



**KARAKTERISTIK FISIKO-KIMIA DAN FUNGSIONAL
EKSTRAK PROTEIN KEDELAI (*Glycine max*)
VARIETAS ANJASMORO HASIL VARIASI
PERLAKUAN PRA PROSES**

SKRIPSI

Oleh:

**Icha Atika Putri
NIM 141710101011**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2018**



**KARAKTERISTIK FISIKO-KIMIA DAN FUNGSIONAL EKSTRAK
PROTEIN KEDELAI (*Glycine max*) VARIETAS ANJASMORO HASIL
VARIASI PERLAKUAN PRA PROSES**

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:

**Icha Atika Putri
NIM 141710101011**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2018**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah AWT, puji syukur kehadirat-Nya yang telah memberikan kemudahan dan kelancaran dalam mengambil keputusan disetiap langkah hamba-Mu ini;
2. Rasulullah SAW, terima kasih telah membimbing umat manusia menjadi seorang khalifah di bumi dan menjadi suri tauladan bagi umatmu;
3. Kedua orang tua tercinta, Ibunda dan Ayahanda tercinta sebagai tanda bakti, hormat, dan terima kasih yang tiada terhingga atas kasih sayang, perhatian, dukungan dan motivasi moral spiritualnya selama ini. Adik Tasya Astrilian yang telah memberikan dukungan dan kasih sayang;
4. Pembimbing dan penyalur ilmuku, guru-guruku sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi;
5. Almamater kebanggaanku Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

MOTTO

Man Jadda Wajada

Man Shabaro Dzafira

Man Saara Ala Darbi Washala

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan akan ada kemudahan”

(QS. Al-Insyirah:6)

“Maka janganlah sekali-kali engkau membiarkan kehidupan dunia ini memperdayakanmu”

(QS. Al-Fathir:5)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

nama : Icha Atika Putri

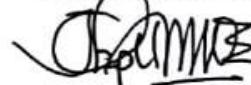
NIM : 141710101011

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Karakteristik Fisiko-Kimia dan Fungsional Ekstrak Protein Kedelai (*Glycine max*) Hasil Variasi Perlakuan Pra Proses” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya ilmiah jiplakan. 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, 13 Juli 2018

Yang menyatakan,



Icha Atika Putri

NIM. 141710101011

SKRIPSI

**KARAKTERISTIK FISIKO-KIMIA DAN FUNGSIONAL EKSTRAK
PROTEIN KEDELAI (*Glycine max*) VARIETAS ANJASMORO HASIL
VARIASI PERLAKUAN PRA PROSES**

Oleh:

Icha Atika Putri
NIM 141710101011

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Ir. Herlina, M.P.

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Triana Lindriati, S.T., M.P.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul "Karakteristik Fisiko-Kimia dan Fungsional Ekstrak Protein Kedelai (*Glycine max*) Varietas Anjasmoro Hasil Variasi Perlakuan Pra Proses" karya Icha Atika Putri telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Jum'at, 13 Juli 2018

tempat : Fakultas Teknologi Pertanian

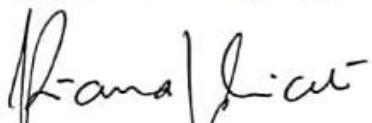
Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama



Dr. Ir. Herlina, M.P.
NIP 196605181993022001

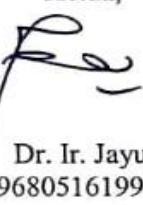
Dosen Pembimbing Anggota,



Dr. Triana Lindriati, S.T., M.P.
NIP 196808141998032001

Tim Pengaji:

Ketua,


Dr. Ir. Jayus
NIP 196805161992031004

Anggota,


Prof. Dr. Yuli Witono, S.TP., M.P.
NIP 196912121998021001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember



SUMMARY

Physico-Chemical and Functional Characteristics of Anjasmoro Soy (*Glycine max*) Protein Extracted Under Different Pre-process Treatments; Icha Atika Putri, 141710101011, 2018: 71 pages; Department of Agricultural Technology, Faculty of Agricultural Technology, University of Jember.

The consumption of animal protein in Indonesia nationally had fulfilled the set minimum standard, but the animal protein sufficiency of the low economical community was very low. Consuming food which made of the vegetable protein became the alternative solution to fulfill the number of protein sufficiency in the community. One of the materials of the vegetable protein which contained a high protein content was the variety of anjasmoro soybean. Based on the protein content of soybean, the anjasmoro local soybean was potential to be used for the making of protein extract. The soybean protein extraction process could be done by using some a different ingredient treatment variations namely free fatty soybean flour of intact soybean. Variations of the types of raw materials are expected to produce protein extracts with different characteristics. The purpose of this research is to know physico-chemical and functional characteristics of local soy protein extract by variety of variation results pre-process treatments.

This research was conducted using Completely Randomized Design (RAL) by single factor that is variation of pre-process material treatment which included soaking soybeans (A1), fat removal (A2), low fat soybean meal (A3) pre process treatment. The observation parameters used in this research were physico-chemical and functional tests which were divided into rendement, color, bulk angle, kamba density, pH measurement, water content, ash content, fat content, protein content, carbohydrate content, water holding capacity (WHC), oil holding capacity (OHC), protein solubility, emulsion capacity and stability emulsion. The data of the research were analyzed descriptively from the average repetition of each observation parameter. The results obtained are then shown in tabulation and

the histogram is then interpreted according to the parameters observed to see trends or trends of each parameter.

The results showed that the extract of soybean protein of anjasmoro varieties with fat removal (A2) pre-process treatment had the highest mean value in the color parameter of 83,92; density of kamba of 0,51 g / ml, and bulk angle of 33,92 °. The soy protein extract of anjasmoro variety which was treated with low fat soybean meal (A3) had the highest average protein content of 55.75%. Functional properties of protein extract in soaking soybeans (A1) treatment had the highest average value on protein solubility parameters of 5.80%, WHC of 135.20%, OHC of 142.52%, emulsification power of 28.42 m²/g, and the stability of the emulsion is quite stable.

RINGKASAN

Karakteristik Fisiko-Kimia dan Fungsional Ekstrak Protein Kedelai (*Glycine max*) Varietas Anjasmoro Hasil Variasi Perlakuan Pra Proses; Icha Atika Putri, 141710101011, 2018: 71 halaman, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Konsumsi protein hewani di Indonesia secara nasional sudah memenuhi standar minimum yang telah ditetapkan, namun kecukupan protein hewani pada masyarakat yang berpendapatan rendah masih sangat kurang. Mengkonsumsi bahan pangan protein nabati merupakan alternatif solusi untuk memenuhi angka kecukupan protein pada masyarakat. Salah satu bahan pangan nabati yang memiliki kandungan protein tinggi yaitu kedelai varietas anjasmoro. Berdasarkan kandungan proteinnya kedelai lokal anjasmoro berpotensi untuk dimanfaatkan dalam pembuatan ekstrak protein. Proses ekstraksi protein kedelai dapat dilakukan dengan variasi perlakuan bahan yang berbeda yaitu dari tepung kedelai bebas lemak maupun biji kedelai utuh. Variasi jenis bahan baku diduga mampu menghasilkan ekstrak protein dengan karakteristik yang berbeda. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui karakteristik fisiko-kimia dan fungsional ekstrak protein kedelai lokal varietas anjasmoro hasil variasi perlakuan pra proses.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal yaitu variasi variasi perlakuan pra proses bahan yang meliputi perendaman kedelai (A1), penghilangan lemak (A2), penepungan kedelai rendah lemak (A3). Parameter pengamatan yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi sifat fisiko-kimia dan fungsional antara lain, rendemen, warna, sudut curah, densitas kamba, pengukuran pH, kadar air, kadar abu, kadar lemak, kadar protein, kadar karbohidrat, *water holding capacity* (WHC), *oil holding capacity* (OHC), kelarutan protein, daya emulsi dan stabilitas emulsi. Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif dari rata-rata ulangan setiap parameter pengamatan. Hasil yang diperoleh kemudian ditampilkan dalam bentuk tabulasi dan histogram

kemudian diinterpretasikan sesuai dengan parameter yang diamati untuk melihat kecenderungan atau *trend* setiap parameter.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak protein kedelai varietas anjasmoro dengan perlakuan pra proses penghilangan lemak (A2) memiliki nilai rata-rata tertinggi pada parameter warna sebesar 83,92; densitas kamba sebesar 0,51 g/ml, dan sudut curah sebesar 33,92°. Ekstrak protein kedelai varietas anjasmoro yang diberi perlakuan penepungan kedelai rendah lemak (A3) memiliki nilai rata-rata kadar protein yang tertinggi yaitu 55,75%. Sifat fungsional ekstrak protein pada perlakuan perendaman kedelai (A1) memiliki nilai rata-rata tertinggi pada parameter kelarutan protein sebesar 5,80% , WHC sebesar 135,20%, OHC sebesar 142,52%, daya emusli sebesar 28,42 m²/g, dan stabilitas emulsi yang cukup stabil.

PRAKATA

Puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Karakteristik Fisiko-Kimia dan Fungsional Ekstrak Protein Kedelai (*Glycine max*) Varietas Anjasmoro Hasil Variasi Perlakuan Pra Proses”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Jember

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari adanya motivasi, bimbingan, kerjasama, dan bantuan dari berbagai pihak secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu dengan segenap kerendahan hati pada kesempatan ini penulis menyampaikan 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 Program Studi Teknologi Hasil Petanian, Universitas Jember
3. Dr. Ir. Herlina, M.P selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dr. Triana Lindriati, S.TP., M.P selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah tulus memberikan bimbingan, petunjuk dan motivasi dalam penulisan skripsi ini hingga selesai;
4. Dr. Ir. Jayus dan Prof. Dr. Yuli Witono, S.TP., M.P., selakua tim penguji yang telah memberikan evaluasi, saran dan waktunya dalam membantu perbaikan penulisan skripsi;
5. Ibu, Ayah, adik Tasya Astrilian dan seluruh keluarga besar yang telah sabar mendoakan, memberi dukungan dan motivasi demi terselesaikannya skripsi ini;
6. teman-teman terbaikku Mas Zainal, Jefrina, dan Amalina yang saling memberikan dukungan dan motivasi dalam suasana suka duka yang indah;

7. teman seperjuangan penelitian (Wasil dan Dedi) yang saling memberikan motivasi semangat dan bantuannya saat menyelesaikan penelitian hingga terselesaiannya skripsi ini;
8. teman-teman FTP angkatan 2014 khususnya keluarga THP-B 2014 yang telah memberikan keceriaan, dukungan dan motivasi yang sungguh luar biasa;
9. semua pihak yang terkait yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah memberikan doa, dukungan, motivasi, dan membantu selama pelaksanaan penelitian serta penulisan skripsi hingga selesai.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dan bermanfaat demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga penulisan laporan skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah wawasan bagi semua pihak khususnya pembaca.

Jember, 13 Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|-------------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PERSEMBAHAN | ii |
| HALAMAN MOTO | iii |
| HALAMAN PERNYATAAN..... | iv |
| HALAMAN PEMBIMBINGAN..... | v |
| HALAMAN PENGESAHAN..... | vi |
| SUMMARY | vii |
| RINGKASAN | ix |
| PRAKATA | xii |
| DAFTAR ISI..... | xiii |
| DAFTAR TABEL | xv |
| DAFTAR GAMBAR..... | xvi |
| DAFTAR LAMPIRAN | xvii |
| BAB 1. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang..... | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah..... | 3 |
| 1.3 Tujuan Penelitian..... | 3 |
| 1.4 Manfaat Penelitian | 3 |
| BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA..... | 4 |
| 2.1 Komposisi Gizi Tanaman Kedelai (<i>Glycine max</i>) | 4 |
| 2.2 Kedelai Unggul Lokal Varietas Anjasmoro | 6 |
| 2.3 Reaksi NaOH dengan Protein | 7 |
| 2.4 Reaksi HCl Secara Umum | 8 |
| 2.5 Teknik Ekstraksi Isolat dan Konsentrasi Protein | 9 |
| 2.5.1 Cara Isolasi Protein | 10 |
| 2.6 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Ekstraksi | 12 |
| 2.6.1 Ukuran Partikel | 13 |
| 2.6.2 Suhu | 13 |
| 2.6.3 Pelarut | 14 |
| 2.7 Sifat Fungsional Protein | 16 |
| 2.7.1 Daya Serap Minyak (<i>Oil Holding Capacity</i>) | 15 |
| 2.7.2 Daya Serap Air (<i>Water Holding Capacity</i>) | 15 |
| 2.7.3 Daya Emulsi dan Stabilitas Emulsi | 16 |
| 2.7.4 Kelarutan Protein | 17 |
| BAB 3. METODE PENELITIAN..... | 19 |
| 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian | 19 |
| 3.2 Alat dan Bahan Penelitian | 19 |

| | |
|---|-----------|
| 3.2.1 Alat Penelitian | 19 |
| 3.2.1 Bahan Penelitian | 19 |
| 3.3 Metode Penelitian | 20 |
| 3.3.1 Rancangan Percobaan | 20 |
| 3.2.1 Pelaksanaan Penelitian | 20 |
| 3.4 Parameter Pengamatan..... | 24 |
| 3.5 Prosedur Analisis | 24 |
| 3.5.1 Pengujian Karakteristik Fisik Ekstrak Protein Kedelai Anjasmoro Hasil Variasi Perlakuan Pra Proses | 24 |
| 3.5.2 Pengujian Karakteristik Kimia Ekstrak Protein Kedelai Anjasmoro Hasil Variasi Perlakuan Pra Proses | 25 |
| 3.5.3 Pengujian Karakteristik Fungsional Ekstrak Protein Kedelai Anjasmoro Hasil Variasi Perlakuan Pra Proses | 29 |
| 3.6 Analisis Data..... | 32 |
| BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN | 33 |
| 4.1 Karakteristik Fisik Ekstrak Protein Kedelai Varietas Anjasmoro Hasil Variasi Perlakuan Pra Proses | 33 |
| 4.1.1 Rendemen | 33 |
| 4.1.2 Warna..... | 34 |
| 4.1.3 Densitas Kamba | 36 |
| 4.1.4 Sudut Curah | 38 |
| 4.2 Karakteristik Kimia Ekstrak Protein Kedelai Varietas Anjasmoro Hasil Variasi Perlakuan Pra Proses | 39 |
| 4.2.1 Derajat Keasaman (pH) | 39 |
| 4.2.2 Kadar Air | 40 |
| 4.2.3 Kadar Abu | 42 |
| 4.2.4 Kadar Protein..... | 43 |
| 4.2.5 Kadar Lemak | 44 |
| 4.2.6 Kadar Karbohidrat | 45 |
| 4.3 Karakteristik Fungsional Ekstrak Protein Kedelai Varietas Anjasmoro pada Berbagai Perlakuan Pra Proses | 46 |
| 4.3.1 Kelarutan Protein | 46 |
| 4.3.2 <i>Water Holding Capacity</i> (WHC)..... | 48 |
| 4.3.3 <i>Oil Holding Capacity</i> (OHC) | 49 |
| 4.3.4 Daya Emulsi dan Stabilitas Emulsi | 50 |
| BAB 5. Penutup | 54 |
| 5.1 Kesimpulan | 54 |
| 5.2 Saran | 54 |
| DAFTAR PUSTAKA | 55 |
| LAMPIRAN..... | 63 |

DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| 2.1 Varietas kedelai dan komposisi kimia..... | 5 |
| 2.2 Kandungan asam amino esensial biji kedelai per 100 gram | 5 |
| 2.3 Komposisi zat gizi dalam 100 gram kedelai | 6 |
| 2.4 Deskripsi kedelai varietas Anjasmoro..... | 7 |
| 2.5 Sifat fungsional berbagai jenis isolat protein | 18 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|--|----|
| 2.1 Kedelai Anjasmoro..... | 6 |
| 3.1 Diagram alir preparasi bahan baku | 22 |
| 3.2 Diagram alir pembuatan ekstrak protein kedelai Anjasmoro | 23 |
| 4.1 Nilai rata-rata rendemen ekstrak protein kedelai varietas Anjasmoro hasil variasi perlakuan pra proses..... | 33 |
| 4.2 Nilai rata-rata kecerahan ekstrak protein kedelai varietas Anjasmoro hasil variasi perlakuan pra proses..... | 35 |
| 4.3 Nilai rata-rata densitas kamba ekstrak protein kedelai varietas Anjasmoro hasil variasi perlakuan pra proses..... | 36 |
| 4.4 Nilai rata-rata sudut curah ekstrak protein kedelai varietas Anjasmoro hasil variasi perlakuan pra proses..... | 38 |
| 4.5 Nilai rata-rata pH ekstrak protein kedelai varietas Anjasmoro hasil variasi perlakuan pra proses | 40 |
| 4.6 Nilai rata-rata kadar air ekstrak protein kedelai varietas Anjasmoro hasil variasi perlakuan pra proses | 41 |
| 4.7 Nilai rata-rata kadar abu ekstrak protein kedelai varietas Anjasmoro hasil variasi perlakuan pra proses | 42 |
| 4.8 Nilai rata-rata kadar protein ekstrak protein kedelai varietas Anjasmoro hasil variasi perlakuan pra proses | 43 |
| 4.9 Nilai rata-rata kadar lemak ekstrak protein kedelai varietas Anjasmoro hasil variasi perlakuan pra proses | 45 |
| 4.10 Nilai rata-rata kadar karbohidrat ekstrak protein kedelai varietas Anjasmoro hasil variasi perlakuan pra proses | 46 |
| 4.11 Nilai rata-rata kelarutan protein ekstrak protein kedelai varietas Anjasmoro hasil variasi perlakuan pra proses | 47 |
| 4.12 Nilai rata-rata <i>Water Holding Capacity</i> (WHC) ekstrak protein kedelai varietas Anjasmoro hasil variasi perlakuan pra proses | 48 |
| 4.13 Nilai rata-rata <i>Oil Holding Capacity</i> (OHC) ekstrak protein kedelai varietas Anjasmoro hasil variasi perlakuan pra proses | 49 |
| 4.14 Nilai rata-rata daya emulsi ekstrak protein kedelai varietas Anjasmoro hasil variasi perlakuan pra proses | 51 |
| 4.15 Kurva stabilitas emulsi ekstrak protein kedelai varietas Anjasmoro hasil variasi perlakuan pra proses..... | 52 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | | |
|-------|---|----|
| 1. | Data hasil perhitungan karakteristik fisik ekstrak protein kedelai anjasmoro .. | 63 |
| 1.1 | Rendemen | 64 |
| 1.2 | Warna | 63 |
| 1.3 | Densitas Kamba..... | 63 |
| 1.4 | Sudut Curah..... | 63 |
| 2. | Data hasil perhitungan karakteristik kimia ekstrak protein kedelai anjasmoro | 64 |
| 2.1 | pH | 64 |
| 2.2 | Kadar Air | 64 |
| 2.3 | Kadar Abu | 64 |
| 2.4 | Kadar Protein..... | 64 |
| 2.3 | Kadar Lemak | 64 |
| 2.4 | Kadar Karbohidrat..... | 65 |
| 3. | Data Hasil perhitungan karakteristik fungsional ekstrak protein kedelai anjasmoro | 66 |
| 3.1 | Kelarutan Protein..... | 66 |
| 3.1.1 | Kurva Standar | 66 |
| 3.1.3 | Kelarutan Protein..... | 66 |
| 3.2 | <i>Water Holding Capacity</i> | 67 |
| 3.3 | <i>Oil Holding Capacity</i> | 67 |
| 3.4 | Daya Emulsi dan Stabilitas Emulsi | 67 |
| 3.4.1 | Daya Emulsi | 67 |
| 3.4.2 | Stabilitas Emulsi..... | 68 |
| 4. | Foto Kegiatan Penelitian | 69 |

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Protein merupakan salah satu makromolekul yang dibutuhkan tubuh sebagai pertahanan tubuh, pengatur pergerakan, dan penunjang mekanis (Winarno, 2004). Protein juga dapat digunakan sebagai indikator status gizi karena mengkonsumsi protein dibutuhkan untuk memulihkan sel-sel tubuh yang rusak. Konsumsi protein hewani di Indonesia secara nasional sudah memenuhi standar minimum yang telah ditetapkan, namun kecukupan protein hewani pada masyarakat yang berpendapatan rendah masih sangat kurang (Ariningsih, 2002). Mengkonsumsi protein nabati merupakan alternatif solusi untuk memenuhi angka kecukupan protein pada masyarakat. Salah satu bahan pangan nabati yang memiliki kandungan protein tinggi yaitu kedelai. Menurut data Badan Pusat Statistik (2013), tahun 1998 konsumsi kedelai rata-rata per orang sebesar 8,13 kg per tahun dan pada tahun 2004 mengalami peningkatan menjadi 8,97 kg per tahun.

Kedelai (*Glycine max*) merupakan salah satu komoditi pangan lokal terbesar di Indonesia setelah padi dan jagung (Suprapto dan Marzuki, 1998). Periode 2010-2013 impor kedelai mencapai volume 7,84 juta ton (Dirjen PPHP, 2013) sedangkan pada periode 2015-2016 mencapai 2,6 juta ton (Kedaulatan Pangan, 2016). Laju impor tersebut dapat ditekan dengan adanya upaya dari pemerintah untuk mengembangkan kedelai lokal yaitu dengan melepas 37 varietas unggul kedelai dengan potensi hasil rata-rata lebih dari 2 ton/ha (Balitkabi, 2008). Salah satu varietas unggul kedelai lokal yaitu kedelai varietas anjasmoro. Kedelai anjasmoro memiliki kandungan protein yang jauh lebih banyak jika dibandingkan dengan kedelai impor, yaitu 41,8%-42,1% (Balitkabi, 2008) sedangkan kandungan protein kedelai impor yaitu 35-37% (Badan Litbang Pertanian, 2008). Berdasarkan kandungan proteinnya kedelai lokal anjasmoro berpotensi untuk dimanfaatkan dalam pembuatan ekstrak protein.

Ekstrak protein merupakan bahan pangan setengah jadi yang dapat dijadikan sebagai *food ingredient* pangan berprotein yang dapat memperkaya kandungan gizi dalam produk pangan. Produk ekstrak protein dapat dimanfaatkan sebagai

ingredient pada berbagai produk olahan seperti susu, *meat analog*, sosis, nugget dan olahan pangan lainnya. Ekstrak protein dapat diperoleh dengan cara mengekstrak komponen protein bahan pangan menggunakan metode isolasi protein pada kondisi tertentu sehingga menghasilkan produk berprotein tinggi (Koswara, 2009). Secara garis besar, proses isolasi protein diawali dengan ekstraksi dan pelarutan protein pada kondisi pH tertentu. Menurut Santosa (2004) ekstraksi merupakan proses pemisahan campuran dengan menggunakan sejumlah massa pelarut sebagai tenaga pemisah. Pelarut yang sering digunakan dalam proses ekstraksi protein adalah asam dan basa, karena protein bersifat amfoter yaitu dapat bereaksi dalam kondisi asam maupun basa. Menurut Tanjung dan Utami (2011) ekstraksi protein menggunakan asam memerlukan biaya yang lebih besar jika dibandingkan dengan ekstraksi dalam kondisi basa. Oleh karena itu, dalam beberapa penelitian terdahulu yang membuat ekstrak protein cenderung menggunakan pelarut basa. Salah satu pelarut basa yang sering digunakan yaitu NaOH. Pelarut NaOH memiliki energi ionisasi lebih besar daripada pelarut basa yang lain sehingga pelarut NaOH memiliki kemampuan dalam mengekstrak protein yang lebih besar (Fahma *et al.*, 2012).

Menurut Koswara (2009) proses ekstraksi protein kedelai dapat dilakukan dengan variasi perlakuan pra proses bahan yang berbeda yaitu dari tepung kedelai bebas lemak maupun biji kedelai utuh. Variasi perlakuan pra proses diduga mampu menghasilkan ekstrak protein dengan karakteristik yang berbeda. Penelitian mengenai karakterisasi ekstrak protein yang telah dilakukan hanya pada jenis kacang-kacangan seperti kacang gude, koro benguk, biji kecipir dan biji lamtoro. Namun, penelitian yang mengkaji karakteristik fisiko-kimia dan fungsional ekstrak protein berbahan dasar kedelai lokal varietas unggul sampai saat ini masih belum dilakukan. Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui karakteristik fisiko-kimia dan fungsional ekstrak protein berbahan dasar kedelai lokal varietas anjasmoro dengan variasi perlakuan pra proses bahan.

1.2 Rumusan Masalah

Tingginya kandungan protein pada kedelai lokal varietas anjasmoro berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai produk diversifikasi berbasis kedelai seperti ekstrak protein. Ekstrak protein dapat terekstrak pada kondisi pH tertentu. Meskipun demikian, teknik pembuatan ekstrak protein memiliki banyak kekurangan. Pembuatan ekstrak protein kedelai dapat dilakukan dengan perlakuan bahan yang berbeda seperti penepungan, perendaman, maupun penghilangan lemak pada biji kedelai. Adanya perlakuan pra proses pada bahan diduga dapat mempengaruhi proses ekstraksi protein. Proses penghilangan lemak dan perendaman pada biji kedelai diduga dapat mempermudah proses ekstraksi protein. Selain itu, proses penepungan pada bahan juga dapat mempengaruhi laju ekstraksi karena semakin besar luas permukaan bahan maka tingkat transfer material akan semakin tinggi. Perlakuan pra proses bahan yang bervariasi diduga dapat berpengaruh terhadap karakteristik produk ekstrak protein yang dihasilkan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui karakteristik fisiko-kimia dan fungsional ekstrak protein kedelai varietas anjasmoro dengan variasi perlakuan pra proses.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui karakteristik fisiko-kimia dan fungsional ekstrak protein kedelai lokal varietas anjasmoro hasil variasi perlakuan pra proses bahan baku yang meliputi perendaman kedelai, penghilangan lemak pada biji kedelai, dan penepungan biji kedelai rendah lemak.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah meningkatkan daya guna dan popularitas kedelai lokal varietas anjasmoro untuk pembuatan ekstrak protein kedelai.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Komposisi Gizi Tanaman Kedelai (*Glycine max*)

Tanaman kedelai merupakan tanaman pangan berupa semak yang tumbuh tegak. Kedelai dikenal dengan beberapa nama botani, yaitu *Glycine max* yang berasal dari daerah Manshukuo, Cina Utara (AAK, 1989). Kedelai berbatang semak memiliki tinggi batang antara 30-100 cm, setiap batang tanaman kedelai dapat membentuk 3-6 cabang (Adisarwanto, 2005). Tanaman kedelai dapat tumbuh dengan baik di daerah yang memiliki curah hujan sekitar 100-400 mm/bulan. Untuk memperoleh hasil yang optimal, tanaman kedelai membutuhkan curah hujan antara 100-200 mm/bulan (Najiyati, 1999). Berikut merupakan klasifikasi tanaman kedelai.

| | | |
|---------|---|--------------------|
| Divisio | : | Spermatophyta |
| Classis | : | Dicotyledoneae |
| Ordo | : | Rosales |
| Familia | : | Papilionaceae |
| Genus | : | <i>Glycine</i> |
| Species | : | <i>Glycine max</i> |

Tanaman kedelai di Indonesia memiliki berbagai varietas dengan komposisi kimia yang berbeda-beda yang dapat dilihat pada Tabel 2.1. Apabila ditinjau dari segi ekonomis kedelai merupakan sumber protein yang sangat ekonomis. Kebutuhan protein nabati dapat terpenuhi dari hasil olahan kedelai sehingga dapat dikatakan bahwa kedelai merupakan sumber protein yang sangat penting bagi tubuh. Kedelai mengandung beberapa jenis asam amino, antara lain isoleusin, lisin, leusin, metionin, fenilalanin, treonin, dan valin yang rata-rata memiliki jumlah yang tinggi kecuali metionin dan fenilalanin. Selain itu, kedelai juga mengandung kalsium, fosfor, besi, vitamin A dan B yang berguna untuk pertumbuhan manusia. Kandungan asam amino metionin dan sistein dalam kedelai agak rendah jika dibandingkan dengan protein hewani (Cahyadi, 2007). Kandungan asam amino esensial biji kedelai per 100 gram dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.1 Varietas kedelai dan komposisi kimia

| Varietas | Bobot 100 biji (g) | Warna Kulit Biji | Protein (%bk) | Lemak (%bk) | Potensi Hasil (t/ha) | Tahun dilepas |
|------------|--------------------|------------------|---------------|-------------|----------------------|---------------|
| Argomulyo | 18-19 | Kuning | 37-40,20 | 19,30-20,80 | 2 | 1998 |
| Grobogan | 18 | Kuning | 43,90 | 18,40 | 3,40 | 2008 |
| Panderman | 15-17 | Kuning | 36,90 | 17,70 | 2,40 | 2003 |
| Burangrang | 14,90-17 | Kuning | 39-41,60 | 20 | 2,50 | 1999 |
| Bromo | 14,40-15,80 | Kuning | 37,80-42,60 | 19,50 | 2,50 | 1998 |
| Anjasmoro | 14,40-15,30 | Kuning | 41,80-42,10 | 17,20-18,60 | 2,30 | 2001 |
| Detam-1 | 14,80 | Hitam | 45,40 | 13,10 | 3,50 | 2008 |
| Detam-2 | 13,50 | Hitam | 45,60 | 14,80 | 3 | 2008 |
| Tampomas | 10,90-11 | Kuning | 34-41,20 | 18-19,60 | 1,90 | 1992 |
| Cikuray | 9,10-11 | Hitam | 35-42,40 | 17-19 | 1,70 | 1992 |
| Wilis | 8,90-11 | Kuning | 37-40,50 | 18-8,80 | 1,60 | 1983 |
| Kawi | 10,10-10,50 | Kuning | 38,50-44,10 | 16,60-17,50 | 2 | 1998 |
| Mallika | 9-10 | Hitam | 37 | 20 | 2,90 | 2007 |
| Merapi | 8-9,50 | Hitam | 41-42,60 | 7,50-13 | 1 | 1938 |
| Krakatau | 8-9,10 | Kuning | 36-44,30 | 16-17 | 1,90 | 1992 |

Sumber: Antarlina *et al.* (2002), Balitkabi (2008), Ginting dan Suprapto (2004)

Tabel 2.2 Kandungan asam amino esensial biji kedelai per 100 gram

| Asam Amino | Jumlah (mg/gN) |
|-----------------|----------------|
| Isoleusin | 340 |
| Leusin | 480 |
| Lisin | 400 |
| Fenilalanin | 310 |
| Tirosin | 200 |
| Sistein | 110 |
| Treonin | 250 |
| Triptofan Valin | 90 |
| Valin | 330 |
| Metionin | 80 |

Sumber : Cahyadi (2007)

Biji kedelai tidak hanya mengandung protein tinggi saja, namun juga terdapat kandungan gizi lainnya yang meliputi karbohidrat, lemak, dan lainnya. Setiap bagian kedelai memiliki komposisi kimia dengan jumlah yang berbeda-beda. Komposisi gizi dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3. Komposisi zat gizi dalam 100 gram kedelai

| Zat gizi | Jumlah |
|-------------|------------|
| Kalori | 331,00 kal |
| Protein | 34,90 g |
| Lemak | 18,10 g |
| Karbohidrat | 34,80 g |
| Kalsium | 227,00 mg |
| Fosfor | 583,00 mg |
| Besi | 8,00 mg |
| Vitamin A | 110,00 SI |
| Vitamin B1 | 1,07 mg |
| Vitamin C | 0,00 mg |
| Air | 7,50 g |

Sumber: Departemen Kesehatan R.I (1992)

2.2 Kedelai Unggul Lokal Varietas Anjasmoro

Indonesia memiliki berbagai varietas kedelai yang jumlahnya sangat banyak. Setiap varietas kedelai memiliki karakteristik yang berbeda-beda baik fisik maupun kimia. Kandungan yang tertinggi dalam biji kedelai yaitu protein dengan nilai sebesar 35-45%. Salah satu varietas kedelai yang saat ini dikembangkan oleh pemerintah yaitu kedelai varietas anjasmoro. Kedelai varietas anjasmoro memiliki warna kulit biji kuning yang menyerupai kedelai impor. Gambar kedelai anjasmoro dapat dilihat pada Gambar 2.1 dan deksripsi kedelai varietas anjasmoro dapat dilihat pada Tabel 2.4.



Gambar 2.1 Kedelai anjasmoro (Balitkabi, 2008)

Tabel 2.4 Deskripsi kedelai varietas anjasmoro

| Keterangan | Varietas Anjasmoro |
|--------------------|-------------------------|
| Dilepas tahun | 22 Oktober 2001 |
| SK Mentan | 537/Kpts/TP.240/10/2001 |
| Nomor galur | Mansuria 395-49-4 |
| Warna kulit biji | Kuning |
| Warna polong masak | Coklat muda |
| Warna hilum | Kuning kecoklatan |
| Umur polong masak | 82,5-92,5 hari |
| Bobot per 100 biji | 14,8-15,3 g |
| Kandungan protein | 41,8-42,1 % |
| Kandungan lemak | 17,2-18,6 % |

Sumber: Balitkabi (2008)

Dari segi kandungan kimia maupun ukuran biji, kedelai lokal masih lebih unggul jika dibandingkan dengan kedelai impor. Menurut Krisdiana (2014), hingga tahun 2013 varietas kedelai yang banyak dikembangkan masyarakat adalah varietas anjasmoro dengan luas lahan tanam total 32,1%. Kedelai varietas anjasmoro merupakan varietas unggul yang dilepas pada tahun 2001 yang memiliki produktivitas 2,03-2,25 ton/ha dan setiap 100 biji memiliki bobot berkisar antara 14,8-15,3 gram, kandungan protein 41,8-42,1 %, kandungan lemak 17,2-18,6%, tahan rebah, moderat terhadap karat daun dan polong tidak mudah pecah (Balitkabi, 2008).

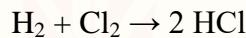
2.3 Reaksi NaOH dengan Protein

Natrium hidroksida (NaOH) sering dikenal sebagai soda kaustik atau sodium hidroksida yang merupakan jenis basa logam kaustik. Natrium hidroksida terbentuk dari oksida basa natrium oksida yang dilarutkan dalam air. Ketika dilarutkan dalam air maka natrium hidroksida akan membentuk larutan alkali yang kuat. Selain itu, natrium hidroksida juga merupakan basa yang paling umum digunakan dalam laboratorium kimia (Huheey, 1984). Reaksi antara protein dengan larutan alkali (basa) biasa disebut dengan rasemisasi. Pada reaksi antara alkali dan protein asam amino bentuk L akan berubah menjadi bentuk D. Ikatan peptide L-D, D-L dari protein tidak dapat dihidrolisis oleh enzim proteolitik, sehingga daya cerna protein menurun (Winarno, 2004).

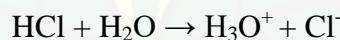
Natrium hidroksida murni berbentuk putih padat dan tersedia dalam bentuk pellet, serpihan, butiran, dan larutan jenuh 50%. NaOH bersifat lembab cair dan secara spontan menyerap karbon dioksida dari udara bebas. NaOH juga sangat larut dalam air dan akan melepaskan kalor ketika dilarutkan dalam air. Larutan NaOH meninggalkan noda kering pada kain dan kertas (Meyer, 1989).

2.4 Reaksi HCl Secara Umum

Asam klorida (HCl) terbentuk dari reaksi H_2 dan gas Cl_2 di unit sintesis asam klorida. Reaktor sintesis HCl meliputi perakitan tabung pembakar, ruang pembakaran, penyerap asam klorida dan scrubber tailgas. Gas hidrogen pada sintesis asam klorida dipasok dari header hidrogen utama dari sistem elektrolisis dan gas klorin dari header klorin utama. Gas H_2 dan Cl_2 memasuki ruang pembakaran dan bereaksi sesuai dengan reaksi yang sangat eksotermik berikut untuk menghasilkan gas hidrogen klorida.



Hidrogen klorida (HCl) disebut sebagai asam monoprotik yaitu dapat berdisosiasi melepaskan satu ion H^+ hanya sekali. Ion H^+ dalam larutan asam klorida akan bereaksi dengan molekul air (H_2O) membentuk ion hydronium (H_3O^+), reaksinya sebagai berikut:



Reaksi diatas menghasilkan ion yang lain yaitu adalah ion klorida (Cl^-). Asam klorida merupakan asam kuat yang berdisosiasi penuh dalam air. HCl dikenal sebagai hidrogen klorida dan asam klorida. Nama yang digunakan untuk senyawa ini bergantung pada wujud fisiknya. Dalam wujud gas atau cairan murni, HCl adalah suatu senyawa molekular yang disebut hidrogen klorida (Chang, 2004).

2.5 Teknik Ekstraksi Isolat dan Konsentrat Protein

Isolat dan konsentrat protein termasuk ekstrak protein dari bahan rendah lemak yang dibuat dengan cara sedemikian rupa sehingga kandungan proteinnya tinggi. Isolat protein merupakan hasil dari proses ekstraksi protein bahan pangan dengan metode isolasi protein sehingga dihasilkan produk berprotein tinggi (Koswara, 2009). Kadar protein minimum pada isolat protein sebesar 90% berdasarkan presentase bobot kering. Konsentrat protein merupakan produk lanjutan dari tepung kedelai dengan prinsip penghilangan setengah dari kadar karbohidrat dan sebagian mineral dalam proses pembuatannya sehingga fraksi protein meningkat. Kadar minimum konsentrat protein yaitu antara 60-70 % berat kering (Koswara, 2009). Dalam pengolahan pangan, produk ekstrak protein dapat berperan sebagai *emulsifier*, membentuk lapisan tipis pada sosis, bahan membuat *meat analog* (daging tiruan), dan lain-lain (Koswara, 2009; Rhee, 1995).

Ekstrak protein dapat terekstrak pada kondisi pH tertentu. Prinsip yang digunakan untuk mengisolasi protein total adalah pengendapan seluruh protein pada titik isoelektriknya. Titik isoelektrik merupakan data yang sangat penting diketahui untuk pemurnian suatu protein, apabila titik isoelektrik (pI) suatu protein sudah diketahui maka pemisahan atau pemurnian akan mudah dilakukan. Setiap jenis protein dalam larutan mempunyai pH tertentu yang disebut pH isoelektrik (pI) berkisar antara 4-4,5. Pada pH isoelektrik (pI) molekul protein mempunyai muatan positif dan negatif yang sama, sehingga saling menetralkan atau bermuatan nol. Pada titik isoelektrik (pI) protein akan mengalami pengendapan (koagulasi) secara cepat (Yazid, 2006).

Pada titik isoelektriknya, muatan total masing-masing asam amino dalam protein sama dengan nol yang berarti bahwa terjadi kesetimbangan antara gugus bermuatan positif dengan gugus negatif. Interaksi elektrostatik antara asam amino akan maksimum karena muatan yang tidak sejenis akan cenderung tarik menarik sehingga dapat diamati terjadinya penggumpalan protein (Thanh & Shibasaki, 1976). Pemilihan suasana basa pada proses ekstraksi didasarkan pada kenyataan bahwa sebagian besar asam amino akan bermuatan negatif pada pH di atas titik isoelektriknya, muatan yang sejenis cenderung akan tolak menolak sehingga

menyebabkan minimalnya interaksi antara residu-residu asam amino yang berarti kelarutan protein akan meningkat (Cheftel *et al.*, 1985).

Proses isolasi protein diawali dengan melarutkan protein atau mengekstrak protein pada kondisi basa yaitu pH 6,8-10 kemudian dilanjutkan dengan proses presipitasi menggunakan asam pada titik isoelektrik pH 4,5 (Lusas *et al.*, 1995). Penggunaan titik isoelektrik pada protein nabati biasanya menggunakan pelarut asam asetat dan asam klorida (HCl). Larutan basa yang umum digunakan untuk melarutkan protein yaitu natrium oksida (NaOH) dan kalium oksida (KOH) (Winarno, 1985). Selanjutnya dilakukan proses pencucian dan pengeringan isolat protein (Utami, 2004).

Berdasarkan penelitian yang sudah ada, menurut Budijanto (2011) isolat protein biji kecipir memiliki kadar protein 83,87% (bk), daya serap air dan stabilitas emulsi yang cukup baik. Asam amino esensial yang dominan pada isolat protein kecipir adalah leusin dan lisin, sedangkan asam amino metionin dan sistin sebagai asam amino pembatasnya. Menurut penelitian Witono *et al.* (2014) isolat protein kacang tunggak memiliki kadar air 7,97%, kadar abu 1,75%, kadar protein 88,06%, dan kadar lemak 1,05%. Isolat protein kacang tunggak lebih banyak mengandung fraksi globulin 7s dibandingkan dengan 11s.

2.5.1 Cara Isolasi Protein

Menurut Koswara (2009) pekat protein kedelai dapat dibuat dari tepung kedelai bebas lemak maupun dari biji kedelai utuh. Proses pembuatannya hampir sama, namun terdapat perbedaan pada cara ekstraksi proteinnya. Tahap proses isolasi protein adalah sebagai berikut:

a. Perlakuan pendahuluan

Menurut Koswara (2009) proses isolasi protein dari biji kedelai utuh maka dilakukan perendaman biji kedelai terlebih dahulu selama 5-8 jam, diikuti pembuatan bubur kedelai yaitu dengan cara pengupasan kedelai kemudian dihancurkan seperti pada pembuatan sari kedelai. Bubur kedelai diencerkan hingga perbandingan kedelai kering dan air sebesar 1:8. Jika dibuat dari tepung kedelai yaitu dilakukan pencampuran tepung kedelai dengan air

dengan perbandingan air dan tepung yaitu 1:8. Menurut penelitian Witono *et al.* (2014) dalam pembuatan isolat protein kacang tunggak, proses pembuatan isolat protein kacang tunggak dimulai dengan perendaman kacang tunggak seberat 100 gram dalam air selama ± 5 jam. Kacang tunggak yang telah dikupas kulit arinya kemudian dihancurkan menggunakan blender dengan rasio penambahan air 6: 2 (air: bahan).

b. Ekstraksi protein

Menurut Koswara (2009) proses ekstraksi protein dilakukan dengan pengaturan pH hingga kisaran 8,5-11 dan diaduk selama 30 menit pada suhu 50-55°C sehingga proteinnya terekstrak. Pengaturan pH dilakukan dengan penambahan NaOH 2 N disertai pengadukan selama 30 menit. Menurut penelitian Witono *et al.* (2014) dalam pembuatan isolat protein kacang tunggak, suspensi yang diperoleh disaring untuk menghasilkan filtrat kacang tunggak. Kemudian dilakukan penambahan NaOH 0,1 N pada filtrat kacang tunggak dengan perbandingan 5: 1 (NaOH: suspensi) dan diinkubasi pada suhu 55°C selama 30 menit.

c. Pemisahan

Menurut Koswara (2009) proses pemisahan protein dilakukan dengan proses sentrifugasi untuk memisahkan residu non protein. Tahap ini merupakan tahap yang penting karena menentukan kemurnian protein kedelai yang dihasilkan, yang pada umumnya dilakukan dengan kecepatan 1500 rpm selama 30 menit. Menurut penelitian Witono *et al.* (2014) dalam pembuatan isolat protein kacang tunggak, filtrat dipisahkan dengan menggunakan sentrifugasi pada kecepatan 2000 rpm selama 10 menit.

d. Penurunan pH

Menurut Koswara (2009) filtrat yang diperoleh dari tahap pemisahan diturunkan pH-nya sampai 4,5 sehingga protein akan mengendap. Penurunan pH ini dilakukan dengan penambahan larutan HCl 2 N. Endapan protein yang

diperoleh, kemudian dipisahkan dengan cara sentrifugasi. Menurut penelitian Witono *et al.* (2014) dalam pembuatan isolat protein kacang tunggak, supernatan dikondisikan pada pH 5 dengan penambahan HCl 1N dan dipisahkan dengan menggunakan sentrifus pada kecepatan 2000 rpm selama 10 menit.

e. Pencucian

Menurut Koswara (2009) endapan yang diperoleh dari proses penurunan pH yang kemudian dicuci atau dimurnikan yaitu dicampur dengan air dan disentrifugasi lagi kemudian dikeringkan menggunakan pengering beku. Pencucian ini bertujuan untuk menghilangkan sisa bahan kimia yang ada pada bahan. Menurut penelitian Witono *et al.* (2014) dalam pembuatan isolat protein kacang tunggak, isolat protein basah yang diperoleh dimurnikan dengan menggunakan aseton 70%. Setelah itu, dilakukan pengadukan dengan batang *stirrer* selama 20 menit dan dilakukan pemisahan dengan menggunakan sentrifugasi pada kecepatan 2000 rpm selama 10 menit.

f. Netralisasi

Menurut Koswara (2009) proses netralisasi dilakukan setelah proses pencucian atau pemurnian yaitu dengan penambahan NaOH 2 N sampai pH 6-8 lalu dikeringkan sehingga diperoleh produk ekstrak protein kedelai. Menurut penelitian Witono *et al.* (2014) dalam pembuatan isolat protein kacang tunggak, endapan yang diperoleh setelah pemurnian kemudian dikeringkan menggunakan oven vakum pada suhu 50°C selama 8 jam.

2.6 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Ekstraksi

Proses ekstraksi dapat dipengaruji oleh beberapa faktor. Jika difusi zat terlarut melalui struktur berpori dari sisa padatan adalah faktor pengendali, maka materi harus berukuran kecil sehingga proses difusi zat terlarut sangat mudah. Namun, jika difusi zat terlarut dari permukaan partikel sebagian besar adalah

faktor pengendali maka ukuran partikel, temperatur ekstraksi, jumlah pelarut, serta waktu ekstraksi dapat mempengaruhi proses ekstraksi (Syed *et al.*, 2012).

Pada prinsipnya ekstraksi adalah melarutkan dan menarik senyawa dengan menggunakan pelarut yang tepat. Terdapat tiga tahapan proses pada waktu ekstraksi yang meliputi penetrasi pelarut ke dalam pori padatan, disolusi pelarut ke dalam padatan dan melarutkan zat yang diinginkan oleh pelarut, serta difusi bahan yang terekstraksi ke luar padatan. Proses tersebut diharapkan terjadinya kesetimbangan antara zat terlarut dan pelarut. Kecepatan untuk mencapai kesetimbangan umumnya tergantung pada suhu, ukuran ukuran partikel, dan gerakan partikel (Parle dan Gurditta, 2011).

2.6.1 Ukuran Partikel

Ukuran partikel dapat mempengaruhi laju ekstraksi dalam beberapa cara. Semakin besar area permukaan antara padat dan cair maka semakin tinggi tingkat transfer material dan semakin kecil jarak terlarut yang berdifusi ke padatan. Namun, permukaan mungkin tidak begitu efektif digunakan jika sirkulasi cairan terhambat dan pemisahan partikel cairan berdrainase terhadap residu padatan. Diharapkan kisaran ukuran partikel harus kecil sehingga setiap partikel membutuhkan waktu yang sama untuk ekstraksi (Richardson *et al.*, 2002). Secara umum, penurunan ukuran partikel berbanding lurus dengan kenaikan laju ekstraksi. Perpindahan massa akan meningkat jika diameter partikel lebih kecil (Brunner, 2014).

2.6.2 Suhu

Suhu memiliki pengaruh besar pada proses ekstraksi yang dilakukan dengan suhu tinggi. Tingkat dan hasil ekstraksi yang sangat tinggi berbanding lurus dengan suhu. Hal ini karena dengan suhu tinggi dapat meningkatkan daya pelarut untuk senyawa polar. Selain itu, dapat meningkatkan proses perpindahan massa dengan suhu dan kenaikan eksponensial dari tekanan uap dari senyawa ekstrak. Dalam waktu kritis dan superkritis, peningkatan laju reaksi dan hasil kurang optimal jika kepadatan tetap tinggi. Jika kepadatan berkurang terlalu

banyak, maka kelarutan akan turun dan mempengaruhi jumlah zat yang diekstraksi.

Temperatur yang lebih tinggi (viskositas pelarut lebih rendah, kelarutan solute lebih besar) pada umumnya menguntungkan unjuk kerja ekstraksi. Namun, temperatur ekstraksi tidak boleh melebihi titik didih pelarut karena akan menyebabkan pelarut menguap. Biasanya temperatur ekstraksi yang paling baik adalah sedikit di bawah titik didih pelarut (Bruinner, 2014). Kelarutan bahan yang diekstraksi akan meningkat dengan suhu untuk memberikan tingkat yang lebih tinggi dari ekstraksi, koefisien difusi meningkat dengan kenaikan suhu yang dapat meningkatkan laju ekstraksi (Richardson, 2002).

2.6.3 Pelarut

Pelarut berperan untuk mengekstrak zat terlarut dari satu fase cair yang lain, hal ini dapat dilakukan untuk memisahkan dua zat terlarut yang berbeda untuk memurnikan fasa cairan dari kontaminasi. Sebuah sistem ekstraksi, pelarut mengandung dua fasa cair yang bercampur yaitu satu fase rafinat dan satu cair organik, pengencer dan satu atau lebih zat terlarut. Selain itu, sistem ekstraksi di sebagian besar satu atau lebih ekstraktan ditambahkan ke pengencer untuk meningkatkan ekstraksi dan pemisahan (Elin *et al.*, 2010).

Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pelarut adalah selektivitas, kemampuan mengekstrak, toksisitas, kemudahan untuk diuapkan, dan harga pelarut. Sejumlah pelarut yang digunakan dalam ekstraksi adalah faktor lain yang dipertimbangkan. Pemilihan pelarut pengekstrak harus berdasarkan sifat alami dari sampel. Selain itu juga harus mempertimbangkan efisiensi ekstraksi dan matriks yang tak larut serta aspek-aspek lain. Pelarut harus lebih banyak daripada jumlah sampel, volume pelarut yang rendah terkadang berguna untuk menghasilkan konsentrasi yang lebih tinggi dalam penganalisaan (Serban *et al.*, 2015).

2.7 Sifat Fungsional Protein

Sifat fungsional protein diartikan sebagai sifat selain nutrisi yang dapat berpengaruh terhadap karakteristik yang diinginkan pada bahan pangan (Sugianto dan Manulung, 2001; Cheftel *et al.*, 1985). Sifat fungsional protein merupakan sifat dasar protein dalam bahan pangan yang dapat mempengaruhi karakteristiknya selama proses preparasi, pengolahan, penyimpanan, dan penyajian serta berperan terhadap kualitas dan sifat sensori pada produk pangan (Zayas, 1997; Rhee, 1994).

Sifat fungsional protein dapat dipengaruhi kandungan dan sifat fisiko kimia dari komponen protein (Rhee, 1995). Dalam pengolahan bahan bahan pangan, protein memiliki peranan yang penting dalam mengikat air, membentuk buih, emulsifikasi, pembentuk gel, berikatan dengan air dan sifat kelarutan dalam air (Doyle, 1980; Kinsella, 1979 dalam Suwarno, 2003). Beberapa penelitian terdahulu pembuatan isolat protein dari berbagai macam bahan polong-polong memiliki sifat fungsional yang berbeda-beda yang dapat dilihat pada Tabel 2.5.

2.7.1 Daya Serap Minyak (*Oil Holding Capacity*)

Daya serap minyak merupakan jumlah minyak yang terperangkap dalam matriks protein pada kondisi tertentu. Kemampuan penyerapan minyak sangat dipengaruhi oleh struktur protein. Struktur yang bersifat lipofilik mempunyai kandungan cabang protein non polar dalam jumlah yang lebih banyak akan berperan terhadap peningkatan daya serap minyak (Lin *et al.*, 1974 dalam Suwarno, 2003). Faktor-faktor yang mempengaruhi penyerapan minyak oleh protein antara lain, sumber protein, kondisi pemrosesan, ukuran partikel, dan suhu.

2.7.2 Daya Ikat Air (*Water Holding Capacity*)

Daya ikat air merupakan jumlah air yang terperangkap dalam matriks protein pada kondisi tertentu (Hutton dan Campbell, 1981 dalam Iskandar, 2003). Penyerapan air oleh protein berakitan dengan adanya gugus asam amino polar rantai samping yang terdapat dalam molekul seperti karbonil, hidroksil, amino, karboksil, dan sulfidril yang dapat menyebabkan protein bersifat hidrofilik bagi

molekul protein sehingga dapat menyerap atau mengikat air (Suwarno, 2003). Kemampuan protein dalam mengikat air dipengaruhi oleh perbedaan jumlah dan gugus polar (Hutton dan Campbell, 1981 dalam Iskandar, 2003).

Jumlah air yang dapat diikat tergantung pada komposisi asam amino, hidrofobisitas permukaan, dan proses pengolahan. Jumlah air yang diikat akan meningkat selaras dengan peningkatan kepolarannya. Menurut Zayas (1997), daya serap air sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain, konsentrasi protein, kekuatan ion, suhu dan komponen lainnya seperti polisakarida hidrofobik, lemak, garam. Selain itu, juga dipengaruhi oleh lamanya pemanasan dan kondisi penyimpanan.

2.7.3 Daya Emulsi dan Stabilitas Emulsi

Protein mampu membentuk emulsi dan mempertahankan stabilitas emulsi. Sifat ini dapat dipengaruhi oleh kadar protein dan tingkat kelarutannya yang sangat erat hubungannya dengan *Bitrogen Solubility Index (NSI)* (Koswara, 1995). Salah satu cairan akan berfungsi sebagai cairan fase kontinyu atau fase pendispersi dan cairan yang lain berfungsi sebagai fase diskontinyu atau fase terdispersi atau disebut juga dengan globula.

Daya emulsi dan stabilitas emulsi merupakan ukuran sifat protein sebagai pengemulsi dalam sistem emulsi produk pangan (McWatters and Cherry, 1981 dalam Suwarno, 2003). Protein yang terabsorbsi dapat menurunkan tegangan permukaan atau interfasial yang mendukung pembentukan emulsi. Protein globular yang mempunyai hidrofobisitas permukaan tinggi seperti, lisosom, ovalbumin, dan protein whey akan meningkatkan kapasitas emulsinya jika diberi perlakuan panas sedang dan sebagian strukturnya membuka (Zayas, 1997). Besarnya kapasitas emulsi berhubungan dengan jumlah asam amino yang bersifat hidrofobik. Menurut Zayas (1997), kemampuan protein dalam membentuk emulsi ditentukan oleh perbandingan jumlah asam amino hidrofilik-lipofilik yang seimbang. Hidrofilik-lipofilik protein mampu terabsorpsi pada interfasial minyak air dengan mekanisme lipofilik akan berikatan pada sisi minyak sedangkan hidrofilik akan berikatan dengan fase air.

Protein memiliki aktivitas menyerupai surfaktan (*Surface active agent*) yaitu kapasitas untuk menurunkan tegangan permukaan antara komponen hidrofobik dan hidrofilik sehingga protein mampu menstabilkan emulsi (Macritche, 1978 dalam Putri 2010). Menurut Philips and Finely (1989) dalam Suwarno (2003) protein memiliki kemampuan membentuk lapisan penyerap yang menyelubungi droplet minyak sehingga dapat menahan minyak dan membentuk emulsi minyak dalam air (*oil in water*) yang stabil. Sifat emulsifikasi protein dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain, laju absorb minyak-air, jumlah protein terabsorbsi dan kemampuan untuk membentuk film yang kental, kohesif dan kontinyu melalui interaksi ikatan kovalen dan non kovalen (Widowati *et al.*, 1998). Stabilitas emulsi protein dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu tegangan permukaan diantara dua fase, karakteristik film penyerap diantara dua fase, besarnya muatan pada globula, perbandingan berat dengan volume fase terdispersi dan pendispersi, dan viskositas fase pendispersi (Morr, 1981 dalam Suwarno 2003). Kapasitas dan stabilitas emulsi akan meningkat selaras dengan meningkatnya kelarutan protein (Zayas, 1997).

2.7.4 Kelarutan Protein

Klarutan protein merupakan sifat fungsional pertama yang biasanya diuji pada pengembangan protein sebagai ingredien yang baru. Kelarutan protein ini berhubungan dengan sifat fungsional protein yang lainnya, terutama pada sifat buih, gel dan emulsi. Menurut Zayas (1997) klarutan protein dipengaruhi oleh komposisi asam amino, berat molekul, konformasi protein, dan keseimbangan antara gugus polar dan non polar pada asam amino. Selain itu, terdapat beberapa faktor lingkungan yang mempengaruhi, yaitu kekuatan ion, tipe pelarut, pH, suhu dan kondisi pemrosesan.

Tingkat klarutan protein dalam suatu medium cair merupakan hasil interaksi elektrostatis dan hidrofobik antara molekul protein tersebut. Klarutan dapat meningkat jika gaya elektrostatis lebih tinggi daripada interaksi hidrofobik. Pada pH isoelektrik (*pI*) muatan dari protein sama dengan nol. Hal ini menyebabkan interaksi antar protein menjadi maksimum dan menyebabkan

ketidaklarutan protein (Zayas, 1997). Faktor lainnya seperti kondisi pemrosesan, tipe pelarut dan suhu berkaitan dengan struktur protein yang terbentuk. Jika semua faktor tersebut menyebabkan terjadinya denaturasi protein, maka kelarutan dari protein akan menurun.

Tabel 2.5 Sifat fungsional berbagai jenis isolat protein

| Karakteristik | Jenis Isolat Protein | | |
|-------------------|---|------------------------------------|----------------------------------|
| | Isolat Protein Koro Benguk* | Isolat Protein Kecipir** | Isolat Protein Kacang Tunggak*** |
| WHC | NaOH: 189,71% KOH: 179,119% | 2,61 g H ₂ O/g solid | 136,61% |
| OHC | NaOH: 130,181% KOH: 139,114% | 1,60 ml | 84,89% |
| Daya buih | NaOH: 104,89±0,23% KOH: 104,58±0,72% | 89,5% | 68 ml/g |
| Stabilitas buih | NaOH: 16,00 ml KOH: 18,00 ml | - | 8% |
| Daya emulsi | NaOH: 50,587% KOH: 47,923% | 70,5% | 2,41 m ² /g |
| Stabilitas emulsi | NaOH: 49,220% KOH: 47,159% | 6 jam | 78,15 jam |
| Gelasi | 12,5 % | 14% | 4 gf |

Sumber: * Sudrajat *et al.* (2016), ** Budijanto *et al.* (2011), *** Witono *et al.* (2014)

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian, Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember, dan Laboratorium Biosains Politeknik Negeri Jember. Waktu penelitian dimulai pada bulan November 2017 - Februari 2018.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian meliputi alat untuk proses pembuatan ekstrak protein dan alat untuk pengujian ekstrak protein. Alat untuk proses pembuatan ekstrak protein meliputi Loyang, *food processor* merk Philips, ayakan tyler 60 mesh, kain saring, sentrifus merk Sartorius, tabung sentrifus, *glassware* merk Pyrex, oven regulating, neraca analitik Ohaus BSA 2245, spatula, *waterbath*, pH meter merk Hanna, dan *spray dryer* LabPlant. Alat untuk pengujian ekstrak protein meliputi *colour reader* Tritimulus Colorimeter WSD 3-A, eksikator, labu Kjeldahl, botol timbang, cawan porselin, tabung centrifuse, pH meter merk Hanna, *stirrer*, *glassware* merk Pyrex, kuvet, dan spektrofotometer *Prim-Secoman* (Prancis).

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan baku yang digunakan dalam pembuatan ekstrak protein kedelai (*Glycine max*) adalah kedelai varietas anjasmoro dengan nomor galur Mansuria 395-49-4 yang diperoleh dari Balitkabi Malang, Jawa timur. Bahan kimia yang digunakan dalam pembuatan ekstrak protein kedelai anjasmoro meliputi aquades, NaOH 1N, HCl 1N, *hexane* sedangkan bahan kimia yang digunakan untuk analisis meliputi aquades, *hexane*, NaOH 10%, NaOH 0,1N, KOH, H₂SO₄, BSA, Na₂CO₃ 2%, CuSO₄ 1%, SDS 0,1%, buffer fosfat 0,05M, Asam borat 3%, NaK tartarat 2%, Folin ciocalteau, minyak goreng, air, dan kertas saring.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Rancangan Percobaan

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal yaitu variasi perlakuan pra proses bahan yang meliputi perendaman kedelai (A1), penghilangan lemak (A2), penepungan kedelai rendah lemak (A3) dan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

a. Perlakuan Pra Proses Bahan

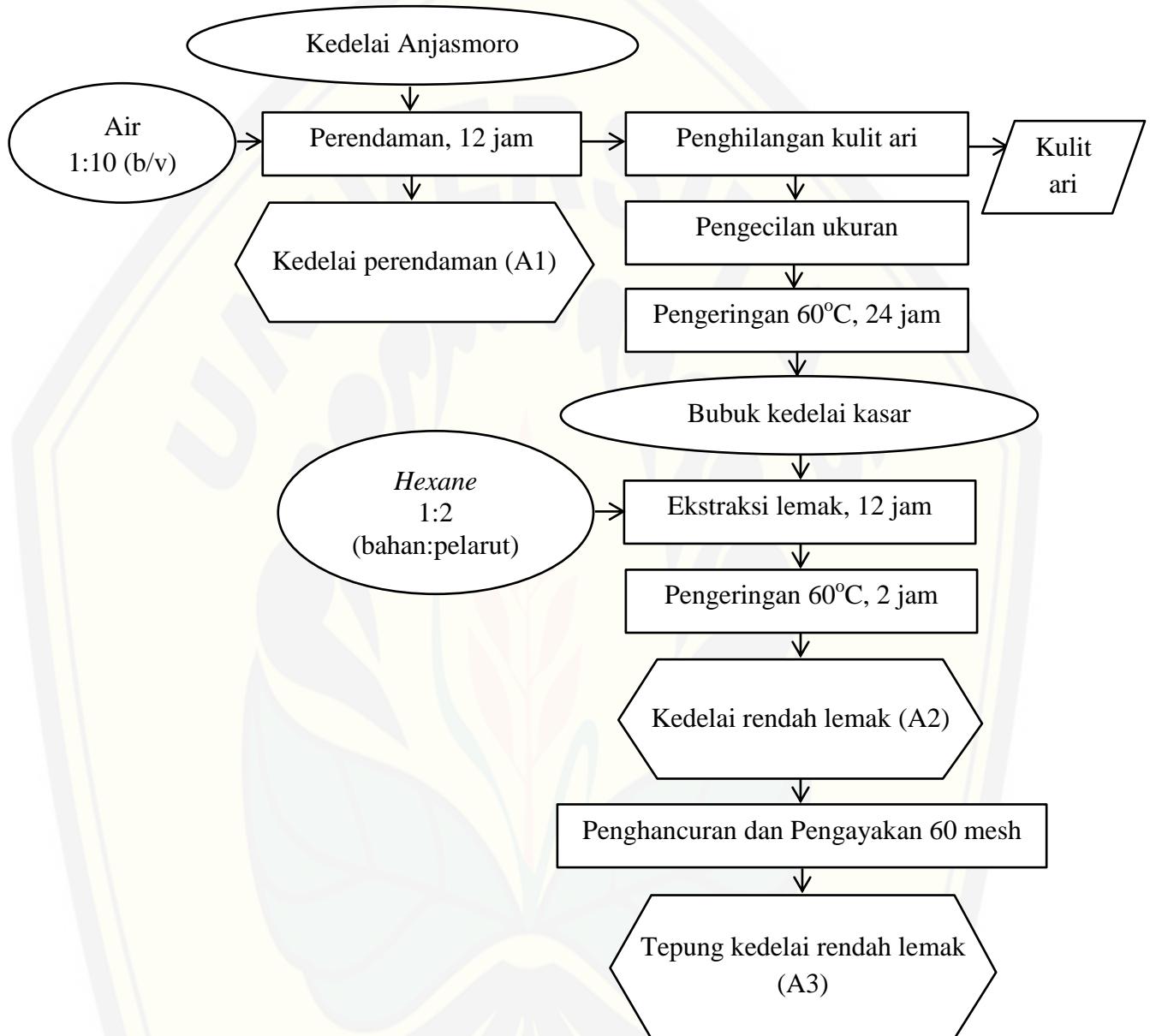
Bahan baku yang digunakan yaitu kedelai lokal varietas anjasmoro yang diperoleh dari Balitkabi Malang. Perlakuan pra proses bahan baku terdiri dari 3 macam yaitu perendaman biji kedelai (A1), penghilangan lemak (A2), penepungan kedelai rendah lemak (A3). Perlakuan perendaman kedelai (A1), kedelai anjasmoro direndam dengan air (1:10 b/v) selama 12 jam sehingga diperoleh kedelai hasil perendaman (A1). Perlakuan penghilangan lemak pada biji kedelai (A2) hanya menurunkan kandungan lemak biji kedelai, yaitu kedelai anjasmoro direndam dengan air selama 12 jam dan dihilangkan kulit arinya dan kemudian dikecilkan ukurannya dengan menggunakan *food processor*. Bubuk kedelai anjasmoro kasar kemudian dikeringkan dengan menggunakan oven selama 24 jam dengan suhu 60°C. Bubuk kedelai kasar yang sudah kering kemudian diekstraksi lemaknya menggunakan *hexane* untuk mengurangi kandungan lemaknya dengan perbandingan 1:2 (bahan:pelarut) selama 12 jam. Penggunaan pelarut *hexane* bertujuan untuk mengekstrak kandungan lemak dalam biji kedelai. Selanjutnya dilakukan pengeringan dengan suhu 60°C selama 2 jam sehingga diperoleh kedelai anjasmoro rendah lemak (A2). Perlakuan penepungan kedelai rendah lemak (A3), yaitu dibuat dengan cara menggiling kedelai anjasmoro rendah lemak dengan menggunakan *food processor* dan dilakukan pengayakan dengan menggunakan ayakan Tyler 60 mesh sehingga diperoleh tepung kedelai anjasmoro rendah lemak (A3) dengan ukuran 60 mesh (seri ayakan Tyler).

Diagram alir preparasi bahan baku dapat dilihat pada Gambar 3.1.

b. Pembuatan Ekstrak Protein Kedelai Anjasmoro

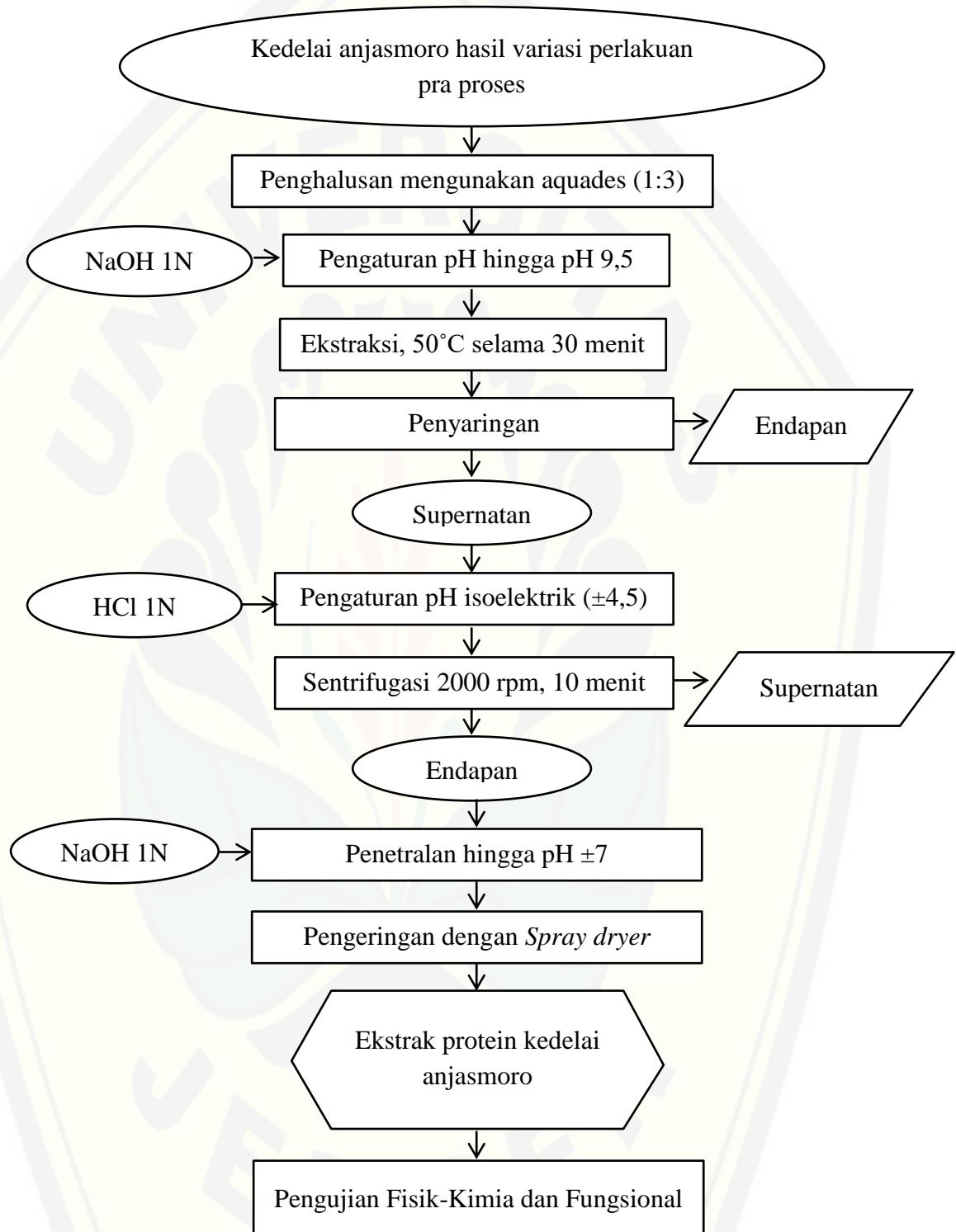
Langkah awal pembuatan ekstrak protein kedelai anjasmoro adalah dengan menghaluskan kedelai hasil variasi perlakuan pra proses yang meliputi kedelai perendaman (A1), kedelai rendah lemak (A2), dan tepung kedelai rendah lemak (A3). Penghalusan dilakukan dengan menggunakan pelarut aquades dengan perbandingan 1:3 dalam satuan berat dibanding volume. Selanjutnya diperoleh bubur kedelai kemudian dilakukan penambahan NaOH 1N hingga pH 9,5 yang bertujuan untuk mengoptimalkan proses ekstraksi protein dari bubur kedelai. Selanjutnya larutan dilakukan pemanasan pada suhu 50°C selama 30 menit dengan menggunakan waterbath. Pemanasan ini bertujuan untuk mengoptimalkan pelarutan protein karena struktur sel kedelai akan melunak yang dapat mengakibatkan air lebih mudah masuk ke dalam struktur sel. Setelah proses pemanasan kemudian dilakukan penyaringan untuk memisahkan antara endapan dan supernatan. Supernatan yang diperoleh kemudian diproses lebih lanjut yaitu dikondisikan pada titik isoelektrinya dengan menggunakan HCl 1N hingga pH 4,5. Pengaturan pH mencapai titik isoelektrik (4,5) ini bertujuan untuk mengendapkan protein kedelai anjasmoro. Selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan antara endapan dan supernatan. Endapan yang diperoleh kemudian dinetralkan dengan larutan NaOH 1N sehingga diperoleh pH netral (± 7). Penetralan dengan menggunakan larutan NaOH bertujuan untuk menghilangkan komponen nutrisi selain protein seperti gula, mineral, pigmen, dan lainnya. Endapan protein basah kemudian dikeringkan dengan menggunakan *spray dryer* (Hutching, 1999). Diagram alir pembuatan ekstrak protein kedelai anjasmoro dapat dilihat pada Gambar 3.2.

a. Perlakuan Pra Proses Bahan



Gambar 3.1 Diagram alir perlakuan pra proses bahan (Qoyyum *et al* , 2012).

b. Pembuatan Ekstrak Protein Kedelai Anjasmoro



Gambar 3.2 Diagram alir pembuatan ekstrak protein kedelai anjasmoro (Hutching, 1999).

3.4 Parameter Pengamatan

Pada penelitian ini dilakukan pengujian fisiko-kimia dan fungsional. Adapun parameter pengamatan dalam penelitian adalah sebagai berikut:

- a. Uji Karakteristik Fisik
 - 1) Rendemen (Amin, 2007)
 - 2) Warna (Kecerahan) (Fardiaz, 1992)
 - 3) Sudut Curah (Hartoyo dan Sunandar, 2006)
 - 4) Densitas Kamba (Budijanto *et al.*, 2011)
 - b. Uji Karakteristik Kimia
 - 1) Pengukuran pH (AOAC, 2005)
 - 2) Kadar Air dengan Metode Thermogravimetri (AOAC, 2005)
 - 3) Kadar Abu (AOAC, 2005)
 - 4) Kadar Lemak dengan Menggunakan Metode Soxhlet (AOAC, 2005)
 - 5) Kadar Protein dengan Metode Kjeldahl (Sudarmadji *et al.*, 1997)
 - 6) Kadar Karbohidrat (AOAC, 2005)
 - c. Uji Sifat Fungsional
 - 1) Kelarutan protein (Subagio *et al.*, 2002)
 - 2) Pengukuran WHC (*Water Holding Capacity*) (AOAC, 2005)
 - 3) Pengukuran OHC (*Oil Holding Capacity*) (Mwangwela *et al.*, 2007)
 - 4) Daya emulsi dan Stabilitas emulsi (Pakington *et al.*, 2000)

3.5 Prosedur Analisis

3.5.1 Pengujian Karakteristik Fisik Ekstrak Protein Kedelai Anjasmoro Hasil Variasi Perlakuan Pra Proses

- a. Rendemen (Amin, 2007)

Rendemen dihitung berdasarkan perbandingan berat dengan rumus, yaitu:

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

Keterangan: R = Rendemen ekstrak protein kedelai anjasmoro (%)
P = Berat ekstrak protein kedelai anjasmoro (g)
B = Berat biji kedelai anjasmoro (g)

b. Warna (Kecerahan) (Fardiaz, 1992)

Pengujian warna (kecerahan) dilakukan dengan menggunakan colour reader pada 5 titik yang berbeda dari sampel ekstrak protein kedelai anjasmoro. Nilai standar kecerahan (L) yaitu 86,5; nilai standar a yaitu 2,1; dan nilai standar b yaitu -3,2. Pengukuran warna hanya didasarkan pada nilai derajat lightness pada tepung ekstrak protein kedelai anjasmoro dengan standar nilai yang tertera pada alat colour reader, yaitu L dengan nilai berkisar antara 0 sampai 100 yang menunjukkan warna hitam sampai putih.

c. Sudut curah (Hartoyo dan Sunandar, 2006)

Pengukuran sudut curah dilakukan dengan prinsip pengukuran sudut puncak sampel yang dijatuhkan dari ketinggian 15 cm melalui corong datar. Sudut curah sampel diperoleh dari arch tan rasio tinggi dengan setengah diameter dasar tumpukan sampel.

d. Densitas kamba (Budijanto *et al.*, 2011)

Pengukuran densitas kamba dilakukan dengan pemasukan sampel ke dalam gelas ukur 10 ml yang telah diketahui beratnya. Gelas ukur yang telah berisi sampel diketuk-ketuk ke meja > 30 kali hingga tidak ada lagi rongga ketika sampel ditepatkan menjadi 10 ml. Gelas ukur yang berisi sampel tersebut kemudian ditimbang. Densitas kamba (g/ml) dapat dihitung dari hasil pembagian berat sampel dengan volumenya (10 ml). Pengukuran densitas kamba dilakukan dua kali ulangan.

3.5.2 Pengujian Karakteristik Kimia Ekstrak Protein Kedelai Anjasmoro Hasil Variasi Perlakuan Pra Proses

a. Pengukuran pH (AOAC, 2005)

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan alat pH meter. Prosedur pengukuran pH yaitu pH meter yang akan digunakan distandardkan terlebih dahulu dengan menggunakan larutan buffer 4,01 dan pH 9,18 masing-masing pada suhu 25°C. Sebelum dan sesudah pemakaian maka elektroda dibilas

terbih dahulu dengan menggunakan aquades. Sampel ekstrak protein kedelai anjasmoro diukur pH-nya dengan menggunakan elektroda yang telah dikalibrasi.

b. Kadar Air dengan Metode Thermogravimetri (AOAC, 2005)

Pengujian kadar air dengan menggunakan metode thermogravimetri prinsipnya yaitu menguapkan molekul air (H_2O) bebas yang terdapat dalam sampel. Prosedur analisa kadar air dengan metode thermogravimetri yaitu dilakukan dengan mengoven botol timbang terlebih dahulu pada suhu 100-105°C selama 30 menit, kemudian dilakukan pendinginan di dalam desikator dengan tujuan untuk menghilangkan uap air dan dilakukan penimbangan sebagai berat (A), selanjutnya dilakukan penimbangan sampel sebanyak 2 gram dalam botol timbang yang sudah kering sebagai berat (B). Sampel di oven selama 6 jam dengan suhu 100-105°C, kemudian dilakukan pendinginan dalam desikator selama 30 menit dan dilakukan penimbangan sebagai berat (C). Tahapan tersebut dilakukan pengulangan hingga mencapai bobot yang konstan. Kadar air isolate protein kedelai anjasmoro dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{B-C}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan: A = berat botol timbang kosong (g)

B = berat botol timbang + sampel (g)

C = berat botol timbang + sampel setelah dioven (g)

c. Kadar Abu (AOAC, 2005)

Pengujian kadar abu prinsipnya yaitu pembakaran bahan-bahan organik yang dapat diuraikan menjadi air (H_2O) dan karbondioksida (CO_2) namun tidak membakar zat anorganiknya. Prosedur analisis kadar abu dilakukan dengan mengoven cawan porselin terlebih dahulu dengan suhu 100-105°C selama 30 menit kemudian dilakukan pendinginan didalam desikator yang bertujuan untuk menghilangkan uap air lalu dilakukan penimbangan sebagai berat (a). Penimbangan sampel sebanyak 2 gram dalam cawan porselin yang sudah

kering sebagai berat (b). selanjutnya dilakukan pembakaran dan dilanjutkan dengan pengabuan di dalam tanur dengan suhu 550-600°C sampai terjadi pengabuan sempurna. Sampel yang telah dilakukan pengabuan kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang sebagai berat (c). Tahapan pembakaran dalam tanur diulangi sampai diperoleh bobot yang konstan. Kadar abu ekstrak protein kedelai dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut.

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

Keterangan: a = berat cawan porselin kosong yang telah di oven (g)

b = berat cawan porselin kering + sampel awal (g)

c = berat cawan porselin + sampel kering (g)

d. Kadar Lemak dengan Menggunakan Metode Soxhlet (AOAC, 2005)

Prinsip analisis kadar lemak dengan menggunakan metode Soxhlet yaitu mengekstrak lemak yang terdapat dalam sampel dengan menggunakan pelarut non polar. Prosedur analisa kadar lemak dilakukan dengan mengeringkan labu lemak dengan menggunakan oven pada suhu 100-105°C selama 30 menit, kemudian didinginkan dalam desikator yang bertujuan untuk menghilangkan uap air sisa dari proses pengeringan. Kertas saring yang akan digunakan juga dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 60°C selama kurang lebih 1 jam lalu didinginkan dalam eksikator selama 30 menit, kemudian ditimbang sebagai berat (a). Sampel ditimbang sebanyak 2 garam kemudian dibungkus dengan kertas saring kering dan ditimbang sebagai berat (b). Bahan yang telah dibungkus dengan kertas saring dikeringkan dengan menggunakan selama 24 jam dengan suhu 60°C kemudian ditimbang sebagai berat (c). Sampel yang telah dikeringkan kemudian dimasukkan ke dalam timbel yang kemudian dihubungkan dengan ekstraksi soxhlet. Pelarut non polar dituangkan ke dalam labu lemak dengan jumlah secukupnya. Labu lemak dipanaskan dan dilakukan ekstraksi selama 5-6 jam kemudian didinginkan selama 30 menit. Selanjutnya sampel diangkat dan dikeringkan dengan menggunakan oven selama 24 jam dengan suhu 60°C, kemudian

setelah di oven bahan didinginkan dalam eksikator selama 30 menit lalu dilakukan penimbangan sebagai berat (d). Kadar lemak ekstrak protein kedelai dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut.

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

Keterangan: a = berat kertas saring kering (g)

b = berat kertas saring kering + sampel (g)

c = berat kertas saring + sampel setelah dikeringkan dengan oven (g)

d = berat kertas saring + sampel setelah diekstraksi soxhlet (g)

e. Kadar Protein dengan Metode Kjeldahl (Sudarmadji *et al.*, 1997)

Prinsip analisis protein dengan metode kjeldahl yaitu terjadinya oksidasi bahan-bahan berkarbon dan konversi nitrogen menjadi ammonia oleh asam sulfat yang kemudian ammonia akan bereaksi dengan kelebihan asam membentuk ammonium sulfat. Ammonium sulfat yang terbentuk kemudian diuraikan dan dilarutkan dengan NaOH sehingga diperoleh larutan dengan kondisi basa. Ammonia yang diuapkan akan diikat dengan asam borat sehingga nitrogen yang terkandung dalam larutan dapat ditentukan jumlahnya dengan cara titrasi menggunakan larutan baku asam. Prosedur analisis kadar protein dilakukan dengan menimbang sampel sebanyak 0,1 gram kemudian dimasukkan ke dalam labu kjeldahl. Selanjutnya dilakukan penambahan selenium mix sebanyak 2,5-5 gram atau 0,5-1 gram dan H₂SO₄ pekat sebanyak 7 ml. Sampel mula-mula dipanaskan dengan api kecil, kemudian api dibesarkan sampai larutan berwarna jernih kehijauan dengan uap SO₂ hilang. Selanjutnya sampel dipindahkan ke dalam labu destilasi dan ditambahkan NaOH 10% sebanyak 10 ml kemudian dilakukan penyulingan. Destilat yang diperoleh ditampung dalam 20 ml larutan asam borat 3%. Larutan asam borat dititrasi dengan HCl standar dengan menggunakan indicator metal merah. Pembuatan blanko dilakukan dengan cara yang sama namun tanpa menggunakan sampel. Kadar protein ekstrak protein kedelai dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar N (\%)} = \frac{(ml\ HCl - ml\ Blanko) \times 0,02 \times 14,008}{Berat\ sampel \times 1000} \times 100\%$$

$$\text{Kadar Protein (\%)} = \%N \times \text{factor konversi (6,25)}$$

f. Kadar karbohidrat (AOAC, 2005)

Prosedur analisis kadar karbohidrat sampel dihitung secara by difference yaitu dengan mengurangi 100% kandungan gizi sampel dengan kadar air, kadar abu, kadar protein, dan kadar lemak. Nilai kadar karbohidrat ekstrak protein kedelai dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar Karbohidrat (\%)} = 100\% - (\text{Ka.Air} + \text{Ka.Abu} + \text{Ka.Protein} + \text{Ka.Lemak})$$

3.5.2 Pengujian Sifat Fungsional Ekstrak Protein Kedelai Anjasmoro Hasil Variasi Perlakuan Pra Proses

a. Kelarutan protein (Metode Lowry, Subagio *et al.*, 2002)

Prosedur analisis kelarutan protein yaitu terdiri dari dua tahap yaitu pembuatan kurva standart kelarutan dan pengukuran kelarutan protein. Pembuatan kurva standart bertujuan untuk mengetahui persamaan kurva kelarutan protein yang dapat digunakan untuk menghitung kadar kelarutan protein. Pembuatan kurva standar protein dilakukan dengan menggunakan larutan protein standar yaitu BSA (*Bovine Serum Albumin*) dengan konsentrasi 5 mg/ml. Protein standar dengan sebanyak 0 (blanko), 1, 5, 25, 75, 100, 125, 240 μ l masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan pereaksi mix Lowry sebanyak 1 ml dan di vortex selama 1 menit agar larutan homogen. Pereaksi Lowry adalah campuran dari larutan NaOH 0,1 N yang mengandung 2% natrium karbonat, natrium tartarat 2%, dan CuSO₄ 1%. Selanjutnya dilakukan pendiaman selama 10 menit pada suhu kamar, kemudian ditambahkan larutan folin sebanyak 0,1 ml dan dikocok merata dengan cepat. Selanjutnya dilakukan pendiaman selama 60 menit sampai terbentuk warna biru, kemudian setelah 1 jam ditambahkan aquades hingga volumenya 4 ml lalu diukur absorbansinya dengan menggunakan alat spektrofotometer pada panjang gelombang 750 nm. Dari

nilai absorbansi yang diperoleh kemudian dibuat kurva sehingga diperoleh persamaan linear yang dapat digunakan untuk menghitung nilai kelarutan protein sampel.

Kelarutan protein sampel ekstrak protein diuji dengan cara mempersiapkan sampel sebanyak 0,1 gram dilarutkan dalam 5 ml aquades dan diaduk hingga homogen. Larutan sampel kemudian dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring, residu yang diperoleh kemudian dilarutkan kembali ke dalam 5 ml aquades untuk memaksimalkan proses ekstraksi dan dilakukan penyaringan kembali menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh kemudian ditera hingga 10 ml dengan menggunakan labu takar. Selanjutnya filtrat dicuplik sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Larutan mix Lowry sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan ke dalam cuplikan sampel dan di vortex hingga homogen. Selanjutnya dilakukan pendiaman selama 10 menit pada suhu kamar. Setelah 10 menit kemudian ditambahkan larutan folin sebanyak 0,1 ml dan dikocok merata dengan cepat. Selanjutnya dilakukan pendiaman selama 60 menit sampai terbentuk warna biru dan setelah 60 menit kemudian ditambahkan aquades sampai volume 4 ml. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 750 nm. Nilai kelarutan protein dihitung dengan menggunakan persamaan linear kurva standar.

b. Pengukuran WHC (*Water Holding Capacity*) (AOAC, 2005)

Prosedur analisis pengukuran *Water Holding Capacity* (WHC) yaitu dilakukan penimbangan tabung sentrifuse kosong ukuran 50 ml sebagai berat (a). Aquades sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam tabung sentrifuse kemudian ditambahkan sampel sebanyak 0,5 gram dan ditimbang sebagai berat (b). Sampel divortex selama 3 menit, selanjutnya disentrifuse selama 20 menit dengan kecepatan 2000 rpm. Supernatan yang diperoleh dibuang dan residunya ditimbang sebagai berat (c). Nilai WHC dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

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

Keterangan: a = berat tabung sentrifuse kosong (g)

b = berat sampel kering (g)

c = berat air yang terakumulasi dalam sampel (g)

c. Pengukuran OHC (*Oil Holding Capacity*) (Mwangwela *et al.*, 2007)

Prosedur analisis pengukuran *Oil Holding Capacity (OHC)* yaitu dilakukan penimbangan tabung sentrifus yang kosong ukuran 50 ml dan kering ditimbang sebagai berat (a) gram. Minyak goreng sebanyak 10 ml dimasukan kedalam tabung sentrifus, lalu ditambahkan sampel sebanyak 0,5 g kemudian ditimbang sebagai berat (b) gram. Sampel divortex selama 3 menit. Sampel tersebut kemudian disentrifus dengan kecepatan 2000 rpm selama 20 menit. Supernatan dibuang dan residunya ditimbang sebagai berat (c) gram, selanjutnya dilakukan perhitungan OHC dengan rumus:

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

Keterangan: a = berat tabung kosong (g)

b = berat sampel kering (g)

c = berat air yang terakumulasi dalam sampel (g)

d. Daya emulsi dan Stabilitas emulsi (Parkington *et al.*, 2000)

Prosedur analisis penentuan daya emulsi dan stabilitas emulsi yaitu dilakukan dengan menimbang sampoel sebanyak 0,5 gram, kemudian ditambahkan 100 ml buffer phsophat 0,05M pH 7. Selanjutnya dilakukan pendiaman selama 15 menit, kemudian ditambahkan 25 mk minyak goreng dan dihomogenkan selama 3 menit. Untuk pengukuran daya emulsi, setelah dihomogenkan langsung diambil 1 ml. sedangkan untuk pengukuran stabilitas emulsi dilakukan pengambilan 1 ml setelah pendiaman 15, 30, 45, dan 60 menit. Masing-masing ditambahkan 5 ml SDS 0,1% dan divortex. Kemudian dibaca

absorbansnya pada panjang gelombang 500 nm. Selanjutnya dilakukan perhitungan daya emulsi dan stabilitas emulsi dengan rumus:

$$EAI = \frac{2 \times 2,303}{c \times (1-\phi) \times 10000} \times abs \times dilution$$

| | | |
|-------------|----------|--|
| Keterangan: | EAI | = Emulsifying Activity Index (m^2/g) |
| | C | = Konsentrasi protein (g/ml) |
| | Φ | = Fraksi volume minyak (ml/ml) dari emulsi |
| | Abs | = Absorbansi |
| | Dilution | = fraksi larutan (SDS+emulsi) |

Rumus stabilitas emulsi:

$$ESI = \frac{T \times \Delta t}{\Delta T}$$

| | | |
|-------------|------------|---|
| Keterangan: | ESI | = Emulsifying Stability Index (Jam) |
| | T | = Turbiditas pada waktu 0 jam |
| | Δt | = Selisih waktu yang akan dihitung |
| | ΔT | = Selisih turbiditas pada waktu 0 jam dengan turbiditas pada waktu yang akan dihitung |

3.6 Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif dari rata-rata ulangan setiap parameter pengamatan. Hasil yang diperoleh kemudian ditampilkan dalam bentuk tabulasi dan histogram kemudian diinterpretasikan sesuai dengan parameter yang diamati untuk melihat kecenderungan atau *trend* setiap parameter.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini yaitu:

1. Proses penepungan dan pengupasan kulit ari pada perlakuan pra proses bahan dapat menyebabkan terjadi perbedaan nilai warna ekstrak protein, nilai warna yang tertinggi yaitu terdapat pada ekstrak protein yang diberi perlakuan penghilangan lemak (A2) dengan nilai sebesar 83,92,
2. Proses penepungan dapat meningkatkan nilai rendemen dan kadar protein ekstrak protein kedelai anjasmoro karena ukuran partikel yang seragam dapat mempermudah proses ekstraksi protein,
3. Proses pemanasan pada perlakuan pra proses dapat menurunkan sifat fungsional ekstrak protein, nilai rata-rata sifat fungsional ekstrak protein yang tertinggi terdapat pada perlakuan perendaman (A1) sedangkan pada perlakuan penghilangan lemak (A2) dan penepungan kedelai rendah lemak (A3) memiliki nilai rata-rata sifat fungsional yang rendah akibat adanya proses pemanasan yang menyebabkan terjadinya denaturasi protein.

5.2 Saran

Hasil penelitian ekstrak protein kedelai anjasmoro memiliki kandungan protein yang rendah dengan kisaran sebesar 50% dimungkinkan karena pH ekstraksi dan pH isoelektrik yang digunakan kurang tepat. Setiap bahan yang berbeda memiliki titik isoelektrik yang berbeda pula karena setiap bahan memiliki komponen penyusun yang berbeda-beda sehingga diperlukan penentuan titik isoelektrik pada kedelai varietas anjasmoro.

DAFTAR PUSTAKA

- AAK. 1989. *Kedelai*. Yogyakarta: Kanisius. 83 hlm.
- Adebawale, K. O., Lawal, O. S., 2004. Comparative Study of the Functional Properties of Bambara Groundnut (*Voandzeia subterranean*), Jack Bean (*Canavalia ensiformis*), and Mucuna Beans (*Mucuna pruriens*) flours. *Food Res Int* 37: 355-364. DOI: 10.1016/j.foodres.2004.01.009.
- Adisarwanto, T. 2005. *Budidaya Kedelai dengan Pemupukan yang Efektif dan Pengoptimalan Peran Bintil Akar*. Jakarta: Swadaya. 107 hlm.
- Ambarsari, I, Sarjana, dan A. Choliq., 2009. Rekomendasi Dalam Penetapan Standar Mutu Tepung Ubi Jalar. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian, Jawa Tengah.
- Amin, A. M. 2007. Extraction, Purification and Characterization of Durian (*Durio zibethinus*) seed gum. *J. Food Hydrocolloids*. 21: 273-279.
- Anita, S. 2009. Studi Sifat Fisiko-Kimia, Sifat Fungsional Karbohidrat, Dan Aktivitas Antioksidan Tepung Kecambah Kacang Komak (Lablab Purpureus (L.) Sweet). *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Antarlina, S.S., J.S. Utomo, E. Ginting, and S. Nikkuni. 2002. Evaluation of Indonesian soybean varieties for food processing. p. 58–68. In A.A. Rahmianna and S. Nikkuni (Eds.). Soybean Production and Postharvest Technology for Innovation in Indonesia. Proceedings of RILET- JIRCAS Workshop on Soybean Research. Malang, 28 September 2000.
- Anwar, E., Henry dan M. Jufri. 2004. Studi Kemampuan Niosom yang Menggunakan Maltodekstrin Pati Garut (*Maranta arundinaceae Linn.*) sebagai Pembawa Klorfeniramin Maleat. *Jurnal Makara, Sains*. VIII(2): 59-64.
- Ariningsih, E. 2002. Perilaku Konsumsi Pangan Sumber Protein Hewani dan Nabati Sebelum dan Pada Masa Krisis Ekonomi di Jawa. *Tesis Magister Sains*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Association of Official Analytical Chemist. 2005. *Official Method of Analysis of the Association of Analytical Chemist*. Washington, D.C: Association of Official Chemist.
- Badan Pusat Statistik (BPS). 2013. *Produksi Padi, Jagung dan Kedelai RAM I 2013*. Berita Resmi Statistik No. 45/07/ Th. XVI. Jakarta: BPS-Indonesia.

- Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian [Balitkabi]. 2008. *Deskripsi Varietas Unggul Kacang-kacangan dan Umbi-Umbian*. Malang: Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian.
- Brunner, G. 2014. *Hydrothermal and Supercritical Water Process*. McGraw-Hill Book Company, 323-360. New York.
- Budijanto, S., Sitanggang, A. S., Murdiati, W. 2011. Karakterisasi Sifat Fisiko-Kimia dan Fungsional Isolat Protein Biji Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus L.*). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Vol. XXI No. 2.
- Cahyadi, W. 2007. *Kedelai : Khasiat dan Teknologi*. Jakarta : Bumi Aksara
- Chang, R. 2004. *Kimia Dasar: Konsep-konsep Inti*. Ed. ke-3. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Cheftel, J. C., Cuq, J. L., Lorient, D. 1985. *Amino Acid, Peptide and Protein*. Dalam Fennema OR, (Eds). *Food Chemistry*. Third Edition. New York: Marcell Dekker Inc.
- Cherry, J. P., Mc Watters K. H. 1981. *Whipping Ability and Aeration*. Dalam Chery JP. (Eds). 1981. *Protein Functionality In Foods*. Washington DC: America Chemical Society.
- Collins WW, Walter WM. 1982. Potential for increasing nutritional value of sweet potato in sweet potato. In: Villareal RL, Griggs TD (eds). *Proceeding of the First International Symposium*. AVRDC, Shanhua, Taiwan.
- Damodaran, S. 1996. *Food Protein and Their Application*. New York: Marcell Dekker Inc.
- Damodaran, S., dan Kinsella, J. E. 1981. Effect of Conglycinin On Thermal Aggregation of Glycinin. *Journal Agriculture Food Chemistry*. Dalam deMan, J. M. 1997. Kimia Makanan. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Direktorat Gizi, Departemen Kesehatan RI. 1992. *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Jakarta: Bharata.
- Direktorat Jenderal Pengolahan dan Pemasaran Hasil Pertanian. 2013. *Statistik Ekspor Impor Komoditas Pertanian*. Indonesia : Kementerian Pertanian RI.
- Doss, et, al. 2011. Effect Of Processing Technique On The Nutritional Composition And Antinutrients Content Of Under Utilized Food Legume Canavalia ensiformis L.DC. *International Food Research Journal* 18(5): 965-970.

- Doyle, H. 1980. *Isolate Soy Protein*. Dalam: R. H Matthews (eds) Legumes, Chemistri Technologi and Human Nutrition. New York: Marcell Dekker, Inc.
- Elin, E.,L., Aneheim, E., Ekberg, C., Foreman, M., Skarnemark, G., 2010. *Diluent Effect isn Solvent Extraction*. Industrial Materials Recycling and Nuclear Chemistry, SE-41296 Gothenburg, Sweden.
- Elizade, B. E., D. Giaccoglia, A. M. R. Pilosof, dan G. B. Bartolomai. 1991. Kinetics of Liquid Drainage from Protein Stabilize Foam. *J. Food Sci.* 56: 24.
- Ertas, N. 2011. The Effects of Aqueous Processing on Some Physical and Nutritional Properties of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *International Journal of Health and Nutrition* 2011 2(1); 21-27.
- Fahma, R., Poedji, L. H., dan Catur, D. L. 2012. Pengaruh Variasi Konsentrasi Katalis KOH pada Pembuatan Matil Ester dari Minyak Biji Ketapang (*Terminalia catappa* Linn). Jurusan Kimia, Universitas Sriwijaya. Sumatera Selatan : *Jurnal Penelitian Sains*. Vol. 15 No. 2 (C).
- Fardiaz. 1992. *Teknis Analisa Sifat Kimia dan Fungsional Komponen Pangan*. Bogor: PAU IPB.
- Gilang, R., Affandi, D.,R., Ishartani, Dwi. 2013. Karakteristik Fisik dan Kimia Tepung Koro Pedang (*Canavalia ensiformis*) Dengan Variasi Perlakuan Pendahuluan. *Jurnal Teknologi Pangan*. Vol.2 No.2.
- Ginting, E. dan Suprapto. 2004. Kualitas kecap yang dihasilkan dari kedelai hitam dan kuning. hlm. 267–276. Dalam S. Hardaningsih, J. Soejitno, A.A. Rahmianna, Marwoto, Heriyanto, I.K. Tastra, E. Ginting, M.M. Adie, dan Trustinah (Ed.). *Teknologi Inovatif Agribisnis Kacang-kacangan dan Umbi-umbian untuk Mendukung Ketahanan Pangan*. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan.
- Gunam, I.B.W, Hardiman, T. Utami, 2004. Chemical Pretreatments on Bagasse to Enhance Hydrolysis of Its Cellulose Enzymatically. *The 3th Hokkaido Indonesian Student Association Scientific meeting (HISAS 3)*. Sapporo.
- Hartoyo,A. dan F. H. Sunandar. 2006. Pemanfaatan Tepung Komposit Ubi Jalar Putih (*Ipomea batatas* L) Kecambah Kedelai (*Glycine max* merr.) dan Kecambah Kacang Hijau (*Virginia radiate* L) sebagai Substitusi Parsial Terigu Dalam Produk Pangan Alternatif Biskuit Kaya Energi Protein. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. XVII(1).

- Honestin, T., 2007. Karakteristik Sifat Fisikokimia Tepung Ubi Jalar (*Ipomoea batatas*). *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Hal: 3-14.
- Huheey, J. E. 1994. *Inorganic Chemistry: Principles of Structure and Reactivity*, Ed.3. New York: Haper.
- Husain, H.. Tien, R. M., Sugiyono, Haryanto, B. 2006. Pengaruh Metode Pembekuan dan Pengeringan terhadap Karakteristik Grits Jagung Instan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, Vol.XVII No.3 Th. 2006.
- Husain, S., Anjum, F., Butt, M., S., Sheikh, M., A. 2008. Chemical Composition and Functional Properties of Flaxseed (*Linum usitatissimum*) Flour. *J Agric* 24 (4): 649-653.
- Hutching JB. 1999. Food Color And Appearance. Second Edition. Aspen Publisher, Inc., Maryland.
- Hutton, C. W., dan Campbell, A. M. 1981. Functional Properties Of Soy Concentrate and Soy Isolates In Simple System and In Food System Emulsion Properties, Thickening Function and Fat Absorption. *Journal Food Science*.
- Ikandar, A. 2003. Mempelajari Pengaruh Penambahan Isolat Protein Kedelai sebagai Bahan Pengikat terhadap Mutu Fisik dan Organoleptik Meat Loaf. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian IPB.
- Kedaualatan Pangan. 2016. *Impor Pangan Januari-Mei 2015-2016*. Jakarta, 22 September 2016.
- Ketaren, 1986. *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Kinsella, J. E. 1979. Functional properties of soy proteins. *Journal of American Oil Chemists Society*, 56, 242–249.
- Koswara, S. 2009. *Teknologi Pengolahan Kedelai: Menjadikan Makanan Bermutu*. Jakarta: Pustaka Sinar Harapan.
- Krisdiana. 2014. Penyebaran Varietas Unggul Kedelai dan Dampaknya terhadap Ekonomi Perdesaan. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*. Vol. 33 No.1.
- Kusnandar F. 2010. *Kimia Pangan Komponen Makro*. Jakarta (ID): Dian Rakyat.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of Structural Proteins During The Assembly of The Head of Bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685.

- Lin, M. Y., Humbert, E. S., dan Soluski, F. W. 1974. Certain Functional Properties of Sunflowers Meal Product. *Journal Food Science*. 39:368-373.
- Lindawati, L. 1992. Mempelajari Cara Pembuatan Minuman Bubuk Jambu Biji (*Psidium guajava*, L.) *Skripsi*. Bogor: Program Sarjana Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Lisa, M., Lutfi, M., Susilo, B. 2015. Pengaruh Suhu dan Lama Pengeringan terhadap Mutu Tepung Jamur Tiram Putih (*Plaerotus ostreatus*). *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem*. Vol.3 No.3.
- Lusas, EW., Riaz, MN. 1995. Soy protein products: processing and use. *J Nutri*; 125(3):573S-580S.
- Martunis. 2012. Pengaruh Suhu dan Lama Pengeringan Terhadap Kuantitas dan Kualitas Pati Kentang Varietas Granola. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*. Vol. (4) No.3.
- Meyer, E. 1989. *Chemistry of Hazardous Materials*. Prentice Hall Building.
- Moayedi dan Betti. 2010. Alkali-aided protein extraction of chicken dark meat: composition and stability to lipid oxidation of the recovered proteins. *Poultry Science Association Inc*. Vol. 89: 766-775.
- Moore, W. J. 1978. *Quimica Fisica, Tomo I*. Bilbo: Urmo, S.A. De Editions.
- 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.
- Najiyati S dan Danarti. 1999. *Palawija Budidaya dan Analisis Usaha Tani*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Nilasari, O. W., Susanto, W. H., Maligan, J. M., 2017. Pengaruh Suhu dan Pemasakan Terhadap Karakteristik Lempok Labu Kuning (Waluh). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol.5 No.3.
- Pangastuti, H. A., Affandi, D. A., dan Ishartani, D. Karakterisasi Sifat Fisik dan Kimia Tepung Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) dengan Beberapa Perlakuan Pendahulua. *Jurnal Teknoscains*. Vol 2 No 1.
- Parkington, Xiong, Blanchard, Srinivasan, dan Froning. 2000. Chemic And Functional Properties Of Oxidatively Modified Beef Heart Surimi Stored at 2°C. *J. Food Chemistry and Toxicology*. 65 (3): 428-433.
- Parle, M., Gurditta. 2011. Basketful Benefits Of Papaya. *International Research Journal Of Pharmacy*, vol 2 (7), pp: 6-12.

- Peleg, M. dan E. B. Bagley. 1983. Physical Properties of Foods. Westport: AVI Publishing Co. *Di dalam*: Ogunwolu, S. O., F. O. Henshaw, H. P. Mock, A. Santros, S. O. Awonorin. 2009. Functional Properties of Protein Concentrates and Isolates Produced From Cashew (*Anarcadium occidentale*, L.) Nut. *J. Food Sci.* 115: 852-858.
- Prabowo B. 2010. Kajian Sifat Fisiko Kimia Tepung Milet Kuning dan Tepung Milet Merah. *Skripsi*. Surakarta (ID): UNS.
- Priyanto, G., Yudhia, dan Hamzah,B. 2011. Perubahan Fisik dan Aktivitas Antioksidan Tepung Rempah Selama Pengeringan. *Prosiding Seminar Nasional Perteta 2011, 21-22 Juli*. ISSN: 976-602-9030-01-3.
- Purnomo, H. 1995. *Aktivitas Air dan Peranannya dalam Pengawet Pangan*. UI-Press. Jakarta.
- Putri, Y.U. 2010. Study Pembuatan Tepung Biji Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus* (L) DC) dengan Metode Penggilingan Basag dan Analisis Sifat Fisiko-Kimia serta Karakteristik Fungsionalnya. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian IPB.
- Rhee. 1995. *Functionalli of Soy Protein*. Dalam: N.S Hettiarachy adan G.R Zielger (eds). *Protein Functional in Food System*. New York: Marcell Dekker Inc.
- Richardson, J., F., Backhurst, J., R., Harker, J., H. 2002. *Particle Technology and Separation Processes*. Volume 2 Fifth Edition, Universitu of Wales Swansea. Butterworth Heinemann; New York.
- Santosa, H. 2004. *Ekstraksi*. Semarang: Fakultas Teknik Kimia Universitas Diponegoro.
- Sarastuti, M. dan Yuwono, S. S. 2015. Pengaruh Pengovenan dan Pemanasan Terhadap Sifat-Sifat Bumbu Rujak Cingur Instan Selama Penyimpanan. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol.3 No.2 p.464-475.
- Schubert, 1987. Food Particle Technology. Part 1: Properties of Particles And Particulate Food System. *J Food Eng* 6:1-32.
- Sediaoetama, A. D. 2004. *Ilmu Gizi Untuk Mahasiswa dan Profesi edisi kelima*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Sembiring, B. B., Ma'mun dan E. I. Ginting. 2008. Pengaruh kehalusan bahan dan lama ekstraksi terhadap mutu ekstrak temulawak. *Buletin Littra* 17 (2): 53-58.
- Soemaatmadja, D. 1978. *Pengolahan Kedelai*. Bogor: Balai Penelitian Kimia.

- Subagio, A., Hartanti, S., Windrati, W., S., Unus, Fauzi, M., Herry, B. 2002. Kajian Sifat Fisikokimia dan Organoleptik Hidrolisat Tempe Hasil Hidrolisis Protease. *J Teknologi Industri Pangan* 8: 204-210.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suradi. 1989. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Sudarmadji, S., Haryono, B dan Suhardi. 1997. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Sudrajat, A. B. N. 2016. Karakterisasi Sifat Fisik dan Sifat Fungsional Isolat Protein Koro Benguk (*Mucuna pruriens*). *Skripsi*. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Sundarsih dan Y. Kurniati. 2009. *Pengaruh Waktu dan Suhu Perendaman Kedelai Pada Tingkat Kesempurnaan Ekstraksi Protein Kedelai Dalam Pembuatan Tahu*. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Suprapto dan Marzuki H. A. R. 1998. *Bertanam Jagung*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Suwarno, M. 2006. Potensi Kacang Komak (*Lablab purpureus* (L.) sweet) Sebagai Bahan Baku Isolat Protein. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian IPB.
- Syarief, R dan A. Irawati, 1988. *Pengetahuan Bahan untuk Industri Pertanian*. Jakarta: Mediyatama Sarana Perkasa.
- Syed, H., M., Kunte, S., P., Jadhav, B., A., Salver, R., V. 2012. Extraction and Charactization Of Papaya Seed Oil. International Of Applied, Physical and Bio-Chemistry Research Vol.2, pp: 33-43.
- Tambun, R., Limbong, H. P., Pinem, C., Manurung, E. 2016. Pengaruh Ukuran Partikel, Waktu dan Suhu pada Ekstraksi Fenol dari Lengkuas Merah. *Jurnal Teknik Kimia USU*. Vol.5 No.4.
- Tanjung, B., I., M., Utami, F., H. 2011. *Pengaruh pH dan Kecepatan Pengadukan pada Ekstraksi Protein dari Tulang Ayam Dengan Solvent Larutan NaOH*. Semarang: Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Undip.
- Thanh, U. H. and Shibasaki, K. 1976. Major protein of Soybean Seeds, A Straight Forward Fractination and Their Characterization. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 24: 1117-1119.
- Trilaksani W., Salamah E., Nabil M. 2006. Pemanfaatan limbah tulang ikan tuna (*Thunnus sp.*) sebagai sumber kalsium dengan metode hidrolisis protein. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*. 9(2): 34-45.

- Vaclavik, V dan Christian, E. W., 2007. *Essentials of Food Science*. Springer. New York.
- Volkert, M. A. dan B. P. Klein. 1979. Protein Dispersibility and Emulsion Characterictics of Flour Soy Protein. *J. Food Sci.* 44:93.
- Wanjekeche, E., J.K. Imungi, dan E.G. Karuri. 2003. *Effect of Soaking on the Cookability and Nutritional Quality of Mucuna Bean*. 12th KARI Scientific Conference Proceedings 2010.
- Whistler R, Daniel JR. 1985. *Carbohydrate*. Di dalam: Fennema OR (eds). Food Chemistry. New York : Marcel Dekker. Inc.
- Widowati, S., Wijaya, S. K. S., dan Yulianti, R. 1998. Fraksi Globulin dan Sifat Fungsional Isolat Protein dari Varietas Kedelai Indonesia. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 17 (1); 52-58.
- Winarno, F. G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Winarno, F.G. 1985. *Kedelai Bahan Pangan Masa Depan*. Dalam Utomo, J. S., *Teknologi Pengolahan Dan Produk-Produk Olahan Kacang Komak*. Prosiding Seminar Pangan 14 September 1999: 107-120. Yogyakarta.
- Witono, Y., Anam, C., Herlina, Pamujiati, A. D. 2014. Chemical and Functional of Protein Isolat from Cowpea (*Vigna unguiculata*). *International Journal on Advanced Science Engineering Information Technology*. Vol.4 No.2.
- Yazid, E. dan Nursanti, L. 2006. Penuntun Praktikum Biokimia. Yogyakarta: Penerbit Andi.
- Zayas, J. F. 1997. *Functional of Protein in Food*. Berlin: Springer.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Perhitungan Karakteristik Fisik Ekstrak Protein Kedelai Varietas Anjasmoro

1.1 Rendemen (%)

| Perlakuan | Ulangan | | | Rata-Rata | Sandar Deviasi |
|-----------|---------|-------|-------|-----------|----------------|
| | 1 | 2 | 3 | | |
| A1 | 21,90 | 22,67 | 22,26 | 22,28 | 0,38 |
| A2 | 19,47 | 20,60 | 20,05 | 20,04 | 0,56 |
| A3 | 22,36 | 23,04 | 22,69 | 22,70 | 0,34 |

1.2 Warna

| Perlakuan | Ulangan | | | Rata-Rata | Standar Deviasi |
|-----------|---------|-------|-------|-----------|-----------------|
| | 1 | 2 | 3 | | |
| A1 | 82,10 | 82,37 | 82,62 | 82,36 | 0,26 |
| A2 | 83,77 | 84,07 | 83,94 | 83,92 | 0,15 |
| A3 | 82,03 | 83,40 | 82,73 | 82,72 | 0,68 |

1.3 Densitas Kamba (g/ml)

| Perlakuan | Ulangan | | | Rata-Rata | Standar Deviasi |
|-----------|---------|------|------|-----------|-----------------|
| | 1 | 2 | 3 | | |
| A1 | 0,46 | 0,48 | 0,49 | 0,47 | 0,02 |
| A2 | 0,52 | 0,50 | 0,51 | 0,51 | 0,01 |
| A3 | 0,50 | 0,49 | 0,48 | 0,49 | 0,01 |

1.4 Sudut Curah (°)

| Perlakuan | Ulangan | | | Rata-Rata | Standar Deviasi |
|-----------|---------|-------|-------|-----------|-----------------|
| | 1 | 2 | 3 | | |
| A1 | 36,60 | 35,74 | 36,18 | 36,17 | 0,43 |
| A2 | 33,32 | 34,51 | 33,92 | 33,92 | 0,60 |
| A3 | 35,63 | 34,53 | 35,09 | 35,08 | 0,55 |

Lampiran 2. Data Hasil Perhitungan Karakteristik Kimia Ekstrak Protein Kedelai Varietas Anjasmoro

2.1 pH

| Perlakuan | Ulangan | | | Rata-Rata | Standar Deviasi |
|-----------|---------|------|------|-----------|-----------------|
| | 1 | 2 | 3 | | |
| A1 | 6,93 | 6,90 | 6,92 | 6,92 | 0,02 |
| A2 | 6,93 | 6,87 | 6,91 | 6,90 | 0,03 |
| A3 | 6,90 | 6,97 | 6,93 | 6,93 | 0,03 |

2.2 Kadar Air (%) (wb)

| Perlakuan | Ulangan | | | Rata-Rata | Standar Deviasi |
|-----------|---------|------|------|-----------|-----------------|
| | 1 | 2 | 3 | | |
| A1 | 6,80 | 7,96 | 7,31 | 7,36 | 0,66 |
| A2 | 6,20 | 6,50 | 6,40 | 6,37 | 0,31 |
| A3 | 6,10 | 7,00 | 6,51 | 6,54 | 0,45 |

2.3 Kadar Abu (%) (wb)

| Perlakuan | Ulangan | | | Rata-Rata | Standar Deviasi |
|-----------|---------|------|------|-----------|-----------------|
| | 1 | 2 | 3 | | |
| A1 | 3,90 | 5,02 | 4,45 | 4,46 | 0,56 |
| A2 | 5,90 | 4,00 | 5,50 | 5,13 | 1,00 |
| A3 | 4,60 | 5,00 | 4,81 | 4,80 | 0,20 |

2.4 Kadar Protein (%) (wb)

| Perlakuan | Ulangan | | | Rata-Rata | Standar Deviasi |
|-----------|---------|-------|-------|-----------|-----------------|
| | 1 | 2 | 3 | | |
| A1 | 52,60 | 54,12 | 53,37 | 53,36 | 0,76 |
| A2 | 50,50 | 52,60 | 51,56 | 51,55 | 1,05 |
| A3 | 56,20 | 55,30 | 55,76 | 55,75 | 0,45 |

2.5 Kadar Lemak (%) (wb)

| Perlakuan | Ulangan | | | Rata-Rata | Standar Deviasi |
|-----------|---------|-------|-------|-----------|-----------------|
| | 1 | 2 | 3 | | |
| A1 | 27,10 | 26,49 | 26,81 | 26,80 | 0,31 |
| A2 | 16,80 | 18,60 | 18,28 | 17,89 | 0,96 |
| A3 | 18,80 | 20,80 | 19,81 | 19,80 | 1,00 |

2.6 Kadar Karbohidrat (%) (wb)

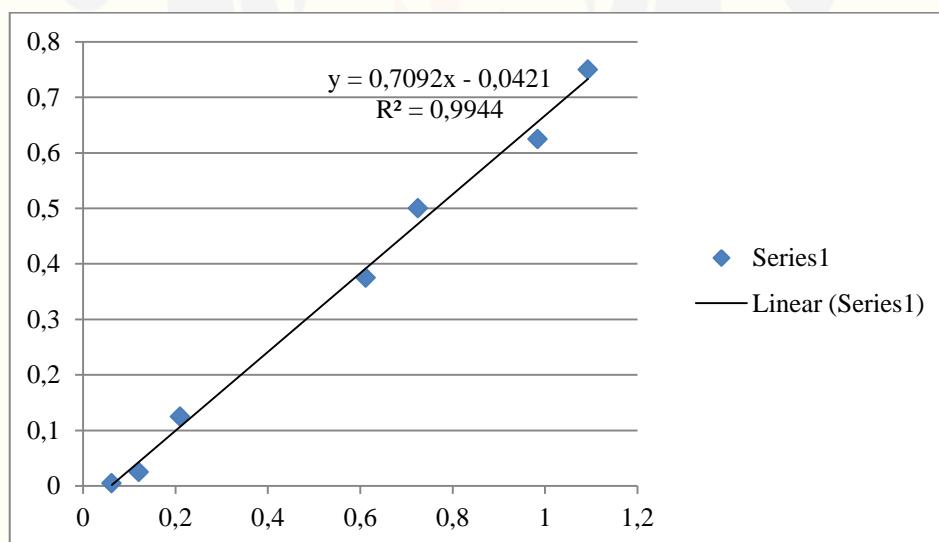
| Perlakuan | Ulangan | | | Rata-Rata | Standar Deviasi |
|-----------|---------|-------|-------|-----------|-----------------|
| | 1 | 2 | 3 | | |
| A1 | 9,60 | 6,41 | 8,06 | 8,02 | 1,60 |
| A2 | 20,60 | 13,90 | 18,26 | 17,59 | 3,40 |
| A3 | 14,30 | 11,90 | 13,11 | 13,10 | 1,20 |

Lampiran 3. Data Hasil Perhitungan Karakteristik Fungsional Ekstrak Protein Kedelai Varietas Anjasmoro

3.1 Kelarutan Protein (%)

3.1.1 Kurva Standar

| BSA 5 mg/ml | Absorbansi | Rata-Rata absorbansi | Jumlah BSA (μg) |
|-------------|------------|----------------------|------------------------------|
| 0 | 0,04 | | |
| 1 | 0,102 | 0,062 | 0,005 |
| 5 | 0,161 | 0,121 | 0,025 |
| 25 | 0,25 | 0,21 | 0,125 |
| 75 | 0,652 | 0,612 | 0,375 |
| 100 | 0,765 | 0,725 | 0,5 |
| 125 | 1,024 | 0,984 | 0,625 |
| 150 | 1,133 | 1,093 | 0,75 |



3.1.2 Kelarutan Protein

| Perlakuan | Ulangan | | | Rata-Rata | Standar Deviasi |
|-----------|---------|------|------|-----------|-----------------|
| | 1 | 2 | 3 | | |
| A1 | 5,19 | 6,12 | 6,10 | 5,80 | 0,53 |
| A2 | 4,45 | 3,81 | 4,40 | 4,22 | 0,36 |
| A3 | 3,39 | 4,33 | 3,79 | 3,83 | 0,47 |

3.2 Water Holding Capacity (%)

| Perlakuan | Ulangan | | | Rata-Rata | Standar Deviasi |
|------------------|----------------|----------|----------|------------------|------------------------|
| | 1 | 2 | 3 | | |
| A1 | 135,78 | 134,63 | 135,19 | 135,20 | 0,58 |
| A2 | 124,89 | 127,67 | 126,27 | 126,28 | 1,39 |
| A3 | 123,32 | 125,27 | 124,29 | 124,29 | 0,98 |

3.3 Oil Holding Capacity (%)

| Perlakuan | Ulangan | | | Rata-Rata | Standar Deviasi |
|------------------|----------------|----------|----------|------------------|------------------------|
| | 1 | 2 | 3 | | |
| A1 | 141,76 | 142,60 | 142,52 | 142,29 | 0,47 |
| A2 | 134,94 | 135,90 | 135,51 | 135,45 | 0,48 |
| A3 | 128,64 | 129,45 | 128,98 | 129,03 | 0,41 |

3.4 Daya Emulsi dan Stabilitas Emulsi

3.4.1 Daya Emulsi (m^2/g)

| Perlakuan | Ulangan | | | Rata-Rata | Standar Deviasi |
|------------------|----------------|----------|----------|------------------|------------------------|
| | 1 | 2 | 3 | | |
| A1 | 28,45 | 28,40 | 28,42 | 28,42 | 0,03 |
| A2 | 25,59 | 27,13 | 26,19 | 26,30 | 0,78 |
| A3 | 22,74 | 21,54 | 22,01 | 22,10 | 0,60 |

3.4.2 Stabilitas Emulsi (Jam)

| Perlakuan | Waktu (menit) | Ulangan | | | Rata- Rata | Standar Deviasi |
|------------------|--------------------------|----------------|----------|----------|-----------------------|----------------------------|
| | | 1 | 2 | 3 | | |
| A1 | 15 | 3,95 | 3,96 | 3,98 | 3,96 | 0,02 |
| | 30 | 3,87 | 3,84 | 3,88 | 3,86 | 0,02 |
| | 45 | 3,78 | 3,73 | 3,74 | 3,75 | 0,02 |
| | 60 | 3,69 | 3,65 | 3,66 | 3,67 | 0,02 |
| A2 | 15 | 2,21 | 2,20 | 2,22 | 2,21 | 0,01 |
| | 30 | 2,08 | 2,07 | 2,06 | 2,07 | 0,01 |
| | 45 | 1,04 | 2,03 | 1,52 | 1,53 | 0,50 |
| | 60 | 1,03 | 2,01 | 1,53 | 1,52 | 0,49 |
| A3 | 15 | 1,57 | 1,70 | 1,65 | 1,64 | 0,07 |
| | 30 | 1,17 | 1,33 | 1,24 | 1,25 | 0,08 |
| | 45 | 0,91 | 0,99 | 0,94 | 0,95 | 0,04 |
| | 60 | 0,58 | 0,58 | 0,61 | 0,59 | 0,02 |

Lampiran 4. Foto Kegiatan Penelitian



Perendaman kedelai



Perendaman *hexane*



Kedelai segar



Kedelai rendah lemak



Tepung kedelai rendah lemak



Proses ekstraksi



Proses pengkondisian pH



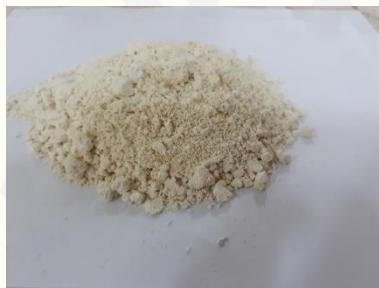
Proses sentrifugasi



Proses penetralan



Hasil ekstrak protein kedelai
anjasmoro dalam kondisi basah



Ekstrak protein kedelai anjasmoro
dalam kondisi kering



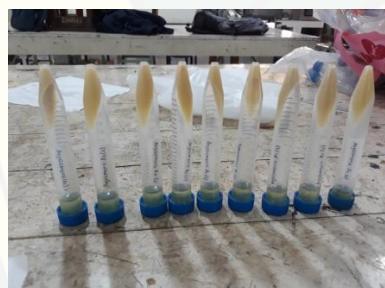
Pengujian densitas kamba



Pengujian sudut curah



Pengujian WHC



Pengujian OHC



Pengujian daya emulsi dan stabilitas
emulsi



Pengujian kelarutan protein