

**KARAKTERISASI SIFAT FISIKOKIMIA  
DAN FUNGSIONAL ISOLAT PROTEIN  
KORO KRATOK (*Phaseolus Lunatus L*)**

**KARYA ILMIAH TERTULIS  
(SKRIPSI)**



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

Oleh :

**SAFITA MERIDIAN**  
NIM. 001710101060

Aasal :	Hadiah	Klass 635.65 MER k
Terima di :	Peringkat :	
No. induk :	250205	
Pengkatalog :		

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

*Dosen Pembimbing:*

**Dr.Ir.A.Subagio, M.Agr (DPU)**

**Yuli Witono, S.Tp, MP (DPA I)**

**Ir. Wiwik Siti Windrati, MS (DPA II)**

Diterima oleh:

**Jurusan Teknologi Hasil Pertanian**

**Fakultas Teknologi Pertanian**

**Universitas Jember**

Sebagai **Karya Ilmiah Tertulis**

---

Dipertahankan pada:

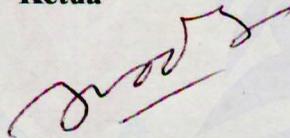
Hari : Sabtu

Tanggal : 03 April 2004

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian  
Universitas Jember

Tim Penguji

**Ketua**



**Dr. Ir. Achmad Subagio, M.Agr.**

NIP. 131 975 306

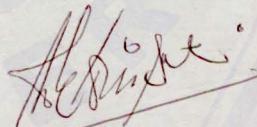
**Anggota I**



**Yuli Witono, S.Tp, MP**

NIP. 132 206 028

**Anggota II**

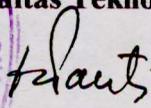


**Ir. Wiwik Siti Windrati, MP.**

NIP. 130 787 732

Mengesahkan

**Dekan Fakultas Teknologi Pertanian**



**Ir. Hj. Siti Hartanti, MS.**

NIP. 130 350 763

Segenap **RENUNGAN** ku di kebeningan malam

BISMILLAHIRRAHMANIRRAHIM

## TIADA TUHAN SELAIN ALLAH

“Baralah demi Tuhanmu yang telah menciptakan.....  
Keistimewaan manusia yang menjadikan para malaikat  
diperintahkan sujud kepadanya adalah  
karena makhluk ini memiliki *pengetahuan* “

(QS. 2 : 31-34)

“Ya Allah,

inilah usahaku sebatas kuasaku,  
maka janganlah Engkau cela diriku tentang apa Yang  
Engkau kuasai dan aku tidak kuasai (hati)”

(HR Abu Dawud)

Allah Sangat Menyukai Makhluknya Yang Memulai Harinya  
Dengan Membersihkan Hati Dan Memperbaiki Diri

(Bijak)

SEMOGA KUTAHU SYUKURKU ADALAH MILIKMU

(Raihan)

Jikalau akumelangkah  
.....Semogaitubukan karena "Ketakutan"  
Jikalau akumelangkah  
.....Semogaitubukan karena "Keberanian"  
Jikalau akumelangkah  
.....Semogaitubukan karena "Kesombongan"  
Jikalau akumelangkah  
.....Semogaitubukan karena "Kerendahdirian"  
Jikalau akumelangkah  
.....Semogaitubukan karena "Mengharapkan pandangan orang  
lain"  
Jikalau akumelangkah  
.....Semogaitubukan karena "Rasa kasihan"  
Jikalau akumelangkah  
.....Semogaitukarena "Kerinduan"  
Jikalau akumelangkah  
.....Semogaitukarena "Kebenaran"  
Jikalau akumelangkah  
.....Semogaitukarena "Cinta"  
Jikalau akumelangkah  
.....Semogaitukarena "Hakikat"  
Jikalau akumelangkah  
.....Semogaitukarena "...ALLAH"

(Seismic)

Tiadalah bintang yang tak kan meredup tinggalkan gelap

Tiadalah mentari yang tak kan bersinar berikan cahaya

Tiadalah malam tanpa fajar yang menyambut

Tiadalah siang tanpa petang yang mengiringi ..... dan

**Jikalau penantian hanya akan menjadi masa lalu pada  
akhirnya**

**Maka mengapa harus mengorbankan ketenangan  
menunggu kepastian-NYA**

**Sedang semua peristiwa pasti ada masanya sendiri-  
sendiri**

(Feet@)

## SAMUDRA SYUKUR-KU

Muara segala Doa dan Pengharapan

Muara segala Ridlo dan Kecintaan

Muara segala Kesah dan Kegundahan

### **ALLAH**

*Alhamdulillah ya Ilahi, Dalam suci dan damai kau hembuskanku nafas, anugrahkanku jiwa, hulurkanku rasa, berikanku suratan, yang kini kujalani sebagai cerita, dimana harus dimulai dan diakhiri sebagaimana mestinya, Semoga RidloMu kan mengiringi pula*

*Dan segala puncak penghambaan serta ketauladanan yang telah ditunjukkannya*  
**Rasulullah SAW**

Tempatku berkaca tentang semangat dan ketabahan sehingga karya ini dapat kupersembahkan :.

Kepada Wanita Terbaikku, <sup>Hj</sup> **UMMI SJAFIATUN**, dan lelaki pilihan yang Telah di AnugrahkanNya kepadaku, **ABI <sup>H</sup> M.MASKUR**,  
*tak sekedip matapun kurasakan tanpa cintamu dan tak sehelaan nafaspun kuluput dari sayangmu, terima kasih untuk segala doa yang selalu mengalir dalam tiap inchi nadiku menaungi bijak langkah kakiku, anakmu yang manja.*

Kepada “My Lovely Sisters” **SILFIA MAYANTI, SE dan SAFIA MARIANA, SPd** yang telah banyak memberikanku sayang dan perhatian serta kemanjaan (You raise me up to more I can do....) terimakasih juga telah memberikanku kakak-kakak yang “sobirin” (Mas Yoyok dan Mas Yayak). And to “My Brother” **SELAMAT TINGGAL, ALM** (How long must I be far away from u, I don’t know too but I know we are one)

**Tiada kata berpisah bila harus berakhir segalanya**

**Untuk kita dan untuk masa bahagia**

Untuk **my TOP konco in TePe's**. **RENNY**(makasih dah jadi sobat pertamaku dirantau ini), **NANI** (thanks dah ngertiin aq selama ini), **NINIK**(tetap istiqomah ya, inilah dunia, tempat qta memanajemen qolbu, trim dah jadi teman curhatku) **IKSAN** (Syukron atas semua bantuannya, and afwan atas semua keterbatasanku)

**DONO** (makasih tuk si “merah”nya juga tuk semua keramaiannya),

**YOYOK**(Thanks atas smua gojlokkan dan sanjungannya), **MUNIR**(sorry kalo sering nengkarin u, but u still my best friend, jangan sentimentilan donk) ,

**UTAMI**(meskipun singkat persahabatan qta, but trims atas semua pembelajaranmu), **NANING**(jangan panikan lagi ya ning, bentar lagi kan dah STp), **SUBKHAN**(makasih ya dulu dah jd partner yg plg OK), **DIYAN YULI** (keep on u'r smile, OK), **LIA** (Ngomong2 'easy goingmu ok juga), **ANDREW** (makasih dah ajari aq berani ambil kep), **WINDY** (makasih atas keceriaannya) dan **seluruh teman2ku angkatan 2000 FTP-UJ** (Kiranya kan terkenang abadi) serta mas2, mbak2, dan adik2 di tempat kumenempa diri Kampus Pojok TePe.

**Kepada “my second family” di Tapak Suci UJ**, **M' Roihan**(makasih atas semuanya, btw jgn mikirin jodoh terus donk, pasti dah ada koq, Insyallah), Pelatih2 juga kakak2ku tercinta (**M'Joko, M'Heni, M'Andre n M'David**) and adek2ku tersayang, **Sita** (keep patient, OK), **Dika**(makasih bantuannya), **Dini** (jangan manja lagi, ya, kan dah jadi akhwat), **Udin**(ikhwan junior), **Welly, Iffan, Ndog, Cumi** n all my yougest. KEEP SOUL FIGHTING, GUYS :-)

**kepada penghuni rumah keduaku di kost METI**. Khususnya kepada mantan2 penghuninya, especially **PHIPHINK**, thanks telah jadi 'sister'ku

**Tak lupa juga kepada semua yang telah hadir dimasa lalu, saat ini dan yang akan datang**

**Especially to my secret akhi....**

*Tak perlu kau bacakan puisi dari bawah jendelaku, jangan pula kau culik aku dengan kudamu, ataupun kau taburkan mawar disepanjang jalanmu. Ketuk saja pintu itu, maka aku akan menerima apa adanya dirimu*

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, Puji Syukur Kepada Allah SWT, yang telah memberikan rahmat dan hidayahNya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah dengan judul **“Karakterisasi Sifat Fisikokimia dan Sifat Fungsional Isolat Protein Koro Kratok (*Phaseolus lunatus L*)”**, dengan penuh kesederhanaan dan tepat waktu.

Karya ini tak lepas juga dari segala bimbingan dan bantuan yang begitu besar baik secara moril maupun spiritual, langsung maupun tidak langsung dari berbagai pihak kepada penulis. Tidak berlebihan kiranya jika penulis mengucapkan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada :

1. Ir. Hj. Siti Hartanti, MS, selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember
2. Ir. Susijahadi, MS, selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian-Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember
3. Bapak Dr. Ir. Achmad Subagio, M.Agr.PhD, selaku Dosen Pembimbing Utama, yang telah memberikan kepercayaan kepada penulis juga telah membimbing penulis dengan penuh ketelatenan.
4. Bapak Yuli Witono, S.Tp.MP, selaku Dosen Pembimbing Anggota I dan Dosen Wali, yang telah memberikan segala nasehatnya dengan penuh kesabaran.
5. Ibu Ir. Wiwik Siti Windrati,MP, selaku Dosen Pembimbing Anggota II, yang telah memberikan kemudahan penulis dengan jiwa keibuannya.
6. Seluruh bapak dan ibu dosen yang telah memberikan ilmunya, semoga amalan ilmu tersebut dapat menghantarkanmu kepada balasan Allah yang lebih baik.
7. Seluruh teknisi Laboratorium, Mbak Sari, Mbak Ketut, Mbak Wim dan Mbak Widi
8. Seluruh bapak ibu guruku dari TK hingga SMU, semoga amalanmu diterima Allah SWT.

9. Abi dan Ummi yang senantiasa memberikan doa dan dukungan serta tempat peraduan penuh kehangatan cinta kasih. Semoga Allah memasukkan Abi dan Ummi kedalam barisan orang-orang yang mendapat Anugrah Lailatul Qadar.
10. Mbak Silfi dan Mbak Ana atas perhatian serta kasih sayangnya juga kepada Mas Yayah dan Mas Yoyok (When 2 people get marry, to take the life together on the way, ALLAH shall give them one more bless, semoga menjadi keluarga yang sakinah).
11. Seluruh keluarga besar M. Bahrawi di Pamekasan, Sidoarjo, dan Bangkalan serta keluarga besar M. Syafii di Jember dan Pamekasan
12. My Best Team "Koro", Iksan, Nani, Utami, Lia and Andrew (all of u are my best teacher)
13. My lovely friend, Reni, Ninik, Yoyok, Dono, Munir, Subkhan, Naning and Diyan Yuli (Thanks atas kebersamaan dan support).
14. My Labor Pren, Bu'ne "Pipit, Mak "Yani" Bongki, Asbong "Elya (makasih atas segala keceriaan ditengah kebingunganku), Windy (u are the good partner, adek "Meri" (makasih atas perhatiannya), Fajriyah (makasih Lehnigernya), Evi Nur (thanks atas semua ketulusannya) and Zuki, S.Tp (makasih ya dah nolongin aku "mumet" cari koro)
15. Seluruh teman-teman angkatan 2000 semua yang suatu hari dulu pernah membuatku bingung menghafalkan nama dan wajah kalian.
16. To My Second Family in Tapak Suci UJ, terima kasih atas keceriaannya, tetap jaga kekompakan yo, rek!)
17. UKM tempatku bernaung, Konsinusteta dan Manifest, juga kepada BEM, afwan aku tidak bisa menjalankan amanah dengan sempurna.
18. To My Second Home in Kost METI, JL. Kalimantan VIII/17 (0331)333957, Tina, Novi, Qiqi, Ami Santi, Ida, Dewi, Ayu, Triana, Ismi and all penghuninya (makasih dah jadi tempatku bersandar kala penat menyapa) , juga mantan2 penghuninya. Mbak Vivin dan Mbak Dwi, thanks atas semua pembelajarannya.
19. Bapak Soetikno dan ibu yang telah memberikanku tempat bernaung

20. Teman2 setiaku yang jauh, Iin Sastra, Aan UWM, Iir Ekonomi, Imut UNAIR, Ida UM, Dhani "Thewol" UNIBRAW, dan Nur UNESA serta Riana (sobat lamaku)...terimakasih telah membuatku menjadi lebih berarti
21. Kepada seseorang yang suatu hari nanti akan menggantikan tanggungjawab lelaki pilihan pertamaku.

Sebagai manusia yang tak pernah luput dari ketidaksempurnaan maka perbaiki berupa kritik dan saran atas karya ini sangat penulis harapkan. Akhirnya karya sederhana ini semoga dapat menambah wawasan serta bermanfaat bagi semua pihak.

Penulis

Jember, Mei 2004

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
DOSEN PEMBIMBING .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
MOTTO.....	iv
PERSEMBAHAN.....	vi
KATA PENGANTAR .....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xv
RINGKASAN.....	xvi
<b>I. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Masalah Penelitian .....	4
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Tanaman Koro Kratok.....	5
2.2 Protein .....	8
2.3 Isolat Protein .....	12
2.4 Sifat Fisik dan Kimia Protein .....	12
2.4.1 Sifat Fisik .....	12
2.4.2 Sifat Kimia .....	13
2.4.2.1 Kadar Protein.....	13
2.4.2.2 Kadar Air.....	13
2.4.2.3 Kadar Abu .....	14

2.4.2.4 Kadar Gula Total .....	14
2.4.2.5 Kadar Pati .....	14
2.4.2.6 Kadar Lemak .....	15
2.5 Sifat Fungsional Protein .....	15
2.5.1 Kelarutan Protein .....	16
2.5.2 Daya Buih .....	17
2.5.3 Oil Holding Capacity .....	17
2.5.2 Water Holding Capacity .....	18
2.5.5 Emulsifikasi .....	18
2.5.6 Pembentukan Gel .....	18

### III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat Penelitian .....	20
3.1.1 Bahan Penelitian .....	20
3.1.2 Alat Penelitian .....	20
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian .....	20
3.2.1 Tempat Penelitian .....	20
3.2.2 Waktu Penelitian .....	21
3.3 Metode Penelitian .....	21
3.3.1 Rancangan Penelitian .....	21
3.4 Pelaksanaan Penelitian .....	21
3.4.1 Penentuan pH Isoelektrik .....	21
3.4.2 Preparasi Isolat Protein .....	22
3.5 Prosedur Pengamatan .....	24
3.5.1 Sifat Fisik .....	24
3.5.1.1 Warna .....	24
3.5.1.2 Rendemen .....	24
3.5.2 Sifat Kimia .....	25
3.5.2.1 Kadar Protein .....	25
3.5.2.2 Kadar Air .....	25
3.5.2.3 Kadar Abu .....	25

3.5.2.4 Kadar Gula Total .....	26
3.5.2.5 Kadar Pati .....	26
3.5.2.6 Kadar Lemak .....	27
3.5.3 Sifat Fungsional .....	27
3.5.3.1 Kelarutan Protein dalam Berbagai pH .....	27
3.5.3.2 Daya Buih .....	27
3.5.3.3 Oil Holding Capacity (OHC) .....	28
3.5.3.4 Water Holding Capacity (WHC) .....	28
3.5.3.5 Daya Emulsi dan Stabilitas Emulsi .....	28

## **IV. PEMBAHASAN**

4.1 Penentuan Titik Isoelektrik .....	30
4.2 Sifat Fisik .....	31
4.2.1 Rendemen .....	31
4.2.2 Warna .....	32
4.3 Komposisi Kimia Proksimat .....	33
4.4 Sifat Fungsional .....	34
4.5.1 Kelarutan Protein pada Berbagai pH .....	34
4.5.2 Daya Buih .....	36
4.5.3 Oil Holding Capacity (OHC) .....	37
4.5.4 Water Holding Capacity (WHC) .....	38
4.5.5 Daya Emulsi .....	39

## **V. KESIMPULAN DAN SARAN**

5.1 Kesimpulan .....	42
5.2 Saran .....	42

## **DAFTAR PUSTAKA**

## **LAMPIRAN**

**DAFTAR TABEL**

Tabel	Nama Tabel	Halaman
1.	Perbandingan Kandungan Kimia Koro-koroan dan Kedelai.....	2
2.	Sifat fungsional protein dalam berbagai sistem / produk makanan .....	16
3.	Komponen warna IPKKr.....	32
4.	Komposisi kimia proksimat IPKKr.....	33
5.	Daya dan Stabilitas Buih pada IPKKr.....	36
6.	Oil Holding Capacity dari IPKKr.....	38
7.	Water Holding Capacity dari IPKKr.....	39

**DAFTAR GAMBAR**

Gambar	Nama Gambar	Halaman
1.	Tanaman koro kratok .....	6
2.	Bunga koro kratok .....	6
3.	Koro kratok varietas manik .....	7
4.	Struktur Protein .....	8
5.	Struktur protein primer .....	9
6.	Prosedur pembuatan isolat protein koro komak .....	23
7.	Hubungan antara pH dengan konsentrasi protein pada penentuan pH isoelektrik .....	31
8.	Hubungan antara pH dan % kelarutan protein padan IPKKr .....	35
9.	EAI pada IPKKr .....	40
10.	Grafik kurva standar analisa protein .....	47
11.	Grafik kurva standar analisa pati .....	48

**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran	Nama Lampiran	Halaman
1.	Kurva Standar Lowry dengan Hidrolisa .....	47
2.	Kurva Standar Gula reduksi Metode Nelson Somogy .....	48
3.	Data penentuan pH Isoelektrik .....	49
4.	Rata-rata Rendemen IPKKr .....	49
5.	Komponen Warna IPKK .....	49
6.	Penentuan Kadar Protein.....	50
7.	Rata-rata Kadar Air IPKKr.....	50
8.	Rata-rata Kadar Abu IPKKr .....	50
9.	Rata-rata Kadar Pati IPKKr.....	51
10.	Rata-rata Kadar Lemak IPKKr.....	51
11.	Kelarutan IPKKr dalam Berbagai pH.....	51
12.	Rata-rata Daya Buih dan Stabilitas Buih IPKKr .....	52
13.	Rata-rata Oil Holding Capacity (OHC) IPKKr.....	52
14.	Rata-rata Water Holding Capacity (WHC) IPKKr.....	52
15.	Rata-rata Emulsifying Activity Indeks (EAI) IPKKr .....	53

Safita Meridian (001710101060), Karakterisasi Sifat Fisikokimia Dan Fungsional Isolat Protein Koro Kratok (*Phaseolus lunatus* L.), Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember, Dosen Pembimbing: Ir.A. Subagio, M.Agr PhD (DPU) dan Yuli Witono, S.Tp. MP (DPA).

## RINGKASAN

Koro kratok (*Phaseolus lunatus* L) merupakan salah satu jenis koro-koroan yang dapat digunakan sebagai sumber bahan pangan berprotein. Dimana dalam setiap 100 gram bagian biji kering yang dapat dimakan berisi : 14,4 – 26,4 gr protein, 1,5 gr lemak dan 58 gr karbohidrat. Pengembangan produk koro kratok lebih diarahkan pada pembuatan *Isolat Protein*. Isolat protein koro kratok ini diharapkan memiliki potensi sebagai bahan tambahan atau *food ingredient*. Agar isolat protein koro kratok dapat dimanfaatkan secara optimal, maka perlu diketahui karakterisasi sifat fisik, kimia, dan fungsional dari isolat protein koro kratok.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sifat fisik dan sifat kimia serta sifat fungsional isolat protein koro kratok. Dari penelitian ini nantinya diharapkan dapat meningkatkan nilai guna dan nilai ekonomis dari koro kratok sebagai sumber pangan berprotein. Selain itu juga untuk memberikan informasi metode ekstraksi dari isolat protein koro kratok dengan menggunakan alkali dan memberikan informasi sifat fisik, kimia dan fungsional dari isolat protein koro kratok sehingga dapat diterapkan dalam produk olahan secara tepat

Penelitian dilakukan dalam dua tahap, yaitu tahap pertama adalah penentuan pH isoelektrik protein koro kratok. Pada tahap ini protein koro kratok diekstrak dengan NaOH 0,01N, kemudian dilihat kelarutannya pada berbagai pH. pH isoelektrik didapat pada konsentrasi terendah, yang artinya sifat kelarutan proteinnya rendah. pH isoelektrik yang diperoleh adalah 4,5.

Tahap kedua yaitu tahap pembuatan dan analisa isolat protein koro kratok. Analisa yang dilakukan yaitu sifat fisik, sifat kimia dan sifat fungsional. Hasil dari penelitian ini yaitu IPKkr hasil ekstraksi dan isolasi menggunakan alkali diperoleh rendemen 6,433 gram dalam setiap 100 gram biji kratok. IPKkr mempunyai warna putih kekuningan dengan komponen warna berupa tingkat kecerahan (L) 89,76; warna a\* 2,62; warna b\* 4,18; intensitas warna (c\*) 4,93; sudut warna (H) 57,96<sup>0</sup>, dan derajat keputihan (W) 88,83. Kandungan kimia dari IPKkr adalah kadar protein 91,1%, kadar air 8,801%, kadar abu 1,895%, kadar pati 1,011%, dan kadar lemak 3,042%. Sedangkan untuk kadar gula total tidak teridentifikasi (nd). Analisa tersebut atas dasar berat basah. Sifat fungsional yang meliputi prosentase kelarutan protein yang berbeda-beda pada berbagai pH, daya buih 690 ml/g dan stabilitas buih 615 ml/gr, WHC 225,77%, OHC 114,6%, dan daya emulsi 3,54 m<sup>2</sup>/g.

Kata kunci : Koro kratok (*Phaseolus lunatus* L), isolat protein, sifat fisikokimia, sifat fungsional



## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Salah satu kebutuhan dasar manusia yang penting adalah pangan. Dimana masalah pangan bersifat harus segera dipenuhi karena berhubungan linier dengan laju pertumbuhan penduduk. Semakin tinggi populasi penduduk maka tuntutan akan adanya peningkatan kesejahteraan masyarakat akan semakin tinggi pula. Sehingga diperlukan suatu alternatif pangan yang relatif bisa terjangkau oleh masyarakat tanpa mengurangi nilai gizinya. Salah satu alternatif tersebut yaitu pengadaan bahan pangan sumber protein.

Protein merupakan salah satu komponen gizi terpenting yang harus dipenuhi terutama untuk masa-masa pertumbuhan. Pemenuhan kebutuhan tersebut dapat dipenuhi dari dua sumber yaitu protein hewani dan protein nabati. Dalam pola pangan penduduk Indonesia protein nabati masih memegang peranan penting untuk pemenuhan gizi. Diperkirakan bahwa lebih dari 80% protein yang dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia berasal dari protein nabati (Widowati dan Darmadjati, 2001).

Selain bahan makanan berprotein yang sudah lama dikenal, seperti kedelai, perlu kiranya digali sumber baru makanan berprotein yang belum banyak dimasyarakatkan (Suhardi, 1989). Koro-koroan (*non-oilseed legumes*) merupakan salah satu sumber protein yang cukup bagus yang belum dimanfaatkan dengan baik. Umumnya kacang koro-koroan mengandung protein antara 18% sampai dengan 25% dari biji (Somaatmadja dan Maesen, 1993). Menurut Friedman (1996), koro-koroan merupakan sumber protein fungsional yang bagus, mempunyai komposisi asam amino yang seimbang, ketersediaannya cukup besar dan mempunyai kandungan anti nutrisi yang rendah.

Koro kratok merupakan salah satu jenis koro-koroan yang dapat digunakan sebagai sumber bahan pangan berprotein. Dimana dalam setiap 100 gram bagian biji kering yang dapat dimakan berisi : 14,4 – 26,4 gr protein, 1,5 gr lemak dan 58 gr karbohidrat dengan kandungan energi rata-rata 1450 KJ (Somaatmadja dan

Maesen, 1993). Dibeberapa daerah di Indonesia koro kratok digunakan sebagai campuran dari nasi beras.

Berikut perbandingan kandungan kimia koro kratok dengan koro lainnya dan kedelai :

**Tabel 1.** perbandingan kandungan kimia koro-koroan dan kedelai :

Legume	Karbohidrat	Protein	lemak	Kadar air	Kadar abu
Komak <sup>a)</sup>	67,9 ± 4,2	17,1 ± 1,5	1,1 ± 0,4	9,3 ± 0,5	3,6 ± 0,1
Kratok <sup>b)</sup>	64,0 ± 5,2	14,8 ± 1,4	2,2 ± 0,6	9,0 ± 1,0	2,9 ± 0,1
Pedang <sup>b)</sup>	70,2 ± 4,2	21,7 ± 2,1	4,0 ± 0,3	8,4 ± 0,1	2,9 ± 0,1
Kedelai <sup>c)</sup>	34,8	34,9	18,1	-	4,9

a) Rusdianto (2004)

b) Subagio (2003)

c) Koswara (1995)

Pengembangan produk koro kratok lebih diarahkan pada pembuatan isolat protein. Isolat protein merupakan produk hasil isolasi protein kacang-kacangan dengan batasan minimal 90% (Subagio, dkk, 2000). Isolat protein koro kratok ini diharapkan memiliki potensi sebagai bahan tambahan atau *food ingredient*. Menurut Clemente, *et.al* (1999), bahwa protein koro-koroan berpotensi sebagai bahan tambahan seperti emulsifier, flavor enhancer, texturizer, stabilizer atau sebagai bahan pangan yang bergizi. Supaya isolat koro kratok ini dapat dimanfaatkan secara optimal, maka perlu diketahui karakterisasi sifat fisik, kimia, dan fungsional dari isolat protein koro kratok

Sifat fungsional merupakan sifat selain nutrisi yang akan mempengaruhi fungsi komponen dalam bahan pangan, dimana akan berpengaruh terhadap karakteristik suatu produk. Sifat ini menentukan pemakaian atau fungsi produk tersebut dalam berbagai produk makanan. Sifat fungsional merupakan sifat fisik dan kimia yang memungkinkan suatu bahan menyumbang karakteristik yang diinginkan dalam makanan (Sugiyanto dan Manulang, 2001) Dari sifat fungsional ini diharapkan dapat diketahui pengaruh isolat protein koro kratok terhadap karakteristik suatu produk pangan, sehingga dapat menambah khasanah bahan pangan dengan sumber protein tinggi.

## 1.2 Perumusan Masalah

Isolat protein koro kratok dapat diperoleh dengan cara ekstraksi dan isolasi yang tepat hingga didapat hasil yang optimal yang dapat dimanfaatkan dalam suatu sistem pangan. Isolat protein ini dapat berpengaruh terhadap mutu produk bila dilihat dari sifat fisikokimia dan fungsionalnya. Sifat fungsional protein adalah sifat-sifat yang menentukan perilaku protein dalam makanan selama pengolahan, penyimpanan dan penyajiannya yang mempengaruhi mutu makanan dan penerimaannya oleh konsumen. Sifat fungsional dapat mempengaruhi fungsi komponen dalam bahan pangan, dimana akan berpengaruh terhadap karakteristik suatu produk.

Sifat fisikokimia isolat protein koro kratok dianalisa secara proksimat, meliputi kadar protein, kadar air, kadar abu, kadar gula total, kadar pati dan kadar lemak. Sedang sifat fungsional isolat protein koro kratok meliputi daya kelarutan dalam berbagai pH, daya dan stabilitas buih., OHC dan WHC serta daya dan stabilitas emulsi. Daya kelarutan dalam berbagai pH berpengaruh terhadap sifat protein dan sifat fungsional yang lain. Daya dan stabilitas buih akan berpengaruh terhadap pengembangan volume. OHC akan mempengaruhi sifat tekstural dan retensi flavor. WHC berpengaruh terhadap *baking loss* dari cake. Daya dan stabilitas emulsi akan berpengaruh terhadap sifat adonan. Melihat pentingnya pengaruh dari sifat fungsional tersebut, maka penting untuk mengetahui sifat fungsional dari isolat protein koro kratok sebelum diaplikasikan pada produk olahan.

Selain itu juga perlu mengetahui sifat fisik yang berupa warna dan rendemen dari isolat protein koro kratok. Warna merupakan kenampakan terluar dari suatu produk yang merupakan penilaian awal kesukaan konsumen. Sedangkan rendemen dimaksudkan agar dapat dinilai keefektifan pembuatan isolat protein yang akhirnya akan berpengaruh terhadap nilai guna isolat protein koro kratok.

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sifat fisikokimia dari isolat protein koro kratok yang berupa sifat fisik dan sifat kimia. Selain itu juga untuk mengetahui sifat fungsional dari isolat protein koro kratok.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut :

1. Meningkatkan nilai guna dan nilai ekonomis dari koro kratok sebagai sumber pangan berprotein
2. Memberikan informasi metode ekstraksi dari isolat protein koro kratok dengan menggunakan alkali
3. Memberikan informasi sifat fisik, kimia dan fungsional dari isolat protein koro kratok sehingga dapat diterapkan dalam produk olahan secara tepat

## II. TINJAUAN PUSTAKA



### 2.1 Tanaman Koro Kratok (*Phaseolus Lunatus* L)

Koro kratok berasal dari daerah Neotropik, dengan sekurang-kurangnya dua pusat domestikasinya : Amerika Tengah (Meksiko dan Guatemala) untuk yang berbiji kecil-kecil, dan Amerika Selatan (terutama Peru) untuk yang berbiji besar-besar. Kini koro kratok dibudidayakan di seluruh daerah panas di dunia. Tanaman kratok dikenal juga di beberapa negara dengan nama daerah antar lain *Lima Bean*, *Butter Bean*, *Madagaskar Bean* (Inggris), *Kacang Cina*, *Kacang Jawa*, *Kekara Kratok* (Malaysia), *Burma Bean* (Myanmar) (Somaatmadja dan Maesen, 1993).

Nama umum yang mengidentifikasi jenis berbiji kecil adalah kara kratok, sieva, dan kadang kacang laut. Nama kacang keju dan kacang Madagaskar digunakan untuk kara kratok berbiji besar. 'Fordhook' adalah nama yang dikenal dengan baik untuk kara berbiji besar, grup 'kara kentang' (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998)

Di Indonesia jenis tanaman ini sejak lama sudah dikenal sebagai tanaman budidaya, tumbuh baik didaerah pegunungan antara 300-1300 m diatas permukaan air laut. Umumnya ditanam didaerah kering dan ditanam di pekarangan atau di ladang terutama di Jawa Tengah, Jawa Timur dan Nusa Tenggara (Sastrapradja, dkk, 1981).

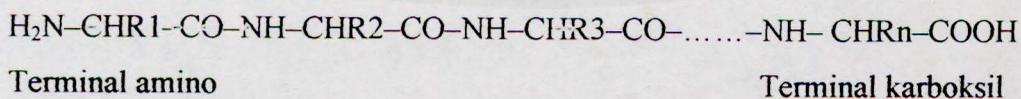
Koro Kratok di tanam di bedeng dengan tongkat penopang sulur-sulur (Anonim, 1990). Kultivar merambat dapat mencapai panjang 3-4 m, sedangkan bentuk semak lebih pendek, sekitar 50 - 90 cm. Tanaman ini memiliki sistem perakaran sangat bercabang, yang tumbuh dalam kedalaman sedang, sering lebih dari 1 m. Akar dapat membentuk bintil yang mengandung *Rhizobium* (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998). Gambar 1 menunjukkan gambar tanaman koro kratok.

Setiap 100 gr bagian biji kering yang dapat dimakan berisi : 13,2 g air, 14,4 - 26,4 g protein, 1,5 g lemak, 5,8 g karbohidrat, 3,7 g serat dan 3,4 g abu. Kandungan energi rata-rata 1450 kJ per 100 g. Asam amino pembatas utamanya berupa metionina dan sistina (setara dengan N total 1,1 - 1,2 g per 16 g). Kandungan proteinnya untuk setiap 100 g bagian yang dapat dimakan adalah : polong muda 1,3 g, biji muda 8,4 g dan daun segar 0,6 g. Faktor-faktor anti metaboliknya mencakup penghambat protease, lektin, dan glikosida sianogenik (linamarin). Berat biji bervariasi antara 30 dan 200 g per 100 butir (Rubatzky, dan Yamaguchi, 1998).

## 2.2 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 lebih kompleks dibanding Karbohidrat dan Lemak. Protein adalah sumber asam amino yang mengandung unsur-unsur C, H, O dan N yang tidak dimiliki oleh lemak dan karbohidrat (Winarno, 1991). Beberapa protein mengandung sulfur, beberapa mengandung fosfor dan lainnya seperti hemoglobin mengandung elemen lain (Sackheim and Schultz, 1977)

Protein merupakan polimer tak bercabang. Selama polimerisasi, gugus  $\alpha$  amino bereaksi dengan gugus  $\alpha$  karboksil dari asam amino lainnya membentuk ikatan amida yang dikenal sebagai ikatan peptida. Karena alasan ini protein dinamakan polipeptida (Colby, 1996).



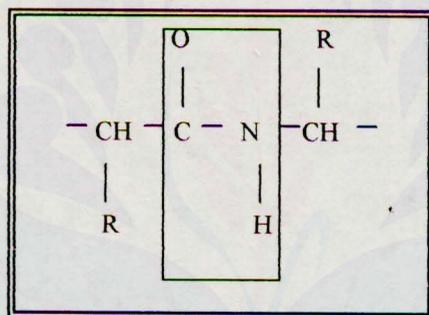
**Gambar 4.** Struktur protein .

Protein dalam tanaman dibentuk dari unsur kimia anorganik sederhana. Beberapa protein tersebut seharusnya dimakan sebagai protein nabati dan hewani yang telah dibentuk sebelumnya. Protein dalam susunan pangan pada waktu dicernakan dirombak menjadi asam amino (Suhardjo, dkk, 1986).

Protein mempunyai 4 tingkat struktur : primer, sekunder, tersier dan kuaterner :

### 1. Struktur primer

Struktur primer dari suatu protein ialah urutan-urutan asam amino yang membentuknya (Schumm, 1993). Protein adalah urutan linier asam amino dari terminal N sampai terminal C (Colby, 1996). Asam-asam amino dalam protein terikat satu sama lain dengan ikatan peptida



**Gambar 5.** Struktur protein primer

Ikatan peptida mempunyai sifat yang sebagian mirip dengan ikatan rangkap antara C dan N (Schumm, 1993).

### 2. Struktur Sekunder

Struktur sekunder terdiri atas gambaran lipatan lokal dalam suatu bagian rantai polipeptida. Struktur sekunder terutama distabilkan oleh ikatan H yang terdapat antara gugus NH dan CO dari rantai peptida (Colby, 1996).

Struktur sekunder ditentukan oleh struktur primer. Struktur sekunder mempunyai tingkat energi yang terendah untuk suatu urutan tertentu dari asam-asam amino dalam lingkungan tertentu. Ada banyak kemungkinan untuk struktur sekunder, akan tetapi dua diantaranya sangat sering dijumpai yaitu heliks  $\alpha$  dan lembaran  $\beta$  atau lembaran bergelombang.

### 3. Struktur Tersier

Struktur tersier adalah konfigurasi yang ditampilkan protein dalam ruang. Seperti struktur sekunder, struktur tersier pertama-tama juga ditentukan oleh urutan asam amino. Interaksi ion antara gugus-gugus R yang bermuatan, interaksi hidrofobik dan ikatan disulfida semuanya penting untuk memantapkan struktur tersier (Schumm, 1993)

Struktur tersier adalah pelipatan secara keseluruhan suatu rantai polipeptida. Bila protein melipat dalam konformasi alaminya, residu asam amino yang satu sama lain letaknya jauh pada struktur primer adalah *jukstaposisi*. Dalam struktur tersier daerah-daerah struktur  $\alpha$  dan  $\beta$  dihubungkan oleh bagian lipatan ireguler dari rantai polipeptida (Colby, 1996).

### 4. Struktur Kuartener

Struktur kuartener adalah penataan suatu rantai protein dengan rantai protein yang lain dan dengan koenzim yang tidak terikat secara kovalen. Rantai protein secara individu dapat berikatan dengan rantai protein yang lain (identik atau berbeda) sebagai subunit dari struktur yang lebih besar (Schumm, 1993).

Menurut Colby (1996), struktur kuartener adalah susunan polipeptida bersama-sama dalam kompleks rantai multipel (multichain). Kompleks polipeptida ini saling diikat oleh ikatan yang sama yang menentukan lipatan masing-masing polipeptida. Permukaan, dimana dua polipeptida saling mengadakan interaksi satu sama lain adalah sesuai, menunjukkan bentuk, muatan dan polaritas komplementer.

Protein merupakan molekul besar yang tersusun asam amino baik yang mempunyai gugus R polar maupun non polar, sehingga mengakibatkan protein dapat membentuk larutan koloid.

Protein berdasarkan fungsinya dapat digolongkan menjadi 2 macam, yaitu protein fungsional, yaitu yang bersifat sebagai enzim dan golongan protein yang hanya disimpan yaitu protein cadangan (Dwidjoseputro, 1985).

Protein dapat bersifat amfoter, yaitu dapat bereaksi dengan asam dan basa. Protein bersifat amfoter karena asam-asam amino penyusunnya mengandung gugus  $-\text{COOH}$  yang bersifat asam dan gugus  $-\text{NH}_2$  yang bersifat basa. Jika

protein diletakkan dalam larutan yang bersifat asam, maka protein akan mendapatkan ion positif dari asam, sehingga protein akan bermuatan positif (+). Jika protein diletakkan pada larutan yang bersifat basa, maka protein akan bermuatan negatif (-). Karena adanya ion  $\text{OH}^-$  dari basa dan ion  $\text{H}^+$  dari asam, maka protein pada pH tertentu akan bersifat netral yang artinya selisih muatan positif dan muatan negatif adalah nol. Posisi dimana protein tidak mempunyai muatan dikenal dengan istilah Titik Isoelektrik. Protein pada pH isoelektrik akan mempunyai sifat antara lain kelarutan minimum, viscositas minimum dan juga tekanan osmotiknya (Sackheim and Schultz, 1977)

Protein mengalami salting-out pada saat protein dalam air ditambahkan alkohol, maka molekul air yang terserap oleh molekul protein terlepas dan tertarik oleh pelarut polar serta partikel protein keluar dari jerapan molekul air yang akhirnya akan menampakkan protein yang tidak larut. Protein akan larut kembali bila pelarut polar ditambahkan terus, atau protein mengalami salting-in.

Denaturasi protein adalah proses kehilangan sifat biologis suatu protein, sedangkan koagulasi atau penggumpalan yang merupakan efek selanjutnya dari denaturasi. Hal-hal yang dapat mengakibatkan denaturasi adalah suhu, pH, dan larutan elektrolit.

Protein disusun oleh asam amino yang dihubungkan satu dengan lainnya oleh ikatan peptida. Disamping ikatan peptida ada beberapa macam ikatan lainnya yang memperkuat struktur protein yaitu ikatan disulfida, ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, dan ikatan elektrostatik.

Protein dapat mengalami kerusakan oleh pengaruh –pengaruh panas, reaksi kimia dengan asam dan basa, guncangan dan sebab-sebab lainnya. Perubahan-perubahan tersebut dikenal dengan terjadinya penggumpalan atau pengerutan. Larutan protein dapat membentuk selaput yang kemudian membuih jika dikocok, tetapi jika pengocokan berlebihan maka hal ini dapat menyebabkan protein terdenaturasi sehingga selaput pecah dan buih mengempis. Disamping denaturasi, protein dapat mengalami degradasi yaitu pemecahan molekul kompleks menjadi molekul yang lebih sederhana oleh pengaruh asam, basa atau enzim (Winarno, 1991).

### 2.3 Isolat Protein

Isolat protein merupakan produk hasil isolasi protein kacang-kacangan dengan batasan harus mengandung minimal 90% protein (Rhee, 1994). Secara garis besar pembuatan isolat protein koro kratok sama halnya dengan pembuatan isolat protein kedelai. Menurut Utomo dan Andarlina (1998) pembuatan isolat protein diawali dengan ekstraksi pada pH 7,5. Kemudian membuang endapan yang tidak larut dengan cara pemusingan dan penyaringan (Winarno, 1993). Setelah diperoleh larutan protein maka proses selanjutnya adalah pengendapan dengan cara pengaturan pH pelarut menggunakan asam asetat mendekati pH 4,5 (Winarno, 1985). Proses selanjutnya adalah pencucian dan terakhir adalah pengeringan (Utami, 2004).

Pemanfaatan isolat protein diarahkan sebagai bahan campuran atau formulasi dalam makanan (Koswara, 1995). Berdasarkan sifatnya, isolat protein sangat baik untuk memperkaya protein makanan, sebagai pengikat dan pengemulsi produk daging (Utomo, 1999).

### 2.4 Sifat Fisik dan Kimia Protein

#### 2.4.1 Sifat fisik

Karakteristik fisik bahan dapat mencakup aspek yang sangat luas (Syarief, dan Anies, 1988). Namun dalam sifat fisik isolat protein koro kratok ini hanya dibatasi pada rendemen dan warna isolat. Dalam menilai mutu fisik biji-bijian dan hasil olahannya, warna dan penampakan sering digunakan sebagai parameter. Kelainan dari warna - warna tersebut menjadi indeks untuk tak disukai (Syarief, dan Anies, 1988). Menurut Desrosier (1988), warna merupakan kenampakan terluar dari suatu produk yang dipengaruhi oleh cahaya, pigmen dan kemampuan mata untuk mendeteksi warna tersebut.

## 2.4.2 Sifat Kimia

Karakteristik kimia yang biasanya dijabarkan pada daftar analisa bahan makanan dan kandungan gizi serta kandungan senyawa khusus yang terdapat pada bahan makanan tersebut. Dalam hal ini perlu diketahui bahwa angka analisa kimiawi yang tercantum pada suatu daftar bahan makanan tidak dapat dianggap sebagai angka yang mutlak. Angka tersebut merupakan angka antarbata sesuai dengan jenis bahan (Syarif dan Anies, 1988). Sifat kimia tersebut meliputi :

### 2.4.2.1 Kadar Protein

Protein merupakan polimer yang tersusun dari asam amino dan juga kadang-kadang mengadakan konjugasi dengan senyawa lain seperti gula atau lipida. Protein merupakan makronutrien yang berperan lebih banyak untuk membentuk biomolekul. Protein tersusun atas unsur seperti C, H, O, N, P, S, Fe dan Cu.

Pada penetapan kadar protein pada suatu bahan dapat dilakukan dengan berbagai cara atau metode analisis. Antara lain yaitu cara Folin-Ciocalteu (metode Lowry) (Anonim, 2002).

Metode Lowry mempunyai keuntungan karena 100 kali lebih sensitif dari metode biuret. Reaksi antara  $\text{Cu}^{2+}$  dengan ikatan peptida dan reduksi asam fosfomolibdat dan fosfotungstat oleh tirosin dan triptofan (merupakan residu protein) akan menghasilkan warna biru.

Senyawa fenolik juga dapat membentuk warna biru dengan metode lowry ini sehingga dapat mengganggu hasil penetapan. Gangguan ini dapat dihilangkan dengan cara mengendapkan protein dengan TCA (Apriyantono, 1988).

### 2.4.2.2 Kadar Air

Kadar air suatu bahan biasanya dinyatakan dalam persentase berat terhadap bahan basah (Syarif dan Anies 1988). Pada umumnya penentuan kadar air dilakukan dengan mengeringkan bahan dalam oven pada suhu  $105 - 110^{\circ}\text{C}$  selama tiga jam atau sampai didapat berat yang konstan (Winarno, 1991).

Prinsip penentuan kadar air dengan cara pengeringan (Thermogravimetri) ini yaitu menguapkan air yang ada dalam bahan dengan jalan pemanasan. kemudian menimbang bahan sampai berat konstan yang berarti semua air sudah diuapkan (Sudarmadji, 1996).

### 2.4.2.3 Kadar Abu

Abu merupakan hasil pembakaran dari suatu bahan organik yang merupakan zat-zat anorganik. Pengabuan akan mengakibatkan hilangnya bahan-bahan organik dan anorganik, sehingga terjadi perubahan radikal organik dan segera terbentuk elemen logam dalam bentuk oksida atau berenyawa dengan ion-ion negatif.

Didalam proses pengabuan ada dua cara yang dapat dilakukan, yaitu dengan cara langsung atau cara kering dan cara tidak langsung atau cara basah. Cara langsung dengan mengoksidasikan semua zat-zat organik pada suhu tinggi, yaitu sekitar 500 -600°C dan kemudian mengadakan penimbangan setelah proses tersebut selesai. Sedangkan cara tidak langsung dengan menambahkan senyawa tertentu pada bahan yang diabukan, seperti gliserol alkohol, asam sulfat atau asam nitrat (Anonim. 2002).

### 2.4.2.4 Kadar Gula Total

Karbohidrat banyak terdapat dalam bahan nabati, baik berupa gula sederhana, heksosa, pentosa maupun karbohidrat dengan berat molekul yang tinggi seperti pektin, pati, selulosa dan lignin.

Penetapan kadar gula reduksi, monosakarida mempunyai kemampuan untuk mereduksi suatu senyawa. Apabila monosakarida mengalami polimerisasi, maka sifat mereduksi berkurang atau hilang. Metode oksidasi dengan kupri berdasarkan pada peristiwa tereduksinya kuprioksida menjadi kuprooksida karena adanya gula reduksi (Anonim, 2002).

### 2.4.2.5 Kadar Pati

Jumlah karbohidrat sering dinyatakan dalam jumlah monomer penyusunnya. Bahkan untuk senyawa polimer yang homogen seperti pati yang terdiri dari monomer glukosa saja, masih memerlukan kurva standar yang menunjukkan hubungan antara jumlah pati murni dengan indikatornya (misalnya

gula reduksi) (Sudarmadji, 1996). Penetapan pati dapat dilakukan dengan menghidrolisa pati dengan asam ataupun enzim. Perhitungan jumlah pati didapat dari perkalian antara gula reduksi dengan faktor konversi kadar pati yaitu 0,9.

#### 2.4.2.6 Kadar Lemak

Pada penetapan kadar lipida (lemak atau minyak) dengan pelarut, selain lemak juga terikut fosfolipida, sterol, asam lemak bebas, karotenoid dari pigmen lainnya. Karena itu hasil analisisnya disebut lemak kasar. Lemak atau minyak dari bahan kering dapat dikerjakan secara terputus-putus. Ekstraksi ini dijalankan dengan alat soxhlet (metode soxhlet).

Pada metode soxhlet sejumlah sampel kering dimasukkan dalam thimbel yang terbuat dari kertas saring, sampel tersebut diekstraksi dengan pelarut tertentu (petroleum eter, petroleum benzen dan lain-lain), Ekstraksi dilakukan selama 4 - 6 jam. Kemudian ekstrak dituang ke dalam botol timbang untuk diuapkan pelarutnya sampai diperoleh berat konstan di dalam oven yang bersuhu 100°C, residunya merupakan berat lemak (Anonim, 2002)

### 2.5 Sifat Fungsional Protein

Sifat fungsional protein merupakan sifat dasar dari protein didalam sistem pangan selama proses pengolahan, penyimpanan dan penyajian (Rhee, 1994). Menurut Sugiyanto dan Manulang (2001) bahwa protein mempunyai sifat fungsional yang merupakan sifat selain sifat nutrisi dimana akan mempengaruhi fungsi komponen dalam bahan pangan. Adapun sifat fungsional tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.

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). Sifat fungsional protein berperan dalam 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 didalam air (Doyle, 1989).

**Tabel 2.** 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 imobilisasi, formasi jaringan	Daging, gel, cake, bakery, keju	Protein otot/ urat, protein telur, protein susu
Kohesi/ adesi	Hidropobik, ikatan H, ikatan ionik	Daging, saos, pasta, bakery, makanan panggang	Protein otot/ urat, protein telur, protein whey
Elastisitas	Hidrofobik, ikatan disulfida	Daging, bakery	Protein otot/ urat
Emulsifikasi	Penyerapan pada formasi film interfase	Saos, sup, cake, Bologna	Protein otot/ urat, protein telur, protein susu
Buih	Penyerapan interfisial, formasi film	Whipped topping, es krim, cake,	Protein telur, protein susu
Pengikatan lemak dan flavor	Hidrofobik	Daging, buatan, bakery	Protein telur, protein susu

Sumber: Kinsella et al, (1985)

### 2.5.1 Kelarutan Protein

Kelarutan protein menunjukkan jumlah protein dalam sampel yang dapat larut dalam pelarut dan dipengaruhi oleh pH (Zayas, 1997). pH berpengaruh secara umum sesuai dengan tabiatnya terhadap asam dan basa (Page, 1985). Pada kondisi pH tertentu protein akan mengalami perubahan struktur dan kelarutannya menjadi menurun. pH ini disebut pH isoelektrik (Winarno, 1991). pH isoelektrik merupakan pH dimana asam amino penyusun protein berada dalam kondisi netral, yaitu jumlah muatan negatif dan positif sama (Page, 1985).

Menurut Matthews (1989), daya larut protein diukur dari nilai atau prosentase protein yang tertinggal dalam suspensi setelah disentrifugasi. Besarnya nilai tergantung dari metode preparasi slurry dan kondisi sentrifugasi. Metode yang biasanya digunakan yaitu suspensi diaduk menggunakan stirer mekanik, sehingga dapat mengakibatkan kondisi yang berbeda dengan cara sentrifugasi. Peningkatan kecepatan sentrifugasi akan menurunkan protein terlarut.

Ada 4 faktor yang mempengaruhi kelarutan protein yaitu pH, kekuatan ion, pemanasan dan kondisi pemrosesan. Pada kondisi pemrosesan seperti pH dari ekstraksi, presipitasi, dan netralisasi untuk pengeringan akan juga mempengaruhi kelarutan protein (Zayas, 1997).

### 2.5.2 Daya Buih

Daya buih dari suatu protein terdiri dari 2 aspek yaitu kemampuan protein untuk membentuk dan menghasilkan buih dalam jumlah tertentu (daya buih) serta kemampuan protein untuk mempertahankan buih tersebut dalam waktu tertentu (stabilitas buih) (Damodaran, 1997)

Menurut Sugijanto dan Manulang (2001), kemampuan protein dalam pembentukan buih dikarenakan mempunyai karakteristik yang khas pada lapisan batas antara 2 fase (udara dan air) sehingga mempunyai daya seperti surfaktan, yaitu kapasitas 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 baik

### 2.5.3 Daya Serap Lemak (Oil Holding Capacity)

Protein yang tidak larut bersifat hidrofobik mempunyai kapasitas pengikatan minyak yang besar dan berpengaruh terhadap sifat tekstural. Penyerapan minyak oleh protein dipengaruhi oleh sumber protein, kondisi pemrosesan, ukuran partikel dan suhu (Zayas, 1997)

Menurut Koswara (1995), kemampuan protein dalam menyerap lemak ini penting digunakan untuk 2 tujuan. Pertama untuk meningkatkan penyerapan lemak pada daging giling. Kedua untuk mencegah penyerapan lemak yang berlebihan, misalnya pada penggorengan donat dan *pancakes*. Hal ini karena protein dapat terdenaturasi oleh panas membentuk adonan semacam lapisan (*coating*) pada permukaan bahan sehingga akan menghalangi penetrasi lemak kedalam bahan.

#### 2.5.4 Daya Serap Air (Water Holding Capacity)

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

#### 2.5.5 Emulsifikasi

Emulsi merupakan suatu sistem yang secara termodinamik tidak stabil, terdiri dari dua larutan yang tidak bercampur (*immiscible*). Fase yang terdispersi disebut fase internal atau fase terdispersi, sedang fase yang lain disebut fase eksternal atau fase kontinyu (Fardiaz dkk, 1992). Daya emulsi adalah kemampuan protein untuk membentuk emulsi dan mempertahankan stabilitas emulsi tersebut. Sifat ini dipengaruhi oleh kadar protein dan tingkat kelarutannya, dimana erat hubungannya dengan *Nitrogen Solubility Index* (NSI) (Koswara, 1995). Stabilitas emulsi penting karena *emulsifier* tergantung pada kemampuannya memelihara sistem emulsi pada saat mengalami pemasakan atau pemanasan (Sugijanto dan Manulang, 2001).

#### 2.5.6 Pembentukan Gel

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 (Sugijanto dan Manulang, 2001).

Menurut Aurand and Woods (1973), mekanisme pembentukan gel protein terjadi melalui jaringan tiga dimensi yang merupakan unit fraksi gel yang dibentuk oleh ikatan hidrogen, pengelompokan gugus hidrofobik, interaksi ionik,

dan ikatan disulfida dari polipeptida yang tidak berlipat. Sedangkan daya yang berperan dalam pembentukan jaringan tiga dimensi adalah ikatan non kovalen yang berupa ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik dan elektrostatis.

Pemekaran atau pengembangan molekul protein yang terdenaturasi akan membuka gugus reaktif yang ada pada rantai polipeptida. Selanjutnya akan terjadi pengikatan kembali pada gugus reaktif yang sama atau yang berdekatan. Bila unit ikatan yang terbentuk cukup banyak sehingga protein tidak lagi terdispersi sebagai suatu koloid, maka protein tersebut mengalami koagulasi. Apabila ikatan-ikatan antara gugus-gugus reaktif protein tersebut menahan seluruh cairan, akan terbentuklah gel (Winarno, 1991).

Menurut Suhardi (1988), oleh karena pemanasan maka protein akan mengalami denaturasi dan protein yang terdenaturasi akan mengalami perubahan struktur dari bentuk berlipatan, sehingga meningkatkan jumlah gugus non polar atau gugus hidrofobik yang terekspos. Kemampuan pembentukan gel sebagai matrik penahan air, lipid, gula flavor dan bahan lain sangat penting dalam pembentukan produk sosis dan tahu.



## BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Bahan dan Alat Penelitian

#### 3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah koro kratok (*Phaseolus lunatus*, L) varietas manik yang diperoleh dari Desa Kacangpring, Kecamatan Sukorambi, Kabupaten Jember, Jawa Timur. Sedangkan bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini sebagian besar berasal dari Jerman dengan merk Merck yang meliputi NaOH 0,1 M, NaOH 2 N, NaOH 45%, HCl 1 N, HCl 0,1 N, HCl 6,7%, HCl 20%, HCl 25%, HCl 0,5 N, Reagen Mix ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{CuSO}_4$ , Na-K tartrat), Reagen folin, etanol, buffer fosfat 0,05 M pH 7 buffer fosfat 0,1 M pH 7, SDS (Sodium dodesil sulfat) 0,1%, minyak bimoli, indikator Phenoptalein 1%, Reagen Nelson, aquadest, arsenomolibdat, eter, alkohol 10%, Pb asetat,  $\text{CaCO}_3$  dan TCA 10%.

#### 3.1.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: centrifuge Yenaco model YC-1180T dan tabungnya, Freeze Dryer Snijder Scientific Tipe 2040 (Belanda), magnetic stirer SM 24 Stuart Scientific, vortex maxi-mix tipe 16700 mixer, sentrifuge kecil merk Kurabo, refrigerated centrifuge merk Selecta, penangas air merk Cimerec 2, timbangan analitis merk Ohaus, pH meter merk Jenway, mikrometer, color reader, water bath, alat-alat dari gelas dengan merk Duran dan Pyrex dan alat-alat yang terkait.

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

#### 3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pengendalian Mutu Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

### 3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan 2 tahap yaitu:

1. Penentuan pH isoelektrik protein koro kratok pada bulan Oktober 2003
2. Preparasi dan analisa isolat protein koro kratok pada bulan November 2003 sampai Maret 2004.

### 3.3 Metode Penelitian

#### 3.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menentukan terlebih dahulu titik isoelektrik dan membuat sampel isolat protein dari koro kratok. Kemudian sampel yang didapatkan akan dianalisa sifat fisik, sifat kimia dan sifat fungsionalnya. Adapun hasil pengamatan yang diperoleh akan dianalisa secara deskriptif (Suryabrata, 1989). Data yang didapat akan diolah secara deskriptif dengan cara penyusunan data ke dalam daftar, penggambaran grafik, analisa dan interpretasi data (Pasaribu, 1981).

### 3.4 Pelaksanaan Penelitian

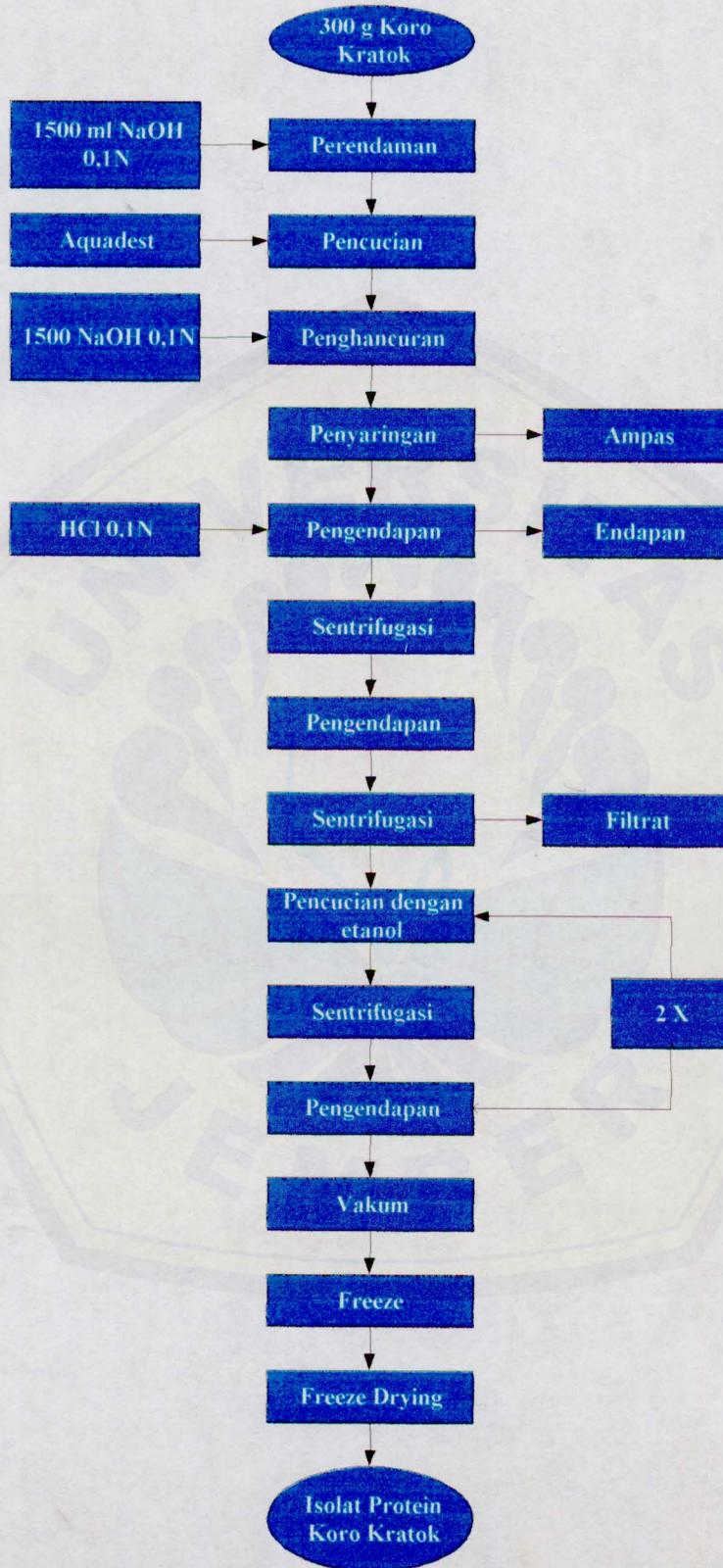
#### 3.4.1 Penentuan pH isoelektrik

Penelitian dimulai dengan menentukan pH isoelektrik sebagai langkah awal untuk mengetahui pH pengendapan larutan protein. Cara pertama yaitu mensortir biji koro kratok dari segi ada tidaknya cacat (serangga, lubang) dan warna yang seragam. Kemudian biji koro kratok sebanyak 100 gram direndam dalam larutan 500 ml NaOH 0,1 N selama 24 jam, kemudian koro kratok dicuci dengan aquadest sampai bersih. Selanjutnya Koro kratok ditambah lagi dengan NaOH 0,01 N dan kemudian diblender serta disaring untuk mendapatkan filtratnya. Filtrat dibagi menjadi 13 tabung dan diatur pH nya dengan menambahkan HCl 1 N yang kemudian akan ditentukan konsentrasi protein dalam filtrat dengan metode lowry. Selanjutnya dibuat kurva pH isoelektrik antara pH dengan konsentrasi. Titik isoelektrik didapat dari konsentrasi protein yang terendah. Sehingga pH yang didapat merupakan pH isoelektrik yang digunakan sebagai pH presipitasi yang berperan dalam pembuatan isolat protein koro kratok.

### 3.4.2 Preparasi Isolat Protein

Preparasi isolat protein ini merupakan kelanjutan dari penentuan pH isoelektrik. Ekstraksi biji koro kratok sebanyak 300 gram direndam dalam larutan 1500 ml NaOH 0,1N selama 24 jam, kemudian koro kratok dicuci dengan aquadest sampai warna air jernih, dan ditambah dengan NaOH 0,01 N untuk kemudian diblender dan disaring untuk mendapatkan filtratnya. Selanjutnya filtrat dilakukan presipitasi dengan HCl 1 N pada pH isoelektrik dan dipisahkan dengan sentrifugasi. Isolat yang didapatkan dicuci dengan etanol untuk menghilangkan gula. Selain itu alkohol juga berfungsi untuk mengekstrak komponen yang larut di dalam isolat seperti mineral, pigmen, dan komponen kecil lainnya. Untuk menghilangkan bau etanol, maka endapan yang didapat di vakum. Hasil yang keluar dari vakum ini diharapkan sudah mempunyai bau khas isolat. Kemudian isolat dibekukan dalam freeze untuk kemudian dikeringkan dengan freeze drying, agar sifat fungsional protein yang dikehendaki tidak rusak. Cara terakhir dari pembuatan isolat ini adalah penepungan agar isolat protein mempunyai luas permukaan yang besar sehingga memudahkan analisa selanjutnya.

Isolat protein yang diperoleh selanjutnya dianalisa sifat kimia meliputi kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, kadar gula total, dan kadar pati.. Adapun analisa sifat fungsionalnya meliputi kelarutan dalam berbagai pH, Daya buih, Oil Holding Capacity (OHC), Water Holding Capacity (WHC) dan daya emulsi. Sedangkan sifat fisik berupa warna dengan color reader dan rendemen. Prosedur pembuatan isolat protein koro kratok seperti terlihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Prosedur Pembuatan Isolat Koro Kratok

### 3.5 Prosedur Pengamatan

#### 3.5.1 Sifat Fisik

##### 3.5.1.1 Warna

Warna diamati dengan menggunakan Color reader pada 5 titik yang berbeda dari sampel isolat protein koro kratok, dimana sebelumnya telah dikalibrasi dengan Barium Nitrit yang mempunyai nilai derajat keputihan  $W=100$ ,  $L=100$ ,  $a^*=0$ ,  $b^*=0$ . Untuk perhitungannya menggunakan rumus:

$$W = 100 - ((100 - L)^2 + ((a^*)^2 + (b^*)^2))^{0.5}$$

$$C = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$$

$$H = \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*}$$

$$L = 100 + dL$$

Dimana

W : Derajat keputihan

C : Intensitas warna

H : Sudut warna ( $0^0$  = merah,  $90^0$  = kuning,  $180^0$  = ungu,  $270^0$  = biru)

L : Nilai berkisar antara 0 sampai 100 yang menunjukkan warna hitam sampai putih

$a^*$  : Nilai berkisar antara -80 sampai 100 yang menunjukkan warna hijau sampai merah

$b^*$  : Nilai berkisar antara -80 sampai +70 yang menunjukkan warna biru sampai kuning

##### 3.5.1.2 Rendemen

Rendemen dihitung berdasarkan perbandingan berat dengan rumus:

$$R = \frac{P}{B} \times 100\%$$

dimana: R : rendemen isolat protein koro kratok (%)

P : berat isolat protein koro kratok (g)

B : berat koro kratok (g)

### 3.5.2 Sifat Kimia

#### 3.5.2.1 Kadar Protein (Apriyantono, 1988)

Penetapan kadar protein dengan metode lowry ini dihilangkan senyawa fenoliknya, yaitu dengan penambahan larutan TCA 10%. Sampel sebanyak 0,01 g dilarutkan dalam 3 ml buffer phosphat 0,05 M pH 7. Kemudian ditambah TCA 10% sebanyak 1ml dan disentrifuse selama 10 menit pada speed 4. Selanjutnya endapan yang diperoleh ditambah dengan NaOH 2N sebanyak 250  $\mu$ l dan dipanaskan selama 10 menit. Setelah dingin, ambil 100  $\mu$ l larutan tersebut dan ditambah 2,5 ml mix lowry. Biarkan selama 10 menit. Selanjutnya ditambah folin 1N 250  $\mu$ l, divortex dan biarkan selama 30 menit. Tera dengan aquadest hingga volume mencapai 5 ml. Kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 750 nm. Penetapan kadar protein dihitung dengan kurva standar lowry.

#### 3.5.2.2 Kadar Air (Sudarmadji, 1997)

Pengukuran kadar air dilakukan dengan menggunakan metode oven. Menimbang botol timbang yang telah dikeringkan dalam oven selama 15 menit dan didinginkan dalam eksikator (a gram). Menimbang 2 gram sampel dalam botol timbang (b gram). Kemudian dimasukkan dalam oven selama 4 - 6 jam. Lalu botol timbang dipindahkan kedalam eksikator dan ditimbang sampai berat yang konstan (c gram). Selanjutnya dilakukan perhitungan kadar air dengan rumus:

$$\text{Kadar air} = \frac{b - c}{b - a} \times 100\%$$

#### 3.5.2.3 Kadar Abu (Sudarmadji, 1997)

Pengukuran kadar abu dilakukan dengan menggunakan pembakaran pada muffle. Krus porselin dikeringkan dalam oven selama 15 menit. Dinginkan dalam eksikator dan timbang (a gram). Menimbang 2 gram sampel yang sudah dihaluskan dan dihomogenkan dalam krus tersebut, lalu timbang (b gram). Kemudian dipijarkan dalam muffle (suhu mencapai 400°C - 600°C) sampai diperoleh abu berwarna putih keabu-abuan. Pendinginan dilakukan dengan

membiarkan krus dan abu tinggal di muffle selama 1 hari. Kemudian dipindahkan ke dalam eksikator selama 15 menit dan timbang (*c* gram). Selanjutnya dilakukan perhitungan kadar abu dengan rumus:

$$\text{Kadar abu} = \frac{c - a}{b - a} \times 100\%$$

#### 3.5.2.4 Kadar Gula Total (Sudarmadji, 1997)

Untuk hidrolisa digunakan sampel bebas Pb sebanyak 20 ml dalam elenmeyer yang ditambah 10 ml HCl 6,7%. Kemudian diinversikan pada water bath selama 10 menit pada suhu 60°C dimana 3 menit awal shaker dihidupkan dan 7 menit kemudian shaker dimatikan. Kemudian sampel didinginkan hingga suhu 20°C dan selanjutnya ditambahkan 2 tetes indikator Phenoptalin 1%. Setelah itu NaOH 20 ditambahkan sedikit demi sedikit sampai timbul warna merah. Selanjutnya ditambahkan HCl 0,5N sampai warna merah hilang dan dilakukan pengenceran 250 ml sampai tanda batas.

Analisa kadar gula total kemudian diukur dengan cara yang sama untuk mengukur kadar gula reduksi yaitu 0,5 ml sampel ditambah 1 ml reagen Nelson, dan dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit. Setelah dingin, ditambah 1 ml arsenomolibdat dan divortex sampai semua larut. Kemudian ditambahkan 7,5 aquadest dan diter. Kemudian diukur absorbansi pada panjang gelombang 540 nm. Absorban yang diperoleh diplotkan pada kurva standar gula reduksi.

#### 3.5.2.5 Kadar Pati (Sudarmadji, 1997)

Menimbang sampel sebanyak 3 gram dan ditambah 50 ml aquadest. Stirer selama 1 jam. Suspensi disaring dengan penyaring vakum dan dicuci dengan 250 ml aquadest, 5 ml eter sebanyak dua kali, dan 150 ml alkohol 10%. Residu dipindahkan secara kuantitatif dari kertas saring kedalam erlenmeyer dengan pencucian 200 ml aquades dan tambahkan 20 ml HCL ± 25%. Kemudian tutup dengan pendingin balik selama 2,5 jam. Setelah dingin, netralkan dengan larutan NaOH 45%. Tambahkan Pb Asetat dan jika ada endapan disaring. Kemudian lakukan pengenceran sampai tanda batas (250 ml). Analisa selanjutnya adalah

mengukur kadar gula reduksi, dimana kadar gula reduksi dikalikan 0,9 merupakan kadar pati.

### 3.5.2.6 Kadar Lemak (Sudarmadji, 1997)

Pengukuran kadar lemak dilakukan dengan menggunakan metode soxhlet. Kertas saring dengan ukuran tertentu di oven selama 1 jam dan didinginkan dalam eksikator selama 15 menit, lalu ditimbang. Menimbang 2 gram sampel dan masukkan ke kertas lalu diikat dan timbang. Oven selama 1 hari dan timbang (b gram). Kemudian meletakkannya dalam tabung reaksi soxhlet dan pasang alat kondensor di atasnya serta labu lemak dibawahnya. Dituangkan pelarut petroleum benzena kedalam labu lemak secukupnya sesuai dengan ukuran soxhlet. Lakukan reflux selama 4 - 6 jam sampai pelarut yang turun ke labu lemak berwarna jernih. Lalu oven kertas dan sampel pada suhu 100°C selama 24 jam. Dinginkan dalam eksikator selama 30 menit dan ditimbang (c gram). Ulangi beberapa kali hingga berat konstan. Selanjutnya dilakukan perhitungan kadar lemak dengan rumus:

$$\text{Kadar lemak} = \frac{c - b}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

### 3.5.3 Sifat Fungsional

#### 3.5.3.1 Kelarutan protein dalam berbagai pH (Subagio, dkk., 2003)

Menimbang sampel sebanyak 5 gram dan ditambah 100 ml NaOH 0,1N. Stirer selama 2 jam pada suhu ruang dan larutan dibagi menjadi 13 tabung masing-masing 7.5 ml dan diatur pH nya dengan penambahan HCl 1N. Vortex tiap 0,5 menit. Kemudian disentrifuge selama 30 menit pada kecepatan 3000 rpm. Bagian supernatan dianalisa proteinnya dengan metode Lowry.

#### 3.5.3.2 Daya Buih (Subagio, dkk., 2003)

Pengukuran daya buih dengan menimbang 0,5 gram sampel dan ditambahkan 100 ml buffer fosfat 0,1M pH 7, lalu dimasukkan ke dalam gelas ukur 250 ml. Volume (ml) awal larutan dicatat. Kemudian stirer selama 10 menit. Pembentukan buih dengan pemberian gelembung-gelembung gas yang dihasilkan

oleh aerator selama 1 menit (masih di stirer) dan volume buihnya dicatat. Aerator dan stirer dihentikan selama 2 menit, lalu catat volume penurunan buih dicatat.

Selanjutnya dilakukan perhitungan:

$$\text{daya buih} = (\text{volume setelah aerasi} - \text{volume awal}) : \text{berat sampel}$$

$$\text{stabilitas buih} = (\text{volume penurunan buih} - \text{volume awal}) : \text{berat sampel}$$

### 3.5.3.3 Oil Holding Capacity (OHC) (Subagio, dkk., 2003)

Tabung sentrifuge yang kosong dan kering ditimbang (a gram). Pengukuran OHC adalah dengan menimbang 0,5 gram sampel (b gram) dan menambahkan minyak sebanyak 7X berat sampel, lalu masukkan ke tabung. Vortex hingga menyatu dan sentrifuge selama 5 menit pada kecepatan 2000 rpm. Supernatannya dituang dan endapan ditimbang (c gram). Selanjutnya dilakukan perhitungan Oil Holding Capacity (OHC) dengan rumus:

$$\% \text{ OHC} = \frac{(c - a) - b}{b} \times 100\%$$

### 3.5.3.4 Water Holding Capacity (WHC) (Subagio, dkk., 2003)

Tabung sentrifuge yang kosong dan kering ditimbang (a gram). Pengukuran WHC adalah dengan menimbang 0,5 gram sampel (b gram) dan menambahkan aquadest sebanyak 7X berat sampel, lalu masukkan ke tabung. Vortex hingga menyatu dan disentrifuge selama 5 menit pada kecepatan 2000 rpm. Supernatannya dituang dan endapan ditimbang (c gram). Selanjutnya dilakukan perhitungan Water Holding Capacity (WHC) dengan rumus:

$$\% \text{ WHC} = \frac{(c - a) - b}{b} \times 100\%$$

### 3.5.3.5 Daya Emulsi dan Stabilitas Emulsi (Parkington, dkk., 2000)

Menimbang sampel sebanyak 0,1 gram dan tambahkan 100 ml buffer phosphat 0,05M pH 7. Stirer selama 15 menit. Kemudian tambahkan 25 ml minyak goreng dan blender selama 3 menit. Untuk pengukuran daya emulsi, setelah diblender langsung diambil 1 ml. Sedangkan pengukuran stabilitas emulsi

dilakukan pengambilan 1 ml setelah 10 menit kemudian. Masing-masing ditambahkan 5 ml SDS 0,1% dan vortex. Kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 500 nm. Selanjutnya dilakukan perhitungan daya emulsi dan stabilitas emulsi dengan rumus:

$$EAI = \frac{2 \times 2,303}{c \times (1 - \phi) \times 10^4} \times \text{abs} \times \text{dilution}$$

Keterangan: c = Konsentrasi protein (g/ ml)  
 $\phi$  = Fraksi volume minyak (ml/ml) dari emulsi  
abs = Absorbansi  
Dilution = Fraksi larutan (SDS + emulsi)



#### IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

##### 4.1 Penentuan Titik Isoelektrik

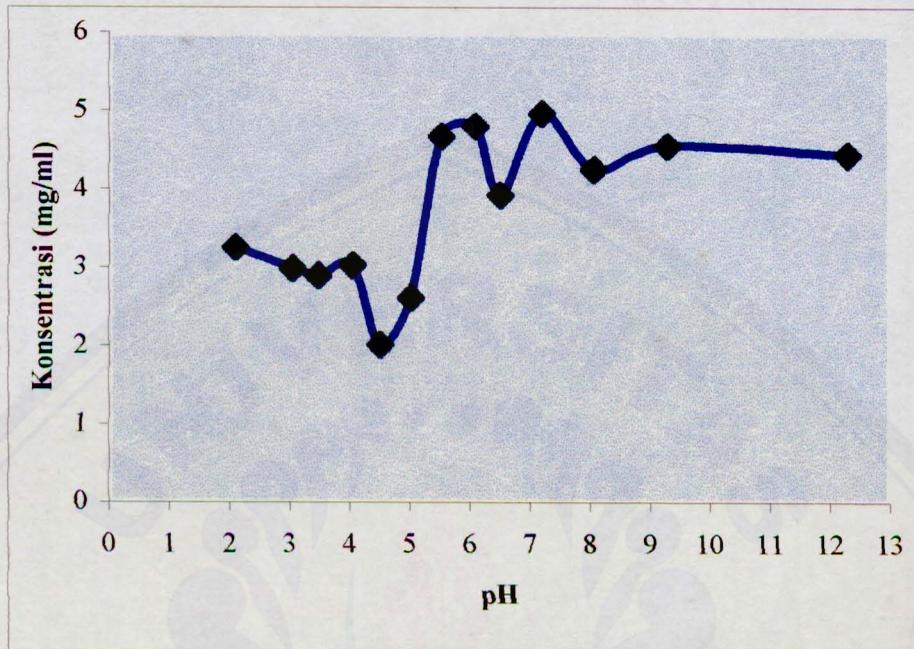
Titik isoelektrik merupakan jumlah yang secara eksperimen dapat ditentukan, tergantung pada sifat garam dan ion-ion lain dalam larutan. Titik isoelektrik ini didefinisikan sebagai harga pH suatu larutan asam amino, yang asam amino (protein) tidak bergerak dalam medan listrik (Page, 1985).

pH isoelektrik merupakan pH larutan yang mengakibatkan protein tidak dapat bergerak pada medan listrik. Pada pH isoelektrik (pH<sub>I</sub>) protein berada dalam keadaan zwitter ion yaitu tidak memiliki muatan bersih dan cenderung membentuk ion dipolar ( $^+NH_3$  — CHR —  $COO^-$ ) 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)

Biji koro kratok yang telah difraksinasi proteinnya terbukti mengandung lebih banyak fraksi globulin 7s daripada fraksi globulin 11s. Perbedaan struktur dari globulin 7s dan 11s akan mempengaruhi terhadap sifat fungsional dari protein yang bersangkutan (Suhardi, 1989). Fraksi globulin 7s didapatkan dengan pengendapan pada pH isoelektrik 4,8 dan fraksi globulin 11s diendapkan pada pH 6,4. Dengan adanya pengendapan pada pH isoelektrik, maka protein tidak mempunyai muatan listrik baik ke kutub positif maupun negatif (Anonim, 2000).

Isolat Protein Koro Kratok (IPKKr) ini diekstraksi dengan menggunakan NaOH. Hal ini dikarenakan NaOH yang bersifat basa dapat melunakkan dan merusak dinding sel sehingga isi sel dapat keluar. Kondisi basa juga menyebabkan disintegrasi pada protein sehingga mudah larut. Prosentase globulin 7s yang lebih banyak daripada globulin 11s akan menyebabkan kelarutan protein koro kratok lebih tinggi pada kondisi basa. Hal ini sesuai dengan pernyataan Zayas (1997) bahwa perbedaan sifat kelarutan dari keadaan yang sama dihasilkan dari protein 7s dan 11s, tapi protein 7s lebih larut dan kondisi basa dibanding protein 11s.

Protein koro kratok setelah diekstraksi dengan NaOH 0,01 N, kemudian dilihat kelarutannya dalam berbagai pH. Kelarutan masing-masing pH dapat dilihat pada **Gambar 7**.



**Gambar 7.** Hubungan antara pH dengan konsentrasi protein pada penentuan pH isoelektrik

Dari **Gambar 7** menunjukkan bahwa pada pH isoelektrik IPKKr adalah 4,5. Pada pH tersebut konsentrasi terendah yang dicapai yaitu sekitar 2 mg/ml. Hal ini dikarenakan pada kondisi pH isoelektrik ada sebagian protein yang tidak dapat diendapkan (whey). Dengan kata lain protein tidak melarut dengan sempurna. Adanya penurunan kelarutan lain dalam gambar tersebut yaitu pada pH sekitar 6,8 diperkirakan pada pH tersebut merupakan pH isoelektrik dari globulin 11s.

## 4.2 Sifat Fisik

### 4.2.1 Rendemen

Dari pembuatan isolat protein koro kratok (IPKKr) didapatkan rendemen sebesar 6,433% per 100 gram biji koro kratok. Dengan kadar protein yang sebesar 99,89%, maka didapat total protein yang terekstrak sebanyak 43,42%. Kandungan

protein pada biji koro kratok sebesar 14,8% (Subagio, 2003). Bila dilihat antara kandungan protein pada biji koro dengan protein yang telah terekstrak menunjukkan bahwa protein yang terekstrak masih sangat kecil. Dapat diperkirakan penyebabnya karena protein tidak terekstrak secara sempurna. Hal ini dimungkinkan karena penghancuran sel yang kurang optimal pada saat pemblenderan. Selain itu, juga dapat disebabkan kandungan whey yang tinggi, sehingga pada kondisi pH isoelektrik, protein tidak terekstrak sempurna.

#### 4.2.2 Warna

Warna merupakan kenampakan terluar dari suatu produk, sehingga warna dan penampakan sering digunakan sebagai parameter pengamatan pertama kali. Menurut Matthews (1989), sifat fisik warna merupakan sifat yang berasal dari senyawa non protein yang berinteraksi dengan protein.

Analisa terhadap warna dari IPKKr ini meliputi tingkat kecerahan (L), warna ( $a^*$  dan  $b^*$ ), intensitas warna (c), sudut warna (H) dan derajat putih (W), seperti ditunjukkan pada **Tabel 3**.

**Tabel 3.** Komponen warna IPKKr

Komponen Warna	Nilai
L	$89,76 \pm 0,427785$
$a^*$	$2,62 \pm 0,216795$
$b^*$	$4,18 \pm 0,164317$
$c^*$	$4,9344 \pm 0,239672$
H	$57,9612 \pm 1,504526$
W	$88,6278 \pm 0,314242$

Derajat putih digunakan sebagai parameter suatu objek cenderung mendekati warna putih, dimana akan berpengaruh terhadap tingkat penerimaan konsumen. Warna yang diharapkan adalah putih bersih. Semakin putih maka semakin tinggi kualitas dari isolat protein koro kratok (IPKKr).

Dari **Tabel 3** dapat dilihat pembacaan color reader memberikan nilai  $a^* = 2,62$  dan  $b^* = 4,18$ . Hal ini menunjukkan bahwa warna IPKKr mengarah pada

perpaduan warna merah dan kuning, dimana warna kuning lebih mendominasi. IPKKr mempunyai derajat putih hampir mendekati putih; tingkat kecerahan yang tinggi; intensitas warna yang rendah; dan sudut warna yang cenderung mengarah pada kuning. Derajat putih dan tingkat kecerahan erat hubungannya dengan intensitas warna dari IPKKr. Semakin tinggi derajat putih dan tingkat kecerahan, maka semakin rendah intensitas warnanya. Sudut warna yang mengarah ke kuning ini mempunyai intensitas warna yang agak besar, sehingga warna lebih cenderung mendekati kuning. Dari hubungan  $W$ ,  $c^*$ , dan  $H$ , dapat dikatakan bahwa IPKKr mempunyai warna yang tidak putih sempurna tapi putih kekuningan. Walaupun demikian tingkat kecerahan dari IPKKr adalah tergolong tinggi, artinya IPKKr mempunyai warna cerah.

#### 4.3 Komposisi Kimia Proksimat

Hasil analisa kandungan kimia IPKKr secara proksimat seperti terlihat pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Komposisi kimia proksimat IPKKr

Komposisi	BB (%)	BK (%)
Kadar Protein	91,1	99,89
Kadar Air	8,801 ± 0,485	-
Kadar Abu	1,895 ± 0,544	2,078
Kadar Pati	1,011 ± 0,302	1,109
Kadar Lemak	3,042 ± 0,702	3,336
Kadar Gula total	Tidak teridentifikasi	Tidak teridentifikasi

Dari Tabel 4 dapat dilihat bahwa IPKKr mempunyai kandungan protein terlarut yang sangat tinggi yaitu hampir 100%. Sehingga isolat protein koro kratok berpotensi sebagai sumber pangan berprotein dengan sifat fungsional tertentu. Kandungan lemak dari IPKKr ini tergolong rendah, dengan kadar air yang lebih rendah dari bagian biji kering. Sedang kadar abu mempunyai nilai tergolong tinggi dan hampir sama dengan kadar abu pada bagian biji kering. Hal ini disebabkan adanya garam yang terbentuk dari NaOH sebagai pelarut dengan HCl

untuk presipitasi pada pembuatan isolat protein yaitu garam NaCl. Komponen karbohidrat dalam analisa ini diwakili oleh kadar pati dan kadar gula total, dimana untuk kadar pati nilainya sangat rendah dan kadar gula tidak teridentifikasi, yang artinya isolat protein ini bebas dari gula. Diperkirakan hal ini disebabkan pada saat ekstraksi dan isolasi koro kratok, isolat dicuci dengan etanol yang berfungsi untuk menghilangkan gula, kotoran dan mencegah penggumpalan.

#### 4.4 Sifat Fungsional

Sifat-sifat fungsional protein adalah sifat-sifat yang menentukan perilaku protein dalam makanan selama pengolahan, penyimpanan dan penyajiannya yang mempengaruhi mutu makanan dan penerimaannya oleh konsumen (Fardiaz, dkk, 2000). Sifat fungsional dari protein legume seperti kelarutan, WHC, sifat emulsi, OHC dan daya buih dipengaruhi atas komponen penyusun protein itu sendiri (Rusdianto, 2004).

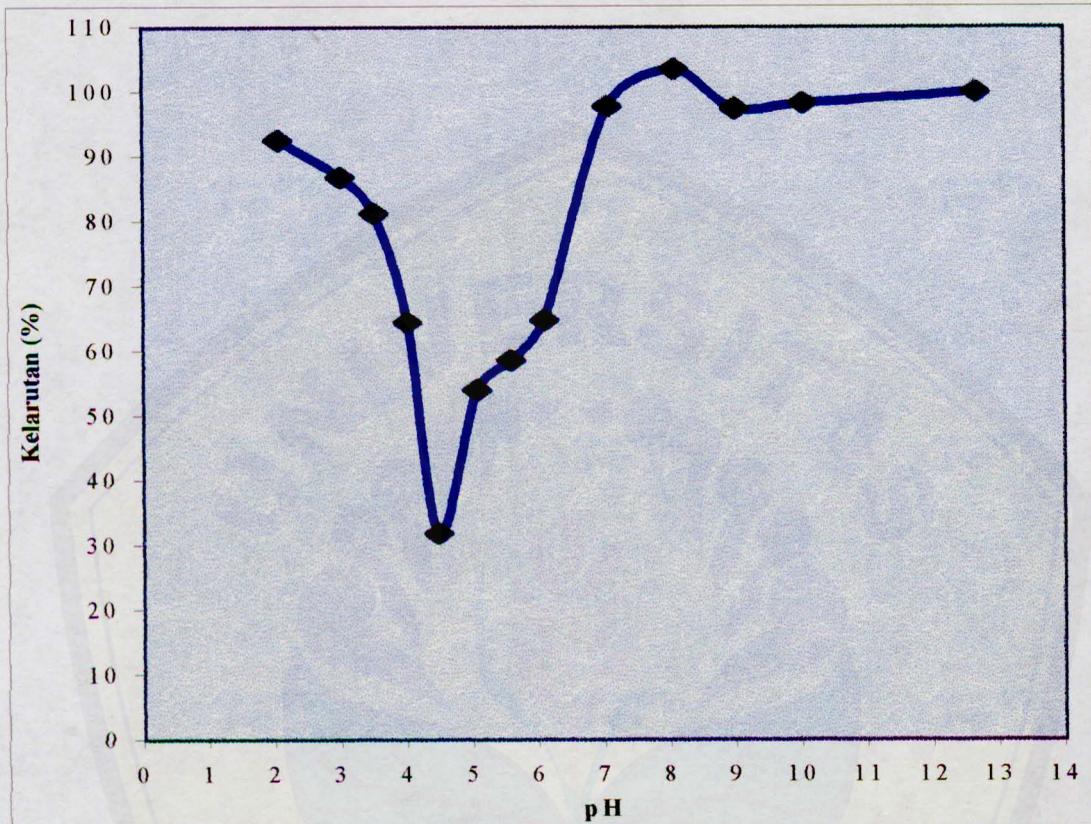
##### 4.4.1 Kelarutan Protein pada Berbagai pH

Sifat fungsional pertama dalam pengujian ingredien protein baru, biasanya berupa kelarutan protein pada berbagai pH, sebagai identifikasi protein terlarut yang terdapat dalam isolat protein.

Menurut Zayas (1997), kelarutan adalah sejumlah protein dalam sampel yang dapat larut dalam pelarut dan nilainya dipengaruhi oleh pH. Pengukuran kelarutan protein dinyatakan sebagai nilai atau prosentase protein yang tertinggal dalam suspensi setelah disentrifugasi (Matthew, 1989).

Kelarutan protein dalam isolat protein koro kratok pada berbagai pH dapat dilihat pada **Gambar 7**. Dari gambar tersebut menunjukkan prosentase kelarutan protein yang berbeda-beda pada berbagai pH. Kelarutan protein terendah berada dalam pada pH isoelektrik. Hal ini disebabkan protein tidak mempunyai muatan bersih ( $=0$ ), sehingga protein tidak dapat bergerak ke arah medan listrik baik ke kutub positif maupun negatif. Selain itu, interaksi protein-protein yang terjadi lebih sedikit pada pH isoelektrik (Hastuti dkk, 1999). Kelarutan protein dapat

ditingkatkan elektrostatis antar molekul lebih tinggi daripada interaksi hidrofobik (Zayas, 1997)



**Gambar 8.** Hubungan antara pH dan % kelarutan protein pada IPKCr

Kelarutan protein akan meningkat pada pH diatas atau dibawah pH isoelektrik, karena protein mengandung muatan positif atau negatif. Kelarutan protein pada pH diatas pH isoelektrik didominasi oleh gugus amino yang berperan sebagai gugus basa. Sedangkan kelarutan protein pada pH dibawah pH isoelektrik didominasi oleh gugus karboksil yang berperan sebagai gugus asam.

Besarnya fraksi globulin 7s daripada fraksi globulin 11s, akan berpengaruh terhadap kelarutan pada berbagai pH. Fraksi protein golulin 7 S berhubungan dengan interaksi hidrofobik antar sisi non polar protein (Utsumi and Kinsella, 1985). Peningkatan interaksi hidrofobik akan mengurangi kontak dengan molekul

air. Menurut Zayas (1997) bahwa ketidaklarutan protein akan meningkat dengan peningkatan hidrofobisitas.

Berdasarkan pada **Gambar 8** maka IPKKr dapat diaplikasikan pada produk seperti sosis, daging, mengingat prosentase kelarutan protein tinggi pada pH diatas 5.

#### 4.4.2 Daya Buih

Buih merupakan suatu bahan terdispersi yang mengandung cairan koloid (protein) sebagai media pendispersi dan udara atau gas sebagai media terdispersi. Menurut Damodaran (1997) bahwa daya buih dari suatu protein terdiri dari 2 aspek yaitu kemampuan protein untuk membentuk dan menghasilkan buih dalam jumlah tertentu (daya buih) serta kemampuan protein untuk mempertahankan buih tersebut dalam waktu tertentu (stabilitas buih).

Kemampuan protein dalam membentuk buih tersebut dipengaruhi oleh sifat fisikokimia dari protein dan tegangan permukaan molekul protein. Secara umum, kemampuan protein untuk membentuk buih tidak jauh berbeda dengan kemampuan untuk mengemulsi (Mulyono, 2004). Adapun hasil daya buih dari IPKKr ditunjukkan pada **Tabel 5** berikut:

**Tabel 5.** Daya dan Stabilitas Buih ada IPKKr

Kriteria	Nilai
Daya buih (ml/gr)	690 ± 20
Stabilitas buih (ml/gr)	615 ± 16,073
Penurunan buih (%)	5,435 ± 0,852

Dari **Tabel 5** diketahui bahwa daya buih dari IPKKr sangat tinggi. Hal ini dikarenakan IPKKr mengandung lebih banyak fraksi protein globulin 7 S dengan interaksi hidrofobik dan tidak mempunyai gugus sulfidril. Fraksi protein globulin 7 S dengan interaksi hidrofobik akan memperbaiki adsorpsi antar muka sehingga sifat pembuihan meningkat (Turgeon, 1992). Fraksi globulin 7s yang tinggi akan menyebabkan meningkatnya daya buih dari protein koro kratok. Hal ini disebabkan jumlah ikatan disulfidanya lebih sedikit dibandingkan pada protein

globulin 11s. Hal ini seperti yang diungkapkan Zayas (1997) bahwa ikatan disulfida akan menghambat pelipatan dan penurunan interaksi air dengan minyak. Ikatan disulfida yang sedikit pada globulin 7s akan menyebabkan daya buih yang dihasilkan tinggi.

Menurut Stainsby (1986) bahwa peningkatan gugus hidrofil menyebabkan penurunan sifat buih. Kemampuan IPKKr yang relatif besar dalam menghasilkan buih dipengaruhi oleh sifat tegangan permukaan dari protein (Anonim, 2001). Kemampuan protein secara cepat untuk menurunkan tegangan permukaan antara air dengan udara merupakan hal penting yang berkaitan dengan kapasitas buih yang dibentuk oleh isolat protein (Damodaran, 1997).

Tingkat kestabilan buih pada IPKKr relatif tinggi. Hal ini dikarenakan kemampuan untuk bergerak dari tegangan permukaan rendah ke tegangan permukaan tinggi pada IPKKr sangat besar. Menurut Damodran (1997), stabilitas buih juga berhubungan dengan kemampuan protein untuk menstabilkan buih melawan gaya gravitasi dan tekanan mekanik. Diduga fraksi protein penyusun juga akan mempengaruhi daya dan stabilitas buih.

Kemampuan pembentukan dan stabilitas buih dari IPKKr penting dalam produk bakery seperti roti yang selama pengembangan akan memerangkap sejumlah gelembung gas sehingga menghasilkan produk akhir yang baik (Zayas, 1997). Pada cake, penambahan isolat protein koro pedang akan membantu pembentukan buih selama pengocokan (Subagio dkk, 2003). Pembentukan buih juga dibutuhkan dalam pembuatan es krem, kembang gula, *whipped toppings*, dan *frozen desserts* (Giese, 1994).

#### **4.4.3 Oil Holding Capacity (OHC)**

OHC atau daya serap minyak merupakan kemampuan protein untuk menyerap atau mengikat dan menahan minyak. Kemampuan suatu protein untuk menyerap dan menahan minyak pada suatu sistem sangat dipengaruhi oleh keberadaan komponen non polar (hidrofobik) dari protein, luas permukaan, kandungan protein dan tingkat liquiditas dari minyak (Kinsella, 1985). Pengukuran nilai OHC ini dilakukan dengan menimbang secara tidak langsung

besarnya minyak yang dapat diserap dan ditahan oleh protein. Adapun besarnya OHC pada IPKKr seperti ditunjukkan pada **Tabel 6**.

**Tabel 6.** Oil Holding Capacity (OHC) dari IPKKr

Kriteria	Nilai
OHC (%)	122 ± 11,31

Dari **Tabel 6** menunjukkan besar OHC IPKKr adalah  $1,22 \pm 11,31$ g minyak per gram IPKKr atau sebesar 122%. Hal ini menunjukkan bahwa IPKKr mempunyai kemampuan menyerap dan menahan minyak yang besar. Hal ini diduga berhubungan dengan fraksi protein. Seperti telah dijelaskan sebelumnya bahwa fraksi protein 7 s lebih mendominasi daripada fraksi protein 11 s, sehingga pada IPKKr akan lebih besar terjadi interaksi hidrofobik. Menurut Zayas (1997) bahwa OHC akan meningkat dengan hidrofobisitas yang tinggi, dimana protein yang tidak larut dalam air bersifat hidrofobik akan mempunyai kapasitas pengikatan minyak yang besar. Dalam hal ini rantai non polar akan sangat berpengaruh terhadap kemampuan protein tersebut.

OHC merupakan salah satu sifat fungsional dari protein yang berpengaruh terhadap sifat tekstural dan kualitas makanan yang lain (Zayas, 1997). Interaksi lemak protein selama preparasi adonan dapat mengaktifkan pengembangan volume roti. Kemampuan untuk menyerap dan mengikat lemak yang tinggi sangat baik untuk diaplikasikan pada produk bakery karena dapat meningkatkan retensi terhadap flavor dan memperbaiki rasa di mulut (*mouthfeel*) (Kinsella, 1979). Diharapkan dengan penambahan isolat protein pada produk bakery akan meningkatkan kualitas produk akhir yang berkaitan dengan tekstural.

#### 4.4.4 Water Holding Capacity (WHC)

WHC atau daya serap air merupakan kemampuan isolat protein untuk menyerap air dan menahannya dalam suatu sistem pangan (Sugijanto dan Manulang, 2001). Adapun WHC IPKKr seperti ditunjukkan pada **Tabel 7**.

**Tabel 7.** Water Holding Capacity dari IPKKr

Kriteria	Nilai
WHC (%)	225,78 ± 32,24

Dari **Tabel 7** menunjukkan WHC IPKKr sebesar 225,78%. Kemampuan IPKKr yang relatif lebih besar untuk menyerap air daripada menyerap minyak ini diduga berhubungan dengan ikatan hidrogen oleh gugus polar (Koswara, 1995). Menurut Hulton dan Campbell (1981) bahwa interaksi antara protein dan air terutama terjadi pada sisi polar asam amino, hidroksil, amino, karboksil, karbonil, dan sulfidril. Sifat hidrofil sebagian protein dikarenakan oleh ikatan sejumlah besar gugus tersebut pada rantai peptida.

WHC berfungsi dalam proses pengembangan adonan roti dimana protein dapat menahan sejumlah air di dalam struktur menghasilkan adonan dengan kadar air sampai 60% (Zayas, 1997). WHC dari isolat protein koro pedang diduga akan mempengaruhi terhadap *baking loss* dari cake (Subagio dkk, 2003). Diduga IPKKr pun akan berpengaruh demikian. Menurut Koswara (1995) bahwa WHC isolat protein juga berperan dalam makanan panggang karena dapat meningkatkan rendemen adonan dan memudahkan penanganan serta sifat menahan air akan memperlama kesegaran makanan, misalnya pada biskuit dan roti.

#### 4.4.5 Daya Emulsi

Emulsi adalah suatu dispersi atau suspensi suatu cairan dalam cairan yang lain dimana molekul kedua cairan tersebut tidak saling berbaur, tapi saling antagonistik (Winarno, 1991). Menurut Fardiaz (2000), emulsi diartikan sebagai campuran dari dua cairan atau lebih yang tidak saling melarutkan, cairan yang satu terdispersi dalam bentuk globula-globula atau butir-butir kecil didalam cairan lainnya. Cairan yang terdispersi disebut fase tidak kontinyu sedangkan cairan yang mendispersi disebut fase kontinyu.

Karakteristik yang digunakan untuk menggambarkan sifat protein sebagai pengemulsi adalah aktifitas emulsi. Aktifitas emulsi dinyatakan sebagai area interfacial maksimal per 1 gram protein yang dapat distabilkan (Zayas, 1997).

Tingginya fraksi protein 7s akan meningkatkan kemampuan emulsi dari protein koro kratok. Sifat daya emulsi yang lebih baik dari fraksi globulin 7s dapat berhubungan dengan tingkat rasio difusi interfase dan dimungkinkan karena ikatan disulfida pada fraksi globulin 11s menghambat pelipatan dan menurunkan interaksi pada air dan minyak. Protein dengan kapasitas penyerapan air rendah akan membentuk emulsi dengan kestabilan rendah (Rusdianto, 2004).

Menurut Hui (1992) bahwa protein dengan daya emulsi sangat tinggi mungkin tidak akan memberikan stabilitas emulsi. Stabilitas emulsi penting karena emulsifier yang baik tergantung pada kemampuan isolat protein untuk memelihara sistem emulsi pada saat mengalami pemasakan atau pemanasan (Sugijanto dan Manulang, 2001).

Sifat fungsional protein berupa daya emulsi ini sangat penting pada produk pangan mulai dari produk saus, roti dengan pengembang baik dan *salad dressings* (Giese, 1994).



## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai sifat fisik, kimia, dan fungsional Isolat Protein Koro Kratok (IPKKr) dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. IPKKr hasil ekstraksi dan isolasi menggunakan alkali diperoleh rendemen 6,433 gram dalam setiap 100 gram biji kratok. IPKKr mempunyai warna putih kekuningan dengan komponen warna berupa tingkat kecerahan (L) sebesar 89,76; warna  $a^*$  sebesar 2,62; warna  $b^*$  sebesar 4,18; intensitas warna ( $c^*$ ) sebesar 4,93; sudut warna (H)  $57,96^{\circ}$ , dan derajat keputihan (W) sebesar 88,83
2. Kandungan kimia meliputi kadar protein sebesar 91,1% kadar air sebesar 8,801%, kadar abu sebesar 1,895%, kadar pati sebesar 1,011%, dan kadar lemak sebesar 3,042%. Sedangkan untuk kadar gula total tidak teridentifikasi (nd). Analisa tersebut atas dasar berat basah.
3. Sifat fungsional yang meliputi prosentase kelarutan protein yang berbeda-beda pada berbagai pH, daya buih sebesar 690 ml/g dengan stabilitas buih 615 ml/g, WHC 225,77%, OHC 114,6%, dan daya emulsi 3,54  $m^2/g$ .

### 5.2 Saran

1. Dengan melihat potensi IPKKr yang dilihat dari sifat fisikokimia dan sifat fungsional, maka perlu penelitian lebih lanjut mengenai kajian teknologi ekstraksi dan isolasi yang cepat dan mudah sehingga diperoleh hasil yang maksimal dengan biaya yang rendah.
2. Diperlukan penelitian tentang fraksinasi isolat protein koro kratok (IPKKr)
3. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai aplikasi dan pengaruh IPKKr pada beberapa produk seperti cake, daging, dan lain-lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1990. *Isaha Pekarangan*. Flores NTT: Nusa Indah.
- , 2000. *Buku Ajar Biokimia I*. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- , 2002. *Petunjuk Praktikum Analisa Hasil Pertanian*. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- , 2004. *Phaseolus lunatus*, L. <http://www.legume.gene.affrc.go.jp>. Diakses 11 Maret 2004.
- Apryantono, Anton, Fardiaz, D., Niluh P. 1988. *Analisis Pangan*. Bogor. PAU Pangan dan Gizi. IPB.
- Aurand., C. W and A. E. Woods. 1973. *Food Chemistry*. Dalam: Windrati, S. W.. Tesis: *Studi Pembuatan Tahu Dengan Substitusi Non Kedelai Dan Pengaruhnya Terhadap Perubahan Sifat-Sifat Tahu*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Clemente, A., Millan, F., Pedroche. 1999. *Protein Quality Of Chickpea (Cicer arietinum L.) Protein Hydrolysates*. Dalam: Subagio, dkk. *Protein Albumin Dan Globulin Dari Beberapa Jenis Koro-koroan Di Indonesia*. Jurnal Seminar Nasional PATPI Malang 30-31 Juli 2002: 135-140.
- Colby, D.S. 1996. *Ringkasan Biokimia Harper (Biochemistry: A Synopsis)*. Jakarta: EGC
- Damodaran, S.. 1997. *Food Proteins And Their Applications*. Marcel Dekker, Inc New York.
- Desrosier, N. W. 1988. *Teknologi Pengawetan Pangan*. UI-Press. Jakarta
- Doyle, H, Waggle, H. Fred, Steinke and Jerome L. Shen. 1989. *Isolated Soy Protein*. Dalam : R.H Matthews (eds) *Legumes, Chemistri Teknologi and Human Nutrition*. Marcell Dekker. Inc. New York.
- Dwidjoseputro, D. 1985. *Pengantar Fisiologi Tumbuhan*. Jakarta : PT Gramedia Pustaka Utama.
- Fardiaz, D, Nuri Andarwulan, Henny W. 1992. *Teknik Analisa Sifat Kimia dan Fungsional Komponen Pangan*. Bogor. PAU Pangan dan gizi. IPB

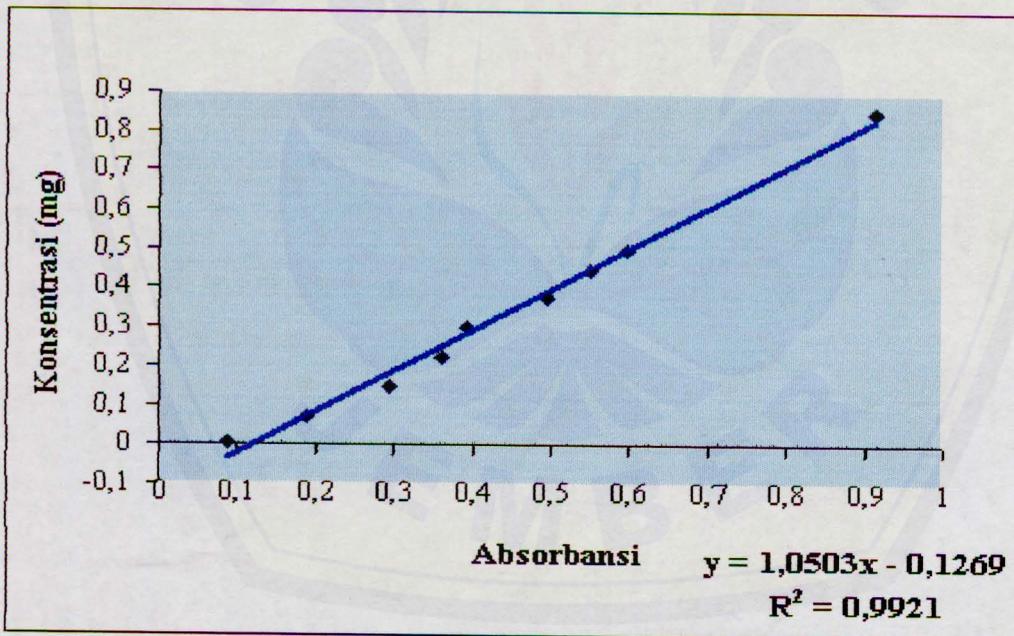
- Friedman, M. 1996. *Nutritional Value of Protein from Different Food Sources*. A review. Agric. Food. Chem.
- Giese, J. 1994. *Protein As Ingredients : Types, Functions, Applications*. Dalam : Bayu, dkk. *Pengaruh Perubahan Komposisi Kimia Selama Perkecambahan Terhadap Sifat Fungsional Tepung Kecambah Kecipir Rendah Lemak*. Seminar Nasional PATPI.
- Hastuti, S., Zuheid, N., dan Umar.. 1999. *Kajian Sifat Fisik dan Mekanis Edible Film dari Tepung Kecipir Rendah Lemak*. Dalam Seminar Nasional PATPI.
- Hui, Y.H.. 1992. *Encyclopedia Of Food Science And Technology*. John Willey & Sons USA
- Hulton and Campbell. 1984. *Water and Fat Absorption*. Dalam : Purwani, dkk.. *Perubahan Beberapa Sifat Fungsional Tepung Kacang Hijau Selama Penyimpanan*. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian Vol.V no.3: 190-198*.
- Kinsella, J.E..1979. *Functional Properties Of Soybean Protein*. Dalam : Suwarnig I. Skripsi: *Ekstraksi dan Karakterisasi Water Extractable Protein dan Pentosan Tepung Terigu*. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Kinsella and Shetty. 1985. *ACS Symp*. Dalam: Damodaran, S.. 1997. *Food Proteins And Their Applications*. New York.: Marcel Dekker, Inc
- Koswara, S.. 1995. *Teknologi Pengolahan kedelai*. Jakarta: Pustaka Sinar Harapan.
- Maessen dan Somaatmadja. 1993. *Prosea: Sumber Daya Nabati Asia Tenggara I*. Jakarta: Gramedia Pustaka Umum.
- Matthews. 1989. *Legumes*. New York and Basel: Marcel Dekker Inc
- Mulyono, Yoyok. 2004. *Pengaruh pH Ekstraksi Terhadap Sifat Fungsional Protein Biji Kepuh (Sterculia foetida L.)* Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Page, D. S. 1985. *Prinsip-prinsip Biokimia*. . Surabaya: Erlangga
- Parkington, Xiong, Blanchard, Srinivasan, and Froning. 2000. *Chemical And Functional Properties Of Oxidatively Modified Beef Heart Surimi Stored at 2<sup>o</sup> C*. *Food Chemistry and Toxicology Vol.65 no. 3: 428-433*.
- Pasaribu, Amudi. 1981. *Pengantar Statistik*. Jakarta: Ghalia Indonesia.

- Rhee, K.C. 1994. *Functionalli of Soy Protein*. Dalam : N.S Hettiarachy and G.R Zielger (eds). *Protein Functionalli in Food System*. New York: Marcell Dekker.Inc.
- Rubatzky, V.E dan Mas Yamaguchi. 1998. *Sayuran Dunia 2 Prinsip, Produksi dan Gizi*. Bandung: ITB Bandung.
- Rusdianto, Andrew S. 2004. Karakterisasi Biji dan Protein Koro Komak (*Lablab purpureous* (L.) Sweet) Sebagai Sumber Protein. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Sackheim, George I and Ronald M. Schultz. 1997. *Chemistry for The Health Sciences*. New York: Macmillan Publising Co., Inc.
- Schumm, Dorothy E. 1992. *Intisari Biokimia*. Jakarta: Binarupa Aksara
- Stainsby. 1986. *Foaming and Emulsification*. Dalam : Bayu, dkk.. Pengaruh Perubahan Komposisi Kimia Selama Perkecambahan Terhadap Sifat Fungsional Tepung Kecambah Kecapir Rendah Lemak. Seminar nasional PATPI.
- Subagio, Yuli W., dan Wiwik SW. 2002. *Protein Albumin Dan Globulin Dari Beberapa Jenis Koro-koroan Di Indonesia*. Jurnal Seminar Nasional PATPI Malang 30-31 Juli 2002: 135-140.
- , 2003. Pengembangan Kekara Sebagai Sumber Protein Untuk Mencukupi Kebutuhan Pangan di Daerah Marginal,. Jember. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- , 2003. Pengaruh Penambahan Isolat Protein Koro Pedang (*Canavalia ensiformis* L.) Terhadap Karakteristik Cake. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan Vol. XIV no. 2: 136-143
- Sudarmadji, S. B Haryono dan Suhardi. 1997. *Analisa Bahan Makanan Dan Pertanian*. Jakarta: Gramedia Pustaka Umum.
3.  
Sugiharto, R. 1998. *Uji Stabilitas Suatu Model Sistem Emulsi*. Jurnal Teknologi dan Industri Hasil Pertanian Vol.2(2).
- Sugijanto dan Manulang. 2001. *Pembuatan Protein Konsentrat Wheat Pollard Sebagai Pemanfaatan Hasil Samping Penggilingan Gandum*. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan Vol. XII no. 1: 54-69.

- Suhardi. 1989. *Kimia dan Teknologi Protein*. Dalam: Windrati, S. W.. Tesis: *Studi Pembuatan Tahu Dengan Substitusi Non Kedelai Dan Pengaruhnya Terhadap Perubahan Sifat-Sifat Tahu*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Syarief, Rizal dan Anies, Irawati. 1988. *Pengetahuan Bahan Untuk Industri Pertanian*. Jakarta: PT. Mediyatama Sarana Perkasa.
- Suryabrata, S.. 1989. *Metodologi Penelitian*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.
- Turgeon. 1992. *Emulsifying Property Of Whey Peptide Fractions As A Function Of pH And Ionic Strength*. Dalam : Bayu, dkk.. *Pengaruh Perubahan Komposisi Kimia Selama Perkecambahan Terhadap Sifat Fungsional Tepung Kecambah Kecap Rendah Lemak*. Seminar nasional PATPI.
- Utami, Wahyu. 2004. *Karakterisasi Sifat Fisikokimia dan Fungsional Isolat Protein Koro Komak (Lablab purpureus (L). Sweet)*. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Utsumi dan Kinsella. 1985. *Structure Function Relationship In Food Protein Sub Gelation Of 7 S, 11 S And Soy Isolate Protein*. Dalam : Windrati, S. W.. Tesis: *Studi Pembuatan Tahu Dengan Substitusi Non Kedelai Dan Pengaruhnya Terhadap Perubahan Sifat-Sifat Tahu*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Utomo dan Andarlina. 1998. *Poteinsi Kacang Komak (Dolichos Lablab L.) Sebagai Bahan Baku Isolat Protein*. Dalam: Utomo, J. S.. *Teknologi Pengolahan Dan Produk-Produk Olahan Kacang Komak*. Prosiding Seminar Nasional Pangan 14 September 1999: 107-120. Yogyakarta.
- Utomo, J. S.. *Teknologi Pengolahan Dan Produk-Produk Olahan Kacang Komak*. Prosiding Seminar Nasional Pangan 14 September 1999: 107-120. Yogyakarta.
- Widowati dan Damardjati. 2001. *Menggali Sumber Daya Pangan Dalam Rangka Ketahanan Pangan Nasional*. Jurnal pangan Vol. X no. 36: 3-11.
- Winarno, F. G.. 1985. *Kedelai Bahan Pangan Masa Depan*. Dalam: Utomo, J. S.. *Teknologi Pengolahan Dan Produk-Produk Olahan Kacang Komak*. Prosiding Seminar Nasional Pangan 14 September 1999: 107-120. Yogyakarta.
- , 1991. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Umum.
- Zayas, J. F.. 1997. *Functionality Of Protein In Food*. Jerman. Springer Berlin.

Lampiran 1. Kurva Standar Lowry dengan Hidrolisa

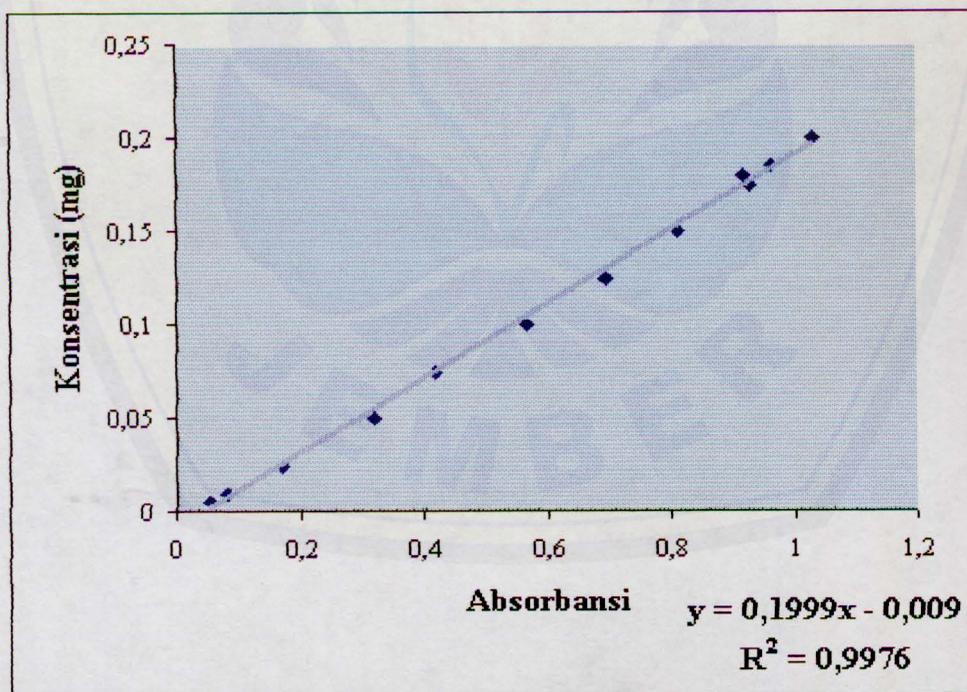
Absorbansi	Konsentrasi (mg)
0,088	0,005
0,19	0,075
0,294	0,15
0,361	0,225
0,393	0,3
0,495	0,375
0,549	0,45
0,595	0,5
	0,6
0,912	0,85



Gambar 8. Kurva Standar Analisa Protein Hidrolisa

Lampiran 2. Kurva Standa Gula Reduksi metode Nelson - Somogy

Absorbansi	Konsentrasi (mg)
0,053	0,005
0,08	0,01
0,17	0,025
0,317	0,05
0,416	0,075
0,566	0,1
0,694	0,125
0,81	0,15
0,928	0,175
0,916	0,18
0,962	0,185
1,03	0,2



Gambar 9. Grafik Kurva Standar Analisa Pati

**Lampiran 3. Data Penentuan pH isoelektrik**

pH	Absorban	mg	Volume ambil	Konsentrasi (mg/ml)
2,09	0,898	0,8162691	25	3,2566752
3,04	0,832	0,7469496	25	2,9877984
3,47	0,812	0,7259436	25	2,9037744
4,04	0,842	0,7574526	25	3,0298104
4,5	0,602	0,5053806	25	2,0215224
5,01	0,744	0,6545232	25	2,6180928
5,52	1,235	1,1702205	25	4,680882
6,09	1,265	1,1985786	25	4,806918
6,5	1,058	0,9843174	25	3,9372696
7,19	1,305	1,2437415	25	4,974966
8,06	1,135	1,0651905	25	4,260762
9,27	1,205	1,1387115	25	4,554846
12,28	1,18	1,112454	25	4,449816

**Lampiran 4. Rata-rata Rendemen IPKkr**

Ulangan	Berat	Rendemen (%)
1	19.912 (300 g)	6,637
2	18.683(300 g)	6,228
Jumlah		12,865
Rata-rata		6,4325
SD		0,289206674

**Lampiran 5. Komponen Warna IPKkr**

Ulangan	dE	dL	da	db
1	11,2	-10,1	2,6	4,1
2	11,3	-10	2,9	4,4
3	11,2	-10,1	2,7	4,1
4	11,2	-10	2,6	4,3
5	11,9	-11	2,3	4

Ulangan	C	H	L	W
1	4,855	57,619	89,9	88,794
2	5,269	56,611	90	88,696
3	4,909	56,634	89,9	88,77
4	5,025	58,841	90	88,808
5	4,614	60,101	89	88,071
Jumlah	24,672	289,806	448,8	443,139
Rata-rata	4,9344	57,9612	89,76	88,6278
SD	0,239672	1,5045259	0,427784993	0,314242263

**Lampiran 6. Penentuan Kadar Protein**

Ulangan	Absorbansi	mg	Kadar protein (%)
1	0,988	0,911	91,1

**Lampiran 7. Rata-rata Kadar Air IPKKr**

Ulangan	Kadar Air (%)
1	9,144
2	8,458
Jumlah (%)	17,602
Rata-rata	8,801
SD	0,485075252

**Lampiran 8. Rata-rata Kadar Abu IPKKr**

Ulangan	Kadar Abu (%)
1	1,51
2	2,28
Jumlah (%)	3,79
Rata-rata	1,895
SD	0,544472222

**Lampiran 9. Rata-rata Kadar Pati IPKKr**

Ulangan	Kadar Pati (%)
1	0,864
2	0,81
Jumlah	1,674
Rata-rata	0,837
SD	0,038183766

**Lampiran 10. Rata-rata Kadar Lemak IPKKr**

Ulangan	Kadar Lemak (%)
1	3,539
2	2,545
Jumlah	6,084
Rata-rata	3,042
SD	0,70286414

**Lampiran 11. Kelarutan IPKKr dalam berbagai pH**

pH	Absorbansi	Konsentrasi	Kelarutan (%)
2,06	1,175	1,1072025	92,538
3	1,11	1,038933	86,833
3,5	1,046	0,9717138	81,215
4,01	0,86	0,776358	64,487
4,47	0,484	0,3814452	31,881
5,07	0,736	0,6461208	54,002
5,58	0,788	0,7007364	58,567
6,09	0,858	0,7742574	64,711
7,06	1,235	1,1702205	97,805
8,07	1,3	1,23849	103,511
9	1,23	1,164969	97,367
10,03	1,24	1,175472	98,244
12,66	1,26	1,196478	100

**Lampiran 12.** Rata-rata Daya Buih dan Stabilitas Buih IPKKr

Ulangan	Daya buih (ml/g)	Stabilitas buih	Penurunan buih (%)
1	690	615	5,435
2	710	645	4,577
3	670	620	3,731
Jumlah (ml/g)	2070	1880	13,743
Rata-rata	690	626,6666667	4,581
SD	20	16,07275127	0,852007042

**Lampiran 13.** Oil Holding Capacity (OHC) IPKKr

Ulangan	OHC (%)
1	130
2	114
3	99,8
Jumlah	244
Rata-rata	122
SD	11,3137085

**Lampiran 14.** Rata-rata Water Holding Capacity (WHC) IPKKr

Ulangan	WHC (%)
1	217,33
2	261,4
3	198,6
Jumlah	677,33
Rata-rata	225,7766667
SD	32,24080696

**Lampiran 15.** Rata-rata Emulsifying Activity Indeks (EAI) IPKKr

Menit	EAI (m <sup>2</sup> /g)			Jumlah Rata-rata		SD
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	(m <sup>2</sup> /g)	(m <sup>2</sup> /g)	
0	3.275	3.213	4.145	10.633	3.54433	0.52112
5	1.254	1.409	1.385	4.048	1.34933	0.08343
10	1.054	1.251	1.268	3.573	1.191	0.11895
15	1.15	1.541	1.358	4.049	1.34967	0.19563

