

PENGARUH PENGGARAMAN TERHADAP PROTEIN IKAN LAYANG (*Decapterus rucell*)

Haris Syahrudin

Fakultas Farmasi
Dark_n16ht@yahoo.co.id

Abstrak - Perairan Indonesia memiliki potensi perikanan yang cukup besar. Ikan merupakan sumber protein hewani yang potensial tetapi ikan memiliki kelemahan yaitu sifat yang mudah busuk sehingga dilakukan teknik penggaraman kering untuk menganalisis pengaruh penggaraman terhadap protein ikan. Ikan layang yang digunakan dalam penelitian sebanyak 15 ekor dengan ukuran ± 15 cm, dibersihkan dari insang dan kotoran kemudian dilakukan penggaraman dengan konsentrasi 0%, 10%, 20%, 30% dan 40% setelah itu didiamkan selama 12 jam pada suhu kamar dan dikering dibawah sinar matahari sampai kering. Metode penelitian yang digunakan adalah metode Kjeldahl untuk mengetahui N total pada setiap sampel dan metode Elektroforesis Gel (SDS-PAGE) untuk menentukan berat molekul (BM), mendeteksi kemurnian dan kerusakan protein. Hasil penelitian menggunakan metode Kjeldahl menunjukkan bahwa N total pada sampel segar (3,20%), 0% (0,42%), 10% (2,50%), 20% (3,53%), 30% (2,34%), dan 40% (3,37%). Sedangkan hasil penelitian menggunakan metode SDS-PAGE menunjukkan BM pada sampel 0% (49,02 kDa; 41,34 kDa; 31,58 kDa), 10% (51,44 kDa; 41,79 kDa; 32,36 kDa), 20% (50,76 kDa; 40,11 kDa; 31,46 kDa), 30% (52,1 kDa; 44,03 kDa; 30,79 kDa), 40% (55,03 kDa; 45,48 kDa; 34,17 kDa). Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penggaraman pada ikan dapat berpengaruh terhadap protein ikan sehingga protein tersebut mengalami denaturasi tetapi kandungan N total pada setiap sampel tidak berbeda bermakna kecuali pada sampel ikan yang tidak diberi NaCl (0%).

Kata Kunci : teknik penggaraman kering, konsentrasi garam, pengeringan

Abstract - Indonesian waters have considerable potential fishery. Fish is a potential source of animal protein but fish has the disadvantage that they are highly perishable, so dry salting techniques was carried out to analyze the effect of salinity on fish protein. Kite fish were used in this research as many as 15 tails with a size of ± 15 cm, cleaned than gills and dirt then do the salting with concentrations of 0%, 10%, 20%, 30% and 40% salt, after that let the fish until 12 hours at room temperature and dried under the sun light till dry. The research method used is the Kjeldahl method to determine the total N in each sample and the Electrophoresis Gel (SDS-PAGE) to determine the molecular weight (MW), detecting purity and protein defect. The results of Kjeldahl method showed that total N in fresh samples (3.20%), 0% (0.42%), 10% (2.50%), 20% (3.53%), 30% (2.34 %), and 40% (3.37%). The research results with SDS-PAGE showed molecular weight in 0% samples (49.02 kDa; 41.34

kDa; 31.58 kDa), 10% (51.44 kDa; 41.79 kDa; 32.36 kDa), 20% (50.76 kDa; 40.11 kDa; 31.46 kDa), 30% (52.1 kDa; 44.03 kDa; 30.79 kDa), 40% (55.03 kDa; 45.48 kDa ; 34.17 kDa). The conclusion of this research is that salting the fish can affect fish protein, so the protein was denaturated but total N content in each sample did not differ significantly except in fish samples which were not given NaCl (0%).

Keywords : dry salting techniques, salt concentration, drying

PENDAHULUAN

Perairan Indonesia yang luas membuat Indonesia memiliki potensi perikanan yang cukup besar (Hartoyo, 2002). Sumber daya perairan umum yang dapat dimanfaatkan untuk pengembangan budi daya perikanan meliputi: perairan tawar seperti sungai, waduk, saluran irigasi teknis, rawa, dan danau; perairan payau seperti tambak, hutan bakau; dan perairan laut, sehingga banyak jenis (spesies) ikan yang hidup atau menghuni di perairan umum (Cahyono,2001). Ikan merupakan sumber protein hewani yang potensial tetapi memiliki kelemahan yaitu mudah membusuk. Oleh karena itu, perlu dilakukan upaya untuk mengatasi ikan tersebut agar tidak cepat membusuk yaitu dengan pengawetan ikan. Salah satu bentuk pengawetan ikan yang mudah dilakukan dan efektif untuk mencegah pembusukan adalah dengan penggaraman.

Ada 2 macam teknik penggaraman yaitu penggaraman basah dan penggaraman kering, penggaraman yang umum dilakukan adalah jenis penggaraman kering yaitu penggaraman yang menggunakan kristal garam yang dicampurkan dengan ikan (Budiman, 2004). Garam yang umumnya digunakan oleh nelayan untuk menggarani ikan hasil tangkapan adalah jenis garam curah, garam ini dipilih oleh nelayan karena secara ekonomis lebih murah dan lebih mudah didapat. Semua proses pengawetan bertujuan untuk mempertahankan kualitas ikan termasuk nilai nutrisi yang terkandung di dalamnya, terutama yang dibutuhkan oleh manusia yaitu protein. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh penggaraman terhadap protein ikan, sehingga diharapkan dapat menambah pengetahuan tentang kandungan gizi terutama protein yang terdapat dalam ikan segar maupun ikan yang sudah di awetkan (ikan asin).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan sampel ikan layang sebanyak 15 ekor dengan ukuran ± 15 cm, mata ikan masih putih, tidak berbau menyengat, kulit sisik ikan tidak mengelupas. Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain Kalium sulfat p.a, Cupri sulfat anhidrat p.a, Asam sulfat pekat p.a, Serbuk Zn p.a, Natrium Hidroksida p.a, Asam klorida p.a, Perak nitrat p.a, Natrium klorida p.a. Natrium Klorida 0,9%, Akrilamid p.a, Bisakrilamid p.a, Sodium Dodesil Sulfat p.a, Tetrametilendiamin p.a, Ammonium persulfat p.a, Tris p.a, Tris-Glisin 15% (10,5-175 kDa), Coomassie Brilliant Blue R-259, Metanol, Asam Asetat Glacial, dan Kalium bikromat. Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain Labu Kjeldahl, Alat destilasi, Elektroforesis Gel, Sentrifus dingin (4°C), *Magnetic Bar* dan *Magnetic Stirrer*.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi garam NaCl sebagai perlakuan yaitu 10%, 20%, 30%, dan 40% dari berat total ikan (w/w). Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kandungan protein total dan struktur protein dalam ikan yang telah diasinkan. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah berat ikan, waktu penyimpanan ikan, umur ikan, kondisi cuaca dan bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian.

Metode Kjeldahl

Ikan yang sudah dihaluskan lalu ditimbang 1 g kemudian dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl. Ditambahkan 7,5 g K_2SO_4 , 0,04 g CuSO_4 anhidrat dan 10 ml H_2SO_4 pekat, kemudian dipanaskan sampai mendidih sehingga larutan tidak berbusa dan jernih. Setelah itu pemanasan dihitung selama 15 menit lalu didinginkan dalam air es. Ditambahkan air bebas mineral 100 ml kemudian 50 mg Zn lalu ditambahkan 25 ml larutan NaOH 45% perlahan-lahan sampai basa, kemudian dipanaskan sampai mendidih. Destilat ditampung sebanyak 125 ml yang berisi 50 ml HCl 0,1 N dan 5 tetes indikator metil merah (ujung pipa destilator harus tercelup dalam HCl 0,1 N).

Sisa larutan HCl 0,1 N dititrasi dengan larutan baku NaOH 0,1 N sampai terjadi perubahan warna larutan (titrat) dari warna merah sampai berwarna jingga.

Dilakukan percobaan blanko dengan perlakuan yang sama dengan perlakuan pada sampel, hanya saja ikan segar maupun ikan asin yang sudah kering diganti dengan garam (NaCl) yang dilarutkan dalam air bebas mineral.

Metode Elektroforesis Gel (*Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrilamide Gel Electrophoresis/SDS-PAGE*)

Ekstraksi Protein Ikan

Ikan yang sudah dikeringkan dan dihaluskan kemudian ditimbang 1 g. dilarutkan dalam 9,5 ml *physiological saline* (NaCl 0.9%) dalam beaker glass 50 ml lalu dihomogenkan dengan *magnetic bar* dan *magnetic stirrer* pada suhu 4°C selama 1 menit. Kemudian diaduk konstan selama 20 menit pada suhu 2°C setelah itu disentrifuse selama 30 menit pada suhu 4°C dengan kecepatan 4000 rpm. Supernatan dimasukkan ke dalam lemari pendingin (*freezer*) -18°C sebelum dianalisis SDS-PAGE.

SDS-PAGE

Gel yang digunakan dalam elektroforesis gel yaitu *stacking gel* 4% dan *separating gel* 12,5%. Menyiapkan *supernatant* dengan penambahan *buffer* dengan perbandingan 1:1, dipanaskan pada suhu 100°C selama 5 menit. Memasukan masing-masing sampel sebanyak 20 µl ke dalam sumur-sumur gel. Elektroforesis dijalankan pada arus 20 mA selama 40-50 menit atau sampai pelacak warna (*tracking dye*) mencapai jarak 0,5 cm dari dasar gel.. Lalu gel direndam selama 60 menit dalam larutan *staining* yang berisi Coomasie Brilliant Blue R-259 1 g dalam 450 ml metanol : 100 ml asam asetat glasial : 450ml air pada suhu kamar. Kemudian dilakukan tahap penghilangan warna (*destaining*). Berat molekul pada masing-masing pita protein kemudian dihitung sesuai kurva *standard* (10,5 – 175 kDa).

Argentometri

Ikan yang sudah halus dicuci dengan air mendidih sebanyak 10 ml secara bertahap sampai sejumlah hampir 250 ml. Setelah dingin, filtrat dikumpulkan dalam labu ukur 250,0 ml dan diencerkan dengan air bebas mineral sampai volume 250,0 ml kemudian labu ukur ditutup lalu dikocok homogen. Dipipet 20,0 ml ditambahkan 1 ml indikator K_2CrO_4 dan dititrasi dengan larutan standar $AgNO_3$ sampai terbentuk endapan kedua yang berwarna coklat muda (Ag_2CrO_4). Dilakukan percobaan blanko dengan perlakuan yang sama dengan perlakuan pada sampel, hanya saja ikan segar maupun ikan asin yang sudah kering diganti dengan air bebas mineral.

Analisis Data

Metode analisis data dalam penelitian ini menggunakan anava satu arah dengan menggunakan perangkat lunak komputer yaitu Minitab 14.

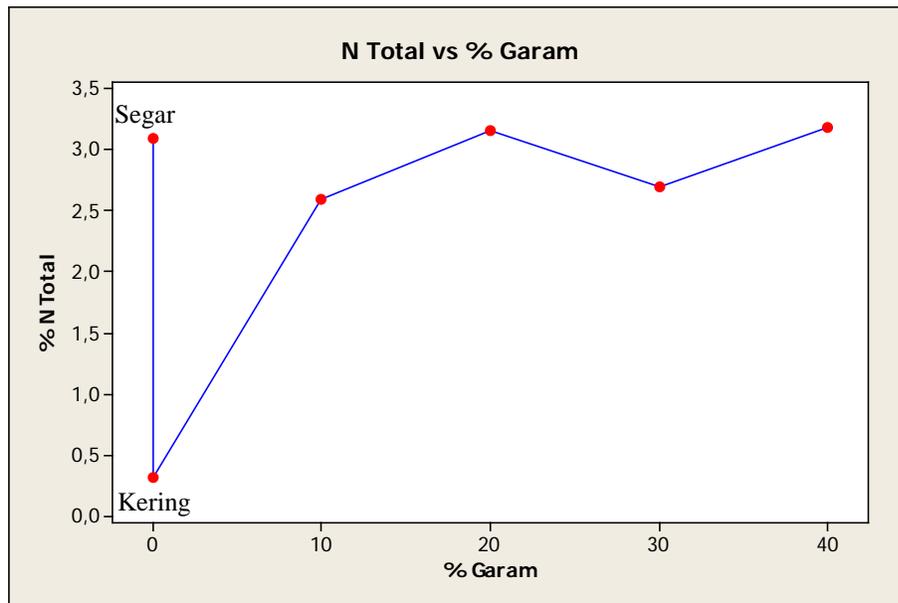
HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Hasil Analisis Total Protein Ikan dengan Blanko NaCl menggunakan Metode Kjeldahl

| Sampel (% garam) | Rata – rata N Total |
|-----------------------------|--------------------------------|
| Segar | 3,09% |
| 0 | 0,32% |
| 10 | 2,59% |
| 20 | 3,16% |
| 30 | 2,70% |
| 40 | 3,19% |

Berdasarkan dari data hasil penelitian bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap total N pada semua sampel segar (3,09%), 10% (2,59%), 20% (3,16%), 30% (2,70%), dan 40% (3,19%). Pada sampel yang tidak diberi NaCl (0,32%) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, hal itu disebabkan karena sampel tersebut sudah mengalami pembusukan/degradasi oleh mikroorganisme sehingga banyak jaringan yang sudah mengalami kerusakan dan menunjukkan total N

sangat kecil. Dalam metode ini tidak dapat dilakukan pada sampel (ikan) yang mengalami pembusukan karena pada proses pembusukan kemungkinan bakteri pengurai dapat menguraikan protein maupun karbohidrat menjadi CO_2 dan NH_3 sehingga NH_3 banyak yang hilang karena proses pengeringan (di bawah sinar matahari) sehingga dapat menyebabkan hasil yang diperoleh (N total) sangat kecil, ditunjukkan sampel 0% sebesar 0,32%.

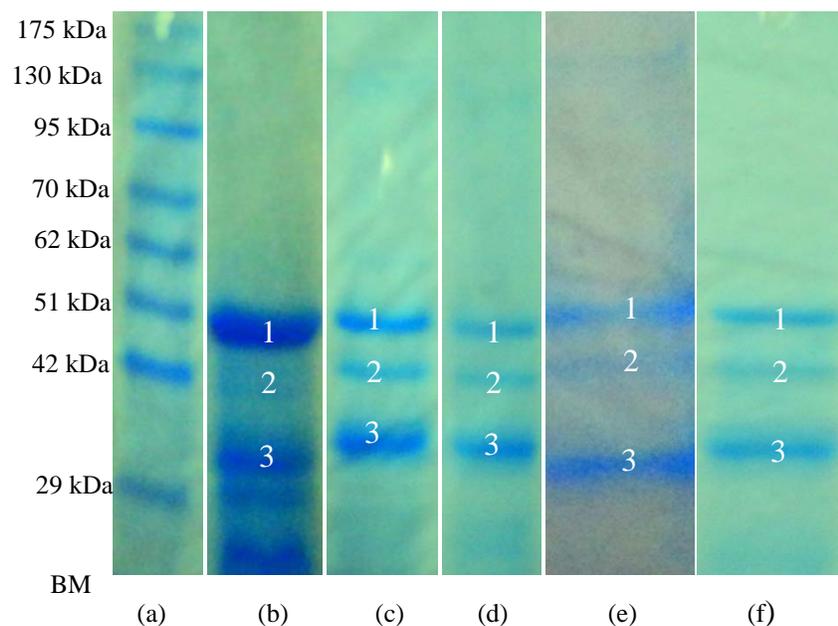


Gambar 1. Hubungan antara Variasi % Garam terhadap % N Total

Tabel 2. Analisis Data Menggunakan Metode Anava Satu Arah

| % Garam | 10 % | 20 % | 30 % | 40 % | Segar | Kering |
|---------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| 10 % | - | Tidak | Tidak | Tidak | Tidak | Beda |
| 20 % | Tidak | - | Tidak | Tidak | Tidak | Beda |
| 30 % | Tidak | Tidak | - | Tidak | Tidak | Beda |
| 40 % | Tidak | Tidak | Tidak | - | Tidak | Beda |
| Segar | Tidak | Tidak | Tidak | Tidak | - | Beda |
| Kering | Beda | Beda | Beda | Beda | Beda | - |

Ket : Segar = tanpa garam, Kering = tanpa garam, Beda = berbeda signifikan, Tidak = tidak berbeda signifikan



Gambar 2. Hasil Elektroforesis Gel (SDS-PAGE). (a) marker, (b) konsentrasi garam 0%, (c) konsentrasi garam 10%, (d) konsentrasi garam 20%, (e) konsentrasi garam 30%,(f) konsentrasi garam 40%

Berdasarkan hasil penelitian menggunakan elektroforesis gel (SDS-PAGE) yang didapat bahwa molekul protein bermigrasi berdasarkan berat molekulnya yang bisa ditunjukkan pada **Gambar 2**. Pada gambar tersebut juga menunjukkan bahwa semua sampel diambil pada jenis ikan yang sama, hal itu terlihat pada keberadaan 3 *band* yang mirip pada setiap sampel berikut ini :

Tabel 3. 3 Rata-rata Ukuran *Band* pada masing-masing Konsentrasi Garam

| Konsentrasi Garam (%) | Rata-rata Ukuran Berat Molekul <i>Band</i> I (kDa) | Rata-rata Ukuran Berat Molekul <i>Band</i> II (kDa) | Rata-rata Ukuran Berat Molekul <i>Band</i> III (kDa) |
|-----------------------|--|---|--|
| 0 | 49,02 | 41,34 | 31,58 |
| 10 | 51,44 | 41,79 | 32,36 |
| 20 | 50,76 | 40,11 | 31,46 |
| 30 | 52,1 | 44,03 | 30,79 |
| 40 | 55,03 | 45,48 | 34,17 |

Jika dilihat *band* yang pertama (sekitar 49,02 kDa) pada sampel 0% **Gambar 2** terlihat tebal kemudian pada sampel 10%, 20%, 30%, dan 40% makin menipis, hal tersebut menunjukkan bahwa denaturasi protein dapat dipengaruhi oleh adanya

penambahan garam yang menyebabkan molekul protein terpotong menjadi lebih kecil lagi yang dapat lolos dari pori-pori gel sehingga *band* tersebut terlihat tipis. Selain dapat menyebabkan denaturasi akibat dari penambahan garam, adanya penambahan garam dapat juga berfungsi untuk mengawetkan dapat dilihat dari sampel 0% yang menunjukkan adanya *smear* yaitu banyaknya molekul yang menumpuk dibawah keberadaan 3 *band* utama sehingga terlihat lebih gelap menandakan bahwa sampel ikan tersebut terdegradasi oleh mikroorganisme sedangkan pada sampel 10%, 20%, 30%, dan 40% tidak menunjukkan adanya *smear* pada **Gambar 2**.

Tabel 4. Hasil Analisis Kadar Garam Pada Ikan Menggunakan Metode Argentometri

| Sampel | Rata-rata Kadar NaCl |
|--------|----------------------|
| 0 | 1,26% |
| 10 | 10,04% |
| 20 | 20,33% |
| 30 | 30,5% |
| 40 | 39,09% |

Berdasarkan dari data hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa meskipun pada ikan tersebut tidak diberikan garam dari luar, ikan tersebut sudah mengandung garam yang dapat ditunjukkan pada sampel 0% sebesar 1,08% kemudian pada sampel 10% sebesar 10,04%; sampel 20% sebesar 20,09%; sampel 30% sebesar 30,25%; dan sampel 40% sebesar 39,09%. Pada sampel 10 – 40% menunjukkan bahwa pemberian garam pada ikan sudah sesuai yang diinginkan meskipun ada kurang lebihnya tersebut tidak terlalu jauh. Hal ini dapat dilihat juga pada standar deviasi pada masing-masing konsentrasi penggaraman tidak sama dari 0% sebesar 0,1202; sampel 10% sebesar 1,1172; sampel 20% sebesar 0,8202; sampel 30% sebesar 0,5091; dan sampel 40% sebesar 0,4596. Disebabkan karena garam yang digunakan masih dalam bentuk kasar/curah yang ukurannya beragam. Sehingga pada saat pengambilan bagian tubuh ikan kemungkinan terdapat konsentrasi garam yang tinggi maupun rendah dan mungkin juga bisa disebabkan masih adanya garam yang

tertinggal pada permukaan tubuh ikan karena tubuh ikan tersebut sudah tidak mampu lagi menyerap garam sehingga jika diambil pada bagian tubuh ikan maka garam tersebut bisa rontok.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa penggaraman pada ikan dapat berpengaruh terhadap kondisi protein ikan yaitu dengan penggaraman berlebih maka protein tersebut menjadi terdenaturasi, sedangkan kandungan N total pada setiap ikan tidak berubah meskipun dengan variasi konsentrasi garam kecuali pada sampel ikan yang tidak diberi garam.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disarankan yaitu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan logam yang terdapat pada garam curah, dilakukan penambahan jumlah sampel yang digunakan, menambahkan sampel ikan yang segar pada metode elektroforesis gel, kadar protein total pada protein ikan yang terlarut sebelum diteliti menggunakan elektroforesis gel dan perlu penambahan marker lebih dari 1 yaitu dipinggir dan ditengah pada tiap-tiap gel.

UCAPAN TERIMA KASIH

1. Kedua orangtua yang sangat penulis sayangi, Bapak, Ibu penulis yang selalu mendoakan, memberikan perhatian dan dorongan semangat kepada penulis.
2. Prof. Dra. Indrajati Kohar, Ph.D., dan Kestrilia Rega P. M.Si., dosen pembimbing yang telah meluangkan banyak waktu, pikiran, tenaga dan perhatiannya untuk membimbing penulis dalam penyusunan skripsi dan artikel ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
3. Drs. Ryanto Budiono, M.Si., dan Dra. Mariana Wahjudi, M.Si., Ph.D., dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran kepada penulis.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto, E. dan Liviawaty, E., 1989. *Pengawetan dan Pengolahan Ikan*. Yogyakarta, Kanisius
- Almatsier, U., 2001. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta, PT. Gramedia Pustaka Utama
- AOAC, 1996. Method 928.02. *Chlorine (Water-Soluble) in Fertilizers*. In : *Official Methods of Analysis, 16th Ed*, Assoc Official Analytical Chemists, Gaithersburg, Maryland, USA.
- Bellagha, S, Sahli A, Farhat A, Kechaou N and Glenza A, 2007. *Studies on salting and drying of sardine (Sardinella aurita): Experimental kinetics and modeling*. J Food Eng. 78: 947-952.
- Bintang, M., 2010. *Biokimia Teknik Penelitian*. Jakarta, Erlangga
- Budiman, M. Syarif, 2004. *Teknik Penggaraman dan Pengeringan*. Jakarta, Departemen Pendidikan Nasional
- Brown TA, 2002. *Genomes 2th Ed*. (online), (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov> diakses 05-03-2012)
- Cahyono, B., 2001. *Budidaya Ikan Di Perairan Umum*. Yogyakarta, Kanisius
- Departemen Kelautan dan Perikanan. 2008. *Bantuan Teknis untuk Industri Ikan dan Udang Skala Kecil dan Menengah di Indonesia (Teknik Pasca Panen dan Produk Perikanan)*. Jakarta. JICA
- Fardiaz, S., 1995. *Pengembangan industri pengolahan hasil perikanan di Indonesia: Tantangan dan penerapan sistem jaminan mutu*. Bulletin Teknologi dan Industri Pangan, 6: 65-73.
- Harfer, H.A., Rodwell, V.W., & Mayes, P.A., 1979. *Review of Physiological chemistry 17th ed*. Canada, Lange Medical Publication.
- Hartono, 2008, *SPSS 16.0 Analisis Data Statistika dan Penelitian*. Yogyakarta, Pustaka Pelajar.
- Hartoyo, D., Herie, P., & Ikhsan, B.W., 2002. *Sebaran Densitas Ikan Pelagik di Selat Bali pada Musim Timur September 1998*. Unit Pelaksana Teknis Baruna Jaya. BPP Teknologi.
- Irianto, D. P., 2007. *Panduan Gizi Lengkap Keluarga dan Olahraga*. Yogyakarta. Penerbit Andi
- Jeffery, G.H., Mendhom, J., Denney R.C., 1989. *Vogel's. Text of Quantitative Chemical Analysis ed 5*. New York, Longman Scientific & Technical
- Kartasapoetra G, Marseto Med. H, 2005. *Ilmu Gizi : Korelasi Gizi Kesehatan, dan Produktivitas Kerja*. Jakarta, Rineka Cipta
- Kinsella, J.E., Damodaran, S, and German, B., 1985. *Physicochemical and funtional properties of oilseed proteins with emphasis on soy proteins*, In Altschul, A.M. and Wilcke, H.L. eds. *New Protein Foods*. Academic Press, Inc., New York, pp: 107-179.
- Ngili, Y., 2009. *Biokimia Struktur & Fungsi Biomolekul*. Yogyakarta, Graha Ilmu.
- Ngili, Y., 2010. *Biokimia Dasar*. Bandung, Rekayasa Sains.
- Poedjiadi, A., dan Supriyanti, T., 2009. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta, UI-Press

- Purwanto, 2011. *Statistika Untuk Penelitian*. Yogyakarta, Pustaka Pelajar.
- Sudarmadji, S., Haryono, B. dan Suhardi, 2007. *Prosedur Analisis Untuk Bahan Makanan Dan Pertanian*. Yogyakarta, Liberty.
- Sudarmadji, S., 1996. *Teknik Analisa Biokimia*. Yogyakarta, Liberty
- Shahidi,F., 1998. *Functional seafood products*. In Shibamoto, T.; Terao, J. and Osawa, T. eds., *Functional Foods for Disease Prevention II Medicinal Plants and other Foods*. Am. Chem. Soc. Symp. Ser. 702, pp 29 - 49.
- Unluyasin, M, Erdilal R, Gumus B and Gulyavuz H, 2010. *The Effects of Different Salting Methods on Extract Loss from Rainbow Trout*. Pak Vet J, 30(3) : 131-134.
- Wahyuni Titik, T., 2008. *Gambaran Rinci Tingkat Struktur Protein*. (online), (<http://www.wordpress.com> diakses 05-03-2012)
- Xiong, Y. L., 1997, *Structure-function relationships of muscle protein*. In Damodaran, S. and Paraf, A. eds. *Food Proteins and Their Applications*. Marcel Decker. New York, pp: 341-392
- Yazid, E., dan Nursanti, L., 2006. *Penuntun Praktikum Biokimia Untuk Mahasiswa Analis*. Yogyakarta, Andi