

**SIFAT FUNGSIONAL MODIFIKASI ISOLAT
PROTEIN KORO PEDANG (*Canavalia ensiformis* L.)
MENGUNAKAN ENZIM PROTAMEX™**

**KARYA ILMIAH TERTULIS
(SKRIPSI)**

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

Oleh :

Asal :	Hadiah	Kelas
Terima :	Pembelian	614.45
No. Induk :		NUS
Pengantar :	<i>Yan</i>	S

BAGUS GUSTI PRIYAGUNG NUSANTARA
011710101106

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2005**



Dosen Pembimbing Utama

Ir. Achmad Subagio, M.Agr., Ph.D.
NIP. 131 975 306

Dosen Pembimbing Anggota I

Ir. Sukatiningsih, MS.
NIP. 130 890 066

Dosen Pembimbing Anggota II

Ir. Mukhammad Fauzi, M.Si.
NIP. 131 865 702

Diterima Oleh :

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**
Sebagai Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi)



Dipertanggung jawabkan pada :

Hari / Tanggal : Sabtu / 25 Juni 2005
Jam : 11.30 WIB
Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember

Tim Penguji :

Ketua

Ir. Achmad Subagio, M.Agr., Ph.D.
NIP. 131 975 306

Anggota I

Ir. Sukatiningsih, MS.
NIP. 130 890 066

Anggota II

Ir. Mukhammad Fauzi, M.Si.
NIP. 131 865 702



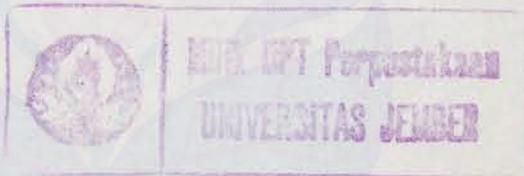
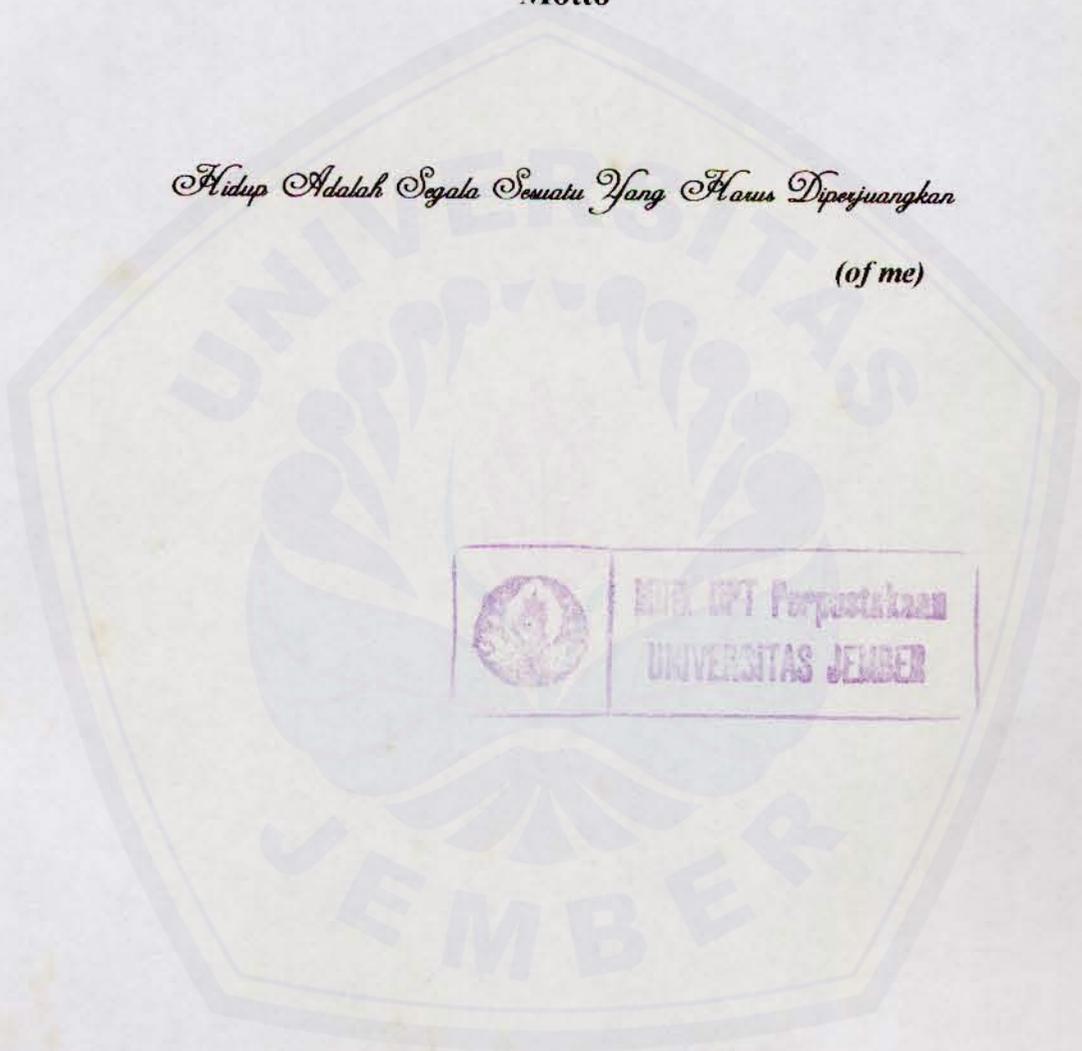
**Mengesahkan,
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember**

A. Marzuki Moen'im, M.Si.E.
NIP. 130 531 986

Motto

Hidup Adalah Segala Sesuatu Yang Harus Diperjuangkan

(of me)



Motto

Hidup Adalah Segala Sesuatu Yang Harus Diperjuangkan

(of me)



Persembahan

Allah SWT

Dialah Allah, yang menjadikan segala yang ada di bumi untuk kamu dan dia berkehendak menuju langit, lalu dijadikannya tujuh langit. Dan Dia Maha Mengetahui segala sesuatu
(Al-Baqarah, 29)

Terima kasih atas segala Rahman dan Rahim-Mu yang memberikan jalan untuk kebaikan, kemudahan, kebahagiaan dan yang membuat segala sesuatu menjadi mungkin bagiku, ya Allah....ampunilah segala dosa dan sinarilah hatiku dengan cahaya hidayah-Mu seperti Engkau menerangi langit dan bumi dengan rahmat-Mu. Amien

Kagêm Bapak sóho Ibu :

Ayahku, Soekamto dan mamaku, Suswanah

Tiada yang melebihi besarnya cinta mereka kepadaku, yang telah mengajarkan banyak hal, sejak jantung ini bergetar dan sejak bagaimana bibir ini dapat terucap sampai hari ini.

Terima kasih Atas semua pengorbanan dan Doa kalian.

Bagus minta maaf karena sering buat banyak salah. Doakan Bagus cepet dapat kerja, bahagia dunia dan akhirat Amien

ADIKKU, Nanda Desi Arisandi

Terima kasih karena kamu, rumah jadi bersuara dan ada yang buat aku godain *he..he..10x* semoga tercapai semua cita-citamu dan doakan kakakmu yang keren ini jadi orang yang berguna bagi nusa dan bangsa
(*Cool banget nggak sih gaya gue..*)
nantu kalo kakak jadi hebat kamu minta aaapa aja.....tinggal minta ayah
(*becanda kok, yang pasti kakak turutin dong*) Amien

Vivi Indrawati, S.TP

Seseorang yang memberikan banyak warna, mempunyai seribu wajah kecantikan dunia Yang bisa menjadi Sahabatku, kekasihku, adikku, kakakku, Ibuku bahkan manjadi musuhku yang harus dicintai.

Aku berharap kamu selalu dapat menjadi bagian diiku. Saat aku bernafas kamu menjadi sebagian udara yang terhisap, mengisi pikiranku, Memberikan getaran jantungku, ikut mengalir di dalam darahku, menjadi hati dan jiwaku

Dan tuk semua keluargaku

Special Thanks :

Buat teman dan partnerku **Boni**, akhirnya kita sedikit menuai hasil dari kerja kita selama setahun lebih, kalo kita ingat masa-masa di Lab akan jadi pengalaman yang mengasyikkan.

and buat rekan seTeam Lab Atas (*anak tepe menyebutnya*) yang lulus bareng : **Ade, Sinta, Fitri, Sofie** (*kalian ga kangen tafahilin he.he*) juga buat team-team yang lain tetap semangat

Buat **Mas Nafi** yang bangak bantu di Lab terutama masalah teori, semoga cepet kelar S2-nya.

Buat **Maria** thanks game curhat and moga aku ngusul dilamar eh nglamar (*tafu kan*) buat teman-teman yang lain **Hanti, Weni, Ninit, Nita**, kita pernah sering ketawa bareng (*Gila kali*).

Buat teman-temanku **Saig**, semoga terkabul jadi Kepala Besa, **Bayu**, terima kasih support waktu aku mo ujian, and semua teman-temanku terutama **seangkatan 2001**, aku akan banyak merindukan kalian, saat kuliah bareng kita enak ngobrol dibelakang, saat pusing bikin laporan, saat-saat kita ngobrol tanpa arah minim intelektualitas tapi penuh ineksualitas. *Semoga kita sukses membangun negeri ini (cita-cita yang agung gak?)*

Buat sebuah kenangan dan saat-saat aku jadi orang hebat, **Bolan**, aku minta maaf aku telah meninggalkan kamu tanpa karya, tanpa jiwa yang bisa mengisi, tanpa tinta yang mampu mewarnai, tanpa suara yang menjadi senandung.

Buat **Nengah, Lutfi, Badra, Teguh, Rian, Cries, Bom2x, Grandong, Edo**, and semua **kruBols** dimanapun dan kapanpun berada (*Aku mencintaimu dengan sederhana...*)

Buat anggota **EMINEM** yang suka karambols (**B12 Boarding House**) **Andrex**, maturnuon komputere, **Arip** Pesip thanks atas cerewetnya, **Gilas**, badan gede suara keras hebat banget lo... kru **Cafe Juguhs + Ariels** kalian dua sejoli tak terpisahkan ? . Si Gondrong **Hari** kaya samson bedenges dicukur rambutnya oleh **Belila** dari madura, jadi gundul deh. **Bung Komar...Merdeka**. **Mr Prem** orang yang penuh ketenangan alias si **Patrick** yang suka makan mie kuah + bilyun, ngomong² berapa jumlah pohon di alun-alun ? (*Untung aku ga ikut Kuclok kumpul bareng kalian..*)

Buat Sepeda Motor setiaku
aku segalanya, komputerku yang udah

P 5641 MA

udah bantuin

aku segalanya, komputerku yang udah *ostheoporosys* jadi jalannya lambat, makasih.
Dan terakhir terima kasih kepada semua **kehidupan di bumi** ini yang bantu aku jadi lebih hidup dan malakukan banyak hal



KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur Kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi) ini dengan baik. Dalam penulisan Skripsi ini tidak lepas dari dukungan maupun bantuan dari beberapa pihak. Oleh karena itu penulis ingin berterima kasih kepada:

1. Ir. A. Marzuki Moen'im, M.SIE., selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember
2. Ir. Susijahadi, MS., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember
3. Ir. Achmad Subagio, M.Agr. Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Utama, terima kasih atas kesempatan, fasilitas, bantuan dan bimbingannya selama penelitian dan penulisan skripsi.
4. Ir. Sukatiningsih, MS., selaku Dosen Pembimbing Anggota I yang banyak memberikan arahan, motivasi dan bimbingan selama penelitian maupun penulisan skripsi.
5. Ir. M. Fauzi, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota II yang memberikan saran dan bimbingan yang bermanfaat atas penyelesaian penulisan skripsi.
6. Teknisi Laboratorium Mbak Ketut, Mbak Sari serta seluruh staf dan karyawan Fakultas Teknologi Pertanian atas bantuannya kepada penulis.
7. Seluruh mahasiswa kakak maupun adik angkatan di Fakultas Teknologi Pertanian dan semua pihak yang telah berperan dalam penyelesaian skripsi

Penulis menyadari bahwa Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi) ini jauh dari sempurna. Oleh karena itu segala kritik dan saran sangat penulis harapkan untuk kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi para pembaca sekalian.

Jember, 5 April 2005

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
DOSEN PEMBIMBING.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
MOTTO	iv
PERSEMBAHAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
ABSTRAKSI.....	xiv
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tanaman Koro Pedang.....	4
2.2 Protein.....	6
2.3 Isolat protein Koro Pedang	9
2.4 Modifikasi Enzimatis Protein	11
2.5 Protamex TM	12
2.6 Derajat Hidrolisis	12
2.7 Sifat Fungsional Protein.....	14
2.7.1 Kelarutan Protein	15
2.7.2 Water Holding Capacity (<i>WHC</i>).....	16

2.7.3 Oil Holding Capacity (<i>OHC</i>).....	16
2.7.4 Daya Emulsi.....	17
2.7.5 Daya Buih.....	17
2.8 Elektroforesis.....	17

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat Penelitian.....	19
3.1.1 Bahan Penelitian.....	19
3.1.2 Alat Penelitian.....	19
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	19
3.2.1 Tempat Penelitian.....	19
3.2.2 Waktu Penelitian.....	19
3.3 Metode Penelitian.....	20
3.3.1 Rancangan Penelitian.....	20
3.4 Pelaksanaan Penelitian.....	20
3.4.1 Pembuatan Isolat Protein Koro Pedang.....	20
3.4.2 Modifikasi Enzimatis Isolat Protein Koro Pedang.....	21
3.5 Prosedur Pengamatan.....	24
3.5.1 Derajat Hidrolisa (DH).....	24
3.5.2 Warna.....	24
3.5.3 Sifat Fungsional.....	25
3.5.3.1 Kelarutan Protein.....	25
3.5.3.2 Daya Emulsi dan Stabilitas Emulsi.....	26
3.5.3.3 Oil Holding Capacity.....	27
3.5.3.4 Water Holding Capacity.....	27
3.5.3.5 Daya Buih.....	27
3.5.4 Elektroforesis.....	28

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Derajat Hidrolisa.....	30
4.2 Warna.....	30

4.3 Sifat Fungsional	32
4.3.1 Kelarutan Protein Terhadap pH.....	32
4.3.2 Daya Emulsi dan Stabilitas Emulsi	35
4.3.3 Oil Holding Capacity	38
4.3.4 Water Holding Capacity	39
4.3.5 Daya Buih	41
4.4 Elektroforesis	42
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.2 Kesimpulam	45
5.3 Saran	45

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

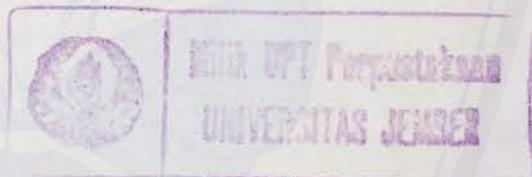
Tabel		Halaman
1	Karakteristik Fisik Biji Koro Pedang	4
2	Kandungan Kimiawi Koro Pedang	5
3	Kandungan Senyawa Antigiwi Dan Racun Pada Koro Pedang	5
4	Fraksi Protein Dari Total Protein Koro Pedang	10
5	Komposisi Kimia Isolat Protein Koro Pedang	10
6	Sifat Fungsional protein dalam berbagai sistem atau produk Makanan	15
7	Komposisi Wana IPKP dan IPKPM	31
8	Daya dan Stabilitas Buih pada IPKP dan IPKPM	41
9	Mobilitas Relatif (Rf) dan BM pada Marker	43
10	Mobilitas Relatif (Rf) dan Perkiraan BM IPKP dan IPKPM	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
1	Polong Biji Kroro Pedang	4
2	Biji Koro Pedang	4
3	Ikatan Peptida pada struktur protein	6
4	Struktur 3D protein	8
5	Hidrolisis Ikatan Peptida	11
6	Reaksi TNBS dengan Golongan Asam Amino	13
7	Prosedur Pembuatan Isolat Protein Koro Pedang	22
8	Prosedur Modifikasi Isolat Protein Koro Pedang	23
9	Hubungan Lama Inkubasi Dengan Derajat Hidrolisa	30
10	Foto IPKP dan IPKPM	31
11	Hubungan antara pH dengan % Kelarutan IPKP dan IPKPM	33
12	Hubungan EAI dengan Waktu hidrolisa	35
13	Histogram Daya Emulsi pada IPKP dan IPKPM	36
14	Histogram Stabilitas Emulsi (<i>ESI</i>)	37
15	Histogram Oil Holding Capacity	38
16	Histogram Water Holding Capacity	40
17	SDS Page Elektroforesis IPKP dan IPKPM	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1	Kurva Standar Elektroforesis	50
2	Kurva Standar BSA (Lowry)	51
3	Kurva Standar Glycine	52
4	Kurva Standar TNBS (h total)	53
5	Data Analisa Warna dengan Color Reader	54
6	Data Analisa Kelarutan IPKP dan IPKPM	56
7	Data Analisa Oil Holding Capacity	60
8	Data Analisa Water Holding Capacity	61
9	Data Analisa Daya Emulsi dan Stabilitas Emulsi	62
10	Data Analisa Derajat Hidrolisa	63





BAGUS GUSTI PRIYAGUNG NUSANTARA, NIM 011710101106, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember, “**Sifat Fungsional Modifikasi Isolat Protein Koro Pedang (*Canavalia ensiformis L.*) Menggunakan Enzim Protamex™**” Dosen Pembimbing :Ir. Achmad Subagio, MAgr, Ph.D. (DPU) dan Ir. Sukatiningsih, MS (DPA I). Ir. M. Fauzi, M.Si. (DPA II).

ABSTRAKSI

Koro Pedang (*Canavalia ensiformis L.*) merupakan salah satu jenis koro-koroan dengan kandungan protein tinggi dan kandungan lemaknya sangat rendah. Salah satu alternatif pengembangan pemanfaatannya berupa Isolat Protein untuk digunakan sebagai bahan tambah emulsifier, flavor enhancer, texturizer dan stabilizer dengan sifat-sifat fungsional yang dimiliki. Sifat fungsional Isolat Protein Koro Pedang masih terbatas pemanfaatannya pada produk pangan. Untuk memperbaiki sifat fungsionalnya dilakukan modifikasi secara enzimatik menggunakan enzim Protamex™. Oleh karena itu perlu diketahui seberapa besar pengaruh perbaikan sifat fungsionalnya dan lama hidrolisa yang memberikan perbaikan sifat fungsional paling baik.

Penelitian ini bertujuan untuk memperbaiki sifat fungsional Isolat protein koro pedang dengan modifikasi menggunakan enzim protamex. Pengaruh modifikasi enzimatik terhadap sifat fungsional dan waktu hidrolisa dengan kontribusi paling baik terhadap sifat fungsional.

Penelitian dilakukan dalam dua tahap, pertama adalah pembuatan isolat protein koro pedang (IPKP) dan tahap kedua modifikasi isolat protein koro pedang menggunakan enzim protamex™ dengan variasi waktu hidrolisa 0,5 jam, 1 jam, 1,5 jam, dan 2 jam. Analisa yang dilakukan meliputi derajat hidrolisa, warna dan sifat fungsional (kelarutan pada berbagai pH, daya emulsi, daya buih, *Oil Holding Capacity* (OHC) dan *Water Holding Capacity* (WHC)).

Hasil Analisa menunjukkan waktu hidrolisa 0,5 jam, 1 jam, 1,5 jam, 2 jam mempunyai nilai derajat hidrolisa berturut-turut 4,76%, 4,90%, 5,59%, 5,65%, 5,76%. Adanya hidrolisa menghasilkan perubahan warna lebih gelap dan sudut warna mengarah ke kuning. Modifikasi enzimatik dapat memperbaiki beberapa sifat fungsionalnya, yaitu peningkatan daya kelarutan pada area pH 4- 6, akan tetapi semakin lama hidrolisa akan menurunkan daya kelarutannya. Daya emulsi Isolat protein koro pedang termodifikasi lebih besar daripada IPKP. Akan tetapi stabilitas emulsi Isolat protein koro pedang termodifikasi lebih kecil daripada Isolat protein koro pedang tanpa modifikasi (IPKPM). Adanya modifikasi enzimatik menyebabkan penurunan daya buih. Nilai *OHC* pada isolat protein koro pedang termodifikasi lebih besar daripada tanpa modifikasi. Nilai *WHC* pada Isolat protein koro pedang termodifikasi dan nilai *WHC* pada IPKP naik turun. Hasil Elektroforesis menunjukkan bahwa BM dari fraksi protein isolat protein koro pedang termodifikasi lebih rendah daripada isolat protein koro pedang tanpa modifikasi.

Kata Kunci: Koro Pedang, isolat protein, sifat fungsional, hidrolisa

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sifat protein yang menentukan kegunaannya dalam makanan secara umum disebut sebagai sifat fungsional. Sifat fungsional merupakan sifat fisikokimia protein yang mempengaruhi karakteristiknya dalam makanan selama proses pengolahan, penyimpanan dan konsumsi. Sifat dan gaya interaksi protein dengan komponen lain, secara langsung maupun tidak langsung berpengaruh terhadap penerapan pengolahannya, kualitas makanan dan penerimaannya. Daya ikat air, kelarutan, daya kembang, viskositas, daya gelasi dan aktivitas permukaan merupakan sifat penting yang menentukan kegunaan dan kualitas produk akhir dalam sistem makanan (Kinsella, Damodaran dan German, 1985). Secara jelas telah diketahui protein kedelai secara luas digunakan sebagai sumber protein fungsional, protein koro-koroan sangat berpotensi sebagai bahan tambah, seperti *emulsifier, flavor enhancer, texturizer dan stabilizer* (Clemente *et al*, 1999)

Indonesia kaya akan tanaman polong-polongan, namun belum dapat tereksplorasi dengan baik (Subagio, dkk. 2002) padahal ditinjau dari segi kandungan gizinya mengandung protein cukup tinggi, yaitu sekitar 18-26%. Sedangkan kandungan lemaknya yang rendah, yaitu sekitar 0,2 – 3% dan kandungan karbohidratnya relatif tinggi yaitu 50-60% (Maesen dan Somaatmadja, 1993). Koro-koroan mempunyai potensi sebagai sumber protein fungsional berkaitan dengan keseimbangan asam aminonya sangat baik dan bio-availabilitas tinggi serta rendahnya faktor anti gizi (Friedman, 1996; Newman *et al*, 1987) Disamping itu koro-koroan mempunyai sumber vitamin B1, beberapa mineral dan serat penting bagi kesehatan (Wijeretne dan Nelson, 1986).

Koro pedang (*Canavalia ensiformis* (L.) DC), merupakan salah satu jenis koro-koroan yang dapat dipertimbangkan sebagai sumber protein fungsional untuk bahan pangan, karena biji keringnya mengandung sekitar 55% Karbohidrat dan sekitar 24% protein, sedangkan polong muda segar mengandung sekitar 13% karbohidrat dan 7% protein (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998). Biji koro pedang mempunyai beberapa keunggulan diantaranya cara budidaya mudah, adaptasi

terhadap lingkungan tumbuh luas dan tahan terhadap kekeringan. Selain itu produktivitasnya tidak tergantung kepada pengolahan tanah yang intensif sehingga biaya produksi murah. Produktivitas Biji keringnya cukup tinggi sekitar 800-900 kg/ha pada lahan kering dan mencapai \pm 1700 kg/ha apabila diberi pengairan (Robert, 1985). Pemanfaatan koro pedang masih sangat sederhana, di beberapa daerah polong muda dan biji yang belum masak digunakan sebagai sayuran dan tanaman ini juga untuk pakan ternak dan pupuk hijau. Koro Pedang dapat ditemukan di beberapa daerah di Jawa Timur seperti di Bondowoso, Situbondo, dan Probolinggo.

Saat ini telah dikembangkan beberapa metode pengolahan koro-koroan yang mengacu pada koro-koroan sebagai sumber protein, seperti isolat protein dengan teknik titik isoelektrik (Subagio dkk, 2003). Isolat protein adalah hasil isolasi komponen protein dari komponen lainnya, dengan kandungan protein minimal 90 % (Utomo, 1999).

Pemanfaatan isolat protein menjadi bahan tambah dalam produk pangan harus memiliki sifat-sifat fungsional yang baik. Isolat protein yang telah dimanfaatkan pada produk pangan memiliki sifat fungsional tertentu yang masih kurang baik, seperti sifat kelarutannya (*solubility*) yang rendah pada pH 4, sehingga jika ditambahkan pada produk pangan dengan pH 5,2 kurang potensial. Oleh karena itu perlu adanya perbaikan sifat fungsional dari isolat protein tersebut.

Dengan memodifikasi isolat protein koro pedang menggunakan enzim protease dalam hal ini ProtamexTM diharapkan dapat memperbaiki sifat fungsional dari isolat protein koro pedang sehingga dapat memperluas penggunaan sebagai bahan tambah pada produk pangan dan dapat meningkatkan nilai gizi isolat protein koro pedang dalam produk olahan.

1.2 Perumusan Masalah

Isolat protein koro pedang memiliki sifat fungsional yang dapat digunakan sebagai bahan tambah dalam suatu produk pangan yang dapat berperan sebagai *emulsifier*, *flavor enhancer*, *texturizer* dan *stabilizer*. Tetapi terdapat beberapa

sifat fungsional dari isolat protein koro pedang yang kurang baik jika digunakan sebagai bahan tambah pada produk pangan.

Dengan memodifikasi isolat protein koro pedang menggunakan enzim protease ProtamexTM diharapkan dapat memperbaiki sifat fungsional dari isolat protein koro pedang tersebut.

Oleh karena itu perlu diketahui sifat fungsional isolat protein koro pedang dari hasil modifikasi enzimatik menggunakan enzim ProtamexTM, sehingga dapat diketahui seberapa besar pengaruh perbaikan sifat fungsional yang terjadi dengan adanya modifikasi enzimatik dan berapa waktu hidrolisa yang memberikan perbaikan sifat fungsional yang paling baik.

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini diadakan dengan tujuan untuk :

1. Memperbaiki sifat fungsional antara isolat protein koro pedang dengan modifikasi menggunakan enzim ProtamexTM
2. Mengetahui pengaruh modifikasi enzimatik dengan enzim ProtamexTM terhadap sifat fungsional isolat protein koro pedang (IPKP)
3. Mengetahui waktu hidrolisa yang memberikan kontribusi yang paling baik terhadap sifat fungsionalnya

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memperbesar kontribusi isolat protein koro pedang sebagai bahan tambah produk pangan.
2. Memberikan informasi peningkatan sifat fungsional isolat protein koro pedang akibat modifikasi enzimatik, serta lama hidrolisa yang memberikan perbaikan sifat fungsional yang paling baik.
3. Sebagai studi dalam pengembangan penelitian terhadap kacang-kacangan dengan modifikasi secara enzimatik terhadap isolat protein koro pedang.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Koro Pedang

Tanaman koro pedang (*Canavalia ensiformis* (L) DC). berasal dari Amerika Tengah dan Hindia Barat. Di beberapa negara tanaman koro pedang dikenal dengan nama daerahnya antara lain *Bara sem*, *sufed kadsumbal* (India), *Jack Bean*, *Horse Bean* (Inggris), *Makhan shim* (Bangladesh) dan di daerah Indonesia terkenal dengan *Kacang parang*, *Kekara parang*, *Kara bendo*, *Kara pedang*, *Krandang* (Jawa). Polong muda dan biji yang belum matang digunakan sebagai sayuran, tanaman ini juga digunakan untuk pakan ternak dan pupuk hijau, perakarannya dalam dan tahan kekeringan. Bunganya menyerbuk sendiri, berwarna merah jambu hingga ungu. Polong gantungnya berukuran besar, panjang 20-30 cm dan lebar 2-2,5 cm, berisi 8-20 biji putih agak pipih (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998).



Gambar 1. Polong Biji Koro Pedang



Gambar 2. Biji Koro Pedang

Sumber : <http://plantdatabase.com/members/horsehoe>

Tabel 1. Karakteristik Fisik Biji Koro Pedang

Ukuran	Ratio \pm SD	Maximal	Minimal
Panjang	1,84 \pm 0,10	2,06	1,61
Lebar	1,27 \pm 0,08	1,39	1,08
Tebal	0,83 \pm 0,07	0,98	0,70
Berat per 100 biji (g)	126,47 \pm 3,47	132,6	122,47

Sumber: Subagio dkk, 2002

Jenis tanaman koro-koroan mempunyai komposisi kimia yang beragam tergantung jenis, sifat genetik masing-masing varietas dan lingkungan tumbuhnya (cara budidaya), serta tingkat kemasakan biji (Utomo, 1999). Kandungan kimia koro pedang dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Kandungan Kimiawi Koro Pedang

Komponen	Konsentrasi (%)
Air	8,4 ± 0,1
Protein	21,7 ± 2,1
Lemak	4,0 ± 0,3
Karbohidrat	70,2 ± 4,2
Abu	2,9 ± 0,1
BDD	78

Sumber : *Subagio dkk, 2002*

Umumnya biji koro pedang sebelum dapat dimanfaatkan atau dikonsumsi dilakukan perebusan dan pencucian terlebih dahulu untuk menghilangkan racunnya, hal ini disebabkan beberapa koro-koroan mempunyai faktor anti-gizi dan racun walaupun kandungannya relatif rendah (Friedman, 1996). Faktor anti-gizi tersebut dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Kandungan senyawa antigizi dan racun pada koro pedang

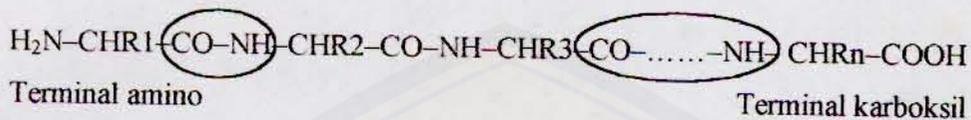
Antigizi/racun	Kandungan
HCN (mg/100g)	0,5
Fitat (mg/g)	13,2
Inhibitor Trypsin (TIU/mg)	0,15

Sumber: *Subagio dkk, 2002*

Dari Tabel 3 diketahui bahwa kandungan HCN dari koro pedang di bawah dari ambang batas yang diperbolehkan sebesar 20 mg/100 g (Akpapunam dan Sefa-Dedeh, 1997). Kandungan racun dan antigizi dapat dikurangi sampai ke level aman dengan cara perendaman 12 jam dan diikuti dengan pemanasan bertekanan selama 30 menit (Subagio dkk, 2002).

2.2 Protein

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



Gambar 3. ikatan peptide pada struktur protein

Protein merupakan senyawa makromolekul yang terdiri dari sejumlah asam amino yang dihubungkan oleh ikatan peptida. Protein dibedakan menjadi 4 macam struktur berdasarkan susunan asam amino dalam satu molekul protein, yaitu struktur primer, sekunder, tersier, dan quartener (Suhardi, 1988).

1. Struktur Primer

Struktur primer dari suatu 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. 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 polipeptid. Struktur sekunder terutama distabilkan oleh ikatan H yang terdapat anantara gugus NH dan CO dari rantai peptida (Colby, 1996). Pada struktur ini, asam-asam amino yang menyusun protein dihubungkan oleh ikatan peptida dan ikatan hidrogen, sehingga rantai polipeptida yang terbentuk tidak berupa rantai lurus, melainkan berbentuk rantai terpilin α -helix (Suhardi, 1988).

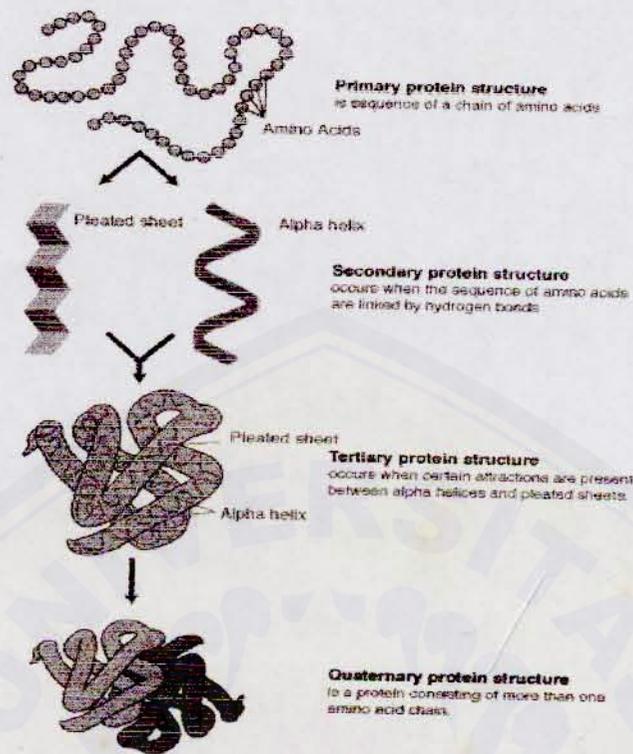
3. Struktur Tersier

Merupakan struktur yang lebih kompleks, karena adanya beberapa ikatan yang menghubungkan antara protein yang satu (yang berstruktur primer maupun sekunder) dengan protein yang lain (Suhardi, 1988). 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 α dan β dihubungkan oleh bagian lipatan ireguler dari rantai polipeptida (Colby, 1996).

4. Struktur Kuartener

Terbentuk dari beberapa unit molekul protein tersier, membentuk satu molekul protein. Protein yang mempunyai struktur seperti ini biasanya merupakan protein globular (Suhardi, 1988). 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). 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 (Colby, 1996).



Gambar 4. Struktur 3D Protein

Asam amino dan protein merupakan zat organik yang mempunyai gugus amino, karboksil, hidroksil, dan kadang-kadang gugus sulfhidril, indole dan imidasole. Gugus amino bersifat basis, dan gugus karboksil bersifat asam. Tiap-tiap gugus tersebut dapat bereaksi dengan zat-zat disekitar protein atau dengan gugus-gugus lain dalam satu polimer peptida (Suhardi, 1988). Berdasarkan kelarutannya protein terbagi menjadi albumin, globulin, glutelin, dan prolamin (Winarno, 1997).

Protein koro-koroan pada umumnya dalam bentuk albumin dan globulin (Yeboah *et al.*, 1999). Albumin, mempunyai karakter yang mudah larut dalam air dan mudah terkoagulasi oleh panas. Sedangkan globulin, tidak dapat larut dalam air, mudah terkoagulasi oleh panas, mudah larut dalam larutan garam dan membentuk endapan dengan konsentrasi garam yang tinggi. Larutan garam yang sering digunakan adalah NaCl, MgSO₄ dan (NH₄)₂SO₄ (Harrow *et al.*, 1962).

Globulin penyusun protein legume yang disusun oleh dua komponen yaitu legumin dan vicilin. Legumin merupakan komponen penyusun utama dari globulin sedangkan vicilin adalah komponen utama dari globulin biji-bijian. Legumin dideskripsikan mengandung dua rantai polipeptida yang dihubungkan dengan jembatan disulfida (Altschul, 1985).

Protein dapat bersifat amfoter, yaitu dapat bereaksi dengan asam dan basa. Protein bersifat amfoter karena asam-asam amino penyusunnya mengandung gugus -COOH yang bersifat asam dan gugus -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 OH^- dari basa dan ion 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)

2.3 Isolat Protein Koro Pedang

Isolat protein merupakan produk hasil isolasi protein dari komponen lainnya, untuk pembuatan isolat protein kedelai kandungan proteinnya dapat mencapai 90% (Utomo, 1999). sedangkan pada penelitian sebelumnya menggunakan teknik titik isoelektrik untuk isolat protein koro pedang kandungan proteinnya dapat mencapai 54,3 % seperti tercantum dalam Tabel 5.

Protein pada buji-bijian dapat berupa albumin, globulin, glutenin dan prolamin sesuai klasifikasi menggunakan metode Osborne (Nielsen, 1985). Adapun fraksi protein dari biji koro pedang dapat dilihat pada **Tabel 4**.

Globulin penyusun protein legume yang disusun oleh dua komponen yaitu legumin dan vicilin. Legumin merupakan komponen penyusun utama dari globulin sedangkan vicilin adalah komponen utama dari globulin biji-bijian. Legumin dideskripsikan mengandung dua rantai polipeptida yang dihubungkan dengan jembatan disulfida (Altschul, 1985).

Protein dapat bersifat amfoter, yaitu dapat bereaksi dengan asam dan basa. Protein bersifat amfoter karena asam-asam amino penyusunnya mengandung gugus -COOH yang bersifat asam dan gugus -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 OH^- dari basa dan ion 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)

2.3 Isolat Protein Koro Pedang

Isolat protein merupakan produk hasil isolasi protein dari komponen lainnya, untuk pembuatan isolat protein kedelai kandungan proteinnya dapat mencapai 90% (Utomo, 1999). sedangkan pada penelitian sebelumnya menggunakan teknik titik isoelektrik untuk isolat protein koro pedang kandungan proteinnya dapat mencapai 54,3 % seperti tercantum dalam Tabel 5.

Protein pada buji-bijian dapat berupa albumin, globulin, glutenin dan prolamin sesuai klasifikasi menggunakan metode Osborne (Nielsen, 1985). Adapun fraksi protein dari biji koro pedang dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Fraksi protein dari total protein dari koro pedang

Fraksi Protein	Konsentrasi (%)
Albumins	35,80
Globulins	42,40
Prolamins	0,71
Glutenins (Acid Soluble)	0,52
NaOH Soluble fraction	20,60

Sumber : Subagio dkk, 2002

Fraksinasi diperlukan untuk mengetahui potensi dari teknik eksplorasi dari protein dalam biji koro-koroan. Dari Tabel 4 diketahui dominasi protein terbesar adalah pada fraksi globulin yang selanjutnya secara detail diketahui bahwa jenis globulinnya adalah 7S. Hal ini berhubungan dengan teknik ekstraksi dari protein pada pembuatan isolat protein dari koro pedang harus memperhatikan ciri-ciri protein 7S yang mempunyai titik isoelektrik pada pH 4 -5 (Subagio dkk, 2002).

Menurut Subagio, dkk (2003), proses pembuatan isolat protein koro pedang diawali dengan ekstraksi pada pH basa (diatas pH 10), dimana pada pH tersebut telah dicapai kelarutan protein koro pedang yang maksimal. Setelah diperoleh larutan protein, maka proses selanjutnya adalah pengendapan dengan cara pengaturan pH pelarut menggunakan asam klorida (HCl) mendekati pH isoelektrik. Proses selanjutnya adalah pencucian dengan alkohol dan terakhir adalah pengeringan menggunakan *freeze drying*. Adapun komposisi kimiawi dari isolat protein koro pedang dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Komposisi kimiawi isolat protein koro pedang

Komponen	Konsentrasi (%)
Air	9,20
Protein	54,30
Lemak	12,36
Abu	2,66
Karbohidrat*	21,48

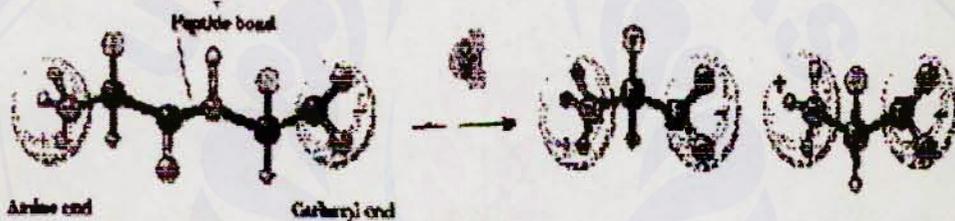
- * menggunakan *by difference method*

Sumber : Subagio dkk, 2002

2.4 Modifikasi Enzimatis Protein

Modifikasi protein ada dua macam, yaitu modifikasi secara kimia dan modifikasi secara enzimatis. Modifikasi protein dapat merubah sifat fungsional dan nutrisi protein. Modifikasi enzimatis lebih banyak dipilih untuk digunakan dalam makanan, karena syarat untuk makanan tidak memperbolehkan penggunaan bahan kimia. Untuk produk non makanan, modifikasi kimia lebih dipilih karena modifikasi enzimatis lebih mahal (<http://www.ftns.wageningen-nl/agridata/ProtEnzymModification.htm>, 2004).

Hidrolisa protein secara enzimatis adalah degradasi protein menjadi peptida dan atau asam amino oleh enzim proteolitik. Selama hidrolisa protein, ikatan amida dipecah dan setelah penambahan satu molekul air, peptida dan atau asam amino bebas dilepaskan. Bentuk baru dari peptida dapat menjadi substrat baru untuk enzim (Ven, 2002).



Gambar 5 Hidrolisis Ikatan Peptida

Hidrolisa ikatan peptida menyebabkan beberapa perubahan pada protein :

1. Kandungan NH_3^+ dan COO^- pada protein meningkat, yang akan meningkatkan kelarutan.
2. Berat molekul protein /polipeptida menurun.
3. Struktur globular pada protein rusak dan grup hidrofobik yang awalnya tersembunyi di bagian dalam akan muncul keluar.

Perubahan ini akan mempengaruhi beberapa sifat fungsional protein secara drastis.

Modifikasi proteolitik memberikan perbaikan yang sangat penting pada daya larut protein, misalnya pada sereal yang sulit larut dalam media encer. Modifikasi proteolitik juga memperbaiki daya serap kelembaban dan daya ikat air

pada beberapa protein. Hal ini dikarenakan daya ikat air oleh protein berhubungan dengan jumlah grup ionik yang ada, yang jumlahnya meningkat sebagai akibat dari hidrolisa karena adanya pembebasan grup amino dan karboksil (Damodaran, 1997).

2.5 Protamex™

Protamex™ merupakan enzim protease kompleks bakteri *Bacillus* yang dikembangkan untuk hidrolisa protein makanan (Novozymes A/S, 2002). Enzim ekstraselular yang diproduksi oleh bakteri ini merupakan enzim endopeptidase. Enzim endopeptidase bekerja dengan cara memotong ikatan peptida dari bagian dalam rantai polipeptida menghasilkan unit-unit asam amino. Berbeda dengan enzim endopeptidase yang lain (Winarno, 1983). Protamex akan menghasilkan produk hidrolisat yang tidak atau kurang memiliki rasa getir atau pahit (Novozymes A/S, 2002).

Protamex berwarna coklat terang, dengan ukuran partikel rata-rata 250-450 mikron, dan larut dalam air. Protamex distandardisasi dalam Anson Units per gram (AU/g), dengan aktivitas 1,5 AU/g. Protamex memiliki kondisi kerja optimal pada pH 5,5-7,5 dan pada 35-60°C (95-140°F). Protamex dapat diinaktivasi dalam 30 menit pada 50°C atau lebih ketika pH 4, dan dalam 10 menit pada 85°C atau lebih ketika pHnya 8. Dalam penerapan percobaan aktivitasnya menurut metode modifikasi Anson dalam larutan cair tidak mengakibatkan efek yang tetap pada protein. Protamex™ inaktiv setelah berada pada suhu 50° C (122° F) selama 30 menit atau meningkat ketika mencapai pH 4 serta pada suhu 85° C (185° F) atau meningkat saat mencapai pH 8. Inaktivasi sangat tergantung dari substrat (Novozymes A/S, 2002).

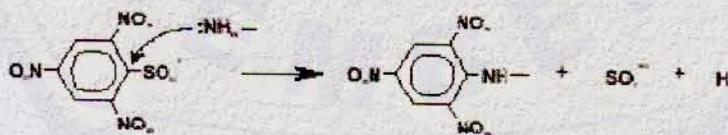
2.6 Derajat Hidrolisis (*Degree of Hydrolysis*)

Beberapa metode berbeda yang dapat digunakan untuk mengukur DH adalah metode pH stat, OPA, TNBS, osmometry, ninhydrin, titrasi formol, nitrogen terlarut, brix, index TCA, panjang rantai peptida, perubahan pH, viskositas dan titrasi pH dasar (Damodaran, 1997).

Metode penetapan alfa-amino yang digunakan adalah metode TNBS. Apriyantono, dkk (1989) menyatakan bahwa metode ini diterapkan untuk bahan pangan hewani. Jika diterapkan pada bahan pangan yang banyak mengandung karbohidrat maka perlu membuat blanko. Metode ini juga dapat digunakan untuk menetapkan kadar protein ekstrak lipid, asam amino bebas dalam cairan biologis dan untuk menggambarkan sidik jari (*fingerprints*) "tryptic peptide".

Asam Trinitrobenzen Sulfat (TNBS) merupakan salah satu metode yang paling banyak digunakan dalam industri, untuk menentukan konsentrasi asam amino bebas. Metode ini ditetapkan untuk analisa hidrolisis enzimatis dan pertama kali digunakan oleh Satake *et al.*, setelah itu disempurnakan oleh Alder Nissen (1979).

Pada umumnya, metode TNBS merupakan pengujian secara spektrofotometrik pada bentuk kromofor melalui reaksi kimia antara TNBS terhadap kelompok amino primer sebagai mana ditunjukkan pada **Gambar 6**. Reaksi tersebut terjadi pada kondisi alkali, yang dilakukan dengan menambahkan larutan buffer bikarbonat pH 8. Reaksi tersebut harus terjadi dalam kondisi gelap (ruangan gelap), karena TNBS bersifat sensitif terhadap cahaya. Pada konsep TNBS yang dikembangkan oleh Alder Nissen (1979), dapat pula digunakan Sodium Dodecyl Sulfat (SDS) untuk memecah golongan amino dalam reaksi yang lebih baik (Alder Nissen, 1979).



Reaction of TNBS with amino group (Alder-Nissen, 1979)

Gambar 6. Reaksi TNBS dengan golongan asam amino (Alder Nissen, 1979).

Reaksi berakhir dengan menurunkan pH menggunakan asam dan terbentuk warna kuning cerah yang disebabkan oleh penyerapan cahaya pada bentuk kromofor. Intensitas warna dapat diukur pada absorbansi atau densitas optik yang secara linier berkaitan erat dengan konsentrasi asam amino bebas (Alder Nissen, 1979).

2.7 Sifat Fungsional Protein

Protein mempunyai sifat fungsional yang merupakan sifat selain sifat nutrisi, dimana akan mempengaruhi fungsi komponen dalam bahan pangan (Sugijanto dan Manulang, 2001). Sifat fungsional adalah sifat fisikokimia protein yang mempengaruhi tingkah lakunya dalam sistem makanan selama preparasi, proses, penyimpanan dan konsumsi, dan berperan terhadap kualitas dan keadaan sensoris dari sistem makanan (Zayas, 1997).

Tiap jenis protein memiliki sifat fungsional yang berbeda-beda, yang disebabkan karena perbedaan pada struktur primer, sekunder, tersier dan quartener dari protein (Marsili, 1993). Beberapa sifat fungsional protein yang penting adalah kelarutan, *Oil Holding Capacity* (OHC), *Water Holding Capacity* (WHC), daya emulsi, dan daya buih.

Sifat fungsional protein dapat didefinisikan sebagai sifat-sifat protein yang dapat mempengaruhi karakter pangan selama pengolahan, penyimpanan dan konsumsinya sehingga menentukan penggunaannya dalam pangan (Kinsella *et al*, 1985).

Tabel 6. 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 interfasi, 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)

2.7.1 Kelarutan protein

Kelarutan adalah sifat fungsional yang paling penting, mengingat protein pada umumnya harus dilarutkan terlebih dahulu sebelum sifat fungsional lainnya dimanfaatkan (Cheryan, 2004). Kelarutan protein menunjukkan jumlah protein dalam sampel yang dapat larut dalam pelarut dan dipengaruhi oleh pH (Zayas, 1997). Kelarutan protein pada berbagai pH dipengaruhi oleh kandungan protein dengan asam amino yang bergugus R bermuatan positif (Staf Pengajar Biokimia, 2000).

Daya larut protein diukur dari nilai atau prosentase protein yang tertinggal dalam suspensi setelah disentrifugasi. Besarnya nilai daya larut tergantung dari metode preparasi slurry dan kondisi sentrifugasi. Metode yang biasanya digunakan yaitu dengan cara di aduk menggunakan stirer mekanik,

mengakibatkan kondisi yang berbeda dengan cara sentrifugasi. Peningkatan kecepatan sentrifugasi akan menurunkan protein terlarut (Matthews, 1989).

Menurut Zayas (1997), 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.

2.7.2 Water Holding Capacity (WHC)

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. Jumlah air yang diikat oleh protein mempengaruhi tekstur, "mouthfeel" dan volume makanan. Sifat ini penting dalam produk-produk *custards*, sosis, dan *oat meal* (Cheryan *et al.*, 1976). Disamping itu, sifat menahan air akan memperlama kesegaran makanan, misalnya pada roti dan biskuit (Koswara, 1995).

2.7.3 Oil Holding Capacity (OHC)

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 (Koswara, 1995). Menurut Zayas (1997) bahwa 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.

2.7.4 Daya Emulsi

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). Emulsi makanan diklasifikasikan sebagai emulsi makro dengan ukuran tetes 0,2-50 μm (Zayas, 1997). Stabilitas emulsi penting karena *emulsifier* tergantung pada kemampuannya memelihara sistem emulsi pada saat mengalami pemasakan atau pemanasan (Sugijanto dan Manulang, 2001). Sifat ini penting dalam pembuatan sosis, mayonnais, dan roti (Richardson, 1975).

2.7.5 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). 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 (Damodaran, 1997). 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 (Sugijanto dan Manulang, 2001).

2.8 Elektroforesis

Elektroforesis merupakan teknik pemisahan untuk karakterisasi makromolekul, berat molekul dan penetapan kemurnian protein. Teknik ini didasarkan pada kenyataan bahwa molekul-molekul seperti DNA, RNA, dan protein memiliki muatan dan oleh karena itu mampu bergerak apabila ditempatkan dalam medan listrik (Staf Pengajar Analisa Hasil Pertanian, 2002).

Teknik yang paling sering digunakan dalam ilmu pengetahuan protein adalah SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel*

Electrophoresis). Dasar metode ini adalah molekul pengisi akan bermigrasi di medan listrik pada kecepatan yang dibatasi oleh ukuran dan suplai tenaga listrik. Medan listrik di sini diaplikasikan sebagai jarak lintas lembaran polimer (poliakrilamida) yang bertindak sebagai pembawa bagi pergerakan molekul. Sebelum memasuki medan listrik, protein didenaturasi dengan kondisi perusakan yang ekstrim (seperti panas, deterjen pendenaturasi, agen reduksi disulfida dan beberapa agen chaotropik seperti urea), dan dilapisi dengan anionik deterjen, SDS. Dalam keadaan terdenaturasi, sebagian besar protein akan mengikat SDS di rasio berat konstan, maka ketika protein berhenti akan mempunyai kepadatan isi yang serupa. Berdasarkan kondisi ini, kecepatan migrasi protein di medan listrik tidak tergantung pada sifat muatan molekul, tetapi lebih banyak dipengaruhi semata-mata oleh ukuran berat molekul. Protein sampel akan diisikan pada sumur-sumur di gel atas, di mana akan kontak dengan buffer tandon, dan Dempet dengan katoda. Buffer penampung bawah demikian halnya juga akan tersambung dengan anoda. Ketika arus listrik dinyalakan, SDS-lapisan protein akan bermigrasi ke gel dasar (bawah), di bawah pengaruh medan listrik.

Setelah running dijalankan, diperlukan cara untuk memvisualisasikan band dari protein-protein tersebut. Cara yang paling umum digunakan adalah dengan *coomassie blue staining* dan *silver staining*. Silver staining lebih sensitif dibandingkan *coomassie blue staining*, oleh karena itu dapat dipergunakan untuk mendeteksi keberadaan kontaminan protein minor pada sampel; tetapi tidak direkomendasikan untuk analisa kuantitatif. *Coomassie blue staining* lebih sedikit mengalami komplikasi dibandingkan dengan *silver staining*. Keuntungan dari *coomassie blue staining* adalah luas warna dari protein yang berbeda dapat terjaga, maka dapat digunakan untuk memperkirakan kuantitatif relatif dari protein yang berbeda dengan membandingkan intensitas pita densitometrik (Copeland, 1994).

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah koro Pedang (*Canavalia ensiformis* (L.) DC.) yang diperoleh dari Desa Cerme, Kabupaten Bondowoso, Jawa Timur. Enzim yang digunakan adalah enzim Protamex™ produksi Novozymes, dengan aktivitas 1,5 AU/g. Bahan kimia yang digunakan sebagian besar berasal dari Jerman dengan merk *Merck* yaitu NaOH 0,1 M, NaOH 2 N, HCl 1 N, HCl 0,1 N, Reagen Mix (Na₂CO₃, CuSO₄, Na-K tartrat), Reagen folin, etanol, buffer fosfat 0,05 M pH 7, buffer fosfat 4% (w/v) pH 8,2, SDS 0,1%, larutan 2.4.6 – trinitrobenzensulfonat 0,1% (w/v), larutan glisin standar dan lain-lain.

3.1.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: centrifuge Yenaco model YC-1180T dan tabungnya, Freeze Dryer Snijder Scientific Tipe 204, magnetic stirer SM 24 Stuart Scientific, vortex maxi-mix tipe 16700 mixer, sentrifuge kecil merk Kurabo, refrigerated centrifuge Selecta, spektrofotometer Prim Secomam, penangas air Cimerec 2, timbangan analitis Ohaus, pH meter Jenway, color reader, peralatan elektroforesis merk Bio-Rad, shaker water bath, alat-alat dari gelas dengan merk Duran dan Pyrex dan alat-alat lain 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 dalam 2 tahap, yaitu:

1. Pembuatan isolat protein koro Pedang pada bulan Agustus s/d bulan November 2004
2. Modifikasi enzimatis isolat protein koro Pedang dan analisa sifat fungsionalnya pada bulan Desember 2004 sampai dengan April 2005

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian pendahuluan dilakukan dengan pembuatan isolat protein koro Pedang (IPKP). IPKP yang didapat kemudian dimodifikasi (dihidrolisa) dengan enzim Protamex pada dosis 0,4 AU/g atau 0.267 gr /g sampel dengan variasi waktu inkubasi 0,5, 1, 1,5 dan 2 jam. IPKP dan Isolat Protein Koro Pedang Termodifikasi (IPKPM) yang diperoleh selanjutnya akan dianalisa warna, derajat hidrolisa (DH) dan sifat fungsionalnya, serta dilihat pita proteinnya dengan elektroforesis. Hasil pengamatan yang diperoleh akan dianalisa secara deskriptif

Perlakuan beberapa variasi sample yang dianalisa, sebagai berikut:

1. Isolat Protein Koro Pedang tanpa modifikasi : Po
2. Isolat Protein Koro Pedang termodifikasi
 - Variasi waktu inkubasi 0,5 jam : P1
 - Variasi waktu inkubasi 1 jam : P2
 - Variasi waktu inkubasi 1,5 jam : P3
 - Variasi waktu inkubasi 2 jam : P4

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Pembuatan Isolat Protein Koro Pedang

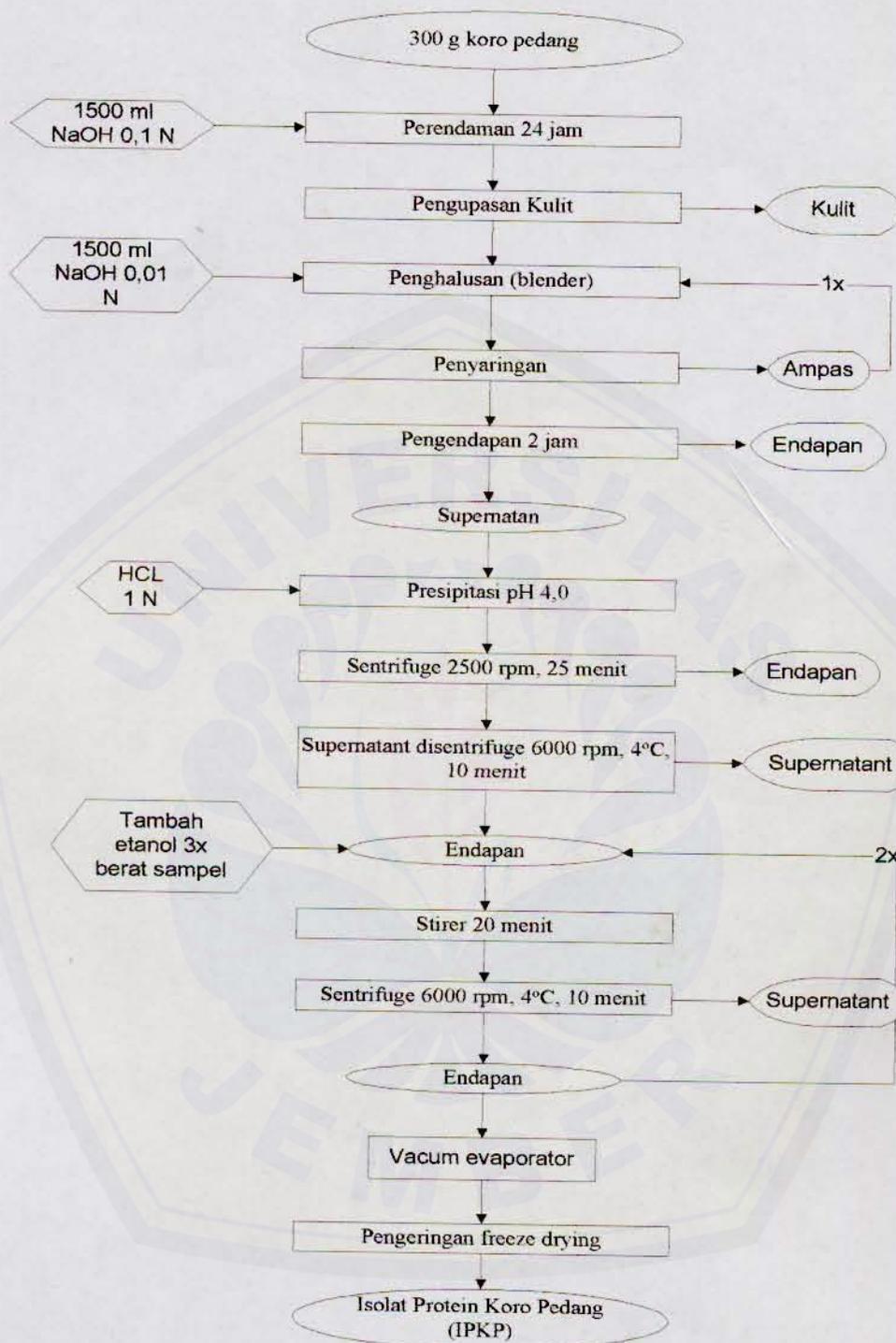
Biji koro Pedang yang sudah disortasi, ditimbang sebanyak 300 gram dan direndam dalam 1500 ml larutan NaOH 0,1N selama 24 jam, kemudian diblender dengan 1500 ml Larutan NaOH 0,01N dan disaring untuk mendapatkan filtratnya. Dengan larutan NaOH 0,01N dalam jumlah sama pada padatan hasil blender pertama dilakukan blender kedua dan diambil filtratnya untuk memperbesar rendemen IPKP. Selanjutnya pada filtrat dilakukan presipitasi dengan HCl 1 N pada pH isoelektrik (pH=4,0) dan dipisahkan dengan sentrifugasi. Isolat yang

didapatkan dicuci dengan etanol untuk menghilangkan gula maupun lemak yang tertinggal dalam isolat. Selain itu alkohol juga digunakan untuk mengekstrak komponen yang larut dalam isolat seperti mineral, pigmen, dan komponen kecil lainnya. Penghilangan alkohol tersebut dilakukan pada Vacuum evaporator. Kemudian isolat dikeringkan dengan freeze drying agar sifat fungsional protein yang dikehendaki tidak rusak. Prosedur pembuatan isolat protein koro Pedang dapat dilihat pada **Gambar 7**.

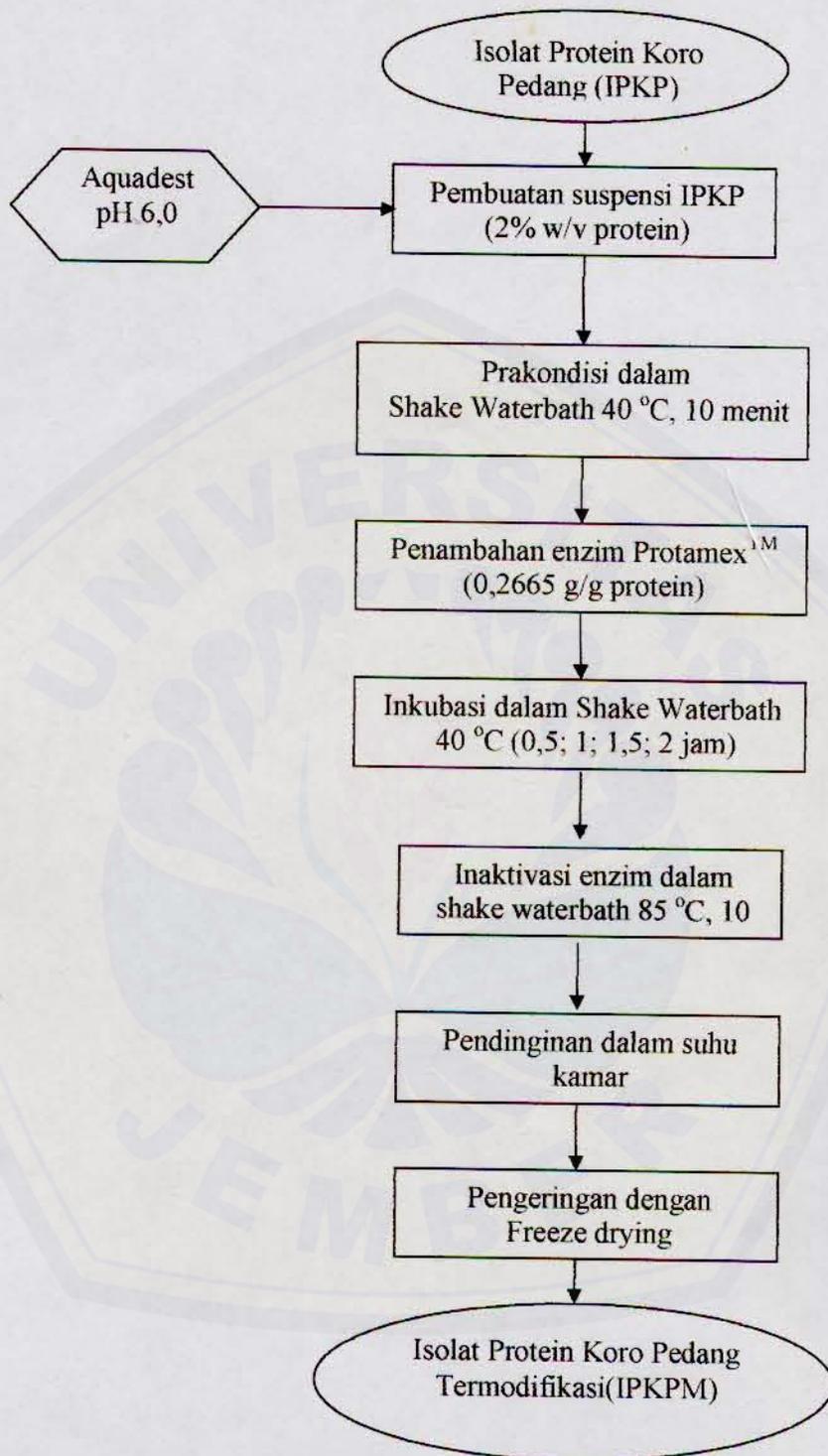
3.4.2 Modifikasi Enzimatis Isolat Protein Koro Pedang (dimodifikasi dari Clemente, et al., 1999)

Isolat protein koro Pedang (IPKP) yang telah diperoleh pada langkah sebelumnya kemudian dimodifikasi enzimatis dengan enzim ProtamexTM yang merupakan enzim protease. Modifikasi enzimatis dilakukan dengan terlebih dahulu menyiapkan larutan substrat berupa IPKP dalam aquades pH=6, dengan konsentrasi IPKP ([S]) sebesar 2% (2 gr IPKP dalam 100 ml aquades). Aquades pH=6 dibuat dengan menambahkan NaOH 0,1 M kedalam aquades hingga nilai pHnya mencapai 6. Selanjutnya kedalam larutan substrat ditambahkan enzim ProtamexTM dengan rasio enzim-substrat (E/S) sebesar 0,4 AU/g protein (0,2665 g / g isolat protein). Kemudian larutan substrat dan enzim tersebut diinkubasikan dalam shaker water bath pada suhu 40°C selama 0,5; 1; 1,5; dan 2 jam. Setelah hidrolisa selesai, maka larutan tersebut segera diinkubasikan pada suhu 85°C selama 10 menit untuk menginaktivkan enzim. Dibekukan pada freezer untuk selanjutnya hasil modifikasi tersebut dikeringkan dengan freeze drying agar sifat fungsionalnya tidak rusak. Hasil modifikasi enzimatis ini selanjutnya disebut Isolat Protein Koro Pedang Termodifikasi (IPKPM). Prosedur modifikasi enzimatis isolat protein koro Pedang ini dapat dilihat pada **Gambar 8**.

IPKP dan IPKPM yang diperoleh selanjutnya dilakukan analisa terhadap warna, DH, elektroforesis, dan sifat fungsionalnya. Sifat fungsional yang dianalisa adalah kelarutan dalam berbagai pH, daya buih, daya emulsi, OHC, dan WHC.



Gambar 7. Prosedur pembuatan isolat protein koro Pedang



Gambar 8. Prosedur modifikasi enzimatis isolat protein koro Pedang

3.5 Prosedur Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan terhadap sampel IPKP dan IPKPM meliputi DH, warna, elektroforesis, sifat fungsional kelarutan dalam berbagai pH, sifat fungsional daya buih, sifat fungsional daya emulsi, sifat fungsional OHC, dan sifat fungsional WHC.

3.5.1 Derajat Hidrolisa (DH)

DH dianalisa dengan menentukan konsen trasi gugus amina menggunakan metode TNBS (Apriyantono, dkk. 1989). Pada pH 8, asam trinitrobenzensulfonat bereaksi dengan gugus alfa amino bebas komponen bernitrogen berbobot molekul rendah menghasilkan senyawa berwarna yang dapat diukur absorbansinya pada 340 nm

Sampel dihidrolisa dengan larutan buffer fosphat 4%(w/v) pH 8,2 dan larutan TNBS pada temperatur 40°C selama 2 jam. Ditambahkan HCL 1N dan pembacaan absorbansi. Jumlah asam amino total diketahui dengan menghidrolisa sampel dengan HCL 6 N pada temperatur 110°C selama 24 jam dan diukur absorbansi dengan metode TNBS. DH dihitung dengan menggunakan rumus:

$$DH = \frac{h}{h_{tot}} \times 100\%$$

Keterangan: h = jumlah ikatan peptida yang dipecah per gram protein

h_{tot} = jumlah total ikatan peptida per gram protein.

Sedangkan nilai h dapat diperoleh dari rumus :

$$h = (\text{serine-NH}_2\text{-}\beta) / \alpha \text{ megv/ g protein}$$

dimana: serine = 7075 OD/mmol/100ml

$$\alpha^* = 1.0$$

$$\beta^* = 0,4$$

3.5.2 Warna

Pengukuran warna menggunakan alat *Colour Reader CR-10* merk *Minolta*. Pengukuran diawali dengan standarisasi alat dengan Keramik porselen

yang mempunyai nilai standar $a = -5,75$; $b = 6,51$ dan $L = 94,5$. Ujung lensa alat ditempelkan pada permukaan bahan yang akan diamati. Pengukuran dilakukan sebanyak 5 kali ulangan pada titik yang berbeda dari sampel dan dirata-rata. Catat nilai yang tertera pada layar yaitu nilai dL , dE , da , dan db . Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

Untuk perhitungannya menggunakan rumus:

$$a^* = -5,75 + da$$

$$b^* = 6,51 + db$$

$$L = 94,5 + dL$$

$$W = 100 - ((100 - L)^2 + ((a^*)^2 + (b^*)^2))^{0,5}$$

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

$$H = 180 + \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*}$$

Dimana :

W : derajat keputihan (Subagio, dkk., 2002).

C : intensitas warna.

H : sudut warna (0° =merah, 90° = kuning, 180° = hijau, 270° = 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 -50 sampai $+70$ yang menunjukkan warna biru sampai kuning

3.5.3 Sifat Fungsional

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

Sampel ditimbang sebanyak 1 gram dan ditambah 100 ml NaOH 0,1N. Stirer selama 2 jam pada suhu ruang, lalu larutan dibagi masing-masing 10 ml dan diatur pH nya hingga pH 2-10 dengan penambahan HCl 1N. Vortex tiap 0,5

menit. Kemudian disentrifuge selama 30 menit pada kecepatan 3000 rpm. Bagian supernatan didekantasi dan dianalisa protein terlarutnya dengan metode Lowry.

Metode Lowry menurut Sudarmaji, dkk (1997), protein dengan asam fosfotungstat-fosfomolibdat pada suasana alkalis akan memberikan warna biru yang intensitasnya bergantung pada konsentrasi protein yang ditera. Konsentrasi protein diukur berdasarkan optik density pada panjang gelombang 750 nm. Untuk mengetahui banyaknya protein dalam larutan, lebih dahulu dibuat kurva standart yang melukiskan hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi. Cara penentuannya adalah sebagai berikut: 125 μL sampel ditambah dengan 100 μL NaOH 2N. Dilakukan pemanasan untuk mendenaturasi atau memecah ikatan protein dalam sampel selama 10 menit kemudian didinginkan. Mix lowry ditambahkan sebanyak 2500 μL dan didiamkan selama 10 menit. Kemudian ditambahkan 250 μL folin 1N dan vortex kemudian didiamkan selama 30 menit. Aquadest ditambahkan sebanyak 2025 μL (volume keseluruhan harus 5000 μL) selanjutnya absorban diamati pada panjang gelombang 750 nm.

3.5.3.2 Daya Emulsi dan Stabilitas Emulsi (Parkington, dkk., 2000)

Sampel ditimbang sebanyak 0,05 gram dan ditambahkan 100 ml buffer phosphat 0,05M pH 7. Stirer selama 15 menit. Kemudian ditambahkan 25 ml minyak goreng dan blender selama 3 menit. Untuk pengukuran daya emulsi, setelah diblender langsung diambil 0.25 ml. Sedangkan untuk pengukuran stabilitas emulsi, setelah 10, 20 menit dan 1, 2 jam kemudian 24 jam dilakukan pengambilan 0.25 ml larutan emulsi bagian bawah. Masing-masing ditambahkan 5 ml SDS 0,1% dan divortex. 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: EAI = *Emulsifying Activity Index*, aktivitas emulsi (m²/g)
c = Konsentrasi protein (g/ ml)
φ = Fraksi volume minyak (ml/ml) dari emulsi
abs = Absorbansi
Dilution = Fraksi larutan (SDS + emulsi)

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

Tabung sentrifuge yang kosong dan kering ditimbang (a gram). Pengukuran OHC dilakukan dengan memasukkan 0,5 gram sampel (b gram) kedalam tabung lalu ditambahkan minyak sebanyak 7X berat sampel. Vortex hingga menyatu dan sentrifuge selama 5 menit pada kecepatan 2000 rpm. Bagian supernatannya dituang, kemudian endapan yang tertinggal beserta tabung ditimbang (c gram). Selanjutnya dilakukan perhitungan OHC dengan rumus:

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

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

Tabung sentrifuge yang kosong dan kering ditimbang (a gram). Pengukuran WHC dilakukan dengan memasukkan 0,5 gram sampel (b gram) kedalam tabung lalu ditambahkan aquadest sebanyak 7X berat sampel. Vortex hingga menyatu dan sentrifuge selama 5 menit pada kecepatan 2000 rpm. Bagian supernatannya dituang, kemudian endapan yang tertinggal beserta tabung ditimbang (c gram). Selanjutnya dilakukan perhitungan WHC dengan rumus:

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

3.5.3.5 Daya Buih (Subagio, dkk., 2003)

Pengukuran daya buih dilakukan dengan cara sample dtimbang 0,5 gr dan ditambahkan 100 ml buffer phosphat 0,1M pH 7, lalu dimasukkan ke dalam gelas ukur 250 ml. Volume (ml) awal larutan dicatat, kemudian distirer selama 10

ukur 250 ml. Volume (ml) awal larutan dicatat, kemudian distirer selama 10 menit. Pembentukan buih dilakukan dengan pemberian gelembung-gelembung gas yang dihasilkan oleh aerator selama 1 menit (masih distirer) dan volume buihnya dicatat. Aerator dan stirer dihentikan selama 2 menit, dan volume penurunan buih dicatat. Selanjutnya dilakukan perhitungan:

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

3.5.4 Elektroforesis (Iwabuchi and Yamaguchi, 1987)

Analisis protein dengan SDS-Page dilakukan pada gel poliakrilamida yang terdiri dari gel bawah (Resolving gel) dan gel atas (Stacking gel).

a. Pembuatan gel

Bahan yang diperlukan:

Bahan A : Tris HCl 1,5M pH 8,8

Bahan B : SDS 10%

Bahan C : Bis akrilamida

Bahan D : Amonium persulfat 10%

Bahan E : Tris HCl 1,5M pH 6,8

Pembuatan gel bawah terdiri dari 1,25 ml aquadest; 5 ml bahan A; 0,05 ml bahan B dan 2 ml bahan C, kemudian dilakukan aerasi untuk mengeluarkan udara. Setelah itu larutan gel ditambah dengan 50 μ l bahan D dan Temed 5 μ l. Larutan ini segera disuntikkan diantara 2 lempeng kaca, dan di atasnya diberi aquades untuk meratakan permukaan gel. Aquades diambil kembali setelah gel terbentuk.

Larutan gel atas terdiri dari 1,525 ml aquadest; 0,625 bahan E; 0,025 ml bahan B; dan 0,325 bahan C, kemudian dilakukan aerasi. Kemudian ditambahkan 50 μ l bahan D dan Temed 5 μ l. Kemudian larutan gel atas ini dimasukkan dengan bantuan sisir untuk membentuk sumur. Sisir dilepaskan jika gel telah terbentuk.

b. Larutan sampel dilarutkan dalam Tris HCl Buffer 0,3 M yang mengandung SDS 1% sesuai dengan kebutuhan, kemudian diukur

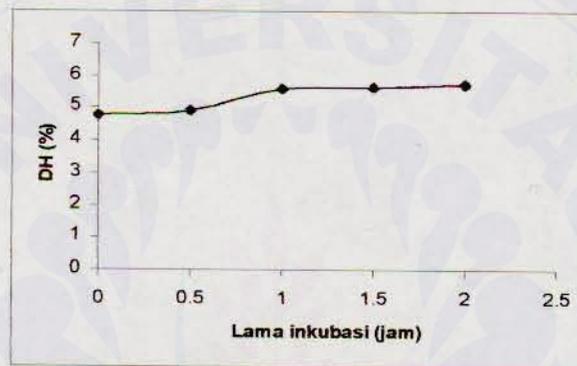
konsentrasinya proteinnya dengan metode Lowry untuk mengetahui volume penyuntikan dalam sumur gel.

- c. Larutan sampel tersebut kemudian ditambah buffer sampel dengan terlebih dahulu menentukan konsentrasi sampel yang diinginkan, lalu dipanaskan pada suhu $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 10 menit untuk memecah struktur 3 dimensi dari protein.
- d. Sampel disuntikkan kedalam sumur dengan syringe dan dilakukan running pada 100 mA selama 1-2 jam.
- e. Gel hasil elektroforesis dicuci dengan aquadest dan dilakukan pewarnaan dengan larutan Coomassie blue staining gel.
- f. Penghilangan pewarnaan yang berlebih atau destaining dengan metanol sambil digoyang selama 1 malam.
- g. Pembacaan pita protein yang tampak akan menandakan sub unit atau fraksi protein.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Derajat Hidrolisa

Derajat hidrolisa menunjukkan seberapa besar proses hidrolisa yang merupakan persentase jumlah ikatan peptida yang dihidrolisa dari jumlah total ikatan peptida yang ada dalam protein. Hasil analisa derajat hidrolisa menggunakan metode TNBS pada lama inkubasi 0 jam, 0,5 jam, 1 jam, 1,5 jam, dan 2 jam berturut-turut adalah 4,76%, 4,90%, 5,59%, 5,65%, dan 5,76%. Grafik hubungan antara lama inkubasi dan derajat hidrolisa terlihat pada **Gambar 9**.

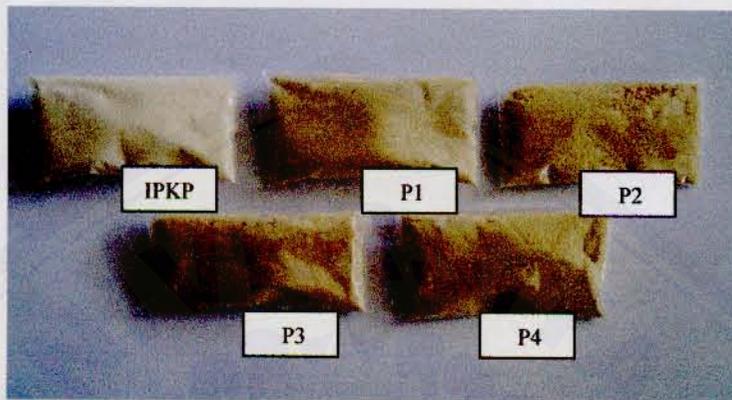


Gambar 9. Hubungan lama inkubasi dengan derajat hidrolisa

Dari Gambar 9 dapat diketahui bahwa semakin lama waktu inkubasi mempunyai nilai DH yang semakin besar. Hal ini disebabkan karena semakin lama waktu inkubasi jumlah ikatan peptida yang dihidrolisa semakin besar. Peningkatan DH dengan semakin lama waktu hidrolisa tidak begitu besar hal ini menunjukkan proses hidrolisa berlangsung lambat. Diduga dipengaruhi oleh karakteristik dari enzim ProtamexTM yang merupakan endoenzim yang memecah ikatan peptida pada bagian dalam dan pada gugus asam amino tertentu (Novozymes A/S, 2002).

4.2 Warna

Berkaitan dengan kegunaannya dalam produk makanan. Isolat protein koro pedang mempunyai salah satu sifat fisik yang penting untuk diperhatikan yaitu warna. Hal ini berhubungan dengan tingkat penerimaan konsumen.



Gambar 10 . Foto IPKP dan IPKPM

Hasil analisa warna terhadap IPKP dan IPKPM yang meliputi tingkat kecerahan (L), warna (a^* dan b^*), intensitas warna (C), sudut warna (H) dan derajat putih (W) dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Komposisi Warna IPKP dan IPKPM

Komponen warna	P0	P1	P2	P3	P4
L	87,83 \pm 0,37	83,22 \pm 0,3	82,04 \pm 0,4	82,02 \pm 0,38	81,77 \pm 0,28
a^*	-3.76 \pm 0,09	-2.76 \pm 0,09	-1.78 \pm 0,11	-1.78 \pm 0,16	-2.25 \pm 0,13
b^*	15.87 \pm 0,33	15.63 \pm 0,28	17.51 \pm 0,28	17.12 \pm 0,3	16.79 \pm 0,24
C	16.31 \pm 0,3	15.87 \pm 0,27	17.60 \pm 0,27	17.21 \pm 0,29	16.94 \pm 0,23
H	103.34 \pm 0,55	100.02 \pm 0,48	95.82 \pm 0,48	95,95 \pm 0,59	97.64 \pm 0,53
W	79.65 \pm 0.40	76.90 \pm 0,38	77.85 \pm 0,41	75.11 \pm 0,47	75.12 \pm 0,36

Ket : IPKP : P0 dan IPKPM : P1; P2; P3; P4

Dari hasil analisa diperoleh data mengenai komposisi warna IPKP dan IPKPM. berdasarkan tabel, nilai (a^*) pada IPKP lebih rendah daripada IPKPM yaitu menunjukkan tingkat kemerahan dan nilai (b^*) paling tinggi yang menunjukkan tingkat kekuningan adalah pada P2 atau variasi lama inkubasi 1 jam

paling tinggi. Sudut warna atau *hue* lebih mengarah ke warna kuning dan IPKP mempunyai nilai *hue* yang lebih besar daripada IPKPM. Hal ini dipengaruhi karakteristik dari biji koro pedang yang berwarna kuning keputihan.

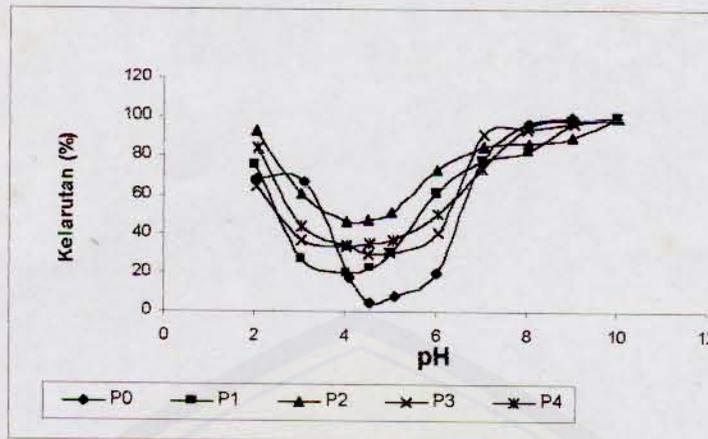
Berdasarkan derajat keputihan (*W*) maupun kecerahan warna (*L*) IPKP menunjukkan nilai yang lebih besar daripada IPKPM. Intensitas warna (*chroma*) yang merupakan tingkat warna gelap menunjukkan data bahwa nilai *chroma* tertinggi pada P2. Hal ini dapat dinyatakan bahwa dengan adanya hidrolisa Isolat protein koro pedang menjadi lebih gelap.

Perubahan warna oleh adanya modifikasi enzimatik diakibatkan adanya reaksi Maillard yang merupakan suatu reaksi antara senyawa karbonil dengan gugus amina primer, reaksi berjalan berdasarkan gugus amin protein yang dibebaskan akibat adanya hidrolisa. Semakin banyak gugus amin yang dibebaskan pencoklatan semakin besar. Kandungan karbohidrat pada Isolat protein, lama pemanasan dan suhu hidrolisa diduga mendorong terjadinya reaksi Maillard. Akan tetapi pada lama inkubasi 1,5 jam dan 2 jam warna gelap lebih kecil intensitasnya daripada lama inkubasi 1 jam diduga disebabkan oleh karakteristik enzim ProtamexTM yang memotong secara acak sehingga jenis dan posisi ikatan peptida yang dihidrolisa tidak pasti dan tidak selalu sama sehingga mempengaruhi jumlah gugus amin yang dapat dibebaskan.

4.3 Sifat Fungsional

4.3.1 Kelarutan Protein Terhadap pH

Kelarutan merupakan sifat fungsional yang paling penting, karena pada umumnya protein harus dilarutkan terlebih dahulu sebelum sifat fungsional lainnya dimanfaatkan. Protein dengan kelarutan tinggi lebih mudah untuk bercampur dalam sistem makanan dibandingkan protein dengan kelarutan yang rendah. Menurut Zayas (1997), Kelarutan protein terutama dipengaruhi dengan muatan molekul protein dan biasanya disebut sebagai efek pH. Oleh karena itu hasil analisa kelarutan protein terhadap pH pada isolat Protein koro pedang termodifikasi dan tanpa modifikasi terlihat pada **Gambar 11**.



Gambar 11. Hubungan antara pH dengan % Kelarutan IPKP dan IPKPM

Dari grafik tersebut dapat diketahui bahwa modifikasi enzimatik terhadap isolat protein koro pedang (IPKPM) memberikan pengaruh secara nyata terhadap daya kelarutan. Secara umum dapat dikatakan terjadi peningkatan daya kelarutan pada IPKPM dibandingkan dengan isolat protein koro pedang tanpa modifikasi (IPKP). Peningkatan daya kelarutan sangat besar terutama pada area pH titik isoelektrik pada kisaran pH 4 – 6. pada area pH tersebut kelarutan IPKP menunjukkan nilai kelarutan kurang dari nol persen atau dapat dikatakan sangat kecil sekali, pada pH 4 sebesar 20% kemudian pada pH 5 sebesar 10% dan seterusnya meningkat dengan semakin besar pH. sedangkan pada IPKPM dapat mencapai 50% pada pH 4 dan 60% pada pH 5. Hal ini berarti pada area titik isoelektrik stabilitas IPKPM lebih besar dibandingkan dengan IPKP. Pada pH rendah kisaran pH 2-3 daya kelarutan IPKPM relatif lebih rendah daripada daya kelarutan IPKP. Dan pada kisaran pH 7-10 tidak menunjukkan perbedaan nyata antara IPKP dan IPKPM dengan daya kelarutan pada kisaran 96-99%. Daya kelarutan paling besar terutama kisaran pH 4-6 adalah pada lama inkubasi 1 jam.

Sifat kelarutan protein tergantung komposisi asam amino, berat molekul, bentuk dan kandungan gugus polar dan nonpolar pada asam amino. Faktor yang mempengaruhi kelarutan antara lain pH, kekuatan ion, efek panas dan kondisi proses. Asam amino dalam kondisi pH isoelektrik mempunyai ketidaklarutan maksimum disebabkan beda potensialnya mendekati nol. Sedangkan pada pH

diatas maupun dibawah isoelektrik mempunyai kelarutan maksimum karena pada pH rendah gugus aminonya terdisosiasi menjadi bermuatan positif dan sebaliknya pada pH tinggi gugus karboksil terdisosiasi menjadi bermuatan negatif. Ketidaklarutan protein juga dipengaruhi sifat hidrophobik, IPKP mempunyai kelarutan lebih rendah disebabkan lebih banyak gugus hidrophobik dibandingkan gugus hidrofilik. Banyaknya gugus hidrophobik yang bersifat nonpolar akan meningkatkan interaksi antar sisi non polar protein sehingga mengurangi kontak dengan molekul air (Zayas, 1997).

Peningkatan kelarutan pada isolat protein koro pedang yang dimodifikasi terutama pada area isoelektrik disebabkan karena dengan modifikasi menggunakan enzim protease, protein terhidrolisis menghasilkan peptida dan atau asam amino sehingga kandungan NH_3^+ dan COO^- meningkat dan memperbesar hidrofilisitas (Clemente *et al.*, 1999)

Menurut Zayas (1997), adanya modifikasi enzimatis, struktur globular dari protein berubah menyebabkan gugus hidrophobik akan melipat keluar dan hidrofilik melipat kedalam sehingga kelarutan pada modifikasi lebih rendah atau tidak begitu besar peningkatan kelarutannya. Hal tersebut terlihat pada grafik kisaran pH 8-10.

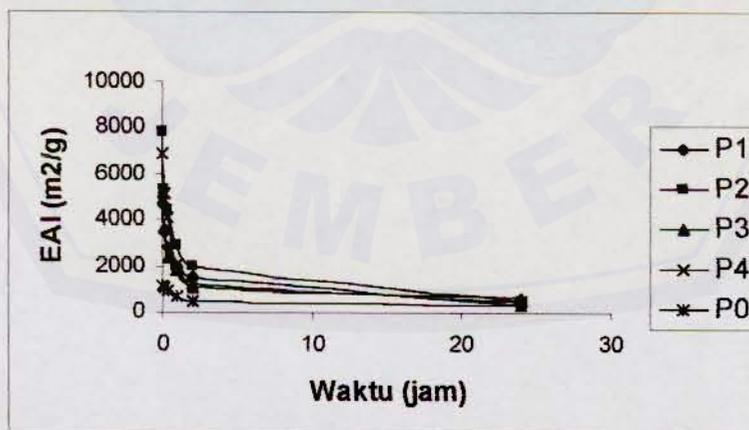
Lama inkubasi atau waktu hidrolisa menghasilkan daya kelarutan yang berbeda. Semakin lama waktu inkubasi akan meningkatkan kalarutan (dari grafik kelarutan $P2 > P1$), akan tetapi pada P3 (inkubasi 1,5 jam) dan P4 (inkubasi 2 jam) mengalami penurunan kelarutan. Menurut Christantina (2004), perbedaan kelarutan dengan perbandingan waktu hidrolisa disebabkan dengan semakin lama waktu hidrolisa akan menambah jumlah gugus hidrofobik dari protein. Dengan meningkatnya gugus hidrofobik akan menurunkan dominasi gugus hifrofilik sehingga rasio jumlah gugus hidrofil dan hidrofob menurun dan daya kelarutannya menurun.

Modifikasi menggunakan enzim Protease terhadap isolat protein koro pedang dapat memperbaiki sifat daya kelarutan. Hal ini tentunya akan memperbesar peluang isolat protein koro pedang termodifikasi sebagai bahan tinambah pada produk olahan pangan. Adapun penggunaan isolat protein koro

pedang termodifikasi terhadap produk makanan maupun minuman perlu disesuaikan dengan karakteristik produk pangan tersebut. Untuk produk makanan maupun minuman yang mempunyai pH kisaran 4 – 6 akan lebih baik digunakan IPKPM pada lama inkubasi 1 jam (P2) karena daya kelarutan yang lebih tinggi. Menurut Zayas (1997), pada produk makanan dan minuman yang bersifat cair akan lebih baik bila digunakan isolat protein yang memiliki kelarutan yang tinggi.

4.3.2 Daya Emulsi dan Stabilitas Emulsi

Kemampuan protein untuk membentuk emulsi dan untuk menstabilkan emulsi yang terbentuk dapat dinyatakan sebagai aktivitas emulsi atau EAI (*Emulsifying Activity Index*). Aktivitas emulsi dinyatakan sebagai area interfacial (antar permukaan) maksimal per gram protein yang dapat distabilkan. Kapasitas emulsi merupakan kemampuan larutan atau suspensi protein untuk mengemulsikan minyak yaitu jumlah minyak yang dapat diemulsi pada kondisi tertentu per 1 gram protein. Kapasitas emulsi tergantung dari kemampuan protein untuk membentuk film penyerap disekitar globula lemak dan kemampuan untuk menurunkan tegangan permukaan antar muka minyak air. Protein merupakan senyawa aktif permukaan karena kapasitasnya untuk menurunkan tegangan permukaan antara komponen hidrofil dan hidrofob pada makanan (Zayas, 1997). Hasil analisa aktivitas emulsi dapat dilihat pada **Gambar 12**.

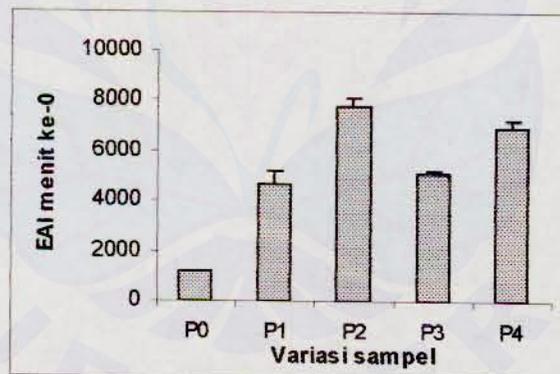


Gambar12. Grafik Hubungan EAI dengan waktu

Dari Gambar 12 aktivitas emulsi dari IPKPM lebih tinggi dibanding dengan aktivitas emulsi dari IPKP sebagai akibat adanya pengaruh hidrolisa secara enzimatis yang berpengaruh juga pada peningkatan daya kelarutan. Menurut Zayas (1997), peningkatan aktivitas emulsi juga dapat dipengaruhi oleh jumlah kandungan asam amino non polar (hidrofobik) yang besar. Protein dengan gugus hidrofobik akan diabsorpsi pada antarmuka minyak-air yang kemudian protein akan menurunkan tegangan antar permukaan dan membentuk emulsi. Keseimbangan hidrofil dan hidrofob penting dalam emulsi, gugus hidrofil akan berikatan dengan air sedangkan hidrofob (lipofilik) akan berikatan dengan lemak.

Dari grafik hubungan EAI dengan waktu pada Gambar 6, perbandingan EAI pada IPKPM dengan adanya perbedaan lama inkubasi kurang bisa diamati sehingga perlu kita ketahui daya emulsi dari masing-masing variasi sampel dimana daya emulsi dinyatakan sebagai nilai EAI pada menit ke-0.

Hasil analisa daya emulsi pada P0, P1, P2, P3, P4 berturut-turut adalah 1165,55, 4664,96, 7790,59, 5129,24, 6092,41 (m^2/gr). Dalam bentuk histogram dapat dilihat pada **Gambar 13**.



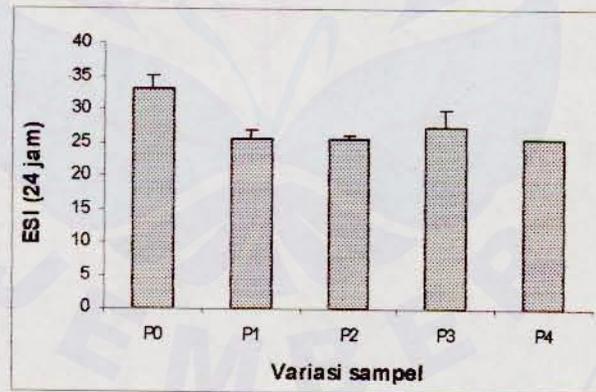
Gambar 13. Histogram Daya Emulsi pada IPKP dan IPKPM

Dari Gambar 13 terlihat adanya perbedaan daya emulsi dengan perbedaan waktu hidrolisa berhubungan dengan sifat kelarutannya dimana rasio hidrophobik dan hidrofilik meningkat. Menurut Zayas (1997), protein dapat membentuk membran/film disekitar globula minyak dan menurunkan tegangan antarmuka air dan minyak. Permukaan film terbentuk sebagai hasil difusi dan penyerapan

molekul protein. Hal ini dipengaruhi oleh kapasitas protein untuk berdifusi pada antar muka dan dipercepat dengan kelarutan protein, dimana penyerapan tergantung dari gugus polar dan nonpolar dari protein. Protein dengan adanya gugus hidrofobik mempunyai potensi yang lebih baik dalam penyerapan pada antarmuka daripada gugus hidrofilik. Pada saat molekul protein berpenetrasi pada antarmuka akan terjadi pembukaan molekul protein yang memungkinkan protein menyebar untuk melingkupi permukaan sehingga terbentuk film.

Stabilitas emulsi (ESI) merupakan kemampuan sistem emulsi untuk mempertahankan dispersi tanpa pemisahan oleh karena pembentukan krim, gumpalan (koalesen) dan *flokulasi*. Untuk membentuk emulsi yang stabil, material protein harus memperhatikan kelarutan, mempunyai kemampuan menyerap dengan baik pada antar muka dan dapat mendistribusikan gugus bermuatan dan dapat membentuk kohesif yang kuat.

Hasil analisa ESI pada variasi sampel P0, P1, P2, P3, P4 menunjukkan nilai ESI pada lama waktu pembacaan 24 jam berturut-turut sebesar 33,17 jam, 25,72 jam, 25,66 jam, 27,45 jam, dan 25,59 jam. Histogram dapat dilihat pada **Gambar14**.



Gambar 14. Histogram Stabilitas Emulsi (ESI)

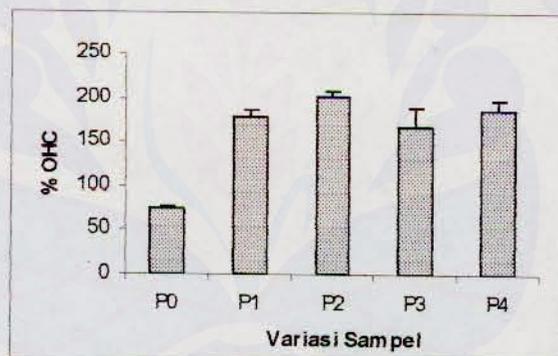
Dari Gambar 14 terlihat bahwa pada IPKP mempunyai stabilitas emulsi yang lebih tinggi daripada stabilitas pada IPKPM. Pada lama waktu hidrolisa semakin panjang tidak terjadi peningkatan stabilitas emulsi. Hal ini karena daya emulsi yang tinggi tidak selalu memberikan stabilitas emulsi yang lebih besar.

Stabilitas emulsi tergantung pada karakteristik film yang dibangunnya pada antarmuka minyak dan air. Menurut Zayas (1997) stabilitas emulsi protein berkaitan dengan muatan elektrik yang besar dan lebih banyak gugus hidrofilik-lipofilik pada struktur protein yang dapat meningkatkan interaksi protein lemak dan protein air.

4.3.3 Oil Holding Capacity

Oil Holding Capacity (OHC) merupakan kemampuan protein untuk menyerap dan menahan minyak. Menurut Kinsella *et al* (1985), penyerapan minyak dilakukan oleh sisi non polar protein dan merupakan sisi primer untuk interaksi protein-lemak.

Hasil analisa *Oil Holding Capacity* diperoleh nilai OHC pada masing-masing sampel P0, P1, P2, P3, P4 berturut-turut sebesar 73,36%, 178,14%, 200,49%, 166,56%, dan 186,28%. Histogram dapat dilihat pada **Gambar 15**.



Gambar 15. Histogram *Oil Holding Capacity* (OHC)

Dari Gambar 15 terlihat nilai OHC mengalami peningkatan dengan adanya modifikasi enzimatik. Hal ini berhubungan dengan daya kelarutan dan daya emulsinya. Pada P2 mempunyai nilai OHC yang paling tinggi dan berhubungan dengan sifat kelarutan dan daya emulsi yang relatif tinggi disebabkan gugus hidrofobik lebih besar sehingga dapat meningkatkan daya pengikatan protein terhadap lemak. Pada pertambahan lama waktu inkubasi P3 dan P4 mengalami peningkatan OHC hal ini juga berhubungan dengan penurunan kelarutannya. Dari Grafik tersebut menunjukkan peningkatan tidak linear antara nilai OHC dan lama

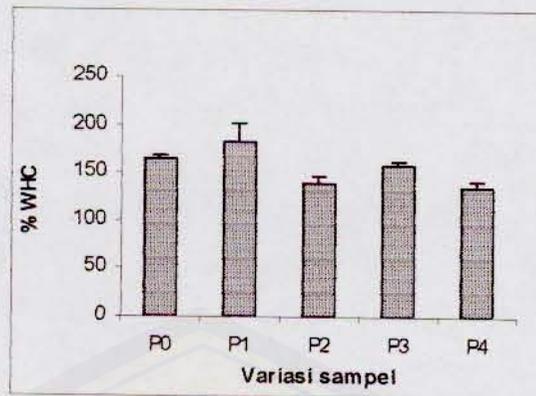
hidrolisa. Hal tersebut diduga akibat pengaruh enzim Protamex yang merupakan enzim *endopeptidase* sehingga jenis dan posisi polipeptida dihidrolisa tidak pasti, begitu juga jumlah gugus hidrofobik yang terlipat keluar. Menurut Zayas (1997) protein tidak larut dan bersifat hidrofob mempunyai kapasitas menyerap lemak yang tinggi, biasanya produk dengan kelarutan nitrogen yang rendah mempunyai kapasitas menyerap lemak yang tinggi. Pembentukan protein lemak kompleks terjadi saat proses emulsi stabil

Pada IPKP mempunyai nilai OHC yang lebih rendah daripada IPKPM. Nilai OHC IPKP tersebut sesuai dengan sifat kelarutan dan daya emulsinya yang lebih rendah dari IPKPM. Hal ini dapat disebabkan karena tanpa adanya hidrolisa, asam amino protein masih dalam keadaan berikatan (polipeptida) sehingga jumlah gugus nonpolar kecil dan nilai OHC lebih rendah sedangkan dengan adanya hidrolisis protein akan menghasilkan peptida, asam amino dan terjadi peningkatan gugus polar maupun nonpolar sehingga nilai OHC lebih tinggi.

4.3.4 Water Holding Capacity

Water Holding Capacity (WHC) merupakan kemampuan protein untuk menyerap air dan menahannya dalam suatu sistem pangan (Sugijanto dan Manulang, 2001). Kemampuan protein untuk mengikat dan menahan air dikarenakan adanya interaksi antara molekul air dengan protein melalui ikatan hidrogen. Struktur air ditahan oleh protein dengan ikatan hidrogen diantara grup polipeptida dari protein. Kemampuan daya ikat air protein berhubungan dengan gugus hidrofilik polar seperti gugus imino, amino, karboksil, hidroksil, karbonil dan sulfidril. Kapasitas protein untuk mengikat air dipengaruhi oleh tipe dan jumlah gugus polar pada rantai polipeptidanya (Zayas, 1997).

Hasil analisa *Water Holding Capacity* pada IPKP dan IPKPM dengan variasi sampel P0, P1, P2, P3, P4 mempunyai nilai WHC berturut-turut sebesar 164,58%, 181,22%, 137,79%, 158,72%, 135,65%. Dalam bentuk histogram dapat dilihat pada **Gambar 16**.



Gambar 16. Histogram *Water Holding Capacity* (WHC)

Berdasarkan Histogram WHC pada Gambar 16 persentase dari WHC pada IPKPM dan WHC IPKP tidak menunjukkan peningkatan linear. Hal ini dapat dipengaruhi beberapa faktor antara lain konsentrasi protein atau asam amino, pH, Kekuatan ion dan efek panas. Konsentrasi protein yang lebih tinggi mempunyai nilai WHC yang lebih tinggi. Peningkatan kemampuan mengikat air berdasarkan kandungan protein bersifat tidak linear bergantung dari faktor-faktor lain seperti suhu dan pH (Zayas, 1997).

Pada P0 atau isolat protein koro pedang tanpa modifikasi mempunyai nilai WHC yang relatif lebih besar, hal ini berkaitan dengan jumlah gugus polar yang bersifat hidrofilik yang lebih banyak yang dapat dipengaruhi proses sebelumnya seperti perlakuan vacum evaporator yang mempunyai efek panas dengan suhu rendah. Kemudian pada inkubasi selama 0,5 jam dapat meningkatkan nilai WHC karena proses hidrolisa menghasilkan asam amino atau peptida sehingga gugus hidrofilik bertambah banyak.

Pada IPKPM dengan variasi sampel P2, P3 dan P4 mempunyai nilai WHC naik turun. Hal ini menurut Christantina (2004) dapat disebabkan pemutusan ikatan peptida atau hidrolisis menggunakan enzim protamex terjadi secara acak, sehingga jenis dan posisi ikatan peptida yang dihidrolisa tidak pasti dan tidak selalu sama.

Peningkatan nilai WHC melalui proses hidrolisis dapat disebabkan karena ikatan peptida yang terputus makin banyak. Hal ini menyebabkan rantai peptida

akan makin pendek dan gaya tarik-menarik polipeptida pada protein makin lemah. Akibatnya terjadi peningkatan gugus hidrofilik dan air lebih mudah terperangkap dalam matriks protein. Sedangkan penurunan nilai WHC pada lama inkubasi tertentu disebabkan terlalu banyak rantai peptida yang terurai oleh aktivitas enzim sehingga matriks sudah tidak terbentuk lagi dan jumlah padatan tidak fungsional meningkat (terjadi konformasi protein).

4.3.5 Daya Buih

Buih merupakan suatu bahan yang terdispersi yang mengandung cairan koloid sebagai media pendispersi dan udara atau gas sebagai media terdispersi. Protein memiliki kemampuan untuk membentuk buih yang penting dalam produksi berbagai jenis produk pangan. Kemampuan protein dalam pembentukan buih dikarenakan protein memiliki karakteristik yang khas pada lapisan batas antara dua fase (udara dan air) sehingga memiliki kemampuan seperti surfaktan, yaitu kapasitas untuk menurunkan tegangan permukaan (Sugijanto dan Manulang, 2001).

Tabel 8. Daya dan Stabilitas Buih pada IPKP dan IPKPM

Perlakuan	Daya buih (ml/gr)	Stabilitas buih (%)
P0	110 ± 0,2	nd
P1	nd	nd
P2	nd	nd
P3	nd	nd
P4	nd	nd

Keterangan: nd = not detected

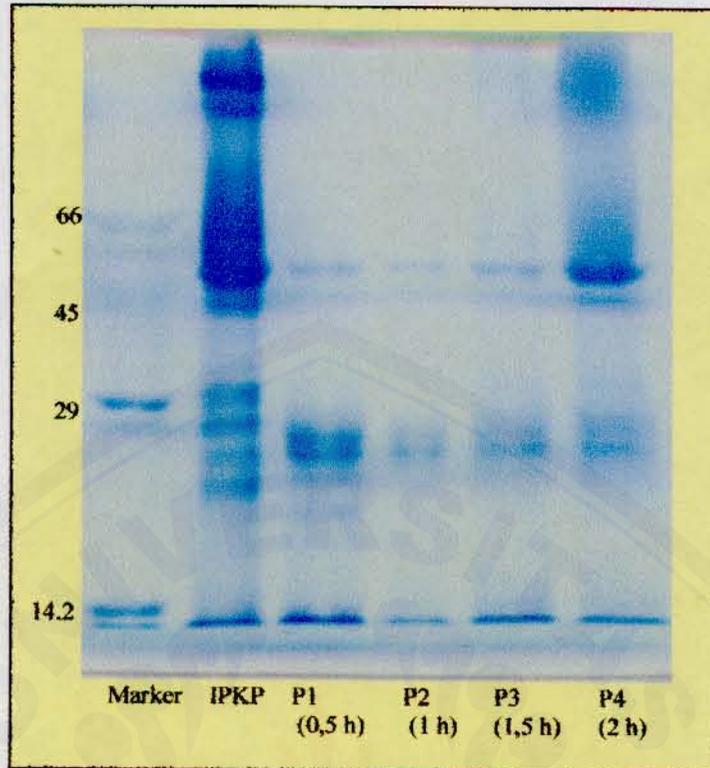
Dari hasil analisa pada tabel 8 terjadi penurunan daya buih pada isolat protein koro pedang dimodifikasi. Hal ini dapat disebabkan adanya gugus hidrofilik yang lebih besar daripada hidrofobik. Menurut zayas (1997), adanya gugus hidrofobik pada antar muka memfasilitasi asosiasi polipeptida yang akan memproduksi buih dengan stabilitas tinggi.

Adanya ikatan disulfida akan menurunkan kemampuan protein dalam pembuihan, karena ikatan disulfida mempengaruhi kemampuan adsorpsi protein pada antar muka air dan udara. Semakin banyak ikatan disulfida yang terbentuk maka daya buih akan semakin rendah (Hettiarachy, 1994). Daya buih yang relatif kecil pada IPKP maupun IPKPM tidak cocok digunakan pada produk-produk pangan yang membutuhkan sifat fungsional daya buih, seperti cake dan es krim.

4.4 Elektroforesis

Elektroforesis digunakan untuk mengetahui BM dari fraksi-fraksi penyusun protein. Adanya SDS dan 2-merkaptotanol serta pemanasan akan memecah struktur tiga dimensi dari protein, terutama ikatan disulfida menjadi subunit-subunit polipeptida secara individual. SDS dan protein akan membentuk ikatan kompleks disebabkan SDS akan membungkus rantai polipeptida yang tidak terikat dengan muatan negatif yang sama. SDS protein mempunyai muatan yang sama sehingga pergerakan kompleks pada gel tidak dipengaruhi oleh besarnya muatan melainkan berdasarkan ukuran molekul protein. Molekul SDS-protein yang lebih besar akan bergerak lebih lambat dibandingkan dengan kompleks yang lebih kecil. Hasil pergerakan tersebut terlihat pada **Gambar 17**.

Pengukuran berat molekul dari protein dapat dihitung dengan menggunakan kit penciri protein (marker) berat molekul (BM) rendah yang sudah diketahui BM-nya. Nilai Rf dari marker dapat diukur dari jarak perpindahan sampel dibagi jarak perpindahan pelarut. Hasil perhitungan Rf dari merker dapat dilihat pada **Tabel 9**.



Gambar 17. SDS PAGE Elektrofesis IPKP dan IPKPM

Tabel 9. Mobilitas Relatif (Rf) dan BM pada Marker

Komponen marker	BM (kD)	Rf
Albumin (Bovine serum)	66	0.35
Albumin (Chicken egg)	45	0.45
Carbonic anhydrase	29	0.63
α Lactalbumin	14.2	0.97

Dari kedua variabel dapat diperoleh kurva standar dengan log BM sebagai Y dan Rf sebagai X yaitu $\text{Log BM} = -1.0442x + 5.1484$. persamaan tersebut digunakan untuk mengetahui BM IPKP dan IPKPM. Nilai Rf dan BM dari IPKP dan IPKPM dapat dilihat pada Tabel 10.

Fraksi pada protein tersebut terdiri dari fraksi mayor dan fraksi minor dimana fraksi mayor menunjukkan intensitas dan ketebalan warna yang lebih besar dibandingkan dengan fraksi minor. Fraksi mayor juga menunjukkan bahwa konsentrasi yang terkandung dalam protein tersebut tergolong tinggi (widowati dan Wijaya, 1997).

Tabel 10. Mobilitas Relatif (Rf) dan Perkiraan BM IPKP dan IPKP modifikasi

No.	IPKP		0.5 h		1 h		1.5 h		2 h	
	Rf	BM (KD)	Rf	BM (KD)	Rf	BM (KD)	Rf	BM (KD)	Rf	BM (KD)
1	0.14	99.30	0.45	47.69	0.45	47.69	0.45	47.69	0.45	47.69
2	0,45	47.69	0.71	25.53	0.71	25.53	0.71	25.53	0.71	25.53
3	0,64	29.85	0.73	24.33	0.73	24.33	0.73	24.33	0.73	24.33
4	0,68	27.44	0.82	19.59						
5	0,81	20.07								

Dari hasil elektroforesis yang dilakukan terhadap IPKP dan IPKPM, terdapat perubahan terhadap fraksi-fraksi protein IPKP akibat modifikasi enzimatis yang dilakukan. Pada awalnya IPKP memiliki 1 fraksi mayor dan 4 fraksi minor yang nilai BM nya tersebar. Sedangkan pada IPKPM, terdapat 3 fraksi minor dengan nilai BM yang hampir sama. Hal ini menunjukkan bahwa adanya hidrolisa oleh enzim protease yang digunakan menyebabkan IPKPM mempunyai BM yang lebih rendah daripada IPKP. Akan tetapi pada IPKPM dengan lama hidrolisa 0,5 jam mempunyai 4 fraksi minor yang tersebar Hal ini dipengaruhi derajat hidrolisa yang kecil pada lama hidrolisa 0.5 jam. Penurunan fraksi-fraksi protein penyusunnya disebabkan adanya pemutusan ikatan peptida oleh enzim selama hidrolisa berlangsung.

Modifikasi enzimatis menyebabkan isolat protein koro pedang memiliki peluang untuk digunakan sebagai bahan tambahan pada produk makanan cair maupun minuman. Akan tetapi modifikasi enzimatis ini juga menyebabkan IPKP yang semula sesuai untuk digunakan sebagai bahan tambahan pada beberapa produk, misalnya cake, menjadi tidak cocok digunakan karena perubahan sifat fungsionalnya. Untuk menentukan waktu hidrolisa yang memberikan perbaikan sifat fungsional terbaik, tergantung pada tujuan pengaplikasian IPKPM pada produk pangan tertentu.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.2 Kesimpulan

1. Modifikasi enzimatis IPKP dengan ProtamexTM memberikan perbaikan pada beberapa sifat fungsionalnya, tetapi juga menurunkan beberapa sifat fungsional yang lainnya, yaitu peningkatan daya emulsi, OHC dan kelarutan, serta penurunan daya buih dan WHC serta stabilitas emulsi adanya hidrolisa juga menyebabkan BM fraksi-fraksi protein penyusunnya lebih rendah.
2. Peningkatan paling tinggi dari kelarutan dan daya emulsi adalah pada lama hidrolisa 1jam.
3. Semakin lama hidrolisa terjadi peningkatan OHC maupun WHC dan terjadi penurunan daya emulsi dan kelarutan serta penurunan warna menjadi semakin gelap dan mengarah ke kuning.
4. Modifikasi enzimatis IPKP dengan enzim Protamex pada lama hidrolisa 0 jam, 0,5 jam, 1 jam, 1,5 jam, 2 jam menghasilkan derajat hidrolisa berturut-turut 4,76%, 4,90%, 5,59%, 5,65%, 5,76 %. Waktu hidrolisa yang terbaik tergantung dari tujuan pengaplikasian IPKPM pada produk pangan.

5.2 Saran

Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai pengaplikasian isolat protein koro pedang yang termodifikasi pada produk pangan yang sesuai seperti produk minuman dan makanan cair

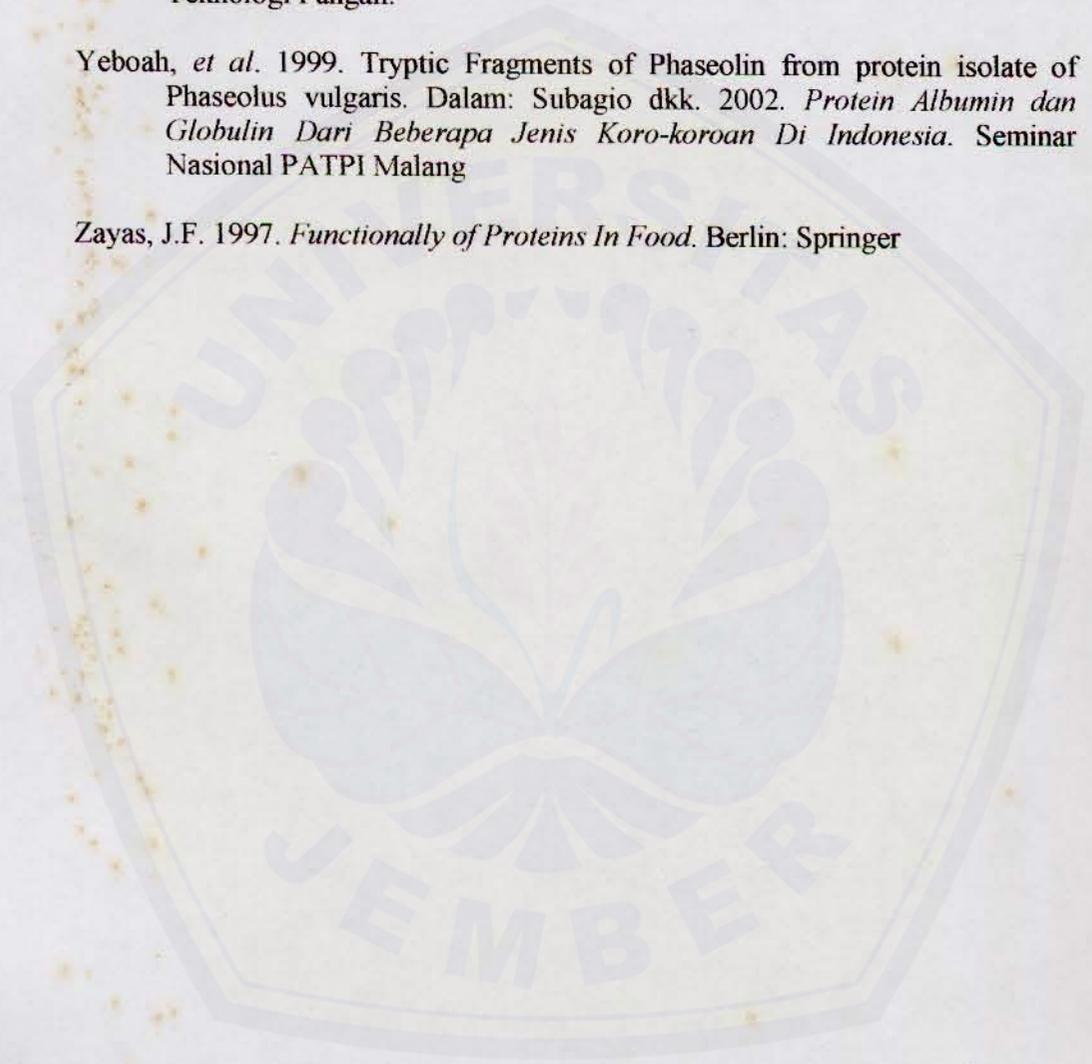
DAFTAR PUSTAKA

- Apriyantono, Anton, Fardia Z.D, Niluh P. 1989. *Analisis Pangan*. Bogor: PAU Pangan dan Gizi IPB.
- Akrapunam, M.A., and Sefa-dede, S. 1997. Some Physicochemical Properties and Anti Nutritional Factors of Raw, Cooked and Germinated Jackbean (*Canavalia ensiformis*) Food chem, 59: 121-125
- Alder-Nissen, J. 1979. *Determination Of The Degree Of Hydrolysis Of Food Protein Hydrolysates By Trinitrobenzenesulfonate Acid*. Journal of Agricultural Food Chemistry. 27, 1256-1262.
- Altschul, Aaron M and Harold L. Wilcke. 1985. *New Protein Foods*. Dalam Rusdianto, A.S. 2004. *Karakterisasi Biji dan Protein Koro Komak (Lablab purpureus (L.) Sweet) Sebagai Sumber Protein*. Jember: FTP Unej
- Copeland, R.A. 1994. *Methods for Protein Analysis*. New York: Chapman and Hall
- Cheryan, M., T. D McCune., A. I Nelson., dan L. K Ferrier. 1976. Preparation and Properties of Soy-Fortified Cereal Weaning Foods. Dalam: Christantina, N. 2004. *Modifikasi Enzimatis Isolat Protein Koro Komak (Lablab purpureus (L.) Sweet) dengan Enzim ProtamexTM Untuk Memperbaiki Sifat Fungsionalnya*. Jember: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian FTP Unej.
- Cheryan, M. 2004. *Enzymatic Modification Of Functional Properties Of Soy Proteins*. http://www.ag.uluc.edu/~stratsoy/ispob_db/lor_html/225.html.
- Colby. 1996. *Ringkasan Biokimia Harper (Biochemistry: A Synopsis)*. Jakarta: EGC
- Clemente, A., Vioque, J., Sanchez-Vioque, R., Pedroche, J. Bautista, J. and Millan, F., 1996. *Protein Quality of Chickpea (Cicer arietanum L.) protein hydrolysates*. Food Chem., 67:269-274
- Damodaran, S. 1997. *Food Proteins and Their Applications*. New York: Marcell Dekker. Inc
- Friedman, M. 1996. Nutritional value of proteins from different food sources. Dalam Subagio, A, Wiwik Siti Windrati, Yuli Witono. 2002. *Protein Albumin dan Globulin dari Beberapa Jenis Koro-koroan di Indonesia*. Prosiding Seminar Nasional PATPI, Malang 30-31 Juli 2002

- Harrow, B and Abraham Mazur. 1962. *Text Book of Chemistry*. United States of America: W.B. Saunders Company
- Iwabuchi and Yamauchi. 1987. *Electrophoretic Analysis Of Whey Protein Present An Soybean Globulin Fraction*. Dalam Windrati S.W. 1999. *Studi Pembuatan tahu dengan Substitusi Non Kedelai dan Pengaruhnya Terhadap Perubahan Komposisi Globulin 7S dan 11S Serta Sifat-sifat Tahu*. Malang: Tesis. Program Pasca Sarjana Universitas Brawijaya Malang
- Koswara. 1995. *Teknologi Pengolahan Kedelai*. Jakarta: Pustaka Sinar Harapan
- Kinsella, J.E, Damodaran, S and German, B. 1985. Phicochemical and functional properties of oilseed protein with emphasis on soy proteins. Dalam Altschul, AM. And Wilcke, H.L (eds). *New Protein Foods*. Academic press, Inc, New York., PP: 107-179
- Maesen dan Somaatmadja. 1993. *Prosea, Sumber Daya Nabati Asia Tenggara I*. Jakarta: gramedia Pustaka Utama
- Matthews, R.H. 1989. *Legumes, Chemistry, Technology and Human Nutrition*. United states of America: Marcell Dekker. Inc
- Marsili, R. 1993. Protein Power. Functionality and Versuality. <http://www.foodproductdesign.com/archive/1993/0993ap2.html>.
- Newman, C.W., Roth, N.R. and Lockermen, R.H. 1987. *Protein Quality of Chickpea (Cicer arietinum L.)*. Dalam Subagio, A, Wiwik Siti Windrati, Yuli Witono. 2002. *Protein Albumin dan Globulin dari Beberapa Jenis Koro-koroan di Indonesia*. Prosiding Seminar Nasional PATPI, Malang 30-31 Juli 2002
- Novozymes A/S. 2002. Product Sheet ProtamexTM. <http://www.novozymes.com>
- Nielsen, N.C. 1985. *Structure of Soy Proteins*. Dalam Subagio, A, Wiwik Siti Windrati, Yuli Witono. 2002. *Protein Albumin dan Globulin dari Beberapa Jenis Koro-koroan di Indonesia*. Prosiding Seminar Nasional PATPI, Malang 30-31 Juli 2002
- Parkington, Xiong., Blanchard, Srinivasan, and Froning. 2000. *Chemical And Functional Properties Of Oxidatively Modified Beef Heart Surimi Stored at 2^o C*. Food Hemistry and Toxicology Vol. 65 no.3:428-433
- Rubatzky, V.E dan Mas Yamauguchi. 1998. *Sayuran Dunia 2*. Bandung: ITB Bandung

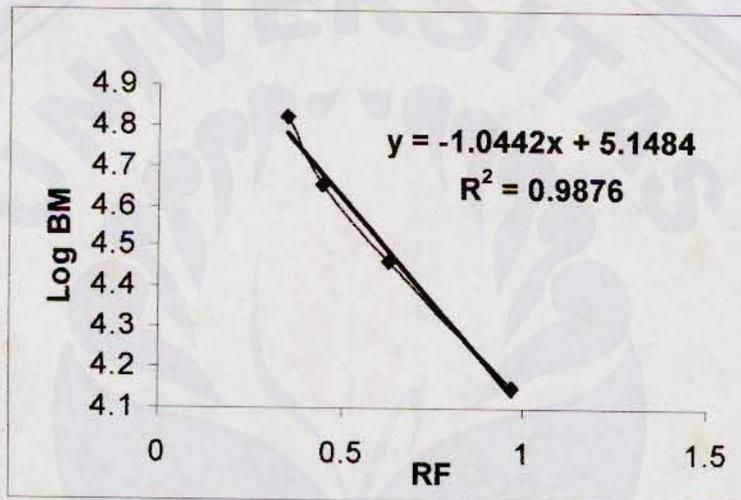
- Robert, E.A. 1985. *Grain Legume Crops*. London. Collin
- Richardson. 1975. Dalam Marsili, R. 1993. *Protein Power. Functionality and Versuality*. <http://www.foodproductdesign.com/archive/1993/0993ap2.html>
- Sackleim, G.I and Schultz, R.M. 1977. *Chemistry for The Health Science*. New York: Macmillan Publishing Co.Inc
- 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. 1988. *Kimia dan Teknologi Protein*. PAU. Pangan dan Gizi. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada
- Staf Pengajar Analisis Hasil Pertanian. 2002. *Petunjuk Praktikum Analisis Hasil Pertanian*. Jember: FTP Unej
- Staf Pengajar Biokimia. 2000. *Buku Ajar Biokimia I*. Jember: FTP Unej
- 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. *Pengaruh Penambahan Isolat Protein Koro Pedang (Canavalia ensiformis L.) Terhadap Karakteristik Cake*. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan Vol XIV no.2: 136-143
- , 2003. *Pengembangan Kekara Sebagai Sumber Protein Untuk Mencukupi Kebutuhan Pangan Di Daerah Marginal*. Jember: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian FTP Unej.
- Schumm, Dorothy E. 1992. *Intisari Biokimia*. Jakarta: Binarupa Aksara
- Utomo, J. S. 1999. *Teknologi Pengolahan Dan Produk-Produk Olahan Kacang Komak*. Prosiding Seminar Nasional Pangan. Yogyakarta
- Van der Ven, C. 2002. *Biochemical and Functional Characterisation of Casein and Whey Protein Hidrolysates*. Netherlands: Wageningen University.
- Winarno, F.G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama
- , 1983. *Enzim Pangan*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama

- Wijeretne., W.B dan Nelson, A.E. 1987. Utilisation of legumes as food. Dalam: Gatot, SAF dan Joko S. Utomo. 2002. *Optimasi Biji Komak Dengan Alat Pengupas Tipe Abrasiv*. Jurnal Teknologi Tanaman kacang-kacangan dan Umbi-umbian: Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Badan Penelitian Pengembangan Pertanian.
- Widowati, S dan S.K.S, Wijaya. 1997. *Isolasi dan Karakterisasi Globulin 7S dan 11S dari Sepuluh Varietas Kedelai Indonesia*. Prosiding Seminar Teknologi Pangan.
- Yeboah, *et al.* 1999. Tryptic Fragments of Phaseolin from protein isolate of *Phaseolus vulgaris*. Dalam: Subagio dkk. 2002. *Protein Albumin dan Globulin Dari Beberapa Jenis Koro-koroan Di Indonesia*. Seminar Nasional PATPI Malang
- Zayas, J.F. 1997. *Functionally of Proteins In Food*. Berlin: Springer



Lampiran 1. Kurva Standar Elektroforesis

Rf	Log BM
0.35	4.819544
0.45	4.653213
0.63	4.462398
0.97	4.152288

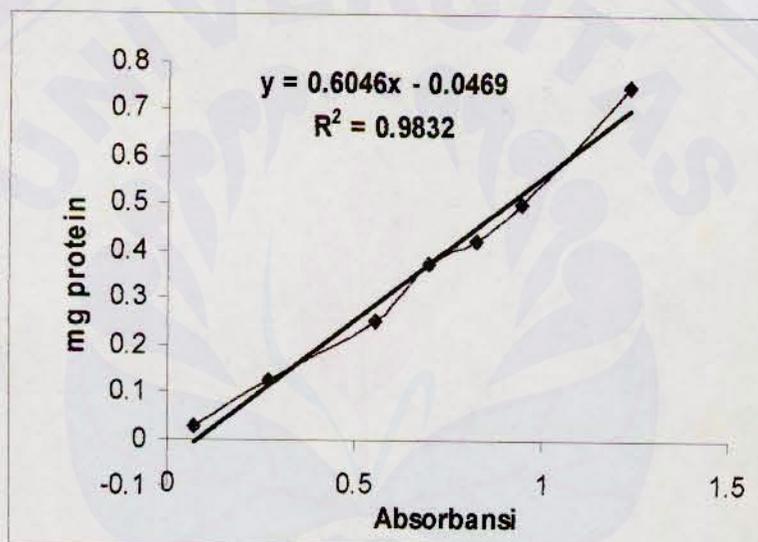




Unit Perpustakaan
UNIVERSITAS JEMBER

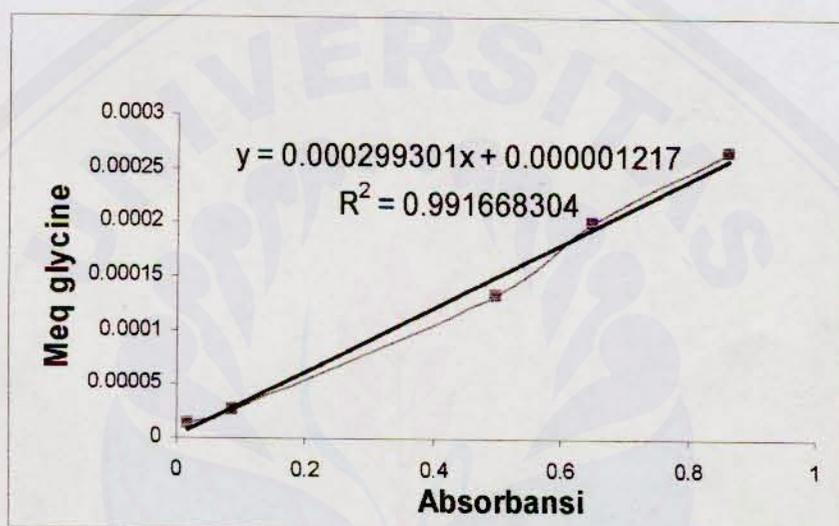
Lampiran 2. Kurva Standar BSA (Lowry)

Absorbansi	mg protein
0.07	0.025
0.269	0.125
0.554	0.25
0.698	0.375
0.823	0.425
0.944	0.5
1.238	0.75



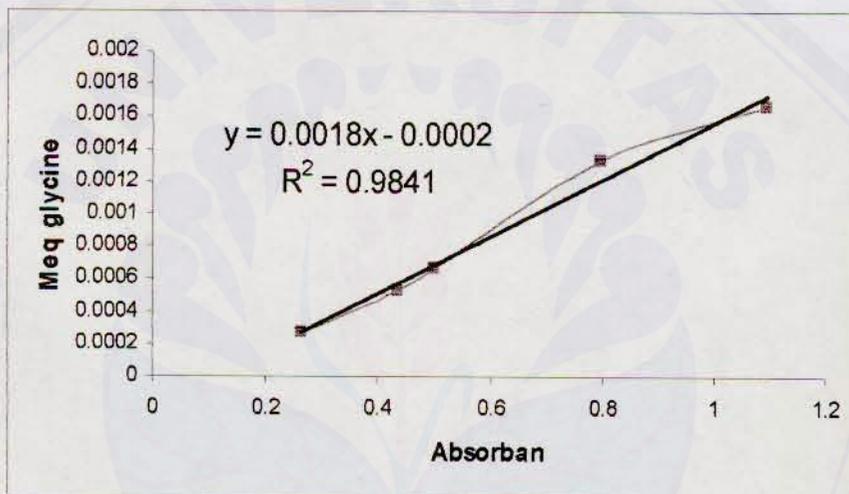
Lampiran 3. Kurva Standar Glycine (h)

Abs	meq	ug
0.018	1.33E-05	1
0.086	2.66E-05	2
0.498	0.000133	10
0.651	0.0002	15
0.863	0.000266	20



Lampiran 4. Kurva Standar TNBS (h total)

Meq	mg	abs
0.000266418	20	0.265
0.000532836	40	0.435
0.000666045	50	0.499
0.00133209	100	0.797
0.001665113	125	1.095



Lampiran 5. Data Analisa Warna dengan Color Reader

Sampel P0

ulangan	dE	dL	da	db	L	a*	b*	c*	H	W
1	11.90	-6.50	2.00	9.70	87.85	-3.75	16.21	16.64	103.03	79.40
2	11.00	-6.20	1.80	8.90	88.15	-3.95	15.41	15.91	104.38	80.16
3	12.30	-7.40	2.10	9.60	86.95	-3.65	16.11	16.52	102.77	78.95
4	11.40	-6.50	2.00	9.20	87.85	-3.75	15.71	16.15	103.43	79.79
5	11.80	-6.30	2.10	9.70	88.05	-3.65	16.21	16.62	102.69	79.53
6	11.80	-6.50	2.00	9.60	87.85	-3.75	16.11	16.54	103.10	79.48
7	11.10	-6.20	2.00	9.00	88.15	-3.75	15.51	15.96	103.59	80.12
8	11.80	-6.70	2.00	9.50	87.65	-3.75	16.01	16.44	103.18	79.44
9	11.20	-6.40	1.90	9.00	87.95	-3.85	15.51	15.98	103.94	79.99
jumlah	104.30	-68.70	17.90	84.20	790.46	-33.85	142.79	146.75	930.10	716.86
rata-rata	11.59	-6.52	1.99	9.36	87.83	-3.76	15.87	16.31	103.34	79.65
SD	0.43	0.37	0.09	0.33	0.37	0.09	0.33	0.30	0.56	0.40

Sampel P1

ulangan	dE	dL	da	db	L	a*	b*	c*	H	W
1	14.80	-11.10	2.90	9.30	83.25	-2.85	15.81	16.06	100.22	76.79
2	14.70	-11.10	3.00	9.10	83.25	-2.75	15.61	15.85	99.99	76.94
3	14.90	-11.30	3.00	9.20	83.05	-2.75	15.71	15.95	99.93	76.73
4	14.90	-11.30	3.10	9.20	83.05	-2.65	15.71	15.93	99.57	76.74
5	13.70	-10.50	2.80	8.40	83.85	-2.95	14.91	15.20	101.19	77.82
6	14.90	-11.30	3.00	9.30	83.05	-2.75	15.81	16.05	99.87	76.66
7	15.00	-11.40	3.00	9.30	82.95	-2.75	15.81	16.05	99.87	76.59
8	14.60	-10.80	3.10	9.20	83.55	-2.65	15.71	15.93	99.57	77.10
9	14.90	-11.40	3.00	9.10	82.95	-2.75	15.61	15.85	99.99	76.72
jumlah	132.40	-100.20	26.90	82.10	748.95	-24.85	140.69	142.87	900.21	692.08
rata-rata	14.71	-11.13	2.99	9.12	83.22	-2.76	15.63	15.87	100.02	76.90
SD	0.40	0.30	0.09	0.28	0.30	0.09	0.28	0.27	0.48	0.38

Sampel P2

ulangan	dE	dL	da	db	L	a*	b*	c*	H	W
1	17.50	-12.70	4.10	11.30	81.65	-1.65	17.81	17.89	95.29	74.37
2	17.40	-12.80	4.00	11.10	81.55	-1.75	17.61	17.70	95.68	74.43
3	16.50	-11.90	3.80	10.80	82.45	-1.95	17.31	17.42	96.43	75.27
4	17.00	-12.40	4.10	10.80	81.95	-1.65	17.31	17.39	95.45	74.94
5	17.30	-12.60	4.00	11.20	81.75	-1.75	17.71	17.80	95.64	74.51
6	16.80	-12.20	4.00	10.80	82.15	-1.75	17.31	17.40	95.77	75.07
7	17.30	-12.60	4.00	11.20	81.75	-1.75	17.71	17.80	95.64	74.51
8	16.30	-11.70	3.80	10.70	82.65	-1.95	17.21	17.32	96.46	75.48
9	16.70	-11.90	3.90	11.10	82.45	-1.85	17.61	17.71	96.00	75.07
jumlah	152.80	-110.80	35.70	99.00	738.35	-16.05	157.59	158.41	862.36	673.67
rata-rata	16.98	-12.31	3.97	11.00	82.04	-1.78	17.51	17.60	95.82	74.85
SD	0.43	0.40	0.11	0.22	0.40	0.11	0.22	0.22	0.41	0.41

Sampel P3

ulangan	dE	dL	da	db	L	a*	b*	c*	H	W
1	17.00	-12.50	3.90	10.90	81.85	-1.85	17.41	17.51	96.07	74.78
2	16.10	-11.90	3.70	10.20	82.45	-2.05	16.71	16.84	96.99	75.68
3	16.10	-11.80	3.80	10.20	82.55	-1.95	16.71	16.82	96.66	75.76
4	17.40	-12.90	4.20	10.90	81.45	-1.55	17.41	17.48	95.09	74.51
5	17.00	-12.50	4.10	10.70	81.85	-1.65	17.21	17.29	95.48	74.93
6	17.30	-12.80	4.00	11.00	81.55	-1.75	17.51	17.60	95.71	74.50
7	16.80	-12.30	4.00	10.60	82.05	-1.75	17.11	17.20	95.84	75.14
8	16.70	-12.30	3.90	10.60	82.05	-1.85	17.11	17.21	96.17	75.13
9	16.40	-12.00	4.10	10.40	82.35	-1.65	16.91	16.99	95.57	75.50
jumlah	150.80	-111.00	35.70	95.50	738.15	-16.05	154.09	154.93	863.57	675.95
rata-rata	16.76	-12.33	3.97	10.61	82.02	-1.78	17.12	17.21	95.95	75.11
SD	0.48	0.38	0.16	0.30	0.38	0.16	0.30	0.29	0.59	0.47

Sampel P4

ulangan	dE	dL	da	db	L	a*	b*	c*	H	W
1	16.70	-12.60	3.60	10.30	81.75	-2.15	16.81	16.95	97.29	75.09
2	16.10	-12.20	3.40	10.10	82.15	-2.35	16.61	16.78	98.05	75.50
3	17.30	-13.00	3.70	10.70	81.35	-2.05	17.21	17.33	96.79	74.54
4	16.80	-12.80	3.60	10.40	81.55	-2.15	16.91	17.05	97.25	74.88
5	16.30	-12.30	3.40	10.10	82.05	-2.35	16.61	16.78	98.05	75.43
6	16.20	-12.30	3.40	10.00	82.05	-2.35	16.51	16.68	98.10	75.50
7	17.10	-12.90	3.60	10.60	81.45	-2.15	17.11	17.24	97.16	74.67
8	16.60	-12.60	3.30	10.20	81.75	-2.45	16.71	16.89	98.34	75.13
9	16.50	-12.50	3.50	10.10	81.85	-2.25	16.61	16.76	97.71	75.29
jumlah	149.60	-113.20	31.60	92.60	736.95	-20.25	151.09	152.45	878.75	676.05
rata-rata	16.62	-12.68	3.50	10.28	81.77	-2.25	16.79	16.94	97.64	75.12
SD	0.40	0.28	0.13	0.24	0.28	0.13	0.24	0.23	0.53	0.36

Lampiran 6. Data Analisa Kelarutan (lowry) IPKP dan IPKPM**tanpa modifikasi**

ulangan 1

pH	Abs	Konsentrasi (mg)	Kelarutan (%)
2.02	0.696	0.374	77.456
3.02	0.759	0.412	85.346
4.01	0.551	0.286	59.295
4.53	0.052	-0.015	-3.203
5.03	0.069	-0.005	-1.074
6.04	0.111	0.020	4.187
7.04	0.614	0.324	67.186
8.02	0.857	0.471	97.620
9.02	0.876	0.483	100.000

ulangan 2

pH	Abs	Konsentrasi (mg)	Kelarutan (%)
2.02	0.668	0.357	68.303
3.08	0.656	0.350	66.915
4.08	0.229	0.092	17.518
4.54	0.116	0.023	4.445
5.08	0.146	0.041	7.916
6.03	0.246	0.102	19.484
7.01	0.753	0.408	78.136
8.03	0.914	0.506	96.761
9.02	0.942	0.523	100.000

Modifikasi 0,5 jam

ulangan 1

pH	Abs	Konsentrasi (mg)	Kelarutan (%)
2.01	0.812	0.444	73.485
3.03	0.449	0.225	37.164
4	0.327	0.151	24.957
4.53	0.383	0.185	30.560
5.03	0.406	0.199	32.862
6.04	0.787	0.429	70.983
7.04	0.911	0.504	83.391
8	0.924	0.512	84.691
9.02	1.029	0.575	95.197
10.04	1.077	0.604	100.000

Ulangan 2

pH	Abs	Konsentrasi (mg)	Kelarutan (%)
2.01	0.792	0.432	75.407
3.03	0.335	0.156	27.171
4.03	0.269	0.116	20.205
4.53	0.287	0.127	22.105
5.02	0.363	0.173	30.127
6.03	0.656	0.350	61.052
7.02	0.813	0.445	77.624
8.03	0.858	0.472	82.373
9.01	0.998	0.556	97.150
10.01	1.025	0.573	100.000

Modifikasi 1 jam

ulangan 1

pH	Abs	Konsentrasi (mg)	Kelarutan (%)
2.03	0.958	0.532	89.984
3.01	0.569	0.297	50.226
4	0.484	0.246	41.539
4.52	0.485	0.246	41.641
5.01	0.496	0.253	42.765
6.03	0.616	0.326	55.030
7.01	0.977	0.544	91.926
8	0.991	0.552	93.357
9.02	0.994	0.554	93.663
10.01	1.056	0.592	100.000

ulangan 2

pH	Abs	Konsentrasi (mg)	Kelarutan (%)
2.03	1.234	0.699	92.705
3.02	0.828	0.454	60.158
4.01	0.655	0.349	46.289
4.51	0.665	0.355	47.091
5.02	0.713	0.384	50.939
6.03	0.986	0.549	72.824
7.04	1.143	0.644	85.410
8.04	1.16	0.654	86.773
9.01	1.196	0.676	89.659
10.03	1.325	0.754	100.000

Modifikasi 1,5 jam

ulangan 1

pH	Abs	Konsentrasi (mg)	Kelarutan (%)
2.03	1.048	0.587	63.742
3.03	0.493	0.251	27.287
4	0.475	0.240	26.105
4.53	0.537	0.278	30.177
5.01	0.448	0.224	24.331
6.02	0.947	0.526	57.108
7.03	1.399	0.799	86.797
8.03	1.459	0.835	90.738
9.05	1.596	0.918	99.737
10.04	1.6	0.920	100.000

ulangan 2

pH	Abs	Konsentrasi (mg)	Kelarutan (%)
2.03	0.999	0.557	64.552
3.01	0.605	0.319	36.950
4.04	0.553	0.287	33.307
4.52	0.496	0.253	29.313
5	0.514	0.264	30.574
6.04	0.658	0.351	40.663
7.04	1.377	0.786	91.033
8	1.414	0.808	93.625
9.03	1.464	0.838	97.128
10.01	1.505	0.863	100.000

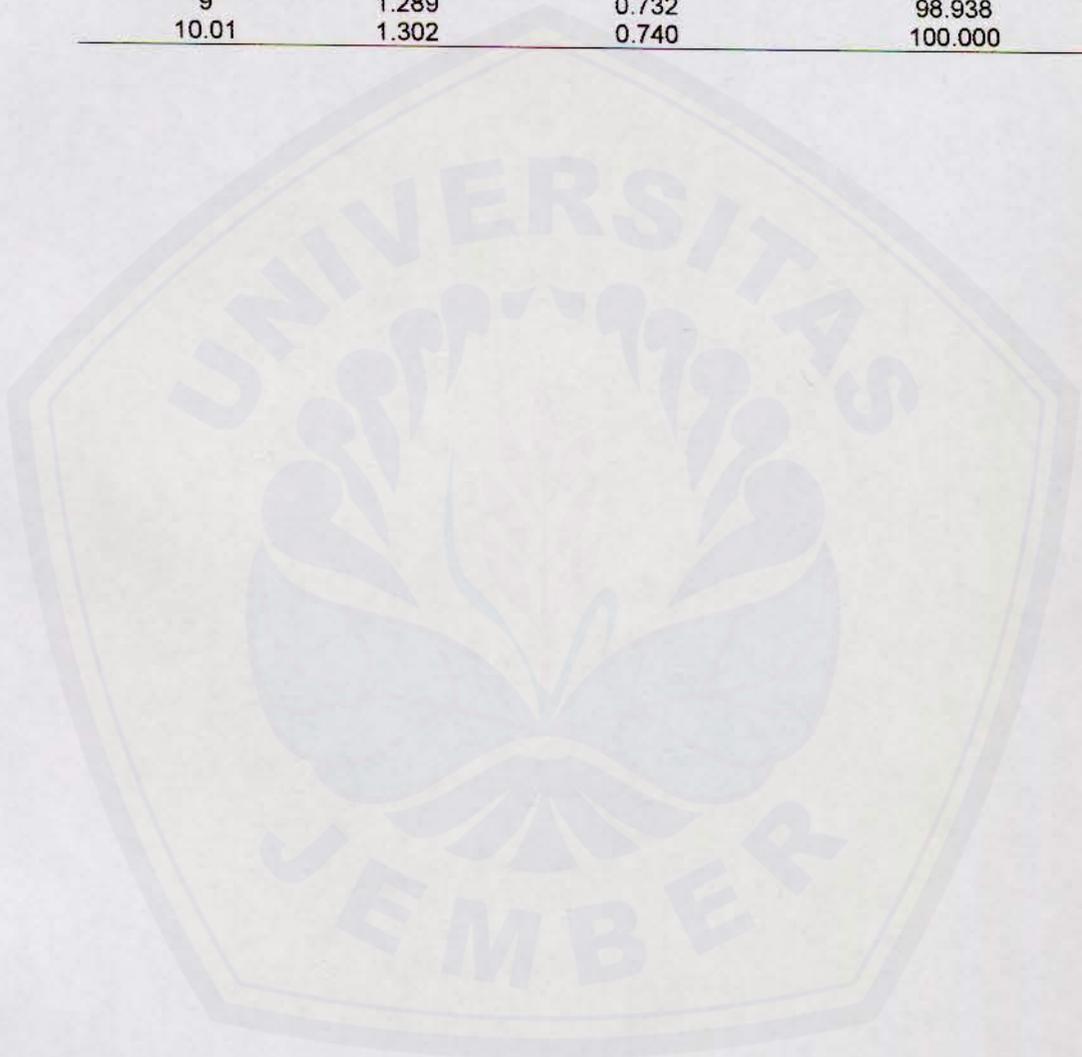
Modifikasi 2 jam

ulangan 1

pH	Abs	Konsentrasi (mg)	Kelarutan (%)
2.01	1.24	0.703	91.283
3.05	0.632	0.335	43.538
4	0.494	0.252	32.701
4.5	0.497	0.254	32.937
5	0.501	0.256	33.251
6.04	0.731	0.395	51.313
7.07	1.333	0.759	98.586
8	1.341	0.764	99.215
9.01	1.346	0.767	99.607
10.04	1.351	0.770	100.000

ulangan 2

pH	Abs	Konsentrasi (mg)	Kelarutan (%)
2.05	1.11	0.624	84.319
3.04	0.613	0.324	43.729
4.01	0.498	0.254	34.337
4.54	0.504	0.258	34.827
5.06	0.521	0.268	36.215
6.04	0.687	0.368	49.772
7.03	0.986	0.549	74.192
8.06	1.241	0.703	95.018
9	1.289	0.732	98.938
10.01	1.302	0.740	100.000



Lampiran 7. Data Analisa OHC (*Oil Holding Capacity*)

P0

ulangan	a	b	c	OHC
1	5.6148	0.5002	6.4686	70.69172
2	5.1004	0.5012	5.982	75.89785
3	5.6198	0.5007	6.4885	73.4971
JUMLAH	16.335	1.5021	18.9391	220.0867
rata-rata	5.445	0.5007	6.313033	73.36222
SD	0.298443	0.0005	0.286856	2.60568

P1

ulangan	a	b	c	OHC
1	5.5647	0.5075	7.0153	185.8325
2	5.5837	0.5063	6.9396	167.8056
3	5.5062	0.5081	6.9329	180.7912
JUMLAH	16.6546	1.5219	20.8878	534.4293
rata-rata	5.551533	0.5073	6.9626	178.1431
SD	0.040393	0.000917	0.045762	9.300599

P2

ulangan	a	b	c	OHC
1	5.5723	0.5085	7.123	204.9558
2	5.5562	0.5072	7.093	202.9968
3	5.6034	0.5092	7.098	193.5192
JUMLAH	16.7319	1.5249	21.314	601.4718
rata-rata	5.5773	0.5083	7.104667	200.4906
SD	0.023994	0.001015	0.016073	6.116315

P3

ulangan	a	b	c	OHC
1	5.5459	0.5038	6.7916	147.2608
2	5.561	0.5042	7.0235	190.0635
3	5.5449	0.5039	6.8669	162.3536
JUMLAH	16.6518	1.5119	20.682	499.6779
rata-rata	5.5506	0.503967	6.894	166.5593
SD	0.009021	0.000208	0.118301	21.70904

P4

ulangan	a	b	c	OHC
1	5.5663	0.5085	7.0484	191.4651
2	5.5585	0.5068	6.9414	172.869
3	5.4952	0.5013	6.9715	194.4943
JUMLAH	16.62	1.5166	20.9613	558.8284
rata-rata	5.54	0.505533	6.9871	186.2761
SD	0.038993	0.003763	0.055179	11.7093

Ket : a: berat tabung (gr); b: berat sampel (gr); c: berat sampel + tabung(gr)

Lampiran 8. Data Analisa WHC (*Water Holding Capacity*)

P0

ulangan	a	b	c	WHC
1	5.3372	0.5007	6.6563	163.4512
2	5.5781	0.5013	6.9203	167.7439
3	5.5564	0.5003	6.8699	162.5425
JUMLAH	16.4717	1.5023	20.4465	493.7375
rata-rata	5.490567	0.500767	6.8155	164.5792
SD	0.133262	0.000503	0.140155	2.778112

P1

ulangan	a	b	c	WHC
1	5.617	0.5072	6.9439	161.6128
2	5.4607	0.503	6.8635	178.8867
3	5.5051	0.5005	7.0224	203.1568
JUMLAH	16.5828	1.5107	20.8298	543.6563
rata-rata	5.5276	0.503567	6.943267	181.2188
SD	0.080543	0.003386	0.079452	20.86999

P2

ulangan	a	b	c	WHC
1	5.5476	0.502	6.7009	129.741
2	5.5715	0.5065	6.7627	135.1826
3	5.5931	0.5043	6.8461	148.4632
JUMLAH	16.7122	1.5128	20.3097	413.3869
rata-rata	5.570733	0.504267	6.7699	137.7956
SD	0.02276	0.00225	0.072867	9.630724

P3

ulangan	a	b	c	WHC
1	5.5444	0.5039	6.8397	157.055
2	5.5657	0.5001	6.8776	162.3275
3	5.5594	0.503	6.851	156.7793
JUMLAH	16.6695	1.507	20.5683	476.1618
rata-rata	5.5565	0.502333	6.8561	158.7206
SD	0.010942	0.001986	0.019458	3.126727

P4

ulangan	a	b	c	WHC
1	5.4661	0.5137	6.6753	135.3903
2	5.5636	0.5153	6.7496	130.1572
3	5.5051	0.5081	6.7316	141.3895
JUMLAH	16.5348	1.5371	20.1565	406.937
rata-rata	5.5116	0.512367	6.718833	135.6457
SD	0.049074	0.003781	0.03876	5.620502

Ket : a: berat tabung (gr); b: berat sampel (gr); c: berat sampel + tabung (gr)

Lampiran 9. Data Analisa Daya emulsi dan stabilitas emulsi

Variasi Sampel	Waktu	Absorbansi		Turbidity		EAI m ² /g		ESI jam	
		ul. 1	ul. 2	ul. 1	ul. 2	ul. 1	ul. 2	ul. 1	ul. 2
P0 (IPKP)	0	1.646	1.728	379.0738	397.9584	1137.221	1193.875		
	0.167	1.436	1.579	330.7108	363.6437	992.1324	1090.931	1.308962	4.102716
	0.333	1.256	1.371	289.2568	315.7413	867.7704	947.2239	1.405431	1.993156
	1	1.025	0.903	236.0575	207.9609	708.1725	623.8827	2.650564	2.215343
	2	0.671	0.735	154.5313	169.2705	463.5939	507.8115	3.37641	3.613611
	24	0.405	0.501	93.2715	115.3803	279.8145	346.1409	31.83239	34.50131
P1 (0,5 jam)	0	7.288	6.216	1678.426	1431.545	5035.279	4294.634		
	0.167	4.736	5.44	1090.701	1252.832	3272.102	3758.496	0.476918	0.658602
	0.333	4	4.208	921.2	969.1024	2763.6	2907.307	0.738109	0.787956
	1	3.016	2.76	694.5848	635.628	2083.754	1906.884	1.705993	1.609541
	2	2.208	2.092	508.5024	481.7876	1525.507	1445.363	2.869291	2.805235
	24	0.72	0.24	165.816	55.272	497.448	165.816	26.63094	24.81725
P2 (1 jam)	0	10.976	11.576	2527.773	2665.953	7583.318	7997.858		
	0.167	7.696	7.568	1772.389	1742.91	5317.166	5228.731	0.558839	0.53785
	0.333	5.864	6.952	1350.479	1601.046	4051.438	4803.137	0.714986	0.908302
	1	3.024	5.224	696.4272	1203.087	2089.282	3609.262	1.380282	1.908206
	2	1.776	3.984	409.0128	917.5152	1227.038	2752.546	2.386087	3.139588
	24	0.816	0.6	187.9248	138.18	563.7744	414.54	25.92756	25.38782
P3 (1,5 jam)	0	7.352	7.496	1693.166	1726.329	5079.497	5178.986		
	0.167	4.416	6.072	1017.005	1398.382	3051.014	4195.145	0.418183	0.959206
	0.333	3.248	3.56	748.0144	819.868	2244.043	2459.604	0.596544	0.645627
	1	2.72	2.536	626.416	584.0408	1879.248	1752.122	1.587219	1.526578
	2	1.632	1.512	375.8496	348.2136	1127.549	1044.641	2.570629	2.517808
	24	1.328	0.464	305.8384	106.8592	917.5152	320.5776	29.29084	25.61672
P4 (2 jam)	0	10.376	9.576	2389.593	2205.353	7168.778	6616.058		
	0.167	7.264	7.736	1672.899	1781.601	5018.698	5344.802	0.55681	0.656361
	0.333	5.672	6.256	1306.262	1440.757	3918.785	4322.27	0.734526	0.838643
	1	3.392	2.512	781.1776	578.5136	2343.533	1735.541	1.485682	1.31943
	2	2.136	1.472	491.9208	339.0016	1475.762	1017.005	2.518447	2.330638
	24	0.656	0.64	151.0768	147.392	453.2304	442.176	25.61975	25.57765



Lampiran 10. Data analisa Derajat Hidrolisa

Variasi Sampel	h			Variasi Sampel	h total		DH (%)
	Absorbansi	Kadar (meq/g sampel)	kadar - 0,4		Absorbansi	Kadar (meq/g sampel)	
P0	0.233	0.946	0.546	P0	0.741	11.338	4.816
P1	0.223	0.906	0.506	P1	0.681	10.258	4.934
P2	0.269	1.090	0.690	P2	0.789	12.202	5.653
P3	0.262	1.062	0.662	P3	0.757	11.626	5.692
P4	0.259	1.050	0.650	P4	0.743	11.374	5.713

Variasi Sampel	h			Variasi Sampel	h total		DH (%)
	Absorbansi	Kadar (meq/g sampel)	kadar - 0,4		Absorbansi	Kadar (meq/g sampel)	
P0	0.227	0.922	0.522	P0	0.728	11.104	4.702
P1	0.236	0.958	0.558	P1	0.748	11.464	4.868
P2	0.269	1.090	0.690	P2	0.802	12.436	5.546
P3	0.252	1.022	0.622	P3	0.728	11.104	5.600
P4	0.268	1.086	0.686	P4	0.766	11.788	5.817

variasi sampel	DH (%)		jumlah	rata-rata	SD
	ul 1	ul 2			
P0	4.816	4.702	9.518	4.759	0.081
P1	4.934	4.868	9.802	4.901	0.047
P2	5.653	5.546	11.199	5.599	0.075
P3	5.692	5.600	11.293	5.646	0.065
P4	5.713	5.817	11.530	5.765	0.074