

Profil Protein Jaringan Otot Ayam Broiler (*Gallus gallus domesticus*) pada Waktu Inkubasi yang Berbeda

Nindya Ulfa Wardhani^{1*}, Umie Lestari¹, Nugrahaningsih¹

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang

*E-mail: nindyawardhani7@gmail.com

Abstrak. Perubahan pola konsumsi masyarakat yang sadar akan pentingnya gizi dan kesehatan, menyebabkan konsumsi ayam ras pedaging cenderung meningkat. Ayam ras pedaging yang paling banyak dikonsumsi adalah jenis Ayam *Broiler*. Salah satu kandungan tertinggi pada daging ayam *broiler* selain lemak adalah protein. Daging ayam mudah mengalami penurunan kualitas selama penyimpanan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu inkubasi terhadap konsentrasi protein jaringan otot ayam *broiler* serta mengetahui profil protein jaringan otot ayam *broiler* pada waktu inkubasi yang berbeda. Berdasarkan hasil uji Anava, waktu inkubasi berpengaruh terhadap konsentrasi protein jaringan otot ayam *broiler*. Hasil uji *Post-Hoc Duncan* menunjukkan jaringan otot Ayam *Broiler* yang disimpan mulai 1 jam, 3 jam, 5 jam, 7 jam, 9 jam dan 11 jam konsentrasi proteinnya menurun dan berbeda nyata dibandingkan dengan inkubasi 0 jam. Visualisasi protein memperlihatkan adanya perbedaan ketebalan pita protein setelah jaringan otot ayam disimpan selama 1 jam hingga 11 jam, adanya pita protein dengan BM 53 kDa yang hilang setelah jaringan otot ayam disimpan selama 11 jam serta adanya pita protein dengan BM 60 kDa yang muncul setelah jaringan otot disimpan selama 7 jam.

Kata Kunci : Profil Protein; Ayam Broiler; waktu inkubasi; SDS-PAGE

Abstract. The changing dietary habit of people with higher awareness of the importance of nutrition and health increase chicken consumption. The most common breed of chicken consumed in Indonesia is Broiler. Besides fat, one of the highest content in broiler chicken meat is protein. The quality of chicken meat can decrease rapidly during storage. This research aimed incubation time affected the protein concentration of broiler chicken muscle tissue and know the protein profile chicken muscle tissue in different incubation. Based on Anova test, incubation time affected the protein concentration of broiler chicken muscle tissue. Based on Post Hoc Duncan test, the protein concentration of broiler chicken muscle tissue incubated for 1, 3, 5, 7, 9 and 11 hour was decreases and significantly than those incubated for 0 hours. Visualisation protein was observed based on the thickness of protein bands after the chicken muscle tissue was incubated for 1 until 11 hours, a protein band of 53 kDa was missing in the chicken muscle tissue incubated for 11 hours and a protein band of 60 kDa was observed in the chicken muscle tissue incubated for 7 hours.

Keywords: Broiler chicken; incubation time; protein profile; SDS-PAGE

PENDAHULUAN

Perubahan pola konsumsi masyarakat yang sadar akan pentingnya gizi, menyebabkan konsumsi ayam ras pedaging cenderung meningkat. Berdasarkan data Direktorat Jendral Peternakan, “Produksi ayam ras pedaging Provinsi Jawa Timur tahun 2012 menghasilkan 162,844 ton pertahun serta mengalami peningkatan pada 2016 mencapai 219,833 ton pertahun” (Kementrian Pertanian Republik Indonesia, 2017). Ayam ras pedaging paling banyak dikonsumsi adalah jenis Ayam *Broiler*.

Ayam *Broiler* banyak dipilih sebagai sumber pangan, sebab harganya relatif terjangkau. Kandungan tertinggi pada daging ayam broiler selain lemak adalah protein (Suradi, 2006). Protein adalah makromolekul yang berlimpah didalam sel dan menyusun setengah dari tubuh makhluk hidup (Poedjiadi, 2006). Kandungan protein pada Ayam *Broiler* segar per 100 gram adalah sebesar 18,20 % (PERSAGI, 2005).

Penelitian oleh Suradi (2006) diperoleh bahwa daging ayam yang dibiarkan disuhu ruang akan lebih cepat mengalami penurunan kualitas. Penurunan mutu daging, diawali dengan proses perombakan oleh aktivitas enzim pengurai protein (enzim proteolitik), yang menguraikan protein menjadi pepton, peptida dan asam-asam amino (Whipple, 1991). Komposisi protein pada daging ayam mengandung semua asam amino esensial yang dibutuhkan oleh tubuh. (Mudalal, 2014). Protein yang dibiarkan disuhu ruang akan mengalami degradasi sehingga tubuh mengkonsumsi dalam bentuk asam amino. Asam amino yang masuk tidak dapat disimpan oleh tubuh (Poedjiadi, 2006).

Penelitian ini bertujuan untuk melihat (1) degradasi protein dengan mengukur konsentrasi protein jaringan otot ayam *broiler* pada waktu inkubasi yang berbeda, (2) mengetahui profil protein jaringan otot ayam *broiler* pada waktu inkubasi yang berbeda.

MATERIAL DAN METODE

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Mikropipet, tip mikropipet, *microtube*, tabung sentrifus, vortex, *refrigerated centrifuge*, alat-alat gelas, *NanoDrop 2000 Spectrophotometer*, sonikator, neraca analitik, autoklaf, elektroforesis vertikal, *rotary shaker*, *heater stirrer*, mortal pistil, cawan petri, *freezer*, pinset, pH meter dan termometer.

Bahan yang digunakan yaitu daging ayam broiler yang diambil bagian dada sebelah kanan masing-masing perlakuan sebesar 0,5 gram, NaCl, Na₂HPO₄, NP₄₀, Alkohol 70%, *separating gel* 12,5%, *stacking gel* 3%, larutan RSB (*Reducing Sample Buffer*) *non-reducing*, *Commassie Brilliant Blue R250*, larutan *destaining*, aquades steril, buffer tris- glisin, buffer fosfat 0,2 M, *Blue Classic Prestained Protein Marker*, NaOH, HCl, dan *plastic wrap*.

Isolasi Protein Jaringan Otot Ayam Untuk Memperoleh Isolat Protein

Daging ayam setiap perlakuan diambil sebanyak 0,5 gram dicuci tiga kali menggunakan PBS. Daging digerus, ditambah PBS Tween–PMSF (9 : 1) sebanyak 2000 µl, dimasukkan ke dua Eppendorf 1,5 ml, disonifikasi 10 menit, disentrifus dengan kecepatan 6000 rpm selama 15 menit pada suhu 25⁰C, pellet dibuang. Supernatan dipindah diempat Eppendorf baru masing–masing 500 µl, ditambah metanol absolut dengan perbandingan 1:1, dihomogenkan, dimasukkan ke dalam *freezer* satu malam, disentrifigasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit

dengan suhu 4°C. Metanol absolut dibuang, ekstrak dikering anginkan selama semalam, ditambahkan Tris-HCl pH 6,8 sebanyak 100 µl dan dihomogenkan, sampel disimpan pada suhu -20°C.

Pengukuran Kadar Isolat Protein Jaringan Otot Ayam *Broiler*

Pengukuran kadar isolat protein hasil isolasi menggunakan *NanoDrop 2000 Spectrophotometer*. Aquades steril 3µl diberikan pada cuvet spektrofotometer, lalu dibersihkan dengan kertas lensa, Tris-HCl sebanyak 1µl diberikan pada cuvet, klik tombol “Blank” untuk kalibrasi. Sampel protein 1µl, diletakkan pada cuvet, ditutup dengan bagian atas spektrofotometer, klik “Measure” tunggu beberapa detik lalu klik “Save”.

Elektroforesis SDS-PAGE Protein Jaringan Otot Ayam

a. Running Gel Elektroforesis

Running gel dilakukan setelah *separating gel* 12,5% dan *Stacking gel* 3% siap. Proses running gel elektroforesis dilakukan dengan memasukkan isolat protein sebanyak 10 µl dalam tabung Ependorf, ditambah 10 µl larutan RSB, ditutup dengan *plastic wrap*, beri lubang sebanyak 3 tusuk, dididihkan selama 5 menit pada suhu 100°C. Isolat dimasukkan ke dalam sumuran sebanyak 10 µl. Elektroforesis dengan voltase 130V, 60mA (2 plate) hingga *tracking dye* mencapai 0,5 cm di atas dasar.

b. Pewarnaan Gel dengan *Commasie Brilliant Blue R250*

Gel hasil elektroforesis direndam larutan *staining*, gel digoyang menggunakan *rotary shaker* selama 30 menit, kemudian gel di rendam larutan *destaining*, *shaker* selama semalam, visualisasi dengan scanner untuk melihat hasil pita.

c. Menghitung Berat Molekul Isolat Protein Jaringan Otot Ayam

Pita protein yang terlihat pada gel akan diukur berat molekulnya dengan bantuan protein standar sebagai marker, berat molekul pita dihitung dari nilai Rf (*Retardation factor*) masing-masing pita dengan rumus :

$$Rf = \frac{\text{jarak tempuh oleh senyawa}}{\text{jarak tempuh oleh permukaan pelarut}}$$

Analisis Data

Teknik analisis data pada penelitian ini menggunakan Uji statistik Analisis Varian tunggal (ANOVA) dilanjutkan Uji *Post-Hoc Duncan* dengan taraf signifikansi 5% . Profil protein jaringan otot Ayam *Broiler* ditentukan dengan mencari berat molekul dari perhitungan R_f (*Retardation factor*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

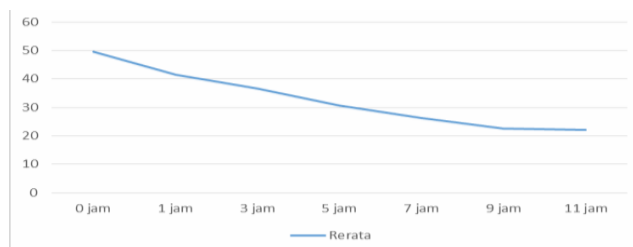
Pengukuran Konsentrasi Protein Jaringan Otot Ayam *Broiler* pada Waktu Inkubasi yang Berbeda

Hasil penelitian yang diperoleh dari pengukuran konsentrasi protein jaringan otot Ayam *Broiler* pada waktu inkubasi yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata Hasil Pengukuran Konsentrasi Protein Jaringan Otot Ayam *Broiler* pada Waktu Inkubasi yang Berbeda

Waktu inkubasi	Rerata (mg/ml)
0 jam	49,496
1 jam	41,454
3 jam	36,667
5 jam	30,506
7 jam	26,264
9 jam	22,422
11 jam	22,052

Berdasarkan data rerata hasil pengukuran konsentrasi protein jaringan otot Ayam *Broiler* pada waktu inkubasi yang berbeda pada Tabel 2., konsentrasi protein cenderung menurun setelah disimpan selama 1 jam, 3 jam, 5 jam, 7 jam, 9 jam dan 11 jam. Grafik hasil pengukuran konsentrasi protein jaringan otot Ayam *Broiler* pada waktu inkubasi yang berbeda (Gambar 1).



Gambar 1. Rerata konsentrasi protein jaringan otot Ayam *Broiler* pada waktu inkubasi yang berbeda

Data perhitungan konsentrasi protein jaringan otot Ayam *Broiler* dianalisis statistik dengan Analisis Varian Tunggal, diperoleh nilai Signifikansi ($p < 0,05$) yaitu 0,000. Hasil tersebut menunjukkan bahwa perlakuan waktu inkubasi berpengaruh terhadap konsentrasi protein jaringan otot ayam *broiler*. Data diuji lanjut menggunakan uji *Post-Hoc Duncan* dengan taraf signifikansi 0,05 (dapat dilihat pada Tabel 2)

Tabel 2. Hasil Uji Post-Hoc Duncan pada Rerata Hasil Pengukuran Konsentrasi Protein Jaringan Otot Ayam Broiler pada Waktu Inkubasi yang Berbeda

Waktu Inkubasi	Rerata Konsentrasi	Notasi Duncan 0,05
11 jam	22,05	a
9 jam	22,42	a
7 jam	26,26	a b
5 jam	30,50	b
3 jam	36,66	c
1 jam	41,45	c
0 jam	49,49	d

Berdasarkan Tabel 2. menunjukkan bahwa inkubasi jaringan otot Ayam *Broiler* mulai 1 jam, 3 jam, 5 jam, 7 jam, 9 jam dan 11 jam memiliki konsentrasi protein yang semakin menurun dan berbeda nyata dengan jaringan otot Ayam *Broiler* yang disimpan selama 0 jam. Perlakuan inkubasi 1 jam dan 3 jam memiliki konsentrasi protein yang sama, tetapi dibandingkan dengan inkubasi 5 jam, 7 jam, 9 jam dan 11 jam konsentrasi proteinnya berbeda nyata.

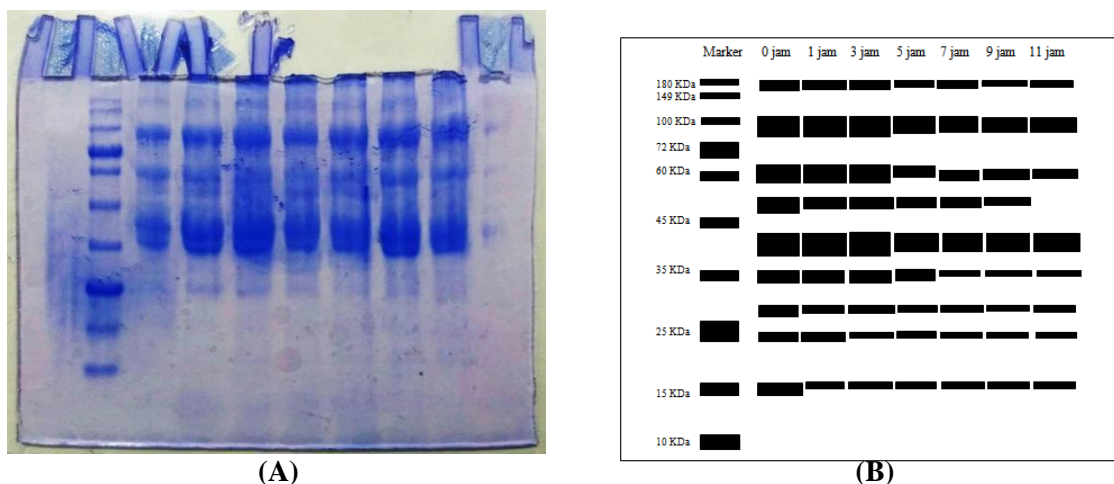
Menurut pendapat Schreurs *et al.*, (1995) enzim proteolitik terlibat dalam proses degradasi protein pada fase *post-mortem* (fase dimana terjadi kekakuan pada otot), fase ini terjadi setelah 5 jam waktu inkubasi. Proses degradasi protein pada jaringan otot Ayam *Broiler* diperantarai oleh adanya aktivitas dari beberapa enzim diantaranya adalah calpain, calpastatin, cathepsin B, cathepsin D dan cathepsin H. Penelitian Hardiany (2013) mengatakan bahwa calpain adalah anggota sistein protease yang merupakan enzim proteolitik, enzim ini berperan dalam katalisis pemecahan protein melalui hidrolisis ikatan peptida. Calpain merupakan enzim pemecah protein yang diekspresikan di berbagai sel. Calpain biasanya diekspresikan di dalam sitosol, tetapi beberapa calpain diekspresikan pada jaringan tertentu. Sebagai contoh, calpain 3 spesifik untuk otot rangka.

Profil Protein Jaringan Otot Ayam *Broiler* pada Waktu Inkubasi yang Berbeda

Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa protein jaringan otot Ayam *Broiler* pada waktu inkubasi yang berbeda, ketika dielektroforesis SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphonate Polyacrylamide Gel Electrophoresis*) kemudian diwarnai dengan *Commasie brilliant blue* menunjukkan adanya beberapa pita protein yang muncul. Hasil elektroforesis SDS-PAGE ditunjukkan pada Gambar 2.

Visualisasi protein jaringan otot ayam memperlihatkan, tipisnya pita protein dengan BM 156 kDa, 109 kDa, 43 kDa, 35 kDa dan 28 kDa pada inkubasi 5 jam dibanding 0 jam, 1 jam dan 3 jam, hilangnya pita protein dengan BM 53 kDa pada jaringan otot pada

inkubasi selama 11 jam dibanding 0 jam, 1 jam, 3 jam, 5 jam, 7 jam dan 11 jam dan munculnya pita protein dengan BM 60 kDa pada jaringan otot pada inkubasi selama 7 jam, 9 jam dan 11 jam.



Gambar 2. (A) Gel hasil elektroforesis protein jaringan otot Ayam *Broiler* yang didapatkan dengan metode SDS-PAGE, (B) Zimogram profil protein jaringan otot Ayam *Broiler* pada waktu inkubasi yang berbeda.

Hasil visualisasi menandakan ada degradasi protein pada jaringan otot Ayam *Broiler*. Pita protein yang didapatkan dari hasil SDS-PAGE, dapat menggambarkan keadaan jaringan otot ayam. Hasil ini sesuai dengan pendapat Collin and Berry (2005) yang mengatakan bahwa degradasi protein daging ayam antara lain disebabkan karena adanya aktivitas enzim dalam daging tersebut dan reaksi kimia didalam daging selama penyimpanan.

Tebal tipisnya pita protein menandakan adanya degradasi protein. Sesuai dengan penelitian Sunarto (2011) ketebalan dari pita protein yang muncul dapat dibedakan menjadi dua, yaitu pita yang tebal dan pita yang tipis. Ketebalan suatu pita protein menunjukkan konsentrasi dari protein. Pita yang tebal menandakan bahwa konsentrasi proteinnya yang besar. Tipisnya pita protein menunjukkan bahwa konsentrasi dari protein telah turun. Menurunnya konsentrasi menunjukkan bahwa telah terjadi degradasi protein.

Berikut Tabel 3. yang menunjukkan hasil perhitungan berat molekul pita protein jaringan otot Ayam *Broiler* pada waktu inkubasi yang berbeda.

Tabel 3. Pengukuran Berat Molekul Protein Jaringan Otot Ayam *Broiler* pada Waktu Inkubasi yang Berbeda

Pita ke-	0 jam	1 jam	3 jam	5 jam	7 jam	9 jam	11 jam
1.	156	156	156	156	156	156	156
2.	109	109	109	109	109	109	109
3.	64	64	64	64	-	-	-
4.	-	-	-	-	60	60	60
5.	53	53	53	53	53	53	-
6.	43	43	43	43	43	43	43
7.	35	35	35	35	35	35	35
8.	28	28	28	28	28	28	28
9.	23	23	23	23	23	23	23
10.	16	16	16	16	16	16	16

Hasil penelitian SDS-PAGE menunjukkan, pita protein dengan berat molekul 53 kDa hilang setelah jaringan otot ayam *broiler* disimpan selama 11 jam. Muncul protein dengan berat molekul 60 kDa pada inkubasi selama 7 jam, 9 jam dan 11 jam. Jaringan otot ayam *broiler* yang disimpan selama 0 jam sampai 5 jam menunjukkan pita protein yang muncul sebanyak sembilan pita dengan berat molekul 156 kDa, 109 kDa, 64 kDa, 53 kDa, 43 kDa, 35 kDa, 28 kDa, 23 kDa dan 16 kDa.

Hasil penelitian penyimpanan 7 jam dan 9 jam jaringan otot Ayam *Broiler* juga menunjukkan bahwa pita protein yang muncul sebanyak sembilan pita dengan berat molekul 156 kDa, 109 kDa, 60 kDa, 53 kDa, 43 kDa, 35 kDa, 28 kDa, 23 kDa dan 16 kDa. Penelitian penyimpanan 11 jam jaringan otot Ayam *Broiler* menunjukkan pita protein yang muncul sebanyak delapan pita dengan berat molekul 156 kDa, 109 kDa, 60 kDa, 43 kDa, 35 kDa, 28 kDa, 23 kDa dan 16 kDa.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa inkubasi jaringan otot Ayam *Broiler* mulai 1 jam, 3 jam, 5 jam, 7 jam, 9 jam dan 11 jam memiliki konsentrasi protein yang semakin menurun dan berbeda nyata dengan jaringan otot Ayam *Broiler* yang disimpan selama 0 jam. Visualisasi protein jaringan otot ayam memperlihatkan tipisnya pita protein dengan BM 156 kDa, 109 kDa, 43 kDa, 35 kDa dan 28 kDa pada inkubasi 5 jam dibanding 0 jam, 1 jam dan 3 jam, hilangnya pita protein dengan BM 53 kDa pada jaringan otot pada inkubasi selama 11 jam dibanding 0 jam, 1 jam, 3 jam, 5 jam, 7 jam dan 11 jam serta munculnya pita protein dengan BM 60 kDa pada jaringan otot pada inkubasi selama 7 jam, 9 jam dan 11 jam. Hasil visualisasi menandakan ada degradasi protein pada jaringan otot Ayam *Broiler*.

DAFTAR RUJUKAN

- Bowker, B.C., Zhuang, H. 2013. Relationship between Muscle Exudate Protein Composition and Broiler Breast Meat Quality. *Poultry Science*. 92, 1385-1392.
- Collin, A., Berry, C. 2005. The effect of thermal manipulation Early and Late Embryogenesis on Thermotolerance and Breast Muscle Characteristics in Broiler Chickens. *Poult. Sci* 83 : 795 –800
- Dinas Peternakan Provinsi Jawa Timur. 2015. *Data Statistik Produksi Ternak Kab / Kota di Jawa Timur*. (Online) (<http://disnak.jatimprov.go.id/web/layananpublik/datastatistik/statistikpopulasi ternak>, diakses tanggal 11 Januari 2017).
- Hardiany, S. 2013. Cathepsin dan Calpain: Enzim Pemecah Protein dalam Sel. *Jurnal Kedokteran Indonesia*. 1 (1), 75-81.
- Johary, S., Maeda, Y., Okamoto, S., Hashiquchi, T. 1993. Comparison of Calpain and Calpastatin Activities in Skeletal Muscle of Broiler and Layer Chicken. *Journal Poultry Scient*. 34(4), 819-824.
- Kementrian Pertanian Republik Indonesia. 2017. *Data Produksi Daging Ayam Ras Pedaging Menurut Provinsi Tahun 2012– 2016*. (Online) (http://www.pertanian.go.id/NAK-2016fix/Prod_DagingAyamRasPedaging_Prop_2016 diakses tanggal 11 Januari 2017).
- Lestari, U., Aulanni'am., Purnomo, B.B., Sumitro, S.B. 2013. Human Sperm Protein 116 KDA: A Candidate Antigen For Immunocontraception Techhnology. *Journal of Biological Researches*. 18, 86-90.
- Mudalal, S., Babini, E., Cavani, C., Petracci, M. 2014. Quantity and Functionality of Protein Fractions in Chicken Breast Fillets Affected by White Striping. *Poultry Science*. 93, 2108-2116.
- Poedjiadi, A. 2006. *Dasar – Dasar Biokimia*. Jakarta : UI Press.
- Schreus, F.J., Heide, V.D., Leenstra, F.R., Wit, D. 1995. Endogenous Proteolytic Enzymes in Chicken Muscles. Differences Among Strains with Different Grows Rate and Protein Efficiencies. *Journal Poult Sci*. 73(3), 523-527.
- Sunarto. 2011. Karakteristik Pola Pita Protein *Anodonta Woodiana Lea* Akibat Terpapar Logam Berat Cadmium (Cd). *Jurnal EKOSAINS*.1 (3), 41-45.
- Suradi, K. 2006. Perubahan Sifat Fisik Daging Ayam Broiler Post Mortem Selama Penyimpanan Temperatur. *Jurnal Ilmu Ternak*. 6 (1), 23-27.
- Whipple, G.1991. Degradation Of Myofibrillar Proteins By Extractable Lysosomal Enzymes and m – Calpain and The Effects Of Zinc Chloride. *Journal Anim Sci*. 68, 4449-4460