

PERUBAHAN MIOGLOBIN TUNA MATA BESAR SELAMA PENYIMPANAN SUHU CHILLING

Changesin Myoglobin of Big Eye Tuna During Chilling Storage

Stevy Imelda Murniati Wodi*, Wini Trilaksani, Mala Nurilmala

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

*Korespondensi: wodiimelda@gmail.com;

Diterima 01 September 2014/Disetujui 12 Desember 2014

Abstrak

Tuna mata besar (*Thunnus obesus*) merupakan salah satu spesies ikan yang mempunyai potensi dalam meningkatkan sumber protein hewani, memiliki nilai ekonomis serta merupakan komoditas ekspor. Kesalahan penanganan dan penyalahgunaan suhu tinggi dalam menangani tuna di daerah tropis dan sub tropis secara signifikan menurunkan nilai mioglobina mempengaruhi kelarutan protein. Mioglobin adalah protein globular yang mempunyai berat molekul berukuran kecil yang merupakan faktor penting dalam penentuan kualitas daging dan mempengaruhi faktor pembelian oleh konsumen. Tujuan penelitian ini adalah menentukan perubahan kandungan mioglobin dan protein larut air beberapa bagian tuna mata besar (*Thunnus obesus*) selama sembilan hari pada suhu chilling. Bagian daging tuna mata besar yaitu perut, punggung dan ekor diambil dan dianalisis kandungan mioglobinya baik daging terang maupun daging gelap. Kandungan mioglobin daging terang hari ke-0 daging bagian perut 121,68 mg/100g, bagian punggung 148,20 mg/100g, dan bagian ekor 105,16 mg/100g, setelah penyimpanan hari ke-9 mengalami penurunan menjadi 41,35 mg/100g untuk daging bagian perut, 52,01 mg/100g daging bagian punggung dan 31,34 mg/100g daging bagian ekor. Sedangkan pada daging gelap penyimpanan hari ke-0 bagian perut sebesar 418,64 mg/100g, bagian punggung 446,21 mg/100g, bagian ekor 145,65 mg/100g, setelah hari ke-9 mengalami penurunan menjadi 121,01 mg/100g untuk daging bagian perut, 58,34 mg/100g daging bagian punggung, dan 87,98 mg/100g daging bagian ekor. Protein larut air diperoleh pita-pita protein dengan berat molekul 15,4 kDa dan 14 kDa yang diduga sebagai protein mioglobin. Adanya perbedaan berat molekul diakibatkan telah terjadi perubahan atau degradasi protein selama proses penyimpanan.

Kata kunci: Tuna mata besar, daging, penyimpanan, mioglobin

Abstract

Big eye tuna (*Thunnus obesus*) is one of the species of tuna which is have some value added such as have potential to improve animal protein sources, have high economic values as well as an export commodity. Mishandling and misapplication of high temperatures on the tuna handling at the tropics and sub tropics climate was significantly decreasing the value of myoglobin and affecting the solubility of protein. Myoglobin is a globular protein that have small molecular weight size and it was an important factor for determining the quality of meat and influencing factors of purchasing power by the consumer. The purpose of this experiments is to determining the changes of myoglobin content and the water soluble proteins content at some parts of big eye tuna in 9 days chilling temperatures. The portion which is analyzed was the ventral area, dorsal area and tail area. Myoglobin content in all portion above, both light and dark meat was analyzed. The results shows the decreased value of myoglobin content from first handling (day zero) until day ninth (days 9th) experiment. Each myoglobin content from white meat at ventral, dorsal and tail meat was decreased from 121.68 mg/100 into 41.35 mg/100, 148.2 mg/100g into 52.01 mg/100g, 105.16 mg/100g into 31.34 mg/100gram, after day ninth. The myoglobin content from dark meat at ventral, dorsal and tail meat, was decreased, too; from 418.64 mg/100 gr into 121.01 mg/100 g, 446.21 mg/100 g into 58.34 mg/100 r and 145.65 mg/100 gr into 87.98 mg/100g after day ninth. Water soluble protein was derived into protein bands with molecular weight 15,4 kDa and 14 kDa. Its suspected as the myoglobin protein. The molecular weight difference was caused from degradation of protein during the storage.

Keywords: Big eye tuna, meat, storage, myoglobin

PENDAHULUAN

Tuna mata besar (*Thunnus obesus*) merupakan salah satu spesies yang mempunyai potensi dalam meningkatkan sumber protein hewani, memiliki nilai ekonomis yang tinggi, serta merupakan komoditas ekspor kedua setelah udang. Hidup diperairan tropis hingga sub tropis yaitu samudera Atlantik dan samudera Hindia pada kedalaman 20 – 250 meter termasuk diwilayah selatan Jawa yang merupakan daerah fishing ground tuna mata besar. Sehingga nelayan Indonesia sering menangkap tuna mata besar di perairan samudera Hindia sebelah barat Sumatera, selatan Jawa dan di laut Banda (Syarif *et al.* 2010)

Daging ikan tuna terdiri dari daging terang dan daging gelap. Kandungan dan komposisi protein setiap ikan berbeda, sehingga kepekaan dan kerusakan selama penyimpanan juga berbeda. Kadar protein daging terang ikan tuna lebih tinggi daripada daging gelap. Kadar lemak daging terang tuna lebih rendah dari daging gelapnya. Daging gelap kaya akan lemak, suplai oksigen dan mengandung mioglobin (Zapata *et al.* 2011). Okada (1990) menyatakan bahwa daging merah/gelap mengandung mioglobin dan hemoglobin yang bersifat prooksidan serta kaya akan lemak disebabkan kandungan hemoproteinnya tinggi yang tersusun atas protein moiety, globin dan struktur heme. Mioglobin adalah hemoprotein yang terbanyak. Kandungan mioglobin pada daging merah/gelap ikan tuna dapat lebih dari 3.500 mg/100 g, hal ini yang menyebabkan mudahnya terjadi ketengikan pada daging merah/gelap ikan tuna.

Mioglobin adalah protein globular yang mempunyai berat molekul berukuran kecil 17.000 kDa yang ditemukan pada daging (Chow *et al.* 2009). Daging merah/gelap pada ikan tuna merupakan faktor penting dalam penentuan kualitas daging dan mempengaruhi faktor pembelian oleh konsumen. Selama proses penyimpanan, daging merah pada tuna akan mengalami perubahan warna menjadi coklat (mioglobin menjadi metmioglobin), menimbulkan bau dan rasa yang tengik

akibat autooksidasi radikal asam lemak tidak jenuh dan lemak dan juga mempengaruhi kelarutan protein. Chaijan *et al.* (2009) melaporkan bahwa oksidasi lemak terjadi pada sarden yang disimpan selama limabelas hari pada suhu *chilling*. Kestabilan struktur mioglobin tuna berbeda satu dengan yang lain (Ochiai *et al.* 2009).

Konsumen domestik maupun konsumen luar negeri saat ini, semakin menuntut produk perikanan, termasuk tuna dengan mutu prima dan aman, bebas patogen, bebas bau, dan tetap mempertahankan warna alami dari tuna. Mengingat permintaan dan mutu kesegaran tuna mempunyai arti penting bagi semua pihak, maka penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui perubahan kandungan mioglobin dan protein larut air tuna mata besar selama penyimpanan sembilan hari pada suhu *chilling*.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan tunajenis mata besar (*Thunnus obesus*) yang diambil daging bagian perut, daging bagian punggung dan daging bagian ekor yang diperoleh dari Muara Baru. Bahan –bahan kimia yang digunakan untuk analisis antara lain Potasium buffer, NaNo₃ (Merck), KCN (Merck), Tris-HCl mM pH 7,8, Tris-HCl M pH 8,8, Tris-HCl M pH 6,8 (Merck) akrilamid dan bis-akrilamid (TEMED), merkaptoetanol (Sigma), bromphenol blue (Sigma), *Marker* (Thermo Scientific). Alat yang digunakan yaitu *styrofoam*, thermometer, thermocouple merk Hanna Instruments, data logger merk AZ 8828, timbangan analitik merk KERN Ew, homogenizer merk Heidolp Diap 600, sentrifuse merk Hettich Sentrifugen Universal 320R, kertas saring whatman berukuran 0,2 µm, spektrofotometer UV-VIS 2500 dan SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) - SGTN).

Prosedur Penelitian

Teknik preparasi yang dilakukan meliputi penerimaan, pencucian, pemotongan serta

pembentukan dalam bentuk loin yang dilakukan di salah satu perusahaan yang ada di muara baru yang selanjutnya sampel dibawa dengan segera ke laboratorium BBP2HP dengan menggunakan *styrofoam* yang diberikan es curai.

Penyimpanan Bahan baku

Sampel yang telah berbentuk loin di letakkan dalam plastik polypropylene yang di bungkus tissue selanjutnya disimpan dalam styrofoam yang diberi es curai dengan lama penyimpanan 0, 3, 6 dan 9 hari pada suhu *chilling* (< 4°C). Suhu penyimpanan di kontrol menggunakan termometer, dan data logger. Tahap selanjutnya di ambil tiga bagian (perut, punggung, ekor) dari setiap lama penyimpanan untuk di analisis mioglobin dan protein larut air.

Analisis Mioglobin (Chow *et al.* 2009)

Sampel di blender hingga homogen, kemudian ditimbang sebanyak 1 g dalam tabung sentrifuse 50 mL dan ditambahkan 7 mL Aquabidest dingin, selanjutnya disentrifuse pada kecepatan 3000 G selama 15 menit. Sampel disaring dengan menggunakan kertas saring 0,2 µm. Sampel dipipet 1 mL, kemudian ditambahkan 0,5 mL pottasium buffer (25 µM pH 7) divortex, ditambahkan 25 µL larutan Na No 35%, divortex dan selanjutnya tambahkan 25 µL KCN 1%, divortex dan didiamkan selama 1 menit. Larutan yang diperoleh diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-VIS 2500 pada panjang gelombang 540 nm dengan buffer phospat 40 mM pH 6,8 sebagai blanko. Perhitungan konsentrasi mioglobin diukur berdasarkan koefisien molekul extinction (11300) dan berat molekul (16000) dengan rumus:

$$\text{Konsentrasi (mg/100g)} = \frac{\text{Absorban} \times 2 \times 16000}{11300} \times 100$$

Pemisahan protein dengan metode SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Silphate Polycrylamide Gel Electrophoresis) (Laemli 1970)

Teknik pemisahan protein dengan elektroforesis dilakukan dalam tiga tahap, yaitu ekstraksi protein dari sampel, pembuatan

gel dengan menggunakan sodium dodecyl sulfat-polyacrilamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) dan pendeteksian pita-pita atau fraksi-fraksi protein yang terbentuk.

Pembuatan Sampel Buffer (Laemli 1970)

Preparasi sampel menggunakan sampel buffer yang terdiri dari 4 ml dH₂O; 1 mL larutan 0,5 M Tris - HCL pH 6,8; 0,8 mL gliserol; 1,6 mL larutan SDS 10 %; 0,4 mL larutan β-mercaptoethanol; 0,2 mL larutan bromophenol blue 0,05%. Supernatannya diambil 20 µL lalu ditambah lemle sebanyak 20 µL dengan 28 perbandingan 1:1. Supernatan dicampur dengan lemle dipanaskan dengan suhu 100°C selama 5 menit tujuannya agar terjadi reaksi enzimatik. Tahap selanjutnya didinginkan, dimasukkan ke dalam sumur sebanyak 30 µL, kemudian dianalisis pola-pola atau pita-pita menggunakan SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Polycrylamide Gel Electrophoresis*).

Pembuatan Gel Pemisah (Laemli 1970)

Pembuatan gel pemisah (*running gel*) konsentrasi 12 % (*resolving gel/lapisan bawah*) terdiri dari 3.200 µL dH₂O ditambahkan 2.500 µL larutan 1,5 M Tris -HCL pH 8,8; 100 µL larutan SDS 10 %; 4.050 µL larutan akrilamid 30%; 50 µL larutan APS 10 %; 16 µL TEMED) dan 4 % stacking gel (*lapisan atas*) terdiri dari 3.050 µL dH₂O ditambahkan 1.250 µL larutan 0,5 M Tris - HCL pH 6,8; 50 µL larutan SDS 10%; 650 µL larutan akrilamid 30%; 25 µL larutan APS 10 %; 6 µL TEMED) (harus selalu dalam keadaan baru dilarutkan). Gel pengumpul (*stacking gel*) dicetak dengan bantuan “sisir” (*comb*) untuk memisahkan sumur-sumur sampel. Ketebalan gel yang dibuat adalah 4 mm. Gel yang diperoleh kemudian dipasang, dan setelah gel mengeras sisir diangkat.

Elektroforesis (Laemli 1970)

Proses pemisahan protein menggunakan buffer pemisah (*running buffer*) yang terdiri dari Tris HCL 9 g, glycine 43,2 g, SDS 10% 3 g dan H₂O sebanyak 600 mL. Buffer elektroforesis dimasukkan dan alat elektroforesis

dirangkai. Sampel lalu dimasukkan ke dalam sumur dengan menggunakan mikro pipet sebanyak 10-20 μL , tergantung tebal tipisnya pita protein yang diinginkan.

Perangkat elektroforesis dijalankan pada suhu rendah dengan tegangan 100 volt dan arus 125 mA selama 1-1,5 jam hingga bromphenol blue mencapai 1 cm dari batas bawah gel. Setelah elektroforesis selesai, gel difiksasi dengan larutan *Commassie brilliant blue* R-250 (larutan 0,05% *commassie blue* sebanyak 0,50 gram yang dilarutkan dalam 45% methanol sebanyak 225 mL dan 10 % acetic acid sebanyak 50 mL dalam 45% dH_2O), kemudian gel dipucatkan dengan larutan destain yang terdiri dari campuran 50% dH_2O 250 mL ; 10% acetic acid 50 mL; 40% methanol 200 mL, gel direndam dengan pewarnaan biru konasi (sambil digoyang-goyang) selama 24 jam. Gel dipucatkan dengan larutan peluntur dan digoyang-goyangkan sampai terlihat pita-pita protein (Laemmli 1970).

Pita-pita protein yang muncul dan hasil SDS-PAGE dihitung retardation faktor (Rf) dengan menggunakan rumus:

$$Rf = \frac{\text{Jarak pergerakan pita protein dari tempat awal}}{\text{Jarak pergerakan warna pelacak dari tempat awal}}$$

Berdasarkan nilai Rf berat molekul dihitung dengan persamaan regresi logaritma dengan rumus : $Y = (a \times \text{Ln}(X)) + b$ mengacu pada penelitian Cavalli *et al.* (2006). Persamaan ini diperoleh dari grafik antar Log BM sebagai ordinat dan Rf sebagai absis. Berat molekul pita-pita protein dapat dihitung berdasarkan kurva kalibrasi:

Keterangan : Y = berat molekul
X = nilai Rf sampel
a = nilai koefisien
b = nilai konstanta

ANALISIS DATA

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan dua faktor menurut Steel and Torrie (1993). Faktor yang dikaji adalah bagian daging yang terdiri dari perut, punggung dan ekor dan faktor lama

penyimpanan 0, 3, 6 dan 9 hari. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Perbandingan signifikansi nilai rata-rata ($p < 0,05$) diolah menggunakan analisis ragam dengan uji lanjut Duncan dan menggunakan program SAS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan Mioglobin Pada Suhu Chilling

Analisis kandungan mioglobin tuna mata besar dilakukan di dua bagian daging yaitu daging terang dan daging gelap, hal ini dimaksudkan untuk membandingkan hasil analisis kandungan mioglobin yang ada pada daging terang dan pada daging gelap (Tabel 1).

Hasil analisis kandungan mioglobin daging terang tuna mata besar selama penyimpanan 9 hari pada suhu *chilling* menunjukkan rata-rata kandungan mioglobin daging bagian perut, punggung dan ekor mengalami penurunan yang signifikan. Kandungan mioglobin daging terang tuna mata besar untuk perlakuan penyimpanan hari ke-0 daging bagian perut sebesar 121,68 mg/100g, bagian punggung 148,20 mg/100g, dan bagian ekor 105,16 mg/100g, setelah perlakuan penyimpanan hari ke-9 mengalami penurunan menjadi 41,35 mg/100g, untuk daging bagian perut, 52,01 mg/100g daging bagian punggung, dan 31,34 mg/100g daging bagian ekor.

Hasil analisis ragam pada selang kepercayaan 95% menunjukkan bahwa perbedaan bagian daging yaitu perut, punggung dan ekor dan lama penyimpanan memberikan pengaruh yang nyata terhadap penurunan kandungan nilai mioglobin daging terang yang terbentuk. Hal ini disebabkan oleh perbedaan bagian daging, yang dipengaruhi oleh perbedaan waktu penyimpanan, oksigen, pH dan suhu. Hasil penelitian Matthews (1983) menerangkan bahwa ikan tuna yang disimpan 12 hari pada suhu *chilling* telah mengalami perubahan warna dan membuat ikan tuna tidak dapat diterima akibat warna daging itu sendiri.

Hasil analisis kandungan mioglobin daging gelap tuna mata besar selama

Tabel 1 Kandungan mioglobin daging terang tuna mata besar pada berbagai kondisi perlakuan

Lama penyimpanan (hari)	Kandungan mioglobin daging terang (mg/100g)		
	Perut	Punggung	Ekor
0	121,68 ± 6,07 ^b	148,20 ± 1,55 ^a	105,16 ± 1,09 ^c
3	90,34 ± 1,72 ^d	115,82 ± 1,29 ^b	73,44 ± 13,71 ^e
6	67,96 ± 2,83 ^e	83,54 ± 1,41 ^d	52,77 ± 1,55 ^f
9	41,35 ± 0,49 ^g	52,01 ± 1,55 ^f	31,34 ± 4,74 ^h

Keterangan: Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p < 0,05$).

penyimpanan 9 hari pada suhu *chilling* (Tabel 2) menunjukkan rata-rata kandungan mioglobin daging bagian perut, punggung dan ekor mengalami penurunan. Kandungan mioglobin daging gelap tuna mata besar untuk perlakuan penyimpanan hari ke-0 bagian perut sebesar 418,64 mg/100g, bagian punggung 446,21 mg/100g, dan bagian ekor 145,65 mg/100g, setelah perlakuan penyimpanan hari ke-9 mengalami penurunan menjadi 121,01 mg/100g untuk daging bagian perut, 58,34 mg/100g daging bagian punggung, dan 87,98 mg/100g daging bagian ekor.

Hasil analisis ragam pada selang kepercayaan 95% menunjukkan bahwa perbedaan bagian daging yaitu perut, punggung dan ekor serta lama penyimpanan memberikan pengaruh yang nyata terhadap penurunan kandungan nilai mioglobin daging gelap yang terbentuk. Perbedaan bagian daging dapat dipengaruhi oleh perbedaan waktu penyimpanan, oksigen, pH dan suhu. Adanya perbedaan laju penurunan nilai mioglobin terutama dipengaruhi oleh pH dan perbedaan suhu. Nurilmala (2013) menyatakan konsentrasi mioglobin dari yang

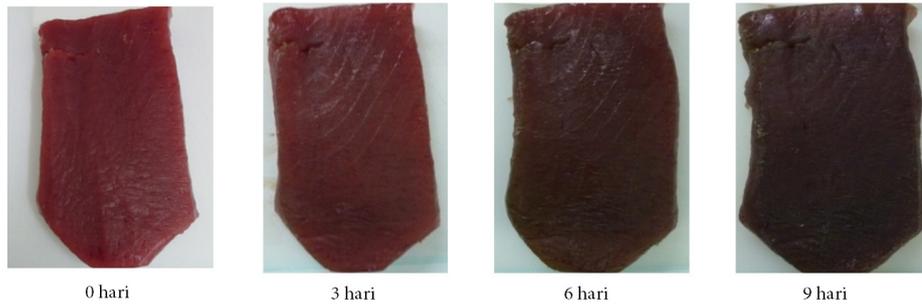
sangat baik, baik, diterima, dan tidak dapat diterima yaitu 219,8; 145,7; 133,2; dan 90,6 mg/100g. Perubahan warna tiap bagian (perut, punggung dan ekor) tuna mata besar selama penyimpanan 9 hari pada suhu *chilling* dapat dilihat pada Gambar 1, 2 dan 3.

Gambar 1, 2 dan 3 menunjukkan adanya perubahan warna dan penurunan kandungan mioglobin pada tiap bagian daging (perut, punggung dan ekor) dengan semakin lamanya penyimpanan. Perubahan warna daging tuna mata besar semua bagian pada penyimpanan sembilan hari berlangsung lebih cepat dibandingkan dengan penyimpanan 6, 3 dan 0 hari. Adanya perubahan warna daging dari warna merah menjadi kecoklatan terjadi karena adanya auto oksidasi oksimioglobin menjadi metmioglobin. Lama penyimpanan sembilan hari semua bagian daging telah terdegradasi, semakin besar oksidasi, makin banyak tingkat perubahan pigmen merah menjadi kecoklatan, dan hal ini merupakan indikator semakin rendahnya tingkat kesegaran ikan tersebut. Ini berarti bahwa daging tuna mata besar yang disimpan pada suhu *chilling* hanya dapat diterima sampai pada penyimpanan enam hari.

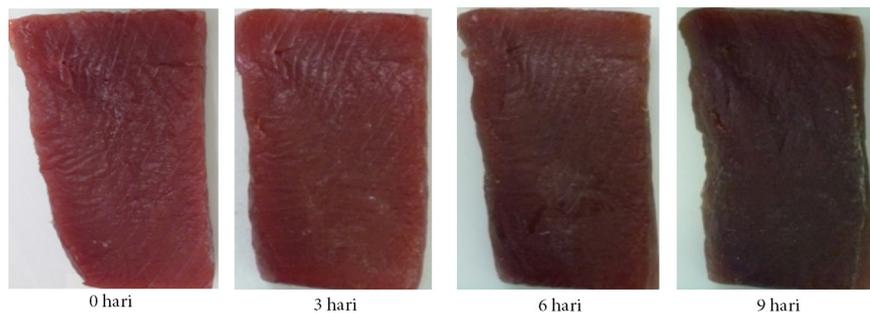
Tabel 2 Kandungan mioglobin daging gelap tuna mata besar pada berbagai kondisi perlakuan

Lama penyimpanan (hari)	Kandungan mioglobin daging gelap (mg/100g)		
	Perut	Punggung	Ekor
0	418,64 ± 0,32 ^b	446,21 ± 1,07 ^a	145,65 ± 0,91 ^g
3	291,87 ± 0,81 ^d	306,50 ± 2,04 ^c	143,86 ± 1,98 ^h
6	191,06 ± 1,14 ^f	215,32 ± 2,56 ^e	127,34 ± 0,43 ⁱ
9	121,01 ± 1,14 ⁱ	58,34 ± 1,76 ^k	87,98 ± 0,43 ^j

Keterangan: Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p < 0,05$).



Gambar 1 Perubahan warna daging bagian perut tuna mata besar selama 9 hari pada suhu *chilling*



Gambar 2 Perubahan warna daging bagian punggung tuna mata besar selama 9 hari pada suhu *chilling*



Gambar 3 Perubahan warna daging bagian ekor tuna mata besar selama 9 hari pada suhu *chilling*

Pembentukan metmioglobin terjadi pada kondisi temperatur tinggi dan pH rendah, serta dipengaruhi oleh sinar ultraviolet dan bakteri aerobik. Eskin (1990) menyatakan bahwa pembentukan metmioglobin diiringi dengan hilangnya elektron pada molekul besi (Fe) yang menyebabkan perubahan ferrous (Fe^{2+}) menjadi ferric (Fe^{3+}). Suwetja (2013) juga menyatakan bahwa penguraian pigmen mioglobin daging ikan terjadi paling cepat pada bagian dekat kulit, dan semakin perlahan pada daging yang lebih dalam kearah pusat tubuh ikan. Daging pada bagian ekor lebih cepat penguraian pigmen mioglobinnnya dibandingkan dengan daging bagian punggung, dan daging bagian

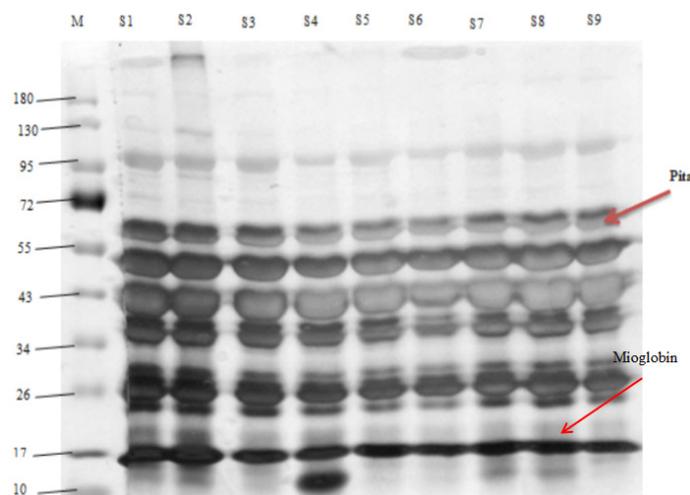
punggung lebih cepat daripada daging dekat kepala, karena disebabkan perbedaan ketebalan daging (Matthews 1983).

Protein Larut Air Pada Suhu *Chilling*

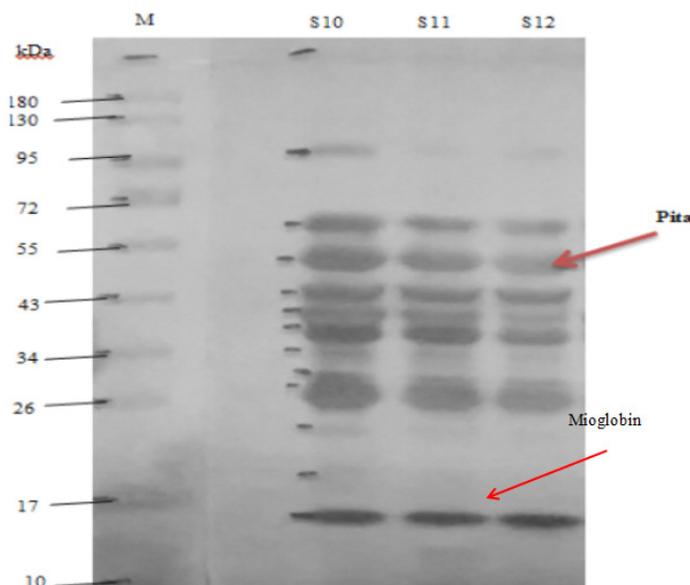
Adanya penurunan kelarutan protein merupakan tanda telah terjadi denaturasi pada struktur proteinnya, sehingga daging menjadi keras, kering dan berserat. Penurunan pH ikan sampai dibawah pH 6,0 dan lama penyimpanan mengakibatkan penurunan kelarutan protein yang cukup besar. Gandotra *et al.* (2012) menyatakan bahwa ikan yang disimpan pada suhu 4°C selama penyimpanan 21 hari, mengalami penurunan protein sebesar 54,30%.

Elektroforesis adalah suatu proses migrasi molekul bermuatan dalam larutan atau medium melalui pengaruh medan listrik yang juga sering digunakan untuk menentukan komposisi protein dari suatu produk pangan (Nielsen 2003). Metode yang paling umum untuk memisahkan protein adalah dengan cara elektroforesis menggunakan polyacrylamide gel sebagai medium penyangga dan sodium dodecyl sulfate (SDS) untuk mendenaturasi protein. Ketika protein dan makromolekul

lainnya ditreatment dengan SDS, maka akan terdenaturasi dan bermuatan negative. Molekul yang lebih besar akan tertahan dan akibatnya bergerak lebih lambat sehingga molekul terdenaturasi, diameternya tergantung dari berat molekulnya, dan SDS-PAGE akan memisahkan molekul berdasarkan berat molekul. Teknik elektroforesis telah banyak digunakan dalam analisis protein untuk menentukan tingkat kemurnian sampel, berat molekul, maupun titik isoelektrik (Copeland 1994).



Gambar 4 Profil SDS-PAGE protein larut air daging ikan tuna mata besar (*T. obesus*) selama perlakuan penyimpanan 0, 3, dan 6 hari pada suhu chilling.



Gambar 5 Profil SDS-PAGE protein larut air daging ikan tuna mata besar (*T. obesus*) penyimpanan hari ke-9 pada suhu chilling

Hasil uji pemisahan protein dengan menggunakan metode SDS-PAGE pada daging ikan tuna mata besar (*Thunnus obesus*) selama penyimpanan 0, 3, 6, dan 9 hari pada suhu *chilling* disajikan pada Gambar 4 dan Gambar 5.

Penentuan berat molekul sampel dihitung berdasarkan kurva standar marker, yang diperoleh melalui hubungan antara mobilitas elektroforetik (Rf) dengan nilai logaritma berat molekul (Log BM) marker pada persamaan regresi yang diperoleh ($y=ax\ln(x)+b$). Berat molekul pita-pita protein dapat dihitung menggunakan rumus persamaan regresi logaritma.

Berdasarkan hasil diatas, terdeteksi adanya pita-pita protein pada penyimpanan 0, 3 dan 6 hari disemua bagian (perut, punggung, ekor) dengan berat molekul 15,4 kDa, sedangkan pada penyimpanan hari ke-9 disemua bagian (perut, punggung, ekor) diperoleh pita dengan berat molekul 14 kDa. Pita-pita protein ini di duga sebagai protein mioglobin yang larut air. Adanya perbedaan berat molekul pita protein mioglobin pada hari ke-9 di mungkinkan karena pada hari ke-9 telah terjadi denaturasi protein akibat penurunan pH daging ikan. Thiansilakul *et al.* (2012) menyatakan bahwa berat molekul mioglobin ikan mas yang disimpan selama sembilan hari pada pH 6,0 adalah 16 kDa. Hasil penelitian Fosmire dan Brown (1976) menyatakan berat molekul sardin 14,6 kDa, tuna ekor kuning dan tuna mata besar 16,2 kDa. Sedangkan BM bandeng 15,9 kDa (Chen and Chow 2001).

Nilai pH

Sifat keasaman dan kebasaaan suatu bahan pangan dapat diukur dengan nilai pH (Surono 2004). Nilai pH juga merupakan salah satu faktor kimia yang sangat mempengaruhi keawetan bahan pangan karena berhubungan dengan mikroba, dimana mikroba dapat hidup dan berkembang biak dalam lingkungan dengan kondisi pH tertentu (Supardi dan Sukanto 1999; Hidayat *et al.*2006)

Nilai pH merupakan faktor yang juga berpengaruh terhadap aktivitas enzim. Kebanyakan dari enzim tidak aktif atau infaktif pada nilai pH yang ekstrim. Hal tersebut dapat disebabkan oleh nilai pH yang ekstrim dapat merusak protein yang merupakan komponen penyusun enzim (Rahman *et al.* 2004)

Selama penyimpanan ikan tuna mata besar terjadi penurunan pH selama waktu penyimpanan pada tiap-tiap bagian. Penurunan pH terjadi akibat penimbunan asam laktat hasil penguraian glikogen yang terdapat dalam daging. Hasil analisis pH ikan tuna mata besar selama perlakuan penyimpanan suhu *chilling* dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil analisis pH tuna mata besar selama penyimpanan 9 hari pada suhu *chilling* menunjukkan rataannilai pH untuk perlakuan penyimpanan hari ke-0 bagian perut 5,98, bagian punggung 5,96, dan bagian ekor 6,09, setelah perlakuan penyimpanan hari ke-9 mengalami penurunan menjadi 5,82 untuk daging bagian perut, 5,68 daging bagian punggung, dan 5,81 daging bagian ekor. Hasil analisis ragam pada selang kepercayaan 95%

Tabel 3 Nilai pH tuna mata besar pada berbagai kondisi perlakuan

Lama penyimpanan (hari)	Kandungan mioglobin daging gelap (mg/100g)		
	Perut	Punggung	Ekor
0	5,98 ± 0,0055 ⁱ	5,96 ± 0,0006 ^h	6,09 ± 0,0015 ^k
3	5,94 ± 0,0031 ^g	5,76 ± 0,0096 ^c	6,03 ± 0,0057 ^j
6	5,87 ± 0,0182 ^f	5,72 ± 0,0035 ^b	5,85 ± 0,0015 ^e
9	5,82 ± 0,0147 ^d	5,68 ± 0,0051 ^a	5,81 ± 0,0010 ^d

Keterangan: Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p<0,05$).

menunjukkan bahwa perbedaan bagian daging yaitu perut, punggung dan ekor memberikan pengaruh yang nyata terhadap penurunan nilai pH yang terbentuk. pH rendah meningkatkan autooksidasi dari daging ikan sehingga mempengaruhi kelarutan protein (Thiansilakul *et al.* 2012)

Proses ikan mati, maka tahap biokimia yang terjadi berlangsung secara anaerobik. Penurunan pH disebabkan terbentuknya asam laktat hasil reaksi pemecahan glukosa oleh enzim yang terdapat dalam daging (Suwetja 2011). pH daging ikan berkisar antara 7-7,5 dan dapat turun hingga pH 6-5 tergantung jenis spesiesnya. pH ikan tuna dapat mencapai 5,5 sementara ikan lainnya memiliki pH 6,2-6,6 (Robb 2002).

KESIMPULAN

Kandungan mioglobin daging terang tuna mata besar pada penyimpanan hari ke-9 mengalami penurunan menjadi 41,35 mg/100g untuk daging bagian perut, 52,01 mg/100g daging bagian punggung dan 31,34 mg/100g daging bagian ekor. Begitu juga pada daging gelap penyimpanan hari ke-9 mengalami penurunan menjadi 121,01 mg/100g untuk daging bagian perut, 58,34 mg/100g daging bagian punggung dan 87,98 mg/100g. Terdeteksi adanya pita-pita yang menunjukkan bahwa pada penyimpanan 0, 3 dan 6 hari disemua bagian (perut, punggung, ekor) diperoleh pita-pita dengan berat molekul 15,4 kDa, sedangkan pada penyimpanan hari ke-9 disemua bagian (perut, punggung, ekor) diperoleh pita dengan berat molekul 14 kDa.

DAFTAR PUSTAKA

Chen WL, Chow CJ. 2001. Studies on the physicochemical properties of milkfish myoglobin. *Journal of Food Biochemistry* 25:157-174.

Capillas CR dan Moral A. 2005. Sensory and biochemical aspect of quality of whole bigeye tuna (*Thunnus obesus*) during bulk storage in controlled atmospheres. *Journal Food Chemistry* 89:347-354.

Chaijan M. 2009. Effect of different saturated aldehydes on the changes in sardine (*Sardinella gibbosa*) myoglobin stability. *Asian Journal of Food and Agro-Industry* 2(01):28-38.

Chang SC, Lin CW, Jiang CM, Chen HC, Shih MK, Chen YY, Tasi, YH. 2009. Histamine production by Bacilli bacteria, acetic bacteria and yeast isolated from fruit wines. *Journal Food Science and Technology* 42:280-285.

Chow CJ, Yang JI, Lee PF, Ochiai Y. 2009. Effect of acid and alkaline pretreatment on the discoloration rates of dark muscle and myoglobin extract of skinned tilapia fillet during iced storage. *Journal Fish Science* 75:1481-1488

Eskin NAM. 1990. *Biochemistry of Food*. Ed ke-2. California: Academic press Inc.

Faustman C, Yin MC & Nadeau DB. 1992. Color stability, lipid stability and nutrient composition of red and white veal. *Journal of Food Science* 57:302-304.

Fosmire GJ & Brown, WD. 1976. Yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) myoglobin: Characterization and comparative stability. *Comparative Biochemistry and Physiology* 55B: 293-299.

Gandotra R, Sharma A, Koul M, Gupta S. 2012. Effect of chilling and freezing on fish muscle. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences* 2:05-09.

Hood, DE. 1980. Factors affecting the rate of metmyoglobin accumulation in pre-packaged beef. *Meat Science* 4:247-265

Huss HH. 1995. *Quality and Quality Changes in Fresh Fish*. FAO Fisheries Technical Paper 348. FAO.

Hidayat NS, Suhartini, Padaga MC. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta (ID): CV. Andi.hlm 8-10.

Infotish. 2002. *Handling and Processing of Tuna for Sashimi and Fresh or Chilled Product*. Infotish Technical Handbook 1. Kuala Lumpur: Infotish.

Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227:680-85.

- Lehninger AL. 1993. *Dasar-dasar Biokimia*. Jilid 2. Thenawidjaja M. Penerjemah. Terjemahan dari Principles of Biochemistry. Jakarta (ID): Penerbit Erlangga.
- Lee BJ, Hendricks DG, Cornforth DP. 1999. A comparison of carnosine and ascorbic acid on color and lipid stability in a ground beef pattie model system. *Meat Science* 51:245-253.
- Matthews AD. 1983. Muscle colour deterioration in iced and frozen stored bonito yellowfin and skipjack tuna caught in Seychelles waters. *Journal Food and Technology* 18: 387-392.
- Nurilmala M. 2013. Studies on the structural changes oh myoglobin in tuna meat discoloration. [Disertasi].Tokyo: The graduate school of agricultural and life sciences, The University of Tokyo.
- Ochiai Y, Ueki N, Watabe S. 2009. Effects of point mutations on the structural satbility of tuna myoglobins. *Journal Comparative Biochemistry and Physiology* 153:223-228.
- Steel RGD, Torrie JH. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistik Suatu Pendekatan Biometrik. Penerjemah : Sumantri B. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.hlm 748.
- Suwetja IK. 2011. *Biokimia Hasil Perikanan*. Jakarta: Media Prima Aksara.
- Suwetja IK. 2013. *Indeks Mutu Kesegaran Ikan*. Malang: Bayumedia Publishing.
- Takai R. 2000. Frozen food overview.Frozen food technology. Tokyo: Japan Society of Refrigerating and Air Conditioning Engineers (pp.1-16).
- Thiansilakul Y, Benjakul S, Richards M. 2011. Isolation, characterisation and satbility of myoglobin from eastern little tuna (*Euthynnus affinis*) dark muscle. *Journal Food Chemistry* 124:254-261.
- Thiansilakul Y, Benjakul S, Park SY, Richards MP. 2012. Characteristic of myoglobin and haemoglobin-mediated lipid oxidation in washed mince from bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*). *Journal Food Chemistry* 132:892-900.
- Winarno FG. 1993. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta (ID): PT Gramedia Pustaka Utama.
- Yamaguchi, K., Takeda, N., Ogawa, K., & Hashimoto, K. (1979). Properties of mackerel and sardine myoglobins. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 45: 1335–1339.
- Zapata ES, Amensour M, Oliver R, Zaragoza EF, Navarro C, Lopez JF, Sendra E, Sayas E, Alvarez JA. 2011. Quality characteristics of dark muscle from Yellowfin tuna *Thunnus albacares* to its potential application in the food industry. *Journal Food and Nutrition Science* 2:22-30.