanya proses separasi protein. Metode *Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrilamide Gell Elektrophoresis* (SDS-PAGE) adalah metode untuk memisahkan sub unit-sub unit protein berdasarkan berat molekul, melalui matriks poliakrilamid yang dialiri medan listrik. Sistem ini terdiri dari dua macam gel yaitu *running gel* dan *stacking gel*. *Stacking gel* terletak di bagian atas yang fungsinya sebagai gel untuk penempatan sampel yang siap untuk diseparasi, sedangkan *running gel* terletak dibagian bawah yang fungsinya untuk memisahkan protein berdasarkan berat molekulnya (Darmawati, 2011).

Protein mempunyai muatan positif dan negatif, tetapi adanya SDS pada gel poliakrilamid akan memberikan muatan negatif pada protein, karena SDS adalah detergen anionik. Muatan listrik yang dialirkan menyebabkan protein akan bergerak melalui gel dari kutub negatif ke kutub positif. Gel poliakrilamid akan memisahkan molekul berdasarkan ukuran dan bentuk molekul. Molekul yang berukuran kecil akan bergerak lebih cepat dibandingkan yang ukurannya besar.

Gel poliakrilamid merupakan polimerisasi antara akrilamid dan bisakrilamid (N,N' methylenebisacrylamide). Polimerisasi terjadi karena adanya radikal oksigen bebas yang berasal dari ammonium persulfat (APS) sebagai katalis pertama dan N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine (TEMED) sebagai katalis kedua yang mengkatalisa terjadinya polimerisasi tersebut (Darmawati, 2011).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan diperoleh hasil rata-rata total protein ikan bandeng tanpa perendaman (kontrol) yaitu 13, 3550 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. Setelah diberikan perlakuan perendaman dengan larutan jeruk nipis konsentrasi 10 % selama 5, 10, dan 15 menit yaitu 10,4676 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, 9,2349 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, dan 8,0177 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. Pada konsentrasi perendaman 15 % selama 5, 10, dan 15 menit yaitu 9,1957 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, 7,6575 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, dan 6,8110 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. Pada konsentrasi perendaman 20 % selama 5, 10, dan 15 menit yaitu 7,8966 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, 5,3566 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, dan 4,6529 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. Persentase penurunan minimum yaitu pada konsentrasi perendaman 10 % selama 5 menit dengan persentase penurunan 22 % sedangkan penurunan konsentrasi maksimum yaitu pada konsentrasi 20 % selama 15 menit dengan persentase penurunan 65 %.

Pita protein ikan bandeng tanpa perendaman (Kontrol) terdapat 22 pita protein (8 pita mayor dan 14 pita minor) dengan berat molekul 180 kDa sampai 10 kDa. Sampel ikan bandeng yang telah direndam pada konsentrasi 10 % dalam waktu 5, 10, dan 15 menit berturut-turut terdapat 20 pita protein (7 pita mayor dan 13 pita minor), 20 pita protein (7 pita mayor dan 13 pita minor), dan 19 pita protein (6 pita mayor dan 13 pita minor) dengan berat molekul 180 kDa sampai 10 kDa. Sampel ikan bandeng yang direndam pada konsentrasi 15 % selama 5, 10, dan 15 menit berturut-turut terdapat 20 pita protein (7 pita mayor dan 13 pita minor), 19 pita protein (6 pita mayor dan 13 pita minor), dan 18 pita protein (6 pita mayor dan 12 pita minor) dengan berat molekul 180 kDa sampai 10 kDa. Sampel ikan bandeng yang direndam pada konsentrasi 20 % selama 5, 10, dan 15 menit berturut-turut terdapat 19 pita protein (6 pita mayor dan 13 pita minor), 19 pita protein (6 pita mayor dan 13 pita minor), dan 17 pita protein (6 pita mayor dan 11 pita minor) dengan berat molekul 180 kDa sampai 10 kDa (Tabel 7).

Pita protein mayor dengan berat molekul 111 kDa pada kontrol (Co) berubah menjadi pita minor dengan berat molekul 116 kDa pada konsentrasi 10 % dalam waktu perendaman 15 menit (C1) sampai konsentrasi 20 % dalam waktu perendaman 10 menit dan menghilang pada konsentrasi 20 % dalam waktu perendaman 15 menit. Berdasarkan literatur jenis protein yang berubah memiliki kemiripan dengan berat molekul α -aktinin yaitu 95 kDa, jadi dimungkinkan protein tersebut adalah protein α -aktinin. Pita protein mayor dengan berat molekul 47 kDa pada kontrol (Co) berubah menjadi pita minor pada konsentrasi 10 % dalam perendaman 5 menit (A1) sampai pada konsentrasi 20 % dalam

perendaman 15 menit (C3). Jenis protein tersebut memiliki kemiripan dengan berat molekul protein catepsin D yaitu 42-45 kDa, jadi dimungkinkan protein tersebut adalah protein catepsin D. Hal ini disebabkan karena enzim katepsin aktif optimum pada kisaran pH asam. Pita protein minor dengan berat molekul 18 kDa pada kontrol mulai menghilang pada konsentrasi 10 % dalam perendaman 5 menit (A1) sampai pada konsentrasi 20 % dalam perendaman 15 menit (C3). Jenis protein tersebut adalah protein troponin C dengan berat molekul 18 kDa. Perubahan sub unit protein tersebut disebabkan karena adanya penambahan larutan jeruk nipis yang mengandung asam sitrat, asam askorbat dan asam amino (triptofan dan lysin). Semakin tinggi konsentrasi larutan jeruk nipis maka semakin tinggi konsentrasi asam sitrat, asam askorbat, dan asam amino (triptofan dan lysin) dalam jeruk nipis menyebabkan semakin kuat menghidrolisis ikatan peptida sehingga terjadi penurunan kadar protein dengan persentase penurunan 22 % sampai 65 % dan terjadi perubahan sub unit protein yang ditunjukkan dengan hilangnya protein mayor yang memiliki berat molekul 111 kDa dan 47 kDa (α -aktinin dan catepsin D), kemudian terjadi hidrolisa menjadi sub unit – sub unit yang lebih kecil yang ditunjukkan dengan perubahan pita mayor menjadi pita minor.