


**PENGARUH pH EKSTRAKSI TERHADAP SIFAT
FUNGSIONAL PROTEIN BIJI KEPUH
(*Sterculia foetida* L.)**

**KARYA ILMIAH TERTULIS
(SKRIPSI)**

Diajukan Guna Memenuhi Salah Satu Syarat Untuk
Menyelesaikan Pendidikan Strata Satu
Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember

Oleh :

YOYOK MULYONO
NIM. 001710101026

Asal: n. dan
Pembelian
Terima/tgl: 16 MAR 2004
No. Induk:
Pengkatalog: 

5
Klass
633.8
MUL
P

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2004**

Diterima Oleh:

Fakultas Teknologi Pertanian

Universitas Jember

Sebagai Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi)

Dipertahankan Pada:

Hari : Jum'at

Tanggal : 20 Februari 2004

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian

Tim Penguji
Ketua,

Ir. Mukhammad Fauzi, MSi.

NIP: 131 865 702

Anggota I

Ir. Givarto, MSc.

NIP: 132 524 412

Anggota II

Ir. Sukamingsih, MS.

NIP: 130 890 066



Mengetahui,
Deban Fakultas Teknologi Pertanian,

Ir. M. Siti Hartanti, MS.

NIP: 130 350 763

MOTTO

“ Sesungguhnya manusia diciptakan diatas dunia Hanyalah untuk menyembah Allah (beribadah)”

“ Sesungguhnya seseorang dalam keadaan merugi kecuali orang-orang yang beriman dan beramal soleh”

“ Berusaha memanfaatkan masa hidup sebelum mati sehat sebelum sakit, kaya sebelum miskin, muda sebelum tua, dan waktu lapang sebelum sempit”

“Waktu adalah pahala, waktu adalah peluang, waktu adalah uang,”

PENGHADIAHAN

Tulisan ini secara khusus saya hadiahkan untuk **Ibuku dan Bapakku** yang paling kucinta dan ku hormati, **Adikku** yang paling ku sayang. Dan tidak lupa untuk calon istriku yang sudah menunggu, InsyaAllah.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah SWT, yang atas limpahan rahmat dan hidayahNYA, kami dapat menyelesaikan karya ilmiah tertulis ini. “ Ya Allah sesungguhnya tanpa kekuatan yang Engkau berikan kepada saya, tanpa petunjuk dan Ilmu yang Engkau anugerahkan kepada saya, tentulah saya tidak akan mampu menyelesaikan tulisan ini”. Sholawat dan salam juga selalu meyertai junjunganku Rasul yang telah mengabarkan Islam, Muhammad SAW.

Pada karya ilmiah tertulis ini, saya berusaha untuk memberikan informasi tentang protein biji kepuh dan sifat fungsionalnya. Yang mana informasi tersebut diperoleh setelah kami melakukan kajian dan penelitian terhadap protein biji kepuh dan sifat fungsionalnya.

Selama penelitian dan penulisan, saya sebagai manusia yang lemah seringkali mengalami beberapa kesulitan baik itu yang berhubungan dengan pelaksanaan penelitian di laboratorium maupun landasan teori. Sehingga mau tidak mau saya harus merepotkan banyak pihak untuk saya mintai pendapat dan saran untuk menyempurnakan kerja saya. Untuk itu itu saya tidak dapat memberikan balasan yang setimpal selain ucapan terima kasih, dan do'a semoga Allah membalas kebaikan Anda semua. Adapun pihak-pihak yang sangat membantu saya dan oleh karenanya saya ingin menyampaikan terima kasih tersebut adalah :

1. **Ir. Hj. Siti Hartanti, MS.** sebagai dekan fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember yang telah memudahkan saya dalam memenuhi tuntutan administratif,
2. **Ir. Susijahadi, MS.** sebagai ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, yang mana beliau telah membantu saya dalam penggunaan fasilitas jurusan selama saya studi, dan khususnya selama saya penelitian,
3. **Dr. Ir. Sony Suwasono,** sebagai ketua Laboratorium Pengendalian Mutu yang atas ijinnya sehingga saya dapat melaksanakan penelitian di laboratorium tersebut,

4. **Ir. Muhammad Fauzi, MSi.** sebagai Dosen Pembimbing Utama saya, saya terlalu banyak merepotkan beliau selama pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi, sehingga tak cukup rasanya jika hanya mengucapkan terima kasih, untuk itu saya hanya dapat mendo'akan semoga beliau selalu ditolong Allah.
5. **Ir. Giyarto, MSc.** sebagai dosen pembimbing anggota I, bersama beliau saya paham tentang tanggung jawab dosen yang begitu besar, sehingga beliau tidaklah keberatan jika sewaktu-waktu saya mengganggu jam istirahat beliau.
6. **Dr. Ir. Achmad Subagio,** sebagai dosen wali saya yang telah membimbing saya selama studi.
7. **Ir. Sukatiningsih, MS.** Sebagai dosen pembimbing anggota II yang nasihatnya insyaAllah selalu akan saya ingat.
8. **Mbak Sari, Mbak Ketut, Mbak Widi,** sebagai teknisi Lab yang selalu sabar menunggui saya selama penelitian walaupun sampai sore "Terima Kasih Mbak "
9. **Teman-teman Angkatan 2000** yang "nakal" sehingga tidak pernah membuatku bersedih, marah, apalagi minder. Mereka adalah motifator saya selama studi.
10. Pihak-pihak lain yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Adapun karya ilmiah tertulis saya ini tentu sekali banya kekurangan, oleh karena itu sungguh merupakan penghormatan bagi saya jika ada yang mengoreksi, mengkritik, atau memberi saran guna memperbaiki pemahaman saya.

Demikian apa yang dapat saya sampaikan, atas perhatiannya saya sampaikan terima kasih.

DAFTAR ISI

	Hal
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
MOTTO	iii
PENGHADIAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DOSEN PEMBIMBING	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
RENGKASAN	xiv
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kepuh	5
2.2 Asam Amino dan Protein	6
2.3 Pengaruh pH terhadap Protein	8
2.4 Pemurnian Protein	10
2.5 Sifat Fungsional Protein	11
2.4.1 Kelarutan Protein Dalam Air	12
2.4.2 Kapasitas Pengikatan Minyak	13
2.4.3 Kapasitas Pengikatan Air	13
2.4.4 Emulsifikasi	14
2.4.5 Pembentukan Gel dan Daya Buih	15

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	16
3.2 Bahan dan Alat	16
3.3 Metode Penelitian	16
3.3.1 Rancangan Penelitian	16
3.3.1.1 Penelitian Tahap Pertama	16
3.3.1.2 Penelitian Tahap Kedua	17
3.4 Parameter Pengamatan	20
3.4.1 Penentuan Titik Isoelektrik Protein	20
3.4.2 Pengamatan Sifat Fungsional	20
A. Daya Kelarutan	20
B. Daya Emulsi dan Stabilitasnya	21
C. Kapasitas pengikatan Minyak	22
D. Kapasitas Pengikatan Air	23
E. Daya Buih dan Stabilitasnya	23
3.4.2 Pengamatan Sifat Fisik	24
A. Derajat Keputihan	24
B. Kecerahan	24

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penentuan Titik Isoelektrik Protein Biji Kepuh.....	25
4.2 Sifat Fungsional Protein Biji Kepuh	
4.2.1 Daya Kelarutan	26
4.2.2 Daya Emulsi dan Stabilitasnya	27
4.2.3 Kapasitas Pengikatan Minyak (OHC)	30
4.2.4 Kapasitas Pengikatan Air (WHC)	32
4.2.5 Daya Buih (Foaming)	33
4.3 Sifat Fisik Warna Isolat Protein	35
4.3.1 Derajat Keputihan (<i>Whiteness Indeks</i> (Wi)	35
4.3.2 Kecerahan Warna Isolat Protein	36

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan	38
5.2 Saran	38



DAFTAR TABEL

	Hal
Tabel 1. Sifat fungsional Protein dalam Berbagai Sistem atau Produk makanan	11



DAFTAR GAMBAR

	Hal
Gambar 1. Rumus Umum Asam Amino	6
Gambar 2. Struktur Primer Protein	8
Gambar 3. Pengaruh pH Terhadap Ionisasi Asam Amino (Protein)	9
Gambar 4. Diagram Alir Penentuan Titik Isoelektrik Protein Biji Kepuh....	18
Gambar 5. Diagram Alir Ekstraksi Protein Biji Kepuh	19
Gambar 6. Endapan Protein Berdasarkan pH Presipitasi	25
Gambar 7. Grafik Daya Kelarutan Isolat Protein Berdasarkan Perbedaan pH Ekstraksi	26
Gambar 8. Grafik Daya Emulsi berdasarkan Perbedaan pH Ekstraksi	28
Gambar 9. Grafik Stabilitas Emulsi berdasarkan Perbedaan pH Ekstraksi ...	29
Gambar 10. Grafik Nilai Kapasitas Pengikatan Minyak Isolat Protein Berdasarkan perbedaan pH Ekstraksi	31
Gambar 11. Grafik Nilai Kapasitas Pengikatan Air protein Berdasarkan Perbedaan pH Ekstraksi	32
Gambar 12. Grafik Daya Buih Berdasarkan Perbedaan pH Ekstraksi	33
Gambar 13. Grafik Stabilitas Buih Berdasarkan Perbedaan pH Ekstraksi	34
Gambar 14. Grafik Derajat Keputihan Isolat protein Berdasarkan pH Ekstraksi	35
Gambar 15. Grafik Kecerahan Isolat Protein Berdasarkan Perbedaan pH Ekstraksi	37

DAFTAR LAMPIRAN

	Hal
Lampiran 1. Kurva Standart Analisa Protein Terlarut metode Lowry	43
Lampiran 2. Data Pengamatan pH Isoelektrik Protein Biji Kepuh	43
Lampiran 3. Data Pengamatan Daya Kelarutan Protein Biji Kepuh	44
Lampiran 4. Data Pengamatan Daya Emulsi dan Stabilitasnya	45
Lampiran 5. Data Pengamatan Daya Emulsi Protein Biji Kepuh	47
Lampiran 6. Data Pengamatan Kapasitas Pengikatan Minyak (OHC).....	48
Lampiran 7. Data Pengamatan Kapasitas Pengikatan Air (WHC)	48
Lampiran 8. Data Pengamatan Daya Buih dan Stabilitasnya	49
Lampiran 9. Data Pengamatan Sifat Fisik Warna Isolat Protein Biji Kepuh	49

Yoyok Mulyono (001710101026) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian “Pengaruh pH Ekstraksi Terhadap Sifat Fungsional Protein Biji Kepuh (*Sterculia foetida L.*)”, dibimbing oleh Ir. Mukhammad Fauzi, MSc., Ir. Giyarto, MSc., Ir. Sukatiningsing, MS.

RINGKASAN

Kepuh (*Sterculia foetida L.*) merupakan tanaman yang tumbuh liar pada daerah disekitar hutan. Biji kepuh memiliki kandungan protein yang cukup tinggi yaitu 21,61%, namun pemanfaatan biji kepuh untuk menunjang kebutuhan protein belum dilakukan, terutama untuk peningkatan kualitas aneka produk olahan pangan sesuai dengan sifat fungsional protein.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pH isoelektrik protein biji kepuh dan pengaruh pH ekstraksi terhadap sifat fungsional protein biji kepuh. Penelitian dilakukan dengan membuat isolat protein biji kepuh yang diekstrak dengan beberapa pH diatas titik isoelektrik berdasarkan metode ekstraksi pada amarant (Bejoseno dan Corke, 1999). Isolat protein yang diperoleh kemudian diamati sifat-sifat fungsionalnya. Sifat fungsional tersebut meliputi daya kalarutan, daya emulsi dan stabilitasnya, kapasitas pengikatan minyak, kapasitas pengikatan air, daya buih dan stabilitasnya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pH isoelektrik protein biji kepuh adalah pada pH 5; dan peningkatan pH Ekstraksi akan semakin menurunkan daya kelarutan protein, daya emulsi, nilai kapasitas pengikatan minyak, daya buih dan stabilitas daya buih, serta meningkatkan nilai kapasitas pengikatan air isolat protein. Secara keseluruhan pH ekstraksi 7 menghasilkan protein yang memiliki sifat-sifat fungsional lebih baik, dengan daya kelarutan yang tinggi, daya emulsi 4,43 m²/g, kapasitas pengikatan minyak 80,06%, daya buih 10 ml/g, dan kapasitas pengikatan air 70,94%.

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kepuh (*Sterculia foetida* L.) merupakan tumbuhan asli Indonesia yang banyak berkembang di Indonesia bagian Timur. Tanaman kepuh dapat tumbuh di dataran rendah sampai ketinggian 50 m dari permukaan laut (Shadily, 1981). Pohon kepuh tersebut berbatang lurus dan berdaun banyak diakhir percabangan yang bentuknya menyerupai jari-jari tangan dengan 7 sampai 9 lembar daun. Bunganya berbau busuk, berwarna kuning muda atau keungu-unguan dan berdiameter 2,0 – 2,5 cm. Buah kepuh berisi 15 biji yang berwarna hitam dengan panjang biji sekitar 2 Cm. (Quisumbing, 1951).

Tanaman kepuh pada dasarnya adalah tanaman hutan yang belum dibudidayakan oleh masyarakat dan lebih banyak tumbuh liar di sekitar hutan. Di Bali, tanaman kepuh dijadikan sebagai tanaman yang ditanam di pemakaman. Namun demikian budidaya secara intensif belum dilakukan oleh masyarakat. Oleh karena itu data-data yang berhubungan dengan tanaman kepuh baik itu jumlah tanaman, tingkat produksi atau yang lain belum dapat ditemukan.

Pemanfaatan pohon kepuh pada dasarnya sudah dilakukan oleh masyarakat terdahulu untuk mengobati beberapa penyakit, yaitu daun digunakan untuk obat demam, kulit buah digunakan untuk mengobati pendarahan pada hidung, biji digunakan untuk obat batuk (Shadily, 1981). Namun demikian pemanfaatan pohon kepuh untuk menunjang kebutuhan pangan dan gizi belum dilakukan oleh masyarakat sampai sekarang ini.

Berdasarkan hasil penelitian Quisumbing (1951) diketahui bahwa biji kepuh mengandung 51,78% minyak serta 21,61% protein. Dari data tersebut diketahui bahwa biji kepuh memiliki kandungan protein yang cukup tinggi, oleh karena itu biji kepuh pada dasarnya layak untuk dijadikan sebagai alternatif bahan pangan sumber protein.

Namun demikian, studi terhadap kandungan protein dari biji kepuh belum banyak dilakukan, terutama untuk mengetahui sejauh mana peran dan efek fungsional protein biji kepuh tersebut dalam pengolahan pangan. Sementara itu Fauzi (1990) telah mempelajari kelarutan protein biji kepuh pada berbagai pH pelarut.

Sifat fungsional protein merupakan sifat dasar dari protein didalam sistem pangan selama proses pengolahan, penyimpanan, dan penyajian (Rhee, 1994). Sifat fungsional protein berperan dalam berbagai pengolahan pangan seperti roti, sosis, kembang gula, es krim, dan sebagainya (Winarno, 1991). Peran protein tersebut berhubungan dengan kemampuan protein dalam mengikat air, membentuk buih, berikatan dengan minyak, membentuk emulsi, membentuk gel, dan sifat kelarutannya di dalam air (Doyle, et. al, 1989).

Sifat fungsional protein tersebut meliputi *Oil Holding Capacity* (OHC), daya buih dan aktifitas emulsi. OHC akan berpengaruh terhadap sifat tekstur dan retensi flavor. Daya buih akan berpengaruh terhadap pengembangan volume. Sedangkan aktifitas emulsi akan mempengaruhi *strengthening* adonan dan *crumb softening*.

Sifat fungsional dari protein dipengaruhi oleh komposisi, struktur, dan konformasi dari susunan protein. Demikian juga dengan kandungan dan sifat fisiko kimia dari komponen protein berpengaruh terhadap sifat fungsionalnya. (Rhee, 1994). Menurut Simon et al (2001) sifat fungsional protein juga dipengaruhi oleh sejauh mana protein mengalami denaturasi.

Power of Hydrogen (pH) berpengaruh terhadap sifat-sifat protein secara umum sesuai dengan tabiatnya terhadap asam dan basa (Page, 1985). Yakni, pada kondisi pH tertentu protein akan mengalami perubahan struktur dan kelarutannya menjadi menurun. Nilai pH ini disebut sebagai pH isoelektrik (Winarno, 1991). Pada pH isoelektrik, asam amino penyusun protein berada dalam kondisi netral, yaitu jumlah muatan negatif dan positif sama, sehingga protein mempunyai kelarutan yang rendah.

Perubahan pH larutan protein dapat merubah keadaan ionisasi dari gugus rantai samping yang terionisasikan dari asam amino, yang mengakibatkan perubahan-perubahan dramatik dan sering irreversibel dalam struktur protein (Page, 1981). Pada pH yang ekstrim rendah (asam kuat) atau pH yang ekstrim tinggi (basa kuat) protein akan terhidrolisa menghasilkan komponen asam-asam amino dalam bentuk bebas dan memiliki kelarutan yang tinggi (Grosch, 1999). Demikian juga Sugijanto dan Manulang (2001) menyatakan bahwa pH ekstraksi berpengaruh terhadap kadar protein kedelai yang dihasilkan.

1.2 Perumusan Masalah

Mengingat sifat fungsional protein termasuk protein dari biji kepuh dapat memberikan pengaruh yang baik pada berbagai produk olahan pangan; bakery, kembang gula, es krim, industri daging, dan lain-lain. Maka untuk menghasilkan protein biji kepuh yang optimal, yang memiliki kemampuan sifat fungsional yang baik perlu dilakukan ekstraksi dengan cara atau metode yang tepat. Salah satu faktor penting dalam ekstraksi protein dari suatu bahan adalah pH ekstraksi yang digunakan. Merujuk pendapat Sugijanto dan Manulang (2001) diatas, diperkirakan pH ekstraksi dapat mempengaruhi sifat fungsional dari protein yang dihasilkan. Untuk itu perlu diketahui pada kondisi pH yang mana pada ekstraksi protein biji kepuh sehingga dihasilkan protein yang mempunyai sifat fungsional yang baik.

1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui titik isoelektrik dari protein biji kepuh, mengekstrak protein biji kepuh dengan perlakuan beberapa pH diatas titik isoelektrik, dan mengetahui pengaruh pH ekstraksi terhadap sifat fungsional protein biji kepuh.

Sedangkan manfaat penelitian ini diharapkan akan memberikan informasi tentang titik isoelektrik dari protein biji kepuh, informasi tentang pengaruh pH ekstraksi terhadap sifat fungsional protein biji kepuh, dan memberikan informasi kepada masyarakat tentang kandungan protein dari biji kepuh dan sifat

fungsionalnya untuk selanjutnya dapat digunakan sebagai alternatif bahan pangan sumber protein, serta memberikan informasi kepada industri pangan tentang kemampuan protein biji kepuh untuk dijadikan sebagai bahan fortifikasi atau pengayaan guna menghasilkan produk pangan yang berkualitas baik.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kepuh

Tanaman Kepuh (*Sterculia foetida* L.) merupakan tanaman dengan biji berkeping dua (Fauzi, 1990). Tanaman ini merupakan tumbuhan asli Indonesia dan termasuk suku Sterculiaceae (Shadily, 1982). Adapun taksonomi tanaman kepuh dapat dituliskan sebagai berikut:

Divisio	: Spermatophyta
Sub Divisio	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledoneae
Sub Classis	: Deapetales
Ordo	: Malvales
Familia	: Sterculiaceae
Genus	: Sterculiaceae
Species	: <i>Sterculia foetida</i> L. (Steenis, 1981)

Tanaman kepuh banyak tumbuh di Indonesia Bagian Timur dengan tinggi pohon dapat mencapai 30 m. Tanaman ini tumbuh pada dataran rendah sampai ketinggian 500 m dari permukaan laut didaerah beriklim kering (Shadily, 1981).

Tanaman kepuh memiliki buah yang termasuk buah bumbung, berkulit tebal, berwarna merah, dengan tangkai yang panjangnya 12 – 18 meter di ujung batang. Sedangkan panjang buah kepuh mencapai 10 cm. (Steenis, 1981).

Dalam buah kepuh terdapat biji yang berwarna hitam dengan jumlah biji pada setiap buahnya dapat mencapai 15 biji, yang panjang bijinya 2 cm. (Quisumbing, 1951). Biji dari *Sterculia sp* terdiri dari kulit luar berwarna hitam agak menyerupai buah prem yang telah kering, menutup bagian-bagian pulp dengan komposisi 23,54% kulit luar dan pulp, 21,49% kulit dalam, dan keping biji 54,97% (Fauzi, 1988).

Biji kepuh mengandung komponen-komponen kimia minyak, protein dan karbohidrat dengan komposisi tertentu. Quisumbing (1951) melaporkan bahwa

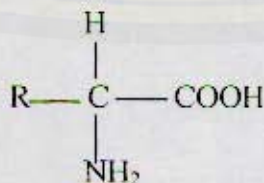
komponen minyak, protein dan karbohidrat berturut-turut adalah 51,78%, 21,61% dan 22,61%.

Pemanfaatan tanaman kepuh sudah dimanfaatkan oleh masyarakat terdahulu mulai dari batang sampai bijinya. Kayu pohon kepuh dapat dipergunakan untuk bahan bangunan, peti kemas dan lain-lain. Sedangkan daun digunakan untuk obat demam, kulit buah digunakan untuk menghentikan pendarahan pada hidung, dan biji digunakan untuk obat batuk. Minyak yang didapat dari biji kepuh digunakan sebagai minyak makan (Shadily, 1981).

2.2 Asam Amino dan Protein

Protein merupakan suatu zat makanan yang amat penting bagi tubuh, karena zat ini disamping berfungsi sebagai bahan bakar dalam tubuh juga berfungsi sebagai zat pembangun dan pengatur. Protein adalah sumber asam-asam amino yang mengandung unsur C, H, O, dan N yang tidak dimiliki oleh lemak dan karbohidrat. Molekul protein juga mengandung fosfat, belerang dan jenis protein yang mengandung unsur logam seperti besi dan tembaga (Winarno, 1991).

Protein merupakan polimer dari asam amino dengan berat molekul yang tinggi. Asam amino merupakan komponen dasar dari protein, yang mana antar asam amino tersebut dihubungkan dengan ikatan peptida untuk membentuk rantai panjang dan berlaku dalam membentuk sifat dan karakter khusus dari protein (Bennion, 1980). Pada ujung-ujung rantai protein terdapat gugus karboksil dan gugus amino bebas, yang mana hal ini berpengaruh terhadap sifat ionisasi dari protein (Page, 1981). Adapun rumus umum dari asam amino dapat ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Rumus Umum Asam amino

Dari rumus umum asam amino dapat dilihat bahwa semua asam amino yang terdapat pada protein mempunyai satu gugus karboksil dan satu gugus amino. Sehingga sifat-sifat khas dari asam amino tergantung pada gugus R yang dimiliki dalam hal ini asam amino dapat dikelompokkan menjadi asam amino Nonpolar (Gugus R-nya hidrofobik), asam amino polar yaitu tanpa muatan pada gugus R, asam amino bermuatan positif pada gugus R, asam amino bermuatan negatif pada gugus R (Girinda, 1986).

Protein merupakan senyawa amfoterik yang sifatnya tergantung pada kondisi pH lingkungan. Protein dalam hal ini dapat menjadi kation, anion, maupun Zwitterion (Grosch, 1999). Pada kondisi Zwitterion, protein tidak mempunyai muatan, dan berada pada keadaan netral, yaitu jumlah antara muatan positif dan negatif adalah sama. Pada kondisi ini, kelarutan protein cenderung menurun untuk selanjutnya menggumpal dan akhirnya mengendap (Winarno, 1991).

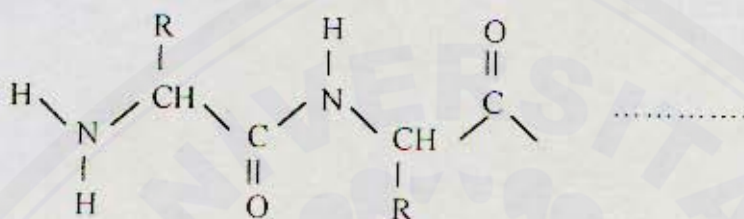
Derajat ionisasi dari protein sangat dipengaruhi oleh pH. pH dimana protein berada dalam kondisi Zwitterion dikatakan sebagai pH isoionik. Harga pH ini hampir sama dengan titik isoelektrik yang didefinisikan sebagai harga pH asam-asam amino (atau protein) tidak bergerak dalam medan listrik (Page, 1981).

Karakteristik fisikokimia dari protein adalah khas untuk satu jenis protein tertentu. Dimana, sifat ini tergantung pada jumlah dan jenis asam amino penyusunnya (Winarno, 1991). Disamping itu, protein juga memiliki sifat mudah berubah susunan ruang atau rantai polipeptidanya akibat adanya pengaruh pH, temperatur, dan konsentrasi ion (Bennion, 1980).

Denaturasi protein dapat diartikan sebagai suatu perubahan atau modifikasi terhadap struktur sekunder, tersier, dan kuartener pada molekul protein tanpa terjadinya pemecahan ikatan-ikatan kovalen (Winarno, 1991). Protein yang mengalami denaturasi kelarutannya menjadi berkurang sehingga akan terjadi koagulasi dan pengendapan (Bennion, 1980).

Menurut Girinda (1986), struktur molekulnya, protein dapat dibagi menjadi empat macam struktur, yaitu primer, sekunder, tersier, dan kuartener.

Struktur primer protein merupakan struktur paling sederhana dari protein dimana antar asam amino hanya dihubungkan oleh ikatan peptida, dan tidak terdapat ikatan atau kekuatan yang lain yang menghubungkan asam amino satu dengan asam amino yang lain. Struktur primer dari protein ini dapat ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Primer Protein

Struktur sekunder protein merupakan struktur protein dimana rantai asam amino bukan hanya dihubungkan oleh ikatan peptida tetapi juga diperkuat oleh ikatan hidrogen.

Pada keadaan tersier rantai polipeptida dari protein cenderung untuk membelit dan melipat membentuk struktur yang kompleks. Kestabilan struktur ini bergantung pada gugus R pada setiap asam amino yang membentuknya, dan distabilkan oleh ikatan hidrogen, ikatan disulfida, interaksi hidrofilik, interaksi hidrofobik, dan interaksi dipol-dipol.

Struktur kuartener dari protein terbentuk dari beberapa bentuk tersier dan bisa terdiri dari protomer yang sama atau protomer yang berlainan. Protein yang dibentuk oleh protomer ini disebut oligoprotomer.

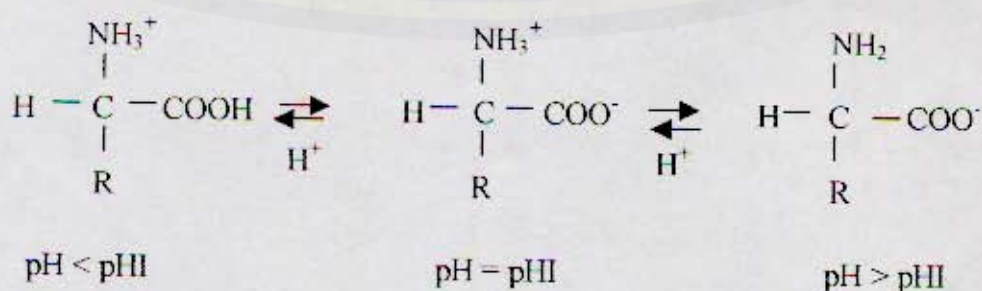
2.3 Pengaruh pH Terhadap Protein

Kondisi pH berpengaruh terhadap sifat-sifat protein terutama struktur protein dan tingkat kelarutannya. Pada pH tertentu, protein akan terdenaturasi sehingga akan mengalami perubahan dari bentuk terlarut menjadi gumpalan-gumpalan dan akhirnya mengendap. Nilai pH akan mempengaruhi derajat ionisasi

asam amino. Pada pH rendah, gugus-gugus karboksilnya tidak terdissosiasi, sedangkan gugus aminonya menjadi ion. Sebaliknya pada pH yang tinggi gugus karboksilnya terdissosiasi sedang gugus aminonya tidak (Winarno, 1991). Perubahan pH larutan protein akan dapat merubah keadaan ionisasi dari gugus-gugus rantai samping yang terionisasikan dari asam amino, yang mengakibatkan perubahan-perubahan dramatik dan sering irreversibel pada struktur protein (Page, 1981).

pH isoelektrik merupakan pH larutan protein yang mengakibatkan protein tidak bergerak pada medan listrik. Pada pH isoelektrik (pH_I) protein berada dalam keadaan zwitterion yaitu tidak memiliki muatan bersih dan cenderung membentuk ion dipolar ($^+\text{NH}_3 - \text{CHR} - \text{COO}^-$) dengan kata lain protein tidak memiliki muatan bersih. Pada keadaan ini gugus hidrofobik berbalik keluar dan gugus hidrofilik terlipat kedalam yang berakibat terjadinya flokulasi dan koagulasi antar molekul protein dan akhirnya membentuk agregat yang tidak larut dan kemudian mengendap (presipitasi) (Winarno, 1991). Dalam keadaan ini protein juga dikatakan dalam keadaan terdenaturasi, yaitu terjadi perubahan struktur molekul protein tanpa terjadinya pemecahan ikatan-ikatan kovalen.

Pada setiap pH diatas titik isoelektrik, protein mempunyai muatan negatif ($\text{NH}_2 - \text{CHR} - \text{COO}^-$) dan karenanya bergerak kearah elektroda positif. Pada setiap pH dibawah titik isoelektrik, protein memiliki muatan positif ($^+\text{NH}_3 - \text{HR} - \text{COOH}$) (Lehninger, 1990). Hal ini dapat ditunjukkan pada Gambar 3.



Keterangan: pH_I = pH Isoelektrik

Gambar 3. Pengaruh pH Terhadap Ionisasi Asam Amino (Protein)

Pada pH yang ekstrim yaitu asam kuat atau basa kuat, ikatan peptida dari protein dapat terhidrolisis menghasilkan komponen asam amino dalam bentuk bebas. Hidrolisa ikatan peptida secara ini merupakan tahap yang diperlukan dalam penentuan komposisi asam amino.

pH merupakan suatu indikator terhadap konsentrasi H^+ maupun OH^- dalam suatu bahan cair. Untuk mengetahui pH tersebut adalah dengan menghitung nilai log dari konsentrasi H^+ maupun OH^- . Dalam hal ini nilai log dari $1/[H^+]$ adalah sama dengan nilai pH, sedangkan nilai log dari $1/[OH^-]$ adalah sama dengan pOH yang untuk mengetahui nilai pH dari pOH adalah berdasarkan asumsi bahwa $pH + pOH = 14$ (Lehninger, 1990).

2.4 Pemurnian Protein

Pemurnian protein merupakan tahap yang harus dilakukan untuk mempelajari sifat dan fungsi protein (Winarno, 1991). Dalam pemurnian ini, protein yang dihasilkan dapat berupa konsentrat protein maupun isolat protein. Konsentrat protein adalah produk hasil pemurnian protein dengan kandungan protein tidak kurang dari 70%. Sedangkan isolat protein merupakan produk hasil pemurnian protein dengan kadar protein tidak kurang dari 90% (Rhee, 1994).

Konsentrat protein dibuat dengan cara mengekstrak komponen selain protein dengan larutan alkohol. Komponen yang tertinggal (terutama protein dan polisakarida) dikeringkan dengan freezer dryer. Protein jenis ini biasanya digunakan untuk pembuatan roti, produk-produk daging, dan sebagainya (Koswara, 1995).

Isolat protein dapat dibuat dari tepung atau biji yang bebas dari lemak. Proses pembuatannya hampir sama dengan konsentrat protein, hanya cara ekstraksi proteinnya yang berbeda. Ekstraksi protein dilakukan dengan cara pengaturan pH dengan NaOH 2N (Koswara, 1995).

Isolat protein dari kedelai saat ini sudah banyak digunakan secara komersial, yang digunakan pada berbagai macam produk pangan. Hal itu dikarenakan isolat protein kedelai sudah diketahui mempunyai tingkat ekonomi, nutrisi dan sifat

fungsional protein yang memberikan keuntungan dalam memperbaiki kualitas produk dan penerimaan konsumen (Doyle, et. al, 1989).

2.4 Sifat Fungsional Protein

Sifat fungsional protein merupakan sifat selain sifat nutrisi yang mempengaruhi fungsi komponen dalam bahan pangan (Sugijanto dan Manulang, 2001). Sifat tersebut merupakan sifat intrinsik karakter fisikokimia yang memberikan pengaruh dari sifat protein didalam sistem pangan selama proses pengolahan, penyimpanan dan penyajian (Kinsella, 1979 dan Huyghebaert, dan John, 1999). Secara lengkap, mekanisme pengaruh fungsional dan aplikasinya dalam pangan digambarkan pada Tabel 1.

Sifat fungsional protein diantaranya adalah kelarutan dalam air, pengikatan minyak, emulsifikasi, daya buih, pembentukan gel (gelasi), dan pengikatan air.

Tabel 1. Sifat Fungsional Protein dalam berbagai sistem atau produk makanan

Sifat Fungsional	Mekanisme	Sistem makanan	Sumber Protein
Kelarutan	Hidrofilik	Minuman	Protein whey
Viskositas	Pengikatan air, bentuk dan ukuran hidrodinamik	Sup, gravy, salad	Protein whey
Pengikatan air	Ikatan H, Hidrasi ion	Daging, Cake, roti	Protein otot/urat, protein telur,
Gelasi	Penarikan air dan immobilisasi, formasi jaringan	Daging, gel, cake, bakery, keju	Protein otot/urat, protein telur, protein whey
Elastisitas	Hidrofobik. Ikatan disulfida	Daging, bakery	Protein otot/urat, protein telur, protein susu
Kohesi/adesi	Hidrofobik, ikatan disulfida	Daging, bakery	Protein otot/urat, protein telur, protein whey

Tabel 1. (Lanjutan)

Sifat Fungsional	Mekanisme	Sistem makanan	Sumber Protein
Emulsifikasi	Penyerapan pada formasi interfase	Saos, sup, cake, bologna	Protein otot/urat, protein telur, protein susu
Buih	Penyerapan interfacial, formasi film	Whiped topping, es krim, cake	Protein telur, protein susu
Pengikatan lemak dan flavor	Hidrofobik, penyerapan	Daging buatan, bakery	Protein telur, protein susu

Sumber: Kinsella *et. al.*, (1985)

Menurut Dies (2002), protein dapat ditambahkan pada pangan untuk tujuan nutrisi dan fungsional. Karakteristik dari protein termasuk variabel kelarutan, gelasi, adhesi/kohesi, berikatan dengan air, kontrol viskositas, emulsifikasi dan pembuihan.

Penelitian dan studi terhadap sifat fungsional protein telah dimulai beberapa tahun yang lalu dalam kaitannya dengan aplikasi baru dalam pangan, namun secara khusus penelitian tersebut untuk memperbaiki pemahaman dari hubungan struktur dan fungsi dari protein. Diketahui bahwa sifat fungsional protein dapat diperbaiki jika protein tersebut dihidrolisa dengan enzim dan protein hidrolisat tersebut ditambahkan untuk meningkatkan kualitas produk. Protein hidrolisat, tidak memiliki struktur sekunder, lebih larut pada sekitar titik isoelektrik, viscositasnya rendah, dan sifat daya buih, emulsifikasi, gelling lebih baik dari pada protein asli (Dolores *et. al.*, 1999).

2.4.1 Kelarutan Protein dalam Air

Sifat kelarutan protein juga disebut sifat hidrasi, yaitu sifat fungsional yang berkaitan dengan interaksi molekul protein dan air, diantaranya adalah *Protein Dispersibility Index* (PDI) dan *Nitrogen Solubility Index* (NSI). Sifat hidrasi ini penting karena protein fungsional dalam penggunaannya akan mengalami hidrasi (Suwarnig, 2003).

Kelarutan protein merupakan ukuran dari jumlah atau persen dari protein yang tertinggal dalam cairan setelah sentrifugasi. Nilai ukuran tersebut tergantung pada metode penyiapan larutan dan kondisi sentrifugasi (Doyle, *et. al.*, 1989).

Kelarutan suatu protein dalam air dipengaruhi oleh keberadaan gugus polar (hidrofilik) dan gugus non polar (hidrofobik) dari molekul protein. Pada pH isoelektrik kelarutan protein berada dalam keadaan sangat rendah yang dikarenakan terbukanya komponen hidrofobik dari molekul protein, sedangkan komponen hidrofilik dari protein terlipat kedalam. Pada pH diluar titik isoelektrik, komponen hidrofilik menyelubungi protein sehingga kelarutannya dalam air tinggi (Grosch, 1999).

2.4.2 Kapasitas Pengikatan Minyak

Kapasitas pengikatan minyak adalah kemampuan protein untuk menyerap atau mengikat lemak yang merupakan salah satu sifat fungsional yang terpenting untuk diaplikasikan. Contohnya protein sebagai pengganti daging (*meat extender*) khususnya dapat meningkatkan retensi terhadap flavour dan memperbaiki rasa dimulut (*mouth fell*) (Kinsela, 1979).

Kemampuan protein fungsional dalam menyerap lemak ini penting untuk mencegah penyerapan lemak yang berlebihan, misalnya pada penggorengan donat dan pancakes. Hal ini disebabkan protein fungsional dapat terdenaturasi oleh panas membentuk semacam lapisan (*coating*) pada permukaan bahan sehingga menghalangi penerasi lemak kedalam bahan (Koswara, 1995).

Kemampuan protein dalam menyerap minyak tergantung keberadaan gugus nonpolar dari protein yang mana gugus nonpolar tersebut akan berikatan dengan minyak. Sifat mengikat minyak ini sangat terkait dengan kemampuan protein untuk membentuk emulsi (Bennion, 1980).

2.4.3 Kapasitas Pengikatan Air

Kapasitas pengikatan air merupakan kemampuan protein untuk menyerap air dan menahannya dalam sistem pangan. Hal ini disebabkan protein bersifat

hidrofilik dan mempunyai celah-celah polar seperti gugus karboksil dan aminonya yang dapat mengion. Adanya kemampuan mengion ini menyebabkan daya serap protein dipengaruhi oleh pH makanan (Koswara, 1995).

Kapasitas mengikat air merupakan indek yang menunjukkan banyaknya air yang terikat pada matrik protein pada kondisi tertentu). WHC yang merupakan sifat hidrasi protein dapat diartikan lain sebagai kemampuan protein untuk menyerap air dan menahannya dalam suatu sistem pangan. Sifat menyerap air dari protein tersebut disebabkan adanya gugus-gugus hidrofilik yang mempunyai celah-celah polar seperti gugus karboksil dan amino yang dapat mengion. Adanya kemampuan mengion ini menyebabkan WHC isolat dan konsentrat protein dipengaruhi oleh pH.

Daya serap air dari protein fungsional sangat penting peranannya dalam makanan panggang (*baked goods*) karena dapat meningkatkan rendemen adonan dan memudahkan penanganannya. Disamping itu, sifat menahan air dari protein akan memperlama kesegaran makanan, misalnya pada roti dan biskuit (Koswara, 1995).

2.4.4 Emulsifikasi

Daya emulsi adalah kemampuan protein untuk membentuk emulsi dan mempertahankan stabilitas emulsi tersebut. Stabilitas emulsi penting karena emulsifier tergantung pada kemampuannya memelihara sistem emulsi pada saat mengalami pemasakan atau pemanasan (Sugijanto dan Manulang, 2001).

Stabilitas emulsi diartikan sebagai kemampuan suatu emulsi untuk tetap stabil dan tidak berubah terhadap koalesen (Zayas, 1991).

Emulsi merupakan dispersi droplet-droplet dengan ukuran yang relatif kecil dengan lapisan cairan tipis di sekelilingnya yang bersifat immiscible (tak dapat bercampur). Keberadaan protein dapat meningkatkan stabilitas emulsi karena protein dapat menurunkan tegangan antar muka antara dua fase yang tidak dapat bercampur dalam emulsi (Bennion, 1980). Sehingga protein merupakan salah satu emulsifier atau agen pengemulsi.

Kemampuan protein sebagai pengemulsi tergantung pada sejauh mana protein dapat terdifusi diantara dua permukaan droplet (Grosch, 1999). Dalam emulsi minyak dalam air, gugus hidrofobik (non polar) dari protein berikatan dengan permukaan minyak, sedangkan gugus hidrofilik (polar) berikatan dengan air (Bennion, 1980).

2.4.5 Pembentukan Gel dan Daya Buih

Gelasi adalah sifat reologi yang berkaitan dengan penarikan air dari lingkungan oleh molekul-molekul protein. Susunan molekul gel protein dapat terbentuk karena adanya kondisi yang mampu mengubah struktur alami protein dimana faktor seperti kondisi termodinamik, konsentrasi protein serta kondisi lainnya optimal dalam pembentukan matrik tersier.

Kemampuan protein dalam pembentukan buih dikarenakan protein memiliki karakteristik yang khas pada lapisan batas antara dua fase (udara dan air) sehingga memiliki daya seperti surfaktan, yaitu kapasitas untuk menurunkan tegangan permukaan. Kemampuan pembentukan buih dan stabilitasnya dari protein fungsional ini penting dalam produk bakery, karena selama pengembangan akan memerangkap sejumlah gelembung gas sehingga menghasilkan produk akhir yang berbuih (Sugijanto dan Manulang, 2001).



III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pengendalian Mutu jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember mulai bulan Oktober 2003 sampai dengan Januari 2004.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji Kepuh (*Sterculia foetida* L.) yang diperoleh dari Bangil, Pasuruan Jawa Timur. Bahan kimia yang digunakan meliputi Reagen Mix (Na_2CO_3 , CuSO_4 , N-K Tartrat), Reagen Folin, Bovine Serum Albimine (BSA), Buffer Phosphat pH 7, 8, 9, 10, dan pH 11, Buffer phosphat pH 7 0,05M dan 0,1M, HCl 1N, NaOH 2N dan 0,01N, Etanol 70%, Aquadest, SDS 0,1%, Minyak Bimoli pasaran untuk analisa.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: Centrifuse Yenaco model YC-1180T dan tabungnya, Freezer Dryer Snijder Scientific tipe 2040 (Belanda), Spectronic 21D Melton Roy dan Kuvetnya, Pengaduk magnetik, alat-alat gelas dan alat-alat lain yang terkait.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dua tahap yaitu penelitian. Penelitian Tahap I untuk mengetahui titik isoelektrik dari protein biji kepuh, penelitian Tahap II dilakukan ekstraksi protein biji kepuh pada berbagai nilai pH. Untuk selanjutnya protein hasil ekstraksi diamati sifat-sifat fungsionalnya.

3.3.1.1 Penelitian Tahap Pertama

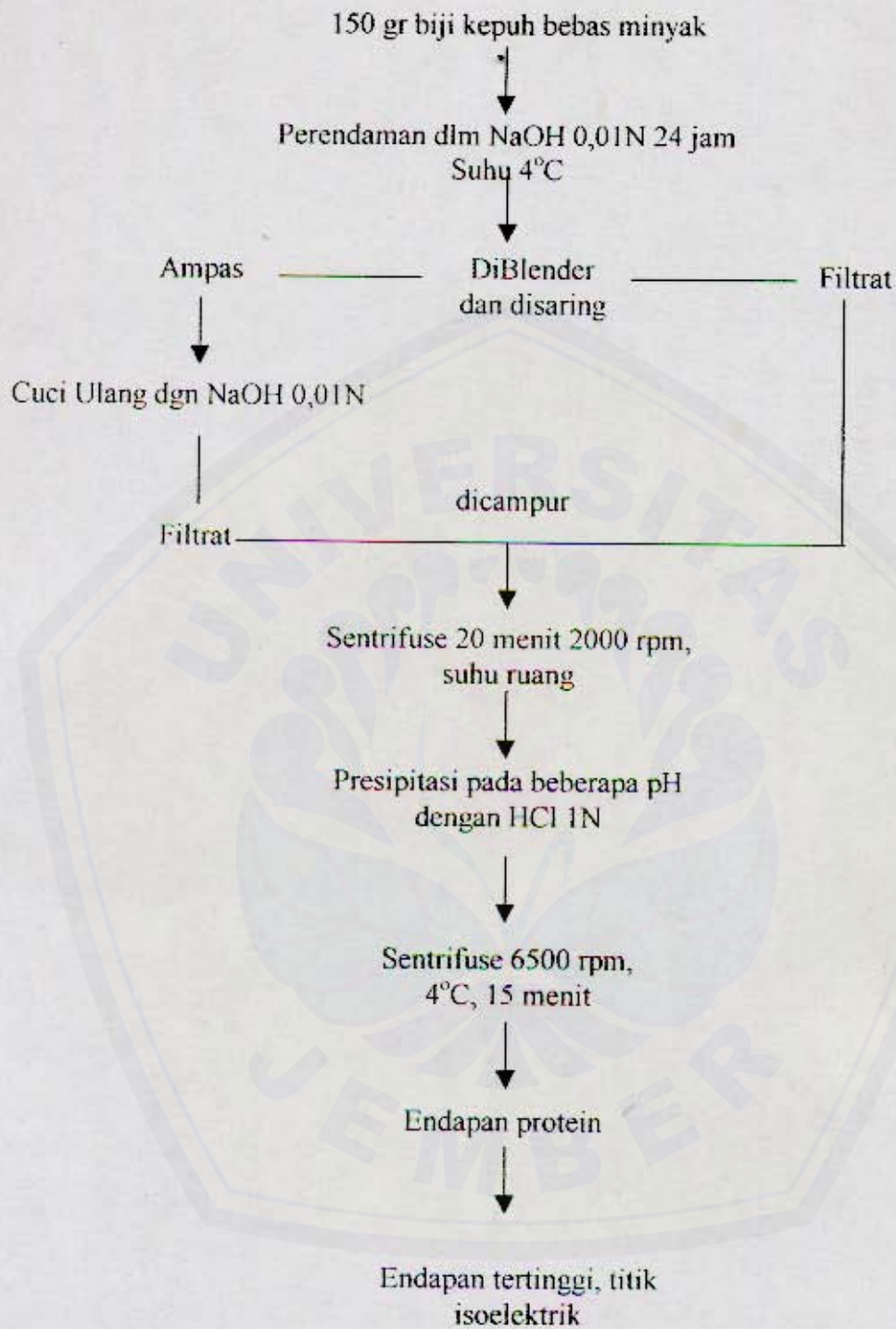
Penelitian pada tahap ini dilakukan untuk menentukan titik isoelektrik dari protein biji kepuh. Penentuan titik isoelektrik dilakukan untuk menentukan pH pengendapan ekstrak protein biji kepuh pada penelitian berikutnya. Protein biji

kepuh diekstrak berdasarkan metode ekstraksi pada amarant (Bejoseno, dan Corke, 1999) dengan modifikasi. Sebanyak 150 g. biji kepuh yang telah dihilangkan minyaknya direndam dalam NaOH 0,01N selama 24 jam, kemudian diblender dan diambil filtratnya. Ampas diekstraksi ulang dengan NaOH 0,01N. Filtrat disentrifuse pada 2000 rpm untuk memisahkan pati selama 20 menit. Cairan hasil sentrifuse (Supernatan) dipresipitasi pada beberapa pH (pH 4, 4,5, 5, 5,5, 6 dan pH 6,5) dengan HCl 1N, kemudian disentrifuse 6500 rpm, suhu 4°C selama 15 menit. Endapan yang diperoleh adalah isolat protein. PH presipitasi yang menghasilkan endapan tertinggi adalah pH isoionik atau pH Isoelektrik. Pelaksanaan penelitian tahap ini dapat dilihat pada Gambar 4.

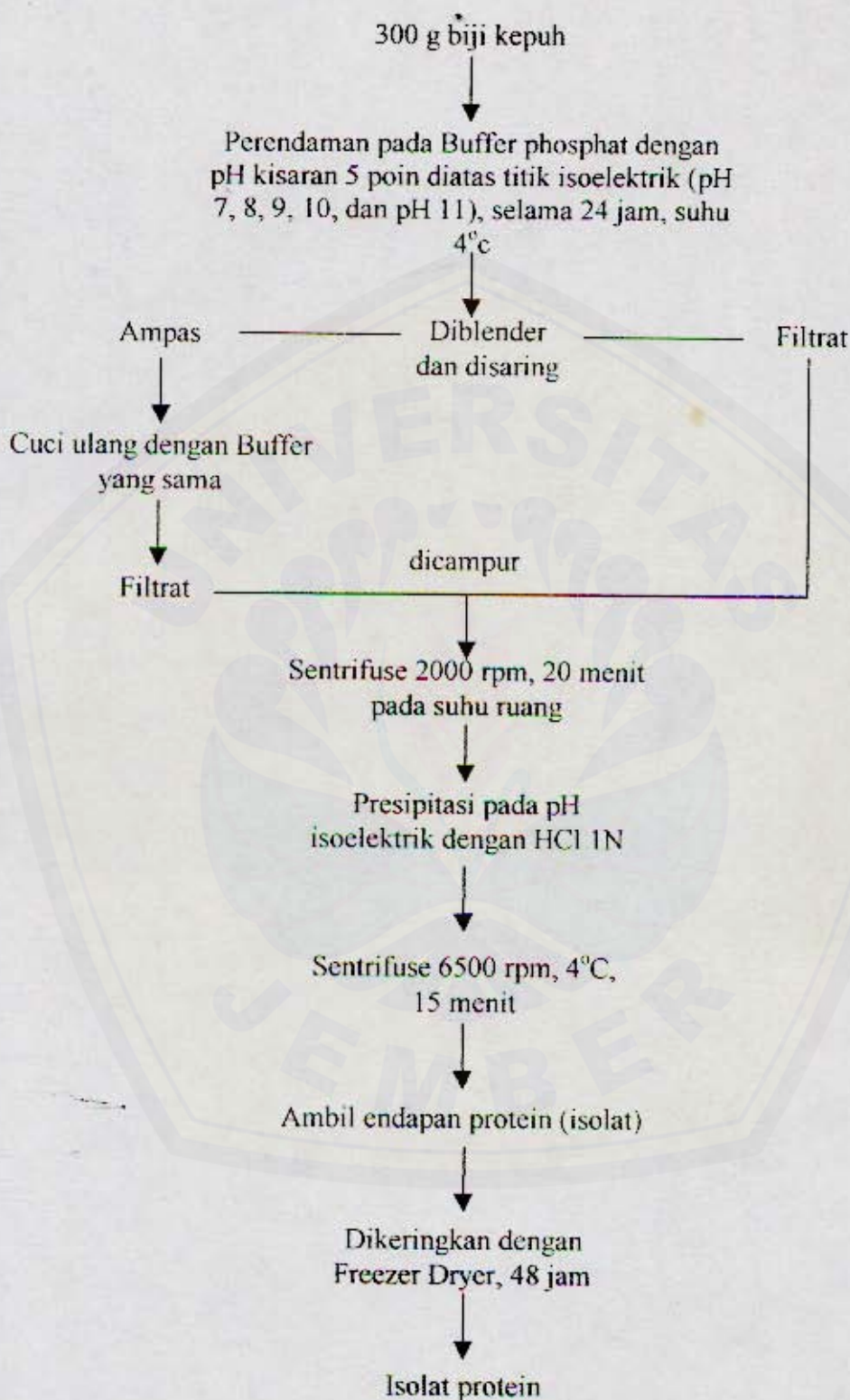
3.3.1.2 Penelitian Tahap Kedua

Pada penelitian tahap ini dilakukan ekstraksi protein biji kepuh pada kisaran pH 5 point diatas titik isoelektrik, dengan metode ekstraksi pada amarant (Bejoseno dan Corke, 1999) dengan modifikasi. 300 gr. Biji kepuh yang telah dihilangkan minyaknya, direndam pada Buffer fosphat dengan pH kisaran 5 point diatas titik isoelektrik selama 24 jam. Kemudian diblender dan dilakukan penyaringan untuk diambil filtratnya. Ampas diekstraksi ulang dengan buffer yang sama. Filtrat yang diperoleh disentrifuse pada 2000 rpm untuk mengendapkan komponen pati selama 20 menit. Kemudian supernatan dari proses sentrifugasi tersebut diambil dan dipresipitasi pada pH isoelektrik protein biji kepuh (dari data penelitian Tahap pertama) dengan HCl 1N. Kemudian dilakukan sentrifuse 6500 rpm, suhu 4 °C selama 15 menit. Endapan yang diperoleh adalah isolat protein. Isolat tersebut kemudian dilakukan pengeringan dengan Freezer Dryer selama 48 jam.

Isolat protein yang diperoleh pada masing-masing pH ekstraksi kemudian diamati sifat sifat fungsionalnya yang meliputi, daya kelarutan, kapasitas pengikatan minyak, kapasitas pengikatan air, daya emulsi dan stabilitasnya, daya buih dan stabilitasnya, serta sifat fisik warna isolat protein. Pelaksanaan pada penelitian tahap ini dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 4. Diagram Alir Penentuan Titik Isoelektrik Protein Biji kepuh (Bejoseno dan Corke, 1999)



Gambar 5. Diagram Alir Ekstraksi Protein Biji Kepuh (*Sterculia Foetida L.*) (Bejoseno dan Corke, 1999)

3.4 Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan pada penelitian Tahap I atau penentuan titik isoelektrik protein adalah berdasarkan persen endapan tertinggi dari protein.

Isolat protein biji kepuh yang diperoleh pada penelitian Tahap II diamati karakteristiknya yang meliputi sifat fungsionalnya dan sifat fisik. Sifat fungsional yang diamati adalah daya kelarutan, daya emulsi dan stabilitasnya, daya buih dan stabilitasnya, kapasitas pengikatan minyak (*Oil Holding Capacity*), dan kapasitas pengikatan air (*Water Holding Capacity*). Sedangkan sifat fisika yang diamati adalah warna isolat protein.

Adapun prosedur pengamatannya adalah sebagai berikut:

3.4.1 Penentuan Titik Isoelektrik Protein (Bejoseno dan Corke, 1999)

Sebanyak 150 g biji kepuh yang telah dihilangkan minyaknya direndam dalam 1000 ml NaOH 0,01N selama 24 jam, kemudian diblender dan diambil filtratnya. Ampas diekstraksi ulang dengan NaOH 0,01N. Filtrat disentrifuse pada 2000 rpm untuk memisahkan pati selama 20 menit. Cairan hasil sentrifuse (supernatan) dibagi 6 yang masing-masing bervolume 100 ml, kemudian masing-masing dipresipitasi pada beberapa pH (pH 4, 4,5, 5, 5,5, 6 dan pH 6,5) dengan HCl 1N, kemudian disentrifuse 6500 rpm, suhu 4°C selama 15 menit. Endapan yang diperoleh adalah isolat protein. Untuk mengetahui persen endapan protein adalah dengan persamaan sebagai berikut.

$$\text{Persen Endapan (\%)} = \frac{\text{Berat Endapan Protein}}{\text{Volume filtrat}} \times 100\%$$

3.4.2 Pengamatan Sifat Fungsional

A. Daya Kelarutan (Doyle, et. al., 1989)

Isolat protein biji kepuh dari masing-masing pH ekstraksi diamati daya kelarutannya berdasarkan pH perlakuan. Tingkat kelarutan isolat protein diamati berdasarkan kadar protein terlarut dalam cairan setelah perlakuan pH. Kadar protein terlarut tersebut diamati dengan metode Lowry (Sudarmadji,

1997). Sebanyak 1 g isolat protein dilarutkan dalam NaOH 0,1N 50 ml kemudian distirer selama 2 jam. Larutan dipisahkan masing-masing 5 ml kemudian dipresipitasi pada kisaran pH 3 – 12. Setelah itu dilakukan sentrifuse pada masing-masing larutan. Cairan hasil sentrifugasi (supernatan) kadar protein terlarutnya diukur dengan metode Lowry. 75 µl cairan sampel ditambah 250µl NaOH 2N, dipanaskan 10 menit, setelah dingin ditambah mix lowry 2,5 ml, dibiarkan 10 menit dan selanjutnya ditambah pereaksi folin 250 µl, vortek dan dibiarkan 30 menit. Selanjutnya dibaca absorbansinya pada 750 nm.

Untuk mengetahui kadar protein terlarut di hitung dengan persamaan kurva standart:

$$Y = 0,4128X + 0,0549 \dots Y = \text{Absorbansi} \quad X = \text{Konsentrasi (Lihat Lampiran 1)}$$

Daya kelarutan diketahui berdasarkan persen kadar protein yang ada pada larutan setelah sentrifugasi (Doyle, *et.al.*, 1989).

$$\text{Daya Kelarutan} = \frac{\text{kadar proteinterlarut setelah sentrifugasi}}{\text{kadar proteinterlarut total}} \times 100\%$$

B. Daya Emulsi dan Stabilitasnya (Parkington, *et. al.*, 2000)

Daya emulsi diukur dengan menggunakan metode spektrofotometer. Isolat protein sebanyak 0,1 g dilarutkan dalam 100 ml Buffer fosphat 0,05 M, pH 7. larutan tersebut distirer selama 15 menit dengan kecepatan 650 rpm (larut). Selanjutnya ditambahkan 25 ml minyak dan diblender selama 3 menit. Setelah diblender langsung diambil 1 ml dan dimasukkan dalam tabung yang sudah ada 5 ml SDS 0,1%. Kemudian divortek dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 500 nm. Daya emulsifikasi diukur dengan mengukur besarnya *Emulsifying Activity Indeks* (EAI) (m^2/g). Stabilitas emulsi diukur dengan mengambil 1 ml cairan blending setelah diam 10, 15, dan 20 menit. Untuk selanjutnya diperlakukan sama seperti mengukur daya emulsi (EAI). Pengukuran Daya emulsi dengan menghitung besarnya EAI dengan persamaan di bawah ini:

$$EAI = \frac{(2 \times 2,303)}{C \times (1 - \phi) \times 10^4} \times Abs \times Dilution$$

Keterangan: C = konsentrasi protein (g/ml) sebelumnya
 ϕ = Fraksi volume minyak (v/v) dari emulsi
 Abs = Absorbansi

Perhitungan stabilitas emulsi berdasarkan nilai kecepatan penurunan absorbansi per menit (OD/menit). Nilai tersebut diperoleh dari kemiringan grafik yang menghubungkan nilai EAI setiap retensi waktu. Semakin landai grafik hubungan EAI setiap retensi waktu, akan menghasilkan nilai kecepatan penurunan OD/menit yang semakin kecil. Dengan demikian kecilnya nilai penurunan OD/menit menunjukkan stabilitas emulsi semakin baik.

C. Kapasitas Pengikatan Minyak (*Oil Holding capacity, OHC*) (Subagio, A. 2003)

Pengujian kapasitas pengikatan minyak (OHC), dilakukan dengan memasukkan 0,5 g isolat protein pada tabung yang telah diketahui beratnya, kemudian ditambah minyak sebanyak tujuh kali berat dan di vortek. Setelah itu dilakukan sentrifuse 1500 rpm. Minyak yang ada dibagian atas (supernatan) dibuang, endapan ditimbang bersama tabungnya.

Kapasitas pengikatan minyak (OHC) diukur dengan persamaan berikut ini:

$$OHC (\%) = \frac{(Mc - Mb) - Ma}{Ma} \times 100\%$$

Keterangan: Ma = berat sampel (g)
 Mb = Berat Tabung (g)
 Mc = Berat endapan dan tabung (g)

D. Kapasitas Pengikatan Air (*Water Holding Capacity, WHC*) (Subagio, A., 2003)

Pengujian WHC dilakukan dengan memasukkan 0,5 g isolat protein pada tabung yang telah diketahui beratnya, kemudian ditambah air sebanyak tujuh kali berat dan di vortek. Setelah itu dilakukan sentrifuse. Setelah itu air yang ada dibagian atas (supernatan) dibuang, endapan ditimbang bersama tabungnya.

Kapasitas pengikatan air (WHC) diukur dengan persamaan berikut ini:

$$\text{WHC (\%)} = \frac{(Wc - Wb) - Wa}{Wa} \times 100\%$$

Keterangan: W_a = berat sampel (g)
 W_b = Berat Tabung (g)
 W_c = Berat endapan dan tabung (g)

E. Daya Buih dan Stabilitasnya (Subagio, A., 2003)

Pengukuran daya buih meliputi dua aspek yaitu pengukuran kemampuan dari protein untuk membentuk buih dan stabilitas buih yang terbentuk. Kemampuan pembentukan buih dilakukan dengan pemberian gelembung-gelembung gas yang dihasilkan oleh aerator selama 5 menit. Kemudian diukur volume setelah pemberian gelembung gas tersebut. 0,25 g isolat protein dilarutkan dalam 50 ml Buffer fosfat 0,1M pH 7 kemudian dimasukkan pada gelas ukur 100 ml, kemudian dialiri udara dengan aerator. Daya buih diukur dengan perbandingan volume buih dengan berat sampel yang digunakan. Stabilitas buih diukur dengan mengukur volume setelah beberapa waktu tidak dialiri udara (diam) beberapa saat (30 detik) dan dibandingkan dengan pada saat dialiri udara.

Daya buih dapat dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Daya Buih} = \frac{(VB-VA)}{\text{Berat Sampel}} \quad \bullet \quad \text{Stabilitas Buih} = \frac{(VC-VA)}{(VB-VA)} \times 100\%$$

Keterangan: VA = Volume awal
 VB = Volume setelah dialiri udara
 VC = Volume setelah diam

3.4.3 Pengamatan Sifat Fisik

Isolat Protein Biji kepuh diamati sifat fisik warna dengan menggunakan Colour Reader. Warna dari bahan akan ditunjukkan oleh color reider berdasarkan kecerahan dan indeks warnanya dengan parameter nilai "L", "a", dan "b". Nilai "L" menunjukkan sejauhmana bahan dapat memantulkan sinar yang diberikan, sehingga nilai ini menunjukkan kecerahan dari bahan. Nilai "a" menunjukkan warna merah jika angkanya positif, dan menunjukan warna hijau jika negatif. Nilai "b" menunjukkan warna kuning jika positif dan menunjukkan warna biru jika negatif (Doyle, 1989).

A. Derajat Keputihan (Doyle, *et. al.*, 1989)

Derajat Keputihan diperoleh dengan menghitung dari nilai "L" dan nilai "b" yang diperoleh dari Colour Reader. Adapun persamaannya dapat ditunjukkan sebagai berikut:

$$Wi = L - 3b \quad \text{Keterangan: } Wi = \text{Derajat Keputihan}$$

B. Kecerahan

Kecerahan isolat protein diamati berdasarkan nilai "L" yang ditunjukkan. Dimana nilai L ini berkisar antara 0 sampai 100 yang menunjukkan warna dari paling gelap (L = 0) sampai warna paling terang (L = 100).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

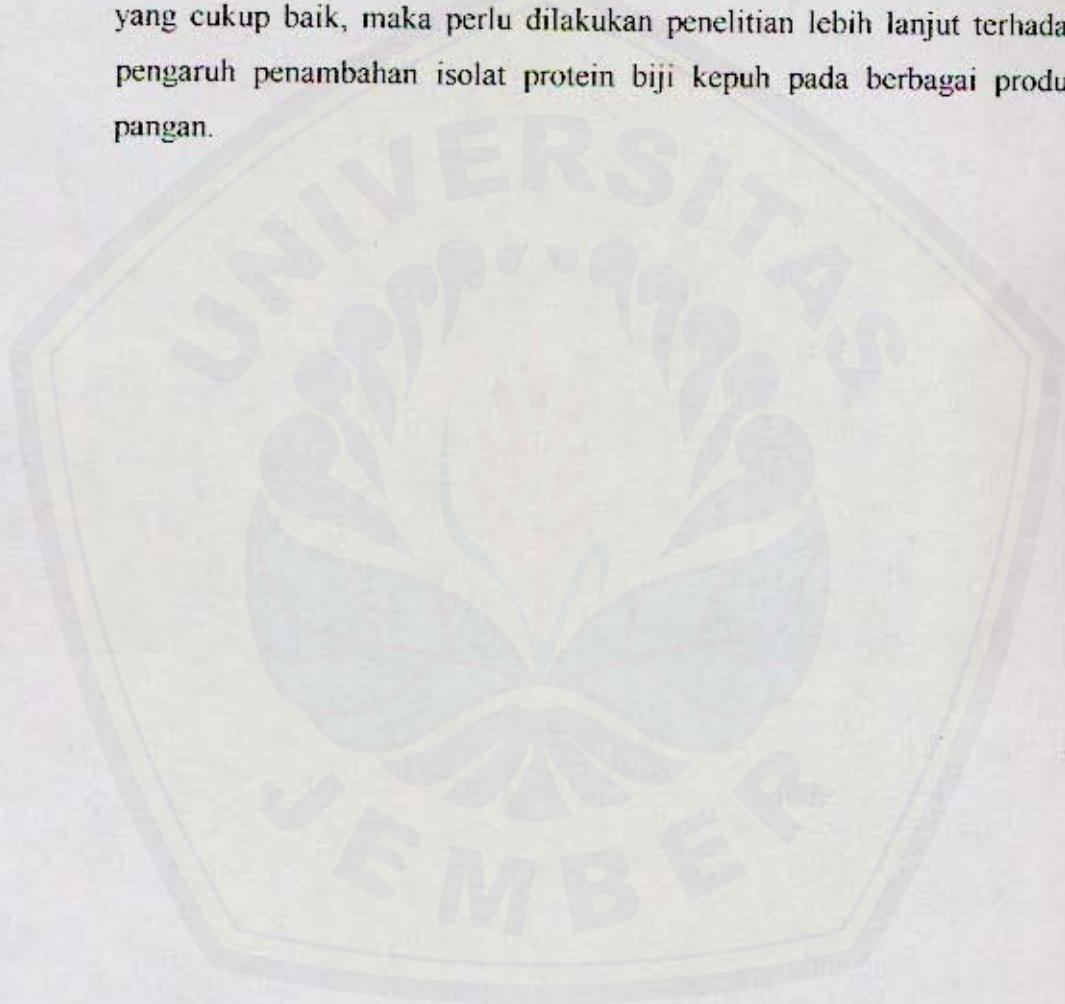
Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh pH ekstraksi protein terhadap sifat fungsional protein biji kepuh dapat diambil suatu kesimpulan sebagai berikut:

1. Titik isoelektrik dari protein biji kepuh diketahui pada pH 5, yang ditunjukkan dengan paling tingginya endapan protein pada pH tersebut, yaitu mencapai 24,60%.
2. pH ekstraksi protein berpengaruh terhadap sifat-sifat fungsional protein biji kepuh, yaitu dengan semakin meningkatnya pH ekstraksi akan semakin menurunkan aktivitas atau Daya Kelarutan protein, menurunkan Daya Emulsi, menurunkan kapasitas pengikatan minyak, menaikkan kapasitas pengikatan air, dan menurunkan Daya Buih dan stabilitasnya. Semakin tinggi pH ekstraksi secara umum juga dapat menurunkan derajat keputihan dan kecerahan warna dari isolat protein.
3. Daya kelarutan protein paling baik pada pH ekstraksi 7, daya emulsi protein paling tinggi diperoleh dengan pH ekstraksi 7 dengan nilai EAI sebesar 4,43 m²/g dan stabilitasnya paling baik pada ekstraksi pH 9. Kapasitas pengikatan minyak paling baik dihasilkan oleh ekstraksi dengan pH 7 dengan nilai 80,06%. Kapasitas pengikatan air paling baik dihasilkan oleh ekstraksi dengan pH 11 yang mencapai nilai 112,04%. Sedangkan untuk daya buih dan stabilitasnya paling baik dengan ekstraksi pH 7.

5.2 Saran

1. Untuk melengkapi dan menyempurnakan data dari pengaruh pH ekstraksi terhadap sifat fungsional protein kepuh, perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh pH ekstraksi dibawah pH 7, juga perlu dilakukan penelitian terhadap rendemen protein dari masing-masing perlakuan pH ekstraksi.

2. Menyadari bahwa pada penelitian kali ini belum dilakukan pengamatan terhadap komposisi kimia dari isolat protein biji kepuh (Analisa proksimat) dikarenakan beberapa keterbatasan, maka disini dapat disarankan agar dilakukan penelitian tambahan untuk mengetahui kandungan kimia dari protein biji kepuh.
3. Dengan mengetahui bahwa protein biji kepuh memiliki sifat fungsional yang cukup baik, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap pengaruh penambahan isolat protein biji kepuh pada berbagai produk pangan.



DAFTAR PUSTAKA

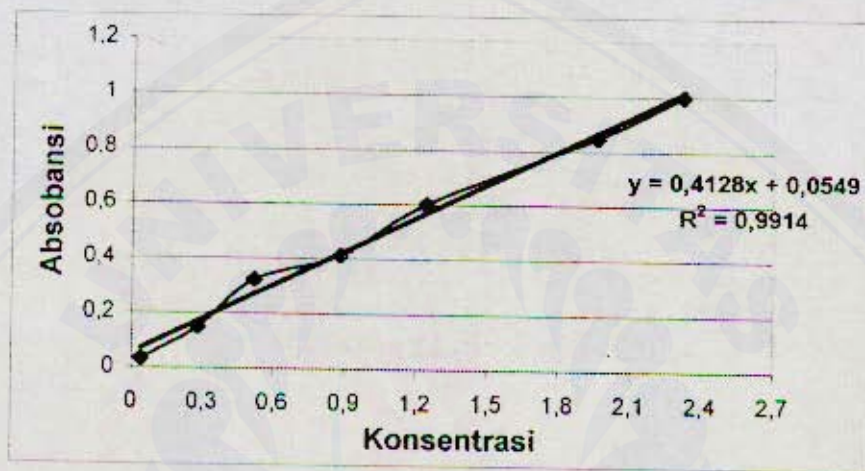
- Afandi, 1984. *Kimia Pangan*. Erlangga. Yogyakarta
- Bejoseno, F.P., and H Corke, 1999. *Properties of Protein Concentrates and Hidrolisates from Amaranthus and Buchwheat*. Dalam: Subagio, A., et. al., (2003). *Pengaruh Penambahan Isolat Protein Koro Pedang (*Canavalia Ensiformis L.*) Terhadap Karakteristik Cake*. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan. Vol XIV. No 2 Th. 2003
- Bennion, M., 1980. *The Science of Food*. John Wley & Sons. New York
- Brandt, L. 1996. *Emulsifier in Baked Good*. [http:// www. Foodproductdesign:](http://www.Foodproductdesign.com) Februari
- Damodoran, S. 1997. *Food Protein and Their Aplication*. Marcell Dekker. Inc. New York
- Dies, R.C. 2002. *Food Emulsioan Combining Immiscible Ingredient*. [http:// www. Foodproductdesign:](http://www.Foodproductdesign.com) April.
- Dolores, G.L., H. Thomas, and P Carmen, 1999. *Peptides*. Dalam: Nollet, L.M.L (eds). *Hand Book of Food Analysis*. Vol: 1. Merzell Dekker. Inc. New York
- Doyle, H., Waggle, H. Fred, Steinke, and Jerome L. Shen, 1989. *Isolated Soy Protein*. Dalam: R.H. Matthews, (eds). *Legumes, chemistri-technologi and human nutrition*. Merzell Dekker. Inc. New York
- Elliasson., C. and A. Larson. 1993. *Cereal in Breadmaking*. Marzell Dekker Inc. New York.
- Fauzi, M., 1990. *Mempelajari Kelarutan Protein Biji Kepuh (*Sterculia foetida L.*) pada berbagai pH pelarut*. Pusat Penelitian Universitas Jember. Jember

- Fauzi, M., 1988. *Mempelajari Beberapa Sifat Fisik dan Kimia Minyak Biji Kepuh (Sterculia foetida L.) Sebagai Minyak Makan*. Fakultas Pertanian Universitas Jember. Jember
- Grosch, B., 1999. *Food Chemistry*. Second Edition. Spriger; Verley Berlin Heidelberg
- Girinda, A. 1986. *Biokimia I*. Penerbit PT Gramedia. Jakarta
- Huyghebaert, A., and V.C., John. 1999. *Protein*. Dalam: Nollet, L.M.L (eds). *Hand Book of Food Analysis*. Vol: 1. Merzell Dekker. Inc. New York
- Kinsella, J.E., 1979. *Functional Properties of Soy Bean Protein*. Dalam: Sugijanto Manulang (2001). *Pembuatan Protein Konsentrat Wheat Pollard Sebagai Pemanfaatan Hasil Samping Penggilingan Gandum*. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan. Vol XIV No 2 th. 2003
- Kinsella, J.E., 1985. *Phisicochemical and Functional Properties of Oil Seed Proteins With Emphasis On Soy Proteins*. Dalam Aaron M. Althschul and Harold L Wilcke (eds). *New Protein*, Vol: 5 Academic Press, Inc. New York
- Koswara, S., 1995. *Teknologi Pengolahan Kedelai*. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta
- Lehninger, 1990. *Dasar-Dasar Biokimia*, Jilid 1. Erlangga. Surabaya
- Page, D.S., 1981. *Prinsip-Prinsip Biokimia*. Erlangga. Surabaya
- Parkington, J.K., Xiong, Y.L., Blanchard, S.P., Xiong, S., Wang, B., Srinivan, S., and Froning, G.W. 2000. *Food Chemistry and Toxicology: Chemical and Functional properties of Oxidatively Modified Beef Heart Surimi Stored at 2°C*. FoodSci (3) Vol 65 no 3: 428-433
- Quisumbing, D.F., 1951. *Medical Plant of Philippines*. Dalam: Fauzi, M., (1988). *Mempelajari Sifat Fisik dan Kimia Minak Biji Kepuh (Sterculia foetida L.) Sebagai Minyak Makan*. Fakultas Pertanian Universitas Jember. Jember

- Rhee, K.C., 1994. *Functionality of Soy Protein*. Dalam: N.S. Hettiarachy and G.R. Zielger (eds). *Protein Functionality in Food System*. Marcell Dekker. Inc. New York
- Shadily, H., 1981. *Ensiklopedia Indonesia*. Icthar Baru – Van Hoeve. Jakarta
- Simon, P., E Andriene, Clark, and Carolyn J. Shults. 2001. *Effect of Denaturant on The Emulsifying Activity of Protein*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*: 49. 281-286
- Steenis, V., 1981. *Flora, untuk Sekolah Di Indonesia*. Dalam: Fauzi, M., (1990). *Mempelajari Kelarutan Protein Biji Kepuh (*Sterculia foetida* L.) Pada Berbagai pH pelarut*. Pusat Penelitian Universitas Jember. Jember
- Subagio, A., 2003. *Pengembangan Kekara Sebagai Sumber Protein Untuk Kebutuhan Pangan di Daerah Marjinal*. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember
- Sudarmadji, S.B.Haryono dan Suhardi. 1997. *Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Penerbit: Liberty. Yogyakarta
- Sugiharto, R. 1998. *Uji Stabilitas Suatu Model Sistem Emulsi*. *Jurnal Teknologi & Industri Pertanian* Vol 2(2) September.
- Sugijanto dan Manulang, 2001. *Pembuatan Protein Konsentrat Wheat Pollard Sebagai Pemanfaatan Hasil Samping Penggilingan Gandum*. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Vol XIV No 2 2003
- Suwarnig, I. 2003. *Ekstraksi dan Karakterisasi Water Extractable Protein dan Pentosan Tepung Terigu*. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Jember
- Winarno, F.G., 1991. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Zayas, J.F., 1997. *Functionality of Protein in Food*. Spriger, Berlin

Lampiran 1. Kurva Standar Analisa Protein Terlarut Metode Lowry

Konsentrasi (mg/ml)	Absorbansi
0,04	0,035
0,28	0,15
0,52	0,325
0,88	0,413
1,24	0,602
1,96	0,848
2,32	1,000



Lampiran 2. Data Pengamatan pH Isoelektrik Protein Biji Keping

pH Presipitasi	Berat Endapan (gram)	Persen Endapan (%)
4,0	3,085	20,57
4,5	3,281	21,87
5,0	3,690	24,60
5,5	3,334	22,23
6,0	2,386	15,91
6,5	0,918	6,12

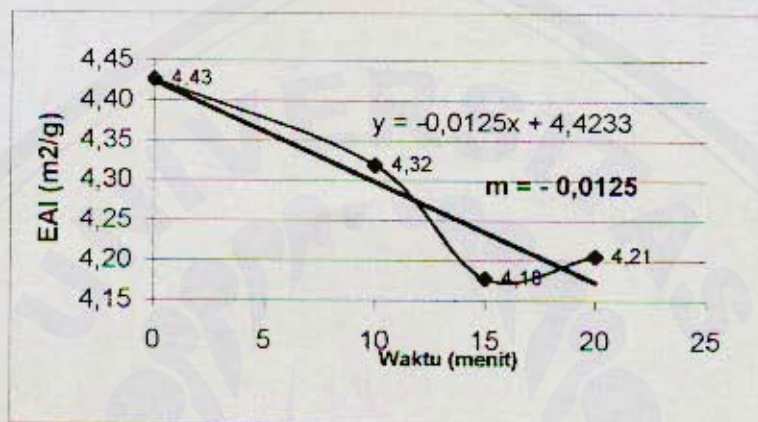
Lampiran 3. Data Pengamatan Daya Kelarutan Protein Biji Kepuh

pH Perla- kuan	Absorbansi						Konsentrasi (mg)						Persent Kelarutan (%)					
	pH Ekstraksi						pH Ekstraksi						pH Ekstraksi					
	7	8	9	10	11		7	8	9	10	11		7	8	9	10	11	
3	0,360	0,321	0,271	0,520	0,182		0,740	0,645	0,524	1,127	0,309		47,139	43,295	40,947	71,788	33,974	
4	0,313	0,298	0,116	0,373	0,083		0,624	0,590	0,148	0,771	0,068		39,782	39,599	11,538	49,118	7,436	
5	0,288	0,274	0,114	0,190	0,061		0,564	0,531	0,144	0,328	0,015		35,967	35,639	11,243	20,907	1,603	
6	0,320	0,233	0,117	0,181	0,062		0,641	0,432	0,152	0,305	0,016		40,872	29,039	11,834	19,395	1,795	
7	0,327	0,250	0,130	0,200	0,063		0,659	0,472	0,182	0,352	0,020		41,962	31,679	14,201	22,418	2,244	
8	0,380	0,358	0,166	0,235	0,091		0,787	0,734	0,269	0,435	0,087		50,136	49,314	21,006*	27,708	9,615	
9	0,532	0,396	0,308	0,293	0,167		1,155	0,827	0,614	0,577	0,271		73,569	55,544	47,929	36,776	29,972	
10	0,599	0,478	0,383	0,448	0,254		1,317	1,026	0,795	0,953	0,483		83,924	68,902	62,130	60,705	53,205	
11	0,648	0,574	0,482	0,574	0,343		1,437	1,258	1,034	1,258	0,699		91,553	84,477	80,769	80,101	76,923	
12	0,703	0,670	0,583	0,703	0,430		1,569	1,489	1,280	1,570	0,908		100,000	100,000	100,000	100,000	100,000	

Lampiran 4. Data Pengamatan Daya Emulsi dan Stabilitasnya

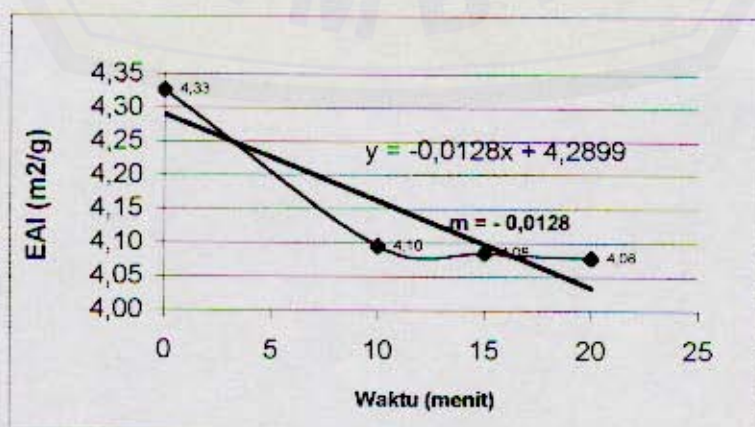
pH 7

Waktu (menit)	Absorbansi		EAI (m ² /g)		Rerata EAI
	I	II	I	II	
0	1.240	1.323	4.284	4.570304	4.430
10	1.215	1.286	4.197	4.442487	4.320
15	1.160	1.259	4.007	4.349216	4.180
20	1.190	1.245	4.111	4.300853	4.210



pH 8

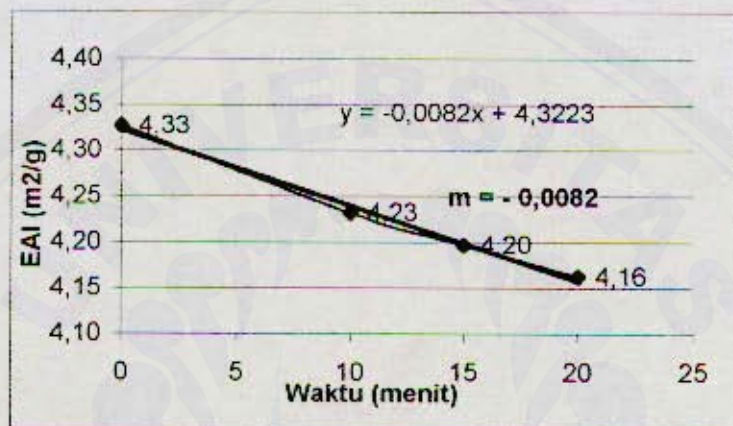
Waktu (menit)	Absorbansi		EAI (m ² /g)		Rerata EAI
	I	II	I	II	
0	1.260	1.245	4.353	4.301	4.330
10	1.250	1.121	4.318	3.873	4.100
15	1.245	1.120	4.300	3.869	4.080
20	1.245	1.116	4.301	3.855	4.080



Lanjutan lampiran 4....

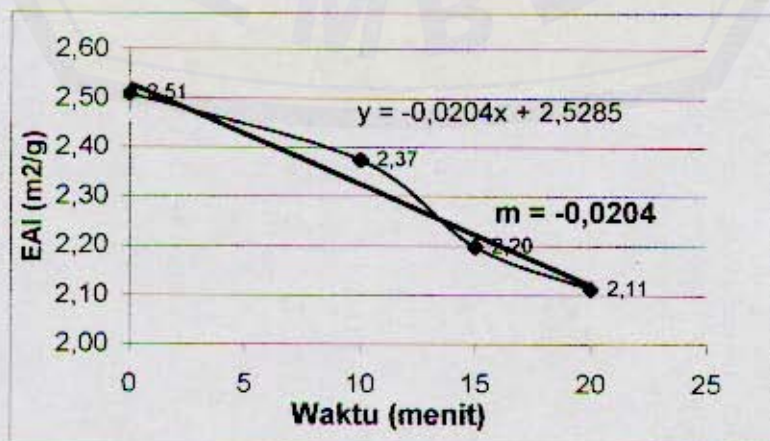
pH 9

Waktu (menit)	Absorbansi		EAI (m ² /g)		Rerata EAI
	I	II	I	II	
0	1.245	1.260	4.301	4.353	4.330
10	1.200	1.250	4.145	4.318	4.230
15	1.185	1.245	4.094	4.301	4.200
20	1.165	1.245	4.024	4.301	4.160



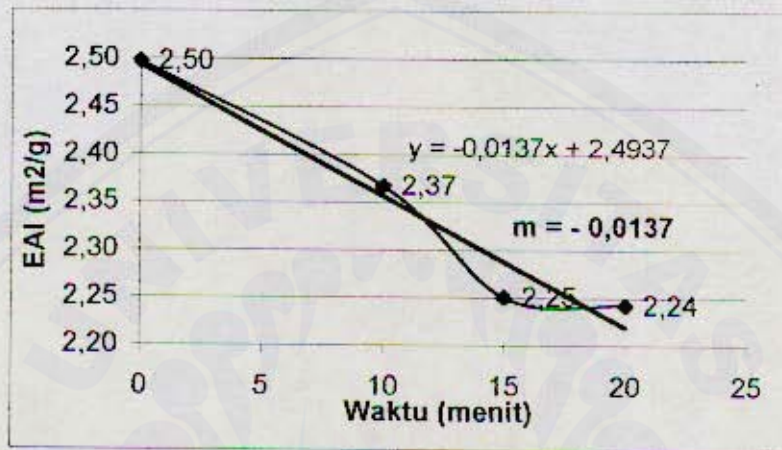
pH 10

Waktu (menit)	Absorbansi		EAI (m ² /g)		Rerata EAI
	I	II	I	II	
0	0.762	0.691	2.632	2.387	2.510
10	0.694	0.680	2.397	2.349	2.370
15	0.675	0.598	2.332	2.066	2.200
20	0.633	0.590	2.187	2.038	2.110



pH 11

Waktu (menit)	Absorbansi		EAI (m ² /g)		Rerata EAI
	I	II	I	II	
0	0.764	0.682	2.639	2.356	2.500
10	0.770	0.601	2.659	2.076	2.370
15	0.714	0.589	2.467	2.035	2.250
20	0.718	0.580	2.480	2.004	2.240



Lampiran 5. Data Pengamatan Daya Emulsi Protein Biji Kepuh

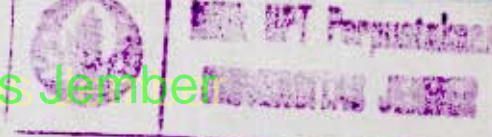
PH Ekstraksi	Daya Emulsi (EAI)
7	4,430
8	4,330
9	4,330
10	2,510
11	2,500

Lampiran 6. Data Pengamatan Kapasitas Pengikatan Minyak (OHC)

pH Ekstraksi	Berat tabung (a)		Berat Sampel (b)		Berat endapan (c)		OHC (%)		Rerata OHC (%)
	I	II	I	II	I	II	I	II	
7	5.627	5.6177	0.5016	0.5021	6.5424	6.5096	82.50	77.63	80.06
8	5.6209	5.3393	0.5015	0.5034	6.5273	6.2196	80.74	74.87	77.80
9	5.0849	5.1243	0.5057	0.5038	5.9723	6.0057	75.48	74.95	75.21
10	5.5554	5.6046	0.5072	0.5096	6.4455	6.4734	75.49	70.49	72.99
11	5.6087	5.4671	0.5091	0.5074	6.4194	6.298	59.24	63.76	61.50

Lampiran 7. Data Pengamatan Kapasitas Pengikatan Air (WHC)

pH Ekstraksi	Berat Tabung (a)	Berat Sampel (B)	Berat Endapan (c)	Persen WHC (%)
7	5,5818	0,5003	6,4370	70,94
8	5,4991	0,5095	6,4043	77,66
9	5,0925	0,5038	5,9877	77,69
10	5,1151	0,5023	6,1566	107,35
11	5,0937	0,5046	6,1678	112,86



Lampiran 8. Data Pengamatan daya Buih dan Stabilitasnya

pH Ekstraksi	Volume Awal (Va) (ml)		Volume akhir (Vb) (ml)		Volume Diam (Vc) (ml)		Daya Buih(D) (ml/g)			Stabilitas Buih (S) (ml/g)		
	I	II	I	II	I	II	I	II	Rerata	I	II	Rerata
	7	50	52	52	55	51	53	8	12	10	50	33,33
8	51	52	53,5	53,5	51	53	10	6	8	0	66,67	33,33
9	50	52	52	54	50	52	8	8	8	0	0	0
10	51	52	53	54	51	52	8	8	8	0	0	0
11	51	52	53	53	51	52	8	4	6	0	0	0

Lampiran 9. Data Pengamatan Sifat Fisik Warna Isolat Protein Biji Kacang

pH Ekstraksi	Nilai Colour Reader			Parameter Pengamatan	
	dl	a	b	L	wi
7	-11,4	2,7	9,3	88,6	60,7
8	-13,5	2,9	9,4	86,5	58,3
9	-15,2	3,6	8,6	84,8	59
10	-17,9	3,4	7,8	82,1	58,7
11	-11,7	2,8	8,6	88,3	62,5

Keterangan: L = Kecerahan Warna

Wi = Derajat keputihan