

Modifikasi Genetik Beta-Conglycinin dan Glycinin untuk Perbaikan Nilai Nutrisi Kedelai

M. Muchlish Adie

Balai Penelitian Kacang-kacangan dan Umbi-umbian, Malang

ABSTRAK

Kedelai memiliki kandungan protein tertinggi di antara tanaman pangan lainnya. Protein kedelai dinilai berkualitas rendah disebabkan oleh rendahnya kandungan asam amino terutama sistein dan methionin. Protein kedelai sebagian besar (70%) terdiri dari beta-conglycinin (7S globulin) dan glycinin (11S globulin). Aplikasi metode SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis) untuk mendeteksi globulin pada biji kedelai telah dilakukan dan memberikan hasil yang andal. Kedua globulin tersebut memiliki karakteristik yang bertalian yaitu globulin 11S memiliki kandungan sistein dan methionin tiga sampai empat kali lebih banyak dibanding yang terdapat pada globulin 7S, disamping juga kandungan kedua globulin tersebut memiliki korelasi negatif yang kuat. Beta-conglycinin terdiri dari polipeptida α , α' , dan β . Sedangkan glycinin terdiri dari enam subunit intermediet tak-identik yang masing-masing berisi satu polipeptida acidic dan satu polipeptida basic. Keberadaan dan ketiadaan subunit α dikendalikan oleh alel tunggal resesif dan bersifat independen terhadap subunit α' dan β . Modifikasi genetik untuk perbaikan nilai nutrisi kedelai dapat dilakukan dengan menurunkan kandungan 7S dan meningkatkan kandungan 11S. Penggabungan ketiga alel tersebut ke dalam satu varietas merupakan langkah penting, yang akan bermanfaat terhadap peningkatan kualitas protein kedelai di samping dukungannya terhadap industri yang berbahan baku kedelai.

Kata kunci: Beta-conglycinin, glycinin, kedelai.

ABSTRACT

Genetic modifications of beta-conglycinin and glycinin for improvement of soybean nutritional. Soybean has the highest protein content among seed crops. However the protein quality is poor due to the low content of the sulfur containing amino acids, cystein and methionine. The major protein components of soybean seed proteins are beta-conglycinin (7S) and glycinin (11S) which account for about 70% of the total seed proteins. The sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) has been used successfully to identify the protein composition on soybean seed. The characteristics of its globulin are different, glycinin contains three to four times more cystein and methionine than 7S globulin. Furthermore, components of both globulin show a very strong negative correlation. The 7S globulin is composed of three kinds of polypeptides, names as α , α' , and β subunits. The 11S globulins is composed of six non-identical intermediate subunits, each consists of one acidic and one basic polypeptide. The absence of the α subunit is controlled by a single recessive allele and the reduction of the levels of α and β subunits by their respective independent single alleles. Therefore, it is reasonable to improve the nutritional value of soybean protein by decreasing its 7S content or increasing its 11S content. Incorporation of the three variant alleles of the 7S globulin subunit is effective and useful for developing commercial varieties with improved composition of seed proteins and food processing characteristics.

Key words: Beta-conglycinin, glycinin, soybean.

PENDAHULUAN

Pemenuhan protein yang bersumber dari penggunaan bahan makanan asal biji kedelai telah dikenal sejak beberapa abad yang lalu, khususnya di Cina dan Jepang. Dibandingkan dengan komoditas tanaman kacang-kacangan lainnya, kedelai memiliki kandungan protein tertinggi yaitu berkisar antara 33-45% (Tabel 1) (Salunkhe *et al.*, 1985). Sepuluh varietas kedelai terbaru yang telah dilepas di Indonesia, kandungan proteinnya juga berkisar antara 34-39%, sedangkan kacang tanah berkisar antara 21-32%, dan kacang hijau adalah 18-26% (Tabel 2) (Kasim dan Djunainah, 1993). Mengingat kandungan protein kedelai yang cukup tinggi tersebut, tidak mengherankan jika bahan olahan kedelai menjadi sangat beragam.

Kelemahan dari protein kedelai adalah disebabkan oleh rendahnya kandungan asam amino bersulfur, terutama sistein dan methionin (Koshiyama, 1968; Derbyshire *et al.*, 1976; Coates *et al.*, 1985). Jika dibandingkan dengan kandungan methionin pada padi, maka methionin pada kedelai hanya sekitar setengahnya dan setara dengan jagung (Tabel 3) (Snyder dan Kwon, 1987).

Jika disetarakan dengan protein daging, telur, maupun susu, maka kandungan sistein dan methionin biji kedelai adalah sekitar 2% atau setengah dari kandungan protein hewani.

Upaya perbaikan nilai protein pada kedelai dengan cara memodifikasi beta-conglycinin dan glycinin telah dilakukan secara intensif oleh pemulia kedelai di Jepang, namun di Indonesia upaya tersebut belum dilakukan. Dalam rangka meningkatkan konsumsi protein yang murah, khususnya bagi masyarakat pedesaan, maka perbaikan nilai nutrisi kedelai harus sudah dimulai dan dilakukan secara terintegrasi antara berbagai bidang keilmuan.

Tabel 1. Kandungan protein dari beberapa komoditas kacang-kacangan.

Komoditas	Kisaran kandungan protein (%)
Chickpea	14,9 – 29,6
Kacang gude	18,8 – 28,5
Lentil	20,4 – 30,5
Kacang tunggak	20,9 – 34,6
Kacang faba	22,9 – 38,5
Kacang tanah	23,5 – 33,5
Kedelai	33,2 – 45,2

Sumber: Salunkhe *et al.* (1985).

Tabel 2. Kandungan protein dari sepuluh varietas terbaru kedelai, kacang tanah, dan kacang hijau.

Kedelai	Protein (%)	Kacang tanah	Protein (%)	Kacang hijau	Protein (%)
Lompobatang	38	Tupai	28	Merak	22
Dieng	37	Kelinci	31	Nuri	25
Tengger	38	Landak	31	Manyar	22
Jayawijaya	39	Mahesa	27	Betet	23
Krakatau	36	Badak	24	Walet	22
Tampomas	34	Komodo	32	Gelatik	20
Cikuray	35	Biawak	31	Parkit	23
Singgalang	34	Trenggiling	31	Camar	26
Malabar	37	Simpai	32	Merpati	18
Kipas putih	35	Zebra	21	Sriti	18

Sumber: Kasim dan Djunainah (1995).

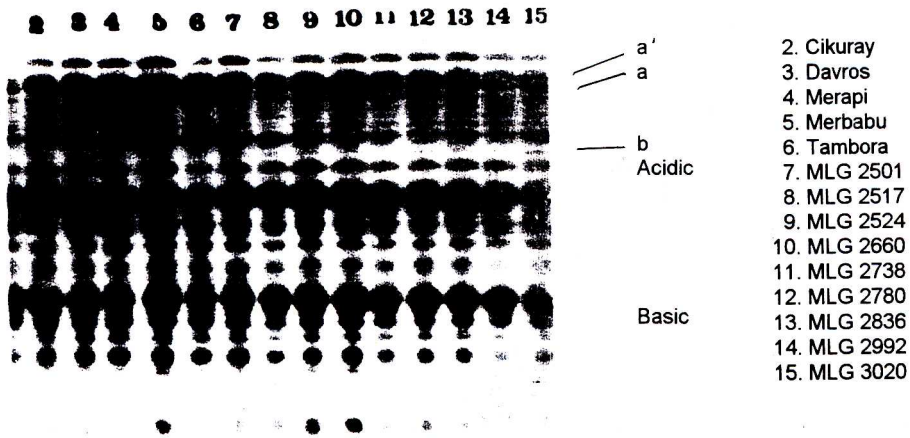
Tabel 3. Komposisi asam amino essensial dari kedelai, padi, dan jagung.

Asam amino	Kedelai	Padi	Jagung
Isoleusin	5,1	4,1	3,7
Leusin	7,7	8,2	13,6
Lisin	6,9	3,8	2,6
Methionin	1,6	3,4	1,8
Phenilalanin	5,0	6,0	5,1
Thrionin	4,3	4,3	3,6
Triptophan	1,3	1,2	0,7
Valin	5,4	7,2	5,3
Histidin	2,6	2,8	

Sumber: Snyder dan Kwon (1987).

DASAR PEMIKIRAN TERHADAP UPAYA MODIFIKASI GENETIK

Beta-conglycinin (7S) dan glycinin (11S) merupakan dua komponen penyusun protein tersimpan (*storage protein*) terbesar (hampir 70%) dari total protein pada biji kedelai. Beta-conglycinin didominasi oleh polipeptida α , α' , dan β , dan hanya sebagian kecil terdiri dari subunit δ (Thanh dan Shibasaki, 1977). Sedangkan glycinin (11S) terdiri dari enam subunit intermediat tak-identik yang masing-masing berisi satu polipeptida acidic dan satu polipeptida basic (Lyengar dan Ravestein, 1981). Glycinin pada biji kedelai normal terdiri dari dua tipe yaitu tipe A5 dan tipe A4 (Gambar 1). Nielsen (1985) mengkategorikan kedua tipe tersebut dengan tipe A4 dan tipe A3.

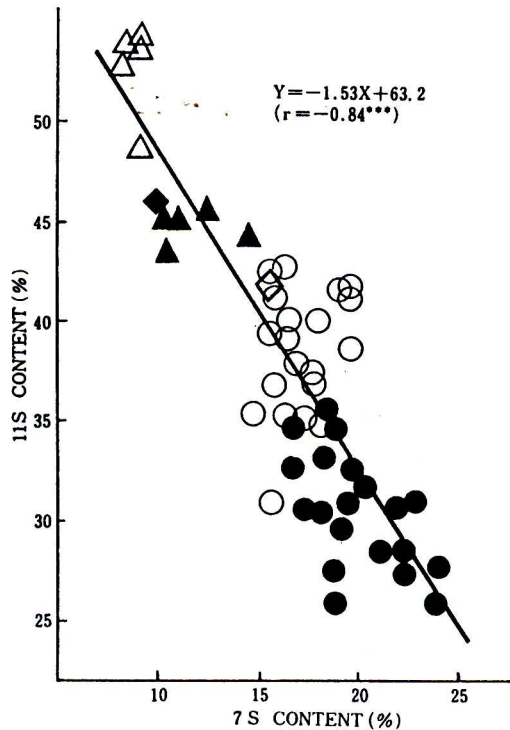


Gambar 1. Identifikasi beta-conglycinin dan glycinin dari beberapa galur kedelai dengan metode SDS - PAGE.

Modifikasi genetik terhadap beta-conglycinin dan glycinin didasarkan atas hasil beberapa kajian dan karakteristik dari asam amino itu sendiri yang berupa:

1. Glycinin memiliki kandungan sistein dan methionin 3-4 kali lebih banyak dibandingkan yang terdapat pada beta-conglycinin (Koshiyama, 1968).
2. Beta-conglycinin memiliki tingkat emulsi yang lebih tinggi dan stabil dibanding glycinin, sebaliknya glycinin memiliki kemampuan membentuk gel yang lebih keras dibanding beta-conglycinin.
3. Kedua asam amino di atas memiliki korelasi negatif yang cukup kuat (Kitamura dan Kaizuma, 1981; Ogawa *et al.*, 1989; Mizuno *et al.*, 1994). Hasil penelitian Ogawa *et al.* (1989) yang memetakan sebanyak 52 galur, yang terdiri dari galur kedelai bertipe 7S sangat rendah, sedangkan koefisien korelasi galur bertipe A4 dan A5 dan sebesar $r = -0,84$ (Gambar 2). Hasil pengukuran kepadatan beta-conglycinin, glycinin serta enzim lipoksigenase yang kami lakukan terhadap delapan galur kedelai (Gambar 3, Tabel 1) juga menunjukkan hubungan sangat kuat antara kedua asam amino tersebut dengan nilai $r = -0,92$.

Bertitik tolak dari permasalahan bahwa glycinin memiliki kandungan sistein dan methionin lebih tinggi dibanding yang terdapat pada beta-conglycinin serta keduanya memiliki hubungan negatif maka upaya peningkatan kualitas protein pada kedelai secara logis dapat dilakukan dengan cara melakukan pendekatan genetik, melalui peniadaan atau mengurangi kandungan 7S serendah mungkin. Dengan cara modifikasi genetik yang demikian maka akan didapatkan peningkatan terhadap kandungan 11S, yang akan berakibat terhadap meningkatnya kandungan sistein dan methionin pada protein kedelai.

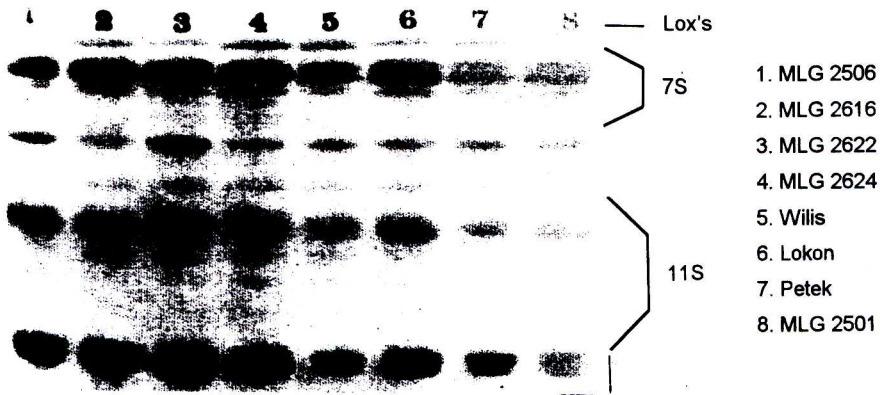


Gambar 2. Hubungan antara beta-conglycinin dan glycinin pada kedelai (Ogawa *et al.*, 1989).

Tabel 4. Luasan dan luasan relatif dari glycinin, beta-conglycinin serta enzim lipoksigenase dari delapan galur kedelai.

Galur	Glycinin		Beta-conglycinin		Lipoksigenase	
	Luasan (mm)	Luasan Relatif (%)	Luasan (mm)	Luasan Relatif (%)	Luasan (mm)	Luasan Relatif (%)
MLG 2506	3,551	62,01	2,027	35,36	0,151	2,63
MLG 2616	3,007	51,96	2,425	41,88	0,357	6,17
MLG 2622	3,188	53,35	2,546	42,63	0,241	4,03
MLG 2624	3,453	55,46	2,361	37,91	0,413	6,63
Wilis	2,342	50,10	1,920	41,08	0,412	8,81
Lokon	4,031	57,46	2,674	38,12	0,311	4,43
Petek	3,036	50,20	2,649	43,82	0,361	5,97
MLG 2501	4,875	59,90	3,019	37,10	0,243	2,99

Keterangan: mm = microns.



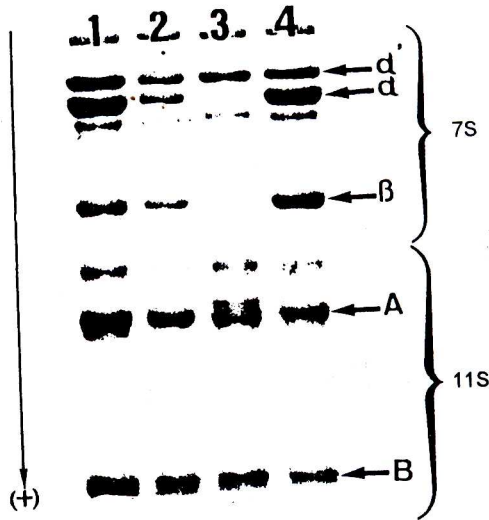
Gambar 3. Pemetaan glycinin, beta-conglycinin serta enzim lipoksigenase dari delapan galur kedelai dengan metode SDS-PAGE.

KONSTITUSI GENETIK BETA-CONGLYICININ DAN GLYCININ

Upaya perbaikan nilai nutrisi pada kedelai diawali setelah teridentifikasinya dua galur kedelai yaitu Keburi dan Mo-shi-dou yang masing-masing tidak mengandung subunit α' dan mengandung cukup rendah α dan β (Kitamura dan Kaizuma, 1981). Pada perkembangan selanjutnya upaya melalui iradiasi menggunakan sinar O telah dilakukan untuk mendapatkan galur kedelai yang tidak mengandung sebagian subunit beta-conglycinin (Gambar 4) (Takahashi *et al.*, 1996; Phan *et al.*, 1996). Penelusuran terhadap kedelai liar yang dilakukan selama dua tahun di kepulauan Kyushu, Jepang, mendapatkan galur yang sama sekali tidak mengandung beta-conglycinin (Komunikasi Pribadi). Keberhasilan tersebut telah membuka wahana penelitian baru, dengan memanfaatkan identifikasi SDS-PAGE sebagai pengukur seleksi untuk memanipulasi gen dalam rangka meningkatkan nilai nutrisi kedelai.

Subunit beta-conglycinin dan glycinin dikendalikan secara genetik. Kitamura *et al.* (1984) melaporkan bahwa keberadaan subunit α' dan subunit A4 (11S) dikendalikan oleh alel tunggal resesif, yaitu masing-masing oleh *cgyl* dan *gy4*. Lebih lanjut, Tsukada *et al.* (1986) melaporkan bahwa pewarisan subunit α' , α , dan subunit A4 bersifat bebas antara satu dengan lainnya. Kedua peneliti sepakat untuk memberikan simbol gen *Cgyl* dan *cgyl* untuk menunjukkan keberadaan dan ketiadaan dari subunit α' , sedangkan keberadaan subunit α disimbolkan dengan *Cgy2*. Sebaliknya *cgyl* digunakan untuk menyatakan ketiadaan subunit α tersebut bersifat resesif terhadap keberadaan subunit bersangkutan.

Dengan konsep alel pengendali yang bersifat bebas serta bersifat resesif akan memberikan keuntungan dan peluang besar untuk dimanfaatkan dalam rangka mengkombinasikan gen tertentu yang diinginkan, yaitu dengan cara memanipulasi beta-conglycinin menjadi serendah mungkin.



Gambar 4. Beta-conglycinin dari galur kedelai 1 = tipe normal, 2 = tipe intermediat untuk α dan β , 3 = defisit α dan β , 4 = tipe normal
 Sumber: Phan *et al.* (1996).

REKOMBINASI DAN POLA PEWARISAN

Proses rekombinasi terhadap alel menguntungkan dapat terlaksana hanya jika tersedia gen donor. Identifikasi beta-conglycinin dan glycinin pada 137 galur kedelai asal koleksi plasma nutfah Balitkabi yang kami lakukan menggunakan metode SDS - PAGE belum menghasilkan galur yang defisit untuk kedua asam amino tersebut (Gambar 1). Masih tersedianya sumber genetik kedelai yang cukup besar di dalam koleksi plasma nutfah memberi peluang untuk mendapatkan gen donor dan karenanya perlu dilakukan identifikasi lebih lanjut.

Takahashi *et al.* (1996) menunjukkan bahwa pada generasi F1, keberadaan subunit α pada biji kedelai bersifat dominan terhadap ketiadaan subunit tersebut, namun pada generasi F2 ketiadaan subunit α dikendalikan oleh alel tunggal resesif (Tabel 5). Kajian lebih lanjut menunjukkan bahwa pada populasi F2 diperoleh pola pewarisan yang independen baik antara dua lokus yang mengendalikan subunit α dan α' maupun tiga lokus untuk α , α' , dan subunit A4 (Phan *et al.*, 1996, Takahashi *et al.*, 1996). Selanjutnya Takahashi *et al.* (1996) berdasar atas persilangan antara galur kedelai defisit 7S dengan kedelai normal beserta resiprokalnya memberikan kesimpulan bahwa ketiadaan subunit α ditentukan oleh gen kromosomal bukan oleh faktor sitoplasmik. Diperolehnya hasil bahwa pola pewarisan antarsubunit 7S dan subunit 11S yang bersifat independen memberikan harapan untuk merekombinasikan setiap subunit secara mudah dengan tingkat keberhasilan yang tinggi. Hal ini

berlainan dengan yang terjadi pada enzim lipoksigenase pada biji kedelai di mana lokus *lx-3* bersifat bebas terhadap lokus *lx-1* dan *lx-2*, namun lokus *lx-2* tidak bebas terhadap lokus *lx-1* (Davies dan Nielson, 1986). Apabila terjadi kasus yang demikian maka proses rekombinasi ketiga lokus ke dalam satu galur akan lebih sulit.

Manipulasi genetik untuk menyatukan alel α , α' , dan β ke dalam satu galur akan mempengaruhi perimbangan kandungan antara 7S dan 11S pada biji kedelai. Ogawa *et al.* (1989) menyatakan bahwa galur kedelai dengan kandungan globulin 7S setengah dari kandungan 7S kedelai bertipe normal akan meningkatkan globulin 11S sebesar 79%, atau sekitar 40% lebih banyak kandungan 11S dibanding kedelai bertipe normal. Kenyataan tersebut secara nyata akan meningkatkan total protein biji dari 41% menjadi 43% (Tabel 6). Dengan menurunnya kandungan 7S mampu meningkatkan kandungan asam amino pada biji kedelai sebesar 20% dibanding dengan asam amino yang terdapat pada kedelai normal. Daya kompensasi antara 7S dan 11S seperti yang ditemukan pada kedelai ternyata terjadi pula pada protein biji kacang buncis antara lektin dan phaseolin, di mana menurunnya kandungan lektin akan meningkatkan kandungan phaseolin (Osborn dan Bliss, 1985).

Kajian mikroskopis terhadap jaringan kotiledon biji menunjukkan bahwa galur kedelai bertipe 7S rendah tidak mengalami perubahan morfologis protein biji, demikian juga perubahan komposisi protein dalam biji tidak menyebabkan pertumbuhan abnormal misalnya menurunnya perkecambahan ataupun perubahan sifat-sifat agronomik lainnya.

Pendekatan genetik untuk perbaikan nilai protein pada kedelai di Indoensia belum dilaksanakan. Mengingat kebutuhan akan pemenuhan protein yang murah dan berkualitas serta tingkat keberhasilan yang telah dicapai oleh negara lain, maka penanganan aspek beta-conglycinin dan glycinin pada kedelai harus dilakukan. Tersedianya metode SDS - PAGE sebagai alat pengukur dan penilai yang akurat akan keberadaan asam amino serta dipadu dengan pemanfaatan konstitusi genetik dan pola pewarisan yang telah diketahui, akan memungkinkan dilaksanakan upaya tersebut dengan tingkat keberhasilan yang tinggi.

Tabel 5. Pola segregasi pada populasi F2 dari persilangan antara kedelai defisit subunit α dengan kedelai tipe normal.

Fenotipe α	Jumlah biji		Nilai X2 (3 : 1)	P
	Pengamatan	Perkiraan		
+	124	124,5	0,01	> 0,75
-	42	41,5		

Sumber: Takahashi *et al.* (1996).

Tabel 6. Kandungan total dan fraksional protein galur kedelai dengan kandungan 7S rendah dan kedelai normal.

Status galur	Jumlah galur diuji	Total protein (%)	% dari total protein	
			7S	11S
Galur defisit α'				
α' dan β rendah:				
Tipe A5	5	43,4	8,7	52,5
Tipe A4	5	44,4	11,7	44,7
Galur normal:				
Tipe A5	20	41,4	17,3	38,3
Tipe A4	20	41,1	19,5	31,2

Sumber: Takahashi *et al.* (1996).

Di masa yang akan datang, manipulasi genetik terhadap beta-conglycinin dan glycinin pada kedelai tidak hanya penting sebagai penyedia protein berkualitas, namun juga merupakan wahana kajian yang sangat menarik, di antaranya adalah:

1. Memiliki prospek penting untuk keperluan industri. Nisbah 7S/11S yang tinggi penting untuk industri berbahan baku kedelai karena tingkat emulsi yang tinggi dan stabil. Nisbah 11S/7S yang tinggi akan menyebabkan pembentukan gel yang lebih keras, hal ini penting untuk industri tahu. Perimbangan nisbah 7S/11S untuk keperluan industri masih merupakan bahan kajian yang masih perlu dijawab.
2. Banyak laporan terbaru yang mengungkapkan bahwa keberadaan subunit α' merupakan salah satu komponen penyebab alergi yang mengakibatkan penyakit radang kulit. Tersedianya varietas kedelai yang defisit atau mengandung 7S cukup rendah sangat penting untuk mengatasi dan meningkatkan konsumsi kedelai.

DAFTAR PUSTAKA

- Coates, J.B., J.S. Medeiros, V.H. Thanh and N.C. Nielson. 1985. Characterization of the subunits of beta-conglycinin. Arch. Biochem. Biophys. 23: 184-194.
- Davies, C.S. and N.C. Nielson. 1986. Genetic analysis of a null allele for lipoxygenase-2 in soybean. Crop Sci. 26: 460-463.
- Derbyshire, E., D.J. Wright, and D. Boulter. 1976. Legumin and vicilin, storage proteins of legumes seed. Phytochemistry. 15: 3-24.
- Lyengar, R.B. and P. Ravestein. 1981. New aspect of subunit structure glycinin. Cereal Chem. 58: 325-330.
- Kasim, H. dan Djunainah. 1993. Deskripsi varietas unggul palawija 1918-1992. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, Bogor. 155 pp.

- Kitamura, K., C.S. Davies and N.C. Nielsen. 1984.** Inheritance of alleles for *Cgy10d* and *Gy4* storage protein genes in soybean. *Theor. Appl. Genet.* 68: 253-257.
- Kitamura, K. and N. Kaizuma. 1981.** Mutant strain with low level of subunits of 7S globulin in soybean seed. *Japan J. Breed.* 31: 353-359.
- Koshiyama, I. 1968.** Chemical and physical properties in soybean globulins. *Cereal Chem.* 45: 394-404.
- Mizuno, Y., K. Takahashi, H. Namai and K. Kitamura. 1994.** Changes of seed components associated with the absence of a and a' subunits of 7S globulin in soybean. *Breed. Sci.* 44: 201.
- Nielsen, N.C. 1985.** The structure and complexity of the 11S polypeptides in soybeans. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 62: 1680-1686.
- Ogawa, T., E. Tayama, K. Kitamura, and N. Kaizuma. 1989.** Genetic improvement of seed storage proteins using three variant alleles of 7S globulin subunits in soybean. *Japan J. Breed.* 39: 137-147.
- Osborn, T.C. and F.A. Bliss. 1985.** Effect of genetically removing lectin seed protein on horticultural and seed characteristic of common bean. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 110: 484-488.
- Phan, T.H., N. Kaizuma, H. Odanaka, and Y. Takahata. 1996.** Specific inheritance of a mutant gene controlling a, b subunits-null of beta-conglycinin in soybean and observation of chloroplast ultrastructure of the mutant. *Breed. Sci.* 46: 53-59.
- Salunkhee, D.K., S.S. Kadam, and J.K. Chavan. 1985.** Postharvest biotechnology of food legumes. CRC Press, Inc. Florida. 160 pp.
- Snyder, H.E. and T.W. Kwon. 1987.** Soybean utilization. Van Nostrand Reinhold Co. New York. 346p.
- Takahashi, K, Y. Mizuno, S. Yumoto, K. Kitamura, and S. Nakamura. 1996.** Inheritance of the a-subunit deficiency of beta-conglycinin in soybean line induced by y-ray irradiation. *Breed. Sci.* 46: 251-255.
- Thanh, V.H. and K. Shibasaki. 1977.** Beta-conglycinin from soybean proteins. Isolation and immunological and physicochemical properties of the monomeric forms. *Arch. Biochem. Biophys.* 490: 370-384.
- Tsukada, Y., K. Kitamura, K. Harada, and N. Kaizuma. 1986.** Genetic analysis of two major storage protein (beta-conglycinin and glycinin) in soybean seed. *Japan J. Breed.* 36: 390-400.