

KARAKTERISASI PROTEIN SORGUM DAN UPAYA PENINGKATAN JEJARING PROTEIN SORGUM DENGAN PENAMBAHAN GLUKOSA-OKSIDASE

[CHARACTERIZATION OF SORGHUM PROTEIN AND IMPROVEMENT OF SORGHUM PROTEIN NET-WORKING WITH ADDITION OF GLUCOSE-OXIDASE]

Endah Wulandari¹

Departemen Teknologi Industri Pangan, Fakultas Teknologi Industri Pertanian,
Universitas Padjadjaran, Bandung

Jalan Raya Jatinangor KM 21, Sumedang

Korespondensi penulis : endah.wulandari@unpad.ac.id

ABSTRACT

Sorghum (Sorghum bicolor (L.) Moench) contains about 10% protein so it can act as a source of protein. Kafirin is a protein in sorghum distinguished on α , β , and γ -kafirin based on molecular weight differences, ease of extracting, and molecular structure. Characteristics of the sorghum protein and the ability of glucose-oxidase will form a protein network naturally between proteins or peptides resulting in polymerization. The objectives of the research were to fractionate protein of the flour of Zh-30 sorghum strain using five types of solvents. The protein fractions were analyzed for protein content and molecular weight by SDS-PAGE and evaluated for protein-network formation by glucose-oxidase, the result showed that flour protein of the sorghum Zh-30 strain consisted of five classes of proteins with a ratio of respectively albumin, globuline, kafirin 1, gluteline and kafirin 2 or cross-linked kafirin 11:11:42:7:29. Kafirin 1 content was 36.01%, kafirin 2 24.79%, gluteline 22.15%, globuline 12.81% and albumin 4.24% of total protein. Molecular weight of each protein fraction of the sorghum flour Zh-30 strain was respectively albumin 69.9 kDa, kafirin 1 which consisted α_1 -kafirin 22.4 kDa and α_2 -kafirin 23.5 kDa, globuline 121 kDa, gluteline 15.5 kDa and kafirin 2 which consisted of α_1 -kafirin 16.2 kDa, α_2 -kafirin 23.5 kDa, β -kafirin 24.6 kDa and γ -kafirin 53.6 kDa. Protein net-working was established when the glutelin fraction was treated with glucose-oxidase (MW 69 kDa from 15.5 kDa).

Keywords : glucose-oxidase, kafirin, protein net-working, sorghum

ABSTRAK

Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) mengandung sekitar 10% protein sehingga dapat berperan sebagai sumber protein. Kafirin yaitu protein pada sorgum dibedakan atas α , β , dan γ -kafirin berdasarkan perbedaan bobot molekul, kemudahan diekstraksi, dan struktur molekulnya. Karakteristik protein sorgum dan kemampuan glukosa-oksidadase akan membentuk jejaring protein secara alami antar protein atau peptida sehingga terjadi polimerisasi. Tujuan dari penelitian ini adalah melakukan fraksionasi protein dari tepung sorgum galur Zh-30 menggunakan lima macam pelarut. Fraksi-fraksi protein tersebut dianalisis kadar protein dan berat molekul fraksi-fraksi protein dengan SDS-PAGE, serta mengevaluasi pembentukan jejaring protein fraksi protein oleh aktivitas glukosa-oksidadase murni pada fraksi-fraksi protein tepung sorgum. Hasil penelitian menunjukkan protein tepung sorgum galur Zh-30 terdiri dari 5 golongan protein yaitu albumin, globulin, kafirin 1, glutelin dan kafirin 2 dengan rasio 11:11:42:7:29. Kadar protein kafirin 1 36,01%, kafirin 2 atau *cross-linked* kafirin 24,79%;

glutelin 22,15% ; globulin 12,81% dan albumin 4,24% dari total protein. Berat molekul albumin 69,9 kDa; kafirin 1 yang terbagi menjadi α_1 -kafirin 22,4 kDa dan α_2 -kafirin 23,5kDa; globulin 121 kDa; glutelin 15,5 kDa dan kafirin 2 yang terbagi menjadi α_1 -kafirin 16,2 kDa, α_2 -kafirin 23,5 kDa, β -kafirin 24,6 kDa dan γ -kafirin 53,6 kDa. Terbentuk jejaring protein akibat aktivitas glukosa-oksidadase dengan glutelin. (berat molekul 69 kDa dari 15,5 kDa)

Kata kunci : glukosa-oksidadase, jejaring protein, kafirin, sorgum

PENDAHULUAN

Tepung terigu merupakan bahan dasar yang penting dalam pembuatan roti. Keunikan tepung terigu adalah dapat membentuk adonan yang mampu menahan gas-gas yang terbentuk selama fermentasi sehingga menghasilkan roti yang mengembang dan ringan. Keunikan tersebut disebabkan oleh adanya komponen gluten yang memegang peranan penting dan mendasar dalam menentukan kualitas dan struktur roti. Protein tepung terigu terdiri dari empat fraksi berdasarkan kelarutannya, yaitu albumin yang larut dalam air, globulin dan prolamin yang larut dalam larutan garam, gliadin yang larut dalam alkohol 70 % dan glutenin yang larut dalam larutan alkali encer. Glutenin dan gliadin yang dibasahi dan diuleni akan membentuk gluten. Gliadin memberi elastisitas dan glutenin berperan dalam kemampuan adonan untuk menahan gas dalam adonan serta menentukan struktur roti (Sultan, 1986).

Produk rerotian (*bakery*) yang berkembang saat ini berbasis pada tepung

terigu, namun bagi beberapa kelompok masyarakat khususnya yang tidak toleran terhadap gluten, yaitu pengidap penyakit *celiac* dan autisme disarankan untuk menghindari makanan-makanan yang mengandung gluten. Produk rerotian/*bakery* dari tepung sereal non-gluten umumnya memiliki kualitas yang rendah, terutama dalam hal volume pengembangan, karena tidak mampu membentuk jejaring protein mirip gluten (Renzetti *et al.*, 2008). Ikatan kovalen yang terjadi di dalam jaringan gluten merupakan hasil degradasi protein oleh protease. Protease umumnya ditambahkan pada adonan untuk memperpendek waktu pencampuran, mengurangi konsistensi adonan, mengatur kekuatan gluten dalam adonan roti, memastikan keseragaman adonan serta memperbaiki flavor roti (Goesaert *et al.*, 2005).

Saat ini, tepung sereal non-gluten dapat dimodifikasi sehingga membentuk jejaring protein mirip gluten. Modifikasi tersebut dapat tercapai dengan menggunakan bahan tambahan makanan

berupa polimer seperti gum xanthan dan *hydroxypropyl methyl cellulose* (HPMC) atau enzim. Empat enzim yang umumnya digunakan dalam produk rotian adalah transglutaminase (*TGase*), glukosa-oksidadase (GOX), hesose-oksidadase, dan laktase. Keempat enzim ini mengkatalisis reaksi perpindahan gugus asil pada protein sehingga menghasilkan ikatan silang dan ikatan kovalen intra-dan inter-molekuler (Joye *et al.*, 2009).

Glukosa-oksidadase (GOX, EC 1.1.3.4) mempercepat proses oksidasi pada proses pembuatan adonan produk rotian. Enzim ini mengkatalisis reaksi oksidasi dari β -D-glukosa menjadi asam D-glukonat dan hidrogen peroksida. Penambahan glukosa-oksidadase akan mengurangi jumlah ikatan sulfidril (SH) pada fraksi protein, namun meningkatkan pembentukan ikatan disulfida (-S-S-) dan atau ikatan silang ditirosin. Glukosa-oksidadase (GOX) terdapat pada berbagai jenis jamur contohnya *Aspergillus niger*. Dalam industri roti, penggunaan transglutaminase dan glukosa oksidadase relatif masih baru (Goesaert *et al.*, 2005).

Sorgum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) adalah tanaman sereal penting di dunia karena menempati urutan ke-empat setelah gandum, beras dan jagung. Biji sorgum mengandung sekitar 83%

karbohidrat, 3,5 % lemak, dan 10% protein (Suarni, 2004). Dengan demikian biji sorgum dapat berperan sebagai makanan pokok alternatif untuk beras sehingga mengurangi ketergantungan terhadap beras (Mudjishono dan Suprpto, 1987). Beberapa negara di Afrika, sorgum juga berperan sebagai sumber protein dan dikonsumsi dengan kombinasi kacang-kacangan untuk melengkapi kebutuhan asam amino esensial karena dibandingkan dengan sereal lain, sorgum kekurangan asam amino esensial terutama lisin (Shewry dan Halford, 2000).

Protein sorgum terdiri dari albumin (larut air), globulin (larut garam), kafirin 1 (larut alkohol), kafirin 2 atau *cross-linked* kafirin (larut alkohol dan bahan reduktan), dan glutelin (larut alkohol, detergen dan larutan basa). Kafirin dibedakan atas α , β , dan γ -kafirin berdasarkan perbedaan berat molekul, kemudahan diekstraksi, dan struktur molekulnya, seperti juga berlaku untuk protein jagung. α -kafirin yang berjumlah sekitar 80% dari total kafirin adalah protein utama sorgum, persentase β -kafirin hanya sekitar 5% sedangkan γ -kafirin sekitar 15% dari kadar kafirin biji (Bugusu *et al.*, 2001).

Sifat fungsional protein sorgum dalam pembuatan roti secara umum dibedakan

atas : a) kemampuan interaksi antar-protein yang memengaruhi struktur makanan dan b) pengaruh protein terhadap konstituen lain terutama pati. Protein tepung sorgum tidak memiliki kemampuan membentuk struktur roti, karena kafirin terperangkap pada matriks protein dari jaringan *corneus endosperm* sehingga tidak dapat membentuk adonan yang elastis yang mampu menahan gas-gas hasil fermentasi ragi, *leavening agent* ataupun udara (Bugusu *et al.*, 2001).

Penelitian tentang penyosohan biji sorgum diikuti dengan penepungan beras-sorgum menunjukkan bahwa *white sorghum* yang memiliki biji dengan kandungan tanin rendah lebih disukai untuk pengolahan roti. Tanin memberikan warna merah kecoklatan pada produk dan berinteraksi dengan protein sehingga nilai protein asupan makanan menurun akibat tidak dapat dicerna (Oria *et al.*, 2000)

Sorgum galur Zh-30 termasuk kelompok *white sorghum* hasil teknik radiasi sinar gamma pada varietas Zhengzu yang berasal dari Cina. Ternyata setelah ditepungkan dapat menggantikan terigu dalam pembuatan muffin (Santosa dan Hoeman, 2009).

Berdasarkan karakteristik protein sorgum dan kemampuan glukosa-oksidadase dalam membentuk jejaring protein secara

alami antar protein atau peptida sehingga terjadi polimerisasi, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai karakterisasi fraksi-fraksi protein tepung sorgum galur Zh-30 dan pembentukan jejaring protein antara fraksi-fraksi protein tepung sorgum dengan penambahan glukosa-oksidadase.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam percobaan ini antara lain adalah tepung sorgum dari galur Zh-30, yang bijinya diperoleh dari Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran, n-heksan, t-butanol dari *Merck*, aseton, buffer Na-Phosphat 0,5M, 2-merkaptotanol, NaCl, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12 \cdot \text{H}_2\text{O}$, SDS, Na_2CO_3 , NaOH, bahan-bahan kimia untuk analisis elektroforesis, glukosa-oksidadase dari *Biogen*. Bahan-bahan untuk analisis kimia antara lain H_2SO_4 , NaOH, HCL, K_2SO_4 , $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \cdot \text{H}_2\text{O}$,. Indikator metilen-blue dan metilen-red, petroleum-eter, alkohol, akuades, asbes dan batu didih.

Alat-alat yang digunakan adalah *stirrer*, *refrigerated centrifuge*, seperangkat alat SDS-PAGE, tabung reaksi, penjepit, desikator, cawan porselen, gelas ukur 500 mL, labu Erlenmeyer 100 mL, labu Kjeldahl 150 ml, labu ukur 100 mL, alat ekstraksi

Soxhlet, alat destilasi, pompa vakum, kertas saring, kertas lakmus dan kamera digital.

Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen dengan analisis deskriptif dengan tahapan-tahapan penelitian yang dilakukan adalah Ekstraksi dan karakterisasi fraksi-fraksi protein tepung sorgum galur Zh-30 dan menguji terjadinya jejaring protein sorgum oleh glukosa-oksidadase (GOX).

1. Metode ekstraksi dan karakterisasi protein sorgum (Nour *et al.*, 1998)

a. Pembuatan tepung sorgum galur Zh-30

Pembuatan tepung sorgum dilakukan dengan penyosohan abrasif biji sorgum menjadi beras sorgum. Penepungan beras sorgum dilakukan dengan *hammer mill* dan diayak dengan ayakan ukuran 100 mesh. Beras sorgum yang digunakan dalam penepungan adalah hasil penyosohan abrasif selama 2 menit dengan efisiensi penyosohan 24%. Tepung sorgum yang dihasilkan kemudian dianalisis proksimat.

b. Analisis Proksimat (AOAC,1975),

Kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak dan karbohidrat *by different*.

c. Proses Ekstraksi Fraksionasi Protein

Tepung sorgum dihilangkan lemaknya dengan direndam dalam heksan 1 : 10 (w/v) selama 18 jam pada suhu ruang.

Kemudian tepung sorgum dikeringkan dalam desikator.

Protein dari sampel sebanyak 50 g tepung sorgum bebas lemak diekstrak dengan 350 mL natrium klorida (NaCl) 0,5 M menggunakan *stirrer* kecepatan 180 rpm. selama 120 menit pada suhu 4°C, kemudian bahan yang didapat di sentrifugasi dengan *refrigerated centrifuge* pada suhu 0°C pada 10.000 g (rpm/diameter rotor) selama 20 menit untuk mendapatkan endapan dan supernatannya. Endapan yang dihasilkan diekstrak kembali dengan reagen yang sama selama 120 menit pada suhu 4°C dan disentrifugasi dengan *refrigerated centrifuge* pada suhu 0°C selama 30 menit. Endapan yang dihasilkan diekstrak kembali dengan reagen yang sama selama 120 menit pada suhu 4°C dan disentrifugasi dengan *refrigerated centrifuge* pada suhu 0°C selama 60 menit. Supernatan dari 3 kali ekstraksi kemudian dikumpulkan dan merupakan bagian albumin dari sorgum galur Zh-30. Supernatan ini kemudian dianalisis kadar proteinnya dengan menggunakan metode Lowry.

Endapan yang berasal dari ekstraksi dengan NaCl tadi kemudian diekstrak kembali dengan pelarut alkohol, yaitu t-butanol. Endapan di ekstraksi dengan reagen 350 mL t-butanol 60% menggunakan *stirrer*

dengan kecepatan 180 rpm selama 120 menit pada suhu ruang. Hasil ekstraksi kemudian disentrifugasi dengan *refrigerated centrifuge* pada suhu 0°C pada 10.000 g selama 60 menit untuk mendapatkan endapan dan supernatan. Endapan yang didapat diekstrak kembali dengan reagen yang sama selama 60 menit dan disentrifugasi dengan *refrigerated centrifuge* pada suhu 0°C pada 10.000 g selama 60 menit. Supernatan dari 2 kali ekstraksi ini dikumpulkan dan diberi nama *t-butanol extract* (t-BE).

Endapan-endapan yang berasal dari ekstraksi dengan pelarut alkohol tadi (t-BE), kemudian diekstraksi kembali menggunakan *stirrer* dengan kecepatan 180 rpm dengan reagen t-butanol 60% yang mengandung 2% (w/v) SDS dalam 350 mL buffer Na-Phosphat 0,5 M pH 7 selama 120 menit pada suhu ruang. Endapan dan supernatan didapat dari sentrifugasi dengan *refrigerated centrifuge* pada suhu 0°C pada 10.000 g selama 20 menit. Endapan kemudian diekstraksi kembali dengan cara dan reagen yang sama selama 60 menit. Setelah disentrifugasi dengan *refrigerated centrifuge* pada suhu 0°C, endapan yang didapat didispersikan dengan 150 mL bufer Na-Phosphat untuk kemudian di sonikasi namun dalam penelitian ini diganti dengan “potter”.

Hasil “potter” di sentrifugasi kembali dengan *refrigerated centrifuge* pada suhu 0°C pada 10.000 g selama 20 menit, sehingga didapat endapan dan supernatan. Supernatan ini diberi nama *pottered extract* (PE)

Pottered extract kemudian dibuat aliquot dengan volume masing-masing aliquot sama banyak, masing-masing aliquot ditambahi t-butanol 60% dengan perbandingan (1:6) selama semalam pada suhu 4°C. Larutan dijernihkan dengan sentrifugasi menggunakan *refrigerated centrifuge* pada suhu 0°C pada 10.000 g selama 20 menit, supernatan yang didapat diberi nama t-BPE, sedangkan endapan yang didapat diekstraksi kembali dengan 350 mL t-butanol 60% yang mengandung 5% 2-merkaptotanol (v/v), kemudian di”potter” dan disentrifugasi kembali dengan *refrigerated centrifuge* suhu 0°C pada 10.000 g selama 20 menit. Supernatan yang dihasilkan diberi nama *residu extract* (RE).

Masing-masing t-BE, t-BPE dan RE kemudian diendapkan dengan menggunakan aseton dingin dengan perbandingan (1:9) (v/v) selama 10 menit pada suhu ruang, kemudian disentrifugasi dengan *refrigerated centrifuge* suhu 0°C pada 10.000 g selama 5 menit. Endapan yang dihasilkan kemudian dikeringkan dengan *freeze drier* untuk

kemudian dianalisis bobot molekulnya dengan SDS-PAGE.

2. Uji pembentukan jejaring protein oleh Glukosa Oksidase pada fraksi protein sorgum (Rasiah *et al.*, 2005)

Uji ini untuk mengetahui apakah glukosa-oksidadase secara aktif membentuk *cross-link* dengan fraksi protein sorgum. Fraksi protein sorgum hasil ekstraksi, diinkubasi dengan glukosa-oksidadase sebesar 2 U/mL pada suhu ruang selama 1 jam, kemudian campuran reaksi dianalisis dengan SDS-PAGE, jika jumlah Bovine Serum Albumin (BSA) dan fraksi protein sorgum membentuk komponen dengan bobot molekul yang besar, maka menunjukkan bahwa enzim ini dapat membentuk *cross-link* dan membentuk suatu jejaring protein mirip gluten.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fraksi Protein dan Kadar Protein Fraksi Protein Tepung Sorgum Galur Zh-30.

Hasil analisis proksimat tepung sorgum galur Zh-30 pada Tabel 1, menunjukkan bahwa tepung sorgum dari galur Zh-30 tersebut ternyata mengandung kadar protein dan lemak masing-masing 12,4% dan 5,5%.

Kadar protein dan lemak tepung sorgum Zh-30 tersebut lebih tinggi bila dibandingkan dengan kadar protein dan

lemak yang dilaporkan sebelumnya oleh Frederick (2009), yaitu 9,19 % dan 2,22 %. Menurut Singh, *et al.*, (2006), komposisi kimia tepung sorgum bervariasi tergantung dari kultivar dan iklim serta kondisi tanah selama pertumbuhan tanaman.

Tabel 1. Komposisi kimia tepung sorgum galur Zh-30

No	Komponen	Jumlah (% bb)
1	Kadar air (%)	14,75
2	Kadar abu (%)	0,30
3	Kadar protein (%)	12,40
4	Kadar lemak (%)	5,50
5	Karbohidrat	67,05

Protein sorgum terdiri atas 4 fraksi menurut kelarutan dalam berbagai pelarut yaitu albumin (protein larut air), globulin (protein larut dalam larutan garam), kafirin 1 (protein larut alkohol) dan glutelin (protein larut larutan alkali encer). Ekstraksi protein dengan metode Nour, *et al.*, (1998) dilakukan secara bertingkat dengan menggunakan larutan garam, larutan t-butanol 60%, bufer Na-fosfat pH 9 yang mengandung SDS 2% dan t-butanol 60% yang mengandung 5% β -merkaptotanol. Hasil ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 2 dan 3.

Tabel 2. Hasil pengendapan fraksi protein

Pelarut	Fraksi protein	Pengendapan (g)
Akuades	Albumin	1,08±0,13
NaCl 0,5M	Globulin	1,17±0,12
t-Butanol 60%	Kafirin 1	4,28±0,34
Bufer Na-fosfat pH 9 + SDS 2%	Glutelin	0,75±0,58
t-Butanol 60%+ 5% β-Merkaptoetanol	Kafirin 2 (<i>cross-linked</i> kafirin)	2,94±0,32

Tabel 3. Total dan kadar fraksi protein tepung sorgum galur Zh-30

Pelarut	Fraksi protein	Total protein (mg/g)	Kadar protein (%)
Akuades	Albumin	6,00 ±0,07	4,24
NaCl 0,5M	Globulin	18,14 ±0,17	12,81
t-Butanol 60%	Kafirin 1	51,00 ±0,07	36,01
Bufer Na-fosfat pH 9 + SDS 2%	Glutelin	31,36 ±0,04	22,15
t-Butanol 60%+ 5% β-Merkaptoetanol	Kafirin 2 (<i>cross-linked</i> kafirin)	35,11 ±0,11	

Pada Tabel 2 dan 3 dapat dilihat bahwa berdasarkan hasil pengendapan fraksi protein dengan aseton dingin dengan perbandingan 1:9, maka fraksi protein kafirin 1 merupakan komponen yang

terbanyak diikuti selanjutnya oleh fraksi kafirin 2, globulin, albumin dan glutelin. Rasio albumin : globulin : kafirin 1 : glutelin : kafirin 2 adalah rata-rata 11:11:42:7:29. Rasio tersebut lebih rendah dari rasio fraksi yang dilaporkan oleh Santosa dan Hoeman (2009) yaitu rasio albumin:globulin:prolamin:glutelin sorgum adalah 8:8:52:32.

Kadar fraksi-fraksi protein tepung sorgum galur Zh-30 pada Tabel 2 menunjukkan bahwa fraksi kafirin 1 merupakan penyusun utama protein tepung sorgum dengan persentasenya sekitar 36,01%, kafirin 2 atau *cross-linked* kafirin 24,79%; glutelin 22,15% ; globulin 12,81% dan albumin 4,24% dari total protein. Persentase kadar protein tepung sorgum galur Zh-30 ini sedikit berbeda dengan yang dilaporkan sebelumnya oleh FAO (1995) yang melaporkan kadar kafirin saja yang berkisar antara 27%-43,1%, glutelin 26,1%-39,6%, globulin 12,9%-16%, dan albumin 2%-9%. Perbedaan perbandingan kadar protein antar-fraksi ini dipengaruhi oleh kultivar yaitu faktor genetik serta faktor lingkungan dan kesuburan tanah (Kebakile, 2008)

Berat Molekul Fraksi Protein Tepung Sorgum Galur Zh-30

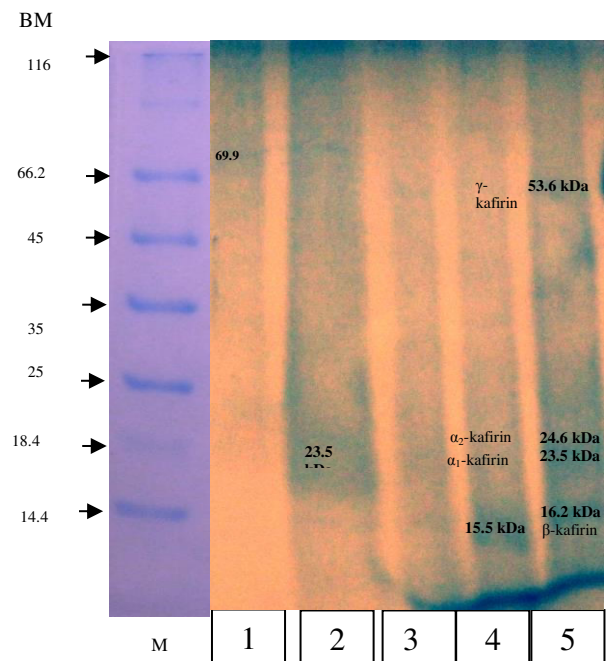
Pada penelitian ini digunakan tujuh protein standar yang telah diketahui berat molekulnya (BM), yaitu *β-galactosidase*, BSA, ovalbumin, *lactate dehydrogenase*, Rease Bsp981, *β-lactoglobulin* dan lisozim. BM masing-masing marker protein ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Jarak migrasi dari marker beserta nilai rf dan berat molekul dari masing-masing pita.

Jenis protein marker	Jarak marker (cm)	Rf marker	BM marker (kDa)	Log BM
B-galactosidas	0,2	0,03	116	2,06
BSA	1,2	0,20	66,2	1,82
Ovalbumin	2,0	0,33	45	1,65
Lactate dehydrogenase	2,7	0,45	35	1,54
Rease Bsp981	3,5	0,58	25	1,40
B-lactoglobulin	4,0	0,67	18,4	1,26
Lysozyme	4,5	0,75	14,4	1,16

Elektroforesis menghasilkan pita-pita pola elektroforesis (Gambar 1.), sedangkan jarak migrasi pita fraksi protein tepung sorgum dapat dilihat pada Tabel 4. Dari kurva standar BM protein maka didapat BM masing-masing pita pada kafirin 1 adalah 22,4 kDa dan 23,5 kDa, kafirin 2 adalah 16,2 kDa, 23,5 kDa, 24,6 kDa dan 53,6 kDa sedangkan BM albumin, globulin

dan glutelin adalah 69,9 kDa, 121 kDa dan 15,5 kDa.



Keterangan :

M: Marker protein; 1: Albumin; 2: Kafirin 1
3: Globulin; 4: Glutelin; 5: Kafirin 2

Gambar 1. Pola SDS-PAGE fraksi protein tepung sorgum galur Zh-30

Tabel 4. Jarak migrasi pita fraksi protein tepung sorgum galur Zh-30

Fraksi Protein	Jarak Sampel (cm)	Rf sampel	Log BM sampel (kDa)	BM sampel (kDa)
Albumin	1,2	0,20	1,84	69,9
Kafirin 1	3,5	0,58	1,37	23,5
	3,6	0,60	1,35	22,4
Globulin	0	0,00	2,08	121
Glutelin	4,4	0,73	1,19	15,5
Kafirin 2	1,7	0,28	1,73	53,6
	3,4	0,57	1,39	24,6
	3,5	0,58	1,37	23,5
	4,3	0,72	1,21	16,2

Hasil elektroforesis globulin tidak menghasilkan pita yang jelas, karena BM globulin mungkin terlalu besar sehingga tidak dapat masuk dalam gel. Rooney dan Saldivar (2000) menyatakan bahwa protein sorgum sebagian besar berupa kafirin (protein larut alkohol) dan glutelin. Glutelin merupakan fraksi protein kedua terbesar dari protein sorgum. Wall *et al.*, (1988) menyatakan bahwa glutelin merupakan fraksi protein dengan *low molecular weight* yaitu 10 kDa - 27 kDa.

Penggunaan bahan reduktan β -merkaptotanol dalam ekstraksi kafirin 2 untuk mengurangi ikatan disulfida sehingga kafirin 2 atau *cross-linked* kafirin dapat terekstrak dengan baik. Hal ini berdasarkan penelitian Shewry dan Halford, (2000) yang menyebutkan bahwa kafirin 2 lebih bersifat hidrofobik sehingga lebih baik jika diekstraksi dengan larutan alkohol yang mengandung bahan reduktan seperti ditionitritol atau β -merkaptotanol.

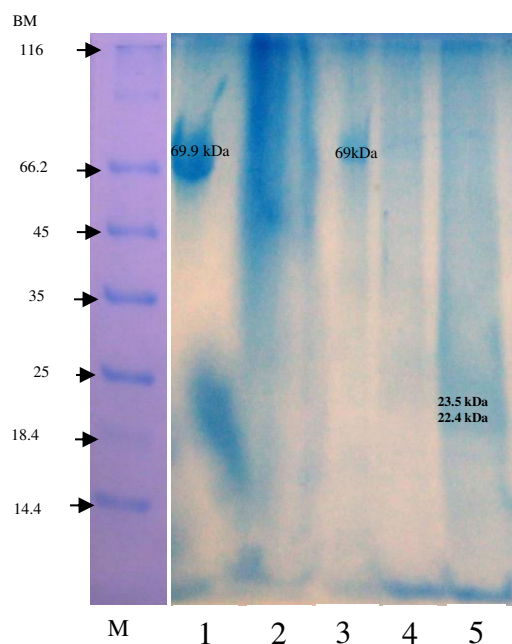
Berdasarkan data BM tersebut, maka terdapat tiga tipe kafirin pada protein tepung sorgum galur Zh-30 yaitu α -kafirin, β -kafirin dan γ -kafirin. Menurut Musigakun dan Thongngam (2007) menyebutkan bahwa α -kafirin mempunyai BM antara 20 kDa – 24 kDa, β -kafirin mempunyai BM antara 14 kDa – 19 kDa sedangkan γ -kafirin

mempunyai BM sekitar 36 kDa. Demikian juga Nour *et al.*, (1997) menyebutkan bahwa α -kafirin umumnya mempunyai 2 sub-unit polipeptida yang disebut sebagai α_1 -kafirin dan α_2 -kafirin dengan BM sekitar 24 kDa – 26,6 kDa, β -kafirin mempunyai BM sekitar 18 kDa sedangkan γ -kafirin mempunyai BM dari 29 kDa.

Hasil penelitian menunjukkan kafirin 1 (jalur 2, Gambar 1) menghasilkan 2 pita. Pita pertama merupakan α_1 -kafirin dengan BM 22,4 kDa dan pita kedua merupakan α_2 -kafirin 23,5 kDa. Kafirin 2 (Jalur 5, Gambar 1) menghasilkan 4 pita. Pita pertama merupakan β -kafirin dengan BM 16,2 kDa dan pita keempat merupakan γ -kafirin dengan BM 53,6 kDa. Pita kedua dan ketiga merupakan α_1 dan α_2 -kafirin dengan BM 23,5 kDa dan 24,6 kDa. Hasil ekstraksi ini tidak terlalu berbeda dengan yang dilaporkan sebelumnya oleh Nour *et al.*, (1997) dimana penggunaan bahan reduktan seperti β -merkaptotanol akan membuat β -kafirin dan γ -kafirin lebih banyak terekstrak sehingga akan membentuk pola pita elektroforesis yang lebih jelas dibandingkan jika hanya diekstraksi dengan 60% t-butanol. Hal ini juga mengindikasikan bahwa kafirin 2 merupakan polipeptida dengan ikatan intermolekul disulfida (-S-S).

Berat Molekul Jejaring Protein Hasil Reaksi Fraksi Protein Tepung Sorgum dengan Glukosa-Oksidase.

Dari analisis data ternyata diketahui bahwa berat molekul albumin, globulin dan glutelin adalah 69,9 kDa, 121 kDa dan 15,5 kDa. Hasil elektroforesis fraksi protein tepung sorgum yang diberi 2 U/ml glukosa-oksidadase dapat dilihat pada Gambar 2



Keterangan :

M : marker protein; (1) albumin + GOX; (2) kafirin 2 + GOX; (3) glutelin + GOX; (4) globulin + GOX; (5) kafirin 1 + GOX

Gambar 2. Hasil SDS-PAGE fraksi protein tepung sorgum galur Zh-30 dengan GOX

Dari pola pita elektroforesis ternyata pada albumin dan kafirin 2 (jalur 1 dan jalur 5, Gambar 2) tidak terdapat perubahan berat molekul, pada globulin dan kafirin 2 (jalur 2 dan 4, Gambar 2) tidak terdapat pola pita

elektroforesis, namun pada glutelin (jalur 3, Gambar 2) ada pola pita elektroforesis yang menunjukkan kenaikan berat molekul yang cukup besar yaitu dari 15,5 kDa menjadi sekitar 69 kDa. Hal ini mengindikasikan bahwa glutelin menjadi substrat bagi glukosa-oksidadase, sehingga reaksi ikatan silang dapat terbentuk, namun menurut Rasiah *et al.*, (2009) pembentukan ikatan silang pada fraksi glutelin tidak diketahui dengan pasti.

KESIMPULAN

Protein tepung sorgum galur Zh-30 terdiri dari 5 golongan protein yaitu albumin, globulin, kafirin 1, glutelin dan kafirin 2 dengan rasio 11:11:42:7:29

Kadar protein kafirin 1 36,01%, kafirin 2 atau *cross-linked* kafirin 24,79%; glutelin 22,15% ; globulin 12,81% dan albumin 4,24% dari total protein.

Berat molekul fraksi-fraksi protein tepung sorgum galur Zh-30 adalah BM albumin 69,9 kDa; kafirin 1 yang terbagi menjadi α_1 -kafirin 22,4 kDa dan α_2 -kafirin 23,5kDa; globulin 121 kDa; glutelin 15,5 kDa dan kafirin 2 yang terbagi menjadi α_1 -kafirin 16,2 kDa, α_2 -kafirin 23,5 kDa, β -kafirin 24,6 kDa dan γ -kafirin 53,6 kDa.

Terbentuk jejaring protein akibat aktivitas glukosa-oksidadase dengan fraksi glutelin sorgum (berat molekul 69 kDa dari 15,5 kDa).

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. 1975. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. AOAC Inc., Washington, Washington, D.C
- Bugusu, B. A., Campanella, O and Hamaker, B. R. 2001. Improvement of sorghum-wheat composite dough rheological properties and breadmaking quality through zein addition. *J. Cereal Chemistry* 78 (1):31-35.
- FAO. 1995. Sorghum and Millet in Human Nutrition. Available at: <http://www.fao.org> (diakses 7 Agustus 2016).
- Frederick, E.J. 2009. Effect of sorghum flour composition and particle size on quality of gluten - free bread. Manhattan, Kansas: Kansas State University, Master of Science. Thesis.
- Goesaert, H., Brijs, K., Veraverbeke, W.S., Courtin, C.M., Gebruers, K and Delcour, J.A. 2005. Wheat flour constituents : How they impact bread quality and how to impact their functionality. *Trends In Food Science and Technology* 16:12-30.
- Joye, I. J., Lagrain, B and Delcour, J. A. 2009. Use of chemical redox agents and exogenous enzymes to modify the protein network during breadmaking-a-review. *J. Cereal Science* 50:11-21.
- Kebakile, M. M. 2008. Sorghum dry milling processes and their influence on meal and porridge quality. Pretoria, Republic of South Africa : Finally report : Department of Food Science, Faculty of Natural and Agriculture Science, University of Pretoria.
- Mudjisihono dan Suprpto, H. S. 1987. Budidaya dan pengolahan sorgum. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Musigakun, P. dan Thongngam, M. 2007. Characteristics and functional properties of sorghum protein (kafirin). *J. Kasetart* 41: 313-318.
- Nour, I. N. A., Peruffo, El. A. D. B and Curioni, A. 1998. Characterisation of sorghum kafirins in relation to their cross-linking behaviour. *J. Cereal Science* 28:197-207.
- Oria, M.P., Hamaker, B. R., Axtell, J. D., and Huang, C. P. 2000. A highly digestible sorghum mutant cultivar exhibits a unique folded structure of endosperm protein bodies. Department of Food Science Purdue University, West Lafayette, IN 47907-1160. Available at www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.080076297 (diakses Januari 2010).
- Rasiah, I. A., Sutton, K. H., Low, F. L., Lin, H.M and Gerrard, J.A. 2005. Crosslinking of wheat dough proteins by glucose oxidase and the resulting effects on bread and croissants. *J. Food Chemistry* 89:325-332.
- Renzetti, S., Behr, J., Vogel, R. F and Arendt, E. K. 2008. Transglutaminase polymerization of buckwheat (*Fagopyrum esculentum Moench*) protein. *J. Cereal Science* 48:747-754.

- Rooney, L. W. and Saldivar, S. 2000. Sorghum. Dalam Handbook of Cereal science and technology. Kulp, K. and J. G. Ponte (editor). New York: Marcel Dekker, Inc.
- Santosa, D. D. S. and Hoeman S. 2009. Modified starch of sorghum mutant line Zh-30 for high fiber muffin products. J. Atom Indonesia 35 (1):1-9.
- Sewry, P. R. and Halford, N. G. 2000. The prolamine storage proteins of sorghum and millets. Bristol UK: Long Ashton Reseach Pub.
- Shull, J. M., Watterson, J. J. and Kirleis, A.W. 1991. Proposed nomenclature for the alcohol-soluble protein (kafirins) of *Sorghum bicolor* (L.) *Moench* based on molecular weight, solubility and structure. J. Agriculture Food Chemistry 39: 83-87.
- Singh, N., Kaur, L and Singh, S. K. 2006. Relationships between physical, morphological, thermal, rheological properties of rice starches. Food Hydrocolloids 20:532-542.
- Suarni. 2004. Pemanfaatan tepung sorgum untuk produk olahan. J. Litbang Pertanian 23(4):145-151.
- Sultan, W. J. 1986. Practical Baking. New York: Van Nostrand Reinhold Pub.
- Wall, J.S., Cooker, L. A and Bietz, J. A. 1988. Structure and origin of maize endosperm alcohol-insoluble glutelin. J. Agriculture and Food Chemistry 36(4):722-728.