

**HUBUNGAN ANTARA NATRIUM KASEINAT DAN FOSFOLIPIDA
DALAM EMULSIFIKASI SERTA IMPLIKASINYA
TERHADAP PERUBAHAN SIFAT-SIFAT EMULSI**

Oleh: Teti Estiasih

Staf Pengajar Jur. Tek. Hasil Pertanian - Fakultas Teknologi Pertanian – Universitas Brawijaya

ABSTRAK

Pada penelitian ini dicoba dikaji hubungan antara natrium kaseinat dan fosfolipida kuning telur dalam sistem emulsi. Natrium kaseinat dan fosfolipida banyak digunakan secara bersama-sama sebagai pengemulsi dalam produk makanan. Implikasi dari hubungan tersebut terhadap sifat-sifat emulsi yang distabilisasi protein dikaji dengan menganalisis perubahan sifat-sifat emulsifikasi protein.

Hubungan antara natrium kaseinat dan fosfolipida dalam emulsi dilihat dari perubahan protein teradsorpsi, jumlah fosfolipida yang teradsorpsi pada permukaan globula minyak, dan kemungkinan pembentukan kompleks antara kasein dan fosfolipida. Hasil analisis menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi fosfolipida dalam sistem emulsi yang distabilisasi natrium kaseinat menyebabkan penurunan protein dan peningkatan fosfolipida yang ter-adsorpsi pada permukaan globula minyak, yang mengindikasikan terjadi proses pergantian natrium kaseinat oleh fosfolipida untuk teradsorpsi pada permukaan globula minyak. Juga terjadi pembentukan kompleks kasein-fosfolipida yang bersifat lebih hidrofilik dan menyebabkan natrium kaseinat terdesorpsi dari permukaan globula minyak.

Implikasi proses pergantian dan pembentukan kompleks adalah terjadi penurunan protein teradsorpsi, persentase protein teradsorpsi, dan indeks stabilitas emulsi. Indeks akti-vitas pengemulsi dan luas antar permukaan menurun sampai penambahan fosfolipida 1,0% dan meningkat pada penambahan fosfolipida lebih lanjut. Beban muatan protein meningkat sampai penambahan fosfolipida 1,0% dan menurun pada penambahan fosfolipida lebih lanjut. Perubahan tersebut disebabkan oleh perubahan komposisi kasein dan fosfolipida pada permukaan globula minyak.

Kata kunci: sifat emulsifikasi protein, proses pergantian, pembentukan kompleks

***SODIUM CASEINATE-PHOSPHOLIPIDS BEHAVIOR IN EMULSIFICATION
AND ITS IMPLICATION TO EMULSIFYING PROPERTIES***

ABSTRACT

This research was conducted to analyze sodium caseinate-phospholipids behaviour in emulsion. These substances were used synergistically as emulsifier in many food systems. The implication of its behavior to the changes of protein emulsifying properties was further studied.

Sodium caseinate-phospholipids relationship was analyzed from the changes of adsorbed protein, adsorbed phospholipids, and casein-phospholipids complexation. The results showed that the increasing phospholipids concentration in sodium caseinate stabilized emulsion made adsorbed protein decrease and adsorbed phospholipids increase. These indicated the displacement of caseinate by phospholipids to adsorb at oil globule interface. The more hydrophilic casein-phospholipids complex was formed and desorbed sodium caseinate from oil globule interface.

The results of displacement and complexation were decreasing adsorbed protein, percentage of adsorbed protein, and emulsion stability index. Emulsifying activity index and interfacial area decreased up to phospholipids concentration of 1,0%, and then increased. Protein load increased up to the phospholipids concentration of 1,0% and further decreased. These were caused by the changes of sodium caseinate-phospholipids composition at oil globule interface.

Keywords: protein emulsifying properties, displacement, complexation.

PENDAHULUAN

Pada sistem emulsi yang mengandung protein dan surfaktan, terbentuk hubungan antara protein dan surfaktan yang perilakunya tergantung dari aktivitas permukaan protein dan surfaktan. Hubungan tersebut dapat berupa adsorpsi kompetitif, proses pergantian, dan interaksi antara protein dan surfaktan.

Pada adsorpsi kompetitif, protein dan surfaktan berkompetisi untuk menempati antar permukaan, dimana molekul yang mempunyai aktivitas permukaan paling tinggi atau molekulnya paling banyak akan mendominasi, dan tergantung dari rasio antara surfaktan dan protein dalam larutan. Pada proses pergantian, surfaktan karena aktivitas permukaannya lebih tinggi, akan mengganti protein dari antar permukaan (Nylander dan Ericsson, 1997). Apabila rasio kritis surfaktan:protein tercapai, surfaktan secara sempurna menggantikan seluruh protein dari antar permukaan (Cornec *et al.*, 1998).

Protein dan surfaktan dapat berinteraksi dalam larutan membentuk kompleks protein-surfaktan yang mempunyai sifat-sifat yang berbeda dengan protein murni dengan aktivitas permukaan meningkat atau menurun, atau menyebabkan penataan yang lebih efisien pada antar permukaan (Bos *et al.*, 1997).

Fosfolipida, terutama fosfatidilkolin, sering ditambahkan pada berbagai makan-an olahan. Fosfolipida ini berperan sebagai pengemulsi, baik fosfolipida saja atau bersama-sama dengan protein (Bos *et al.*, 1997). Fosfolipida kuning telur mening-

katkan stabilitas emulsi pada konsentrasi protein rendah dan menempati antar permukaan, tetapi tidak terjadi proses pergantian protein oleh fosfolipida (Fang dan

Dalgleish, 1996a). Fosfolipida kuning telur mempunyai efek sinergis terhadap sifat emulsifikasi protein globular melalui pembentukan kompleks protein-fosfolipida (Nakamura *et al.*, 1988). Fosfolipida kuning telur mempunyai efek sinergis terhadap sifat emulsifikasi protein melalui adsorpsi di celah-celah pada antar permukaan yang tidak distabilisasi protein (Corredig dan Dalgleish, 1998).

Istilah yang biasa digunakan untuk menjelaskan sifat-sifat emulsifikasi protein adalah kapasitas pengemulsian (g minyak teremulsi/g protein), stabilitas emulsi (kecepatan pembentukan krim, koalesensi, flokulasi), indeks aktivitas pengemulsian (EAI=*Emulsifying Activity Index*) (luas antar permukaan yang distabilisasi per sa-tuan berat protein, m^2/g), luas antar permukaan (m^2/ml emulsi), beban muatan protein atau *protein load* (mg/m^2) (Mulvihill, 1997), indeks stabilitas emulsi (ESI= *Emulsion Stability Index*), dan protein ter-adsorpsi (g protein/ml emulsi) (Damodaran, 1996).

Pada penelitian ini akan dikaji perubahan komposisi lapisan yang teradsorpsi pada permukaan globula minyak dalam emulsi dengan cara menganalisis hubungan antara natrium kaseinat dan fosfolipida kuning telur dalam sistem emulsi. Perubahan komposisi lapisan yang teradsorpsi tersebut kemungkinan dapat menjelaskan perubahan sifat-sifat sistem emulsi tersebut.

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah diketahui keefektifan penambahan fosfolipida pada proses emulsifikasi dengan natrium kaseinat, dan diketahui penyebab perubahan sifat-sifat emulsi yang distabilisasi natrium kaseinat dengan adanya penambahan fosfolipida.

METODE PENELITIAN

1. Bahan-bahan penelitian

Bahan baku yang digunakan untuk pembuatan emulsi adalah natrium kaseinat teknis (Sigma Co.), fosfolipida yang di-ekstrak dari kuning telur dengan metode Schneider (1989), dan minyak ikan berupa trigliserida kaya asam lemak ω -3 yang dibuat dengan metode Moffat *et al.* (1993) yang dimodifikasi..

Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah standar α , β , κ kasein, standar fosfolipida, glisin, akrilamida, bis akrilamida, tris, TEMED, amonium persulfat (Sigma Co.), aseton (teknis), kloroform, SDS, merkaptotanol, KCl, biru komasi, silika gel G60, metanol, aseton (semua untuk analisis, dari Merck), nitrogen (PT Aneka Gas, Yogyakarta), dan es kering (PT Fuji-gas, Surabaya).

2. Peralatan penelitian

Peralatan yang digunakan adalah neraca analitik (HR-300, AND), alat-alat gelas, freezer, homogenizer (Altech), densitoscanner visu-24 (Helena), TLC scanner (TLC Scanner 3, Camag), spektrofotometer (uv-1201v, Shimadzu), sentrifusa (T51-1, MLW), dan ultrasentrifusa (Beckman).

3. Jalan penelitian

a. Pembuatan emulsi

Emulsi dibuat dengan cara mencampurkan larutan natrium kaseinat dan trigliserida kaya asam lemak ω -3. Fosfolipida ditambahkan pada berbagai taraf konsentrasi, sehingga campuran yang dihasilkan mempunyai komposisi natrium kaseinat 10% (b/v), trigliserida kaya asam lemak ω -3 5% (b/v) dan fosfolipida 0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; dan 2,5% (b/v). Campuran dihomogenisasi pada tekanan 2500 psi selama 15 menit.

Konsentrasi fosfolipida yang ditambahkan didasarkan pada pertimbangan bahwa pada rasio molar (R) fosfolipida terhadap natrium kaseinat yang rendah

($R < 10$), fosfolipida dapat meningkatkan stabilitas emulsi yang distabilisasi natrium kaseinat (Fang dan Dalgleish, 1996a). Berat molekul natrium kaseinat adalah 23.000 Da (Euston *et al.*, 1995) dan fosfatidilkolin kuning telur sebagai komponen fosfolipida kuning telur terbanyak adalah 716 Da (Dickinson dan Yamamoto, 1996), sehingga penambahan fosfolipida 0-2,5% menghasilkan R sebesar 0-8.

b. Analisis hubungan kasein-fosfolipida

Globula-globula minyak dalam emulsi dipisahkan dari fase kontinu dengan ultrasentrifugasi pada kecepatan 60.000 X g selama 30 menit. Globula-globula minyak akan terpisah pada bagian atas tabung membentuk fase krim (Euston *et al.*, 1995). Emulsi yang dihasilkan dianalisis untuk mengetahui hubungan antara natrium kaseinat dan fosfolipida, meliputi:

1. Analisis kemungkinan pembentukan kompleks kasein-fosfolipida dengan *Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (PAGE).
2. Ekstraksi fosfolipida dari fase krim (Courthaudon *et al.*, 1991).
3. Konsentrasi fosfolipida pada fase krim dengan TLC (Nzai dan Proctor, 1998).
4. Protein teradsorpsi (Euston *et al.*, 1995).

Analisis konsentrasi fosfolipida pada fase krim dan protein teradsorpsi dilakukan untuk menganalisis kemungkinan proses pergantian protein oleh fosfolipida untuk teradsorpsi pada permukaan globula minyak.

c. Analisis sifat-sifat emulsi

Meliputi sifat-sifat emulsi yang distabilisasi oleh protein, yaitu:

1. Protein teradsorpsi (Euston *et al.*, 1995).
2. Persentase protein teradsorpsi (Aoki *et al.*, 1984).

3. EAI (Pearce dan Kinsella, 1978).
4. Luas antar permukaan (Cameron *et al.*, 1991).
5. Beban muatan protein (Britten dan Giroux, 1993).
6. ESI (Pearce dan Kinsella, 1978).

d. Analisis statistik

Variabel yang diteliti pada pembuatan emulsi dan mikrokapsul adalah konsentrasi penambahan fosfolipida dengan taraf perlakuan sebagai berikut:

- $A_1 = 0\%$ (b/v)
- $A_2 = 0,5\%$ (b/v)
- $A_3 = 1,0\%$ (b/v)
- $A_4 = 1,5\%$ (b/v)
- $A_5 = 2,0\%$ (b/v)
- $A_6 = 2,5\%$ (b/v)

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak lengkap dua kali ulangan. Jika perlakuan berbeda nyata, dilakukan uji lanjut dengan DMRT (*Duncan Multiple Range Test*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hubungan kasein-fosfolipida dalam emulsi

Emulsi yang dihasilkan dianalisis untuk mengetahui hubungan antara natrium kaseinat dan fosfolipida dalam emulsi, apakah terjadi pembentukan kompleks kasein-fosfolipida dengan aktivitas permukaan meningkat atau menurun, atau terjadi proses pergantian kasein oleh fosfolipida untuk teradsorpsi pada permukaan globula minyak. Hubungan kasein-fosfolipida tersebut dapat menjelaskan perubahan komposisi lapisan yang teradsorpsi pada permukaan globula minyak, yang dapat menjelaskan perubahan sifat-sifat emulsi.

a. Analisis kemungkinan pembentukan kompleks kasein-fosfolipida

Analisis kemungkinan pembentukan kompleks kasein-fosfolipida dilakukan pada fase kontinyu karena diduga kompleks yang terbentuk mempunyai aktivitas permukaan yang menurun sehingga tidak teradsorpsi pada permukaan globula minyak dan larut pada fase kontinyu. Menurut Fang dan Dalgleish (1996b), diduga terjadi reaksi spesifik antara dioleilfosfatidilkolin dengan β kasein yang membentuk kompleks yang lebih hidrofilik dan mempunyai aktivitas permukaan yang menurun.

Protein kasein terdiri dari α , β , dan κ kasein (Robson dan Dalgleish, 1987). Analisis dengan PAGE menunjukkan pita-pita α , β , dan κ kasein; dan terdapat pita dengan jarak migrasi yang lebih pendek dari pita-pita α , β , dan κ kasein. Pita tersebut kemungkinan merupakan kompleks kasein-fosfolipida. Jarak migrasi yang lebih pendek dari α , β , dan κ kasein kemungkinan disebabkan berat molekul kompleks tersebut lebih besar dari masing-masing berat molekul jenis kasein, karena pengikatan fosfolipida oleh kasein akan menambah berat molekulnya. Selain itu kemungkinan juga terjadi netralisasi muatan kasein oleh fosfolipida sehingga pergerakan kompleks tersebut lebih lambat dari masing-masing jenis kasein. Menurut Bos *et al.* (1997), interaksi elektrostatik bersi-fat penting pada interaksi antara protein-fosfolipida pada permukaan globula lemak.

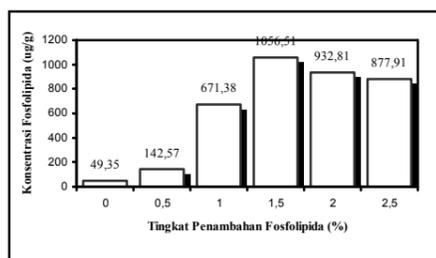
Peningkatan konsentrasi fosfolipida dalam sistem emulsi menyebabkan peningkatan proporsi kasein yang membentuk kompleks dengan fosfolipida. Semakin tinggi fosfolipida yang ditambahkan, fosfolipida semakin tersedia untuk membentuk kompleks dengan kasein.

b. Analisis kemungkinan proses pergantian kasein oleh fosfolipida

Analisis kemungkinan proses pergantian kasein oleh fosfolipida dari per-

mukaan globula minyak dapat diketahui dari perubahan konsentrasi fosfolipida dan kasein yang teradsorpsi pada permukaan globula minyak. Perubahan konsentrasi fosfolipida yang teradsorpsi pada permukaan globula minyak dapat diketahui dari perubahan konsentrasi fosfolipida pada fase krim, karena fase krim merupakan kumpulan globula minyak yang dipisahkan dari fase kontinyu dengan ultra-sentrifugasi. Konsentrasi kasein yang teradsorpsi pada permukaan globula minyak ditunjukkan oleh protein teradsorpsi, yaitu massa protein yang teradsorpsi pada permukaan globula minyak per volume emulsi (mg/ml).

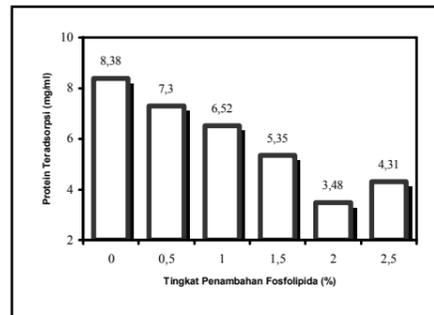
Peningkatan konsentrasi fosfolipida dalam sistem emulsi menyebabkan peningkatan konsentrasi fosfolipida pada fase krim sampai penambahan fosfolipida 1,5% (Gambar 1). Penambahan fosfolipida dalam emulsi lebih dari 1,5% menyebabkan konsentrasi fosfolipida fase krim yang secara statistik tidak berubah.



Gambar 1. Konsentrasi fosfolipida pada permukaan globula minyak ($\mu\text{g/g}$ fase krim)

Penambahan fosfolipida menyebabkan penurunan jumlah protein yang teradsorpsi (Gambar 2) dan peningkatan fosfolipida (Gambar 1) pada permukaan globula minyak. Fosfolipida mendesorpsi protein yang teradsorpsi pada permukaan globula minyak melalui pembentukan kompleks kasein-fosfolipida yang larut pada fase kontinyu dan proses pergantian kasein oleh fosfolipida untuk teradsorpsi pada permukaan globula minyak.

pa-da permukaan globula minyak yang diindikasikan oleh peningkatan konsentrasi fosfolipida pada fase krim dan penurunan protein teradsorpsi.



Gambar 2. Protein yang teradsorpsi pada permukaan globula minyak

Proses pergantian tersebut kemungkinan disebabkan aktivitas permukaan fosfolipida lebih tinggi dibandingkan natrium kaseinat, sehingga fosfolipida mempunyai preferensi untuk teradsorpsi. Menurut Mc-Clements (1999) molekul kecil surfaktan mempunyai afinitas terhadap antar permukaan yang lebih tinggi dibandingkan protein pada konsentrasi surfaktan yang tinggi, dan cenderung untuk menggantikan protein dari antar permukaan.

2. Perubahan sifat-sifat emulsifikasi protein

a. Protein teradsorpsi

Penambahan fosfolipida menyebabkan penurunan jumlah protein yang teradsorpsi (Gambar 2) dan peningkatan fosfolipida (Gambar 1) pada permukaan globula minyak. Fosfolipida mendesorpsi protein yang teradsorpsi pada permukaan globula minyak melalui pembentukan kompleks kasein-fosfolipida yang larut pada fase kontinyu dan proses pergantian kasein oleh fosfolipida untuk teradsorpsi pada permukaan globula minyak.

Penambahan fosfolipida 0,5 dan 1,0% menyebabkan penurunan protein ter-adsorpsi yang nyata pada taraf $\alpha=0,05$. Penambahan fosfolipida lebih dari 1,0% menyebabkan penurunan protein teradsorpsi lebih lanjut yang sangat nyata pada taraf $\alpha=0,01$. Pada penambahan fosfolipida 2,5% protein teradsorpsi sedikit mengalami peningkatan tetapi tidak nyata. Belum diketahui pasti penyebab peningkatan tersebut. Apabila dihubungkan dengan konsentrasi fosfolipida pada fase krim, pada tingkat penambahan fosfolipida ini, konsentrasi fosfolipida pada fase krim sedikit mengalami penurunan (Gambar 1). Tingkat penambahan fosfolipida sangat mempengaruhi kemampuan natrium kaseinat untuk teradsorpsi pada antar permukaan.

Pada penelitian ini, protein yang teradsorpsi per mililiter emulsi sangat tinggi. Menurut Anton dan Gandemer (1997), ketika antar permukaan telah tertutup oleh protein secara sempurna, lapisan protein tambahan akan melapisi antar permukaan dan membentuk lapisan ganda. Lapisan protein tambahan ini menstabilkan emulsi. Pada penelitian ini, tingginya nilai protein teradsorpsi menunjukkan kemungkinan protein teradsorpsi dalam bentuk lapisan ganda. Menurut Euston dan Hirst (1999), pada konsentrasi protein yang tinggi, kasein membentuk lapisan ganda yang terikat lemah pada lapisan protein yang teradsorpsi. Karena dalam bentuk lapisan ganda, hanya sejumlah kecil segmen per molekul yang teradsorpsi. Keadaan ini menyebabkan kemungkinan desorpsi sangat tinggi.

Fang dan Dagleish (1996a) melaporkan bahwa pada konsentrasi kasein tinggi (>1%), adanya fosfatidilkolin kuning telur menyebabkan lapisan protein yang melapisi antar permukaan lebih tipis, karena kasein diganti oleh fosfolipida. Ada kemungkinan fosfolipida menginduksi perubahan konformasi protein yang teradsorpsi, sehingga protein yang asalnya

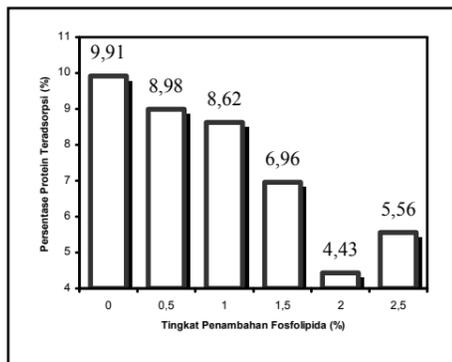
teradsorpsi menjadi terdesorpsi, menyebabkan protein teradsorpsi menjadi menurun.

b. Persentase protein teradsorpsi

Persentase protein teradsorpsi merupakan persentase dari protein yang teradsorpsi pada permukaan globula minyak terhadap total protein yang ada dalam sistem emulsi. Persentase protein teradsorpsi menunjukkan proporsi protein yang teradsorpsi yang menstabilisasi globula minyak.

Sistem emulsi yang distabilisasi natrium kaseinat tanpa penambahan fosfolipida menunjukkan persentase protein teradsorpsi yang tertinggi yaitu 9,91%. Nilai ini menunjukkan bahwa hanya 9,91% dari protein yang teradsorpsi pada antar permukaan, sedangkan sebesar 90,09% protein ada pada fase kontinyu. Rendahnya protein teradsorpsi pada penelitian ini disebabkan rasio antara protein:minyak yang tinggi yaitu 2:1. Kemungkinan pada konsentrasi minyak yang rendah terdapat keterbatasan pembentukan globula minyak, sehingga terjadi keterbatasan protein untuk teradsorpsi pada permukaan globula minyak.

Penambahan fosfolipida menyebabkan penurunan persentase protein teradsorpsi (Gambar 3). Semakin tinggi konsentrasi fosfolipida, persentase protein teradsorpsi semakin menurun, kecuali pada konsentrasi fosfolipida 2,5% terjadi sedikit peningkatan dibandingkan konsentrasi fosfolipida 2,0%. Penurunan persentase protein teradsorpsi ini disebabkan oleh proses desorpsi protein dari permukaan permukaan globula minyak. Proses ini menyebabkan persentase protein pada fase kontinyu semakin meningkat.



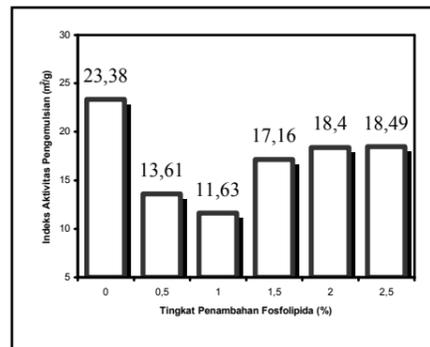
Gambar 3. Persentase protein yang teradsorpsi pada permukaan globula minyak terhadap total protein yang ada dalam emulsi

Emulsi tanpa penambahan fosfolipida menunjukkan persentase protein teradsorpsi yang tertinggi tetapi tidak berbeda nyata (taraf $\alpha=0,05$) dengan persentase protein teradsorpsi dengan konsentrasi fosfolipida 0,5 dan 1,0%. Penambahan fosfolipida lebih besar dari 1,0% menyebabkan penurunan persentase protein teradsorpsi yang nyata pada taraf $\alpha=0,05$. Pada konsentrasi ini jumlah fosfolipida telah cukup banyak untuk mendesorpsi protein dari permukaan globula minyak sehingga secara statistik persentase protein teradsorpsi menurun.

Penurunan persentase protein teradsorpsi pada konsentrasi fosfolipida 2,0 dan 2,5% berbeda nyata (taraf $\alpha=0,05$) dengan konsentrasi fosfolipida yang lain. Pada konsentrasi fosfolipida 2,5% terjadi sedikit peningkatan persentase protein teradsorpsi tetapi tidak nyata. Belum diketahui penyebab peningkatan tersebut. Bila dihubungkan dengan konsentrasi fosfolipida pada fase krim, pada tingkat penambahan fosfolipida ini terjadi sedikit penurunan fosfolipida yang teradsorpsi pada permukaan globula minyak.

c. Indeks aktivitas pengemulsian

Salah satu sifat emulsi yang diteliti pada penelitian ini adalah indeks aktivitas pengemulsian (EAI). Aktivitas pengemulsian merupakan luas antar permukaan yang distabilisasi per unit massa protein (Haque dan Kinsella, 1989). Luas antar permukaan berkaitan erat dengan kemampuan pengemulsi untuk menutupi permukaan globula minyak dan menstabilkan emulsi (Dickinson dan Stainsby, 1988).



Gambar 4. Indeks aktivitas pengemulsian sebagai pengaruh penambahan fosfolipida

Pada penelitian ini emulsi yang distabilisasi natrium kaseinat tanpa penambahan fosfolipida menunjukkan nilai EAI yang tertinggi. Penambahan fosfolipida pada taraf 0,5 dan 1,0% menurunkan EAI, tetapi EAI meningkat kembali pada konsentrasi fosfolipida 1,5; 2,0; dan 2,5% (Gambar 4). Penambahan fosfolipida pada konsentrasi 0,5 dan 1,0% menghasilkan nilai EAI yang berbeda nyata (taraf $\alpha=0,05$) dengan konsentrasi fosfolipida yang lain.

Fenomena ini dapat dijelaskan oleh proses desorpsi natrium kaseinat dari antar permukaan oleh fosfolipida. Pada konsentrasi fosfolipida 0,5 dan 1,0% sebagian natrium kaseinat pada antar permukaan di-desorpsi oleh fosfolipida yang ditunjukkan dengan semakin menurunnya protein teradsorpsi pada antar permukaan dan meningkatnya konsentrasi fosfolipida pada fase krim.

Proses desorpsi terjadi melalui pembentukan kompleks kasein-fosfolipida dan proses pergantian kasein oleh fosfolipida dari permukaan globula minyak.

Pada konsentrasi ini fosfolipida tidak cukup banyak untuk menutup antar permukaan yang ditinggalkan natrium kaseinat. Keadaan ini menyebabkan sebagian globula minyak tidak tertutup oleh kasein atau fosfolipida, sehingga memudahkan flokulasi dan/atau koalesensi yang menyebabkan penurunan luas antar permukaan, sehingga nilai luas antar permukaan per massa protein menurun yang berarti EAI menurun.

Sifat pelapisan protein pada antar permukaan minyak-air berbeda dengan sifat pelapisan molekul kecil surfaktan. Menurut McClements (1999), protein merupakan biopolimer amfifilik dengan banyak lokasi pengikatan. Molekul kecil surfaktan merupakan molekul tunggal dengan satu lokasi pengikatan. Keadaan ini menyebabkan permukaan globula minyak yang ditinggalkan kasein tidak seluruhnya ditutupi oleh fosfolipida dan/atau kasein pada konsentrasi fosfolipida yang rendah. Keadaan ini menyebabkan kemungkinan terjadi flokulasi dan/atau koalesensi, sehingga ukuran globula minyak meningkat atau luas antar permukaan menurun, menyebabkan nilai EAI menurun.

EAI meningkat kembali pada penambahan fosfolipida lebih dari 1,5%. Jumlah fosfolipida yang ditambahkan telah cukup banyak untuk menutupi antar permukaan yang ditinggalkan kasein. Adanya fosfolipida yang menutupi antar permukaan menggantikan protein yang terdesorpsi menyebabkan peningkatan kembali nilai EAI.

Pada konsentrasi fosfolipida 1,5% kemungkinan fosfolipida cukup banyak untuk menutupi antar permukaan yang ditinggalkan oleh protein. Penambahan fosfolipida lebih lanjut tidak menyebabkan semua fosfolipida yang ditambahkan teradsorpsi pada antar permukaan yang dapat dilihat dari konsentrasi fosfolipida

pada fase krim yang tetap. Keadaan ini menyebabkan peningkatan EAI yang tidak berarti.

Secara umum penurunan EAI pada sistem emulsi yang ditambah fosfolipida disebabkan oleh proses desorpsi protein oleh fosfolipida dari antar permukaan yang menyebabkan luas antar permukaan yang terbentuk per unit berat protein menurun sehingga EAI menurun. Penurunan luas antar permukaan ini kemungkinan disebabkan oleh proses koalesensi dan/atau flokulasi, karena tidak semua permukaan globula minyak ditutupi oleh protein dan/atau fosfolipida.

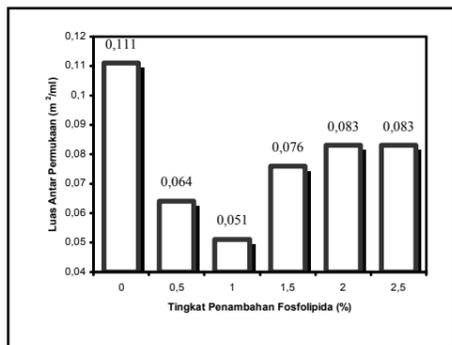
d. Luas antar permukaan

Salah satu sifat emulsi yang diteliti pada penelitian ini adalah luas antar permukaan (*interfacial area*). Luas antar permukaan tergantung dari ukuran globula-globula minyak dalam emulsi. Semakin kecil ukuran globula minyak, luas antar permukaan semakin tinggi dan emulsi semakin stabil.

Pada penelitian ini, emulsi yang distabilisasi oleh natrium kaseinat tanpa penambahan fosfolipida menunjukkan luas antar permukaan yang paling tinggi. Semakin kecil ukuran globula minyak dalam emulsi, luas antar permukaan semakin tinggi dan emulsi semakin stabil. Konsentrasi natrium kaseinat 10% dan minyak 5% menghasilkan luas antar permukaan sebesar 0,11 m²/ml. Sebagai perbandingan, luas antar permukaan globula lemak dalam susu sapi adalah 0,08 m²/ml (Walstra dan Jenness, 1984).

Penambahan fosfolipida menyebabkan penurunan luas antar permukaan (Gambar 5). Fosfolipida menyebabkan penurunan jumlah protein yang teradsorpsi pada permukaan globula minyak. Kemungkinan penurunan ini menyebabkan sebagian permukaan globula minyak tidak tertutup oleh protein, sehingga menyebabkan flokulasi dan/atau koalesensi yang meningkatkan

ukuran globula minyak dan menurunkan luas antar permukaan. Walaupun fosfolipida dapat menggantikan protein yang terdesorpsi dari permukaan globula minyak, fosfolipida kemungkinan tidak seefektif kasein dalam mencegah globula minyak dari proses flokulasi dan/ atau koalesensi.



Gambar 5. Luas antar permukaan sebagai pengaruh penambahan fosfolipida

Pada konsentrasi fosfolipida 0,5 dan 1,0%, luas antar permukaan menurun tajam, yang sangat berbeda nyata dengan luas antar permukaan pada sistem emulsi tanpa penambahan fosfolipida. Penurunan luas antar permukaan ini diduga disebabkan oleh pembentukan kompleks kasein-fosfolipida yang larut fase kontinyu dan proses pergantian kasein oleh fosfolipida yang menyebabkan protein terdesorpsi dari permukaan globula minyak. Protein yang terdesorpsi tersebut tidak cukup untuk diganti oleh fosfolipida yang ditambahkan, sehingga sebagian permukaan globula minyak tidak tertutup oleh natrium kaseinat atau fosfolipida. Adanya permukaan globula minyak yang tidak tertutup oleh protein atau fosfolipida ini kemungkinan menyebabkan flokulasi dan/atau koalesensi, sehingga luas antar permukaan menurun.

Pada konsentrasi fosfolipida 1,5%, terjadi peningkatan kembali luas antar

permukaan yang nyata (taraf $\alpha=0,05$). Pada konsentrasi ini jumlah fosfolipida yang menggantikan natrium kaseinat dari permukaan globula minyak cukup banyak, jumlah fosfolipida ini kemungkinan cukup mampu mencegah koalesensi dan/atau flokulasi.

Pada penambahan fosfolipida 2,0 dan 2,5% luas antar permukaan walaupun meningkat tetapi peningkatan tersebut tidak nyata. Pada konsentrasi ini, fosfolipida yang ditambahkan cukup banyak untuk menutupi permukaan globula minyak yang sebelumnya distabilisasi oleh natrium kaseinat. Peningkatan konsentrasi fosfolipida ini menyebabkan flokulasi dan/atau koalesensi yang terjadi lebih sedikit dibandingkan konsentrasi fosfolipida $\leq 1,5\%$.

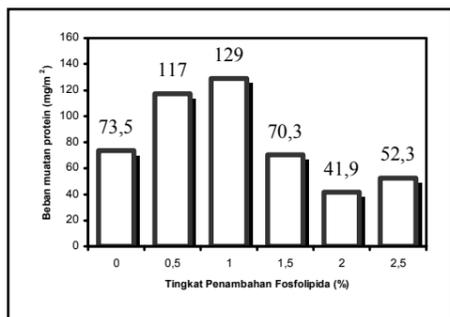
e. Beban muatan protein

Beban muatan protein merupakan massa protein yang dibutuhkan untuk menutupi permukaan globula lemak yang terbentuk selama emulsifikasi (Dickinson dalam McClements, 1999). Pada penelitian ini beban muatan protein diukur dengan cara membagi nilai protein teradsorpsi (mg/ml) dengan luas antar permukaan (m²/ml).

Tingginya nilai beban muatan protein pada penelitian ini disebabkan tingginya konsentrasi natrium kaseinat dan rendahnya konsentrasi minyak yang digunakan dalam emulsifikasi. Hasil penelitian Euston *et al.* (1995) menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi natrium kaseinat menyebabkan peningkatan beban muatan protein. Tingginya nilai beban muatan protein ini diduga disebabkan oleh terbentuknya lapisan ganda protein pada permukaan globula minyak karena jumlah protein yang digunakan dalam emulsifikasi cukup tinggi. Menurut Srinivasan *et al.*, (1996), lapisan ganda protein dapat terbentuk pada sistem emulsi dengan konsentrasi minyak rendah sehingga

terdapat ke-terbatasan pembentukan globula-globula minyak. Peningkatan konsentrasi minyak menyebabkan protein yang teradsorpsi menyebar membentuk lapisan yang lebih tipis, sehingga beban muatan protein menurun.

Penambahan fosfolipida sampai dengan konsentrasi 1,0% menyebabkan peningkatan beban muatan protein (Gambar 6) yang berbeda sangat nyata (taraf $\alpha=0,01$) dengan konsentrasi fosfolipida yang lain. Peningkatan beban muatan protein ini disebabkan oleh penurunan luas antar permukaan sampai dengan konsentrasi fosfolipida 1,0%. Seperti telah diuraikan sebelumnya, penurunan luas antar permukaan sampai dengan konsentrasi fosfolipida 1,0% disebabkan oleh natrium kaseinat terdesorpsi dari antar permukaan



Gambar 6. Beban muatan protein sebagai pengaruh penambahan fosfolipida

dan fosfolipida yang ada tidak cukup untuk menstabilisasi globula minyak, sehingga terjadi flokulasi dan/atau koalesensi yang menyebabkan luas antar permukaan menurun tajam. Walaupun protein teradsorpsi juga mengalami penurunan, tetapi penurunan tersebut tidak setajam penurunan luas antar permukaan, sehingga nilai beban muatan protein mengalami peningkatan.

Fang dan Dagleish (1996a) melaporkan bahwa peningkatan beban muatan protein pada konsentrasi kasein rendah disebabkan oleh ketidakstabilan oleh

adanya dioleilfosfatidilkolin dalam sistem emulsi. Penambahan dioleilfosfatidilkolin menyebabkan peningkatan ukuran globula minyak dan penurunan luas antar permukaan, sehingga nilai beban muatan protein meningkat.

Beban muatan protein menurun pada konsentrasi fosfolipida lebih dari 1,0%. Penurunan beban muatan protein ini disebabkan oleh penurunan protein teradsorpsi dan peningkatan luas antar permukaan. Peningkatan luas antar permukaan pada konsentrasi fosfolipida lebih dari 1,0% disebabkan jumlah fosfolipida telah cukup banyak untuk menutupi antar permukaan yang ditinggalkan oleh natrium kaseinat, sehingga kemungkinan flokulasi dan/atau koalesensi berkurang. Ukuran globula minyak menjadi menurun dan luas antar permukaan meningkat. Protein teradsorpsi cenderung menurun dengan bertambahnya konsentrasi fosfolipida, sehingga konsekuensinya beban muatan protein menurun pada konsentrasi fosfolipida lebih dari 1,0%.

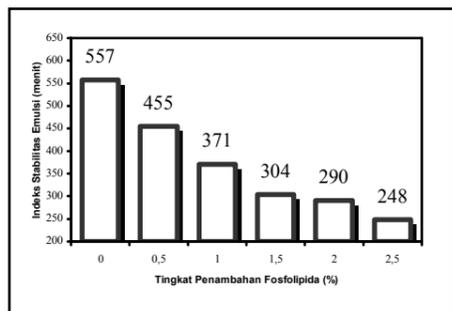
Penambahan fosfolipida pada konsentrasi 1,5; 2,0; dan 2,5% tidak menunjukkan nilai beban muatan protein yang berbeda sangat nyata pada taraf $\alpha=0,01$. Pada sistem emulsi ini, nilai protein teradsorpsi menunjukkan nilai yang berbeda nyata pada taraf $\alpha=0,05$, tetapi nilai luas antar permukaan tidak berbeda nyata.

f. Indeks stabilitas emulsi

Pada penelitian ini indeks stabilitas emulsi (ESI) diukur berdasarkan turbiditas pada panjang gelombang 500 nm. ESI menunjukkan kestabilan emulsi, yaitu waktu dimana nilai turbiditas emulsi merupakan setengah dari nilai turbiditas awal (Damodaran, 1996). Menurut McClements (1999), salah satu metode untuk mengukur stabilitas emulsi adalah dengan cara mengukur perubahan distribusi ukuran partikel dalam emulsi. Pengemulsi yang efisien menghasilkan

distribusi ukuran partikel yang tidak berubah dengan berubahnya waktu. Pengemulsi yang tidak efektif menghasilkan ukuran partikel yang meningkat yang disebabkan oleh koalesensi dan/atau flokulasi.

Penambahan fosfolipida menunjukkan nilai ESI yang menurun (Gambar 7). Penurunan yang tajam terjadi sampai konsentrasi fosfolipida 1,5%, seperti halnya protein teradsorpsi yang menurun tajam sampai konsentrasi fosfolipida 1,5%. Pada konsentrasi fosfolipida lebih dari 1,5%, nilai ESI tidak berubah.



Gambar 7. Indeks stabilitas emulsi sebagai pengaruh penambahan fosfolipida

Penambahan fosfolipida menyebabkan ketidakstabilan emulsi yang ditunjukkan oleh penurunan nilai ESI. Fosfolipida menyebabkan protein yang teradsorpsi pada permukaan globula minyak terdesorpsi melalui pembentukan kompleks kasein-fosfolipida dan proses pergantian kasein oleh fosfolipida. Desorpsi ini menyebabkan jumlah protein yang melapisi permukaan globula minyak menjadi berkurang dan menyebabkan ketidakstabilan. Ketidakstabilan terjadi karena proses penggabungan globula minyak pada bagian permukaan yang ditinggalkan oleh kasein.

Pada rasio surfaktan terhadap protein yang rendah, pengikatan surfaktan oleh protein dapat menstabilkan emulsi. Peningkatan rasio surfaktan terhadap protein menyebabkan konformasi protein terbuka dan protein terdesorpsi dari permukaan

globula minyak sehingga menyebabkan ketidakstabilan (Hansenhuetti dan Hartel, 1997). Pada penelitian ini, peningkatan konsentrasi fosfolipida menyebabkan peningkatan rasio surfaktan terhadap protein yang menyebabkan peningkatan ketidakstabilan dan penurunan nilai ESI. Ketidakstabilan tersebut kemungkinan disebabkan fosfolipida yang menggantikan kasein untuk teradsorpsi pada permukaan globula minyak kurang mampu menstabilkan emulsi seefektif kasein.

Menurut McClements (1999) molekul kecil surfaktan mempunyai afinitas terhadap antar permukaan yang lebih tinggi dibandingkan protein pada konsentrasi surfaktan yang tinggi, dan cenderung untuk menggantikan protein dari antar permukaan. Surfaktan hanya mempunyai satu lokasi pengikatan yaitu pada bagian rantai hidrofobik. Protein cenderung mempunyai sejumlah besar lokasi pengikatan yang bersifat lemah yaitu pada bagian gugus asam-asam amino non polar. Oleh karena itu surfaktan mempunyai kecenderungan untuk berubah secara cepat dari keadaan teradsorpsi menjadi terdesorpsi. Keadaan ini menyebabkan pergantian protein oleh surfaktan menyebabkan ketidakstabilan.

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kesimpulan

Hubungan yang terbentuk antara kasein dan fosfolipida dalam sistem emulsi adalah pembentukan kompleks dengan aktivitas permukaan yang menurun dan proses pergantian kasein oleh fosfolipida untuk teradsorpsi pada permukaan globula minyak. Hubungan tersebut menyebabkan perubahan komposisi lapisan yang teradsorpsi pada permukaan globula minyak yang menyebabkan perubahan sifat-sifat emulsifikasi protein. Natrium kaseinat dan fosfolipida kuning telur tidak bersifat sinergis dalam emulsifikasi.

2. Saran

Perlu dikaji kembali keefektifan penggunaan fosfolipida dan natrium kasei-nat sebagai pengemulsi secara bersama-sama dalam makanan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anton, M. and G. Gandemer. 1997. *Composition, Solubility, and Emulsifying Properties of Granules and Plasma of Egg Yolk*. J. of Food Sci. 62(3): 484-487.
- Aoki, H., Y. Shirase, J. Kato, and Y. Watanabe. 1984. *Emulsion Stabilizing Properties of Soy Protein Isolates Mixed with Sodium Caseinates*. J. of Food Sci. 49: 212-216.
- Bos, M., T. Nylander, T. Arnebrant, and D.C. Clark. 1997. *Protein/Emulsifier Interaction*. In G.L. Hasenhuetti and R.W. Hartel (eds.). *Food Emulsifier and Their Applications*. Chapman & Hall, New York.
- Britten, M. and H.J. Giroux. 1993. *Interfacial Properties of Milk Proteins in Stabilized Emulsions as Influenced by Protein Concentration*. J. Agric. Food Chem. 41: 1187-1191.
- Cameron, D.R., M.E. Weber, E.S. Idziak, R.J. Neufeld, and D.G. Cooper. 1991. *Determination of Interfacial Area in Emulsions Using Turbidimetric and Droplet Size Data: Correction of the Formula for Emulsifying Activity Index*. J. Agric. Food Chem. 39: 655-659.
- Cornec, M., P.J. Wilde, P.A. Gunning, A.R. Mackie, F.A. Husband, M.C. Parker, and D.C. Clark. 1998. *Emulsion Stability as Affected by Competitive Adsorption between an Oil-Soluble Emulsifier and Milk Proteins at the Interface*. J. of Food Sci. 63(1): 39-43.
- Corredig, M. and D.G. Dalgleish. 1998. *Buttermilk Properties in Emulsions with Soybean Oil as Affected by Fat Globule Membrane-Derived Proteins*. J. of Food Sci. 63(3): 476-480.
- Courthaudon, J-L., E. Dickinson, and W. W. Christie. 1991. *Competitive Adsorption of Lecithin and β Casein in Oil in Water Emulsions*. J. Agric. Food Chem. 39: 1365-1568.
- Damodaran, S. 1996. *Functional Properties*. In S. Nakai and H.W. Modler (eds.). *Food Proteins: Properties and Characterization*. VCH Publisher Inc., USA.
- Dickinson, E. and G. Stainsby. 1988. *Emulsion Stability*. In E. Dickinson and G. Stainsby (eds.). *Advances in Food Emulsions and Foams*. Elsevier Applied Science. USA.
- Dickinson, E. and Y. Yamamoto. 1996. *Viscoelastic Properties of Heat-Set Whey Protein-Stabilized Emulsion Gels with Added Lecithin*. J. of Food Sci. 61(4): 811-816.
- Euston, S.E., H. Singh, P.A. Munro, and D.G. Dalgleish. 1995. *Competitive Adsorption between Sodium Caseinate and Oil-Soluble and Water-Soluble Surfactants in*

- Oil-in-Water Emulsions.* J. of Food Sci. 60(5): 1124-1130.
- Euston, S.R. and R.L. Hirst. 1999. *Comparison of the Concentration-Dependent Emulsifying Properties of Protein Products Containing Aggregated and Non-Aggregated Milk Protein.* Int. Dairy J. 9: 693-701.
- Fang, Y. and D.G. Dalgleish. 1996a. *Comparison of the Effects of Three Different Phosphatidylcholines on Casein-Stabilized Oil-in-Water Emulsions.* JAOCS 73(4): 437-442.
- Fang, Y. and D.G. Dalgleish. 1996b. *Competitive Adsorption between Dioleoylphosphatidylcholine and Sodium Caseinate on Oil-Water Interfaces.* J. Agric. Food Chem. 44: 59-64.
- Hasenhuetti, G.L. and R.W. Hartel. 1997. *Food Emulsifier and Their Applications.* Chapman & Hall, USA.
- Haque, Z. and J.E. Kinsella. 1989. *Relative Emulsifying Activity of BSA and Casein as Assessed by Three Different Methods.* J. of Food Sci. 54(5): 1341-1344.
- McClements, D.J. 1999. *Food Emulsions: Principles, Practice and Technique.* CRC Press, USA.
- Moffat, C.F., A.S. McGill, R. Hardy, and R.S. Anderson. 1993. *The Production of Fish Oils Enriched in Polyunsaturated Fatty Acid-Containing Triglyceride.* JAOCS 70(2): 133-138.
- Mulvihill, D.M. 1997. *Production, Functional Properties, and Utilization of Milk Protein Products.* In P.F. Fox (ed.). *Advanced Dairy Chemistry-1: Proteins.* Blackie Academic & Professional, London.
- Nakamura, R., R. Mizutami, M. Yano, and S. Hayakawa. 1988. *Enhancement of Emulsifying Properties of Protein by Sonication with Egg Yolk Lecithin.* J. Agric. Food Chem. 36: 729-732.
- Nylander, T. and B. Ericsson. 1997. *Interactions between Proteins and Polar Lipids.* in S.E. Friberg and K. Larsson (eds.). *Food Emulsions.* 3rd edition, revised, and ex-panded. Marcel Dekker Inc., New York.
- Nzai, J.M. and A. Proctor. 1998. *Phospholipids Determination in Vegetable Oil by Thin Layer Chromatography and Imaging Densitometry.* Food Chem. 63(4): 571-576.
- Pearce, K.N. and J.E. Kinsella. 1978. *Emulsifying Properties of Proteins: Evaluation of a Turbidimetric Technique.* J. Agric. Food Chem. 26(3): 716-723.
- Robson, E.W. and D.G. Dalgleish. 1987. *Interfacial Composition of Sodium Caseinate Emulsions.* J. of Food Sci. 52(6): 1694-1698.
- Schneider, M. 1989. *Fractionation and Purification of Lecithin.* In B.F. Szuhaj (ed.): *Lecithins: Sources, Manufacture and Uses.* The American Oil Chemistry Society, Champaign, Illinois.
- Srinivasan, M., H. Singh, and P.A. Munro. 1996. *Sodium Caseinate-Stabilized Emulsions: Factors Affecting Coverage and*

Composition of Surface Proteins.
J. Agric. Food Chem 44: 3807-
3811.

Walstra, P. and R. Jenness. 1984.
Dairy Chemistry and Physics.
John Willey and Sons, New York.