

PROFIL PROTEIN DAGING IKAN BANDENG (*Chanos chanos*) MENGUNAKAN SDS-PAGE SEBELUM DAN SESUDAH PENGGARAMAN

Feri¹, Stalis Norma Ethica², Ana Hidayati Mukaromah²

¹Program Studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

²Laboratorium Kimia Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

³Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

ABSTRAK

*Milkfish (*Chanos chanos*) is potential source of easily digested, yet easily decayed animal protein. Salting using table salt (NaCl) is a common technique used to prevent early spoilage on milkfish meat. In study, the effect of salting on of milkfish was investigated using SDS-PAGE method. The aim were: 1. To evaluate protein profile before and after salting in milkfish at varied salt concentration and salting time. 2. To recommend milkfish salting process based on denaturation level of protein reflected by changes in protein profile compared to that of control. Seven portions of meat from one fresh milkfish was used as samples (6 portions) and control (1 portion). All samples were salted using NaCl at concentration of 10, 20, and 30% b/b in varied salting time of 30 and 60 mins. The results showed that the milkfish meat before salting process (control) had a total 15 protein bands. The total protein band number decreased in samples salted for 30 mins at NaCl concentrations of 10, 20 and 30% b/v to become 14, 14 and 12 bands respectively. Further decrease of the band number was observed in samples salted for 60 mins at NaCl concentrations of 10, 20 and 30% b/v where the number became 12, 11 and 10, respectively. Molecular weight analysis on these results showed that salting process of milkfish for 30 min at NaCl concentration of 10% b/v is most recommended as its profile protein showed the least change of protein bands from control's.*

Keywords: Penggaraman, Ikan bandeng profil protein, SDS-PAGE

PENDAHULUAN

Protein ikan sangat penting karena berfungsi sebagai zat pembangun, zat pengatur, dan zat pembakar dalam tubuh. Protein sebagai zat pembangun berfungsi membentuk jaringan baru untuk pertumbuhan, mengganti jaringan yang rusak maupun bereproduksi. Protein sebagai zat pengatur berperan dalam pembentukan enzim dan hormon penjaga dan pengatur berbagai metabolisme didalam tubuh ikan. Sebagai zat pembakar, karena unsur karbon yang terkandung berfungsi sebagai sumber energi pada saat kebutuhan energi tidak terpenuhi oleh karbohidrat dan lemak (Kordi, 2011).

Ikan bandeng (*Chanos chanos*) merupakan ikan air payau yang banyak dikonsumsi sebagai sumber protein hewani yang potensial karena mudah dicerna, namun memiliki kelemahan mudah membusuk. Pengawetan dengan penggaraman dapat dilakukan untuk menghindari pembusukan yang terlalu cepat pada ikan bandeng (Syahrudin, 2013).

Proses pengawetan ikan pada dasarnya dapat dilakukan dengan berbagai cara secara kimiawi antara lain melalui proses penggaraman, dan secara fisik melalui proses pengeringan dan pembekuan. Penggaraman merupakan bentuk pengawetan kuno yang masih banyak digunakan sampai sekarang.

Cara penggaraman yang umum dilakukan adalah penggaraman kering dan basah yang menggunakan jenis garam dapur, baik yang berbentuk kristal maupun larutan. Garam ini dipilih oleh masyarakat karena secara ekonomis lebih murah dan mudah didapat (Afrianto & Liviawaty, 1989).

Secara garis besar, selama proses penggaraman berlangsung terjadi penetrasi garam ke dalam tubuh ikan dan keluarnya cairan dari tubuh ikan karena adanya perbedaan konsentrasi, akan melarutkan kristal garam atau mengencerkan larutan garam. Pada saat itulah terjadi pengentalan cairan tubuh yang masih tersisa dan penggumpalan protein (denaturasi) serta pengerutan sel-sel tubuh ikan sehingga sifat dagingnya berubah (Afrianto & Liviawaty, 1989).

Saat ini metode analisis molekuler menggunakan prinsip elektroforesis telah banyak digunakan untuk mempelajari keanekaragaman protein dan DNA pada makhluk hidup (Darmawati dkk., 2013; Etienne dkk., 2000; Ethica, dkk., 2013, 2017). Secara khusus SDS PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis*) adalah metode elektroforesis berbasis poliakrilamid yang sesuai untuk menganalisis protein karena mampu memisahkan sub-unit-sub-unit protein berdasarkan ukuran molekulnya dengan dua macam gel yaitu *running* dan *stacking* gel (Darmawati & Artama., 1999).

Penelitian Syahrudin (2013) tentang pengaruh penggaraman terhadap protein ikan layang menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi garam pada ikan terlihat profil proteinnya makin terdenaturasi. Namun demikian penelitian tentang pengaruh penggaraman tersebut pada ikan bandeng belum pernah dilaporkan. Berdasarkan hal tersebut, perlu dilakukan penelitian tentang hubungan penggunaan variasi konsentrasi garam dan lama proses penggaraman terhadap

profil protein ikan bandeng (*Chanos chanos*) menggunakan SDS PAGE. Hal ini dimaksudkan untuk mengetahui kondisi penggaraman yang paling sedikit menyebabkan kerusakan protein pada ikan bandeng dari segi konsentrasi garam dan lama proses penggaraman.

METODE

Desain penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan objek penelitian adalah satu ikan bandeng besar dengan ukuran ± 800 g yang dibeli di pasar Kobong kota Semarang kemudian dilakukan penggaraman dengan variasi konsentrasi 10% (b/b), 20% (b/b), dan 30% (b/b), selama 30 dan 60 menit. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Universitas Muhammadiyah Semarang dan laboratorium Pascasarjana Bioteknologi Universitas Gadjah Madha Yogyakarta pada bulan Februari-Agustus 2017.

Alat dan bahan yang digunakan yaitu: *Chamber* elektroforesis, mikropipet, *blue tip*, *yellow tip*, *blue tip*, *power supply*, saringan, sarung tangan, pisau, tempat buang cairan biologis, sentrifus, *water bath*, rotator, cawan mortar, spektrofotometer, beaker glass dan erlenmeyer. ikan bandeng, garam meja, air, *bisacrylamid (elektroforesis grade)*, TEMED, Amonium persulfat (APS) 10%, *Sodium dodecyl sulfate* (SDS) 10%, 1,5 M Tris pH 8,8 dan 6,8, *Staining Coomassie Brilliant Blue*, *Destaining*, Asam asetat glasial 10%, butanol, alkohol 70%, Running buffer 1x, *Biorad assay*, *Phosphate buffer saline* (PBS) pH 7,4, H₂O steril, sampel bufer, marker protein (Darmawati & Artama, 1999).

Data yang digunakan dalam penelitian ini merupakan data primer dan data yang diperoleh ditabulasikan kemudian disajikan dalam bentuk narasi deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan berat molekul (BM) protein dilakukan dengan menghitung Rf (*Retardation factor*) dari masing-masing pita (*band*) protein dengan rumus sebagai berikut

$$:Rf = \frac{\text{Jarak pergerakan awal sampai pita pertama}}{\text{Panjang pita awal sampai akhir}}$$

Tabel 6. Berat Molekul marker dan Rf Marker pada sampel daging ikan Bandeng

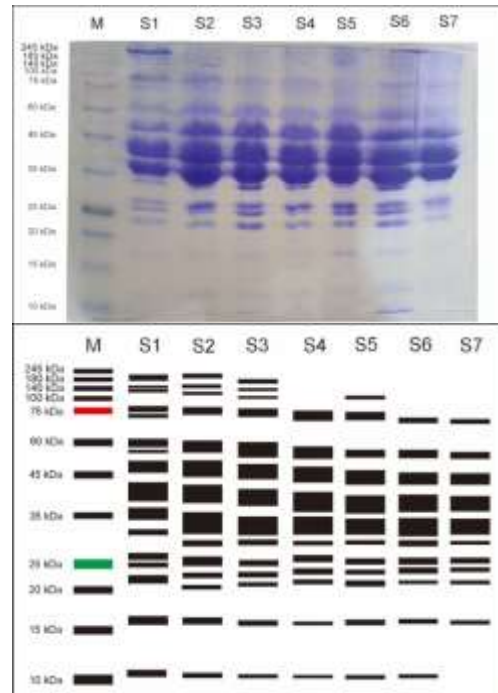
Rf Marker sampel	BM Marker sampel (kDa)
0,02	245
0,04	180
0,07	140
0,11	100
0,14	75
0,24	60
0,33	45
0,5	35
0,62	25
0,72	20
0,85	15
1	10

Keterangan Tabel :

BM : Berat Molekul marker sampel (kDa)

Rf : Retardation faktor pada sampel
 Keterangan :

Untuk mengetahui Berat Molekul Sampel (BM) . Rf yang sudah diketahui nilainya diplotkan pada grafik logaritmik dengan BM (Marker) yang sudah diketahui nilainya. Analisis profil protein dilakukan dengan metode SDS-PAGE terhadap daging ikan bandeng sebelum dan sesudah penggaraman, menunjukkan hasil sebagai berikut:



Keterangan:

M=Marker; C=Sampel ikan bandeng yang tidak digarami; S2=Sampel ikan bandeng yang digarami dengan konsentrasi 10% b/b selama 30 menit; S3 =Sampel ikan bandeng yang digarami dengan konsentrasi 20% b/b selama 30 menit; S4=Sampel ikan bandeng yang digarami dengan konsentrasi 30% b/b selama 30 menit; S5=Sampel ikan bandeng yang digarami dengan konsentrasi 10% b/b selama 60 menit; S6 =Sampel ikan bandeng yang digarami dengan konsentrasi 20% b/b selama 60 menit; S7=Sampel ikan bandeng yang digarami dengan konsentrasi 30% b/b selama 60 menit.

Sampel	Pita Protein		
	Mayor	Minor	Jumlah
C	5	10	15
S2	5	9	14
S3	4	10	14
S4	4	7	11
S5	4	8	12

S6	4	7	11
S7	3	7	10

Tabel 7. Tabulasi jumlah pita protein daging ikan bandeng.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil protein sebelum dan sesudah penggaraman pada ikan bandeng (*Chanos chanos*) dengan metode SDS-PAGE. Dalam penelitian ini daging ikan bandeng setelah dilakukan penggaraman, nampak telah terjadi denaturasi protein yang ditandai dengan keluarnya cairan dan pengerasan pada daging ikan. Menurut Eddy (1989), secara garis besar, selama proses penggaraman berlangsung terjadi penetrasi garam ke dalam tubuh ikan dan keluarnya cairan dari tubuh ikan karena adanya perbedaan konsentrasi, akan melarutkan kristal garam atau mengencerkan larutan garam. Pada saat itulah terjadi pengentalan cairan tubuh yang masih tersisa dan penggumpalan protein (denaturasi) serta pengerutan sel-sel tubuh ikan sehingga sifat dagingnya berubah.

Pada sampel dengan konsentrasi penggaraman berbeda dengan waktu yang sama dapat dilihat sampel S2–S4 terjadi penipisan dengan pengurangan pada pita-pita protein dari 14 menjadi 11 pita, dan sampel S5- S7 juga terjadi pengurangan pita dari 12 menjadi 10 pita yang artinya semakin tinggi kadar penggaraman maka semakin tinggi pula tingkat denaturasi protein.

Sedangkan pada sampel konsentrasi yang sama dengan waktu berbeda dapat dilihat bahwa sampel S2 dengan S5 dari 14 menjadi 12 pita, S3 dengan S6 dari 14 menjadi 11 pita, dan S4 dengan S7 dari 11 menjadi 10 pita yang artinya semakin lama waktu penggaraman maka semakin tinggi pula tingkat denaturasi protein pada ikan yang ditandai pita-pita protein berkurang atau menipis. Hal ini sejalan dengan penelitian Syahrudin (2013) tentang pengaruh penggaraman

terhadap protein ikan layang yang menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi garam pada ikan terlihat proteinnnya makin terdenaturasi.

Penggaraman pada ikan bandeng sebagaimana pada ikan yang lain dapat menyebabkan protein ikan terdenaturasi. Analisis konsentrasi garam yang digunakan dan lama waktu penggaraman perlu dilakukan untuk mengetahui proses penggaraman terbaik ditinjau dari kualitas protein.

Berdasarkan hasil penelitian ini penggaraman, konsentrasi 10 dan 20 % selama 30 menit menghasilkan jumlah total pita protein pada profil protein yang paling sedikit mengalami perubahan dibandingkan kontrol. Namun berdasarkan analisis berat molekul, terlihat bahwa profil protein yang paling mendekati kontrol baik dari segi jumlah total pita protein maupun distribusi pita mayor dan minor adalah yang berasal dari sampel dengan konsentrasi penggaraman 10% selama 30 menit. Hal ini menunjukkan bahwa kondisi penggaraman ini adalah yang paling disarankan dari hasil penelitian ini karena menyebabkan denaturasi protein paling sedikit pada sampel ikan bandeng yang digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto, E., Liviawaty, E. 1989. *Pengawetan dan Pengolahan Ikan*. Kanisius, Yogyakarta.
- Darmawati, S., Asmara, W. and Artama, W.T., 1999. Karakterisasi Protein Hemagglutinin Subunit Pili *Pasteurella multocida* serotipe B: 2= Characterization Of Hemagglutinin Protein Pili Subunit *Pasteurella multocida* serotype B: 2. *Teknosains*, 12(1999).
- Darmawati, S., Sembiring, L., Asmara, W., Artama, W.T. and Anwar, S., 2013, *Chemosystematic of Enterobacteriaceae Familia Obtained from Blood Cultures*

- Based on Total Protein Profiles. *Indonesian Journal of Biotechnology*, 18(1), pp.58-63 (2013).
- Ethica, S.N., Nataningtyas, D.R., Lestari, P., Istini, I., Semiarti, E., Widada, J. and Raharjo, T.J., 2013. Comparative Evaluation of Conventional Versus Rapid methods for Amplifiable Genomic DNA Isolation of Cultured *Azospirillum* sp. JG3. *Indonesian Journal of Chemistry*, 13(3), pp.248-253.
- Ethica, S.N., Semiarti, E., Widada, J., Oedjijono, O. and Joko Raharjo, T., 2017. Characterization of moaC and a nontarget gene fragments of food-borne pathogen *Alcaligenes* sp. JG3 using degenerate colony and arbitrary PCRs. *Journal of Food Safety*.
- Etienne, M., Jérôme, M., Fleurence, J., Rehbein, H., Kündiger, R., Mendes, R., Costa, H., Pérez-Martín, R., Piñeiro-González, C., Craig, A. and Mackie, I., 2000. Identification of fish species after cooking by SDS- PAGE and urea IEF: a collaborative study. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(7), pp.2653-2658.
- Kordi K, M. Ghufuran H. 2011. *Buku Pintar Budidaya 32 Ikan Laut Ekonomis*. Lily Publisher, Yogyakarta.
- Syahrudin, H., 2013. Pengaruh Penggaraman Terhadap Protein Ikan Layang (*Decapterus rucell*). *Calyptra*, 2(1), pp.1-11.