

Karakteristik Protein Dan Asam Amino Daging Sapi Bali Dan Wagyu Pada Penyimpanan Suhu Dingin 4°C

*(CHARACTERISTIC OF PROTEIN AND AMINO ACIDS OF BALI AND WAGYU BEEF
AT COLD STORAGE TEMPERATURE 4°C)*

Reny Navtalia Sinlae¹, Ni Ketut Suwiti², I Wayan Suardana³

¹Mahasiswa Program Magister Kedokteran Hewan Universitas Udayana

²Laboratorium Histologi Veteriner Universitas Udayana

³Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Universitas Udayana

Jln. PB. Sudirman Denpasar-Bali

Email: *reny.prinzgels@gmail.com*

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh bangsa sapi (sapi bali dan wagyu) dan lama penyimpanan pada suhu dingin (4°C) terhadap karakteristik protein dan asam amino daging. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Pola Faktorial. Faktor pertama yaitu jenis daging (sapi bali dan wagyu) dan faktor kedua adalah lama penyimpanan pada suhu 4°C (hari ke-0, ke-3, ke-7, dan ke-14). Pola pita protein dianalisis menggunakan metode SDS-PAGE sedangkan jenis asam amino dianalisis dengan metode HPLC. Data yang diperoleh dianalisis dengan Sidik Ragam. Hasil penelitian menunjukkan lama penyimpanan berpengaruh terhadap kemunculan pita protein daging sapi bali dan wagyu setelah penyimpanan hari ke-7 dan ke-14 dan terjadi penurunan konsentrasi asam amino. Hal ini berarti aktivitas enzim proteolitik pada daging yang disimpan hari ke-7 telah mendegradasi protein dan dapat berpengaruh pada kualitas daging. Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa sapi bali dan wagyu memperlihatkan adanya perbedaan karakteristik protein (ketebalan dan jumlah pita) serta perbedaan yang nyata dari asam amino phenilalanin pada daging sapi wagyu dibandingkan dengan sapi bali dan lama penyimpanan pada suhu 4°C memperlihatkan pengaruh yang nyata terhadap penurunan asam amino histidin, phenilalanin dan isoleusin pada daging sapi bali dan wagyu.

Kata kunci: pita protein, asam amino, daging sapi bali dan wagyu

ABSTRACT

Research has been conducted to determine the effect of breed (bali cattle and wagyu) and period time at cold storage temperatures (4°C) of beef protein and amino acids characteristics. This study used the completely randomized factorial design. First factors were type of beef (bali cattle and wagyu) and the second factors were period storage at cold temperature 4°C (day of 0, 3, 7, and 14). The bands of proteins were analyzed using SDS-PAGE method while the amino acids were analyzed using HPLC method. Data were analyzed by analyse of variance. The result showed that the storage time affected to the profil of protein bands of bali and wagyu beef after 7 days and 14 days of storage, while the concentration of amino acids has been decreased. This means that the activity of proteolytic enzymes in meat stored at 7 days was degrading proteins and affected the quality of meat. The conclusion indicated that bali and wagyu beef showed differences characteristic of protein (the thickness and number of bands) as well as significant differences of the amino acid Phenylalanine in wagyu beef compared with bali beef. The period time at cold storage temperature 4°C showed real effect to the decline of the amino acid histidine, phenylalanine and isoleucine of bali and wagyu beef.

Keywords: protein band, amino acids, bali and wagyu beef

PENDAHULUAN

Daging merupakan sumber protein terbesar diperkirakan terdiri atas 19% protein (Lawrie, 2003) sedangkan menurut Soeparno (2005) komponen protein daging diperkirakan 16-22%. Kualitas protein dapat dilihat dari komposisi asam amino penyusun dan daya cerna protein yang menentukan ketersediaan asam amino secara biologis. Protein merupakan suatu persenyawaan yang khas yang ditemukan di dalam sel dan merupakan komponen terbesar dalam membran sel, dapat membentuk jaringan pengikat misalnya kolagen dan elastin.

Keberadaan sapi bali di Indonesia untuk produksi daging sangat diandalkan namun sampai saat ini wisatawan asing di Bali tidak mengkonsumsi daging sapi bali. Citarasa daging sapi bali yang kurang disukai dan strukturnya yang lebih alot dibandingkan daging wagyu menjadikan tingkat kesukaan wisatawan terhadap daging sapi bali lebih rendah dibandingkan dengan daging sapi wagyu (Suwiti *et al.*, 2013). Istilah wagyu merujuk pada jenis daging sapi khas Jepang yang terkenal dengan karakter persebaran lemak yang merata, rasa lezat alami serta keempukannya dengan *marbling* yang sangat bagus.

Secara genetik sapi bali dan wagyu berbeda, hal ini ditunjukkan dengan ciri-ciri fenotipnya yang berbeda. Hasil penelitian membuktikan dengan uji organoleptik yang dilakukan melalui indikator keempukan, *marbling* dan aroma ternyata memberikan hasil yang berbeda sehingga diduga protein penyusun daging sapi bali dan wagyu juga berbeda (Suwiti *et al.*, 2013).

Kualitas daging secara umum ditentukan oleh beberapa hal diantaranya sifat fisik, kemis dan uji organoleptik. Faktor lain yang dapat berpengaruh terhadap kualitas daging adalah jenis protein dan penyimpanan. Sampai saat ini belum ada penelitian yang mengkaji

keberadaan protein dari kedua daging tersebut, terutama pengaruh faktor lama penyimpanan pada suhu dingin.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh bangsa sapi (sapi bali dan wagyu) dan lama penyimpanan pada suhu dingin 4°C terhadap karakteristik protein daging serta komposisi asam amino yang terdapat pada kedua jenis daging tersebut. Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi ilmiah sejauh manabangsa sapi (sapi bali dan wagyu) dan lama penyimpanan berpengaruh terhadap karakteristik protein dan asam amino daging sehingga kepada masyarakat hasil penelitian ini akan dapat memberikan sumbangan pemikiran tentang penyimpanan daging.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Pola Faktorial (Sampurna dan Nindhia, 2008). Faktor pertama: jenis daging (sapi bali dan wagyu) dan faktor kedua: lama penyimpanan suhu dingin 4°C (hari ke-0, ke-3, ke-7 dan ke-14) sehingga kombinasi antar faktor sebanyak 2x4 dan diulang sebanyak tiga kali. Data pengulangan diperoleh dari rumus : $P = (r-1) \geq 15$ Karakteristik protein dilakukan di Balai Besar Veteriner Denpasar. Analisis terhadap jenis asam amino dilakukan di Laboratorium Analitik Bukit Jimbaran. Sumber data ditentukan dari hasil sodium dodecyl sulfate- Polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) daging sapi bali dan wagyu sedangkan hasil analisis jenis asam amino dengan metode HPLC.

Perlakuan Sampel

Masing-masing daging diambil sebanyak lima gram kemudian dicincang dan dimasukkan kedalam tabung 50 ml lalu di tambahkan buffer fosfat pH 6±0,1 sebanyak lima ml kemudian di gerus sampai halus menggunakan homogenizer.

Daging yang telah halus selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil kemudian dianalisis pola (pita-pita) protein menggunakan SDS-PAGE.

Karakterisasi Protein dengan Metode SDS-PAGE

Teknik pemisahan protein dengan elektroforesis menggunakan metoda standar oleh Laemmli (1970), dilakukan dalam tiga tahap. Tiga tahap tersebut adalah ekstraksi protein dari sampel, pembuatan gel dengan menggunakan SDS-PAGE dan pemisahan protein dengan teknik elektroforesis yang dilanjutkan dengan pendeteksian pita-pita protein yang terbentuk. Preparasi sampel menggunakan sampel buffer. Sampel (supernatan) sebanyak 5 µl dicampur dengan 30 µl sampel buffer dengan perbandingan 1:6, setelah supernatan tercampur dengan sampel buffer kemudian dipanaskan dengan suhu 95°C selama 5 menit, setelah dingin baru di masukkan ke dalam sumur-sumur yang telah tersedia pada gel sebanyak 5 µl kemudian dianalisis pola (pita-pita) menggunakan SDS-PAGE.

Pembuatan gel pemisah (*running gel*) konsentrasi 12,5% (*resolving gel*/ lapisan bawah) dan 4% *stacking gel* (lapisan atas) harus selalu dalam keadaan baru dilarutkan. Untuk preparasi gel pengumpul (*stacking gel*) dicetak dengan bantuan “sisir” (*comb*) untuk membuat sumur-sumur memasukkan contoh yang akan dipisahkan. Ketebalan gel yang dibuat adalah 4 mm. Gel yang didapat kemudian dipasang. Setelah gel mengeras, sisir diangkat.

Proses pemisahan protein menggunakan buffer pemisah (*running buffer*). Buffer elektroforesis dimasukkan dan alat elektroforesis dirangkai. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam sumur dengan menggunakan mikro pipet sebanyak 5 µl, tergantung tebal tipisnya pita protein yang diinginkan. Perangkat

elektroforesis dijalankan pada suhu rendah dengan tegangan 200 volt dan arus 42 mA selama ±1 jam hingga *bromphenolblue* mencapai 1 cm dari batas bawah gel. Setelah elektroforesis selesai, gel difiksasi dengan larutan *Commassie brilliant blue R-250*, kemudian gel dipucatkan dengan larutan sambil digoyang-goyangkan sampai terlihat pita protein. Jika sudah terlihat adanya pola (pita-pita) protein, proses pemucatan dihentikan.

Gel hasil SDS-PAGE dianalisa dengan cara menghitung pita yang muncul dengan dilakukan perhitungan *Rf* (*Retardation Factor*) dari masing-masing pitadengan rumus (Cavalli *et al.*, 2006):

$$Rf = \frac{\text{jarak pergerakan pita}}{\text{jarak pergerakan warna}}$$

Analisis Asam Amino (AOAC 2005) dengan Modifikasi)

Analisis asam amino dengan menggunakan *High-performance liquid chromatography* (HPLC) terdiri atas empat tahap, yaitu: (1) tahap pembuatan hidrolisat protein; (2) tahap pengeringan; (3) tahap derivatisasi; (4) tahap injeksi sampel.

(1) Tahap pembuatan hidrolisat protein

Sampel ditimbang sebanyak 3 mg dan dihancurkan. Sampel yang telah hancur kemudian dimasukkan kedalam tabung ulir, selanjutnya menambahkan HCl 6 N sebanyak 1 ml. Hidrolisis dengan memanaskan tabung dalam oven pada suhu 110 °C selama 24 jam.

(2) Tahap pengeringan

Sampel yang telah dihidrolisis pada suhu kamar selanjutnya didinginkan kemudian sampel disaring dengan *sintered glass* dan dibilas beberapa kali dengan HCl 0,01 N. Proses ini diulangi hingga 2-3 kali. Sampel kemudian dikeringkan menggunakan *vacuum*

evaporator. Sampel yang sudah kering dilarutkan kembali dengan 5 ml HCl 0,01 N kemudian disaring dengan kertas saring milipore.

(3) Tahap derivatisasi

Larutan derivatisasi dibuat dengan menambahkan buffer kalium borat 0,5 M pH 10,4 pada sampel dengan perbandingan 1:1. Kemudian ke dalam vial kosong yang bersih masukkan 5 µl sampel dan tambahkan 25 µl pereaksi *Ortoftaldehida* (OPA), biarkan 1 menit agar derivatisasi berlangsung sempurna. Proses derivatisasi dilakukan agar detektor mudah untuk mendeteksi senyawa yang ada pada sampel. Larutan stok OPA dibuat dengan cara mencampurkan 50 mg OPA ke dalam 4 ml metanol dan 0,025 ml mercaptoetanol, dikocok hati-hati dan ditambahkan larutan brij-30 30% sebanyak 0,050 ml dan buffer kalium borat 0,5 M, pH 10,4 sebanyak 1 ml. Simpan larutan dalam botol berwarna gelap pada suhu 4 °C dan akan stabil selama 2 minggu.

(4) Injeksi ke HPLC

Injeksikan ke dalam HPLC sebanyak 5 µl kemudian tunggu sampai pemisahan asam amino selesai. Waktu yang diperlukan sekitar 30 menit. Untuk perhitungan konsentrasi asam amino yang ada pada bahan, dilakukan pembuatan kromatogram standar dengan menggunakan asam amino yang telah siap pakai yang mengalami perlakuan yang sama dengan sampel. Kandungan asam amino dalam 100 gram bahan dapat dihitung dengan rumus:

$$A = \frac{\text{luas puncak sampel} \times C \times fp}{\text{luas puncak standar}}$$

Keterangan:

A = µ mol As. amino

C = Konsentrasi standar As. amino (0,5 µmol/ml)

fp = faktor pengenceran (5 ml)

Persentase asam amino dalam sampel dihitung menggunakan persamaan sebagai berikut :

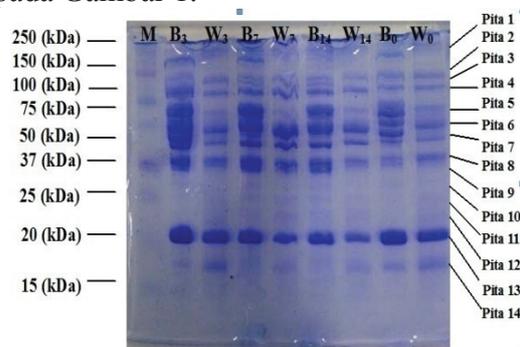
$$\% \text{ As. amino} = \frac{\mu\text{molAA} \times \text{BM AA} \times 100\%}{\mu\text{g sampel}}$$

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian berupa pola pita hasil SDS-PAGE dianalisis secara deskriptif, sedangkan perbedaan jenis asam amino dari analisis HPLC dianalisis dengan sidik ragam dan apabila terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji LSD (*List Significant Different*) (Sampurna dan nindhia, 2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambaran pola pita protein hasil elektroforesis berdasarkan berat molekul (BM) dengan metode SDS-PAGE daging sapi bali dan wagyu pada perlakuan penyimpanan suhu dingin (4°C) disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil elektroforesis protein daging sapi bali dan wagyu selama penyimpanan pada suhu dingin (4°C)

Keterangan :

M: marker protein

B3: sapi bali penyimpanan hari ke-3

W3: sapi wagyu penyimpanan hari ke-3

B7: sapi bali penyimpanan hari ke-7

W7: sapi wagyu penyimpanan hari ke-7

B14: sapi bali penyimpanan hari ke-14

W14: sapi wagyu penyimpanan hari ke-14

B0: bali penyimpanan hari ke-0

W0: sapi wagyu penyimpanan hari ke-0

Pada Gambar 1 terlihat profil pita protein pada daging sapi bali lebih tebal dibandingkan dengan profil pita protein daging sapi wagyu pada hari ke-0, ke-3, ke-7 dan ke-14 terutama pada pita protein ke-5, ke-6, ke-7 dan ke-14.

Berdasarkan perhitungan nilai Rf berat molekul (BM) marker maka diperoleh regresi logaritma dengan persamaan : $Y = -0,367\ln(x) + 1,2471$. Huruf Y adalah nilai logaritma berat

molekul (BM) sedangkan X adalah nilai Rf, dimana Rf merupakan hasil pembagian jarak pergerakan pita protein dari tempat awal dengan jarak pergerakan warna pelacak. Perhitungan berat molekul masing-masing sampel didapatkan dari anti-log Y yang sebelumnya nilai Rf dikonversikan ke dalam persamaan regresi logaritma. Perhitungan berat molekul dari masing-masing sampel disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Pemunculan pita protein daging sapi bali dan wagyu selama penyimpanan pada suhu 4°C

No	BM Sapi bali (kDa)				BM Sapi wagyu (kDa)			
	Lama penyimpanan (hari)				Lama penyimpanan (hari)			
	0	3	7	14	0	3	7	14
1	281,72	281,72	281,72	156,83	199,99	199,99	199,99	199,99
2	129,88	156,83	156,83	87,31	111,33	111,33	87,31	87,31
3	79,03	87,31	97,73	79,03	79,03	79,03	66,71	66,71
4	66,71	66,71	87,31	66,71	66,71	66,71	51,33	54,41
5	48,60	51,33	72,30	51,33	51,33	51,33	42,03	42,03
6	44,00	44,00	51,33	42,03	44,00	44,00	38,62	38,62
7	40,25	40,25	44,00	38,62	38,62	38,62	33,33	34,50
8	38,62	38,62	38,62	33,33	34,50	34,50	32,25	33,33
9	33,33	33,33	33,33	32,25	33,33	33,33	28,57	26,36
10	32,25	32,25	32,25	28,57	29,40	29,40	25,71	24,49
11	29,40	29,40	29,40	25,71	25,71	26,36	23,93	25,40
12	27,06	27,79	27,06	23,93	23,93	24,49	21,94	22,63
13	24,49	25,71	24,49	21,94	21,94	21,94	19,55	-
14	21,94	21,94	21,94	-	19,55	19,55	-	-
15	19,55	19,91	-	-	-	-	-	-
Jumlah Pita	15	15	14	13	14	14	13	12

Tabel 1 menunjukkan total pita protein daging sapi bali dan wagyu hari ke-0 sampai ketiga tidak mengalami perubahan jumlah pita, yaitu masing-masing 15 pita untuk sapi bali dan 14 pita untuk sapi wagyu, sedangkan pada hari ke-14 jumlah pita protein pada daging sapi bali menjadi 13 pita dan daging sapi wagyu menjadi 12 pita dari 14 pita protein pada hari ke-0. Hal ini menunjukkan terjadinya pengurangan jumlah pita baik pada daging sapi bali maupun daging sapi wagyu sejalan

dengan lamanya waktu penyimpanan.

Pada daging sapi bali lama penyimpanan selama tiga hari tidak berpengaruh terhadap pemunculan pita protein, ditemukan 15 pita protein walaupun dengan berat molekul yang sangat bervariasi. Penyimpanan daging sapi bali pada hari ketujuh telah memberikan hasil pemunculan pita yang berkurang yakni hanya ditemukan 14 pita protein. Sedangkan penyimpanan pada hari ke-14 telah mengurangi pemunculan dua pita protein. Hal ini menunjukkan

keadaan tersebut saat daging disimpan terdapat beberapa pita protein yang tidak muncul. Apabila dibandingkan antara pemunculan pita protein, maka daging sapi wagyu mempunyai pita protein lebih sedikit (13) dibandingkan dengan daging sapi bali (14) walaupun penyimpanan memberikan pengaruh yang sama terhadap pita protein yang muncul. Pada penyimpanan daging hari ketiga pita protein yang muncul sama dengan lama penyimpanan daging pada hari ke-0 dan

seiring dengan bertambahnya waktu penyimpanan pita protein yang muncul juga berkurang (Tabel 1). Demikian juga dengan berat molekul protein daging selama penyimpanan hari ke-0 dan hari ketiga ditemukan sebagian besar mempunyai berat molekul yang sama (Tabel 1).

Hasil analisis asam amino dari protein daging sapi bali dan wagyu Tersaji pada Tabel 2 dan 3.

Tabel 2. Hasil analisis konsentrasi asam amino esensial dalam bentuk berat kering (%) daging sapi bali dan wagyu selama penyimpanan pada suhu 4°C

Asam amino esensial	Sapi bali				Sapi wagyu			
	Lama penyimpanan (hari)				Lama penyimpanan (hari)			
	0	3	7	14	0	3	7	14
Histidin	6,57	6,00	4,68	1,06	5,67	5,67	4,67	1,10
Threonin	2,17	1,76	1,57	1,57	2,31	2,31	1,57	1,09
Arginin	2,57	1,95	1,61	1,26	2,67	2,67	2,50	1,25
Metionin	3,24	1,52	1,17	0,76	3,67	3,67	2,35	1,50
Valin	3,08	1,23	1,09	0,63	1,22	1,22	0,69	0,40
Phenilalanin	2,72	2,38	1,69	0,89	4,15	4,15	2,21	2,09
Isoleusin	2,88	2,09	1,37	1,08	2,92	2,92	1,19	1,02
Leusin	1,81	1,54	1,50	0,75	3,66	3,66	1,70	1,58
Lisin	3,57	3,53	2,44	1,90	3,91	3,91	3,52	3,40
Total (%)	28,60	22,00	17,12	9,89	30,18	30,18	20,38	13,43

Hasil analisis pada Tabel 2 menunjukkan total konsentrasi asam amino esensial daging sapi bali pada penyimpanan pada hari ke-0, sebesar 28,60% dan sapi wagyu 30,18%. Tabel 2 menunjukkan adanya penurunan konsentrasi asam amino esensial daging sapi bali hari ke-14 menjadi 9,89% dan sapi wagyu 13,43%. Hal ini menunjukkan bahwa berdasarkan total nilai yang diperoleh, kedua jenis daging tersebut mengalami penurunan jumlah konsentrasi asam amino esensial selama penyimpanan, namun daging sapi wagyu memiliki jumlah konsentrasi yang lebih tinggi dari daging sapi bali.

Hasil penelitian menunjukkan daging sapi wagyu memiliki total konsentrasi asam amino yang lebih tinggi dari daging

sapi bali selama penyimpanan. Tabel 2 menunjukkan terdapat perbedaan total konsentrasi asam amino pada daging sapi bali dan wagyu baik asam amino esensial maupun non-esensial setelah dilakukan penyimpanan pada suhu dingin (4°C). Pada daging sapi bali konsentrasi asam amino menurun sebesar 65,42 % setelah penyimpanan 14 hari dari 28,60 % pada hari ke-0 menjadi 9,89 % pada hari ke-14 sedangkan daging sapi wagyu konsentrasi asam amino menurun sebesar 55,5 % setelah penyimpanan 14 hari dari 30,18 % pada hari ke-0 menjadi 13,43 % pada hari ke-14. Hasil ini menunjukkan ditinjau dari pengaruh penyimpanan suhu 4°C protein daging sapi wagyu memiliki kualitas yang lebih baik dibandingkan dengan daging sapi bali.

Hasil analisis pada Tabel 3 menunjukkan total konsentrasi asam amino non-esensial daging sapi bali pada

penyimpanan pada hari-ke-0, sebesar 29,84% dan sapi wagyu 28,92%.

Tabel 3. Hasil analisis konsentrasi asam amino non-esensial dalam bentuk berat kering (%) daging sapi bali dan wagyu selama penyimpanan pada suhu 4°C

Asam amino non-esensial	Sapi bali				Sapi wagyu			
	Lama penyimpanan (hari)				Lama penyimpanan (hari)			
	0	3	7	14	0	3	7	14
Asam Aspartat	4,01	2,88	2,84	2,13	4,74	4,74	2,39	2,33
Asam Glutamat	9,68	5,70	5,35	2,98	5,84	5,84	5,54	3,55
Serin	9,91	1,82	1,18	1,07	11,16	11,16	1,58	1,11
Glisin	0,73	0,73	0,38	0,34	0,81	0,81	0,57	0,25
Alanin	2,10	1,41	1,26	0,87	1,70	1,70	1,50	0,55
Tirosin	3,42	2,41	1,38	1,00	4,68	4,68	2,02	1,53
Total (%)	29,84	14,95	12,39	8,38	28,92	28,92	13,60	9,31

Tabel 3 menunjukkan adanya penurunan konsentrasi asam amino non-esensial daging sapi bali hari ke-14 menjadi 8,38% dan sapi wagyu 9,31%. Hal ini menunjukkan bahwa berdasarkan total nilai yang diperoleh, kedua jenis daging tersebut juga mengalami penurunan jumlah konsentrasi asam amino non-esensial selama penyimpanan, namun daging sapi wagyu memiliki jumlah konsentrasi yang lebih tinggi dari daging sapi bali.

Berdasarkan hasil pengujian LSD, Tabel 4 memperlihatkan beberapa asam amino mengalami perubahan (penurunan) konsentrasi asam amino yang sangat nyata ($P < 0.01$) yaitu asam amino histidin hari ke-0 sampai hari ke-14, sedangkan asam amino arginin, phenilalanin dan isoleusin mengalami perubahan (penurunan) yang nyata ($P < 0.05$) mulai hari ketujuh penyimpanan. Sedangkan untuk asam amino metionin mengalami perubahan (penurunan) yang nyata ($P < 0.05$) hari ketiga. Asam amino threonin, valin, leusin dan lisin tidak berbeda nyata ($P > 0.05$) sampai hari ke-14 penyimpanan. Kandungan asam amino histidin yang disimpan selama 14 hari menurun dengan sangat nyata dibanding dengan yang disimpan selama 0–7 hari.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Widowati dan Wijaya (1997) dilaporkan bahwa pita mayor memiliki ketebalan dan intensitas warna yang lebih besar dibandingkan pita-pita lainnya, sehingga berkesimpulan bahwa pita mayor merupakan pita protein yang memiliki konsentrasi lebih tinggi dibandingkan dengan pita-pita lainnya (pita minor).

Pasila (2008) juga menyatakan bahwa tebal tipisnya pita protein yang terwarnai merupakan gambaran banyaknya protein yang terkandung dalam profil protein, lebih lanjut Ilminingtyas *et al.* (2000) melaporkan hasil penelitiannya, bahwa perubahan pola protein hasil SDS-PAGE menunjukkan adanya perubahan yang terjadi pada protein, penipisan dan hilangnya pita protein menunjukkan terjadinya perubahan sifat pada protein tersebut.

Benjakul *et al.* (1996) dan Choi *et al.* (2005) menyatakan faktor yang mempengaruhi perubahan sifat fungsional protein diantaranya adalah degradasi protein yang dapat disebabkan oleh aktivitas bakteri dan enzim, denaturasi protein akibat penyimpanan dingin.

Tabel 4. Hasil uji LSD (*List Significant Different*) asam amino esensial daging sapi bali dan wagyu selama penyimpanan pada suhu 4°C

Asam amino esensial	Lama Penyimpanan (Hari)	Rata-rata
Histidin	0	6,120 ^{aA}
	3	5,835 ^{aA}
	7	4,675 ^{bA}
	14	1,080 ^{cB}
Threonin	0	2,240 ^{aA}
	3	2,035 ^{aA}
	7	1,570 ^{aA}
	14	1,330 ^{aA}
Arginin	0	2,620 ^{aA}
	3	2,310 ^{aA}
	7	2,055 ^{abA}
	14	1,255 ^{bA}
Metionin	0	3,455 ^{aA}
	3	2,595 ^{abA}
	7	1,760 ^{bA}
	14	1,130 ^{bA}
Valin	0	2,150 ^{aA}
	3	1,225 ^{aA}
	7	0,890 ^{aA}
	14	0,525 ^{aA}
Phenil-alanin	0	3,435 ^{aA}
	3	3,265 ^{aA}
	7	1,950 ^{bA}
	14	1,490 ^{cA}
Isoleusin	0	2,900 ^{aA}
	3	2,505 ^{aA}
	7	1,280 ^{bA}
	14	1,050 ^{bA}
Leusin	0	2,735 ^{aA}
	3	2,600 ^{aA}
	7	1,600 ^{aA}
	14	1,165 ^{aA}
Lisin	0	3,740 ^{aA}
	3	3,720 ^{aA}
	7	2,980 ^{aA}
	14	2,650 ^{aA}

Keterangan: Nilai dengan huruf yang berbeda ke arah kolom menunjukkan berbeda nyata (huruf kecil) ($P < 0.05$) atau sangat nyata (huruf kapital) ($P < 0.01$).

Tabel 5. Hasil uji LSD (*List Significant Different*) asam amino non-esensial daging sapi bali dan wagyu selama penyimpanan pada suhu 4°C

Asam amino non-esensial	Lama Penyimpanan (Hari)	Rata-rata
Asam Aspartat	0	4,375 ^{aA}
	3	3,810 ^{aA}
	7	2,615 ^{aA}
	14	2,230 ^{aA}
Asam Glutamat	0	7,760 ^{aA}
	3	5,770 ^{aA}
	7	5,445 ^{aA}
	14	3,265 ^{aA}
Serin	0	10,535 ^{aA}
	3	6,490 ^{aA}
	7	1,380 ^{aA}
	14	1,090 ^{aA}
Glisin	0	0,770 ^{aA}
	3	0,770 ^{aA}
	7	0,475 ^{bAB}
	14	0,295 ^{bB}
Alanin	0	1,900 ^{aA}
	3	1,555 ^{aA}
	7	1,380 ^{abA}
	14	0,710 ^{bA}
Tirosin	0	4,050 ^{aA}
	3	3,545 ^{aA}
	7	1,700 ^{bA}
	14	1,265 ^{bA}

Keterangan: Nilai dengan huruf yang berbeda ke arah kolom menunjukkan berbeda nyata (huruf kecil) ($P < 0.05$) atau sangat nyata (huruf kapital) ($P < 0.01$), sebaliknya nilai dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0.05$).

Berdasarkan hasil penelitian dari pengujian LSD, Tabel 5 memperlihatkan beberapa asam amino mengalami perubahan (penurunan) konsentrasi asam amino yang sangat nyata ($P < 0,01$) yaitu asam amino Glisin hari ke-14, sedangkan

asam amino Tirosin dan Alanin mengalami perubahan (penurunan) yang nyata ($P < 0,05$) mulai hari ketujuh penyimpanan. Asam amino Aspartat, Asam Glutamat dan Serin tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) sampai hari ke-14 penyimpanan.

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan ketebalan pita protein dari daging sapi bali dan sapi wagyu, dimana daging sapi bali memiliki profil pita protein yang lebih tebal dibandingkan dengan daging sapi wagyu sehingga konsentrasi protein dari kedua jenis daging tersebut memberikan gambaran yang berbeda. Hal ini sesuai dengan pernyataan Albert *et al.* (2002) yang mengungkapkan bahwa ketebalan pita protein menunjukkan konsentrasi protein tersebut, dimana protein dengan intensitas yang lebih tebal memiliki konsentrasi yang lebih tinggi. Selanjutnya Cahyarini *et al.* (2004) mengungkapkan perbedaan tebal dan tipisnya pita yang terbentuk disebabkan karena perbedaan jumlah dari molekul-molekul yang termigrasi. Pita yang memiliki kekuatan ionik/muatan lebih besar akan termigrasi lebih jauh daripada pita yang berkekuatan ionik lebih kecil.

Hasil penelitian ini juga menunjukkan terjadinya pengurangan jumlah pita protein dan penurunan konsentrasi asam amino baik pada daging sapi bali maupun daging sapi wagyu dengan lamanya waktu penyimpanan, semakin lama penyimpanan konsentrasi protein terlihat semakin berkurang (semakin tipis ketebalan pita). Harper *et al.* (1979) menyatakan tidak semua protein mempunyai jumlah dan jenis asam amino yang sama. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Riccardi *et al.* (1998); Ti-da *et al.* (2006); Bensen *et al.* (1988), serta Nayer dan Reza (2007), melaporkan bahwa terjadi penurunan total kandungan beberapa protein (konsentrasi dan jumlah pita protein) dan juga penurunan beberapa

protein yang lain akibat perlakuan penyimpanan.

Lebih lanjut dapat dijelaskan beberapa asam amino esensial pada daging sapi bali dan wagyu mengalami penurunan yang signifikan yaitu asam amino Histidin, Arginin, Metionin, Phenilalanin, dan Isoleusin. Sedangkan asam amino non-esensial mengalami penurunan yang nyata pada asam amino Glisin, Alanin, dan Tirosin. Asam amino Threonin, Valin, Leusin, Lisin, Asam Aspartat, Asam Glutamat dan Serin konsentrasinya relatif tidak berubah selama penyimpanan. Penurunan konsentrasi asam amino selama penyimpanan disebabkan oleh adanya perombakan bakteri-bakteri yang masih hidup sehingga konsentrasi menjadi berkurang. Hasil penelitian ini didukung oleh Winarno (1982) yang menyatakan bahwa penurunan protein selama penyimpanan terjadi karena denaturasi juga degradasi yaitu pemecahan molekul kompleks menjadi molekul yang lebih sederhana. Selanjutnya Koswara (1995) dalam Toldra (1998) mengungkapkan bahwa perubahan tersebut antara lain disebabkan oleh aktivitas enzim proteolitik yang mendegradasi protein. Ekop (2008) menyatakan penurunan asam amino lebih dari 10% akan memberikan pengaruh yang signifikan terhadap mutu bahan pangan.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Sapi bali dan wagyu memperlihatkan adanya perbedaan karakteristik protein (ketebalan dan jumlah pita) serta perbedaan yang nyata dari asam amino Phenilalanin pada daging sapi wagyu dibandingkan dengan sapi bali dan lama penyimpanan pada suhu 4°C memperlihatkan pengaruh yang nyata terhadap penurunan asam amino histidin, phenilalanin dan isoleusin pada daging sapi bali dan wagyu.

Saran

Untuk memastikan tebal dan tipisnya pita protein dari masing-masing sampel daging sapi bali dan wagyu disarankan untuk diberikan skor terhadap pita yang muncul, juga disarankan agar hotel, restoran dan masyarakat luas disarankan tidak melakukan penyimpanan daging lebih dari tiga hari karenatelah terjadi penurunan kualitas yakni terjadi penurunan konsentrasi protein dan asam amino daging.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Kementerian Pendidikan Nasional CQ LPPM Universitas Udayana melalui hibah Unggulan Perguruan Tinggi dan kepada Kepala Balai Besar Veteriner Denpasar dan Kepala Laboratorium Analitik Bukit UNUD yang telah memberikan fasilitas laboratorium selama penelitian, serta petugas teknis yangtelah membantu melaksanakan uji karakteristik protein dan HPLC.

DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. *Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical of Chemist*. Arlington, Virginia. USA: Association of Official Analytical Chemist, Inc.
- Albert B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter, P. 2002. *Molecular Biology of The Cell*. 4th Ed. Garland Science: New York.
- Benjakul S, Seymour TA, Morrissey MT, Haejung AN. 1996. Proteinase in pasific whiting surimi wash water : identification and characterization. *J Food Sci*, 61(6): 1165-1170.
- Bensen RJ, Boyer JS, Mullet JE. 1988. Water deficit-induced changes in abscisic acid, growth, polysomes, and translatable rna in soybean hypocotyls. *Plant Physiol*, 2: 289-294.
- Cahyarini RD, Yunus A, Purwanto E. 2004. *Identifikasi keragaman genetik beberapa varietas lokal kedelai di Jawa Berdasarkan Analisis Isozim*. *J. Agrosains*. 6 (2):79-83.
- Cavalli SV, Silva SV, Cimino C, Malcata FX, Priolo N. 2006. Hydrolysis of caprine and ovine milk proteins, brought about by aspartic peptidases from *Silybum marianum*. *Plant Physiol*; 1-7.
- Choi JY, Kang IK, Lanier TC. 2005. Proteolytic enzymes and control in surimi. CRC Press. *Boca Racon*: 227-277.
- Ekop AS. 2008. Change in amino acid composition of african yam beens (*Sphenostylis stenocarpus*) and african locust beens (*Parkia filicoida*) on coocing. *Pakistan J Nut*, 5(3): 254-256.
- Harper H, Rodwell VM, Mayes PA. 1979. *Biokimia*. Terjemahan dari: Harper's Biochemistry. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran ECG.
- Ilminingtyas D, Hadiwiyoto S, Wisesa S, Naruki S. 2000. Pembentukan fraksi-fraksi protein selama fermentasi peda. *J Agrosains*, 13(1): 1-17.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage on structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. *J Nature*, 227(5259): 680-685.
- Lawrie RA. 2003. *Meat Science Fifth Edition*. University of Nottingham.
- Musa MS, Nasoetion AH. 1989. Bahan Pengajaran Perancangan dan Analisis Percobaan Ilmiah Pusat Antar Universitas. Ilmu Hayat. Institut Pertanian Bogor.
- Nayer M, Reza H. 2007. Effects of drought stress on soluble proteins in

- two maize varieties. *Turk J Biol*, 32(2008): 23-30.
- Pasila AR. 2008. Identifikasi Protein Sekresi-Ekskresi dari *Haemonchus contortus* Dewasa dengan SDS-PAGE. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Riccardi F, Gazeau P, Vienne D. 1998. Protein changes in responses to progressive water deficit in maize, quantitative variation and polypeptida identification. *Plant Physiol*, 117: 1253-1263.
- Sampurna IP, Nindhia TS. 2008. *Analisis data dengan SPSS dalam Rancangan Percobaan*. Penerbit Udayana Press. Denpasar
- Soeparno. 2005. *Ilmu dan Teknologi Daging*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Suwiti NK, Suastika P, Swacita IBN, Piraksa W. 2013. Tingkat kesukaan wisatawan asing di bali terhadap daging sapi bali dan wagyu. *Proc. Seminar Nasional Sapi Bali*: 42.
- Ti-Da G, Fang-Gong S, Pi-Ba. 2006. Effects of water stress on the protective enzymes and lipid peroxidation in roots and leaves of summer maize. *Agric Sci China*, 5: 291-298.
- Toldra F. 1998. Proteolysis and lipolysis in flavour development of dry-cured meat product. *Meat Sci*, 49: S101.
- Widowati S, Wijaya SK. 1997. Isolasi dan karakterisasi globulin 7s dan 11s dari sepuluh varietas kedelai indonesia: *Proc. Seminar Nasional Teknologi Pangan*. Denpasar.
- Winarno FG, Srilaksmi B. 1982. *Kerusakan Bahan Pangan dan Cara Pencegahannya*. Ghalia Indonesia. Bogor.