

Isolation and Characterization of Rice Bran Protein Using NaOH Solution

Akyunul Jannah

Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Email: akyunul_jannah2008@yahoo.com

Abstract

The high protein content in rice bran potential to be developed into food. The purpose of this study was to isolate the protein in rice bran using NaOH solution with various concentration of 0.05; 0.1; 0.15; 0.2 M and characterization of functional properties. The results showed the concentration of 0.2 M NaOH produced the best results. The protein content obtained was 82%, stability of emulsion of 42% and 47% stability of foam.

Keywords: NaOH, protein, rice bran

Abstrak

Tingginya kandungan protein pada bekatul cukup potensial untuk dikembangkan menjadi bahan pangan. Tujuan dari penelitian ini untuk mengisolasi protein dalam bekatul dengan menggunakan larutan NaOH dengan variasi konsentrasi 0,05; 0,1; 0,15; 0,2 M dan karakterisasi sifat fungsionalnya. Hasil penelitian menunjukkan pada konsentrasi 0,2 M NaOH dihasilkan hasil yang terbaik. Kadar protein yang didapat adalah 82 %, sedangkan untuk stabilitas emulsi sebesar 42 % dan stabilitas buih 47%.

Kata kunci: NaOH, protein, bekatul

I. PENDAHULUAN

Bekatul mengandung 11,8-13,0 % protein; 10,1-12,4 % lemak; 2,3-3,2 % serat kasar; 51,1-55,0 % karbohidrat; 5,2-7,3 % abu; dan 7,0-11,4 % serat kasar. Tingginya kandungan protein pada bekatul cukup potensial untuk dikembangkan menjadi bahan pangan. Komposisi protein dalam bekatul antara lain adalah 37 % albumin, 36 % globulin, 22 % glutelin, dan 5 % prolamin (Wang, et al., 1999). Protein merupakan salah satu jenis zat penting yang sangat dibutuhkan oleh tubuh dengan sifat-sifat fungsional dan gizi yang baik. Limbah bekatul bebas lemak merupakan sumber alternatif yang perlu dimanfaatkan selain sumber-sumber protein tradisional lain yang telah dikenal. Isolat protein bekatul mempunyai potensi untuk dikembangkan pemanfaatannya.

Faktor penting yang perlu diperhatikan dalam pemanfaatan protein sebagai produk pangan adalah sifat-sifat fungsionalnya karena sifat-sifat fungsional

dapat mempengaruhi karakteristik produk pangan. Setiap sumber dan struktur protein memiliki sifat fungsional yang berbeda. Sifat-sifat fungsional protein dapat dianalisis sehingga dapat diketahui bagaimana karakteristik protein yang pada akhirnya dapat menentukan arah pemanfaatannya dalam proses pengolahan pangan. Untuk memperoleh protein bekatul, perlu dilakukan isolasi untuk mengetahui suatu protein mempunyai sifat-sifat kimia dan fisika yang baik dalam isolat protein. Isolasi protein dilakukan dengan variasi konsentrasi NaOH. Penggunaan larutan NaOH karena dimungkinkan dalam keadaan basa kelarutan suatu protein bertambah besar, sehingga dilakukan proses ekstraksi menggunakan NaOH untuk memisahkan kandungan protein.

II. METODE PENELITIAN

1. Preparasi Sampel

Prosedur preparasi sampel adalah bekatul yang diperoleh hasil pengilingan

diayak menggunakan ayakan 60 mesh, selanjutnya bekatul yang lolos ayakan dilakukan penghilangan lemak (delipid) bekatul. Ditimbang 20 gram sampel bekatul dalam kertas saring kemudian dimasukkan ke dalam tabung ekstraksi soxhlet dalam thimble. Kemudian dimasukkan pelarut petroleum ether secukupnya dan dirangkai alat ekstraksi soxhlet. Ekstraksi dilakukan pada suhu 30 (\pm 3 kali siklus) sampai pelarut berwarna pucat. Kemudian dipisahkan sampel dari pelarut dan sampel dikeringkan dalam lemari asam. Selanjutnya sampel yang kering diisolasi.

2. Isolasi Protein

Protein bekatul dimaserasi dengan pelarut NaOH dalam perbandingan 1:10 b/v pada suhu ruang selama 2 jam dengan menggunakan shaker dengan variasi konsentrasi 0,05; 0,1; 0,15; 0,2 M, selanjutnya disentrifuse untuk menghilangkan fraksi bekatul. Filtrat diendapkan dengan HCl 2 N sampai pH 4,5. Untuk memberi kesempatan pengendapan berlangsung dengan baik maka masa endapan dibiarkan selama lebih-kurang 12 jam pada suhu 4-5 °C (dalam almari pendingin). Selanjutnya endapan dipisahkan dengan cara disaring. Endapan protein yang diperoleh dikeringkan pada udara terbuka \pm 24-30 jam. Setelah kering isolat protein dihaluskan dengan mortar.

3. Karakterisasi Protein Bekatul

a. Penentuan Kadar Protein dengan Metode Kjeldahl

Sampel ditimbang sebanyak 1 g lalu dilarutkan bahan dengan aquades dengan volum tertentu (menentukan nilai faktor pengencerannya). Dimasukkan bahan ke dalam tabung kjeldahl, lalu ditambahkan 2 ml H₂SO₄ pekat dan tambahkan 2 gram campuran Na₂SO₄ – HgO (20:1) untuk katalisator. Didihkan sampai jernih (kurang lebih 4 jam) dan lanjutkan pendidihan 30 menit lagi (pengerjaan harus dilakukan di

lemari asam/*fume hood*). Setelah dingin ditambahkan 35 ml aquades dan ditambahkan 8,5 ml NaOH-Na₂S₂O₃ dan dilakukan destilasi, destilat ditampung dalam 6,5 ml H₃BO₃ 4% yang telah diberi tetesan indikator metil merah dan ditampung sebanyak 25 ml. Dititrasi destilat yang diperoleh dengan HCl 0,02 N (b) sampai terjadi perubahan warna, dari kuning menjadi merah. Kadar protein dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Protein (\%)} = \frac{b \times c}{a \times 1000} \times 14,008 \times fp \times 6,25 \times 100 \%$$

Keterangan:

- a : berat sampel
- b : volume titran HCl
- c : N titran HCl
- fp : faktor pengenceran

b. Stabilitas Emulsi

Sebanyak 0,5 gram sampel disuspensi dalam 5 ml aquades setelah itu ditambahkan aquades sampai 7,5 ml dan minyak jagung sebanyak 7,5 ml, kemudian diblender selama \pm 2 menit. Hasilnya dituang dalam beaker gelas dan dipanaskan pada suhu 80 C selama 30 menit. Air yang sudah tidak membentuk emulsi dipisahkan dan emulsi yang terbentuk kemudian ditimbang. Stabilitas emulsi dinyatakan sebagai campuran yang masih membentuk emulsi setelah mengalami pemanasan dan dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Stabilitas emulsi} = \frac{\text{berat fase tersisa}}{\text{berat total bahan emulsi}} \times 100 \%$$

c. Stabilitas Berbuih

Sebanyak 0,5 gram sampel dilarutkan dalam 10 ml aquades dan dihomogenkan dengan shaker selama \pm 1 menit. Larutan kemudian diatur pHnya hingga 8 dan dikocok selama 2 menit. Volume buih sebelum dan sesudah dikocok dicatat,

kemudian kapasitas berbuih dinyatakan sebagai berikut:

$$\text{Stabilitas berbuih} = \frac{\text{vol. buih terbentuk berat fase tersisa}}{\text{vol. cairan mula - mula}} \times 100 \%$$

Untuk mengamati stabilitas buih selama waktu tertentu, emulsi yang sudah terbentuk disimpan selama beberapa lama pada suhu ruang. Volume buih diamati pada jam ke 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4 kemudian dicatat dan dibuat kurva kestabilan buih terhadap waktu.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bekatul (*rice bran*) yang diperoleh dari daerah Malang yaitu berupa serbuk yang masih kasar. Preparasi bekatul dilakukan dengan cara pengayakan 60 mesh. Sampel yang telah diayak selanjutnya dilakukan proses penghilangan lemak (*delipid*) yang dilakukan dengan metode soxhletasi menggunakan pelarut petroleum eter. Adanya lemak dalam jumlah yang relatif tinggi akan menyulitkan dalam pemisahan protein karena lemak akan terdapat pada permukaan atas supernatan ekstrak protein. Semua ini perlu diperhatikan untuk memperoleh isolat dalam jumlah dan kadar protein yang tinggi. Hasil kadar lemak dalam bekatul diperoleh sebesar 7,336 %. Selanjutnya bekatul bebas lemak akan diisolasi proteinnya dan dikarakterisasi sifat-sifat fungsionalnya.

Isolasi Protein Bekatul

Konsentrasi NaOH yang digunakan dalam isolasi bekatul adalah 0,05; 0,1; 0,15; 0,2 M. Penggunaan NaOH yaitu untuk memisahkan asam-asam amino dalam sampel yang biasa disebut sebagai proses hidrolisis. Pengendapan protein digunakan larutan HCl 2 **3** | Page N pH 4,5. Penggunaan larutan HCl umum digunakan dalam isolasi protein, selain itu juga NaOH dan HCl merupakan pereaksi yang sangat efektif dan ekonomis dalam isolasi protein.

Sedangkan penggunaan pH 4,5 karena pada Rukmini (1988) telah melakukan pengendapan protein pada NaOH menggunakan HCl dengan variasi pH, dan pH pengendapan yang maksimal adalah pH 4,5. Dengan demikian diharapkan larutan ini dapat menjamin diperolehnya protein bekatul dengan sifat-sifat fungsional yang lebih baik. Hasil Pengendapan protein disajikan dalam tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengendapan Ekstrak NaOH

Konsentrasi NaOH (M)	Jumlah Endapan yang diperoleh
0,05	+
0,1	++
0,15	+++
0,2	++++

Ket: + = Sedikit
++ = Sedang
+++ = Banyak
++++ = Sangat Banyak

Karakterisasi Protein Bekatul

a. Penentuan kadar Protein dengan Metode Kjeldahl

Hasil analisis uji protein didapatkan kadar protein dalam bekatul ekstrak NaOH lebih besar seiring dengan meningkatnya konsentrasi NaOH yang digunakan. Melalui titrasi ini, dapat diketahui kandungan N dalam bentuk NH_4 sehingga kandungan N dalam protein pada sampel bekatul dapat diketahui. Hasil kadar protein bekatul dengan variasi konsentrasi NaOH adalah pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Kadar Protein Analisis Kjeldahl

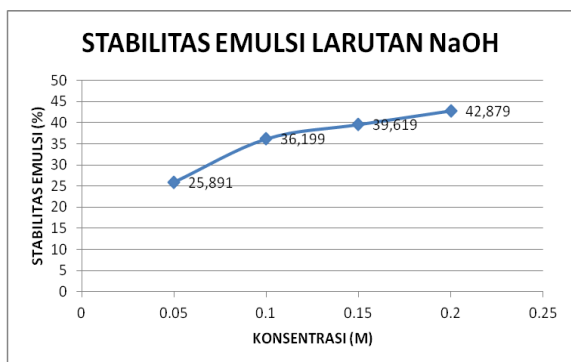
Konsentrasi NaOH (M)	Kadar Protein (%)
0,05	74,630
0,10	77,374
0,15	81,391
0,20	82,131

Kadar protein bekatul yang diekstrak dengan larutan NaOH 0,2 M lebih besar daripada konsentrasi yang lebih rendah. Hal ini menunjukkan bahwa kelarutan protein

dalam pelarut dapat meningkat dengan penambahan konsentrasi NaOH. Bera dan Mukherjee (1989) melaporkan bahwa kadar protein bekatul hasil dari isolasi yang didapatkan adalah 90 %.

b. Stabilitas Emulsi

Emulsi merupakan suatu dispersi atau suspensi suatu cairan dalam cairan yang lain, yang mana molekul-molekul kedua cairan tidak saling berbaaur tetapi saling antagonistik. Protein bekatul mempunyai stabilitas emulsi yang semakin baik berdasarkan peningkatan konsentrasi yang digunakan, sehingga dapat dijadikan sebagai sumber alternatif untuk bahan pangan yang membutuhkan stabilitas emulsi seperti pembuatan mayoninnaise dan susu. Grafik stabilitas emulsi ekstrak NaOH dilihat pada Gambar 3.



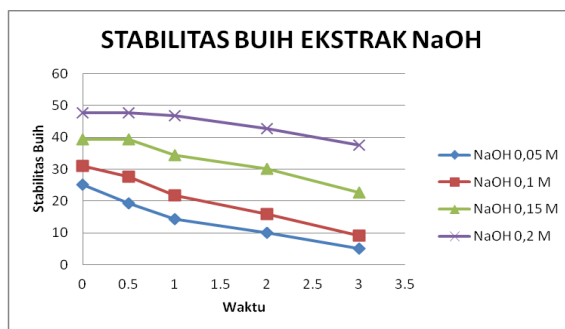
Gambar 3. Grafik rata-rata nilai stabilitas emulsi ekstrak NaOH

Nilai stabilitas emulsi tertinggi pada konsentrasi 0,2 M yakni 42,879 %. Nilai stabilitas emulsi protein bekatul dalam penelitian ini masih berada dibawah nilai stabilitas emulsi pada penelitian yang dilakukan oleh Mukherjee (1989) terhadap protein bekatul yakni sebesar 74 %. Perbedaan ini dimungkinkan karena sampel bekatul yang digunakan didapatkan dari tempat yang berbeda. Semakin tinggi stabilitas emulsi maka semakin tinggi pula sifat fungsional protein tersebut, sehingga

dapat dimungkinkan digunakan sebagai bahan produk pangan.

c. Sifat Buih

Buih merupakan dispersi koloid dari fase gas dalam fase cair, yang dapat terbentuk saat dikocok. Selama pengocokan akan terjadi peningkatan dan penurunan ukuran dan jumlah gelembung udara. Daya buih merupakan ukuran kemampuan protein bekatul untuk membentuk buih jika dikocok, sedangkan stabilitas buih merupakan ukuran kemampuan struktur buih putih telur untuk bertahan kokoh atau tidak mencair selama waktu tertentu. Data tabel dapat dilihat pada lampiran 4. Grafik kestabilan buih ekstrak NaOH dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4 Grafik rata-rata nilai stabilitas buih ekstrak NaOH

Berdasarkan Gambar 4 diketahui bahwa nilai stabilitas buih protein bekatul ekstrak larutan NaOH semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin tinggi kestabilan buihnya. Salah satu faktor yang mempengaruhi kestabilan buih adalah viskositas. Powrie dan Tung (1976) mengemukakan bahwa stabilitas buih dapat ditingkatkan dengan meningkatkan viskositas larutan, sedangkan viskositas akan semakin tinggi dengan tingginya konsentrasi protein. Buih dapat stabil apabila viskositas semakin tinggi.

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan, maka dapat disimpulkan bahwa pada variasi konsentrasi larutan NaOH untuk isolasi protein bekatul didapatkan konsentrasi terbaik adalah 0,2 M baik dari hasil kadar protein maupun sifat-sifat fungsional protein. Kadar protein yang didapat adalah 82 %, sedangkan untuk stabilitas emulsi sebesar 42 % dan stabilitas buih pada ekstrak NaOH 0,2 M memiliki stabilitas yang terbaik dari pada konsentrasi yang lain.

V. DAFTAR PUSTAKA

- M.B.Bera & R.K. Mukherjee. 1989. Solubility, Emulsifying and Foaming Properties of Rice Bran Protein Concentrate. *J. Food Sci.*, Vol. 54 (1): 142-145
- Powrie, W.D. & Tung, M.A. 1976. Food Dispersions, In Principle of Food Science, Part 1, Food chemistry, Fennema OR. Marcel Dekker, Inc, New York.
- Rukmini, H. S. 1988. Perbaikan sifat-sifat Fungsional Protein Dedak Padi Secara Kimiawi. *Tesis Tidak Diterbitkan*. Bogor: ITB
- Wang, M., Hettiarachchy, N. S., Qi, Burks, M. W., dan Siebenmorgen, T. 1999. Preparation and Functional Properties of Rice Bran Protein Isolate. *J Food Chem*, Vol. 47: 411-416.