

**PERUBAHAN NILAI CERNA DAN FRAKSI PROTEIN
PADA SUSU KEDELAI DALAM PROSES PEMBUATAN SOYGURT**
(CHANGES OF THE DIGESTIBILITY AND PROTEIN FRACTION OF SOYMILK
IN SOYGURT PRODUCTION)

Yusmarini¹ Mochammad Adnan², dan Suwedo Hadiwiyoto²

ABSTRACT

This research investigated the effect of fermentation of soymilk by *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus acidophilus* on the digestibility and protein fractions of the soygurt

The studies were conducted in three steps : (1) soymilk production, (2) soygurt production, and (3) chemical analysis of soymilk and soygurt.

It is found that fermentation stimulated by addition of sucrose in the substrate increased the digestibility of protein. Electrophoretic pattern of the protein showed that only minor changes occurred during the fermentation of soymilk into soygurt.

Keywords : soymilk, soygurt, digestibility, protein fractions

PENDAHULUAN

Biji kacang-kacangan merupakan sumber protein bagi sebagian besar penduduk dunia, khususnya bagi masyarakat di negara-negara berkembang seperti halnya Indonesia. Bahkan belakangan ini negara-negara maju mulai meninggalkan produk hewani yang tinggi kadar kolesterolnya dan beralih ke produk nabati yang kaya akan protein dan bebas dari kolesterol diantaranya yaitu kacang kedelai.

Dilihat dari segi kandungan gizinya, kedelai merupakan sumber protein yang harganya jauh lebih murah dibandingkan sumber protein asal hewani. Dari beberapa penelitian diketahui bahwa komposisi kimia susu sapi terdiri dari protein 3,48%, lemak 3,98%, karbohidrat 4,77%, abu 0,75% dan air 87,02%, sedangkan komposisi kimia dari susu kedelai terdiri atas protein 3,58%, lemak 1,9%, karbohidrat 2,84%, abu 0,43% dan kadar airnya 91,25%. Protein kedelai dan protein susu sapi mempunyai titik isoelektris pada pH yang sama yakni 4,6 (Tamime dan Robinson, 1985). Oleh karena sifat dan komposisi kimia susu kedelai mirip dengan susu sapi, maka susu kedelai memungkinkan untuk diolah menjadi yogurt (soygurt) seperti halnya susu sapi.

Selama proses fermentasi, protein akan terhidrolisis menghasilkan peptida-peptida dengan bermacam ukuran dan asam-asam amino bebas yang kemungkinan dapat merubah struktur fisik dari yogurt dan secara tidak langsung memberi kontribusi terhadap citarasa yogurt

yang dihasilkan (Tamime dan Robinson, 1985). Selanjutnya dilaporkan bahwa flavor atau citarasa yogurt juga disebabkan oleh asam laktat dan senyawa-senyawa karbonil seperti asetaldehid, aseton dan diasetil.

Penentuan nilai cerna protein dapat dilakukan secara *in vivo* ataupun secara *in vitro*. Pengukuran kecernaan protein secara *in vivo* dengan menggunakan tikus dan hewan percobaan lain mempunyai beberapa kelemahan yaitu membutuhkan biaya yang tinggi dan waktu yang lama, oleh karena itu cara *in vitro* lebih dikembangkan oleh banyak ahli pangan (Buchanan, 1969; Saunders *et al.*, dalam Hadiwiyoto dan King, 1994). Selanjutnya dilaporkan bahwa pengukuran kecernaan protein secara *in vitro* menggunakan enzim proteolitik seperti enzim pepsin, tripsin, khimotripsin, papain, dan pankreatin atau kombinasi dari enzim-enzim tersebut.

Pelakuan pemanasan dapat menyebabkan terjadinya denaturasi protein dalam makanan. Protein yang telah terdenaturasi akan lebih mudah dihidrolisis oleh enzim proteolitik. Susu segar yang dihidrolisis dengan menggunakan enzim tripsin, khimotripsin, dan peptidase mempunyai nilai cerna sebesar 80,42% dan susu yang telah dipasteurisasi pada suhu 75°C mempunyai nilai cerna sebesar 80,81% (Carbonaro *et al.*, 1996).

Proses fermentasi dapat meningkatkan nilai cerna protein suatu bahan pangan. Kazanas dan Fields (1981) menyatakan bahwa terjadi kenaikan nilai cerna protein biji sorghum selama 24 jam fermentasi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perubahan nilai cerna protein dan perubahan fraksi protein pada susu kedelai dalam proses pembuatan soygurt.

METODA PENELITIAN

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi bahan baku dan bahan kimia. Bahan baku yang digunakan adalah kedelai impor dari Amerika yang tidak diketahui varietasnya, diperoleh di Pasar Beringharjo Yogyakarta. Bakteri yang digunakan untuk pembuatan soygurt adalah *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040 dan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi PAU Pangan Gizi UGM.

Bahan kimia yang digunakan untuk pembuatan susu kedelai dan soygurt adalah NaHCO₃ dan gelatin,

¹ Alumnus FTP- UGM (Staf Pengajar FAPERTA Universitas Riau)

² Staf Pengajar FTP – UGM

sedangkan untuk analisis nilai cerna protein meliputi Sodium Dodesil Sulfat (SDS), sodium karbonat, TNBS, HCl, pancreatin, kasein Hammarsten, dan asam amino lisin, sedangkan untuk penentuan pola protein digunakan bahan kimia TCA, asam asetat, metanol, 2-mercaptoetanol, akrilamid, bisakrilamid, TEMED, amonium persulfat, SDS, TRIS, HCl, glisin, commasie brilliant blue R250, dan standar protein.

Cara

Susu kedelai yang akan digunakan untuk pembuatan soygurt dibuat dengan modifikasi proses Illinois (Nelson *et al.*, 1976). Biji kedelai direndam dalam larutan NaHCO_3 0,50% selama satu malam (perbandingan kedelai dan air adalah 1:3). Kemudian ditiriskan dan diblansing dengan larutan NaHCO_3 0,50% selama 30 menit (kedelai : air adalah 1:3), setelah itu dibuang kulitnya dan dicuci dengan air dan ditiriskan. Selanjutnya kedelai dihancurkan dengan blender sambil ditambah dengan air panas (80-100°C) dengan perbandingan 1:6 sehingga diperoleh kadar padatan 8%. Penggilingan dilakukan selama 7 menit dan setelah itu dilakukan penyaringan. Hasil penyaringan dihomogenisasi pada tekanan 3000 psi.

Proses pembuatan soygurt dilakukan dengan menggunakan metoda Kanda *et al.* (1976). Susu kedelai yang telah ditambah sukrosa 0%, 4%, 8%, 12% disterilisasi pada suhu 115°C selama 10 menit. Kemudian susu kedelai tersebut didinginkan dengan cepat hingga suhu 45°C. Dalam pembuatan soygurt ditambahkan gelatin sebanyak 5% untuk menjaga agar soygurt stabil dan baik teksturnya. Kemudian diinokulasi dengan starter yang terdiri dari starter campuran yakni *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus acidophilus* dan starter tunggal yaitu *Lactobacillus acidophilus* sebanyak 5% dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam.

Analisis Susu Kedelai dan Soygurt

1. Penentuan nilai cerna protein

Penetapan nilai cerna protein dilakukan secara *in vitro* yakni dengan menggunakan enzim pankreatin dan TNBS (Hadiwiyoto dan King, 1994). Substrat (susu kedelai dan soygurt) sebanyak 3 gram dilarutkan dalam akuades hingga volumenya menjadi 100 ml dan pH substrat diatur hingga mencapai 8, kemudian ditambahkan enzim pankreatin sebanyak 3% dari berat substrat dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 4 jam. Satu mililiter campuran substrat dan enzim direaksikan dengan 1 ml Na_2CO_3 4% dan 1 ml TNBS 0,1%. Setelah itu diinkubasi pada suhu 45°C selama 1 jam. Kemudian ditambahkan 1 ml SDS 1% dan 2 ml HCl 0,1M dan dibiarkan pada suhu kamar selama 30 menit. Setelah itu ditera absorbansinya pada panjang gelombang 456 nm. Nilai cerna dihitung dengan menggunakan kurva standar lisin.

2. Penentuan pola protein dengan SDS-PAGE (Laemli, 1970 dalam Hames, 1981)

Preparasi gel

Dua buah plat kaca yang berukuran 16 x 15 cm dengan tebal 0,4 cm dibersihkan dengan air dan

dikeringkan dengan alkohol. Sisi kiri, kanan, dan bawah plat kaca dipasang karet dan dijepit dengan penjepit. Larutan *resolving gel* 10% dimasukkan ke dalam plat kaca hingga mencapai ketinggian 10 cm. Setelah gel terbentuk, pada permukaan atas dimasukkan larutan *stacking gel* 4% dan dipasang sisir untuk membentuk cekungan tempat memasukkan sampel. Gel yang telah terbentuk disimpan selama satu malam di dalam ruang pendingin (kulkas) agar terjadi polimerisasi yang sempurna pada gel tersebut, dan setelah itu gel siap digunakan.

Preparasi sampel

Sampel yang akan digunakan ditentukan terlebih dahulu kadar protein terlarutnya dengan metoda Lowry. Kemudian 1 ml sampel dengan kandungan protein sekitar 100-200 μg diendapkan dengan 1 ml TCA 10%, setelah itu disentrifus selama 10 menit pada kecepatan 3000 rpm dan suhu 4°C. Supernatan dibuang dan presipitat ditambah 0,1 ml buffer sample. Kemudian dipanaskan pada air mendidih selama lebih kurang 2 menit dan didinginkan dengan cepat dalam almari pendingin, baru kemudian siap dimasukkan ke dalam gel.

Elektroforesis

Plat kaca yang telah berisi gel dipasang pada alat elektroforesis. Pada prinsipnya sistem ini mempunyai penampung buffer dimana *slab gel* diletakkan secara vertikal sehingga menghubungkan kedua buffer yang mempunyai pH 8,3. Penempatan gel secara vertikal sedemikian rupa pada alat elektroforesis sehingga dapat mencegah terbentuknya gelembung udara. Sisir yang ditempatkan pada bagian atas gel untuk membentuk cekungan penempatan sampel diambil secara perlahan-lahan, jangan sampai merusak cekungan gel yang telah terbentuk. Sampel diinjeksikan sebanyak 25 μl tepat pada cekungan sampel. Alat elektroforesis dihubungkan dengan arus listrik 40 mA. Proses elektroforesis berakhir apabila tanda warna biru dari bromophenol biru sudah berada pada bagian bawah gel (kira-kira 1-2 jam). Gel diambil dari unit elektroforesis dan plat kaca secara hati-hati dipisahkan dari gel dengan menggunakan pisau stainless.

Untuk mengetahui keberadaan protein pada SDS-PAGE dilakukan pewarnaan. Gel direndam dalam larutan *staining* selama 24 jam di atas *shaker waterbath*. Gel yang telah mengalami pewarnaan direndam dalam larutan *destaining* sampai latar belakang gel berwarna putih kembali dan pita yang terdapat pada gel kelihatan jelas. Pita-pita protein sampel dibandingkan dengan pita protein standar yang sudah diketahui berat molekulnya masing-masing.

Perlakuan

Dalam penelitian ini soygurt dibuat dengan menambahkan sukrosa sebesar 0%, 4%, 8%, 12% dan starter yang ditambahkan terdiri dari dua macam yakni starter campuran antara *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus acidophilus* dan starter tunggal yang hanya

terdiri dari satu macam mikrobia yakni *Lactobacillus acidophilus*.

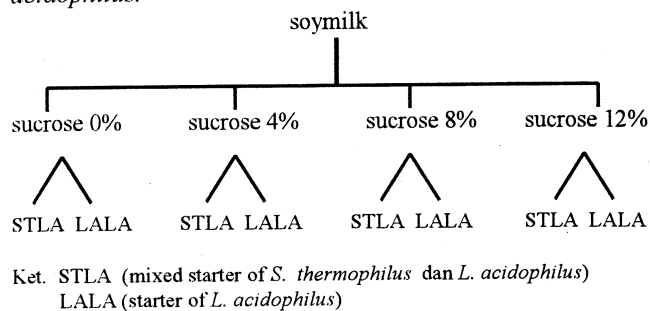
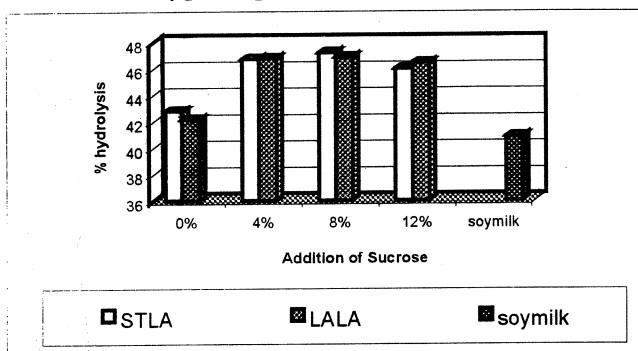


Figure 1. Treatment of research

HASIL DAN PEMBAHASAN

Nilai cerna susu kedelai dan soygurt

Selama proses fermentasi terjadi peningkatan nilai cerna. Dari hasil analisis nilai cerna dengan menggunakan enzim pankreatin dapat diketahui nilai cerna dari susu kedelai dan soygurt seperti terlihat pada Gambar 2.



Ket.: STLA (soygurt produced by addition of *S.thermophilus* dan *L. acidophilus*)
LALA (soygurt produced by addition of *L.acidophilus*)

Figure 2. *In vitro* digestibility of soygurt and soymilk

Pada Gambar 2 terlihat bahwa nilai cerna susu kedelai secara statistik lebih rendah dibandingkan dengan soygurt yang dibuat dengan penambahan sukrosa 4%, 8% dan 12%, akan tetapi nilai cerna susu kedelai berbeda tidak nyata dengan perlakuan tanpa penambahan sukrosa (0%).

Nilai cerna susu kedelai sebesar 40,86%. Menurut Wallace *et al.* (1971) susu kedelai yang dibuat dengan perlakuan perendaman dalam karbonat mempunyai nilai cerna sekitar 39,5% - 40,3%. Setelah susu kedelai difermentasi selama 18 jam terjadi peningkatan nilai cerna sebesar 12,68% - 14,50%, hal ini sesuai dengan pendapat Kazanas dan Fields (1981) yang menyatakan bahwa proses fermentasi akan meningkatkan nilai cerna.

Jika diamati pengaruh penggunaan starter dalam pembuatan soygurt terhadap nilai cernanya ada sedikit perbedaan, namun secara statistik berbeda tidak nyata.

Pada Gambar 2 juga terlihat bahwa soygurt yang dibuat tanpa penambahan sukrosa mempunyai nilai cerna lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan yang ditambah sukrosa. Hal ini menunjukkan bahwa gula sebagai sumber energi sangat dibutuhkan untuk

pertumbuhan mikrobia. Jika sumber energi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikrobia tidak mencukupi, maka akan menghambat aktivitas mikrobia tersebut sehingga kemampuan untuk menghidrolisis protein juga akan berkurang. Hal ini sejalan dengan pendapat Koswara (1992) yang menyatakan bahwa dalam pembuatan soygurt perlu penambahan gula sebesar 4-5% yang bertujuan untuk meningkatkan sumber karbon dan energi bagi mikrobia untuk pertumbuhannya. Selanjutnya dilaporkan bahwa susu kedelai yang langsung diinokulasi starter tanpa penambahan gula dan diinkubasi selama 4 jam pada suhu 43 - 45°C tidak akan menghasilkan perubahan pH dan kekentalan pada susu kedelai.

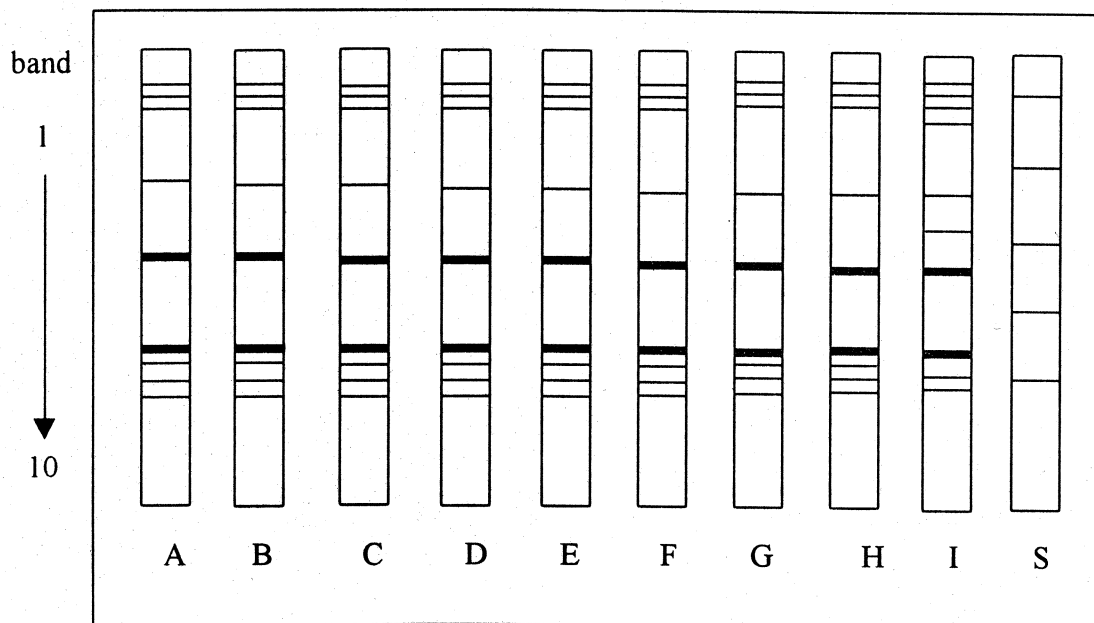
Pola protein susu kedelai dan soygurt

Penggunaan elektroforesis dalam penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan pola protein dari masing-masing perlakuan, karena pola protein dapat membantu identifikasi perubahan protein akibat perlakuan ataupun pengolahan.

Gel setelah proses elektroforesis diberi pewarnaan dengan menggunakan *commasie brilliant blue R-250* untuk mengetahui pita-pita protein. Kemudian pita-pita yang terbentuk dibandingkan dengan pita-pita dari protein standar. Nilai Rf standar dihubungkan dengan berat molekul standar yang menghasilkan titik-titik dan setelah dihubungkan akan didapatkan suatu hubungan linear. Penentuan berat molekul dugaan adalah dengan menghitung Rf sampel yang kemudian nilai Rf tersebut diplotkan ke garis linear dan titik pertemuannya dihubungkan dengan skala berat molekul sehingga diketahui berat molekul dugaannya. Dalam penelitian ini digunakan protein standar yang sudah diketahui berat molekulnya (Tabel 1)

Table 1. Prediction of soymilk and soygurt molecular mass

Material	Protein Band	Molecular Mass (Dalton)
Protein Standard	Sitokhrom C hexamer	74.400
	Sitokhrom C tetramer	49.600
	Sitokhrom C trimer	37.200
	Sitokhrom C dimer	24.800
	Sitokhrom C monomer	12.400
Soymilk	Band 1	86.500
	Band 2	82.000
	Band 3	72.250
	Band 4	66.500
	Band 5	53.000
	Band 6	44.000
	Band 7	35.000
	Band 8	14.750
	Band 9	11.750
	Band 10	9.900
Soygurt	Band 1	86.500
	Band 2	82.000
	Band 3	72.250
	Band 4	53.000
	Band 5	35.000
	Band 6	14.750
	Band 7	13.250
	Band 8	11.750
	Band 9	9.900



Ket. A = soygurt (without sucrose + STLA), B = soygurt (without sucrose + LALA)
 C = soygurt (4% sucrose + STLA), D = soygurt (4% sucrose + LALA)
 E = soygurt (8% sucrose + STLA), F = soygurt (8% sucrose + LALA)
 G = soygurt (12% sucrose + STLA), H = soygurt (12% sucrose + LALA)
 I = Soymilk S = Protein standar

Figure 3. Electrophoretic pattern of the the soygurt and soymilk protein

Pada Gambar 3 terlihat bahwa terdapat dua fraksi protein pada susu kedelai yakni protein dengan berat molekul 66.500 dalton dan 44.000 dalton yang mengalami perubahan selama proses fermentasi. Hal ini terbukti dengan tidak dijumpai lagi kedua fraksi tersebut pada soygurt yang dihasilkan, dan pada soygurt juga dijumpai fraksi protein baru yakni protein dengan berat molekul 13.250 hal ini menunjukkan bahwa selama proses fermentasi, mikrobial proteolitik akan menghidrolisis protein menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

Selama proses fermentasi, protein akan terhidrolisis menjadi molekul atau fraksi yang lebih sederhana sehingga akan meningkatkan nilai cerna protein pada soygurt yang dibuat dengan penambahan sukrosa.

DAFTAR PUSTAKA

Buchanan, R.A. 1969. In vivo and In vitro Methods of Measuring Nutritive Value of Leaf Protein Concentrate. *Brit.J.Nutr.* 23:533.
 Carbonaro, M., F. Bonomi, S. Iametti, and E. Carnovale. 1996. Modification of Disulfide Reactivity of Milk Induced by Different Pasteurization Conditions. *J. Food Sci.* 61 : 495 - 499.

Hadiwiyoto, S. and R.D. King. 1994. In Vitro Digestibility of Plastein Gel Prepared from Peptic Digest of Casein. *Indo. Food and Nutr. Prog.* 1 : 44-49.

Hames, B.D. 1981. An Introduction to Polyacrylamide Gel Electrophoresis. Dalam "Gel Electrophoresis of Protein. A Practical Approach". Hames, B.D. and Rickwood. (Eds). IRL Press. Oxford, Washington DC. 1 - 86.

Kanda, H., H.L. Wang, C.W. Heseltine and K. Kramer. 1976. Yoghurt Production by Lactobacillus Fermentation of Soybean Milk. *Proc. Biochem.* 23-25.

Kazanas, N. and M.L. Fields. 1981. Nutritional Improvement of Sorghum by Fermentation. *J. Food Sci.* 46 : 819-821.

Koswara, S. 1992. Teknologi Pengolahan kedelai Menjadi Makanan bermutu. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta.

Nelson, A.I., M.P. Steiberg, and L.S. Wei. 1976. Illinois Process for Preparation of Soymilk. *J. Food Sci.* 41 : 57-61.

Tamime, A.Y. and R.K. Robinson. 1985. Yoghurt Science and Technology. Pergamon Press, New York.

Wallace, G.M., W.R. Bantyne and A. Khaleque. 1971. Studies on Processing and Properties of Soymilk, II - Effect of Processing Condition on The Trypsin Inhibitor Activity and Digestibility In Vitro of Protein in Various Soymilk Preparation. *J. Sci. Fd. Agric.* 22 : 526-531.