



**TELAAH SUHU DAN WAKTU EKSTRAKSI PADA PROSES
PEMBUATAN ISOLAT PROTEIN EDAMAME
AFKIR (*Glycine Max* (L.) Merrill)**

SKRIPSI

Oleh

**Langit Biru Uhidewa
NIM 141710101053**

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

2018



**TELAAH SUHU DAN WAKTU EKSTRAKSI PADA PROSES
PEMBUATAN ISOLAT PROTEIN EDAMAME
AFKIR (*Glycine Max* (L.) Merrill)**

SKRIPSI

Diajukan Guna Melengkapi Tugas Akhir dan Memenuhi Salah Satu Syarat
untuk Menyelesaikan Program Studi Teknologi Hasil Pertanian (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian

Oleh

Langit Biru Udhidewa

NIM 141710101053

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

2018

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah S.W.T, puji syukur kehadiratNya yang telah memberikan kemudahan dan kelancaran sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik;
2. Keluarga tercinta. Ibunda Yuyun, ayahanda Hendrik dan adik Sebening Embun yang telah memberikan do'a, semangat, kasih sayang dan dukungannya selama ini;
3. Guru – guruku sejak taman kanak – kanak sampai dengan perguruan tinggi;
4. Almamater Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember,
5. Teman-teman THP B 2014 dan seluruh kawan, seperjuanganku di Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

MOTO

“Mereka berencana dan Allah juga berencana. Allah sebaik-baiknya perencana”
(QS Imran [3] : 54)

“Bermimpilah setinggi langit, berharaplah serendah palung dilautan, berusaha
hingga tetes darah penghabisan.”
-Langit Biru Udhidewa-

“Bermimpilah seakan kau akan hidup selamanya. Hiduplah seakan kau akan mati
hari ini.”
-James dean-

HALAMAN PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Langit Biru Udhidewa

NIM : 141710101053

Judul : Telaah Suhu dan Waktu Ekstraksi pada Proses Pembuatan Isolat Protein Edamame Afkir (*Glycine max (L.) Merrill*)

dengan ini saya menyatakan bahwa karya ilmiah tersebut adalah benar-benar karya sendiri. Sepanjang pengetahuan saya, tidak terdapat karya yang ditulis atau diterbitkan orang lain kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang lazim. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapatkan sanksi akademik jika kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 18 Juli 2018

yang menyatakan,


Langit Biru Udhidewa
NIM 141710101053

SKRIPSI

**TELAAH SUHU DAN WAKTU EKSTRAKSI PADA PROSES
PEMBUATAN ISOLAT PROTEIN EDAMAME
AFKIR (*Glycine Max* (L.) Merrill)**

Oleh:

Langit Biru Uhidewa

NIM 141710101053

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Prof. Dr. Yuli Witono, S.TP., M.P.

Dosen Pembimbing Anggota : Ir. Mukhammad Fauzi M. Si

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul "Telaah Suhu dan Waktu Ekstraksi pada Proses Pembuatan Isolat Protein Edamame Akhir (*Glycine max (L.) Merrill*)" karya Langit Biru Udhidewa, NIM 141710101053 telah diuji dan disahkan pada :
hari, tanggal : Rabu, 25 Juli 2018
tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,



Prof. Dr. Yuli Witono, S.TP., M.P.

NIP.196912121998021001

Dosen Pembimbing Anggota,



Ir. Mukhammad Fauzi M. Si

NIP. 196307011989031004

Tim Penguji:

Ketua,



Dr. Ir. Sih Yuwanti, M.P

NIP. 196507081994032002

Anggota,



Dr. Maria Belgis, S.TP.,M.P.

NIP. 760016850

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Teknologi Pertanian

Universitas Jember



Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP. M.Eng

NIP. 196809231994031009

RINGKASAN

Telaah Suhu dan Waktu Ekstraksi pada Proses Pembuatan Isolat Protein Edamame Afkir (*Glycine max (L.) Merrill*); Langit Biru Udhidewa, 141710101053; 2018; 83 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Jember.

Isolat protein merupakan produk hasil isolasi dari protein hewani maupun nabati dengan batasan harus mengandung minimal 90% protein. Produk isolat protein biasanya terbuat dari kedelai kuning, namun hal ini terkendala dengan jumlah produksi dalam negeri yang terbatas sehingga Indonesia masih harus mengimpor kedelai. Oleh karena itu, perlu digali sumber potensi lain yang memiliki karakteristik serupa dengan kedelai kuning. Edamame afkir merupakan komoditi yang melipah di Jember dan memiliki karakteristik serupa dengan kedelai kuning serta memiliki potensi untuk dijadikan bahan dasar pembuatan isolat protein karena mengandung protein yang tinggi. Penggunaan suhu dan waktu ekstraksi pada proses pembuatan isolat protein diduga akan menginduksi terjadinya denaturasi protein yang dapat berpengaruh terhadap karakteristik isolat protein edamame (IPE). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh suhu dan waktu ekstraksi terhadap karakteristik fisik, kimia dan fungsional dari isolat protein edamame (IPE) sebagai *food ingredient*.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor dan tiga kali ulangan. Faktor yang digunakan yaitu suhu (A) yang terdiri dari tiga taraf, yaitu 30 °C (A1), 40 °C (A2), dan 50 °C (A3); dan waktu (B) yang terdiri dari dua taraf, yaitu 30 menit (B1) dan 60 menit (B2). Parameter yang digunakan pada penelitian ini meliputi rendemen, sifat fisik berupa kecerahan warna (*lightness*), sifat kimia berupa kadar protein dan sifat fungsional protein antara lain uji kelarutan protein, *Water Holding Capacity* (WHC), *Oil Holding Capacity* (OHC), kapasitas dan stabilitas emulsi (EC/EF), kapasitas dan Stabilitas Buih (FC/FS) dan gelasi. Data yang telah didapatkan kemudian dilakukan analisis menggunakan sidik ragam (ANOVA). Apabila ada

perbedaan yang signifikan antar perlakuan maka dilanjutkan dengan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf signifikansi 5% untuk tingkat perbedaan antar perlakuan. Analisis data pada penelitian ini akan dilakukan secara statistik menggunakan program SPSS 15, data disajikan dalam bentuk tabel dan histogram.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu ekstraksi yang digunakan dalam pembuatan isolat protein edamame yaitu dengan suhu 30°C, 40°C, dan 50°C berpengaruh nyata terhadap rendemen, kadar protein, warna (*lightness*), OHC, WHC, kapasitas dan stabilitas buih, kapasitas dan stabilitas emulsi, kelarutan protein dan daya gelasi. Semakin lama waktu ekstraksi yang digunakan yaitu selama 30 menit dan 60 menit berpengaruh nyata terhadap rendemen, warna (*lightness*), kapasitas dan stabilitas buih, OHC, WHC dan kelarutan protein, namun tidak berpengaruh nyata terhadap kadar protein, kapasitas dan stabilitas emulsi dan daya gelasi. Semakin meningkatnya suhu dan waktu ekstraksi pada proses pembuatan isolat protein edamame dapat meningkatkan rendemen, OHC, kadar protein, kapasitas dan stabilitas emulsi, kapasitas buih serta daya gelasi, namun menurunkan WHC, warna (*lightness*), kelarutan protein dan stabilitas buih.

SUMMARY

Study of Temperature and Extraction Time on the Inferior Edamame Protein Isolate Making Process (*Glycine max (L.) Merrill*); Langit Biru Udhidewa, 141710101053; 2018; 83 pages; Majoring in Agricultural Technology of Jember University.

Protein isolate is the isolation product of animal or vegetable protein which should contains of 90% minimum protein. It usually made of soybean, however it is constrained by the amount of domestic production of soybean so that we should import the soybean. Because of the reason, it is needed to find another potential plant resource which has similar characteristic to soybean. Inferior edamame is an overflow plant in Jember. It has similar characteristic to soybean and also has potential to be the raw protein isolate material because it contains of high protein. The use of temperature and extraction time on the inferior isolate protein making process are expected to induce protein denaturation which could give impact to edamame protein isolate characteristic, so it is needed to be learned. The aim of this research is to know about the impact of temperature and extraction time to physical, chemist and functional properties of edamame protein isolate as *food ingredient*.

This research was done by using Completely Randomized Block Designed Factorial (CRD) with two factors and three times repetition. The factors used in this research were temperature (A) that consists of three levels, that are 30 °C (A1), 40 °C (A2), and 50 °C (A3); and the extraction time (B) that consists of two levels, that were 30 minutes (B1) and 60 minutes (B2). The parameter used in this research were rendemen, colors (lightness), protein levels and functional properties covering protein solubility, WHC, OHC, emulsions capacity and stability, foam capacity and stability, and gelation. The data that have been got is analyzed by using ANOVA. If there is any significant difference between each treatments, it will be continued by using *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) with 5% significant level for each differences of the treatments. The data analysis

in this research will be done statistically by using SPSS 15 program and served in the form of tables and histogram.

The result of this research showed that the higher extraction temperature used in the making of edamame protein isolate which were 30°C, 40°C, and 50°C have a real impact to rendemen, protein levels, color (lightness), OHC, WHC, foam capacity and stability, emulsion capacity and stability, protein solubility and gelation. The longer the time needed in the extraction process were 30 minutes and 60 minutes have real impacts to rendemen, color (lightness), foam capacity and stability, OHC, WHC and protein solubility, however it does not have real impact to protein levels, emulsion capacity and stability and gelation. The higher the temperature and the time extraction of edamame protein isolate making process will increased rendemen, OHC, protein levels, emulsion capacity and stability, foam capacity and gelation, however it is decreased *Water Holding Capacity* (WHC), color (lightness), protein solubility and foam stability.

PRAKATA

Segala puji bagi Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya bagi penulis sehingga penulis mampu menyelesaikan proses penyusunan skripsi yang berjudul “Telaah Suhu dan Waktu Ekstraksi pada Proses Pembuatan Isolat Protein Edamame Afkir (*Glycine max (L.) Merrill*)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Jember.

Skripsi ini tidak dapat selesai tanpa adanya motivasi, bimbingan, kerja sama dan bantuan dari berbagai pihak secara baik langsung maupun tidak langsung. Oleh sebab itu dengan segenap kerendahan hati pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak berikut:

1. Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember;
2. Dr. Ir. Jayus selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
3. Prof. Dr. Yuli Witono, S.TP., M.P selaku dosen pembimbing utama dan Ir. Mukhammad Fauzi M. Si selaku dosen pembimbing anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatian untuk memberikan bimbingan yang tulus, petunjuk, serta motivasi dengan penuh kesabaran;
4. Dr. Ir. Sih Yuwanti, M.P dan Dr. Maria Belgis, S.TP.,M.P selaku tim penguji yang telah meluangkan waktunya serta memberikan kritik dan saran sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan lebih sempurna;
5. ibunda Yuyun, ayahanda Hendrik, adik Sebening Embun dan Nenek Martilah yang telah memberikan do'a, semangat, kasih sayang dan dukungannya selama ini;
6. teman-teman terbaikku Jojo Adjeng, Yuvita, Yusrifar dan Sandi yang selalu memotivasi;
7. teman seperjuangan Ika, Lilik, Nugraha, Danar dan Febri yang selalu memberikan semangat dan membantu di laboratorium;

8. keluarga besar FTP angkatan 2014 khususnya THP B 2014 yang selalu ada untuk memberikan keceriaan, dukungan dan motivasi;
9. keluarga besar *Benny's Family* dan *Sofyaners* yang selalu memberikan semangat;
10. KKN 84 kawan seatap selama 45 hari yang telah berbagi kebersamaan dan memberikan motivasi untuk tetap bersemangat dalam suasana suka duka yang indah;
11. bapak Rofi'i dan ibu Titik guru yang paling berjasa bagi saya selama ini;
12. semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang turut memberikan dukungan dan membantu dalam pelaksanaan penelitian skripsi sehingga dapat terselesaikan dengan baik.

Besar harapan penulis agar skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak dalam mengembangkan ilmu pengetahuan. Penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dan bermanfaat guna kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini membawa manfaat dan menambah pengetahuan bagi pembaca.

Jember, 18 Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

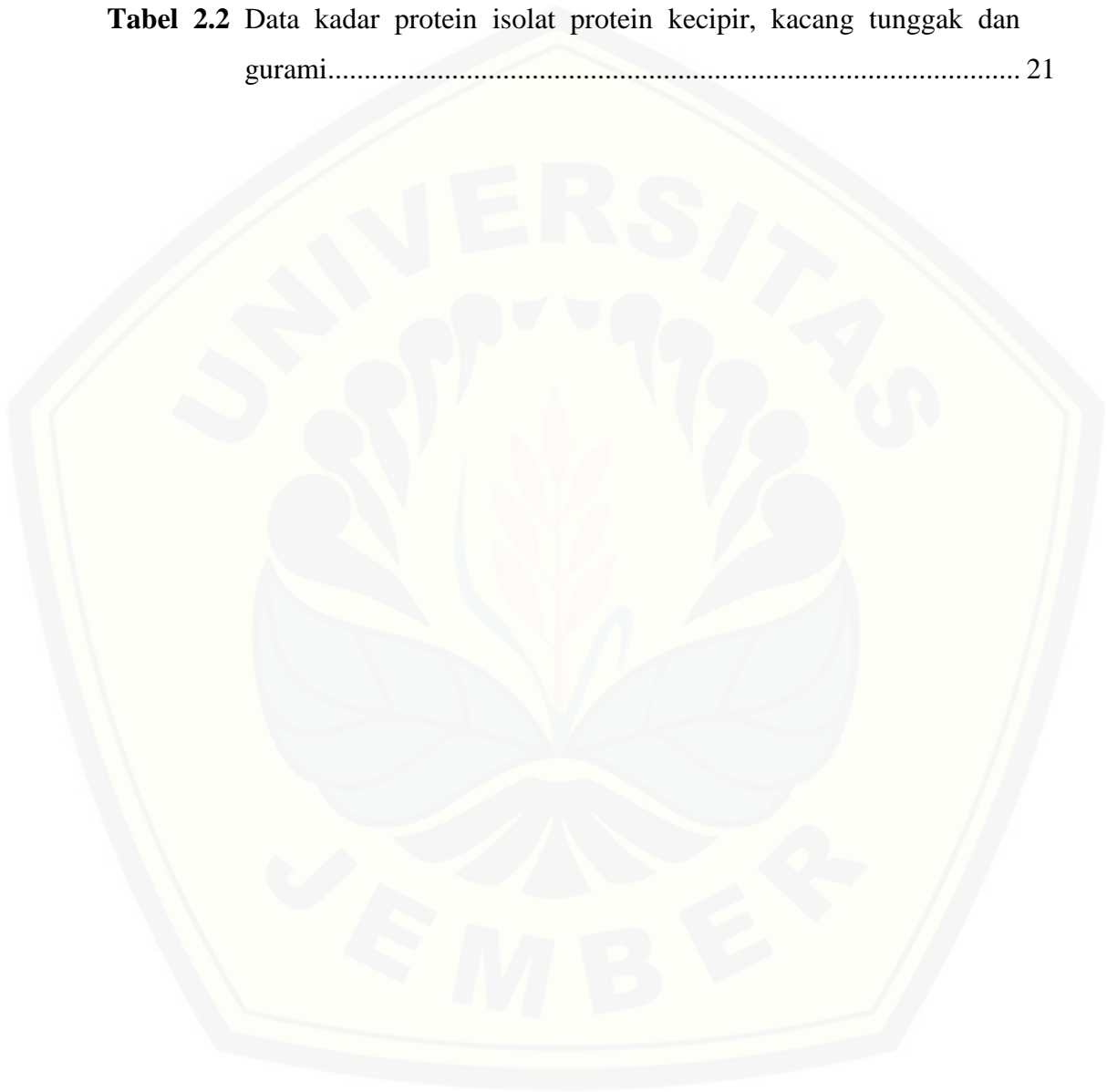
	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN (SUMMARY).....	vii
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan.....	3
1.4 Manfaat.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Kedelai Edamame.....	4
2.2 Protein.....	6
2.2.1 Struktur Protein	7
2.2.2 Sifat Protein	8
2.3. Sifat Fungsional Protein.....	10
2.3.1 Kelarutan Protein.....	10
2.3.2 Daya Ikat Air (<i>Water Holding Capacity/WHC</i>)	11
2.3.3 Daya Ikat Minyak (<i>Oil Holding Capacity/OHC</i>)	13
2.3.4 Kapasitas dan stabilitas emulsi (<i>EC/ES</i>).....	14
2.3.5 Kapasitas dan Stabilitas Buih (<i>FC/FS</i>).....	16

2.3.6 Pembentukan Gel (<i>Gel Formation</i>)	18
2.4. Isolat Protein	20
2.4.1 Pengertian Isolat Protein.....	20
2.4.2 Teknik Isolasi Protein.....	21
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	23
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	23
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	23
3.2.1 Alat Penelitian	23
3.2.2 Bahan Penelitian	23
3.3 Tahapan Penelitian.....	23
3.3.1 Rancangan Percobaan.....	23
3.3.2 Pelaksanaan Penelitian	24
3.4 Parameter Pengamatan.....	27
3.4.1 Rendemen	27
3.4.2 Pengujian Sifat Fisik Isolat Protein Edamame (IPE)	27
3.4.3 Pengujian Kimia Isolat Protein Edamame (IPE)	27
3.4.4 Pengujian Sifat Fungsional Isolat Protein Edamame (IPE).....	27
3.5 Prosedur Analisa.....	27
3.5.1 Analisis Rendemen	27
3.5.2 Analisis Kecerahan Warna (<i>Lightness</i>)	27
3.5.3 Analisis Kadar Protein Metode Kjeldahl.....	28
3.5.4 Kelarutan Protein.....	28
3.5.5 Daya Serap Air (<i>Water Holding Capacity/WHC</i>)	29
3.5.6 Daya Serap Minyak (<i>Oil Holding Capacity/OHC</i>)	29
3.5.7 Kapasitas dan stabilitas emulsi (<i>EC/ES</i>).....	30
3.5.8 Kapasitas dan Stabilitas Buih (<i>FC/FS</i>).....	30
3.5.9 Pembentukan Gel (<i>Gel Formation</i>)	31
3.6 Analisis Data	32
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
4.1 Titik Isoelektrik Protein Edamame	33
4.2 Rendemen	34

4.3 Kadar Protein.....	36
4.4 Kecerahan Warna (<i>Lightness</i>).....	38
4.5 Sifat Fungsional Isolat Protein Edamame.....	40
4.5.1 Daya Ikat Air (<i>Water Holding Capacity/WHC</i>).....	40
4.5.2 Daya Ikat Minyak (<i>Oil Holding Capacity/OHC</i>).....	42
4.5.3 Kelarutan Protein.....	45
4.5.4 Kapasitas dan Stabilitas Buih (<i>FC/FS</i>).....	47
4.5.5 Kapasitas dan stabilitas emulsi (<i>EC/ES</i>).....	51
4.5.6 Gelasi (<i>Gel Formation</i>).....	54
BAB 5. PENUTUP.....	58
5.1 Kesimpulan.....	58
5.2 Saran.....	58
DAFTAR PUSTAKA.....	59
LAMPIRAN.....	64

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Komposisi Kedelai Edamame	6
Tabel 2.2 Data kadar protein isolat protein kecipir, kacang tunggak dan gurami.....	21



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Edamame (<i>Glycine max(L.) Merr</i>)	5
Gambar 2.2 Struktur Asam Amino.....	8
Gambar 3.1 Diagram Alir Pembuatan Isolat Protein Edamame (IPE).....	26
Gambar 4.1 Kelarutan Protein edamame pH 2-8	33
Gambar 4.2 Kelarutan Protein Edamame pH 3,2-4,8.....	34
Gambar 4.3 Rata-rata rendemen isolat protein edamame variasi suhu dan waktu proses ekstraksi	35
Gambar 4.4 Rata-rata kadar protein isolat protein edamame variasi suhu dan waktu proses ekstraksi	37
Gambar 4.5 Rata-rata warna isolat protein edamame variasi suhu dan waktu proses ekstraksi	39
Gambar 4.6 Rata-rata <i>Water Holding Capacity</i> (WHC) isolat protein edamame variasi suhu dan waktu proses ekstraksi.	41
Gambar 4.7 Rata-rata <i>Oil Holding Capacity</i> (OHC) isolat protein edamame variasi suhu dan waktu proses ekstraksi	43
Gambar 4.8 Rata-rata kelarutan protein isolat protein edamame variasi suhu dan waktu proses ekstraksi.....	45
Gambar 4.9 Rata-rata kapasitas buih protein edamame variasi suhu dan waktu proses ekstraksi	47
Gambar 4.10 Rata-rata stabilitas buih isolat protein edamame variasi suhu dan waktu proses ekstraksi	49
Gambar 4.11 Rata-rata kapasitas emulsi isolate protein edamame variasi suhu dan waktu proses ekstraksi.....	51
Gambar 4.12 Rata-rata stabilitas emulsi isolat protein edamame variasi suhu dan waktu proses ekstraksi.....	53
Gambar 4.13 Rata-rata daya Gelasi isolat protein edamame variasi suhu dan waktu proses ekstraksi.	55

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Data Rendemen	64
Lampiran B. Data Kadar Protein.....	65
Lampiran C. Data Kecerahan Warna (<i>lightness</i>)	66
Lampiran D. Data <i>Water Holding Capacity</i> (WHC)	67
Lampiran E. Data <i>Oil Holding Capacity</i> (OHC)	69
Lampiran F. Data Kelarutan Protein.....	70
Lampiran G. Data Kapasitas Buih (FC).....	71
Lampiran H. Data Stabilitas Buih (FS).....	72
Lampiran I. Data Kapasitas Emulsi (EC).....	73
Lampiran J. Data Stabilitas Emulsi (ES).....	74
Lampiran K. Data Gelasi.....	75
Lampiran L. Titik Isoelektrik.....	76
Lampiran M. Data Anova Interaksi suhu dan waktu.....	77
Lampiran N. Foto Kegiatan Penelitian.....	81

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Isolat protein merupakan produk hasil isolasi dari protein hewani maupun nabati dengan batasan harus mengandung minimal 90% protein. Produk isolat protein biasanya terbuat dari kedelai kuning, namun hal ini terkendala dengan jumlah produksi dalam negeri sehingga Indonesia masih harus mengimpor kedelai kuning. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (2017), nilai impor kedelai pada tahun 2016 mencapai 2,64 juta ton kedelai dan 1.212 ton isolat protein, sehingga perlu digali sumber potensi lain yang memiliki karakteristik serupa dengan kedelai kuning. Salah satu tanaman yang memiliki karakteristik serupa dengan kedelai kuning serta memiliki potensi untuk dijadikan bahan dasar pembuatan isolat protein adalah edamame.

Edamame merupakan kedelai sayur (*Vegetable Soybean*) yang mudah dijumpai dan tumbuh subur di daerah Jember. Edamame pada dasarnya merupakan kedelai khas Jepang yang kemudian dikembangkan di Jember oleh PT. Mitra Tani 27. Kabupaten Jember merupakan salah satu pengeksport edamame terbesar dengan pendapatan pada tahun 2014 mencapai Rp 140 miliar (PTPN X, 2015). PT. Mitra Tani 27 sepanjang tahun 2017 memproduksi 9.000 ton edamame, dengan 7.650 ton atau 85% untuk penjualan ekspor dan sisanya 1.350 ton atau 15% merupakan edamame afkir yang dipasok ke pasar domestik khususnya pasar-pasar tradisional di daerah Jember (PT. MT. 27, 2017). Secara kimiawi edamame afkir memiliki komposisi yang sama dengan edamame untuk pasar ekspor, hanya saja produk ini tidak dapat diterima oleh pasar asing karena memiliki karakteristik fisik yang tidak seragam. Edamame memiliki kandungan protein sekitar 11 g dalam setiap 100 g biji basah (Samsu, 2001). Oleh karenanya edamame memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan menjadi produk *food ingredient* (bahan tambahan pangan) yang lebih komersial seperti isolat protein.

Isolat protein memiliki beberapa sifat fungsional sehingga sering digunakan sebagai *food ingredient* yang nantinya dapat diaplikasikan pada

produk pangan seperti sosis, *cake*, atau bakso. Terdapat beberapa faktor yang berperan terhadap sifat fungsional protein sehingga berpengaruh terhadap pengaplikasiannya pada bahan pangan. Suhu dan waktu pemanasan saat ekstraksi merupakan faktor penting yang berpengaruh terhadap tingkat denaturasi protein yang dapat memberikan karakteristik berbeda pada sifat fisik, kimia dan fungsional isolat protein edamame (IPE).

Perlakuan pemanasan pada proses ekstraksi dapat menginduksi denaturasi protein yang menyebabkan meningkatnya jumlah gugus hidrofobik dan *sulphydryl* (SH) yang terbuka dan berpengaruh terhadap karakteristik kapasitas dan stabilitas buih, kapasitas dan stabilitas emulsi dan gelasi protein (He, dkk. 2014). Saat ini belum banyak studi yang mengkaji pengaruh suhu dan waktu pemanasan terhadap karakteristik fisik, kimia dan fungsional isolat protein edamame (IPE) sebagai *food ingredient*. Karakteristik tersebut meliputi rendemen, sifat fisik yaitu warna (*lightness*), sifat kimia berupa kadar protein dan sifat fungsional protein seperti kapasitas dan stabilitas buih, kapasitas dan stabilitas emulsi, kelarutan protein, OHC, WHC dan gelasi. Edamame memiliki potensi sebagai sumber isolat protein nabati berbahan baku kedelai lokal. Oleh karena itu diperlukan studi untuk mengetahui pengaruh suhu dan waktu pemanasan pada proses ekstraksi terhadap karakteristik fisik, kimia dan fungsional isolat protein edamame, sehingga informasinya dapat dipergunakan oleh pihak-pihak terkait yang ingin mengaplikasikan isolat protein dari edamame.

1.2 Rumusan Masalah

Edamame afkir memiliki potensi untuk dijadikan produk komersial seperti isolat protein edamame karena kandungan proteinnya yang tinggi, sekitar 11 g dalam setiap 100 g biji basah (Samsu, 2001). Isolat protein edamame ini nantinya dapat diaplikasikan untuk memperbaiki sifat fisik dan organoleptik pada produk pangan seperti sosis, *cake*, atau bakso. Potensi isolat protein edamame tersebut diharapkan dapat mengurangi impor isolat protein dan menjadi sumber isolat protein nabati berbahan baku kedelai lokal. Penelitian terhadap edamame yang telah dilakukan hanya mengkaji kandungan isoflavon dan komposisi kimianya,

namun belum ada yang mengkaji pengaruh suhu dan waktu ekstraksi pada pembuatan isolat protein edamame terhadap karakteristik fisik, kimia dan fungsional isolat protein edamame. Untuk mengetahui informasi tersebut, maka perlu dilakukan penelitian terhadap karakteristik isolat protein Edamame (IPE), sehingga informasinya dapat dipergunakan oleh pihak-pihak terkait yang ingin mengaplikasikan isolat protein dari edamame.

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh suhu dan waktu pemasanan terhadap karakteristik fisik, kimia dan fungsional dari Isolat protein edamame (IPE) sebagai *food ingredient*.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Menyediakan informasi baru tentang alternatif sumber isolat protein nabati
2. Memanfaatkan edamame afkiran menjadi isolat protein edamame sehingga memiliki nilai komersial yang lebih besar.
3. Menyediakan sumber isolat protein berbahan baku produk kedelai lokal.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kedelai Edamame

Kedelai Jepang edamame atau *mao dou* dalam bahasa China tercatat sebagai tanaman yang telah dibudidayakan di China pada 200 tahun sebelum masehi sebagai yang berkhasiat atau sebagai tanaman obat, bahkan hingga saat ini edamame masih dikenal dan populer sebagai tanaman obat. Meskipun kedelai Jepang edamame dikenal di China sejak dahulu, kedelai Jepang edamame baru dipasarkan di Jepang tepatnya di Engishiki pada tahun 972 sesudah masehi dan dikenal sebagai *anomame* (Pambudi, 2013). Kedelai Jepang edamame adalah tanaman tropis yang merupakan salah satu jenis sayuran (*green soy bean vegetable*). Kedelai Jepang edamame berasal dari bahasa Jepang. Eda berarti cabang dan mame berarti kacang, sehingga dapat diartikan sebagai buah yang tumbuh di bawah cabang (*branchedbean*). Kedelai Jepang edamame di China disebut *maodou* yang berarti *hairybean* atau kacang berambut (Miles, 2000).

Tanaman edamame ini merupakan tanaman berupa semak rendah, berdaun lebat, memiliki tubuh tegak dan dengan beragam morfologi. Tinggi tanaman berkisar antara 30 cm sampai lebih dari 50 cm dan dapat bercabang sedikit atau banyak tergantung pada kultivar lingkungan hidupnya. Edamame dapat didefinisikan sebagai kedelai berbiji sangat besar (>30g/100biji) yang dipanen muda dalam bentuk polong segar pada stadia R-6 (berbiji penuh) dan dipasarkan dalam bentuk segar (*fresh edamame*) atau dalam keadaan beku (*frozen Edamame*) (Samsu, 2001). Menurut Asadi (2009) edamame adalah jenis kedelai yang dipanen ketika polongnya masih muda dan berwarna hijau, disaat memasuki stadium R6 (pengisian biji 80–90% pengisian).

Di Jepang, tingkat kebutuhan edamame sangat tinggi, saat musim panas. edamame dijadikan sebagai pasangan minum sake (bir) dan ini sudah menjadi tradisi di negeri Sakura. Tanaman edamame dapat tumbuh di beberapa daerah seperti China, Thailand, Taiwan, Vietnam dan Indonesia. (Pambudi, 2013). Tanaman kedelai ini dikenal dengan beberapa nama botani yaitu *Glycinesoja* dan *Soja max*. Kedelai edamame memiliki sedikit perbedaan dengan dengan kedelai

biasa yaitu rasanya cenderung agak manis, warnanya hijau cerah, lebih mudah dicerna karena edamame memiliki kadar *TrypsinInhibitor* yang rendah dan bijinya yang cukup besar (Amar dan Lutfiati, 2013). Kenampakan edamame dapat dilihat pada gambar 2.1, sedangkan taksonomi edamame menurut *United States Department of Agriculture* (2013) adalah sebagai berikut:

<i>Kingdom</i>	: <i>Plantae</i>
<i>Subkingdom</i>	: <i>Tracheobionta</i>
<i>Superdivision</i>	: <i>Spermatophyta</i>
<i>Division</i>	: <i>Magnoliophyta</i>
<i>Class</i>	: <i>Magnoliopsida</i>
<i>Subclass</i>	: <i>Rosidae</i>
<i>Order</i>	: <i>Fabales</i>
<i>Family</i>	: <i>Fabaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Glycine</i>
<i>Species</i>	: <i>Glycine max(L.) Merr</i>



Gambar 2.1. Edamame (*Glycine max(L.) Merr*) (Sumber: PT. Mitratani 27)

Edamame merupakan sumber protein nabati dan mineral yang murah serta mempunyai kandungan vitamin C dan serat yang cukup tinggi. Kadar asam amino kedelai termasuk paling lengkap. Tiap satu gram asam amino kedelai mengandung 340 mg isoleusin, 480 mg leusin, 400 mg lisin, 310 mg fenilalanin, 200 mg tirosin, 80 mg metionin, 110 mg sistin, 250 mg treonin, 90 mg triptofan, dan 330 mg valin (Samsu, 2001). Edamame juga mengandung isoflavon yang dapat berperan sebagai anti kanker (Coolong, 2009). Menurut (Samsu, 2001), kandungan gizi Edamame Jepang yang diuji melalui analisis proksimat ditunjukkan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Komposisi Kedelai Edamame

Komposisi	Jumlah
Energi (kkal/100g)	582,0
Air (g/100g)	71,1
Protein (g/100g)	11,4
Lipid (g/100g)	6,6
Karbohidrat (g/100g)	7,4
Serat (g/100g)	1,9
Serat pangan (g/100g)	15,6
Abu (g/100g)	1,6
Kalsium (mg/100g)	70,0
Fosfor (mg/100g)	140,0
Besi (mg/100g)	1,7
Natrium (mg/100g)	1,0
Kalium (mg/100g)	140,0
Karoten (mg/100g)	100,0
Vitamin B1(mg/100g)	0,27
Vitamin B2 (mg/100g)	0,14
Niasin (mg/100g)	1,0
Asam askorbat (mg/100g)	27,0

Sumber: Samsu (2001)

2.2 Protein

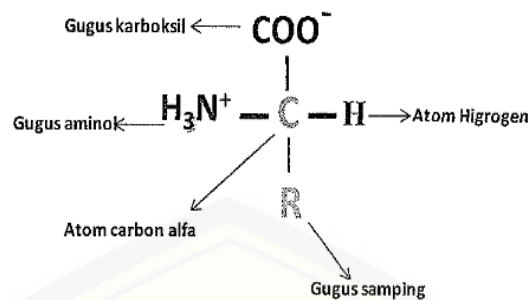
Protein berasal dari bahasa Yunani yaitu *proteos*, yang berarti yang utama atau yang di dahulukan. Kata ini diperkenalkan oleh ahli kimia Belanda, Geraldus Mulder (1802-1880). Ia berpendapat bahwa protein adalah zat yang paling penting dalam setiap organisme (Ellya, 2010). Protein merupakan suatu polimer yang panjang dari gabungan asam-asam amino yang terhubung melalui ikatan peptida. Protein terbentuk dari unsur-unsur organik yang terdiri dari unsur karbon (C), hydrogen (H), dan oksigen (O), unsur tersebut hampir sama dengan karbohidrat dan lemak namun ditambah dengan unsur lain yaitu nitrogen (N). Komposisi rata-rata unsur kimia yang ada dalam protein adalah karbon 55%, oksigen 23%, nitrogen 16%, hidrogen 7%, sulfur 1% dan fosfor kurang dari 1% (Winarno, 2004). Satu molekul protein dapat terdiri dari 12 hingga 18 macam asam amino dan dapat mencapai jumlah ratusan asam amino (Suhardjo dan Clara, 1992).

2.2.1 Struktur Protein

Struktur protein dapat dibagi menjadi beberapa bentuk yaitu struktur primer, sekunder, tersier, dan kuartener. Menurut Martoharsono (1998) struktur primer adalah struktur dasar dari protein dimana ia adalah susunan linier asam amino dalam protein yang merupakan suatu rangkaian unik dari asam amino yang menentukan sifat dasar dari berbagai protein dan secara umum menentukan bentuk struktur sekunder dan tersier. Bila protein tersusun oleh banyak asam amino dengan gugus hidrofobik, daya kelarutannya dalam air tentu akan kurang baik jika dibandingkan dengan protein yang mengandung lebih banyak gugus hidrofil.

Struktur sekunder protein adalah suatu rantai polipeptida yang berlipat-lipat dan merupakan bentuk tiga dimensi dengan cabang-cabang rantai polipeptidanya tersusun saling berdekatan (Winarno, 2004). Protein sekunder terbentuk oleh adanya ikatan hidrogen antar asam amino dalam rantai sehingga strukturnya tidak lurus, melainkan berbentuk zig zag dengan gugus R mencuat ke atas dan ke bawah. Contoh struktur ini adalah bentuk α -heliks pada wol, serta bentuk heliks pada kolagen (Martoharsono, 1998).

Struktur tersier pada protein merupakan susunan dari struktur sekunder yang satu dengan struktur sekunder yang lain. Biasanya bentuk-bentuk sekunder ini dihubungkan oleh ikatan hidrogen, ikatan garam, ikatan hidrofobik, dan ikatan disulfida. Ikatan disulfida merupakan ikatan yang terkuat dalam mempertahankan struktur tersier protein (Gaman dan Sherrington, 1994). Struktur primer, sekunder, dan tersier umumnya hanya melibatkan satu rantai polipeptida, tetapi bila struktur ini melibatkan beberapa polipeptida dalam membentuk suatu protein, maka disebut dengan struktur kuartener (Martoharsono, 1998). Struktur asam amino dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur Asam Amino (Nelson dan Cox, 2005)

2.2.2. Sifat Protein

Protein memiliki beberapa sifat, pada umumnya sifat protein sangat dipengaruhi oleh perlakuan fisik maupun kimia. Protein sangat peka terhadap pengaruh-pengaruh fisik dari zat kimia, maka mudah mengalami perubahan bentuk. Perubahan atau modifikasi pada struktur molekul protein disebut dengan denaturasi. Faktor-faktor yang menyebabkan terjadinya denaturasi adalah panas, pH, tekanan, mekanik dan lain sebagainya (Winarno, 2004).

Temperatur merupakan titik tengah dari proses denaturasi yang disebut dengan *melting temperature* (T_m) yang pada umumnya protein mempunyai nilai T_m kurang dari 100°C , apabila di atas suhu T_m , maka protein akan mengalami denaturasi. Protein yang mengalami denaturasi akan menurunkan aktivitas biologisnya dan berkurang kelarutannya, sehingga mudah mengendap (Yazid, 2006). Denaturasi dapat diartikan sebagai perubahan atau modifikasi terhadap struktur sekunder, tersier dan kuartener molekul protein, tanpa terjadinya pemecahan ikatan-ikatan kovalen. Karena itu denaturasi dapat pula dikatakan sebagai suatu proses terpecahnya ikatan hidrogen interaksi hidrofobik, ikatan garam, dan terbentuknya lipatan atau wiru molekul (Winarno, 2004).

Denaturasi dapat mengubah sifat protein menjadi sukar larut dalam air. Penggumpalan ini dapat disebabkan oleh pemanasan, penambahan asam, penambahan enzim, dan adanya logam berat (Triyono, 2010). Ada dua macam denaturasi protein, yang pertama yaitu terjadi pengembangan rantai peptida yang terjadi di rantai polipeptida, sedangkan denaturasi kedua terjadi pemecahan

protein menjadi unit yang lebih kecil tanpa disertai pengembangan molekul pada bagian-bagian molekul yang tergabung dalam ikatan sekunder. Ikatan-ikatan yang dipengaruhi oleh proses denaturasi ini adalah ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik misalnya pada leusin, valin, fenilalanin, triptofan yang saling berikatan membentuk suatu misell dan tidak dalam tiga kelompok utama, yaitu (1) sifat hidrasi (berhubungan dengan interaksi protein-air) seperti daya ikat air, kebasahan, daya lekat, kekentalan, dan kelarutan; (2) sifat yang berhubungan dengan interaksi protein-protein seperti pembentukan gel, dan (3) sifat-sifat permukaan seperti tegangan permukaan, emulsifikasi dan pembentukan buih (Cheftel dkk, 1985).

Selain denaturasi protein juga memiliki sifat lain berupa ion zwiter dan pH isoelektrik. Larutan asam amino dalam air mempunyai muatan positif maupun negatif sehingga asam amino disebut ion zwiter. Setiap jenis protein dalam larutan mempunyai pH tertentu yang disebut pH isoelektrik (berkisar 4-4,5). Pada pH isoelektrik molekul protein mempunyai muatan positif dan negatif yang sama, sehingga saling menetralkan atau bermuatan nol. Pada titik isoelektrik, protein akan mengalami pengendapan (koagulasi) paling cepat (Yazid, 2006). Protein juga memiliki sifat amfoter yang timbul karena adanya gugus amino (-NH₂) yang bersifat basa dan gugus karboksil (-COOH) yang bersifat asam yang terdapat pada molekul protein pada ujung-ujung rantainya, maka dengan larutan asam atau pH rendah, gugus amino pada protein akan bereaksi dengan ion H⁺, sehingga protein bermuatan positif, sebaliknya dalam larutan basa gugus karboksilat bereaksi dengan ion OH⁻, sehingga protein bersifat negatif (Yazid, 2006).

2.3 Sifat Fungsional Protein

Sifat fungsional protein dapat dikelompokkan menjadi tiga kelompok utama, yaitu: (1) sifat hidrasi, seperti kelarutan atau kemampuan menahan air; (2) sifat permukaan, seperti emulsifikasi dan pembentukan buih; dan (3) interaksi antar protein, seperti gelasi. Sifat fungsional adalah sifat-sifat protein yang dapat mempengaruhi karakter pangan selama preparasi, pengolahan, penyimpanan dan konsumsi serta berperan terhadap kualitas dan keadaan sensoris dari sistem

makanan (Zayas, 1997). Sifat-sifat fungsional protein ini terkait erat dengan jenis protein itu sendiri. Jenis protein yang dimaksud berhubungan dengan sumber protein tersebut, seperti protein daging, protein susu, protein kedelai, dan sebagainya. Tiap jenis protein memiliki sifat fungsional berbeda, yang disebabkan oleh perbedaan pada strukturnya, yaitu primer, sekunder, tersier atau quartener (Zayas, 1997). Berbagai sifat fungsional protein yang mempengaruhi peran protein seperti: kelarutan, daya ikat air (WHC), daya ikat minyak (OHC), kapasitas dan stabilitas emulsi, serta kapasitas dan stabilitas buih, koagulasi, gelasi (pembentukan gel) dan pembentukan adonan.

2.3.1 Kelarutan Protein

Sifat fungsional protein biasanya dipengaruhi oleh kelarutan protein. Protein tak larut memiliki keterbatasan penggunaan dalam pangan. Kelarutan protein merupakan kesetimbangan antara interaksi antar protein dengan interaksi antara protein dan solven. Interaksi utama yang mempengaruhi kelarutan adalah interaksi hidrofobik dan ionik. Interaksi hidrofobik menyebabkan adanya interaksi antar protein sehingga menurunkan kelarutan sedangkan interaksi ionik menyebabkan interaksi antara protein dengan air sehingga meningkatkan kelarutan. Residu ionik menyebabkan dua gaya tolak menolak antar molekul protein dalam larutan, yaitu gaya repulsif elektrostatis antar protein yang memberikan muatan positif atau negatif pada pH selain titik isoelektriknya dan terkait lapisan hidrasi di sekeliling gugus ionik. Proses pelarutan mempertimbangkan perubahan energi interaksi intermolekuler yang menyertai pencampuran antara solut (fase terlarut) dan solven (fase pelarut). (Augustijns dan Brewster, 2007).

Sifat kelarutan protein bersifat amfoter yang berarti kelarutannya akan ditentukan oleh muatannya. Protein mencapai titik terendah pada saat mencapai titik isoelektriknya, karena pada titik ini interaksi protein dengan protein lebih kuat bila dibandingkan dengan interaksi protein dengan air. Pada saat pH di atas atau di bawah titik isoelektrik, yang terjadi adalah interaksi protein dengan air lebih kuat bila dibandingkan interaksi protein dengan protein, sehingga protein dapat larut.

Kelarutan protein akan menurun pada titik isoelektrik, hal ini sesuai dengan Buxbaum (2007) yang menyatakan bahwa pada titik isoelektris terjadi tarik menarik antar molekul protein yang menyebabkan agregasi dan presipitasi molekul sehingga protein mencapai kelarutan minimum. Muatan total masing-masing asam amino pada titik isoelektrik sama dengan nol, artinya terjadi keseimbangan antara gugus bermuatan positif dan gugus bermuatan negatif sehingga protein mudah mengendap (Budijanto, dkk. 2011). Menurut Zayas (1997), sebagian besar protein nabati memiliki titik isoelektris 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. Kartika, (2009) melaporkan bahwa kelarutan maksimum protein dari isolat protein biji kecipir ada pada suasana basa yaitu pada pH 11 dan minimum pada pH 3,45. Sedangkan Ragap dkk (2004) melaporkan bahwa isolat protein kacang tunggak sangat larut pH basa. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Witono dkk (2014) yang menyatakan isolat protein kacang tunggak sangat larut pada pH 8.

2.3.2 Daya Ikat Air (*Water Holding Capacity/WHC*)

Daya ikat air didefinisikan sebagai kemampuan untuk menahan air akibat adanya gaya, tekanan, sentrifugasi, dan pemanasan. Parameter ini umum digunakan sebagai faktor penentu dan pembatas dalam penggunaan protein pada bahan pangan. Molekul air mengikat beberapa gugus pada protein. Hal ini terkait dengan gugus bermuatan (*ion-dipole interactions*); gugus peptida utama (*backbone peptide*); gugus amida pada Asn dan Gln; gugus hidroksil pada residu Ser, Thr, dan Tyr (*al dipole-dipole interactions*); dan residu nonpolar (*dipole-induced dipole interaction*, hidrasi hidrofobik) (Damodaran, 1996).

Kapasitas hidrasi protein terkait dengan komposisi asam amino, yaitu semakin banyak residu yang bermuatan maka pengikatan air akan makin meningkat. Daya ikat air dipengaruhi oleh konsentrasi protein, pH, kekuatan

ionik, suhu, komponen lain dalam pangan, garam, pemanasan dan kondisi penyimpanan (Zayas, 1997). Menurut Giyarto dkk, (2018) daya ikat air dari protein dipengaruhi oleh pH, garam dan suhu.

Pada kondisi protein mencapai titik isoelektris, maka interaksi antara protein dengan protein mencapai maksimum. Interaksi antara protein-protein menurun bila protein semakin bermuatan, sehingga interaksi antara air dan protein meningkat, dan daya ikat air oleh protein meningkat. Protein akan mengikat air lebih banyak saat pH berada di atas maupun di bawah pI. Kondisi ini terkait dengan meningkatnya muatan dan gaya repulsifnya. Daya ikat air protein secara umum lebih besar pada pH 9 – 10 dibandingkan pH lainnya (Fennema, 1996). Hal ini terkait dengan terionisasinya sulfidril dan residu tirosin.

Perubahan konformasi protein selama pengolahan terjadi umumnya akibat adanya pemanasan. Pemanasan menyebabkan terbukanya struktur rantai polipeptida dan dikenal dengan istilah denaturasi. Denaturasi yang menyebabkan terjadinya agregasi protein akan menurunkan kapasitas pengikatan air karena adanya interaksi antar protein tersebut (Damodaran, 1996). Hal ini terkait dengan peningkatan area permukaan terhadap rasio massa yang terekspos. Sesuai dengan pendapat Winarno (2004), yang menyatakan perlakuan panas dapat memberikan pengaruh yang menguntungkan dan merugikan terhadap protein. Pengaruh yang menguntungkan yaitu meningkatnya daya guna protein, sebab adanya pemanasan pada proses pengolahan dapat menginaktifkan atau menurunkan protein inhibitor. Sedangkan pengaruh merugikan dari pemanasan adalah dapat membuat protein bahan terdenaturasi sehingga kemampuan mengikat airnya menurun.

Daya ikat air konsentrat protein kedelai yang dilaporkan oleh Hudson (1994) adalah 2,40-3,40 g H₂O/g solid. Sedangkan, Budijanto, dkk (2011) melaporkan daya ikat air isolat protein kacang kedelai sebesar 2,61 g H₂O/g solid. Perbedaan kemampuan protein dalam menyerap air dipengaruhi oleh komposisi asam aminonya. Isolat protein ini mengandung banyak asam amino ionik (asam glutamat, asam aspartat dan lisin) sehingga dapat meningkatkan kemampuan daya ikat air. Daya ikat air isolat protein kacang kedelai adalah 189,67±5,02%. Nilai daya ikat air isolat protein kacang kedelai lebih rendah dari daya ikat air protein kedelai

yaitu sebesar 227,30% (Sudrajat, dkk. 2016 dan Arogundade dkk, 2004). 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).

2.3.3 Daya Ikat Minyak (*Oil Holding Capacity/OHC*)

Daya ikat minyak merupakan salah satu sifat yang dimiliki protein dan sangat perlu untuk membantu penggunaan protein tersebut dalam olahan pangan dalam bentuk emulsi. Budijanto, dkk (2011) melaporkan daya ikat minyak isolat protein kecipir sebesar 1,60 ml minyak/ g solid. Daya ikat minyak konsentrat dan isolat protein kedelai yang dilaporkan oleh Kinsella (1979) adalah 1,33-1,54 ml minyak/ g Solid. Daya ikat minyak isolat protein koro bengkuk adalah $130,18 \pm 8,16\%$. Nilai daya ikat minyak isolat protein koro bengkuk lebih tinggi dibandingkan dengan daya ikat isolat protein kedelai sebesar 121,07% (Witono dkk, 2014). Hal ini sesuai dengan Zayas (1997), yang menyatakan 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.

Sumber protein, kondisi proses pengolahan, komposisi bahan tambahan, ukuran partikel, dan suhu merupakan faktor yang mempengaruhi protein dalam mengikat minyak (Zayas, 1997). Zayas (1997) menyatakan bahwa penyerapan minyak ditentukan dengan pengikatan minyak oleh bagian nonpolar protein. Pengikatan minyak oleh protein tanaman merupakan kombinasi pengaruh dari konsentrasi protein, jumlah sisi nonpolar, serta interaksi antara protein, lipida, dan karbohidrat. Kapasitas protein dalam mempertahankan lipida dipengaruhi interaksi protein-lipida dan susunan ruang pada fase lipida yang ditentukan oleh interaksi antar lipida tersebut (Zayas, 1997). Interaksi antara protein dan lipida dipengaruhi oleh ikatan-ikatan hidrofobik, elektrostatik, hidrogen, dan

nonkovalen. Ikatan hidrofobik merupakan ikatan yang sangat penting dalam menstabilkan kompleks protein–lipida.

2.3.4 Kapasitas dan stabilitas emulsi (*Emulsion Capacity/EC and Emulsion Stability/ES*)

Emulsi merupakan suatu sistem dispersi dari satu atau lebih cairan yang sebenarnya tidak dapat bercampur. Campuran tersebut distabilkan oleh agensia pengemulsi yang dapat membentuk lapisan film yang menghubungkan antar cairan tersebut (*interface film*). Protein dapat mengadsorpsi minyak karena adanya residu asam amino hidrofobik yang dapat terlepas dari matriks jembatan hydrogen di sekeliling molekul air (Belitz, 2009). Hal ini mengakibatkan terjadinya penggantian molekul air yang terdapat pada bagian hidrofobik lapisan pembatas antara minyak dan air (*interface*) dengan minyak. Emulsi dalam pangan dapat berupa 2 tipe, yaitu minyak dalam air (O/W) dan air dalam minyak (W/O). Emulsi dengan sistem O/W umumnya membentuk tekstur yang *creamy* sedangkan emulsi dengan sistem W/O memiliki tekstur *greasy*.

Kapasitas emulsi (EC) merupakan jumlah minyak (ml) yang dapat di emulsi oleh 1 g protein pada kondisi tertentu. Agensia pengemulsi yang menentukan kapasitas emulsi tergantung pada kemampuannya membentuk lapisan film yang dapat mengadsorpsi di sekeliling globula dan menurunkan tegangan permukaan lapisan pembatas minyak-air (*oil-water interface*) (Zayas, 1997). pH dapat mempengaruhi total muatan dan kesetimbangan elektrostatis antar protein serta memodifikasi kemampuan protein tersebut untuk berinteraksi hidrofilik dan lipofilik (Elizalde, dkk.1996).

Stabilitas emulsi (ES) merupakan kemampuan emulsi untuk mempertahankan dispersinya tanpa adanya pemisahan. Kapasitas dan stabilitas emulsi dipengaruhi oleh asal dan konsentrasi protein, pH, kekuatan ionik, dan viskositas sistem. Karakteristik emulsi yang dihasilkan dipengaruhi desain peralatan, suhu minyak, dan larutan protein (Zayas, 1997). Emulsi dengan stabilitas yang tinggi dapat diperoleh dengan mengkombinasikan beberapa

agensia pengemulsi dengan tetap memperhatikan nilai kesetimbangan hidrofilik lipofilik (HLB).

Budijanto, dkk (2011) melaporkan nilai aktivitas emulsi isolat protein kecipir 70,5% selama 6 jam. Isolat protein kecipir dominan disusun oleh asam-asam amino yang cenderung bersifat hidrofilik maka keseimbangan hidrofilik-lipofilik proteinnya kurang untuk membentuk emulsi. Kapasitas emulsi isolat protein koro benguk adalah $50,59 \pm 2,27$ %. Nilai kapasitas emulsi isolat protein koro benguk lebih rendah dibandingkan dengan kapasitas emulsi isolat protein kedelai yaitu sebesar 70,50% (Budijanto, dkk, 2011). 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 dan Suwarno, 2003).

Isolat protein koro benguk memiliki kestabilan yang baik selama 6 jam dengan rata-rata nilai 49,22 %. Namun, nilai stabilitas emulsi isolat protein koro benguk lebih rendah dibandingkan dengan stabilitas isolat protein kedelai yaitu sebesar 72,74 % (Witono dkk., 2014). Elizade dkk., (1996), 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.

Protein yang cocok digunakan sebagai agensia pengemulsi pada emulsi minyak dalam air hendaknya memiliki berat molekul yang rendah, komposisi asam amino yang seimbang antara residu bermuatan, polar, dan nonpolar, kelarutan yang baik dalam air, serta dapat membentuk permukaan hidrofobik yang baik dan konformasinya stabil (Belitz, 2009). Perubahan interaksi elektrostatis akan mempengaruhi interaksi hidrofobik dan *Van der Waals* serta ikatan hidrogen. Kekuatan interaksi-interaksi tersebut merupakan faktor kritis dalam mengoptimasi sifat emulsifikasi protein pangan (Elizalde dkk. 1996).

Beberapa faktor yang mempengaruhi sifat emulsi protein, yaitu:

- (1). Konsentrasi protein: Stabilitas emulsi dipengaruhi oleh jumlah protein dalam preparasi.
- (2). Nilai pH: Beberapa protein memiliki daya emulsi yang optimal pada titik isoelektriknya seperti putih telur dan gelatin, sementara beberapa memiliki daya emulsi yang optimal pada pH yang jauh dari titik isoelektrik seperti protein kacang dan kedelai.
- (3). Kekuatan ion: Adanya garam menurunkan potensial repulsi elektrostatis dan dapat menurunkan stabilitas emulsi.
- (4). Perlakuan panas: Suhu merupakan faktor kritis dalam pembentukan emulsi. Pemanasan menyebabkan peningkatan penampakan viskositas pada beberapa protein yang mempengaruhi sifat emulsi dari protein ini. Perlakuan pemanasan dapat menginduksi denaturasi protein yang menyebabkan meningkatnya jumlah gugus hidrofobik dan *sulphydryl* (SH) yang terbuka dan akan berpengaruh terhadap karakteristik kapasitas dan stabilitas buih, kapasitas dan stabilitas emulsi dan gelasi protein (He. Dkk, 2014).

2.3.5 Kapasitas dan Stabilitas Buih (*Foam Capacity/ FC and Foam Stability/ FS*)

Buih merupakan dispersi gas dalam cairan. Protein dapat menstabilkan buih dengan cara membentuk lapisan film yang fleksibel dan kohesif. Zayas (1997) menyatakan bahwa protein dalam cairan film harus: (1) terlarut dalam larutan encer (aqueous); (2) dapat terkonsentrasi pada lapisan pembatas air-udara; dan (3) berada pada kondisi terdenaturasi sehingga akan meningkatkan viskositas dan kekuatannya.

Protein akan teradsorpsi pada lapisan pembatas (*interface*) melalui area hidrofobik dan diikuti dengan denaturasi permukaan (*partial unfolding*). Adanya reduksi tegangan permukaan menyebabkan adsorpsi protein serta memfasilitasi pembentukan *interface* baru dan selanjutnya membentuk gelembung gas. Semakin cepat molekul protein terdifusi dalam *interface* maka denaturasi akan makin cepat terjadi sehingga buih akan semakin stabil (Belitz, 2009).

Menurut Zayas (1997) pembentukan buih meliputi 3 tahapan, yaitu: (1) Protein globular terlarut terdifusi pada lapisan pembatas udara-air (*air-water interface*), terkonsentrat dan menurunkan tegangan permukaan; (2) Struktur protein terbuka (*unfold*) pada *interface* sehingga terorientasi bagian hidrofilik pada bagian polar dan hidrofobik pada bagian nonpolar; (3) Interaksi polipeptida membentuk lapisan film dengan dimungkinkan terjadi denaturasi dan koagulasi parsial. Protein akan teradsorpsi dengan cepat dan membentuk lapisan film yang stabil di sekeliling gelembung yang mendukung terbentuknya buih. Adsorpsi protein secara spontan dari bentuk larutan menjadi lapisan pembatas antara udara dan cairan (*air/ aqueous interface*) sangat mempengaruhi buih yang dihasilkan. Kondisi ini terkait dengan dehidrasi simultan pada lapisan permukaan hidrofobik (*hydrophobic interface*) dan bagian hidrofobik protein tersebut (Foegeding dkk. 2006).

Interaksi elektrostatis memegang peran penting pada adsorpsi protein. Sifat pembentukan buih dapat dioptimalkan saat protein dikondisikan mendekati titik isoelektrisnya (pI) (Foegeding dkk, 2006). Proses adsorpsi ini terjadi dengan cepat pada pI karena minimalnya tolakan elektrostatis pada protein yang bermuatan netral. Buih akan runtuh akibat adanya gelembung gas yang besar terbentuk diantara gelembung-gelembung kecil karena terjadi disprotonasi. Stabilitas buih dipengaruhi oleh jumlah protein yang teradsorpsi dan kemampuan molekul teradsorpsi mengalami asosiasi. Denaturasi permukaan umumnya akan melepaskan rantai samping asam amino yang dapat masuk dalam interaksi intermolekuler (Belitz, 2009). Buih dapat dirusak dengan adanya lipida dan pelarut organik karena sifat hidrofobisitasnya yang mampu menggantikan posisi protein pada permukaan gelembung gas. Adanya substansi yang tidak larut air juga dapat menyebabkan runtuhnya film protein pada buih (Zayas, 1997).

Isolat protein kecipir memiliki Nilai daya buih yang baik yaitu 89,5%, namun memiliki stabilitas buih yang cukup rendah. Kapasitas buih isolat protein dipengaruhi oleh nilai pH dan profil kelarutan protein seperti pada sifat emulsi. Ketika muatan protein meningkat maka kapasitas buih pun meningkat. Sedangkan

menurut Kilara (1994) stabilitas buih dapat dikorelasikan dengan sifat reologi protein dalam hal pembentukan gel (gelasi).

Kapasitas buih isolat protein kacang tunggak adalah 68 ± 4.00 ml/g, sedangkan kapasitas buih isolat protein kedelai sebesar $136 \pm 6,93$ ml/g. Kapasitas buih isolat protein kacang tunggak dipengaruhi oleh komposisi isolat protein. Isolat protein kedelai memiliki komposisi fraksi yang lebih kompleks dibandingkan isolat protein kacang tunggak. Hal ini sesuai dengan pernyataan Alleoni dan Antunes (2004) yang menyatakan bahwa salah satu faktor yang mempengaruhi kapasitas buih adalah komposisi proteinnya.

Stabilitas buih isolat protein kacang tunggak adalah $8 \pm 0,00\%$ dan stabilitas buih isolat protein kedelai adalah $6 \pm 2,00\%$. Tingginya stabilitas buih isolat protein kacang tunggak dipengaruhi oleh kandungan protein. Isolat Protein Kacang Tunggak memiliki kandungan protein yang lebih tinggi dari pada isolat protein kedelai sehingga Stabilitas buihnya lebih tinggi. Ini sesuai dengan Aluko dan Yada (1995), yang menyatakan bahwa stabilitas buih dipengaruhi oleh kandungan proteinnya. Stabilitas buih isolat protein koro benguk pada pengamatan 30, 60, 90, 120, 180 dan 240 menit secara berturut-turut mengalami penurunan stabilitas buihnya. 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.

2.3.7 Pembentukan Gel (*Gel Formation*)

Gel merupakan sistem dispersi minimal antara dua komponen dengan fase terdispersi membentuk matriks yang kohesif pada fase pendispersinya. Pembentukan gel terjadi dengan adanya pengkondisian pH, penambahan ion-ion, maupun pemanasan dan pendinginan. Gel dalam pangan dikelompokkan menjadi termal reversibel (*thermally reversible*) dan termal ireversibel (*thermally irreversible*). Gel termoreversibel (gel termoplastik) memiliki karakteristik kebalikannya, yaitu akan mencair kembali saat dipanaskan kembali. Gel termal

ireversibel disebut juga dengan gel termoset dan umumnya dihasilkan sebagian besar gel yang dapat dimakan (*edible gels*). Gel tipe ini disusun oleh ikatan kimia yang tidak dapat putus dengan adanya pemanasan ulang. Gel dihasilkan akibat terjadinya struktur protein yang terbuka dan terdenaturasi kemudian diikuti dengan agregasi molekul membentuk jaringan dengan ikatan silang (Zayas, 1997). Agregasi umumnya terjadi melalui ikatan hidrogen intermolekuler yang dapat dengan mudah terputus dengan adanya pemanasan.

Sifat gelasi protein berhubungan dengan agregasi protein. Menurut Zayas (1997), gelasi protein adalah fenomena agregasi protein di mana interaksi polimer-polimer dan polimer-solven setimbang sehingga jaringan atau matriks tersier terbentuk. Agregasi protein sendiri dapat terjadi melalui proses pemanasan, pengaturan pH atau pengaturan kekuatan ionik dalam larutan protein. Gel terbentuk ketika protein yang strukturnya terbuka sebagian (*unfold*) terurai menjadi segmen-segmen polipeptida yang kemudian berinteraksi pada titik tertentu untuk membentuk jaringan ikatan silang tiga dimensi. Protein dengan struktur *unfold*, dimana struktur sekundernya mengalami perubahan, diperlukan pada proses gelasi protein. Perubahan ini dapat terjadi melalui perlakuan panas, asam, alkali dan urea (Zayas, 1997). Menurut Zayas(1997), pada proses pembentukan gel, transisi dari bentuk alami menjadi bentuk terdenaturasi merupakan prekursor penting dalam interaksi protein-protein. Jaringan gel baru akan terbentuk setelah sebagian protein mengalami denaturasi. Pembentukan gel protein merupakan hasil dari ikatan hidrogen, interaksi ionik dan hidrofobik, ikatan *Vander Wals*, dan ikatan kovalen disulfida.

Budijanto, dkk (2011) melaporkan bahwa isolat protein kecipir membentuk gel lemah pada konsentrasi 15%. Sedangkan Sudrajad, dkk (2016) melaporkan bahwa gelasi isolat protein koro benguk terbentuk pada konsentrasi 12,5%. Protein kecipir didominasi dengan protein berbentuk globular yang sulit didenaturasi pada permukaan sehingga memerlukan konsentrasi yang cukup tinggi untuk membentuk gel. Menurut Eltayeb dkk., (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.

2.4 Isolat Protein

2.4.1 Pengertian Isolat Protein

Isolat protein adalah hasil dari isolasi protein bahan pangan yang dilakukan dengan menggunakan metode isolasi protein yang spesifik untuk menghasilkan produk dengan kadar protein yang tinggi. Isolat protein dapat memperbaiki kualitas dan sifat organoleptik dari produk pangan. (Witono, Y. dkk, 2014) . Menurut Wolf (1997) dalam Oktasari, dkk (2015) isolat protein adalah suatu metode pemurnian protein berdasarkan perbedaan kelarutan. Isolat dibuat dengan proses penghilangan kulit dan komponen non protein. Kandungan proteinnya sebesar 90% berat kering atau lebih, dan produk ini hampir bebas dari karbohidrat, serat, dan lemak sehingga sifat fungsionalnya jauh lebih baik dari bentuk protein lainnya (codex standart 175, 1989).

Kandungan protein yang cukup tinggi menjadikan isolat dapat digunakan secara luas dalam pembuatan formulasi pangan serta menghasilkan sifat fungsional yang diinginkan dalam proses pembuatan pangan. Pernyataan diatas sesuai dengan Budijanto, dkk (2011) yang menyatakan bahwa isolat protein dapat diaplikasikan ke berbagai macam makanan seperti produk bakery, olahan daging, makanan vegetarian maupun untuk produk-produk olahan susu. Hal ini juga sesuai dengan pernyataan dari Wolf, (1997) kandungan protein yang cukup tinggi menjadikan isolat dapat digunakan secara luas dalam pembuatan formulasi pangan serta menghasilkan sifat fungsional yang diinginkan dalam proses pembuatan pangan. Data kadar protein isolat protein kecipir, kacang tunggak dan gurami dapat dilihat pada Table 2.2.

Tabel 2.2 Data kadar protein isolat protein kecipir, kacang tunggak dan gurami.

Komposisi Kimia	Isolat Protein Kecipir (%bk)
Kadar protein isolat protein kecipir	83,89 ± 0,45
Kadar protein isolat protein kacang tunggak	88,06 ± 0,9
Kadar protein isolat protein gurami	80,10

Sumber : Budijanto, dkk (2011), Witono, dkk. (2014) dan Oktasari, dkk.(2015)

2.4.2 Teknik Isolasi Protein

Isolasi protein adalah suatu metode pemurnian protein berdasarkan perbedaan kelarutan. Suatu protein dapat stabil pada larutan disebabkan oleh residu-residu asam-asam amino pada permukaannya yang bermuatan mengadakan interaksi dengan molekul-molekul pelarut. Jika interaksi ini dicegah, molekul-molekul protein akan berinteraksi satu sama lain membentuk suatu agregat yang cukup besar untuk kemudian mengendap dari larutannya. Didalam usaha untuk mengendapkan protein ini ada beberapa cara yang dapat digunakan, yaitu dengan penambahan garam-garam anorganik, pengaturan pH, penambahan pelarut organik, penambahan protein basa, atau penambahan politeilen glikol (Ferdiaz, 1992).

pH presipitasi dan tingkat pemurnian merupakan faktor yang mempengaruhi proses isolasi protein. pH isoelektrik merupakan pH yang digunakan untuk mengendapkan protein dari bahan tersebut. Pada keadaan ini gugus hidrofobik dari protein akan berbalik keluar dan gugus hidrofilik melipat kedalam yang mengakibatkan terjadinya flokulasi dan koagulasi antar molekul protein dan akhirnya membentuk endapan (Winarno, 2004).

Pada proses isolasi protein dari bahan nabati diawali dengan ekstraksi menggunakan pH basa untuk mendapatkan larutan protein yang maksimal. Setelah itu dilakukan pengendapan dengan cara pengaturan pH pelarut menggunakan asam hingga pH isoelektrik. Asam yang biasa digunakan adalah asam klorida (HCl). Isolat protein dibuat dengan cara mencampurkan isolat dan air dengan perbandingan 1 : 3 kemudian diatur pH sampai 8,5-8,7 dengan penambahan NaOH 2 N dan diaduk selama 30 menit pada 50-55⁰C hingga

protein terekstrak. Proses selanjutnya adalah pencucian dengan alcohol, pengeringaan dengan *freeze dryer*, dan terakhir proses pengayakan dengan ayakan 70 mesh hingga diperoleh bubuk isolat protein (Subagio dkk, 2003).

Faktor lain yang berpengaruh dalam teknik isolasi protein adalah perlakuan pemanasan selama proses ekstraksi. Suhu dan waktu pemanasan dalam pembuatan isolate protein berbeda-beda, hal ini dikarenakan perlakuan pemanasan dapat mempengaruhi denaturasi protein sehingga perlakuan pemanasan tersebut harus disesuaikan dengan karakteristik bahan hasil pertanian yang digunakan. Sesuai dengan pendapat Winarno (2004) yang menyatakan perlakuan pemanasan dapat memberikan keuntungan yaitu meningkatnya daya guna protein, sebab adanya pemanasan dapat menginaktifkan atau menurunkan protein inhibitor, namun juga dapat memberikan kerugian karena pemanasan akan membuat protein bahan terdenaturasi sehingga kemampuan mengikat airnya menurun.

Pada proses pembuatan isolat protein biji kecipir proses pemanasan dilakukan pada suhu 50°C selama 60 menit (Budijanto dkk, 2011). Sedangkan pada proses pembuatan isolat protein kacang tunggak dan koro benguk proses pemanasan dilakukan pada suhu 55°C selama 30 menit (Witono. dkk, 2014 dan Sudrajat, dkk. 2016). Pada proses pembuatan isolat protein gurami proses pemanasan dilakukan dengan menggunakan waktu yang sama namun suhu yang lebih rendah dari suhu yang digunakan pada pembuatan isolat protein kacang tunggak dan koro benguk yaitu 40°C selama 30 menit (Oktasari, dkk. 2015). Penggunaan suhu dan waktu pemanasan dalam pembuatan isolat berbeda-beda. Perbedaan suhu dan waktu pemanasan ini tentu akan mempengaruhi tingkat denaturasi protein sehingga dapat berpengaruh pada karakteristik isolat protein yang dihasilkan.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian (RPHP) dan Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian (KBHP) Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2018 sampai Juni 2018.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam pembuatan isolat protein Edamame (IPE) adalah blender (Philips hr 2016), kain saring, pH meter (Jen Way 3320 Jerman), sentrifus (Medifringer Gyrozen 2236HR), batang stirrer, tabung sentrifuge, spatula, waterbath, stirrer (Ika Tipe Hs-7), destilator protein (Buchi K-350), neraca analitik (Ohaus Ap-310-O), vortex, colour reader (CR-14), mikro pipet (Dragon Med 250 mikro), Spektrofotometer (*Thermo Scientific Genesys 840-208100 UV / Vis*) dan alat-alat gelas (Iwaki Pyrex).

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kedelai Edamame afkir dari Mitratani 27, aquades dari Lab. RPHP, etanol 70%, NaOH, HCl, Buffer pH 7, indikator *Methyl Blue* dan *Methyl Red* (MB dan MM), selenium, H₂SO₄, BSA, SDS, Na₂CO₃, CuSO₄, C₄H₄KNaO₆ dari *Merck*, minyak goreng Filma, alumunium foil dan tisu.

3.3 Tahapan Penelitian

3.3.1 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan pada penelitian ini yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor dan tiga kali ulangan. Faktor yang digunakan yaitu suhu (A) yang terdiri dari tiga taraf, yaitu 30 °C (A1) , 40 °C (A2), dan 50 °C (A3) dan waktu (B) yang terdiri dari dua taraf, yaitu 30 menit (B1) dan 60 menit (B2).

3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

(a) Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan guna mengetahui titik isoelektrik kedelai edamame yang merupakan titik kritis dalam proses pembuatan isolat protein Edamame. Pengujian dilakukan dengan membuat sari edamame pada perbandingan edamame dengan pelarut aquades 1 : 3 (b/v). Kemudian sari edamame dikondisikan pada pH 2-8 dengan menggunakan HCl dan NaOH. Interval pH yang digunakan pada penelitian pendahuluan adalah 1 dan 0,2. Setelah endapan dan supernatan benar-benar terpisah selanjutnya dilakukan pengujian kandungan protein terlarut pada supernatan. Pada pH 2 – 8 dilakukan pengujian dengan menggunakan interval 1 yaitu sebagai berikut: pH 2; 3; 4; 5; 6; 7 dan 8. Pada pH 3 - 5 dilakukan pengujian dengan menggunakan interval 0,2 yaitu sebagai berikut : pH 3; 3,2; 3,4; 3,6; 3,8; 4; 4,2; 4,4; 4,6; 4,8 dan 5. Setelah itu dilanjutkan dengan perhitungan kadar protein menggunakan metode Lowry. pH dengan kadar protein terendah merupakan titik isoelektrik protein edamame. pH isoelektrik protein edamame pada penelitian pendahuluan selanjutnya digunakan pada proses pembuatan isolat protein edamame pada penelitian utama.

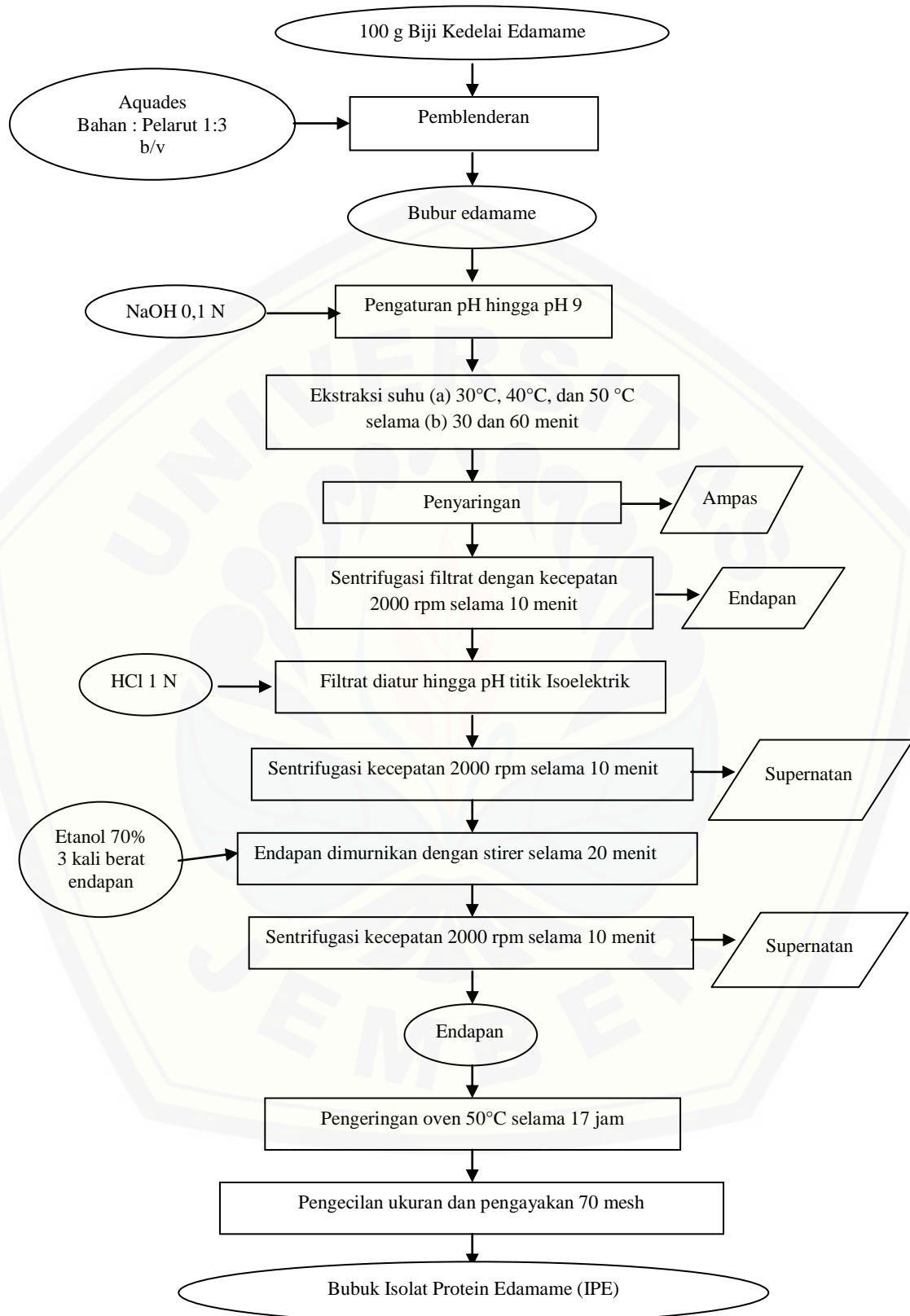
(b) Penelitian Utama

Langkah awal dari pembuatan Isolat Protein Edamame (IPE) adalah dengan memblender 100 g biji kedelai Edamame, hal ini bertujuan untuk memperluas permukaan sehingga memudahkan saat proses ekstraksi. Pada proses penghalusan dilakukan penambahan aquades sebagai pelarut dengan perbandingan bahan : pelarut (1:3) b/v. Setelah proses penghalusan maka akan dihasilkan bubur edamame. Selanjutnya dilakukan penambahan NaOH 0,1 N hingga mencapai pH 9. Pengkondisian pada pH basa bertujuan untuk mengoptimalkan proses pengekstrakan protein dari bubur edamame. Bubur edamame kemudian dipanaskan dengan suhu (a) 30°C, 40°C, dan 50 °C selama (b) 30 dan 60 menit dengan menggunakan *waterbath*. Suhu dan waktu

pemanasan berpengaruh terhadap tingkat pelunakan struktur sel edamame yang mengakibatkan air lebih mudah masuk ke dalam struktur sel dan terjadi putusya ikatan protein sehingga protein lebih mudah larut, namun hal tersebut juga dapat berpengaruh terhadap tingkat denaturasi protein yang dapat memberikan karakteristik berbeda pada sifat fungsional protein Isolat Protein Edamame (IPE).

Setelah diekstraksi (perlakuan pemanasan) dilakukan penyaringan dengan menggunakan kain saring hingga diperoleh padatan dan supernatan. Setelah itu supernatan disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan endapan dengan filtrat. Supernatan hasil sentrifugasi pertama dikondisikan pada titik isoelektrik dengan cara penambahan HCl 1N hingga pH 3,6, kemudian didiamkan hingga mengendap. Endapan disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit sehingga diperoleh supernatan dan endapan. Endapan hasil sentrifugasi kedua kemudian dimurnikan menggunakan etanol 70% dengan cara distirrer selama 20 menit. Pemurnian dengan etanol 70 % bertujuan untuk melarutkan gula dan komponen non protein (Purwitasari, dkk. 2014).

Setelah dimurnikan dengan etanol 70%, selanjutnya dilakukan sentrifugasi ketiga dengan menggunakan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan endapan dengan filtrat. Endapan berupa isolat protein basah kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50 °C selama 17 jam, lalu dilakukan pengecilan ukuran dengan menggunakan mortal dan diayak dengan ayakan 70 mesh untuk menghasilkan isolat protein kering yang seragam. Skema pembuatan Isolat Protein Edamame (IPE) dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Diagram Alir Pembuatan Isolat Protein Edamame (IPE)

3.4 Parameter Pengamatan

3.4.1 Rendemen (Amin, 2007)

3.4.2 Pengujian Sifat Fisik Isolat Protein Edamame (IPE):

- a. Warna (*Lightness*) (Fardiaz,1992)

3.4.3 Pengujian Kimia Isolat Protein Edamame (IPE):

- a. Kadar Protein Metode Semimikro Kjeldahl (AOAC, 2005)

3.4.4 Pengujian Sifat Fungsional Isolat Protein Edamame (IPE):

- a. Kelarutan Protein (Metode Lowry; Subagio, 2002)
- b. Daya Ikat Air (*Water Holding Capacity/WHC*) (Mwangwela dkk., 2007)
- c. Daya Ikat Minyak (*Oil Holding Capacity/OHC*) (Mwangwela dkk., 2007)
- d. Kapasitas dan stabilitas emulsi (*Emulsion Capacity/EC and Emulsion Stability/ES*) (Zhang dkk, 2013)
- e. Kapasitas dan Stabilitas Buih (*Foam Capacity/FC and Foam Stability/FS*) (Zhang dkk, 2013)
- a. Pembentukan Gel (*Gel Formation*) (Dias, dkk, 2011)

3.5 Prosedur Analisa

3.5.1 Analisis Rendemen

Rendemen dihitung berdasarkan perbandingan berat dengan rumus :

$$R = P/B \times 100\%$$

Keterangan :

R : Rendemen isolat protein Edamame (%)

P : Berat isolat protein Edamame (g)

B : Berat Biji Edamame Basah (g)

3.5.2 Analisis Kecerahan Warna (*Lightness*)

Warna diamati dengan menggunakan colour reader pada 5 titik yang berbeda dari sampel isolat protein Edamame. Pengukuran warna hanya didasarkan pada nilai *lightness* pada isolat protein Edamame. Nilai kecerahan diperoleh berdasarkan rumus :

$$L = \text{standart } L + dL$$

Keterangan :

Nilai L menyatakan parameter kecerahan (*lightness*) yang mempunyai nilai berkisar antara 0 sampai 100 yang menunjukkan warna hitam sampai putih.

3.5.3 Analisis Kadar Protein Metode Semimikro Kjeldahl

Pengujian kadar protein dilakukan dengan menggunakan metode Kjeldahl. Pengujian dilakukan dengan menimbang sampel sebanyak 0,1 g dan dimasukkan ke dalam labu kjedhal, kemudian menambahkan 2 ml H₂SO₄ pekat dan 0,9 g selenium sebagai katalisator. Larutan kemudian didestruksi selama 60 menit, kemudian larutan didestilasi. Hasil destilat ditampung dalam erlenmeyer yang berisi 15 ml larutan asam borat 4 % dan beberapa tetes indikator *Methyl Blue* dan *Methyl Red* (MB dan MM). Kemudian larutan hasil destilasi yang berwarna biru toska dititrasi menggunakan HCl hingga terjadi perubahan warna menjadi ungu dan dilakukan perhitungan. Total N atau % protein sampel dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar Protein (\%)} = \frac{((ts-tb) \times N \text{ HCl} \times 6,25 \times \text{BM nitrogen} \times 100\%)}{(\text{Berat sampel} \times 1000)}$$

Keterangan :

ts = Volume titrasi HCl sampel (ml)
 tb = Volume titrasi HCl blanko (ml)
 N HCl = 0,02
 6,25 = faktor konversi dari nitrogen ke protein
 BM Nitrogen = 14, 008

3.5.4 Kelarutan Protein

Sampel sebanyak 0,05 g dilarutkan dalam 10 ml aquades. Setelah distirer selama 15 menit jam pada suhu ruang. Larutan disentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 2000 rpm. Setelah itu supernatan ditera kembali menggunakan labu takar 10 ml. Kemudian bagian Supernatan dianalisis proteinnya dengan metode lowry.

Penentuan protein metode lowry dimulai dengan pengambilan sampel dari supernatan yang dihasilkan sebelumnya sebanyak 200 mikro liter dan ditambah reagen lowry sebanyak 1 ml kemudian didiamkan selama 10 menit. Setelah itu

ditambahkan 0,1 ml folin dan divortex selama 1 menit. Selanjutnya didiamkan selama 1 jam dan ditera dengan aquades hingga 4 ml. Pengukuran absorbansi dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 750 nm.

3.5.5 Daya Ikat Air (*Water Holding Capacity/WHC*)

Tabung sentrifus kosong dan kering ukuran 10 ml ditimbang (A g). 2 ml aquades dimasukan kedalam tabung sentrifus, lalu ditambahkan sampel sebanyak 0,1 g (B g). Sampel divortex selam 3 menit, lalu didiamkan selam 18 jam. Sampel tersebut kemudian disentrifus pada 2000 rpm selama 20 menit. Supernatan dibuang dan residunya ditimbang (C g), selanjutnya dilakukan perhitungan WHC dengan rumus :

$$\text{WHC (db\%)} = ((C-A)-B)/B \times 100\%$$

Keterangan :

A = berat tabung kosong

B = berat sampel

C = berat air yang terakumulasi dalam sampel

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

3.5.6 Daya Ikat Minyak (*Oil Holding Capacity/OHC*)

Tabung sentrifus yang kosong dan kering ukuran 10 ml ditimbang (A g). 2 ml minyak goreng dimasukan kedalam tabung sentrifus, lalu ditambahkan sampel sebanyak 0,1 g (B g). Sampel divortex selam 3 menit, lalu didiamkan selam 18 jam. Sampel tersebut kemudian disentrifus pada 2000 rpm selama 20 menit. Supernatan dibuang dan residunya ditimbang (C g), selanjutnya dilakukan perhitungan WHC dengan rumus berikut ini.

$$\text{OHC (db\%)} = ((C-A)-B)/B \times 100\%$$

Keterangan :

A = berat tabung kosong

B = berat sampel

C = berat minyak yang terakumulasi dalam sampel

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

3.5.7 Kapasitas dan Stabilitas Buih (*Foam Capacity/FC and Foam Stability/FS*)

Pengukuran kapasitas buih dengan menimbang 0,8 g sampel dilarutkan dalam 80 ml aquades dalam gelas ukur 100 ml dan dihomogenkan selama 1 menit dengan menggunakan ULTRA TURRAX.T25 homogenizer (IKA, Labortechnik, Germany).

Volume buih sebelum dan sesudah dihomogeniser dicatat, kemudian kapasitas dan stabilitas buih dihitung dengan persamaan berikut :

$$\text{Kapasitas buih (\%)} = \frac{(\text{Volume setelah homogeniser} - \text{volume awal})}{\text{volume awal}} \times 100 \%$$

Setelah 30 menit, dilakukan pengukuran ulang terhadap volume buih pada gelas ukur 100 ml. dan stabilitas buih dihitung dengan persamaan berikut :

$$\text{Stabilitas Buih (\%)} = \frac{(\text{Volume setelah 30 menit} - \text{volume awal})}{\text{volume pada menit ke 0} - \text{volume awal}} \times 100\%$$

3.5.8 Kapasitas dan stabilitas emulsi (*Emulsion Capacity/EC and Emulsion Stability/ES*)

Pengukuran daya emulsi dan stabilitas emulsi dilakukan dengan mencampur sebanyak 0,09 g sampel dan 45 buffer fosfat 0,01 M pH 7. Setelah itu sebanyak 45 ml larutan sampel ditambah 15 ml minyak goreng. Campuran dihomogenisasikan pada kecepatan 10.000 rpm selama 1 menit menggunakan ULTRA TURRAX.T25 homogenizer (IKA, Labortechnik, Germany). Segera setelah dihomogenisasi 1 ml larutan dipipet dari bawah larutan kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 ml SDS 0,1 %. Setelah itu divortex dan dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 500 nm. Setelah 30 menit dilakukan pengukuran absorbansi dari emulsi untuk menghitung stabilitas emulsinya.

Kapasitas emulsi dan stabilitas emulsi dihitung menggunakan rumus di bawah ini.

$$\text{Kapasitas emulsi (m}^2/\text{g)} = \frac{2 \times T \times A_0 \times D_f}{C \times (1-\emptyset) \times 10000}$$

$$\text{Stabilitas Emulsi (\%)} = \frac{A_0 - A_{30}}{A_0} \times 100\%$$

Keterangan:

- C = Konsentrasi produk (g/ml)
- \emptyset = Fraksi volume minyak (ml/ml) dari emulsi
- A₀ = Absorbansi awal
- A₃₀ = Absorbansi setelah 30 menit
- D_f = Fraksi larutan (SDS+emulsi)
- T = 2.303

3.5.9 Pembentukan Gel (*Gel Formation*)

Suspensi sampel dengan konsentrasi 12 % 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 direfrigerator bersuhu 4 °C selama 2 jam. Gelasi yang terbentuk diukur secara kualitatif dan dicatat penampakannya.

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

BAB 5. PENUTUP

5. 1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi suhu ekstraksi yang digunakan dalam pembuatan isolat protein edamame yaitu dengan suhu 30°C, 40°C, dan 50°C berpengaruh nyata terhadap rendemen, kadar protein, warna (*lightness*), OHC (*Oil Holding Capacity*), WHC (*Water Holding Capacity*), kapasitas dan stabilitas buih, kapasitas dan stabilitas emulsi, kelarutan protein dan daya gelasi. Semakin lama waktu ekstraksi yang digunakan yaitu selama 30 menit dan 60 menit berpengaruh nyata terhadap rendemen, warna (*lightness*), kapasitas dan stabilitas buih, OHC, WHC dan kelarutan protein, namun tidak berpengaruh nyata terhadap kadar protein, kapasitas dan stabilitas emulsi dan daya gelasi. Interaksi antara suhu dan waktu berpengaruh terhadap rendemen, WHC dan OHC namun berpengaruh tidak nyata terhadap parameter lainnya. Semakin meningkatnya suhu dan lama waktu ekstraksi pada proses pembuatan isolat protein edamame dapat meningkatkan rendemen, OHC, kadar protein, kapasitas dan stabilitas emulsi, kapasitas buih serta daya gelasi, namun menurunkan WHC, warna (*lightness*), kelarutan protein dan stabilitas buih.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian ini, diharapkan adanya penelitian lebih lanjut mengenai profil protein edamame serta kandungan lemak, air, karbohidrat dan abu pada isolat protein edamame.

DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Analysis of the Association of Official Agriculture Chemistry. 2005. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. Maryland: The Association of Official Analytical Chemists.
- Alleoni A., dan A. J. Antunes. 2004. Albumen foam stability and s-ovalbumin contents in eggs coated with whey protein concentrate. *Rev. Bras. Cienc. Avic. Vol 6. No.2*. Campinas/Revista Brasileira de Ciencia.
- Aluko, R. E., dan Yada, R. Y. 1995. Structure-Function Relationship of Cowpea (*Vigna unguiculata*) Globulin Isolat: Influence of pH and NaCl on Physico-chemical and Functional Properties. *Food Chem* 53: 259–265.
- Amar W. S. dan Lutfiati. D. 2013. Pengaruh Penggunaan Minyak Kedelai dan Susu Skim Terhadap Organoleptik Pasta Kedelai Edamame. *Ejournal Boga*. 2 ; 139–149.
- Amin, A. M. 2007. Extraction, purification and characterization of durian (*Durio zibethinus*) seed gum. *Journal Food Hydrocolloids*. 21: 273–279.
- Andri, I. 2003. Mempelajari Pengaruh Penambahan Isolat Protein Kedelai Sebagai Bahan Pengikat terhadap Mutu Fisik dan Organoleptik Meat Loaf. *Skripsi*. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Anglemier, A.E., dan M. W. Montgomery. 1976. *Amino Acids Peptides and Protein*. New York : Mercil Decker Inc.
- Anonim. 2013. *Soybean (Glycine max)*. United States Department of Agriculture. <http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=glma4>. 10 April 2017.
- Arogundade F. A., Zayed, B., Daba, M., dan 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.
- Asadi. 2009. Karakterisasi Plasma Nutfah untuk Perbaikan Varietas Kedelai Sayur (Edamame). *Buletin Plasma Nutfah*. 15(2): 59 –69.
- Association of Official Agriculture Chemistry. 2005. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. Maryland: The Association of Official Analytical Chemists.
- Augustijns P dan Brewster M E. 2007. *Solvent Systems and Their Selection in Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. New York : Springer.
- Belitz H.D., Grosch W., dan Schieberle P. 2009. *Food Chemistry*. Ed ke-4. New york : Springer.

- Badan Pusat Statistik (BPS). <http://www.bps.go.id>. [Diakses pada 27 Juli 2018]
- Budijanto S., Sitangga, B. A., dan Murdiati, W. 2011. Karakterisasi Sifat Fisiko-Kimia dan Fungsional Isolate Protein Biji Kecap. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 22 : 130-136. Bogor : IPB.
- Buxbaum, E. 2007. *Fundamentals of Protein Structure and Function*. USA : Springer.
- Chavan, U. D. 2001. Functional Properties of Protein Isolates From Beach Pea (*Lathyrus maritimus* L.). *Journal Food Chem*. 74 : 177-178.
- Cheftel JC, Cuq JL, dan Lorient D. 1985. *Amino Peptide and Protein*. Dalam Fennema OR, (Eds). *Journal Food Chemistry*. Third Edition. New York : Marcell Dekker Inc.
- Codex Standart 175. 1989. *Codex General Standard For Soy Protein Products*. http://files.foodmate.com/2013/files_1092.html [Diakses pada 30 Juli 2018]
- Coolong, T. 2009. Edamame. *College of Agriculture*. Kentucky : University of Kentucky.
- Damodaran S. 1996. *Amino acids, peptides, and proteins*. Di dalam Fennema OR, editor. *Food Chemistry*. Ed ke-3. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Dias, A. R. G., Zavareze, E. R., Moacir, C. E., Elizabete, H., Debora, O. S., dan Cesar F. C. 2011. *Pasting, expansion and textural properties of fermented cassava starch oxidised with sodium hypochloride*. *Carbohydrate Polymers*, 84 : 268-275.
- Elizade BE, Bartholomai GB, dan Pilosof AMR. 1996. Rediction of Emulsion Instability From Emulsion Composition and Phycocemical Properties of Proteins. *J. Food Sci.*, 56 : 116-119.
- Ellya. 2010. *Gizi dalam Kesehatan Reproduksi* Cetakan Pertama. Jakarta: TIM
- Eltayeb , A. R. S. M., Ali, A. O., Abaou-Arab, A. A., AbuSalem, 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.
- Fardiaz, S., 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Jakarta : Gramedia Pustaka Utama.
- Fennema, O. R. 1996. *Food Chemistry*. Third Edition. New York : University of Wisconsin Madison.
- Feyzi. S, Milani.E dan Golimovahhed.A. 2017. Grass Pea (*Lathyrus sativus* L.) Protein Isolate: The Effect of Extraction Optimization and Drying

- Methods on the Structure and Functional Properties. *Food Hydrocolloids* 74 187-196
- Foegeding EA, Luck PJ, Davis JP. 2006. Factors determining the physical properties of protein foams. *Food Hydrocolloids*. 20 : 284–292.
- Gaman, P.M. dan Sherrington, K.B. 1994. Ilmu Pangan Pengantar Ilmu Pangan, Nutrisi, dan Mikrobiologi. Yogyakarta : *Gadjah Mada University Press*
- Gil A., D. Morales, dan E. Valverde. 1994. Process for the Preparation of Ground Cereal Based Foods and Food Products Obtained thereby. *European Patent* EP 453390.
- Giyarto, Isma N. H dan Wiwik S.W. 2016. Sifat Fungsional Tepung Bumbu Hasil Formulasi Dengan Penggunaan Tepung Koro Kratok. *Prosiding Seminar Nasional Apta*. Jember : Universitas Jember.
- He, R, Yan he, Chao. D, Ju. X, dan Aluko, R. 2014. Effects of High Pressure and Heat Treatments on Physicochemical and Gelation Properties of Rapeseed Protein Isolate. *Food Bioprocess Technol*. 7:1344–1353.
- Hudson B. J. F. 1994. *New and developing Sources of food Protein*. Chapman & Hall : London.
- Hussain, S., F. M. Anjum., M.S. Butt., dan M.A. Sheikh. 2008. Chemical composition and functional properties of flaxseed (*Linum usitatissimum*) flour. *J. Agric* 24(4): 649-653.
- Ibrahim. A. M., Yunianta, dan Sriherfyna.2015. Effect of Temperature and Extraction Time on Physicochemical Properties of Red Ginger (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) Extract with The Additional of Honey ombination as Sweetener for Functional Drink. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3 (2) : 530-541
- Kartika, Y. D. 2009. Karakterisasi Sifat Fungsional Pekatan Protein Biji Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus* L.). *Skripsi*. Bogor : IPB.
- Kilara, A. 1994. Whey Protein Functionally. In: *Protein Functionality in Food System*. New York : Marcel Dekker Inc.
- Kinsella J. E. 1979. Functional Properties of soybean protein. *J Am Oil Chem Soc* 56 : 242-257
- Krisnantoko, D. 2012. Suplementasi Ekstrak Albumin dari Ekstraksi Ikan Gabus (*Ophilocephalus striatus*) Metode Pemanasan dan pH Isoelektrik Pada Pembuatan Kecap Kedelai (Kajian Konsentrasi Penambahan Ekstrak Albumin dan Suhu Pemasakan Kecap. *Skripsi*. Malang : Universitas Brawijaya.

- Kurniati, E. 2009. Pembuatan Konsentrat Protein dari Biji Kecap dengan Penambahan HCl. *Jurnal Penelitian Ilmu Teknik* 9(2): 115-122.
- Labuza, P. 2015. Nonenzymatic Browning via the Maillard Reaction in Foods. *Department of Human Nutrition and Foods*. Blacksburg, Virginia : Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Lawal, O. S. 2004. Functionality of African Locust Bean (Parkia Biologosa) Protein Isolate : Effect of pH, Ionic Strength and Various Protein Concentrations. *J. Food. Chem.* 86: 345-355.
- Martoharsono, S. 1998. *Biokimia .Jilid 1*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Miles. 2000. "Edamame", (Online), (<http://cru.cahe.wsu.edu/CEPublications/pnw525/pnw0525.pdf>), diakses 10 April 2017 .
- 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.
- Oktasari, T, Suparmi, dan Karnila R. 2015. Pembuatan Isolat Protein Ikan Gurami (*Osphronemus Gouramy*) dengan Metode pH Berbeda. *JOM*. Riau : Universitas Riau.
- Pambudi, S. 2013. *Budidaya dan Khasiat Kedelai Edamame*. Jakarta : Pustaka Baru Press
- Purwitasari, A, Hendrawan Y dan Yulianingsih R. 2014. Influence of Temperature and Extraction Time to the Physical Chemistry Characteristic in Preparation Protein Concentrate Komak Bean (*Lablab purpureus* (L.) sweet). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropi*. 2(1) : 42-53.
- Qiaoyun, C, NI Xinghonga, ZENG Liang, TU Zheng, LI Jin, SUN Kang, CHEN Xuan dan LI Xinghui. 2017. Optimization of Protein Extraction and Decoloration Conditions for Tea Residues. *Horticultural Plant Journal*. 3 (4): 172–176.
- Ragap, D., Elfadil E., dan Eltinay. A. H. 2004. Fraction, Solubility and Functional Properties of Cowpea (*Vigna unguiculata*) Protein as Affected by pH and/or Salt Concentration. *J. Food Chemistry*. 84: 207–212.
- Samsu, H. S. 2001. *Membangun Agroindustri Bernuansa Ekspor: Edamame (vegetable soybean)*. Jogja : Graha Ilmu.
- Saputri. S dan Arum. S. 2009. Pengaruh Lama Pemasakan Temperatur Pemasakan Kedelai Terhadap Proses Ekstraksi Protein Kedelai Untuk Pembuatan Tahu. *Skripsi*. Semarang : Universitas Diponegoro.

- Subagio A, Hartanti S., Windarti. W.S., Unus, Fauzi. M., dan Herry. B. 2002. Kajian sifat fisikokimia dan organoleptik hidrolisat tempe hasil hidrolisis protease. *J Teknol Industri Pangan* 8 : 204–210.
- Subagio A, Windrati, w. S., dan Witono, Y. 2003. Pengaruh Penambahan Isolat Protein Koro Pedang Terhadap Karakteristik Cake. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. XIV : 136 - 143
- Sudrajat. A, Diniyah. N dan Fauziah. R. 2016. Karakterisasi Sifat Fisik dan Fungsional Isolat Protein Koro Benguk (*Mucuna Pruriens*). *Prosiding Seminar Nasional Apta*. Jember : Universitas Jember.
- Suhardjo dan Clara M.K. 1992. *Prinsip-prinsip Ilmu Gizi*. Yogyakarta: Kanisius.
- Suhartono. S, Bambang. S, Mashuri, Maya. J, Insanul .K, dan Haudiya. 2008. Modifikasi Protein Akibat Pembebanan Glukosa dengan Model Reaksi Glikosilasi Nonenzimatik in vitro. *Mutiara Medika*. 8 (1) : 40-47
- Sun, D.H., Holley, R. A. 2011. Factors Influencing Gel Formation By Myofibrillar Protein In Mucle Foods. *Compr Rev Food Sci F*. 10: 33-51.
- Suwarno, M. 2003. Potensi Kacang Komak (*Lablab purpureus* (L) Sweet) sebagai Bahan Baku Isolat Protein. *Skripsi*. Bogor: IPB.
- Triyono, A. 2010. Mempelajari Pengaruh Penambahan Beberapa Asam pada Proses Isolasi Protein terhadap Tepung Protein Isolat Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus* L.). *Seminar Rekayasa Kimia dan Proses*. Subang : Balai Besar Pengembangan Teknologi Tepat Guna LIPI
- Winarno, F.G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi Cetakan Kesembilan*. Jakarta : PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Witono. Y., Anam C., Herlina dan Pamujiati A. D. 2014. Chemical and Functional Properties of Protein Isolate from Cowpea (*Vigna unguiculata*). *International Journal on advance Science Engineering Information Technology*. Vol 4 : 58 - 62
- Wolf. 1997. http://sarah_tsaqqofaf24070054pitp.pdf. Diakses pada tanggal 10 April 2017
- Yazid, E. dan Nursanti, L. 2006. *Penuntun Praktikum Biokimia*. Yogyakarta : Penerbit Andi.
- Zayas JF. 1997. *Functionality of Protein in Food*. Berlin: Springer.
- Zhang. Y, Zhao. W, Yang. R, Ahmed. M.A, Hua. X, Zhang. W. 2013. Preparation and functional properties of protein from heat-denatured soybean meal assisted by steam flash-explosion with dilute acid soaking. *Journal of Food Engineering* 119 56–64.

LAMPIRAN – LAMPIRAN

A. Data Rendemen

Tabel A.1 Hasil pengukuran rendemen ISP edamame

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata	Standar Deviasi
	1	2	3		
A1B1	8.42	8.42	8.43	8.42	0.01
A1B2	8.57	8.56	8.85	8.66	0.17
A2B1	8.72	8.70	8.74	8.72	0.02
A2B2	9.98	10.16	10.05	10.06	0.09
A3B1	10.97	10.94	10.93	10.95	0.02
A3B2	11.76	11.61	11.30	11.56	0.24

Tabel A.2 Uji Anova rendemen ISP edamame

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	25.458(a)	3	8.486	104.565	.000
Intercept	1702.830	1	1702.830	20982.277	.000
Suhu	23.066	2	11.533	142.111	.000
Waktu	2.392	1	2.392	29.473	.000
Error	1.136	14	.081		
Total	1729.424	18			
Corrected Total	26.594	17			

a R Squared = .957 (Adjusted R Squared = .948)

Tabel A.3 Uji lanjut DMRT rendemen ISP edamame

Perlakuan	N	Subset					Notasi
		1	2	3	4	5	
A1B1	3	8.4220					a
A1B2	3		8.6577				b
A2B1	3		8.7177				b
A2B2	3			10.0599			c
A3B1	3				10.9457		d
A3B2	3					11.5550	e
Sig.		1.000	.566	1.000	1.000	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .015.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

B. Data Kadar Protein

Tabel B.1 Hasil pengukuran kadar protein ISP edamame

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata	Standar Deviasi
	1	2	3		
A1B1	90.58	90.51	91.18	90.76	0.37
A1B2	90.89	90.64	90.82	90.78	0.13
A2B1	91.32	91.48	91.41	91.40	0.08
A2B2	91.44	91.33	91.85	91.54	0.28
A3B1	91.33	91.69	91.86	91.63	0.27
A3B2	91.86	91.92	91.65	91.81	0.14

Tabel B.2 Uji Anova kadar protein ISP edamame

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3.221(a)	3	1.074	22.467	.000
Intercept	150198.029	1	150198.029	3143020.365	.000
suhu	3.090	2	1.545	32.334	.000
waktu	.131	1	.131	2.732	.121
Error	.669	14	.048		
Total	150201.919	18			
Corrected Total	3.890	17			

a R Squared = .828 (Adjusted R Squared = .791)

Tabel B.3 Uji lanjut DMRT kadar protein ISP edamame

Perlakuan	N	Subset		Notasi
		1	2	
A1B1	3	90.7551		A
A1B2	3	90.7830		A
A2B1	3		91.4034	B
A3B1	3		91.6281	B
A2B2	3		91.7060	B
A3B2	3		91.8085	B
Sig.		.882	.064	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .051.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

C. Data Kecerahan Warna (*lightness*)

Tabel C.1 Hasil pengukuran kecerahan warna (*lightness*)ISP edamame

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata	Standar Deviasi
	1	2	3		
A1B1	75.22	75.14	74.98	75.11	0.12
A1B2	75.14	74.96	74.50	74.87	0.33
A2B1	73.92	74.16	74.00	74.03	0.12
A2B2	73.30	73.36	73.30	73.32	0.03
A3B1	72.56	72.18	72.58	72.44	0.23
A3B2	71.86	71.70	72.38	71.98	0.36

Tabel C.2 Uji Anova kecerahan warna (*lightness*) ISP edamame

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	24.205(a)	3	8.068	142.377	.000
Intercept	97570.059	1	97570.059	1721728.111	.000
Suhu	23.207	2	11.603	204.754	.000
Waktu	.999	1	.999	17.624	.001
Error	.793	14	.057		
Total	97595.058	18			
Corrected Total	24.999	17			

a R Squared = .968 (Adjusted R Squared = .961)

Tabel C.3 Uji lanjut DMRT kecerahan warna (*lightness*) ISP edamame

Perlakuan	N	Subset					Notasi
		1	2	3	4	5	
A3B2	3	71.980					a
A3B1	3		72.440				b
A2B2	3			73.320			c
A2B1	3				74.026		d
A1B2	3					74.866	e
A1B1	3					75.113	e
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.213	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .053.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

D. Data Water Holding Capacity (WHC)Tabel D.1 Hasil pengukuran *Water Holding Capacity* (WHC) ISP edamame

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata	Standar Deviasi
	1	2	3		
A1B1	322.64	321.04	321.98	321.89	0.81
A1B2	318.78	318.11	318.41	318.43	0.33
A2B1	307.08	305.93	306.48	306.49	0.57
A2B2	304.60	304.52	306.69	305.27	1.23
A3B1	296.11	296.81	296.26	296.39	0.37
A3B2	293.03	292.87	292.48	292.79	0.28

Tabel D.2 Uji Anova *Water Holding Capacity* (WHC) ISP edamame

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2004.704(a)	3	668.235	852.997	.000
Intercept	1695138.208	1	1695138.208	2163832.141	.000
suhu	1970.410	2	985.205	1257.607	.000
waktu	34.294	1	34.294	43.776	.000
Error	10.968	14	.783		
Total	1697153.879	18			
Corrected Total	2015.671	17			

a R Squared = .995 (Adjusted R Squared = .993)

Tabel D.3 Uji lanjut DMRT *Water Holding Capacity* (WHC) ISP edamame

Perlakuan	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
A3B2	3	292.79					
A3B1	3		296.39				
A2B2	3			305.2			
A2B1	3				306.49		
A1B2	3					318.43	
A1B1	3						321.88
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .470.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

E. Data Oil Holding Capacity (OHC)Tabel E.1 Hasil pengukuran *Oil Holding Capacity* (OHC) ISP edamame

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata	Standar Deviasi
	1	2	3		
A1B1	151.40	152.51	152.15	152.02	0.56
A1B2	163.22	163.20	163.14	163.19	0.04
A2B1	182.53	180.57	180.21	181.10	1.25
A2B2	187.53	188.62	188.91	188.35	0.73
A3B1	210.11	209.93	208.96	209.67	0.62
A3B2	242.96	242.71	242.90	242.86	0.13

Tabel E.2 Uji Anova *Oil Holding Capacity* (OHC) ISP edamame

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	15680.809(a)	3	5226.936	123.538	.000
Intercept	646596.712	1	646596.712	15282.266	.000
suhu	14349.093	2	7174.547	169.570	.000
waktu	1331.716	1	1331.716	31.475	.000
Error	592.344	14	42.310		
Total	662869.865	18			
Corrected Total	16273.153	17			

a R Squared = .964 (Adjusted R Squared = .956)

Tabel E.3 Uji lanjut DMRT *Oil Holding Capacity* (OHC) ISP edamame

Perlakuan	N	Subset						Notasi
		1	2	3	4	5	6	
A1B1	3	152.02						a
A1B2	3		163.18					b
A2B1	3			181.10				c
A2B2	3				188.35			d
A3B1	3					209.66		e
A3B2	3						242.85	f
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .469.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

F. Data kelarutan protein

Tabel F.1 Hasil pengukuran kelarutan protein ISP edamame

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata	Standar Deviasi
	1	2	3		
A1B1	0.73	0.75	0.71	0.73	0.02
A1B2	0.69	0.62	0.59	0.63	0.05
A2B1	0.54	0.52	0.54	0.53	0.01
A2B2	0.48	0.48	0.51	0.49	0.02
A3B1	0.43	0.45	0.41	0.43	0.02
A3B2	0.36	0.36	0.35	0.36	0.01

Tabel F.2 Uji Anova kelarutan protein ISP edamame

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.275(a)	3	.092	121.554	.000
Intercept	5.026	1	5.026	6658.971	.000
suhu	.253	2	.127	167.805	.000
waktu	.022	1	.022	29.054	.000
Error	.011	14	.001		
Total	5.312	18			
Corrected Total	.286	17			

a R Squared = .963 (Adjusted R Squared = .955)

Tabel F.3 Uji lanjut DMRT kelarutan protein ISP edamame

Perlakuan	N	Subset					Notasi
		1	2	3	4	5	
A3B2	3	.3576					a
A3B1	3		.4280				b
A2B2	3			.4909			c
A2B1	3			.5304			c
A1B2	3				.6320		d
A1B1	3					.7315	e
Sig.		1.000	1.000	.083	1.000	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .001.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

G. Data Kapasitas Buih (FC)

Tabel G.1 Hasil pengukuran kapasitas buih (FC) ISP edamame

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata	Standar Devisiasi
	1	2	3		
A1B1	5.42	5.42	5.83	5.56	0.24
A1B2	6.25	5.83	5.83	5.97	0.24
A2B1	5.83	6.25	6.25	6.11	0.24
A2B2	7.08	7.08	7.50	7.22	0.24
A3B1	7.50	6.88	7.50	7.29	0.36
A3B2	8.33	7.92	8.75	8.33	0.42

Tabel G.2 Uji Anova kapasitas buih (FC) ISP edamame

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	15.951(a)	3	5.317	49.313	.000
Intercept	819.563	1	819.563	7601.351	.000
Suhu	12.649	2	6.325	58.661	.000
Waktu	3.301	1	3.301	30.617	.000
Error	1.509	14	.108		
Total	837.023	18			
Corrected Total	17.460	17			

a R Squared = .914 (Adjusted R Squared = .895)

Tabel G.3 Uji lanjut DMRT kapasitas buih (FC)ISP edamame

Perlakuan	N	Subset			Notasi
		2	3	1	
A1B1	3	5.5556			a
A1B2	3	5.9722			a
A2B1	3	6.1111			a
A2B2	3		7.2222		b
A3B1	3		7.2917		b
A3B2	3			8.3333	c
Sig.		.050	.781	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .089.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

H. Data Stabilitas Buih (FS)

Tabel H.1 Hasil pengukuran stabilitas buih (FS) ISP edamame

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata	Standar Deviasi
	1	2	3		
A1B1	46.67	53.33	50.00	50.00	3.33
A1B2	40.00	43.33	43.33	42.22	1.92
A2B1	43.33	40.00	40.00	41.11	1.92
A2B2	35.56	35.56	33.33	34.81	1.28
A3B1	33.33	36.67	33.33	34.44	1.92
A3B2	30.16	31.75	28.57	30.16	1.59

Tabel H.2 Uji Anova stabilitas buih (FS) ISP edamame

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	715.470(a)	3	238.490	53.218	.000
Intercept	27494.505	1	27494.505	6135.307	.000
Suhu	513.348	2	256.674	57.276	.000
Waktu	202.122	1	202.122	45.103	.000
Error	62.739	14	4.481		
Total	28272.714	18			
Corrected Total	778.209	17			

a R Squared = .919 (Adjusted R Squared = .902)

Tabel H.3 Uji lanjut DMRT stabilitas buih (FS) ISP edamame

Perlakuan	N	Subset				Notasi
		1	2	3	4	
A3B2	3	30.1587				a
A2B2	3		34.8148			b
A3B1	3		36.1905			b
A2B1	3			41.1111		c
A1B2	3			42.2222		c
A1B1	3				50.0000	d
Sig.		1.000	.466	.554	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 5.007.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

I. Data Kapasitas Emulsi (EC)

Tabel I.1 Hasil pengukuran kapasitas emulsi (EC) ISP edamame

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata	Standar Deviasi
	1	2	3		
A1B1	9.63	9.68	9.73	9.68	0.05
A1B2	9.74	9.72	9.78	9.75	0.03
A2B1	9.82	9.80	9.94	9.85	0.08
A2B2	10.08	10.11	10.36	10.18	0.15
A3B1	10.63	10.35	9.88	10.29	0.38
A3B2	10.64	9.92	10.34	10.30	0.36

Tabel I.2 Uji Anova kapasitas emulsi (EC) ISP edamame

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.093(a)	3	.364	7.238	.004
Intercept	1802.971	1	1802.971	35830.118	.000
Suhu	1.011	2	.506	10.046	.002
Waktu	.082	1	.082	1.623	.223
Error	.704	14	.050		
Total	1804.768	18			
Corrected Total	1.797	17			

a R Squared = .608 (Adjusted R Squared = .524)

Tabel I.3 Uji lanjut DMRT kapasitas emulsi (EC) ISP edamame

Perlakuan	N	Subset			Notasi
		1	2	3	
A1B1	3	9.6796			a
A1B2	3	9.7461			a
A2B1	3	9.8549	9.8549		ab
A2B2	3		10.1827	10.1827	bc
A3B1	3			10.2882	c
A3B2	3			10.2980	c
Sig.		.386	.102	.565	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .052.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

J. Data Stabilitas Emulsi (ES)

Tabel J.1 Hasil pengukuran stabilitas emulsi (ES) ISP edamame

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata	Standar Deviasi
	1	2	3		
A1B1	17.51	17.04	17.23	17.26	0.24
A1B2	17.51	17.55	17.38	17.48	0.09
A2B1	17.72	18.02	17.79	17.84	0.15
A2B2	17.88	18.19	17.77	17.95	0.22
A3B1	17.51	18.22	18.58	18.10	0.54
A3B2	18.68	17.64	18.85	18.39	0.65

Tabel J.2 Uji Anova stabilitas emulsi (ES) ISP edamame

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2.522(a)	3	.841	6.730	.005
Intercept	5726.997	1	5726.997	45851.784	.000
Suhu	2.336	2	1.168	9.350	.003
Waktu	.186	1	.186	1.490	.242
Error	1.749	14	.125		
Total	5731.267	18			
Corrected Total	4.270	17			

a R Squared = .591 (Adjusted R Squared = .503)

Tabel J.3 Uji lanjut DMRT stabilitas emulsi (ES) ISP edamame

Perlakuan	N			Subset	Notasi
	1	2	3		
A1B1	3	17.2600			a
A1B2	3	17.4800	17.4800		ab
A2B1	3	17.8433	17.8433	17.8433	abc
A2B2	3	17.9467	17.9467	17.9467	abc
A3B1	3		18.1033	18.1033	bc
A3B2	3			18.3900	b
Sig.		.061	.086	.127	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .144.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

K. Data Gelasi

Tabel K.1 Hasil pengukuran gelasi ISP edamame

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata	Standar Deviasi
	1	2	3		
A1B1	2.00	1.33	2.00	1.78	0.38
A1B2	2.33	1.33	2.67	2.11	0.69
A2B1	2.67	2.33	3.00	2.67	0.33
A2B2	3.33	3.33	3.67	3.44	0.19
A3B1	3.67	3.67	3.33	3.44	0.19
A3B2	4.00	3.67	3.67	3.78	0.19

Tabel K.2 Uji Anova gelasi ISP edamame

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	10.037(a)	3	3.346	23.862	.000
Intercept	150.222	1	150.222	1071.396	.000
Suhu	9.148	2	4.574	32.623	.000
Waktu	.889	1	.889	6.340	.025
Error	1.963	14	.140		
Total	162.222	18			
Corrected Total	12.000	17			

a R Squared = .836 (Adjusted R Squared = .801)

Tabel K.3 Uji lanjut DMRT gelasi ISP edamame

Perlakuan	N	Subset			Notasi
		1	2	3	
A1B1	3	1.7778			a
A1B2	3	2.1111	2.1111		ab
A2B1	3		2.6667		b
A2B2	3			3.4444	c
A3B1	3			3.5556	c
A3B2	3			3.7778	c
Sig.		.300	.096	.323	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .142.

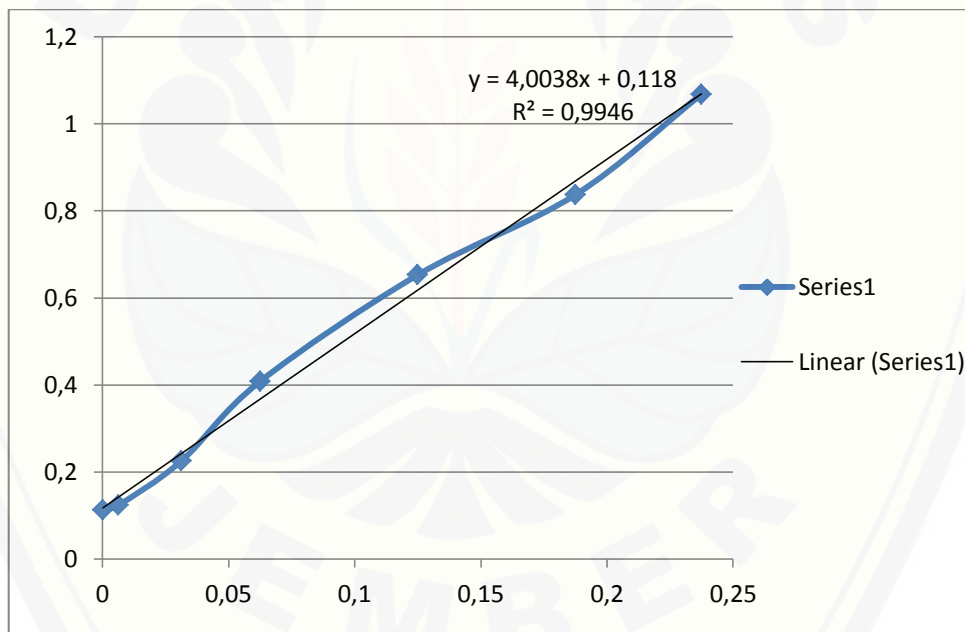
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

L. Titik Isoelektrik

Tabel L.1 Kurva standar ISP edamame

volume cuplikan	Absorbansi	Rata2 absorbansi	Konsentrasi (mg/ml)
0	0.025		
0.0001	0.138	0.113	0.000125
0.005	0.149	0.124	0.00625
0.025	0.2505	0.2255	0.03125
0.05	0.4335	0.4085	0.0625
0.1	0.678	0.653	0.125
0.15	0.862	0.837	0.1875
0.19	1.093	1.068	0.2375



Gambar. L1 Grafik kurva kelarutan protein

Tabel L.2 Titik isoelektrik ISP edamame

Ph	berat sampel (g)	Volume Total (ml)	Volume analisa (mikro L)	Abs	abs blanko	abs tanpa follin	BSA/ Mikro L	mg/ml
2	100	300	30	0.684	0.045	0.075	0.111	3.714
3	100	300	30	0.325	0.045	0.006	0.039	1.299
4	100	300	50	0.287	0.045	0.004	0.030	0.600
5	100	300	50	0.37	0.045	0.004	0.051	1.014
6	100	300	30	0.393	0.045	0.013	0.054	1.807
7	100	300	30	0.656	0.045	0.036	0.114	3.805
8	100	300	30	0.799	0.045	0.062	0.143	4.780
3.6	100	300	50	0.264	0.045	0.006	0.024	0.475
3.8	100	300	50	0.269	0.045	0.004	0.025	0.510
4.2	100	300	50	0.296	0.045	0.004	0.032	0.645
4.4	100	300	50	0.307	0.045	0.004	0.035	0.699
4.6	100	300	50	0.324	0.045	0.005	0.039	0.779
4.8	100	300	50	0.425	0.045	0.002	0.065	1.299
2	100	300	40	0.689	0.044	0.074	0.113	2.829
3	100	300	40	0.258	0.044	0.004	0.023	0.575
4	100	300	75	0.283	0.044	0.001	0.030	0.400
5	100	300	40	0.223	0.044	0.001	0.015	0.375
6	100	300	40	0.442	0.044	0.007	0.068	1.705
7	100	300	40	0.591	0.044	0.029	0.100	2.498
8	100	300	30	0.683	0.044	0.058	0.116	2.892
3.2	100	300	75	0.326	0.045	0.004	0.040	0.530
3.4	100	300	75	0.339	0.045	0.008	0.042	0.560
3.6	100	300	75	0.31	0.045	0.006	0.035	0.470
3.8	100	300	75	0.355	0.045	0.004	0.047	0.626
4.2	100	300	75	0.347	0.045	0.004	0.045	0.600
4.4	100	300	75	0.393	0.045	0.004	0.056	0.753
4.6	100	300	75	0.381	0.045	0.005	0.053	0.709
4.8	100	300	75	0.387	0.045	0.002	0.055	0.739

M. Data Anova Interaksi Suhu dan Waktu

Tabel M.1 Uji Anova rendemen ISP edamame

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	26.409(a)	5	5.282	341.561	.000
Intercept	1702.830	1	1702.830	110118.996	.000
Suhu	.000	0	.	.	.
Waktu	.000	0	.	.	.
Suhu dan Waktu	.951	2	.475	30.737	.000
Error	.186	12	.015		
Total	1729.424	18			
Corrected Total	26.594	17			

a R Squared = .993 (Adjusted R Squared = .990)

Tabel M.2 Uji Anova kadar protein ISP edamame

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3.278(a)	5	.656	12.850	.000
Intercept	150198.029	1	150198.029	2944191.749	.000
Suhu	.000	0	.	.	.
Waktu	.000	0	.	.	.
Suhu dan Waktu	.057	2	.028	.557	.587
Error	.612	12	.051		
Total	150201.919	18			
Corrected Total	3.890	17			

a R Squared = .843 (Adjusted R Squared = .777)

Tabel M.3 Uji Anova kecerahan warna (*lightness*) ISP edamame

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	24.364(a)	5	4.873	92.173	.000
Intercept	97570.059	1	97570.059	1845587.492	.000
Suhu	.000	0	.	.	.
Waktu	.000	0	.	.	.
Suhu dan Waktu	.159	2	.079	1.504	.261
Error	.634	12	.053		
Total	97595.058	18			
Corrected Total	24.999	17			

a R Squared = .975 (Adjusted R Squared = .964)

Tabel M.4 Uji Anova WHC ISP edamame

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2010.027(a)	5	402.005	854.744	.000
Intercept	1695138.208	1	1695138.208	3604204.344	.000
suhu	.000	0	.	.	.
waktu	.000	0	.	.	.
Suhu dan Waktu	5.324	2	2.662	5.660	.019
Error	5.644	12	.470		
Total	1697153.879	18			
Corrected Total	2015.671	17			

a R Squared = .997 (Adjusted R Squared = .996)

Tabel M.5 Uji Anova OHC ISP edamame

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	16267.525(a)	5	3253.505	6938.136	.000
Intercept	646596.712	1	646596.712	1378874.720	.000
suhu	.000	0	.	.	.
waktu	.000	0	.	.	.
Suhu dan Waktu	586.717	2	293.358	625.590	.000
Error	5.627	12	.469		
Total	662869.865	18			
Corrected Total	16273.153	17			

a R Squared = 1.000 (Adjusted R Squared = 1.000)

Tabel M.6 Uji Anova kelarutan protein ISP edamame

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.278(a)	5	.056	84.755	.000
Intercept	5.026	1	5.026	7663.305	.000
suhu	.000	0	.	.	.
waktu	.000	0	.	.	.
Suhu dan Waktu	.003	2	.001	2.056	.171
Error	.008	12	.001		
Total	5.312	18			
Corrected Total	.286	17			

a R Squared = .972 (Adjusted R Squared = .961)

Tabel M.7 Uji Anova kapasitas buih (FC) ISP edamame

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	16.389(a)	5	3.278	36.741	.000
Intercept	819.563	1	819.563	9186.189	.000
Suhu	.000	0	.	.	.
Waktu	.000	0	.	.	.
Suhu dan Waktu	.439	2	.219	2.459	.127
Error	1.071	12	.089		
Total	837.023	18			
Corrected Total	17.460	17			

a R Squared = .939 (Adjusted R Squared = .913)

Tabel M.8 Uji Anova stabilitas buih (FS) ISP edamame

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	718.127(a)	5	143.625	28.686	.000
Intercept	27494.505	1	27494.505	5491.368	.000
Suhu	.000	0	.	.	.
Waktu	.000	0	.	.	.
Suhu dan Waktu	2.657	2	1.328	.265	.771
Error	60.082	12	5.007		
Total	28272.714	18			
Corrected Total	778.209	17			

a R Squared = .923 (Adjusted R Squared = .891)

Tabel M.9 Uji Anova kapasitas emulsi (EC) ISP edamame

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.179(a)	5	.236	4.576	.014
Intercept	1802.971	1	1802.971	34995.383	.000
Suhu	.000	0	.	.	.
Waktu	.000	0	.	.	.
Suhu dan Waktu	.086	2	.043	.837	.457
Error	.618	12	.052		
Total	1804.768	18			
Corrected Total	1.797	17			

a R Squared = .656 (Adjusted R Squared = .513)

Tabel M.10 Uji Anova stabilitas Emulsi (ES) ISP edamame

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2.548(a)	5	.510	3.549	.034
Intercept	5726.997	1	5726.997	39890.854	.000
suhu	.000	0	.	.	.
waktu	.000	0	.	.	.
Suhu dan Waktu	.026	2	.013	.090	.915
Error	1.723	12	.144		
Total	5731.267	18			
Corrected Total	4.270	17			

a R Squared = .597 (Adjusted R Squared = .428)

Tabel L.11 Uji Anova daya gelasi ISP edamame

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	10.296(a)	5	2.059	14.504	.000
Intercept	150.222	1	150.222	1058.087	.000
Suhu	.000	0	.	.	.
Waktu	.000	0	.	.	.
Suhu dan Waktu	.259	2	.130	.913	.427
Error	1.704	12	.142		
Total	162.222	18			
Corrected Total	12.000	17			

a R Squared = .858 (Adjusted R Squared = .799)

Lampiran N. Foto Kegiatan Penelitian



Biji edamame basah



Bubur edamame



Pengkondisian pH basa



Persiapan ekstraksi



Penyaringan



Sentrifugasi untuk pemisahan pati dan supernatan.



Pengkondisian pH titik isoelektrik



Sentrifugasi untuk pemisahan endapan protein dengan supernatan.



Isolat protein basah



Persiapan isolat protein basah untuk pengeringan



Pengeringan / pengovenan



Isolat protein kering



Pengecilan ukuran



Bubuk solate protein edamame



Destilasi pada pengujian kadar protein



Titration pada pengujian kadar protein



Pengujian warna



Pemvortexan saat pengujian WHC



Pengujian OHC



Pengujian OHC



Pengujian kelarutan protein



Pengujian kapasitas dan stabilitas buih



Pengujian kapasitas dan stabilitas emulsi



Pengujian gelasi