1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Ayam broiler merupakan jenis ternak yang banyak dikembangkan sebagai sumber protein hewani. Ayam broiler banyak diternakan karena pertumbuhannya yang cepat. Ayam broiler mempunyai nilai ekonomi yang menguntungkan (Fahrurozi *et al*., 2014). Menurut Kastalani *et al* (2018) daging ayam broiler dipasarkan dengan harga yang relatif murah sehingga daging ayam broiler dapat menggantikan daging sapi yang harganya lebih mahal. Daging paha ayam broiler banyak diminati karena tekstur daging yang empuk, *juicy* dan proses pemasakannya tidak membutuhkan banyak waktu untuk melunakan dagingnya.

Protein merupakan polipeptida alami yang memiliki berat molekul lebih dari 5 kDa (Wiranata *et al*, 2015). Protein dengan berat molekul yang rendah cenderung mudah larut dalam air. Protein merupakan salah satu parameter mutu daging yang penting, karena protein menentukan karakteristik nutrisional daging (Boskovic *et al*, 2010). Kadar protein pada bagian paha, sayap dan dada berbeda. Menurut Wattanachant *et al* (2004), daging bagian paha memiliki kadar protein yang lebih rendah tetapi memiliki kadar air yang lebih tinggi dibandingkan daging bagian dada. Maka dari itu masih diperlukan peningkatan nilai protein pada daging paha ayam broiler.

Salah satu cara untuk meningkatkan kualitas daging ayam yaitu dengan menggunakan pakan fungsional. Penggunaan pakan fungsional diharapkan dapat meningkatkan kualitas daging dan daging tetap aman dikonsumsi. Prayitno *et al*., (2010) melakukan penelitian menggunakan ampas *virgin coconut oil* (VCO) yang ditambahkan kedalam pakan ayam broiler untuk meningkatkan kualitas fisik dan sensori daging ayam broiler. Pada penelitian yang dilakukan Widjaya (2015) menggunakan kromanon deamina yang ditambahkan kedalam minum ayam broiler terbukti dapat meningkatkan kualitas daging ayam broiler.

Senyawa kromanon deamina diperoleh dari buah mojo (*Aegle marmelos*) yang biasa digunakan sebagai obat tradisional (Rajan *et al*, 2011). Kromanon deamina menurunkan *Feed Conversion Ratio* (FCR) ayam pedaging antara 0,01-0,04, dan menurunkan bau kotoran. Penelitian yang dilakukan oleh Widjaya (2015) menunjukkan bahwa aplikasi kromanon deamina dapat meningkatkan kadar protein sebanyak 2,071% dalam daging paha ayam broiler. Sampai saat ini belum ada penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh dosis kromanon deamina terhadap keragaman fraksi dan profil protein daging ayam broiler. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh pemberian kromanon deamina terhadap jumlah fraksi dan profil protein yang diperoleh.

Pada penelitian ini fraksi protein yang dicari yaitu pada berat molekul 10-70 kDa. Fraksi protein dengan berat molekul tersebut larut dalam air. Fraksi protein diteliti dengan menggunakan teknik elektroforesis. Salah satu teknik yang biasa digunakan untuk elektroforesis yaitu *Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE) yang menggunakan *polyacrylamide* sebagai bahan pemisah. Berat molekul yang didapat dari hasil SDS-PAGE dianalisa Bioinformatika untuk mengetahui perkiraan jenis protein yang didapat.

1.2. Tinjauan Pustaka

1.2.1. Ayam Broiler (*Gallus domesticus*)

Ayam broiler merupakan hasil genetik yang memiliki karakteristik ekonomis, pertumbuhan yang cepat sebagai penghasil daging, konversi pakan rendah, dipanen cepat karena pertumbuhannya yang cepat, dan sebagai penghasil daging dengan serat lunak (Sholikin, 2011). Ayam pedaging biasanya dipanen pada saat umurnya sudah mencapai 4-5 minggu. Daging ayam broiler merupakan bahan pangan yang mempunyai nilai gizi yang tinggi, memiliki rasa dan aroma yang enak, tekstur lunak dan harganya relatif murah.

Karkas merupakan bagian tubuh ayam setelah dilakukan penyembelihan secara halal, pencabutan bulu dan pengeluaran jeroan, tanpa kepala, leher, kaki, paru-paru, dan atau ginjal, dapat berupa karkas segar, karkas segar dingin, atau karkas beku (SNI 3924, 2009). Berdasarkan Hermanianto *et al*. (1997) tahap pemotongan ayam yaitu :

a. Persiapan pemotongan

   Pada tahap ini terdiri atas pengadaan ayam, penimbangan bobot ayam dan pemeriksaan ayam. Ayam biasanya dipotong ketika sudah berumur 4-5 minggu atau jika beratnya sudah mencapai 1,4-1,7 kg. Penimbangan biasanya dilakukan ditempat peternakan itu sendiri. Setelah itu dilakukan inspeksi ayam hidup untuk memeriksa kesehatan ayam.

b. Penyembelihan

   Metode yang umum digunakan untuk penyembelihan yaitu metode kosher. Metode ini dilakukan dengan cara memotong pembuluh darah yang mengalirkan darah ke otak (*Arteri carotis communis*) dan pembuluh balik (*Vena jugularis*) yang terletak pada leher.

c. Penuntasan darah

   Penuntasan darah dilakukan dengan cara ayam yang telah disembelih kakinya digantung pada gantungan. Penuntasan darah ini dilakukan hingga darah yang keluar sebanyak 3,5-4,5 persen dari bobot hidup ayam. Proses ini memiliki pengaruh pada mutu daging ayam yang dihasilkan. Jika tidak dilakukan dengan baik maka karkas yang dihasilkan bermutu rendah, cita rasa tidak enak dan perubahan warna pada karkas.

d. Perendaman air panas

   Proses ini dilakukan untuk memudahkan dalam pencabutan bulu. Penyeduhan yang pada umumnya dilakukan pada suhu 58,8-60°C selama 30-75 detik. Pembersihan bulu cukup mudah dan keseragaman warna kulit cukup baik pada metode ini. Suhu yang terlalu tinggi dan waktu yang terlalu lama akan membuat daging menjadi hancur.

e. Pencabutan bulu

   Pencabutan bulu meliputi 3 tahap yaitu penghilangan bulu besar yang dilakukan secara mekanis dari dua arah, pencabutuan bulu halus dan bulu rambut yang dapat

dilakukan secara manual atau dengan metode pelapisan lilin (*wax picking*). Proses pencabutan bulu ini dilakukan segera setelah perendaman dengan air panas dan dilakukan dengan mesin pencabut bulu.

f. Pengambilan jerohan

Proses ini dilakukan dengan cara membuka rongga perut ayam. Setelah itu memasukkan tangan ke dalam rongga perut dan menarik seluruh isi perut ayam. Bagian yang diambil yaitu tembolok, ampela, hati, jantung, paru, ginjal, usus besar, dan usus 12 jari.

g. Pencucian

Setelah melalui banyak proses di atas maka perlu dilakukan pencucian untuk membersihkan karkas ayam dari kotoran yang tertinggal dibagian dalam dan permukaan karkas. Proses ini dianjurkan dengan cara mencuci karkas pada air mengalir sambil digosok-gosok dengan karet (Hermanianto *et al*., 1997).

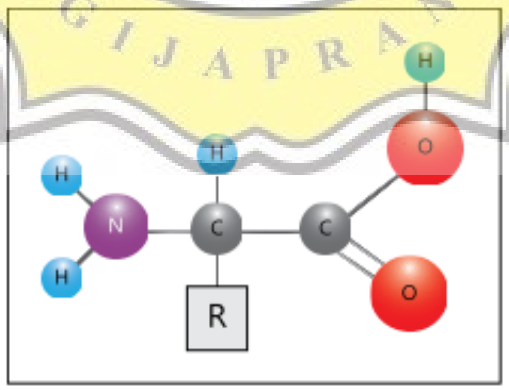
Hewan yang telah disembelih akan mengalami perubahan biokimia pada dagingnya. Perubahan biokimia ini disebut sebagai fase pasca mortem. Pasca mortem dibagi menjadi tiga fase yaitu fase *pre rigor mortis*, *rigor mortis* dan pasca *rigor mortis* (Koswara, 2009). Fase yang pertama kali terjadi setelah hewan mati yaitu fase *pre rigor mortis*. Pada fase *pre rigor* otot berada pada kondisi relaksasi, sehingga jaringan otot masih halus dan empuk. Setelah itu masuk pada fase *rigor mortis* yang merupakan suatu perubahan pasca mortem yang terjadi dalam otot dan berpengaruh pada keempukan daging. Pada fase ini daging menjadi kaku akibat terjadinya persilangan filamen aktin dan miosin karena kontraksi otot. Lamanya fase *rigor mortis* ini tergantung pada jenis hewan. Pada daging ayam, fase *rigor mortis* dimulai sekitar 4-5 jam setelah kematian. Kemudian pada fase pasca *rigor mortis* daging kembali menjadi empuk akibat tidak ada lagi pembentukan energi (ATP) yang digunakan untuk kontraksi dan persilangan filamen aktin dan miosin (Hermanianto *et al*., 1997). Secara umum komposisi daging ayam terdiri atas 18-20% protein, 3-7% lemak, 71-75% air, 1-3.5% abu atau nonprotein (Hermanianto *et al*., 1997).

Perilaku minum ayam broiler yang telah diteliti oleh Rokhman (2013) menunjukan bahwa frekuensi minum ayam pada suhu yang sama tidak berbeda. Pada suhu normal, ayam dewasa mengkonsumsi air minum sebanyak 150-200 ml setiap hari pada suhu normal.

Pada perilaku makan pada penelitian Rokhman (2013) menunjukan bahwa tingkah laku makan ayam broiler tidak dipengaruhi oleh suhu. Secara genetis ayam yang digunakan seragam, sehingga tingkah lakunya cenderung sama atau seragam.

1.2.2. Protein

Protein merupakan polipeptida alami yang memiliki berat molekul lebih dari 5 kDa (Wiranata *et al*, 2015). Polipeptida ini tersusun oleh minimal 2 asam amino melalui ikatan kovalen. Secara umum, struktur asam amino terdiri dari satu atom C yang mengikat empat gugus, yaitu gugus amina (NH2), gugus karboksil (COOH), atom hidrogen (H), dan satu gugus rantai samping (R) yang membedakan satu asam amino dengan asam amino lainnya (Hidayat, 2011). Struktur asam amino dapat dilihat pada Gambar 1. Molekul protein tersusun oleh atom karbon (51-55%), oksigen (21,5-23,5%), nitrogen (15,5-18%), hidrogen (6,5-7,3%) serta sebagian besar mengandung sulfur (0,5-2%) dan fosfor (0-1,5%) (Sholaikah, 2015). Dewi (2013) mengatakan bahwa berdasarkan strukturnya, protein dipengaruhi oleh jumlah, jenis, serta urutan asam amino yang membentuk rantai polipeptida. Protein memiliki fungsi sebagai katalisator, sebagai pengangkut dan penyimpan molekul lain seperti oksigen, mendukung secara mekanis sistem kekebalan (imunitas) tubuh, menghasilkan pergerakan tubuh, sebagai transmitor gerakan syaraf dan mengendalikan pertumbuhan dan perkembangan (Katili, 2009).



Gambar 1. Struktur Asam Amino (Goudoever *et al*., 2014)

Protein dengan berat molekul yang rendah cenderung mudah larut dalam air. Penelitian yang dilakukan oleh Rusdah *et al* (2017) diperoleh hasil bahwa berat molekul protein

larut air pada tempe yaitu 29-56,2 kDa. Wiranata *et al* (2015) juga melakukan penelitian pada protein larut air ikan gabus menghasilkan protein dengan berat molekul 14,96-90,72 kDa. Protein pada daging ayam merupakan salah satu parameter mutu yang cukup penting, karena protein menentukan karakteristik nutrisional daging (Boskovic *et al*, 2010). Menurut Wattanachant *et al* (2004), daging bagian paha memiliki kadar protein yang lebih rendah tetapi memiliki kadar air yang lebih tinggi dibandingkan daging bagian dada. Hermanianto *et al* (1997) juga menyebutkan bahwa daging bagian paha lebih banyak mengandung lemak dan jaringan penghubung.

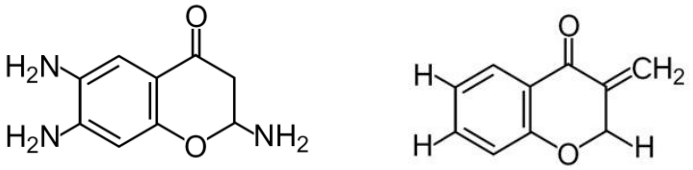
1.2.3. Kromanon Deamina

Kromanon telah terbukti memiliki sifat antioksidan, antibakteri, antimalaria, anti kanker, anti jamur, inhibitor topoisomerase, dan juga anti-depresan. Menurut penelitian Siddiqui & Farooq (2012) bahwa senyawa turunan kromanon memiliki aktivitas antivirus. Senyawa kromanon dapat ditemukan pada buah jeruk, mojo, kluwak, gayam, dan beberapa jenis empon-empon (PT Indoherb Sains Medika, 2019).

(a) (b)

Gambar 2. Buah mojo (*Aegle marmelos* L. Corr.) (a); bagian dalam buah mojo (b) (PT Indoherb Sains Medika, 2019)

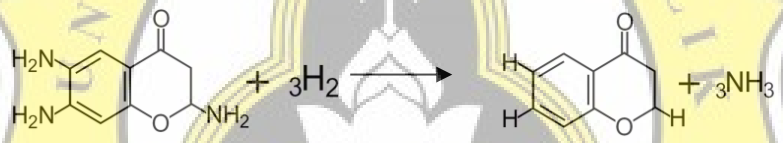
Buah mojo (*Aegle marmelos* L. Corr.) termasuk dalam *famili Rutaceae* yang berasal dari India. Buah mojo berbentuk bulat atau oval, beratnya antara 1-2 kg, kulit keras dan berwarna hijau hingga coklat sesuai dengan tingkat kematangannya, bagian dalamnya berwarna putih dan bertekstur keras (Rismayani, 2013). Buah mojo mengandung senyawa 2,6,7-kromanon amina yang merupakan senyawa anti stres dan anti peradangan. Struktur senyawa kromanon amina dan kromanon deamina dapat dilihat pada Gambar 3.



(a) (b)

Gambar 3. Struktur kimia kromanon amina (a); struktur kimia kromanon deamina (b) (PT Indoherb Sains Medika, 2019)

Kromanon deamina diekstrak dengan mengeringkan buah mojo yang segar dan matang hingga kadar airnya mencapai 12%. Setelah kering, buah dihancurkan dan diekstrak menggunakan suhu rendah dan kondisi vakum. Buah mojo sebanyak 3 ton dapat menghasilkan 1,2 L ekstrak kromanon deamina. Proses ekstraksi kromanon deamina dalam buah mojo telah dipatenkan dalam Paten No. P 00200500690 dengan judul "Teknik Isolasi dan Deaminasi 2,6,7 *Chromanone Amine* dari ekstrak buah mojo (Aegle marmelos L. Corr.) secara Fisik" dalam buku Company and Products Profiles milik PT Indoherb Sains Medika (2019). Reaksi deaminasi kromanon amina dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Reaksi Deaminasi Kromanon Amina (PT Indoherb Sains Medika, 2019)

Kromanon deamina diaplikasikan dalam minum ternak untuk mengikat amonia dan nitrogen bebas dalam tubuh ternak. Kromanon deamina dapat menurunkan *Feed Conversion Ratio* (FCR) ayam pedaging antara 0,01-0,04, dan menurunkan bau kotoran. Penelitian yang dilakukan oleh Widjaya (2015) menunjukkan bahwa aplikasi kromanon deamina dapat meningkatkan kadar protein sebanyak 2,071% dalam daging paha ayam broiler. Peningkatan kadar protein ini terlihat pada perlakuan kromanon deamina dengan dosis 0,05 cc/kg dan 0,1 cc/kg berat badan ayam.

1.2.4. Isolasi Protein

Isolasi protein merupakan suatu metode untuk mendapatkan sampel protein murni dari suatu bahan tanpa adanya pengotor atau bahan lain. Tahap awal dari proses isolasi ini yaitu pemecahan dinding sel atau penghancuran jaringan otot pada ayam dengan

menggunakan larutan buffer. Penghancuran jaringan otot daging ayam bertujuan untuk memecah membran sel serabut otot sehingga protein jaringan otot dapat terekstraksi dengan larutan buffer (Hatta, 2005). Larutan buffer yang digunakan yaitu Tris–HCl untuk mereduksi ikatan disulfida pada protein. Pengunaan buffer untuk mengekstrak protein target, idealnya berada pada pH 7,0 sampai dengan pH 8,8 (Sholaikah, 2015).

Untuk menjamin agar sel protein yang diperoleh tidak dihidrolisis oleh enzim proteolitik, maka dilakukan penambahan larutan Phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF) pada proses isolasi protein. Penambahan PMSF ini dilakukan karena PMSF berfungsi sebagai inhibitor protease (Baehaki, 2008). Untuk melakukan proses penghancuran jaringan otot atau lisis ini biasanya dilakukan dengan penambahan larutan detergen. Larutan detergen yang umum digunakan yaitu larutan Triton X-100 yang berperan dalam melisiskan membran sel dan juga dapat berperan dalam menghilangkan aktivitas enzim nuklease yang merupakan enzim pendegradasi DNA (Sholaikah, 2015).

Sentrifugasi merupakan teknik pemisahan berdasarkan berat jenis larutan, sehingga cairan yang memiliki berat jenis lebih ringan akan berada di atas sedangkan padatan yang memiliki berat jenis lebih besar akan mengendap di bawah (Hapsari & Welasih, 2013). Menurut Sholaikah (2015), sentrifugasi dilakukan untuk memisahkan protein dengan lipid yang masih terbawa pada cairan yang sebelumnya karena protein akan berada pada fase cair setelah sentrifugasi, sedangkan lipid berada pada fase organik dan akan mengendap.

1.2.5. Elektroforesis

Elektroforesis merupakan teknik yang digunakan untuk memisahkan molekul-molekul seperti protein atau fragmen asam nukleat pada basa berdasarkan kecepatan migrasi melewati gel elektroforesis. Protein dan asam nukleat merupakan objek yang digunakan untuk elektroforesis karena adanya perbedaan ukuran, kadar ion, dan molekul-molekul penyusunnya. Molekul-molekul tersebut diletakkan di dalam medan listrik sehingga akan bermigrasi akibat adanya perbedaan muatan antar molekul. Molekul protein dan asam nukleat yang bermuatan negative akan bergerak dari kutub negatif menuju kutub positif

dari gel elektroforesis (Sholaikah, 2015). Salah satu teknik yang biasa digunakan untuk elektroforesis yaitu SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis*) yang menggunakan polyacrylamide sebagai bahan pemisah. *Sodium Dodecyl Sulphate* (SDS) adalah deterjen anionik yang merupakan grup ion sulfat dan rantai alkil lipofilik yang menyebabkan peptide dan protein tidak saling berikatan yang dinamakan denaturasi (Brunelle & Green, 2014).

Pada metode SDS-PAGE gel yang digunakan adalah poliakrilamid yang terbentuk dari campuran akrilamid, bis akrilamid, ammonium persulfate, dan juga Temed (*Tetramethylenediamine*). Gel yang digunakan dibagi menjadi dua yaitu *stacking gel* dan *running gel*. *Stacking gel* digunakan untuk mencetak sumur (*well*) dan digunakan menimbun atau memekatkan protein menjadi satu jalur yang sempit sebelum protein memasuki gel pemisah (Khodijah, 2003). Sedangkan *running gel* memiliki fungsi untuk memisahkan protein berdasarkan berat molekulnya. Dalam satu gel yang terbentuk dapat diisi dengan 10 sampel. Sampel yang akan dimasukan diberi warna dengan *bromphenol blue* untuk membantu memonitor jalannya proses elektroforesis. Setelah proses berjalannya sampel selesai maka dilakukan pewarnaan pada gel (*staining*) dan juga *destaining*. Pewarnaan ini menggunakan pewarna *coomasie blue* yang memiliki karateristik dapat berikatan pada ikatan peptida protein dan memiliki sensitivitas 0,1-1 µg pada tiap pita protein. Proses pewarnaan (*staining*) dan juga *destaining* ini dilakukan agar pita yang terbentuk oleh protein dapat terlihat dengan jelas. Setelah didapat pita proteinnya maka berat molekul protein dapat diketahui dengan membandingkan Rf protein dengan protein standar yang telah diketahui berat molekulnya (Sholaikah, 2015).

1.2.6. Bioinformatika

Bioinformatika adalah kajian yang memadukan ilmu biologi molekul, matematika dan teknik informasi. Biologi molekul merupakan bidang interdisipliner yang mempelajari tentang kehidupan pada level molekul. Sehingga bioinformatika diartikan sebagai aplikasi alat komputasi dan analisa untuk menangkap dan menginterpretasikan data biologi molekul. Bioinformatika digunakan untuk manajemen data-data biologi molekul, terutama sekuen DNA dan informasi genetika. Data-data yang ada pada Bioinformatika

ini masih dikembangkan secara luas. Penerapan utama Bioinformatika ini yaitu untuk prediksi struktur protein, analisa ekspreksi gen, penyejajaran sekuens, dan sebagai data dasar sekuens biologis (Winarjati, 2016).

UniProt merupakan bank data yang didanai terutama oleh Amerika Serikat yang menyimpan sekuens primer protein gabungan dari bank data yang lain seperti *Protein Information Resource* (PIR) (Amerika Serikat), Swiss-Prot (Eropa), dan TrEMBL (Eropa). UniProt mempunyai informasi tentang kode protein, sekuens protein, berat molekul protein, nama organisme sumber protein, pustaka yang berkaitan, dan fungsi protein yang dapat digunakan untuk membandingkan hasil penelitian dengan penelitian lain yang sudah divalidasi. Uniprot merupakan tautan internasional hasil-hasil penelitian tentang fraksi-fraksi protein. Uniprot akan memeriksa dan merevisi data yang telah dikirimkan dan akan menampilkan data tersebut agar dapat diakses secara umum ketika sudah dipastikan kebenarannya (Winarjati, 2016).

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan dosis kromanon deamina yang berbeda terhadap profil protein untuk melihat adanya penambahan fraksi protein berdasarkan berat molekul protein yang ditemukan pada daging ayam broiler bagian paha.