

Teknologi fermentasi santan - Peningkatan sebatian aktif dan aktiviti antioksidan

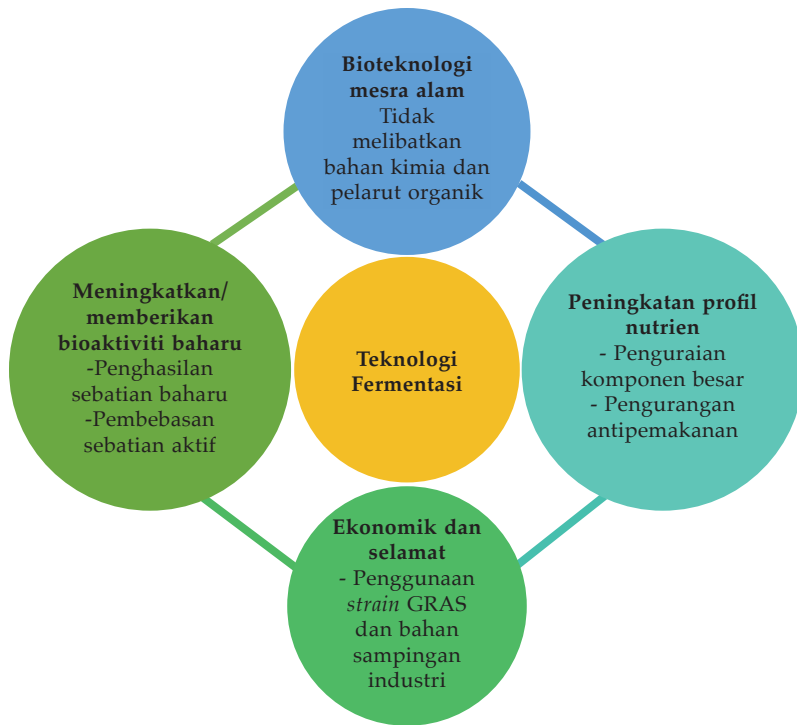
(Coconut milk fermentation technology - Enhancement of bioactive compounds and antioxidant activity)

Nur Yuhasliza Abd Rashid, Muhammad Anas Othaman, Sukirah Abdul Rahman, Azlina Mansor, Shaiful Adzni Sharifudin, Aina Kahar dan Aida Hamimi Ibrahim

Pengenalan

Teknologi fermentasi adalah satu teknologi yang melibatkan penggunaan mikroorganisma sama ada hadir secara semula jadi atau melalui inokulasi ke atas sesuatu bahan atau substrat. Mikroorganisma yang hadir bertanggungjawab menukar substrat kepada produk yang dikehendaki. Mikroorganisma ini merembeskan enzim bagi tujuan mengurai substrat kepada komposisi yang lebih ringkas. Proses ini akan menghasilkan makanan bagi pembekalan tenaga dan aktiviti pertumbuhan. Enzim yang dikeluarkan semasa proses fermentasi bergantung kepada spesies mikroorganisma dan juga komposisi substrat. Semasa proses fermentasi, substrat yang berbeza komposisi akan menghasilkan bahan bernilai yang berbeza. Proses fermentasi juga diketahui dapat memperkayakan sesuatu substrat seperti menghasilkan protein dan karbohidrat yang lebih ringkas seperti peptida, asid amino, oligosakarida dan gula ringkas. Ia juga membebaskan ikatan sebatian aktif seperti asid fenolik dan flavonoid daripada ikatan karbohidrat atau protein, meningkatkan profil nutrisi, penghasilan asid organik yang terhasil daripada proses metabolisme mikroorganisma, penghasilan sebatian baharu dan dapat mengurangkan antipemakanan (*anti-nutrient*) dalam substrat. Selain itu, teknologi fermentasi adalah proses bioteknologi yang mesra alam dan lebih murah untuk menambah nilai sesuatu substrat berbanding dengan penggunaan enzim. *Carta alir 1* meringkaskan kelebihan teknologi fermentasi untuk meningkatkan nilai sesuatu bahan.

Santan merupakan satu produk emulsi minyak dalam air semula jadi yang diekstrak daripada kopra kelapa matang (*Cocos nucifera* L.) yang memainkan peranan penting dalam kebanyakan makanan tradisional Asia. Penampilan fizikal santan berwarna putih susu dengan bau dan aroma kelapa yang kuat digunakan sebagai bahan asas untuk menggantikan susu tenusu dalam produk bukan tenusu. Ia boleh diambil oleh orang yang mengalami alahan terhadap susu lembu. Secara amnya, santan terdiri daripada 35% lemak dan 11% pepejal tanpa lemak. Sebilangan besar lemak yang terdapat dalam santan ialah lemak tepu rantai sederhana yang mudah dicernakan oleh tubuh dan dapat memberikan tenaga yang cepat. Asid laurik ialah asid lemak yang terdapat dalam santan dan juga susu ibu.



Nota: GRAS - *Generally Recognized as Safe*

Carta alir 1. Kebaikan teknologi fermentasi untuk menambah nilai bahan

Kajian saintifik terdahulu melaporkan asid lemak daripada santan ini dapat meningkatkan perkembangan otak dan kesihatan tulang manusia.

Artikel ini membincangkan kesan fermentasi santan dengan ragi terpilih daripada Koleksi Kultur Makanan Berfungsi MARDI (CFFC) terhadap penghasilan dan perubahan sebatian bioaktif serta keupayaan antioksidan selepas proses fermentasi. Teknologi fermentasi yang digunakan adalah fermentasi separa pepejal untuk meningkatkan sebatian bioaktif yang disasarkan iaitu asid amino, asid fenolik dan penghasilan glutathion (GSH). Sebatian bioaktif ini seperti asid amino berkaitan dengan nilai nutrisi pemakanan manakala sebatian fenolik dan GSH berperanan dalam menyumbang kepada aktiviti biologi seperti antioksidan. Proses fermentasi yang berkesan bergantung kepada beberapa faktor seperti keupayaan mikroorganisma yang digunakan untuk menghasilkan enzim yang disasarkan, komposisi bahan mentah dan kondisi fermentasi. Bagi mempelbagaikan produk berasaskan santan dan untuk menambah nilai santan, satu kajian pembangunan produk baharu melalui teknologi fermentasi menggunakan yis terpilih (*S. cerevisiae* Y0001) telah dijalankan di MARDI. Yis *S. cerevisiae* Y0001 dipilih untuk proses fermentasi ke atas santan kerana *strain* tersebut berupaya menghasilkan asid amino, β -glukan dan GSH secara tidak langsung menambah nilai nutrisi santan yang baik untuk kesihatan.

Apa itu glutation?

Glutation (GSH) atau nama saintifiknya *tiol tripeptida* (*γ-glutamylcysteineglysine*) terdiri daripada tiga asid amino iaitu asid L-glutamik, asid L-sistein dan glisin. GSH ialah agen antioksidan secara semula jadi dalam sel-sel badan yang dihasilkan oleh hati dan terlibat dalam kebanyakan proses di dalam badan manusia. GSH lebih dikenali sebagai antioksidan utama kerana mampu mencegah kerosakan komponen sel penting yang disebabkan oleh spesies oksigen reaktif yang terlibat dalam pembaikan tisu dan penguat sistem imun badan.

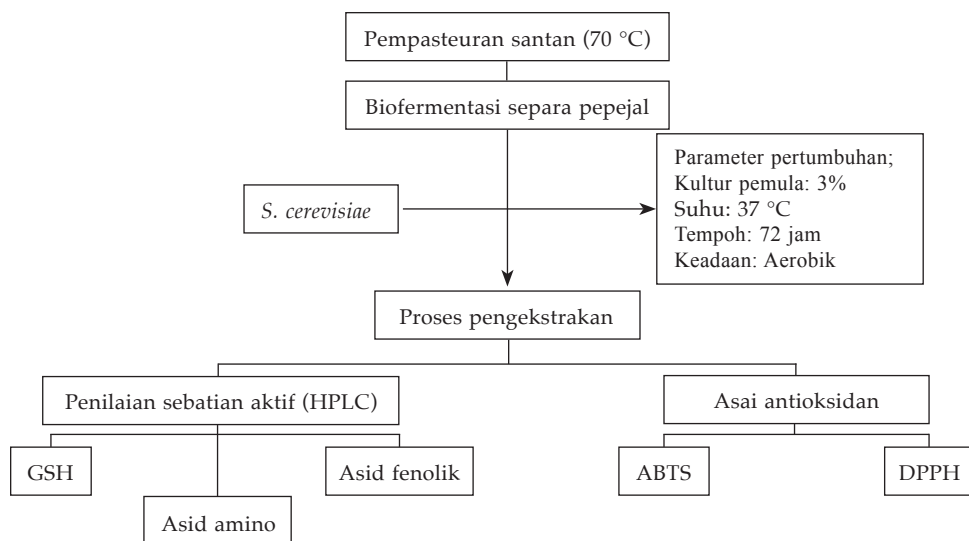
Tahap atau kandungan GSH di dalam badan akan menurun seiring bertambahnya usia. Pada masa kini, produk yang mengandungi GSH telah mendapat populariti dan perhatian ramai kerana memberi manfaat kepada kesihatan.

Penggunaan GSH bukan sahaja merangkumi bidang farmasi, malah semakin berkembang dalam industri kosmetik dan makanan. GSH boleh dihasilkan dengan menggunakan kaedah enzim dan fermentasi mikrob. Melalui kaedah fermentasi mikrob, GSH dihasilkan secara terus dengan menggunakan gula sebagai bahan pemula. Kini, pengeluaran GSH pada skala industri adalah melalui fermentasi mikrob menggunakan mikroorganisma *S. cerevisiae* dan *Candida utilis*.

Kesan biofermentasi ke atas santan dengan *Saccharomyces cerevisiae*

Tujuan utama kajian ini adalah untuk menilai kesan biofermentasi ke atas santan dengan *S. cerevisiae* Y0001 dari segi perubahan kandungan asid amino dan penghasilan sebatian aktif seperti GSH dan asid fenolik serta keupayaan antioksidan. Kajian analisis proksimat sebelum ini menunjukkan santan mempunyai sumber tenaga yang sesuai untuk pertumbuhan yis seperti protein (6.0 – 7.5%), karbohidrat (14.3 – 15.8%) dan lemak (23.7 – 24.7%). Kondisi pertumbuhan yis seperti suhu, jumlah kultur pemula dan tempoh fermentasi telah ditetapkan untuk proses fermentasi yang telah dijalankan ke atas santan (*Carta alir 2*). Penentuan asid amino, GSH dan asid fenolik telah dikenal pasti dengan menggunakan kaedah kromatografi cecair berprestasi tinggi (HPLC). Kepekatan sebatian tersebut dikira menggunakan lengkung piawai yang diperolehi dengan menyuntik sebatian piawai dengan jumlah kepekatan yang diketahui.

Jadual 1 menunjukkan komposisi asid amino dalam santan segar dan santan yang telah difermentasi dengan *S. cerevisiae*. Profil asid amino menunjukkan semua asid amino meningkat kandungannya selepas 72 jam proses fermentasi kecuali lisin. Jumlah asid amino dalam santan difermentasi meningkat 3.01 kali ganda (1.542 g/100 g) daripada jumlah awal dalam santan segar (0.511 g/100 g). Peningkatan jumlah tersebut adalah disebabkan penurunan protein kompleks oleh enzim proteolitik yang dihasilkan oleh *S. cerevisiae* sehingga membebaskan asid amino untuk aktiviti metabolisme. Asid glutamat, arginin dan



Nota: DPPH- 1,1- difenil-2-pikrihidazil, ABTS- 2,2'-azino-bis 3-ethylbenzothiazoline6-sulfonic acid
 Carta alir 2. Proses bio-fermentasi santan dengan *S. cerevisiae* dan analisis yang dijalankan

asid aspartik didapati sebagai asid amino yang paling dominan dalam kedua-dua sampel santan. Kesan fermentasi menunjukkan kehadiran asid amino metionin yang sebelum ini tidak dapat dikesan dalam santan. Metionin merupakan asid amino penting yang tidak dapat dihasilkan oleh manusia dan pengambilannya dalam bentuk diet diperlukan untuk fungsi tubuh yang baik. Proses fermentasi *S. cerevisiae* pada santan juga menunjukkan peningkatan terhadap kandungan asid amino yang memainkan peranan dalam penghasilan GSH iaitu asid glutamik, glisin dan sistin.

GSH terhasil di dalam santan selepas proses fermentasi dengan *S. cerevisiae*. Santan yang difermentasi telah melalui beberapa teknik pengekstrakan berbeza untuk memperoleh GSH. *Jadual 2* menunjukkan kandungan GSH yang diperoleh menggunakan teknik pengekstrakan yang berbeza. Teknik pembantu ultrasonik menggunakan *Ultrasonic Processor* selama 10 minit menunjukkan kaedah pengekstrakan terbaik untuk memperoleh hasil kepekatan GSH yang tertinggi (20.72 µg/mL). Tambahan pula, teknik seperti pemanasan pada 95 °C selama 10 minit dan cecair nitrogen pada tekanan 1,500 psi selama 10 minit untuk pengekstrakan GSH tidak menunjukkan sebarang peningkatan hasil kepekatan GSH. Kajian ini juga menunjukkan GSH akan menurun kekekatannya apabila didedahkan dengan pemanasan. Penghasilan GSH selepas proses fermentasi akan meningkatkan profil nutrisi serta nilai santan di pasaran.

Penentuan asid fenolik (asid 4-hidroksibenzoik dan asid galik) menggunakan analisis HPLC telah dijalankan ke atas dua jenis ekstrak iaitu ekstrak air dan 70% metanol (MeOH). *Jadual 3* menunjukkan santan mengandungi asid 4-hidroksibenzoik yang lebih tinggi dalam ekstrak air berbanding dengan ekstrak

Jadual 1. Komposisi asid amino di dalam santan segar dan santan difermentasi dengan *S. cerevisiae* untuk tempoh fermentasi 72 jam

Asid amino (g/100 g)	Santan	Santan + <i>S. cerevisiae</i>
Asid amino penting (AAP)		
Arginina	0.155 ± 0.00	0.269 ± 0.08 ^d
Sistein	0.008 ± 0.00	0.085 ± 0.00
Treonina	0.024 ± 0.00	0.068 ± 0.02
Lisina	0.054 ± 0.02	0.009 ± 0.00
Metionina	0.000	0.013 ± 0.01
Valina	0.025 ± 0.00	0.106 ± 0.03
Isoleusina	0.022 ± 0.01	0.075 ± 0.02
Leusina	0.033 ± 0.0	0.133 ± 0.04
Fenilalanina	0.018 ± 0.00	0.087 ± 0.00
Triptofan	0.000	0.000
Jumlah AAP	0.188	0.533
Asid amino tak penting (AATP)		
Serina	0.040 ± 0.00	0.095 ± 0.02
Glisina	0.036 ± 0.02	0.092 ± 0.03
Asid aspartik	0.070 ± 0.00	0.192 ± 0.00
Asid glutamat	0.278 ± 0.08	0.429 ± 0.11
Alanina	0.047 ± 0.00	0.088 ± 0.03
Prolina	0.033 ± 0.00	0.069 ± 0.02
Tirosina	0.019 ± 0.00	0.044 ± 0.01
Jumlah AATP	0.323	1.009
Jumlah asid amino (AAP dan AATP)	0.511	1.542

Jadual 2. Perbandingan perbezaan teknik pengekstrakan glutation dalam santan yang difermentasi dengan *S. cerevisiae* selama tempoh fermentasi 72 jam

Teknik pengekstrakan	Kepekatan GSH ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
Pembantu ultrasonik	20.72 ± 2.3
Pemanasan	18.88 ± 2.4
Pemanasan + pembantu ultrasonik	19.35 ± 0.4
Pemanasan + pembantu ultrasonik + cecair nitrogen	18.85 ± 1.5

metanol. Walau bagaimanapun, asid 4-hidroksibenzoik tidak dapat dikesan dalam santan selepas proses fermentasi. Ini kerana proses fermentasi telah mengubah asid 4-hidroksibenzoik kepada asid galik dan menyebabkan asid galik dapat dikesan dalam semua jenis ekstrak selepas proses fermentasi. Asid 4-hidroksibenzoik banyak digunakan dalam industri makanan sebagai bahan pengawet dan asid galik terkenal sebagai agen antioksidan. Transformasi asid 4-hidroksibenzoik kepada asid galik selepas proses fermentasi memberi kesan kepada aktiviti biologi seperti peningkatan aktiviti antioksidan.

Jadual 3. Kandungan asid fenolik (asid 4-hidroksibenzoik dan asid galik) dalam santan dan santan difermentasi selama tempoh fermentasi 72 jam

		Asid fenolik ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	
Sampel	Ekstrak	Asid 4-hidroksibenzoik	Asid galik
Santan	Air	18.24 ± 0.47^a	0.00
	70% MeOH	7.54 ± 0.10^b	0.00
Santan + <i>S. cerevisiae</i>	Air	0.00	17.36 ± 0.24
	70% MeOH	0.00	16.12 ± 0.05

Analisis aktiviti antioksidan turut dijalankan untuk melihat kesan perubahan dan penghasilan sebatian aktif dalam santan selepas proses fermentasi. Proses fermentasi menyebabkan berlakunya penguraian struktur besar kepada struktur yang ringkas dan pembebasan sebatian aktif serta penghasilan sebatian baharu mempengaruhi aktiviti biologi santan. Aktiviti antioksidan ditentukan oleh perencatan radikal DPPH dan radikal kation ABTS. *Jadual 4* menunjukkan aktiviti antioksidan untuk sampel santan segar dan santan difermentasi selama 72 jam. Hasil kajian menunjukkan bahawa aktiviti antioksidan lebih tinggi selepas proses fermentasi dan ekstrak air memberikan aktiviti paling tinggi bagi kedua-dua asai antioksidan yang dijalankan. Fermentasi santan dengan *S. cerevisiae* mempunyai pengaruh positif terhadap kesan perencatan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) yang selari dengan peningkatan sebatian bioaktif seperti asid amino serta penghasilan GSH dan asid galik. Sebatian aktif tersebut larut dalam air yang menyumbang kepada peningkatan aktiviti antioksidan.

Jadual 4. Aktiviti antioksidan dalam santan segar dan santan difermentasi selama tempoh fermentasi 72 jam

Sampel	Ekstrak	Perencatan (%)	
		DPPH	ABTS
Santan	Air	36.51 ± 7.3	74.18 ± 5.3
	70% MeOH	33.12 ± 1.6	70.58 ± 2.7
Santan + <i>S. cerevisiae</i>	Air	53.16 ± 1.6	90.73 ± 1.7
	70% MeOH	46.71 ± 4.6	88.6 ± 5.5

Kesimpulan

Kajian ini menunjukkan proses fermentasi ke atas santan dengan *S. cerevisiae* meningkatkan profil nutrisi seperti kandungan asid amino yang lebih tinggi dan penghasilan sebatian aktif seperti GSH dan asid galik. Penghasilan sebatian aktif ini menyumbang kepada aktiviti antioksidan yang baik untuk kesihatan. Santan yang telah ditambah nilai ini akan mendorong pengembangan kepelbagaian produk berasaskan santan.

Bibliografi

- Dande, S. dan Manchala, R. (2011). Antioxidant and phenolic content of nuts, oil, seeds, milk and milk products commonly consumed in India. *Food and Nutrition Sciences* 2: 422 – 427
- Hegde, B.M. (2006). Coconut oil - Ideal fat next only to mother's milk. *Journal of Indian Academic Clinicalical Medic.* 7: 16 – 19
- Jenna, M.D., Rong, T., Ronghua, L., Cheryl, D. dan David, J.W. (2015). Effects of cooking on rutin and glutathione concentrations and antioxidant activity of green asparagus (*Asparagus officinalis*) spears. *Journal of Functional Foods* 12: 342 – 353
- Kapila, N.S., Chamil, D.H. dan Sagarika, E. (2009). Comparison of the phenolic-dependent antioxidant properties of coconut oil extracted under cold and hot condition. *Food Chemistry* 114: 1444 – 1449
- Ramesh, S.V., Veda, K., Shelly, P. dan Hebbar, K.B. (2021). Dietary prospects of coconut oil for the prevention and treatment of Alzheimer's disease (AD): A review of recent evidences. *Trends in Food Science & Technology* 112: 201 – 211

Ringkasan

Objektif utama kajian ini adalah untuk menilai kesan fermentasi santan dengan *S. cerevisiae* ke atas sebatian aktif dan aktiviti antioksidan. Fermentasi separa pepejal digunakan untuk meningkatkan sebatian yang disasarkan iaitu asid amino, asid fenolik bernilai tinggi dan penghasilan glutathione (GSH). Dalam kajian yang dijalankan, kandungan sebatian aktif telah ditentukan menggunakan teknik kromatografi cecair berprestasi tinggi (HPLC) dan aktiviti antioksidan dinilai dengan esei DPPH dan ABTS. Asid amino yang dominan dalam santan adalah asid glutamat dan arginin. Keputusan yang diperoleh menunjukkan peningkatan dalam kedua-dua ujian esei DPPH dan ABTS bagi santan difermentasi. Artikel ini menunjukkan bahawa fermentasi

santan dengan *S. cerevisiae* berpotensi untuk menambah nilai santan berdasarkan peningkatan kandungan asid amino, penghasilan GSH yang diketahui sebagai agen antioksidan dan penghasilan asid fenolik bernilai tinggi daripada pertukaran asid 4-hidroksibenzoik kepada asid galik. Secara keseluruhan, proses fermentasi dengan *S. cerevisiae* dapat meningkatkan sebatian aktif yang sedia ada dan menghasilkan sebatian aktif baharu di dalam santan yang akan memberikan strategi berkesan dan ekonomik untuk menghasilkan produk yang kaya dengan antioksidan yang dapat digunakan untuk pengeluaran produk santan bernilai tinggi.

Summary

The main objective of this study is to evaluate the effect of fermentation of coconut milk with *S. cerevisiae* on its bioactive compounds and antioxidant activities. Semi-solid fermentation was applied to enhance targeted compounds, which were amino acids, high-value phenolic acid and the formation of glutathione. In the presented experiment the concentration of bioactive compound has been measured by high-performance liquid chromatography (HPLC) and the antioxidant activities were assessed using DPPH and ABTS assays. The most abundant amino acids found in fermented coconut milk were glutamic acid and arginine. The results obtained indicate an improvement in both DPPH and ABTS assays in fermented coconut milk. This paper demonstrated that it is possible to valorise coconut milk by fermentation with *S. cerevisiae* based on the enhancement of amino acids concentration, formation of GSH which was known as booster antioxidant compound and to produce high-value phenolic acid by inter-conversion of phenolic acids from 4-hydroxybenzoic acid to gallic acid. Overall, the *S. cerevisiae* fermentative production of bioactive compounds represents an effective and economic strategy for producing product rich in antioxidants, which can be used for the production of value-added coconut milk products.

Pengarang

Nur Yuhasliza Abd Rashid
Pusat Penyelidikan Sains dan Teknologi Makanan,
Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM,
43400 Serdang, Selangor
E-mel: yuhas@mardi.gov.my

Azlina Mansor (Dr.), Shaiful Adzni Sharifudin dan Aida Hamimi Ibrahim (Dr.)
Pusat Penyelidikan Sains dan Teknologi Makanan,
Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM,
43400 Serdang, Selangor

Ainaa Kahar (Dr.)
Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi,
Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM,
43400 Serdang, Selangor

Sukirah Abdul Rahman
Pusat Penyelidikan Padi dan Beras,
Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM,
43400 Serdang, Selangor

Muhammad Anas Othaman
Pusat Pemindahan Teknologi dan Pembangunan Usahawan,
Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM,
43400 Serdang, Selangor