

Profil Protein 30-60 kDa pada Yogurt hasil Fermentasi Susu Kambing Peranakan Etawa dengan Kultur Tunggal

Miggy Uri Karitas¹⁾, Fatchiyah Fatchiyah^{1)*}

¹⁾Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya Malang

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil protein spesifik pada berat molekul 30-60 kDa pada yogurt susu kambing PE dengan kultur tunggal dengan menggunakan metode SDS-PAGE. Tahapan dalam penelitian ini adalah pembuatan kurva pertumbuhan, *starter* kultur tunggal, yogurt, isolasi protein, separasi protein dan penghitungan berat molekul. Yogurt dibuat dengan tiga ulangan. Kultur bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Lactobacillus acidophilus* (LA), *Lactobacillus bulgaricus* (LB) dan *Streptococcus thermophilus* (ST). Sampel protein selanjutnya diseparasi dengan gel elektroforesis poliakrilamid 15 %. Hasil penelitian menunjukkan yogurt dengan kultur LA memiliki protein dengan berat molekul sebesar 31 dan 48,94 kDa. Yogurt kultur LB memiliki protein dengan berat molekul sebesar 30, 37, 44, 50 dan 57 kDa. Protein yang terlihat pada yogurt kultur ST adalah pada berat molekul 30, 38, 46 dan 55 kDa Protein pada yogurt ini tidak dimiliki oleh bakteri. Profil protein 30-60 kDa yang diidentifikasi dari penelitian ini adalah protein kasein yaitu -kasein (34-38 kDa), -kasein (30-31 kDa) dan -kasein (40-60 kDa). Profil protein didominasi oleh -kasein pada berat molekul 40-60 kDa. Yogurt LB memiliki profil protein yang paling banyak dan diduga memiliki fungsi fisiologis yang lebih baik dibandingkan dengan yogurt lainnya.

Kata kunci: Kasein, SDS-PAGE, yogurt kultur tunggal

ABSTRACT

The aim of this study is to determine specific protein at 30-60 kDa molecular weight in single culture PE goat's yoghurt with SDS-PAGE method. Steps of this research are determination of growth curve, making single culture yoghurt starter and yoghurt, protein isolation, protein separation and molecular weight counting. Yoghurt manufactured with triplicates. Bacterial culture used in this study were *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. Protein was separated with 15 % polyacrylamide gel electrophoresis. Yoghurt with culture LA has molecular weight 31 and 48 kDa. Yoghurt with culture LB has molecular weight 30, 37, 44, 50 and 57 kDa. Yoghurt with culture ST has molecular weight 30, 38, 46 and 55 kDa. Protein in yoghurt are not owned by the bacteria. Results show that -casein (34-38 kDa), -casein (30-31kDa) and -casein (40-60kDa) were identified in molecular weight between 30-60 kDa. Protein profile was dominated by -casein at molecular weight between 40-60 kDa. Yoghurt LB has the most number protein profile and been estimated has a better physiological function than others yoghurt.

Keywords: Casein, SDS-PAGE, single culture yoghurt

* corresponding author: Prof. Fatchiyah, PhD.
e-mail: fatchiya@ub.ac.id; fatchiya@gmail.com
Jurusan Biologi, FMIPA-UB, Jl Veteran, Malang 65145, Indonesia

PENDAHULUAN

Susu kambing merupakan salah satu sumber protein hewani yang memiliki gizi tinggi dan sangat sempurna nutrisinya [1]. Pengetahuan tentang protein pada susu kambing saat ini semakin berkembang seperti manfaat dari beberapa kasein dan whey yang sudah diketahui. Penelitian Padaga dkk. (2009) tentang pangan nutrasetika dengan bahan susu menunjukkan bahwa terdapat protein spesifik pada berat molekul 36-55 kDa yang berbeda dengan susu sapi. Protein spesifik ini berpotensi menurunkan proses peradangan dan terbukti berfungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi dan imunomodulator dalam perbaikan jaringan target pada tikus yang menderita rheumatoid arthritis (RA) [2].

Protein pada susu tidak selalu aktif dan bermanfaat ketika masih dalam bentuk aslinya (*native*) namun akan aktif ketika ada aktivitas proteolitik yang mengubah protein tersebut menjadi molekul yang lebih kecil dan aktif. Salah satu cara untuk mengaktifkan protein melalui proses fermentasi. Produk fermentasi yang disukai salah satunya adalah yogurt. Metabolisme dari bakteri asam laktat yang digunakan dalam pembuatan yogurt mampu menghidrolisis kasein menjadi molekul protein yang lebih kecil (peptida) dan diduga mengaktifkan fungsi dari protein [3].

Budiarti dkk. (2013) menyatakan bahwa pada susu kambing PE memiliki protein spesifik pada berat molekul 36 kDa. Protein ini juga dimiliki oleh yogurt dengan kultur komersial dan kultur campuran *L. bulgaricus* dan *S. Thermophilus* [4]. Yogurt dengan kultur campuran *Lactobacillus acidophilus* dan *S. thermophilus* yogurt kultur tunggal *L. acidophilus* juga memiliki protein spesifik tersebut [5]. Mengetahui manfaat dari protein spesifik pada susu kambing dan yogurt susu kambing, penelitian ini dilakukan untuk mengembangkan informasi yang sudah ada sebelumnya untuk mengetahui profil protein yang terdapat pada yogurt susu kambing dengan kultur tunggal pada berat molekul 30-60 kDa.

METODE

Penelitian ini sudah mendapatkan sertifikat Kelaikan Etik No.90-KEP-UB tertanggal 29 Maret 2012, dari KEP UB.

Kurva Pertumbuhan. Kurva pertumbuhan dibuat dengan cara menginokulasikan kultur *S.*

thermophilus FNCC 0040, *L. acidophilus* FNCC 0051 dan *L. bulgaricus* FNCC 0050 (semua bakteri merupakan kultur dari UGM, Yogyakarta) berumur 24 jam pada media MRS *broth* dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C. Jumlah masing-masing bakteri dihitung pada awal inkubasi (jam ke-0), jam ke-1, 2, 4, 6, 8, 10, 14, 18, 24 dan 48 [6][7][8].

Pembuatan Yogurt. *Mother starter* dibuat dengan cara sebanyak satu oose kultur tunggal *S. thermophilus* FNCC 0040, *L. acidophilus* FNCC 0051 dan *L. bulgaricus* FNCC 0050 (kultur bakteri didapatkan dari UGM) diinokulasikan ke dalam 10 mL media pertumbuhan MRS *Broth* lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Setelah masing-masing kultur mencapai nilai absorbansi sebesar 1,7-1,8, kultur tersebut diinokulasikan sebanyak 10 % ke dalam 30 mL susu yang sudah dipasteurisasi pada suhu 80 °C selama 15 menit. Selanjutnya susu diinkubasi pada suhu 37 °C sampai mengental dan mencapai pH ± 3-4,5. *Mother starter* selanjutnya diinokulasikan sebanyak 5 % ke dalam media tumbuh baru untuk membuat yogurt [9].

Isolasi Protein. Isolasi protein pada sampel dilakukan dengan cara sebanyak 1 mL ditambah PBS-Tween-PMSF sebanyak lima kali volume, lalu disonifikasi dengan amplitudo 20 Å selama 10 menit. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm selama 15 menit pada suhu 4 °C. Supernatan yang dihasilkan ditambah dengan larutan etanol dingin dengan perbandingan 1:1 (v/v), kemudian disimpan didalam refrigerator selama 12 jam. Setelah disimpan selama 12 jam, sampel disentrifuse dengan kecepatan 6000 rpm selama 15 menit pada suhu 4 °C. Pelet yang dihasilkan, dikeringanginkan hingga etanol hilang. Sampel ditambah dengan tris-HCL pH 6,8 1:1 (v/v), kemudian disimpan pada suhu -20 °C jika tidak langsung digunakan [10].

Analisis SDS-PAGE. *Running* elektroforesis dilakukan pada 200 volt. Distribusi pita protein dapat diketahui dengan pewarnaan gel menggunakan *Coomasie Brilliant Blue* (CBBR 250) [11]. Masing-masing pita protein hasil elektroforesis kemudian difoto dan dihitung berat molekulnya. Berat molekul masing-masing pita protein tersebut ditentukan dengan mengukur mobilitas molekul protein dalam gel

poliakrilamid berdasarkan kurva standar berat molekul dari protein standar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

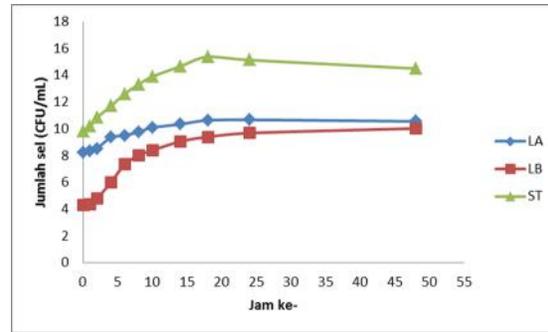
Kultur bakteri yang digunakan dalam penelitian dihitung jumlah selnya untuk mengetahui pola pertumbuhan dari masing-masing kultur. Jumlah bakteri yang digunakan adalah pada fase logaritmik awal (Tabel 1).

Tabel1 Jumlah BAL yang digunakan dalam pembuatan yogurt

Kultur	Jumlah BAL (CFU/mL)
<i>L. bulgaricus</i>	$10,02 \times 10^8$
<i>L. acidophilus</i>	$8,53 \times 10^8$
<i>S. thermophilus</i>	$10,83 \times 10^8$

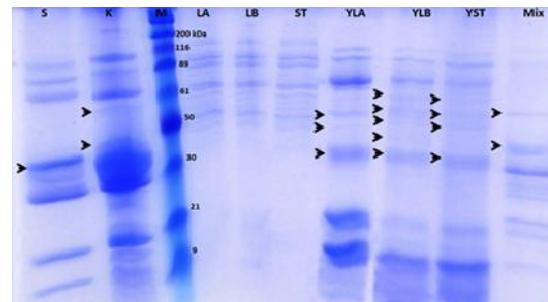
Masing-masing kultur mencapai fase logaritmik awal pada jam ke-2 dan fase logaritmik akhir pada jam ke-18 inkubasi (Gambar 1). Bakteri membelah dengan cepat pada fase logaritmik, pada fase ini kecepatan pertumbuhan dipengaruhi oleh pH, kandungan nutrisi, suhu dan kelembaban udara [12]. Berdasarkan kurva pertumbuhan *L. acidophilus*, *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* secara berturut-turut memiliki laju pertumbuhan sebesar 0,02, 0,06 dan 0,03 generasi/jam. Laju pertumbuhan ini tergolong rendah dibandingkan dengan beberapa penelitian laju pertumbuhan bakteri asam laktat lain yang mampu mencapai nilai 0,14 generasi/jam [13].

Selama pembuatan yogurt terjadi penurunan pH. Nilai pH pada awal inkubasi berkisar antara 6,6-6,7. Yogurt LA memiliki pH sebesar $4,25 \pm 0,06$, yogurt LB $5,21 \pm 0,34$ dan yogurt ST $5,98 \pm 0,46$. Penurunan pH ini disebabkan oleh adanya produksi asam laktat oleh kultur bakteri selama masa inkubasi. Asam laktat yang diproduksi berasal dari pemecahan laktosa yang terdapat pada susu [14]. Laktosa akan diubah menjadi D-glukosa dan akan diubah menjadi piruvat melalui jalur Embden-meyerhof. Piruvat selanjutnya dipecah menjadi asam laktat oleh enzim laktat dehidrogenase [14].



Gambar1 Kurva pertumbuhan LA, LB dan ST

Pemisahan protein dilakukan pada gel poliakrilamida 15 % karena konsentrasi gel ini biasa digunakan untuk memisahkan protein dengan berat molekul kurang dari 50 kDa [11]. Hasil separasi protein menunjukkan bahwa pada yogurt dengan kultur LA memiliki protein dengan berat molekul sebesar 31 dan 48 kDa. Yogurt kultur LB memiliki protein dengan berat molekul sebesar 30, 37, 44, 50 dan 57 kDa. Protein yang terlihat pada yogurt kultur ST adalah pada berat molekul 30,38, 46 dan 55 kDa (Gambar 2) (ditunjukkan oleh anak panah).



Keterangan: S: susu sapi; K: susu kambing; M: penanda; LA: *L. achidophilus*; LB: *L. bulgaricus*; ST: *S. thermophilus*; YLA: yogurt dengan kultur LA; YLB: yogurt dengan kultur LB; YST: yogurt dengan kultur ST; Mix: yogurt dengan kultur komersial.

Gambar2 Hasil separasi dengan gel elektroforesis 15 % dan pewarnaan dengan CBB.

Budiarti dkk. (2013) menyatakan keberadaan protein dengan berat molekul 30-60 kDa pada yogurt dengan kultur campuran LA+ST adalah pada berat molekul 32,508 kDa sedangkan pada yogurt dengan kultur campuran LB+ST adalah 31,05 kDa, 33,95 kDa, 36,07 kDa dan 41,15 kDa [4].

Protein yang dimiliki oleh yogurt dengan kultur tunggal ini tidak dimiliki oleh bakteri yang digunakan dalam pembuatan yogurt. Perbedaan

profil protein ini dapat disebabkan karena aktivitas enzim protease hasil sintesis bakteri yang berbeda-beda sehingga dapat mengubah protein pada susu kambing menjadi peptida yang lebih sederhana. Kombinasi starter yogurt dapat menyebabkan profil pita protein yang didapatkan menjadi lebih banyak dan kecil-kecil [15].

Tabel2 Berat molekul yogurt (30-60 kDa)

Protein	S	K	YLA	YLB	YST	Mix
-kasein	-	35,09	-	37,83	38,67	34,48
-kasein	-	-	31,59	30	30,02	-
-kasein	57,1	50,63 59,23	48,94 48,36	44,15 50,22 57,12	46,18 55,15	50,27

Keterangan: S: susu sapi. K: susu kambing. YLA: yogurt LA. YLB: yogurt LB. YST: yogurt ST.

Hasil penghitungan berat molekul pada masing-masing sampel menunjukkan bahwa protein yang dapat diidentifikasi pada berat molekul 30-60 kDa adalah protein kasein yaitu -kasein, -kasein dan -kasein. Protein kasein yang ditemukan dalam penelitian ini berkisar antara 30-48 kDa. Nitsche (2011) menyatakan bahwa protein pada susu dengan berat molekul 37 kDa adalah -kasein, 33 kDa adalah -kasein, 46 kDa adalah -kasein, 18 kDa adalah -laktoglobulin dan 14 kDa adalah -laktalbumin [16]. Susu sapi memiliki protein -kasein yang dominan pada berat molekul 38 kDa dan -kasein pada berat molekul 45 kDa [16] sedangkan susu kambing pada berat molekul 30-60 kDa didominasi oleh -kasein [17]. Protein kasein pada berat molekul antara 30-38 kDa adalah -S1 kasein dan pada berat molekul 36 kDa adalah -S2 kasein [5].

KESIMPULAN

Profil protein 30-60 kDa yang diidentifikasi dari yogurt kultur tunggal adalah protein kasein yaitu -kasein (34-38 kDa), -kasein (30-31 kDa) dan -kasein (40-60 kDa). Profil protein didominasi oleh protein -kasein pada berat molekul 40-60 kDa. Yogurt LB memiliki profil protein yang paling banyak dan diduga memiliki fungsi fisiologis yang lebih baik dibandingkan dengan yogurt lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh sebagian dana riset Program Ristek Unggulan Perguruan Tinggi 2012-2014, Program Desentralisasi UB, DIKTI Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sarwono, B. 2007. *Beternak Kambing Unggul*. Jakarta: Penebar Swadaya.
2. Padaga, MC., Sawitri ME. & Muwarni S. 2009. Potensi Protein Spesifik Susu Kambing Sebagai Immunomodulator Dan Immunogen: Upaya Pengembangan Pangan Nutrasetika: Laporan Penelitian.
3. Ramchandran, L., Sciences H. & Campus W. 2009. Low-fat Yoghurt as Influenced by fat Replacer. Faculty of Health, Engineering and Science Victoria University. Australia.
4. Budiarti, I. K., Padaga, M. C. & Fatchiyah, F. 2013. Nutritional Composition and Protein Profile of Goat Yogurt PE with Double Culture between *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus* species. *Cukurova Medical Journal* 38 (4) (In Press).
5. Khoiriyah, L. K. & Fatchiyah F. 2013. Karakter Biokimia dan Profil Protein Yogurt Kambing PE Difermentasi Bakteri Asam Laktat (BAL). *The Journal of Experimental Life Science* 3, No.1. (In Press).
6. Ray, B. 2001. *Fundamental Food Microbiology*. Washington D. C.: CRC Press.
7. Saeed, M. dkk. 2009. Kulturion and Characterization of Starter Culture from Spontaneous Fermentation of Sourdough. *International Journal of Agriculture and Biology*. 09-056/AWB/2009/11-3-329-332.
8. Wistreich, GA. 2003. *Microbiology Laboratory Fundamental and Application*. Second Edition. New Jersey: Pearson Education.
9. Andriani, M dan Lia U. K. 2012. Kajian Karakteristik Fisiko Kimia Dan Sensori Yoghurt Dengan Penambahan Ekstrak Ubi Jalar (*Ipomoea Batatas L.*). Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian. Universitas Sebelas Maret.
10. Fatchiyah, Arumingtyas EL., Widyarti S. & Rahayu S. 2011. *Biologi Molekuler Prinsip Dasar Analisis*. Jakarta: Erlangga.
11. Hames, B. D. & Rickwood D. 1990. *Gel Electrophoresis of Proteins A Practical Approach Third Edition*. New York: Oxford University Press.

12. Yuliana, N. 2008. Kinetika Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Isolat T5 yang Berasal dari Tempoyak. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian* 13 No.2.
13. Ghaly, AE., Tango MSA. & Adams MA. 2003. Enhanced Lactic Acid Production from Cheese Whey with Nutrient Supplement Addition. *Agricultural Engineering International. The CIGR Journal of Scientific Research and Development* FP 02 009.
14. Ramadzanti, A. 2006. Aktivitas Protease dan Kandungan Asam Laktat Pada Yoghurt yang Dimodifikasi *Bifidobacterium bifidum*. Program Studi Biokimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. IPB. Bogor. Skripsi.
15. Sodini, I. L. A., Oliveira M. N., Remeuf F. & Corrieu G. 2002. Effect of Milk Base and Starter Culture on Acidification, Texture and Probiotic Cell Counts in Fermented Milk Processing. *Journal of Dairy Science* 85: 2479-2488.
16. Nitsche, R. 2011. Milk protein analysis with the Agilent 2100 Bioanalyzer and the Agilent Protein 80 kit. Germany: Agilent Technologies, Inc.
17. Tay, EP. & Gam LH. 2011. Proteomic of Human and the domestic bovine and caprine milk. *AsPac Journal of Molecular Biology Biotechnology* 19(1):45-53.