

METODE EKSTRAKSI ALKALI PADA ISOLAT PROTEIN KORO BENGUK (*Mucuna pruriens*)

A Bagus Nur Sudrajat, Nurud Diniyah, dan Riska Rian Fauziah

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember
Jl. Kalimantan 37 Kampus Tegal Boto, Jember 68121, Indonesia
*Email : nurud.ftp@unej.ac.id

ABSTRAK

Koro benguk memiliki kandungan protein 28,4%-29,29% yang berpotensi sebagai alternatif pembuatan isolat protein pengganti kedelai. Isolat protein diperoleh dengan mengekstraksi tepung koro benguk menggunakan pelarut alkali dan presipitasi pH isoelektrik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakterisasi sifat fisik meliputi kecerahan (*L*) dan rendemen isolat protein dari koro benguk dengan menggunakan pelarut NaOH dan KOH, sifat fungsional isolat protein koro benguk yang meliputi kapasitas buih, stabilitas buih, OHC, WHC, kapasitas emulsi, stabilitas emulsi dan gelasi dengan pelarut NaOH dan KOH. Penelitian dilakukan menggunakan faktor NaOH dan KOH yang dianalisis secara diskriptif dengan tiga kali ulangan setiap perlakuan. Parameter penelitian meliputi rendemen, kecerahan (*lightness*), kapasitas dan stabilitas buih, OHC, WHC, Kapasitas dan stabilitas emulsi dan gelasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan antara penggunaan pelarut NaOH dan KOH pada parameter kecerahan (*lightness*), rendemen, OHC, WHC, kapasitas emulsi dan kapasitas buih. Isolat protein koro benguk memiliki kelarutan optimal pada pH 10 untuk kedua pelarut dan titik isoelektrik pH 4,4 pada pelarut NaOH dan pH 4,6 pada pelarut KOH. Stabilitas emulsi isolat protein koro benguk pada pelarut NaOH dan KOH memiliki kestabilan yang baik selama 360 menit, sedangkan stabilitas buih isolat protein koro benguk pada kedua pelarut selama pengamatan 240 menit mengalami penurunan. Gelasi isolat protein pada pelarut NaOH dan KOH terbentuk gel pada konsentrasi 12,5%.

Kata kunci : Isolat protein, koro benguk, Natrium hidroksida (NaOH), Kalium hidroksida (KOH), karakterisasi sifat fisik dan fungsional.

PENDAHULUAN

Tanaman aneka koro seperti koro benguk, kratok, komak dan pedang merupakan tanaman polong-polongan yang telah dibudidayakan dan terdapat di Indonesia. Polong-polongan merupakan sumber protein nabati memiliki kandungan protein berkisar 18% sampai dengan 25% (Somatmadja dan Maesen, 1993). Koro benguk merupakan jenis *leguminosae* yang dapat digunakan sebagai bahan alternatif sumber protein selain kedelai. Menurut Handjani (2001), komposisi gizi biji koro benguk terdiri atas protein 28,4-31,0 g; lemak 3,4-5,1; karbohidrat 62,3-63,2 g; serat 15,5-16,6 g; kalsium 37 mg; dan besi 9,45 mg.

Protein dalam konsentrasi tinggi dapat diperoleh dalam bentuk konsentrat atau isolat protein. Produk isolat protein biasanya terbuat dari biji kedelai, namun hal ini terkendala dengan jumlah produksi dalam negeri yang semakin lama menurun dan harus mengimpor. Berdasarkan data Direktorat Jendral Pengolahan dan Pemasaran Hasil Pertanian (2014), nilai importasi kedelai pada periode tahun 2010-2013 mencapai 4,63 miliar US\$ dengan volume 10,25 juta ton, sehingga perlu potensi tanaman lain yang memiliki karakteristik sama dengan kedelai. Salah satu tanaman alternatif tersebut berasal dari tanaman polong-polongan yang mengandung protein tinggi.

Beberapa penelitian isolat protein dari jenis polong-polongan telah dilakukan untuk mengetahui karakterisasi sifat dan fungsionalnya, namun penelitian mengenai

karakterisasi sifat fisik dan fungsional isolat dari koro benguk dengan pelarut NaOH dan KOH masih belum dilakukan. Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui sifat fisik dan fungsional isolat protein koro benguk dengan menggunakan pelarut NaOH dan KOH. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik sifat fisik dan fungsional isolat protein koro benguk dengan menggunakan pelarut NaOH dan KOH.

BAHAN DAN METODE

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi loyang, *food processor*, pH meter, neraca analitik, sentrifus, tabung sentrifus, *homogenizer*, *vortex*, *magnetic stirrer*, *spectrophotometer*, ayakan 80 mesh, *colour reader*, dan beberapa peralatan gelas merk pyrex.

Bahan baku yang digunakan dalam pembuatan isolat protein koro benguk adalah koro benguk. Bahan kimia yang digunakan dalam produksi isolat koro benguk meliputi NaOH 1N, KOH 1N, HCl 1N, etanol 70% dan n-heksan. Bahan kimia untuk analisis meliputi NaOH 2N, reagen Lowry, reagen *cioaltea*, minyak goreng filma dan akuades.

Pembuatan Tepung Koro Benguk Bebas Lemak

Biji benguk direndam dalam air selama 72 jam dan setiap 3 jam sekali diganti airnya. Dibilas dengan menggunakan air, lalu bahan dikecilkan ukurannya dengan *food processor*. Koro kemudian dikeringkan pada suhu 55°C selama 24 jam dengan oven. Tahap akhir yaitu pengecilan ukuran dengan menggunakan *chopper* yang kemudian

diayak dengan pengayak 80 mesh. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan n-heksan dengan perbandingan 1:3 selama 3 jam. Hasil ekstraksi dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C selama 2 jam.

Penentuan pH Titik Isoelektrik

Seabanyak 10 mg sampel tepung koro bengkuk dilarutkan dalam 10 ml air, lalu pH larutan diatur dari pH 2,0-11,0 dengan menggunakan NaOH 1N dan KOH 1N serta HCl 1N (untuk nilai pH 4-5 dilakukan interval 0,2) (Sathe *et al.*, 1982). Sentrifugasi untuk memisahkan supernatan yang kemudian dianalisis dengan menggunakan metode Lowry (Lowry *et al.*, 1951)

Proses Pembuatan Isolat Protein Koro Bengkuk

Tepung koro bengkuk bebas lemak 100 g dilarutkan dengan aquades (1:8). Larutan diatur pada pH kelarutan protein optimum dengan NaOH 1N dan KOH 1N. Larutan dinkubasi pada suhu 55°C selama 30 menit, lalu sentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 2000 rpm. Supernatan dipisahkan, sedangkan endapan dilarutkan kembali dengan aquades dengan pelarut basa. Semua supernatan pH diatur hingga mencapai pH titik isoelektrik dengan menggunakan HCl 1N. Protein yang telah mengendap di sentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 2000 rpm untuk memisahkan antara endapan dan supernatan. Endapan isolat protein selanjutnya dimurnikan dengan etanol 70% (1:3) selama 20 menit dengan menggunakan stirer. Hasil pemurnian dipisahkan dengan sentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 2000 rpm. Endapan isolat kemudian dikeringkan dengan oven vakum pada suhu 40°C selama 8 jam, lalu diayak dengan ayakan 80 mesh untuk menghasilkan isolat protein kering yang seragam.

Analisis Rendemen (Amin, 2007)

Rendemen dihitung berdasarkan perbandingan berat dengan rumus :

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

Keterangan :

R : Rendemen isolat protein koro bengkuk (%)

P : Berat isolat protein koro bengkuk (g)

B : Berat tepung koro bengkuk (g)

Analisis Kecerahan (lightness) (Fardiaz,1992)

Warna diamati dengan menggunakan *colour reader* pada 5 titik yang berbeda dari sampel isolat protein koro bengkuk. Nilai standar alat *colour reader* kecerahan (L) 86,5; a 2,1; b -3,2. Pengukuran warna hanya didasarkan pada nilai *lightness* pada isolat protein koro bengkuk dengan standar nilai yang tertera pada alat *colour reader*, yaitu :

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

Analisis Kapasitas dan stabilitas buih (Makri *et al.*, 2005)

Pengukuran kapasitas buih dengan menimbang 0,2 gram sampel dilarutkan dalam 80 ml aquades dan dihomogenkan dengan *magnetic stirer* selama 10 menit lalu dituangkan ke dalam gelas ukur 100 ml. Larutan tersebut kemudian diatur pHnya hingga 7,4 dengan NaOH 1N dan di *homogenaiser* selama 3 menit. Volume buih sebelum dan sesudah di *homogenaiser* dicatat, kemudian kapasitas buih dihitung dengan persamaan berikut :

$$\text{Kapasitas buih (ml/g)} = \frac{(\text{Volume setelah homogenaiser} - \text{volume awal})}{\text{berat sampel}}$$

Pengukuran stabilitas buih dengan pengamatan pada jam ke- 0,5; 1; 1,5; 2; 3; dan 4 dan hasil perhitungan dibuat kurva stabilitas buih dengan menggunakan rumus :

$$\text{Stabilitas buih (\%)} = \frac{(\text{Volume setelah penurunan} - \text{volume awal})}{\text{berat sampel}}$$

Analisis Daya Serap Air (Mwangwela *et al.*, 2007)

Tabung sentrifus yang kosong ukuran 50 ml dan kering ditimbang (a gram). 10 ml aquades dimasukan kedalam tabung sentrifus, lalu ditambahkan sampel sebanyak 0,5 g (b gram). Sampel divortex selam 3 menit, lalu di diamkan selam 18 jam. Sampel tersebut kemudian disentrifus pada 2000 rpm selama 20 menit. Supernatan dibuang dan residunya ditimbang (c gram), selanjutnya dilakukan perhitungan WHC dengan rumus :

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

Keterangan :

a = berat tabung kosong

b = berat sampel yang telah dikurangi dengan kadar air bahan

c = berat air yang terakumulasi dalam sampel

db (%) : *dry basis* (berat kering)

Analisis Daya Serap Minyak (Mwangwela *et al.*, 2007)

Tabung sentrifus yang kosong ukuran 50 ml dan kering ditimbang (a gram). 10 ml minyak goreng dimasukan kedalam tabung sentrifus, lalu ditambahkan sampel sebanyak 0,5 g (b gram). Sampel divortex selam 3 menit, lalu di diamkan selam 18 jam. Sampel tersebut kemudian disentrifus pada 2000 rpm selama 20 menit. Supernatan dibuang dan residunya ditimbang (c gram), selanjutnya dilakukan perhitungan WHC dengan rumus :

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

Keterangan :

a = berat tabung kosong

b = berat sampel yang telah dikurangi dengan kadar minyak bahan

c = berat minyak yang terakumulasi dalam sampel

db (%) : *dry basis* (berat kering)

AnalisisKapasitas dan stabilitas emulsi (Budijanto *et al.*, 2011)

Pengukuran daya emulsi dilakukan dengan mencampur sebanyak 0,2 g sampel dan 25 ml air. Sampel diatur pHnya hingga 8 sambil diaduk dengan *magnetic stirer* selama 5 menit. Sebanyak 25 ml larutan sampel ditambah 25 ml minyak goreng. Campuran didispersikan dengan blender selama 1 menit, kemudian disentrifus dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit. Volume emulsi dapat diukur dengan persamaan :

$$\text{Kapasitas emulsi (\%)} = \frac{V_{ct}}{V_{tot.t}} \times 100$$

Keterangan :

V_{ct} = volume campuran teremulsi

V_{tot.t} = volume total dalam tabung

Pengukuran stabilitas emulsi selama waktu tertentu, emulsi yang sudah terbentuk disimpan selama beberapa waktu pada suhu ruang. Volume emulsi diamati pada jam ke-0,5; 1; 2; 4; dan 6 kemudian dicatat dan dibuat kurva kestabilan emulsinya. Stabilitas emulsi dapat diukur dengan rumus :

$$\text{Stabilitas emulsi (\%)} = \frac{(\text{Volume penurunan emulsi} - \text{volume awal})}{\text{Volume awal}}$$

Analisis Gelasi (Dias et al., 2011)

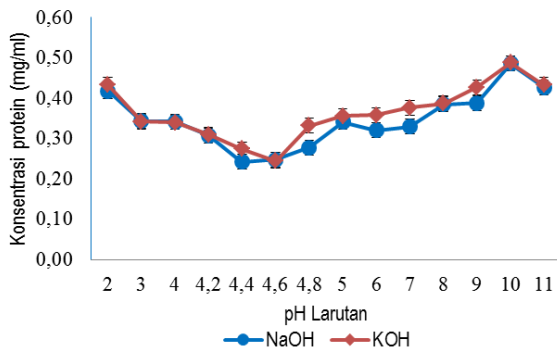
Suspensi sampel dengan konsentrasi 5,0, 7,5, 10,0 dan 12,5 % disiapkan dan diatur pHnya hingga 8,0. Suspensi sampel lalu dipipet sebanyak 3 ml ke dalam tabung reaksi. Tabung reaksi dimasukkan ke dalam penangas air 100 °C selama 15 menit dan setelah diangkat dialiri dengan air mengalir. Setelah mencapai suhu ruang, suspensi ditaruh di refrigerator bersuhu 4 °C selama 2 jam. Gelasi yang terbentuk diukur secara kualitatif dan dicatat penampakkannya. Pengukuran sifat gelasi ini dilakukan tiga ulangan. Skala yang digunakan untuk pengukuran gel adalah :

- 0 = gel tidak terbentuk
- 1 = gel sangat lemah, gel jatuh bila dimiringkan
- 2 = gel tidak jatuh bila tabung dibalik vertikal
- 3 = gel tidak jatuh bila tabung dibalik vertikal dan dihentak sekali
- 4 = gel tidak jatuh bila tabung dia balik dan dihentak > 5 kali

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kelarutan protein koro benguk

Kelarutan protein koro benguk dan titik isoelektrik dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Kurva kelarutan protein koro benguk

Gambar 1 menunjukkan bahwa nilai kelarutan tertinggi protein tepung koro benguk dengan pelarut NaOH adalah pada pH 10 dengan nilai 0,486 mg/ml dan nilai titik isoelektrik pada pH 4,4 dengan nilai 0,242 mg/ml. Nilai kelarutan tertinggi protein tepung koro benguk dengan pelarut KOH adalah pada pH 10 dengan nilai 0,488 mg/ml dan nilai titik isoelektrik pada pH 4,6 dengan nilai 0,244 mg/ml. Kelarutan protein pada kedua pelarut sama, yaitu pada pH 10. Hal tersebut menunjukkan tidak adanya perbedaan pada penggunaan kedua pelarut basa tersebut. Kelarutan protein sedikit demi sedikit naik ketika pH berubah menjadi basa. Keadaan larutan yang basa membuat ion-ion OH⁻ akan mengikat ion-ion H⁺ yang terdapat pada gugus-gugus amina (-NH₃⁺) pada protein koro benguk. Terikatnya ion H⁺ gugus amina pada OH⁻ dari pelarut basa membuat protein membentuk ion negatif (-COO⁻). Semakin basa kondisi ekstraksi, maka semakin besar pula konsentrasi

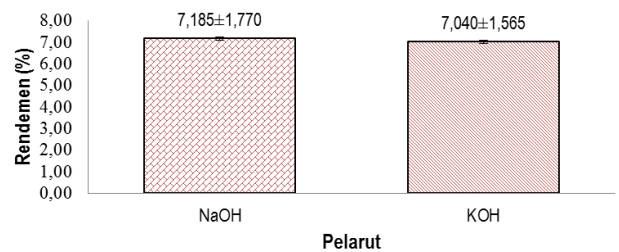
ion OH⁻ yang mampu mengikat ion H⁺ pada gugus -NH₃, sehingga kelarutan protein menjadi lebih tinggi. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Lehninger (1988), pengaruh pH didasarkan pada perbedaan muatan antara asam-asam amino penyusun protein. Menurut Lorenzo (2008), bahwa kelarutan yang tinggi pada pH basa menyebabkan interaksi protein umum dilakukan pada pH 10-12.

Nilai titik isoelektrik pada pelarut NaOH dan KOH tidak berbeda jauh masih berada pada rentang nilai titik isoelektrik protein. Pada pH isoelektrik jumlah gugus muatan positif dan gugus muatan negatif nilainya sama, sehingga molekul protein mengendap. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Buxbaum (2007), pada titik isoelektrik terjadi tarik menarik antar molekul protein yang menyebabkan agregasi dan presipitasi molekul lain. Menurut Vani dan Zayas (1995), sebagian besar protein nabati memiliki titik isoelektrik pada pH 4,0-5,0. Daya tarik menarik yang paling kuat antar protein yang sama terjadi pada pH isoelektrik, sedangkan pada pH di atas dan di bawah titik isoelektrik protein akan mengalami perubahan muatan yang menyebabkan menurunnya daya tarik menarik antar molekul protein, sehingga molekul protein mudah larut.

Rendemen

Rendemen isolat protein koro benguk dapat dilihat pada

Gambar 2.

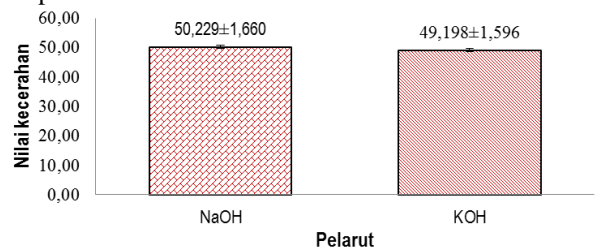


Gambar 2. Diagram batang rendemen isolat protein koro benguk

Gambar 2 menunjukkan bahwa rendemen isolat protein koro benguk dengan pelarut NaOH sebesar 7,18 ± 1,77 % sedangkan rendemen isolat protein koro benguk dengan pelarut KOH sebesar 7,04 ± 1,56 %. Nilai rendemen isolat protein koro benguk dengan pelarut NaOH lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut KOH. Hal tersebut diduga protein yang terekstrak dengan pelarut NaOH lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut KOH. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Fahma et al., (2012), bahwa pelarut NaOH memiliki energi ionisasi lebih besar dari pada pelarut KOH, sehingga kemampuan NaOH mengekstrak protein lebih besar dibandingkan dengan KOH.

Kecerahan (ligness)

Warna kecerahan isolat protein koro benguk dapat dilihat pada **Gambar 3**.

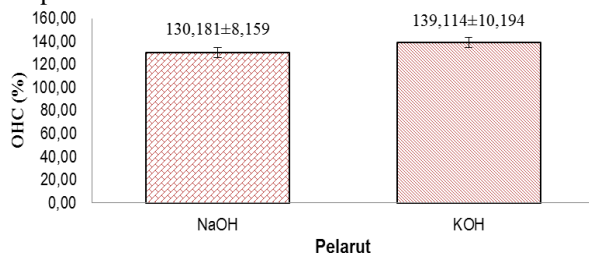


Gambar 3. Diagram batang kecerahan (L) isolat protein koro benguk

Gambar 3 menunjukkan bahwa tingkat kecerahan (L) isolat protein koro benguk dengan pelarut NaOH sebesar $50,23 \pm 1,66$ sedangkan tingkat kecerahan (L) isolat protein koro benguk dengan pelarut KOH sebesar $49,20 \pm 1,60$. Nilai kecerahan (L) isolat protein koro benguk dengan pelarut NaOH lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut KOH. Tingkat kecerahan (L) yang rendah pada pelarut KOH diduga karena kandungan polifenol pada koro benguk $42 \mu\text{g}$ (Duke, 1929) yang berikatan dengan protein telah banyak yang terlarut sehingga menyebabkan warnanya gelap. Hal tersebut sesuai pernyataan Nafi' *et al.*, (2006), bahwa nilai warna bahan disebabkan pigmen dan polifenol yang berikatan dengan protein terekstrak bahan pelarut. Reaksi antara protein dan polifenol teroksidasi sehingga mempengaruhi warna isolat protein menjadi lebih gelap (Bautista *et al.*, 1999). Senyawa polifenol yang teroksidasi membentuk senyawa radikal orto-kuinon. Senyawa orto-kuinon apabila bereaksi dengan protein dapat membentuk senyawa kompleks yang melibatkan asam amino lisin sehingga ketersediaannya akan menurun.

Daya Serap Minyak

Daya serap minyak isolat protein koro benguk dapat dilihat pada **Gambar 4**.



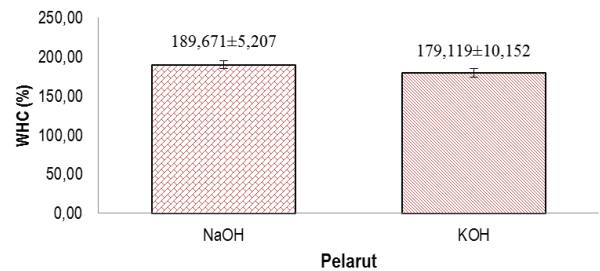
Gambar 4. Diagram batang daya serap minyak (OHC) isolat protein koro benguk

Gambar 3 menunjukkan bahwa daya serap minyak isolat protein koro benguk dengan pelarut NaOH adalah $130,18 \pm 8,16\%$ sedangkan daya serap minyak isolat protein koro benguk dengan pelarut KOH adalah $139,11 \pm 10,19\%$. Nilai daya serap minyak isolat protein koro benguk lebih tinggi dibandingkan dengan daya serap isolat protein kedelai sebesar $121,07\%$ (Witono *et al.*, 2014)

Nilai daya serap minyak isolat protein koro benguk dengan pelarut NaOH lebih rendah dibandingkan dengan pelarut KOH. Hal tersebut diduga kelarutan protein dengan pelarut KOH lebih banyak, sehingga penyerapan minaknya lebih tinggi. Tingginya jumlah protein maka jumlah minyak yang terikat oleh protein non polar semakin besar. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Sathe *et al.*, (1982), yang menyebutkan bahwa beberapa rantai protein non polar dapat mengikat rantai hidrokarbon dari lemak, sehingga menghasilkan penyerapan minyak yang lebih tinggi. Menurut Lawal (2004), penyerapan minyak selain karena minyak terperangkap secara fisik dalam protein tetapi juga terdapatnya ikatan non kovalen seperti interaksi hidrofobik, elektrostatik dan ikatan hidrogen pada interaksi lemak protein.

Daya Serap Air

Daya serap air isolat protein koro benguk dapat dilihat pada **Gambar 5**.



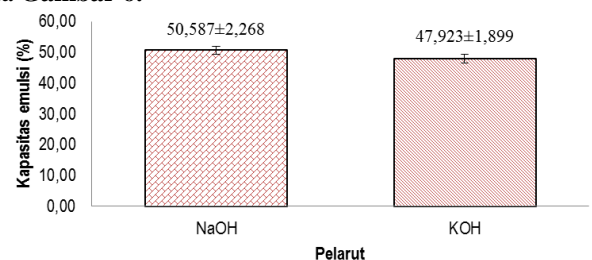
Gambar 5. Diagram batang water holding capacity (WHC) isolat protein koro benguk.

Gambar 5 menunjukkan bahwa daya serap air isolat protein koro benguk dengan pelarut NaOH adalah $189,67 \pm 5,02\%$ sedangkan isolat protein koro benguk dengan pelarut KOH adalah $179,12 \pm 10,15\%$. Nilai daya serap air isolat protein koro benguk lebih rendah dari daya serap air protein kedelai yaitu sebesar $227,30\%$ (Arogundade *et al.*, 2004).

Nilai daya serap air isolat protein koro benguk dengan pelarut NaOH lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut KOH. Daya serap air yang tinggi pada pelarut NaOH diduga meningkatnya interaksi antara air dan gugus hidrofilik rantai samping protein melalui ikatan hidrogen. Jumlah air dapat ditahan oleh protein tergantung pada komposisi asam amino ionik dan karakteristik konformasi antar molekul protein. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Chavan (2000), perbedaan dalam kapasitas mengikat air oleh isolat protein dipengaruhi komposisi protein dan karakteristik konformasi antara molekul protein melalui ikatan hidrogen. Jumlah dan tipe gugus polar yang tidak sama pada setiap protein menyebabkan kemampuan protein dalam menyerap air berbeda (Kilara, 1994). Kepadatan perubahan yang lebih tinggi disebabkan karena muatan positif yang sama terletak pada ion Na, sehingga polarizes negatif elektronik molekul air lebih efektif (Moore, 1978). Fennema (1976), menambahkan bahwa NaOH dapat mengikat air lebih mudah dari KOH.

Kapasitas emulsi dan stabilitas emulsi

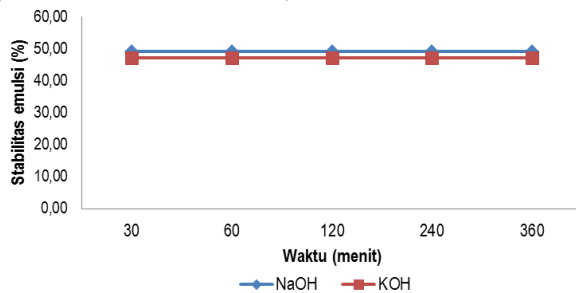
Kapasitas emulsi isolat protein koro benguk dapat dilihat pada **Gambar 6**.



Gambar 6. Diagram batang kapasitas emulsi isolat protein koro benguk

Gambar 6 menunjukkan bahwa kapasitas emulsi isolat protein koro benguk dengan pelarut NaOH adalah $50,59 \pm 2,27\%$ sedangkan kapasitas isolat protein koro benguk dengan pelarut KOH adalah $47,92 \pm 1,90\%$. Nilai kapasitas emulsi isolat protein koro benguk lebih rendah dibandingkan dengan kapasitas emulsi isolat protein kedelai yaitu sebesar $70,50\%$ (Budijanto *et al.*, 2011).

Nilai kapasitas emulsi isolat protein koro bengkuk dengan pelarut NaOH lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut KOH. Kapasitas emulsi yang tinggi pada pelarut NaOH diduga tingginya keseimbangan antara asam amino polar dengan asam amino non polar yang mampu mengurangi tegangan permukaan, sehingga terbentuk emulsi yang lebih tinggi. Menurut Kartika (2009), emulsi yang terbentuk akan tinggi jika keseimbangan hubungan antara fraksi asam amino hidrofilik dan hidrofobik, sehingga dapat menurunkan tegangan interfarsial. Perbandingan jumlah asam amino hidrofilik-lipofilik yang seimbang sangat menentukan kemampuan protein untuk membentuk emulsi (Zayas, 1997 & Suwarno, 2003).



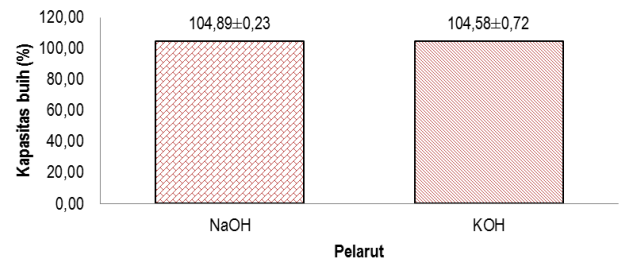
Gambar 7. Kurva stabilitas emulsi isolat protein koro bengkuk

Gambar 7 menunjukkan bahwa stabilitas emulsi isolat protein koro bengkuk dengan pelarut NaOH memiliki kestabilan yang baik selama 6 jam dengan rata-rata nilai 49,22 % begitu juga dengan pelarut KOH memiliki kestabilan yang baik selama 6 jam dengan rata-rata nilai 47,16 %. Nilai stabilitas emulsi isolat protein koro bengkuk lebih rendah dibandingkan dengan stabilitas isolat protein kedelai yaitu sebesar 72,74 % (Witono *et al.*, 2014). Stabilitas emulsi isolat protein koro bengkuk dengan pelarut NaOH lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut KOH. Stabilitas emulsi diketahui dari jumlah minyak yang terlepas setelah dibiarkan beberapa waktu. Stabilitas emulsi hasil alkalisasi dengan pH basa pada isolat protein menyebabkan melarutnya protein, sehingga kemampuan untuk mengikat air pada gugus hidrofilik dan kemampuan mengikat minyak pada gugus hidrofobik menjadi lebih optimal.

Menurut Khalid *et al.*, (2003), bahwa stabilitas emulsi pada isolat protein dipengaruhi oleh pH yang mana pada pH netral stabilitas emulsi tinggi. Begitu juga Elizade *et al.*, (1991), melaporkan stabilitas emulsi tergantung dari tingginya kapasitas molekul protein dalam mengabsorpsi terhadap air dan minyak. Kestabilan emulsi tergantung dari kekuatan interparsial bahan dalam mempertahankan interaksi hidrofobik antara minyak dengan protein.

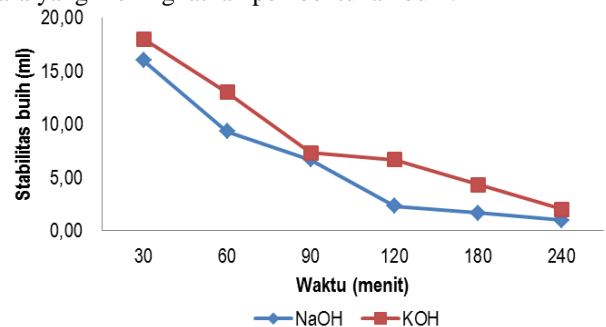
Kapasitas buih dan stabilitas buih

Kapasitas buih isolat protein koro bengkuk dapat dilihat pada **Gambar 8**



Gambar 8. Diagram batang kapasitas buih isolat protein koro bengkuk

Gambar 8 menunjukkan bahwa kapasitas emulsi isolat protein koro bengkuk dengan pelarut NaOH adalah 104,89±0,23% sedangkan kapasitas emulsi isolat protein dengan pelarut KOH adalah 104,58±0,72%. Nilai kapasitas buih isolat protein koro bengkuk dengan pelarut NaOH lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut KOH. Hal tersebut diduga pengaruh alkalisasi dengan NaOH meningkatkan kapasitas buih yang berkorelasi dengan profil kelarutan protein pada pH basa. Kapasitas buih isolat protein dipengaruhi oleh nilai pH dan berkorelasi positif dengan profil kelarutan protein seperti pada sifat emulsi. Kapasitas buih meningkat apabila muatan protein meningkat (Cherry dan Mc Watters, 1981). Menurut Chau (1997), kapasitas buih yang tinggi pada pH basa dikarenakan peningkatan muatan protein yang melemahkan interaksi hidrofobik dan meningkatkan fleksibilitas protein, sehingga terjadi interaksi antara udara dan air dipermukaan dan pembalutan partikel udara yang meningkatkan pembentukan buih.



Gambar 9. Kurva stabilitas buih isolat protein koro bengkuk

Gambar 9 menunjukkan bahwa stabilitas buih isolat protein koro bengkuk dengan pelarut NaOH pada pengamatan 30, 60, 90, 120, 180 dan 240 menit secara berturut-turut mengalami penurunan stabilitas buihnya, begitu pula pada stabilitas buih dengan pelarut KOH pada pengamatan 30, 60, 90, 120, 180, dan 240 menit secara berturut-turut juga mengalami penurunan stabilitas buihnya. Stabilitas buih isolat protein koro bengkuk dengan pelarut NaOH dan pelarut KOH mengalami penurunan buih sampai pengamatan waktu 240 menit. Hal tersebut diduga isolat protein koro bengkuk mengandung asam amino non polar yang lebih tinggi dari pada asam amino polar, sehingga mempengaruhi keseimbangan gugus hidrofilik dan hidrofobik. Penurunan stabilitas buih juga dipengaruhi oleh kelarutan protein, laju difusinya pada arah permukaan dan penyerapan buih. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan

Suwarno, (2003), bahwa keseimbangan gugus hidrofilik dan hidrofobik serta kelarutan protein berpengaruh terhadap sifat stabilitas buih protein. Begitu juga yang disampaikan oleh Patel dan Kilara (1990) dan Townsend dan Nakai (1983), rendahnya stabilitas buih dapat dihubungkan dengan penurunan sifat reologi dalam hal pembentukam gel.

Gelasi

Gelasi isolat protein koro benguk dapat dilihat pada

Tabel 1.

| Jenis Pelarut | Konsentrasi isolat protein koro benguk (% b/v) | Pengamatan Kualitatif | Penampakan |
|---------------|--|-----------------------|------------|
| NaOH | 5,0 | 0 | encer |
| | 7,5 | 0 | encer |
| | 10,0 | 0 | kental |
| | 12,5 | 1 | gel |
| KOH | 5,0 | 0 | encer |
| | 7,5 | 0 | encer |
| | 10,0 | 0 | kental |
| | 12,5 | 1 | gel |

Tabel 1 menunjukkan bahwa gelasi isolat protein koro benguk dengan pelarut NaOH dan pelarut KOH terbentuk gel pada konsentrasi 12,5%. Gelasi isolat protein pada konsentrasi 5,0%; 7,5%; dan 10,0% belum terbentuk gel. Hal tersebut diduga konsentrasi protein masih rendah, sehingga belum terbentuk gel. Semakin tinggi konsentrasi isolat protein, maka gel yang terbentuk semakin kuat. Selain konsentasi protein, terbentuknya gel juga dipengaruhi oleh sifat asam dan basa dengan terlarutnya molekul protein yang nantinya akan mengikat molekul air. Menurut Eltayeb *et al.*, (2011), konsentrasi protein merupakan faktor yang mempengaruhi kemampuan dalam pembentukan gel pada bahan pangan. Hal tersebut juga disampaikan oleh Dong Sun dan Holly (2011), bahwa konsentrasi protein merupakan faktor utama dalam pembentukan gel yang diinduksikan dengan proses pemanasan. Menurut Okezie dan Bello (1988), bahwa isolat protein kedelai (*Promine D*) membentuk gel pada konsentrasi protein 14% pada pemanasan 1 jam dan pendinginan 4°C selama 2 jam. Isolat protein kecipir membentuk gel pada konsentrasi 15% dengan penampakan gel yang lemah dan terjatuh bila dimiringkan (skala 1). Gelasi yang dilakukan pada kekuatan ion rendah dan dalam kondisi asam atau basa, menghasilkan gel yang kuat dan kapasitas pengikat air yang tinggi (Rao, 2007).

KESIMPULAN

Isolat protein koro benguk memiliki nilai rendemen sebesar 7,185% pada pelarut NaOH dan 7,040% pada pelarut KOH, sedangkan nilai rata - rata karakteristik sifat fisik *lightness* dengan pelarut NaOH adalah 50,229 dan dengan pelarut KOH adalah 49,198.

Isolat protein koro benguk memiliki karakterisasi sifat fungsional teknis antara lain kelarutan protein dalam berbagai pH dengan pH maksimum 10 pada kedua pelarut basa dan pH minimum 4,4 pada pelarut NaOH dan 4,6 pada

pelarut KOH, OHC 139,114 % pada pelarut KOH dan 130,181% pada pelarut NaOH. Pada WHC 189,671 % pada pelarut NaOH dan 179,119% pada pelarut KOH, nilai kapasitas emulsi 50,587 % pada pelarut NaOH dan 47,923% pada pelarut KOH sedangkan nilai stabilitas emulsi dengan pelarut NaOH adalah 49,220% dan pada pelarut KOH adalah 47,159%. Nilai kapasitas buih dan stabilitas buih dengan pelarut NaOH adalah 104,89±0,23% dan rata-rata nilai stabilitas buih 16,00 ml, sedangkan dengan pelarut KOH adalah 104,58±0,72% dan rata-rata nilai stabilitas buih 18,00 ml. Tingkat gelasi isolat protein koro benguk dengan pelarut NaOH dan KOH terbentuk pada konsentrasi 12,5%.

DAFTAR PUSTAKA

Amin, A. M. 2007. Extraction, purification and characterization of durian (*Durio zibethinus*) seed gum. *J. Food Hydrocolloids*. 21: 273-279.

Arogundade, F. A., Zayed, B., Daba, M., Barsoum, R. S. 2004. *Correlation between karnofsky performance status scale and short form health survey in patients on maintenance hemodialysis*. *Journal of the National Medical Association* ; 96(12): 1661-1667.

Bautista, J., Millan, F., Sanchez-Vioque, R., Clement, A., Vioque, J. 1999. *Protein isolate from chickpea (Cicer arietinum L.): Chemical composition, functional properties and protein characterization*. *Food Chemistry*, 64, 237–243.

Budijanto, S., Sitangga, B. A., dan Murdiati, W. 2011. *Karakterisasi Sifat Fisiko-Kimia dan Fungsional Isolat Protein Biji Kecipir (Psophocarpus tetragonolobus L.)*. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, Volume XXII Nomer 2 Tahun 2011.

Buxbaum, E. 2007. *Fundamentals of Protein Structure and Function*. Springer, USA.

Chau, C. F., dan Cheung, P. C. K. 1997. *Functional Properties of Flours Prepared From Three Chinese Indegenous Legume Seeds*. *Journal of Food Chemistry* 61 (4) : 429.

Chavan, U. D., Mc Kenzie, D. B., dan Shahidi, F. 2000. *Functional Properties of Protein Isolates From Beach Pea (Lathyrus maritimus L.)*. *Food Chem.*74 : 177-178.

Cherry, J. P., Mc Watters K. H. 1981. *Whipping Ability and Aeration*. Dalam Chery JP. (Eds). 1981. *Protein Functionality In Foods*. Washington DC: America Chemical Society.

Dias, A. R. G., Zavareze, E. R., Moacir, C. E., Elizabete, H., Debora, O. S., dan Cesar F. C. 2011. *Pasting, expansion and textural and textural properties of fermented cassava starch oxidised with sodium hypochloride*. *Carbohydrate Polymers*, 84:268-275.

Direktorat Jendral Pengolahan dan Pemasaran Hasil Pertanian. 2014. *Statistik Ekspor Impor Komoditas Pertanian 2001-2013*. *Jurnal Statistik Ekspor Impor Komoditas Pertanian*. Kementerian Pertanian Republik Indonesia.

Dong Sun, H., Holley, R. A. 2011. *Factors Influencing Gel Formation By Myofibrillar Protein In Mucle Foods*. *Compr Rev Food Sci F* 10: 33-51.

- Duke, J. A. 1929. Handbook of Energy Crops. Unpublish. Purdue University.
- Elizade, B. E., Pilosof, A. M. R., dan Bartholomi, G. B. 1991. *Prediction of Emulsion Instability From Emulsion Composition and Phycochemical Properties of Proteins*. J. Food Sci., (56) : 116-119.
- Eltayeb, A. R. S. M., Ali, A. O., Abaou-Arab, A. A., Abu-Salem, F. M. 2011. *Chemical Composition and Functional Properties Of Flour and Protein Isolate Extracted From Bambara Groundnut (Vigna subterranean)*. Afr J Food Sci 5: 82-90.
- Fahma, R., Poedji, L. H., dan Catur, D. L. 2012. *Pengaruh Variasi Konsentrasi Katalis KOH pada Pembuatan Matil Ester dari Minyak Biji Ketapang (Terminalia catappa Linn)*. Jurusan Kimia, Universitas Sriwijaya. Sumatera Selatan : Jurnal Penelitian Sains Vol. 15 No. 2 (C).
- Fardiaz. 1992. Teknis Analisa Sifat Kimia dan Fungsional Komponen Pangan. Bogor: PAU IPB.
- Fennema, C. 1976. Water and ice. In O. Fennema (Ed.), Principles of food science PP. 13. New York: Dekker.
- Handajani, S. 2001. *Indigenous Mucuna Tempe as Functional food*. Asia Pasific J.Clin Nutr 10 (3): 222-225
- Kartika, Y. D. 2009. *Karakterisasi Sifat Fungsional Pekatan Protein Biji Kecipir (Psophocarpus tetragonolobus L.)*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian.
- Khalid, E. K., Babiker., dan El Tinay, A. H. 2003. *Solubility and Functional Properties of Sesame Seed Protein as Influenced by pH and Salt Consentration*. Foos Chem. (82) : 361-366
- Kilara, A. 1994. *Whey Protein Functionally*. In: Protein Functionality in Food System. Marcel Dekker Inc, New York. 325-356.
- Lawal, O. S. 2004. *Functionlity of African Locust Bean (Parking Biolobossa) Protein Isolate : Effect of pH, Ionic Strength and Various Protein Concentrations*. J. Food. Chem. 86: 345-355.
- Lehninger, A. L. 1998. Dasar-Dasar Biokimia. Terjemahan, M. Thenawidjaja. Jakarta: Pustaka Sinar Harapan.
- Lorenzo, L. K. 2008. *Improving The Solubility of Yellow Mustard Precipitated Protein Isolate in Acidic Aqueous Solutions*. Departement of Chemical Engineering and Applied The Folin Phenol Reagent. The Journal Biological Chemistry 193 : 265-275.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, L., dan Randal, R. J. 1951. *Protein Measurement with The Follin Phenol Reagent*. The Journal of Biological Chemistry 193: 265-275.
- Makri, E., Papalamprou, E., dan Doxastakis, G. 2005. *Study of functional properties of seed storage proteins from indigenous European legume crops (lupin, pea, broad bean) in admixture with polysaccharides*. Food Hydrocolloids, 19, 583-594.
- Mwangwela, A. M., Waniska, R. D., dan Minnar, A. 2007. *Effect of Micronisation Temperature (130 and 170 °C) on Functional Properties of Cowpea Flour*. Journal of Food Chemistry 104 : 650-657.
- Nafi, A., Susanto, T., dan Achmad, S. 2006. *Pengembangan Tepung Kaya Protein (TKP) dari koro Komak (Lablab purpureus (L) Sweet) dan Koro Kratok (Phaseolus lunatus)*. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan 17(3): 159-165.
- Okezi, B. O., Bello, A. B. 1988. *Physicochemical and Functional Properties of Winged Bean Flour and Isolate Compared With Soy Isolate*. J Food Sci 53: 450-454.
- Patel, M. T., Kilara, A. 1990. *Studies On Whey Protein Concentrates: Foaming and Emulsifying Properties and Their Relationship With Physicochemical Properties*. J Dairy Sci 73 (10) : 2731-2740.
- Rao, M. A. 2007. *Rheology of fluid and semisolid foods*. Principles and applications (2nd ed.). New York: Springer.
- Sathe, S. K., Deshpande, S. S., Salunkhe, D. K. 1982. *Functional Properties of Winged Bean (Psophocarpus tetragonolobus (L.) DC) Protein*. J Food Sci 47:503-509.
- Somaatmadja, S., dan Van Der Maesen, L., J., G. 1993. *Proses Sember Daya Nabati Asia Tenggara 1 Kacang-kacang*. Dalam Andrew S., R., Windrati S., W., dan Subagio, A, Karakterisasi Biji Dan Protein Koro Komak (Lablab purpureus (L.) Sweet) Sebagai Sumber Protein. Jurnal. Teknologi dan Industri Pangan, Volume XVII Nomer 2 Tahun 2006.
- Suryabrata, S. 1994. Metodologi Penelitian. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Suwarno, M. 2003. *Potensi Kacang Komak (Lablab purpureus (L) Sweet) sebagai Bahan Baku Isolat Protein*. Skripsi. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian IPB.
- Towsend, A., dan Nakai, S. 1983. *Relationships Between Hydrophobicity and Foaming Characteristics of Food Proteins*. Journal of Food Science, 48, 588-594.
- Vani, B., dan Zayas, J. F. 1995. *Wheat Germ Protein Flour Solubility and Water Retention*. Journal of Food Science, 60, 845-848.
- Winarno, F. G. 2004. Kimia Pangan dan Gizi. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.