

MODIFIKASI KASEIN DENGAN CaCl₂ DAN pH YANG BERBEDA DITINJAU DARI KELARUTAN PROTEIN, KELARUTAN KALSIUM, BOBOT MOLEKUL DAN MIKROSTRUKTUR

Premy Puspitawati Rahayu¹, Purwadi² and Imam Thohari³

¹Mahasiswa Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

²Dosen Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

ABSTRACT

The purpose of this research was to know the best interaction CaCl₂ with pH of casein modification by crosslink method to improve casein functional properties. The materials were casein which be isolated from fresh milk. The method of this research was factorial experiment (3 x 3) with completely randomized design and 3 times replication, CaCl₂ (0.025 (C₁), 0.05 (C₂), dan 0.075 (C₃)) gr/ml and pH (4.2 (P₁); 4.6 (P₂) dan 5.0 (P₃)). The variables measured were protein solubility, calcium solubility, molecular weight and microstructure. The data of protein solubility and calcium solubility were analyzed by using analysis of variance continued by honestly significant difference (HSD) test. The molecular weight was measured by using linier equation. Microstructure was measured using qualitative test. The result of this research showed that the interaction of CaCl₂ with pH did not give a significantly difference effect (P>0.05) on the protein solubility and calcium solubility of casein modification. Using of CaCl₂ did not give a significantly difference effect (P>0.05) on the protein solubility and calcium solubility of casein modification. Using of pH did not give a significantly difference effect (P>0.05) on the protein solubility and calcium solubility of casein modification. Molecular weight of casein modification alleged was β casein. Structure of casein modification compose crosslink between calcium and casein. The best treatment was consisted of 0.025 g/ml CaCl₂ and pH 4.6 with 1.25 % of protein solubility, 1.77 gr/ml of calcium solubility, 24.20 kDa of molecular weight and structure of casein modification composed crosslink between calcium and casein.

Keywords : casein modification, protein solubility, calcium solubility, molecular weight and microstructure.

MODIFIKASI KASEIN DENGAN CaCl₂ DAN pH YANG BERBEDA DITINJAU DARI KELARUTAN PROTEIN, KELARUTAN KALSIUM, BOBOT MOLEKUL DAN MIKROSTRUKTUR

Premy Puspitawati Rahayu¹, Purwadi² dan Imam Thohari²

¹Mahasiswa Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

²Dosen Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui interaksi yang tepat antara CaCl₂ dengan pH dalam proses modifikasi kasein metode *crosslink* guna meningkatkan sifat fungsional kasein. Materi yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kasein yang diisolasi dari susu segar

dengan menggunakan asam laktat. Metode penelitian yang digunakan adalah percobaan faktorial (3 x 3) dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan ulangan 3 kali. Perlakuan modifikasi kasein adalah penggunaan CaCl_2 (0,025 (C_1), 0,05 (C_2), dan 0,075 (C_3)) dan pH yang berbeda yaitu 4,2 (P_1); 4,6 (P_2) dan 5,0 (P_3)). Data yang diperoleh dari uji kelarutan protein dan kelarutan kalsium dianalisis dengan menggunakan analisis ragam dan dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ). Bobot molekul dianalisis dengan menggunakan kurva linier. Mikrostruktur dianalisis dengan menggunakan uji kualitatif dengan membandingkan hasil mikrostruktur seluruh perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa interaksi CaCl_2 dengan pH tidak memberikan perbedaan pengaruh yang nyata ($P > 0,05$) terhadap kelarutan protein dan kelarutan kalsium. Penggunaan CaCl_2 tidak memberikan perbedaan pengaruh yang nyata ($P > 0,05$) terhadap kelarutan protein dan kelarutan kalsium. Penggunaan pH yang berbeda juga tidak memberikan perbedaan pengaruh yang nyata ($P > 0,05$) terhadap kelarutan protein dan kelarutan kalsium. Bobot molekul dari kasein modifikasi diduga β kasein. Mikrostruktur pada kasein modifikasi terlihat *crosslink* antara CaCl_2 dengan kasein. Perlakuan terbaik kasein modifikasi menggunakan konsentrasi CaCl_2 0,025 g/ml dengan pH 4,6 menghasilkan kelarutan protein sebesar 1,25 %, kelarutan kalsium 1,77 gr/ml, dengan bobot molekul 24,20 kDa dan pada mikrostrukturnya terbentuk ikatan *crosslink* antara kasein dan CaCl_2 .

Kata kunci: modifikasi kasein, kelarutan protein, kelarutan kalsium, bobot molekul dan mikrostruktur

PENDAHULUAN

Susu adalah minuman lengkap nutrisi yang di dalamnya terdiri dari beberapa komponen yang penting untuk pemenuhan gizi manusia antara lain: air 87,1 %, protein 3,4 % (kasein dan *whey*), lemak 3,9 %, karbohidrat 4,9 %, mineral 0,7 % (Minard, 2000). Protein bisa dimodifikasi dengan tujuan untuk memperbaiki sifat fungsionalnya. Peningkatan sifat fungsional protein susu dapat dilakukan dengan cara kimia, enzim dan modifikasi fisik (Mulvihill and Fox, 1994).

Protein kasein terdiri dari dua kelompok, yaitu kasein sensitif terhadap kalsium dan kasein tidak sensitif terhadap kalsium. Kedua kelompok tersebut jika dicampurkan akan menghambat terjadinya endapan dari kelompok yang sensitif terhadap kalsium. Kasein yang tidak sensitif terhadap kalsium yaitu $\alpha_{(s1)}$, $\alpha_{(s2)}$ dan κ

kasein, sedangkan β kasein adalah kasein yang sangat sensitif terhadap kalsium (Muller-Buschbaum *et al.*, 2007).

Sifat fungsional kasein sangat mempengaruhi sifat fisiko kimia pada keju, sehingga perlu dimodifikasi strukturnya dengan dilakukannya *crosslinking* yang diharapkan dapat menghasilkan polimer yang stabil dan tahan terhadap panas. *Crosslinking* dapat dilakukan dengan penambahan formaldehid dan perubahan yang dihasilkan tersebut bersifat permanen (Somanathan *et al.*, 1997).

Keju Mozzarella merupakan keju yang dibuat menggunakan pengasaman langsung (*direct acidification*). Pemanasan dilakukan pada suhu 72 °C selama 16 detik dan ditambahkan asam sitrat yang bertujuan untuk membentuk koagulum/ *curd* dalam pembuatan keju. Pengasaman susu dengan pH 5,6 atau 5,8 menghasilkan keju

Mozzarella yang lebih lembut dan mudah leleh dari pada keju dengan pengasaman pada pH 6,0 (Shakeel-Ur-Rehman and Farkye, 2006). Shah *et al.* (2006) dalam penelitiannya dijelaskan bahwa keju Mozzarella digunakan untuk *topping* pizza pada uji organoleptik.

Power of Hidrogen (pH) mempengaruhi kandungan kalsium dan interaksi antar kalsium dengan kasein dalam membentuk sifat fungsional keju. Kalsium merupakan mineral yang penting dalam pembuatan keju. Ion Ca^{++} memberikan pengaruh besar terhadap proses koagulasi kasein susu oleh rennet, khususnya pada tahap agregasi. Penurunan pH susu pada pembuatan keju dapat menurunkan kadar kalsium keju sehingga dapat meningkatkan daya leleh keju (Sumarmono, 2012).

Berdasarkan uraian di atas maka perlu diadakan penelitian mengenai modifikasi kasein dengan penambahan Kalsium Klorida (CaCl_2) dan pH dengan konsentrasi yang tepat, guna meningkatkan sifat fisiko kimia pada pembuatan keju Mozzarella.

Materi dan Metode

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fisiko Kimia, Hasil Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya dan Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya.

Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah kasein yang diisolasi dari susu segar. Bahan-bahan lain yang digunakan diantaranya: CaCl_2 , asam laktat,

kasein, etanol. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: *waterbath*, *beaker glass*, pipet, spatula, thermometer, gelas ukur, pH meter merk Hanna, timbangan analitik, labu, alat destruksi, alat destilasi Vapodest, erlenmeyer, buret, spektroquant, vortex, sentrifugator, SDS PAGE merk Biorad Minirad Protean 3 dengan perangkat elektroforesis (tatanan cassette sampel, *Electrophoresis Power Supply* (EPS)), mikro pipet otomatis, *Scanning Electron Microscopy (SEM)* merk TM 3000 Hitachi.

Metode

Metode penelitian yang digunakan adalah percobaan faktorial (3 x 3) dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan ulangan 3 kali. Perlakuan pada modifikasi kasein adalah penggunaan CaCl_2 : 0,025 (C_1), 0,05 (C_2), dan 0,075 (C_3) dan pH yang berbeda, yaitu 4,2 (P_1); 4,6 (P_2) dan 5,0 (P_3).

Prosedur Penelitian

Prosedur isolasi kasein mengikuti prosedur minard (2000), sebagai berikut:

1. Susu disentrifugasi 3000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan lemak dan supernatan.
2. Supernatan diambil 500 ml ditempatkan pada *waterbath* suhu 40 °C dan ditambahkan asam laktat 80 % sebanyak 10 tetes dan diaduk. Asam laktat ditambahkan lagi hingga presipitat terbentuk semua sambil diaduk.
3. Presipitatnya diambil, dihilangkan lemaknya dengan menggunakan etanol dan diaduk selama 5 menit, lalu didiamkan. Presipitat diambil dan ditambahkan etanol lagi sambil diaduk selama 5 menit, lalu didiamkan.

4. Presipitat (kasein) diambil dan dikeringkan lalu dihaluskan.

Modifikasi kasein menggunakan mengikuti prosedur (Sheehan and Guinee, 2004):

1. Larutan asam laktat dengan pH 4,2; 4,6 dan 5 didinginkan pada suhu 4 °C.
2. Larutan asam laktat dari masing-masing pH ditambahkan CaCl₂ berdasarkan perlakuan yaitu 0,025; 0,05; 0,075 gr/ml.
3. Kasein dimasukkan ke dalam larutan asam laktat sesuai perlakuan pH dan CaCl₂ lalu disimpan dalam suhu 4 °C.
4. Kasein modifikasi diambil dan dibiarkan dalam suhu ruang selama 10 menit.
5. Kasein modifikasi disimpan pada suhu 4 °C dan dilakukan pengujian.

Variabel Pengamatan

Variabel yang diukur meliputi kelarutan protein, kelarutan kalsium, bobot molekul dan mikrostruktur.

Pengukuran Variabel:

1. Kelarutan protein dengan menggunakan Metode Kjeldahl (Apriyantono dkk, 1989).
2. Kelarutan Kalsium menggunakan spektrofotometer (Silva *et al.*, 2001).
3. Bobot Molekul Kasein dengan menggunakan SDS PAGE (Aulanni'am, 2005).
4. Mikrostruktur Kasein modifikasi diamati menggunakan SEM perbesaran 2500 x.

Analisa Data

1. Data yang diperoleh dari uji kelarutan protein dan kelarutan kalsium dianalisis dengan menggunakan analisis ragam dan

dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Jujur (Yitnosumarto, 1993).

2. Elektroforegram dari hasil elektroforesis SDS PAGE dianalisis dengan menentukan bobot molekul menggunakan persamaan linier dan dilakukan perbandingan dengan bobot molekul pada literatur (Aulanni'am, 2005).
3. Gambar mikrostruktur kasein modifikasi dianalisa kualitatif dengan membandingkan mikrostruktur semua perlakuan dengan melihat ikatan *crosslink* yang terbentuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian modifikasi kasein dengan penambahan CaCl₂ dengan pH yang berbeda tidak memberikan perbedaan pengaruh yang nyata terhadap kelarutan protein, kelarutan kalsium dan pada analisa penentuan bobot molekul kasein modifikasi, namun terdapat perbedaan pengaruh pada ikatan *crosslink* mikrostruktur kasein modifikasi.

Kelarutan Protein

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa interaksi antara CaCl₂ dengan pH berbeda tidak memberikan perbedaan pengaruh yang nyata ($P > 0,05$) pada kasein modifikasi terhadap kelarutan protein tertera pada (Tabel 1).

Interaksi yang tidak nyata berdasarkan analisis ragam menunjukkan bahwa interaksi antara CaCl₂ dan pH memiliki kekuatan yang sama besar pada kelarutan protein dalam pembentukan ikatan *crosslink* kasein modifikasi sehingga terbentuk network antara kasein modifikasi dengan CaCl₂ yang sudah optimal dalam mengikat kasein sehingga tidak terjadi perbedaan kelarutan protein pada semua perlakuan.

Tabel 1. Kelarutan Protein

CaCl ₂ (gr/ml)	pH			Rata-rata (%)
	4,2	4,6	5	
0,025	1,14	1,25	1,20	1,20 ^a
0,050	1,15	1,17	1,23	1,18 ^a
0,075	1,21	1,29	1,21	1,24 ^a
Rata-rata	1,17 ^a	1,24 ^a	1,21 ^a	

Keterangan: - Superskrip (a,b) pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05).

Konsentrasi CaCl₂ di atas tidak memberikan hasil yang jauh berbeda, sehingga dapat disimpulkan bahwa dengan penambahan konsentrasi CaCl₂ di atas menghasilkan kelarutan protein yang sama baiknya.

Hal tersebut sesuai dengan De souza *et al.* (2010) menjelaskan bahwa modifikasi kasein dengan menggunakan CaCl₂ dapat menurunkan kelarutan protein kasein tersebut sehingga diharapkan dapat meningkatkan sifat fungsional kasein dan membentuk agregat berukuran mikro. Penggunaan pH yang berbeda pada kelarutan protein kasein modifikasi berdasarkan analisis ragam perlakuan penggunaan pH yang berbeda tidak memberikan perbedaan pengaruh yang nyata.

Shah *et al.* (2010) menjelaskan bahwa kasein mudah sekali mengendap pada titik isoelektrik yaitu pada pH 4,6-5,0 dan memiliki kelarutan yang rendah pada kondisi asam. pH dapat mempengaruhi struktur kasein. Kasein-kasein ini berkumpul membentuk kasein misel sehingga membentuk agregat kompleks dari monomer ikatan kalsium fosfat yang dapat dirubah dengan variasi pH rendah (Bouzid *et al.*,

2008). Menurut Suhardi (1991) kasein akan mengendap pada titik isoelektriknya yang menyebabkan kalsium tidak larut dan berinteraksi/ berikatan dengan kasein.

Kelarutan Kalsium

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa interaksi antara CaCl₂ dengan pH berbeda tidak memberikan perbedaan pengaruh yang nyata (P>0,05) pada kasein modifikasi terhadap kelarutan kalsium tertera pada (Tabel 2).

Interaksi yang tidak nyata berdasarkan analisis ragam menunjukkan bahwa interaksi antara CaCl₂ dan pH memiliki kekuatan yang sama besar pada kelarutan kalsium dalam pembentukan ikatan *crosslink* kasein modifikasi. Kalsium akan mengendap bersama kasein dan membentuk ikatan *crosslink* pada pH isoelektrik sehingga kalsium terlarut rendah. Hal tersebut ditunjang oleh Suhardi (1991) menjelaskan bahwa kasein mengendap dengan penambahan asam, kalsium terlarut akan menjadi tidak larut sehingga membentuk interaksi dengan kasein pada ikatan *crosslink*.

Tabel 2. Kelarutan Kalsium

CaCl ₂ (gr/ml)	pH			Rata-rata (gr/ml)
	4,2	4,6	5	
0,025	3,77	1,77	1,67	2,40 ^a
0,050	1	2,67	2,87	2,18 ^a
0,075	2,23	2,50	2,07	2,27 ^a
Rata-rata	2,33 ^a	2,31 ^a	2,20 ^a	

Keterangan: - Superskrip (a,b) pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05).

Kelarutan kalsium yang rendah tersebut mengindikasikan bahwa kadar kalsium dalam kasein tersebut tinggi.

Sheehan *and* Guinee (2003) menjelaskan bahwa kelarutan kalsium keju Mozzarella tinggi disebabkan oleh pemberian konsentrasi kalsium yang rendah dengan pH yang rendah. Pernyataan tersebut sesuai dengan hasil uji kelarutan kalsium kasein modifikasi dengan kondisi asam terendah (pH 4,2) dengan konsentrasi penambahan CaCl_2 0,025 gr/ml diperoleh kelarutan kalsium modifikasi yang tinggi. Kelarutan kalsium merupakan suatu faktor yang dapat meningkatkan pH dan pengasinan selain asam laktat serta memberikan pengaruh dalam kemampuan *stretch* pada keju.

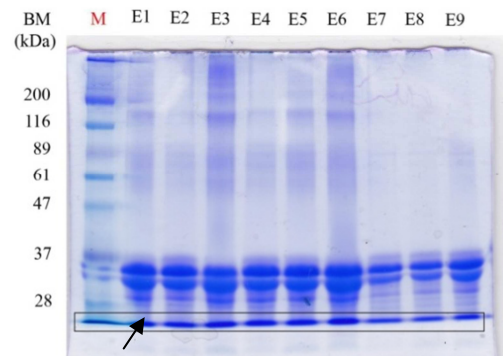
Pengaruh konsentrasi CaCl_2 pada kelarutan kalsium kasein modifikasi berdasarkan analisis ragam perlakuan penambahan konsentrasi CaCl_2 tidak memberikan perbedaan pengaruh yang nyata. Hal tersebut dapat dilihat pada (Tabel 2) diatas bahwa kelarutan kalsium kasein modifikasi berdasarkan konsentrasi CaCl_2 di atas tidak memberikan hasil yang jauh berbeda, sehingga dapat disimpulkan bahwa dengan penambahan konsentrasi CaCl_2 di atas menghasilkan kelarutan kalsium yang sama baiknya. Sheehan *and* Guinee (2003) menjelaskan bahwa pada keju Mozzarella tanpa lemak jika ditambahkan kalsium dengan konsentrasi yang rendah akan menyebabkan kelarutan kalsium keju yang tinggi.

Choi *et al.* (2008) menjelaskan bahwa kadar kalsium dapat dipengaruhi oleh tingkat keasaman. pH pada proses pembuatan keju dapat berubah jika dilakukan pemeraman, kadar kalsium akan mengalami penurunan sejalan dengan lamanya pemeraman. Kasein dengan modifikasi pH yang berbeda memiliki

kelarutan kalsium yang berbeda pula. Kelarutan kalsium akan stabil pada pH 4,6.

Bobot Molekul

Berdasarkan elektroforegram pada (Gambar 1) diketahui bahwa semua sampel kasein modifikasi diduga β kasein.



Keterangan: Anak panah pada elektroforegram di atas menunjukkan bobot molekul kasein modifikasi CaCl_2 dan pH yang berbeda yang diduga kasein dengan perlakuan M: Marker; E1: CaCl_2 0,025 gr/ml, pH 4,2; E2: CaCl_2 0,050 gr/ml, pH 4,2; E3: CaCl_2 0,075 gr/ml, pH 4,2; E4: CaCl_2 0,025 gr/ml, pH 4,6; E5: CaCl_2 0,050 gr/ml, pH 4,6; E6: CaCl_2 0,075 gr/ml, pH 4,6; E7: CaCl_2 0,025 gr/ml, pH 5; E8: CaCl_2 0,050 gr/ml, pH 5; E9: CaCl_2 0,075 gr/ml, pH 5.

Gambar 1. Elektroforegram Kasein Modifikasi

Sampel diuji bobot molekulnya menggunakan kurva dengan persamaan $y = -1,064x + 2,355$ dan $R^2 = 0,932$. Bobot molekul sampel kasein diperoleh dari rumus linier tersebut. Sampel C_1P_1 , C_1P_2 , C_1P_3 , C_2P_1 , C_2P_2 , C_2P_3 terdapat pita protein dengan bobot molekul 24,20 kDa. Sampel C_3P_1 terdapat pita protein dengan bobot molekul 24,95 kDa. Sampel C_3P_2 dan C_3P_3 terdapat pita protein dengan bobot molekul 25,73. Berdasarkan hasil perhitungan, semua

sampel memiliki pita protein yang berada di sekitar bobot molekul pada β kasein yaitu $\pm 24,1$ kDa sesuai dengan Minard (2010).

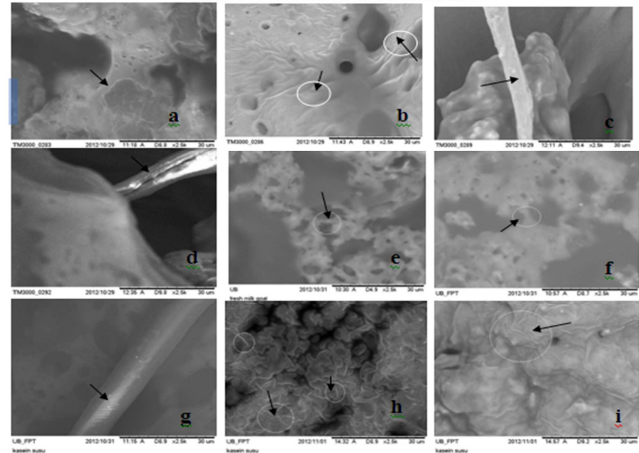
Gambar elektroforegram SDS PAGE (Gambar 1) menjelaskan bahwa pita protein pada kasein modifikasi dengan pH 5 mengalami peningkatan bobot molekul protein. Kasein modifikasi mengalami peningkatan bobot molekul pada pH 5 sesuai dengan banyaknya CaCl_2 yang ditambahkan.

Hal tersebut mengindikasikan bahwa CaCl_2 berperan dalam pembentukan *crosslink* kasein. Hal tersebut sesuai dengan De souza *et al.* (2010) yang menjelaskan bahwa penambahan Ca ke dalam kasein akan membentuk agregat mikro yang dapat meningkatkan network dalam kasein. Bouzid *et al.* (2008) menjelaskan bahwa titik isoelektrik kasein berada pada pH 4,6, kasein akan menggumpal pada pH tersebut. Kasein modifikasi dengan penambahan kalsium akan membentuk struktur fisika dan kimia yang berbeda. Kasein tersebut memiliki partikel yang berbeda-beda ukurannya.

Mikrostruktur

Hasil pengujian mikrostruktur menggunakan SEM tertera di (Gambar 2). Gambar 4c, 5a dan 6a merupakan gambar mikrostruktur dengan ikatan *crosslink* terlihat jelas pada kasein modifikasi tersebut. Gambar 5a dengan penambahan CaCl_2 0,025 gr/ml pada pH 4,6 memiliki mikrostruktur yang terlihat lebih jelas dan kuat ikatan *crosslink* dibandingkan dengan lainnya. Ikatan penghubung kasein tersebut merupakan ikatan *crosslink* antara kasein dengan kalsium. Ikatan penghubung yang semakin banyak terlihat diindikasikan bahwa semakin banyak juga ikatan *crosslink*

kasein modifikasi tersebut. Ikatan *crosslink* tersebut bertujuan untuk meningkatkan sifat fungsional kasein. Modifikasi struktur kasein ini bisa menghasilkan polimer yang stabil terhadap panas (Somanathan *et al.*, 1997).



Keterangan: Gambar anak panah di atas menerangkan adanya ikatan *crosslink* CaCl_2 dengan kasein menggunakan perbesaran 2500 x dengan perlakuan: **a.** C_1P_1 : CaCl_2 0,025 g/ml; pH 4,2. **b.** C_2P_1 : CaCl_2 0,050 g/ml; pH 4,2. **c.** C_3P_1 : CaCl_2 0,075 g/ml; pH 4,2. **d.** C_1P_2 : CaCl_2 0,025 g/ml; pH 4,6. **e.** C_2P_2 : CaCl_2 0,050 g/ml; pH 4,6. **f.** C_3P_2 : CaCl_2 0,075 g/ml; pH 4,6. **g.** C_1P_3 : CaCl_2 0,025 g/ml; pH 5. **h.** C_2P_3 : CaCl_2 0,050 g/ml; pH 5. **i.** C_3P_3 : CaCl_2 0,075 g/ml; pH 5.

Gambar 2. Mikrostruktur Kasein Modifikasi

Gambar hasil mikrostruktur dapat dilihat bahwa ikatan *crosslink* CaCl_2 dan kasein terlihat jelas pada Gambar 5a menggunakan CaCl_2 0,025 g/ml dengan pH 4,6. Ikatan tersebut akan lebih terlihat jelas lagi dengan menggunakan *Transmisi Electron Microscopy* (TEM) karena dapat melihat struktur dalam sel yang sedangkan SEM hanya dapat menampilkan secara detail permukaan misel tanpa lapisan dan permukaan misel kasein memiliki struktur yang kompleks. Strukturnya nampak tidak

bulat, namun kasein tersusun rapi dalam susunan yang berbentuk tabung dalam misel (Dalglish *et al.*, 2004).

Perlakuan Terbaik

Perlakuan terbaik berdasarkan hasil penelitian diperoleh kasein modifikasi penambahan CaCl_2 0,025 g/ml dengan pH 4,6 memiliki hasil kelarutan protein sebesar 1,25 %, kelarutan kalsium 1,77 gr/ml, bobot molekul 24,20 kDa serta memiliki mikrostruktur yang terbentuk ikatan *crosslink* antara kasein dan CaCl_2 .

Kesimpulan

Penambahan CaCl_2 dengan pH pada kasein modifikasi tidak memberikan interaksi terhadap kelarutan protein dan kelarutan kalsium. Bobot molekul kasein modifikasi dengan penambahan CaCl_2 dan pH yang berbeda diduga β kasein. Kasein modifikasi memiliki ikatan *crosslink* pada semua mikrostrukturnya, namun pada penambahan CaCl_2 0,025 g/ml dengan pH 4,6 diperoleh ikatan *crosslink* yang dinilai kuat.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian, disarankan untuk menggunakan CaCl_2 0,025 gr/ml dengan pH 4,6 agar didapatkan kualitas kasein modifikasi yang baik.

DAFTAR PUSTAKA

Apriyantono, A., D. Fardiaz, N. L. Puspitasari, Sedarnawati dan S. Budiyo. 1989. Analisis Pangan. PAU Pangan dan Gizi IPB. Bogor.

Aulanni'am. 2005. Protein dan Analisisnya. Citra Mentari Group. Malang.

Bouid, H., M. R. Baudry, L. Paugama, F. Rousseau, Z. Derriche and N. E. Bettahar. 2008. Impact of zeta potential and size of caseins as precursors of fouling deposit on limiting and critical fluxes in spiral, ultrafiltration of modified skim milks. J. Membr. Sci 314: 67-75.

Choi, J., D. S. Horne, M. E. Johnson and J. A. Lucey. 2008. Effects of the concentration of insoluble calcium phosphate associated with casein micelles on the functionality of directly acidified cheese. J. Dairy Sci 91: 513-522.

Dalglish, D. G., P. A. Spagnuolo and H. D. Goff. 2004. A possible structure of the casein micelle based on high-resolution field-emission scanning electron microscopy. Int. Dairy J 14: 1025-1031.

De Souza P. M., A. Fernandez, G. Lopez-Carballo, R. Gavara and P. Hernandez-Munos. 2010. Modified sodium caseinate film as releasing carriers of lysozyme. Food Hydrocolloids 24: 300-306.

Minard, R. 2000. Isolation of Casein, Lactose and Albumin from Milk. Thesis. Penn State University.

Muller-Buschbaum, P., R. Gebhardt, S. V. Roth, E. Metwall and W. Doster. 2007. Effect of calcium concentration on the structure of casein micelles in thin films. J. Biophys 93: 960-968.

- Mulvihill, D. M and P. F. Fox. 1994. Developments in The Production of Milk Proteins. In New and Developing Sources of Food Proteins Ed by B. J. F Hudson: 1-23. Springer. London.
- Shah, R., A. H. Jana, K. D. Aparnathi and P. S. Prajapati. 2010. Process standardization for rennet casein based Mozzarella cheese analogue. *J. Food Sci and Technol* 47: 574-578.
- Shakeel-Ur-Rehman and N. Y. Farkye. 2006. Effect of setting pH on the properties of Mozzarella cheese made by direct acidification of whole milk standardised with dry milk protein concentrate. *J. Dairy Technol* 61: 8-12.
- Sheehan, J. J., and T. P. Guinee. 2003. Effect of pH and calcium level on the biochemical, textural and functional properties of reduced-fat Mozzarella cheese. *Int. Dairy. J* 14: 161-172.
- Silva, F. V., G. S. Lopes, J. A. Nobrega, G. B. Souza and A. R. A. Nogueira. 2001. Study of the protein bound fraction of calcium, iron, magnesium and zinc in bovine milk. *Spectrochimica Acta. Part B* 56: 1909-1916.
- Suhardi, 1991. *Kimia dan Teknologi Protein*. PAU Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta.
- Sumarmono, J. 2012. Kalsium pada Proses Pembuatan Keju. E-paper. Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto. <http://panganhewani.blog.unsoed.ac.id>. Diakses tanggal 20 Desember 2012.
- Somanathan, N., V. Subramanian and A. B. Mandal. 1997. Thermal stability of modified caseins. *Thermocimica Acta* 302: 47-52.
- Yitnosumarto, S. 1993. *Percobaan, Perancangan, Analisis dan Interpretasinya*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.