

KAJIAN PINDAH SILANG PROTEIN KACANG SOYA DENGAN FORMALDEHID,  
ISOBUTIALDEHID DAN 4-(DIMETILAMINO) BENZALDEHID MENGGUNAKAN  
FASA BERBALIK-KROMATOGRAFI CECAIR TEKANAN TINGGI

SYLVIA BTE STEVEN

PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

DISERTASI INI DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI  
SEBAHAGIAN DARIPADA SYARAT MEMPEROLEHI IJAZAH  
SARJANA MUDA SAINS DENGAN KEPUJIAN

PROGRAM KIMIA INDUSTRI  
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

APRIL 2007



**UMS**  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

**BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS**

JUDUL: KAJIAN PINDAH SILANG PROTEIN KACANG SOYA DENGAN

FORMALDEHID DAN 4-(DIMETILAMINO) BENZALDEHID MENGGUNAKAN  
FASA BERBAUK-KROMATOGRAFI CECAIR TEKANAN TINGGI

Ijazah: SARJANA MUDA SAINS DENGAN KEPUNJIAN (KIMIA INDUSTRI)

SESI PENGAJIAN: G 2004/2005

Saya SYLVIA BINTI BTE STEVEN  
(HURUF BESAR)

mengaku membenarkan tesis (LPS/Sarjana/Doktor Falsafah)\* ini disimpan di Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dengan syarat-syarat kegunaan seperti berikut:

1. Tesis adalah hakmilik Universiti Malaysia Sabah.
2. Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dibenarkan membuat salinan untuk tujuan pengajian sahaja.
3. Perpustakaan dibenarkan membuat salinan tesis ini sebagai bahan pertukaran antara institusi pengajian tinggi.
4. \*\*Sila tandakan ( / )

SULIT

(Mengandungi maklumat yang berkaitan keselamatan atau kepentingan Malaysia seperti yang termaktub di dalam AKTA RAHSIA RASMI 1972)

TERHAD

(Mengandungi maklumat TERHAD yang telah ditentukan oleh organisasi/badan di mana penyelidikan dijalankan)

TIDAK TERHAD

PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

Disahkan oleh

Sylvia  
(TANDATANGAN PENULIS)

[Signature]  
(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: P/S 162, 89257  
TAMPARU, SABAH

DR-SUKAIMI MD-YASIR  
Nama Penyalia

Tarikh: 20 APRIL 2007

Tarikh: 20/4/07

- CATATAN: \* Potong yang tidak berkenaan.  
 \*\* Jika tesis ini SULIT atau TERHAD, sila lampirkan surat daripada pihak berkuasa/organisasi berkenaan dengan menyatakan sekali sebab dan tempoh tesis ini perlu dikelaskan sebagai SULIT dan TERHAD.  
 @ Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana secara penyelidikan, atau disertasi bagi pengajian secara kerja kursus dan penyelidikan, atau Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).



## PENGAKUAN

Saya akui karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan dan ringkasan yang setiap satunya telah dijelaskan sumbernya.

APRIL, 2007

---

SYLVIA BT STEVEN

HS2004-4062



**PENGESAHAN**

NAMA: SYLVIA BTE STEVEN

TAJUK: KAJIAN PINDAH SILANG PROTEIN KACANG SOYA DENGAN  
FORMALDEHID, ISOBUTIALDEHID DAN 4-(DIMETILAMINO)  
BENZALDEHID MENGGUNAKAN FASA BERBALIK-KROMATOGRAFI  
CECAIR TEKANAN TINGGI



---

(Dr. Suhaimi Md. Yasir)

**Penyelia**



---

(En. Moh Pak Yan)

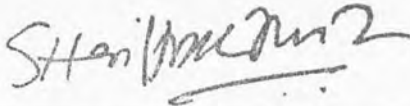
**Pemeriksa**



---

(En. Jahimin Asik)

**Pemeriksa**



---

(SUPT/KS. Prof. Madya Dr. Shariff Omang)

**Dekan SST**

**APRIL, 2007**



## PENGHARGAAN

Pertama sekali saya ingin mengucapkan rasa syukur kerana projek tahun akhir ini akhirnya dapat disiapkan. Saya merakamkan setinggi-tinggi penghargaan kepada Dr. Suhaimi Md. Yasir selaku penyelia saya yang telah banyak memberi bimbingan dan sokongan moral. Komitmen tinggi dan teguran beliau telah banyak membantu saya dalam menyiapkan projek ini. Saya juga ingin mengucapkan terima kasih kepada pembantu-pembantu makmal seperti Puan Razimah, Encik Sani, Encik Samudi dan lain-lain yang tidak dinyatakan namanya yang bersedia membantu saya sepanjang projek ini dijalankan. Untuk ibu bapa saya, ribuan terima kasih diucapkan di atas sokongan moral yang diberi. Terima kasih juga kepada rakan-rakan seperjuangan yang telah banyak membantu memberi idea, berkongsi pengetahuan dan maklumat. Kepada mereka yang tidak dinyatakan, sama ada terlibat secara langsung atau tidak, terima kasih atas sokongan dan kerjasama anda semua.

*Sylvia Steven*



## ABSTRAK

Protein dari kacang soya telah dipindah silang dengan larutan formaldehid, isobutialdehid dan larutan 4-(dimetilamino) benzaldehid dan pemisahan protein dikesan dengan menggunakan fasa berbalik-kromatografi cecair tekanan tinggi. Didapati bahawa penambahan larutan formaldehid dan 4-(dimetilamino) benzaldehid menunjukkan berlakunya pindah silang dalam pemisahan protein manakala tidak berlaku pindah silang dengan penambahan isobutialdehid. Semasa pindah silang, kromatogram menunjukkan hanya satu puncak yang jelas yang mana elusi puncak tersebut bermula pada minit ke 1.5 hingga 4.0 dengan penambahan formaldehid dan pada minit ke-5.5 hingga 6.5 dalam penambahan 4-(dimetilamino) benzaldehid. Pindah silang protein berlaku pada had pengesanan yang tinggi. Kromatogram pemisahan protein dengan penambahan formaldehid pada masa 1 jam menunjukkan kromatogram berbalik ke keadaan asal selepas "incubation". Oleh sebab itu, didapati bahawa tindak balas Maillard berlaku dalam proses pindah silang antara kumpulan karbonil dengan terminal asid amino dari protein kacang soya.



---

A Study of Soy Protein Crosslinked with Formaldehyde, Isobutyraldehyde and 4-(Dimethylamino) Benzaldehyde using RP-HPLC.

**ABSTRACT**

*Soy protein was crosslinked with formaldehyde, isobutyraldehyde and 4-(dimethylamino) benzaldehyde and protein separation has been achieved by reversed phased-high performance liquid chromatography. Addition of formaldehyde and 4-(dimethylamino) benzaldehyde showed that crosslinking occurred in protein. Chromatogram showed only one peak during the crosslinking which started from minutes 1.5 to minutes 4.0 in formaldehyde and from minutes 5.5 to minutes 6.5 in 4-(dimethylamino) benzaldehyde. Protein crosslinking were found to be at the high detection limit. Chromatogram of formaldehyde addition at 1 hour period showed it returned to normal condition after the incubation. This indicated that Maillard reaction occurred in protein crosslinking between carbonyl group and acid amino terminal from soy protein.*



## SENARAI KANDUNGAN

	<b>Muka surat</b>
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	ix
SENARAI RAJAH	x
<b>BAB 1        PENDAHULUAN</b>	
1.1    Pengenalan	1
1.2    Skop kajian	4
1.3    Objektif kajian	4
<b>BAB 2        KAJIAN LITERATUR</b>	
2.1    Komponen dan sintesis protein	5
2.2    Pengelasan dan ciri-ciri kimia protein	7
2.3    Profil protein biji	9
2.3.1    Kandungan protein kacang soya dan kepentingannya	10
2.3.2    Komposisi kimia biji kacang soya	15
2.4    Pindah-silang protein	17
2.5    Analisis fizikal dan kimia kacang soya	18
2.5.1    Penentuan kandungan kelembapan	19
2.5.2    Analisis kromatografi cecair tekanan tinggi	20
2.5.3    Penentuan kandungan protein	20





<b>BAB 3</b>	<b>BAHAN DAN KAEDAH</b>	
3.1	Sampel kajian	24
3.2	Bahan-bahan kimia	24
3.3	Alat radas	25
3.4	Kaedah	25
	3.4.1 Penyediaan sampel	25
	3.4.2 Pengekstrakan lemak	25
	3.4.3 Pengekstrakan protein	26
	3.4.4 Penentuan peratus kandungan kelembapan	26
	3.4.5 Analisis fasa berbalik-kromatografi cecair tekanan tinggi	26
	3.4.6 Analisis pindah-silang protein	27
<b>BAB 4</b>	<b>KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN</b>	
4.1	Kandungan kelembapan	28
4.2	Analisis fasa berbalik-kromatografi cecair tekanan tinggi	29
4.3	Kromatografi pindah-silang protein	30
4.4	Sifat kehidrofobikan pecahan protein	36
<b>BAB 5</b>	<b>KESIMPULAN</b>	37
<b>RUJUKAN</b>		39
<b>LAMPIRAN</b>		47



**SENARAI JADUAL**

No. Jadual	Muka Surat
2.1	Komposisi kimia bagi karbohidrat biji kacang soya. 17



**SENARAI RAJAH**

No. Rajah		Muka Surat
2.1	Menunjukkan persamaan tindak balas antara 2 molekul asid amino yang membentuk protein.	8
2.2	Carta alir untuk mendapatkan pecahan protein.	13
2.3	Carta alir untuk penentuan kandungan protein	22
4.1	Menunjukkan kromatogram bagi protein kacang soya menggunakan fasa berbalik-kromatografi cecair tekanan tinggi.	29
4.2	Menunjukkan perbandingan kromatogram antara larutan protein (A) dengan penambahan formaldehid pada masa 30 minit (B) dan 1 jam (C).	31
4.3	Menunjukkan kromatogram larutan protein (A) dan larutan protein dengan penambahan isobutialdehid pada masa 30 minit (B) dan 1 jam (C).	33
4.4	Menunjukkan kromatogram larutan protein (A) dan larutan protein dengan penambahan 4-(dimetilamino) benzaldehid pada masa 30 minit (B) dan 1 jam (C).	35



## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Pengenalan

Kacang soya atau nama saintifiknya *Glycine max* ialah sejenis tumbuhan yang berasal dari Manchuria dan ianya boleh ditanam di Malaysia. Pokok kacang soya adalah tegak dan rimbun iaitu berukuran sehingga 70 cm. Buah kacang acang soya adalah berbentuk gumpalan 3 hingga 15, berbulu, berwarna hijau, mempunyai ukuran panjang di antara 3 cm hingga 8 cm dan setiap buah mengandungi 2 hingga 4 biji yang mempunyai diameter 5 mm hingga 11 mm. Biji kacang soya berbentuk bulat dan berwarna kuning. Kacang soya mempunyai akar tunjang sepanjang 15 cm.

Kacang soya dianggap sebagai sumber protein yang lengkap, yang mana proteinnya mengandungi sejumlah besar asid amino yang penting untuk kegunaan tubuh manusia kerana ketidakupayaan badan manusia untuk menghasilkannya. Kacang soya merupakan tanaman yang penting disebabkan oleh kandungan protein dan minyak yang tinggi dalam bijinya. Sebagai sumber protein bagi haiwan dan manusia, profil asid amino biji kacang soya mengandungi asid amino-S (S-containing amino acid), “methionine” dan



“cysteine” yang tinggi (Serretti *et al.*, 1994). Dengan peningkatan kandungan asid amino tersebut dalam biji kacang soya, ini dapat menambahkan nilainya pada pengguna kacang soya dan seterusnya menyediakan pasaran yang luas untuk pengusaha kacang soya (McVey *et al.*, 1995). Pada asasnya, protein kacang soya adalah sama dengan biji legum yang lain (pulses).

Pada amnya, protein soya diklasifikasikan sebagai storan protein yang ada di dalam molekul protein yang mana dianggarkan mengandungi lebih kurang 60% hingga 70% daripada protein “total” kacang soya. Semasa pertumbuhan kacang soya, protein akan dicerna dan membebaskan asid amino yang seterusnya akan diangkut ke lokasi tumbesaran benih. Protein legum seperti soya adalah tergolong dalam famili globulin dalam storan protein yang dipanggil sebagai leguminin (11S) dan vicilin (7S) (Derbyshire *et al.*, 1976). Protein 11S dan 7S ini dipanggil sebagai glycinin dan beta-glycinin dalam kacang soya. Bijirin seperti padi dan gandum mengandungi jenis storan protein yang ketiga iaitu gluten atau prolamin. Kacang soya juga mengandungi protein metabolik seperti enzim dan perencat tripsin. Kotiledon storan protein soya adalah penting untuk nutrisi manusia dan ianya boleh diekstrak secara efisien dengan air, campuran air dengan alkali cair dengan pH 7 hingga pH 9 atau larutan akueus natrium klorida (0.5 M hingga 2.0 M) daripada biji kacang soya yang telah dinyah lemak yang mana telah juga menjalani rawatan pemanasan yang minima supaya protein tidak ternyahasli.

Terdapat banyak produk yang berasaskan protein di pasaran. Produk ini biasanya terbahagi kepada tiga jenis produk yang kaya protein iaitu tepung soya, konsentret soya dan isolat soya. Isolat protein soya merupakan protein soya dengan kandungan protein



yang minimum sebanyak 90% pada keadaan bebas-kelembapan. Ianya dihasilkan daripada tepung kacang soya yang telah dinyah lemak yang mana hampir semua komponen bukan protein, lemak dan karbohidrat telah disingkirkan. Oleh yang demikian, ianya mempunyai perasa yang neutral dan ini akan membebaskan gas yang kurang disebabkan oleh flatulens bakteria. Isolat protein soya ini biasanya digunakan sebagai agen pengemulsi dan penstrukturan produk daging tetapi ia turut juga digunakan untuk meningkatkan kandungan protein dan perasa. Isolat protein ini mengandungi kandungan lemak yang rendah jika dibandingkan dengan sumber protein daripada haiwan. Isolat protein soya juga dikatakan berupaya mengurangkan risiko beberapa jenis penyakit seperti koronari hati dan berupaya mencegah osteoporosis.

Konsentret protein soya pula adalah terdiri daripada lebih kurang 70% protein soya dan pada dasarnya ia adalah kacang soya tanpa karbohidrat larut-air. Konsentret ini diperoleh dengan menyingkirkan bahagian karbohidrat daripada kacang soya yang telah dinyah lemak. Konsentret protein soya menyimpan hampir semua serat kacang soya. Produk ini digunakan secara meluas sebagai bahan nutiri dalam pelbagai jenis produk makanan seperti bijirin sarapan.

Tepung soya dibuat dengan mengisar kacang soya sehingga menjadi serbuk. Tepung soya boleh diperolehi dalam tiga bentuk iaitu tepung soya semula jadi yang mengandungi lemak; tepung soya ternyah lemak dengan 50% kandungan protein; dan juga tepung soya yang telah ditambah dengan lesitin.



Produk yang berasaskan soya adalah salah satu sumber protein sayur yang mengandungi kandungan lemak yang rendah. Bagi setiap hidangan kacang soya 100 g, ia menyediakan lebih kurang 50% protein. Disebabkan oleh kandungan nutrisi yang tinggi dan kosnya yang rendah, protein soya menjadi sumber protein sayur yang terbesar secara komersial di seluruh dunia (Molina *et al.*, 2002). Malahan protein soya juga adalah alternatif bagi protein haiwan yang sedia ada.

## 1.2 Skop Kajian

Kajian ini adalah untuk menentukan pindah silang protein dengan tiga agen pindah silang iaitu formaldehid, isobutialdehid dan 4-(dimetilamino) benzaldehid dengan menggunakan kaedah fasa berbalik-kromatografi cecair tekanan tinggi.

## 1.3 Objektif Kajian

Objektif bagi kajian ini adalah untuk mengkaji ciri-ciri pindah silang protein bagi biji kacang soya mentah. Kajian secara kualitatif akan dijalankan untuk menganalisa perubahan dalam kandungan protein biji kacang soya apabila ditambah secara berasingan dengan tiga jenis larutan aldehid, di mana kajian akan dijalankan dengan menggunakan kaedah fasa berbalik-kromatografi cecair tekanan tinggi. Keputusan eksperimen yang dilakukan ke atas protein biji kacang soya akan dianalisa.



## **BAB 2**

### **KAJIAN LITERATUR**

#### **2.1 Komponen dan sintesis protein**

Protein adalah polimer yang terbina daripada 20 asid amino- $\alpha$  yang berbeza. Protein dihimpunkan daripada asid amino dengan menggunakan maklumat yang terdapat dalam gen. Protein berlipat kepada struktur tiga-dimensi. Bentuk di mana protein terlipat secara semula jadi dikenali sebagai keadaan semula jadi, yang mana ditentukan dengan rangkaian asid amino (Nolting, 1999). Oleh itu, protein merupakan polimer dengan asid amino sebagai monomer.

Struktur protein terbahagi kepada beberapa jenis iaitu struktur primer, sekunder, tertier, dan struktur kuarter. Struktur primer adalah terdiri daripada rangkaian asid amino yang dihubungkan antara satu sama lain oleh ikatan peptida yang terbentuk melalui kondensasi dua asid amino (Nolting, 1999). Terdapat tiga elemen utama yang telah dikenalpasti dalam struktur sekunder, iaitu alfa heliks, "beta sheet" dan struktur berputar





(Nolting, 1999) yang mana ketiga-tiga elemen struktur ini boleh dihubungkan antara satu sama lain dengan pembentukan gelung. Struktur sekunder ini tidak mempunyai bentuk yang stabil dan ianya terbentuk melalui ikatan hidrogen. Struktur tertier merupakan bentuk keseluruhan bagi molekul protein yang tunggal dan struktur ini terbentuk melalui interaksi hidrofobik, tetapi ikatan hidrogen, ikatan disulfida dan interaksi ionik juga turut terlibat (Nolting, 1999). Struktur kuarter terbentuk daripada gabungan satu atau lebih molekul protein atau juga dipanggil sebagai sub-unit protein yang mana sub-unit protein ini adalah sebahagian daripada kompleks protein.

Protein juga boleh bertukar kepada beberapa struktur yang sama dalam menjalankan fungsi biologi. Dari segi aspek penyusunan semula fungsi (functional rearrangements), struktur tertier dan kuarter biasanya dikenali sebagai konformasi dan transisi di antara kedua-dua struktur ini dipanggil perubahan konformasi. Protein merupakan sebatian organik yang kompleks, mempunyai berat molekul yang besar, dan terdiri daripada asid amino yang disambungkan oleh ikatan peptida. Protein memainkan peranan penting dalam struktur dan fungsi sel-sel hidup dan juga dalam virus. Terdapat banyak jenis protein dan setiap protein tersebut menjalankan fungsi yang berbeza dalam fungsi biologi. Seseengah protein adalah enzim yang menjadi mangkin bagi tindak balas kimia. Seseengah protein lagi memainkan peranan dalam struktur atau mekanikal, seperti protein yang membentuk “strut” dan sendi pada sito-tulang rangka. Dari aspek fungsi pula, protein berperanan dalam tindak balas imun dan storan serta pengangkutan bagi pelbagai jenis ligan. Protein adalah ahli kelas bio-makromolekul, di samping polisakarida, lipid dan asid nukleik yang membentuk juzuk utama organisma biologi.



Pada dasarnya, protein adalah polimer yang terbentuk daripada rangkaian asid amino yang spesifik, yang mana maklumat rangkaian tersebut disimpan dalam kod gen. Sel mentafsir maklumat genetik melalui proses transkripsi dan translasi, dan maklumat itu seterusnya digunakan untuk membina protein. Dalam kebanyakan kes, protein yang terbentuk akan berubah secara kimia melalui pengubahsuaian selepas translasi (post-translational modification). Molekul-molekul protein biasanya bertindak secara bersama dalam menjalankan fungsi tertentu, dan secara fizikalnya, molekul-molekul ini adalah berkait rapat antara satu sama lain untuk membentuk kompleks.

## 2.2 Pengelasan dan ciri-ciri kimia protein

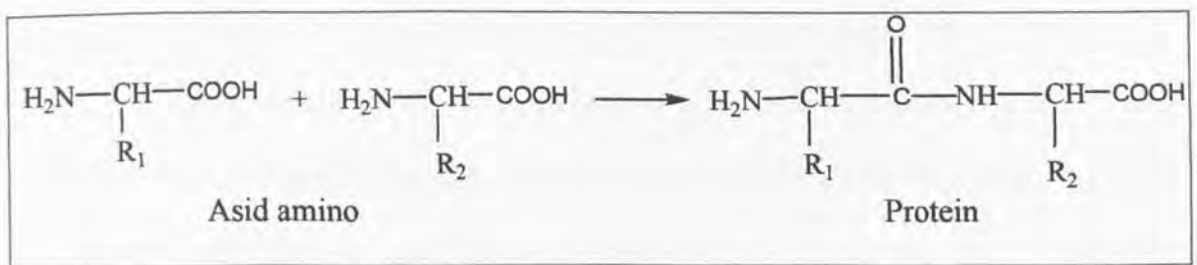
Protein boleh diklasifikasikan kepada beberapa jenis berdasarkan kepada fungsi, struktur, ataupun berdasarkan kepada ciri-ciri fizikokimianya. Setiap spesies protein terdiri daripada molekul yang sama dengan saiz molekul yang hampir sama, rangkaian asid amino dan bentuk tiga-dimensi. Dengan demikian, larutan bagi campuran protein boleh dibezakan daripada larutan polimer sintetik atau DNA yang dipotong, yang mana keduanya mengandungi spektrum lengkap. Campuran protein hanya mempunyai molekul bersaiz diskret yang sepadan dengan setiap jenis protein yang hadir.

Bentuk dan struktur oligomerik diambil berat dalam pengelasan protein melalui ciri struktur. Sebahagian daripada itu, struktur menunjukkan lokasi biologi dan asal protein tersebut. Molekul protein yang ringkas dijumpai dalam persekitaran ekstraselular, manakala molekul protein yang lebih kompleks dan mudah dinyahaktif dijumpai secara



intraselular, dan protein hidrofobik adalah bercantum dengan membran (Nolting, 1999). Protein yang memainkan fungsi yang lebih penting adalah enzim berdasarkan kepada peranan enzim dari segi ikatan dan juga sebagai mangkin. Sebahagian dari itu, ia juga menggambarkan bahawa struktur yang lengkap penting untuk fungsi protein, yang mana ini menghubungkan pemuliharaan struktur melalui evolusi.

Struktur protein adalah seperti dalam Rajah 2.1, di mana pembentukan ikatan peptida antara dua asid amino akan menghasilkan struktur amida (Coultrate, 1989). Protein boleh berfungsi sebagai amfoterik iaitu ia boleh bertindak balas dengan asid atau bes. Tindak balas dengan bes berlaku pada kumpulan karboksil manakala tindak balas dengan asid pula berlaku pada kumpulan asid amino (Meyer, 1973). Protein juga boleh mengikat kedua-dua kation dan anion melalui tindak balas kumpulan karboksil dan asid amino. Protein mempunyai ciri ion dipolar disebabkan oleh asid amino yang mengandungi kumpulan karboksil dan kumpulan amina.



**Rajah 2.1** Menunjukkan persamaan tindak balas antara 2 molekul asid amino yang membentuk protein.

### 2.3 Profil protein biji

Protein adalah terdiri daripada asid amino- $\alpha$  yang terikat di antara satu sama lain oleh ikatan peptida dan merupakan kompleks rantai polipeptida dengan struktur 3-dimensi yang unik. Kompleks ini distabilkan oleh kombinasi interaksi antara elektrostatik dan hidrofobik dan ditambah pula dengan kadar fleksibiliti yang tinggi dalam struktur molekulnya. Storan kotiledon protein boleh dibahagikan kepada albumin, globulin, prolamin atau glutelin, berdasarkan kepada kadar keterlarutan storan kotiledon protein tersebut masing-masing dalam air, alkali cair atau asid (Osborne, 1924).

Storan protein biji merupakan kumpulan protein yang banyak terdapat dan terkumpul di dalam biji semasa pembentukan embrio yang mana ia kemudiannya mengalami degradasi semasa percambahan untuk menyediakan sumber nitrogen dan tenaga bagi percambahan embrio. Storan protein bagi tumbuhan dikotiledon adalah terletak dalam jasad protein di dalam kotiledon, manakala bagi tumbuhan monokotiledon, storan proteinnya adalah terletak dalam jasad protein di dalam endosperma (Luthe, 1992). Secara umumnya, storan protein diklasifikasikan kepada 4 jenis pecahan protein yang boleh larut iaitu albumin, globulin, prolamin dan glutelin (Osborne, 1910). Albumin merupakan protein larut-air yang biasanya terdiri daripada enzim yang hadir dalam biji, manakala globulin pula adalah protein larut-garam yang mengandungi kelas storan protein yang banyak terdapat dalam kebanyakan biji dikotiledon. Lazimnya kelas protein ini terdapat dengan banyak dalam biji legum dan telah diklasifikasikan sebagai protein legumin dengan koefisien pemendapan 11S kepada 12S atau protein vicilin dengan



koefisien pemendapan 7S (Derbyshire *et al.*, 1976). Prolamin adalah protein larut-alkohol yang terbentuk daripada saiz heterogen yang mana protein ini merupakan kelas protein yang utama dalam bijirin (Luthe, 1992). Glutelin merupakan protein yang larut dalam asid atau alkali cair dan biasanya protein ini merupakan protein yang tinggal selepas ketiga-tiga pecahan protein yang lain diekstrak. Glutelin juga merupakan protein yang lazim terdapat dalam biji gandum dan lain-lain bijirin.

### 2.3.1 Kandungan protein kacang soya dan kepentingannya

Kacang soya atau nama saintifiknya *Glycine max* merupakan sumber utama protein bagi manusia dan haiwan di kebanyakan negara. Selain itu kacang soya juga mengandungi lemak tak tepu, vitamin, mineral dan nutrien-nutrien lain dalam makanan untuk manusia atau haiwan (Krishnan, 2000; Torun, 1992; Wang *et al.*, 2003). Kacang soya adalah berasal dari keluarga legum dan merupakan tanaman semula jadi di Asia Barat. Kacang soya merupakan sumber protein yang penting bagi berjuta-juta orang selama lebih kurang 5 juta tahun. Kebanyakan produk kacang soya digunakan di bahagian Timur. Penanaman kacang soya boleh dilakukan pada pelbagai jenis tanah dan iklim termasuklah dari iklim tropika Brazil hinggalah iklim bersalji di pulau Hokkaido yang terletak di utara Jepun.

Lebih kurang 10% daripada bekalan kacang soya dunia digunakan untuk penghasilan pelbagai jenis produk makanan yang berasaskan kacang soya seperti tofu dan tempeh (Constantinos *et al.*, 2006). Seperti legum-legum yang lain, kualiti nutrisi kacang soya adalah terhad disebabkan oleh kandungan sulfurnya. Kacang soya mengandungi



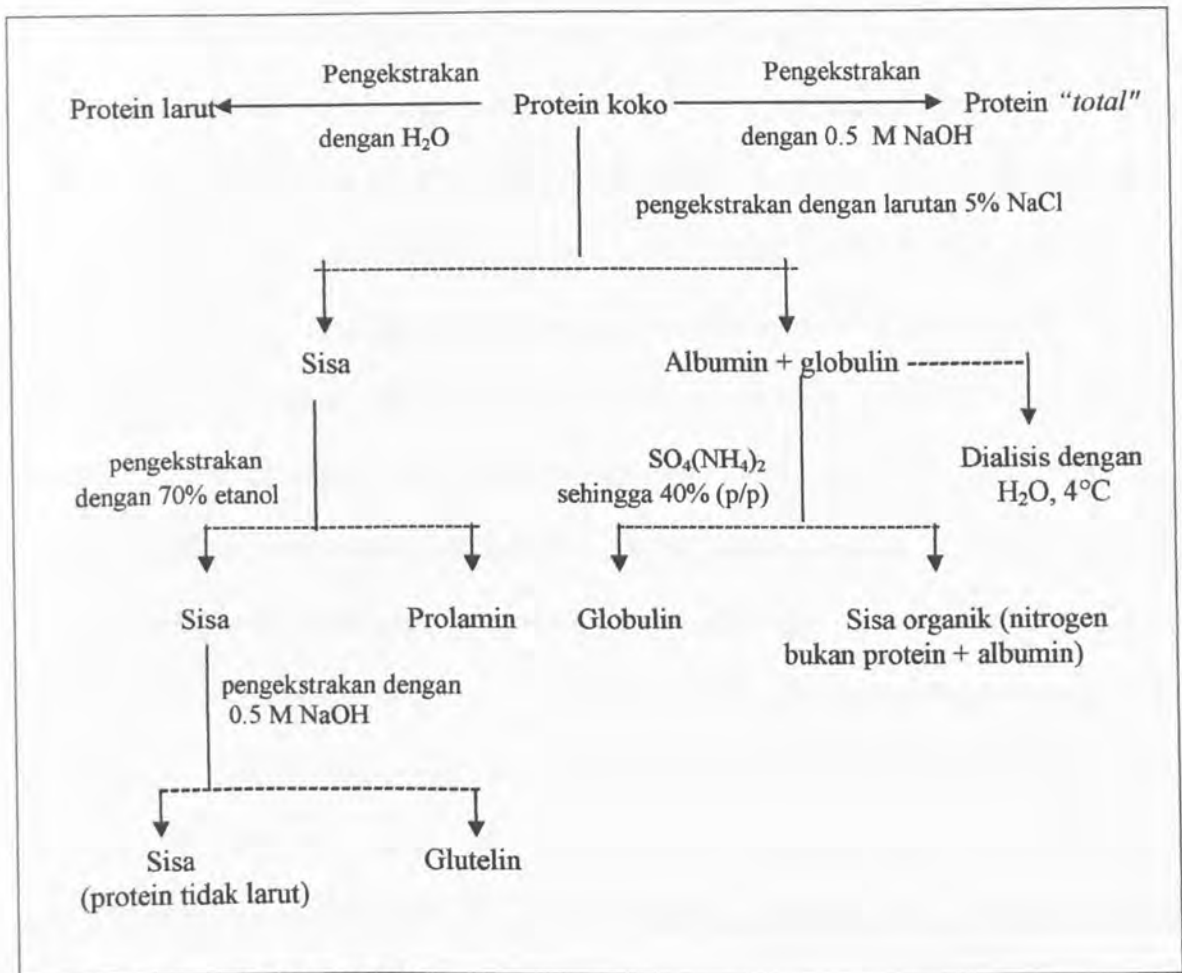
lebih kurang 36 hingga 38% protein (Brumm dan Hurburgh, 2002; Fehr *et al.*, 2003). Rajah 2.2 menunjukkan ringkasan proses untuk mendapatkan protein secara umumnya. Terdapat 2 storan protein kacang soya yang utama iaitu glycinin (11S) dengan berat molekul 360 kDa dan  $\beta$ -conglycinin (7S) yang mempunyai berat molekul 180 kDa yang tersimpan dalam sel vakuol biji, dan masing-masing merangkumi lebih kurang 40% dan 25% daripada jumlah keseluruhan protein biji kacang soya (Nielsen *et al.*, 1989). Kandungan storan protein ini berbeza mengikut jenis dan variasi kacang soya serta persekitaran (Cai dan Chang, 1999; Hughes dan Murphy, 1983; Saio *et al.*, 1969 dan Wolf *et al.*, 1961). Glycinin dan  $\beta$ -conglycinin memainkan peranan penting terhadap nilai pemakanan dan kualiti produk kacang soya, maka oleh yang demikian kajian terhadap kedua-dua storan protein ini telah dilakukan secara berterusan, dan struktur kristal bagi kedua-duanya telah ditentukan (Adachi *et al.*, 2003; Adachi *et al.*, 2001; Maruyama *et al.*, 2001). Min nisbah protein glycinin terhadap  $\beta$ -conglycinin adalah berbeza daripada 1.6 hingga 2.5 di antara variasi kacang soya (Fehr *et al.*, 2003; Maruyama *et al.*, 2001). Nisbah ini mempengaruhi kualiti protein kacang soya dan seterusnya mempengaruhi ciri-ciri berfungsi produk makanan yang berasaskan kacang soya (Cai dan Chang, 1999). Jika dibandingkan dengan protein daging, protein kacang soya mengandungi kurang asid amino yang mengandungi sulfur. Glycinin dan  $\beta$ -conglycinin juga berbeza dari aspek kandungan asid amino, iaitu glycinin mempunyai kandungan asid amino yang mengandungi sulfur yang tinggi yang mana merangkumi 3 hingga 4.5% jumlah residu asid amino (Nielsen *et al.*, 1989). Kandungan storan protein juga dipengaruhi oleh pengambilan nutrien oleh tumbuhan. Kedua-dua glycinin dan conglycinin merupakan



sumber nitrogen untuk perkembangan tumbuhan dan juga sebagai sumber nutrisi utama bagi biji kacang soya (Constantinos *et al.*, 2007).

Disebabkan oleh perbezaan ciri gelatin dalam pecahan storan protein, banyak kajian telah dijalankan untuk mencari perkaitan di antara protein ini dengan kualiti tofu tetapi keputusan yang diperoleh adalah sangat berbeza. Kajian terhadap kandungan protein 11S (glycinin) dan nisbah protein 11S kepada 7S ( $\beta$ -conglycinin) menunjukkan korelasi positif terhadap tofu kepadatan gel berdasarkan kepada sistem protein soya (Kang *et al.*, 1991; Murphy *et al.*, 1997 dan Saio *et al.*, 1969). Di samping itu, beberapa kajian awal juga mendapati protein 7S membentuk gel yang lebih padat berbanding protein 11S (Utsumi dan Kinsella, 1985), manakala kajian lain mendapati terdapat sedikit korelasi di antara nisbah protein 11S kepada 7S dengan kualiti protein (Skurray *et al.*, 1980 dan Taira, 1990).





(Sumber: Bonvehi & Coll, 1999)

**Rajah 2.2** Carta alir untuk mendapatkan pecahan protein.

Pembuatan tofu melibatkan interaksi banyak faktor yang mana faktor-faktor tersebut adalah seperti ciri-ciri fizikal contohnya kandungan protein total kacang soya (Schaefer dan Love, 1992; Shen *et al.*, 1976) dan kandungan komponen dua storan protein yang utama iaitu glycinin (11S) dan  $\beta$ -conglycinin (7S), dan nisbah 11S kepada 7S (Saio *et al.*, 1969). Tambahan pula, keadaan semasa pemprosesan mempengaruhi kualiti tofu. Kepekatan dan jenis pengental yang digunakan mempengaruhi tekstur tofu dan pembentukannya (Hou *et al.*, 1997; Sun dan Breene, 1991).



## RUJUKAN

- Adachi, M., J. Kanamori, T. Masuda, K. Yagasaki, K. Kitamura dan B. Mikami *et al.*, 2003. Crystal structure of soybean 11S globulin: glycinin A<sub>3</sub>B<sub>4</sub> homoheamer, *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, **100**, ms 7395–7400.
- Adachi, M., Y. Takenaka, A.B. Gidamis, B. Mikami dan S. Utsumi, 2001. Crystal structure of soybean proglycinin A<sub>1a</sub>B<sub>1b</sub> homotrimer, *Journal of Molecular Biology*, **305**, ms 291–305.
- AOAC, 1990. Official methods of analysis the Association of Official Analytical Chemist. Edisi ke-4. Association of Official Analytical Chemists Inc. Washington, USA.
- Avena-Bustillos, R.J., dan Krochta, J.M., 1993. Water vapor permeability of caseinate-based edible films as affected by pH, calcium crosslinking and lipid content. *J. Food Sci.* **58**, ms 904–907.
- Brandenburg, A.H., Weller, C.L., dan Testin, R.F., 1993. Edible films and coatings from soy protein. *J. Food Sci.* **58**, ms1086–1089.
- Brumm, T.J. dan C.R. Hurburgh Jr., 2002. Quality of the 2002 soybean crop from the United States, American Soybean Association, St. Louis, MO, ms 1–14.
- Cai, T., dan Chang, K.C., 1999. Processing effect on soybean storage proteins and their relationship with tofu quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**, ms 720–727.
- Cheftel, J.C., Cuq, J.-L., dan Lorient, D., 1985. Amino acids, peptides, and proteins. In: Fennema, O.R. (Ed.), *Food Chemistry*. Marcel Dekker, New York, ms 245–369.



- Constantinos, G. Z., Gagnon, C., Poysa, V., Khanizadeh, S., Cober, E.R., Chang, Victoria, dan Gleddie, S., 2007. Protein quality and identification of the storage protein subunits of tofu and null soybean genotypes, using amino acid analysis, one- and two-dimensional gel electrophoresis, and tandem mass spectrometry. *Food Research International*, **40**, ms 111-128.
- Coultate, T. P., 1989. Chapter 5: Proteins. Dlm: *Food: The Chemistry of its component*. Ed. ke-2. Royal Society of Chemistry London, ms 85-97.
- Derbyshire, E., Wright, D. J., dan Boulter, D., 1976. Leguminin and vicilin, storage proteins of legume seeds. *Phytochemistry*, **15**, ms 3-24.
- Ernst, A.J., Carr, M.E., Weakley, F.B., Hofreiter, B.T., dan Mehlretter, C.L., 1962. Dialdehyde starch-casein paper coating adhesives for improved wet-rub resistance. *TAPPI*, **45**, ms 646-650.
- Fehr, W.R., J.A. Hoeck, S.L. Johnson, P.A. Murphy, J.D. Nott dan G.I. Papilla *et al.*, 2003. Genotype and environmental influence on protein components of soybean, *Crop Science*, **43**, ms511-514.
- Fukushima, D., 2000. Soybean processing. In: S. Nakai and W. Modler, Editors, *Food Proteins: Processing and applications*, Wiley-VCH, New York, ms 309-342.
- Galvez, A.F., dan B.O. de Lumen, 1999. A soybean cDNA encoding a chromatin-binding peptide inhibits mitosis of mammalian cells. *Nat. Biotechnol.*, **17**, ms 495-500.
- Gennadios, A., dan Ghorpade, V.M., Weller, C.L., Hanna, M.A., 1996. Heat curing of soy protein films. *Trans. ASAE*, **39**, ms 575-579.



- Gennadios, A., McHugh, T.H., Weller, C.L., dan Krochta, J.M., 1994. Edible coatings and films based on proteins. In: Krochta, J.M., Baldwin, E.A., Nisperos-Carriedo, M. (Eds.), *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*. Technomic Publishing Company, Lancaster, PA, ms 201–277.
- Ghorpade, V.M., Li, H., Gennadios, A., dan Hanna, M.A., 1995. Chemically modified soy protein films. *Trans. ASA*, **38**, 1805–1808.
- Habeeb, A.F.S.A., dan Hiramoto, R., 1968. Reaction of proteins with glutaraldehyde. *Arch. Biochem. Biophys.*, **126**, ms 16–26.
- Hellerstein, M., dan D.H. Calloway, 1999. Antimitotic peptide characterized from soybean: role in protection from cancer?. *Nutr. Rev.*, **57**, ms 359–361.
- Hou, H.J., Chang, K.C., dan Shih, M.C., 1997. Yield and textural properties of soft tofu as affected by coagulation method. *Journal of Food Science*, **62**, ms 824–827.
- Hughes, S.A., dan Murphy, P.A., 1983. Varietal influence on the quantity of glycinin in soybeans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **31**, ms 376–379.
- J. Serra Bonvehí dan F. Ventura Coll, 1999. Protein quality assessment in cocoa husk. *Food Research International*, **32**, ms 201–208.
- Kang, L.J., Matsumura, Y., dan Mori, T., 1991. Characterization of texture and mechanical properties of heat-induced soy protein gels. *Journal of American Oil Chemists Society*, **68**, ms 339–345.
- Kennedy, A.R., 1995. The evidence for soybean products as cancer preventive agents. *J. Nutr.*, **12**, ms S733–S743.



- Kinsella, J. E., 1979. Functional properties of soy proteins. *Journal of The American Oil Chemists' Society*, **56**, ms 940-948.
- Kohyama, K., Sano, Y., dan Doi, E., 1995. Rheological studies on the gelation of tofu (Soybean curd). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **43**, ms 1808-1812.
- Krishnan, H.B., 2000. Biochemistry and molecular biology of soybean seed storage proteins, *Journal of New Seeds*, **2**, ms 1-25.
- Krochta, J.M., dan De Mulder-Johnston, C.D., 1997. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. *Food Technol.*, **51**, ms 61-74.
- Krstulovic, A. M., dan Brown, P. R., 1982. Reversed-phase High-Performance Liquid Chromatography. Wiley, New York.
- Kunte, L.A., Gennadios, A., Cuppett, S.L., Hanna, M.A., Weller, C.L., 1997. Cast films from soy protein isolates and fractions. *Cereal Chem.*, **74**, ms 115-118.
- Luthe, D. S., 1992. Analysis of storage of proteins in rice seeds. *Seed Analysis: Modern Methods of Plant Analysis*. Linskens, H. F. & Jackson, J. F. (eds.). Vol. 14, New Series. Springer-Verlag, Berlin, Germany, ms 159-175.
- Maruyama, N., M. Adachi, K. Takahashi, K. Yagasaki, M. Kohno dan Y. Takenaka *et al.*, 2001. Crystal structures of recombinant and native soybean  $\beta$ -conglycinin  $\beta$  homotrimers, *European Journal of Biochemistry*, **268**, ms 3595-3604.
- McVey, M.J., Pautsch, G.R. dan Baumel, C.P., 1995. Estimated domestic producer and end user benefits from genetically modifying U.S. soybeans. *J. Prod. Agric.*, **8**, ms 209-214.
- Molina, E., Aklile B. Defaye dan Dave A. Ledward, 2002. Soy protein pressure-induced gels. *Food Hydrocolloids*, **16** (6), ms 625-632.



- Morcillo, F., Alberlenc-Bertossi, F., Trouslot, P., Harmon, S., dan Duval, Y., 1997. Characterization of 2S and 7S storage proteins in embryos of oil palm. *Plant Science*, **122**, ms 141-151.
- Mujoo, R., Dianne T. Trinh dan Perry K. W. Ng, 2003. Characterization of storage proteins in different soybean varieties and their relationship to tofu yield and texture. *Food Chemistry*, **82**, ms 265-273.
- Murphy, P.A., 1984. Structural characteristics of soybean glycinin and -conglycinin. In: Shibles, R. (ed), 1984. *Proceedings, World Soybean Research Conference III*, West View Press, London, ms 143-151.
- Murphy, P.A., Chen, H.P., Hauck, C.C. dan Wilson, L.A., 1997. Soybean storage protein composition and tofu quality. *Food Technology*, **51**, ms 86-88.
- Murzin, A.G., S.E. Brenner, T. Hubbard dan C. Chothia, 1995. SCOP—a structural classification of proteins database for the investigation of sequences and structures. *J. Mol. Biol.*, **247**, ms 536-540.
- Nakamura, T., Utsumi, S., dan Mori, T., 1986. Mechanism of heat-induced gelation and gel properties of soybean 7S globulin. *Agricultural and Biological Chemistry*, **50**, ms 1289-1293.
- Nayudamma, Y., Joseph, K.T., dan Bose, S.M., 1961. Studies on the interaction of collagen with dialdehyde starch. *Am. Leather Chem. Assoc. J.*, **56**, ms 548-567.
- Neide K.K. Kamizake, Mauricio M. Gon@alves, C!assia T.B.V. Zaia, dan Dimas A. M. Zaia, 2003. Determination of total proteins in cow milk powder samples: a comparative study between the Kjeldahl method and spectrophotometric methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, **16**, ms 507-516.



- Nielsen, N.C., C.D. Dickinson, T.-J. Cho, V.H. Thanh, B.J. Scallan dan R.L. Fischer *et al.*, 1989. Characterization of the glycinin gene family in soybean. *Plant Cell*, **1**, ms 313–328.
- Noh, E. J., Kang, C., Hong, S. T., dan Yun, S. E., 2006. Freezing of soybeans influences the hydrophobicity of soy protein. *Food Chemistry*, **97**, ms 212-216.
- Nolting, B., 1999. *Biophysical Method. Protein Folding Kinetics*. Springer, Germany.
- Osborne, T.B., 1910. Die pflanzenprotein. *Ergeb Physiol*, **10**, ms 47-215.
- Saio, K., Kamiya, M. dan Watanabe, T., 1969. Food processing characteristics of soybean 11S and 7S proteins. Part I. Effect of difference of protein components among soybean varieties on formation of tofu gel. *Agricultural and Biological Chemistry*, **33**, ms 1301–1308.
- Schaefer, M.J. dan Love, J., 1992. Relationships between soybean compounds and tofu texture. *Journal of Food Quality*, **15**, ms 53–66.
- Serretti, C., Schapaugh Jr., W.T. dan Leffel, R.C., 1994. Amino acid profile of high seed protein soybean. *Crop Sci.*, **34**, ms 207–209.
- Shewry, P.R., dan Pandya, M.J., 1999. The 2S albumin storage proteins. In: P.R. Shewry and R. Casey, Editors, *Seed Proteins*, Kluwer Academic, Netherlands, ms 619–643.
- Shih, F.F., 1994. Interaction of soy isolate with polysaccharide and its effect on film properties. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **71**, ms 1281–1285.
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., dan Crouch, S. R., 2004. Fundamentals of Analytical Chemistry. Edisi ke-8. Thomson Brooks/Cole, United States of America, ms 973-993.



- Skurray, G., Cunich, J., dan Carter, O., 1980. The effect of different varieties of soybean and calcium ion concentration on the quality of tofu. *Food Chemistry*, **6**, ms 89–95.
- Sun, N. dan Breene, W.M., 1991. Calcium sulfate concentration influence on yield and quality of tofu from five soybean varieties. *Journal of Food Science*, **56**, ms 1604–1607.
- Taira, H., 1990. Quality of soybeans for processed foods in Japan. *Journal of Agriculture Research Quality*, **24**, ms 224–230.
- Thanh, V. H., dan Shibasaki, K., 1977. Beta conglycinin from soybean proteins. Isolation and immunological and physicochemical properties of the monomeric forms. *Biochimica and Biophysica Acta*, **490**, ms 370-384.
- Torun, B., 1992. Soy proteins as amino acid and protein sources for preschool-age children. In: F. Steinke, D.H. Waggle and M.N. Volgarev, Editors, *New Protein Foods in Human Health: Nutrition, Prevention, and Therapy*, CRC Press, Boca Raton Fl, ms 91–100.
- Utsumi, S. dan Kinsella, J.E., 1985. Structure-function relationship in food proteins: Subunit interactions in heat-induced gelation of 7S, 11S and soy isolate proteins. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **33**, ms 297–303.
- Wang, T.L., C. Domoney, C.L. Hedley, R. Casey dan M.A. Grusak, 2003. Can we improve the nutritional quality of legume seeds? *Plant Physiology*, **131**, ms 886–891.
- Wolf, W. J., Rackis, J. J., Smith, A. K., Sasame, H. A., dan Babcock, G. E., 1958. Behavior of the 11S protein of soybeans in acid solutions I. Effects of pH, ionic strength and time on ultracentrifugal and optical rotary properties. *Journal of the American Chemical Society*, **80**, ms 5730-5735.



Wolf, W.J., Babcock, G.E. dan Smith, A.K., 1961. Ultracentrifugal differences in soybean protein composition. *Nature*, **191**, ms 1395–1396.

