PEMBUATAN ISOLAT PROTEIN TERASILASI

Oleh : Herastuti Sri Rukmini *) dan M. Anwar Nur **)

ABSTRACT

THE PREPARATION OF ACYLATED PROTEIN ISOLATES

The utilization of rice bran in Indonesia is still very limited. It is usually used only for feed. Since its contens of protein and fat is relatively high, the potential uses for human consumption is promising. This can be achieved among others by improving its protein quality. Rice bran protein has a great potential in food industries, especially if its functional properties can be modified to suit a certain characteristics for food production. Therefore, it is important to improve the functional properties of rice bran protein. Acetylation and succinylation were studied to see the influences of the reaction on the functional properties of rice bran protein isolate. The results of this study indicated that the succinylated rice bran protein isolate was good in its solubility and it had excelent emulsifying properties.

ABSTRAK

Penggunaan dedak padi di Indonesia masih sangat terbatas, hanya digunakan terutama sebagai bahan pakan. Padahal dilihat dari kandungan protein dan lemaknya yang relatif tinggi, kegunaannya dapat ditingkatkan bukan hanya sebagai pakan tetapi juga sebagai makanan manusia, yaitu antara lain melalui peningkatan mutu proteinnya. Hal ini dapat dilakukan diantaranya dengan reaksi asilasi dan suksinilasi. Penelitian ini mempelajari pengaruh reaksi asilasi dan suksinilasi terhadap sifat fungsional isolat protein dedak dan hasilnya menunjukan bahwa isolat protein dedak tersuksinilasi mempunyai kelarutan yang baik dan sifat- sifat emulsi yang sangat baik.

---

*) Staf Program Studi Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Pertanian UNSOED
**) Staf Pengajar Jurusan Kimia FMIPA IPB

PENDAHULUAN

Peran beras sangat strategis bagi bangsa Indonesia. Dalam upaya melestarikan swasembada beras, yang pernah dicapai pada tahun 1984, berbagai upaya peningkatan produksi padi telah dilaksanakan oleh pemerintah. Sejalan dengan kebijakan ini, padi tampaknya tetap menjadi komoditas pangan utama di Indonesia.

Penggilingan dan penyosohan butir padi membawa dampak dihasilkannya limbah sekam dan dedak dalam jumlah besar. Sebagai gambaran, tahun 1994 hasil gabah kering giling Indonesia mencapai 46 641 524 ton (PANGAN, 1995). Dengan asumsi jumlah sekam dan beras pecah kulit berbanding 2 : 8, menurut Juliano dan Bechtel (1985), maka sekam dan beras pecah kulit yang dihasilkan masing-masing 9 328 304.8 ton dan 37 313 219.2 ton. Biasanya 10 % dari beras pecah kulit terbuang sebagai dedak halus, ini berarti 3731 321.92 ton.

Dedak (yang dimaksud di sini dedak halus) mengandung protein dan lemak masing-masing sekitar 10% dan 15%. Dengan demikian potensi protein dari dedak halus sebesar 3 731 321.92 ton dengan lemak atau minyak sejumlah 5 596 982.88 ton.

Berdasar perhitungan di atas, dedak berpotensi besar di bidang pangan dan pakan. Secara bertahap dedak dapat digunakan sebagai bahan dasar berbagai produk industri. Pertama kali, dedak diekstraksi minyaknya, selanjutnya ampas dedak diisolasi proteinnya (sebagai isolat ataupun konsentrat protein). Limbah padat isolasi protein yang masih mengandung protein dan lemak tampaknya masih dapat digunakan sebagai bahan dasar pakan.

Dalam era bioteknologi saat ini, dedak antara lain berpotensi pula digunakan sebagai medium murah untuk produksi protein sel tunggal, sesuai dengan pendapat Peleczar et al (1993), demikian pula berbagai enzim yang diproduksi mikroba.

Faktor penting yang diperlukan dalam penggunaan protein di bidang pangan adalah sifat-sifat fungsionalnya. Yang dimaksud 'sifat fungsional' adalah setiap sifat, selain sifat gizi, yang menentukan pengunaannya dalam formula pangan (Pour-El, 1979, Natarajan, 1980; Cheftel. et al, 1985).

Sifat fungsional protein dedak umumnya tidak baik. Dengan demikian upaya pendayagunaannya di bidang industri pangan harus diawali dengan upaya perbaikan sifat-sifat fungsionalnya, terutama kelarutannya. Protein dengan kelarutan tinggi umumnya memiliki sifat-sifat fungsional yang baik. Untuk itu dipelajari pengaruh asilasi, dengan asetilasi dan suksinilasi, terhadap sifat fungsional isolat protein dedak. Cara ini telah berhasil diterapkan pada berbagai isolat protein diantaranya dari khamir (Kinsella dan Shetty, 1979), biji bunga matahari (Kabirullah dan Wills, 1982) dan kecipir (Narayana dan Rao, 1984).

BAHAN DAN METODE

Pembuatan Isolat Protein

Dedak yang digunakan mempunyai kadar air, protein, lemak, serat kasar, ekstrak tanpa N dan abu berturut-turut 10.8%, 9.8%, 14,3%, 8.2%, 46.5%, dan 7.1%. Protein diekstraksi dari dedak bebas lemak dengan NaCl 5% (1 : 10 b/v; suhu ruang; 2 jam). pengendapan protein dilakukan pada pH 3.5 dengan HCL 2N, endapan dicuci dengan akuades dan didialisis (4 - 5°C;24 jam) selanjutnya dikeringkan dengan pengering beku.

Asetilasi dan Suksinilasi

Untuk asetilasi digunakan asetat anhidrid dan suksinilasi dengan suksinat anhidrid menggunakan metode Narayana dan Rao (1984) serta Choi et al (1981) yang dimodifikasi. Kadar yang digunakan untuk keduanya 0.6 g/g protein. Reaksi asilasi dilakukan pada pH antara 8.5 dan 9.0 selama 15 menit. Pengaturan pH dilakukan dengan larutan NaOH. Protein selanjutnya didialisis dan dikeringkan dengan pengering beku.

Penetapan Sifat Fungsional

Penetapan sifat fungsional dilakukan terhadap isolat protein kontrol (tidak diasilasi), yang di-asetilasi dan yang di-suksinilasi. Sebagai pembanding digunakan kasein dan gluten.

Kelarutan protein ditetapkan dengan metode AOCS BA 11-65 dari Smith dan Circle (1972) *dalam* Kabirullah dan Wills (1982) serta Huton dan Campbell (1977) yang dimodifikasi. Dalam hal ini ditetapkan harga NSI (Nitrogen Solubility Index) sebagai jumlah N terlarut dalam total N sampel dikalikan 100%.

Absorpsi air dan minyak ditetapkan dengan metode Kabirullah dan Wills (1982) yang dimodifikasi, yang dinyatakan dalam volume air atau minyak (ml) yang diabsorpsi oleh per gramn sampel.

Viskositas spesifik ditetapkan dengan menggunakan metode Grant (1973) serta Kim dan Kinsella (1986) yang dimodifikasi. Dalam hal ini digunakan larutan protein 0.1 % dalam larutan bufer fosfat pH 7.0. Viskositas diukur dengan viskometer Oswald.

Sifat emulsi ditetapkan dengan metode Deshpande et al (1982) yang dimodifikasi. Untuk ini digunakan suspensi protein dengan konsentrasi 7 % (b/v) 3 ml yang ditambah minyak zaitun murni 3 ml. Daya emulsi dinyatakan dalam volume emulsi yang terbentuk dalam volume cairan total mula-mula dikalikan 100%. Kestabilan emulsi ditetapkan dengan cara memanaskan emulsi yang terbentuk pada penangas air pada suhu 80° C selama 30 menit.

Sifat berbuih ditetapkan dengan metode Yasumatsu et al (1972) dan Deshpande et al (1982) yang dimodifikasi. Untuk ini digunakan suspensi protein 1 % (b/v) 5 ml diputar dengan 'super mixer' selama 1 menit. Daya berbuih dinyatakan sebagai volume buih yang terbentuk dalam volume cairan semula dikalikan 100%.

Kestabilan berbuih dilihat setelah buih tersebut dibiarkan selama tiga puluh menit dan diukur kembali volumenya.

Densitas kamba ditetapkan dengan metode Choi et al. (1981), yang dinyatakan sebagai berat sampel (g) dari volume (ml) tertentu dikalikan 100 %.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi protein dedak yang dihasilkan mempunyai kadar protein sekitar 90 %, lemak 1 %, abu 3.1 % dan air 4.1 %. Dengan kadar protein sekitar 90% tersebut hasil isolasi ini dapat disebut isolat protein, bukan konsentrat protein.

Menurut Natarajan (1980), isolat merupakan bentuk protein sangat murni, biasanya mengandung protein pada kisaran 90 sampai 95 %, sedangkan konsentrat dari 65 sampai 70 %.

Secara keseluruhan hasil penetapan sifat-sifat fungsional isolat protein (kontrol dan terasilasi) dapat dilihat pada Tabel 1.

Sedangkan Gambar 1 menunjukkan secara lebih jelas peningkatan daya emulsi yang besar sebagai akibat suksinilasi, dibanding kontrol maupun hasil asetilasi.

Kelarutan (NSI)

Kelarutan ataupun dispersibilitas protein merupakan sifat fungsional yang berhubungan dengan sifat-sifat fungsional yang lain. Untuk penggunaan produk-produk protein dalam formula pangan diperlukan data tentang kelarutan atau dispersibilitasnya.

Peningkatan NSI isolat protein hasil asetilasi diduga akibat terikatnya molekul-molekul air (dengan ikatan hidrogen) oleh gugus karbonil dari asetil yang terikat pada molekul protein. Sedangkan NSI yang jauh lebih tinggi (27.1 % vs 76.7 %) pada hasil suksinilasi, diduga kecuali akibat adanya gugus karbonil dari suksinil yang terikat juga adanya tambahan muatan negatif yang meningkatkan polaritas molekulnya (Gambar 2).

Mohamed et al (1987) mencantumkan penggolongan NSI isolat protein kedelai sebagai berikut : kelarutan tinggi apabila NSI minimum 70 % ; kelarutan sedang, NSI minimum 50 %, kelarutan rendah, minmum 20 %. Dengan demikian kelarutan isolat hasil asetilasi (27.1%) termasuk kelarutan sedang, hasil suksinilasi (76.7 %) tergolong kelarutan tinggi. Sedangkan isolat kontrol dengan NSI 12.6 % mungkin dapat digolongkan dalam kelarutan sangat rendah, dan pembanding gluten (NSI 84.4) serta kasein (NSI 14.9) masing-masing kelarutan tinggi dan kelarutan sangat rendah. Protein dengan kelarutan yang tinggi memungkinkan untuk digunakan dalam formulasi pangan yang cair, sedangkan yang kelarutannya rendah atau sangat rendah sesuai untuk formulasi padat.

Gluten mengandung glutamin dan asparagin lebih dari 35 % dari komposisi asam aminonya. Dalam keadaan tidak terdenaturasi gugus-gugus amida pada rantai sampingnya membentuk ikatan hidrogen dengan gugus hidroksil serin dan threonin (Wall dan Huebner, 1981, Khan dan Bushuk, 1979). Kelarutan gluten yang tinggi diduga sebagai akibat telah terjadinya denaturasi pada gluten sehingga ikatan hidrogen rusak. Sedangkan kasein (acid casein) yang kelarutannya sangat rendah diperoleh dari pengendapan protein susu bebas lemak pada kisaran pH 4.5 sampai 5.0. Protein ini mengandung ikatan hidrofobik antar molekul dalam jumlah besar (Morr, 1981).

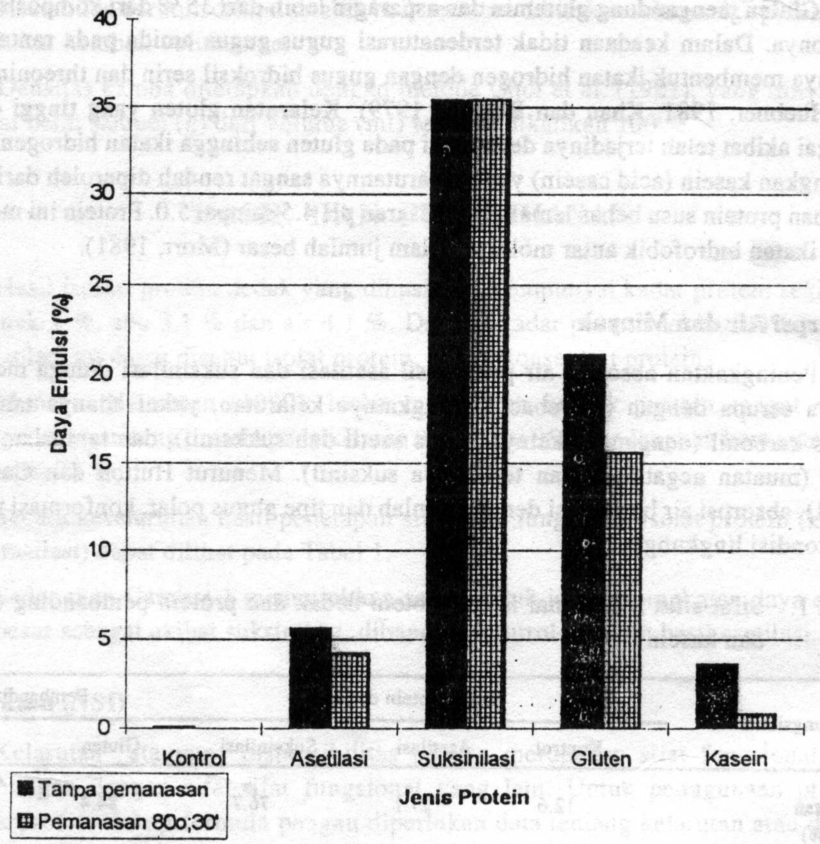
Absorpsi Air dan Minyak

Peningkaktan absorpsi air pada hasil asetilasi dan suksinilasi diduga mekanismenya serupa dengan penyebab meningkatnya kelarutan, yakni adanya tambahan gugus karbonil (dengan terikatnya gugus asetil dan sukksinil), dan tambahan gugus polar (muatan negatif dengan terikatnya suksinil). Menurut Hutton dan Campbell (1981), absorpsi air bervariasi dengan jumlah dan tipe gugus polar, konformasi protein dan kondisi lingkungan.

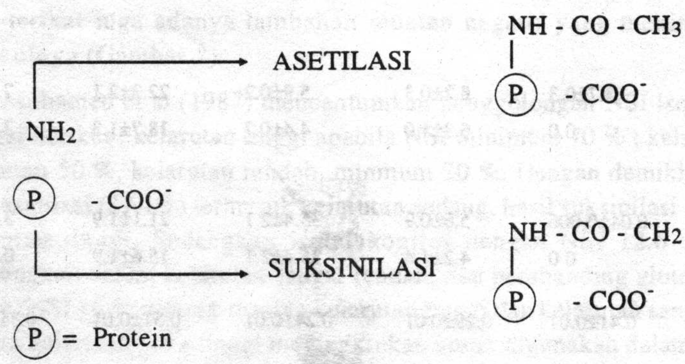
Tabel 1. Sifat-sifat fungsional isolat protein dedak dan protein pembanding (gluten dan kasein)

Sifat fungsional	Isolat protein dedak			Pembanding	
	Kontrol	Asetilasi	Suksinilasi	Gluten	Kasein
Kelarutan (NSI, %)	12.6	27.1	76.7	84.4	14.8
Absorpsi air (ml/g)	1.9±0.4	2.5±0.1	3.3±0.3	1.5±0.1	2.2±0.1
Viskositas spesifik	0.35±0.03	0.43±0.06	0.59±0.05	0.30±0.04	0.1±0.01
Absorpsi minyak (ml/g))	1.5±0.3	1.8±0.2	2.3±0.3	1.8±0.1	2.0±0.2
Volume buih (%)					
0 menit	3.7±0.3	8.2±0.3	5.9±0.2	22.3±2.1	7.9±0.2
30 menit	0.0	6.3±1.0	4.4±0.7	18.7±1.3	3.7±0.6
Daya emulsi (%)					
Tanpa pemanasan	0.04±0.006	5.6±0.9	35.4±2.1	21.1±1.9	3.6±0.5
Pemanasan 80°;30'	0.0	4.2±1.4	35.4±2.1	15.6±1.9	0.8±0.0
Densitas kamba (g/ml)	0.41±0.01	0.29±0.01	0.24±0.01	0.51±0.01	0.35±0.02

Angka-angka merupakan rata-rata dari 3 ulangan, kecuali kelarutan (2 ulangan) dan densitas kamba (5 ulangan)



Gambar 1. Daya emulsi isolat protein dedak, kontrol, hasil asetilasi dan suksinilasi serta protein pembanding gluten dan kasein



Gambar 2. Asetilasi dan suksinilasi (Choi et al., 1982)

Perubahan dari konformasi globular menjadi acak (denaturasi) menyebakan rantai-rantai polipeptida membuka (unfolding) sehingga lebih banyak molekul-molekul air terperangkap di dalamnya. Menurut Kinsella (1982), absorpsi air sangat diperlukan antara lain pada pembuatan sosis, kue dan roti.

Asilasi cendrung meningkatkan absorpsi minyak yang diduga diakibatkan oleh terbentuknya ikatan silang karena terikatnya gugus-gugus asil pada rantai protein. Dengan adanya ikatan silang maka minyak lebih mudah terjerat di dalam molekul protein. Kemungkinan pula karena mudah terperangkapnya minyak dalam protein yang konformasinya telah berubah menjadi acak. Dalam hal ini gugus suksinil yang lebih panjang daripada asetil memungkinkan terjeratnya minyak lebih banyak.

Sifat absorpsi minyak sangat diperlukan antara lain pada pembuatan sosis dan produk-produk daging yang lain, dan es krim.

Viskositas Spesifik

Viskositas ditentukkan oleh interaksi protein-air dan interaksi protein-protein. Hasil analisis menujukkan bahwa suksinilasi ternyata mampu meningkatkan viskositas spesifik isolat protein dedak hamppir dua kali lipatnya. Apabila hasil anallisis viskositas dihubungkan dengan hasil analisis kelarutan (NSI) dan absorpsi air, tampaknya ketiga sifat fungsional ini saling berkaitan satu sama lain, meskipun peningkatan viskositas yang nyata terjadi pada hasil suksinilasi. Meningkatnya viskositas hasil asilasi kemungkinan besar diakibatkan oleh terikatnya gugus-gugus asil pada gugus-gugus fungsional protein sehingga memudahkan terbentuknya ikatan silang intra-maupuun inter-molekuler.

Gugus suksinil yang lebih panjang daripada asetil dan memiliki muatan negatif lebih memudahkan interaksi protein-protein maupun pembentukan ikatan silang sehingga viskositas spesifik hasil suksinilasi lebih tinggi daripada asetilasi.

Sifat Emulsi dan Sifat Berbuih

Protein merupakan salah satu senyawa yang mempunyai sifat sebagai surfaktan yang diakibatkan oleh berat molekulnya yang tinggi dan terdapatnya gugus-gugus hidrofilik serta hidrofobik. Daya emulsi maupun kestabilan hasil asilasi isolat protein dedak sangat meningkat dibandingkan dengan isolat kontrol. Yang sangat menarik adalah terbentuknya emulsi semi-padat pada hasil suksinilasi yang sangat stabil pada pemanasan pada suhu 80°C selama 30 menit.

Hasil asilasi memungkinkan terbentuknya ikatan silang sebagai akibat terikatnya gugus-gugus asetil dan suksinil pada protein. Daya dan kestabilan emulsi yang tinggi serta struktur hasil suksinilasi yang semi-padat kemungkinan diakibatkan oleh percabangan yang lebih panjang karena terikatnya gugus suksinil. Selain itu ditambah dengan terjadinya interaksi protein-protein yang lebih intensif melalui ikatan hidrogen antara karbonil dari gugus suksinil dengan gugus -OH ataupun -NH protein sehingga terbentuk lapisan antar permukaan minyak-air yang kuat. Selain meningkatkan daya dari kestabilan emulsi ternyata asilasi juga meningkatkan daya berbuih isolat protein dedak. Dalam hal ini hasil asetilasi cenderung lebih tinggi daya berbuihnya daripada hasil suksinilasi. Kemungkinan terikatnya gugus asetil yang non-polar menyebabkan protein lebih bersifat hidrofobik daripada protein yang mengikat gugus-gugus suksinil yang polar. Kenyataan ini mendukung apa yang dikemukakan oleh Nakai (1983), bahwa daya berbuih ditentukan oleh viskositas, hidrofobisitas, dan kelarutan, dalam urutan yang menurun. Bagian hidrofobik suatu protein umumnya terdapat dibagian dalam molekul. Dengan terjadinya denaturasi, bagian hidrofobik akan muncul pada permukaan molekul protein.

Kestabilan buih hasil asilasi ternyata jauh diatas isolat kontrol, yang diduga diakibatkan oleh terbentuknya lapisan yang lebih kuat pada batas udara-air pada gelembung-gelembung udara sebagai akibat dari terikatnya gugus-gugus asetil dan suksinil.

Sifat emulsi dan sifat berbuih yang baik pada hasil asilasi protein dedak memungkinkan penggunaan protein dedak dalam pembuatan produk-produk pangan yang terutama memerlukan kedua sifat fungsional ini seperti misalnya es krim.

Densita Kamba

Asilasi ternyata menurunkan densitas kamba isolat protein dedak menjadi hampir separuhnya atau menjadikannya lebih 'bulky'. Dalam hal ini densitas hasil suksinilasi cenderung lebih rendah daripada hasil asetilasi, yang diduga karena terjadinya percabangan yang lebih panjang dari gugus suksinil dibanding dari asetil. Secara inderawi, isolat hasil suksinilasi mempunyai struktur seperti kapas (fluffy).

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat dikemukakan kesimpulan sebagai berikut :

1. Asilasi, dengan cara asetilasi dan suksinilasi, dapat meningkatkan kegunaan protein dedak padi.
2. Asilasi mampu meningkatkkan sifat fungsional isolat protein dedak yakni kelarutan (NSI), viskositas spesifik, sifat emulsi dan sifat berbuih.
3. Suksnilasi meningkatkan NSI isolat protein dedak dari 12.6% (kelarutan sangat rendah) menjadi 76.7% (kelarutan tinggi) serta mampu menghasilkan emulsi semi-padat dengan kestabilan tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

Cheftel, J.C., J.L. Cuq and D. Lorient. 1985. Amino Acids, Peptides, and Proteins. In Fennema, O.R. (ed), Food Chemistry Marcel Dekker, Inc., New York. Hal 245-369.

Choi, Y.R., E.W. Lusas and K.C. Rhee. 1981. Succinylation of Cottonseed Flour : Effect on The Functional Properties of Protein Isolates Prepared from Modified Flour. J. Food Sci. 46 : 954-955.

Deshpande, S.S, S.K. Sathe, P.D. Ragnekar and D.K. Salunkhe. 1982. Functional Properties of Modified Black Gram (*Phaselus mungo* L.) Starch J. Food Sci. 47: 1528-1533.

Grand, D. 1973. The Modification of Wheat Flour Protein with Succinic Anhydride. Cereal Chem. 50 : 417-428.

Hutton, C.W. and A.M. Campell. 1977. Water and Fat Absorp-tion In Cherry, J.P. (ed), Protein Functinality in Food. American Chemical Society, Washington, D.C. Hal. 177-198.

Juliano, B.O. and D.B. Bechtel. 1985. The Rice Grain and Its Gross Composition. In Juliano, B.O. (ed), Rice Chemistry and Technology. 2nd ed. The American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul. Hal 59-160.

Kabirullah, M. and R.B.H. Wills. 1982. Functional Properties of Acetylated and Succinylated Sunflower Protein Isolate. J. Food Technol 17 : 235-249.

Khan, K. and W. Bushuk. 1979. Structure of Wheat Gluten in Relation to Functionality. In Pour-El, A. (ed), Func-tionality and Protein Structure. American Chemical Society, Whasinton.

Kim, S.H. and J.E. Kinsella. 1986. Effects of Progressive Succinyalation of some Molecular Properties of Soy Glysinin. J. Food Sci. 52 (1) : 128-131.

Kinsella, J.E. and K.J. Shetty. 1979. Chemical Modification for improving Functional Properties of Plant and Yeast Proteins. In Pour-El, A (ed), Functionality and Protein Structure. American Chemical Society, Washington. Hal. 37-60.

Kinsella, J.E. 1982. Relationship Between Structre and Functional Properties of Food Proteins. In Fox P.F. and J.J. Condon (ed), Food Proteins. Applied Science Publisher, London. Hal. 52- 100.

Mohamed, M.O., H.A. Morris and R.A. Schmidt. 1987. Effect of Alkaline Treatment on The Dispersility of Soy Protein Isolate and Properties of Milk Clots Formed from Nonfat Milk and Treated Soy Protein Mixtures. J. Food Sci. : 52(1) : 91-97.

Morr, C.V. 1979. Conformation and Functionality of Milk Proteins. In Pour-El, A (ed)), Functionality and Protein Structure American Chemical Society, Washington. Hal 65-78.

Nakai, S. 1983. Structure-Function Relationship of Food Proteins wih An Emphasis on The Importance of Protein Hydro-phobicity J. Agric. Food Chem. 31 : 676-683. Narayana, K. and M.S.N. Rao. 1984. Effect of Acetylation and Succinylation on The Functional Properties of Winged Bean (*Psophocarpus tetragonolobus*) Flour J Food Sci. 49 : 547 - 550.

Natarajan, K.R. 1980. Peanut Protein Ingridient: Preparation, Properties and Food Uses. In Chichester, C.O. et al (ed)., Advances in Food Research. Vol. 26. Academic Press, New York. Hal. 215-267.

PANGAN. 1995. Laporan Perkembangan Terakhir. Vol. VI (23) : 5 - 8.

Pelczar, M.J., E.C.S. Chan and N.R. Crieg. 1993. Microbiology, Concepts and Apllications. McGraw-Hill, Inc., New York. Hal 870-874.

Pour-El, A. 1979. Functionality and Protein Structure Preface. American Chemical Society, Whashington.

Walls, J.C. and F.R. Huebner. 1981. Adhesion and Cohesion. In Cherry, J.P. (ed), Protein Functionality in Foods. American Chemical Society, Whasington.

Yasumatsu, K., J. Toda and T. Wada. 1972. Whiping and Emuulsifying Properties of Soybean Products. Agr. Bio. Chem. 36 : 719-727.