

Aplikasi Enzim Pepsin Lambung Tuna terhadap Karakteristik Protein Daging Sapi

Application of Tuna Gastric Pepsin Enzyme on Beef Protein Characteristics

Tati Nurhayati*, Roni Nugraha, dan Riki Kurniawan

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor
Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Dramaga, Jalan Agatis, Bogor 16680 Jawa Barat, Indonesia
Telepon (0251) 8622909-8622906, Faks. (0251) 8622915

*Korespondensi penulis : nurhayati7870@yahoo.com

Diterima: 21 Agustus 2023; Direvisi: 02 Februari 2024; Disetujui: 18 Maret 2024

ABSTRAK

Pepsin dari lambung ikan tuna merupakan salah satu bentuk pemanfaatan hasil samping berupa enzim proteolitik yang dapat digunakan dalam bidang pangan. Enzim pepsin dapat diaplikasikan pada daging. Daging sapi merupakan salah satu bahan pangan dengan kandungan protein yang cukup tinggi. Tujuan penelitian ini adalah menentukan pengaruh penambahan enzim pepsin dari lambung ikan tuna sirip kuning dan perlakuan tusukan terhadap protein daging sapi. Penelitian ini menggunakan metode rancangan acak lengkap faktorial (RALF) dengan dua faktor yaitu konsentrasi enzim (0, 14.000, dan 28.000 U/mg) dan faktor tusukan (dengan tusukan dan tanpa tusukan). Kombinasi penambahan enzim dan perlakuan tusukan memengaruhi proporsi protein daging. Penambahan pepsin dengan aktivitas 14.000 U/mg dengan tusukan menghasilkan total protein daging terlarut sebesar $19,03 \pm 0,64$ mg/g, kandungan protein sarkoplasma daging terlarut 15,16 mg/g, protein sarkoplasma 9,09 mg/g dan protein myofibril sebesar 23,51 mg/g. Penambahan enzim pepsin dan perlakuan tusukan memengaruhi kadar sarkoplasma dan profil protein. Enzim pepsin dan tusukan pada daging memengaruhi kelarutan protein miofibril, tetapi tidak mengurangi kadar protein miofibril.

KATA KUNCI: enzim pepsin, miofibril, protein terlarut, sarkoplasma

ABSTRACT

Tuna gastric pepsin is a fishery by-product waste in the form of proteolytic enzymes that can be used in the food segment. The pepsin enzyme can be applied to meat. Beef is a food source of high protein. This study aimed to determine the effect of adding the pepsin enzyme from yellowfin tuna stomach and stabbing treatment to beef protein. This study used a completely randomized factorial design with two factors, namely enzyme concentration (0, 14.000, and 28.000 U/mg) and stabbing factor (with and without stabbing). The combination of enzyme addition and stabbing treatment affects the protein proportion of the meat. The addition of pepsin 14.000 U/mg with stabbing showed results with a total protein solubility value of meat was 19,32 mg/g, sarcoplasmic protein solubility of meat was 15,16 mg/g, sarcoplasmic protein content was 9,09 mg/g, and myofibril protein content was 23,51 mg/g. The treatment with the addition of pepsin enzyme and stabbing affected the sarcoplasmic levels and protein profile. Enzyme treatment and stabbing affected myofibril protein solubility, but did not reduce myofibril protein levels.

KEYWORDS: myofibrils, pepsin enzymes, proteins solubility, sarcoplasmic

PENDAHULUAN

Ikan tuna adalah komoditi perikanan yang memiliki nilai ekonomis tinggi dan sering diekspor ke luar negara. Nilai ekspor tuna bersama dengan tongkol dan cakalang mengalami peningkatan yaitu dari 174,7 Ton dengan nilai 732.944.408 USD pada tahun 2021 menjadi 194,7 Ton dengan nilai 960.339.781 USD pada tahun 2022 (KKP, 2022). Tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*) merupakan salah satu jenis ikan tuna yang sebagian besar

hanya dimanfaatkan bagian utama berupa daging saja, sedangkan sisanya menjadi limbah yaitu, jeroan, tulang, kepala, dan sirip yang kurang optimum dimanfaatkan (Kantun et al., 2015). Industri pengolahan tuna menggunakan produk utama berupa daging dan sisanya menjadi limbah (Klomklao & Benjakul, 2016). Limbah yang dihasilkan pada saat pengolahan ikan dapat mencapai kisaran 20-60% dari bahan baku. Hasil samping dan limbah ikan tuna terdiri atas kulit 3,25%; kepala 17,50%; tulang 13,75%; jeroan 6,07%; dan gelembung

renang 0,43% dari berat total ikan (Hadinoto & Idrus, 2018).

Lambung merupakan salah satu jeroan ikan sumber enzim protease yaitu enzim pepsin (Pasaribu et al., 2018). Enzim pepsin biasa ditemukan pada saluran pencernaan. Pepsin merupakan enzim yang terlibat dengan hidrolisis protein menjadi peptida dan asam amino yang lebih kecil dan selanjutnya diserap di usus kecil (Moraes & de Almeda, 2020). Pepsin berasal dari pepsinogen yang diaktifkan oleh asam di lambung (Zhao et al., 2011). Enzim pepsin digunakan dalam pembuatan protein hidrolisat, surimi, dan hidrolisis kolagen (Sholeh et al., 2019). Enzim pepsin juga dimanfaatkan dalam bidang pangan sebagai bahan tambahan pembuatan kecap ikan (Ohsima & Giri, 2014). Pengaplikasian enzim pepsin pada daging belum banyak diteliti. Pengaruh enzim pepsin juga menjadi sesuatu yang menarik dan belum dilakukan pada daging khususnya daging sapi.

Daging didefinisikan sebagai bagian otot skeletal dari karkas sapi yang aman, layak, dan lazim dikonsumsi oleh manusia, dapat berupa daging segar, daging segar dingin, atau daging beku (BSN, 2008). Daging merupakan sumber protein hewani yang mengandung kandungan gizi yang tinggi dan digemari masyarakat. Daging yang biasa dikonsumsi oleh masyarakat salah satunya yaitu daging sapi. Daging sapi biasa dimasak sebagai salah satu menu dalam makanan nusantara, baik sebagai daging secara murni atau dibuat dalam bentuk berbagai macam olahan, yaitu gulai, sate, rawon, tongseng, semur, rendang, dan masakan lainnya. Daging sapi memiliki struktur serat yang menjadikannya alot sehingga memerlukan waktu dan teknik pengolahan yang tepat. Kadar air daging sapi berkisar antara 74,13-76,39%, kadar lemak antara 2,32-2,56%, dan kadar protein antara 16,43-18,54% (Cahyasari et al., 2022). Protein terbentuk dari asam amino yang berikatan membentuk suatu rantai polipeptida. Protein daging diklasifikasikan menjadi tiga kelompok besar yaitu miofibril, stroma dan sarkoplasma. Komponen utama daging yaitu miofibril, terdiri atas aktin dan myosin (Lana & Zolla, 2016). Stroma merupakan bagian terkecil dari protein yang membentuk jaringan ikat. Protein lainnya yaitu sarkoplasma yang terdiri atas hemoglobin dan mioglobin. Pigmen hemoglobin dan mioglobin berkontribusi pada warna merah pada daging (Afrianti et al., 2013). Protein daging dibagi dalam tiga kelompok yaitu miofibril 9,5%, sarkoplasma 6% dan stroma 3% (Soeparno, 1994).

Protein tidak stabil terhadap beberapa faktor yaitu, suhu, pH, dan pelarut organik. Bowker et al., (2016) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa proses penyimpanan dapat menyebabkan perubahan

protein. Mekanisme terkait yaitu degradasi struktural protein. Aktivitas enzim proteolitik dalam hal ini enzim pepsin mampu memengaruhi protein yang diasumsikan dapat memengaruhi kualitas daging. Pengaplikasian enzim pepsin ini adalah salah satu tindakan pengolahan limbah industri perikanan menjadi bahan yang termanfaatkan. Pemanfaatan limbah jeroan ikan khususnya lambung ikan tuna sebagai enzim ini menjadi hal yang prospektif untuk dikembangkan. Informasi aplikasi pengaruh enzim protease dari hewan untuk protein daging belum banyak diteliti dan dipublikasikan. Perlakuan tusukan pada daging menjadi sesuatu hal baru dan belum dilaporkan pada penelitian sejenis, dengan asumsi meningkatkan kemampuan enzim pepsin untuk menyerap ke dalam daging sehingga lebih optimal mendegradasi protein daging. Penambahan enzim pepsin pada protein daging sapi yang dikombinasikan dengan perlakuan tusukan dapat menjadi dasar informasi untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai kemampuannya sebagai pengempuk daging. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan menentukan pengaruh penambahan enzim pepsin dari lambung tuna dan perlakuan tusukan terhadap karakteristik protein daging sapi.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini yaitu enzim pepsin dari lambung ikan tuna dan daging sapi bagian *silver side*. Bahan lain yang digunakan yaitu HCl, tris HCl, hemoglobin sapi (Sigma, Missouri, US), Asam trikloroasetat (Merck, Darmstadt, Germany), *Coomassie Brilliant Blue* (AppliChem, Darmstadt, Germany), bufer kalium fosfat (Merck, Darmstadt, Germany), bufer fosfat (Merck, Darmstadt, Germany), bufer fosfat KCl (Merck, Darmstadt, Germany), tetrametiletildiamin (TEMED), SDS (Merck, Darmstadt, Germany), glisin (Merck, Darmstadt, Germany), gliserol (Merck, Darmstadt, Germany), ammonium persulfat (APS) (Sigma-Aldrich, Missouri, USA), etanol (Merck, Darmstadt, Germany), asam fosfat (Merck, Darmstadt, Germany), *Bovine Serum Albumin* (AppliChem, Germany), bufer fosfat KCl (Merck, Darmstadt, Germany), tetrametiletildiamin (TEMED), SDS (Merck, Darmstadt, Germany), glisin (Merck, Darmstadt, Germany), kalium iodida (Merck, Darmstadt, Germany), 30% akrilamid (Bio-Rad Laboratories, Inc. US), metanol (Merck, Darmstadt, Germany), asam asetat glasial (Merck, Darmstadt, Germany), dan *bromophenol blue* (Merck, Darmstadt, Germany), buffer laemmli 2x (Bio-Rad Laboratories, Inc. US), marker protein (Bio-Rad Laboratories, Inc. US).

Penelitian ini menggunakan berbagai alat antara lain spektrofotometer UV-Vis (Rayleigh, Beijing, China), sentrifuge (OHAUS FC5718R, New Jersey, US), sudip, inkubator, tabung erlenmeyer, corong, tabung reaksi, gelas ukur (Pyrex), kertas saring, Whatman, micropipette 10-100 µL, 100-1000 µL, dan 5000 µL (Thermo Fisher Scientific), pH meter (Hanna Instruments, Rhode Island, US), botol vial, vortex (DLAB MX-S, US), pisau, timbangan analitik (OHAUS AX224, New Jersey, US), termostat, SDS-PAGE (PEQ Lab, Erlangen, Germany).

Metode

Penelitian ini terdiri atas dua tahapan kerja. Tahapan kerja pertama yaitu preparasi sampel. Enzim pepsin yang digunakan merupakan hasil ekstraksi yang berasal dari lambung ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*) yang dilakukan penelitian sebelumnya oleh Muttaqin (2022). Tahapan kedua yaitu aplikasi pengaruh enzim pepsin terhadap daging sapi.

Preparasi sampel

Sampel merupakan daging sapi jenis *Brahman Cross* dengan rentang usia 1,5-4 tahun bagian *silver side*. Daging sapi yang digunakan penelitian telah mengalami pembekuan ±2 minggu terhitung dari waktu penyembelihan. Daging sapi dipreparasi untuk dianalisis selanjutnya. Tahap ini juga dilakukan analisis aktivitas enzim pepsin dan konsentrasi protein enzim pepsin. Enzim pepsin yang digunakan dalam sediaan cair hasil ekstraksi dari lambung ikan tuna sirip kuning.

Aplikasi enzim dan perlakuan tusukan

Daging sapi dipotong menjadi bentuk kotak dengan ukuran 22 cm (ketebalan 1 cm). Daging dilakukan perlakuan dengan tusukan dan tanpa tusukan, dan direndam dengan enzim pepsin konsentrasi 0, 14.000, dan 28.000 U/mg. Metode tusukan dilakukan dengan garpu makan yang ditusukan pada daging sebanyak 3 kali sampai membentuk lubang kecil. Sampel direndam selama 1 jam dalam suhu ruang. Sampel kemudian dianalisis total protein daging terlarut, protein sarkoplasma daging terlarut, kadar protein sarkoplasma, kadar protein miofibril, dan SDS PAGE.

Prosedur analisis

Analisis aktivitas enzim pepsin (Jurado et al., 2012)

Pengujian menggunakan substrat berupa hemoglobin. Substrat dibuat dengan konsentrasi 2% kemudian pH diturunkan hingga mencapai 2

dengan menambahkan HCl. Substrat sebanyak 1 mL diambil lalu dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan ekstrak pepsin sebanyak 0,2 mL. Larutan enzim-substrat tersebut diinkubasi selama 10 menit dengan suhu optimum 50°C. Tahap selanjutnya sampel ditambahkan TCA 5% sebanyak 2 mL dan dibiarkan hingga mengendap. Hasilnya disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh dilakukan analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 280 nm. Pengukuran ini dilakukan untuk mengetahui kandungan oligopeptida pada supernatan. Kandungan oligopeptida diartikan sebagai aktivitas enzim. Satu unit aktivitas dinyatakan sebagai kenaikan 0,001 dalam 280 nm per menit, sehingga aktivitas enzim dapat dinyatakan sebagai berikut:

$$U = \frac{A_{280} - A_0}{0,001 \times t \times VE}$$

Keterangan :

U/mL = unit aktivitas enzim

U = aktivitas enzim dalam U per mL

VE = volume larutan pepsin dalam uji aktivitas

A_{280} = absorbansi pada 280 nm

t = waktu inkubasi (menit)

A_0 = absorbansi sampel yang dipreparasi dengan perlakuan yang sama tanpa penambahan pepsin ke substrat

Analisis konsentrasi protein enzim pepsin (Bradford 1976)

Analisis konsentrasi protein pepsin diawali dengan penambahan pereaksi *Bradford* sebanyak 5 mL ke dalam tabung reaksi yang berisikan larutan sampel 0,1 mL. Inkubasi dilakukan dalam kurun waktu 5 menit dan pengukuran menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 595 nm. Pereaksi *Bradford* dibuat dengan melarutkan 10 mg *coomasie brilliant blue* ke dalam 5 mL etanol 95%, ditambahkan asam fosfat 85% sebanyak 10 mL (b/v) dan akuades 250 mL hingga larutan tercampur. Larutan disaring menggunakan kertas *Whatman* nomor 1. Pembuatan larutan standar diawali dengan melarutkan *Bovine Serum Albumin* (BSA) dengan konsentrasi 2 mg/mL. Larutan stok tersebut diberi rentang standar pada konsentrasi 0,050-0,455 mg/mL. Larutan standar diukur nilai absorbansi dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm.

Penentuan protein terlarut (Joo et al., 1999)

Penentuan total protein terlarut dilakukan dengan mencampur sampel daging sapi lumat (2 g) dengan 20 mL kalium iodida 1,1-M dingin dan bufer kalium

fosfat 0,1-M (pH 7,4) dan simpan satu malam pada suhu $4\pm 1^{\circ}\text{C}$. Sampel disentrifugasi pada $6.000\times g$ selama 20 menit dan supernatan disaring melalui kertas saring *Whatman* No. 1. Konsentrasi protein dalam supernatan ditentukan dengan metode *Bradford*. Penentuan protein sarkoplasma terlarut dilakukan dengan mencampur sampel daging sapi lumat (2 g) dengan 20 mL bufer kalium fosfat 0,025-M dingin (pH 7,4) dan disimpan satu malam pada suhu $4\pm 1^{\circ}\text{C}$. Sampel disentrifugasi pada $6.000\times g$ selama 20 menit dan supernatan disaring melalui kertas saring *Whatman* No. 1. Konsentrasi protein dalam supernatan ditentukan dengan metode *Bradford* yang menggunakan *Bovine Serum Albumin* (BSA) sebagai standar. Total protein dinyatakan sebagai mg protein/g sampel.

Analisis protein sarkoplasma daging (Hashimoto et al., 1979)

Ekstraksi sarkoplasma dilakukan dengan persiapan sampel berupa daging sapi. Sampel 20 g dihomogenisasi dengan 40 mL bufer fosfat 0,03 M (pH 7) menggunakan blender. Homogenat disentrifugasi pada $8.000\times g$ selama 20 menit pada 4°C . Setelah sentrifugasi, supernatan (protein sarkoplasma) diperoleh dan dihitung.

Analisis protein miofibril daging (Hashimoto et al., 1979)

Pelet yang dihasilkan dari ekstraksi protein sarkoplasma dilakukan analisis protein miofibril. Ekstraksi protein miofibril menggunakan larutan nondenaturasi. Pelet yang diperoleh kembali disuspensikan dalam 10 volume bufer fosfat KCl pH 7,5 (0,45 M KCl; 15,6 mM Na_2HPO_4 ; dan 3,5 mM KH_2PO_4) dan divorteks selama 2 menit. Campuran disentrifugasi dua kali pada $5.000\times g$ selama 15 menit pada 4°C . Ekstrak miofibril yang diperoleh dilakukan uji protein *Bradford*. Absorbansi diukur pada 580 nm dengan uji spektrofotometri dengan larutan standar *Bovine Serum Albumin* (BSA).

SDS-PAGE (Laemmli, 1970)

Metode *Sodium Dodecyl Sulfate-PolyAcrylamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE) dilakukan dengan alat elektroforesis. Sampel ditambahkan bufer sampel dan disiapkan gel. Gel yang digunakan untuk elektroforesis terdiri atas gel penahan (*stacking gel*) dengan konsentrasi 3% dan gel pemisah (*separating gel*) dengan konsentrasi 12,5%. Gel dipasang, bufer elektroforesis dimasukkan dan alat dirangkai. Marker berupa *Low Molecule Weight* (LMW) dan sampel dengan bufer diinkubasi pada thermostat dengan suhu 95°C selama 10 menit. Sampel kemudian

dimasukkan ke dalam sumur menggunakan mikropipet sebanyak 20 μL . Elektroforesis dilakukan pada tegangan konstan mode 110 V hingga pewarna pelacak (*bromophenol blue*) mencapai ujung bawah dari gel. Gel diwarnai dengan *Coomassie brilliant blue* selama semalaman. Penghilangan warna pada gel yang tidak mengandung protein dilakukan dengan larutan *destaining* (10% (v/v) asam asetat; 25% (v/v) metanol; 65% (v/v) akuades). Larutan *destaining* diganti 5-6 kali hingga gel tampak bersih dan terlihat pita-pita protein.

Analisis data

Penelitian ini menggunakan rancangan percobaan berupa rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) dengan dua faktor, yaitu konsentrasi enzim pepsin dan perlakuan tusukan. Faktor perbedaan konsentrasi enzim pepsin memiliki tiga taraf yaitu aktivitas 0, 14.000, dan 28.000 U/mg. Faktor perlakuan tusukan memiliki dua taraf yaitu daging dengan tusukan dan tanpa tusukan. Pengambilan data dilakukan dengan tiga kali pengulangan pada setiap sampel. Hasil dari pengujian yang telah diuji normalitas dan homogenitas dengan menunjukkan hasil normal dan homogen diolah menggunakan aplikasi *Statistical Package for Services Solutions* (SPSS) versi 25. Jika data hasil analisis berbeda nyata ($p < 0,5$) maka dilakukan uji lanjut Duncan. Selang kepercayaan yang digunakan adalah 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas ekstrak kasar enzim pepsin

Enzim pepsin yang digunakan merupakan sediaan cair yang sebelumnya telah diekstraksi dari lambung tuna sirip kuning. Proses ekstraksi lambung tuna yaitu dengan penghancuran lambung tuna yang telah diberi nitrogen dengan blender, ditambahkan dengan tris-HCl pH 7,5 agar bercampur dan disentrifugasi menghasilkan pepsinogen. Proses selanjutnya yaitu pepsinogen diaktivasi lalu diukur aktivitas pepsin, konsentrasi protein dan nilai aktivitas spesifik enzim. Ekstrak kasar pepsin lambung tuna memiliki nilai aktivitas rerata sebesar 1.226,67 U/mL. Nilai konsentrasi protein enzim pepsin yaitu sebesar $0,0437\pm 0,001$ mg/mL sehingga aktivitas spesifik enzim pepsin yang dihasilkan sebesar $28.012\pm 7.115,713$ U/mg.

Aktivitas spesifik enzim pepsin telah diteliti oleh Sholeh et al. (2020) dengan spesies ikan yang sama dan memperoleh nilai sebesar 10.879,99 U/mg. Simangunsong (2021) dalam penelitiannya mengukur aktifitas spesifik dari spesies ikan yang

sama juga dan memperoleh nilai sebesar 22.173,36 U/mg. Nilai aktivitas spesifik enzim pepsin berbeda karena dipengaruhi oleh beberapa faktor misalnya habitat ikan dan ukuran lambung ikan. Penangkapan ikan tuna sirip kuning yang hidup di Perairan Samudra Hindia memiliki kapasitas bobot perut sebesar 7% dari total berat tubuh (Miazwir, 2012). Kapasitas bobot perut ikan akan memengaruhi ukuran lambung ikan tersebut. Ukuran besar kecilnya lambung, memengaruhi komponen enzim protease di dalamnya termasuk enzim pepsin (Moyle & Cech, 2004). Jenis makanan ikan tuna di habitatnya juga dapat memengaruhi aktivitas spesifik enzim. Faktor lain yang memengaruhi aktivitas spesifik enzim yaitu, tipe pemurnian, tipe ikan dan jenis enzim (Nalinanon et al., 2008).

Total protein daging terlarut

Pengujian dilakukan dengan menggunakan larutan supernatan hasil ekstraksi yang sebelumnya telah disentrifugasi. Hasil supernatan diuji menggunakan alat spektrofotometer. Hasil total protein daging terlarut disajikan pada (Gambar 1).

Hasil analisis data menunjukkan bahwa perlakuan enzim, tusukan, dan interaksi antara keduanya berpengaruh nyata terhadap total protein daging terlarut. Gambar 1 menunjukkan total protein daging terlarut yang diperoleh berkisar antara 16,35-19,19 mg/g. Perlakuan enzim 14.000 U/mg dengan tusukan tidak berbeda nyata dengan perlakuan enzim 28.000 U/mg tanpa tusukan. Total protein daging terlarut yang terpilih diperoleh pada daging dengan perlakuan enzim 14.000 U/mg dengan tusukan yang memiliki nilai sebesar 19,03±0,64 mg/g. Penambahan enzim pepsin memberikan pengaruh terhadap total protein daging terlarut.

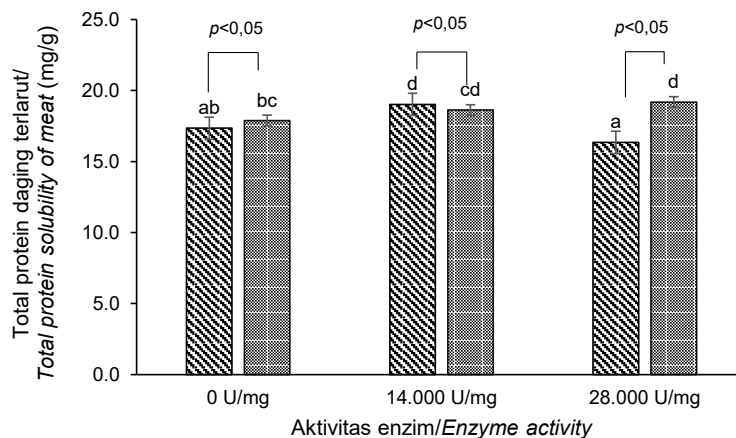
Perubahan total protein terlarut pada daging disebabkan aktivitas enzim. Penelitian yang dilakukan oleh Maqsood et al. (2018) menunjukkan hasil total protein yang naik signifikan pada daging unta yang diberikan perlakuan enzim. Enzim bromelain 50 ppm diaplikasikan pada daging dengan hasil total protein terlarut lebih tinggi dibandingkan kontrol. Perubahan total protein terlarut yang lebih tinggi digunakan sebagai indikator proteolisis miofibril daging. Rawdkuen et al. (2013) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa total protein terlarut sampel daging yang diberi perlakuan enzim dengan hasil yang lebih tinggi dapat dikaitkan dengan degradasi protein miofibril dan peningkatan permeabilitas miofibril.

Protein Sarkoplasma Daging Terlarut

Pengujian dilakukan menggunakan larutan supernatan hasil ekstraksi yang telah dilakukan sentrifugasi. Supernatan diuji menggunakan alat spektrofotometer. Hasil protein sarkoplasma daging terlarut disajikan pada (Gambar 2).

Kelarutan merupakan konsentrasi di mana protein utuh berada dalam kesetimbangan dengan fase padat. Kelarutan protein adalah parameter termodinamika yang ditentukan sebagai konsentrasi protein dalam larutan jenuh itu berada dalam kesetimbangan dengan fase padat, baik kristal atau amorf, di bawah serangkaian kondisi tertentu (Kramer et al. 2012). Faktor yang memengaruhi kelarutan yaitu sifat intrinsik dari protein, pelarut dan bahan tambahan serta kondisi protein. Perubahan protein daging yang terlarut berhubungan dengan kualitas daging.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan enzim berpengaruh nyata, sedangkan



Gambar 1. Pengaruh enzim pepsin dan perlakuan tusukan terhadap total protein daging terlarut (▨ = dengan tusukan, ▩ = tanpa tusukan). Huruf yang sama artinya tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

Figure 1. Effect of pepsin enzyme and stabbing treatment on meat total protein solubility (▨ = with stabbing, ▩ = without stabbing). The same letter means not significantly different ($p > 0.05$)

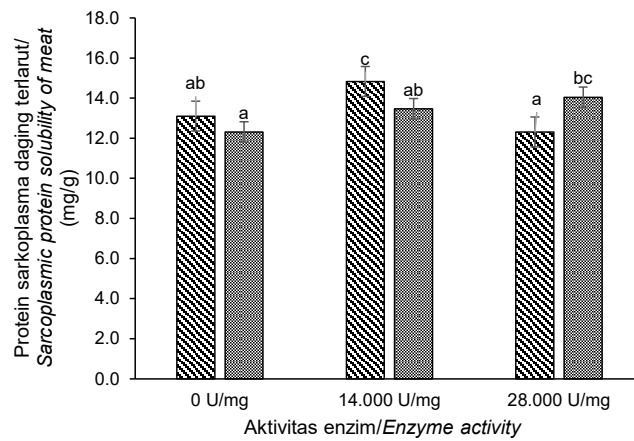
perlakuan tusukan tidak memberikan pengaruh nyata terhadap protein sarkoplasma daging terlarut, namun keduanya saling berinteraksi. Gambar 2 menunjukkan protein sarkoplasma daging terlarut yang diperoleh berkisar antara 12,31-14,83 mg/g. Protein sarkoplasma daging terlarut yang tertinggi diperoleh pada daging dengan perlakuan enzim 14.000 U/mg dengan tusukan yang memiliki nilai sebesar $14,83 \pm 0,55$ mg/g. Penambahan enzim pepsin memberikan pengaruh terhadap protein sarkoplasma daging terlarut. Penelitian lain yang dilakukan Maqsood et al. (2018) dengan mengaplikasikan enzim dengan konsentrasi 50 ppm menghasilkan protein sarkoplasma terlarut yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Perubahan kelarutan protein sarkoplasma daging yang tinggi dapat digunakan sebagai indikator yang

mengasumsikan kualitas daging dari kelembutannya (Sullivan & Calkins, 2010). Protein sarkoplasma daging terlarut yang semakin tinggi, mengakibatkan daging akan semakin lembut.

Kadar Protein Sarkoplasma Daging

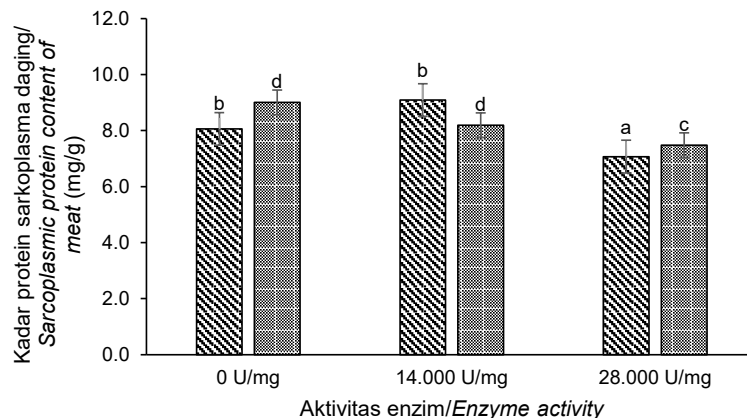
Kadar protein sarkoplasma yang terkandung pada daging diekstraksi dengan bufer fosfat. Hasil ekstraksi protein selanjutnya disentrifugasi dan menghasilkan cairan supernatan. Hasil supernatan tersebut dihitung menggunakan uji *Bradford*. Hasil kadar protein sarkoplasma daging disajikan pada (Gambar 3).

Protein sarkoplasma adalah protein yang larut air dan secara normal ditemukan dalam plasma sel. Protein ini berperan sebagai enzim yang diperlukan



Gambar 2. Pengaruh enzim pepsin dan perlakuan tusukan terhadap protein sarkoplasma daging terlarut (▨= dengan tusukan, ▩= tanpa tusukan). Huruf yang sama artinya tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

Figure 2. Effect of pepsin enzyme and stabbing treatment on meat sarcoplasmic protein solubility (▨= with stabbing, ▩= without stabbing). The same letter means not significantly different ($p > 0.05$)



Gambar 3. Pengaruh enzim pepsin dan perlakuan tusukan terhadap kadar protein sarkoplasma daging (▨= dengan tusukan, ▩= tanpa tusukan). Huruf yang sama artinya tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

Figure 3. Effect of pepsin enzyme and stabbing treatment on meat sarcoplasmic protein content (▨= with stabbing, ▩= without stabbing). The same letter means not significantly different ($p > 0.05$)

untuk metabolisme anaerob sel otot dan pembawa oksigen. Protein ini berbentuk globular dan dibentuk oleh enzim yang terlibat dalam metabolisme sel (Nakagawa et al., 1998). Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan enzim berpengaruh nyata, sedangkan perlakuan tusukan dan interaksi antara keduanya tidak memberikan pengaruh nyata terhadap kadar protein sarkoplasma daging. Gambar 3 menunjukkan kadar protein sarkoplasma daging yang diperoleh berkisar antara 7,07-9,09 mg/g. Kadar protein sarkoplasma daging yang tertinggi diperoleh pada daging dengan perlakuan enzim 14.000 U/mg dengan tusukan yang memiliki nilai sebesar 9,09±1,08 mg/g. Penambahan enzim pepsin memberikan pengaruh terhadap kadar protein sarkoplasma daging.

Protein sarkoplasma memengaruhi kualitas daging dengan memberikan warna merah pada daging. Jumlah protein sarkoplasma yang tinggi diasumsikan sebagai penanda daging berwarna merah atau semakin cerah. Wideman et al. (2016) menyatakan bahwa penentuan tingkat warna kemerahan pada daging dipengaruhi oleh jumlah myoglobin, hemoglobin, dan pigmen heme. Warna daging memengaruhi keputusan konsumen dalam membeli karena konsumen lebih menyukai daging yang berwarna merah cerah (Mancini & Hunt, 2005). Penelitian yang dilakukan Bhekita et al. (2019) menyebutkan bahwa proses penyimpanan berhubungan dengan perubahan protein daging yang merujuk pada tingkat perubahan dan kestabilan warna otot daging. Proses perubahan protein ini terjadi karena proses penyimpanan yang mengakibatkan enzim bekerja dalam daging. Öztürk dan Serdaroglu (2015) menyebutkan jika warna

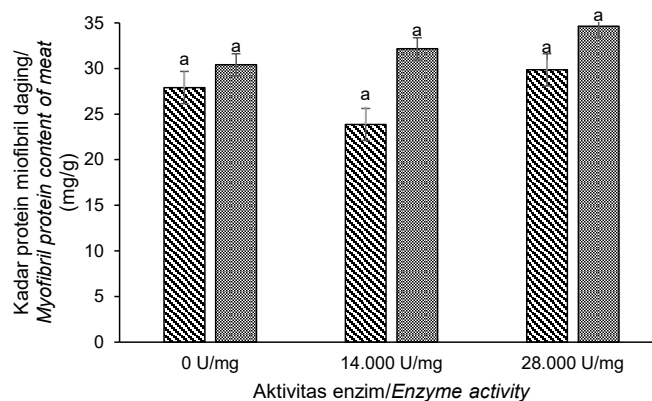
merupakan parameter penting untuk indikator daging yang dipengaruhi secara langsung oleh denaturasi protein di otot.

Kadar Protein Miofibril Daging

Kadar protein miofibril yang terkandung pada daging diekstraksi dengan bufer fosfat KCl. Protein miofibril ini diekstraksi menggunakan pelet hasil dari ekstraksi protein sarkoplasma yang ditambahkan larutan bufer. Hasil ekstraksi tersebut selanjutnya disentrifugasi untuk menghasilkan supernatan. Hasil supernatan dari ekstraksi tersebut dihitung menggunakan uji Bradford. Hasil protein miofibril daging disajikan pada (Gambar 4).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan enzim tidak memberikan pengaruh nyata, sedangkan perlakuan tusukan berpengaruh nyata terhadap kadar protein miofibril daging, namun keduanya tidak saling berinteraksi. Gambar 4 menunjukkan kadar protein miofibril daging yang diperoleh berkisar antara 23,87-34,62 mg/g. Kadar protein miofibril daging yang terendah diperoleh pada daging dengan perlakuan enzim 14.000 U/mg dengan tusukan yang memiliki nilai sebesar 23,87±4,74 mg/g. Penambahan enzim pepsin memberikan pengaruh terhadap kadar protein miofibril daging.

Penelitian yang dilakukan Dhana dan Wikandara (2019) yaitu mengaplikasikan enzim protease dari isolasi *L. plantarum* B1765 yang digunakan untuk memengaruhi nilai keempukan daging. Penelitian tersebut menyimpulkan bahwa tingginya konsentrasi enzim protease yang ditambahkan, maka tinggi juga nilai keempukan daging. Enzim memiliki pengaruh



Gambar 4. Pengaruh enzim pepsin dan perlakuan tusukan terhadap kadar protein miofibril daging (▨ = dengan tusukan, ▩ = tanpa tusukan). Huruf yang sama artinya tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

Figure 4. Effect of pepsin enzyme and stabbing treatment on meat myofibril protein content (▨ = with stabbing, ▩ = without stabbing). The same letter means not significantly different ($p > 0,05$)

pada kualitas daging. Peningkatan konsentrasi enzim digunakan untuk meningkatkan tingkat hidrolisis protein daging (Murtini & Qomarudin, 2003). Proses hidrolisa protein daging terjadi pada filamen-filamen yang menghasilkan fragmentasi miofibril. Serat-serat daging akan terputus dan berkurang sehingga meningkatkan tingkat keempukannya. Enzim protease meresap ke dalam daging, kemudian mendegradasi berbagai fraksi protein dalam daging.

Mekanisme pemutusan sarkomer dalam daging yaitu pemutusan sel-sel miofibril dan jaringan ikat pada jaringan otot sehingga tekstur daging menjadi empuk. Putri (2008) menyebutkan bahwa jumlah protein dapat mempengaruhi keempukan daging. Perbedaan struktur miofibril pada masing-masing otot daging menjadi penanda kualitas daging. Otot yang memiliki struktur miofibril yang lebih kecil biasanya memiliki keempukan yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan otot yang memiliki struktur miofibril yang lebih besar. Enzim protease mendegradasi protein miofibril menghasilkan fragmen protein dengan rantai peptida lebih pendek (Dhana & Wikandara, 2019). Hilangnya ikatan antar serat pada miofibril dan proses pemecahan serat menjadi fragmen yang lebih pendek, menjadikan sifat serat otot lebih mudah terpisah sehingga daging semakin empuk.

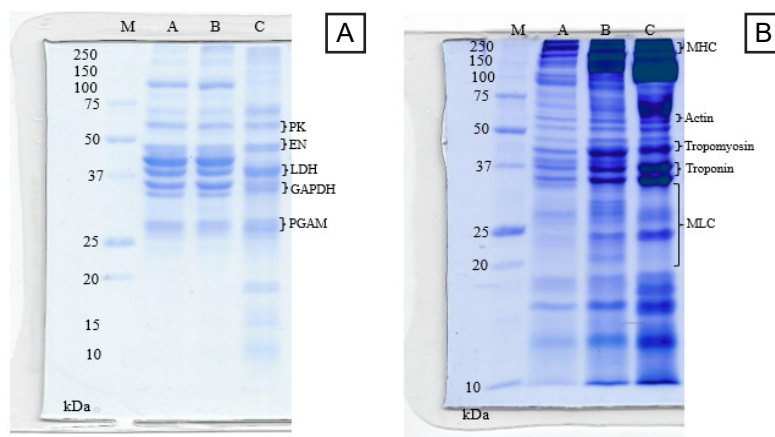
SDS PAGE Protein Sarkoplasma dan Miofibril Daging

Hasil uji protein sarkoplasma dan miofibril daging menggunakan enzim pepsin selanjutnya dilakukan uji menggunakan *Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis* (SDS PAGE). Uji

ini digunakan untuk menentukan bobot molekul protein yang dihasilkan. Sampel yang dilakukan uji merupakan sampel dengan perlakuan enzim 0, 14.000, 28.000 U/mg dan hanya dari perlakuan tusukan. Hasil SDS PAGE protein sarkoplasma dan miofibril daging disajikan pada (Gambar 5).

Gambar 5 (A) menunjukkan bahwa pita yang terbentuk pada sarkoplasma dengan perlakuan kontrol (tanpa penambahan enzim pepsin) dan penambahan enzim pepsin 14.000 U/mg memiliki profil protein yang relatif sama. Sarkoplasma yang diberikan perlakuan enzim pepsin 28.000 U/mg memiliki profil yang berbeda. Perbedaan ini terdapat pada hilangnya pita protein dengan bobot molekul sekitar 120 kDa dan juga terdapat 3 pita dengan bobot molekul berkisar 10 kDa hingga kurang dari 20 kDa. Ini menunjukkan bahwa penambahan enzim pepsin dengan aktivitas 28.000 U/mg efektif untuk mendegradasi protein sarkoplasma. Hal ini didukung dengan data kadar sarkoplasma yang semakin menurun seiring dengan peningkatan enzim pepsin yang digunakan (Gambar 3). Sarkoplasma memiliki pita-pita protein dengan berat molekul khas, yaitu, *Glycogen phosphorilase* (GPH) 96-97 kDa, *Pyruvate kinase* (PK) 57-58 kDa, *Enolase* (EN) 46-47 kDa, *Glyceraldehyde phosphate dehydrogenase* (GAPDH) 35-36 kDa, *Lactate dehydrogenase* (LDH) 36-37 kDa, *Phosphoglycerate mutase* (PGAM) 28 kDa, *Triosephosphate isomerase* (TPI) 26,5 kDa, dan *Myoglobin* (Mb) 17 kDa (Picariello et al., 2006; Marino et al., 2014).

Kondisi yang berbeda terjadi pada protein miofibril (Gambar 5B). Terdapat fenomena yang menarik dan berbeda dengan profil proteinnnya. Ketebalan pita protein miofibril yang semakin



Gambar 5. Pengaruh enzim pepsin terhadap hasil SDS PAGE dari protein sarkoplasma (A) dan protein miofibril daging (B). M: Marker, A: Enzim 0 U/mg, B: Enzim 14.000 U/mg, C: Enzim 28.000 U/mg

Figure 5. Effect of pepsin enzyme on SDS PAGE yield of sarcoplasmic protein (A) and meat myofibril protein (B). M: Marker, A: Enzyme 0 U/mg, B: Enzyme 14,000 U/mg, C: Enzyme 28,000 U/mg

meningkat dengan perlakuan enzim menunjukkan semakin meningkatnya kelarutan protein miofibril. Namun demikian profil pita proteinnya belum mengalami pemecahan/degradasi. Hal ini sesuai dengan data kadar protein miofibril (Gambar 4). Hidrolisis protein miofibril daging dianggap sebagai faktor kunci yang bertanggung jawab untuk keempukan daging dan hidrolisisnya telah terbukti mengganggu struktur serat otot dengan penurunan gaya geser yang terkait dan akibatnya peningkatan kelembutan daging (Kemp et al., 2010). Protein miofibril memiliki pita utama yaitu *myosin heavy chain* (MHC), α -aktinin, desimin, aktin, troponin, tropomiosin dan *myosin light chain* (MLC) dengan distribusi berat molekul di kisaran 20-200 (Dara et al., 2021). Pita dengan berat molekul kisaran 200 dapat ditetapkan sebagai komponen *myosin heavy chain* (MHC), sedangkan tiga pita lainnya yaitu kisaran 55, 45 dan 36-20 diduga adalah aktin, tropomiosin dan *myosin light chain* (MLC). Myosin memberikan kekuatan tarik pada otot (Lana & Zolla, 2016). Troponin-T diduga terdeteksi pada protein miofibril daging sapi dengan berat molekul 30, 34, 36, 38, dan 40 kDa (Nath, 2021).

KESIMPULAN

Perlakuan penambahan enzim pepsin lambung tuna memberikan pengaruh terhadap karakteristik protein daging sapi. Kombinasi penambahan enzim dan perlakuan tusukan memengaruhi proporsi protein yang berhubungan dengan kualitas daging sapi. Perlakuan penambahan enzim pepsin dan tusukan memengaruhi kadar sarkoplasma dan profil proteinnya. Perlakuan enzim dan tusukan hanya memengaruhi kelarutan protein miofibril, namun tidak mengurangi kadar protein miofibril.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianti, M., Dwiloka, B., & Setiani, B. E. (2013). Perubahan warna, profil protein, dan mutu organoleptik daging ayam broiler setelah direndam dengan ekstrak daun senduduk. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 2(3), 116-120.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for qualification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 234-254. doi:10.1006/abio.1976.9999
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). (2008). *SN 3932:2008: Mutu Karkas dan Daging Sapi*. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.
- Bekhit, A.E.A., Morton, J.D., Bhat, Z.F., & Kong, L. (2019). Meat color: factors affecting color stability. *Encyclopedia of Food Chemistry*, 2, 202-210. https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21665-X
- Bowker, B., Gamble, G., & Zhuang, H. (2016). Exudate protein composition and meat tenderness of broiler breast filets. *Poultry Science*, 95(1), 133-137. doi:10.3382/ps/pev312
- Cahyasari, D., Husni, A., Liman., & Qisthon, A. (2022). Perbandingan kualitas kimia daging sapi *brahman cross* dari *feedloter* dan peternakan rakyat di wilayah Lampung. *Jurnal Riset dan Inovasi Peternakan*, 6(2), 181-187. doi:10.23960/jrip.2022.6.2.181-187
- Dara, P. K., Geetha, A., Mohanty, U., Raghavankutty, M., Mathew, S., Nagarajarao, R. C., & Rangasamy, A. (2021). Extraction and characterization of myofibrillar proteins from different meat sources: A comparative study. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 6, 367-378. doi:10.1016/j.jobab.2021.04.004
- Dhana, I. G. N. A. O., & Wikandari, P. R. (2019). Pengaruh konsentrasi enzim protease dari isolat *Lactobacillus plantarum* b1765 terhadap keempukan daging. *UNESA Journal of Chemistry*, 8(1), 33-37.
- Hadinoto, S., & Idrus S. (2018). Proporsi dan kadar proksimat bagian tubuh ikan tuna ekor kuning (*Thunnus albacares*) dari perairan Maluku. *Majalah BIAM*, 14(2), 51-57.
- Hashimoto, K., Watabe, S., Kono, M., & Shiro, K. (1979). Muscle protein composition of sardine and mackerel. *Bulletin of the Japanese Society of the Science of Fish*, 45(11), 1435-1441. doi:10.2331/suisan.45.1435
- Joo, S. T., Kauffman, R. G., Kim, B. C., & Park, G. B. (1999). The relationship of sarcoplasmic and myofibrillar protein solubility to colour and water holding capacity in porcine longissimus muscle. *Meat Science*, 52, 291-297. doi:10.106/s0309-1740(99)00005-4
- Jurado, E., Vicaria, J. M., Lechuga, M., & Moya-Ramirez, I. (2012). Pepsin extraction process from swine wastes. *Procedia Engineering*, 42, 1346-1350. doi:10.1016/j.proeng.2012.07.526
- Kantun, W., Malik, A. A., & Harianti. (2015). Kelayakan limbah padat tuna loin madidihang *Thunnus albacares* untuk bahan baku produk diversifikasi. *Jurnal Pengolahan Hasil Perairan Indonesia*, 18(3), 303-314.
- Kemp, C. M., Sensky, P. L., Bardsley, R. G., Buttery, P. J., & Parr, T. (2010). Tenderness –An enzymatic view. *Meat Science*, 84(2), 248-256. doi:10.1016/j.meatsci.2009.06.008
- Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP). (2022). *Data Ekspor-Impor : Tuna-Tongkol-Cakalang*. Jakarta: Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Klomkloa, S., & Benjakul, S. (2016). Utilization of tuna processing byproducts: protein hydrolysate from skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) viscera. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(3), 1-8. doi:10.1111/jfpp.12970
- Kramer, R.M., Shende, V.R., Motl, N., Pace, C.N., & Scholt, J.M. (2012). Toward a molecular understanding of protein solubility: increased negative surface charge correlates with increased solubility. *Biophysical Journal*, 102, 1907-1915. https://doi.org/10.1016/j.bpj.2012.01.060
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage on structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685. doi:10.1038/227680a0

- Lana, A., & Zolla, L. (2016). Proteolysis in meat tenderization from the point of view of each single protein: A proteomic perspective. *Journal of Proteomics*, 147, 85–97. doi:10.1016/j.jprot.2016.02.011
- Mancini, R. A., & Hunt, M. C. (2005). Current research in meat color. *Meat Science*, 71(1), 100–21. doi:10.1016/j.meatsci.2005.03.003
- Marino, R., Albenzio, M., della Malva, A., Caroprese, M., Santillo, A., & Sevi, A. (2014). Changes in meat quality traits and sarcoplasmic proteins during aging in three different cattle breeds. *Meat Science*, 98(2), 178–186. doi:10.1016/j.meatsci.2014.05.02
- Maqsood, S., Manheem, K., Gani, A., & Abushelaibi, A. (2018). Degradation of myofibrillar, sarcoplasmic and connective tissue proteins by plant proteolytic enzymes and their impact on camel meat tenderness. *Journal of Food Science and Technology*, 1–12. doi:10.1007/s13197-018-3251-6
- Miazwir. (2012). Analisis aspek biologi reproduksi ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*) yang tertangkap di Samudra Hindia. Thesis. Universitas Indonesia.
- Moraes, G., & de Almeida, L. C. (2020). Nutrition and functional aspects of digestion in fish. *Biology and Physiology of Freshwater Neotropical Fish*, 251–271. doi:10.1016/b978-0-12-815872-2.00011-7
- Moyle, P. B., & Cech, J. J. (2004). *Lessons from feeding, nutrition, digestion and excretion*. Chung, editor. Fishes: An Introduction to Ichthyology Fifth Edition. San Francisco, US: Pearson Education.
- Murtini, E. S., & Qomarudin. (2003). Pengempukan daging dengan enzim protease tanaman biduri (*Calotropis gigantea*). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 14(3), 266–268.
- Muttaqin, R. A. B. (2022). Aplikasi enzim pepsin dari lambung ikan tuna sirip kuning dalam pembuatan hidrolisat kolagen kulit tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*). Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Nakagawa, T., Watabe, S., & Hashimoto, K. (1988). Identification of three major components in fish sarcoplasmic proteins. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54(6), 999–1004.
- Nalinanon, S., Benjakul, S., Visessanguan, W., Kishimura, H. (2008). Tuna pepsin: characteristics and its use for collagen extraction from the skin of threadfin bream (*Nemipterus spp.*). *Journal of Food Science*, 73(5), C413–C419. doi:10.1111/j.1750-3841.2008.00777.x
- Nath, S. D. (2021). The influence of beef carcass weight on troponin-T degradation and heat shock protein 70 in two different muscles. Thesis. North Dakota State University.
- Ohsima, T., & Giri, A. (2014). Traditional fish fermentation technology and recent developments. *Enhanced Food Microbiology*, 1, 852–869. doi:10.1016/B978-0-12-384730-0.00117-8
- Öztürk, B., & Serdaroglu, M. (2015). Quality characteristics of PSE-like Turkey pectoralis major muscles generated by high post-mortem temperature in a Local Turkish slaughterhouse. *Korean Journal Food Science Animal*, 35(4), 524–532. doi:10.5851/kosfa.2015.35.4.524
- Pasaribu, E., Nurhayati, T., & Nurilmala, M. (2018). Ekstraksi dan karakterisasi enzim pepsin dari lambung ikan tuna (*Thunnus albacares*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(3), 486–496.
- Picariello, G., De Martino, A., Mamone, G., Ferranti, P., Addeo, F., Faccia, M., Musso, S. S., & Di Luccia, A. (2006). Proteomic study of muscle sarcoplasmic proteins using AUT-PAGE/SDS-PAGE as two-dimensional gel electrophoresis. *Journal of Chromatography B*, 833(1), 101–108. doi:10.1016/j.jchromb.2006.01.024
- Putri, D. H. (2008). Keempukan daging sapi dan penggunaan resting box rumah pemotongan hewan. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Rawdkuen, S., Jaimakreu, M., & Benjakul S. (2013). Physicochemical properties and tenderness of meat samples using proteolytic extract from *Calotropis procera latex*. *Food Chemistry*, 136, 909–916. doi:10.1016/j.foodchem.2012.08.077
- Sholeh, M. M., Ambarsari, L., Nurcholiz, W., & Nurhayati, T. (2019). Characterization of ammonium sulphate fraction of pepsin from fish stomach. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 404, 1–6. doi:10.1088/1755-1315/404/1/012039
- Simangunsong, J. S. E. (2021). Pengaruh metode pengeringan terhadap aktivitas pepsin dari lambung ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*). Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Soeparno. (1994). *Ilmu dan Teknologi Daging*. Cetakan II. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Sullivan, G. A., Calkins, C. R. (2010). Application of exogenous enzymes to beef muscle of high and low-connective tissue. *Meat Science*, 85, 730–734. doi:10.1016/j.meatsci.2010.03.033
- Wideman, N., O'bryan, C. A., & Crandall, P. G. (2016). Factors affecting poultry meat colour and consumer preferences-A review. *World's Poultry Science Journal*, 72(02), 353–366. doi:10.1017/s0043933916000015
- Zhao, L., Budge, S. M., Ghaly, A. E., Brooks, M. S., & Dave, D. (2011). Extraction, purification and characterization of fish pepsin: a critical review. *Journal of Food Processing and Technology*, 2, 126. doi:10.4172/2157-7110.1000126