

# SKRIPSI

## POTENSI PROTEASE BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) *Pediococcus pentosaceus* SEBAGAI PENGEMPUK DAGING



Oleh :

**RIA SYLVIANA SISWATY**

**NIM 060911262**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2013**

MILIK PERPUSTAKAAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA - SURABAYA

**POTENSI PROTEASE BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) *Pediococcus  
pentosaceus* SEBAGAI PENGEMPUK DAGING**

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

**RIA SYLVIANA SISWATY**

NIM 060911262

Menyetujui  
Komisi Pembimbing,

Pembimbing I



Dr. Hj. Sri Mulyati, drh., M.Kes  
NIP.196106111988032001

Pembimbing II



Dr. Nenny Harijani, drh., M.Si  
NIP. 195806021988032001

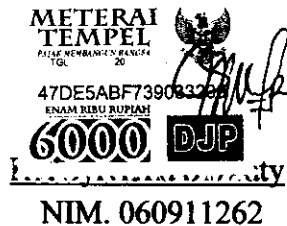
## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul

### **Potensi Protease Bakteri Asam Laktat (BAL) *Pediococcus Pentosaceus* Sebagai Pengempuk Daging**

tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang sepengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 13 September 2013



Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal: 27 Agustus 2013

**KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN**

Ketua : Budiarto., drh., M.P.  
Sekretaris : Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH.  
Anggota : Hasutji Endah Narumi., drh., M.P.  
Pembimbing Utama : Dr. Hj. Sri Mulyati, drh., M.Kes.  
Pembimbing Serta : Dr. Nenny Harijani., drh., M.Si.

Telah diuji pada

Tanggal: 13 September 2013

**KOMISI PENGUJI SKRIPSI**

Ketua : Budiarto., drh., M.P.  
Sekretaris : Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH.  
Anggota : Hasutji Endah Narumi., drh., M.P.  
Pembimbing Utama : Dr. Hj. Sri Mulyati, drh., M.Kes.  
Pembimbing Serta : Dr. Nenny Harijani., drh., M.Si.

Surabaya, 13 September 2013  
Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Airlangga  
Dekan,  
  
Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D., drh.  
NIP. 195312161978062001

**POTENCY OF LACTIC ACID BACTERIA (LAB) *Pediococcus pentosaceus*  
PROTEASE AS MEAT TENDERIZER**

Ria Sylviana Siswaty

**ABSTRACT**

Meat quality that will consume is can be increased with adding protease. The aims of this research is studying meat tenderize use protease from *Pediococcus pentosaceus*. The research steps is isolation then producing protease and next step is measuring meat tenderized. Aplication protease in meat had been did according postmortem by injected 0.5 ml protease in meat that have weight is 25 g. Studying effect of consentration and time incubated to meat tenderized was did treatment, enzyme variation concentration is 1/3 of early enzyme concentration, 2/3 of early enzyme concentration, enzyme with full consentration and inactive enzyme; incubation time is 0, 20, 40 and 60 minutes. The value of meat tenderized measured by penetrometer. The research result showed that *Pediococcus pentosaceus* was could producing extracellular protease enzyme. The value of meat tenderized had been effected by consentration and time incubation. The best value of meat tenderized that was found in the treatment with consentration 3/3 and incubated during 60 minutes is 9 mm/0.2 J .

**Key words:** protease enzyme, *Pediococcus pentosaceus*, meat tenderized.

↓

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur Kehadirat Allah SWT atas karunia yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi dengan judul **Potensi Protease Bakteri Asam Laktat (BAL) *Pediococcus Pentosaceus* Sebagai Pengempuk Daging.**

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Hj. Romziah Sidik B, drh., Ph.D. atas kesempatan mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Dr. Hj. Sri Mulyati, drh., M.Kes selaku pembimbing pertama dan Dr. Nenny Harijani, drh., M.Si atas saran dan bimbingan sampai dengan selesainya skripsi ini.

Budiarto., drh., M.P. selaku ketua penguji, Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH. Selaku sekretaris penguji dan Hasutji Endah Narumi., drh., M.P. selaku anggota penguji.

Rudy Sukanto S, M.Sc., drh selaku dosen wali atas saran dan bimbingannya selama penulis menuntut ilmu.

Seluruh staf pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Airlangga

Kedua orang tua tercinta Moh. Siswantoyo dan Baiq Rachmawaty yang telah memberikan segalanya, bantuan do'a, dorongan, kasih sayang dan semangat. Adik-adikku Moh. Rio Rahmanto, Karina, Khalila dan Helmalia terimakasih telah menjadi semangat dan Inspirasi.

Seluruh Keluarga besar lek Sul, bulek Ani, adik Ari yang telah membimbing dan memberikan dorongan semangat selama menempuh studi.

Sahabat tercinta Diyah Ayu Ratnasari atas bantuan do'a, semangat dan telah menuangkan warna dalam persahabatan selama menjadi mahasiswa baru hingga sekarang .

Seluruh keluarga besar Mien R. Uno Foundation, ibu Mien Uno, pak Sandiaga Uno, pak Indra Uno, pak Arif, pak Haris, pak Nanang, dan teman-teman Mien R. Uno Foundation Angkatan IV yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu terimakasih telah membagi perjalanan inspiratif dan menjadi keluarga baru yang bermanfaat untuk bangsa.

Mas Fahrizal Aji Cahyadi, S.Kom yang banyak memberikan nasehat, motivasi dan menjadi inspirasi dalam mewujudkan cita-cita.

Teman-teman yang telah membantu lancarnya proses penelitian, Syifa, Aulia, Eca, Khotijah, Santi, Dina, Bebe, Helga, Bagus Ryan mas Yanuar, Mas Deni pak Pri, pak Di giras, bu Sukipa. Seluruh Teman-teman kelas C dan teman-teman Angkatan



2009 yang telah berbagi ilmu selama menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan serta semua pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu-persatu.

Penulis menyadari bahwa penyusunan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan segala kritik dan saran yang sifatnya membangun dari semua pihak. Akhirnya, semoga skripsi ini bermanfaat bagi semua pihak yang membutuhkan.

Surabaya, 13 September 2013

Penyusun

## DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRACT .....	iii
UCAPAN TERIMA KASIH .....	iv
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR LAMPIRAN .....	xi
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG .....	xii
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang Masalah .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	3
1.3. Landasan Teori .....	3
1.4. Tujuan Penelitian .....	5
1.5. Manfaat Penelitian .....	5
1.6. Hipotesis .....	6
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Protease .....	7
2.2 Bakteri Asam Laktat.....	9
2.3 <i>Pediococcus pentosaceus</i> .....	11
2.4 Daging .....	13
2.4.1 Keadaan Fisik Daging .....	14
2.4.2 Komposisi Daging .....	17
2.4.2.1 Protein .....	18
2.4.2.2 Lemak .....	19
2.4.2.3 Kolesterol .....	19
2.4.2.4 Vitamin dan Mineral .....	19
2.4.2.5 Zat besi .....	20
2.5 Struktur Mikroskopis Daging .....	20
2.5.1 Otot .....	21
2.5.2 Jaringan Ikat .....	22
2. 6 Keempukan Daging .....	24
<b>BAB 3 MATERI DAN METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	25
3.2 Bahan dan Materi Penelitian .....	25
3.3 Metode Penelitian .....	25
3.3.1 Persiapan Alat dan Bahan .....	25
3.3.2 Sampel .....	26
3.3.3 Pembuatan Media Agar Susu .....	26

3.3.4 Uji Aktivitas Protease Secara Kualitatif .....	26
3.3.5 Ekstraksi Enzim Protease Kasar .....	26
3.3.6 Aplikasi Ekstrak Enzim .....	27
3.3.7 Pemeriksaan Keempukan .....	27
3.4 Peubah yang Diamati .....	28
3.4.1 Variabel Bebas .....	28
3.4.2 Variabel Tergantung .....	28
3.4.3 Variabel Kendali .....	28
3.5 Rancangan Penelitian .....	28
3.6 Analisis Data .....	28
3.7 Skema Penelitian .....	29
BAB 4 HASIL PENELITIAN .....	30
4.1 Keempukan Daging .....	30
BAB 5 PEMBAHASAN .....	33
5.1 Aktivitas Protease Secara Kualitatif .....	33
5.2 Proses Produksi Enzim Protease .....	33
5.3 Keempukan Daging .....	35
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN .....	38
6.1 Kesimpulan .....	38
6.2 Saran .....	38
RINGKASAN .....	39
DAFTAR PUSTAKA .....	42
LAMPIRAN .....	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 <i>Pediococcus pentosaceus</i> .....	13
Gambar 2.2 Struktur Mikroskopis daging .....	11
Gambar 2.3 Sarkomer Otot .....	23
Gambar 3.1 Skema Penelitian .....	29
Gambar 4.1 Grafik hubungan antara konsentrasi enzim dan nilai keempukan daging.....	31
Gambar 4.1 Grafik hubungan antara waktu inkubasi dan nilai keempukan daging.....	32

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Komposisi beberapa zat gizi daging sapi setiap 100 gr.....	17
Tabel 4.1 Rerata keempukan daging yang ditambahkan enzim dari bakteri asam laktat (BAL) <i>Pediococcus pentosaceus</i> .....	30

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil pengukuran keempukan daging menggunakan penetrometer pada daging .....	46
2. <i>Case Sumarise</i> .....	48
3. Hasil uji <i>Multiple Analysis of Variance</i> (Manova) dan uji BNT keempukan daging.....	49
4. Perhitungan konsentrasi ekstrak enzim .....	52
5. Ciri pertumbuhan dari sifat fisiologi biakan <i>Pediococcus pentosaceus</i>	53
6. Reidentifikasi pertumbuhan dari sifat fisiologi biakan <i>Pediococcus pentosaceus</i> .....	54
7. Bahan yang digunakan .....	55
8. Alat yang digunakan .....	57
9. Gambar pelaksanaan penelitian .....	60
10. Perbandingan standart Mc Farland .....	63
11. Peremajaan kultur bakteri pada media MRS agar .....	65
12. Hasil pengamatan zona bening .....	66

## SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

ATP	= Adhenosine Triphospat
BAL	= Bakteri Asam Laktat
°C	= Derajat Celcius
cm	= Centimeter
gr	= Gram
K	= Kalium
Ca	= Calsium
kDa	= Kilodalton
mg	= Miligram
mol	= <i>Molecular weight</i> (berat molekul)
Mg	= Magnesium
pH	= <i>Power of Hydrogen</i>
PMF	= Proton Motive Force
WHC	= <i>Water Holding Capacity</i>
( $\psi$ )	= Potensial membran
%	= Persen
nm	= Nanometer
mm	= Milimeter
MRS	= de Mann Rogosa Sharpe
U	= Unit

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**



## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Daging merupakan bahan pangan dengan kandungan nutrisi yang diperlukan bagi pertumbuhan dan perkembangan sel-sel tubuh manusia. Daging sebagai sumber protein memiliki sejumlah asam amino esensial memiliki nilai biologis dan pencernaan yang baik (Lawrie, 2003). Bagi sebagian masyarakat daging dianggap sebagai menu makanan yang istimewa. Salah satu alasannya adalah tingginya harga daging. Sedangkan daging murah memiliki kualitas rendah dan ketiutannya tinggi. Sebagai konsumen, masyarakat tentu menginginkan harga murah dengan kualitas bagus. Daging yang murah dengan kualitas rendah dapat menjadi daging berkualitas bagus yaitu yang mempunyai kemampuan bagus melalui penambahan enzim protease (Shiddieqy, 2005).

Salah satu penilaian mutu daging adalah kemampuan, yaitu sifat mudahnya dikunyah. Faktor yang mempengaruhi kemampuan daging berhubungan dengan komposisi daging, yaitu berupa tenunan pengikat, serabut daging, sel-sel lemak yang ada diantara serabut daging serta rigor mortis daging yang terjadi setelah ternak dipotong. Daging sapi yang dikonsumsi masyarakat kebanyakan liat konsistensinya karena bukan berasal dari ternak potong khusus tipe pedaging. Selain itu, daging tersebut belum dilayukan sehingga konsistensinya masih liat karena masih mengalami proses rigor mortis (Price & Schweigert 1971).

Penggunaan enzim proteolitik (protease) untuk mengatasi daging liat merupakan cara yang sederhana, mudah untuk dilakukan, dan sudah dilakukan sejak dulu. Di Indonesia kebutuhan akan enzim protease juga semakin meningkat, namun kebutuhan ini masih bergantung pada produksi impor. Salah satu cara mengantisipasi ketergantungan terhadap produksi impor tersebut perlu adanya usaha untuk memproduksi enzim protease (Ferdian, 2006). Enzim protease yang telah lama digunakan untuk pengempukan daging terutama berasal dari buah pepaya (papain), nenas (bromelin) dan getah pohon ficus (fisalin) ([www.poultryindonesia.com](http://www.poultryindonesia.com)). Tetapi dengan makin majunya teknologi, enzim protease yang diproduksi dari tanaman banyak ditinggalkan karena kurang ekonomis. Produksi protease sekarang ini beralih pada mikroba.

Sumber enzim adalah organisme hidup: tanaman, hewan dan mikroba, karena fungsi enzim dari mikroba mempunyai kecenderungan lebih banyak dipakai saat ini disebabkan beberapa alasan antara lain adalah kemudahan pertumbuhan, produktivitas yang tinggi, sifat yang dapat diubah ke arah yang lebih menguntungkan dan berkembangnya pengetahuan mengenai teknik fermentasi, mutasi dan rekayasa genetik (Ferdian, 2006).

Bakteri asam laktat (BAL) pada umumnya menghasilkan protease yang mampu memecah protein menjadi asam laktat (Sari, 2011). Beberapa isolat BAL diketahui menghasilkan protease sebagai hasil metabolisme (Bettahe *et al*, 2012). Genus bakteri yang tergolong kepada BAL adalah *Carnobacterium*, *Enterococcus*,

*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Propionibacterium* yang mempunyai potensi untuk digunakan sebagai probiotik (Nettles dan Barefoot, 1993).

*Pediococcus pentosaceus* diketahui mampu menghasilkan enzim proteolitik yang berfungsi sebagai pengurai protein (Yunenshi, 2011). Selanjutnya Nurrahmi (2008) mengemukakan aktifitas enzim proteolitik dapat menyebabkan perubahan dalam struktur sarkomer daging dan berpengaruh dalam keempukan daging.

Penelitian sebelumnya telah diketahui bahwa isolat *Pediococcus pentosaceus* hasil fermentasi sirsak mampu menghasilkan enzim protease. Pengukuran aktivitas proteolitik yang telah dilakukan didapatkan nilai sebesar 0,501 U/ml (Suri dkk, 2013). Tetapi aktivitas proteasenya belum pernah diujikan secara aplikatif.

Penelitian ini bertujuan untuk memproduksi enzim protease dari bakteri asam laktat (BAL) *Pediococcus pentosaceus* dan mempelajari pengaruh konsentrasi enzim dan waktu inkubasi terhadap kerja protease *Pediococcus pentosaceus* sebagai pengempuk daging.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah yang dapat disajikan adalah apakah pemberian enzim protease dari bakteri asam laktat (BAL) *Pediococcus pentosaceus* berpengaruh terhadap keempukan daging ?

## 1.3 Landasan Teori

Keempukan merupakan faktor penting penentu kualitas daging. Persepsi keempukan selama mastikasi terkait dengan aspek- aspek: kelumatan terhadap lidah

dan pipi yang sangat bervariasi, ketahanan terhadap tekanan gigi yang berhubungan dengan daya yang dibutuhkan untuk menusukkan gigi kedalam daging. Kemudahan fragmentasi dengan daya yang dibutuhkan untuk menusukkan gigi ke dalam daging. Kemudahan fragmentasi yaitu ekspresi kemampuan gigi memotong serabut-serabut otot, dan jumlah residu setelah pengunyahan yang dapat dideteksi sebagai jaringan ikat yang tertinggal setelah hampir seluruh sampel terkunyah yang berasal dari perimisial atau epimisial (Nurwanto, 2003). Keempukan daging ini berkaitan dengan struktur dan panjang dari sarkomer. Beberapa proteinase dalam daging memegang peranan penting dalam degradasi protein (Koochmarie, 1994).

Untuk membantu meningkatkan keempukan daging dapat dilakukan penambahan protease dari luar. Pengempukan daging dengan pemberian enzim proteolitik disebabkan karena terjadinya proteolisis pada berbagai fraksi protein daging. Proteolisis kolagen menjadi hidrosiprolin mengakibatkan *shear force* kolagen berkurang sehingga keempukan daging meningkat (Fogle *et al.*, 1982).

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk menguji aktivitas proteolitik protease intraselular dan ekstraseluler dari beberapa bakteri asam laktat (BAL) seperti *Lactobacillus bulgaricus*, *Bacillus licheniformis*, dan *Streptococcus thermophilus* (Suri *et al.*, 2013).

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri gram-positif yang mampu mengubah karbohidrat menjadi asam laktat. BAL pada umumnya menghasilkan protease yang mampu memecah protein menjadi asam laktat. Protease

adalah enzim yang dapat mendegradasi substrat protein menjadi asam amino (Sari, 2011).

Beberapa isolat BAL diketahui menghasilkan protease sebagai hasil metabolisme (Bettahe *et al*, 2012), Genus bakteri yang tergolong kepada BAL adalah *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Propionibakterium* (Nettles dan Barefoot, 1993).

*Pediococcus pentosaceus* mempunyai kemampuan menghasilkan agen antimikroba serta penggunaannya dalam pengawetan makanan (Osmanagaoglu *et al.*, 2011). Disamping itu *Pediococcus pentosaceus* diketahui mampu menghasilkan enzim proteolitik yang berfungsi sebagai pengurai protein (Yunenshi, 2011). Selanjutnya Nurrahmi (2008) mengemukakan aktifitas enzim proteolitik dapat menyebabkan perubahan dalam struktur sarkomer daging dan berpengaruh dalam keempukan daging. *Pediococcus* adalah mikroba berbentuk *coccus*, gram positif, tidak membentuk spora, tidak bergerak (non-motil) dan dikategorikan sebagai bakteri asam laktat, karena produk akhir metabolisme adalah asam laktat (Osmanagaoglu *et al.*, 2011).

#### 1.4 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi enzim protease dari bakteri asam laktat (BAL) *Pediococcus pentosaceus* sebagai pengempuk daging.

### **1.5 Manfaat Penelitian**

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi salah satu alternatif untuk memproduksi enzim protease secara komersial.

### **1.6 Hipotesis Penelitian**

Berdasarkan rumusan masalah, maka hipotesis penelitian yang dapat disajikan adalah bahwa pemberian enzim protease dari Bakteri Asam laktat (BAL) *Pediococcus pentosaceus* berpengaruh terhadap keempukan daging.

## **BAB 2**

# TINJAUAN PUSTAKA

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Protease

Enzim merupakan molekul polimer yang beragam yang dihasilkan oleh sel hidup. Keragaman ini bukan hanya bentuk dan ukurannya tetapi juga peranannya dalam sel. Molekul ini disintesis dalam sel, dapat mempercepat suatu reaksi termodinamika, sehingga kecepatan reaksi dapat berjalan sesuai dengan reaksi biokimia yang dibutuhkan untuk mengatur kehidupan (Girindra, 1990).

Daya katalitik enzim jauh melebihi katalisator sintetik, spesifitas enzim terhadap substratnya sangat tinggi, mempercepat reaksi kimia spesifik tanpa pembentukan produk samping. Selain itu molekul ini dapat berfungsi dalam larutan encer pada keadaan suhu dan pH normal. Hanya sedikit katalisator non biologi yang dilengkapi sifat-sifat seperti ini (Palmer, 1981).

Protease merupakan kelompok enzim yang menurut *International Unit* (IUB) dimasukkan ke dalam kelompok hidrolase pemecah protein (Kelompok ke III dan sub kelompok IV). Enzim ini menggunakan air sebagai akseptor dalam pemindahan gugus-gugus yang terpotong. Enzim ini sering disebut enzim proteolitik atau peptidase (Lehninger 1993 ; Ferdian, 2006).

Protease memegang peranan utama di dalam banyak fungsi hayati, mulai dari tingkat sel, organ, sampai organisme, yaitu dalam melangsungkan reaksi metabolisme, fungsi regulasi dan reaksi-reaksi yang menghasilkan sistem berantai untuk menjaga keadaan normal tubuh. Protease ekstraseluler diperlukan makhluk hidup untuk menghidrolisis nutrisi protein menjadi peptide kecil dan asam amino,



sehingga mudah diserap dan dimanfaatkan oleh sel dalam tubuh. Protease intraseluler bertanggung jawab terhadap degradasi proteolitik secara cepat dan *irreversible* bagi protein sel yang tidak diperlukan lagi, atau protein abnormal yang tidak bermanfaat bahkan mengganggu metabolisme sel (Ferdian, 2006).

Protease juga memiliki peran sangat penting dalam berbagai bidang kehidupan. Industri pembuatan keju, bir sari buah, gula pasir, kertas, makanan, detergen sampai pada terapi penyakit semuanya memanfaatkan peran enzim ini. Berdasarkan cara kerjanya, Palmer (1981) dalam Ferdian (2006), menyebutkan proteolisis terbagi menjadi dua, yaitu 1) proteolisis terbatas, yang memecah hanya satu atau beberapa ikatan peptida tertentu dari sebuah protein target. Contohnya adalah perubahan prohormon menjadi hormon. 2) Proteolisis tak terbatas, yaitu mendegradasi protein menjadi asam amino penyusunnya.

Berdasarkan mekanisme katalitiknya, protease dapat dibagi menjadi empat, yaitu (1) Protease serin, (2) Protease sistein, (3) Protease aspartat, (4) Protease Logam (Sadikin, 2002). Golongan protease serin memiliki asam amino serin pada sisi katalitiknya. Jika asam amino serin ini dimodifikasi dengan memfosforilasi gugus – OH asam amino serin tersebut maka aktivitas enzimatis akan lenyap (Sadikin, 2002).

Golongan ini terdiri dari dua kelompok yang berbeda. Kelompok kimotripsin yang meliputi enzim-enzim mamalia dan kelompok subtilisin yang meliputi enzim bakteri. Struktur dari kedua kelompok ini berbeda tetapi memiliki geometri sisi aktif yang sama (Ward, 1985). Protease sistein, sifat katalitik kelompok enzim ini ditentukan oleh asam amino sistein. Enzim ini tidak akan hilang aktivitasnya dengan

fosforilasi tetapi akan hilang kemampuan katalitiknya dengan alkilasi. Contoh enzim ini adalah bromelin, papain dan katerpin (Sadikin, 2002). Protease jenis ini mempunyai aktivitas optimal pada pH netral, dan sangat dipengaruhi oleh logam pengkelat.

Protease sistein dibagi menjadi dua golongan berdasarkan spesifitasnya. Klostripain, yang dihasilkan oleh *Clostridium histolyticum* menunjukkan spesifitas yang kuat terhadap asam amino utama karboksil pada situs pemutusan, sedangkan protease sterptokal memperlihatkan spesifitas terhadap substrat-substrat sintetik dari insulin peroksida (Ward, 1985).

Protease aspartat, Enzim ini memiliki urutan asam amino yang kaya akan aspartat dan glutamat. Asam aspartat diperlukan keberadaanya ditempat interaksi dengan molekul. Jika aspartat di tempat tersebut diubah menjadi amida maka sifat katalitik enzim akan hilang. Protease aspartat sering disebut juga protease karboksil, karena memerlukan gugus karboksil bebas dalam residu asam amino tertentu yang ada di bagian enzim tersebut berinteraksi dengan protein substrat dan memecahnya. Banyaknya asam amino asam ini juga menerangkan, mengapa protease golongan ini bekerja pada pH rendah (Sadikin, 2002), yaitu berkisar antara 2-6 dan memiliki titik isolistrik pada selang pH 3-5. Contoh enzim ini adalah kelompok pepsin yang meliputi enzim-enzim pencernaan seperti pepsin, kimosin dan renin (Ward, 1985).

Protease logam atau metaloprotease, memerlukan adanya logam untuk aktivitasnya. Enzim ini berperan penting dalam sel-sel fagosit, seperti leukosit dan makrofag. Enzim ini berperan penting dalam perusakan rawan sendi dalam penyakit-

penyakit sendi (Sadikin, 2002). Kelompok metaloprotease Zn, merupakan salah satu kelompok protease yang sering ditemukan pada bakteri dan jamur.

## 2.2 Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri gram-positif yang mampu mengubah karbohidrat menjadi asam laktat. Asam laktat yang dihasilkan BAL dapat memberikan efek bakteriosidal untuk bakteri lain karena dapat menurunkan pH lingkungan menjadi 3 sampai 4,5 sehingga pertumbuhan bakteri termasuk bakteri pembusuk akan terhambat. Bakteri asam laktat (BAL) secara luas digunakan sebagai starter untuk fermentasi minuman, daging dan sayuran. Selain itu berperan sebagai bahan *flavor* dan pengembang warna. Mikroorganisme ini berperan dalam perubahan tekstur, aroma, warna, pencernaan dan kualitas nutrisi produk fermentasi (Kusmiati dan Malik, 2002).

Bakteri asam laktat termasuk mikroorganisme yang aman jika ditambahkan dalam pangan karena sifatnya tidak toksik dan tidak menghasilkan toksin, maka disebut *food grade microorganism* atau dikenal sebagai mikroorganisme yang *Generally Recognized As Safe (GRAS)* yaitu mikroorganisme yang tidak beresiko terhadap kesehatan, bahkan beberapa jenis bakteri tersebut berguna bagi kesehatan. BAL bermanfaat untuk peningkatan kualitas *higiene* dan keamanan pangan melalui penghambatan secara alami terhadap flora berbahaya yang bersifat patogen (Kusmiati dan Malik, 2002).

BAL termasuk bakteri yang bersifat gram positif, tidak membentuk spora, toleran terhadap asam, dapat tumbuh dengan atau tanpa oksigen, memfermentasi gula

menjadi asam laktat, tidak bergerak dan sebagian besar bersifat katalase negative (Putri, 2007). Bakteri asam laktat yang termasuk famili *Streptococcaceae* yaitu *Leuconostoc*, *Streptococcus*, dan *Pediococcus*, dan famili *Lactobacillaceae* yaitu *Lactobacillus*.

### **2.3 *Pediococcus pentosaceus***

Kerajaan : *Bacteria*

Divisi : *Firmicutes*

Kelas : *Bacili*

Ordo : *Lactobacillales*

Famili : *Lactobacillaceae*

Genus : *Pediococcus*

Spesies : *Pediococcus pentosaceus*

Sumber : <http://en.m.wikipedia.org/wiki/pediococcus>

Bakteri *Pediococcus pentosaceus* sering ditemukan pada daging, susu dan sayuran. *Pediococcus* pada umumnya berbentuk kokus berpasangan atau tetrad/bergerombol, gram positif, tetapi beberapa spesies lainnya berbentuk rantai pendek. Bakteri ini bersifat homofermentatif, yaitu memecah gula menjadi asam laktat sampai konsentrasi 0,5 – 0,9%, dan tumbuh baik pada konsentrasi garam mencapai 5-5%. Bakteri ini berbentuk bulat, bersifat katalase negatif dan mikroaerofilik. *Pediococcus pentosaceus* termasuk golongan fakultatif anaerob dan untuk hidup memerlukan lingkungan yang kaya nutrisi serta gula yang dapat difermentasi (Victoria, 2008).

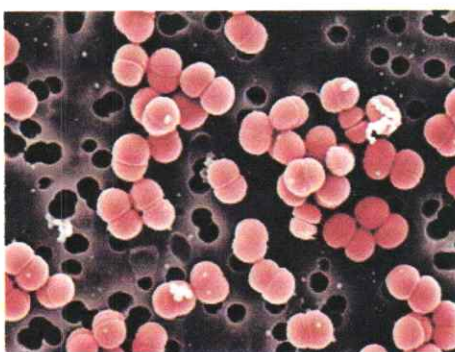
Temperatur untuk pertumbuhannya antara 7° – 45°C dengan suhu optimum pertumbuhannya 25° – 32°C (Frazier dan Westhoff, 1988). *Pediococcus pentosaceus* merupakan industri penting karena kemampuannya sebagai kultur starter untuk fermentasi makanan seperti berbagai olahan daging, sayuran dan keju. *Pediococcus pentosaceus* bakteri yang sedang dibudidayakan dan diteliti karena kemampuannya untuk memproduksi antimikroba (bakteriosin) serta penggunaan pengawetan makanan. Species utama dari *Pediococcus* adalah *Pediococcus cerevisiae*, *P. halophilus*, *P. pentosaceus* dan *P. acidilactici*.

Daging dan produk olahan daging merupakan habitat yang disukai oleh beberapa galur *Pediococcus*. Saat tumbuh pada daging, *Pediococcus* dapat menghasilkan diasetil yang berperan sebagai antimikroba namun juga dapat menghilangkan rasa makanan dalam jumlah kecil. Genus *Pediococcus* banyak terlibat dalam fermentasi bagian tanaman, diantaranya adalah *P. acidilactici*, *P. dextrinicus*, *P. inopinatus*, *P. parvulus* dan *P. pentosaceus* (Kristianingtyas, 2012).

Sejak tahun 1985, telah diteliti bahwa kemampuan *Pediococcus spp* untuk membunuh mikroorganisme pembusuk dan patogen dalam fermentasi daging dikarenakan kemampuannya menghasilkan asam organik. Selain itu fermentasi dengan bakteri ini juga meningkatkan kestabilan makanan dalam masa penyimpanan dan menghasilkan produk yang lebih banyak mengandung protein ( Yiu *et al.*, 1994).

Senyawa antimikroba yang dapat diproduksi oleh BAL adalah hidrogen peroksida, asam lemah, reuterin, dan diasetil. Senyawa-senyawa tersebut juga berfungsi untuk memperlama masa simpan dan meningkatkan keasaman produk

pangan. BAL menghasilkan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) untuk melindungi selnya terhadap keracunan oksigen (Kristianingtyas, 2012).



Gambar 2.1 *Pediococcus pentosaceus*  
Sumber : (Kunkel, 2007).

### 2.3 Daging

Daging adalah sekumpulan otot yang melekat pada kerangka. Istilah daging berbeda dengan karkas. Daging adalah bagian yang sudah tidak mengandung tulang, sedangkan karkas berupa daging yang belum dipisahkan dari tulang-tulangannya. Jadi daging adalah komponen utama karkas Karkas sapi tersusun dari lemak jaringan adipose, tulang, tulang rawan, jaringan ikat dan tendo. Kuantitas dan kualitas daging sangat ditentukan oleh komponen-komponen karkas tersebut. Berdasarkan keadaan fisiknya, daging dapat dikelompokkan menjadi : (1) daging segar yang dilayukan atau tanpa pelayuan; (2) daging segar yang dilayukan kemudian didinginkan (daging dingin); (3) daging segar yang dilayukan, didinginkan, kemudian dibekukan (daging beku); t4) daging masak; (5) daging asap dan (6) daging olahan (Soeparno, 1992).

Daging merupakan bahan pangan yang penting dalam memenuhi kebutuhan gizi. Selain mutu proteinnya tinggi, pada daging terdapat pula kandungan asam amino

esensial yang lengkap dan seimbang. Dari tingkat kealotan daging merupakan sekumpulan otot yang melekat pada kerangka. Istilah daging dibedakan dengan karkas. Daging adalah bagian yang sudah tidak mengandung tulang, sedangkan karkas berupa daging yang belum dipisahkan dari tulang atau kerangkanya. Keunggulan lain, protein daging lebih mudah dicerna dibanding protein yang berasal dari nabati (Pabita, 2011).

### **2.3.1 Keadaan Fisik Daging.**

Aktivitas mikroorganisme dipengaruhi oleh sifat fisik daging diantaranya besar kecilnya karkas, potongan karkas, bentuk daging cacahan, daging giling dan perlakuan *processing* (Soeparno, 1998). Kerusakan pada daging ditandai dengan perubahan bau dan timbulnya lendir. Biasanya kerusakan ini terjadi jika jumlah mikroba menjadi jutaan atau ratusan juta ( $10^6 - 10^8$ ) sel atau lebih per 1 cm<sup>2</sup> luas permukaan daging. Kerusakan mikrobiologi pada daging terutama disebabkan oleh pertumbuhan bakteri pembusuk dengan tanda-tanda sebagai berikut: (1) pembentukan lendir, (2) perubahan warna, (3) perubahan bau menjadi busuk karena pemecahan protein dan terbentuknya senyawa-senyawa berbau busuk seperti amonia, H<sub>2</sub>S, dan senyawa lain-lain, (3) perubahan rasa menjadi asam karena pertumbuhan bakteri pembentuk asam, (4) ketengikan yang disebabkan pemecahan atau oksidasi lemak daging (Anonim, 2001).

Diantara individu konsumen mempunyai nilai akseptansi yang berbeda, tergantung pada faktor fisiologis dan sensasi organoleptik. Faktor yang ikut menentukan kelezatan dan daya terima daging yang dikonsumsi, antara lain adalah

warna, daya ikat air oleh protein daging (Water Holding Capacity / WHC), kadar jus atau cairan daging, tekstur dan keempukan, bau dan cita rasa atau *flavor* dan aroma serta pH. Kesukaan konsumen terhadap daging banyak ditentukan oleh keempukan dan cita rasanya. Mutu organoleptik daging sapi didasarkan atas lokasi-lokasi tertentu pada kerangka tubuhnya yang dapat diketahui melalui bagian-bagian daging sapi dari potongan primal karkas sapi (Ariyani, 2005).

Terjadinya fenomena-fenomena seperti variasi perubahan tekstur pasca penyembelihan dan pemotongan perlu dikaji lebih mendalam. Jika dilakukan pentahapan proses yang didasarkan pada urutan proses yang terjadi pasca penyembelihan, proses awal yang terjadi pada daging dikenal dengan istilah pre rigor, kemudian diikuti rigor mortis kemudian diakhiri dengan post rigor atau pasca rigor. Hewan setelah disembelih, proses awal yang terjadi pada daging adalah pre rigor. Setelah hewan mati, metabolisme yang terjadi tidak lagi sebagai metabolisme aerobik tapi menjadi metabolisme anaerobik karena tidak terjadi lagi sirkulasi darah ke jaringan otot. Kondisi ini menyebabkan terbentuknya asam laktat yang semakin lama semakin menumpuk. Akibatnya pH jaringan otot menjadi turun. Penurunan pH terjadi perlahan-lahan dari keadaan normal (7,2-7,4) hingga mencapai pH akhir sekitar 3,5-5,5. Sementara itu jumlah adenosine triphospat (ATP) dalam jaringan daging masih relatif konstan sehingga pada tahap ini tekstur daging lentur dan lunak. Jika ditinjau dari kelarutan protein daging pada larutan garam, daging pada fase pre rigor ini mempunyai kualitas yang lebih baik dibandingkan daging pada fase post rigor. Hal



ini disebabkan pada fase ini hampir 50% protein-protein daging yang larut dalam larutan garam, dapat diekstraksi keluar dari jaringan (Forrest *et al*, 1975).

Karakteristik ini sangat baik apabila daging pada fase ini digunakan untuk pembuatan produk-produk yang membutuhkan sistem emulsi pada tahap proses pembuatannya. Mengingat pada sistem emulsi dibutuhkan kualitas dan jumlah protein yang baik untuk berperan sebagai emulsifier. Tahap selanjutnya yang dikenal sebagai tahap rigor mortis. Pada tahap ini, terjadi perubahan tekstur pada daging. Jaringan otot menjadi keras, kaku, dan tidak mudah digerakkan. Rigor mortis juga sering disebut sebagai kejang bangkai. Kondisi daging pada fase ini perlu diketahui kaitannya dengan proses pengolahan. Daging pada fase ini jika dilakukan pengolahan akan menghasilkan daging olahan yang keras dan alot. Kekerasan daging selama rigor mortis disebabkan terjadinya perubahan struktur serat-serat protein. Protein dalam daging yaitu protein aktin dan miosin mengalami *crosslinking*. Kekakuan yang terjadi juga dipicu terhentinya respirasi sehingga terjadi perubahan dalam struktur jaringan otot hewan, serta menurunnya jumlah ATP dan keratin fosfat sebagai penghasil energi (Muchtadi dan Sugiyono, 1992).

Jika penurunan konsentrasi ATP dalam jaringan daging mencapai 1 mikro mol/gram dan pH mencapai 5,9 maka kondisi tersebut sudah dapat menyebabkan penurunan kelenturan otot. Pada tingkat ATP dibawah 1 mikro mol/gram, energi yang dihasilkan tidak mampu mempertahankan fungsi retikulum sarkoplasma sebagai pompa kalsium, yaitu menjaga konsentrasi ion Ca di sekitar miofilamen serendah mungkin. Akibatnya, terjadi pembebasan ion-ion Ca yang kemudian berikatan

dengan protein troponin. Kondisi ini menyebabkan terjadinya ikatan elektrostatis antara filamen aktin dan miosin (aktomiosin). Proses ini ditandai dengan terjadinya pengerutan atau kontraksi serabut otot yang tidak dapat balik (*irreversible*). Penurunan kelenturan otot terus berlangsung seiring dengan semakin sedikitnya jumlah ATP. Bila konsentrasi ATP lebih kecil dari 0,1 mikro mol/gram, terjadi proses rigor mortis sempurna. Daging menjadi keras dan kaku. Keadaan rigor mortis yang menyebabkan karakteristik daging alot dan keras memerlukan waktu yang cukup lama sampai kemudian menjadi empuk kembali (Nurrahmi, 2008).

Melunaknya kembali tekstur daging menandakan dimulainya fase post rigor atau pasca rigor. Melunaknya kembali tekstur daging bukan diakibatkan oleh pemecahan ikatan aktin dan miosin, akan tetapi akibat penurunan pH. Pada kondisi pH yang rendah (turun) enzim katepsin akan aktif mendesintegrasi garis-garis gelap pada miofilamen, menghilangkan daya adhesi antara serabut-serabut otot. Enzim katepsin yang bersifat proteolitik, juga melonggarkan struktur protein serat otot. Mutu daging dikaitkan dengan aspek konsumsi (*the eating quality of meat*) dipengaruhi oleh beberapa faktor meliputi warna, *water holding capacity* dan *juiciness*, tekstur dan keempukan, odor dan *taste* (Astawan, 2004).

### **2.3.2 Komposisi Daging**

Secara kimiawi daging terdiri dari 4 komponen besar yaitu air, protein, lemak, karbohidrat dan beberapa komponen kecil seperti vitamin, enzim, pigmen dan senyawa flavor. Komponen diatas merupakan unsur pokok yang akan membentuk struktur, tekstur, cita rasa, warna serta nilai gizi daging (Harijani, 1997).

Tabel 2.2 Komposisi beberapa zat gizi daging sapi setiap 100 gr

Zat Gizi	Daging Sapi
Air (gram)	66,0
Protein (gram)	18,8
Energi ( kal )	207,0
Lemak (gram)	14,0
Kalsium (mg)	11,0
Besi (mg)	2,8
Vitamin A (SI)	3,0

Sumber : (SNI, 3932:2008).

### 2.3.2.1 Protein

Komposisi daging relatif mirip satu sama lain, terutama kandungan yang berkisar antara 15 - 20 % dari berat bahan. Protein merupakan komponen kimia terpenting yang ada didalam daging, sama seperti protein susu dan telur yang sangat tinggi mutunya. Sehingga protein sangat dibutuhkan untuk proses pertumbuhan, perkembangan, dan pemeliharaan kesehatan anak balita. Kebutuhan protein pada anak balita 2 – 2,5 gram per kilogram berat badan, sedangkan pada orang dewasa hanya 1 gram per kilogram berat badan (Astawan, 2004).

Protein merupakan komponen bahan kering yang terbesar dari daging. Nilai nutrisi daging yang tinggi ini, disebabkan adanya kandungan asam-asam amino esensial yang lengkap dan seimbang. Asam amino esensial terpenting di dalam daging segar adalah: alanin, glisin, asam glutamat dan histidin. Daging sapi mengandung asam amino leusin, lisin dan valin terang pada daging sapi yang baru diiris bersifat lebih tinggi daripada babi dan domba (Gaman dan Sherrington, 1992).

Selain protein, otot mengandung air, lemak, karbohidrat dan komponen anorganik. Keunggulan lain, protein daging hewani lebih mudah dicerna dibandingkan dengan protein yang berasal dari nabati (Soeparno, 1992).

#### **2.3.2.2 Lemak**

Kadar lemak pada daging berkisar antara 5 – 40 %. Di dalam tubuh manusia kebutuhan lemak dalam tubuh manusia sangat sedikit, lemak berfungsi sebagai cadangan energi apabila suatu saat dibutuhkan. Tetapi jika lemak tubuh tidak terpakai, akan terjadi penumpukan di dalam tubuh manusia dan apabila dibiarkan terus – menerus dapat mengakibatkan kegemukan (obesitas) (Astawan, 2004).

#### **2.3.2.3 Kolesterol**

Daging juga mengandung kolesterol, walaupun dalam jumlah yang lebih rendah dibandingkan dengan bagian jeroan maupun otak, kadar kolesterol daging sekitar 500 mg / 100 gr lebih rendah daripada kolesterol otak (1.800 – 2000 mg / 100 gr) atau kolesterol kuning telur (1.500 mg / 100 gr). Kolesterol memegang peranan penting dalam fungsi organ tubuh. Kolesterol berguna untuk menyusun empedu darah, jaringan otak, serat syaraf, hati, ginjal, dan kelenjar adrenalin. Selain itu kolesterol juga merupakan bahan dasar pembentukan hormon steroid, yaitu progesteron, estrogen, tetosteron, dan kortison. Hormon – hormon tersebut diperlukan untuk mengatur fungsi dan aktivitas biologis tubuh. Kadar kolesterol yang sangat rendah di dalam tubuh dapat mengganggu proses menstruasi dan kesuburan, bahkan dapat menyebabkan kemandulan baik pria maupun wanita (Astawan, 2004).

#### **2.3.2.4 Vitamin dan Mineral**

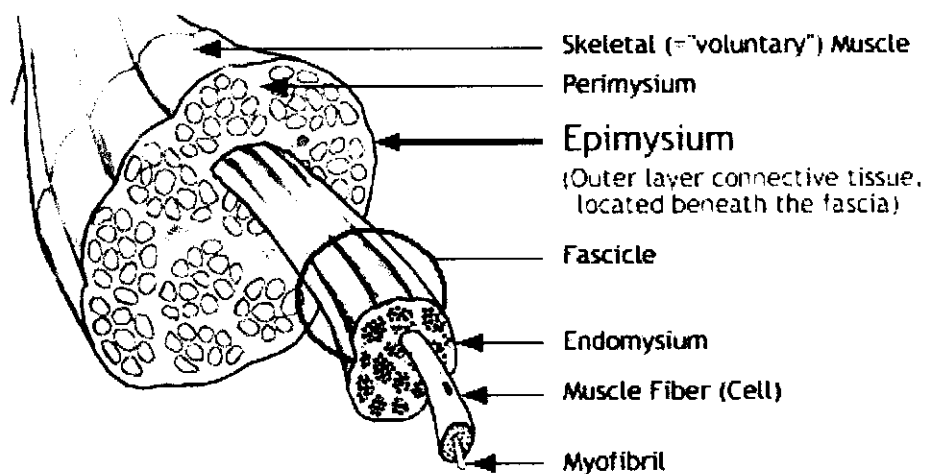
Daging juga merupakan sumber vitamin dan mineral yang sangat baik. Secara umum daging merupakan sumber mineral kalsium, fosfor, dan zat besi serta vitamin B kompleks (niasin, riboflavin dan tianin), tetapi rendah kadar vitamin C. Hati yang lebih dikenal sebagai jeroan mengandung kadar vitamin A dan zat besi yang sangat tinggi (Astawan, 2004).

#### **2.3.2.5 Zat besi**

Zat besi sangat dibutuhkan oleh tubuh kita dalam pembentukan hemoglobin darah yang berguna untuk mencegah timbulnya anemia. Anemia akan berdampak buruk seperti lesu, letih, lelah, tidak bergairah, dan tidak mampu berkonsentrasi, sehingga pada akhirnya akan menurunkan prestasi kita (Astawan, 2004).

#### **2.4 Struktur Mikroskopis Daging**

Daging karkas terdiri dari otot, lemak dan tulang yang terjalin bersama-sama oleh jaringan ikat. Lemak dapat berada pada subkutan (di bawah kulit), intermuskular (antar otot) atau intramuskular (di dalam tubuh otot). Otot adalah komponen daging yang paling penting. Semua otot memiliki struktur dasar yang sama, terdiri dari sel atau serat otot yang terjalin bersama-sama dalam bundel yang terangkai dalam kelompok yang lebih besar. Rangkaian ini dibungkus oleh sarung jaringan ikat yang akhirnya mentransmisi kekuatan yang dikembangkan oleh kontraksi dari setiap serat otot dalam rangka. Kedudukan kontraksi ini dianggap penting dalam pembentukan tekstur daging (Warris, 2000). Di bawah ini merupakan ilustrasi struktur mikroskopis otot kerangka (Gambar 2.2).



Gambar 2.2 Struktur Otot Rangka  
Sumber: <http://rds.yahoo.com>

### 2.4.1 Otot

Menurut Lawrence dan Fowler (2002), tipe otot dibagi menjadi tiga yaitu otot memiliki bangunan khusus yang dikaitkan dengan aktivitas kontraksi. Bentuknya memanjang seperti kincir membentuk serabut otot. Berdasarkan bentuk serta bangunnya, sel otot disebut serabut otot. Serabut otot tersusun dalam berkas yang sumbunya paralel dengan arah kontraksi. Menurut Lawrie (1985), unit structural penting dari otot adalah serat otot. Serat otot berupa sel yang panjang, sempit dan terdiri atas multinukleat yang bertegangan dari otot satu dengan yang lain dan dapat memiliki panjang 34 cm dengan diameter hanya 10-100  $\mu$ . Miofibril adalah organel serabut otot berbentuk panjang dan tipis, memiliki diameter 50  $\mu$ m dan mengandung 1000 hingga lebih dari 2000 miofilamen (Forrest *et al.*, 1975).

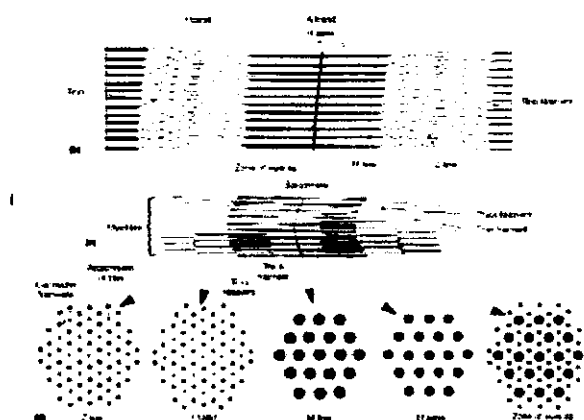
Struktur otot dibungkus oleh sarung jaringan ikat. Individu serabut otot dikelilingi oleh endomysium, setiap bundel otot dibungkus oleh perimysium dan seluruh bundel terkandung dalam epimysium. Serat otot dapat memiliki diameter

sekitar 60-100  $\mu\text{m}$ . Setiap serat itu sendiri dibangun oleh elemen yang lebih kecil yang disebut sebagai filamen. Terdapat dua filamen yaitu filamen tipis dan filamen tebal. Filamen tipis (diameter  $\pm 7 \text{ nm}$ ) sebagian besar terdiri atas protein aktin sedangkan filamen tebal (diameter  $\pm 15 \text{ nm}$ ) sebagian terdiri atas protein myosin (Warris, 2000). Selain itu, dalam otot terdapat unit fungsional yang disebut sarkomer (segmen-segmen dari miofibril). Sarkomer merupakan jarak antara dua garis Z yang berdekatan satu sama lain. Menurut Frandson (1992), sarkomer terikat pada tiap ujungnya oleh suatu garis Z yang terdiri atas protein non kontraktil.

Struktur sarkomer memiliki dua area di dalamnya, yaitu area gelap (pita A) yang memiliki area terang pusat (wilayah H) sedangkan area terang (pita I) memiliki area pusat gelap yang dinamakan garis Z (Z disc). Pada pusat area A terdapat garis M dan terdapat miofilamen tebal yang disebut area H. Di dalam area A, pada kedua belah sisi garis M terdapat daerah cerah tipis yang disebut daerah H semu (pseudo H zone) (Dellmann dan Brown, 1988). Mendekati garis Z, hanya filamen tipis yang terlihat sedangkan pada pusat sarkomer hanya terlihat filamen tebal. Letak filamen tebal dan tipis yang berdekatan ini penting dalam hal interaksi dari molekul aktin dan miosin selama kontraksi (Warris, 2000).

Menurut Warris (2000), setiap miofibril terdiri atas ribuan sarkomer dengan kisaran panjang antara 1,5 hingga 2  $\mu\text{m}$  yang bervariasi tergantung dari kontraksi otot sedangkan menurut Lawrence dan Fowler (2002) pada mamalia umumnya memiliki panjang sekitar 2,5  $\mu\text{m}$ . Perbedaan derajat atau tingkat kontraksi juga mempengaruhi

variasi model ikatan yang disebut *overlap* dari filamen tebal dan tipis. Penampang otot dalam potongan longitudinal dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Sarkomer Otot  
Sumber: <http://rds.yahoo.com>

#### 2.4.2 Jaringan Ikat

Serat otot diatur dan diikat oleh rangkaian jaringan ikat yang berfungsi sebagai pembungkus dan pembatas. Keseluruhan otot biasanya dikelilingi oleh sarung jaringan ikat tebal yang disebut epimisium. Perimisium ini membagi otot dalam kelompok serat yang disebut bundel atau fasikuli. Endomisium merupakan lapisan tipis jaringan ikat yang mengelilingi serabut otot, pembuluh darah yang besar dan urat syaraf (Warris, 2000). Jaringan ikat ini tersusun dari serat kolagen, serat retikularis, serat elastis, substansi dasar dan beberapa jenis sel (Price dan Schweigert, 1971). Ukuran fasikuli menunjukkan tekstur visual potongan daging serabut otot. Otot dengan pergerakan bagus memiliki fasikuli yang kecil dan tekstur yang baik, sedangkan otot dengan aktivitas tinggi memiliki fasikuli yang besar sehingga teksturnya kasar (Nurrahmi, 2008).



## 2.5 Keempukan Daging

Keempukan daging merupakan salah satu faktor penting yang mempengaruhi daya terima konsumen. Keempukan daging merupakan hal yang penting dalam penentuan kualitas daging karena berpengaruh terhadap citarasa dan saat pengunyahan (Gregory, 1998). Menurut Bratzler *dalam* Grigor *et al.* (1997), pada dasarnya keempukan dipengaruhi oleh perlakuan sebelum dan setelah dipotong. Natasasmita *et al.* (1987) *dalam* Brahmantiyo (1996) menyatakan bahwa keempukan daging berbeda pada setiap jenis otot. Otot dengan pergerakan yang banyak teksturnya akan terlihat lebih kasar dan kurang empuk. Faktor yang mempengaruhi keempukan daging diantaranya adalah jaringan ikat, serabut daging dan lemak yang ada di antara serabut daging (Nurrahmi, 2008).

Perubahan tekstur atau viskositas bahan dapat mengubah rasa dan bau yang timbul karena dapat mempengaruhi kecepatan timbulnya rangsangan terhadap sel reseptor olfaktori dan kelenjar air liur (Winarno, 1997). Soeparno (1992) menyatakan bahwa kesan keempukan secara keseluruhan, meliputi tekstur dan melibatkan tiga aspek penilaian. Pertama, kemudahan awal penetrasi gigi ke dalam daging; Kedua, mudahnya daging dikunyah menjadi fragmen atau potongan-potongan yang lebih kecil dan; Ketiga, jumlah residu yang tertinggal setelah pengunyahan (Hasrati dan Rusnawati, 2011).

## **BAB 3**

# MATERI DAN METODE

## BAB 3 MATERI DAN METODE

### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2013, bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Veteriner dan Kesehatan Masyarakat Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

### 3.2 Bahan dan Materi Penelitian

Materi penelitian yang digunakan adalah daging sapi segardari rumah potong hewan Pegirian Surabaya yang diambil sebelum pelayuan, isolat yang digunakan adalah isolat dari bakteri asam laktat (BAL) *Pediococcus pentosaceus* (Harijani, 2007), deMann Rogosa Sharpe (MRS) broth, susu skim, media nutrient agar (NA), aquadest. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pinset, ose, timbangan analitik, cawan petri, pipet, tabung reaksi, penangas air, pH meter, termometer, penetrometer, pisau, stopwatch, erlenmeyer, sentrifuge, eksikator, spuit dan needle.

### 3.3 Metode Penelitian

#### 3.3.1 Persiapan Alat dan Bahan

Semua alat-alat penelitian dari kaca (pipet dan cawan petri) yang akan digunakan disterilisasi pada oven untuk sterilisasi kering pada suhu 160°C selama 90 menit.

### 3.3.2 Sampel

Sampel berupa daging sapi segar pada bagian eye round atau *gandik* yang berasal dari rumah potong hewan Pegirian Surabaya yang diambil sebelum pelayuan. Jumlah sampel ditentukan berdasarkan banyaknya perlakuan yang terbagi atas 3 kelompok yaitu kelompok perlakuan pemberian enzim dengan tiga konsentrasi berbeda. Ekstrak enzim dari BAL *Pediococcus pentosaceus* dengan konsentrasi  $9 \times 10^8$ /ml dibagi menjadi tiga konsentrasi berbeda yaitu 1/3 konsentrasi semula, 2/3 konsentrasi semula dan 3/3 konsentrasi semula (atau utuh tanpa pengenceran). Masing- masing kelompok terdiri dari 3 ulangan. Jadi jumlah sampel keseluruhan adalah 9 sampel. Sampel segera dibawa ke Laboratorium didalam termos es.

### 3.3.3 Pembuatan Media Agar Susu

Sebanyak 3 g susu skim bubuk dan 0.86 agar dilarutkan dalam 150 ml akuades, kemudian disterilisasi pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 15 menit. Kemudian campuran 1 dan 2 dihomogenkan. Setelah tercampur rata, larutan dituang sebanyak 15-20 ml kedalam cawan petri steril.

### 3.3.4 Uji Aktivitas Protease Secara Kualitatif

Satu ose isolat BAL *Pediococcus pentosaceus* yang sudah dilakukan peremajaan sebelumnya ditanam kedalam media susu skim. Diinkubasi pada suhu  $35-37^\circ\text{C}$  dan dilakukan pengamatan zona bening yang terbentuk pada 48 jam.

### 3.3.5 Ekstraksi Enzim Protease Kasar

Sebanyak 1 ose *Pediococcus pentosaceus* dari MRS agar ditanam kedalam 10 mL MRS Broth. Kemudian diinkubasi secara anaerob selama 24 jam. Setelah

diinkubasi, disentrifus selama 15 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Supernatan merupakan ekstrak enzim kasar dan disimpan dalam lemari pendingin.

### 3.3.6 Aplikasi EkstrakEnzim

Sebanyak 9 potongan daging sapi segar dengan berat masing-masing 25 gr (kurang lebih berukuran 2 x 3 x 4) dibagi menjadi empat bagian dan diberi perlakuan sebagai pengamatan waktu. Sampel yang terbagi atas tigakelompok perlakuan masing-masing disuntikkan dengan 0,5 ml ekstrak enzim dari BAL *Pediococcus pentosaceus* dengan konsentrasi berbeda yaitu 1/3, 2/3, dan 3/3. Masing-masing sampel ditempatkan dalam cawan petri, kemudian disimpan selama masa inkubasi 0, 20, 40, dan 60 menit pada suhu kamar 27°C -29°C. Setelah diinkubasi daging kemudian dimasak dalam air mendidih agar enzim tidak aktif.

### 3.3.7 Pemeriksaan Keempukan

Pemeriksaan keempukan daging diukur menggunakan alat penetrometer. Sampel yang telah mendapatkan perlakuan selanjutnya diletakkan tepat berada dibawah jarum penetrometer yang telah diatur posisi, ketinggian dan berat bebannya. Kunci pemegang jarum ditarik sehingga jarum dengan bebas jatuh menusuk daging. Jarak tembus jarum ke dalam daging di ukur. Penusukan diulang sebanyak 2 kali darisisipermukaan yang berlawanan. Satuan keempukan adalah mm/50g. Semakin dalam daya tembus jarum, berarti keempukan daging semakin meningkat.

### **3.4 Peubah yang Diamati**

#### **3.4.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas dari penelitian ini adalah BAL *Pediococcus pentosaceus*, masa inkubasi dan konsentrasi enzim.

#### **3.4.2 Variabel Tergantung**

Variabel tergantung dari penelitian ini adalah kualitas daging, tekstur daging sapi dari hasil pemeriksaan keempukan dengan Penetrometer.

#### **3.4.3 Variabel Kendali**

Variabel kendali dari penelitian ini adalah ketebalan daging, waktu memasak, suhu air.

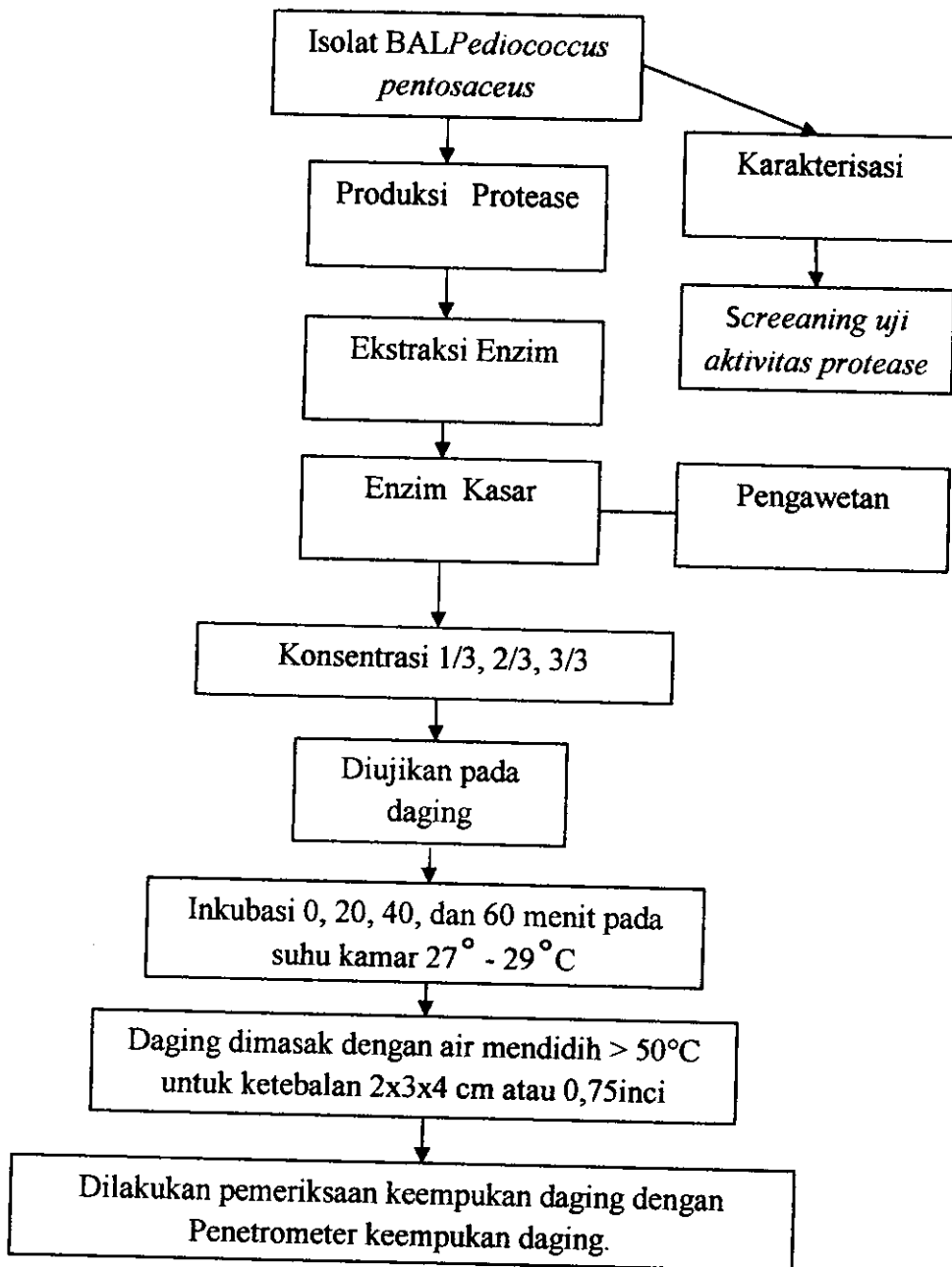
### **3.5 Rancangan Penelitian**

Rancangan penelitian yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap Multivariate dengan tiga perlakuan dan masing –masing diulang sebanyak tiga ulangan, sehingga terdapat Sembilan sampel yang masing-masing dibagi lagi menjadi empat pengamatan waktu.

### **3.6 Analisis data**

Analisis data dari hasil penelitian akan di analisis menggunakan *Multiple Analysis of Variance* dengan tingkat kemaknaan 5%. Apabila terdapat perbedaan maka akan dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) (Kusriningrum, 2008).

## 3.7 Skema Penelitian



Gambar 3.2 Skema Penelitian

## **BAB 4**

# HASIL PENELITIAN



## BAB 4 HASIL PENELITIAN

### 4.1 Keempukan Daging

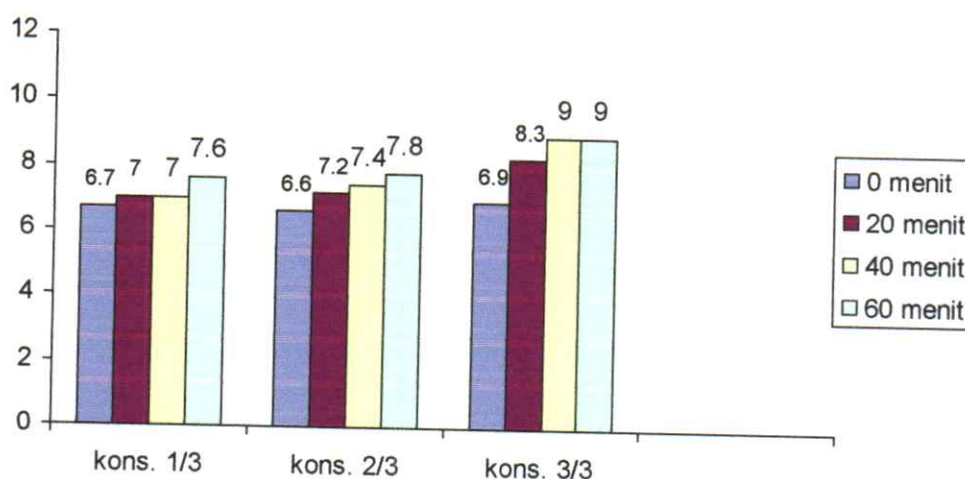
Hasil perhitungan penetrometer keempukan daging yang telah ditambahkan enzim dari bakteri asam laktat (BAL) *Pediococcus pentosaceus* dapat dilihat pada lampiran 1. Rerata nilai keempukan daging yang telah ditambahkan enzim tersebut berdasarkan uji Manova (*Multiple Analysis of Variance*) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) pada waktu inkubasi 20, 40, dan 60 menit. Hasil uji lanjut dengan uji BNT dapat dilihat pada tabel 4.1 di bawah ini :

Tabel 4.1. Rerata keempukan daging yang ditambahkan enzim dari bakteri asam laktat (BAL) *Pediococcus pentosaceus*.

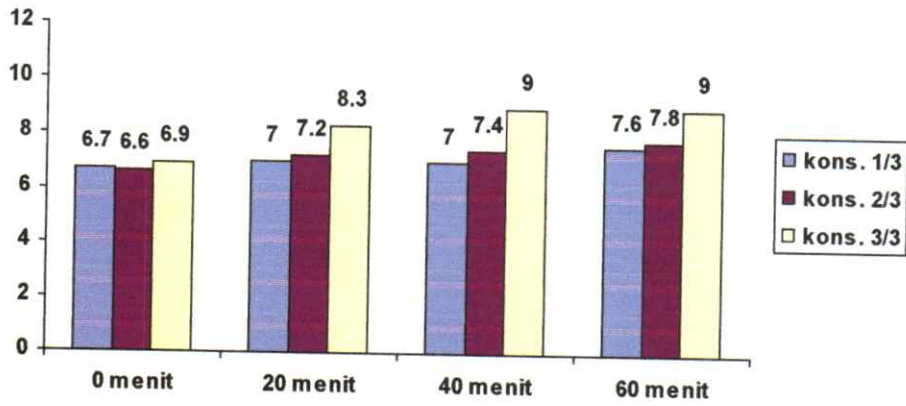
Konsentrasi	Rerata keempukan daging (1/10 mm) ± Standard Deviation
Waktu 0 Konsentrasi 1/3	6,7 ± 0,34
Konsentrasi 2/3	6,6 ± 0,20
Konsentrasi 3/3	6,9 ± 0,15
Total rata-rata	6,7 ± 0,25
Waktu 20 Konsentrasi 1/3	7,0 ± 0,41
Konsentrasi 2/3	7,2 ± 0,10
Konsentrasi 3/3	8,3 ± 0,10
Total rata rata	7,5 ± 0,65
Waktu 40 Konsentrasi 1/3	7,0 ± 0,20
Konsentrasi 2/3	7,4 ± 0,10
Konsentrasi 3/3	9,0 ± 0,58
Total rata-rata	7,8 ± 0,98

Waktu 60 Konsentrasi 1/3	7,6 ± 0,30
Konsentrasi 2/3	7,8 ± 0,15
Konsentrasi 3/3	9,0 ± 0,10
Total rata-rata	8,1 ± 0,67

Hasil uji BNT membuktikan hasil perhitungan keempukan daging tertinggi adalah pada perlakuan dengan konsentrasi 3/3 dan perhitungan keempukan daging terendah adalah perlakuan dengan konsentrasi 1/3 yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi 2/3 pada waktu inkubasi 0, 20, 40 dan 60 menit. Perlakuan dengan konsentrasi 1/3 berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi 3/3. Sedangkan perlakuan dengan konsentrasi 3/3 berbeda nyata terhadap 1/3 dan 2/3 pada waktu inkubasi 20,40, dan 60 menit.



Gambar 4.1 Grafik hubungan antara konsentrasi enzim dan nilai keempukan daging.



Gambar 4.2 Grafik hubungan antara waktu inkubasi dan nilai keempukan daging.

## **BAB 5**

# PEMBAHASAN

## BAB 5 PEMBAHASAN

### 5.1 Aktivitas Protease Secara Kualitatif

*Pediococcus pentosaceus* yang telah diisolasi diuji aktivitas proteasenya pada media agar susu 4%. Adanya aktivitas protease dapat dilihat dengan adanya zona bening di sekeliling isolat. Perubahan warna susu dari putih menjadi tak berwarna terjadi disebabkan adanya degradasi protein susu menjadi asam amino. Ketika isolat yang dapat menghasilkan protease ditumbuhkan pada media susu maka akan tumbuh zona bening. Pengamatan zona bening dilakukan selama 48 jam dapat dilihat pada lampiran 10.

Besar dari diameter zona bening tidak selalu terdapat hubungan langsung dengan kemampuan mikroba dalam mensintesis protease. Dengan adanya enzim proteolitik ekstraselular bakteri yang dihasilkan *Pediococcus pentosaceus*, kasein akan terhidrolisis menjadi peptida dan asam-asam amino yang larut dalam medium (Suri dkk., 2013). Hilangnya partikel kasein di dalam media susu skim ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni bakteri.

### 5.2 Proses Produksi Enzim Protease

Produksi protease pada penelitian ini menggunakan media deMann Rogosa Sharpe (MRS) broth. *Pediococcus pentosaceus* yang ditanam pada media MRS broth kemudian diinkubasi secara anaerob selama 48 jam. Dalam suasana anaerob media MRS broth yang diinkubasi ditambahkan ekstrak hati yang berfungsi sebagai pengurai  $H_2O_2$  dan oksigen didalam eksikator yang tertutup, jika  $H_2O_2$  tidak

dikeluarkan maka akan membunuh bakteri yang diinkubasi. Setelah diinkubasi pH media naik dari 7,5 Menjadi 8,5.

Reaksi enzim dipengaruhi oleh pH. Peningkatan pH sebelum titik optimum menyebabkan terus meningkatnya aktivitas enzim, sampai seluruh tapak enzim berikatan dengan substrat membentuk kompleks enzim substrat. Sebaliknya peningkatan pH di atas batas optimum kerja enzim menyebabkan kerja enzim menurun, karena terjadi denaturasi enzim atau perubahan struktur tiga dimensi molekul enzim. Denaturasi ini akan menyebabkan menurunnya fungsi katalitik enzim karena struktur enzim tidak sesuai lagi dengan molekul substrat (Girindra, 1993).

Sintesis enzim dalam suatu media produksi dipengaruhi oleh senyawa lain yang dapat berperan sebagai penginduksi, sehingga produksi enzim akan meningkat ataupun juga sebaliknya, yaitu sebagai represor yang dapat menghambat sintesis enzim. Secara umum sintesis protease mikrob dihambat oleh adanya glukosa dan asam amino dalam jumlah tinggi (Fogarty dan Kelly 1979).

Sintesis enzim ekstraselular secara tidak langsung dipengaruhi pH media. Ward (1985) menyebutkan bahwa sintesis enzim ekstraselular terjadi pada membran sel dalam bentuk prekursor yang tidak aktif dan akan dilepaskan pada media menjadi bentuk aktif melalui proses proteolisis. Jika pH medium tidak mendukung permeabilitas membran untuk mensekresikan enzim, maka konsentrasi eksoenzim dalam media akan rendah, walaupun enzim telah disintesis pada membran.

Rochani (1986) menemukan adanya pengaruh pH awal media terhadap sintesis protease dari *B. subtilis*. Pada pH 9.5 didapatkan aktivitas protease yang lebih tinggi dibanding pH 8.5, 7.5, dan 6.5.

### 5.3 Keempukan Daging

Aplikasi langsung aktivitas proteolitik protease yang diperoleh dari mikroba dilakukan pada daging sapi. Daging yang dipilih adalah bagian paha belakang atau yang lebih dikenal dengan istilah *gandik*, karena bagian tersebut terkenal cukup liat dan paling mudah ditemukan di pasar konvensional. Pengukuran keempukan daging dilakukan menggunakan alat penetrometer. Prinsip alat ini adalah daging yang akan diukur diletakkan di bawah jarum, kemudian jarum (dengan berat tertentu) dilepaskan pada ketinggian tertentu. Kedalaman jarum menusuk daging sebanding dengan keempukan daging. Agar pengambilan sampel lebih merata dilakukan penusukan pada 2 titik. Penetrometer ini memiliki berat beban pada jarum sebesar 5,14 gram yang dilepaskan pada ketinggian 20 cm. Energi pada jarum setara dengan 0.2015 Joule. Arti dari nilai x mm pada pengukuran penetrometer ini adalah bahwa dengan energi sebesar 0.2015 Joule jarum dapat terpenetrasi ke daging sejauh x mm.

Waktu inkubasi dan konsentrasi enzim ini sangat erat hubungannya terhadap laju reaksi. Jika beberapa seri konsentrasi enzim diinkubasikan pada beberapa seri waktu, maka pada awal pengamatan akan terlihat bahwa produk yang terbentuk berbanding lurus dengan konsentrasi. Dengan bertambahnya waktu, penambahan produk akan menunjukkan defleksi, tidak lagi berbanding lurus. Fenomena ini terjadi karena setelah selang beberapa waktu, jumlah substrat yang tersedia telah berkurang.

Defleksi akan terlihat jelas dengan semakin tingginya konsentrasi, sedangkan pada konsentrasi enzim yang rendah, dalam jangka waktu pengamatan yang sama masih berbanding lurus (Sadikin, 2002). Tetapi produk yang akan terbentuk antara enzim dengan konsentrasi lebih tinggi dengan konsentrasi yang lebih rendah akan sama, hanya waktu yang dibutuhkan untuk terbentuknya produk berbeda, hal inilah yang mempengaruhi perhitungan laju reaksi. Hubungan laju reaksi dengan konsentrasi enzim berbanding lurus. Semakin besar konsentrasi enzim maka laju reaksi semakin cepat, sehingga peluang substrat diolah menjadi produk semakin besar.

Jika dikaitkan dengan percobaan, maka pada waktu inkubasi yang sama, enzim dengan konsentrasi lebih tinggi akan lebih cepat dalam mengempukkan daging karena laju reaksi yang tinggi. Tetapi pada suatu waktu tertentu enzim yang diinkubasi pada waktu yang sama walaupun konsentrasi enzim berbeda akan mengempukkan daging dengan nilai yang sama. Hal ini terjadi karena substrat telah habis sehingga daging tidak dapat menjadi lebih empuk lagi walaupun waktu inkubasi diperlama (Ferdian, 2006). Data hasil percobaan dapat dilihat pada Gambar 4.1 dan Gambar 4.2 yang disajikan dalam bentuk grafik.

Dari grafik hubungan antara waktu inkubasi dan nilai keempukan dapat dilihat bahwa pada waktu inkubasi yang sama, enzim dengan konsentrasi lebih tinggi memiliki nilai keempukan yang lebih tinggi, karena laju reaksinya lebih besar. Jika kita melihat pada sisi perbandingan yang lain, yaitu antara konsentrasi enzim dan nilai keempukan maka dapat dilihat dengan jelas bahwa pada konsentrasi yang sama, nilai keempukan daging meningkat sebanding dengan lamanya waktu inkubasi. Nilai



keempukkan daging terbaik (maksimal) terjadi pada enzim dengan konsentrasi utuh/tidak diencerkan dan waktu inkubasi 60 menit. Hanya saja nilai tersebut tidak berbeda nyata terhadap waktu inkubasi 20 dan 40 menit pada konsentrasi yang sama. Sedangkan pada konsentrasi dibawahnya atau 2/3 konsentrasi enzim semula, memiliki keempukkan yang berbeda nyata dengan enzim konsentrasi utuh (3/3) pada waktu inkubasi 20 dan 40 menit tetapi tidak berbeda nyata pada waktu inkubasi 60 menit. Hasil lengkap tabel dapat dilihat pada Lampiran 3.

Swacita (2002) mengemukakan bahwa pengempukan daging sapi dipengaruhi oleh kadar protease dan waktu inkubasi. Protease dengan kadar 0.075% bobot daging dapat mengempukkan daging dengan waktu inkubasi 30 menit sedangkan pada konsentrasi dibawahnya yaitu 0.050 % membutuhkan waktu 45 menit agar daging menjadi lebih empuk dari pada kontrol. Pada penelitian ini didapatkan titik optimum untuk mengempukkan daging pada waktu inkubasi 20 menit dengan konsentrasi 3/3. Hasil lengkap dapat dilihat pada lampiran 3.

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa penggunaan enzim dari bakteri asam laktat (BAL) *Pediococcus pentosaceus* terbukti dapat mengempukkan daging dengan konsentrasi enzim terbaik yaitu 3/3 (utuh tanpa pengenceran) pada waktu inkubasi 60 menit.

## **BAB 6**

# **KESIMPULAN DAN SARAN**

## BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1 Kesimpulan

1. Pemberian enzim protease dari bakteri asam laktat (BAL) *Pediococcus pentosaceus* berpengaruh terhadap keempukan daging .
2. Keempukan daging ini dipengaruhi oleh waktu inkubasi dan konsentrasi enzim. Enzim dengan konsentrasi utuh tanpa pengenceran, memiliki aktivitas yang nyata dalam pengempukan daging, walaupun tidak berbeda nyata pada waktu inkubasi 20 dan 40 menit.

### 6.2 Saran

Penelitian selanjutnya disarankan untuk pengempukan daging dengan menggunakan ekstrak enzim *Pediococcus pentosaceus* yang optimum pada konsentrasi 3/3 dengan waktu inkubasi 20 menit. Perlu dilakukan Penelitian selanjutnya untuk mencari bahan pengawet yang tepat untuk menjaga aktivitas enzim. Selain itu juga disarankan untuk melakukan pemurnian dan karakterisasi enzim protease tersebut.

# RINGKASAN

## RINGKASAN

RIA SYLVIANA SISWATY. Daging merupakan bahan pangan dengan kandungan nutrisi yang diperlukan bagi pertumbuhan dan perkembangan sel-sel tubuh manusia. Daging sebagai sumber protein memiliki sejumlah asam amino esensial memiliki nilai biologis dan pencernaan yang baik (Lawrie,2003). Daging yang murah dengan kualitas rendah dapat menjadi daging yang mempunyai keempukan bagus melalui penambahan enzim protease (Shiddieqy, 2005).

Penggunaan enzim proteolitik (protease) untuk mengatasi daging liat merupakan cara yang sederhana, mudah untuk dilakukan, dan sudah dilakukan sejak dulu. Di Indonesia kebutuhan akan enzim protease juga semakin meningkat, namun kebutuhan ini masih bergantung pada produksi impor. Salah satu cara mengantisipasi ketergantungan terhadap produksi impor tersebut perlu adanya usaha untuk memproduksi enzim protease (Ferdian, 2006). Enzim protease yang telah lama digunakan untuk pengempukan daging terutama berasal dari buah pepaya (papain), nenas (bromelin) dan getah pohon ficus (fisin) ([www.poultryindonesia.com](http://www.poultryindonesia.com)). Tetapi dengan makin majunya teknologi, enzim protease yang diproduksi dari tanaman banyak ditinggalkan karena kurang ekonomis. Produksi protease sekarang ini beralih pada mikroba.

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa enzim protease dari bakteri asam laktat (BAL) *Pediococcus pentosaceus* berpotensi sebagai pengempuk daging. Ekstrak enzim protease dari bakteri asam laktat (BAL) *Pediococcus pentosaceus*

dapat menjadi alternative enzim komersial untuk mengatasi ketergantungan terhadap produk impor.

Bakteri asam laktat (BAL) pada umumnya menghasilkan protease yang mampu memecah protein menjadi asam laktat (Sari, 2011). *Pediococcus pentosaceus* mempunyai kemampuan menghasilkan agen anti mikroba serta penggunaannya dalam pengawetan makanan (Osmanagaogluet *al.*, 2011). Disamping itu *Pediococcus pentosaceus* diketahui mampu menghasilkan enzim proteolitik yang berfungsi sebagai pengurai protein (Yunenshi, 2011).Selanjutnya Nurrahmi (2008) mengemukakan aktifitas enzim proteolitik dapat menyebabkan perubahan dalam struktur sarkomer daging dan berpengaruh dalam keempukan daging.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2013, bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Veteriner dan Kesehatan Masyarakat Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap Multivariate dengan tiga perlakuan dan masing –masing diulang sebanyak tiga ulangan, yaitu perlakuan dengan tiga konsentrasi berbeda 1/3, 2/3, dan 3/3, sehingga terdapat Sembilan sampel yang masing-masing dibagi lagi menjadi empat pengamatan waktu inkubasi 0, 20, 30, dan 60 menit. Analisis data dari hasil penelitian akan di analisis menggunakan *Multiple Analysis of Variance* dengan tingkat kemaknaan 5%. Apabila terdapat perbedaan maka akan dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT). Pengolahan data menggunakan program SPSS 21.0 *for Windows*.

Hasil uji BNT membuktikan hasil perhitungan keempukan daging tertinggi adalah pada perlakuan dengan konsentrasi 3/3 dan perhitungan keempukan daging terendah adalah perlakuan dengan konsentrasi 1/3 yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi 2/3 pada waktu inkubasi 0, 20, 40 dan 60 menit. Perlakuan dengan konsentrasi 1/3 berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi 3/3. Sedangkan perlakuan dengan konsentrasi 3/3 berbeda nyata terhadap 1/3 dan 2/3 pada waktu inkubasi 20, 40, dan 60 menit.

## DAFTAR PUSTAKA



## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2001. Materi Penyuluhan Bagi Perusahaan Makanan Industri Rumah Tangga. Dinas Kesehatan Pemerintah Kabupaten Sleman. Sleman.
- Anonim, 2005. Daging lebih empuk dengan enzim. [Http://Poultriindonesia.com](http://Poultriindonesia.com). [10 Mei 2013].
- Anonim, 2008. Mutu Karkas dan Daging Sapi. Standar Mutu Nasional. Badan Standarisasi Nasional.
- Ariyani, FR. 2005. Sifat Fisik dan Palatabilitas Sosis Daging Sapi Dengan Penambahan Karagenan. Fakultas peternakan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Astawan MW dan Astawan, M. 2004. Teknologi Pengolahan Pangan Hewani Tepat Guna. Akademi Presindo. Jakarta.
- Brahmantiyo, B. 1996. Karkas, Sifat Fisik dan Kimia Tiga Bangsa Sapi. Tesis. Program PascaSarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Dellmann, HD. dan Brown ,EM. 1989. Buku Teks Histologi Veteriner I. Edisi Ke-3. Terjemahan : R. Hartono. UI Press, Jakarta.
- Ferdian, H. 2006. Potensi Protease *Bacillus subtilis natto* Sebagai Pengempuk Daging. Program Studi Biokimia. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Fogarty WM and Kelly CT. 1979. Developments in microbial extracellular enzyme. Di dalam: Wiesman A. Tropis in Enzyme and Fermentation Biotechnology. Volume ke-3. New York : Jhon Willey and sons.
- Fogle DR, Plimpton RF, Ockerman HW, Jarenback L, and Person T. 1982. Tenderization of beef: effect of enzyme, enzyme levels and cooking method . J Food Sci 47: 1113-1118.
- Forrest, JC, Aberde ED, Hendrick HB, Judge MD and Merkel RA. 1975. *Principle of Meat Science*. W.H. Freeman and Co. San Fransisco – USA.
- Frandsen, RD. 1992. Anatomi dan Fisiologi Ternak. Edisi Ke-4. Terjemahan : B. Srigandono dan K. Praseno. Gajah Mada University, Yogyakarta.
- Gaman, PM dan Sherrington. 1984. *The Science of Food*. 2<sup>nd</sup> Ed. Pergamon Press, United Kingdom.

- Gibson T, Gordon. 1974. *BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology*. London :William and Wilkins.
- Girindra A. 1990. *Biokimia 1*. Jakarta: Gramedia.
- Gregory, NG. 1998. *Animal Welfare and meat Science*. CABI Publishing, Wallingford.
- Harijani, N. 2007. Studi Bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat dalam Peranannya pada Biopreservasi Susu Pasteurisasi dan Teurapetika Mastitis Sub Klinis pada Sapi Perah [Disertasi Pascasarjana], Universitas Padjajaran, Bandung.
- Koohmarie, M. 1994. Beef Tenderness. <http://www.piedmontesenapa.com/BeefTenderness.html>. [21 Maret 2013].
- Kristianingtyas, L. 2012. Efektivitas Bakteriosin Terhadap Penurunan Jumlah *Escherichia coli* Pada Daging Sapi Dari Rumah Potong Hewan. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Kunkel, D. 2007. *Pediococcus pentosaceus*. <http://www.denniskunkel.com/DK/Bacteria/21310a.html> [ 7 Juli 3013]
- Kusmiati dan Malik, A. 2002. Aktivitas bakteriosin dari Bakteri *Leunostoc mesenteroides Pbacl* pada Berbagai Media.
- Lawrence, TJ dan Fowler, R. 2002. *Growth of Farm Animals*. 2<sup>nd</sup> Ed. CABI Publising , Wallingford.
- Lawrie, RA. 2003. *Meat Science*. 4<sup>th</sup> Ed. Pergamon Press, Oxford.
- Lehninger AL. 1993. Dasar-dasar Biokimia. Thenawidjaja M, penerjemah. Jakarta: Erlangga. Terjemahan dari : Principles of Biochemistry.
- Muchtadi, TR. dan Sugiono. 1992. Ilmu Pengetahuan Bahan Pangan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat jenderal Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- National Cattlemen's Beef Association. 2007. Beef value cuts <http://www.rds.yahoo.com/beefvaluecuts.aspx> [ 23 Maret 2013].
- Nettles, CG and Barefoot, SF. 1993. Biochemical and Genetic Characteristics of Bacteriocin of Food-Associated Lactic Acid Bacteria. *J. Food Prot.* Vol. 56;338-356

- Nurrahmi, RS. 2008. Perubahan Struktur Mikroskopis Otot Sapi Oleh Aktivitas Proteolitik *Lactobacillus Plantarum* Pada Dendeng Fermentasi. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Nurwanto. 2003. Bahan Ajar Hasil Teknologi Ternak. Fakultas Peternakan. Universitas Diponegoro. Semarang
- Osmanagaoglu, O; Kiran, F and Nes, Ingolf F. 2011. A Probiotic Bacterium, *Pediococcus pentosaceus* OZF Isolated from Human Breast Milk Produces Pediocin AcH/PA-1. African Journal of Biotechnology. VOl. 10(11): 2070-2079.
- Pabita, G. 2011. Pengaruh Tingkat Penambahan Lemak dan Isolat Protein Kedelai (IPK) Terhadap Kualitas Burger dari Daging Sapi Bali. Fakultas Peternakan Universitas Hassanudin. Makassar.
- Palmer T. 1881. Understanding Enzymes. England : Ellis Horwood.
- Price JF and Schweigert BS 1971. The Science of Meat and Meat Products. San Fransisco: W.H. Freeman.
- Putri, YN. 2011. Mempelajari Pengaruh Penyimpanan Tape Ketan (*Oryza sativa* glutinosa) Terhadap Daya Terima Konsumen. Fakultas TEknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rochani. 1986. Aktivitas enzim protease dari *Bacillus subtilis* media limbah cair tahu. [skripsi]. Bogor. Fakultas Teknologi Pertanian IPB.
- Sadikin M. 2002. Biokimia Enzim. Jakarta: Widya Medika.
- Sari, WP. 2001. Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dan Karakterisasi Protease dari Fermentasi Kakao Varietas Hibrid Diskukur Pariaman Serta Isolasi Plasmidnya. FAKultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Andalas. Padang.
- Shiddieqy IM. 2005. Daun pepaya pelarut protein, pengempuk daging. [Http://Pikiran Rakyat Cyber Media.org](http://PikiranRakyatCyberMedia.org) [2 Mei 2013].
- Soeparno. 1992. Ilmu dan Teknologi Daging. Gadjah Mada University Press.
- Suri, WL. Syukur, S. dan Jamsari, S. 2013 Optimization of Protease Activity Lactic Acid Bacteria (LAB) *Pediococcus pentosaceus* Isolated From Soursop Fermentation (*Annona musicata* L.), Jurnal Kimia Unand. ISSN No. 2303-3401.

- Victoria, M. Moreno, A. Carmen, P. and Maria, CP. 2008. Wine Chemistry and Biochemistry. Springer. ISBN 978-0-387-74116-1. Page 39.
- Ward OP. 1985. Proteolytic enzyme . Pergamon Press 3: 789-815.
- Warris, PD. 2000. Meat Science. CABI Publishing, London.
- Winarno, FG. 1997. Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia. Jakarta.
- Yiu, HH and George, GK. 1994. Food Biotechnology ; Microorganisms. Willey-Interscience. ISBN 978-0-471-18570-3
- Yunenshi, F. 2011. Pengaruh Pemberian Probiotik *Pediococcus pentosaceus* Asal Fermentasi Kakao Hibrid Terhadap Penurunan Kolesterol Telur Itik Pitalah. Universitas Andalas.

## LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil pengukuran keempukan daging menggunakan penetrometer pada daging yang disuntik dengan ekstrak enzim 1/3.

Ulangan	Waktu inkubasi (menit)							
	0 (mm)	Rata-rata (mm)	20 (mm)	Rata-rata (mm)	40 (mm)	Rata-rata (mm)	60 (mm)	Rata-rata (mm)
1 a	6,8	6,9	7,1	7,3	7,2	7,0	7,5	7,9
b	7,0		7,5		6,8		8,2	
2 a	6,6	6,9	6,9	7,1	6,9	7,2	7,6	7,7
b	7,2		7,2		7,3		7,7	
3 a	6,4	6,3	6,4	6,5	6,9	6,8	6,9	7,3
b	6,2		6,6		6,7		7,7	

Hasil pengukuran keempukan daging menggunakan penetrometer pada daging yang disuntik dengan enzim 2/3.

Ulangan	Waktu inkubasi (menit)							
	0 (mm)	Rata-rata (mm)	20 (mm)	Rata-rata (mm)	40 (mm)	Rata-rata (mm)	60 (mm)	Rata-rata (mm)
1 a	6,8	6,7	7,1	7,2	7,4	7,5	7,8	7,9
b	6,6		7,3		7,6		8,0	
2 a	6,9	6,8	7,4	7,3	7,2	7,4	7,7	7,8
b	6,7		7,2		7,6		7,9	
3 a	6,6	6,4	7,2	7,1	7,2	7,3	7,7	7,6
b	6,2		6,9		7,4		7,5	

Hasil pengukuran keempukan daging menggunakan penetrometer pada daging yang disuntik dengan enzim 3/3

Ulangan	Waktu inkubasi (menit)							
	0 (mm)	Rata- rata (mm)	20 (mm)	Rata- rata (mm)	40 (mm)	Rata- rata (mm)	60 (mm)	Rata- rata (mm)
1 a	7,0	7,1	8,3	8,2	8,7	8,8	8,9	9,1
b	7,2		8,1		8,9		9,3	
2 a	6,8	6,9	8,2	8,3	8,7	8,6	8,8	8,9
b	7,0		8,2		8,5		9,0	
3 a	6,9	6,8	8,5	8,4	9,6	9,7	8,8	9,0
b	6,7		8,3		9,8		9,2	

Lampiran 2. Case Sumarise.

**Case Processing Summary<sup>a</sup>**

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Waktu0 * Konsentrasi	9	100.0%	0	0.0%	9	100.0%
Waktu20 * Konsentrasi	9	100.0%	0	0.0%	9	100.0%
Waktu40 * Konsentrasi	9	100.0%	0	0.0%	9	100.0%
Waktu60 * Konsentrasi	9	100.0%	0	0.0%	9	100.0%

a. Limited to first 100 cases.

**Case Summaries<sup>a</sup>**

		Waktu0	Waktu20	Waktu40	Waktu60
Konsentrasi 1/3	1	6.90	7.30	7.00	7.90
	2	6.90	7.10	7.20	7.70
	3	6.30	6.50	6.80	7.30
	Total N	3	3	3	3
Konsentrasi 2/3	1	6.70	7.20	7.50	7.90
	2	6.80	7.30	7.40	7.80
	3	6.40	7.10	7.30	7.60
	Total N	3	3	3	3
Konsentrasi 3/3	1	7.10	8.20	8.80	9.10
	2	6.90	8.30	8.60	8.90
	3	6.80	8.40	9.70	9.00
	Total N	3	3	3	3
Total	N	9	9	9	9

a. Limited to first 100 cases.



Lampiran 3. Hasil uji *Multiple Analysis of Variance* (Manova) dan uji BNT keempukan daging.

Oneway

Descriptive Statistics

	Konsentrasi	Mean	Std. Deviation	N
Waktu0	Konsentrasi 1/3	6.7000	.34641	3
	Konsentrasi 2/3	6.6333	.20817	3
	Konsentrasi 3/3	6.9333	.15275	3
	Total	6.7556	.25550	9
Waktu20	Konsentrasi 1/3	6.9667	.41633	3
	Konsentrasi 2/3	7.2000	.10000	3
	Konsentrasi 3/3	8.3000	.10000	3
	Total	7.4889	.65468	9
Waktu40	Konsentrasi 1/3	7.0000	.20000	3
	Konsentrasi 2/3	7.4000	.10000	3
	Konsentrasi 3/3	9.0333	.58595	3
	Total	7.8111	.98418	9
Waktu60	Konsentrasi 1/3	7.6333	.30551	3
	Konsentrasi 2/3	7.7667	.15275	3
	Konsentrasi 3/3	9.0000	.10000	3
	Total	8.1333	.67639	9

## ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Waktu0	Between Groups	.149	2	.074	1.196	.365
	Within Groups	.373	6	.062		
	Total	.522	8			
Waktu20	Between Groups	3.042	2	1.521	23.603	.001
	Within Groups	.387	6	.064		
	Total	3.429	8			
Waktu40	Between Groups	6.962	2	3.481	26.551	.001
	Within Groups	.787	6	.131		
	Total	7.749	8			
Waktu60	Between Groups	3.407	2	1.703	40.342	.000
	Within Groups	.253	6	.042		
	Total	3.660	8			

## Post Hoc Tests

## Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Waktu 0	Konsentrasi 1/3	Konsentrasi 2/3	.06667	.20367	.755	-.4317	.5650
		Konsentrasi 3/3	-.23333	.20367	.296	-.7317	.2650
	Konsentrasi 2/3	Konsentrasi 1/3	-.06667	.20367	.755	-.5650	.4317
		Konsentrasi 3/3	-.30000	.20367	.191	-.7984	.1984
	Konsentrasi 3/3	Konsentrasi 1/3	.23333	.20367	.296	-.2650	.7317
		Konsentrasi 2/3	.30000	.20367	.191	-.1984	.7984
Waktu 20	Konsentrasi 1/3	Konsentrasi 2/3	-.23333	.20728	.303	-.7405	.2739
		Konsentrasi 3/3	-1.33333*	.20728	.001	-1.8405	-.8261
	Konsentrasi 2/3	Konsentrasi 1/3	.23333	.20728	.303	-.2739	.7405
		Konsentrasi 3/3	-1.10000*	.20728	.002	-1.6072	-.5928
	Konsentrasi 3/3	Konsentrasi 1/3	1.33333*	.20728	.001	.8261	1.8405
		Konsentrasi 2/3	1.10000*	.20728	.002	.5928	1.6072
Waktu 40	Konsentrasi 1/3	Konsentrasi 2/3	-.40000	.29565	.225	-1.1234	.3234
		Konsentrasi 3/3	-2.03333*	.29565	.000	-2.7568	-1.3099
	Konsentrasi 2/3	Konsentrasi 1/3	.40000	.29565	.225	-.3234	1.1234
		Konsentrasi 3/3	-1.63333*	.29565	.001	-2.3568	-.9099
	Konsentrasi 3/3	Konsentrasi 1/3	2.03333*	.29565	.000	1.3099	2.7568
		Konsentrasi 2/3	1.63333*	.29565	.001	.9099	2.3568
Waktu 60	Konsentrasi 1/3	Konsentrasi 2/3	-.13333	.16777	.457	-.5439	.2772
		Konsentrasi 3/3	-1.36667*	.16777	.000	-1.7772	-.9561
	Konsentrasi 2/3	Konsentrasi 1/3	.13333	.16777	.457	-.2772	.5439
		Konsentrasi 3/3	-1.23333*	.16777	.000	-1.6439	-.8228
	Konsentrasi 3/3	Konsentrasi 1/3	1.36667*	.16777	.000	.9561	1.7772
		Konsentrasi 2/3	1.23333*	.16777	.000	.8228	1.6439

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

#### Lampiran 4. Perhitungan konsentrasi ekstrak enzim.

Penelitian ini menggunakan dosis ekstrak enzim *Pediococcus pentosaceus* 1/3, 2/3, dan 3/3.

1. Konsentrasi 1/3 ekstrak enzim.

$$1 \text{ bagian enzim} + 2 \text{ bagian aquadest} = 4\text{ml enzim} + 8\text{ml aquadest}$$

2. Konsentrasi 2/3 ekstrak enzim.

$$2 \text{ bagian enzim} + 1 \text{ bagian aquadest} = 8\text{ml enzim} + 4\text{ml aquadest}$$

3. Konsentrasi 3/3 ekstrak enzim.

1 bagian enzim utuh tanpa penambahan aquadest.

Pada masing-masing perlakuan dibutuhkan 10ml pengenceran enzim, kemudian dibuat 12ml untuk memudahkan penghitungan.

Lampiran 11. Ciri pertumbuhan dari sifat fisiologi biakan *Pediococcus pentosaceus*.

Uji	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
Pertumbuhan pada MRS Agar <ul style="list-style-type: none"> <li>- Bentuk Koloni</li> <li>- Warna Koloni</li> <li>- Kilauan Koloni</li> </ul>	Tak beraturan, bulat Putih Kusam
Pertumbuhan pada MRS Broth <ul style="list-style-type: none"> <li>- Endapan</li> <li>- Kekeruhan</li> </ul>	Ada Sedikit
Suhu Tumbuh (°C) <ul style="list-style-type: none"> <li>- Minimum</li> <li>- Maksimum</li> <li>- Optimum</li> </ul>	7°C 45°C 25-32°C
Biokimiawi <ul style="list-style-type: none"> <li>- TSIA → H<sub>2</sub>S → Gas</li> <li>- SIM → Indol → Motility → H<sub>2</sub>S</li> <li>- SSA</li> <li>- Urea</li> </ul> Koagulasi Hidrolisis kasein Reaksi katalase Larutan Gula-gula <ul style="list-style-type: none"> <li>- Glukosa</li> <li>- Maltosa</li> <li>- Sukrosa</li> <li>- Laktosa</li> <li>- Manitol</li> </ul>	- - - - + + - + + - - - - -

Sumber : *Bergey's Manual, Gibson, T. Gordon (1974)*

Ket : (+) : reaksi positif  
 (-) : reaksi negative

Lampiran 11. Reidentifikasi pertumbuhan dari sifat fisiologi biakan *Pediococcus pentosaceus*.

<i>Pediococcus pentosaceus</i>	
<b>Pertumbuhan pada MRS Agar</b> - Bentuk Koloni - Warna Koloni - Kilauan Koloni	Tak beraturan, bulat Putih Kusam
<b>Pertumbuhan pada MRS Broth</b> - Endapan - Kekeruhan	Ada Sedikit
<b>Suhu Tumbuh (°C)</b> - Minimum - Maksimum - Optimum	7°C 45°C 25-32°C
<b>Biokimiawi</b> - TSIA → H <sub>2</sub> S → Gas  - SIM → Indol → Motility → H <sub>2</sub> S  - SSA - Urea	- -  - - -  + +
<b>Koagulasi</b>	-
<b>Hidrolisis kasein</b>	+
<b>Reaksi katalase</b>	-
<b>Larutan Gula-gula</b> - Glukosa - Maltosa - Sukrosa - Laktosa - Manitol	+ + - - -

Ket : (+) : reaksi positif  
 (-) : reaksi negative

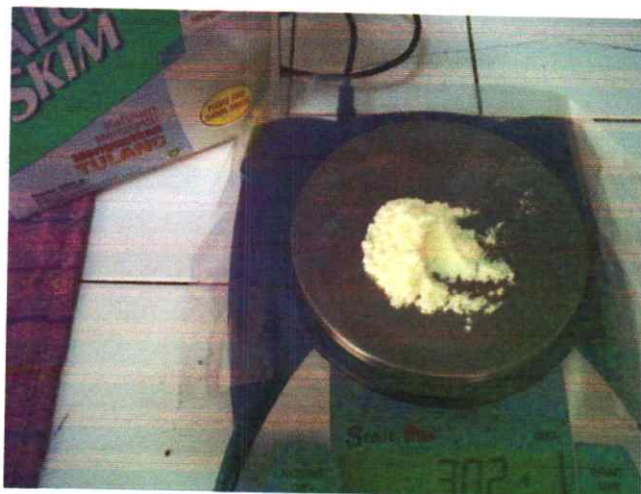
## Lampiran 5. Bahan yang digunakan



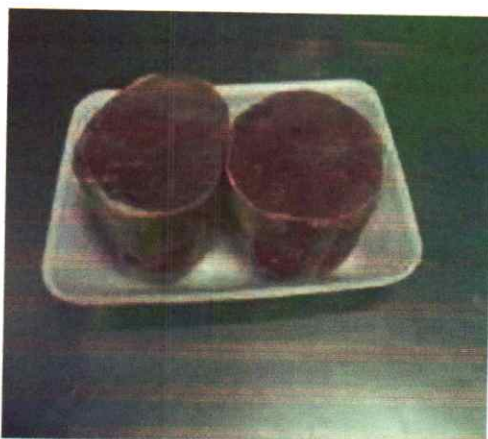
Gambar 1. Isolat *Pediococcus pentosaceus* dalam media MRS (Agar miring).



Gambar 2. Media MRS Broth



Gambar 3. Susu skim



Gambar 4. Daging sapi segar “gandik”.



Lampiran 6. Alat yang digunakan.



Gambar 5. Inkubator



Gambar 6. Eksikator



Gambar 7. Sentrifuse



Gambar 8. Fortex

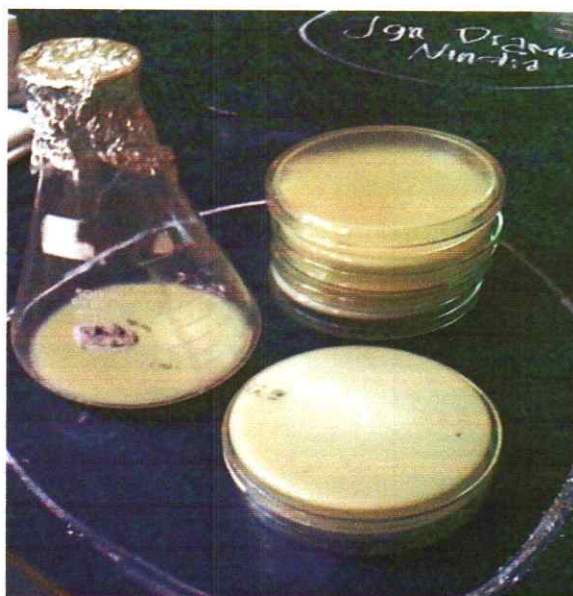


Gambar 9. Penetrometer keempukan daging.



Gambar 10. Autoclave

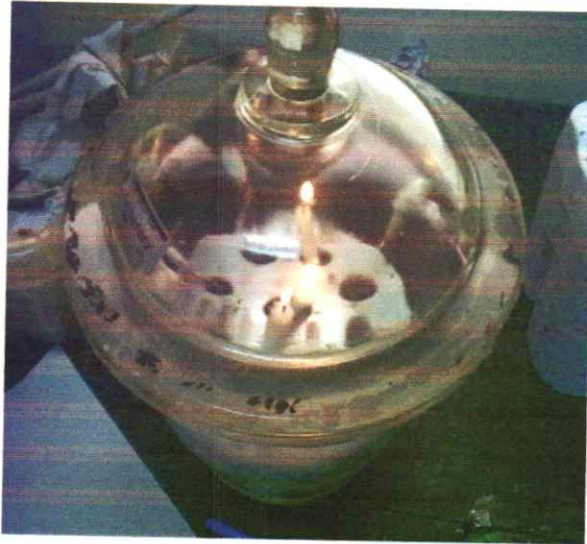
Lampiran 7. Gambar pelaksanaan penelitian.



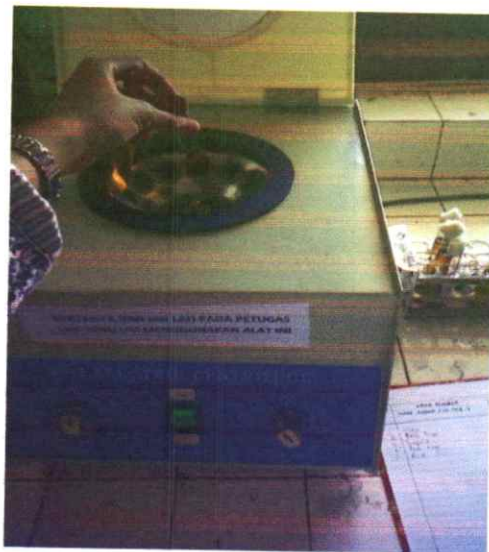
Gambar 11. Pembuatan media agar susu.



Gambar 12. Ekstraksi enzim protease kasar



Gambar 13. Inkubasi anaerob selama 24 jam

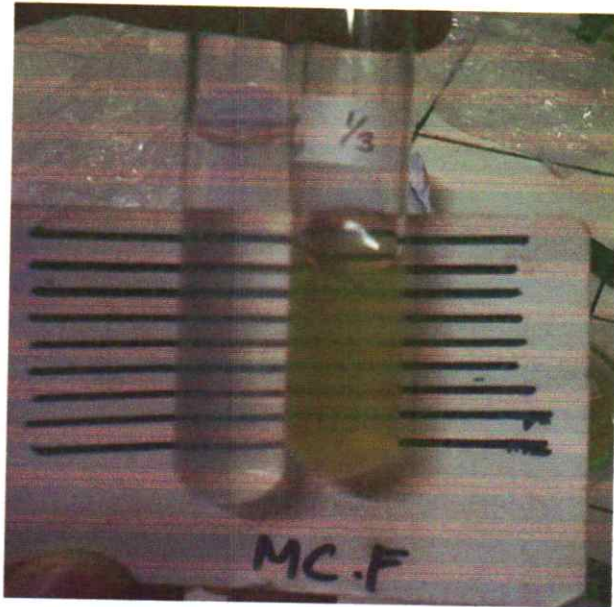


Gambar 14. Sentrifuse Media



Gambar 15 . Ekstrak enzim dalam bentuk supernatan disuntikan ke daging menurut masing-masing konsentrasi dan waktu inkubasi setiap perlakuan. A, B, C masing-masing adalah konsentrasi enzim  $1/3$ ,  $2/3$ , dan  $3/3$ .

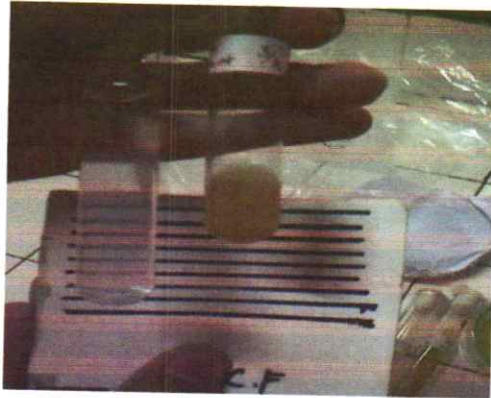
## Lampiran 8. Perbandingan Standart Mc. Farland



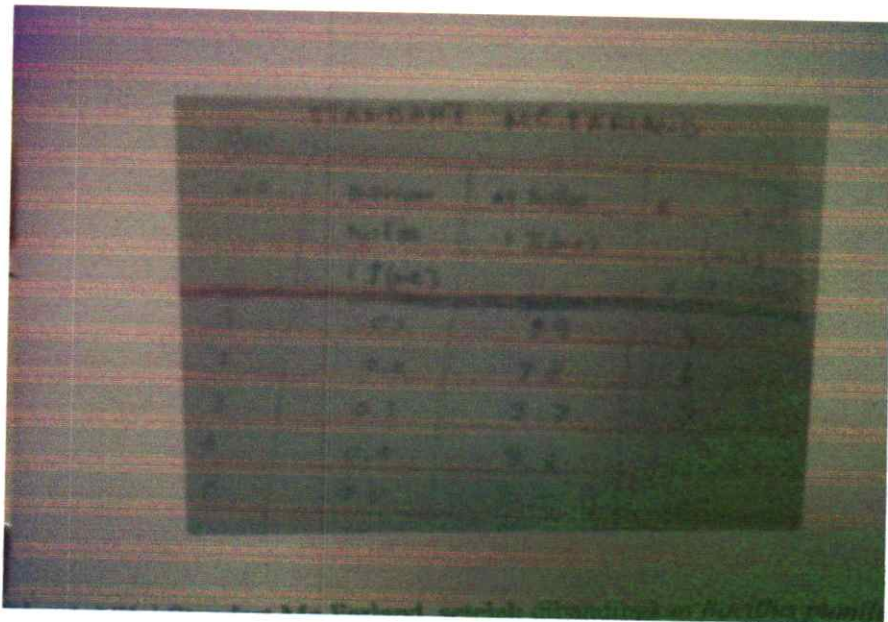
Gambar 17. Perbandingan dengan Mc Farland 1 hasil lebih keruh



Gambar 18. Perbandingan dengan Mc Farland 2 hasil lebih keruh.



Gambar 19. Perbandingan dengan Mc Farland 3 hasil lebih keruh.



Gambar 20. Nilai standar Mc Farland, setelah dibandingkan dengan Ekstrak enzim kasar dari bakteri asam laktat (BAL) *Pediococcus pentosaceus* dengan konsentrasi 1/3 berada pada nomer 1 yang berarti tiap ml terdapat  $3 \times 10^8$  CFU bakteri. Konsentrasi 2/3 berada pada nomer 2 yang berarti tiap ml terdapat  $6 \times 10^8$  CFU bakteri. Konsentrasi 3/3 berada pada nomer 3 yang berarti tiap ml terdapat  $9 \times 10^8$  CFU bakteri.



## Lampiran 9. Peremajaan kultur bakteri pada media MRS agar

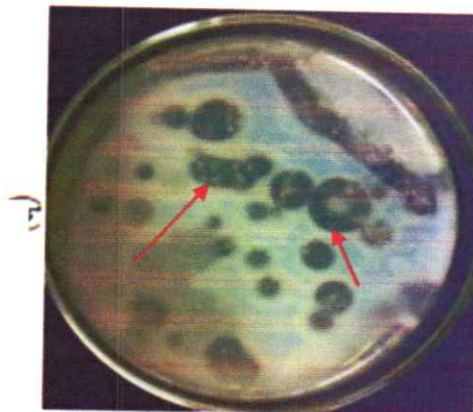


Gambar 21. Peremajaan pada media agar miring.



Gambar 22. Peremajaan pada media agar plate.

Lampiran 10. Hasil pengamatan zona bening.



Gambar 23. Aktivitas protease secara kualitatif pada media susu skim, timbul zona bening yang ditunjukkan dengan panah merah.