

**OKSIDASI PROTEIN DAGING MERAH DAN PUTIH PADA IKAN TONGKOL PUTIH (*Thunus sp*) OLEH  
SISTIM KATALIS LOGAM  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ .  
PROTEIN OXIDATION OF RED AND WHITE MEAT ON WHITE TUNA (*Thunus sp*) BY METAL-CATALYZED  
OXIDATION SYSTEM  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ .**

**Daniel .A.N.Apituley<sup>1)</sup>, Zuheid Noor<sup>2)</sup>, Purnama Darmadji<sup>2)</sup> dan Suparmo<sup>2)</sup>**

**ABSTRACT**

*Protein is the main biomolecule contributing to the physical and chemical properties of foodstuff including fish muscles, hence protein oxidation will provide significant effect the integrity of the foodstuff (fish muscles). The aims of this study were to examine the effect of metal-catalyzed oxidation concentration  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  on the formation of carbonyl protein, loss of protein solubility and protein denaturation in red and white meat of White Tuna (*Thunus sp*).*

*The result indicated that the formation of carbonyl protein of fish protein was influenced by types of meat and metal-catalyzed oxidation concentration  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ . The higher the concentration  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ , the higher increased the carbonyl protein product in both white and red meat. Formation of carbonyl protein was also increased with the storage time. However, the increase of carbonyl protein of red meat is higher compare with the white meat. Counter part the existence of hidroxy radical produced from metal-catalyzed oxidation apparently leads to the modification of secondary and tertiary structure of the protein, in turn affect to the protein solubility and protein denaturation. The percentage of loss of protein solubility in red and white meat were 28.74 – 45.31 % and 23.13 – 34.50 % respectively. While the percentage of the protein denaturation of red and white meat were 38.88 % and 32.00 % respectively.*

*Key words : protein oxidation, red and white meat, metal-catalyzed oxidation system*

**PENDAHULUAN**

Oksidasi dalam bahan pangan merupakan salah satu masalah utama selama bahan pangan tersebut disimpan. Terjadinya oksidasi selama penyimpanan bahan pangan dapat menyebabkan terjadinya kerusakan-kerusakan yang dapat menurunkan mutu bahan pangan tersebut. Mayoritas penelitian yang telah dilakukan mengenai proses oksidasi serta implikasinya pada kualitas bahan pangan lebih difokuskan pada oksidasi lipid, oleh karena itu mekanisme reaksi antara lipid dengan molekul oksigen (autooksidasi) telah banyak dipelajari secara detail. Sangatlah berbeda dengan protein yang merupakan biomolekul utama dalam bahan pangan. Proses oksidasi terhadap protein sangat sedikit sekali dikarakterisasikan dan dipelajari, walaupun faktanya oksidasi terhadap protein telah diketahui prosesnya dan terjadi secara simultan dengan terjadinya oksidasi lipid dalam bahan pangan (Andersen dan Odstal, 2001).

Kerusakan oksidatif pada protein adalah terjadinya modifikasi ikatan kovalen pada protein yang diinduksi baik secara langsung oleh senyawa-senyawa oksigen reaktif (ROS) maupun secara tidak langsung oleh produk-produk sekunder dari keadaan stress oksidatif. Menurut Davies (2003), protein dapat mengalami kerusakan oksidatif oleh adanya radikal-radikal pengoksidasi antara lain : radikal hidroksil, radikal peroksid, radikal alkoksil dan beberapa radikal lainnya. Radikal-radikal tersebut dapat dihasilkan dalam sistim biologis maupun secara eksperimen. Radikal hidroksil ( $\text{OH}^*$ ) berasal dari reaksi Fenton dalam siklus reduksi-oksidasi dari ion-ion logam dimana proses reduksi dipengaruhi oleh keberadaan radikal anion superoksida ( $\text{O}_2^-*$ ) dan oksidasi oleh produk dismutasi dari hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Ion-ion logam seperti Fe dan Cu merupakan logam-logam transisi yang berperan penting dalam sistim biologi, karena bentuk reduksi dari logam-logam ini dapat dengan cepat memecah hidroperoksida organik sehingga membentuk radikal-radikal yang dapat menginisiasi terjadinya suatu reaksi berantai (Dean *dkk*, 1987). Secara eksperimental radikal hidroksil ( $\text{OH}^*$ ) dapat dihasilkan dari radiolisis sinar gamma pada molekul air, maupun oleh sistim katalis logam pengoksidasi (Leeuwenburgh *dkk*, 1988; Miura *dkk*, 1992; Marx dan Chevion, 1986; Wolf dan Dean, 1986).

Protein merupakan biomolekul utama yang sangat berpengaruh pada karakteristik fisik maupun kimiawi bahan pangan termasuk daging ikan oleh karena itu terjadinya oksidasi pada protein akan memberikan efek yang signifikan terhadap integritas dari bahan pangan (daging ikan) tersebut. Menurut Davies (2003), konsekwensi akibat terjadinya oksidasi pada protein antara lain terbentuknya senyawa lain yang reaktif (peroksida-peroksida, DOPA, dll) dan radikal-radikal yang memungkinkan terjadinya reaksi berantai, terjadinya fragmentasi pada kerangka protein, dimerisasi, agregasi dan perubahan konformasi dari struktur protein serta protein akan kehilangan sifat-sifat fungsionalnya. Oleh karena itu protein yang mengalami kerusakan oksidatif akan menjadi kurang bermanfaat lagi jika ditinjau dari segi nutrisionalnya bahkan mungkin akan berdampak bagi kesehatan bila terus menerus dikonsumsi.

Daging ikan umumnya tersusun atas dua jenis daging yaitu daging merah yang terdapat disepanjang tubuh bagian samping dibawah kulit dan daging putih yang terdapat diseluruh bagian tubuh ikan, keduanya sangat rentan terhadap serangan oksidatif. Adanya kromoprotein seperti hemoglobin dan mioglobin yang dapat berperan sebagai fotosensitizer, lipid, glikogen dan enzim-enzim metabolik aerobik serta asam-asam amino penyusun protein

1) Fakultas Perikanan Universitas Pattimura, Ambon

2) Fakultas Tekonologi Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

yang mudah teroksidasi seperti triptofan, histidin, tirosin, sistein, metionin, lisin maupun beberapa asam amino lainnya pada daging ikan baik bagian daging yang berwarna merah dan putih adalah merupakan faktor yang berpengaruh terhadap rentannya protein daging tersebut terhadap serangan oksidatif oleh radikal-radikal pengoksidasi, molekul-molekul non radikal pengoksidasi maupun hasil-hasil oksidasi lipid (Buttkus dan Tomlinson dalam Spinelli dan Dassow, 1982; Sikorksi, 1990).

Sejauh ini informasi dan penelitian mengenai terjadinya oksidasi pada protein daging ikan, terutama stabilitas oksidatif protein ikan dari bagian daging merah dan putih serta bagaimana mengantisipasi atau meminimalisasi kerusakan-kerusakan oksidatif terhadap protein tersebut masih sangat jarang ditemukan dan belum banyak dipelajari secara detail. Oleh karena itu dalam penelitian ini akan dilakukan kajian terhadap terjadinya oksidasi serta dampaknya pada protein daging merah dan putih dari ikan Tongkol Putih oleh radikal pengoksidasi seperti radikal hidroksil yang dihasilkan melalui sistem katalis logam  $\text{CuSO}_4 / \text{H}_2\text{O}_2$ . Pendekatan yang dilakukan adalah dengan melakukan percobaan oksidasi secara invitro dengan menggunakan model preparat protein daging merah dan putih dari Ikan Tongkol Putih (*Thunus Sp*).

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh konsentrasi katalis logam  $\text{CuSO}_4 / \text{H}_2\text{O}_2$  yang digunakan serta dampak oksidasi sistem katalis logam tersebut terhadap pembentukan protein karbonil, penurunan protein terlarut dan terjadinya denaturasi protein (modifikasi struktur) preparat protein daging merah dan putih ikan Tongkol Putih (*Thunus sp*).

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini semuanya berkualitas *pro analysis* antara lain metanol, asam triklorasetat, tembaga (II) sulfat, buffer fosfat pH 7,4, buffer suksinat pH 4 – 6, hidrogen peroksida, dinitrophenyl hydrazine (DNPH), guanidin hidroklorida (Sigma Chemical Co, St. Lois, MO), natrium hidroksida, asam klorida dan reagen Folin Ciocalteu.

### Metode

Penelitian ini dibagi menjadi dua bagian yaitu persiapan sampel dan percobaan oksidasi dengan menggunakan sistem katalis logam  $\text{CuSO}_4 / \text{H}_2\text{O}_2$ .

### Persiapan Sampel

Pada persiapan sampel, dilakukan pembuatan preparat protein daging merah dan putih dari ikan Tongkol Putih. Pada Tahapan ini dilakukan pemisahan bagian daging merah dan putih serta dilakukan “delipidasi” terhadap kedua jenis daging tersebut. Proses delipidasi dilakukan dengan cara ekstraksi/maserasi dengan campuran antara 200 ml metanol dan 100 ml dietil eter (2:1) per 100 g daging ikan selama 30 menit. Keseluruhan proses tersebut dilakukan dalam suatu “kotak preparasi” yang dihembuskan dengan gas Nitrogen serta pada suhu rendah yakni kurang lebih pada suhu 4°C. Preparat yang dihasilkan kemudian di “freeze

dry” dan dianalisis kadar protein, lemak, air, abu, FAAN (*Free Alpha Amino Acid Nitrogen*) serta kandungan zat besinya.

### Percobaan oksidasi dengan menggunakan sistem katalis logam $\text{CuSO}_4 / \text{H}_2\text{O}_2$ .

Pada tahapan ini dilakukan percobaan pengaruh konsentrasi katalis logam  $\text{CuSO}_4 / \text{H}_2\text{O}_2$  terhadap protein daging merah dan putih dari ikan Tongkol Putih (*Thunus sp*). Dalam percobaan ini radikal hidroksil ( $\text{OH}^*$ ) dihasilkan dari sistem katalis logam pengoksidasi:  $\text{CuSO}_4 / \text{H}_2\text{O}_2$  (Leeuwenburgh *dkk*, 1988; Huggins *dkk*, 1993; Koscha *dkk*, 1997). Preparat protein daging merah/putih (0,01g/ml) dihomogenisasikan dalam sistem katalis logam  $\text{CuSO}_4 / \text{H}_2\text{O}_2$  dengan berbagai konsentrasi (2, 4 dan 8 mM) dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 3 jam. Parameter yang dianalisis adalah Protein karbonil (Yan *dkk*, 1997) dan Denaturasi Protein/modifikasi struktur protein (Davies dan Delsignore, 1987). Untuk melihat dampak oksidasi sistem katalis logam tersebut pada protein daging merah dan putih selama penyimpanan, preparat Protein (0,01g/ml) dihomogenisasikan dalam sistem katalis logam  $\text{CuSO}_4 / \text{H}_2\text{O}_2$  dengan konsentrasi 8 mM dan disimpan atau diinkubasikan pada suhu 37°C selama 6 jam. Parameter yang dianalisis adalah protein karbonil (Yan *dkk*, 1997) yang dilakukan setiap 2 jam sedangkan protein terlarut dan penurunan protein terlarut (Loss Solubility) (Davies dan Delsignore, 1987), dilakukan pada awal dan akhir penyimpanan.

### Uji Statistik

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok Faktorial dengan tiga kali ulangan yang kemudian dilanjutkan dengan uji lanjut DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) guna mengetahui perbedaan dari masing-masing taraf perlakuan.

## Hasil dan Pembahasan

### Komposisi Kimiawi Preparat Protein

Hasil analisis komposisi kimiawi protein daging merah dan putih dari ikan Tongkol Putih (*Thunus Sp*) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimiawi daging segar serta reparat protein daging merah dan putih dari ikan Tongkol Putih (*Thunus Sp*)

Komposisi Kimiawi	Jenis Daging			
	Merah		Putih	
	Segar	Preparat	Segar	Preparat
Protein (%)	19.20	89.17	19.55	92.68
Lemak (%)	0.60	0.04	0.09	0.03
Abu (%)	1.53	1.59	1.69	1.92
Air (%)	78.07	10.9	77.45	12.18
FAAN (mgN/100g)	34.34	41.16	64.49	69.75
Fe (mg/Kg)	-	464.29	-	219.23

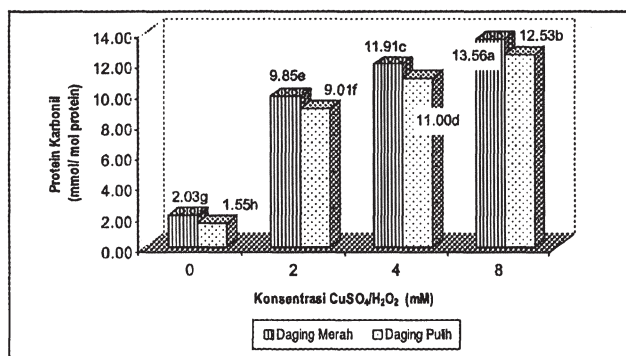
Dari Tabel 1 terlihat bahwa proses delipidasi yang dilakukan ternyata dapat menurunkan kandungan lemak dari daging ikan Tongkol Putih yaitu dari 0,60 % menjadi 0.04 % untuk daging merah dan 0.09 % menjadi 0.03 % untuk daging putih. Dengan berkurangnya kandungan lemak pada daging ikan, diharapkan dapat meminimalkan intervensi dari lipida atau lemak terhadap terjadinya kerusakan oksidatif pada protein ikan. Pada Tabel 1, juga terlihat adanya perbedaan komposisi kimiawi dari protein daging merah dan putih. Adanya perbedaan tersebut terutama tingginya kandungan zat besi (Fe) pada daging merah tentunya akan berpengaruh terhadap terjadinya kerusakan oksidatif pada protein daging tersebut.

### Protein Karbonil

Protein Karbonil adalah merupakan salah satu "biomarker" dari terjadinya oksidasi pada protein (Stadman & Oliver, 1991; Yan *dkk*, 1997) dan digunakan sebagai salah satu indikator terjadinya kerusakan atau modifikasi protein akibat terjadinya oksidasi oleh adanya radikal-radikal oksigen (Adams *dkk*, 2001).

Hasil analisis statistik pada percobaan pengaruh konsentrasi katalis logam  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  terhadap protein karbonil daging merah dan putih dari ikan Tongkol Putih (*Thunus sp*) menunjukkan bahwa interaksi perlakuan jenis daging dan konsentrasi  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  berpengaruh nyata terhadap terbentuknya protein karbonil. Hal ini menunjukkan bahwa terbentuknya protein karbonil pada preparat protein ikan dipengaruhi oleh jenis daging serta konsentrasi katalis logam  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  yang digunakan.

Hasil analisis protein karbonil daging merah dan putih dari ikan Tongkol Putih (*Thunus sp*) dapat dilihat pada Gambar 1.



Ket : Rerata yang didampingi huruf yang berbeda adalah berbeda nyata ( $p > 0.05$ )

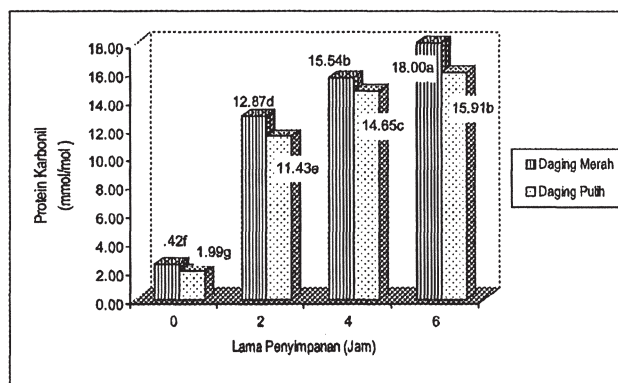
Gambar 1. Pengaruh Konsentrasi Katalis Logam  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  Terhadap Protein Karbonil Daging Merah dan Putih dari Ikan Tongkol Putih (*Thunus sp*).

Pada Gambar 1, terlihat bahwa protein karbonil baik pada daging merah maupun daging putih akan semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  yang ditambahkan. Di mana peningkatan yang terbesar ditunjukkan oleh interaksi perlakuan konsentrasi  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  8mM yaitu sebesar 13,56 mmol/mol untuk daging merah dan 12,63 mmol/mol untuk protein daging putih. Adanya radikal hidroksil yang dihasilkan dari degradasi  $\text{H}_2\text{O}_2$  dengan kehadiran logam  $\text{Fe}^{++}$  atau  $\text{Cu}^+$  melalui reaksi Fenton

(Belleville-Nabet, 1996) mengakibatkan terjadinya kerusakan atau modifikasi pada protein sehingga menyebabkan terbentuknya protein karbonil. Menurut Xiong (2000) dalam Estevez *dkk* (2005), serangan senyawa oksigen reaktif (ROS) pada protein daging dapat menyebabkan hilangnya gugusan sulfhidril serta terbentuknya senyawa-senyawa karbonil dari protein tersebut.

Hasil pengamatan pembentukan protein karbonil protein daging merah dan putih dari ikan Tongkol Putih (*Thunus sp*) selama penyimpanan pada percobaan dampak oksidasi oleh katalis logam  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  8 mM dapat dilihat pada Gambar 2.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa interaksi perlakuan Jenis daging dan Konsentrasi  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap pembentukan protein karbonil daging merah dan putih dari ikan Tongkol Putih (*Thunus sp*).



Gambar 2. Dampak Oksidasi oleh Katalis Logam  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  8mM Terhadap Protein Karbonil Daging Merah dan Putih dari Ikan Tongkol Putih (*Thunus sp*)

Pada Gambar 2, terlihat bahwa pembentukan protein karbonil baik daging merah maupun daging putih semakin meningkat seiring dengan semakin bertambahnya waktu penyimpanan. Pada penyimpanan jam ke-nol, protein karbonil daging merah dan putih masing – masing 2.42 mmol/mol dan 1.99 mmol/mol meningkat menjadi 18.00 mmol/mol untuk daging merah dan 15.91 mmol/mol untuk daging putih pada jam ke -enam. Hal ini menunjukkan bahwa selama penyimpanan telah terjadi kerusakan atau oksidasi pada protein tersebut oleh radikal hidroksil yang dihasilkan dari sistem katalis logam  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  8 mM. Terbentuknya protein karbonil tersebut dapat terjadi melalui 2 jalur yaitu jalur oksidatif dan non oksidatif. (Adams *dkk*, 2001). Salah satu jalur utama yang dapat menghasilkan protein karbonil secara *invivo* maupun *invitro* adalah melalui jalur oksidasi oleh sistem katalis logam. Dimana ion logam Fe dan Cu dapat terikat pada sisi spesifik dari suatu residu asam amino pada protein dan kemudian akan bereaksi dengan oksidan sehingga mengakibatkan terjadinya transformasi pada gugusan asam amino tersebut yang menghasilkan karbonil-karbonil (Stadman & Oliver, 1992; Adams *dkk*, 2001)

Dari Gambar 2, juga terlihat bahwa peningkatan protein karbonil pada daging merah lebih besar bila dibandingkan dengan daging putih. Hal ini menunjukkan bahwa protein daging merah lebih rentan terhadap serangan radikal hidroksil yang dihasilkan dari sistem katalis logam  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ . Disamping itu, tingginya kandungan zat besi

(Fe) pada daging merah bila dibandingkan dengan daging putih (Pada Tabel 1) juga merupakan salah satu faktor penyebab rentannya protein daging merah terhadap kerusakan oksidatif. Dimana Zat besi tersebut selain dapat berfungsi sebagai prooksidan yang berperan dalam proses terbentuknya radikal hidroksil, juga dapat bereaksi secara langsung dengan oksigen membentuk kompleks besi-oksigen yang mempunyai kemampuan mengoksidasi (Rahardjo,2004).

### Penurunan Protein Terlarut dan Denaturasi Protein.

Pengujian terhadap penurunan protein terlarut dan denaturasi protein seperti yang dilakukan oleh Davies dan Delsignore (1987) adalah untuk melihat dampak oksidasi oleh radikal Oksigen maupun radikal lainnya, terhadap terjadinya modifikasi pada struktur sekunder dan tersier dari protein.

### Penurunan Protein Terlarut.

Hasil percobaan dampak oksidasi oleh katalis logam  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  8 mM terhadap protein terlarut daging merah dan putih dari ikan Tongkol Putih (*Thunus sp*) dapat di lihat pada Tabel 2 dan Gambar 3.

Tabel 2. Dampak Oksidasi Oleh Katalis Logam  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  8 mM Terhadap Protein Terlarut Protein Daging Merah dan Putih Dari Ikan Tongkol Putih

No.	Perlakuan		Protein Terlarut (%)	Sisa protein Terlarut (%)
	Jenis Daging	pH	Rata-rata*	Rata-rata*
1.	Merah	4	21.64 <sup>b</sup>	15.42 <sup>b</sup>
		4.5	25.69 <sup>c</sup>	18.66 <sup>c</sup>
		5	32.20 <sup>d</sup>	21.64 <sup>d</sup>
		5.5	29.74 <sup>c</sup>	16.27 <sup>a</sup>
		6	30.14 <sup>c</sup>	19.00 <sup>a</sup>
2.	Putih	4	24.01 <sup>a</sup>	18.46 <sup>c</sup>
		4.5	29.02 <sup>a</sup>	24.10 <sup>b</sup>
		5	35.97 <sup>a</sup>	28.15 <sup>a</sup>
		5.5	33.11 <sup>b</sup>	21.69 <sup>c</sup>
		6	36.51 <sup>a</sup>	23.96 <sup>b</sup>

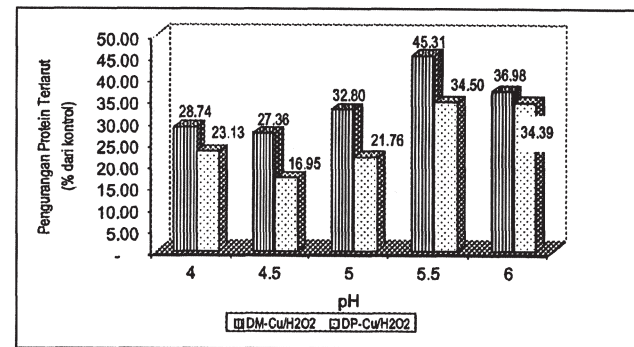
Ket : \* Rerata dari 3 kali Ulangan  
Rerata yang didampingi huruf yang berbeda adalah berbeda nyata ( $p>0.05$ )

Pada Tabel 2, terlihat bahwa baik daging merah maupun putih mengalami penurunan kandungan protein terlarut dan penurunan kelarutan tersebut tergantung pada pH dimana preparat protein tersebut dilarutkan.

Menurut Davies & Delsignore (1987) pengurangan kelarutan dari protein yang diberi perlakuan oksidasi tergantung pada pH dan konsentrasi dari radikal oksigen yang diberikan. Dari beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa senyawa oksigen reaktif (ROS) dapat menyebabkan degradasi dan polimerisasi pada protein yang akan berlanjut pada berkurangnya kelarutan serta sifat fungsional dari protein (Pokorny *dkk* (1990) dan Howel *dkk* (2001) dalam Estevez *dkk* (2005). Perubahan-perubahan fisik dan dari kimia akibat terjadinya oksidasi pada bahan pangan tersebut antara lain; rusaknya asam-amino, berkurangnya kelarutan protein, terjadinya

agregasi protein, enzim-enzim akan kehilangan aktivitasnya, terbentuknya derivat-derivat asam amino termasuk senyawa-senyawa karbonil yang reaktif serta pengurangan atau perubahan daya cernanya (Andersen dan Odstal, 2001; Nakhost dan Karel, 1983).

Hasil perhitungan persentase pengurangan protein terlarut pada daging merah dan putih dari ikan Tongkol Putih (*Thunus sp*) setelah dioksidasi dengan sistim katalis logam  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  dapat dilihat pada Gambar 3.



Ket : Preparat Protein (0.01 g/ml) dalam sist.Oks.  $\text{CuSO}_4$  0.2 mM /  $\text{H}_2\text{O}_2$  8 mM diinkubasi pada 37 °C selama 6 jam. Sampel Protein disuspensikan dalam Buffer Suksinat pH 4.0 - 6.0/ KCl 3 M dan dianalisis Protein terlarutnya (Lowry)

Gambar 3. Pengurangan Protein Terlarut Preparat Protein Daging Merah dan Putih Ikan Tongkol Putih (*Thunus sp*) Setelah Dioksidasi Dengan Sistim Katalis Logam  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$

Pada Gambar 3, terlihat bahwa persentase pengurangan protein terlarut terjadi lebih besar pada daging merah bila dibandingkan dengan daging putih. Persentase pengurangan protein terlarut pada pH 4 - 6 dari daging merah adalah sebesar 28.74 - 45.31% sedangkan 23.13 - 34.50% untuk daging putih. Hal ini menunjukkan bahwa terjadinya kerusakan atau modifikasi pada struktur sekunder dan tersier pada daging merah lebih besar bila dibandingkan dengan daging putih.

### Denaturasi Protein (Modifikasi struktur protein)

Terjadinya denaturasi protein atau modifikasi struktur protein ditentukan dengan melakukan studi terhadap kelarutan dari protein pada konsentrasi garam yang tinggi. Dimana pada konsentrasi garam tinggi, tolak menolak dari bagian atau gugusan yang hidrofobik dalam pelarut mencapai keadaan yang maksimal. Pada keadaan alami (*natural/folded state*) bagian/gugusan hidrofobik yang akan terlindungi dari lingkungan yang "aqueous" tetapi bila terjadi denaturasi (*unfolded state*) maka terjadi pembukaan struktur sehingga menghilangkan proteksi tersebut. Pada titik isoelektrik protein menjadi tidak bermuatan dan memiliki bagian-bagian yang mendukungnya agar bisa larut (bagian/gugusan hidrofilik) menjadi minimal akibatnya sifat terlarut dari protein menjadi berkurang. Oleh karena itu pada saat denaturasi, akan terjadi pembukaan struktur protein yang mengakibatkan berkurangnya kelarutan protein pada titik isoelektriknya dalam larutan garam buffer yang berkonsentrasi tinggi, ini disebabkan karena bagian/gugusan hidrofobik akan membentuk kluster atau mengelompok sehingga cenderung untuk membentuk endapan (Davies & Delsignore, 1987).

Hasil percobaan pengaruh konsentrasi katalis logam  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  terhadap terjadinya denaturasi protein (modifikasi struktur) pada daging merah dan putih dari ikan Tongkol Putih (*Thunus sp*) dapat di lihat pada Tabel 3 dan Gambar 4.

Hasil analisis statistik pada Tabel 3 menunjukkan bahwa interaksi perlakuan jenis daging dan konsentrasi katalis logam  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  memberikan pengaruh yang sangat nyata protein terlarut daging merah dan putih dari ikan Tongkol Putih.

Tabel 3. Pengaruh Konsentrasi Katalis Logam  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  Terhadap Protein Terlarut Protein Daging Merah dan Putih Dari Ikan Tongkol Putih

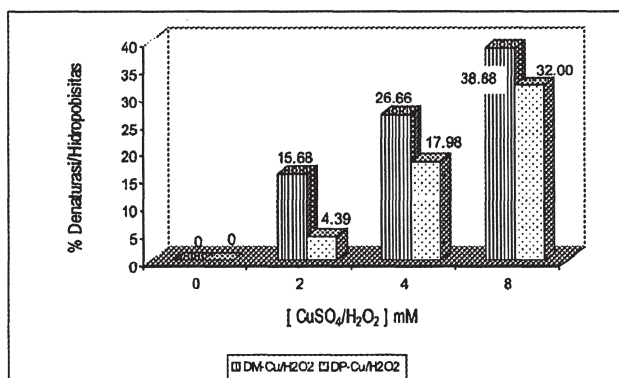
No	Perlakuan		Protein Terlarut (%)
	Jenis Daging	Konsentrasi $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ (mM)	Rata-rata
1.	Merah	0	22.38 <sup>b</sup>
		2	18.87 <sup>d</sup>
		4	16.41 <sup>c</sup>
		8	13.68 <sup>f</sup>
2.	Putih	0	24.37 <sup>a</sup>
		2	23.30 <sup>a</sup>
		4	19.99 <sup>c</sup>
		8	16.57 <sup>e</sup>

Ket : \* Rerata dari 3 kali ulangan  
Rerata yang didampangi huruf yang berbeda adalah berbeda nyata ( $p>0.05$ )

Dari Tabel 3, juga terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi katalis logam akan semakin menurunkan kandungan protein terlarut baik pada daging merah dan putih dari ikan Tongkol Putih.

Hal ini jelas terlihat pada hasil perhitungan persentase terjadinya denaturasi protein seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4. Dimana persentase denaturasi protein ditentukan dengan membandingkan protein terlarut preparat protein yang diberi sistem oksidasi dengan yang tidak diberi sistem oksidasi (kontrol).

Pada Gambar 4, terlihat bahwa persentase terjadinya denaturasi protein baik pada daging merah dan putih akan semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi katalis logam  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  yang digunakan. Persentase denaturasi yang terbesar ditunjukkan oleh interaksi perlakuan daging merah dengan konsentrasi  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  8 mM yaitu sebesar 38,88 % sedangkan pada protein daging putih sebesar 32,00 %.



Ket : Preparat Protein (0.01 g/ml) dlm sist.Oks. $\text{CuSO}_4/0.2\text{mM}/\text{H}_2\text{O}_2$  (0; 2 ;4; 8 mM) diinkubasi pada 37 °C selama 2 jam. Sampel Protein disuspensikan dalam Buffer Suksinat pH 4.5/ 3 M KCl dan dianalisis protein Terlarutnya (Lowry)

Gambar 4. Pengaruh Konsentrasi Katalis Logam  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  terhadap Denaturasi Protein (Modifikasi struktur) Pada Daging Merah dan Putih Dari Ikan Tongkol Putih (*Thunus sp*).

Hal ini menunjukkan bahwa serangan radikal hidroksil yang dihasilkan dari sistem katalis logam  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  akan memberikan pengaruhnya terhadap terjadinya modifikasi pada struktur sekunder dan tersier dari protein. Dimana akibat serangan tersebut, kelarutan protein baik daging merah maupun putih menjadi berkurang. Menurut Davies & Delsignore (1987) adanya radikal hidroksil akan menyebabkan terjadinya denaturasi pada protein atau meningkatnya hidropobisitas yang diikuti dengan terbentuknya ikatan kovalen diantara molekul-molekul protein tersebut (*Covalent agregation*).

### Kesimpulan dan Saran

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan konsentrasi katalis logam berpengaruh nyata terhadap pembentukan protein karbonil, penurunan protein terlarut serta terjadinya denaturasi protein (modifikasi struktur) pada daging merah maupun daging putih dari ikan Tongkol Putih (*Thunus sp*). Protein dari daging merah lebih rentan terhadap serangan radikal hidroksil yang dihasilkan dari katalis logam  $\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ . Hal ini ditunjukkan dengan tingginya kandungan protein karbonil yang dihasilkan, persentase terjadinya pengurangan protein terlarut serta persentase terjadinya denaturasi protein (modifikasi struktur) yang lebih besar bila dibandingkan dengan protein daging putih. Untuk mendapatkan informasi yang lebih detail tentang terjadinya oksidasi pada protein maka penelitian ini perlu dilanjutkan dengan melakukan kajian terhadap profil protein serta komposisi asam amino.

### Daftar Pustaka

- Adams.S, Green.P, Claxton.R,Simcox.S,Wiliams.M.V, Walsh.K, Leeuwenburgh.C. 2001. Reactive Carbonyl Formation by Oxidative and Nonoxidative Pathways. *Bioscience* 6, a 17 –24.
- Andersen.H.J., Odstal.H., 2001. Protein oxidation in foods : Mecahnism and implications. Dept.of Animal. Products Quality.. Danish Institute of Agriculture Science.Denmark.
- Bellevile-Nabet.F, 1996. Zat Gizi Antioksidan Penangkal Senyawa Radikal Pangan Dalam Sistim Biologis. Prosiding Seminar Senyawa Radikal dan Sistim Pangan. Jakarta.
- Davies.K.J.,Delsignore M.E, 1987. Protein damage and degradation by oxygen radicals.I.General aspects, *J.Biol.Chem.* 262(20): 9895 –9901.
- Davies.M.J., 2003. Protein oxidation : Concepts, mechanism & new insight. [http://www.medicine.uiowa.edu/frb/SFRS/protein\\_ox.ppt](http://www.medicine.uiowa.edu/frb/SFRS/protein_ox.ppt).

- Dean.R.T, Shanlin F.U., Stocker.R., Davies M.J, 1997. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem.J.* 324:1 – 18.
- Estevez.M, Ventanas.S, Cava.R, 2005. Protein Oxidation in Frankfurters with Increasing Levels Added Rosemary Essential Oil: Effect on Color and Texture deterioration. *J.Food Science.* Vol. 70 (7). p: c427 – c432
- Huggins.T.G, Knecht M.C.W, Delories. N.A, Bayner. J.W., Thorpe.S, 1993. Formation of O- tyrosine and dytyrosine in protein during radiolytic and metal catalyzed oxidation. *J.Biol.Chem.* Vol 268 : 12341 - 12347.
- Koscha.T, Yamaguchi M., Ohitaki H., Fukuda T., Aoyagi T., 1997. Hidrogen peroxida-mediated degradation: different oxidation modes of Copper- and Iron dependent hydroxy radicals on the degradation of albumin. *Biochim.Biophys.Acta.* 1337(2):319-26. <http://www.Entrez.PubMedz.htm>
- Leeuwenburgh.C., Hansen P., Shaish A., Holloszhy J., Heinecke J.W., 1988. Markers of protein oxidation by hydroxy radical and reactive nitrogen species in tissues of aging rats. *Am.J.Physiol.* 274:R453-R461.
- Marx.G., Chevion M., 1986. Site-specific modification of albumin by free radicals. Reaction with Copper(II) and ascorbate. *Biochem. J.* 236: 397 – 400.
- Miura.T., Muraoka S., Ogiso. T., 1992. Oxidative damage to BSA induces by hydroxy radical generating systems of Xanthine oxidase + EDTA + Fe(III) and Ascorbate + EDTA + Fe(III). *Chem.Biol.Interact.* 85(2-3):243-54.
- Nakhost.Z, Karel.M, 1983. Changes in Bovine Myoglobin Due to Interaction with Methyl Linoleate in a Model System. *J.Food, Science.* Vol 48. p: 1335 – 1339.
- Sri Rahardjo, 2004. Kerusakan Oksidatif Pada Makanan. Pusat Studi Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta
- Sikorski. Z.E. 1990. *Seafood : Resource, Nutritional composition and preservation.* CRC Press Inc., Boca Rotan Florida. p: 39
- Spinelli. J, Dassow J.D., 1982. Fish proteins : Their modification and potential uses in the food industry. In *Chemistry & Biochemistry of Marine Food Products* Edited by R.E.Martin, G.J.Flick, C.E.Hebard.D.R.Ward. Avi Publishing Company. Westport. Connecticut.
- Stadman.E.R., Oliver C.N., 1991. Metal catalyzed oxidation of protein. *J.Biol.Chem.* Vol 262.(4): 2005 – 2008
- Wolf.S.P., Dean R.T., 1986. Fragmentation of proteins by free radicals and it's effect on their susceptibility to enzymic hydrolysis. *Biochem.J* 234 (2):399-403.
- Yan.L.J, Lodge.J.K, Traber.M.G, Matsugo.S, Packer.L, 1997. Comparison between copper-mediated and hypochlorite-mediated modifications of human low density lipoproteins evaluated by carbonyl formation. *J.Lipid Research.* Vol 38.p: 992 – 1001.