

**KARAKTERISASI SIFAT FISIK, KIMIA DAN
FRAKSINASI PROTEIN DARI KORO KRATOK
(*Phaseolus lunatus* L) VARIETAS MANIK**

**KARYA ILMIAH TERTULIS
(SKRIPSI)**

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk
Menyelesaikan Pendidikan Strata (S-1)
Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember

Oleh:

Ingrit Amiliana
001710101041

Asal :

Hadiah

Klass

Penerimaan

664

tanggal :

08 DEC 2004

AMI

no induk :

Pengkatalog :

fas

k

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



Dosen Pembimbing

Ir. Achmad Subagio, M.Agr, P.hD (DPU)

Ir. Sukatiningsih, MS (DPA I)

Ir. Wiwik Siti Windrati, MP (DPA II)

Diterima Oleh :

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas Teknologi Pertanian

Universitas Jember

Sebagai **Karya Ilmiah Tertulis**

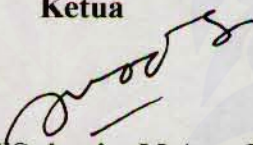
Dipertahankan pada :

Hari : Senin

Tanggal : 26 Juli 2004

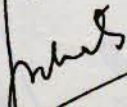
Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember

Tim Penguji
Ketua



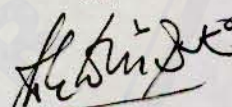
Ir. Achmad Subagio, M.Agr. P.hD
NIP. 131 975 306

Anggota I



Ir. Sukamingsih, MS
NIP. 130 890 066

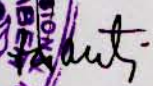
Anggota II



Ir. Wiwik Siti Windrati, MP
NIP. 130 787 732



Mengesahkan
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian



Ir. Hj. Siti Hartanti, MS
NIP. 130 350 763

MOTTO

Dan Dia telah memberikan kepadamu (keperluanmu) dari segala apa yang kamu mohonkan kepada-Nya. Dan jika kamu dapat menghitung nikmat Allah, tidaklah dapat kamu menghitung/menghinggakannya. Sesungguhnya manusia itu sangat zalim dan sangat mengingkari (nikmat)
(QS. Ibrahim 14:34)

Orang yang kuat itu bukanlah bergulat, tetapi orang yang kuat adalah yang dapat menguasai diri saat marah
(HR. Ahmad dan Ibnu Hibban)

*Intan itu biarpun keluar dari mulut anjing akan tetap intan juga,
emas itu walaupun keluar dari mulut babi akan tetap emas juga,
berlian itu walaupun jatuh ke comberan tetap berlian juga*
(Peribahasa)

*Jadikan Al Quran sebagai nyala neon di kala remang melintas jiwamu,
penuntun di kala bimbangmu,
penyejuk di kala kemarau melanda sukdamu.
Karena ia adalah kalam Allah yang menjadi cahaya diatas cahaya*
(Lia's Property)

Alhamdulillah, rupanjatkan kepada-Mu Nabi Robbi atas segala karunia dan kemudahan yang Engkau berikan. Hingga dapat terselesaikannya karya tulis ini dengan baik. Insya Allah.

Karya sederhana kupersembahkan untuk :

Kedua orang tuaku, **IBU SUKARLIN** dan **BAPAK IMAM SUDJIMAT**. Engkau berdua yang telah mengisi setiap inchi nadiku dengan doa dan kasih sayang dan dengan segala kemampuan yang engkau miliki untuk mendapatkan tiga putri sholihah. *Insya Allah.*

The only one my old sister, **Linda Pratiwi, SE** yang selalu memberi nasihat (kadang juga nyebelin) en saran yang bermanfaat untuk masa depanku. Mbak yang selalu sayang dan perhatian kepada semua adik-adikmu (yang sabar ya mbak, punya adik seperti aku).

My lovely young sister, **LUFU TRIKARTIKA DEWI**, predikat ter-paling banyak kamu sandang, paling bontot, paling nyebelin, paling nyenengin en paling yang lain (kamu sekarang sendirian di Jember, cepet lulus en nglanjutin ke S-1).

Mbah Kakung (alm), Mbah putri (almh), Eyang kakung (alm) en Eyang uti. Doa dan semangat belajar yang engkau tanamkan sangat berarti dalam kelancaran studiku.

Keluarga Pakdhe dan Budhe Imam Churmen, BA yang selalu memberikan kasih sayang dan perhatian.

Special Thanks To :

Pre-n-prenku yang bikin aku krasan di Jember diantaranya Fajriyah (temenku yang paling heboh kalo becanda, ngeledak, bertengkar. Belajar cuek sama orang iseng !!!!), Merry (kamu temen paling sabar, temen yang paling sibuk diantara seksi sibuk), Devi (percaya diri kamu sangat tinggi salut deh!!!, kadang2 u nyebelin juga), Iin (kalo kamu lulus siapa ya yang), Nani (ndang digarap penelitianmu)

Pre-nku yang paling setia, qta berteman mulai dari rok biru sampe rok/celana warna-warni **Fera Suciati** (aq ga tau gelarmu)

Temen-temenku tim koro: **ANDREW** (thanks ya skripsi, u ternyata jahil juga), **UTAMIE** (kapan kamu ke Jember lagi?), **SAFITA** (kebersamaan qta yang sebentar, nambah intensitas ketawaku), **NANI** (mahasiswa TP terhebat dengan IPK tertinggi), **IKSAN** "Pa'ne" (kamu kok sering protes namaku, sih)

Temen-temenku di Lab. Dalmut: **Pipit** "Bu'ne" (ahli jurwet atau durwet), **Efie** (aku kepingin ke Malang, kapan ya Fi?), **Ninik** (ayo Nik lulus bareng), **Diyan Yuli** (u kok bisa kalem sekalee), **Heri** "Gondhez" (udah ga' jamannya lagi ngarang data, ini bukan praktikum), **Ibnul** (moga dialisisnya sukses ya), **Elya** "As-Bong" (sukses juga nambah berat badan), **Yani** "Ma Bongki" (fotonya mana Yan?), **Mas Priex** (kapan syukuran mecahin alat lab?), **Mba Fony** (kapan jualan buku lagi, mba?), **Mba Mariani** (qta bareng2 ngambil nilai Kimdas 2), **Ami** (u temenku yang paling sering protes), **Ika** (capek juga sepeda-an ke Bondowoso), **Dono** (tukang rentenir kaset en album kenangan), **Kiki** (hobinya ngerphone) en semua angkatan 2000 yang telah memberikan support dan semangat belajar kepada penulis.

Crew 77B: **Han-tu** (kamu tak tinggal ya, jangan lupa nutup jendela n pintu kalo mau tidur), **Ratna** "kentang" (nobody's perfect), **Novita** "Titong" (jangan cepet putus asa, pasti ada jalan keluar), **Wiwik** (thanks ya wik kamusmu sangat berharga lo?), **Yuni** "iswah" (jangan kuatir 5 tahun lagi terminal Proboinggo udah bagus, perbaikannya nunggu kamu lulus), **Rina** (kamu ga' punya julukan ya), **Anox** (belajar pulang sendiri ya),

Wulan (*kamu ga' pernah nyambung kalo nonton TV, tapi kalo lagu cepet hafal ya ngga' ?*),
Della (*belajar yang rajin ya*), **lis** (*sukses ya SPMB-nya*), **Helna** (*belajar ndengerin pendapat orang lain*), **Cucut** (*namamu ngingetin aku sama ikan cucut*), **Diana** (*kamu di Jember cuma 1 taon, baik2 di Jakarta ya ?*)

Teknisi Laboratorium : **Mba Sari** (*thanks ya mba da ngebantuin nge-mail ke Eropa*), **Mba Ketut** (*kapan lagi rujak partynya mba'*), **Mba Wim** (*thanks tuk keceriaan dan banyolannya*), **Mba Widi**, **Mas Mistar**, **Mas Dian**, **Mas tasor** **en Pak Min**

Ibu Lakiyah yang telah memberiku tempat berteduh selama di Jember

P 3684 EA *en jokinya yang menemani riwa riwi dari kampus, kos, Yudisakti, angkasa de el el. Untuk jokinya jangan kapok ya.....*

"Semen baru" *yang baik n selalu pengertian. Thanks becanda n support juga advise-nya. Kapan ya aq bisa ke Malang lagi ?*

Seseorang yang menemani mengisi separuh perjalanan hidupku dengan kasih sayang dan ibadah kepada Allah

Almamaterku yang selalu kubanggakan

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan karunia-Nya untuk menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi dengan judul **Karakterisasi Sifat Fisik, Kimia dan Fraksinasi Protein dari Koro Kratok (*Phaseolus lunatus* L) Varietas Manik**

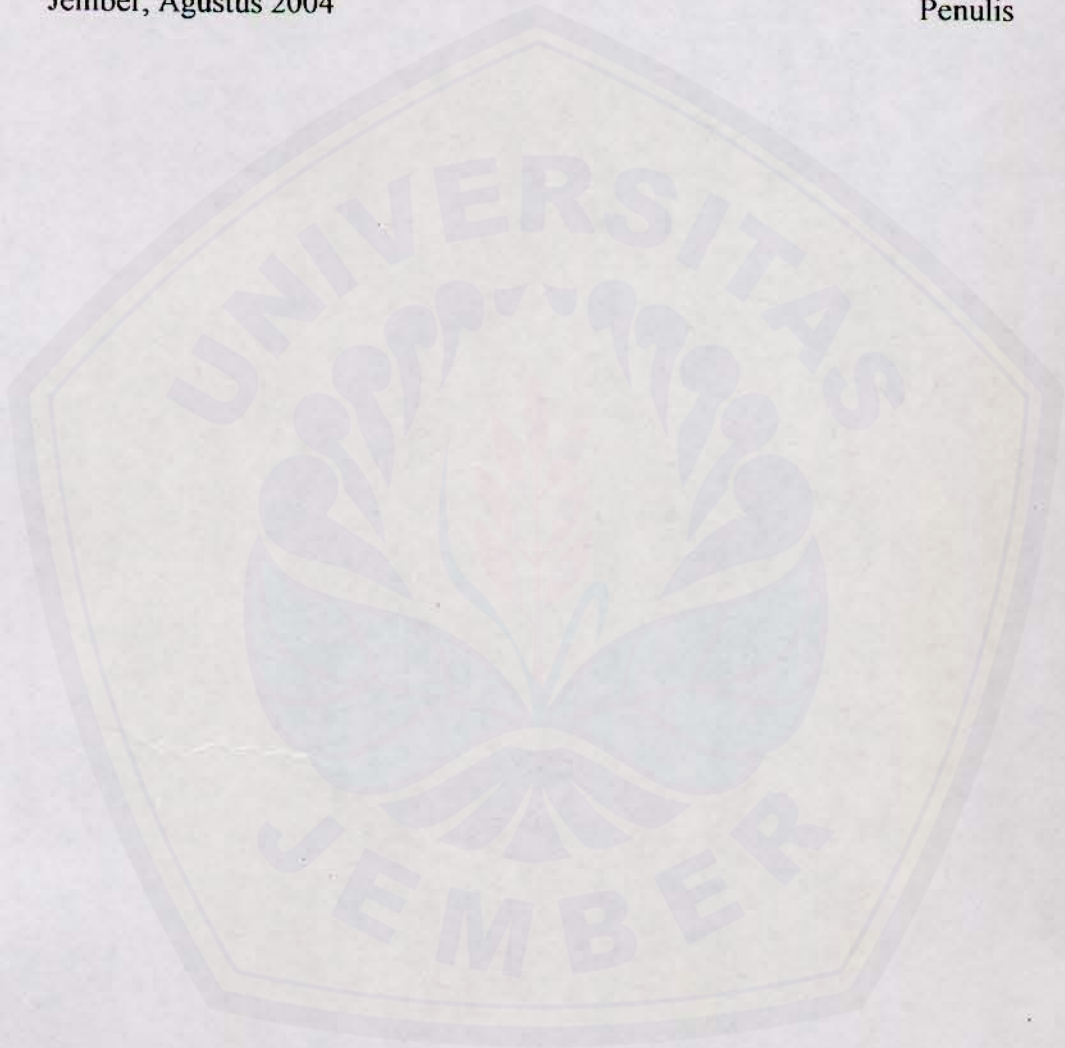
Dengan terselesainya penulisan skripsi ini penulis ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ir. Hj. Siti Hartanti, MS selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember
2. Ir. Susijahadi, MS selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Jember
3. Ir. Achmad Subagio, M.Agr, P.hD selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dosen Pembimbing Akademik yang selalu mengarahkan dan membimbing penulis dalam menyelesaikan studi maupun selama penelitian berlangsung
4. Ir. Sukatiningsih, MS selaku Dosen Pembimbing Anggota I yang telah memberikan pengarahan dan memotivasi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini
5. Ir. Wiwik Siti Windrati, MP selaku Dosen Pembimbing Anggota II yang selalu memberi pengarahan dan keyakinan kepada penulis
6. Teknisi Laboratorium Mba' Sari, Mba' Ketut, Mba' Wim, Mba' Widi, Mas Mistar, Mas Dian, Mas Tasor
7. Teman-temanku yang bikin aku krasan di Jember : Fajriyah, Merry, Devi, Nani, Iin
8. Teman-temanku penelitian koro : Andrew, Safita, Nani, Iksan dan Utami perhatian dan kebersamaan yang kalian berikan meskipun sebentar, Insya Allah akan mempererat tali silaturahmi kita.
9. Teman-teman angkatan 2000 yang menemani penulis menyelesaikan studi di Jember. Keceriaan dan guyonan kalian membuat studi 4 tahun semakin tidak terasa..

Semoga karya sederhana ini dapat bermanfaat bagi adik-adik angkatan 2001 ataupun pembaca yang lain. Penulis meyakini bahwa karya ini tidaklah sempurna tanpa ada saran dan kritik dari pembaca. Bila ada yang tidak berkenan dimohon kepada pembaca untuk memaafkan kesalahan pada karya tulis ini.

Jember, Agustus 2004

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PEMBIMBING	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
ABSTRAKSI	xvi
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar belakang	1
1.2 Rumusan Permasalahan	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Kegunaan Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Koro Kratok Manik	5
2.2 Protein	6
2.2.1 Sifat Fungsional Protein	7
2.2.2 Penggolongan Protein Berdasarkan Daya Larut.....	8
2.2.3 Fraksinasi Globulin 7S dan 11S	9
2.3 Dialisis.....	11
2.4 Elektroforesis	12

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1	Bahan dan Alat Penelitian.....	14
3.1.1	Bahan Penelitian.....	14
3.1.2	Alat Penelitian.....	14
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian.....	14
3.3	Persiapan Bahan.....	14
3.4	Rancangan Percobaan.....	15
3.5	Pengukuran Sifat Fisik.....	15
3.5.1	Sifat Berat, Tebal, Lebar dan Panjang biji.....	15
3.5.2	Luas Penampang Biji.....	15
3.5.3	Volume.....	16
3.5.4	Bagian yang Dapat Dimakan.....	16
3.5.5	Ketebalan Kulit.....	17
3.5.6	Warna.....	17
3.6	Pengukuran Sifat Kimia.....	17
3.6.1	Kadar Karbohidrat.....	17
3.6.2	Kadar Protein.....	18
3.6.3	Kadar Lemak.....	18
3.6.4	Kadar Air.....	19
3.6.5	Kadar Abu.....	19
3.7	Fraksinasi Protein.....	20
3.8	Kadar Protein Terlarut.....	21
3.9	Fraksinasi Globulin 7S dan Globulin 11S.....	21
3.10	Elektroforesis.....	26

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1	Sifat Fisik dan Kimia Koro Kratok.....	28
4.1.1	Sifat Fisik Koro Kratok.....	29
4.1.2	Sifat Kimia Koro Kratok.....	30
4.2	Fraksinasi Protein Berdasarkan Kelarutan.....	30
4.3	Fraksinasi Globulin 7S dan 11S.....	31

4.4 Penentuan Berat Molekul dengan Elektroforesis SDS PAGE 34

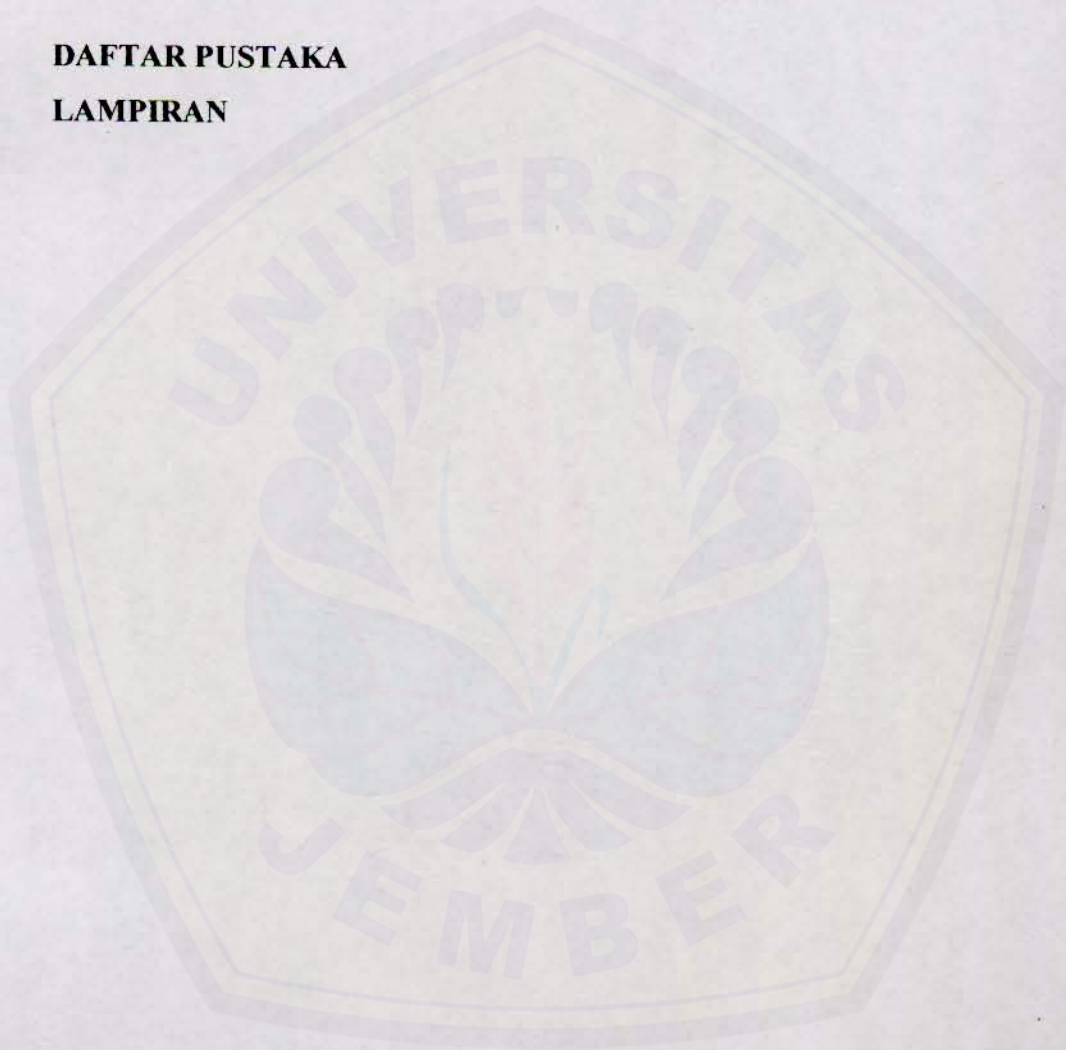
V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan..... 38

5.2 Saran..... 39

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

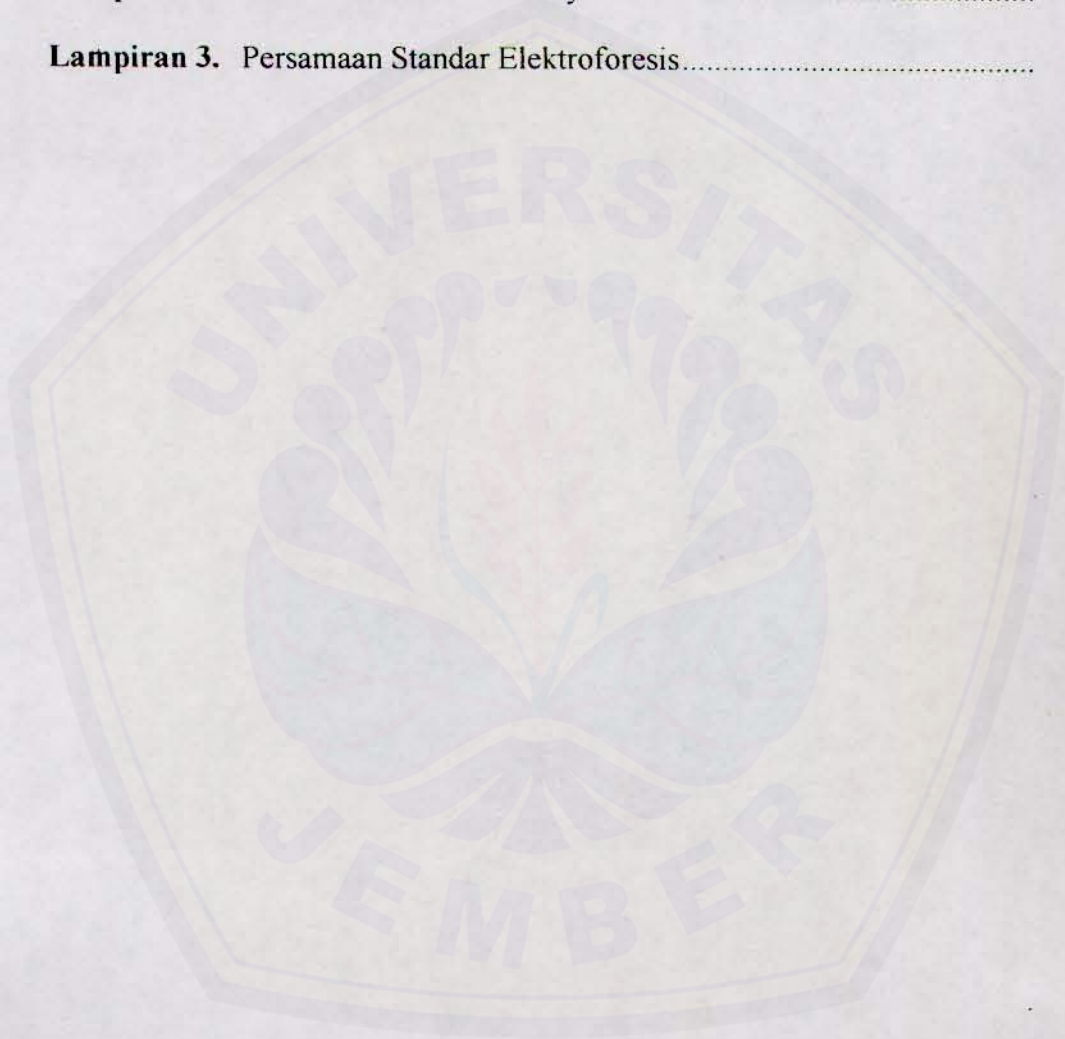


DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Sifat Fisikokimia Globulin 7S dan 11S Protein Kedelai	11
Tabel 2. Banyaknya Acrylamide yang digunakan untuk penentuan berat molekul protein dengan SDS PAGE	12
Tabel 3. Sifat Fisik Koro Kratok Manik	29
Tabel 4. Kandungan Kimia Koro Kratok Manik	30
Tabel 5. Fraksinasi Protein Koro Kratok Manik	31
Tabel 6. Fraksinasi Globulin 7S dan 11S Koro Kratok Manik	32
Tabel 7. Nilai Berat Molekul dan Rf dari Kit Penciri Protein BM Rendah.	35
Tabel 8. Mobilitas Relatif dan Perkiraan Berat Molekulnya	35

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Sifat Koro Kratok Manik.....	43
Lampiran 2. Persamaan Standar Lowry.....	49
Lampiran 3. Persamaan Standar Elektroforesis.....	50



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Fraksinasi Protein Koro Kratok Berdasarkan Kelarutan (Osborne).....	22
Gambar 2. Metode Lowry	23
Gambar 3. Fraksinasi Globulin 7S dan 11S (Tanh dan Shibasaki).....	24
Gambar 4. Koro Kratok Manik	28
Gambar 5. Elektroforesis SDS PAGE (Albumin, Globulin, Globulin 7S dan 11S).....	37

INGRIT AMILIANA NIM 001710101041 Dengan Judul Karya Ilmiah Tertulis **Karakterisasi Sifat Fisik, Kimia dan Fraksinasi Protein dari Koro Kratok (*Phaseolus lunatus* L) Varietas Manik**, dibimbing oleh Ir. Achmad Subagio, M.Agr, P.hD (DPU), Ir. Sukatiningsih, MS (DPA I) dan Ir. Wiwik Siti Windrati (DPA II)

ABSTRAKSI

Indonesia mempunyai beberapa jenis dari koro (*non-oilseed legumes*) diantaranya koro pedang, komak, kratok. Koro kratok (*Phaseolus lunatus* L) dengan kandungan protein sebesar 14,4-26,4 gram mempunyai potensi yang cukup bagus untuk penambahan zat gizi. Di daerah Jember koro kratok mempunyai beberapa varietas diantaranya manik, putih, coklat/merah, loreng dan hitam. Koro kratok manik oleh masyarakat setempat dikenal hanya sebagai sayuran. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui potensi dari koro kratok manik.

Metodologi yang dilakukan diantaranya pengukuran sifat fisik biji kratok manik yang meliputi panjang, lebar, tebal, berat, luas penampang, ketebalan kulit, volume per 10 biji, BDD dan warnanya. Juga perlu diketahui kandungan kimia dari biji meliputi kadar karbohidrat, kadar protein, kadar lemak, kadar air dan kadar abunya. Sedangkan untuk fraksinasi protein berdasarkan kelarutannya menggunakan metode Osborne (albumin, globulin, prolamin dan glutelin) dan berdasarkan sedimentasinya menggunakan metode Tanh dan Shibasaki (globulin 7S dan globulin 11S).

Koro kratok manik dengan bentuk yang bulat memanjang dan agak sintal mempunyai panjang 1,335 cm, lebar 0,731 cm, tebal 0,634 cm, berat 0,457 gram dengan luas penampang 1,430 cm, volume per 10 biji 3,405 ml, ketebalan kulit 0,079 mm dengan BDD 88,231 %. Warna biji cenderung merah dengan nilai Hue 44,764°. Karbohidrat yang terkandung dalam biji koro kratok manik sebesar 65,094 %, protein 17,109 %, kadar lemak 0,487 %, kadar air 14,1294 % dan kadar abunya 3,017 %.

Albumin pada koro kratok manik sebesar 38,98 %, globulin 25,42 %, glutelin 35,60 %, prolamin tidak dapat diidentifikasi karena konsentrasinya yang terlalu kecil. Globulin 7S sebesar 1,276 % dan globulin 11 S sebesar 0,458 %. Rasio dari globulin 7S dan 11S sebesar 2,79, hal ini menunjukkan bahwa globulin 7S lebih mendominasi daripada globulin 11S.

Berat molekul protein albumin mempunyai satu fraksi yang berat molekulnya 4,3693 kD dan merupakan fraksi mayor. Globulin yang terdiri dari delapan fraksi mempunyai berat molekul antara 76,8328 kD hingga 10,0028 kD. Dua diantaranya merupakan fraksi minor pada fraksi nomor 2 dan 3 yang mempunyai berat molekul sebesar 70,5755 kD dan 65,1729 kD. Globulin 7S yang terdiri dari lima fraksi mempunyai kisaran berat molekul antara 98,075 kD hingga 6,64619 kD. Dua diantaranya merupakan fraksi minor yaitu pada fraksi nomor 1 dan 2 dengan berat molekul 98,075 kD dan 65,1729 kD. Globulin 11S terdiri dari tiga fraksi dengan berat molekulnya sebesar 53,8342 kD; 37,1238 kD dan 6,33608 kD.

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pertambahan penduduk yang semakin meningkat dalam tiap tahunnya menjadi suatu permasalahan besar bagi Indonesia terutama pada pemenuhan kebutuhan pangan. Upaya pemenuhan kebutuhan pangan tidak hanya berdasarkan pada kuantitas, tetapi juga perlu diimbangi dengan pemenuhan zat gizinya. Protein masih memegang peranan penting dalam pemenuhan zat gizi pangan. Dari kondisi ini diperlukan usaha penggalan pangan protein yang dapat memenuhi kebutuhan baik dalam segi kualitas maupun kuantitas.

Tanaman koro-koroan merupakan sumber protein nabati yang mempunyai potensi cukup bagus untuk pemenuhan kebutuhan pangan, Namun demikian, tanaman koro-koroan belum diberdayakan secara optimal oleh masyarakat padahal biji koro mengandung protein cukup tinggi yaitu sekitar 18-25 %, lemak 0.2-0.3 %, kandungan karbohidrat sebesar 50-60 % (Maesen dan Somaatmadja, 1993). Kandungan protein yang cukup tinggi dengan rendahnya kandungan lemak mempunyai potensi yang cukup baik bagi pemenuhan kebutuhan protein hewani vegetarian.

Koro kratok (*Phaseolus lunatus* L) mempunyai kandungan protein sebesar 14,4 – 26,4 gram, lemak 1,5 gram (Maesen dan Somaatmadja, 1993) digolongkan dalam tanaman musiman yang memiliki sistem perakaran bercabang dan dapat tumbuh dengan kedalaman yang sedang, akar dapat membentuk bintil yang mengandung *rhizobium* (Rubatzky dan Yamauguchi, 1998). Koro kratok di daerah Jember mempunyai bermacam-macam varietas antara lain manik, putih, coklat/merah, ungu, loreng dan hitam. Koro kratok manik oleh masyarakat setempat biasanya hanya digunakan sebagai sayuran tanpa ada pemanfaatan yang lain.

Koro-koroan merupakan sumber pangan fungsional yang baik dengan komposisi asam amino yang seimbang, ketersediaannya yang cukup besar dengan kandungan anti nutrisi yang rendah (Fiedman, 1996; Newman, et, al, 1987).

Untuk dapat dimanfaatkan dengan baik perlu dilakukan karakterisasi secara fisik, kimia dan fraksinasi protein biji koro kratok manik.

Karakteristik fisik biji kratok manik meliputi panjang, tebal, lebar, berat dan sifat fisik lainnya yang perlu diketahui agar dapat dimanfaatkan dengan baik. Pengkajian terhadap karakteristik kimia meliputi kadar protein, kadar karbohidrat dan kadar lemak. Protein pada biji koro difraksinasi berdasarkan kelarutan dan sifat sedimentasinya. Berdasarkan kelarutannya protein biji koro kratok manik digolongkan dalam 4 (empat) fraksi yaitu albumin, globulin, glutelin dan prolamin yang diklasifikasikan menggunakan metode Osborne (Nielsen, 1985). Sedangkan berdasarkan sifat sedimentasinya digolongkan dalam 4 (empat) fraksi yaitu 2S, 7S, 11S dan 15S dengan metode Tanh dan Shibasaki (1976). Dalam penelitian ini dibatasi pada penggolongan fraksi 7S dan 11S. Pemisahan fraksi 7S dan 11S berdasarkan titik isoelektriknya. Fraksi 7S mempunyai pH isoelektrik 4,8 sedangkan fraksi 11S mempunyai pH isoelektrik pada pH 6,4.

Protein biji koro kratok manik yang telah difraksinasi dapat diketahui sifat fungsional berdasarkan komponen penyusun protein tersebut. Perbedaan struktur dari globulin 7S dan 11S berperan dalam variasi sifat fungsional makanan antara lain kelarutan, *Water Holding Capacity* (WHC), *Oil Holding Capacity* (OHC), daya emulsi, daya buih dan sifat gelasi. Dengan demikian, protein koro-koroan dapat diketahui potensinya apakah sebagai bahan tinambah, emulsifier, *texturizer* dan *stabilizer*.

1.2 Perumusan Masalah

Untuk dapat mengoptimalkan penggunaan koro kratok perlu dilakukan karakterisasi terhadap sifat fisik, kimia, kelarutan (albumin, globulin, prolamin dan glutelin) dan sifat sedimentasinya (globulin 7S dan 11S).

Globulin 7S dan 11S mempunyai sifat fungsional daya emulsi, daya buih, daya gelasi, WHC (*Water Holding Capacity*), OHC (*Oil Holding Capacity*). Sifat fungsional yang dihasilkan oleh globulin 7S dan 11S berbeda tergantung pada penyusun dan struktur dari fraksi tersebut.

Globulin 7S mempunyai struktur kwartener yang tersusun dari enam kombinasi yang berbeda dari tiga sub unit yaitu α mempunyai berat molekul 57000, α' mempunyai berat molekul 56000 dan β mempunyai berat molekul 42000 dan berikatan melalui interaksi hidrofobik (Utsumi dan Kinsella, 1985). Globulin 7S tidak mengandung grup sulfhidril dan kandungan asam amino sulfurnya sangat rendah (Yu dan Damodaran, 1991). Berdasarkan komponen penyusunnya globulin 7S mempunyai sifat fungsional yang tinggi pada daya emulsi dan daya buihnya. Sehingga globulin 7S dapat berperan sebagai *emulsifier* pada pembuatan roti atau *ice cream*.

Globulin 11S mempunyai struktur kwartener yang terdiri dari dua belas unit dan merupakan dimer dari dua heksamer yang identik. Tiga sub unit dalam setiap heksamer tersebut bersifat asam dan lainnya bersifat basa. Setiap pasangan dari sub unit asam dan basa dihubungkan oleh ikatan disulfida (Yu dan Damodaran, 1991). Banyaknya ikatan disulfida pada globulin 11 S mempunyai peranan yang besar terhadap pembuatan tahu dengan daya gelasi yang tinggi sehingga akan menghasilkan tahu dengan kekerasan yang lebih kompak.

Hingga saat ini belum diketahui karakteristik fisik, kimia dan penyusun protein biji kratok varietas manik. Untuk itu perlu dilakukan suatu penelitian agar dapat diketahui karakteristik dari protein biji koro kratok secara lengkap sehingga dapat difungsikan secara optimal berdasarkan komponen protein biji koro kratok manik.

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan :

1. Karakterisasi sifat fisik dan kimia biji koro kratok manik sebagai sumber pangan protein.
2. Fraksinasi protein biji koro kratok manik berdasarkan daya kelarutan
3. Fraksinasi protein biji koro kratok manik berdasarkan sifat sedimentasinya.

1.4 Kegunaan Penelitian

1. Sebagai informasi sifat fisik, kimia dan fraksinasi protein koro kratok manik sehingga dapat digunakan dalam pengembangan teknologi pangan.
2. Meningkatkan nilai ekonomis dan daya guna dari koro kratok manik.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Koro Kratok (*Phaseolus lunatus* L)

Polong-polongan adalah anggota dari suku *Leguminosae* yang memiliki polong atau legume. "Polong-polongan berbiji" biasanya berarti sama dengan "kacang-kacangan", tetapi polong-polongan yang bijinya berminyak (oilseeds) tidak selalu termasuk ke dalamnya. Summerfield dan Roberts (1985) memasukkan kedelai dan kacang tanah ke dalam tanaman polong-polongan berbiji (Maesen dan Somaatmadja, 1993). Menurut Syarief dan Anies (1986) bahwa kacang-kacangan termasuk famili *Leguminosa* atau disebut juga dengan polongan (berbunga kupu-kupu).

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

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

Kultivar-kultivar yang dibudidayakan di Asia umumnya diklasifikasikan ke dalam 4 kelompok :

- a. Kacang Jawa: bijinya berukuran sedang, merah lembayung, mengandung banyak HCN.

- b. Kacang rangon merah atau kacang burma merah: bijinya kecil kemerah-merahan, biasanya sintal dan kadang-kadang berbecak putih. Kandungan HCN-nya hampir tak ada.
- c. Kacang rangon putih atau kacang burma putih: bijinya putih kecil, biasanya sintal dan mirip "haricot" kecil. Kandungan HCN-nya hampir tak ada.
- d. Kacang lima (kratok): bijinya besar putih, sintal. Diberitakan tidak mengandung HCN.

Tanaman kratok mempunyai daun yang majemuk ganda tiga, bunganya berbentuk polong, pipih, berkulit keras. Bijinya berwarna putih, kekuning-kuningan, merah, ungu, atau hitam, polos atau berbercak. Bentuk bijinya bulat pipih sampai agak bulat (Sastrapradja, dkk, 1981).

Koro kratok (*Phaseolus lunatus* L) dianggap sebagai tanaman tahunan atau setahun berumur panjang, tetapi dibudidayakan sebagai tanaman setahun. Baik kultivar bentuk merambat maupun semak sudah biasa ditanam. Kultivar merambat dapat mencapai panjang 3-4 m, sedangkan bentuk semak lebih pendek, sekitar 50-90 cm. Tanaman ini memiliki sistem perakaran sangat bercabang, yang tumbuh dengan kedalaman sedang, sering lebih dari 1 m. Akar dapat membentuk bintil yang mengandung *rhizobium* (Rubatzky dan Yamauguchi, 1998).

Koro kratok manik lebih cocok hidup pada tanah yang gembur dan kering. Masyarakat setempat mengenal koro kratok manik hanya sebagai sayuran saja tanpa ada pemanfaatan atau pengolahan lain yang lebih bermanfaat.

2.2 Protein

Asam amino merupakan penyusun dari protein yang jumlahnya sangat banyak tergantung dari penyusunnya. Asam amino adalah molekul organik dengan berat molekul rendah (rata-rata 100-200) yang mengandung paling sedikit satu gugus karboksil (COOH) dan satu gugus amino (NH₂) dan merupakan penyusun penting jaringan tanaman dan hewan. Disamping gugus karboksil dan amino, asam amino juga memiliki rantai cabang atau sering disebut sebagai gugus R (Suhardi, 1989).

Protein dapat bersifat amfoter, yaitu dapat bereaksi dengan asam dan basa. Protein bersifat amfoter karena asam-asam amino penyusunnya mengandung gugus COOH yang bersifat asam dan NH₂ yang bersifat basa. Protein pada sifat tertentu akan bersifat netral, artinya selisih muatan positif dan muatan negatif dari protein sama. Posisi dimana protein mempunyai muatan yang sama dikenal dengan istilah titik isoelektrik. Protein pada pH isoelektrik, akan mempunyai sifat antara lain kelarutan minimum, viskositas minimum dan juga tekanan osmotiknya (Sackleim dan Schultz, 1977).

Sebagai zat pembangun, protein merupakan bahan pembentuk jaringan baru yang terjadi selama pertumbuhan. Protein juga mengganti jaringan tubuh yang rusak dan yang perlu dirombak. Fungsi utama protein bagi tubuh adalah untuk membentuk jaringan baru dan mempertahankan jaringan yang sudah ada (Winarno, 1997).

2.2.1 Sifat Fungsional Protein

Protein mempunyai sifat fungsional yang berpengaruh dalam berbagai sistem atau produk makanan. Pada koro-koroan, protein albumin dan globulin mempunyai komposisi yang cukup besar. Sifat fungsional dari protein albumin dan globulin mempunyai sifat fungsional yang berbeda (Nielsen, 1985). Sifat fungsional tersebut diantaranya kelarutan, Oil Holding Capacity (OHC), Water Holding Capacity (WHC), emulsifikasi, pembentukan gel, dan daya buih.

Kelarutan protein menunjukkan banyaknya protein dalam sampel yang dapat larut dan dipengaruhi oleh pH (Zayas, 1997). Menurut Anonim (2000) bahwa kelarutan protein dalam berbagai pH dipengaruhi oleh kandungan protein dengan asam amino yang bergugus R bermuatan positif. Kelarutan yang tinggi pada protein akan menghasilkan sifat fungsional yang optimum pada gelasi, daya emulsi, dan daya buih (Zayas, 1997).

Water Holding Capacity (WHC) merupakan kemampuan protein untuk menyerap air dan menahannya dalam sistem pangan. Hal ini disebabkan protein bersifat hidrofilik dan mempunyai celah-celah polar seperti gugus karboksil dan aminonya yang mengion (Koswara, 1995).

Oil Holding Capacity (OHC) merupakan kemampuan protein untuk menyerap lemak dalam sistem pangan (Koswara, 1995). Protein yang tidak larut bersifat hidrofobik mempunyai kapasitas pengikatan minyak yang besar dan berpengaruh terhadap sifat tekstural (Zayas, 1997).

Emulsifikasi merupakan kemampuan protein untuk membentuk emulsi (Koswara, 1995) yang terdiri dari dua fase yaitu air dan lemak dalam sistem hidrofobik (Matthews, 1989). Ada dua hal penting yang perlu diperhatikan pada emulsifikasi yaitu bentuk dan stabilitasnya pada emulsi minyak-air (Zayas, 1997). Stabilitas emulsi penting karena emulsifier tergantung pada kemampuannya untuk memelihara sistem tersebut pada saat mengalami pemasakan atau pemanasan (Sugijanto dan Manulang, 2001).

Gel adalah sistem setengah padat yang mempunyai viskositas tinggi. Jaringan tiga dimensi yang merupakan unit fraksi gel dibentuk melalui ikatan hidrogen, pengelompokan gugus hidrofobik, interaksi ionik, dan ikatan disulfida dari polipeptida yang tidak berlipat. Sedangkan daya yang berperan dalam pembentuk jaringan tiga dimensi tersebut adalah ikatan kovalen yang berupa ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik dan elektrostatik (Aurand dan Woods, 1973).

Daya buih dari suatu protein terdiri dari dua aspek yaitu kemampuan protein untuk membentuk dan menghasilkan buih dalam jumlah tertentu serta kemampuan untuk mempertahankan daya buih tersebut dalam waktu tertentu (stabilitas buih) (Damodaran, 1997). Kemampuan protein dalam membentuk buih dikarenakan mempunyai karakteristik yang khas pada lapisan batas antara dua fase yaitu udara dan air sehingga mempunyai daya surfaktan yaitu kapasitas untuk menurunkan tegangan permukaan (Sugijanto dan Manulang, 2001).

2.2.2 Penggolongan Protein Berdasarkan Daya larut

Tiga kelompok dari protein biji adalah albumin, globulin, dan prolamin yang merupakan komponen terpenting pada sistem protein cadangan biji-bijian. (Dieckert, et al, 1985). Menurut Harrow, et al (1962) berdasarkan kelarutan protein digolongkan dalam 6 golongan yaitu :

1. Albumin, mempunyai karakter yang mudah larut dalam air dan mudah terkoagulasi oleh panas

2. Globulin, tidak dapat larut dalam air, mudah terkoagulasi oleh panas, mudah larut dalam larutan garam dan membentuk endapan dengan konsentrasi garam yang tinggi. Larutan garam yang sering digunakan adalah NaCl, MgSO₄ dan (NH₄)₂SO₄
3. Glutelin, tidak dapat larut dalam pelarut netral tetapi mudah larut dalam larutan asam dan basa
4. Protein yang larut dalam alkohol (prolamine), mudah larut dalam alkohol 70-80% dan tidak dapat larut dalam air
5. Histones, mudah larut dalam air dan tidak dapat larut dalam amonia. Selain larutan tersebut dapat digunakan untuk mengendapkan histones. Bentuk koagulan akibat pemanasan dapat dilarutkan dalam larutan alkali
6. Protamine, mudah larut dalam air dan tidak mudah terkoagulasi oleh pemanasan.

Prolamin dan globulin diyakini berfungsi terutama sebagai sumber karbon dan nitrogen saat biji berkecambah, tapi mengenai fungsi dari albumin belum diketahui secara pasti. Globulin penyusun protein legume yang disusun oleh dua komponen yaitu legumin dan vicilin. Legumin merupakan komponen penyusun utama dari globulin sedangkan vicilin adalah komponen utama dari globulin biji-bijian. Legumin dideskripsikan mengandung dua rantai polipeptida yang dihubungkan dengan jembatan disulfida (Dieckert, et al, 1985).

2.2.3 Fraksinasi Globulin 7S dan 11S

Dengan ultrasentrifugasi ditemukan protein utama yaitu golongan 2S, 7S, 11S dan 15S. Fraksi protein kedele terbesar adalah globulin 7S yang merupakan glikoprotein. Protein globulin dapat mencapai 70 % dari total protein. Fraksi 11S sampai sekarang baru dikenal sebagai protein tunggal sedangkan fraksi 15S belum dapat diidentifikasi penyusunnya (Suhardi, 1989).

Fraksi 7S yang mencapai 35 % dari total protein (Hettiarachchy and Ziegler, 1994) mengandung empat jenis protein yang berbeda yaitu hemagglutinin, lipoksigenase, β -amilase dan globulin 7S (Windrati, 1999). Struktur kwartener globulin 7S tersusun dari enam kombinasi yang berbeda dari tiga sub unit yaitu α mempunyai berat molekul 57000, α' mempunyai berat molekul 56000 dan β

mempunyai berat molekul 42000 dan berikatan melalui interaksi hidrofobik (Utsumi dan Kinsella, 1985). Globulin 7S tidak mengandung grup sulfhidril dan kandungan asam amino sulfurnya sangat rendah (Yu dan Damodaran, 1991).

Globulin 11S merupakan struktur kwartener yang terdiri dari dua belas unit dan merupakan dimer dari dua heksamer yang identik. Tiga sub unit dalam setiap heksamer tersebut bersifat asam dan lainnya bersifat basa. Setiap pasangan dari sub unit asam dan basa dihubungkan oleh ikatan disulfida (Yu dan Damodaran, 1991).

Globulin 11S yang mencapai 52 % dari total protein (Hettiarachchy and Ziebegler, 1994) mengandung delapan glisin, dua fenil alanin, dan dua leusin residu terminal amino per mol, sedikit mengandung karbohidrat dan mempunyai sub unit-sub unit yang berbeda dalam muatan maupun berat molekul (Iwabuchi dan Yamauchi, 1987).

Antara fraksi 7S dan 11S dapat saling ikat mengikat melalui ikatan disulfida yang menyebabkan pengendapan. Ikatan ini dapat dipisahkan dengan zat merkaptoetanol sistein dan Natrium disulfida. Ikatan disulfida akan menghambat pelipatan dan menurunkan interaksi air dengan minyak. Ikatan disulfida yang sedikit pada globulin 7S akan menyebabkan daya buih yang dihasilkan tinggi. Sebaliknya, rendahnya jumlah ikatan disulfida dalam globulin 7S akan menurunkan kemampuan dari protein untuk membentuk gel (Zayas, 1997). Pemisahan globulin 7S dan 11S dilakukan berdasarkan metode yang dikembangkan oleh Tanh dan Shibasaki (1976). Metode ini dilakukan dengan cara mengekstrak globulin dalam Tris-HCl buffer 0,3 M yang mengandung 0,01M 2-merkaptoethanol pH 8. Dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan protein terlarut dan protein tak terlarut dengan kecepatan 9000 rpm selama 20 menit. Fraksi 7S didapatkan dari pengaturan pH isoelektrik sebesar 4,8 sedangkan fraksi 11S didapatkan dari pH isoelektrik 6,4. Sifat fisikokimia Globulin 7S dan 11S protein kedelai seperti terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Sifat Fisikokimia Globulin 7S dan 11S Protein Kedelai

Sifat	Globulin 11S	Globulin 7S
Berat molekul	350000	175000
Sub Unit	12	3
Berat Molekul Sub Unit	37000 (asam) 20000 (basa)	57000 (asam) 42000 (basa)
Struktur Sekunder	6 % α helix 40 % β struktur 55 % random coil	6 % α helix (49) 39 % β struktur 60 % random coil
Kandungan karbohidrat	0	4,94 % (4)
Half-cystine	48 mol/mole	0
Konstanta Sedimentasi (S^{20}_W)	12,3 S	7,20S
Volume Spesifik Parsial ($V, 20^\circ\text{C}$)	0,730 ml/g	0,725 ml/g
Konstanta Difusi ($D^\circ 20, W \times 10^7$)	3,44 cm^2/detik	4,52 cm^2/detik
Stokes Radius	58,5 A°	59 A°
Intrinsic Viscosity	0,0485 dl/g	0,0638 dl/g
$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (280 nm)	8,04	4,16
pH isoelektrik	6,4	4,9
Suhu Denaturasi	80 $^\circ\text{C}$ (48)	67 $^\circ\text{C}$ (48)

Sumber : Waggle et al dalam Matthews, 1989

2.3 Dialisis

Protein dapat dipisahkan dari molekul kecil dengan dialisis melalui membran semi permeabel seperti membran selulosa yang berpori. Molekul dengan ukuran yang lebih besar dari diameter pori akan tertahan dalam kantong dialisis, sedangkan molekul kecil dan ion dapat melewati pori membran keluar dari kantong dialisis (Stryer, 1996).

Membran dialisis ini dikomersialkan dalam bentuk roll (gulungan) dengan diameter yang berbeda dan penyaring berat molekul. Semakin besar ukuran saringan berat molekul pada membran maka akan semakin cepat larutan molekul kecil keluar dari membran. Sebelum penggunaan kantong dialisis terlebih dulu dilakukan hidrasi dengan tujuan untuk memberikan fleksibilitas. Sampel protein dimasukkan dalam kantong dialisis yang sebelumnya salah satu ujung kantong dialisis telah diikat (disegel) dan diikuti dengan ujung yang lainnya. Selanjutnya

kantung dialisis ditempatkan dalam larutan buffer pada suhu 4⁰C selama 12-24 jam. Seiring dengan waktu, molekul kecil dapat melewati pori-pori kantung dialisis hingga tercapai kesetimbangan antara pelarut diluar dan didalam (Copeland, 1994).

2.4 Elektroforesis

Elektroforesis merupakan metode yang digunakan untuk mendapatkan kemurnian protein dari sampel, berat molekul dan kadang kala titik iso elektrik. Metode yang sering digunakan dalam elektroforesis ini adalah SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis*).

Dasar dari metode ini adalah perpindahan molekul yang bergerak pada arus listrik dengan kecepatan yang dibatasi oleh ukuran dan suplai listrik. Polimer akrilamida yang berbentuk lembaran bertindak sebagai pembawa pergerakan molekul (Copeland, 1994). Penggunaan gel sebagai elektroforesis disebabkan dua alasan, pertama gel mengurangi arus listrik yang timbul akibat perbedaan suhu yang kecil, yang diperlukan agar pemisahan menjadi efektif. Kedua, gel bertindak sebagai saringan molekul yang meningkatkan pemisahan. Molekul yang lebih kecil lebih mudah bergerak di dalam gel sedangkan molekul yang lebih besar hampir tidak bergerak (Stryer, 1996).

Polyacrilamide merupakan polimer yang umum digunakan untuk gel elektroforesis protein. Gel tersusun dari polimer acrylamide yang bebas arus listrik. Berat molekul didapat dari SDS-PAGE yang tertahan pada pori-pori polimer gel. Banyaknya acrylamide yang digunakan akan memberikan kisaran berat molekul terhadap fraksi sampel (Copeland, 1994)

Tabel 2. Banyaknya acrylamide yang digunakan untuk penentuan berat molekul protein dengan SDS-PAGE

Kisaran Berat Molekul Protein	Penggunaan Acrylamide
200000 – 60000	5,0 %
120000 – 30000	7,5 %
75000 – 18000	10,0 %
60000 – 15000	12,5 %
45000 – 12000	15,0 %

Sumber : Copeland, 1994

Sebelum arus listrik dijalankan, protein didenaturasi (*unfolding*) dengan pemanasan sehingga dapat terpisah massanya dengan elektroforesis gel poliakrilamida. Campuran protein mula-mula dilarutkan dalam SDS, suatu detergen anionik yang akan memutus hampir semua interaksi kovalen dalam protein alami. Anion SDS akan berikatan pada rantai utama dengan perbandingan 1 SDS untuk setiap residu asam amino, sehingga terbentuk kompleks antara SDS dan protein yang terdenaturasi bermuatan negatif yang secara kasar sebanding dengan massa protein. Muatan negatif akibat pengikatan SDS ini umumnya lebih besar daripada muatan protein alami, sehingga muatan protein alami menjadi tidak penting lagi. Arah elektroforesis dari atas ke bawah. Setelah terjadi pemisahan, protein dalam gel dapat diperlihatkan dengan pewarnaan Coomassie Blue atau Silver Staining (Stryer, 1996).

Dua cara pewarnaan yang digunakan terhadap pita-pita sub unit protein diantaranya Coomassie Blue dan Silver Staining. Silver staining lebih sensitif dibandingkan dengan Coomassie Blue, oleh karena itu dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan kontaminan protein minor dari sampel. Tetapi tidak direkomendasikan untuk analisa kuantitatif. Coomassie Blue lebih minim komplikasi dibandingkan dengan silver staining. Keuntungan dari Coomassie Blue adalah luas warna dari protein yang berbeda dapat terjaga, maka dapat dimanfaatkan untuk memperkirakan jumlah kuantitatif dari protein (Copeland, 1994).

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah koro kratok (*Phaseolus lunatus* L) manik warna merah yang diperoleh dari desa Karangpring, Kecamatan Sukorambi, Kabupaten Jember, Jawa Timur. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian berasal dari Jerman dengan merk *Merck* ini adalah etanol 70%, Tris HCl buffer 0,3 M pH 8, NaOH 2N, NaCl 5%, NaOH 0,5 N, folin 1 N, HCl 0,1 N, 2-merkaptotanol, buffer elektroforesis, mix Lowry, stacking gel, coomasie blue staining dan destaining, resolving gel.

3.1.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: peralatan gelas yang menggunakan merk Pyrex, magnetic stirer (SM 24 Stuart Scientific), batang stirer, freeze dryer (Snijders Scientific), vortex (type 16700 mixer, maxi-mix 1), refrigerated sentrifuge (Selecta), membran dialisis dan penjepitnya, penanagas air (Cimerec 2), timbangan analitis (Ohaus), sentrifuge kecil (Kurabo), pH meter (Jenway), peralatan elektroforesis (Bio-Rad), colour reader dan mikrometer.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pengendalian Mutu Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Oktober 2003.

3.3 Persiapan Bahan

Biji koro kratok manik dilakukan sortasi terlebih dulu antara biji yang masih baik dan jelek dan juga dipisahkan berdasarkan warna merah dan putih. Biji yang sudah disortasi kemudian diblender hingga halus. Setelah diblender kemudian dilakukan pengayakan dengan ayakan 60 mesh. Tepung koro kratok

manik yang dihasilkan kemudian dimasukkan dalam plastik dan disimpan dalam eksikator.

3.4 Rancangan Percobaan

Data yang diperoleh dari pengukuran sifat fisik yang meliputi berat, tebal, lebar, panjang, luas permukaan, volume, BDD (Bagian yang Dapat Dimakan), ketebalan kulit biji, dan warna diuji menggunakan uji deskriptif kemudian data ditabulasikan dengan standar deviasi.

Data yang diperoleh dari fraksinasi protein berupa albumin, globulin, globulin 7S dan 11S yang dielektroforesis ditampilkan dalam bentuk gambar.

3.5 Pengukuran Sifat Fisik

Karakteristik yang diamati pada biji koro kratok manik meliputi berat biji, tebal biji, panjang biji, lebar biji, luas penampang biji, volume biji, Bagian yang Dapat Dimakan (BDD), ketebalan kulit biji dan warna.

3.5.1 Sifat Berat, Tebal, Lebar dan Panjang Biji

Pengukuran sifat berat, tebal, lebar dan panjang biji dari biji kratok manik dilakukan dengan menggunakan jangka sorong untuk karakter tebal, panjang dan lebar biji. Sedangkan untuk pengukuran berat biji dilakukan dengan menggunakan neraca analitis. Pengambilan sample satu biji koro kratok manik dilakukan secara acak

3.5.2 Luas Penampang Biji

Pengukuran luas penampang biji koro kratok manik dilakukan dengan menggunakan standar pembanding berupa kertas. Kertas HVS dipotong dengan variasi luasan tertentu yaitu 1 cm^2 , 4 cm^2 , 9 cm^2 , 16 cm^2 , dan 25 cm^2 . Potongan kertas HVS dengan luasan tertentu tersebut dilakukan sebanyak 5 kali ulangan untuk diketahui beratnya. Kurva standar dibuat dengan memplotkan luas penampang sebagai sumbu Y dan berat kertas sebagai sumbu X. Pengukuran luas penampang biji dilakukan dengan menggambar ke-10 biji koro yang diambil secara acak diatas kertas HVS yang sama dengan standar yang telah dibuat. Hasil gambaran kemudian ditimbang untuk diketahui beratnya. Luas penampang biji

koro kratok manik dapat diperoleh dengan memasukkan hasil rata-rata dari ke-10 biji kratok yang dipilih secara acak ke dalam kurva standar yang telah dibuat.

3.5.3 Volume

Pengukuran volume biji koro kratok manik dilakukan dengan memasukkan 10 biji koro satu persatu kedalam pipa erlenmeyer berpipa yang telah diisi air. Tetesan air yang keluar dari pipa erlenmeyer ditampung dalam wadah kosong yang sudah ditimbang beratnya. Wadah penampung dan air tetesan kemudian ditimbang untuk diketahui beratnya sehingga dapat digunakan untuk mencari berat air dari 10 biji koro. Volume biji koro sama dengan volume luberan air dari 10 biji koro yang diambil secara acak. Berat jenis air diketahui 0,9971 g/ml, sehingga volume air dapat dicari dengan rumus :

$$V = \frac{m}{BJ}$$

dimana V = volume air

m = massa air

BJ = berat jenis air (0,9971 g/ml)

3.5.4 BDD (Bagian yang Dapat Dimakan)

Pengukuran BDD dari biji kratok manik dilakukan secara acak dari 10 biji. Biji yang akan dikupas kulitnya terlebih dulu direndam dengan air semalam untuk memudahkan dalam pengupasan kulit. Biji yang telah dikupas kulitnya kemudian ditimbang kulitnya (a gram) dan biji tanpa kulit (b gram). BDD dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$BDD = \frac{b}{a+b} \times 100\%$$

3.5.5 Ketebalan Kulit

Ketebalan kulit diukur dengan menggunakan mikrometer dari 10 biji koro secara acak. Kacang koro yang diambil secara acak tersebut dikupas kulitnya dengan menggunakan pisau, diusahakan kulit terkelupas secara utuh, kulit yang terkelupas diukur ketebalannya dengan menggunakan mikrometer.

3.5.6 Warna

Pengukuran warna dilakukan dengan bantuan alat colour reader. Sebelum digunakan colour reader terlebih dulu distandarisasi dengan kristal BaSO_4 yang dihamparkan pada kertas putih. Pengukuran warna dilakukan dengan menempelkan colour reader pada biji koro yang ditumpuk di atas kertas putih. Pengambilan titik yang berbeda sebanyak 10 kali ulangan sehingga didapatkan d_L , d_a dan d_b . Pengolahan data dilakukan dengan rumus :

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

$$H = \tan^{-1} (b^*/a^*)$$

Parameter warna yang diamati

L^* = kecerahan warna, $L^* = 0$ berarti gelap; $L^* = 100$ berarti cerah

a^* , b^* = warna dimana a^* (+) berarti merah; a^* (-) berarti hijau;

b^* (+) berarti kuning; b^* (-) berarti biru

c^* = croma, intensitas warna; $c^* = 0$ berarti tidak berwarna; semakin besar nilai c^* makin tinggi tingkat intensitasnya (Subagio dkk, 2002)

3.6 Pengukuran Sifat Kimia

Sifat kimia yang diamati dari biji koro kratok manik meliputi kadar karbohidrat, kadar protein, kadar lemak, kadar air dan kadar abu.

3.6.1 Kadar Karbohidrat

Kadar karbohidrat diukur berdasarkan metode *By Difference*. Metode ini dilakukan dengan menghitung semua kadar senyawa organik yang ada, selain karbohidrat dalam koro kratok manik. Kadar karbohidrat dihitung dengan melihat selisih antara jumlah kadar senyawa organik dengan kadar total (100%).

Kadar karbohidrat (%) = 100% - (jumlah kadar protein, lemak, abu dan air)

3.6.2 Kadar Protein (Sudarmadji, dkk, 1997)

Pengukuran kadar protein dilakukan dengan menggunakan metode mikrokjeldahl. Tepung koro ditimbang sebanyak 0,5 gram, dimasukkan ke dalam labu kjeldahl dan ditambahkan $1,9 \pm 0,1$ gram K_2SO_4 ; 40 mg HgO ; $2 \pm 0,1$ ml H_2SO_4 . sample dididihkan selama 1,5 jam sampai warna cairan jernih (diberi batu didih). Labu didinginkan, ditambah dengan aquadest perlahan-lahan (labu menjadi panas) dan didinginkan kembali. Sample dipindahkan ke dalam alat destilasi, dicuci dan dibilas 5-6 kali dengan aquades. Erlenmeyer yang berisi 5 ml asam borat jenuh dan indikator diletakkan dibawah kondensor. Ujung kondensor harus tercelup dalam asam borat jenuh. 8-10 ml larutan $NaOH-Na_2S_2O_3$ ditambahkan dan dilakukan destilasi hingga tertampung kira-kira 15 ml destilat. Bilas tabung kondensor dengan aquades dan tampung air bilasan dalam erlenmeyer. Hasil destilasi dititrasi dengan HCl 0,02 N yang distandarisasi sampai terjadi perubahan warna menjadi abu-abu. Penetapan blanko dilakukan dengan mengganti sample dengan aquades.

Protein (%) = %N x faktor konversi

%N = [(titer sample-blanko) x N HCl x 14,08]/berat sample]

3.6.3 Kadar Lemak (Sudarmadji, dkk, 1997)

Pengukuran kadar lemak dilakukan dengan menggunakan metode soxlet yang dimodifikasi. Tepung koro ditimbang sebanyak a gram dalam kertas saring sesuai kebutuhan, kemudian dibungkus dan dilipat cukup kuat dengan benang. Tepung koro yang terbungkus, dioven pada suhu $60^{\circ} C$ beberapa lama dan dimasukkan dalam eksikator selama 30 menit. Sample ditimbang (b gram) dan selanjutnya dimasukkan dalam tabung ekstraksi soxlet 500 ml yang sudah terpasang di penangas listrik dengan pendinginnya. Labu diisi larutan pengekstrak berupa petroleum benzena. Setelah semua siap, penangas dan pendingin air

dihidupkan. Jumlah sirkulasi pelarut yang digunakan sesuai dengan perlakuan (3-4 jam). Setelah ekstraksi selesai, sample dikeluarkan dari tabung ekstraksi dan dikeringkan dalam oven 60⁰C hingga pelarut menguap. Sample yang telah kering dimasukkan dalam eksikator selama 30 menit dan ditimbang. Penimbangan dan pengovenan dilakukan beberapa kali hingga berat konstan (c gram).

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

3.6.4 Kadar Air (Sudarmadji, dkk, 1997)

Pengukuran kadar air dilakukan dengan cara termogravimetri. Botol timbang yang bersih dan kering ditimbang beratnya (a gram). Tepung koro dimasukkan dalam botol timbang dan ditimbang berat (b gram). Tepung koro dioven minimal selama 6 jam dengan suhu oven 100⁰C. Sample dimasukkan dalam eksikator untuk mendinginkan dan ditimbang beratnya (c gram), pengovenan dan penimbangan dilakukan hingga berat konstan.

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

3.6.5 Kadar Abu (Sudarmadji, dkk, 1997)

Krus porselin dikeringkan dalam oven selama 15 menit, didinginkan dalam eksikator selama 15 menit dan ditimbang beratnya (a gram). Tepung koro dimasukkan dalam krus porselen dan ditimbang beratnya (b gram). Pijarkan dalam tanur pengabuan pada suhu 400⁰C sampai mengeluarkan asap. Setelah asap habis, naikan suhu menjadi 550⁰C dan pijarkan selama 3 jam. Dinginkan krus dalam tanur semalaman dan masukkan dalam eksikator selama 15 menit. Timbang krus porselin (c gram), ulangi hingga berat konstan.

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

3.7 Fraksinasi Protein

Protein koro kratok manik dapat digolongkan menjadi empat golongan protein sederhana yaitu albumin, globulin, prolamin, dan glutelin. Empat protein sederhana ini dapat dipisahkan berdasarkan sifat kelarutannya terhadap pelarut. Fraksinasi protein ini dilakukan berdasarkan metode Osborne yang dimodifikasi (Bonvehi, 1999).

Tepung koro yang bebas lemak (2,5 gram) diekstrak dengan 25 ml aquadest dan distirer selama 1 jam. Suspensi kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 9000 rpm selama 20 menit pada suhu 4⁰C. Filtrat yang dihasilkan kemudian dipisahkan dari residunya. Filtrat yang terdiri dari albumin dan globulin didialisis dengan membran dialisis selama 48 jam dengan suhu 4⁰C. Hasil dialisis kemudian dipisahkan antara albumin dan globulin dengan sentrifuge dengan kecepatan 9000 rpm, suhu 4⁰C selama 20 menit. Endapan yang diperoleh merupakan fraksi albumin sedangkan supernatannya merupakan fraksi globulin. Residu dari filtrat albumin dan globulin diekstrak lagi dengan NaCl 5 % sebanyak 25 ml dilakukan sentrifuge dengan kecepatan 9000 rpm, 20 menit, 4⁰C. supernatan yang diperoleh kemudian didialisis dengan suhu 4⁰C untuk mendapatkan fraksi albumin dan globulin. Kemudian konsentrasi albumin dan globulin didapatkan dari total albumin dan globulin. Endapan dari ekstraksi NaCl 5 % dilarutkan dalam alkohol 70% dan distirer selama 1 jam. Suspensi kemudian disentrifuge dengan kecepatan 9000 rpm, suhu 4⁰C selama 20 menit. Supernatan yang diperoleh merupakan prolamine yang dimurnikan dengan membran dialisis selama 48 jam, suhu 4⁰C. Endapan yang dihasilkan dari dialisis merupakan prolamin murni. Residu dari filtrat prolamine diekstrak lagi dengan 25 ml NaOH 0,5 N dan distirer selama 1 jam. Suspensi kemudian disentrifuge dengan kecepatan 9000 rpm, suhu 4⁰C selama 20 menit. Filtrat yang diperoleh merupakan glutelin yang dimurnikan dengan membran dialisis sedangkan residunya merupakan protein tak larut. Masing-masing fraksi protein kemudian dikeringkan dengan *freeze drier* dan untuk mengetahui konsentrasinya dapat dilakukan dengan metode Lowry (Sudarmadji, dkk, 1997). Diagram alir fraksinasi protein berdasarkan kelarutan terlihat pada Gambar 1.

3. 8 Kadar Protein Terlarut (Metode Lowry, Sudarmadji dkk, 1997)

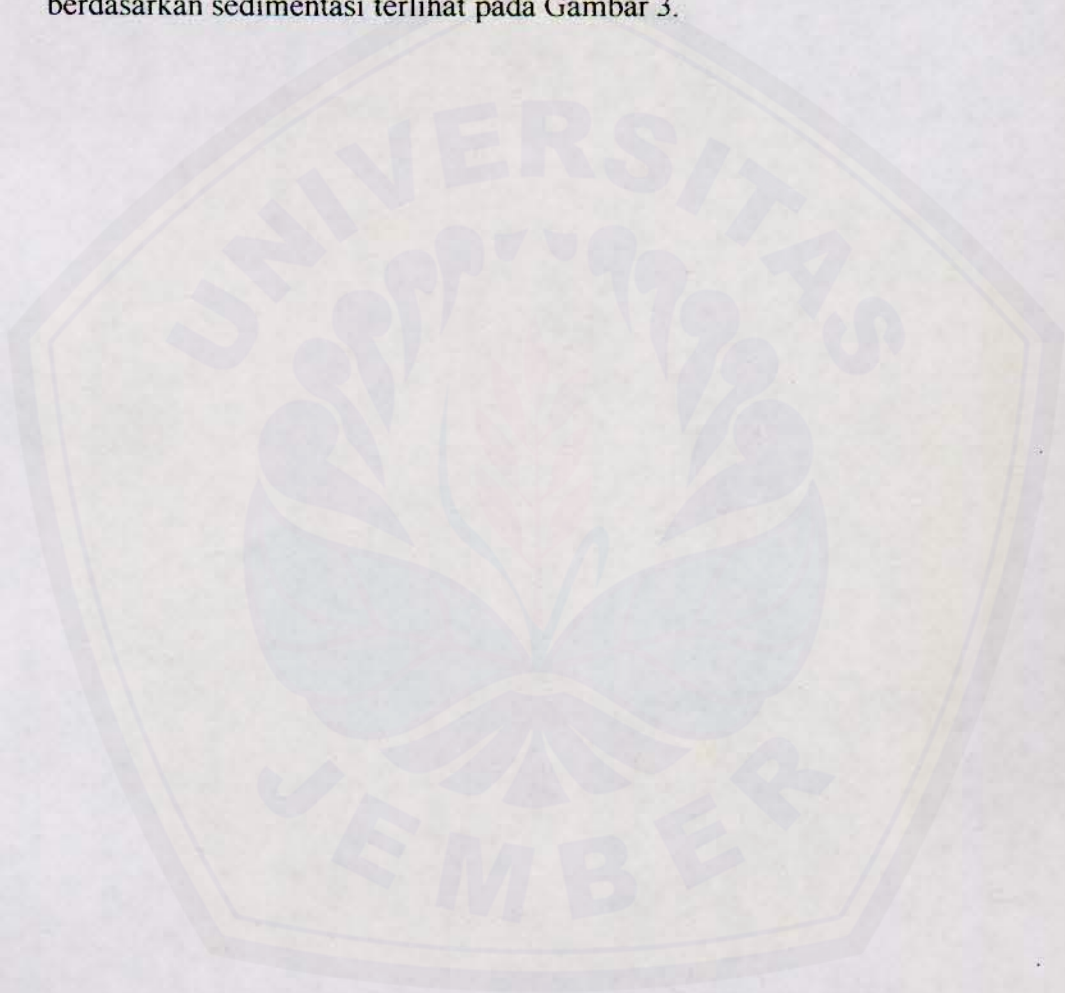
Protein dengan asam fosfotungstat-fosfomolibdat pada suasana alkalis akan memberikan warna biru yang intensitasnya bergantung pada konsentrasi protein yang ditera. Konsentrasi protein diukur berdasarkan optik density pada panjang gelombang 750 nm. Untuk mengetahui banyaknya protein dalam larutan, lebih dahulu dibuat kurva standart yang melukiskan hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi. Cara penentuannya adalah sebagai berikut: 250 μ L sampel tambahkan dengan 250 μ L NaOH 2N. Dilakukan pemanasan untuk mendenaturasi atau memecah ikatan protein dalam sampel selama 10 menit kemudian didinginkan. Tambahkan mix Lowry 2500 μ L dan diamkan selama 10 menit. Tambahkan 250 μ L folin 1N dan vortex kemudian diamkan selama 30 menit. Tambahkan aquadest sebanyak 1750 μ L (volume keseluruhan harus 5000 μ L) selanjutnya amati absorban pada panjang gelombang 750 nm. Secara lengkap urutannya sebagaimana terlihat pada Gambar 2.

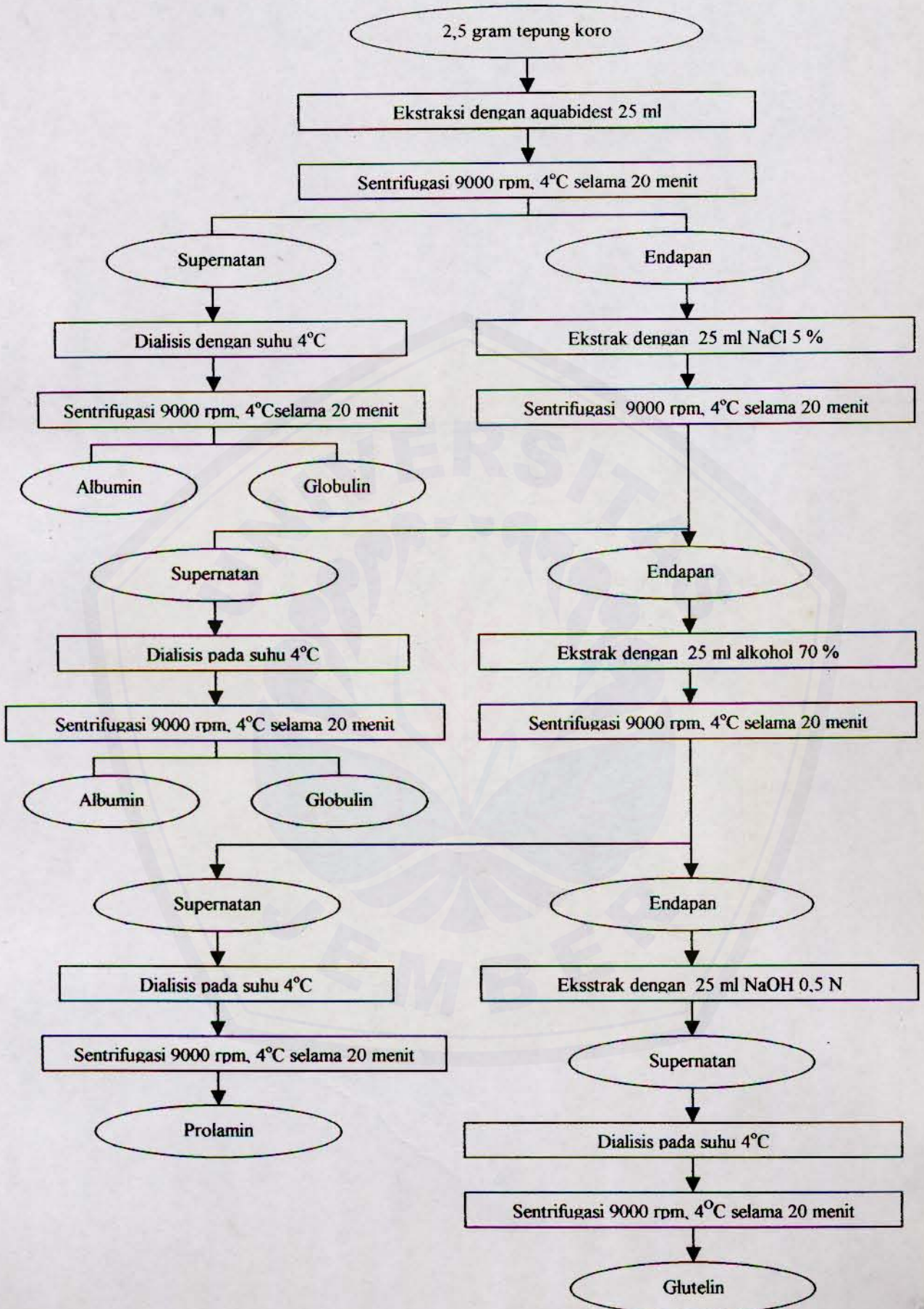
3.9 Fraksinasi Globulin 7S dan Globulin 11S

Fraksinasi globulin 7S dan globulin 11S dilakukan berdasarkan metode yang dikembangkan oleh Tanh dan Shibasaki (1976). Metode ini didasarkan pada perbedaan kelarutan dari globulin yang dilarutkan pada Tris (Hydroxymethyl) aminomethane buffer pada pH 6,6. Globulin 11S mengendap pada pH 6,4 sedangkan globulin 7S mengendap pada pH 4,8.

Tepung koro bebas lemak sebanyak 2,5 gram diekstrak dengan 0,03 M buffer Tris HCl pH 8,0 yang mengandung 0,3 M merkaptoetanol pada suhu ruang selama 1 jam. Suspensi kemudian disentrifuge dengan kecepatan 9000 rpm selama 15 menit dengan suhu 4⁰C. Supernatan yang diperoleh kemudian diatur pH-nya sampai 6,4 dengan HCl 0,1 N dan distirer, diamkan semalam dalam lemari pendingin dengan suhu 4⁰C. Suspensi kemudian disentrifuge dengan nmerupakan kecepatan 9000 rpm, suhu 4⁰C selama 15 menit. Endapan yang diperoleh fraksi globulin 11S. Filtrat yang diperoleh kemudian diatur pH-nya sampai 4,8 dengan HCl 0,1 N dan disentrifuge lagi dengan kecepatan 9000 rpm, suhu 4⁰C selama 15 menit. Endapan yang diperoleh diekstrak lagi dengan 25 ml

Tris HCl pH 8,0 yang mengandung 0,3 M merkptoetanol. Suspensi kemudian diatur pH-nya dengan HCl 0,1 N sampai pH 6,2 dan disentrifuge dengan kecepatan 9000 rpm, suhu 4⁰C selama 15 menit. Filtrat yang dihasilkan merupakan fraksi globulin 7S. Masing-masing fraksi kemudian dikeringkan dengan *freeze drier* selama 48 jam. Pengukuran konsentrasi fraksi globulin 11S dan globulin 7S dilakukan dengan metode Lowry. Diagram alir fraksinasi berdasarkan sedimentasi terlihat pada Gambar 3.

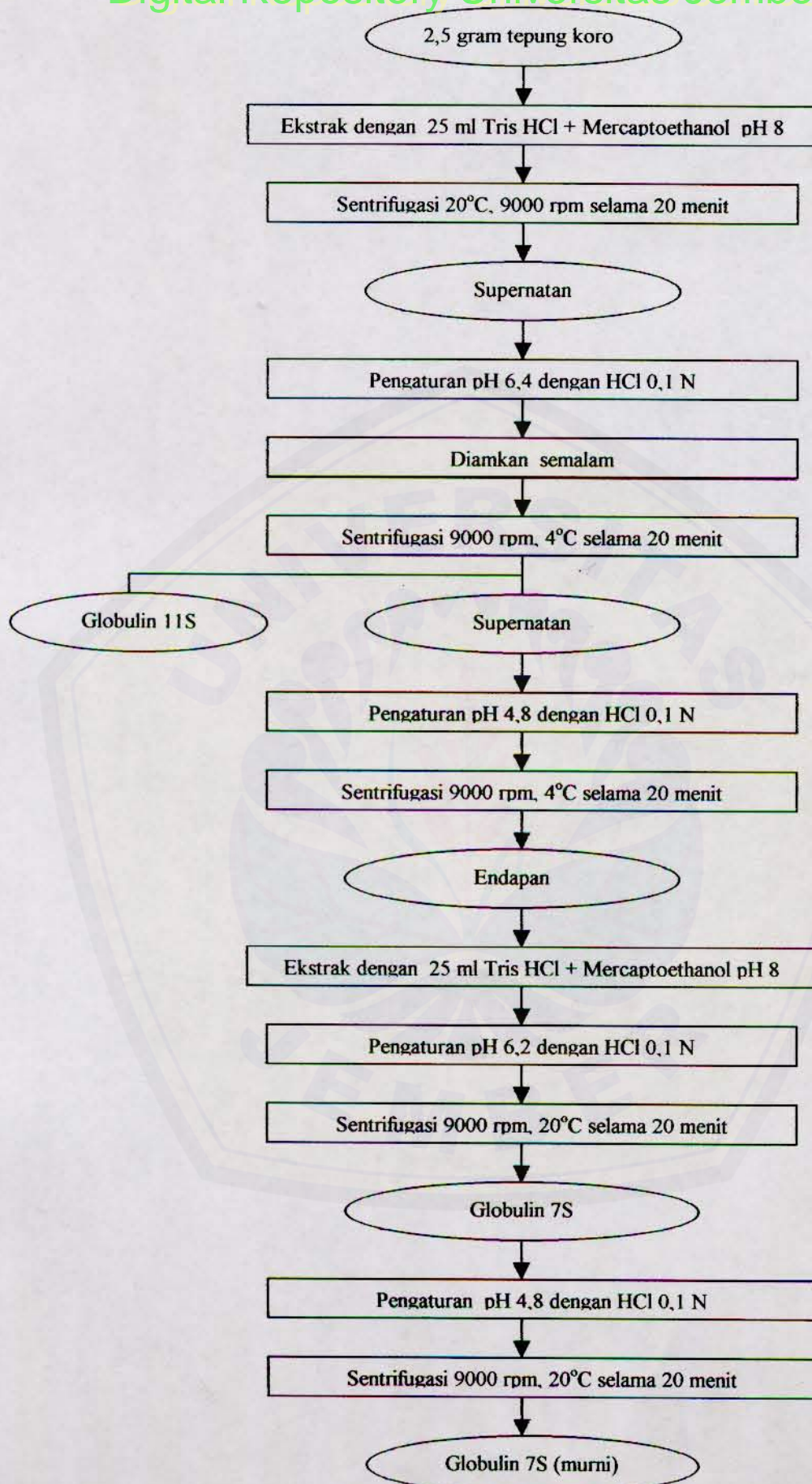




Gambar 1. Fraksinasi Protein Koro Kratok Berdasarkan Kelarutan (Osborne)



Gambar 2. Metode Lowry (Sudarmadij, dkk)



Gambar 3. Fraksinasi Globulin 7S dan 11S (Tanh dan Shibasaki)

3.10 Elektroforesis

Analisa protein albumin, globulin, globulin 7S dan 11S selanjutnya dilakukan elektroforesis SDS-PAGE untuk diketahui pemisahan sub unit protein dan berat molekulnya. SDS PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfate-Poly Acrylamide Gel Electrophoresis*) terdiri dari resolving gel dan stacking gel. Pembuatan resolving gel dilakukan dengan mencampur 1,67 ml aquadest; 1,25 ml Tris HCl 1,5 M pH 8,8; 0,05 ml SDS 10%; 2 ml acrylamide yang kemudian dilakukan aerasi untuk mengeluarkan udara. Selanjutnya larutan gel ditambah dengan 50 μ L amonium persulfate 10% dan 5 μ L TEMED. Larutan yang tercampur kemudian cepat-cepat disuntikkan pada dua lempeng kaca yang berukuran 10 x 10 cm, ditambahkan sedikit aquadest untuk meratakan permukaan gel. Setelah gel terbentuk aquadest yang ditambahkan tersebut dibuang. Stacking gel dibuat dengan mencampur 1,525 ml aquadest; 0,625 ml Tris HCl 0,05 M pH 6,8; 0,325 ml acrylamide dan 0,025 ml SDS 10 % kemudian dilakukan aerasi untuk mengeluarkan udara. Kemudian ditambah dengan 50 μ L amonium persulfate 10% dan 5 μ L TEMED. Larutan gel disuntikkan diatas resolving gel yang telah terbentuk, dengan meletakkan sisir diatas gel untuk membentuk sumur gel. Sisir dilepaskan jika gel telah terbentuk.

Protein yang telah di-*freeze drying* (dalam bentuk kering) dilarutkan dalam pelarut Tris HCl buffer 0,3M yang mengandung 0,01 M 2-merkaptotanol pH 8 , SDS 1 % sesuai dengan perhitungan. Protein yang sudah diencerkan dilakukan pengukuran kadar protein dengan metode Lowry untuk menentukan volume penambahan buffer sampel dan volume penyuntikan pada sumur gel. Pemanasan sampel pada suhu 100 °C selama 10 menit dilakukan untuk memecah struktur tiga dimensi dari protein. Elektroforesis dilakukan setelah sampel disuntikkan menggunakan syringe pada sumur gel dan di-running pada 100 mA selama kurang lebih 1,5 jam. Sub unit-sub unit protein kemudian dikenai pewarnaan dengan memakai larutan Coomasie Blue untuk memudahkan pembacaan. Hasil pewarnaan kemudian dicuci dengan Coomasie gel destaining selama satu malam untuk menghilangkan pewarnaan yang berlebih.

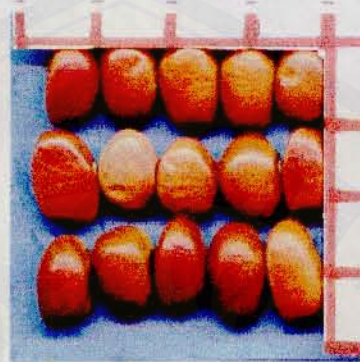
Berat molekul protein dapat dihitung dengan menggunakan persamaan standart dari marker (kit penciri BM rendah). Persamaan standart didapatkan dengan berdasarkan hubungan antara log BM (sumbu y) dan Rf (sumbu x). Nilai Rf didapatkan dengan membagi jarak tempuh sampel dengan jarak tempuh pelarut. Berat molekul sampel dihitung dengan memasukkan nilai Rf dari masing-masing fraksi pada persamaan $\log \text{BM} = aRf + b$.



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Sifat Fisik dan Kimia Koro Kratok (*Phaseolus lunatus* L) Manik

4.1.1 Sifat Fisik Koro Kratok Manik



Gambar 4. Koro Kratok Manik

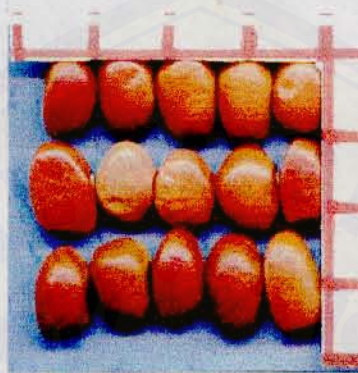
Data yang diperoleh dari uji sifat fisik, kimia koro kratok manik diolah dengan menggunakan uji deskriptif yang kemudian ditabulasikan dengan standar deviasi. Hasil perhitungan dari sifat fisik, kimia dari koro kratok manik disajikan dalam bentuk Tabel 3.

Koro kratok manik mempunyai sifat fisik antara lain panjang biji rata-rata 1,335 cm, lebar biji rata-rata 0,731 cm. Panjang biji koro kratok manik lebih dari 1 cm seperti yang ditampilkan pada Gambar 4. Sedangkan tebal biji rata-rata 0,634 cm dan berat biji rata-rata 0,457 gram. Dari data tersebut dapat digambarkan bahwa koro kratok manik mempunyai bentuk biji yang bulat memanjang dan agak sintal.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Sifat Fisik dan Kimia Koro Kratok (*Phaseolus lunatus* L) Manik

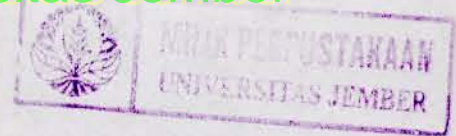
4.1.1 Sifat Fisik Koro Kratok Manik



Gambar 4. Koro Kratok Manik

Data yang diperoleh dari uji sifat fisik, kimia koro kratok manik diolah dengan menggunakan uji deskriptif yang kemudian ditabulasikan dengan standar deviasi. Hasil perhitungan dari sifat fisik, kimia dari koro kratok manik disajikan dalam bentuk Tabel 3.

Koro kratok manik mempunyai sifat fisik antara lain panjang biji rata-rata 1,335 cm, lebar biji rata-rata 0,731 cm. Panjang biji koro kratok manik lebih dari 1 cm seperti yang ditampilkan pada Gambar 4. Sedangkan tebal biji rata-rata 0,634 cm dan berat biji rata-rata 0,457 gram. Dari data tersebut dapat digambarkan bahwa koro kratok manik mempunyai bentuk biji yang bulat memanjang dan agak sintal.



Tabel 3. Sifat Fisik Biji Koro Kratok Manik

Sifat Fisik	Rerata + Standar Deviasi
Panjang biji (cm)	1,335 ± 0,061
Lebar biji (cm)	0,731 ± 0,046
Tebal biji (cm)	0,634 ± 0,031
Berat biji (g)	0,457 ± 0,037
Ketebalan kulit (mm)	0,079 ± 0,016
Luas penampang biji (cm ²)	1,430 ± 0,131
Volume 10 biji (ml)	3,405 ± 0,283
BDD (%)	88,231 ± 0,683
Warna	L = 70,27 ± 2,869 H = 44,764° ± 11,210 a* = 5,48 ± 0,899 b* = 4,87 ± 1,724 c* = 7,433 ± 1,515

Luas penampang biji rata-rata 1,430 cm dan volume 10 biji rata-rata 3,405 ml. Koro kratok manik mempunyai ketebalan kulit sebesar 0,079 mm sehingga dengan ketebalan kulit yang relatif kecil dengan nilai BDD sebesar 88,231 % menunjukkan bahwa kulit biji koro kratok (*Phaseolus lunatus* L) varietas manik hampir menyatu dengan biji. Nilai BDD yang cukup besar dapat memenuhi kebutuhan pangan untuk manusia terutama protein dan karbohidratnya.

Warna dapat mempengaruhi kenampakan pada komoditas dan berpengaruh pada tingkat penerimaan konsumen. Pada Gambar 4 biji koro kratok manik memiliki warna yang berkisar antara merah dan kuning tetapi warna merah lebih mendominasi. Hal ini diperkuat dengan nilai H = 44,764° yang terletak diantara merah dan kuning dan nilai H cenderung untuk mendekati warna merah. Nilai L menunjukkan kecerahan dari obyek, koro kratok manik mempunyai nilai L sebesar 70,27 yang tergolong dalam obyek dengan tingkat kecerahan yang cukup tinggi. Tingkat kecerahan dan intensitas warna yang tinggi merupakan

karakter dari koro kratok manik. Berdasarkan data yang diperoleh maka koro kratok manik dapat digolongkan dalam kacang lima (*Lima Bean*) dengan kulit yang berwarna merah.

4.1.2 Sifat Kimia Koro Kratok Manik

Selain sifat fisik, perlu dikaji juga mengenai sifat kimia yang terkandung dalam koro kratok manik. Sifat kimia koro kratok manik meliputi karbohidrat, protein, lemak, kadar air dan kadar abunya.

Tabel 4. Kandungan Kimia Koro Kratok Manik

Sifat Kimia	Komposisi (%)
Karbohidrat	65,094 ± 0,222
Protein	17,109 ± 0,103
Lemak	0,487 ± 0,059
Kadar Air	14,294 ± 0,011
Kadar Abu	3,017 ± 0,071

Karbohidrat dalam koro kratok manik sebesar 65,094% dengan protein sebesar 17,109 %, lemak yang terkandung didalamnya 0,487 %. Dengan kandungan lemak yang kecil dapat menguntungkan bagi mereka yang menghindari konsumsi lemak dengan tidak mengurangi asupan jumlah karbohidrat dan protein yang dibutuhkan. Kadar air sebesar 14,294 % dan kadar abunya 3,017 %.

4.2 Fraksinasi Protein Berdasarkan Kelarutan

Albumin, globulin, prolamin dan glutelin dipisahkan berdasarkan kelarutannya dengan menggunakan metode Osborne. Albumin mudah larut dalam air, globulin mudah larut dalam garam encer, prolamin mudah larut dalam alkohol 70% dan glutelin mudah larut dalam suasana basa. Dari hasil pemisahan tersebut prolamin tidak dapat diukur atau tidak dapat diidentifikasi karena terlalu kecil konsentrasinya sehingga tidak dapat masuk dalam range kurva standart. Hasil pemisahan protein tersaji pada Tabel 5.

Tabel 5. Fraksinasi Protein Koro Kratok Manik

Protein	Kadar (%)
Albumin	38,98
Globulin	25,42
Glutelin	35,60
Prolamin	Tidak Teridentifikasi

Protein sederhana yang didapatkan dari koro kratok manik dengan albumin sebesar 38,98 %, globulin 25,42 %, glutelin 35,60 %. Kadar protein albumin lebih besar daripada kadar protein globulin. Hal ini tidak senada dengan Zayas (1997) bahwa protein legume mempunyai kandungan terbesar pada globulin yang merupakan cadangan utama biji. Globulin sebagai cadangan utama biji disusun atas dua globulin yaitu legumin dan vicilin. Legumin adalah komponen penyusun utama dari globulin sedangkan vicilin adalah komponen utama kedua dari globulin biji-bijian (Dieckret et al, 1985).

Albumin yang mudah larut dalam air menunjukkan bahwa albumin mempunyai WHC (*Water Holding Capacity*) yang cukup tinggi daripada OHC (*Oil Holding Capacity*). Masing-masing fraksi protein mempunyai tingkat kelarutan yang tinggi pada pelarutnya seperti globulin yang larut dalam larutan garam encer, glutelin yang larut dalam basa dan prolamine yang larut dalam alkohol 70 %. Kondisi ini dapat digunakan untuk mengisolasi protein berdasarkan kelarutan, dan sifat lainnya yang berpengaruh pada cara ekstraksi protein.

4.3 Fraksinasi Globulin 7S dan 11S

Globulin 7S dan 11S diisolasi pada kedelai berdasarkan perbedaan titik isoelektriknya dengan menggunakan metode Tanh dan Shibasaki (1976). Protein memiliki kelarutan terkecil pada titik isoelektriknya, sehingga akan mudah mengendap pada pH tersebut. Fraksi 7S mempunyai titik isoelektrik sebesar 4,8 dan fraksi 11S sebesar 6,4. Tabel 6 menunjukkan kadar protein dari fraksi globulin 7S dan 11S.

Tabel 6. Fraksinasi Globulin 7S dan 11S Koro Kratok Manik

Jenis Fraksi	Kadar (%)
Globulin 7S	1,276
Globulin 11S	0,458

Globulin 7S dari koro kratok manik sebesar 1,276 % dan globulin 11S sebesar 0,458 %. Hal ini menunjukkan bahwa kadar protein 7S lebih besar dari 11S. Namun, banyaknya kandungan globulin 7S dan 11S yang didapatkan belum menunjukkan nilai sesungguhnya dari globulin yang didapatkan. Hal ini kemungkinan pada saat fraksinasi belum ditemukan secara tepat titik isoelektrik dari globulin 7S dan 11S koro kratok manik sehingga banyak fraksi globulin 11S maupun 7S yang belum tersedimentasi dengan sempurna. Selain itu pengaruh kecepatan sentrifugasi yang kurang tinggi dapat berpengaruh terhadap pemisahan yang kurang maksimal antara supernatan dan residunya. Kadar protein besarnya 4,25 % terhadap total protein globulin sehingga sisanya diduga merupakan globulin 2S dan 15S.

Rasio yang didapatkan dari globulin 7S dan 11S sebesar 2,79. Hal ini menunjukkan bahwa globulin 7S lebih besar dari 11S. Rasio dari globulin 7S dan 11S akan menghasilkan sifat fungsional protein seperti kelarutan, WHC, OHC, daya emulsi, daya buih yang tinggi. Perbedaan struktur dari globulin 7S dan 11S berperan dalam bervariasinya sifat fungsional makanan yang dihasilkan seperti sifat pembentukan gel (Suhardi, 1989).

Globulin 7S lebih bersifat hidrofobik dibandingkan dengan globulin 11S karena dalam globulin 7S tidak mengandung grup sulfhidril dan kandungan asam amino sulfurnya sangat rendah (Yu dan Damodaran, 1991). Kondisi ini memprediksikan bahwa tingkat *Water Holding Capacity* (WHC) globulin 7S lebih kecil dari globulin 11S. Sebaliknya globulin 11S bersifat lebih hidrofilik daripada globulin 7S sehingga tingkat WHC-nya lebih tinggi. *Oil Holding Capacity* (OHC) globulin 7S dan 11S merupakan kebalikan dari tingkat WHC-nya.

Kelarutan dari globulin 7S lebih tinggi pada larutan dengan suasana basa. Hal ini senada dengan pernyataan dari Zayas (1997) bahwa perbedaan sifat

kelarutan dari keadaan yang sama dihasilkan dari protein 7S dan 11S, tetapi protein 7S lebih larut dalam kondisi basa dibandingkan dengan protein 11S.

Fraksi protein globulin 7S lebih tinggi dari globulin 11S memungkinkan protein koro kratok manik mempunyai daya emulsi yang tinggi. Sifat daya emulsi yang lebih baik dari protein globulin 7S berkorelasi dengan tingginya rasio difusi interface dan dimungkinkan karena ikatan disulfida pada fraksi globulin 11S yang menghambat *unfolding* (denaturasi) dan menurunkan interaksi pada air dan minyak (Zayas, 1997). Kestabilan dari globulin 7S menurun pada titik isoelektrik (pH 4,8) sedangkan pada globulin 11S mengalami penurunan pada pH netral. Tingginya daya emulsi dari protein koro kratok manik memungkinkan digunakan sebagai *emulsifier* pada pembuatan roti atau bahan pangan lainnya.

Gelasi merupakan proses pembentukan gel antara gugus hidrofobik, interaksi ionik dan ikatan disulfida dari polipeptida yang tidak berlipat. Gel yang terbuat dari globulin 7S mempunyai tingkat kemuluran dan regangan yang lebih lemah dari fraksi globulin 11S. Gel yang terbuat dari globulin 11S didukung oleh ikatan disulfida sedangkan pada globulin 7S didukung oleh ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik (Utsumi dan Kinsella, 1985). Seperti yang tercantum dalam Zayas (1997) bahwa sedikitnya ikatan disulfida pada globulin 7S akan menurunkan kemampuan untuk membentuk gel. Ikatan disulfida baik inter maupun intra molekuler yang terdapat pada globulin 11S menyebabkan kekerasan gel yang dihasilkan dari globulin 11S lebih besar dari globulin 7S. Protein globulin 11S ini jika digunakan untuk pembuatan tahu diprediksikan akan menghasilkan tahu dengan kekerasan yang lebih kompak daripada tahu dari globulin 7S.

Globulin 7S dari koro kratok manik diprediksikan mempunyai daya buih yang tinggi. Hal ini dikarenakan globulin 7S yang tidak mengandung grup sulfhidril dan rendahnya ikatan disulfida. Ikatan disulfida yang banyak terdapat pada globulin 11S menghambat terbentuknya lapisan film yang menyelubungi rongga udara. Daya buih yang tinggi memungkinkan koro kratok manik dapat digunakan untuk pembuatan minuman bersoda, *ice cream*, atau pembuatan roti.

4.4 Penentuan Berat Molekul dengan Elektroforesis SDS-PAGE

Protein yang telah difraksinasi selanjutnya ditentukan berat molekulnya dengan menggunakan elektroforesis SDS-PAGE. Elektroforesis SDS-PAGE terdiri dari dua gel yaitu *resolving gel* (gel pemisah) dan *stacking gel* (gel penumpuk).

Protein yang akan diketahui berat molekulnya, terlebih dulu ditentukan kadar protein terlarutnya dengan menggunakan metode Lowry untuk diketahui volume penyuntikan dan penambahan buffer sampelnya. Adanya SDS dan 2-mercaptoetanol dalam buffer sampel akan memecah struktur tiga dimensi protein terutama ikatan disulfida menjadi sub unit polipeptida secara individual.

SDS dan protein akan membentuk senyawa kompleks menjadi SDS-protein. Senyawa kompleks tersebut terbentuk karena SDS yang melingkupi gugus protein sehingga mempunyai muatan negatif yang sama. Pergerakan senyawa kompleks SDS-protein tidak dipengaruhi oleh muatan senyawa melainkan berdasarkan ukuran molekul. Molekul SDS-protein dengan ukuran lebih besar mempunyai mobilitas yang lebih rendah dibandingkan dengan molekul kompleks yang lebih kecil.

Untuk mengetahui berat molekul dari masing-masing protein dapat diketahui dengan menggunakan kit penciri protein (marker) dengan kisaran berat molekul rendah. Nilai R_f didapatkan dari hasil pembagian antara jarak perpindahan sampel dengan jarak perpindahan pelarut. Tabel 7 akan memberikan suatu korelasi antara nilai R_f dengan $\log BM$ untuk menghasilkan kurva standar. Persamaan standar tersebut digunakan untuk mengetahui berat molekul protein berdasarkan nilai R_f -nya.

Tabel 7. Nilai Berat Molekul dan Rf dari Kit Penciri Protein BM Rendah

Protein	Berat Molekul (KD)	Rf
Albumin (Bovine serum)	66	0,385
Albumin (Chicken Egg)	45	0,462
Carbonic anhydrase	29	0,523
α -lactalbumin	14,2	0,677

Dari data tersebut diperoleh persamaan antara Rf dan log BM sebagai berikut :

$$\text{Log BM} = -2,3058 \text{ Rf} + 2,7018$$

$$R^2 = 0,9937$$

Persamaan Log BM = -2,3058 Rf + 2,7018 digunakan untuk mengetahui perkiraan berat molekul dari albumin, globulin, globulin 7S dan 11S. Nilai Rf dari masing-masing sub unit protein dimasukkan dalam persamaan tersebut. Tabel 8 akan menyajikan fraksi dari masing-masing protein dan perkiraan berat molekulnya.

Tabel 8. Mobilitas Relatif (Rf) dan Perkiraan Berat Molekulnya

No	Albumin		Globulin		Globulin 7S		Globulin 11S	
	Rf	BM (kD)	Rf	BM (kD)	Rf	BM (kD)	Rf	BM (kD)
1	0,894	4,3693	0,354	76,8328	0,308	98,0875	0,421	53,8342
2			0,37	70,5755	0,385	65,1729	0,491	37,1238
3			0,385	65,1729	0,692	12,7699	0,824	6,33608
4			0,462	43,3032	0,769	8,48476		
5			0,523	31,3232	0,815	6,64619		
6			0,615	19,2191				
7			0,692	12,7699				
8			0,738	10,0028				

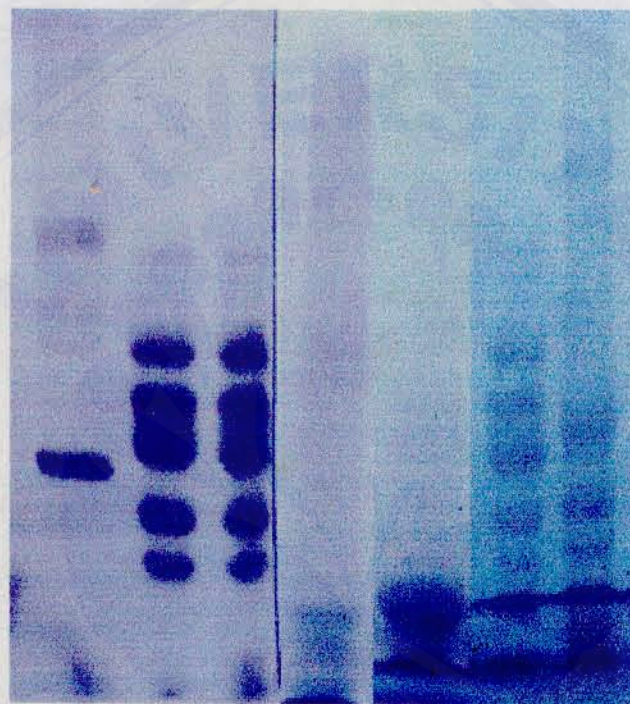
Fraksi pada protein tersebut terdiri dari fraksi mayor dan fraksi minor dimana fraksi mayor menunjukkan intensitas dan ketebalan warna yang lebih besar dibandingkan dengan fraksi minor. Fraksi mayor juga menunjukkan bahwa konsentrasi yang terkandung dalam protein tersebut tergolong tinggi (Widowati dan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

Albumin mempunyai satu fraksi yang berat molekulnya 4,3693 kD dan merupakan fraksi mayor.

Globulin yang terdiri dari delapan fraksi mempunyai berat molekul antara 76,8328 kD hingga 10,0028 kD. Dua diantaranya merupakan fraksi minor pada fraksi nomor 2 dan 3 yang mempunyai berat molekul sebesar 70,5755 kD dan 65,1729 kD. Sedangkan keenam fraksi lainnya merupakan fraksi mayor dengan berat molekul 43,3032 kD; 31,3232 kD; 19,2191 kD; 12,7699 kD dan 10,0028 kD.

Globulin 7S yang terdiri dari lima fraksi mempunyai kisaran berat molekul antara 98,075 kD hingga 6,64619 kD. Dua diantaranya merupakan fraksi minor yaitu pada fraksi nomor 1 dan 2 dengan berat molekul 98,075 kD dan 65,1729 kD. Tiga fraksi lainnya merupakan fraksi mayor dengan berat molekul 12,7699 kD; 8,48476 kD dan 6,64619 kD.

Globulin 11S terdiri dari tiga fraksi dengan berat molekulnya sebesar 53,8342 kD; 37,1238 kD dan 6,33608 kD.



Marker Glob Glob 11S Alb Glob Glob 7S

Gambar 5. Elektroforesis SDS PAGE Globulin, Globulin 7S, Globulin 11S dan Albumin

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat diambil suatu kesimpulan bahwa :

1. Koro kratok (*Phaseolus lunatus* L) manik mempunyai bentuk bulat yang memanjang dan agak sintal dengan panjang 1,335 cm, lebar 0,731 cm, dengan tebal 0,634 cm dan berat 0,457 gram. Warna dari koro kratok manik ini didominasi oleh warna merah yang diperkuat dengan nilai Hue sebesar 44,764°. Biji koro kratok manik mempunyai ketebalan kulit 0,079 mm dan nilai BDD sebesar 88,231 %. Luas penampang bijinya sebesar 1,430 cm² dan volume biji koro kratok manik 3,405 ml per 10 biji. Koro kratok manik digolongkan dalam kacang lima (*Lima Bean*) dengan kulit berwarna merah.
2. Koro kratok manik terdiri dari karbohidrat sebesar 65,094%, protein sebesar 17,109 %. Kandungan lemak yang cukup rendah 0,487 % dengan kadar air sebesar 14,294 % dan kadar abunya 3,017 %. Hasil ini menunjukkan bahwa koro kratok manik sangat berpotensi sebagai pengganti protein hewani bagi vegetarian.
3. Albumin dalam koro kratok manik sebesar 38,98 %, globulin 25,42 %, glutelin 35,60 %, prolamin mempunyai konsentrasi terlalu kecil sehingga tidak teridentifikasi. Albumin mempunyai tingkat WHC yang lebih tinggi dibandingkan dengan OHC-nya.
4. Rasio globulin 7S dan 11S sebesar 2,79, hal ini menunjukkan bahwa globulin 7S lebih mendominasi daripada globulin 11S. Sehingga sifat fungsional dari globulin 7S lebih menonjol daripada globulin 11S dan dalam bentuk pengaplikasiannya lebih cocok digunakan sebagai *emulsifier* dalam pembuatan roti atau *ice cream*.
5. Berat molekul protein yang ditentukan dengan elektroforesis SDS-PAGE menunjukkan bahwa albumin terdiri dari satu fraksi mayor dengan berat

molekul 4,3693 kD. Globulin yang terdiri dari delapan fraksi dengan berat molekul antara 76,8328 kD hingga 10,0028 kD. Dua diantaranya merupakan fraksi minor dengan berat molekul 70,577 kD dan 65,1729 kD. Enam lainnya merupakan fraksi mayor yang berat molekulnya sebesar 76,8328 kD; 43,3032 kD; 31,3232 kD; 19,2192 kD; 12,7699 kD dan 10,0028 kD. Globulin 7S dengan lima fraksi dengan kisaran berat molekulnya sebesar 98,0875 kD hingga 6,64619 kD. Fraksi minor pada fraksi nomor 1 dengan berat molekul 98,0875 kD. Sedangkan untuk globulin 11S mempunyai tiga fraksi mayor dengan berat molekulnya sebesar 53,8342 kD; 37,1238 kD dan 6,33608 kD.

5.2 Saran

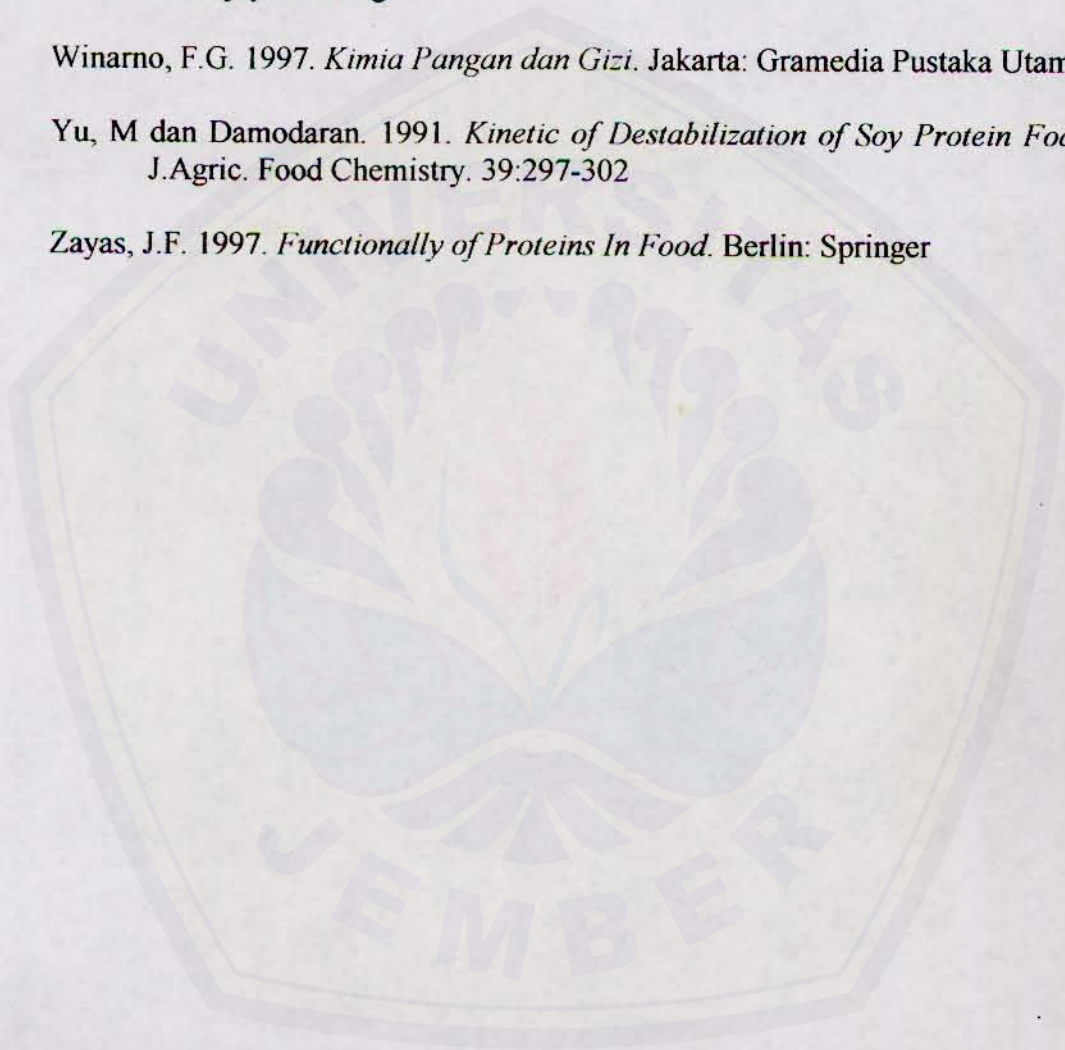
1. Perlu dilakukannya penelitian untuk mengetahui titik isoelektrik dari globulin 7S dan 11S untuk setiap jenis koro
2. Perlunya dilakukan penelitian untuk mengetahui sifat fungsional dari koro kratok manik
3. Dilakukannya suatu bentuk aplikasi dari koro kratok manik sebagai pangan fungsional.

DAFTAR PUSTAKA

- Aurand, C.W dan A.F. Woods. 1973. *Food Chemistry*. Wesport Connecticut: The Avi Publishing Co. Inc
- Bonvehi, J.S dalam Bonvehi, J.S and F, Ventura Coll. 1999. *Protein Quality Assessment in Cocoa Husk*. Canada: Food Research International
- Copeland, R.A. 1994. *Methods for Protein Analysis*. New York: Chapman and Hall
- Damodaran, S. 1997. *Food Proteins and Their Applications*. New York: Marcell Dekker. Inc
- Dieckert, J.W. dan M.C. Dieckert, dalam Altschul, Aaron M and Harold L. Wilcke. 1985. *New Protein Foods*. Orlando: Academic Press
- Friedman, M. 1996 dalam Subagio, A, Wiwik Siti Windrati, Yuli Witono. 2002. *Protein Albumin dan Globulin dari Beberapa Jenis Koro-koroan di Indonesia*. Prosiding Seminar Nasional PATPI, Malang 30-31 Juli 2002
- Harrow, B and Abraham Mazur. 1962. *Text Book of Chemistry*. United States of America: W.B. Saunders Company
- Hettiarachchy, N.S and Ziegler. 1994. *Protein Functionally in Food Systems*. New York: Marcell Dekker. Inc
- Iwabuchi and Yamauchi. 1987. dalam Windrati S.W. 1999. *Studi Pembuatan tahu dengan Substitusi Non Kedelai dan Pengaruhnya Terhadap Perubahan Komposisi Globulin 7S dan 11S Serta Sifat-sifat Tahu*. Malang: Tesis. Program Pasca Sarjana Universitas Brawijaya Malang
- *Electrophoretic Analysis of Whey Proteins Present on Soybean Globulin Fraction*. J. Agric. Food Chemistry, 35: 205-209
- Maesen dan Somaatmadja. 1993. *Prosea, Sumber Daya Nabati Asia Tenggara I*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama
- Koswara. 1995. *Teknologi Pengolahan Kedelai*. Jakarta: Pustaka Sinar Harapan
- Matthews, R.H. 1989. *Legumes, Chemistry, Technology and Human Nutrition*. United states of America: Marcell Dekker. Inc

- Newman, C.W., Roth, N.R. and Lockermen, R.H. 1987 dalam Subagio, A, Wiwik Siti Windrati, Yuli Witono. 2002. *Protein Albumin dan Globulin dari Beberapa Jenis Koro-koroan di Indonesia*. Prosiding Seminar Nasional PATPI, Malang 30-31 Juli 2002
- Nielsen, N.C. 1985 dalam Subagio, A, Wiwik Siti Windrati, Yuli Witono. 2002. *Protein Albumin dan Globulin dari Beberapa Jenis Koro-koroan di Indonesia*. Prosiding Seminar Nasional PATPI, Malang 30-31 Juli 2002
- Rubatzky, V.E dan Mas Yamauguchi. 1998. *Sayuran Dunia 2*. Bandung: ITB Bandung
- Sackleim, G.I and Ronald M.S. 1977. *Chemistry for The Health Science*. New York: Macmillan Publishing Co.Inc
- Sastrapradja, S., Lubis, S.H.A., Djajakusuma E., Sutarno H dan Lubis, J. 1981. dalam Windrati S.W. 1999. *Studi Pembuatan tahu dengan Subtitusi Non Kedelai dan Pengaruhnya Terhadap Perubahan Komposisi Globulin 7S dan 11S Serta Sifat-sifat Tahu*. Malang: Tesis. Program Pasca Sarjana Universitas Brawijaya Malang
- Sugijanto dan Manulang. 2001. *Pembuatan Protein Konsentrat Wheat Pollard sebagai Pemanfaatan Hasil Samping Penggilingan Gandum*. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan vol. XII no. 1: 54-69
- Stryer, L. 1996. *Biokimia I vol 1 edisi 4*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Sudarmadji, S.B Haryono dan Suhardi. 1997. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama
- Suhardi. 1989. *Kimia dan Teknologi Protein*. PAU. Pangan dan Gizi. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada
- Syarief, R dan Anies I. 1986. *Pengetahuan Bahan Untuk Industri Pertanian*. Jakarta: PT Melton Putra
- Tanh dan Shibasaki. 1976 dalam Widowati, S dan Sri Kusuma Susi Wijaya. 1997. *Isolasi dan Karakterisasi Globulin 7S dan Globulin 11S dari Sepuluh Varietas Kedelai di Indonesia*. Prosiding Seminar Teknologi Pangan
- Utsumi, S dan J.E. Kinsella. 1985. dalam Widowati, S dan Sri Kusuma Susi Wijaya. 1997. *Isolasi dan Karakterisasi Globulin 7S dan Globulin 11S dari Sepuluh Varietas Kedelai di Indonesia*. Prosiding Seminar Teknologi Pangan

- Widowati, S dan Sri Kusuma Susi Wijaya. 1997. *Isolasi dan Karakterisasi Globulin 7S dan Globulin 11S dari Sepuluh Varietas Kedelai di Indonesia*. Prosiding Seminar Teknologi Pangan
- Windrati S.W. 1999. *Studi Pembuatan tahu dengan Substitusi Non Kedelai dan Pengaruhnya Terhadap Perubahan Komposisi Globulin 7S dan 11S Serta Sifat-sifat Tahu*. Malang: Tesis. Program Pasca Sarjana Universitas Brawijaya Malang
- Winarno, F.G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama
- Yu, M dan Damodaran. 1991. *Kinetic of Destabilization of Soy Protein Foams*. J.Agric. Food Chemistry. 39:297-302
- Zayas, J.F. 1997. *Functionally of Proteins In Food*. Berlin: Springer



Lampiran 1. Sifat Koro Kratok

A. Sifat Fisik

1. Sifat tebal, berat, lebar dan panjang

Biji ke-	Panjang (cm)	Lebar (cm)	Tebal (cm)	Berat (gram)
1	1,27	0,7	0,68	0,431
2	1,38	0,71	0,65	0,484
3	1,38	0,81	0,61	0,46
4	1,38	0,8	0,62	0,493
5	1,41	0,76	0,62	0,494
6	1,24	0,75	0,61	0,433
7	1,4	0,71	0,69	0,506
8	1,31	0,69	0,6	0,447
9	1,3	0,7	0,65	0,429
10	1,28	0,68	0,61	0,391
Rerata	1,335	0,731	0,634	0,4568
SD	0,061508807	0,046296148	0,031692972	0,0369618

2. Bagian Dapat Dimakan

Biji ke-	Berat biji utuh (gram)	Berat biji (gram)	Berat kulit (gram)	BDD (%)
1	0,959	0,851	0,106	88,94682
2	0,887	0,787	0,091	89,740699
3	0,877	0,762	0,103	88,255416
4	0,771	0,665	0,096	87,548638
5	0,844	0,742	0,102	87,914692
6	0,873	0,756	0,107	87,743414
7	1,01	0,881	0,12	88,118812
8	0,843	0,734	0,105	87,544484
9	0,917	0,79	0,11	88,004362
10	0,93	0,817	0,107	88,494624
			Rerata	88,231196
			SD	0,6831582

3. Ketebalan Kulit

Biji ke-	Tebal (mm)
1	0,05
2	0,09
3	0,075
4	0,055
5	0,09
6	0,08
7	0,07
8	0,09
9	0,1
10	0,09
Rerata	0,079
SD	0,016465452

4. Volume Biji

Biji ke-	Gelas kosong (gram)	Gelas dan air (gram)	Air (gram)	Volume
1	1.458	4.526	3.068	3.0769231
2	1.505	4.94	3.435	3.4449905
3	1.505	4.798	3.293	3.3025775
4	1.506	5.019	3.513	3.5232173
5	1.458	5.299	3.841	3.8521713
6	1.458	4.569	3.111	3.1200481
7	1.46	4.859	3.399	3.4088858
8	1.461	5.31	3.849	3.8601946
9	1.459	4.545	3.086	3.0949754
10	1.458	4.811	3.353	3.362752
			Rerata	3.4046736
			SD	0.2828379

5. Warna

Biji ke-	dE	dL	da	db	c	db/da	H
1	27,9	-26,8	4,5	6,5	7,9056	1,4444	61,44
2	31	-29,7	7	5,3	8,78	0,7571	41,26
3	31,7	-30,9	5,5	5	7,433	0,9091	46,97
4	34,1	-33,7	4,8	2,6	5,4589	0,5417	31,6
5	28,7	-27,2	6,9	6,1	9,2977	0,8841	46,08
6	33,4	-32,9	4,5	2,8	5,3	0,6222	35,43
7	27,7	-26,1	6	6,7	8,9938	1,1167	53,51
8	31,5	-30,6	5,4	4,8	7,2249	0,8889	46,26
9	28	-26,7	5,1	6,6	8,3408	1,2941	58,12
10	33,2	-32,7	5,1	2,3	5,5946	0,451	26,97
Rerata	30,72	-29,73	5,48	4,87	7,4329		44,764
SD		2,8694	0,89914	1,72437	1,5146		11,2107

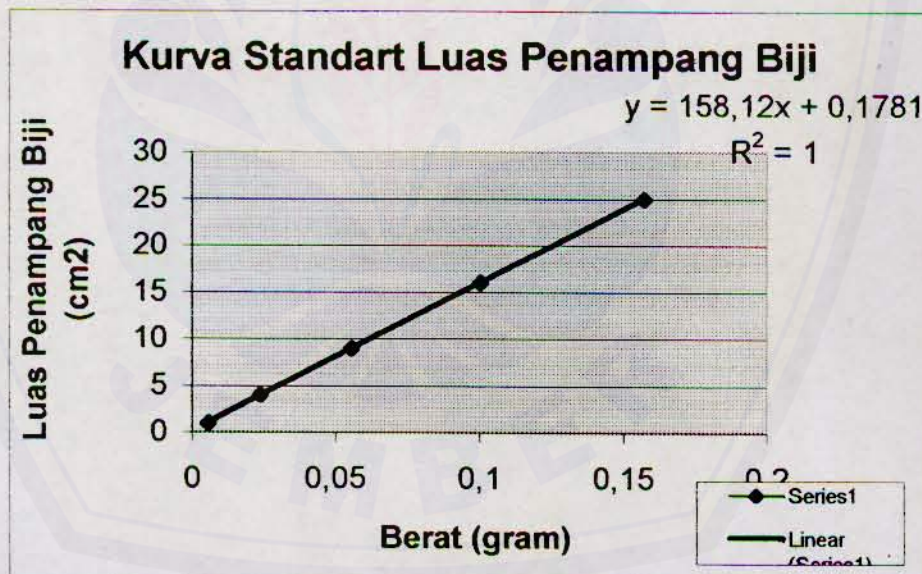
L = 70,27

6. Luas Penampang Biji

Kurva Standart

Luasan/Berat	1 cm	4 cm	9 cm	16 cm	25 cm
1	0,006	0,022	0,054	0,096	0,155
2	0,007	0,024	0,056	0,1	0,156
3	0,006	0,025	0,057	0,101	0,154
4	0,005	0,023	0,055	0,102	0,158
5	0,004	0,025	0,056	0,102	0,162
Rerata	0,0056	0,0238	0,0556	0,1002	0,157

X	Y
0,0056	1
0,0238	4
0,0556	9
0,1002	16
0,157	25



B. Sifat Kimia

1. Kadar Protein

No. Sampel	Berat Sampel	% N	% Protein
1	0,3161	2,74918	17,18235
2	0,3371	2,72583	17,03641
Rerata			17,10938
SD			0,10319516

2. Kadar Abu

No. sampel	a	b	c	% Kadar Abu
1	11,064	12,14	11,097	3,066914498
2	11,914	13,06	11,948	2,966841187
Rerata				3,016877842
SD				0,070762517

3. Kadar Air

No. sampel	Berat sampel	b	c	% Kadar Air
1	1,176	12,836	12,668	14,28571429
2	0,895	10,608	10,48	14,30167598
Rerata				14,29369513
SD				0,011286621

4. Kadar Lemak

No. Sampel	Berat Sampel	b	c	%K. Lemak
1	2,081	2,388	2,377	0,528592023
2	2,021	2,323	2,314	0,445324097
Rerata				0,48695806
SD				0,058879315

5. Kadar Karbohidrat

Ulangan	Protein	K. Abu	K. Air	K. Lemak	Karbohidrat
1	17,182	3,067	14,286	0,529	64,936
2	17,036	2,966	14,302	0,445	65,251
Rerata					65,0935
SD					0,22273864

C. Fraksi Protein Berdasarkan kelarutan

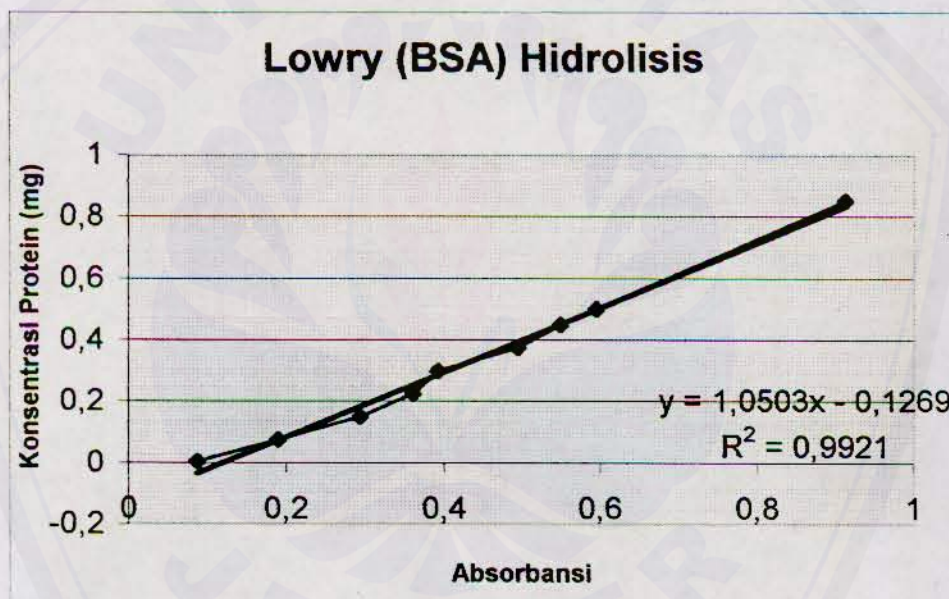
	Absorbansi	Konsentrasi	Berat (mg)	Kadar (%)
Albumin	0,489	0,3866967	77,33934	38,98792178
Globulin	0,721	0,6303663	50,429304	25,42216884
Glutelin	0,793	0,7059879	70,59879	35,58990938
Prolamin	0,021	ND	ND	ND
			198,367434	

D. Fraksi Protein Berdasarkan Sedimentasi (Globulin 7S dan 11S)

	Absorbansi	Konsentrasi	Berat (mg)	Kadar (%)
Globulin 7S	0,273	0,1598319	31,96638	1,2786552
Globulin 11S	0,257	0,1430271	11,442168	0,45768672

Lampiran 2. Persamaan Standar Lowry

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



Lampiran 3. Persamaan Standar Elektroforesis

X	Y
0.385	1.819544
0.462	1.653213
0.523	1.462398
0.677	1.152288

