

## FRAKSIONASI DAN PENENTUAN PROFIL PROTEIN BUNGKIL KELAPA DENGAN SDS-PAGE

[Fractionation and Profiling of Copra Meal's Protein by Using SDS-PAGE]

Agus Danang Wibowo<sup>1)</sup>, Maggy T. Suhartono<sup>1)\*</sup>, dan Patuan L. P. Siagian<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor

<sup>2)</sup>Pusat Penelitian Kimia-LIPI, PUSPITEK, Tangerang Selatan

Diterima 19 Juli 2010 / Disetujui 30 April 2012

### ABSTRACT

The aim of this research was to extract proteins from the copra meal, base on their solubility and analysis of the protein profiles by Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS PAGE) This research was conducted in two stages, protein fractionation and molecular weight estimation using SDS PAGE. The fractionation was conducted by non-enzymatic treatment and enzymatic (mannanase) treatment. Kjeldahl analysis showed that the protein content of copra meal was 18.52% of dry basis. Protein fractionation could separate the copra meal's proteins based on their solubility. Albumin was solubilized by water, globulin by NaCl 5%, glutelin by NaOH 0.02M, and prolamin by ethanol 70%. Fractionation using non-enzymatic treatment resulted in 64% of albumin, 39.25% of globulin, 15.27% of glutelin, and 38.84% of prolamin fractions. On the other hand, fractionation using enzymatic treatment resulted different protein profile, giving 28.17%, 39.44%, 10.91%, and 21.48% of the respective proteins. Characterization using SDS PAGE showed that the protein profile from the non-enzymatic was different from that of the enzymatic treatment. In conclusion, we found that the proteins extracted from the copra meal with and without mannanase showed variation in the range of molecular weights: 45.1-66,0 kDa and 66.1-97.4 kDa, respectively.

**Key words:** copra meal, fractionation, mannanase, proteins, SDS-PAGE

### PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu pusat penghasil kelapa di dunia. Berdasarkan data dari FAO (2009), nilai produksi kelapa Indonesia berada pada peringkat pertama. Perkebunan kelapa di Indonesia merupakan yang terluas di dunia dengan pangsa 31,2% dari total luas areal kelapa dunia. Peringkat kedua diduduki Filipina (pangsa 25,8%), disusul India (pangsa 16,0%), Sri Lanka (pangsa 3,7%) dan Thailand (pangsa 3,1%). Jumlah produksi kelapa di Indonesia setiap tahunnya cenderung mengalami peningkatan. Pada tahun 2007, jumlah produksi kelapa di Indonesia mencapai 19.625.000 ton (FAO, 2009).

Pada umumnya buah kelapa yang dihasilkan di Indonesia sebagian besar diolah menjadi kopra, dan digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan minyak kelapa (Siagian, 2009). Proses ekstraksi minyak kelapa dari kopra akan menghasilkan residu yang disebut sebagai bungkil kelapa (*copra meal*) yang masih mengandung komponen serat seperti *mannan*, *galactomannan*, *xilan*, dan *arabinoxilan*. Pemanfaatan protein dari bungkil kelapa belum optimal. Bungkil kelapa dapat menjadi sumber *ingredient* potensial pada industri pangan atau ternak apabila diolah lebih lanjut. Salah satu potensi bungkil kelapa adalah kandungan proteinnya yang relatif tinggi yaitu berkisar 18% (Miskiyah *et al.*, 2006).

Kelarutan protein merupakan salah satu atribut fungsional kritis yang dibutuhkan agar dapat berfungsi sebagai bahan pangan. Sifat kelarutan memiliki pengaruh yang besar terhadap sifat-sifat fungsionalnya, seperti pengikat air dan minyak,

emulsifikasi, gelasi, viskositas dan pembentuk busa (Ragab *et al.*, 2004). Berdasarkan karakteristik kelarutannya, protein yang terdapat pada tanaman seperti beras, gandum, kacang-kacangan, dan biji-bijian dapat digolongkan sebagai kelompok albumin, globulin, prolamin, dan glutelin (Sikorski, 1992). Proses ekstraksi protein dari bungkil diperlukan sebelum mempelajari karakteristik protein tersebut. Informasi dasar yang diperoleh bermanfaat untuk memanfaatkan protein bungkil kelapa sebagai *ingredient* bagi industri pangan. Tujuan penelitian ini adalah melakukan fraksinasi protein bungkil kelapa berdasarkan kelarutannya dan analisis profil protein yang diperoleh dengan SDS PAGE. Informasi yang diperoleh dapat menjadi data dasar bagi pengembangan ekstraksi dan produksi protein spesifik dari bungkil kelapa.

### METODOLOGI

#### Bahan dan alat

Bahan kimia untuk ekstraksi dan analisis protein yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Sigma dan Merck melalui perwakilan di Bogor. Untuk SDS PAGE dipergunakan elektroforesis untuk protein dari BIORAD (California, USA).

#### Penyiapan sampel

Sampel bungkil kelapa yang digunakan diperoleh dari Pusat Penelitian Kimia LIPI yang didapatkan dari Jambi. Sebelum protein diekstraksi, bungkil kelapa dihilangkan terlebih dahulu kandungan lemaknya dengan metoda *soxhlet* dengan menggunakan heksana (25 L/5 kg, 5 sirkulasi). Bungkil kelapa yang telah dihilangkan lemaknya (*defatted copra meal*/DCM) di-

\*Korespondensi Penulis :  
Email : mthenawidjaja@yahoo.com

blender kering untuk memperkecil ukuran partikel bungkil kelapa sehingga mempermudah proses ekstraksi protein.

### Analisis proksimat

Analisis proksimat dilakukan menggunakan metode AOAC (1995) untuk menentukan kadar air, kadar abu, kadar lemak kasar, kadar protein kasar, kadar serat kasar, dan kadar Bungkil Ekstrak Total Nitrogen (BETN).

### Fraksinasi protein metode non-enzimatis (modifikasi Adebityi et al., 2009)

Fraksinasi protein dilakukan pada suhu ruang dengan menggunakan *shaker* berkecepatan 250 rpm. Bungkil kelapa yang telah dihilangkan kadar lemaknya DCM diekstraksi dengan air destilata menggunakan *shaker* selama 1 jam. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 4000 g selama 15 menit pada suhu 4°C. Supernatan yang didapatkan merupakan fraksi kasar albumin (ALB). Tahap tersebut diulangi kembali.

Residu hasil fraksinasi albumin kemudian diekstraksi menggunakan larutan NaCl encer menggunakan *shaker* selama 1 jam, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4000 g selama 15 menit pada suhu 4°C. Supernatan yang didapatkan merupakan fraksi kasar globulin (GLB). Tahap tersebut diulangi kembali.

Untuk mendapatkan fraksi kasar glutelin (GLT), residu hasil fraksinasi globulin diekstrak dengan menggunakan larutan basa encer NaOH. Fraksi prolamin (PRO) didapatkan dengan mengekstrak residu hasil fraksinasi kasar glutelin menggunakan larutan etanol 70%. Metode fraksinasi yang digunakan mengacu pada metode fraksinasi sebelumnya.

Setiap ekstrak kasar protein disentrifugasi dengan kecepatan 4000 g selama 15 menit pada suhu 4°C. Supernatan kemudian disaring menggunakan *glass wool*. Fraksi albumin, globulin, dan glutelin kemudian diatur pH-nya hingga mencapai pH isoelektriknya, yaitu 4,1; 4,3; dan 4,8. Fraksi selanjutnya diistirahatkan kemudian disentrifugasi pada kecepatan 4000 g selama 15 menit pada suhu 4°C. Residu yang diperoleh dicuci menggunakan air destilata dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan yang sama. Pencucian dilakukan sebanyak dua kali. Residu kemudian dilarutkan dalam buffer fosfat untuk dianalisis lebih lanjut. Berbeda dengan fraksi protein yang lainnya, fraksi protein prolamin diendapkan dengan menambahkan sejumlah aseton secara bertahap, sebanyak 3 tahap.

### Fraksinasi protein dengan aplikasi enzim (modifikasi Adebityi et al., 2009)

Sebelum tahapan fraksinasi dilakukan, terlebih dahulu bungkil kelapa diberi tambahan enzim mannanase. Enzim mannanase yang digunakan memiliki konsentrasi 1% dalam buffer asetat (0,5 M, pH 5,3). Waktu inkubasi yang digunakan adalah berdasarkan hasil analisis waktu inkubasi yang paling optimum pada (percobaan sebelumnya *un published data*).

Bungkil kelapa yang sudah menjadi DCM ditambah enzim mannanasedan diinkubasi pada kondisi optimumnya. Sentrifugasi dilakukan setelah tahapan inkubasi selesai dilakukan. Supernatan dipisahkan dan ekstraksi dilakukan pada pelet mengikuti metode sebelumnya.

Untuk memperoleh protein dengan konsentrasi tinggi terlebih dulu di buat percobaan berikut. Sampel dicampur dengan larutan enzim mannanase dalam buffer asetat (0,5 M, pH 5,3), selanjutnya campuran diinkubasi pada suhu 30°C. Lama inkubasi diragamkan menjadi 0; 0,5; 1; 1,5; dan 2 jam dengan kecepatan agitasi sebesar 125 rpm. Campuran kemudian disentrifugasi pada kecepatan 4000 g selama 10 menit pada suhu 4°C. Pelet kemudian dicampur dengan buffer fosfat dan divorteks dengan kuat untuk mendapatkan protein total. Sentrifugasi kembali dilakukan, lalu supernatan yang didapatkan diukur konsentrasinya dengan menggunakan metode Bradford. Hidrolisis yang paling optimum akan menghasilkan konsentrasi protein paling tinggi.

### Analisis kadar protein (Bollag dan Edelstein, 1991)

Sebanyak 10 µL sampel larutan protein diencerkan dengan menggunakan buffer fosfat (0,2 M, pH 7,0) hingga volume 100 µL kemudian ditambah dengan reagen Bradford. Larutan dihomogenkan dan diistirahatkan selama 5 menit. Pengukuran dilakukan dengan spektrofotometer pada  $\lambda=595$  nm.

Kurva standar dibuat dengan memipet sebanyak 5, 10, 15, 20, dan 25 µL larutan BSA (*bovine serum albumine*). Blanko yang digunakan adalah air destilata.

### Penentuan profil protein dengan menggunakan SDS-PAGE (Bollag dan Edelstein, 1991)

Gel yang digunakan untuk elektroforesis terdiri atas gel penahan (*stacking gel*) dengan konsentrasi 4% dan gel pemisah (*separating gel*) dengan konsentrasi 12,5%. Sebelum elektroforesis, sampel protein didenaturasi menggunakan SDS dan merkaptoetano disertai dengan pemanasan. Pembebanan sampel dilakukan pada konsentrasi protein yang sama untuk setiap fraksi protein. Jumlah volume maksimum sampel protein untuk pembebanan adalah 25 µL. Elektroforesis dilakukan pada tegangan 100 Volt dan arus listrik 80 mA selama 2,5 jam. Setelah selesai, gel diwarnai dengan menggunakan pewarnaan perak ( $\text{AgNO}_3$ ).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Komposisi kimia organik kelapa

Bungkil kelapa yang digunakan telah mengalami ekstraksi lemak menggunakan heksana untuk menghilangkan sisa-sisa kandungan minyak yang masih terdapat dalam bungkil. Meskipun merupakan hasil samping dari industri minyak kelapa, bungkil kelapa memiliki kandungan protein yang cukup tinggi, sekitar 18% (Miskiyah et al., 2006). Analisis ini bertujuan untuk mendapatkan data dasar komposisi kimia dari sampel bungkil yang digunakan.

Komposisi kimia dari bungkil kelapa yang digunakan dalam penelitian ini, dibandingkan dengan Standar Nasional Indonesia (1992), dapat dilihat pada Tabel 1. Ditunjukkan bahwa dalam 100 g bungkil kelapa diperoleh protein sebesar 18,52 g. Jumlah tersebut tidak jauh berbeda dengan kandungan protein yang dipersyaratkan oleh SNI (1992) ataupun yang telah disebutkan oleh Miskiyah et al. (2006). Hal tersebut menunjukkan bahwa sampel bungkil kelapa yang digunakan masih memiliki potensi

yang baik untuk dianalisis dan dikarakterisasi lebih lanjut sehingga nantinya dapat digunakan untuk membantu diversifikasi sumber protein asal tanaman, baik untuk pakan maupun bahan pangan.

Dapat dilihat pula pada Tabel 1 bahwa hasil analisis kadar serat kasar bungkil kelapa memiliki nilai yang jauh lebih besar dibandingkan nilai yang dipersyaratkan oleh SNI (1992). Adanya peningkatan kadar serat kasar kemungkinan disebabkan adanya perlakuan fisik/kimia (pengeringan dan ekstraksi lemak) yang dilakukan selama preparasi sampel bungkil kelapa. Adanya perlakuan fisik/kimia dapat menyebabkan perubahan struktur atau jaringan kopra sehingga bungkil kelapa mengandung kadar serat kasar relatif lebih tinggi. Lemak yang terlarut menyisakan ruang atau pori pada bungkil yang memungkinkan interaksi jalinan senyawa disekitarnya membentuk jaringan tidak larut yang terukur sebagai serat kasar. Hasil analisis menunjukkan bahwa sampel bungkil kelapa yang digunakan memerlukan tahapan proses preparasi bahan baku agar dapat dikategorikan sebagai bungkil kelapa kelas I maupun kelas II, misalnya pengayakan untuk memisahkan batok dan pengotor lainnya.

Tabel 1. Komposisi kimia sampel bungkil kelapa dibandingkan dengan SNI

Komponen	SNI		Hasil Analisis
	Kualitas I	Kualitas II	
Air (%)	Maks. 12	Maks. 12	10,32
Abu (%)	Maks. 7	Maks. 9	8,21
Protein (%)	Min. 18	Min. 16	18,52
Lemak (%)	Maks. 12	Maks. 15	2,25
Serat kasar (%)	Maks. 14	Maks. 16	23,96
BETN (%)	37	32	36,74

Pada penelitian ini, enzim yang digunakan adalah ekstrak kasar enzim mannanase. Enzim ini didapatkan dari Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, yang dihasilkan melalui proses fermentasi bungkil kelapa menggunakan kapang *Aspergillus niger* dan *Trichoderma sp.* Berhubung merupakan ekstrak kasar, selain enzim mannanase yang terkandung didalamnya, ekstrak kasar ini juga mengandung enzim xilanase dan selulase.

Endo-β-1,4-mannanase (EC3,2,1,78) merupakan enzim yang penting dalam depolimerisasi mannanase (yang tidak memiliki cabang), galaktomannan, dan galakto-glukomannan. Enzim ini mengkatalis hidrolisis ikatan β-1,4-mannosidik pada rantai utama polimer mannan secara acak. Dilaporkan bahwa enzim ini memiliki pH optimum antara asam sampai netral, berberat molekul antara 33–80 kD, dan memiliki suhu optimum antara mesofilik sampai termofilik moderat (Mudau, 2006). Berdasarkan hasil percobaan penapisan awal enzim mannanase diperoleh waktu optimum inkubasi campuran substrat dan enzim untuk menghasilkan protein total tertinggi adalah 1,5 jam.

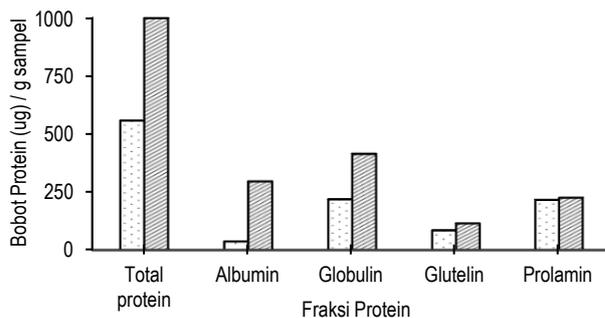
**Fraaksi-fraaksi protein**

Fraksionasi protein merupakan tahapan yang dilakukan untuk memisahkan jenis-jenis protein berdasarkan beberapa karakteristik kimianya, yaitu kelarutan, pH, struktur molekul,

maupun berat molekulnya (Winarno, 1992). Dalam penelitian ini, dilakukan fraksionasi protein berdasarkan kelarutannya.

Dari hasil fraksionasi tersebut diperoleh empat kelompok protein, yakni albumin, globulin, glutelin dan prolamin. Hasil percobaan menunjukkan bahwa metode fraksionasi enzimatis menghasilkan kadar total protein yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode fraksionasi non-enzimatis. Total protein merupakan hasil penjumlahan bobot setiap fraksi. Secara keseluruhan, fraksionasi metode enzimatis mampu meningkatkan kadar fraksi-fraksi protein dibandingkan dengan metoda non enzimatis. Peningkatan tersebut diakibatkan oleh hidrolisis struktur glukomanno protein. Struktur ini awalnya mengikat protein sehingga menjadi tidak terlarut dan tidak dapat dimanfaatkan secara biologis. Namun, setelah ditambah enzim, struktur tersebut menjadi terdegradasi. Ikatan antara mannan dan protein terlepas sehingga protein menjadi lebih terlarut dan dapat dimanfaatkan secara optimal.

Sebagai pembandingan, Dairo dan Fasuyi (2008) menyebutkan bahwa proses fermentasi bungkil kelapa menggunakan kapang penghasil mannanase mampu meningkatkan total protein kasar (dari 19,63% menjadi 23,11%). Hasil fraksinasi protein bungkil kelapa dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Bobot beberapa fraksi protein hasil fraksinasi dengan tautan penambahan enzim

Globulin merupakan fraksi protein yang paling banyak diperoleh dari hasil fraksionasi, baik pada metode non-enzimatis maupun metode enzimatis (39%) dan (30%). Menurut Siu-Mei dan Ching-Yung (2006), pada tanaman kacang-kacangan, globulin merupakan protein simpanan (*storage protein*) dan ditemukan dalam jumlah yang paling besar. Hal ini mengindikasikan bahwa kandungan protein bungkil kelapa kemungkinan besar mirip dengan tanaman kacang-kacangan.

Albumin merupakan protein larut air yang umumnya banyak ditemui pada hewan, seperti albumin telur, serum albumin, dan laktalbumin (Sikorski, 1992). Pada bungkil kelapa, mannanase mengikat protein, seperti albumin, sehingga menjadi tidak larut dalam air. Setelah perlakuan enzimatis, albumin yang terikat pada mannan menjadi terlepas sehingga larut kembali dalam dan jumlahnya meningkat 4 kali lipat.

Glutelin banyak ditemukan pada gandum dalam bentuk gluten. Bungkil kelapa memiliki kandungan glutelin yang paling rendah dibandingkan fraksi protein yang lain, setelah mengalami tahapan enzimatis. Hal tersebut ditunjukkan dengan bobot fraksi glutelin hasil percobaan, yakni sebanyak 85,19 µg (15%) menggunakan metode non-enzimatis dan sebanyak

yaitu 114,81 µg (10%) menggunakan metode enzimatis. Dibandingkan dengan bobot protein total dari masing-masing metode fraksinasi, perlakuan enzimatis justru menurunkan persentase kandungan glutelin.

Hal yang serupa juga ditemukan pada fraksi protein prolamin. Bobot prolamin secara berturut-turut dengan menggunakan metode non-enzimatis dan enzimatis adalah 216,67 µg (38%) dan 225,93 µg (21%). Prolamin banyak ditemukan sebagai protein simpanan (*storage protein*) pada tanaman sereal (Lie-Fen *et al.*, 1994). Namun, berdasarkan hasil percobaan, prolamin bukan merupakan protein yang banyak ditemui pada bungkil kelapa.

Berdasarkan uji statistik, yakni uji *T-test*, diketahui bahwa penambahan enzim berpengaruh signifikan pada perubahan bobot fraksi protein albumin, globulin, dan glutelin dari hasil fraksinasi dari bungkil kelapa secara keseluruhan. Namun, metode enzimatis tidak memiliki pengaruh yang nyata terhadap perubahan fraksi protein prolamin dari hasil fraksinasi bungkil kelapa. Jika dibandingkan dengan kadar protein kasar hasil analisis Kjeldahl, kandungan protein terlarut yang terdapat dalam bungkil kelapa sangatlah kecil. Dari 1 g bungkil kelapa hanya didapatkan jumlah total protein sebesar (0,001 g) dari 3,70 g protein kasar hasil analisis Kjeldahl. Hasil ini menunjukkan bahwa masih banyak protein yang masih terikat dengan komponen serat pada bungkil kelapa. Dinding sel tanaman umumnya tersusun atas selulase, lignin, dan hemiselulosa. Hemiselulosa tersusun atas mannan dan xilan (Mudau, 2006). Komponen-komponen ini juga terdapat pada bungkil kelapa. Oleh karena itu, proses penghilangan komponen-komponen tersebut secara total perlu ditingkatkan sehingga mampu memudahkan proses ekstraksi protein.

**Profil protein dengan menggunakan SDS-PAGE**

Metode analisis elektroforesis protein merupakan metode analisis yang memisahkan molekul protein berdasarkan bobot molekulnya (Bollag dan Edelstein, 1991). Metode terbaik dalam pemurnian protein dengan teknik elektroforesis adalah dengan bahan gel poliakrilamida. Analisis profil fraksi-fraksi protein bungkil kelapa, baik menggunakan metode non-enzimatis maupun metode enzimatis, dilakukan dengan menggunakan SDS-PAGE.

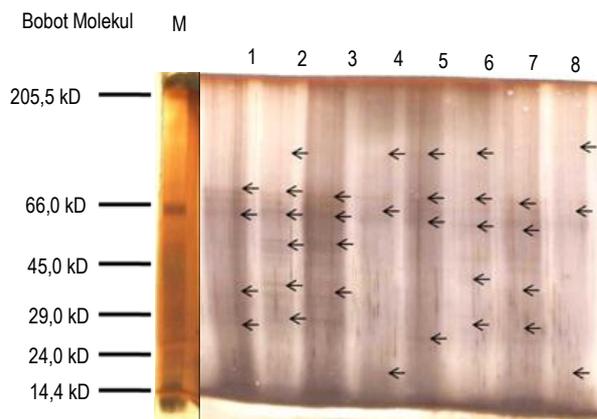
SDS-PAGE memisahkan molekul-molekul protein berdasarkan ukurandan bentuk partikelnya (Pomeranz dan Meloan, 1994). Gel ini dapat dibuat dengan ukuran pori yang beragam yang ditentukan berdasarkan jumlah total senyawa akrilamida yang ditambahkan (konsentrasi gel). Ukuran pori gel akan semakin kecil seiring dengan meningkatnya konsentrasi gel sehingga hanya dapat dilewati oleh molekul protein yang memiliki bobot molekul kecil.

Protein penanda digunakan untuk mengidentifikasi bobot molekul setiap pita dari fraksi protein. Penanda protein yang digunakan adalah *alpha-lactalbumine* (14,4 kD), *trypsinogen from bovine pancreas* (24,0 kD), *carbonic anhydrase from bovine erythrocytes* (29,0 kD), *albumin from chicken egg white* (45,0 kD), *BSA* (66,0 kD), dan *myosin from porcine muscle* (205,0 kD). Kurva standar yang dihasilkan dari protein penandaini memiliki persamaan linear  $Y = 2.278 - 1.158 X$  ( $R^2=98.60\%$ ), dengan *Y* adalah *log bobot molekul (BM)* dan *X*

adalah *Rf* (nisbah antara panjang pita dari titik awal elektroforesis dengan jarak titik awal dan titik akhir elektroforesis). Ukuran bobot molekul suatu protein ini berguna dalam melakukan pemetaan protein (*profiling protein*).

Pewarnaan gel yang digunakan dalam penelitian ini adalah pewarnaan menggunakan metode pewarnaan perak. Semakin tinggi konsentrasi protein suatu sampel yang dielektroforesis, pita yang dihasilkan akan tampak jelas dan tebal. Namun, apabila konsentrasi protein suatu protein rendah, pita yang dihasilkan akan tampak tipis. Oleh karena itu, pembebanan sampel fraksi protein bungkil kelapa dilakukan dalam konsentrasi yang sama, tetapi dalam volume yang berbeda. Hal tersebut dilakukan agar dalam waktu yang sama, pita yang diwarnai akan memiliki intensitas warna yang sama.

Hasil SDS-PAGE fraksi protein bungkil kelapa dapat dilihat pada Gambar 2. Dari hasil SDS-PAGE, tampak bahwa fraksinasi non-enzimatis protein memunculkan pita-pita protein yang lebih jelas pada semua fraksi protein dibandingkan dengan pita-pita protein hasil fraksinasi enzimatis. Kemungkinan yang terjadi adalah di dalam ekstrak kasar enzim mannanase terkandung enzim protease internal yang dihasilkan oleh mikroba yang memfermentasi bungkil kelapa selama proses produksi enzim, sehingga sebagian protein yang terbebaskan menjadi terhidrolisis menjadi peptida-peptida yang berukuran kecil. Selain itu, mungkin terdapat senyawa lain sebagai hasil fermentasi.



Keterangan: 1–4: albumin, globulin, glutelin, dan prolamin (non-enzimatis); 5–8: albumin, globulin, glutelin, dan prolamin (enzimatis)

Gambar 2. Hasil SDS-PAGE fraksi-fraksi protein bungkil kelapa

Tabel 2 menunjukkan perbandingan kisaran bobot molekul fraksi-fraksi protein, sebelum menggunakan enzim dan sesudah menggunakan enzim, hasil karakterisasi dengan SDS-PAGE. Karakterisasi menggunakan kisaran bobot molekul dilakukan karena pita-pita yang dihasilkan dari hasil SDS-PAGE beragam dan saling berdekatan. Pita-pita protein yang saling berdekatan (*doublet*) mengindikasikan bahwa protein tersebut memiliki kesamaan jumlah asam-asam amino, namun salah satu diantaranya memiliki ekstra residu asam amino sehingga menyebabkan posisi pitanya sedikit berbeda (Laemml, 1970).

Profil albumin dengan metode non-enzimatis berbeda dengan profil albumin dengan metode enzimatis. Pada metode non-enzimatis, albumin memiliki 4 ragam kisaran bobot molekul,

yakni 24,1-29,0 kD; 29,1-45,0 kD; 45,1-66,0 kD; dan 66,1-97,4 kD. Pada metode enzimatik, albumin juga memiliki 4 ragam kisaran bobot molekul, namun kisaran 29,1-45,0 kD tidak muncul, sebaliknya muncul kisaran baru, yakni 97,5-205,0 kD. Pedroche *et al.* (2005) menyebutkan bahwa *chickpea* memiliki protein albumin yang berukuran 44,0 dan 46,4 kD. Sementara itu Singh *et al.* (2001) menyebutkan bahwa albumin pada gandum memiliki bobot molekul 54,0-60,0; 62,0; dan 64,0 kD. Hasil tersebut menunjukkan adanya kesamaan dengan kisaran bobot molekul albumin hasil percobaan. Kemungkinan penambahan enzim menyebabkan sebagian protein yang ada berikatan silang menjadi enzim dengan bobot molekul lebih besar.

Hal yang serupa terjadi pada fraksi protein globulin. Dengan metode non-enzimatik, globulin memiliki 6 ragam kisaran bobot molekul, yakni 14,4-24,0 kD; 24,1-29,0 kD; 29,1-45,0 kD; 45,1-66,0 kD; 66,1-97,4 kD; dan 97,5-205,0 kD. Pada metode non-enzimatik, kisaran bobot molekul 97,5-205,0 kD merupakan kisaran bobot molekul yang hanya dimiliki oleh protein globulin yang membedakan dengan jenis-jenis protein lainnya. Dengan metode enzimatik, globulin kehilangan satu ragam kisaran bobot molekul, yakni 14,4-24,0 kD. Kemungkinan ekstrak kasar enzim yang digunakan memiliki protease yang menghidrolisis fraksi 14,4-24,0 kD pada fraksi globulin. Denavi *et al.* (2009) menyebutkan bahwa ukuran protein globulin kedelai adalah 20,0; 35,0; 52,0; 72,0; dan 94,0 kD.

Tabel 2. Pemetaan fraksi-fraksi protein bungkil kelapa (*protein profiling*)

BM (kD)	Metode Non-enzimatik				Metode Enzimatik			
	ALB	GLB	GLT	PRO	ALB	GLB	GLT	PRO
14,4 – 24,0	-	v	-	v	-	-	-	v
24,1 – 29,0	v	v	v	-	v	v	v	-
29,1 – 45,0	v	v	v	-	-	v	v	-
45,1 – 66,0	v	v	v	v	v	v	v	v
66,1 – 97,4	v	v	v	v	v	v	v	v
97,5 – 205,0	-	v	-	-	v	v	-	-

Keterangan: albumin (ALB), globulin (GLB), glutelin (GLT), dan prolamin (PRO)

Glutelin memiliki jumlah variasi kisaran bobot molekul yang sama, baik dengan metode non-enzimatik maupun metode enzimatik, yakni 4 macam ragam kisaran bobot molekul: 24,1-29,0 kD; 29,1-45,0 kD; 45,1-66,0 kD; dan 66,1-97,4 kD. ragam kisaran ini mirip dengan ragam kisaran albumin dengan metode non-enzimatik. Menurut Agboola *et al.* (2005), protein glutelin pada beras memiliki bobot molekul 5,9; 12,7; 21,4; 29,5; dan 39,8 kD.

Sedangkan Prolamin memiliki 3 macam ragam kisaran bobot molekul, baik menggunakan metode non-enzimatik maupun enzimatik, yakni 14,4-24,0 kD; 45,1-66,0 kD; dan 66,1-97,4 kD. Pada metode enzimatik, kisaran bobot molekul 14,4-24,0 kD merupakan kekhasan khas yang hanya dimiliki oleh prolamin sehingga membedakannya dari jenis-jenis protein lainnya. Menurut Agboola *et al.* (2005), protein prolamin pada beras memiliki ukuran bobot molekul 12,8; 37,7; 43,7; 45,3; 49,0; dan 105,2 kD.

Keseluruhan fraksi protein memiliki kisaran bobot molekul yang beragam, namun ditemukan ada kisaran bobot molekul yang sama yakni pada kisaran 45,1-66,0 kD dan 66,1-97,4 kD. Meskipun memiliki kisaran bobot molekul yang sama, setiap protein tersebut memiliki kelarutan yang berbeda. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa pada bungkil kelapa ditemukan protein albumin, globulin, glutelin, dan prolamin dengan kisaran bobot molekul yang sama.

## KESIMPULAN

Hasil karakterisasi masing-masing fraksi protein menunjukkan adanya keberagaman kisaran ukuran bobot molekulnya. Namun, di balik keberagaman tersebut ditemukan adanya kesamaan kisaran ukuran bobot molekul pada kesemua jenis fraksi protein, yakni pada kisaran 45,1-66,0 kD dan 66,1-97,4 kD. Meskipun memiliki kisaran bobot molekul yang sama, protein-protein tersebut memiliki sifat-sifat kelarutan yang berbeda. Hasil analisis SDS PAGE kemungkinan masih ditemukan protein lain diluar albumin, globulin, glutelin, dan prolamin. Oleh karena itu, diperlukan tahapan purnuan untuk menghilangkan protein lain di luar fraksi-fraksi yang diinginkan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adebiyi AP, Adebiyi AO, Hasegawa Y, Ogawa T, Muramoto K. 2009. Isolation and characterization of protein fractions from de-oiled rice bran. *Eur Food Res Technol* 228: 391-401.
- Agboola S, Ng D, Mills D. 2005. Characterisation and functional properties of Australian rice protein isolates. *J Cereal Sci* 41: 283-290.
- AOAC [Association of Analytical Chemistry]. 1995. Official Methods of Analysis. 16<sup>th</sup> edition. Association of Analytical Chemistry. Washington D.C.
- Bollag DM, Edelstein SJ. 1991. Protein Methods. Wiley-Liss, Inc. USA.
- Dairo FAS, Fasuyi AO. 2008. Evaluation of fermented palm kernel meal and fermented copra meal proteins as substitute for soybean meal protein in laying hens diets. *J Cent Eur Agric* 9: 35-44.
- Denavi G, Tapia-Blacido DR, Anon MC, Sobral PJA, Mauri AN, Menegalli FC. 2009. Effects of drying conditions on some physical properties of soy protein films. *J Food Eng* 90: 341-349.
- FAO [Food Agricultural Organization]. 2009. Production of Coconut in Indonesia. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>. [27 Agustus 2009].
- Laemmli UK. 1970. SDS PAGE. *Nature*. 227:680-685.
- Lie-Fen S, Tuan-Nan W, Ching-San C. 1994. Purification and Characterization of rice prolamins. *Bot Bull Acad Sin* 35: 65-71.
- Miskiyah, Mulyawati I, Haliza W. 2006. Pemanfaatan ampas kelapa limbah pengolahan minyak kelapa murni menjadi

- pakan. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- Mudau MM. 2006. The Production, Purification and Characterization of Endo-1,4- $\beta$ -Mannanase from Newly Isolated Strains of *Scopulariopsis candida*. Dissertation. Department of Microbial, Biochemical, and Food Biotechnology. University of Free State. South Africa.
- Pedroche J, Yust MM, Lqari H, Megi'as C, Giro'n-Calle J, Alaiz M, Milla'n F, Vioque J. 2005. Chickpea p2 albumin binds hemin. *J Plant Sci* 168: 1109-1114.
- Pomeranz Y, Meloan CL. 1994. Food Analysis: Theory and Practice. 3rd ed. Chapman and Hall an International Thomson Publ. Co. New York.
- Ragab DM, Babiker EE, Eltinay AH. 2004. Fractionation, solubility, and functional properties of cowpea (*Vigna unguiculata*) proteins as affected by pH and/or salt concentration. *Food Chem* 84: 207-212.
- Siagian PLP. 2009. Production of protein isolate, protein concentrate, and dietary fibre. Research Center for Chemistry. Indonesia Institute of Sciences. Jakarta.
- Sikorski ZE. 1992. Chemical and Functional Properties of Food Proteins. Technomic Publishing Co., Inc. Lancaster-Basel.
- Singh J, Malcolm B, Tanner G, Skerritt JH. 2001. Albumin and globulin proteins of wheat flour: Immunological and n-terminal sequence characterization. *J Cereal Sci* 34: 85-103.
- Siu-Mei C, Ching-Yung M. 2006. Extraction, purification and characterization of globulin from common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) seeds. *Food Res Intl* 39: 974-981.
- Standar Nasional Indonesia 01-2904-1996/Rev. 1992. Bungkil Kelapa/Bahan Baku Pakan. Dewan Standardisasi Nasional. Jakarta.
- Winarno FG. 1992. Kimia Pangan dan Gizi. Jakarta. Gramedia Pustaka Utama.