

KARAKTERISASI SIFAT FISIKOKIMIA DAN FUNGSIONAL
ISOLAT PROTEIN KORO KOMAK
(Lactobacillus purpureus (L.) Sweet)

KARYA ILMIAH TERTULIS
(SKRIPSI)



Asal:	Madiah Pembelian	Klass 637.67 UTA K e 1
Terima/tgl:		
No. Induk:		
Pengkatalog:	<i>[Signature]</i>	

Oleh :

KACADG-LACANGAN

Wahyu Utami
NIM. 001710101109

FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2004

Dosen Pembimbing :

Ir. Achmad Subagio, M.Agr, PhD (DPU)

Ir. Wiwik Siti Windrati, MP (DPA I)

Ir. Giyarto, MSc (DPA II)

Diterima oleh:

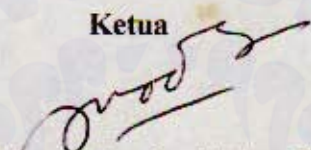
**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN UNIVERSITAS JEMBER**
Sebagai Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi)

Dipertanggungjawabkan pada:

Hari dan Tanggal : Jum'at, 20 Februari 2004
Jam : 13.00 WIB
Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember

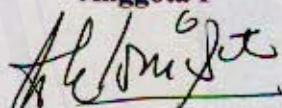
Tim Penguji :

Ketua

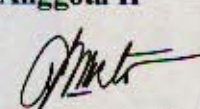

Ir. Achmad Subagio, M.Agr, PhD

NIP. 131975306

Anggota I

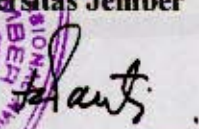

Ir. Wiwik Siti Windrati, MP
NIP. 130787732

Anggota II


Ir. Giyarto, MSc
NIP. 132524412

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember




Ir. Hj. Siti Hartanti, MS

NIP. 130350763

M O T T O

*Manusia tidak akan pernah hidup dalam keadaan damai
sampai kita mengetahui kebiasaan yang ada
dalam diri kita masing-masing*

*Kebahagiaan adalah hasil dari membuat rangkaian bunga
dari bunga-bunga yang berada dalam jangkauan*

*Rangkul hal-hal yang tak tertuga.
Itulah yang membuat hidup jadi menarik*

(ALL MY SELF)

P E R S E M B A H A N

Alhamdulillah rabbil' aiamin atas rahmat dan hidayah Mu
ya Allah SWT yang telah menciptakan hamba dengan segala
kesempurnaan yang tidak ternilai

Nabi Muhammad SAW yang telah memberikan pedoman-pedoman hidup
tuk menuju jalan kebenaran-Nya

Bapak Ibu ku di Te-Em-Ge, tiada kata yang dapat terungkap
atas doa dan semua yang telah dilakukan selama ini

AAN my "BIG BROTHER" yang walaupun cool and silent,
thank's atas sayang yang tersembunyi
dan senyum mungil yang manis itu
teruskan langkah mu

Keluarga di Es-Te-Be, Bapak Ibuku, dik Irma my "little brother", and
uthi yang telah menganggap ku sebagai anak sendiri

DOSEN PEMBIMBING dan **DOSEN WALI** ku yang kuhormati, terima kasih atas
segala bimbingan, nasehat, dan bantuan yang telah diberikan kepada
penulis dalam menyelesaikan skripsi.
Kalian bagaikan orang tua kedua bagi ku.
Jasamu akan selalu penulis ingat sampai kapanpun

*Mengajarkan ku tuk menjalani cobaan hidup dengan sabar,
but tetep yakin bahwa sukses harus dengan usaha keras diri sendiri.
Suka duka bersama mu tlah mewarnai hidupku di Jember.
Semoga jalan kita slalu di ridhoi Nya. THANK'S YA2NK.*

My best friend, thank's atas
tawa, lelucon, kumpul2, curhat, makan2, ngerumpi, and bete bareng.
Walaupun sebentar ku mengenal kalian,
tapi persahabatan ini jangan sampai lenyap tak berbekas.
CEPETAN LULUS YACH!

NIZK (kapan ya kita bisa pergi kemana2 dengan kendaraan W itu?),
SAVITA (tetaplah jadi event organizer yang hebat specially hal makan memakan, and
otbok2 nya paketin ke TMG yach), **NANI CH** (Rambut nya dipanjangin dong, and jangan
lama2 main ma enzim), **NANING** (jangan cepet panix, santai aja lagi),

YAN YULI (jalanlah dengan berani yul, jangan nunggu orang lain dan jangan keseringan pulang, kita khan udah dewasa), **MOENIER** (kerja keras nir and don't worry cewex2 pasti ngariin kamu, percaya dech), **YOZK** (gimana jadi buka perush isolat nggak? Klo married undang2), **DONO** (usaha sambilennya gimana, moga laris and cepet buka cabang, ntar ku bantu dech), **CHISAN** (kalender ku kok nggak diganti sich, jaga kesehatan n banyak minum), **ANDREW** (jadi orang yang sabar and jangan cepet naik darah, cuek is forever OK), **MBAK RIKA** (makacih udah minjemin komputer walaupun hanya 1 malam), **MAS FAJAR** (makacih dah nganterin aku ke mana2, klo dah lulus jalan2 lagi ya), **INGGRIT** (walaupun ditinggal ke Jepang jangan patah semangat), **ADI P** (jangan takut ama pak polisi, and jangan mikirin cewex dulu dech), **AZHAR** (sorry jadi ngerepotin msl HaPe)

ALL MY FRIEND ANGKATAN 2000 T H P N T E P
yang tlah mensupport and menemani ku selama studi

ADIK2 ANGKATAN 2001 (maaf klo mbak punya salah saat jadi asisten)
teruskan langkah kalian semua

BOEAT ALL THE 16 GIRLS IN KALEM TUA
Bersama kalian telah menghapus duka ku di Jember
Semoga kemudahan slalu menyertai

Reni (rajin belajar mumpung masih semester awal), **Riska** (klo jadi married undang mbak), **Siwi** (nanti paketin aku mentimun), **Efi** (nggak usah dipikirin si Y itu), **Ika eko** (sabar aja jangan stress mikirin ke-prog mu), **Mbak Sulis** (ajarin aku untuk jadi wanita sholehah), **Maria** (jadilah dokter gigi yang baek hati), **Anjang** (jangan takut kamu pasti bisa mengejar ketertinggalan mu), **Tavit** (tenang and nggak usah mikir berat2), **Ika mat** (jangan pulang terus kita khan udah dewasa), **Mbak Endah** (kalkulator nya hebat lho, makacih banyak), **Erick** (yang sabar klo ke lab), **Mbak Ida** (gimana pak tik, udah ketemu belum?), **Vita** (salam buat pak iwan yach), **Nita** (ntar kecapcan klo ngetik terus), **Elok** (salam buat pak wahyu subchan), **Mbak Uthi** (kapan2 ajak aku ke Kalimantan), **Mbak Anis** (kapan ya kita bareng ke tangerang)

OSAKA CS

Mas2 semua, makasih dah ngebantu aku ngerental
pagi siang sore n malem

TOGA MAS CS

Thanks tlah memberi ku pengalaman, n membaca sepuasnya

**TUK SEMUA PIHAK YANG SELALU NGEDUKUNG
DAN MENDOAKAN KU**

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul "**Karakterisasi Sifat Fisikokimia Dan Fungsional Isolat Protein Koro Komak (*lablab purpureus (L.) Sweet*)**".

Dalam penyusunan skripsi ini penulis telah dibantu oleh berbagai pihak. Untuk itu penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

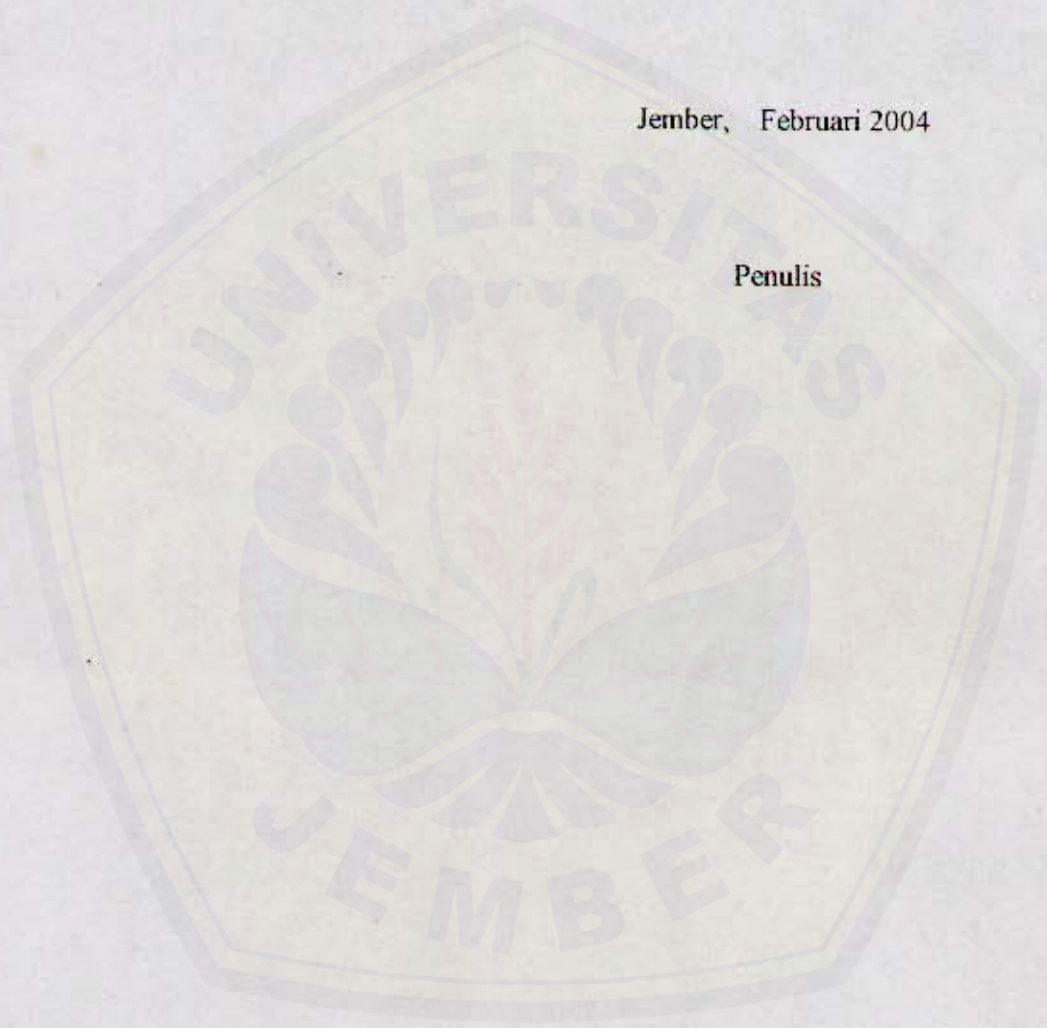
1. Ir. Hj. Siti Hartanti, MS selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
2. Ir. Susijahadi, MS selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian.
3. Ir. Achmad Subagio, M.Agr, PhD selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU) yang telah sepenuh hati membimbing, mengarahkan, memberi kemudahan dan bantuan bagi penulis demi kesempurnaan skripsi ini.
4. Ir. Wiwik Siti Windrati, MP selaku Dosen Pembimbing Anggota I (DPA I) yang telah memberikan bantuan, pengertian dan perhatian, membimbing dan mengarahkan penulis demi kesempurnaan skripsi ini.
5. Ir. Giyarto, Msc selaku Dosen Pembimbing Anggota II (DPA II) yang telah memberikan koreksi, saran, dan dukungan demi kesempurnaan skripsi ini.
6. Nita Kuswardhani, STP selaku Dosen Wali yang telah banyak memberikan kemudahan dan dukungan selama studi hingga skripsi ini terselesaikan.
7. Seluruh teknisi laboratorium, Mbak Ketut, Mbak Sari, Mbak Wim, Mbak Widi, Mas Mistar, Mas Tasor, Mas Dhian, yang telah membantu selama penelitian ini.
8. Seluruh staff dan karyawan di Fakultas Teknologi Pertanian yang telah banyak membantu penulis selama studi.
9. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan di dalamnya ibarat "Tak ada gading yang tak retak". Oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang sifatnya membangun demi tercapainya kesempurnaan skripsi ini.

Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi kita semua dan dapat menambah wawasan serta pengetahuan bagi siapa saja yang membaca skripsi ini.

Jember, Februari 2004

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
DOSEN PEMBIMBING.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
MOTTO	iv
PERSEMBAHAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
RINGKASAN	xv
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Masalah Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tanaman Koro Komak.....	5
2.2 Protein	7
2.3 Isolat Protein	8
2.3.1 Isolat Protein Koro Komak dan Sifat Fungsional	9
2.3.1.1 Kelarutan Protein	10
2.3.1.2 Water Holding Capacity.....	11
2.3.1.3 Oil Holding Capacity	11
2.3.1.4 Daya Emulsi	12
2.3.1.5 Pembentukan Gel	12

2.3.1.6 Daya Buih.....	13
2.3.2 Isolat Protein Kedelai (<i>Soy Protein Isolate</i>)	13
2.4 Teknik Fraksinasi Penyusun Protein	14
2.5 Warna dan Rendemen	14

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat Penelitian	15
3.1.1 Bahan Penelitian.....	15
3.1.2 Alat Penelitian	15
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	15
3.2.1 Tempat Penelitian	15
3.2.2 Waktu Penelitian	16
3.3 Metode Penelitian.....	16
3.3.1 Rancangan Penelitian	16
3.4 Pelaksanaan Penelitian	16
3.4.1 Penentuan pH Isoelektrik	16
3.4.2 Preparasi Isolat Protein	18
3.5 Prosedur Pengamatan	20
3.5.1 Sifat Fisik	20
3.5.1.1 Warna	20
3.5.1.2 Rendemen.....	20
3.5.2 Sifat Kimia	21
3.5.2.1 Kadar Gula Total.....	21
3.5.2.2 Kadar Pati.....	21
3.5.2.3 Kadar Abu	21
3.5.2.4 Kadar Air.....	22
3.5.2.5 Kadar Lemak.....	22
3.5.2.6 Analisa Protein	23
3.5.2.7 Elektroforesis	23

3.5.3 Sifat Fungsional.....	24
3.5.3.1 Kelarutan Protein dalam Berbagai pH.....	24
3.5.3.2 Daya Emulsi dan Stabilitas Emulsi	24
3.5.3.3 Oil Holding Capacity	24
3.5.3.4 Water Holding Capacity (WHC).....	25
3.5.3.5 Daya Buih.....	25
IV. PEMBAHASAN	
4.1 Penentuan Titik Isoelektrik	26
4.2 Rendemen.....	27
4.3 Warna	27
4.4 Komposisi Kimia.....	28
4.4.1 Komposisi Kimia IPKK Secara Proksimat.....	28
4.4.2 Fraksi Protein Penyusun IPKK	29
4.5 Sifat Fungsional	31
4.5.1 Kelarutan Protein pada Berbagai pH.....	31
4.5.2 Daya Buih.....	33
4.5.3 Oil Holding Capacity (OHC)	35
4.5.4 Water Holding Capacity (WHC).....	36
4.5.5 Daya Emulsi	37
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	40
5.2 Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel	Nama Tabel	Halaman
1.	Komposisi kimia koro komak pada berbagai tingkat kematangan dalam 100 g bahan	6
2.	Sifat fisik koro komak yang banyak tumbuh di Indonesia	6
3.	Sifat fungsional protein dalam berbagai sistem / produk makanan	10
4.	Komposisi kimia isolat protein kedelai	14
5.	Komponen warna IPKK	27
6.	Komposisi kimia IPKK secara proksimat	28
7.	Mobilitas relatif (Rf) dan BM pada marker	29
8.	Mobilitas relatif (Rf) dan perkiraan BM pada IPKK	29
9.	Mobilitas relatif (Rf) dan perkiraan BM pada biji koro komak	31
10.	Daya dan Stabilitas Buih pada IPKK dan ISP	34
11.	Oil Holding Capacity dari IPKK dan ISP	35
12.	Water Holding Capacity dari IPKK dan ISP	36

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Nama Gambar	Halaman
1.	Struktur protein oleh ikatan peptida	7
2.	Penentuan pH isoelektrik isolat protein koro komak	17
3.	Prosedur pembuatan isolat protein koro komak	19
4.	Hubungan antara pH dengan konsentrasi protein pada penentuan pH isoelektrik	26
5.	SDS-PAGE isolat protein koro komak (Lablab purpureus (L) Sweet)	30
6.	Hubungan antara pH dan % kelarutan protein pada ISP dan IPKK	32
7.	EAI pada IPKK.	38
8.	EAI pada ISP	38
9.	Grafik kurva standar analisa protein	44
10.	Grafik kurva standar analisa pati	45
11.	Grafik kurva standar penentuan fraksi protein penyusun	46

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Nama Lampiran	Halaman
1.	Kurva Standar Lowry dengan Hidrolisa	44
2.	Kurva Standar Gula reduksi Metode Nelson Somogy	45
3.	<i>Standar Elektroforesis</i>	46
4.	Penentuan pH Isoelektrik	47
5.	Rata-rata Rendemen IPKK	47
6.	Komponen Warna IPKK	47
7.	Rata-rata Kadar Air IPKK	48
8.	Rata-rata Kadar Abu IPKK	48
9.	Rata-rata Kadar Pati IPKK	48
10.	Rata-rata Kadar Lemak IPKK	49
11.	Kelarutan IPKK dalam Berbagai pH	49
12.	Kelarutan ISP dalam Berbagai pH	50
13.	Rata-rata Daya Buih dan Stabilitas Buih IPKK	50
14.	Rata-rata Daya Buih dan Stabilitas Buih Fraksi Protein IPKK	51
15.	Rata-rata Daya Buih dan Stabilitas Buih ISP	51
16.	Rata-rata Daya Buih dan Stabilitas Buih Fraksi Protein ISP	51
17.	Rata-rata Oil Holding Capacity (OHC) IPKK	52
18.	Rata-rata Oil Holding Capacity (OHC) Fraksi Protein IPKK	52
19.	Rata-rata Oil Holding Capacity (OHC) ISP	52
20.	Rata-rata Oil Holding Capacity (OHC) Fraksi Protein ISP	52
21.	Rata-rata Water Holding Capacity (WHC) IPKK	52
22.	Rata-rata Water Holding Capacity (WHC) Fraksi Protein IPKK	53
23.	Rata-rata Emulsifying Activity Indeks (EAI) IPKK	53
24.	Rata-rata Emulsifying Activity Indeks (EAI) ISP	53
25.	Slope IPKK dan ISP	53

Wahyu Utami (001710101109) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember "Karakterisasi Sifat Fisikokimia Dan Fungsional Isolat Protein Koro Komak (*Lablab purpureus (L.) Sweet*)" dibimbing oleh Dr. Ir. Achmad Subagio, M.Agr PhD (DPU), Ir. Wiwik Siti Windrati, MP. (DPA I) dan Ir. Giyarto, MSc. (DPA II).

RINGKASAN

Koro Komak (*Lablab purpureus (L.) Sweet*) tergolong koro-koroan anggota dari tanaman polong-polongan dengan kandungan minyak relatif rendah dan protein yang tinggi. Protein koro-koroan berpotensi sebagai bahan tambahan seperti *emulsifier*, *flavor enhancer*, *texturizer*, *stabilizer* atau sebagai bahan pangan yang bergizi. Adapun arah pengembangan penggunaan dari koro komak salah satunya berupa *Isolat Protein*, dimana merupakan produk hasil ekstraksi dan isolasi protein koro-koroan. Isolat protein koro komak (IPKK) berpotensi sebagai bahan tambahan atau *food ingredient*. Agar IPKK dapat dimanfaatkan secara optimal, maka perlu diketahui karakterisasi sifat fisik, kimia, dan fungsional dari IPKK.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengekstrak dan mengisolasi protein koro komak dengan menggunakan alkali; mengetahui sifat fisik, kimia dan sifat fungsional IPKK.

Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap, yaitu penentuan pH isoelektrik protein koro komak dan pembuatan IPKK. Selanjutnya dilakukan pengujian IPKK meliputi : sifat kimia (kadar air, abu, protein, lemak, gula total, pati dan fraksinasi penyusun protein); sifat fungsional (kelarutan dalam berbagai pH, daya buih, daya emulsi, *oil holding capacity* (OHC), dan *water holding capacity* (WHC)) dan sifat fisik berupa warna dan rendemen. Hasil pengamatan yang diperoleh dianalisa secara deskriptif.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa IPKK yang diekstrak dan diisolasi dengan alkali, diperoleh rendemen 7,38 gram dalam setiap 100 gram biji komak dengan kandungan kimia meliputi kadar protein, air, abu, pati, lemak, dan gula total yang masing-masing sebesar 82,08%; 8,58%; 2,73%; 2,10%; 1,96%; nd (tidak teridentifikasi) atas dasar berat basah. Warnanya putih sedikit kekuningan dengan komponen warna berupa tingkat kecerahan (L) sebesar 95,32; warna a* sebesar 1,76; warna b* sebesar 3,32; intensitas warna (c*) sebesar 3,76; sudut warna (H) 62,09^o, dan derajat keputihan (W) sebesar 93,99. Fraksi protein penyusunnya adalah albumin dan globulin 7 S. Sifat fungsional yang meliputi prosentase kelarutan protein yang berbeda-beda pada berbagai pH, daya buih sebesar 232 ml/g, WHC 321,2%, OHC 254%, dan daya emulsi 2,67 m²/g.

Dengan perbandingan Isolat Protein Kedelai (ISP), beberapa karakterisasi sifat fungsional seperti daya buih, OHC, dan WHC dari IPKK lebih tinggi daripada ISP, sedangkan untuk kelarutan protein pada berbagai pH menunjukkan pola yang hampir sama. Pada daya emulsi IPKK lebih rendah dan stabilitas lebih tinggi daripada ISP.

I. PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Pangan adalah komoditas yang penting dan strategis, karena pangan merupakan kebutuhan pokok manusia yang setiap saat harus dapat dipenuhi. Penduduk Indonesia tahun 2035 diperkirakan akan bertambah menjadi 2 kali lipat yaitu sekitar 400 juta jiwa. Terjadinya peningkatan penduduk tersebut, akan menuntut peningkatan konsumsi pangan per kapita khususnya konsumsi pangan berprotein. Indonesia sebenarnya sangat kaya akan bahan pangan lokal, yang selama dua dasawarsa terakhir ini terabaikan keberadaannya.

Secara umum, bahan pangan pokok nabati bersumber dari 3 kelompok yaitu serealia, umbi-umbian, dan kacang-kacangan (koro-koroan). Berdasarkan prioritas pengembangannya, terdapat komoditas harapan yang belum dibudidayakan secara intensif, dimana penyebarannya relatif terbatas, biasanya hanya sebagai tanaman sela, dan volume penanamannya sangat kecil. Salah satu yang termasuk komoditas harapan ini adalah koro komak (*Lablab purpureus* (L.) Sweet atau *Dolichos lablab* L.), dimana tergolong koro-koroan anggota dari tanaman polong-polongan yang kandungan minyaknya relatif rendah (Subagio dkk, 2002). Jenis koro komak mempunyai beberapa keunggulan yaitu kandungan protein dan kalori tinggi, tidak tergantung kepada pengolahan tanah yang sempurna sehingga biaya produksi lebih murah, penghasil N hayati. Produktivitas rata-ratanya berkisar 1-1,5 ton/ha tanpa pemeliharaan yang intensif, sehingga dengan pemeliharaan yang intensif hasilnya dapat ditingkatkan lagi (Widowati dan Damardjati, 2001).

Menurut Utomo (1999), dibandingkan dengan kedelai, kacang tanah, dan kacang hijau; koro komak mempunyai beberapa keunggulan diantaranya cara budidaya lebih mudah, adaptasi terhadap lingkungan tumbuh lebih luas dan lebih tahan terhadap kekeringan. Koro komak terdapat di beberapa daerah di Jawa Timur seperti di Bondowoso, Situbondo, dan Probolinggo.

Jenis koro komak merupakan salah satu tanaman penting yang dapat digunakan sebagai bahan pangan berprotein, hal itu disebabkan oleh kandungan

protein yang cukup tinggi yaitu berkisar antara 18%-25% dan kandungan lemak yang sangat rendah antara 0,2%-3% (Maessen dan Somaatmadja, 1993). Pengadaannya pun mudah, dan harga lebih murah dibandingkan dengan bahan pangan sumber protein hewani seperti daging dan susu (Utomo, 1999).

Dalam pola pangan penduduk Indonesia, protein nabati masih memegang peranan penting untuk pemenuhan gizi. Diperkirakan bahwa lebih dari 80% protein yang dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia berasal dari protein nabati. Data survei di Jawa Tengah menunjukkan bahwa perbandingan konsumsi protein hewani dan nabati di kota dan di desa berturut-turut adalah 17 : 83 dan 11 : 89 (Widowati dan Damardjati, 2001). Hal ini menunjukkan betapa pentingnya bahan pangan sumber protein nabati, umumnya yang berasal dari kacang-kacangan, termasuk didalamnya koro komak.

Arah pengembangan penggunaan dari koro komak salah satunya berupa *Isolat Protein*, dimana pemanfaatan dari isolat protein ini ditujukan sebagai campuran produk dari daging dan susu (Utomo, 1999). Menurut Clemente, *et al.* (1999) bahwa protein koro-koroan berpotensi sebagai bahan tambahan seperti *emulsifier, flavor enhancer, texturizer, stabilizer* atau sebagai bahan pangan yang bergizi. Isolat protein koro komak ini diharapkan berpotensi sebagai bahan tambahan atau *food ingredient*, mengingat selama ini Indonesia masih mengimpor isolat protein dengan harga yang tergolong mahal. Menurut Subagio, dkk (2003) bahwa isolat protein koro pedang dapat meningkatkan mutu cake. Agar isolat protein koro komak dapat dimanfaatkan secara optimal, maka perlu diketahui karakteristik sifat fisik, kimia, dan fungsional dari isolat protein Koro Komak.

Menurut Sugijanto dan Manulang (2001), bahwa sifat fungsional merupakan sifat selain nutrisi yang akan mempengaruhi fungsi komponen dalam bahan pangan yang akan berpengaruh terhadap karakteristik suatu produk. Sifat fungsional merupakan sifat fisik dan kimia yang memungkinkan suatu bahan menyumbang karakteristik yang diinginkan dalam makanan.

Isolat protein koro komak merupakan protein hasil ekstraksi dan isolasi protein koro-koroan yang berpengaruh terhadap kualitas campuran produk dari daging dan susu, pengikat dan pengemulsi produk daging (Utomo, 1999).

Langkah awal dalam pembuatan isolat ini adalah melakukan ekstraksi dan isolasi yang tepat untuk mendapatkan isolat protein yang siap dimanfaatkan dalam suatu sistem pangan, sehingga pemanfaatannya dapat optimal. Dengan demikian, diharapkan isolat protein koro komak dapat memperkaya protein makanan, sebagai pengikat dan pengemulsi produk daging, *flavor enhancer*, *texturizer*, dan dapat meningkatkan mutu cake.

1.2 Perumusan Masalah

Seperti diketahui biji koro komak mengandung protein tinggi dan minyak yang relatif rendah. Oleh karena itu agar bisa dimanfaatkan secara optimal, perlu diketahui karakterisasi sifat fisik, kimia, dan fungsional. Untuk itu perlu dilakukan ekstraksi dan isolasi yang tepat untuk mendapatkan isolat protein yang siap dimanfaatkan dalam suatu sistem pangan.

Isolat protein akan berpengaruh terhadap suatu mutu produk bila mempunyai sifat fungsional yang baik. Sifat fungsional tersebut meliputi daya kelarutan dalam berbagai pH, daya dan stabilitas emulsi, daya dan stabilitas buih, *Oil Holding Capacity* (OHC), dan *Water Holding Capacity* (WHC). Daya kelarutan dalam berbagai pH berpengaruh terhadap sifat protein dan sifat fungsional yang lain. Daya dan stabilitas buih akan berpengaruh terhadap pengembangan volume. Daya dan stabilitas emulsi mempengaruhi sifat adonan. *Oil Holding Capacity* (OHC) akan mempengaruhi sifat tekstural dan retensi flavor. *Water Holding Capacity* (WHC) berpengaruh terhadap *baking loss* dari cake. Oleh karena itu penting untuk mengetahui sifat fungsional isolat protein koro komak.

Selain itu juga perlu mengetahui sifat fisik dari isolat protein koro komak berupa warna dan rendemen, serta sifat kimianya seperti kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, kadar pati, kadar gula total, dan penentuan fraksi protein penyusun yang terkandung dengan metode elektroforesis.

1.3 Tujuan Penelitian

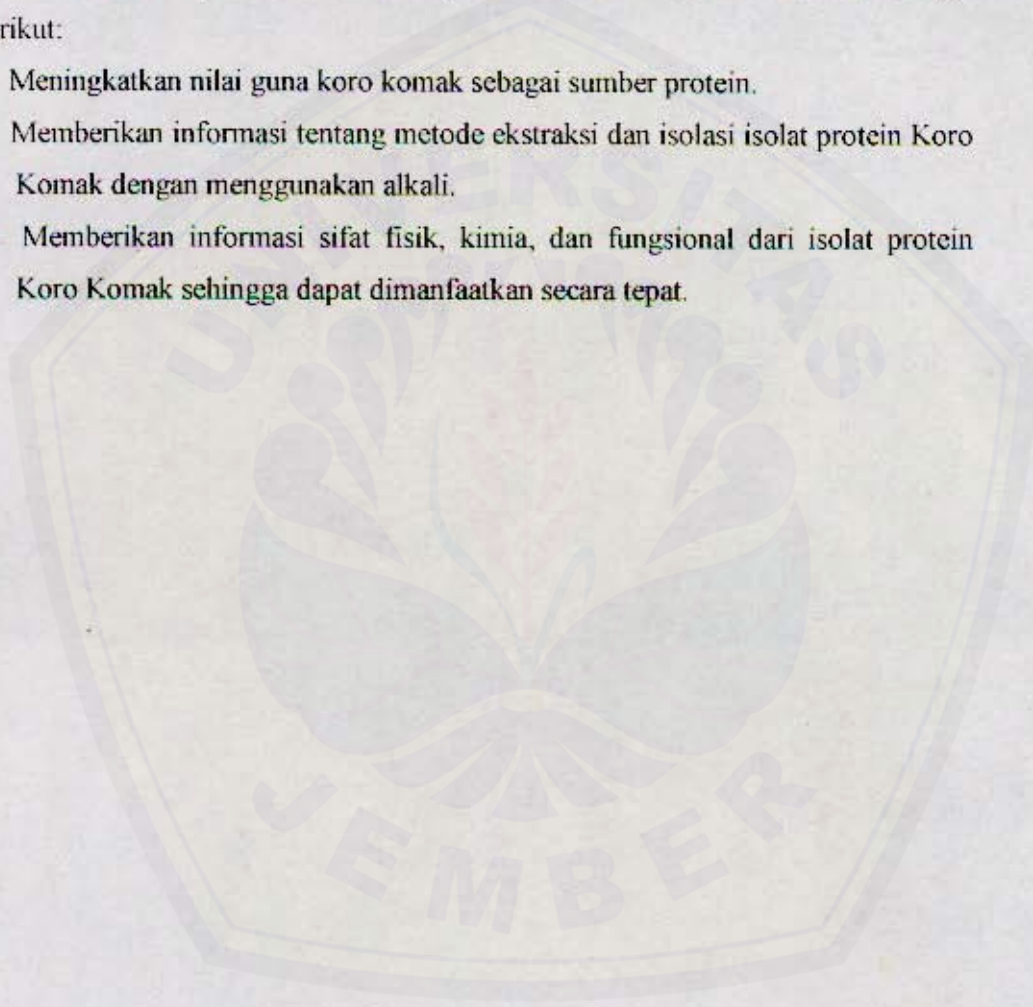
Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengekstrak dan mengisolasi protein koro komak dengan menggunakan alkali.
2. Mengetahui sifat fisik dan kimia dari ekstrak isolat protein koro komak.
3. Mengetahui sifat fungsional dari ekstrak isolat protein koro komak.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

1. Meningkatkan nilai guna koro komak sebagai sumber protein.
2. Memberikan informasi tentang metode ekstraksi dan isolasi isolat protein Koro Komak dengan menggunakan alkali.
3. Memberikan informasi sifat fisik, kimia, dan fungsional dari isolat protein Koro Komak sehingga dapat dimanfaatkan secara tepat.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Koro Komak

Tanaman koro komak (*Lablab purpureus (L.) Sweet* atau *Dolichos lablab L.*) merupakan tanaman yang banyak dijumpai di daerah tropis dan sub tropis terutama di India, Mesir, Sudan, dan Asia Tenggara. Tergolong dalam famili *Leguminosae*, sub famili *Papilionidae*, dan merupakan tanaman yang ditanam secara semusim berbentuk perdu, merumpun atau merambat. Nama umum dalam bahasa Inggris yang sering digunakan adalah *Hyacinth bean*, *Bonavist bean*, *Egyptian bean*, ataupun *Lablab bean*; *Dolique lab-lab* (Perancis); *Anumulu*, *Avare* (India); kacang komak, kacang arab (Indonesia); *Batau*, *Itab*, *Parida* (Filipina); *Pe-gyi* (Myanmar); *Thua paep* (Thailand); dan *Dau van* (Vietnam). Sifat fisik biji komak berbentuk bulat, kadang-kadang pipih dan mempunyai hilum warna putih, menonjol di permukaan kulit sepanjang 1/3 dari sisi luar lingkungan biji. Warna kulit bervariasi yaitu putih, kuning, coklat, ungu dan hitam. Biji komak mempunyai struktur yang sangat kasar (Utomo, 1999). Jenis koro komak merupakan tumbuhan hari-pendek yang memerlukan suhu tinggi untuk pertumbuhannya (18°C - 30°C). Suhu minimum untuk dapat tumbuh adalah pada 3°C. Komak menyukai curah hujan 750-2500 mm/tahun. Setelah tumbuh baik kira-kira 3 bulan, komak tahan terhadap kekeringan karena mempunyai sistem perakaran yang dalam yang dapat memanfaatkan sisa-sisa air tanah. Tumbuhan ini tidak tahan air payau yang diam dan air tawar yang tergenang. Komak lebih menyukai dataran rendah, tapi dapat dibudidayakan sebagai hasil bumi lahan kering sampai ketinggian 2000 m di daerah tropis. Tanaman ini sangat toleran terhadap tekstur tanah, dan dapat tumbuh diatas tanah dalam berpasir atau diatas tanah liat yang berat dengan pH berkisar 5-7,8, asalkan drainasenya baik.

Hasil rata-rata polong hijau adalah 2600-4500 kg/ha dan hasil biji 450 kg/ha jika ditumpangsarikan, dan sampai 1460 kg/ha jika monokultur. Di Asia Tenggara, komak dimanfaatkan dan populer sebagai sayuran, biji mudanya dimakan setelah direbus atau disangrai, daun pucuk dan perbungaannya dimanfaatkan sebagai kacang-kacangan. Komak juga digunakan sebagai pakan

ternak hijauan, pupuk hijau, pakan kering, silase, dan tanaman penutup (Maessen dan Somaatmadja, 1993).

Jenis tanaman koro-koroan mempunyai komposisi kimia yang beragam tergantung pada jenis, sifat genetik masing-masing varietas dan lingkungan tumbuhnya (cara budidaya), serta tingkat kemasakan biji (Utomo, 1999). Adapun kandungan kimia dalam setiap 100 gram Koro Komak yang dapat dimakan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimia koro komak pada berbagai tingkat kematangan dalam 100 gram bahan.

Komposisi	Polong Muda	Biji Tua
Air (gr)	82,4	9,6
Protein (gr)	4,5	24,9
Lemak (gr)	0,1	0,8
Karbohidrat (gr)	10	60,1
Serat (gr)	2	1,4
Abu (gr)	1	3,2
Energi (kJ)	1260	1403

Sumber: Maesen dan Somaatmadja, (1993)

Beberapa sifat fisik pada biji koro komak ditunjukkan pada Tabel 2.

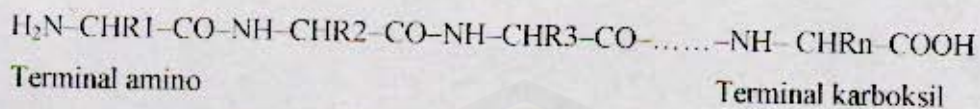
Tabel 2. Sifat fisik koro komak yang banyak tumbuh di Indonesia

Sifat Fisik	Rerata \pm SD	Max	Min
Panjang biji (cm)	1,02 \pm 0,08	1,15	0,70
Lebar biji (cm)	0,76 \pm 0,07	0,92	0,61
Tebal biji (cm)	0,45 \pm 0,08	0,96	0,35
Berat 100 biji (gr)	22,98 \pm 0,41	23,47	22,32

Sumber: Rusdianto, (2004)

2.2 Protein

Menurut Anonim (2000), protein adalah polimer dari asam-asam amino atau polipeptida dengan berat molekul besar. Polipeptida yang besar dengan protein yang kecil mempunyai berat molekul 8.000 – 10.000. Struktur polipeptida atau protein digambarkan oleh ikatan peptida dari asam amino (Monomer).



Gambar 1. Struktur protein oleh ikatan peptida

Menurut Winarno (1997), berdasarkan kelarutannya protein terbagi menjadi albumin, globulin, glutelin, dan prolamin. Berdasarkan bentuk dan sifat fisik protein tertentu, protein dapat digolongkan menjadi 2 golongan yaitu protein globular dan serabut. Bentuk klasifikasi yang lain adalah berdasarkan jenis penyusun protein yaitu protein sederhana dan konjugasi.

Menurut Anonim (2000), protein mempunyai sifat fisik dan kimia. Adapun sifat kimianya meliputi: reaksi biuret dan kelarutan terhadap berbagai pH.

1. Gugus amino yang terdapat pada ikatan peptida akan membentuk ikatan koordinasi dengan ion Ca^{+2} (reagent biuret) akan memberikan warna ungu atau biru violet.
2. Protein mempunyai daya kelarutan yang berbeda pada berbagai pH. Hal ini dikarenakan oleh kandungan asam amino dengan susunan dan komposisi tertentu akan mempunyai pH isoelektrik tertentu.

Sedangkan yang termasuk sifat kimia adalah membentuk larutan koloid, salting out-salting in, denaturasi, koagulasi, dan bentuk struktur molekul protein.

1. Protein merupakan molekul besar yang tersusun asam amino baik yang mempunyai gugus R polar maupun non polar, sehingga mengakibatkan protein dapat membentuk larutan koloid.
2. Protein mengalami salting-out pada saat protein dalam air ditambahkan alkohol, maka molekul air yang terserap oleh molekul protein terlepas dan tertarik oleh pelarut polar serta partikel protein keluar dari jerapan molekul air

yang akhirnya akan menampakkan protein yang tidak larut. Protein akan larut kembali bila pelarut polar ditambahkan terus, atau protein mengalami salting-in.

3. Denaturasi protein adalah proses kehilangan sifat biologis suatu protein, sedangkan koagulasi atau penggumpalan yang merupakan efek selanjutnya dari denaturasi. Hal-hal yang dapat mengakibatkan denaturasi adalah suhu, pH, dan larutan elektrolit.
4. Protein disusun oleh asam amino yang dihubungkan satu dengan lainnya oleh ikatan peptida. Disamping ikatan peptida ada beberapa macam ikatan lainnya yang memperkuat struktur protein yaitu ikatan disulfida, ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, dan ikatan elektrostatik. Struktur protein dibagi menjadi 4 yaitu:
 - a. Struktur primer, berdasarkan ikatan kovalen susunan pokok rantai polipeptida dan rangkaian residu asam amino.
 - b. Struktur sekunder, berdasarkan keteraturan susunan dalam permukaan rantai polipeptida sepanjang satu dimensi.
 - c. Struktur tersier, cenderung bagaimana rantai polipeptida membengkok atau berlipat dan tiga dimensi, membentuk kekompakan, strukturnya terlipat kuat dari protein globular.
 - d. Struktur kuartener menunjukkan rantai polipeptida dari protein mempunyai 2 atau lebih rantai yang tersusun dalam hubungan yang satu dengan yang lain.

2.3 Isolat Protein

Isolat protein merupakan produk hasil isolasi, dimana komponen protein akan dipisahkan dari komponen lainnya dengan batasan harus mengandung minimal 90% protein (Utomo, 1999). Pembuatan isolat protein dapat dilakukan dengan metode yang sederhana. Secara garis besar proses pembuatan isolat protein diawali dengan ekstraksi pada pH 7,5. Pada pH tersebut telah dicapai kelarutan protein yang maksimal (Utomo dan Andarlina, 1998). Setelah diperoleh larutan protein, maka proses selanjutnya adalah pengendapan dengan cara

pengaturan pH pelarut menggunakan asam asetat mendekati pH 4,5 (Winarno, 1985). Proses selanjutnya adalah pencucian dan terakhir adalah pengeringan. Produk ini hampir bebas dari karbohidrat, serat, dan lemak, sehingga sifat fungsional dan karakteristik fisik serta kimia jauh lebih baik dibandingkan dengan konsentrat protein maupun tepung atau bubuk. Pemanfaatan isolat protein diarahkan sebagai campuran produk dari daging dan susu. Berdasarkan sifatnya, maka isolat protein sangat baik untuk memperkaya protein makanan, sebagai pengikat dan pengemulsi produk daging (Utomo, 1999).

2.3.1 Isolat Protein Koro Komak dan Sifat Fungsional

Isolat protein koro komak merupakan produk hasil isolasi protein dari biji koro komak dengan batasan harus mengandung minimal 90% protein (Utomo, 1999). Menurut Subagio, dkk (2003), proses pembuatan isolat protein koro komak diawali dengan ekstraksi pada pH basa (diatas pH 10), dimana pada pH tersebut telah dicapai kelarutan protein koro komak yang maksimal. Setelah diperoleh larutan protein, maka proses selanjutnya adalah pengendapan dengan cara pengaturan pH pelarut menggunakan asam klorida (HCl) mendekati pH isoelektrik. Proses selanjutnya adalah pencucian dengan alkohol dan terakhir adalah pengeringan menggunakan freeze drying. Pemanfaatan isolat protein koro komak diarahkan sebagai bahan tambahan seperti *emulsifier*, *stabilizer*, *flavor enhancer*, *texturizer*, dan *food ingredient*.

Menurut Sugijanto dan Manulang (2001), bahwa protein mempunyai sifat fungsional yang merupakan sifat selain sifat nutrisi dimana akan mempengaruhi fungsi komponen dalam bahan pangan. Sifat fungsional protein tersebut diantaranya kelarutan, Oil Holding Capacity (OHC), Water Holding Capacity (WHC), emulsifikasi, pembentukan gel, dan daya buih.

Isolat protein koro komak mempunyai sifat fungsional yang berpengaruh dalam berbagai sistem atau produk makanan. Adapun sifat fungsional tersebut dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Sifat fungsional protein dalam berbagai sistem atau produk makanan.

Sifat fungsional	Mekanisme	Sistem makanan	Sumber protein
Kelarutan	Hidrofilik	Minuman	Protein whey
Viskositas	Pengikatan air, bentuk dan ukuran hidrodinamik	Sup, gravy, salad	Protein whey
Pengikatan air	Ikatan H, hidrasi ion	Daging, cake, roti	Protein otot/ urat, protein telur
Gelasi	Penarikan air dan imobilisasi, formasi jaringan	Daging, gel, cake, bakery, keju	Protein otot/ urat, protein telur, protein susu
Kohesi/ adesi	Hidropobik, ikatan H, ikatan ionik	Daging,saos,pasta, bakery, makanan panggang	Protein otot/ urat, protein telur, protein whey
Elastisitas	Hidrofobik, ikatan disulfida	Daging, bakery	Protein otot/ urat
Emulsifikasi	Penyerapan pada formasi film interfase	Saos, sup, cake, bologna	Protein otot/ urat, protein telur, protein susu
Buih	Penyerapan interfasi, formasi film	Whipped topping, es krim, cake,	Protein telur, protein susu
Pengikatan lemak dan flavor	Hidrofobik	Daging buatan, bakery	Protein telur, protein susu

Sumber: Kinsella et al, (1985)

2.3.1.1 Kelarutan protein

Kelarutan protein menunjukkan jumlah protein dalam sampel yang dapat larut dalam pelarut dan dipengaruhi oleh pH (Zayas, 1997). Menurut Anonim (2000) bahwa kelarutan protein pada berbagai pH dipengaruhi oleh kandungan protein dengan asam amino yang bergugus R bermuatan positif.

Daya larut protein diukur dari nilai atau prosentase protein yang tertinggal dalam suspensi setelah disentrifugasi. Besarnya nilai tergantung dari metode preparasi slurry dan kondisi sentrifugasi. Metode yang biasanya digunakan yaitu diaduk menggunakan stirrer mekanik, mengakibatkan kondisi yang berbeda dengan cara sentrifugasi. Peningkatan kecepatan sentrifugasi akan menurunkan protein terlarut (Matthews, 1989).

Tabel 3. Sifat fungsional protein dalam berbagai sistem atau produk makanan.

Sifat fungsional	Mekanisme	Sistem makanan	Sumber protein
Kelarutan	Hidrofilik	Minuman	Protein whey
Viskositas	Pengikatan air, bentuk dan ukuran hidrodinamik	Sup, gravy, salad	Protein whey
Pengikatan air	Ikatan H, hidrasi ion	Daging, cake, roti	Protein otot/ urat, protein telur
Gelasi	Penarikan air dan imobilisasi, formasi jaringan	Daging, gel, cake, bakery, keju	Protein otot/ urat, protein telur, protein susu
Kohesi/ adesi	Hidropobik, ikatan H, ikatan ionik	Daging, saos, pasta, bakery, makanan panggang	Protein otot/ urat, protein telur, protein whey
Elastisitas	Hidrofobik, ikatan disulfida	Daging, bakery	Protein otot/ urat
Emulsifikasi	Penyerapan pada formasi film interfase	Saos, sup, cake, bologna	Protein otot/ urat, protein telur, protein susu
Buih	Penyerapan interfasi, formasi film	Whipped topping, es krim, cake,	Protein telur, protein susu
Pengikatan lemak dan flavor	Hidrofobik	Daging buatan, bakery	Protein telur, protein susu

Sumber: Kinsella et al, (1985)

2.3.1.1 Kelarutan protein

Kelarutan protein menunjukkan jumlah protein dalam sampel yang dapat larut dalam pelarut dan dipengaruhi oleh pH (Zayas, 1997). Menurut Anonim (2000) bahwa kelarutan protein pada berbagai pH dipengaruhi oleh kandungan protein dengan asam amino yang bergugus R bermuatan positif.

Daya larut protein diukur dari nilai atau prosentase protein yang tertinggal dalam suspensi setelah disentrifugasi. Besarnya nilai tergantung dari metode preparasi slurry dan kondisi sentrifugasi. Metode yang biasanya digunakan yaitu diaduk menggunakan stirrer mekanik, mengakibatkan kondisi yang berbeda dengan cara sentrifugasi. Peningkatan kecepatan sentrifugasi akan menurunkan protein terlarut (Mattews, 1989).

Menurut Zayas (1997), ada 4 faktor yang mempengaruhi kelarutan protein yaitu pH, kekuatan ion, pemanasan, dan kondisi pemrosesan. Pada kondisi pemrosesan seperti pH dari ekstraksi, presipitasi, dan netralisasi untuk pengeringan akan juga mempengaruhi kelarutan protein.

2.3.1.2 Water Holding Capacity

Water Holding Capacity merupakan kemampuan protein untuk menyerap air dan menahannya dalam sistem pangan. Hal ini disebabkan protein bersifat hidrofilik dan mempunyai celah-celah polar seperti gugus karboksil dan aminonya yang dapat mengion. Adanya kemampuan mengion ini menyebabkan daya serap protein fungsional dipengaruhi oleh pH makanan. Daya serap air protein fungsional sangat penting peranannya dalam makanan panggang (*baked goods*) karena dapat meningkatkan rendemen adonan dan memudahkan penanganannya. Disamping itu, sifat menahan air akan memperlama kesegaran makanan, misalnya pada roti dan biskuit (Koswara, 1995).

2.3.1.3 Oil Holding Capacity

Kemampuan protein dalam menyerap lemak ini penting digunakan untuk 2 tujuan. Pertama untuk meningkatkan penyerapan lemak pada daging giling. Kedua untuk mencegah penyerapan lemak yang berlebihan, misalnya pada penggorengan donat dan *pancakes*. Hal ini karena protein dapat terdenaturasi oleh panas membentuk adonan semacam lapisan (*coating*) pada permukaan bahan sehingga akan menghalangi penetrasi lemak kedalam bahan (Koswara, 1995). Menurut Zayas (1997) bahwa protein yang tidak larut bersifat hidrofobik mempunyai kapasitas pengikatan minyak yang besar dan berpengaruh terhadap sifat tekstural. Penyerapan minyak oleh protein dipengaruhi oleh sumber protein, kondisi pemrosesan, ukuran partikel, dan suhu.

2.3.1.4 Daya Emulsi

Daya emulsi adalah kemampuan protein untuk membentuk emulsi dan mempertahankan stabilitas emulsi tersebut. Sifat ini dipengaruhi oleh kadar protein dan tingkat kelarutannya, dimana erat hubungannya dengan *Nitrogen Solubility Index* (NSI) (Koswara, 1995). Stabilitas emulsi penting karena *emulsifier* tergantung pada kemampuannya memelihara sistem emulsi pada saat mengalami pemasakan atau pemanasan (Sugijanto dan Manulang, 2001).

2.3.1.5 Pembentukan Gel

Gelasi adalah sifat reologi yang berkaitan dengan penarikan air dari lingkungan oleh molekul-molekul protein. Susunan molekul gel protein dapat terbentuk karena adanya kondisi yang mampu mengubah struktur alami protein dimana faktor seperti kondisi termodinamik, konsentrasi protein serta kondisi lainnya optimal dalam pembentukan matrik tersier (Sugijanto dan Manulang, 2001).

Menurut Aurand and Woods (1973), mekanisme pembentukan gel protein terjadi melalui jaringan tiga dimensi yang merupakan unit fraksi gel yang dibentuk oleh ikatan hidrogen, pengelompokan gugus hidrofobik, interaksi ionik, dan ikatan disulfida dari polipeptida yang tidak berlipat. Sedangkan daya yang berperan dalam pembentukan jaringan tiga dimensi adalah ikatan non kovalen yang berupa ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, dan elektrostatik. Menurut Suhardi (1989), oleh karena pemanasan maka protein akan mengalami denaturasi, dan protein yang terdenaturasi akan mengalami perubahan struktur dari bentuk berlipatan, sehingga meningkatkan jumlah gugus non polar atau gugus hidrofobik yang terekspos. Kemampuan pembentukan gel sebagai matrik penahan air, lipid, gula flavor dan bahan lain sangat penting dalam pembentukan produk sosis dan tahu.

2.3.1.6 Daya Buih

Menurut Damodaran (1997) bahwa daya buih dari suatu protein terdiri dari 2 aspek yaitu kemampuan protein untuk membentuk dan menghasilkan buih dalam jumlah tertentu (daya buih) serta kemampuan protein untuk mempertahankan buih tersebut dalam waktu tertentu (stabilitas buih). Kemampuan protein dalam pembentukan buih dikarenakan mempunyai karakteristik yang khas pada lapisan batas antara 2 fase (udara dan air) sehingga mempunyai daya seperti surfaktan, yaitu kapasitas menurunkan tegangan permukaan. Kemampuan pembentukan buih dan stabilitasnya dari protein fungsional ini penting dalam produk bakery, karena selama pengembangan akan memerangkap sejumlah gelembung gas sehingga menghasilkan produk akhir yang baik (Sugijanto dan Manulang, 2001).

2.3.2 Isolat Protein Kedelai (*Soy Protein Isolate*)

Menurut Koswara (1995), isolat protein kedelai merupakan bentuk protein dari biji kedelai yang paling murni, karena kadar proteinnya minimal 95% dalam berat kering. Isolat protein kedelai biasanya digunakan sebagai bahan campuran atau formulasi dalam makanan olahan daging dan susu, seperti sebagai pengikat dan pengemulsi.

Menurut Anonim (2004), isolat protein kedelai diaplikasikan sebagai suplemen nutrisi, sistem daging, minuman nutrisi, krim, saos, dan *snacks*. Oleh karena kandungan protein yang tinggi, maka isolat protein kedelai cocok ditambahkan pada konsumsi untuk orang-orang yang membutuhkan protein tinggi, seperti pertumbuhan anak, dan orang berpenyakit kronis (*HIV*, *AIDS*, dan *TBC*). Isolat protein kedelai bisa difortifikasi dengan variasi *mikronutrient* dan mineral. Adapun komposisi kimia isolat protein kedelai ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Komposisi kimia isolat protein kedelai

Komposisi	Kadar minimum (%)	Kadar maksimum (%)
Protein (N X 6,25)	90	-
Air	-	6
Lemak	-	1
Serat	-	0,2
Abu	-	4,5
Karbohidrat (by difference)	4	-

Sumber: Anonim, (2004)

2.4 Teknik Fraksinasi Penyusun Protein

Penentuan fraksi protein penyusun dalam isolat protein dilakukan dengan elektroforesis, dimana merupakan teknik pemisahan untuk karakterisasi makromolekul, berat molekul dan untuk penetapan kemurniannya. Teknik ini didasarkan pada kenyataan bahwa molekul-molekul seperti DNA, RNA, dan protein memiliki muatan dan oleh karena itu mampu bergerak apabila ditempatkan dalam medan listrik (Anonim, 2002).

Teknik elektroforesis gel slab, akrilamida dipolimerisasi ke slab berbentuk segi empat di antara 2 pelat kaca. Sampel dimasukkan pada sisi atas gel dengan bantuan alat berbentuk sisir. Keuntungan dari teknik ini adalah sejumlah sampel dapat dibandingkan karena semua sampel terdapat pada gel yang sama dengan kondisi yang konstan. Teknik pemisahan beberapa serum protein dengan menggunakan elektroforesis gel slab, dimulai dari memasukkan sampel, running, melakukan pewarnaan (staining), pencucian (destaining), dan penentuan pada pita protein (Anonim, 2002).

2.5 Warna dan Rendemen

Menurut Desrosier (1988), warna merupakan kenampakan terluar dari suatu produk yang dipengaruhi oleh cahaya, pigmen, dan kemampuan mata untuk mendeteksi warna tersebut. Menurut Utomo (1999), rendemen isolat protein koro komak yang dapat diperoleh sebesar 18,11% dan nilai cerna protein 67,21%.

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah koro komak (*Lablab Purpureus (L.) Sweet*) yang diperoleh dari Desa Cerme, Kabupaten Bondowoso, Jawa Timur. Sebagai pembandingan analisa sifat fungsional digunakan Isolat Protein Kedelai yang diperoleh dari Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Sedangkan bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini sebagian besar berasal dari Jerman dengan merk *Merck* yang meliputi NaOH 0,1 M, NaOH 2 N, HCl 1 N, HCl 0,1 N, Reagen Mix (Na_2CO_3 , CuSO_4 , Na-K tartrat), Reagen folin, etanol, buffer phosphat 0,05 M pH 7, SDS 0,1%, dan lain-lain.

3.1.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: centrifuge Yenaco model YC-1180T dan tabungnya, Freeze Dryer Snijder Scientific Tipe 2040 (Belanda), magnetic stirrer SM 24 Stuart Scientific, vortex maxi-mix tipe 16700 mixer, sentrifuge kecil merk Kurabo, refrigerated centrifuge merk Selecta, spectrofotometer spectronic 21 D Milton Ray, penangas air merk Cimerec 2, timbangan analitis merk Ohaus, peralatan elektroforesis merk Bio-Rad, pH meter merk Jenway, mikrometer, color reader, water bath, alat-alat dari gelas dengan merk Duran dan Pyrex dan alat-alat yang terkait.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pengendalian Mutu Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan 2 tahap yaitu:

1. Penentuan pH isoelektrik protein koro komak pada bulan September 2003
2. Preparasi dan analisa isolat protein koro komak pada bulan Oktober 2003 sampai Februari 2004.

3.3 Metode Penelitian

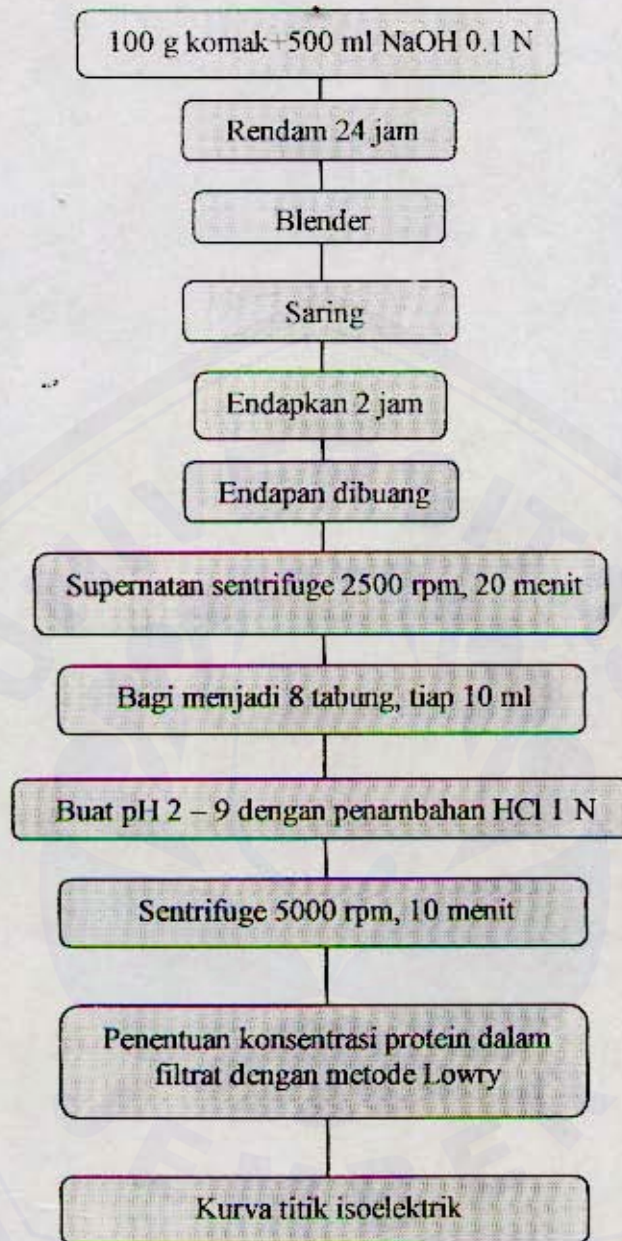
3.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menentukan terlebih dahulu titik isoelektrik dan membuat sampel isolat protein dari koro Komak. Kemudian sampel yang didapatkan akan dianalisa sifat fisik, sifat kimia, dan sifat fungsionalnya. Adapun hasil pengamatan yang diperoleh akan dianalisa secara deskriptif (Suryabrata, 1989).

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Penentuan pH isoelektrik

Penelitian dimulai dengan menentukan pH isoelektrik yang nantinya akan mempengaruhi pembuatan sampel isolat protein koro komak yang tepat. Langkah awal adalah mensortir biji koro komak dari segi ada tidaknya cacat (serangga, lubang) dan warna. Kemudian ekstraksi biji koro komak sebanyak 100 gram direndam dalam larutan 500 ml NaOH 0,1 N (pH 13) selama 24 jam, kemudian diblender dan disaring untuk mendapatkan filtratnya. Filtrat dibagi menjadi 8 tabung dan diatur pH nya dengan menambahkan HCl 1 N yang kemudian akan ditentukan konsentrasi protein dalam filtrat dengan metode lowry. Selanjutnya dibuat kurva pH isoelektrik hubungan antara pH dengan konsentrasi yang kemudian dipilih konsentrasi protein yang terendah sebagai pH presipitasi yang berperan dalam pembuatan isolat protein koro komak. Adapun prosedur penentuan titik isoelektrik dapat dilihat pada Gambar 2.

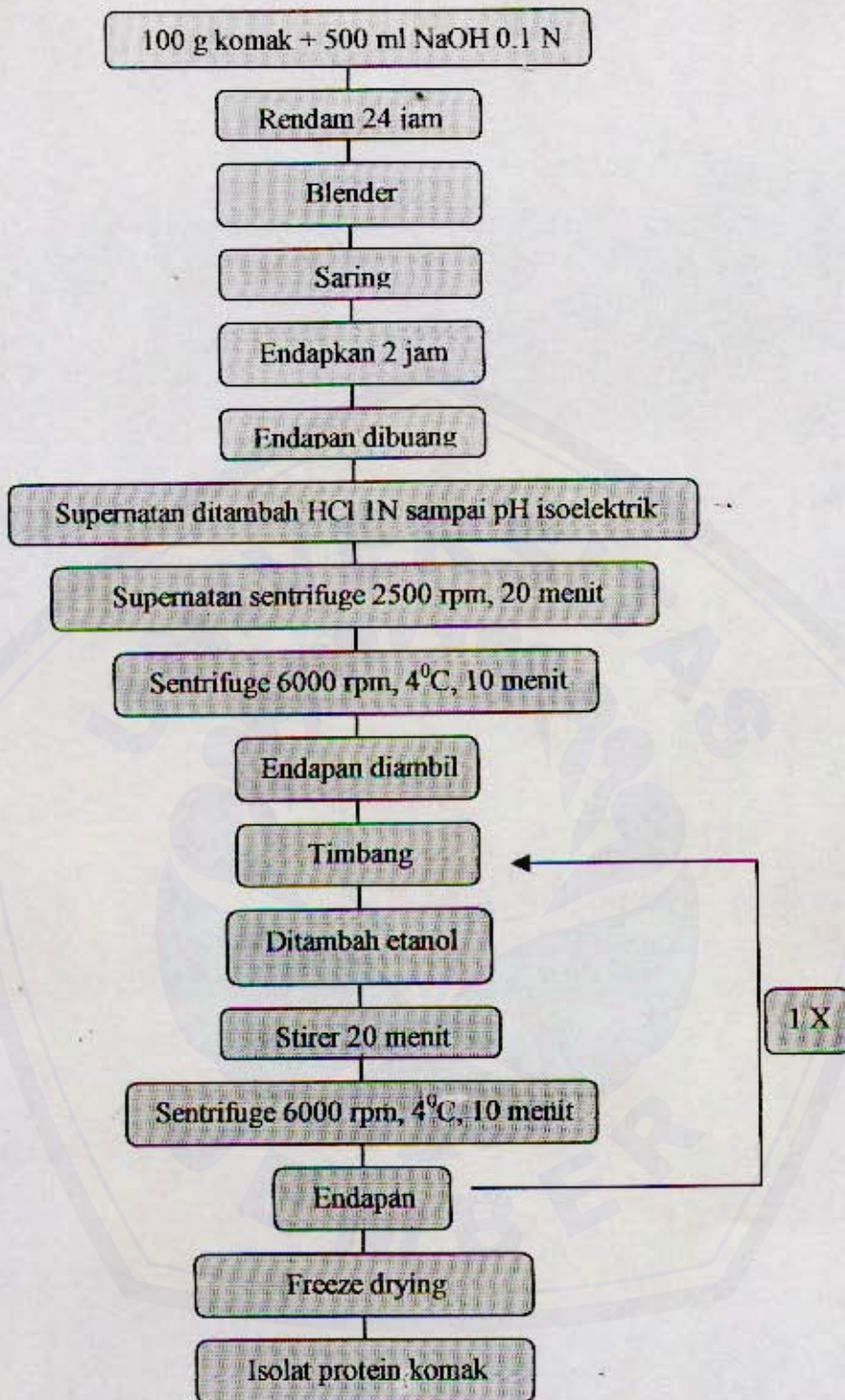


Gambar 2. Penentuan pH isoelektrik isolat protein koro komak

3.4.2 Preparasi Isolat Protein

Preparasi isolat protein ini merupakan kelanjutan dari penentuan pH isoelektrik. Ekstraksi biji koro komak sebanyak 100 gram direndam dalam larutan 500 ml NaOH 0,1N (pH 13) selama 24 jam, kemudian diblender dan disaring untuk mendapatkan filtratnya. Selanjutnya filtrat dilakukan presipitasi dengan HCl 1 N pada pH isoelektrik dan dipisahkan dengan sentrifugasi. Isolat yang didapatkan dicuci dengan etanol alkohol untuk menghilangkan gula. Kecuali itu alkohol digunakan untuk mengekstrak komponen yang larut di dalam isolat seperti mineral, pigmen, dan komponen kecil lainnya. Kemudian isolat dikeringkan dengan freeze drying, agar sifat fungsional protein yang dikehendaki tidak rusak.

Isolat protein yang diperoleh selanjutnya dianalisa sifat kimia meliputi kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, kadar gula total, kadar pati, dan fraksinasi protein penyusunnya. Adapun analisa sifat fungsionalnya meliputi kelarutan dalam berbagai pH, daya buih, daya emulsi, *oil holding capacity* (OHC), dan *water holding capacity* (WHC). Sedangkan sifat fisik berupa warna dengan color reader dan rendemen. Untuk prosedur pembuatan isolat protein koro komak seperti terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Prosedur pembuatan isolat protein koro komak

3.5 Prosedur Pengamatan

3.5.1 Sifat Fisik

3.5.1.1 Warna

Warna diamati dengan menggunakan Color reader pada 5 titik yang berbeda dari sampel isolat protein koro komak, dimana sebelumnya telah dikalibrasi dengan Barium Nitrit yang mempunyai nilai derajat keputihan $W=100$, $L=100$, $a^*=0$, $b^*=0$. Untuk perhitungannya menggunakan rumus:

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

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

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

Dimana

W : Derajat keputihan

C : Intensitas warna

H : Sudut warna (0^0 = merah, 90^0 = kuning, 180^0 = ungu, 270^0 = biru)

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

a^* : Nilai berkisar antara -80 sampai 100 yang menunjukkan warna hijau sampai merah

b^* : Nilai berkisar antara -80 sampai +70 yang menunjukkan warna biru sampai kuning

3.5.1.2 Rendemen

Rendemen dihitung berdasarkan perbandingan berat dengan rumus:

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

dimana: R : rendemen isolat protein koro komak (%)

P : berat isolat protein koro komak (g)

B : berat koro komak (g)

3.5.2 Sifat Kimia

3.5.2.1 Kadar Gula Total (Sudarmadji, 1997)

Untuk hidrolisa digunakan sampel bebas Pb sebanyak 20 ml dalam elenmeyer yang ditambah 10 ml HCl 6,7%. Kemudian diinversikan pada water bath selama 10 menit pada suhu 60°C. Lalu didinginkan hingga suhu 20°C dan selanjutnya ditambahkan 2 tetes indikator Phenoptalin 1%. NaOH 20 ditambahkan sedikit demi sedikit sampai timbul warna merah. Selanjutnya ditambahkan HCl 0,5N sampai warna merah hilang dan dilakukan pengenceran sampai tanda batas.

Analisa kadar gula total kemudian diukur dengan cara yang sama untuk mengukur kadar gula reduksi. 0,5 ml sampel ditambah 1 ml reagen Nelson, dan dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit. Setelah dingin, ditambah 1 ml arsenomolibdat dan divortex sampai semua larut. Kemudian ditambahkan 7,5 aquadest dan ditera OD-nya pada panjang gelombang 540 nm. Absorban yang diperoleh diplotkan pada kurva standar gula reduksi.

3.5.2.2 Kadar Pati (Sudarmadji, 1997)

Menimbang sampel sebanyak 2 gram dan ditambah 50 ml aquadest. Stirer selama 1 jam lalu saring. Cuci dengan 250 ml aquadest, 5 ml eter, dan 150 ml alkohol 10%. Residu yang didapat dicuci dengan aquadest 200 ml aquadest lalu ditambahkan 20 ml HCl 25%. Kemudian di pendingin balik selama 2,5 jam. Netralkan dengan NaOH 45%. Tambahkan Pb Asetat dan jika ada endapan disaring. Kemudian lakukan pengenceran sampai tanda batas (250 ml). Analisa selanjutnya adalah mengukur kadar gula reduksi, dimana kadar gula reduksi dikalikan 0,9 merupakan kadar pati.

3.5.2.3 Kadar Abu (Sudarmadji, 1997)

Pengukuran kadar abu dilakukan dengan menggunakan pembakaran pada muffle. Krus porselin dikeringkan dalam oven selama 15 menit. Dinginkan dalam eksikator dan timbang (a gram). Menimbang 2 gram sampel yang sudah dihaluskan dan dihomogenkan dalam krus tersebut, lalu timbang (b gram). Kemudian dipijarkan dalam muffle (suhu mencapai 400°C - 600°C) sampai diperoleh abu berwarna putih keabu-abuan. Pendinginan dilakukan dengan

membiarkan krus dan abu tinggal di muffle selama 1 hari. Kemudian dipindahkan ke dalam eksikator selama 15 menit dan timbang (c gram). Selanjutnya dilakukan perhitungan kadar abu dengan rumus:

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

3.5.2.4 Kadar Air (Sudarmadji, 1997)

Pengukuran kadar air dilakukan dengan menggunakan metode oven. Menimbang botol timbang yang telah dikeringkan dalam oven selama 15 menit dan didinginkan dalam eksikator (a gram). Menimbang 2 gram sampel dalam botol timbang (b gram). Kemudian dimasukkan dalam oven selama 4 - 6 jam. Lalu botol timbang dipindahkan kedalam eksikator dan ditimbang sampai berat yang konstan (c gram). Selanjutnya dilakukan perhitungan kadar air dengan rumus:

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

3.5.2.5 Kadar Lemak (Sudarmadji, 1997)

Pengukuran kadar lemak dilakukan dengan menggunakan metode soxhlet. Kertas saring dengan ukuran tertentu di oven selama 1 jam dan didinginkan dalam eksikator selama 15 menit, lalu ditimbang. Menimbang 2 gram sampel dan masukkan ke kertas lalu diikat dan timbang. Oven selama 1 hari dan timbang (b gram). Kemudian meletakkannya dalam tabung reaksi soxhlet dan pasang alat kondensor di atasnya serta labu lemak dibawahnya. Dituangkan pelarut petroleum benzena kedalam labu lemak secukupnya sesuai dengan ukuran soxhlet. Lakukan reflux selama 4 - 6 jam sampai pelarut yang turun ke labu lemak berwarna jernih. Lalu oven kertas dan sampel pada suhu 100°C selama 24 jam. Dinginkan dalam eksikator selama 30 menit dan ditimbang (c gram). Ulangi beberapa kali hingga berat konstan. Selanjutnya dilakukan perhitungan kadar lemak dengan rumus:

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

3.5.2.6 Analisa Protein (Sudarmadji, 1997)

Analisa protein : 0,250 ml sampel ditambah 0,250 ml NaOH 2N lalu dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit. Dinginkan dan ditambahkan 2,5 ml reagen mix. Biarkan selama 10 menit, lalu ditambahkan 0,250 ml reagen folin 1N. Kemudian vortex dan biarkan selama 30 menit. Tambahkan 2 ml aquadest dan baca absorbansinya pada panjang gelombang 750 nm.

3.5.2.7 Elektroforesis (Iwabuchi and Yamauchi, 1987)

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

a. Pembuatan gel

Bahan yang diperlukan:

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

Bahan B : SDS 10%

Bahan C : Bis akrilamida

Bahan D : Amonium persulfat 10%

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

Pembuatan gel bawah terdiri dari 1,25 ml aquadest; 5 ml bahan A; 0,05 ml bahan B; 2 ml bahan C; 50 µl bahan D dan Temed 5 µl. Larutan ini segera dimasukkan diantara 2 lempeng kaca. Larutan gel atas terdiri dari 1,525 ml aquadest; 0,625 ml bahan E; 0,025 ml bahan B; 0,325 ml bahan C; 50 µl bahan D; dan Temed 5 µl. Kemudian gel atas ini dimasukkan dengan bantuan sisir untuk membentuk sumur.

- b. Larutan sampel protein 20 µg ditambah buffer sampel (1:4), kemudian dipanaskan selama 10 menit.
- c. Runting dilakukan pada 100 mA selama 2 jam.
- d. Pencucian dengan aquadest dan staining dengan dietil eter.
- e. Pewarnaan dengan Comassie blue.
- f. Penghilangan atau destaining dengan metanol sambil digoyang.
- g. Pembacaan pita protein yang tampak akan menandakan sub unit atau fraksi protein.

3.5.3 Sifat Fungsional

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

Menimbang sampel sebanyak 5 gram dan ditambah 100 ml NaOH 0,1N. Stirer selama 2 jam pada suhu ruang dan larutan dibagi menjadi 7 tabung masing-masing 10 ml dan diatur pH nya dengan penambahan HCl 1N. Vortex tiap 0,5 menit. Kemudian disentrifuge selama 30 menit pada kecepatan 5000 rpm. Bagian supernatan dianalisa proteinnya dengan metode Lowry.

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

Menimbang sampel sebanyak 0,1 gram dan tambahkan 100 ml buffer fosfat 0,05M pH 7. Stirer selama 15 menit. Kemudian tambahkan 25 ml minyak goreng dan blender selama 3 menit. Untuk pengukuran daya emulsi, setelah diblender langsung diambil 1 ml. Sedangkan pengukuran stabilitas emulsi dilakukan pengambilan 1 ml setelah 10 menit kemudian. Masing-masing ditambahkan 5 ml SDS 0,1% dan vortex. Kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 500 nm. Selanjutnya dilakukan perhitungan daya emulsi dan stabilitas emulsi dengan rumus:

$$EAI = \frac{2 \times 2,303}{c \times (1 - \phi) \times 10^4} \times abs \times dilution$$

Keterangan: c = Konsentrasi protein (g/ ml)
 ϕ = Fraksi volume minyak (ml/ml) dari emulsi
abs = Absorbansi
Dilution = Fraksi larutan (SDS + emulsi)

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

Tabung sentrifuge yang kosong dan kering ditimbang (a gram). Pengukuran OHC adalah dengan menimbang 0,5 gram sampel (b gram) dan menambahkan minyak sebanyak 7X berat sampel, lalu masukkan ke tabung. Vortex hingga menyatu dan sentrifuge selama 5 menit pada kecepatan 2000 rpm.

Supernatannya dituang dan endapan ditimbang (c gram). Selanjutnya dilakukan perhitungan Oil Holding Capacity (OHC) dengan rumus:

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

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

Tabung sentrifuge yang kosong dan kering ditimbang (a gram). Pengukuran WHC adalah dengan menimbang 0,5 gram sampel (b gram) dan menambahkan aquadest sebanyak 7X berat sampel, lalu masukkan ke tabung. Vortex hingga menyatu dan disentrifuge selama 5 menit pada kecepatan 2000 rpm. Supernatannya dituang dan endapan ditimbang (c gram). Selanjutnya dilakukan perhitungan Water Holding Capacity (WHC) dengan rumus:

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

3.5.3.5 Daya Buih (Subagio, dkk., 2003)

Pengukuran daya buih dengan menimbang 0,5 gram sampel dan ditambahkan 100 ml buffer phosphat 0,1M pH 7, lalu dimasukkan ke dalam gelas ukur 250 ml. Volume (ml) awal larutan dicatat, kemudian stirer selama 10 menit. Pembentukan buih dengan pemberian gelembung-gelembung gas yang dihasilkan oleh aerator selama 1 menit (masih di stirer) dan volume buihnya dicatat. Aerator dan stirer dihentikan selama 2 menit, lalu catat volume penurunan buih dicatat. Selanjutnya dilakukan perhitungan:

daya buih = (volume setelah aerasi - volume awal) : berat sampel

stabilitas buih = (volume penurunan buih - volume awal) : berat sampel

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai sifat fisik, kimia, dan fungsional Isolat Protein Koro Komak (IPKK) dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. IPKK hasil ekstraksi dan isolasi menggunakan alkali diperoleh rendemen 7,38 gram dalam setiap 100 gram biji komak dengan kandungan kimia meliputi kadar protein, air, abu, pati, lemak, dan gula total yang masing-masing sebesar 82,08%; 8,58%; 2,73%; 2,10%; 1,96%; nd (tidak teridentifikasi) atas dasar berat basah.
2. IPKK mempunyai warna putih sedikit kekuningan dengan komponen warna berupa tingkat kecerahan (L) sebesar 95,32; warna a* sebesar 1,76; warna b* sebesar 3,32; intensitas warna (c*) sebesar 3,76; sudut warna (H) 62,09⁰, dan derajat keputihan (W) sebesar 93,99.
3. IPKK mempunyai fraksi protein penyusun albumin dan globulin 7 S.
4. Sifat fungsional yang meliputi prosentase kelarutan protein yang berbeda-beda pada berbagai pH, daya buih sebesar 232 ml/g, WHC 321,2%, OHC 254%, dan daya emulsi 2,67 m²/g.
5. Dengan perbandingan Isolat Protein Kedelai (ISP), beberapa karakteristik sifat fungsional seperti daya buih, OHC, dan WHC dari IPKK lebih tinggi daripada ISP, sedangkan untuk kelarutan protein pada berbagai pH menunjukkan pola yang hampir sama. Pada daya emulsi IPKK lebih rendah dan stabilitas lebih tinggi daripada ISP.

5.2 Saran

1. Dengan melihat manfaat IPKK yang relatif besar pada industri pangan, maka perlu penelitian lebih lanjut mengenai kajian teknologi ekstraksi dan isolasi yang cepat dan mudah sehingga diperoleh hasil yang maksimal dengan biaya yang rendah dan untuk meningkatkan sifat fungsional yang masih lemah.
2. Penelitian lebih lanjut mengenai aplikasi dan pengaruh IPKK pada beberapa produk seperti cake, daging, dan lain-lain.

DAFTAR PUSTAKA

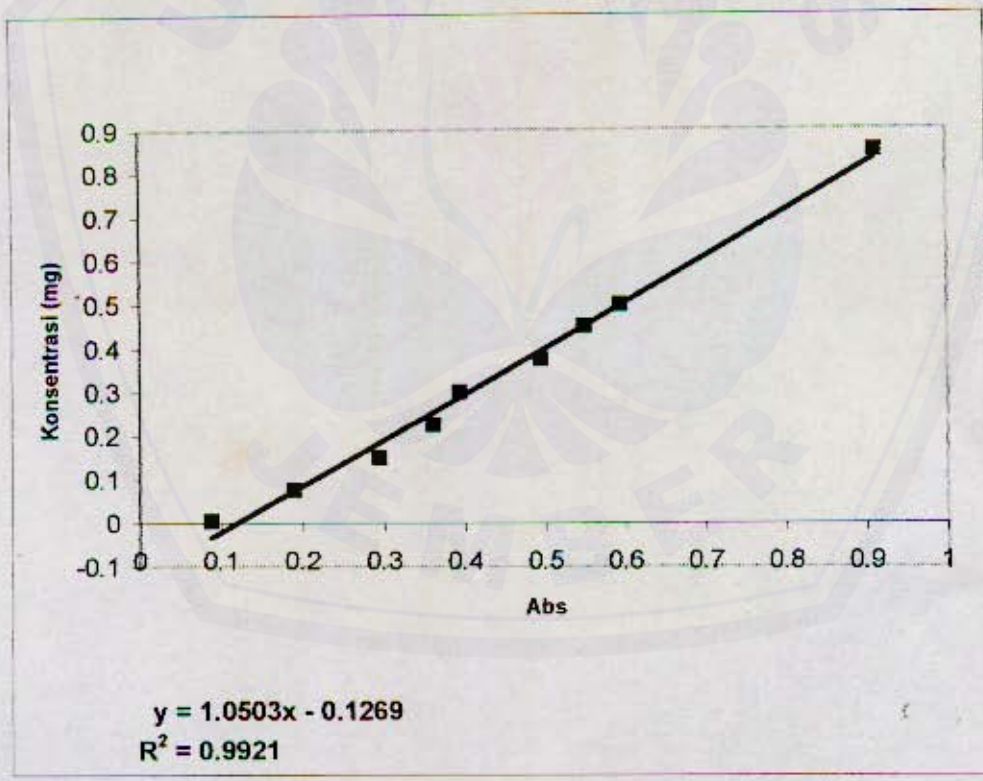
- Anonim. 2000. *Buku Ajar Biokimia I*. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- , 2001. *Diktat Mata Kuliah Kimia Hasil Pertanian*. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- , 2002. *Petunjuk Praktikum Analisa Hasil Pertanian*. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- , 2004. *Soy Protein Isolate Reference Guide*. http://www.asasoya.Org/Uses/SPI_RefGuide.htm. Februari 2004.
- Aurand., C. W and A. E. Woods. 1973. *Food Chemistry*. Dalam: Windrati, S. W.. Tesis: *Studi Pembuatan Tahu Dengan Substitusi Non Kedelai Dan Pengaruhnya Terhadap Perubahan Sifat-Sifat Tahu*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Clemente, A., Millan, F., Pedroche. 1999. *Protein Quality Of Chickpea (Cicer arietinum L.) Protein Hydrolysates*. Dalam: Subagio, dkk. *Protein Albumin Dan Globulin Dari Beberapa Jenis Koro-koroan Di Indonesia*. Jurnal Seminar Nasional PATPI Malang 30-31 Juli 2002: 135-140.
- Damodaran, S.. 1997. *Food Proteins And Their Applications*. Marcel Dekker, Inc New York.
- Desrosier, N. W.. 1988. *Teknologi Pengawetan Pangan*. UI-Press. Jakarta.
- Giese, J.. 1994. *Protein As Ingredients: Types, Functions, Applications*. Dalam: Bayu, dkk.. *Pengaruh Perubahan Komposisi Kimia Selama Perkecambahan Terhadap Sifat Fungsional Tepung Kecambah Kecipir Rendah Lemak*. Seminar nasional PATPI.
- Hastuti, S., Zuhaid, N., dan Umar, S.. 1999. *Kajian Sifat Fisik dan Mekanis Edible Film dari Tepung Kecipir Rendah Lemak*. Dalam Seminar Nasional PATPI.
- Hui, Y. H. 1992. *Encyclopedia Of Food Science And Technology*. John Willey & Sons USA.
- Hutton nad Campbell. 1984. *Water and Fat Absorption*. Dalam: Purwani, dkk.. *Perubahan Beberapa Sifat Fungsional Tepung Kacang Hijau Selama Penyimpanan*. Jurnal Teknologi Industri Pertanian Vol. V no. 3: 190-198.

- Iwabuchi, S. and F. Yamauchi. 1987. *Electrophoretic Analysis Of Whey Protein Present An Soybean Globulin Fraction*. Dalam: Windrati, S. W.. Tesis: *Studi Pembuatan Tahu Dengan Substitusi Non Kedelai Dan Pengaruhnya Terhadap Perubahan Sifat-Sifat Tahu*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Kinsella, J.E., 1979. *Functional Properties Of Soybean Protein*. Dalam: Suwarnig. Skripsi: *Ekstraksi Dan karakterisasi water Extractable protein Dan Pentosan Tepung Terigu*. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Kinsella and Shetty. 1985. *ACS Symp*. Dalam: Damodaran, S., 1997. *Food Proteins And Their Applications*. Marcel Dekker, Inc New York.
- Koswara, S., 1995. *Teknologi Pengolahan kedelai*. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta.
- Maessen dan Somaatmadja. 1993. *Prosea: Sumber Daya Nabati Asia Tenggara I*. Gramedia Pustaka Umum. Jakarta.
- Matthews. 1989. *Legumes*. Marcel Dekker Inc New York and Basel.
- Parkington, Xiong, Blanchard, Srinivasan, and Froning. 2000. *Chemical And Functional Properties Of Oxidatively Modified Beef Heart Surimi Stored at 2^o C*. *Food Chemistry and Toxicology* Vol.65 no. 3: 428-433.
- Rusdianto, A. S., 2004. *Karakterisasi Biji dan Protein Koro Komak (Lablab purpureus (L.) Sweet) Sebagai Sumber Protein*. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Stainsby. 1986. *Foaming and Emulsification*. Dalam: Bayu, dkk.. *Pengaruh Perubahan Komposisi Kimia Selama Perkecambahan Terhadap Sifat Fungsional Tepung Kecambah Kecipir Rendah Lemak*. Seminar nasional PATPI.
- Subagio, Yuli W., dan Wiwik SW. 2002. *Protein Albumin Dan Globulin Dari Beberapa Jenis Koro-koroan Di Indonesia*. *Jurnal Seminar Nasional PATPI Malang* 30-31 Juli 2002; 135-140.
- , 2003. *Pengaruh Penambahan Isolat Protein Koro Pedang (Canavalia ensiformis L.) Terhadap Karakteristik Cake*. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* Vol. XIV no. 2: 136-143.
- , 2003. *Pengembangan Kekara Sebagai Sumber Protein Untuk Mencukupi Kebutuhan Pangan Di Daerah Marginal*. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

- Sudarmadji, S. B Haryono dan Suhardi. 1997. *Analisa Bahan Makanan Dan Pertanian*. Gramedia Pustaka Umum. Jakarta.
- Sugijanto dan Manulang. 2001. *Pembuatan Protein Konsentrat Wheat Pollard Sebagai Pemanfaatan Hasil Samping Penggilingan Gandum*. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan Vol. XII no. 1: 54-69.
- Suhardi. 1989. *Kimia dan Teknologi Protein*. Dalam: Windrati, S. W.. Tesis: *Studi Pembuatan Tahu Dengan Substitusi Non Kedelai Dan Pengaruhnya Terhadap Perubahan Sifat-Sifat Tahu*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Suryabrata, S.. 1989. *Metodologi Penelitian*. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Turgeon. 1992. *Emulsifying Property Of Whey Peptide Fractions As A Function Of pH And Ionic Strength*. Dalam: Bayu, dkk.. *Pengaruh Perubahan Komposisi Kimia Selama Perkecambahan Terhadap Sifat Fungsional Tepung Kecambah Kecipir Rendah Lemak*. Seminar nasional PATPI.
- Utsumi dan Kinsella. 1985. *Structure Function Relationship In Food Protein Sub Gelation Of 7 S, 11 S And Soy Isolate Protein*. Dalam: Windrati, S. W.. Tesis: *Studi Pembuatan Tahu Dengan Substitusi Non Kedelai Dan Pengaruhnya Terhadap Perubahan Sifat-Sifat Tahu*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Utomo dan Andarlina. 1998. *Poteinsi Kacang Komak (Dolichos Lablab L.) Sebagai Bahan Baku Isolat Protein*. Dalam: Utomo, J. S.. *Teknologi Pengolahan Dan Produk-Produk Olahan Kacang Komak*. Prosiding Seminar Nasional Pangan 14 September 1999: 107-120. Yogyakarta.
- Utomo, J. S.. *Teknologi Pengolahan Dan Produk-Produk Olahan Kacang Komak*. Prosiding Seminar Nasional Pangan 14 September 1999: 107-120. Yogyakarta.
- Widowati dan Damardjati. 2001. *Menggali Sumber Daya Pangan Dalam Rangka Ketahanan Pangan Nasional*. Jurnal pangan Vol. X no. 36: 3-11.
- Winarno, F. G.. 1985. *Kedelai Bahan Pangan Masa Depan*. Dalam: Utomo, J. S.. *Teknologi Pengolahan Dan Produk-Produk Olahan Kacang Komak*. Prosiding Seminar Nasional Pangan 14 September 1999: 107-120. Yogyakarta.
- 1997. *Kimia Pangan Dan Gizi*. Gramedia Pustaka Umum. Jakarta.
- Zayas, J. F.. 1997. *Functionality Of Protein In Food*. Springer Berlin.

Lampiran 1. Kurva Standar Lowry Dengan Hidrolisa

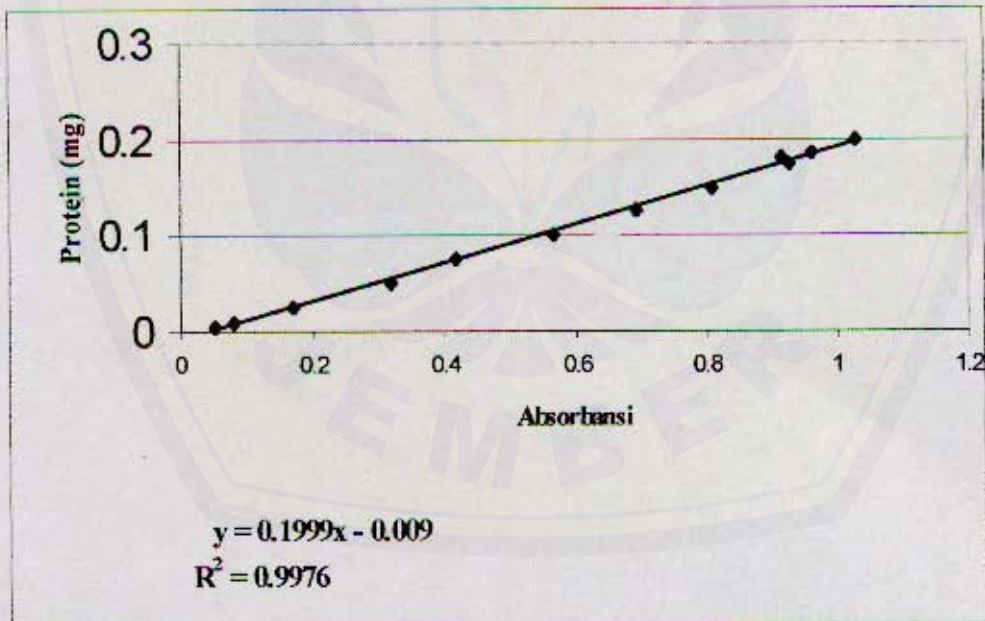
Absorbansi	Konsentrasi (mg)
0.088	0.005
0.19	0.075
0.294	0.15
0.361	0.225
0.393	0.3
0.495	0.375
0.549	0.45
0.595	0.5
-	0.6
0.912	0.85



Gambar 9. Grafik Kurva Standar Analisa Protein

Lampiran 2. Kurva Standar Gula Reduksi Metode Nelson Somogy

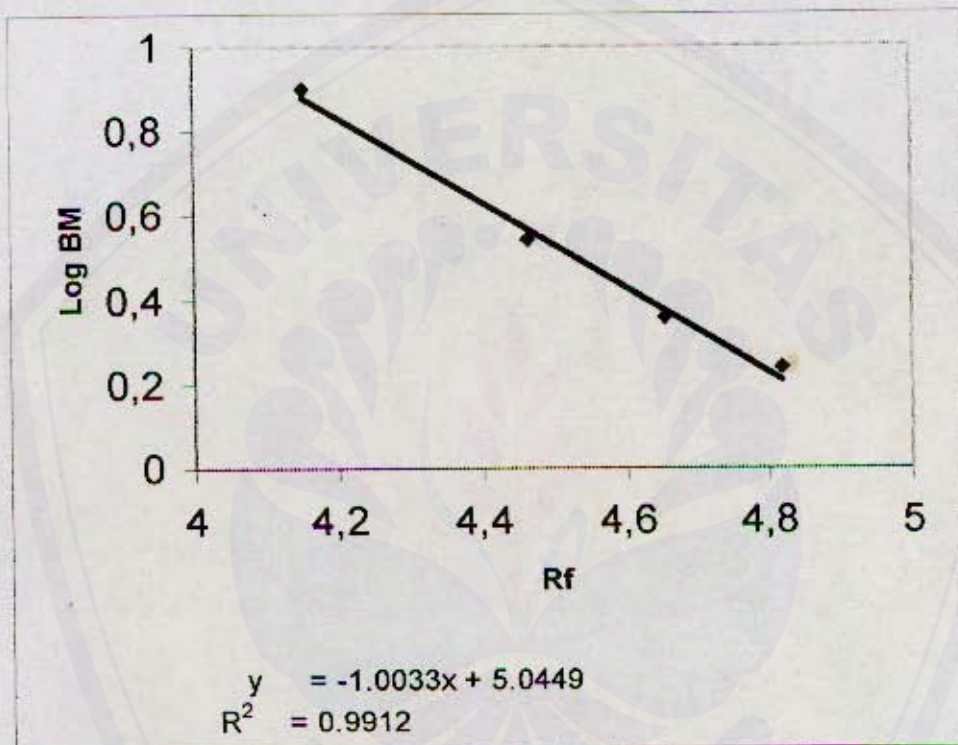
Absorbansi	Konsentrasi (mg)
0,053	0,005
0,08	0,01
0,17	0,025
0,317	0,05
0,416	0,075
0,566	0,1
0,694	0,125
0,81	0,15
0,928	0,175
0,916	0,18
0,962	0,185
1,03	0,2



Gambar 10. Grafik Kurva Standar Analisa Pati

Lampiran 3. Standar Elektroforesis

Rf (Mobilitas Relatif)	Log BM
0,237	4,819544
0,356	4,653213
0,542	4,462398
0,898	4,152288



Gambar 11. Grafik Kurva Standar Penentuan Fraksi Protein Penyusun

Lampiran 4. Penentuan pH Isoelektrik

pH	Abs	mg	Vol diambil	Konsentrasi (mg/ml)
2.17	1.24	1.175472	100	11.75472
3.2	1.135	1.065191	100	10.651905
4.23	0.934	0.85408	100	8.540802
5.22	1.155	1.086197	100	10.861965
6.16	1.46	1.406538	100	14.06538
6.95	1.5	1.44855	100	14.4855
8.38	1.51	1.459053	100	14.59053
9.52	1.54	1.490562	100	14.90562

Lampiran 5. Rata-Rata Rendemen IPKK

Ulangan	Berat (gram)	Rendemen (%)	Jumlah (%)	Rata-Rata (%)	SD
1	6,833 (100 gram)	6,883			
2	23,605 (300 gram)	7,868	14,751	7,3755	0,6965

Lampiran 6. Komponen Warna IPKK

Ulangan	E	L	a	b
1	6	-4,7	+1,4	+3,5
2	5,8	-4,6	+1,7	+3,2
3	5,9	-4,5	+1,8	+3,2
4	6,2	-4,8	+2,0	+3,3
5	6,1	-4,8	+1,9	+3,4

Ulangan	C	H	L	W
1	3,7696	68,1986	95,3	93,9750
2	3,6235	62,0205	95,4	94,1442
3	3,6715	60,6422	95,5	94,1922
4	3,8588	58,7816	95,2	93,8413
5	3,8949	60,8025	95,2	93,8186
Jumlah	18,8183	310,4454	476,6	469,9713
Rata-Rata	3,76366	62,08908	95,32	93,99426
SD	0,1168	3,6062	0,134	0,1705

Lampiran 7. Rata-Rata Kadar Air IPKK

Ulangan	Kadar air (%)	Jumlah (%)	Rata-Rata (%)	SD
1	8,709			
2	8,449	17,158	8,579	0,184

Lampiran 8. Rata-Rata Kadar Abu IPKK

Ulangan	Kadar abu (%)	Jumlah (%)	Rata-Rata (%)	SD
1	2,480			
2	2,979	5,459	2,7295	0,353

Lampiran 9. Rata-Rata Kadar Pati IPKK

Ulangan	Kadar pati (%)	Jumlah (%)	Rata-Rata (%)	SD
1	2,525			
2	2,588	5,113	2,5565	0,04455

Lampiran 10. Rata-Rata Kadar Lemak IPKK

Ulangan	Kadar Lemak (%)	Jumlah (%)	Rata-Rata (%)	SD
1	1,93			
2	1,998	3,928	1,964	0,0481

Lampiran 11. Kelarutan IPKK dalam Berbagai pH

pH	Absorbansi	Konsentrasi (mg)	Kelarutan (%)
1,87	0,888	0,806	78,558
2,45	0,844	0,760	74,074
3,20	0,149	0,030	2,924
3,82	0,127	0,0065	0,634
4,14	0,063	-0,061	0
4,45	0,098	-0,024	0
4,79	0,183	0,065	6,335
5,12	0,730	0,640	62,378
6,27	0,774	0,686	66,862
7,16	0,814	0,728	70,955
8,11	0,884	0,802	78,168
9,20	0,968	0,890	86,745
12,07	1,098	1,026	100

Lampiran 12. Kelarutan ISP dalam Berbagai pH

pH	Absorbansi	Konsentrasi (mg)	Kelarutan (%)
0,90	0,465	0,361	83,372
2,48	0,356	0,247	57,044
3,12	0,159	0,040	9,238
3,66	0,126	0,00544	1,256
4,04	0,119	-0,00191	0
4,50	0,109	-0,0124	0
4,91	0,259	0,145	33,487
5,17	0,378	0,270	62,356
6,29	0,424	0,318	73,441
7,36	0,428	0,323	74,596
8,18	0,441	0,336	77,598
9,32	0,446	0,341	78,753
13,62	0,533	0,433	100

Lampiran 13. Rata-Rata Daya Buih dan Stabilitas Buih IPKK

Ulangan	Daya Buih (ml/gr)	Stabilitas Buih (%)
1	220	11,364
2	232	9,914
3	244	10,143
Jumlah (ml/gr)	696	31,421
Rata-Rata (ml/gr)	232	10,474
SD	12	0,780

Lampiran 14. Rata-Rata Daya Buih dan Stabilitas Buih Fraksi Protein IPKK

Ulangan	Daya Buih Fraksi Protein (ml/gr)	Stabilitas Buih (%)
1	268,031	11,364
2	282,651	9,914
3	297,271	0,143
Jumlah (ml/gr)	847,953	31,421
Rata-Rata (ml/gr)	282,651	10,474
SD	14,62	0,780

Lampiran 15. Rata-Rata Daya Buih dan Stabilitas Buih ISP

Ulangan	Daya Buih Fraksi Protein (ml/gr)	Stabilitas Buih (%)
1	100	0
2	108	0
3	104	0
Jumlah (ml/gr)	312	0
Rata-Rata (ml/gr)	104	0
SD	4	0

Lampiran 16. Rata-Rata Daya Buih dan Stabilitas Buih Fraksi Protein IPKK

Ulangan	Daya Buih Fraksi Protein (ml/gr)	Stabilitas Buih (%)
1	192,456	0
2	207,852	0
3	200,154	0
Jumlah (ml/gr)	600,462	0
Rata-Rata (ml/gr)	200,154	0
SD	7,698	0

Lampiran 17. Rata-Rata Oil Holding Capacity (OHC) IPKK

Ulangan	OHC (%)	Jumlah (%)	Rata-Rata (%)	SD
1	254			
2	254	508	254	0

Lampiran 18. Rata-Rata Oil Holding Capacity (OHC) Fraksi Protein IPKK

Ulangan	OHC fraksi protein (%)	Jumlah (%)	Rata-Rata (%)	SD
1	309,454			
2	309,454	618,908	309,454	0

Lampiran 19. Rata-Rata Oil Holding Capacity (OHC) ISP

Ulangan	OHC (%)	Jumlah (%)	Rata-Rata (%)	SD
1	133,4			
2	132,2	265,6	132,8	0,849

Lampiran 20. Rata-Rata Oil Holding Capacity (OHC) Fraksi Protein ISP

Ulangan	OHC fraksi protein (%)	Jumlah (%)	Rata-Rata (%)	SD
1	256,736			
2	254,426	511,162	255,581	1,6334

Lampiran 21. Rata-Rata Water Holding Capacity (WHC) IPKK

Ulangan	WHC (%)	Jumlah (%)	Rata-Rata (%)	SD
1	329,8			
2	312,6	642,4	321,2	12,162



Lampiran 22. Rata-Rata Water Holding Capacity (WHC) Fraksi Protein IPKK

Ulangan	WHC fraksi protein (%)	Jumlah (%)	Rata-Rata (%)	SD
1	401,803			
2	380,848	782,651	391,3255	14,8174

Lampiran 23. Rata-Rata Emulsifying Activity Indeks (EAI) IPKK

Menit	EAI (m ² /gr)		Jumlah (m ² /gr)	Rata-Rata (m ² /gr)	SD
	Ulangan 1	Ulangan 2			
0	2,6392	2,7014	5,3406	2,6703	0,0440
5	2,5287	2,6461	5,1748	2,5874	0,0830
10	2,4803	2,5356	5,0159	2,50795	0,0391
15	2,4596	2,5149	4,9745	2,48725	0,0391

Lampiran 24 Rata-Rata Emulsifying Activity Indeks (EAI) ISP

Menit	EAI (m ² /gr)			Jumlah (m ² /gr)	Rata-Rata (m ² /gr)	SD
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3			
0	4,2836	4,7372	4,7672	13,7835	4,5945	0,2698
5	3,8518	4,2663	4,6636	12,7817	4,2606	0,4059
10	3,8863	4,3354	4,2145	11,9526	3,9842	0,3049
15	3,7481	4,0936	4,1109	11,9526	3,9842	0,2047

Lampiran 25 Slope IPKK dan ISP

Isolat	X (Waktu)		Y (EAI)		Nilai slope (m ² /gr menit)
	X ₁	X ₂	Y ₁	Y ₂	
IPKK	3,9	9,4	2,6	2,5	0,0182
ISP	4	6,7	4,3	4,1	0,0741