

**LAPORAN AKHIR PENELITIAN
UNIVERSITAS BAKRIE
TAHUN 2018**

**Profil SDS-PAGE Protein Daging Sapi Dan Ayam Kampung Yang
Direndam Ekstrak Jahe (*Zingiber Officinale Roscoe*) dan Getah
Pepaya (*Carica Papaya*)**

BIDANG ILMU DAN TEKNOLOGI PANGAN

**RIZKI MARYAM ASTUTI (NIRD: 9121000315)
ARDIANSYAH (NIRD: 9121000309)**

Dibiayai Oleh

**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN UB
TAHUN ANGGARAN 2017
NO. KONTRAK: 135/SPK/LPP-UB/V/2017**



**Universitas Bakrie
Kampus Kuningan Kawasan Epicentrum
Jl. HR Rasuna Said Kav. C-22, Jakarta, 12920**

**LEMBAR PENGESAHAN LAPORAN AKHIR PENELITIAN
TAHUN 2018**

1. Judul Penelitian : Profil SDS-PAGE Protein Daging Sapi Dan Ayam Kampung Yang Direndam Ekstrak Jahe (*Zingiber Officinale Roscoe*) dan Getah Pepaya (*Carica Papaya*)
2. Peneliti Utama
- a. Nama Lengkap : Rizki Maryam Astuti
- b. Jenis Kelamin : Perempuan
- c. Pangkat/Golongan/NIRD : Asisten Ahli / IIIA / 9121000315
- d. Bidang Keahlian : Kimia Pangan
- e. Program Studi : Ilmu dan Teknologi Pangan

3. Tim Peneliti

No	Nama	Bidang Keahlian	Program Studi
1	Ardiansyah	Biokimia	Ilmu dan Teknologi Pangan

4. Jangka Waktu Penelitian dan Pendanaan

- a. Jangka Waktu Penelitian yang Diusulkan : 6 bulan
- b. Biaya Total yang Diusulkan : Rp. 19.926.000,-
- c. Biaya yang Disetujui : Rp. 19.926.000,-

Jakarta, 8 Februari 2018

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian dan
Pengembangan

Peneliti Utama

Deffi Ayu Puspito Sari, Ph.D
NIRD. 9121000317

Rizki Maryam Astuti, M.Si
NIRD. 9121000315

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat keempukan daging sapi dan ayam kampung yang direndam dengan menggunakan ekstrak jahe dan getah pepaya, serta profil SDS-PAGE dan struktur daging (analisis SEM). Analisis yang dilakukan adalah analisis kadar air, kadar lemak dan kadar protein (tanpa perlakuan). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perendaman ekstrak jahe dan getah pepaya memberikan pengaruh yang nyata terhadap pH, susut masak, daya ikat air dan tekstur (keempukan) daging sapi dan daging ayam kampung. Untuk analisis SDS-PAGE dan SEM, dipilih perlakuan terbaik dari jahe, dan berdasarkan analisis tekstur, ekstrak jahe dapat mengempukkan daging sapi dibandingkan dengan getah pepaya, sedangkan pada daging ayam kampung, ekstrak jahe dan getah pepaya memiliki pengaruh yang sama. Profil SDS-PAGE daging sapi menunjukkan bahwa protein daging terdegradasi oleh ekstrak jahe dan getah pepaya. Hasil analisis SEM menunjukkan bahwa ekstrak jahe dan getah pepaya dapat memperbesar jarak antar serat daging. Jarak antar serat daging yang besar ini dimungkinkan membuat daging yang direndam ekstrak jahe dan getah pepaya menjadi lebih empuk. Oleh karena itu, jahe dapat menjadi alternatif lain sebagai pengempuk daging, menggantikan getah pepaya.

Daftar Isi

	Halaman
Lembar Pengesahan	2
Abstrak	3
Daftar Isi	4
Daftar Gambar	5
Daftar Tabel	5
Bab I. Pendahuluan	6
Bab II. Tinjauan Pustaka	8
Bab III. Metode Penelitian	10
3.1. Tahapan Analisis	10
3.2. Tahapan Persiapan Penelitian	10
3.3. Tahapan Perendaman	11
3.4. Analisis Sifat Kimia	12
3.5. Analisis Sifat Fisik	14
3.6. Analisis SDS-PAGE	15
3.7. Analisis SEM	17
3.8. Rancangan Percobaan dan Analisis Data	17
Bab IV. Hasil dan Pembahasan	18
4.1. Analisis Kimia	18
4.2. Analisis Fisik	18
4.3. Analisis SDS-PAGE	22
4.4. Analisis SEM	23
Bab V. Kesimpulan	25
Daftar Pustaka	26

Daftar Gambar

	Halaman
Gambar 1. SDS-PAGE daging	23
Gambar 2. Hasil SEM daging pada pembesaran 500 x	25

Daftar Tabel

	Halaman
Tabel 1. Sampel Daging, Sumber Enzim, Suhu dan Waktu dalam Perlakuan	11
Tabel 2. Kode Perlakuan	12
Tabel 3. Hasil Analisis Kimia pada Daging Sapi dan Ayam Kampung	18
Tabel 4. Hasil Analisis Fisik pada Daging Sapi	18
Tabel 5. Hasil Analisis Fisik pada Daging Ayam Kampung	20

BAB I PENDAHULUAN

Daging telah dikonsumsi secara luas sebagai sumber protein hewani yang berperan pada pertumbuhan dan perkembangan manusia. Nilai gizi daging yang tinggi disebabkan oleh kandungan asam-asam amino esensial yang lengkap, dan kandungan air, lemak, vitamin dan mineral yang dibutuhkan manusia (Soeparno, 2015).

Di Indonesia, konsumsi daging sapi dan ayam ras/kampung terus meningkat setiap tahunnya. Berdasarkan data Survei Sosial Ekonomi Nasional (SUSENAS) tahun 2015, konsumsi daging sapi di Indonesia sebesar 2,08 kg/kapita/tahun, sedangkan konsumsi daging ayam ras/kampung sebesar 9,0 kg/kapita/tahun (BPS, 2015). Tingkat konsumsi ini masih tergolong rendah jika dibandingkan dengan negara lain. Salah satu faktor yang mempengaruhi rendahnya tingkat konsumsi daging adalah kualitas daging, diantaranya tekstur dan keempukan daging.

Keempukan (*tenderness*) dan tekstur daging merupakan penentu penting pada kualitas daging. Secara keseluruhan ada tiga pengertian tentang keempukan, yaitu (1) kemudahan awal penetrasi gigi ke dalam daging, (2) mudahnya daging di kunyah menjadi fragmen potongan-potongan yang lebih kecil dan (3) jumlah residu yang tertinggal setelah pengunyahan (Lawrie, 2003).

Metode pengempukan daging yang telah terbukti mampu mengempukan daging diantaranya dengan cara perendaman dengan bahan-bahan yang mengandung enzim protease yang dapat memecah struktur protein dalam daging menjadi lebih empuk teksturnya, seperti perendaman daging kambing betina dengan getah pepaya (Riswandi, 2001). Selain itu, jahe juga terbukti dapat digunakan untuk mengempukkan daging, salah satunya adalah daging kerbau (Naveena *et al.*, 2004). Metode tersebut juga murah dan mudah diaplikasikan di masyarakat.

Jahe mengandung enzim protease yang bernama enzim *zingibain*, yang mampu mempengaruhi tekstur dan tingkat keempukan daging (Nafi *et al.*, 2013). Enzim ini memiliki suhu optimum 60°C dan pH optimum berkisar antara 6 sampai 8 (Nafi *et al.*, 2013), sehingga potensial untuk digunakan sebagai bahan pengempuk daging. Pepaya merupakan tumbuhan yang tergolong dalam famili *caricaceae* dan dipercaya sebagai gabungan dua species *carica*. Tumbuhan ini merupakan tumbuhan khas di negara-

negara tropis. Batang dan daun tumbuhan pepaya mengandung getah berwarna putih seperti susu (*white milky latex*). Dalam daun pepaya terdapat enzim papain, *alkaloid karpaina* dan *pseud-carpaine* (Dalimartha, 2003).

Metode perendaman daging dengan larutan enzim protease telah banyak dilakukan, diantaranya penggunaan enzim *papain* dalam getah pepaya dan enzim *zingibain* pada ekstrak jahe. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa enzim *papain* dan *zingibain* potensial digunakan sebagai alternatif pengempuk daging. Selain tekstur daging yang menjadi empuk, perendaman daging oleh enzim protease dari jahe atau pepaya dapat memotong rantai protein menjadi peptide-peptida yang dapat digunakan sebagai prekursor dalam pembentukan flavor. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh enzim protease dari ekstrak jahe dibandingkan dengan getah pepaya pada profil protein daging. Hasil penelitian ini, selain dapat digunakan untuk aplikasi langsung di masyarakat sebagai bahan pengempuk daging, profil SDS-PAGE yang diperoleh dapat menunjukkan perbedaan kemampuan enzim protease dari jahe dan getah pepaya dalam memotong rantai protein. Jika profil SDS-PAGE yang dihasilkan oleh jahe dan getah pepaya berbeda, maka jahe dapat menjadi alternatif dalam proses bioteknologi pembuatan flavor daging, dimana selama ini bioteknologi pembuatan flavor daging dengan enzim protease hanya menggunakan enzim papain dari pepaya dan *Aspergillus niger*. Saat ini penjualan enzim protease merupakan yang terbesar di pasar global dan diperkirakan telah mencapai \$ 3,74 milyar pada tahun 2015 (Jose, 2017)

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Enzim Zingibain dari Jahe

Jahe (*Zingiber officinale roscoe*) adalah salah satu jenis tanaman yang termasuk suku *zingiberaceae*, tanaman rimpang yang terkenal sebagai rempah-rempah dan bahan obat. Rimpangnya berbentuk jemari yang menggembung diruas-ruas tengah dengan rasa pedas yang dominan berasal dari senyawa yang bernama *gingerol* (Ali *et al.*, 2008). Saat ini jahe merupakan salah satu tanaman yang sangat penting karena digunakan sebagai rempah pada masakan di seluruh dunia (Ravindran dan Babu, 2005). Jahe juga digunakan dalam bidang farmasi karena kandungan senyawa fenoliknya, yaitu gingerol dan shagaol (Ghasemzadeh *et al.*, 2010), yang dilaporkan sebagai zat anti-kanker dan senyawa antioksidan (Surh, 2003).

Enzim protease yang terkandung dalam jahe adalah zingibain, yang pertama dilaporkan memiliki aktivitas proteolitik pada tahun 1973 (Thompson, 1973). Zingibain sangat reaktif terhadap kolagen dan protein jaringan lain (Kim *et al.*, 2007). Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa zingibain yang diekstrak dari jahe memiliki aktivitas optimum pada suhu 60 °C dengan rentang pH 6 – 8. Enzim ini termasuk ke dalam kelompok *cysteine protease* karena dapat dihambat oleh NEM dan Hg²⁺ dan Cu²⁺, dan kemampuannya dalam mempertahankan aktivitasnya dengan keberadaan monokation kecuali Li⁺ dan beberapa detergen (Nafi *et al.*, 2013).

2.2. Enzim Papain dari Pepaya

Papain merupakan campuran enzim dari buah pepaya yang memiliki aktivitas proteolitik. Enzim ini dapat mendegradasi protein myofibril dan kolagen, menghasilkan fragmen-fragmen proein yang beragam (Ashie *et al.*, 2002). Penggunaan enzim papain biasanya dilakukan dengan menyuntikkan enzim pada daging karena enzim ini sulit berpenetrasi/meresap ke dalam daging. Suhu optimal enzim papain berkisar antara 65 – 80 °C dengan rentang pH 4 – 6.

2.3. Daging

Daging merupakan komoditas pangan hewani yang sangat penting karena

mempunyai kandungan nutrisi yang tinggi (Fennema, 1985). Daging tersusun atas empat golongan jaringan sel yaitu jaringan kulit, jaringan pengikat, jaringan lemak dan jaringan daging. Menurut Muchtadi dan Sugiyono (1992), komponen fisik yang utama pada karkas adalah jaringan daging skeletal. Jaringan lainnya adalah jaringan lemak, jaringan pengikat termasuk tendon dan fasia, tulang dan tulang rawan, jaringan syaraf dan pembuluh darah. Komponen kimia jaringan daging yaitu air (65-80%), protein (16-22%), lemak (1,3-13%), karbohidrat (0,5-1,3%) dan mineral (1%).

Protein yang ada dalam daging secara umum dapat dibedakan menjadi (1) protein yang larut dalam air atau larutan garam encer (protein-protein sarkoplasma); (2) protein yang larut dalam larutan garam pekat (protein-protein myofibril) dan (3) protein yang tidak larut dalam larutan garam pekat.

Substansi protein dalam jaringan daging yaitu 55% protein kontraktil myofibril (aktin, myosin, troponin, tropomyosin dan aktinin); 30% protein sarkoplasma dalam bentuk enzim dan pigmen myoglobin; sedangkan 15% sisanya adalah protein jaringan pengikat yang tidak larut air (elastin dan retikulin) (Considine dan Considine, 1982). Protein yang dapat dicerna oleh alat pencernaan tubuh adalah sekitar 85%.

Menurut Judge *et al.* (1989), protein daging mengandung (1) asam-asam amino esensial, yaitu fenilalanin, valin, triptofan, treonin, metionin, leusin, isoleusin, lisin, arginine, dan histidine; (2) asam amino non-esensial seperti alanine, asparagin, asam aspartat, glutamin, asam glutamat, sistein, serin, tirosin, glisin, prolin dan hidroksiprolin; dan (3) senyawa nitrogen non protein seperti asam amino bebas, peptida, amin, amida, kreatin, kreatinin dan purin. Jaringan lemak pada daging mengandung berbagai macam lemak. Lemak dan jaringan lemak umumnya terdiri dari lemak sederhana yaitu ester-ester gliserol dengan asam-asam lemak yang berjumlah lebih dari 99%, lemak daging banyak mengandung fosfolipid dari fraksi-fraksi yang tidak tersabunkan seperti kolesterol.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Tahapan Analisis

Penelitian dilakukan dalam 3 tahapan. Pada tahap pertama, sampel daging sapi dan ayam kampung dipersiapkan tanpa perlakuan dan dianalisis kimia, meliputi analisis kadar air, lemak dan protein.

Tahap kedua adalah perendaman daging yang dilanjutkan dengan analisis fisik, yaitu pH, susut masak, daya ikat air dan analisis tekstur (*hardness*) terhadap daging yang telah diberi perlakuan untuk mengetahui keempukan daging akibat perendaman dalam ekstrak jahe dan getah pepaya.

Tahap ketiga adalah analisis SDS-PAGE protein dan SEM daging sapi atau ayam kampung pada perlakuan perendaman jahe dan getah pepaya yang paling optimum.

3.2. Tahapan Persiapan Penelitian

3.2.1. Sampel Daging

Sampel daging sapi diperoleh dari rumah pemotongan hewan di Jakarta. Daging sapi yang digunakan adalah sapi jantan dengan umur 4 – 5 tahun. Bagian daging sapi yang digunakan untuk analisis adalah bagian paha belakang. Pada daging ayam kampung, daging didapatkan dari tempat pemotongan ayam di Pasar Anyar – Bogor. Bagian daging yang digunakan untuk analisis adalah bagian dada. Daging yang sudah dibeli dimasukkan ke dalam *cool box* yang berisi *ice gel* untuk menjaga kondisi daging tetap segar. Selama penelitian, daging disimpan di dalam *freezer* dengan suhu -15°C untuk menghindari kerusakan dan kontaminasi bakteri. Daging yang akan digunakan untuk pengujian dipotong sebesar $2 \times 2 \times 1,5 \text{ cm}^3$.

3.2.2. Getah Pepaya (Riswandi, 2001)

Buah pepaya berumur 2 – 3 bulan disadap memanjang dari pangkal ke ujung sebanyak lima goresan. Penyadapan dilakukan pada pagi hari (pukul 05.00 – 08.00 WIB). Getah pepaya yang dihasilkan kemudian dikumpulkan dalam botol kaca. Getah pepaya ini digunakan untuk membuat larutan getah pepaya dengan konsentrasi 0,8% yang selanjutnya digunakan untuk merendam daging sapi dan daging ayam kampung.

3.2.3. Jahe (Naveena *et al.*, 2004)

Jahe yang digunakan adalah jenis Jahe Gajah yang didapat di Pasar Anyar – Bogor. Jahe terlebih dahulu dicuci hingga bersih dan dikupas bagian kulitnya. Jahe dipotong dan dimasukkan ke dalam *blender*, dengan ditambahkan aquades dingin dengan perbandingan 1:1. Larutan ekstrak jahe dipisahkan dari ampas dengan larutannya dengan menggunakan kain saring. Kemudian dibuat larutan dengan konsentrasi 5% yang selanjutnya digunakan untuk merendam daging sapi dan daging ayam kampung.

3.3. Tahapan Perendaman

Metode perendaman yang dilakukan menggunakan 2 sumber enzim yang berbeda, yaitu enzim protease dari jahe (*zingibain*) dan getah pepaya (*papain*) dengan suhu dan waktu yang telah ditentukan. Perlakuan yang diujikan dapat dilihat pada Tabel 1.

Daging yang direndam dalam waktu 8 jam dengan suhu 4°C ini dilakukan berdasarkan perkiraan waktu pembelian daging yang biasa dilakukan oleh masyarakat, yaitu di pagi hari. Sehingga masyarakat dapat merendam daging terlebih dahulu dan mengolah daging setelah direndam selama 8 jam pada suhu 4°C (suhu kulkas). Selain itu, perlakuan ini juga bertujuan untuk mengetahui aktivitas enzim protease pada suhu rendah.

Tabel 1. Sampel Daging, Sumber Enzim, Suhu dan Waktu dalam Perlakuan

Perlakuan		
Daging	Sumber Enzim	Suhu dan Waktu
Sapi	Kontrol (Aquades)	60°C, 15 menit
		4°C (suhu pendingin), 8 jam
	Jahe	60°C, 15 menit
		4°C (suhu pendingin), 8 jam
	Getah Pepaya	60°C, 15 menit
		4°C (suhu pendingin), 8 jam
Ayam Kampung	Kontrol (Aquades)	60°C, 15 menit
		4°C (suhu pendingin), 8 jam
	Jahe	60°C, 15 menit
		4°C (suhu pendingin), 8 jam
	Getah Pepaya	60°C, 15 menit
		4°C (suhu pendingin), 8 jam

Perendaman daging selama 15 menit pada suhu sekitar 60°C mengacu pada suhu optimal untuk enzim protease pada jahe (*zingabain*) (Nafi *et al.*, 2013) dan pepaya (*papain*) (Calkins dan Sullivan, 2007). Perlakuan yang dilakukan terhadap daging sapi dan daging ayam kampung selanjutnya diberi kode seperti terangkum pada Tabel 2.

Tabel 2. Kode Perlakuan

Kode	Pelakuan
S1P1	Perendaman sapi dengan aquades suhu 60°C, 15 menit
S1P2	Perendaman sapi dengan ekstrak jahe suhu 60°C, 15 menit
S1P3	Perendaman sapi dengan getah pepaya suhu 60°C, 15 menit
S2P1	Sapi tanpa perendaman suhu 4°C, 8 jam
S2P2	Perendaman sapi dengan ekstrak jahe suhu 4°C, 8 jam
S2P3	Perendaman sapi dengan getah pepaya suhu 4°C, 8 jam
A1P1	Perendaman ayam kampung dengan aquades suhu 60°C, 15 menit
A1P2	Perendaman ayam kampung dengan ekstrak jahe suhu 60°C, 15 menit
A1P3	Perendaman ayam kampung dengan getah pepaya suhu 60°C, 15 menit
A2P1	Ayam kampung tanpa perendaman suhu 4°C, 8 jam
A2P2	Perendaman ayam kampung dengan ekstrak jahe suhu 4°C, 8 jam
A2P3	Perendaman ayam kampung dengan getah pepaya suhu 4°C, 8 jam

3.4. Analisis Sifat Kimia

3.4.1. Pengukuran Kadar Air, Metode Gravimetri (AOAC, 1995)

Cawan aluminium dikeringkan dalam oven selama 15 menit sampai 30 menit dengan suhu 100°C. Kemudian didinginkan dalam desikator selama 10 menit dan ditimbang. Sampel sebanyak 5 gram dimasukkan ke dalam cawan yang telah diketahui beratnya, lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C selama 3-4 jam sampai tercapai berat konstan. Selanjutnya cawan beserta isinya didinginkan dalam desikator selama 10 menit dan ditimbang. Perhitungan kadar air dilakukan dengan rumus:

$$\text{Kadar air (\% bb)} = \frac{c - (a - b)}{c} \times 100\%$$

Keterangan:

a = berat cawan dan sampel akhir (gram)

b = berat cawan (gram)

c = berat sampel awal (gram)

3.4.2. Pengukuran Kadar Protein, Metode Micro-Kjeldahl (AOAC, 1995)

Sampel ditimbang 0,5 gram, lalu dimasukkan ke dalam tabung kjeldahl dan ditambahkan 1 gram selen dan 12,5 ml H₂SO₄ pekat. Kemudian dipanaskan di atas kompor destruksi sampai mendidih dan dilarutkan menjadi jernih kehijau-hijauan (sekitar 2 jam). Campuran dibiarkan dingin lalu ditambahkan 50 ml aquades.

Larutan kemudian dimasukkan ke dalam alat destilasi, dibilas dengan aquades, dan ditambahkan 10 ml larutan NaOH–Na₂S₂O₃. Gas NH₃ yang dihasilkan dari reaksi dalam alat destilasi ditangkap oleh H₃BO₃ dalam erlenmeyer yang telah ditambahkan 3 tetes indikator (campuran 2 bagian merah metil 0,2% dalam alkohol dan 1 bagian *methylene blue* 0,2% dalam alkohol). Kondensat tersebut kemudian dititrasi dengan HCl 0,02 N yang sudah distandardisasi hingga terjadi perubahan warna kondensat menjadi abu-abu. Penetapan blanko dilakukan dengan metode yang sama seperti penetapan sampel. Kadar protein dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar N (\%)} = \frac{(\text{ml HCL sampel} - \text{ml HCL blanko}) \times N \text{ HCl} \times 14.007 \times 100}{\text{mg sampel}}$$

$$\text{Kadar protein (\% bb)} = \% N \times 6.25 \text{ (faktor konversi)}$$

3.4.3. Analisis Kadar Lemak, Metode Ekstraksi Soxhlet (AOAC, 1995)

Labu lemak yang akan digunakan dikeringkan dalam oven bersuhu 100-110°C, lalu didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Sampel sebanyak 5 gram ditimbang, dibungkus dengan kertas saring dan dimasukkan ke dalam alat ekstraksi (soxhlet) yang telah berisi pelarut heksana. Refluks dilakukan selama 2,5 jam (minimum) dan pelarut yang ada di dalam labu lemak didistilasi. Selanjutnya, labu lemak yang berisi lemak hasil ekstraksi dipanaskan dalam oven yang bersuhu 100°C sampai beratnya konstan, didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Berat lemak dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar lemak (\% bb)} = \frac{a - b}{c} \times 100\%$$

Keterangan :

a = berat labu dan sampel akhir (gram)

b = berat labu kosong (gram)

c = berat sampel awal (gram)

3.5. Analisis Sifat Fisik

3.5.1. Analisis pH (Jayaraman, 1981)

Nilai pH diukur dengan alat pH meter yang telah dikalibrasi terlebih dahulu dengan larutan *buffer* pH 4 dan 7. Sampel daging diblender, diambil 5 gram, ditambahkan 10 ml aquades, dicampurkan, lalu dipindahkan ke dalam gelas ukur. pH campuran diukur menggunakan pH meter.

3.5.2. Daya Mengikat Air (DMA) (Riswandi, 2001)

Sampel daging yang telah disiapkan dicuci terlebih dahulu lalu dikeringkan di atas kertas saring selama 5 menit, kemudian sampel daging diblender. Daging yang sudah diblender diambil sebanyak 5 gram, lalu dimasukkan kedalam tabung sentrifuse 25 ml yang sebelumnya sudah ditambahkan 5 ml aquades, dicampur dengan pengaduk dan disimpan pada suhu 2–4°C. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 20 menit. Cairan yang tidak terendap dalam tabung sentrifuse diukur dengan gelas ukur. Daya ikat air dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\begin{aligned} & \text{Daya Ikat Air (\%)} \\ &= \frac{\text{volume air yang ditambahkan (ml)} - \text{volume air yang tidak terserap (ml)}}{\text{berat awal (gram)}} \times 100\% \end{aligned}$$

3.5.3. Susut Masak (Riswandi, 2001)

Susut masak adalah perbedaan antara berat daging sebelum dan sesudah dimasak, dinyatakan dalam persentase (%). Sampel daging ditancapkan dengan termometer sampai mencapai suhu internal 80°C selama 15 menit. Sampel daging diangkat dan didinginkan kemudian dikeringkan dengan kertas saring selama 15 menit. Susut masak dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\begin{aligned} & \text{Susut Masak (\%)} \\ &= \frac{\text{Berat awal (gram)} - \text{Berat setelah pemanasan (gram)}}{\text{Berat awal (gram)}} \times 100\% \end{aligned}$$

3.5.4. Analisis Tekstur (Al-Barri *et al.*, 2012)

Sampel daging yang sudah dibentuk menjadi kubus diletakkan pada tempat pengujian tekstur, lalu sampel ditusuk menggunakan *probe*. Nilai yang diperoleh berupa *hardness* (kekerasan).

3.6. Analisis SDS-PAGE (Bollag dan Edelstein, 1991)

Masing-masing daging sapi dan ayam kampung dengan perlakuan yang paling optimum dianalisis dengan elektroforesis menggunakan gel akrilamid. Gel yang digunakan terdiri atas dua bagian, yaitu gel atas (*stacking gel*) dan gel bawah (*separating gel*) dengan konsentrasi *stacking gel* 5% dan *separating gel* 12%. Pembuatan larutan kerja untuk elektroforesis SDS-PAGE dapat dilihat pada Lampiran 1. Adapun tahapan yang harus dilakukan dalam elektroforesis SDS-PAGE adalah sebagai berikut:

a. Pembuatan *separating gel*

Dua lempeng kaca (*mini slab*) yang akan digunakan sebagai cetakan gel dirangkai sesuai dengan petunjuk pemakaian. Sebanyak 4 mL larutan A (Lampiran 1) dipipet ke dalam gelas piala, kemudian ditambahkan 2,5 mL larutan B (Lampiran 1) dan 3,5 mL akuabides. Larutan tersebut kemudian diaduk perlahan dengan menggoyangkan gelas piala. Selanjutnya, sebanyak 50 μ L APS 10% dan 5 μ L TEMED ditambahkan ke dalam larutan dan diaduk kembali dengan perlahan. Larutan dimasukkan ke dalam lempeng kaca (*mini slab*) tanpa menimbulkan gelembung udara dengan menggunakan mikropipet sampai sekitar 1 cm dari atas lempeng. Bagian yang tidak diisi gel diberi akuades untuk meratakan gel yang terbentuk. Gel dibiarkan mengalami polimerisasi selama 30-60 menit.

b. Pembuatan *stacking gel*

Air dibuang dari atas *separating gel* dan dikeringkan dengan menggunakan *tissue*. Akuabides, larutan A, dan larutan C (Lampiran 1) masing-masing sebanyak 2,3 mL; 0,67 mL; dan 1,0 mL dicampurkan ke dalam gelas piala dan diaduk perlahan dengan menggoyangkan gelas piala. Selanjutnya, sebanyak 30 μ L APS 10% dan 5 μ L TEMED ditambahkan ke dalam campuran dan diaduk kembali dengan perlahan. Kemudian sisir dimasukkan dengan cepat tanpa menimbulkan gelembung udara. *Stacking gel* dibiarkan mengalami polimerisasi selama 30-60 menit. Setelah gel

berpolimerisasi, sisir diangkat dari atas gel dengan perlahan dan *slab* ditempatkan ke dalam wadah elektroforesis. Bufer elektroforesis dimasukkan ke wadah elektroforesis di bagian dalam dan luar agar gel terendam.

c. Preparasi dan injeksi sampel

Sebanyak 40 μL ekstrak protein daging sapi dan ayam kampung, masing-masing dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf dan ditambahkan 10 μL bufer sampel. Tabung kemudian dipanaskan selama 5 menit dalam air mendidih 100°C . Sampel siap diinjeksikan ke dalam sumur menggunakan mikropipet. Pada salah satu sumur, ditempatkan sebanyak 7 μL protein marker.

d. *Running* SDS-PAGE

Katup elektroda dipasang dengan arus mengalir ke anoda. Sumber listrik dinyalakan dan dijaga konstan pada 70 V. *Running* dilakukan selama 180 menit sampai migrasi pewarna tersisa sekitar 0,5 cm dari dasar. Setelah selesai, aliran listrik dimatikan dan katup elektroda dilepaskan, lalu plat gel dipindahkan dari elektroda.

e. Pewarnaan gel

Gel diangkat dari *slab* dan dipindahkan ke dalam wadah tertutup yang telah berisi pewarna *coomasie brilliant blue* G-250 (kurang lebih 20 mL). Kemudian digoyang-goyangkan sesekali selama 5-10 menit.

f. *Destaining gel*

Gel diangkat dan dicuci menggunakan akuades beberapa kali. Larutan penghilang warna ditambahkan (*destaining solution*) dan digoyangkan sesekali hingga latar belakang pita protein menjadi terang. Selanjutnya, larutan penghilang warna dibuang dan gel siap dianalisis.

3.7. Analisis SEM (*Scanning Electron Microscope*)

Struktur daging dianalisis menggunakan SEM (ZEISS, tipe EVOMA10) dengan prosedur sebagai berikut: sampel ditempatkan pada Specimen Holder yang sudah dilapisi dengan Karbon Tabs. Kemudian dilakukan pelapisan dengan alat Sputter Coater Merk Quorum tipe Q150R ES. Pelapisan dilakukan dengan menggunakan emas, arus 20 (mA), selama 60 detik. Sampel yang sudah dilapisi di Specimen Holder selanjutnya dipasang dalam Stage untuk dianalisa SEM. Stage yang sudah berisi sampel dimasukan

dalam Chamber dan diambil gambar dengan menggunakan SEM merk ZEISS dengan tipe alat EVOMA10. Gambar diambil dengan menggunakan detektor SE (*Secondary Electron*), *Working Distance* 9.0 mm dan EHT 16.00 kV pada pembesaran 500 x.

3.8. Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap, pola satu faktor, yaitu “Metode Pengempukan”, dengan perlakuan sebagai berikut:

1. Tanda Perendaman dengan suhu 4°C selama 8 jam
2. Perendaman dengan ekstrak jahe dengan suhu 4°C selama 8 jam
3. Perendaman dengan getah pepaya dengan suhu 4°C selama 8 jam
4. Perendaman dengan aquades dengan suhu 60°C selama 15 menit
5. Perendaman dengan ekstrak jahe suhu 60°C selama 15menit
6. Perendaman dengan getah pepaya suhu 60°C selama 15 menit

Model rancangan percobaan :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Dimana : $i = 1, 2, 3, 4, 5, 6$

$j = 1, 2, 3$

Keterangan :

Y_{ij} = Respon pengaruh Metode Pengempukan ke-i dan ulangan ke-j

μ = Nilai rata-rata umum

τ_i = Metode Pengempukan ke-i

ε_{ij} = Pengaruh galat percobaan

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan sidik ragam. Respon yang dilakukan adalah pH, daya ikat air, susut masak dan analisis tekstur (*hardness*). Jika hasilnya berbeda nyata antar perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji Duncan dengan tingkat kepercayaan 95%.

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Analisis Kimia

Nilai nutrisi daging sangat banyak tetapi salah satu yang menentukan nilai keempukan dari daging tersebut secara kimia adalah kadar air, lemak dan protein. Hasil analisis kimia daging ayam kampung yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Analisis Kimia pada Daging Sapi dan Ayam Kampung

Analisis Kimia	Sapi (%)	Ayam Kampung (%)
Kadar Air	72.76±1.49	71.34±2.64
Kadar Lemak	3.03±0.73	0.99±0.06
Kadar Protein	24.14±0.58	24.39±0.44

4.2. Analisis Fisik

4.2.1. Daging Sapi

Analisis fisik yang dilakukan adalah pH, susut masak, daya ikat air, dan analisis tekstur dan hasil analisis terangkum pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Analisis Fisik pada Daging Sapi

Perlakuan	pH	Susut masak (%)	Daya Ikat Air (%)	Analisis Tekstur (mJ)
S1P1	5.65±0.08 ^{abc}	16.35±0.52 ^a	68.43±3.25 ^c	53.22±0.88 ^f
S1P2	5.80±0.10 ^c	21.64±0.58 ^b	77.94±0.94 ^d	46.96±0.57 ^e
S1P3	5.73±0.04 ^{bc}	21.16±0.03 ^b	69.22±3.11 ^c	31.36±0.53 ^d
S2P1	5.44±0.13 ^a	43.80±1.14 ^c	6.59±0.01 ^b	19.36±0.05 ^c
S2P2	5.45±0.18 ^a	43.92±0.83 ^c	7.85±0.06 ^b	10.22±0.12 ^a
S2P3	5.53±0.16 ^{ab}	58.51±1.74 ^d	-4.61±0.03 ^a	13.89±0.21 ^b

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan nilai tidak berbeda nyata (P>0.05)

Salah satu yang mempengaruhi keempukan daging adalah nilai pH. Daging dengan pH tinggi (lebih diatas 6,0) mempunyai keempukan yang lebih tinggi dari pada daging dengan pH rendah (sekitar 6,0) (Soeparno, 2015). Tetapi nilai pH yang terlalu tinggi akan menyebabkan tumbuhnya mikroorganisme pembusuk (pH 7), sehingga

mempengaruhi kualitas daging karena hampir sebagian bakteri tumbuh secara optimal pada pH tersebut (Rahayu & Nurwitri, 2012). Hasil yang diperoleh dari penelitian ini menunjukkan bahwa perendaman jahe dan getah pepaya memberikan pengaruh ($P < 0.05$) terhadap pH (Tabel 4).

Susut masak adalah berat yang hilang selama pemasakan, makin tinggi suhu pemasakan dan semakin lama waktu pemasakan, makin besar pula kadar cairan yang hilang sampai mencapai tingkat berat yang tetap. Susut masak merupakan salah satu faktor yang berhubungan dengan kadar jus daging, yaitu banyaknya air yang terikat didalam dan diantara serabut otot daging (Soeparno, 2015).

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini menunjukkan bahwa perendaman jahe dan getah pepaya memberikan pengaruh ($P < 0.05$) terhadap susut masak (Tabel 4). Hasil ini disebabkan karena adanya pengaruh enzim yang bekerja pada daging sehingga meningkatkan susut masak. Pada perlakuan S2P3 memiliki nilai susut masak yang lebih tinggi dibandingkan kontrol (S1P1) yang disebabkan pengaruh dari temperatur yang menyebabkan rusaknya getah pepaya, sehingga menyebabkan tingginya nilai susut masak daging sapi tersebut (Riswandi, 2001). Pada perlakuan S2P2 memiliki nilai susut masak yang tidak berbeda dengan kontrol (S1P1), sehingga dapat disimpulkan bahwa perendaman jahe tidak terlalu meningkatkan nilai susut masak pada daging.

Daya ikat air sangat penting dalam menentukan kualitas dari suatu daging. Daya ikat air menurun dari pH sekitar 7 sampai 10. Protein daging memiliki titik isoelektrik antara 5,0-5,1. Pada pH isoelektrik ini protein daging tidak bermuatan (jumlah muatan positif sama dengan jumlah muatan negatif) dan kelarutannya rendah. Pada pH yang lebih tinggi dari pH isoelektrik protein daging, terdapat sejumlah muatan positif dibebaskan dan terdapat surplus pada muatan negatif sehingga mengakibatkan penolakan dari miofilamen dan memberikan lebih banyak ruang untuk molekul air terisi dan sebaliknya.

Pada pH lebih tinggi atau lebih rendah dari titik isoelektrik mengakibatkan daya ikat air protein daging meningkat (Soeparno, 2015). Sampel daging sapi perlakuan S2P1, S2P2, dan S2P3 memiliki daya ikat air yang lebih rendah dibandingkan dengan daging sapi perlakuan S1P1, S1P2 dan S1P3 ($p < 0.05$). Hal tersebut disebabkan karena pada suhu rendah enzim yang bekerja pada jahe dan getah pepaya tidak mengalami

kerusakan sehingga enzim-enzim tersebut menghambat daya ikat air pada daging, sehingga daging tidak mampu mengikat air secara optimal (Soeparno, 2015).

Pada daging sapi yang direndam getah pepaya pada suhu 4°C selama 8 jam (S2P3) memiliki nilai yang negatif disebabkan karena getah pepaya memiliki karakter fisik kental sehingga mempersulit daging mengikat air, sedangkan pada daging sapi yang direndam jahe pada suhu 60°C (S2P2) memiliki nilai daya ikat air yang lebih tinggi dibandingkan kontrol (S2P1). Hal tersebut disebabkan oleh adanya pengaruh temperatur. Suhu 60°C merupakan suhu optimal enzim, sehingga enzim proteolitik pada jahe bekerja secara optimal melonggarkan mikrostruktur daging, sehingga daging dapat mengikat air lebih cepat dan mengakibatkan tingginya daya ikat air (Afrila & Santoso, 2011)

Hasil analisa tekstur menunjukkan bahwa daging sapi yang diberikan perlakuan perendaman ekstrak jahe dan getah pepaya memberikan hasil yang lebih baik (lebih empuk) dibandingkan kontrol ($P < 0.05$). Nilai terbaik diperoleh pada perlakuan S2P2 dengan perendaman ekstrak jahe. Hal ini membuktikan bahwa enzim protease dalam jahe (*zingibain*) mampu memecah protein sehingga menjadi struktur yang lebih sederhana daripada getah pepaya.

4.2.2. Ayam Kampung

Hasil analisis menunjukkan bahwa antar perlakuan memberikan pengaruh yang nyata terhadap pH, susut masak, daya ikat air dan analisis tekstur ($P < 0.05$) (Tabel 5). Hasil analisis pH menunjukkan pH pada ayam kampung berkisar antara 5,71-5,87.

Tabel 5. Hasil Analisis Fisik pada Daging Ayam Kampung

Perlakuan	pH	Susut masak (%)	Daya Ikat Air (%)	Analisis Tekstur (mJ)
A1P1	5.87±0.02 ^c	19.96±3.94 ^b	59.10±1.78 ^c	57.58±1.58 ^d
A1P2	5.80±0.10 ^{abc}	13.95±3.67 ^a	57.90±2.54 ^c	34.17±1.42 ^c
A1P3	5.84±0.04 ^c	13.80±2.68 ^a	40.17±20.87 ^b	34.86±0.38 ^c
A2P1	5.81±0.04 ^{bc}	36.98±4.39 ^c	5.87±0.03 ^a	15.27±0.26 ^b
A2P2	5.71±0.07 ^a	40.80±2.82 ^d	5.65±0.35 ^a	13.36±0.35 ^a
A2P3	5.72±0.02 ^{ab}	72.60±3.16 ^e	-9.49±0.38 ^a	13.29±0.49 ^a

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan nilai tidak berbeda nyata ($P > 0.05$)

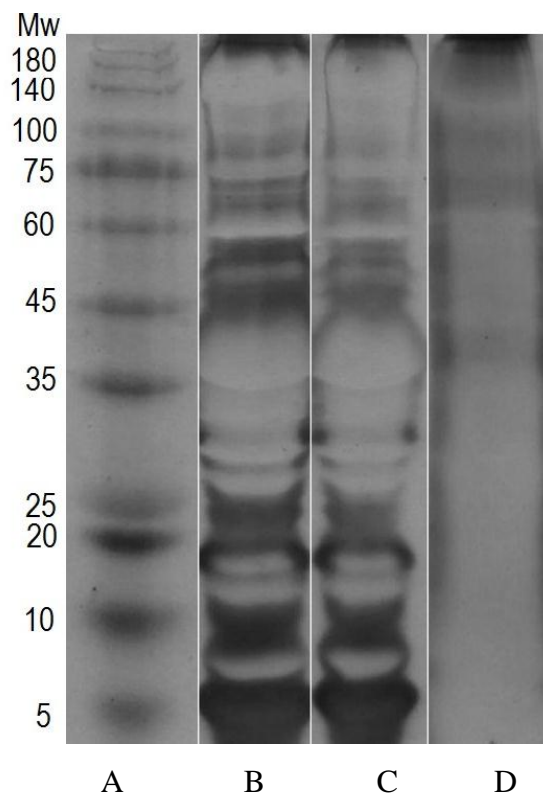
Hasil analisis susut masak pada sampel daging ayam kampung menunjukkan nilai yang cukup besar disebabkan pengaruh temperatur. Hasil yang berbeda disebabkan karena nilai optimal pada masing-masing enzim protease juga berbeda sehingga memberikan hasil nilai susut masak yang berbeda. Enzim protease pada jahe (*zingibain*) menurun aktivitasnya apabila suhu lebih dari 60°C, sedangkan pada getah pepaya pada suhu lebih dari 75°C aktivitas enzim papain menjadi tidak optimal (Calkins & Sullivan, 2007). Karakter dari enzim protease masing-masing yang berbeda juga memberikan hasil yang berbeda.

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini menunjukkan bahwa perendaman ekstrak jahe dan getah pepaya memberikan pengaruh ($P < 0.05$) terhadap daya ikat air (Tabel 5). Hasil perlakuan daging ayam dengan perendaman ekstrak jahe dan getah pepaya pada suhu 4°C selama 8 jam menyebabkan nilai daya ikat air rendah, disebabkan pada temperatur rendah dan karena pengaruh jaringan ikat otot pada daging tidak dapat mengikat air lagi sehingga tidak memberikan pengaruh yang berbeda. Fardiaz *et al.* (1992) menyatakan protein merupakan komponen yang paling berpengaruh terhadap daya ikat air suatu bahan meskipun komponen-komponen yang lain juga berpengaruh.

Hasil analisa tekstur menunjukkan bahwa daging ayam kampung yang diberikan perlakuan perendaman ekstrak jahe dan getah pepaya memberikan hasil yang lebih baik (lebih empuk) dibandingkan kontrol ($P < 0.05$). Hasil pada penelitian ini menunjukkan bahwa nilai analisis tekstur berbeda dengan kontrol. Nilai analisis tekstur berpengaruh yang positif dan menghasilkan gaya kekerasan (*hardness*) yang lebih rendah sehingga konsumen bisa mudah untuk mengkonsumsi daging tanpa harus mengeluarkan gaya yang besar. Tekstur daging yang empuk disebabkan pengaruh dari enzim protease pada jahe dan getah pepaya. Sampel ayam kampung dengan perendaman ekstrak jahe dan getah pepaya tidak berbeda nyata, artinya enzim dari masing-masing bahan tersebut memiliki kekuatan yang sama untuk membuat sampel daging ayam kampung lebih empuk. Sehingga memberikan alternatif pilihan kepada konsumen untuk bahan pengempuk daging, contohnya getah pepaya (papain) ataupun, ekstrak jahe (*zingibain*) untuk alternatif pada pengempukan daging.

4.3. Analisis SDS-PAGE

Dari empat parameter analisis fisik yang telah diuji (yaitu pH, susut masak, dan analisis tekstur), analisis tekstur adalah parameter yang mampu menunjukkan derajat keempukan daging. Berdasarkan Tabel 2 dan Tabel 3, dapat dilihat bahwa jahe dapat mengempukkan daging sapi dibandingkan dengan getah pepaya, sedangkan pengaruhnya terhadap daging ayam tidak berbeda nyata dibandingkan dengan getah pepaya. Oleh karena itu, analisis SDS-PAGE hanya dilakukan pada daging sapi. Analisis ini bertujuan untuk melihat profil protein daging sapi setelah direndam jahe dan getah pepaya. Untuk membandingkan pengaruh jahe dan getah pepaya terhadap profil SDS-PAGE daging, ekstrak jahe dan getah pepaya yang digunakan untuk merendam daging dibuat sama, yaitu sebanyak 5% (b/v). Adapun hasil analisis SDS-PAGE daging sapi ditunjukkan pada Gambar 1.

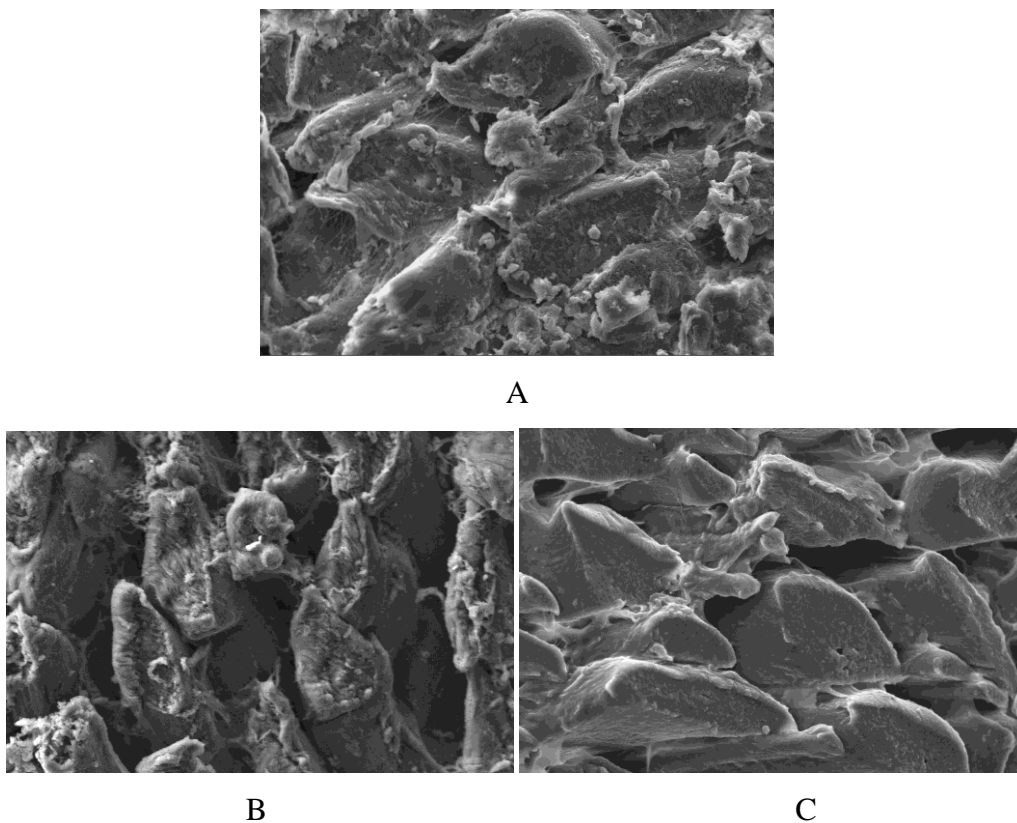


Gambar 1. SDS-PAGE daging. (A) marker; (B) kontrol; (C) daging yang di rendam dengan ekstrak jahe; (D) daging yang direndam dengan getah pepaya. Mw: *molecular weight*

Berdasarkan Gambar 1 di atas, dapat dilihat bahwa terdapat degradasi protein daging oleh jahe dan pepaya. Namun demikian, jika dibandingkan antara jahe dan pepaya, pada konsentrasi yang sama yaitu sebanyak 5%, degradasi protein oleh getah pepaya jauh lebih besar dibandingkan oleh jahe. Pada daging yang direndam dengan ekstrak jahe, semua pita protein masih terlihat jelas, namun dengan intensitas yang lebih rendah dibanding pita protein daging tanpa perlakuan (kontrol). Pada daging yang direndam dengan getah pepaya, hanya pita protein yg memiliki berat molekul yg besar yang masih terlihat, sedangkan pita protein yang memiliki berat molekul rendah sudah terdegradasi dengan sempurna.

4.4. Analisis SEM daging

Untuk melihat perubahan struktur daging akibat perendaman dengan ekstrak jahe dan getah pepaya, analisis SEM telah dilakukan. Hasil analisis SEM dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil SEM daging pada pembesaran 500 x. (A) kontrol; (B) daging yang direndam dengan ekstrak jahe; (C) daging yang direndam dengan getah pepaya

Untuk membandingkan pengaruh jahe dan getah pepaya terhadap struktur daging, ekstrak jahe dan getah pepaya yang digunakan untuk merendam daging dibuat sama, yaitu sebanyak 5% (b/v). Berdasarkan hasil analisis SEM pada Gambar 2, dapat dilihat bahwa ekstrak jahe dan getah pepaya dapat merenggangkan jarak antar serat daging dengan cukup besar. Jarak antar serat daging yang besar ini dimungkinkan membuat daging yang direndam ekstrak jahe dan getah pepaya menjadi lebih empuk. Hal ini sesuai dengan hasil yang diperoleh pada analisis tekstur. Namun demikian, walaupun struktur daging yang direndam ekstrak jahe hampir sama dengan daging yang direndam dengan getah pepaya, profil SDS-PAGE daging yang direndam dengan getah pepaya menunjukkan degradasi protein yang jauh lebih besar dibandingkan dengan daging yang direndam ekstrak jahe.

BAB V

KESIMPULAN

- Hasil penelitian menunjukkan bahwa perendaman ekstrak jahe dan getah pepaya memberikan pengaruh yang nyata terhadap pH, susut masak, daya ikat air dan tekstur (keempukan) daging sapi dan daging ayam kampung.
- Berdasarkan analisis tekstur, ekstrak jahe dapat mengempukkan daging sapi dibandingkan dengan getah pepaya, sedangkan pada daging ayam kampung, ekstrak jahe dan getah pepaya memiliki pengaruh yang sama.
- Profil SDS-PAGE daging sapi menunjukkan bahwa protein daging terdegradasi oleh ekstrak jahe dan getah pepaya.
- Hasil analisis SEM menunjukkan bahwa ekstrak jahe dan getah pepaya dapat memperbesar jarak antar serat daging. Jarak antar serat daging yang besar ini dimungkinkan membuat daging yang direndam ekstrak jahe dan getah pepaya menjadi lebih empuk.
- Jahe dapat menjadi alternatif lain sebagai pengempuk daging, menggantikan getah pepaya.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Barri, A., Bintoro, V., dan Kusnadi, D. (2012). *Daya ikat air, tingkat kekenyalan dan kadar protein pada bakso kombinasi daging sapi dan daging kelinci*. Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan, Vol. 1 no. 2.
- Afrila, A., & Santoso, B. (2011). *Water Holding Capacity (WHC), Kadar Protein dan Kadar Air Dendeng Sapi pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Jahe (zingiber officinale roscoe) dan Lama Perendaman Yang Berbeda*. Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak, 41-46.
- Ali, B., G.Blunden, Tanira, M., & Nemmar, A. (2008). *Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (zingiber officinale Roscoe). A review of recent research*. Food and Chemical Toxicology, 48:409-420.
- Ali, B., Blunden, G., Tanira, M., dan Nemmar, A. (2008). *Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (zingiber officinale Roscoe). A review of recent research*. Food and Chemical Toxicology 48:409-420.
- AOAC. (1995). *Official Methods of Analysis, 16th ed*. Gaithersburg, Maryland: AOAC International.
- Ashie, I.N.A., Sorensen, T.L., dan Nielsen, P.M. (2002). *Effect of papain and a microbial enzyme on meat proteins and beef tenderness*. Journal of Food Science 67:2138-2142.
- Bollag, D.M., dan Edelstein, S.J. (1991). *Protein Method*. New York: Willey-Liss Inc.
- BPS. (2015, September 22). *Konsumsi Rata-Rata Per kapita Beberapa Macam Makanan Penting 207-2014*. Retrieved Agustus 31, 2016, from Badan Pusat Statistik: <https://www.bps.go.id/linkTabelStatis>
- Calkins, C., dan Sullivan, G. (2007). *Adding Enzymes to Improve Beef Tenderness*. Beef Research.
- Considine, D.M., dan Considine, G.D. (1982). *Foods and food production encyclopedia*. New York: Van Nostrand Reinhold Company.
- Dalimartha, S. (2003). *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 3*. Jakarta: Puspa Swara.

- Fardiaz, D., N, A., H.W, H., & N.L, P. (1992). *Teknis Analisis Sifat Kimia Dan Fungsional Komponen Pangan*. Bogor: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi,IPB.
- Fennema, O.R. (1985). *Food Chemistry*. Second Edition. New York: Marcel Dekker Inc.
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H.Z., Rahmat, A. (2010). *Antioxidant activities, total phenolics and flavonoids content in two varieties of Malaysia young ginger (Zingiber. officinale Roscoe)*. *Molecules* 12:4324–4333.
- Jayaraman, J. (1981). *Laboratory Manual in biochemistry*. New Delhi: Wiley Eastern limited.
- Judge, M.D., Aberle, E.D., Forest J.C., Hedrick, H.B., dan Merkel, E.A. (1989). *Principle of meat science*. Iowa USA: Hunt publishing company.
- Jose, S. *Industrial enzymes: A global strategic business report*. Available online: http://www.prweb.com/releases/industrial_enzymes/proteases_carbohydases/prweb8121185.htm (diakses pada tanggal 20 Februari 2017).
- Kim, M., Hamilton, S.E., Guddat, L.W., dan Overall, C.M. (2007). *Plant collagenase: Unique collagenolytic activity of cysteine proteases from ginger*. *Bba-Gen. Subjects* 1770:627–1635.
- Lawrie, R. (2003). *Ilmu Daging*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Muchtadi, T.R. dan Sugiyono. (1992). *Petunjuk laboratorium ilmu pengetahuan bahan pangan*. Bogor: Instritut Pertanian Bogor.
- Nafi, A., Foo, H. L., & Jamilah, B. a. (2013). *Properties of Proteolytic enzyme from ginger (Zingiber officinale Roscoe)*. *International Food Research Journal* , 363-368.
- Naveena, B., Mendiratta, S., & Anjaneyulu, A. (2004). *Tenderization of buffalo meat using plant proteases from Cucumis trigonus Roxb (Kachri) and Zingiber officinale roscoe (Ginger rhizome)*. *Meat Science* 68:363-369.
- Rahayu, W., & Nurwitri, C. (2012). *Mikrobiologi Pangan*. Bogor: IPB Press.
- Ravindran, P.N., dan Babu, N.B. (2005). *Ginger: The Genus Zingiber*. New York: CRC Press pp. 1–15.

- Riswandi, E. (2001). *Pengaruh proses perendaman dalam larutan enzim papain dan penyimpanan terhadap sifat mutu daging kambing betina tua*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Soeparno. (2015). *Ilmu dan Teknologi Daging*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Surh, Y.J. (2003). *Cancer chemoprevention with dietary phytochemical*. *Nat. Rev. Can.* 3:768–780.
- Thompson, E.H., Wolf, I.D., dan Allen, C.E. (1973). *Ginger rhizome: A new source of proteolytic enzyme*. *Journal Food Science* 38:652–655.