

Profil Protein Yogurt Susu Kambing PE dengan Kultur Tunggal Pada 30-60 kDa dengan SDS-PAGE

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

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

ABSTRAK

Kambing perah merupakan salah satu komoditas ternak yang berpotensi untuk dikembangkan. Di Indonesia kambing perah yang banyak dikembangkan adalah kambing Peranakan Etawa (PE). 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, pembuatan *starter* kultur tunggal, pembuatan yogurt, isolasi protein, separasi protein dan penghitungan berat molekul. Pembuatan yogurt dilakukan dengan tiga ulangan. Kultur bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Hasil separasi protein menunjukkan yogurt dengan kultur LA memiliki protein dengan berat molekul sebesar 31,59 kDa, 48,36 kDa dan 48,94 kDa. Yogurt kultur LB memiliki protein dengan berat molekul sebesar 30 kDa, 37,83 kDa, 50,22 kDa dan 57,12 kDa. Protein yang terlihat pada yogurt kultur ST adalah pada berat molekul 30,02 kDa, 38,67 kDa, 46,18 kDa dan 55, 15 kDa. Kemungkinan protein dari yogurt fermentasi tunggal mempunyai fungsi yang berbeda sebagai anti-hipertensi atau immunomodulator.

Kata kunci: Protein, SDS-PAGE, fermentasi tunggal

ABSTRACT

Dairy goat farm is one of commodity that has potential to be developed. In Indonesia, the most developed dairy goat is PE. The aim of this study is to determine specific protein at 30-60 kDa molecular weights 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 was *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. Protein separation show that yoghurt with culture LA, LB and ST has molecular weight 31,59 kDa, 37,83 kDa and 38,64 kDa. This protein with molecular weight between 30-38 kDa is thought to α -S1 casein or whey protein. We suggest that the protein of yogurt with single fermentation has specific function as anti-hypertension or immunomodulation.

Keywords: Protein, SDS-PAGE, single fermentation

* corresponding author: Prof. Fatchiyah, PhD.

e-mail: fatchiya@ub.ac.id; fatchiya@gmail.com

Jurusan Biologi, FMIPA-UB, Jl Veteran, Malang 65145, Indonesia

PENDAHULUAN

Kambing PE merupakan ternak yang cukup potensial sebagai penyedia protein hewani baik melalui daging maupun susunya. Susu kambing merupakan salah satu sumber protein hewani yang memiliki gizi tinggi dan sangat sempurna nutrisinya [1]. Pengonsumsi susu kambing di Indonesia masih sedikit, hal ini disebabkan oleh beberapa faktor antara lain aroma susu kambing yang masih dianggap masyarakat berbau amis dan adanya penderita *lactose intolerance* dan *protein intolerance*. Oleh karena adanya *intolerance* tersebut, maka dilakukan pengolahan susu agar tetap dapat dikonsumsi. Produk olahan susu yang disukai salah satunya adalah yogurt.

Penelitian Padaga dkk. (2009) tentang pangan nutrasetika dengan bahan susu menunjukkan bahwa pada susu kambing memiliki protein spesifik pada berat molekul 32 kDa dan 61,4 kDa yang tidak ditemukan pada susu sapi [2]. 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]. Budiarti dkk. (2013) menyatakan bahwa susu kambing memiliki protein spesifik pada berat molekul 36 kDa. Protein ini juga dimiliki oleh yogurt susu kambing dengan *starter* komersial serta kultur *L. Bulgaricus* dan *S. thermophilus* [3].

Mengetahui manfaat dari protein spesifik yang ditemukan pada susu kambing, penelitian ini dilakukan untuk mengembangkan informasi yang sudah ada sebelumnya untuk mengetahui kandungan protein dengan berat molekul 30-60 kDa yang terdapat pada yogurt susu kambing dengan kultur tunggal.

METODE

Penelitian ini sudah mendapatkan sertifikat Kelaikan Etik No.90-KEP-UB tertanggal 29 Maret 2013, 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.

Pembuatan Yogurt. *Mother starter* dibuat dengan cara sebanyak satu ose kultur tunggal *S. thermophilus* FNCC 0040, *L. acidophilus* FNCC 0051 dan *L. bulgaricus* FNCC 0050 diinokulasikan ke dalam 10 mL media pertumbuhan MRS *Broth* lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C untuk. 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 [4].

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 [5].

Analisis SDS-PAGE. *Running* elektroforesis dilakukan pada 200 volt hingga *tracking dye* mencapai 0,5 cm di atas dasar gel. Distribusi pita protein dapat diketahui dengan pewarnaan gel menggunakan *Coomasie Brilliant Blue* (CBBR 250) [6]. 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 yang digunakan dalam penelitian dihitung jumlahnya untuk mengetahui pola pertumbuhan dari masing-masing kultur. Jumlah bakteri yang digunakan adalah pada fase logaritmik awal (Tabel 1).

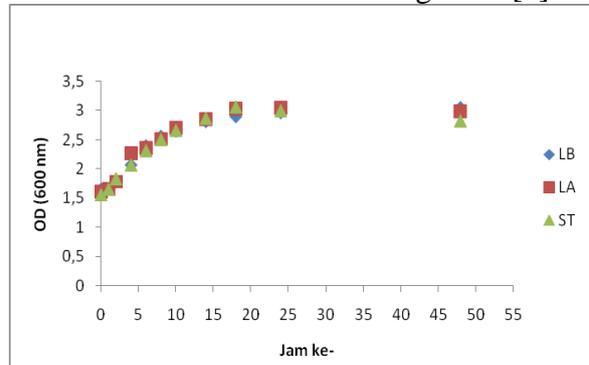
Tabel 1 Jumlah BAL yang digunakan dalam pembuatan yogurt

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>	$10,83 \times 10^8$

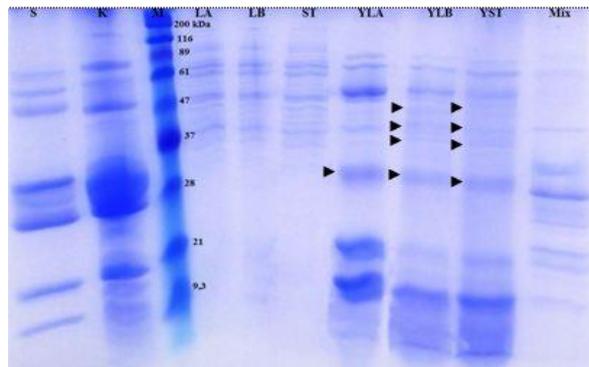
Masing-masing kultur mencapai fase logaritmik awal pada jam ke-2 dan fase logaritmik akhir pada jam ke-18 inkubasi (Gambar 1). Pembuatan yogurt menggunakan jumlah sel sebesar 10^8 CFU/mL untuk masing-masing kultur. Pembuatan yogurt menggunakan tiga kultur tunggal dengan jumlah sel 10^8 CFU /mL.

Selama pembuatan yogurt terjadi penurunan pH. Nilai pH pada awal inkubasi berkisar antara 6,6-6,7. pH mengalami penurunan mencapai 4,3-6 pada akhir inkubasi. 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 [7]. Laktosa tersebut selanjutnya akan dibawa masuk ke

dalam sel bakteri oleh enzim laktosa fosfotransferase yang terdapat di membran sel [7]. Laktosa dalam sel akan diubah menjadi D-glukosa dan akan diubah menjadi piruvat melalui jalur Embden-meyerhof. Piruvat selanjutnya dipecah menjadi asam laktat oleh enzim laktat dehidrogenase [7].



Gambar1 Kurva pertumbuhan bakteri



Gambar2 Hasil separasi dengan gel elektroforesis 15 % dan pewarnaan dengan CBB. Keterangan: S: susu sapi; K: susu kambing; M: penanda; LA: *L. acidophilus*; 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.

Pemisahan protein dilakukan pada gel poliakrilamida dengan konsentrasi 15 % karena konsentrasi gel ini biasa digunakan untuk memisahkan protein dengan berat molekul kurang dari 50 kDa sehingga protein target 30-60 kDa dapat terlihat dengan menggunakan gel ini [8]. Hasil separasi menunjukkan bahwa pada yogurt dengan kultur LA memiliki protein dengan berat molekul sebesar 31,59 kDa. Yogurt kultur LB memiliki protein dengan berat molekul sebesar 30 kDa, 37,83 kDa, 50,22 kDa dan

57,12 kDa. Protein yang terlihat pada yogurt kultur ST adalah pada berat molekul 30,02 kDa, 38,67 kDa, 46,18 kDa dan 55, 15 kDa (Gambar 2) (ditunjukkan oleh anak panah). 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 [3].

Protein yang dimiliki oleh yogurt dengan kultur tunggal ini tidak dimiliki oleh kultur bakteri yang digunakan dalam pembuatan yogurt. Gobeti dkk. (1996) dalam Khoriyah & Fatchiyah (2013) menyatakan 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 [10]. Perbedaan profil protein dapat disebabkan karena pada yogurt kultur tunggal tidak terjadi simbiosis seperti pada yogurt dengan kultur campuran. Kombinasi *starter* yogurt dapat menyebabkan profil pita protein yang didapatkan menjadi lebih banyak dan kecil-kecil [11]. Khoiriyah & Fatchiyah (2013) menyatakan bahwa pada berat molekul antara 30-38 kDa adalah α -S1 kasein atau protein lain seperti whey dan pada berat molekul 36 kDa adalah α -S2 kasein [10]. Diduga protein yogurt hasil fermentasi tunggal dari susu kambing ethawah dapat digunakan untuk anti hipertensi atau immunomodulator.

KESIMPULAN

Yogurt dengan kultur LA memiliki protein dengan berat molekul sebesar 31,59 kDa, 48,36 kDa dan 48,94 kDa. Yogurt kultur LB memiliki protein dengan berat molekul sebesar 30 kDa, 37,83 kDa, 50,22 kDa dan 57,12 kDa. Protein yang terlihat pada yogurt kultur ST adalah pada berat molekul 30,02 kDa, 38,67 kDa, 46,18 kDa dan 55, 15 kDa. Protein dengan berat molekul ini tidak dimiliki oleh kultur bakteri yang digunakan untuk membuat yogurt. Profil protein pada yogurt kultur tunggal

dengan berat molekul 30-38 kDa diduga adalah α -S1 kasein atau whey.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Dr. Sri Widyarti, Bapak Dr. Suharjono, M. Si. dan kelompok Bio-Engineering 3 JB UB atas bimbingan serta saran yang mendukung dalam penyelesaian jurnal ini. 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, M. dkk. 2009. Potensi Protein Spesifik Susu Kambing Sebagai Immunomodulator Dan Immunogen: Upaya Pengembangan Pangan Nutrasetika: Laporan Penelitian.
<http://elib.pdii.lipi.go.id/katalog/index.php/searchkatalog/byId/60212>.
Diakses tanggal 12 November 2012.
3. Budiarti, I. K., Padaga, M. C. & Fatchiyah, F. 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).
4. 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.
5. Fatchiyah, Arumingtyas EL., Widyarti S. & Rahayu S. 2011. *Biologi Molekuler Prinsip Dasar Analisis*. Jakarta: Erlangga.
6. Hames, B. D. 1998. *Gel Electrophoresis of Proteins A*

- Practical Approach Third Edition.*
Oxford: Oxford University Press.
7. 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.
 8. Hames, B. D. & Rickwood D. 1990. *Gel Electrophoresis of Proteins A Practical Approach Third Edition.* New York: Oxford University Press.
 9. 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).
 10. 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. *J. Dairy Sci.* 85: 2479-2488.