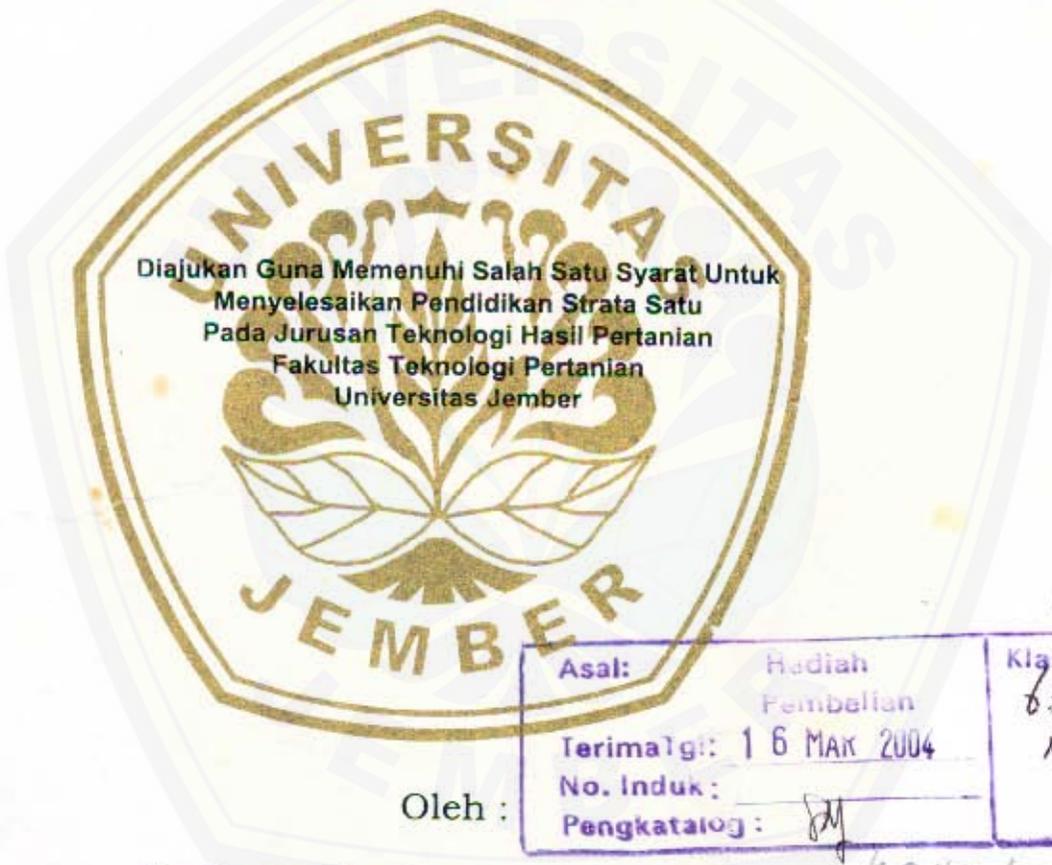




**KARAKTERISASI BIJI DAN PROTEIN
KORO KOMAK (*Lablab purpureus* (L.) Sweet)
SEBAGAI SUMBER PROTEIN**

**KARYA ILMIAH TERTULIS
(SKRIPSI)**



Diajukan Guna Memenuhi Salah Satu Syarat Untuk
Menyelesaikan Pendidikan Strata Satu
Pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember

Oleh :

Asal: Hadiah Pembelian
Terima tg: 16 MAREK 2004
No. Induk :
Pengatalog : JM

Klass
633.3
RUS
ke,

Andrew Setiawan Rusdianto
NIM. 001710101037

KORO KOMAK

**FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2004**

Diterima oleh:

Fakultas Teknologi Pertanian

Universitas Jember

Sebagai Karya Ilmiah Tertulis

Dipertahankan pada:

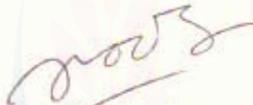
Hari : Kamis

Tanggal : 19 Februari 2004

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember

Tim Penguji

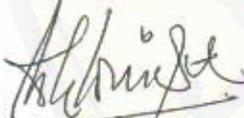
Ketua



Dr. Ir. Achmad Subagio, M.Agr.

NIP. 131 975 306

Anggota I



Ir. Wiwik Siti Windrati, MP.

NIP. 130 787 732

Anggota II



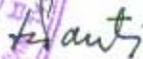
Ir. Sukatiningsih, MS.

NIP. 130 890 066



Mengesahkan

Dekan Fakultas Teknologi Pertanian



Ir. Hj. Siti Hartanti, MS.

NIP. 130 350 763

DOSEN PEMBIMBING:

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

Ir. Wiwik Siti Windrati, MP. (DPA)

MOTTO

Biarlah kalian *menggonggong* aku akan jalan terus,
ku tak peduli jikalau kau memusuhi diriku.
(Kecuali jika engkau mengusik diriku!)
Namun ku tetap mencintaimu
semampu hatiku,
Sekuat ragaku.

PERSEMBAHAN

Karya ini kupersembahkan kepada:

- ❖ *Tuhan Yesus, kau teman di setiap saat aku membutuhkan – Mu*
- ❖ *Ayah di Surga (Lihatlah anakmu)*
- ❖ *Ibu tercinta yang telah merawat aku*
- ❖ *Saudara – saudariku (Mbak Ika dan Dik Doni)*

Tak lupa juga untuk:

- *Temen - temen yang ngedukung aku (Ingrit, Utami, Iksan, Nani, Safita, Dano, Fajri, Efi (keduanya), Fenita, Mas Fajar dan Mbak Rika)*
- *Adik-adik di FTP (Dra, Caecilia and the genk, Valen and semoanya!)*
- *Temen CSC, I Love You All (Spesial Dik Marisha dan Febbi, Mbak Lia dan Anis)*

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Kuasa sehingga penelitian dan penulisan skripsi dengan judul **Karakterisasi Biji dan Protein Koro Komak (*Lablab purpureus* (L.) Sweet) Sebagai Sumber Protein** dapat selesai dengan baik.

Penulisan skripsi diajukan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu di Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada semua yang telah membantu antara lain:

1. Ir. Hj. Siti Hartanti, MS., selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
2. Dr. Ir. Achmad Subagio, M. Agr., selaku dosen wali dan dosen pembimbing utama penelitian yang telah membimbing dan mengarahkan penelitian.
3. Ir. Wiwik Siti Windrati, MP., selaku dosen pembimbing anggota yang juga turut membantu keberhasilan penelitian ini.
4. Ir. Sukatiningsih, MS., yang telah membantu perbaikan tulisan ini.
5. Para teknisi laboratorium terutama Mbak Ketut dan Mbak Sari.
6. Anggota tim penelitian koro (Ingrit, Utami, Iksan, Nani, Safita).
7. Dan semua teman angkatan 2000 yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis meyakini bahwa tidak ada hal yang sempurna di dunia ini. Oleh karena itu penulis mohon maaf jika ada hal yang kurang berkenan di hati pembaca. Penulis juga menerima segala kritik dan saran yang dapat membantu kesempurnaan tulisan ini.

Jember, Februari 2004

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
RINGKASAN	xii
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Kegunaan Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Koro Komak (<i>L. purpureus</i> (L.) Sweet)	4
2.2 Protein	5
2.2.1 Dialisis	10
2.2.2 Elektroforesis	10
III. METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Bahan dan Alat Penelitian	13
3.1.1 Bahan	13
3.1.2 Alat	13
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	13
3.3 Persiapan Bahan	13
3.4 Pengukuran Sifat Fisik	14
3.4.1 Berat, Tebal, Lebar dan Panjang Biji	14
3.4.2 Luas Penampang Biji	14
3.4.3 Volume	15
3.4.4 BDD (Berat yang Dapat Dimakan)	15

DAFTAR TABEL

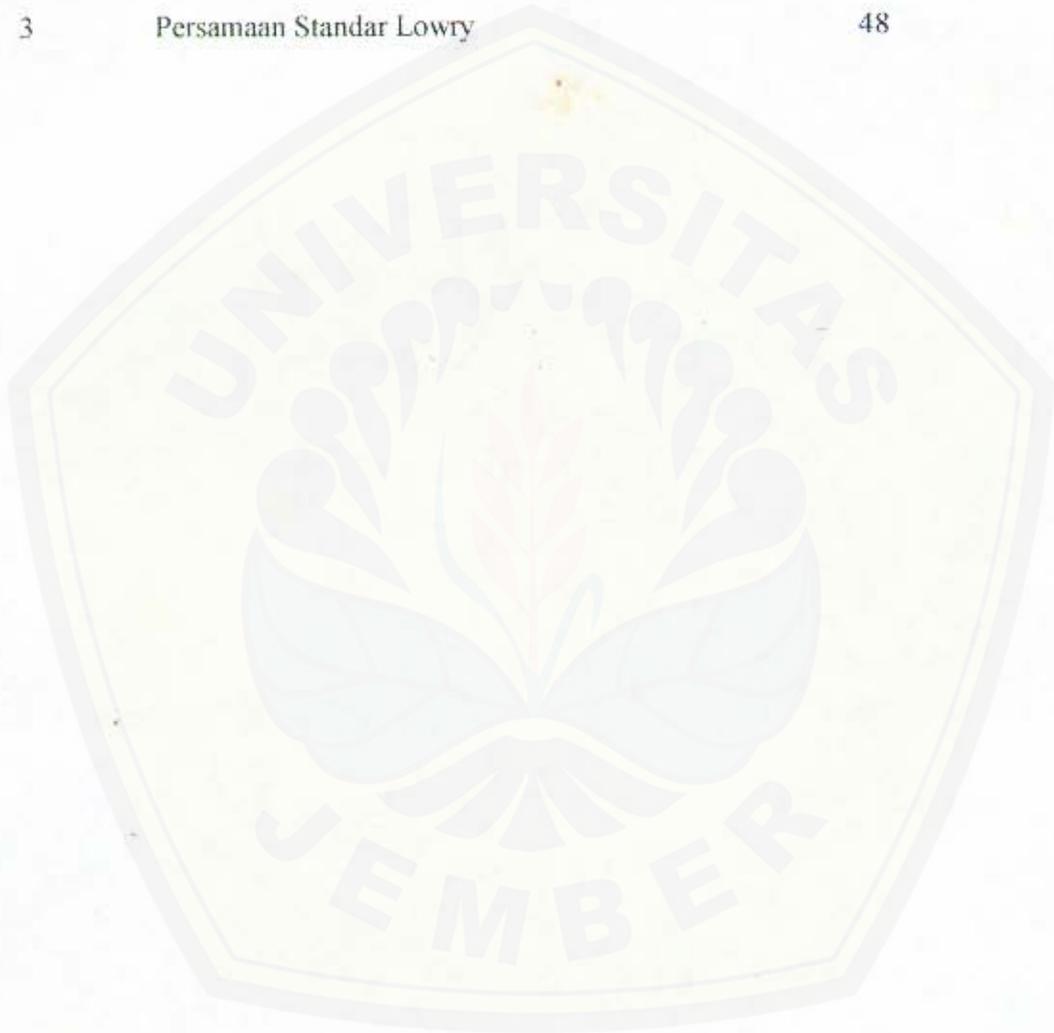
Tabel	Teks	Halaman
1	Sifat Fisikokimia Globulin 7S dan Globulin 11S Protein Kedelai	9
2	Sifat Fisik Biji Koro Komak (<i>L. purpureus</i> (L.) Sweet)	27
3	Kandungan Kimia Koro Komak dengan Koro Lainnya dan Kedelai	28
4	Hasil Fraksinasi Protein Koro Komak (<i>L. purpureus</i> (L.) Sweet)	29
5	Hasil Fraksinasi Globulin 7S dan Globulin 11S	30
6	Nilai Berat Molekul dan Rf dari Kit Penciri Protein BM Rendah	33
7	Mobilitas Relatif (Rf) dan Perkiraan Berat Molekul	34

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Teks	Halaman
1	Fraksinasi Protein Koro Komak (<i>L. purpureus</i> (L.) Sweet)	20
2	Metode Lowry	21
3	Fraksinasi Globulin 7S dan Globulin 11S	23
4	Polong dan Biji Koro Komak (<i>L. purpureus</i> (L.) Sweet)	26
5	SDS-PAGE dari Fraksi Protein dan Globulin 7S / 11S Koro Komak (<i>L. purpureus</i> (L.) Sweet)	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Teks	Halaman
1	Sifat Fisik Koro Komak	42
2	Persamaan Standar Elektroforesis	47
3	Persamaan Standar Lowry	48



RINGKASAN

ANDREW SETIAWAN RUSDIANTO (001710101037), **Karakterisasi Biji dan Protein Koro Komak (*Lablab purpureus* (L.) Sweet) Sebagai Sumber Protein**, dibimbing oleh Dr. Ir. Achmad Subagio, M.Agr. (DPU) dan Ir. Wiwik Siti Windrati, MP. (DPA).

Koro komak merupakan sumber protein fungsional yang cukup baik dengan kandungan asam amino yang seimbang, anti nutrisi yang rendah dan ketersediannya yang cukup besar. Pemanfaatan yang kurang maksimal dari koro komak memerlukan adanya usaha dalam menggali potensi tersembunyi yang dapat digunakan sebagai sumber makanan. Karakterisasi biji dan protein dari koro komak merupakan salah satu usaha untuk meneliti mengenai karakter fisik dan kimia biji serta fraksinasi proteinnya.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengkarakterisasi sifat fisikokimia biji koro komak sebagai sumber protein baru dan melakukan fraksinasi protein dan globulin 7S/11S. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk penggalan sumber protein nabati alternatif sekaligus informasi mengenai aplikasi proteinnya sebagai bahan tambahan makanan.

Biji koro komak dikarakterisasi sifat fisik dan kimianya. Sifat fisik yang diukur meliputi tebal, panjang, lebar dan berat biji; luas permukaan; volume biji; BDD; ketebalan kulit dan warna biji. Sifat kimia yang diukur meliputi kandungan karbohidrat, protein, lemak, kadar air dan kadar abu. Fraksinasi protein dilakukan berdasarkan kelarutannya dan sifat sedimentasinya. Hasil fraksinasi dianalisa elektroforesis SDS-PAGE untuk menghitung nilai BM.

Pengolahan data dilakukan secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa biji koro komak mempunyai ukuran yang cukup besar dengan bentuk oval dan warna berkisar antara kuning hingga oranye. BDD dari biji koro komak berkisar $83,2 \pm 1,1$ %. Koro ini mempunyai kandungan karbohidrat yang paling besar ($67,9 \pm 4,2$ %) disusul dengan protein ($17,1 \pm 1,5$ %) dengan kadar lemak yang rendah ($1,1 \pm 0,4$ %). Kandungan protein terbanyak adalah globulin (55,15 %) dengan dominasi fraksi globulin 7S.

Koro komak mempunyai ukuran biji yang cukup besar dengan warna yang cerah. Koro ini berpotensi digunakan sebagai makanan pokok karena kandungan karbohidratnya yang tinggi, di samping sebagai sumber protein dan bahan tambahan makan. Berdasarkan kelarutannya, maka globulin adalah komponen terbanyak, sedangkan berdasar sedimentasinya globulin 7S mendominasi.

Kata kunci: koro komak, seed protein, sifat fisikokimia, fraksinasi protein.

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara dengan jumlah penduduk terpadat di dunia. Jumlah penduduk yang terus bertambah akan membutuhkan pembukaan lahan pertanian yang digunakan untuk tempat tinggal penduduk. Berkurangnya lahan pertanian yang digunakan sebagai perumahan berimbas pada menurunnya produktifitas hasil pertanian terutama produksi makanan pokok. Menurunnya produktifitas dan meningkatnya permintaan bahan pangan menuntut adanya penggalian sumber-sumber pangan baru di luar sumber pangan konvensional.

Protein merupakan salah satu komponen gizi terpenting yang harus dipenuhi, terutama untuk pertumbuhan balita dan anak-anak. Pemenuhan kebutuhan protein dapat diperoleh dari dua sumber yaitu protein hewani dan protein nabati. Indonesia kaya akan jenis kacang-kacangan yang merupakan sumber protein nabati. Di samping kedelai yang sudah terkenal di masyarakat, golongan koro-koroan (*non-oilseed legumes*) merupakan salah satu sumber protein yang cukup bagus yang belum dimanfaatkan dengan baik. Umumnya kacang koro-koroan mengandung protein antara 18 % sampai dengan 25 % dari biji (Somaatmadja dan Maesen, 1993).

Koro-koroan merupakan sumber protein fungsional yang bagus, mempunyai komposisi asam amino yang seimbang, ketersediaannya cukup besar dan mempunyai kandungan anti nutrisi yang rendah (Friedman, 1996; Newman et al., 1987). Kacang koro selama ini sudah banyak digunakan oleh masyarakat sebagai bahan sayur-sayuran saja tanpa adanya penggalian untuk manfaat lain yang cukup berarti. Apabila dilihat dari komposisi kimiawinya, maka koro komak (*Lablab purpureus* (L.) Swet) merupakan salah satu dari spesies koro-koroan yang berpotensi digunakan sebagai sumber makanan pokok ataupun sebagai bahan tambahan makanan. Selain itu kacang koro juga berpotensi sebagai pengganti protein hewani bagi para vegetarian. Usaha pendayagunaan koro-koroan sebagai

salah satu sumber protein baru dipandang sebagai salah satu usaha yang cukup bagus.

Koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) di daerah Asia Tenggara sudah dikenal sebagai bahan sayuran yang dimakan dengan merebus polong mudanya atau digunakan sebagai sayur kari. Daun pucuk dan bunga dari tanaman koro juga dimanfaatkan sebagai kacang-kacangan, dan kadang-kadang kecambahnya dijemur sampai kering dan disimpan sebagai sayuran (Somaatmadja dan Maesen, 1993). Karakteristik dari biji koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) seperti panjang, lebar, tebal, volume dan sifat fisik lainnya dari biji ini perlu diungkapkan sedemikian rupa sebagai sumber acuan pemanfaatannya. Komposisi senyawa organik yang ada di dalam biji harus diketahui secara jelas dan terperinci terutama komponen penting seperti kadar protein, kadar lemak dan kadar karbohidrat.

Protein yang ada di dalam biji-bijian dapat dipisah-pisahkan berdasarkan daya kelarutan dan sifat sedimentasinya. Protein berdasarkan kelarutannya dapat dipisahkan menggunakan metode Osborne menjadi 4 macam protein utama yaitu albumin, globulin, glutelin dan prolamin. Protein berdasarkan sifat sedimentasinya dapat digolongkan menjadi empat fraksi utama yaitu 2S, 7S, 11S dan 15S (Nielsen, 1985).

Sifat fungsional dari protein legume, seperti kelarutan, water holding capacity (WHC), sifat emulsi, oil holding capacity (OHC), daya buih dan sifat gelasi dipengaruhi atas komponen penyusun protein itu sendiri. Suhardi (1989) menyatakan bahwa perbedaan struktur dari globulin 7S dan 11S berperan dalam variasi sifat fungsional makanan yang dihasilkan antara lain sifat gelasi, daya ikat flavor, suhu penggumpalan, kelarutan dan kandungan nitrogen serta sulfur. Dengan demikian, maka protein koro-koroan berpotensi sekali dikembangkan sebagai bahan tambahan makanan seperti emulsifier, flavor enhancer, texturizer, stabilizer atau sebagai bahan pangan bergizi (Clemente et al., 1999).

1.2 Rumusan Masalah

Karakterisasi sifat fisikokimia biji koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) dan fraksinasi protein berdasarkan kelarutan dan sifat sedimentasi perlu dilakukan dalam upaya memanfaatkan sebagai sumber makanan maupun protein alternatif.

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengkarakterisasi sifat fisikokimia dari biji koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) sebagai sumber protein baru.
2. Melakukan fraksinasi protein koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) berdasarkan daya kelarutan.
3. Melakukan fraksinasi globulin 7S / 11S dari kacang koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet).

1.4 Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk:

1. Memberikan alternatif sumber protein nabati baru disamping kedelai.
2. Memberikan informasi dalam aplikasi protein koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) sebagai bahan tambahan makanan.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Koro Komak (*L. purpureus* (L.) Sweet)

Tanaman koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) merupakan jenis kacang-kacangan bukan penghasil minyak (*non-oilseed*). Koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet), berdasarkan klasifikasi botani, termasuk dalam famili *leguminosae* genus *Lablab* dan spesies *purpureus* sehingga dikenal dengan nama latin *Lablab purpureus* (L.) Sweet. Koro komak juga dikenal dengan *Dolichos lablab* L., *Dolichos bengalensis* Jacq., *Lablab niger* Medikus., atau dalam nama umum dikenal dengan hyacinth bean, atau lablab. Koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) merupakan tanaman tahunan, sering dipelihara sebagai tanaman semusim, merumpun ataupun memanjat dengan akar tunggang sebagai penunjang tanaman yang bercabang-cabang dengan tangkainya yang berbulu halus. Tanaman ini dapat mencapai ketinggian 6 m dengan daun berselang-seling dan pembungaan berbentuk tandan kaku di ketiak daun (Somaatmadja dan Maesen, 1993). Tohir (1960) mengatakan bahwa koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) mempunyai karakter fisik antara lain: kacangnya seperti berekor, warna bijinya umumnya merah tua atau hitam, pusat biji menonjol keluar; tipis dan panjang ($\pm 5-6$ mm).

Biji tua dapat dipanen 150-210 hari setelah tanam tergantung pada kultivar dan saat tanam. Kelompok-kelompok kultivar dari tanaman koro komak meliputi:

1. Lablab (tersebar luas): biji tua berporos panjang yang tegak lurus dengan kumpuhnya, polong merekah atau tidak, panjang biji $\pm 1/3 - 1/4$; lebar polong tua.
2. Ensiformis (Asia Tenggara, Afrika Timur): biji tua berporos panjang yang kurang lebih miring terhadap kumpuhnya, biji hampir memenuhi ruang polong tuanya; polong tidak merekah; sulit dibedakan dari jenis lablab saat muda.
3. Bengalensis (Asia Selatan, Afrika Timur): bijinya berporos panjang yang sejajar dengan kumpuhnya, kurang lebih memenuhi ruang polong tua, berbincul di bagian dorsal dan pangkalnya; polong tidak merekah (Somaatmadja dan Maesen, 1993).

Koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) umumnya mengandung protein 25-29 g /100 g kacang koro. Kandungan energi dari koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) rata-rata 1403 kJ/100 g. Biji tua koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) yang dapat dimakan, dalam 100 gram, akan memberikan 9,6 g air; 24,9 g protein; 0,8 g lemak; 60,1 g karbohidrat; 1,4 g serat dan 3,2 g abu. Pemanfaatan dari koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet), khususnya di Asia Tenggara, adalah sebagai sayuran polong mudanya dimakan setelah direbus seperti buncis, atau digunakan dalam sayuran kari, biji mudanya yang masih hijau dimakan setelah direbus atau disangrai; selain bijinya daun, pucuk (tunas) dan bunga dapat dimanfaatkan sebagai kacang-kacangan; seringkali sebagai *dhal*. Kacang koro juga dapat disimpan sebagai persediaan sayuran selain biji, yaitu kecambah yang telah dikeringkan dapat disimpan sebagai sayuran. (Somaatmadja dan Maesen, 1993).

2.2 Protein

Protein merupakan salah satu komponen terpenting yang dibutuhkan sel tubuh selain karbohidrat ataupun lemak. Protein lebih kompleks dibandingkan karbohidrat dan lemak. Komponen utama penyusun protein adalah karbon (C), nitrogen (N), dan hidrogen (H). Beberapa protein mengandung sulfur; beberapa mengandung fosfor dan lainnya seperti hemoglobin mengandung elemen lain. Protein digunakan oleh tubuh untuk membangun sel baru, memelihara sel yang ada dan memperbaiki sel yang sudah tua. Protein juga merupakan sumber energi selain karbohidrat dan lemak (Sackheim and Schultz, 1977).

Protein dapat bersifat amfoter, yaitu dapat bereaksi dengan asam dan basa. Protein bersifat amfoter karena asam-asam amino penyusunnya mengandung gugus $-\text{COOH}$ yang bersifat asam dan gugus $-\text{NH}_2$ yang bersifat basa. Jika protein diletakkan dalam larutan yang bersifat asam, maka protein akan mendapatkan ion positif dari asam sehingga protein akan bermuatan positif. Jika protein diletakkan dalam larutan basa, maka protein akan bermuatan negatif karena adanya ion OH^- dari basa. Protein pada pH tertentu akan bersifat netral, artinya selisih muatan positif dan muatan negatif dari protein adalah nol. Posisi di mana protein tidak mempunyai muatan dikenal dengan istilah titik isoelektrik.

Protein, pada pH isoelektrik, akan mempunyai sifat antara lain kelarutan minimum, viskositas minimum dan juga tekanan osmotiknya (Sackheim and Schultz, 1977).

Pemanfaatan sumber protein alam berasal dari dua macam sumber yaitu protein hewani dan protein nabati. Protein dalam tanaman disimpan dalam tempat penyimpanan cadangan makanan seperti dalam biji dan beberapa jaringan tertentu. Protein berdasarkan fungsinya dapat digolongkan menjadi dua macam, yaitu protein fungsional, yaitu bertugas sebagai enzim; dan golongan protein yang hanya disimpan, yaitu protein cadangan. Protein yang disimpan itu, bila perlu dibongkar serta diangkut ke tempat-tempat yang membutuhkan seperti sel-sel meristem, di mana pembentukan sel-sel baru memerlukan bermacam-macam asam amino (Dwidjoseputro, 1985).

Protein cadangan pada biji-bijian merupakan sumber utama pemenuhan nutrisi bagi manusia dan kehidupannya. Tiga kelompok dari protein biji adalah albumin, globulin, dan prolamin yang merupakan komponen terpenting pada sistem protein cadangan biji-bijian. Albumin merupakan protein yang larut dalam air, prolamin larut dalam ethanol, sedangkan globulin larut pada larutan garam. Prolamin dan globulin diyakini berfungsi terutama sebagai sumber karbon dan nitrogen saat biji berkecambah, tapi mengenai fungsi dari albumin belum diketahui secara pasti. Beberapa meyakini bahwa albumin merupakan residu enzim atau metabolisme protein dan bukan protein cadangan (Dieckert et al., 1985). Dwidjoseputro (1985) mengatakan bahwa protein dalam biji dikenal adanya protein fungsional, terutama yang terkandung di dalam embrio berupa albumin dan globulin. Endosperm mengandung protein cadangan yang terdapat sebagai butir-butir aleuron di dalam lapisan aleuron. Protein cadangan itu berupa albumin, globulin, glutenin (suatu glutelin) dan gliadin (suatu prolamin). Glutenin dan gliadin terdapat kira-kira 8 % dari berat biji kering.

Globulin penyusun protein legume disusun oleh dua komponen utama yaitu legumin dan vicillin. Legumin merupakan komponen penyusun utama utama dari globulin sedangkan vicilin adalah komponen utama kedua dari globulin biji-bijian. Legumin dideskripsikan mengandung dua rantai polipeptida yang

dihubungkan dengan jembatan disulfida. Vicilin merupakan grup utama dari globulin biji-bijian. Vicilin merupakan multimerik dengan subunit berbagai macam berat molekul. Subunit terbesar berada dalam range 68.000-72.000 dalton (Dieckert et al., 1985).

Kandungan protein dalam biji koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) dapat dipisah-pisahkan berdasarkan sifat kelarutannya dengan metode Osborne. Biji koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) perlu dihaluskan dahulu sebelum diekstrak proteinnya dengan tujuan memperluas permukaan kontak dengan pelarutnya. Penambahan larutan NaCl 5 % akan melarutkan albumin dan globulin karena albumin larut dalam air dan garam encer sedangkan globulin larut dalam garam tetapi tidak larut dalam air (Harborne, 1996). Hasil penambahan larutan NaCl akan menghasilkan dua fase, yaitu fase larut (cairan) dan fase tidak larut (residu) yang dapat dipisahkan dengan sentrifugasi pada suhu 4° C untuk menjaga agar protein tidak rusak. Cairan yang didapatkan kemudian didialisis untuk mengeluarkan pelarut NaCl dan memasukkan air ke dalam tabung dialisis sehingga globulin yang tidak larut dalam air akan terendapkan dan dapat dipisahkan dengan albumin. Residu hasil sentrifugasi diberi larutan ethanol 70 % untuk melarutkan prolamin yang bersifat larut dalam larutan ethanol 70-80 % sehingga prolamin dapat dipisahkan dari glutelin dengan cara sentrifugasi. Cairan yang mengandung prolamin perlu didialisis untuk mengeluarkan pelarut ethanol sehingga prolamin yang tidak larut dalam air akan terendapkan (Harborne, 1996). Fraksi terakhir yaitu glutelin akan didapatkan dengan melarutkan padatan dalam larutan basa encer (NaOH 0,5 N) yang kemudian disentrifugasi untuk memisahkan glutelin dengan protein tidak terlarut.

Protein pada kedelai diklasifikasikan menjadi empat (4) macam fraksi utama yaitu 2S, 7S, 11S, dan 15S; berdasarkan sifat sedimentasinya (Kinsella, 1997). Jumlah yang sebenarnya dari masing-masing fraksi dipengaruhi oleh kondisi saat mengekstrak diantaranya: pH, kekuatan ion, kehadiran agen pereduksi dan jenis varietas sumber protein. Fraksi 2S mengandung senyawa berupa inhibitor tripsin dan sitokrom C. Fraksi 7S mengandung beberapa jenis protein yaitu hemagglutinin, lipoksigenase, β amilase dan globulin 7S. Fraksi 11S

mengandung globulin murni, sedangkan fraksi 15S tidak begitu diketahui kandungannya (Waggle et al., 1989).

Fraksi globulin 7S pada kedelai merupakan glikoprotein trimerik yang disusun oleh enam kombinasi yang berbeda dari tiga subunit, yaitu subunit α (berat molekul 57.000), subunit α' (berat molekul 58.000) dan subunit β (berat molekul 42.000) yang berasosiasi melalui interaksi hidrofobik. Fraksi 11S pada kedelai mengandung dua cincin heksagonal yang saling berhadapan, masing-masing mengandung tiga bagian dari mata rantai asam disulfida yang berdisosiasi secara hidrofobik (berat molekul 35.000-37.000) dan subunit dasar (berat molekul 20.000) (Utsumi and Kinsella, 1985). Sifat fisikokimia dari globulin 7S dan globulin 11S dapat dilihat pada Tabel 1.

Globulin 7S merupakan glikoprotein yang mengandung 3,8-5,4 % karbohidrat, mengandung sembilan residu terminal amino dan kesembilan polipeptida tersebut akan mengalami sejumlah reaksi (Wolf and Cowan, 1977). Globulin 7S tidak mempunyai grup sulfhidril dan kandungan asam amino sulfurnya sangat rendah. (Yu and Damodaran, 1991). Globulin 11S mengandung delapan glisin, dua fenilalanin dan dua leusin residu terminal amino permol, sedikit mengandung karbohidrat dan mempunyai subunit-subunit yang berbeda dalam muatan maupun berat molekulnya (Iwabuchi and Yamauchi, 1987).

Perbedaan struktur dari globulin 7S dan globulin 11S akan mempengaruhi terhadap sifat fungsional dari protein yang bersangkutan (Suhardi, 1989). 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. Pengikatan air oleh protein berhubungan dengan gugus polar hidrofilik seperti imino, amino, karboksil, hidroksil, karbonil dan sulfhidril. Pengikatan air oleh protein dapat diprediksikan dengan melihat komposisi asam amino penyusunnya (Zayas, 1997).

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

Sifat	Globulin 11S	Globulin 7S
Berat Molekul	350.000	175.000
Sub Unit	12	3
Berat Molekul Sub Unit	37.000 (asam) 20.000 (basa)	57.000 (asam) 42.000 (asam)
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	7,20 S
Volume Spesifik Parsial (V, 20° C)	0,730 ml/g	0,725 ml/g
Konstanta Difusi (D° 20, W x 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 cm} ^{1%} (280 nm)	8,04	4,16
pH Isoelektrik	6,4	4,9
Suhu Denaturasi (pH 7)	80° C (48)	67° C (48)

Sumber Waggle et al. dalam Matthews, 1989.

Pemisahan globulin 7S dan 11S dilakukan dengan dasar sifat pengendapan pada pH isoelektrik, metode yang digunakan adalah metode Tanh and Shibasaki (1997) di mana fraksi globulin tersebut diekstrak dengan Tris-HCl buffer 0,30 M yang mengandung 0,01 M 2-merkaptotanol pH 8,00. Sentrifugasi dilakukan untuk memisahkan antara fraksi tak terlarut dengan fraksi terlarut dengan kecepatan 8500 rpm selama 20 menit. Fraksi terlarut kemudian diatur pH hingga 6,4 dengan tujuan menciptakan pH isoelektrik bagi globulin 11S, sehingga

globulin 11S dapat terendapkan dan dipisahkan dengan sentrifugasi. Pemisahan globulin 7S juga dilakukan dengan menetapkan pH larutan pada pH isoelektriknya (4,8) sehingga fraksi globulin 7S dapat diendapkan.

2.2.1 Dialisis

Protein yang akan disimpan ataupun dianalisa perlu dilakukan pemisahan antara protein dengan bahan pengotor lainnya, seperti pelarut, komponen lain dengan berat molekul kecil. Salah satu metode pemurnian yang umum digunakan selama ini adalah dengan menggunakan cara dialisis. Metode dialisis berdasarkan adanya membran selulosa yang menyediakan penyaring berat molekul (ukuran pori-pori) yang memperbolehkan molekul kecil untuk melewati membran dan menahan pergerakan dari molekul besar. Membran dialisis sudah tersedia secara komersial berupa gulungan tabung dengan variasi diameter dan penyaring berat molekul. Semakin besar ukuran saringan berat molekul pada membran maka akan semakin cepat larutan molekul kecil yang menembus membran.

Membran dialisis sebelum digunakan harus dihidrasi dulu dengan tujuan memberikan fleksibilitas. Penggunaan membran dialisis dilakukan dengan memasukkan sampel protein di dalam membran dialisis yang ujungnya sudah disegel dan kemudian ujung yang lainnya juga disegel agar sampel tidak tumpah. Proses dialisis dilakukan dengan meletakkan membran dialisis di larutan buffer pada suhu 4° C dan distirer lambat sampai kurun waktu 12-24 jam (Copeland, 1994).

2.2.2 Elektroforesis

Metode elektroforesis digunakan secara luas dalam lingkup ilmu pengetahuan protein untuk menentukan kemurnian sampel, berat molekul dan kadang kala titik isoelektrik. Native dan denaturasi gel elektroforesis mempunyai sejarah kegunaan untuk menilai kemurnian sampel dan berat molekul pada kondisi yang dilakukan atau tidak menunjukkan pemisahan subunit protein berturut-turut.

Teknik yang sering digunakan dalam ilmu pengetahuan protein adalah SDS-PAGE (sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis). Dasar metode ini adalah molekul pengisi akan bermigrasi di medan listrik pada kecepatan yang dibatasi oleh ukuran dan suplai listrik. Di sini medan listrik diaplikasikan jarak lintas lembaran polimer (poliakrilamida) yang bertindak sebagai pembawa bagi pergerakan molekul. Sebelum memasuki medan listrik, protein didenaturasi dengan kondisi perusakan yang keras (seperti panas, deterjen pendenaturasi, agen reduksi disulfida dan beberapa agen chaotropik seperti urea), dan dilapisi dengan anionik deterjen, SDS. Dalam keadaan terdenaturasi, sebagian besar protein mengikat SDS di ratio berat konstan, maka ketika protein berhenti akan mempunyai kepadatan isi yang mirip/serupa. Berdasarkan kondisi ini, kecepatan migrasi protein di medan listrik adalah tidak tergantung pada sifat muatan molekul, tetapi lebih banyak dipengaruhi semata-mata oleh ukuran molekul. Protein sampel akan diisikan pada sumur pada gel atas, di mana akan kontak dengan buffer tandon, dengan dempet katoda. Buffer penampung bawah demikian halnya juga akan tersambung dengan anoda. Ketika arus listrik dinyalakan, SDS-lapisan protein akan bermigrasi ke gel dasar (bawah), di bawah pengaruh medan listrik.

Poliakrilamida adalah polimer yang paling umum digunakan untuk elektroforesis gel protein. Gel itu sendiri dibentuk dari polimerisasi akrilamida dengan mekanisme radikal bebas. Pemecahan berat molekul yang dicapai dengan SDS-PAGE tergantung pada bagian ukuran liang dari polimer gel.

Elektroforesis gel / sistem buffer dapat secara homogen/kontinyu atau multiphase (diskontinyu). Sistem homogen mengandung ion buffer yang sama dan pH pada saat preparasi sampel, buffer elektroda, dan gel. Sampel dimasukkan secepatnya ke dalam gel resolving di mana pemisahan terjadi. Sistem buffer multiphase gel stacking berbeda pH dan atau komposisi buffer digunakan untuk konsentrasi dan mempertajam konstituen sampel sebelum dimasukkan dalam gel resolving.

Pada praktek, umumnya dimasukkan campuran protein pada satu atau lebih jalur (lanes) dari sel untuk menyajikan sebagai berat molekul standart

(markers). Berat molekul dan protein target dapat ditetapkan dengan membandingkan dengan mobilitas relatif dari standart tersebut.

Setelah running dilakukan, maka diperlukan suatu cara untuk memvisualisasikan band dari protein-protein tersebut. Cara yang paling umum digunakan adalah dengan staining gel dengan pencelup ikatan-protein. Dua cara yang sering digunakan adalah coomassie blue staining dan silver staining. Silver staining lebih sensitif dibandingkan coomassie blue, oleh karena itu dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan kontaminan protein minor pada sampel, tapi tidak direkomendasikan untuk analisa kuantitatif. Coomassie blue lebih minim komplikasi dibandingkan silver staining. Keuntungan dari coomassie staining 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

Bahan dasar yang digunakan untuk penelitian ini adalah koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) berwarna kuning yang didapatkan dari petani di kawasan Cerme, Kabupaten Bondowoso, Propinsi Jawa Timur. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian berasal dari Jerman dengan merk *Merck* ini adalah NaCl, ethanol, NaOH, Tris-HCl buffer, NaOH, mix lowry, folin, HCl, buffer elektroforesis, stacking gel, resolving gel, coomassie blue staining dan destaining.

3.1.2 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini berupa peralatan gelas (Duran dan Pyrex), magnetic stirrer (SM 24 Stuart Scientific), vortex (tipe 16.700 mixer, maxi-mix 1), sentrifus kecil (kurabo), refrigerated centrifuge (selecta), spectrometer (spectronic 21 D, Milton Ray), freeze drying (Snijders Scientific), kulkas, membran dialisis dan penjepitnya, penangas air (Cimerec 2), timbangan analitis (Ohaus), peralatan elektroforesis (Bio-Rad), pH meter (Jenway), mikrometer dan color reader.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pengendalian Mutu, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember. Penelitian ini dilaksanakan dari bulan September 2003 sampai dengan Februari 2004.

3.3 Persiapan Bahan

Biji koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) dipisah-pisahkan antara biji yang masih baik dengan biji yang sudah rusak atau dimakan kumbang. Biji yang masih baik dikupas kulitnya secara manual dengan menggunakan pisau dan kemudian diblender hingga halus. Koro yang sudah diblender kemudian disaring

dengan ayakan 60 mesh. Tepung koro dimasukkan ke dalam kantong plastik dan disimpan didalam eksikator sampai saat fraksinasi.

3.4 Pengukuran Sifat Fisik

Karakteristik fisik yang diamati adalah berat, tebal, panjang, lebar biji, luas permukaan biji, volume biji, BDD, ketebalan kulit dan warna.

3.4.1 Berat, Tebal, Lebar dan Panjang Biji

Pengukuran sifat berat, tebal, lebar dan panjang dari biji koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) dilakukan dengan menggunakan bantuan jangka sorong untuk karakter tebal, panjang dan lebar biji; sedangkan pengukuran berat satu (1) biji koro ditimbang dengan menggunakan neraca analitis. Sampel 10 biji diambil secara acak dari tumpukan biji koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) dan masing-masing biji diukur panjang (1 kali pengukuran), lebar (3 kali pengukuran), dan tebal (5 kali pengukuran); sedangkan berat biji ditimbang 1 kali pengulangan tiap penimbangan. Hasil pengukuran kemudian dicari rata-rata dan standar deviasinya.

3.4.2 Luas Penampang Biji

Pengukuran luas permukaan biji kacang koro dilakukan dengan menggunakan standar pembanding berupa kertas. Kertas HVS dipotong dengan 5 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 ditimbang sebanyak 5 kali pengulangan untuk mengetahui beratnya. Kurva standar dibuat dengan memplotkan luas permukaan sebagai sumbu Y dan berat kertas sebagai sumbu X. Pengukuran luas permukaan biji dilakukan dengan mencetak gambar 10 biji koro, yang diambil secara acak, pada kertas HVS yang sama dengan standar. Hasil cetakan kemudian ditimbang untuk mengetahui beratnya. Luas permukaan biji koro dapat dicari dengan memasukkan berat cetakan gambar biji pada persamaan kurva standar, kemudian dicari rata-rata dan standar deviasinya.

3.4.3 Volume

Pengukuran volume biji koro dilakukan dengan memasukkan 10 biji koro satu demi satu dalam Erlenmeyer 50 ml berpipa yang berisi air. Tetesan air yang keluar dari pipa erlenmeyer ditampung di wadah kosong yang sudah ditimbang berat kosongnya. Wadah penampung dan air tetesan kemudian ditimbang untuk mengetahui beratnya sehingga dapat digunakan untuk mencari berat air dari 10 biji koro. Volume biji koro sama dengan volume air luberan dari 10 biji koro. Berat jenis air diketahui 0,9971 g/ml, sehingga volume air dapat dicari dengan rumus:

$$V = (m/BJ); V = \text{volume air}$$

$$m = \text{masa air}$$

$$BJ = \text{berat jenis air (0,9971 g/ml)}$$

Pengukuran diulang sebanyak 10 kali dan dicari rata-rata dan standar deviasinya.

3.4.4 BDD (Berat yang Dapat Dimakan)

Pengukuran BDD dari biji koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) dilakukan secara acak dari 10 biji. Tiap biji dikupas kulitnya secara manual dengan pisau kemudian ditimbang kulitnya (a gram) dan biji (b gram). BDD dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$BDD = \{b/(a+b)\} * 100 \%$$

Data yang diperoleh dicari rata-rata dan standar deviasinya.

3.4.5 Ketebalan Kulit

Ketebalan kulit diukur dengan menggunakan mikrometer dari 10 biji koro yang diambil secara acak. Kacang koro yang diambil secara acak dikupas kulitnya dengan menggunakan pisau, diusahakan kulit terkupas utuh. Kulit yang terkupas diukur ketebalannya dengan menggunakan mikrometer. Hasil pengukuran kemudian dicari rata-rata dan standar deviasinya.

3.4.6 Warna

Pengukuran warna dilakukan dengan bantuan alat color reader. Pengukuran diawali dengan standarisasi alat dengan menggunakan bubuk BaSO₄ yang dihamparkan pada kertas putih. Pengukuran warna dilakukan dengan menempelkan alat pada biji koro yang ditumpuk di atas kertas putih, kemudian tombol ditekan untuk mendapatkan nilai dL, dE, da dan db. Pengolahan data dilakukan dengan rumus:

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

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

$$L = 100 - dL$$

$$a^* = da$$

$$b^* = db$$

Parameter warna yang diamati

L* = kecerahan warna; L* = 0, gelap; L* = 100, cerah.

a*, b* = warna di mana a* (+) = merah; a* (-) = hijau; b* (+) = kuning dan b* (-) = biru.

c* = croma, vividitas warna, c* = 0 tidak berwarna; semakin besar nilai c* makin tinggi tingkat vividitas.

H = hue, sudut warna (0° = warna netral; 90° = kuning; 180° = hijau; 270° = biru).

W = derajat keputihan (Subagio, dkk., 2002).

3.5 Pengukuran Sifat Kimia

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

3.5.1 Kadar Karbohidrat

Kadar karbohidrat diukur berdasarkan metode *By Difference*. Metode ini dilakukan dengan menghitung semua kadar senyawa organik yang ada, selain karbohidrat, dalam koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet). Kadar karbohidrat

dihitung dengan melihat selisih antara jumlah kadar senyawa organik dengan kadar total (100 %).

$$\text{Kadar karbohidrat (\%)} = 100 \% - (\text{jumlah kadar protein, lemak, abu, dan air})$$

3.5.2 Kadar Protein (Sudarmadji, dkk., 1997)

Pengukuran kadar protein dilakukan dengan menggunakan metode mikro-kjeldahl. Tepung koro ditimbang sebanyak 0,5 g, dimasukkan ke dalam labu kjeldahl dan ditambah dengan $1,9 \pm 0,1$ g K_2SO_4 ; 40 mg HgO; $2 \pm 0,1$ ml H_2SO_4 . Sampel dididihkan selama 1,5 jam sampai warna cairan jernih (diberi batu didih). Labu didinginkan, ditambah dengan aquades perlahan-lahan (labu menjadi panas) dan didinginkan kembali. Sampel dipindahkan ke dalam alat destilasi, dicuci dan dibilas 5-6 kali dengan aquades. Erlenmeyer yang berisi 5 ml asam borat jenuh dan indikator diletakkan di bawah kondensor. Ujung kondensor harus tercelup dalam asam borat jenuh. Larutan NaOH- $Na_2S_2O_3$ sebanyak 8-10 ml ditambahkan dan dilakukan destilasi hingga tertampung kira-kira 15 ml destilat. Tabung kondensor dibilas 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 sampel dengan aquades.

$$\text{Protein (\%)} = \% N * \text{faktor konversi}$$

$$\% N = \frac{(\text{titer sampel} - \text{blanko}) * N \text{ HCl} * 14,08}{\text{berat sampel}}$$

3.5.3 Kadar Lemak (Sudarmadji, dkk., 1997)

Pengukuran kadar lemak dilakukan dengan metode soxhlet 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 ke dalam eksikator selama 30 menit. Sampel ditimbang (b gram) dan selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung ekstraksi soxhlet 500 ml yang sudah terpasang di penangas listrik beserta pendinginnya. Labu diisi larutan pengestrak berupa petroleum benzen. Setelah semua siap, penangas dan air pendingin dihidupkan.

dihitung dengan melihat selisih antara jumlah kadar senyawa organik dengan kadar total (100 %).

$$\text{Kadar karbohidrat (\%)} = 100 \% - (\text{jumlah kadar protein, lemak, abu, dan air})$$

3.5.2 Kadar Protein (Sudarmadji, dkk., 1997)

Pengukuran kadar protein dilakukan dengan menggunakan metode mikro-kjeldahl. Tepung koro ditimbang sebanyak 0,5 g, dimasukkan ke dalam labu kjeldahl dan ditambah dengan $1,9 \pm 0,1$ g K_2SO_4 ; 40 mg HgO ; $2 \pm 0,1$ ml H_2SO_4 . Sampel dididihkan selama 1,5 jam sampai warna cairan jernih (diberi batu didih). Labu didinginkan, ditambah dengan aquades perlahan-lahan (labu menjadi panas) dan didinginkan kembali. Sampel dipindahkan ke dalam alat destilasi, dicuci dan dibilas 5-6 kali dengan aquades. Erlenmeyer yang berisi 5 ml asam borat jenuh dan indikator diletakkan di bawah kondensor. Ujung kondensor harus tercelup dalam asam borat jenuh. Larutan $\text{NaOH-Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ sebanyak 8-10 ml ditambahkan dan dilakukan destilasi hingga tertampung kira-kira 15 ml destilat. Tabung kondensor dibilas 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 sampel dengan aquades.

$$\text{Protein (\%)} = \% \text{ N} * \text{faktor konversi}$$

$$\% \text{ N} = [(\text{titer sampel} - \text{blanko}) * \text{N HCl} * 14,08] / \text{berat sampel}$$

3.5.3 Kadar Lemak (Sudarmadji, dkk., 1997)

Pengukuran kadar lemak dilakukan dengan metode soxhlet 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°C beberapa lama dan dimasukkan ke dalam eksikator selama 30 menit. Sampel ditimbang (b gram) dan selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung ekstraksi soxhlet 500 ml yang sudah terpasang di penangas listrik beserta pendinginnya. Labu diisi larutan pengekstrak berupa petroleum benzen. Setelah semua siap, penangas dan air pendingin dihidupkan.

Jumlah sirkulasi pelarut yang digunakan sesuai dengan perlakuan (3-4 jam). Setelah ekstraksi selesai, sampel dikeluarkan dari tabung ekstraksi dan dikeringkan dalam oven 60° C hingga semua pelarut menguap. Sampel yang telah dikeringkan dimasukkan dalam eksikator selama 30 menit dan ditimbang. Penimbangan dan pengovenan dilakukan beberapa kali hingga berat konstan (c gram).

$$\text{Kadar lemak} = \{(b-c)/a\} * 100 \%$$

3.5.4 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 ke dalam botol timbang dan ditimbang beratnya (b gram). Tepung koro dioven minimal selama 6 jam dengan suhu oven 100° C. Sampel dimasukkan ke dalam eksikator untuk mendinginkan dan ditimbang beratnya (c gram), pengovenan dan penimbangan dilakukan hingga berat konstan.

$$\text{Kadar air} = \{(b-c)/(b-a)\} * 100 \%$$

3.5.5 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 ke dalam krus porselin dan ditimbang beratnya (b gram). Sampel dipijarkan dalam tanur pengabuan pada suhu 400° C sampai mengeluarkan asap. Setelah asap habis, suhu dinaikkan menjadi 550° C dan dipijarkan selama 3 jam. Krus kemudian didinginkan dalam tanur semalaman dan dimasukkan ke dalam eksikator selama 15 menit. Krus porselin ditimbang (c gram), ulangi hingga berat konstan.

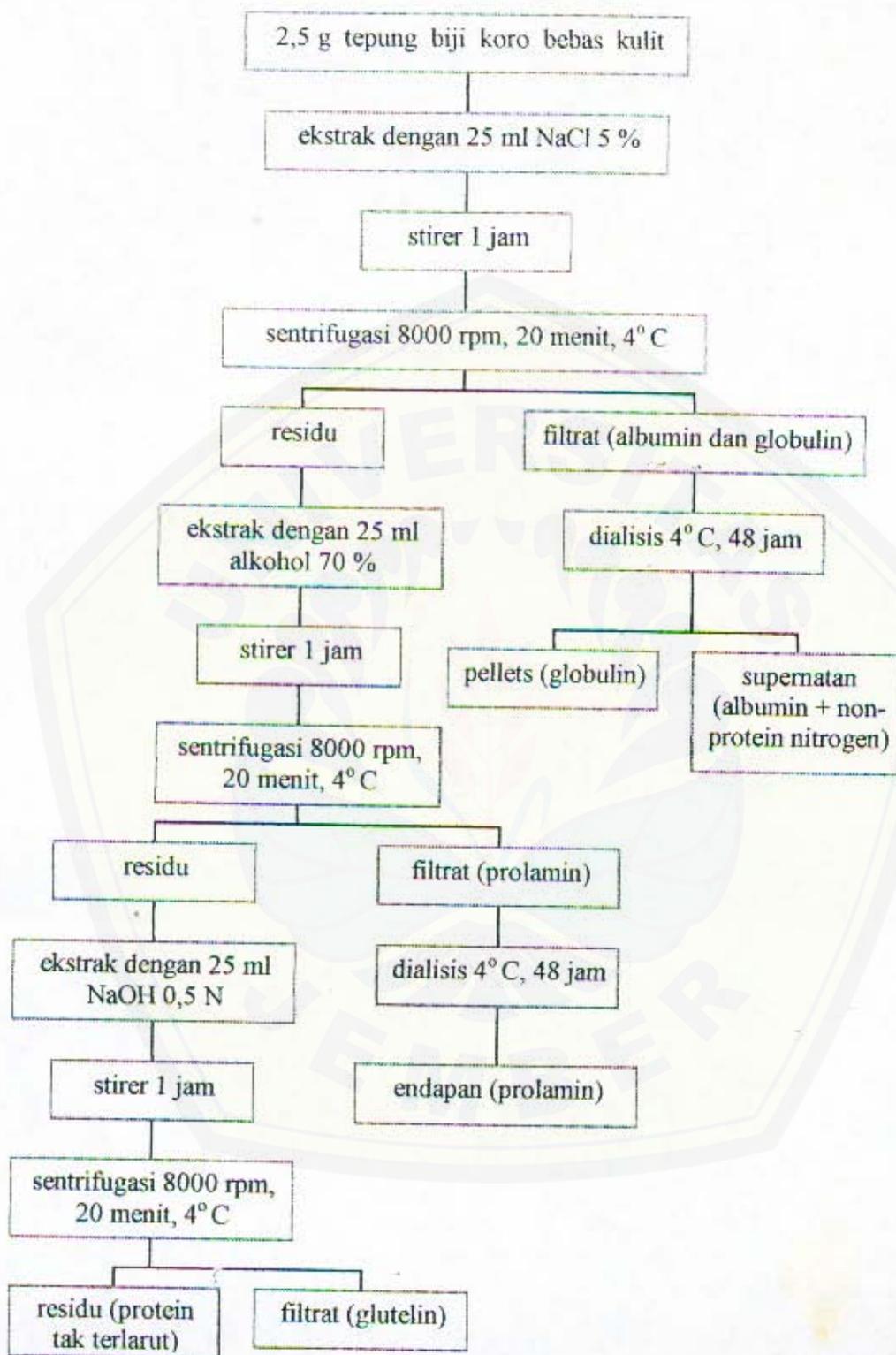
$$\text{Kadar abu} = \{(c-a)/(b-a)\} * 100 \%$$

3.6 Fraksinasi Protein Berdasarkan Daya Kelarutan

Protein koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) dapat digolong-golongkan menjadi empat golongan protein sederhana yaitu: albumin, globulin, glutelin dan prolamin. Empat protein sederhana ini dapat dipisah-pisahkan berdasarkan sifat kelarutannya terhadap pelarut. Fraksinasi protein ini dilakukan berdasarkan metode Osborne yang dimodifikasi (Bonvehi, 1999).

Sampel yang dibutuhkan untuk fraksinasi adalah sebanyak 2,5 g tepung koro yang bebas kulit. Sampel dilarutkan dalam NaCl 5 % dengan tujuan melarutkan albumin dan globulin. Hasil penambahan larutan NaCl akan menghasilkan dua fase yaitu fase larut (cairan) dan fase tidak larut (residu) yang dipisahkan dengan sentrifugasi pada suhu 4° C, 8000 rpm selama 20 menit. Cairan yang didapatkan kemudian didialisis untuk mengeluarkan pelarut NaCl dan memasukkan air ke dalam tabung dialisis sehingga globulin yang tidak larut dalam air akan terendapkan dan dapat dipisahkan dengan albumin. Residu hasil sentrifugasi diberi larutan ethanol 70 % untuk melarutkan prolamin yang bersifat larut dalam larutan ethanol 70-80 %. Cairan yang mengandung prolamin dapat dipisahkan dengan padatnya dengan cara sentrifugasi pada suhu 4° C, 8000 rpm selama 20 menit. Cairan yang mengandung prolamin perlu didialisis untuk mengeluarkan pelarut etanol sehingga prolamin yang tidak larut dalam air akan terendapkan. Fraksi terakhir yaitu glutelin akan didapatkan dengan melarutkan padatan dalam larutan basa encer (NaOH 0,5 N) yang kemudian disentrifugasi untuk memisahkan glutelin dengan protein tidak terlarut.

Konsentrasi protein hasil fraksinasi didapatkan dengan memasukkan hasil absorbansi (X) pada persamaan standar sehingga didapatkan nilai Y (konsentrasi protein dalam mg/250 µl. Konsentrasi protein sesungguhnya didapatkan dengan mengalikan faktor pengenceran dan faktor konversi ml ke µl (1000).



Gambar 1. Fraksinasi Protein Koro Komak (*L. purpureus* (L.) Sweet)

Hasil fraksinasi yang diperoleh dianalisa kuantitatif dengan menggunakan metode lowry terhidrolisis (Sudarmadji, dkk., 1997) untuk menentukan konsentrasi protein dan jumlah volume suntikan saat elektroforesis. Sampel sebanyak 250 μl diberi 250 μl NaOH 2 N dan dipanaskan selama 10 menit untuk menghidrolisa protein. Setelah dingin sampel ditambah dengan mix lowry 2,5 ml dan didiamkan 10 menit. Sampel kemudian ditambah dengan folin 250 μl dan dihomogenkan dengan vortex, diamkan selama 30 menit. Aquades ditambahkan sebanyak 1,75 ml sehingga volume akhir larutan menjadi 5 ml. Absorbansi dibaca pada $\lambda = 750 \text{ nm}$ dan dihitung konsentrasinya dengan menggunakan kurva standar.



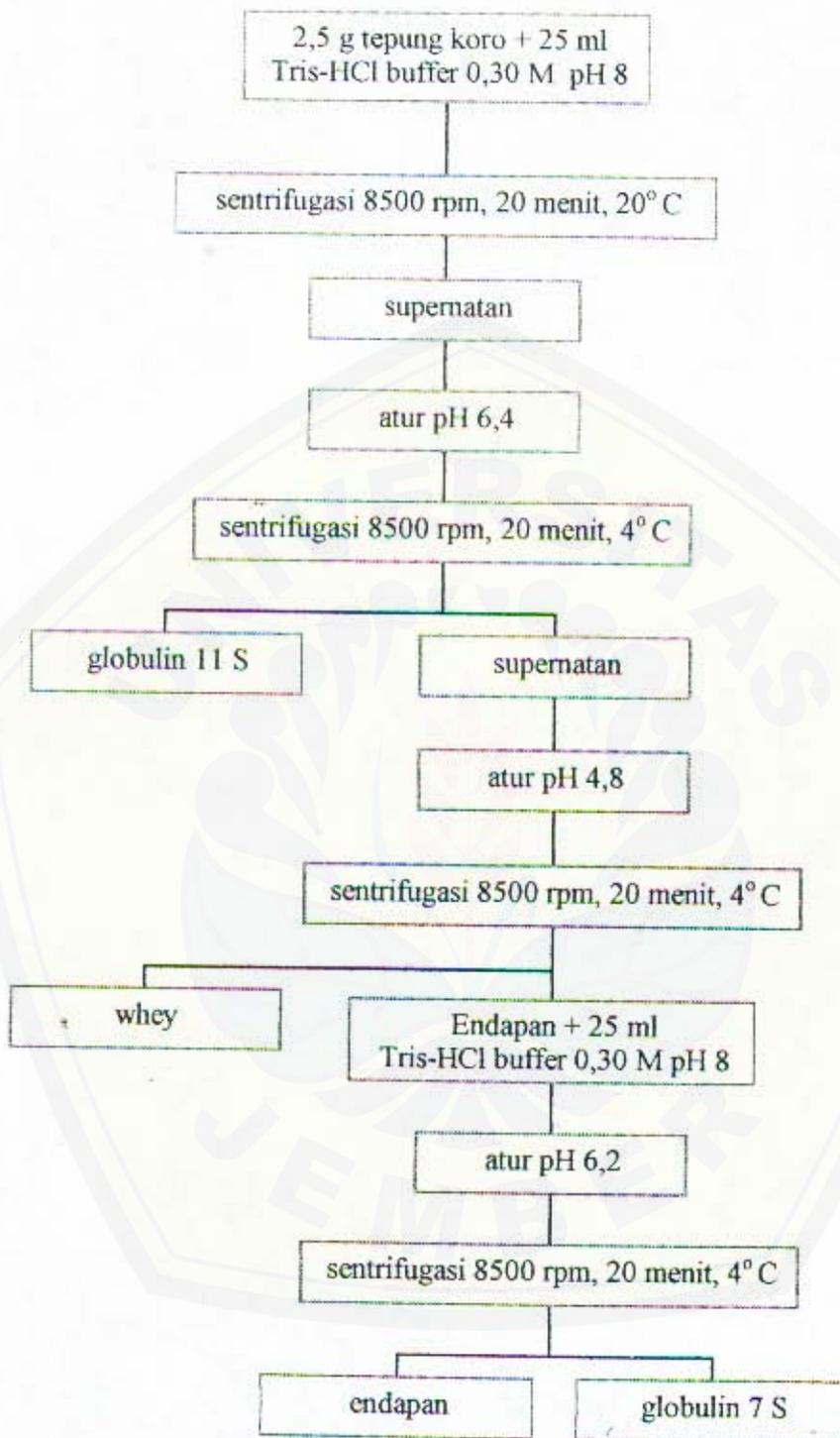
Gambar 2. Metode Lowry

3.7 Fraksinasi Globulin 7S dan Globulin 11S

Protein utama koro yaitu globulin 7S dan globulin 11S diperoleh dengan menggunakan metode yang dikemukakan oleh Tanh and Shibasaki (1997) dengan modifikasi yang dikembangkan oleh Iwabuchi dan Yamauchi (1997). Tepung koro disuspensikan ke dalam 25 ml Tris-HCl buffer 0,30 M mengandung 0,01 M 2-merkaptotanol pH 8,00 pada suhu ruang. Fraksi 7S dan 11S kasar didapatkan hasil pengendapan pada pH 6,4 dan pH 6,2.

Tepung koro dilarutkan dengan 25 ml Tris-HCl buffer 0,30 M yang mengandung 0,01 M 2-merkaptotanol pH 8,00. Sentrifugasi dilakukan untuk memisahkan antara fraksi tak terlarut dengan fraksi terlarut (supernatan) pada suhu 20° C, 8500 rpm selama 20 menit. Fraksi terlarut diatur pH 6,4 memakai HCl 0,1 N dengan tujuan menciptakan pH isoelektrik bagi globulin 11S sehingga dapat diendapkan dan dipisahkan dengan sentrifugasi pada suhu 4° C, 8500 rpm selama 20 menit. Pemisahan globulin 7S juga dilakukan dengan menetapkan pH larutan pada pH isoelektriknya (4,8) sehingga fraksi globulin 7S dapat terendapkan dan dipisahkan dengan sentrifugasi pada suhu 4° C, 8500 rpm selama 20 menit. Endapan kemudian dilarutkan dengan 25 ml Tris-HCl buffer 0,30 M yang mengandung 0,01 M 2-merkaptotanol pH 8,00. Larutan diatur pH hingga 6,2 dengan menambahkan HCl 0,1 N. Globulin 7S cair didapatkan dengan sentrifugasi pada suhu 4° C, 8500 rpm selama 20 menit.

Hasil fraksinasi dianalisa kandungan proteinnya dengan menggunakan metode lowry terhidrolisis. Nilai konsentrasi dari globulin 7S dan globulin 11S dihitung berdasarkan hasil absorbansi spektrofotometer. Konsentrasi globulin 7S dan globulin 11S didapatkan dengan memasukkan nilai absorbansi sebagai nilai X pada persamaan standar. Nilai Y yang didapatkan merupakan konsentrasi protein dalam satuan mg/250 μ l. Konsentrasi protein sesungguhnya didapatkan dengan mengalikan faktor pengenceran dan faktor konversi dari ml ke μ l (1000). Rasio globulin 7S/11S didapatkan dengan membagi konsentrasi globulin 7S dengan globulin 11S.



Gambar 3. Fraksinasi Globulin 7S dan Globulin 11 S

3.8 Elektroforesis

Analisa protein sederhana dan fraksi globulin 7S dan 11S dilakukan dengan elektroforesis SDS-PAGE pada gel poliakrilamida yang terdiri dari resolving gel dan stacking gel. Pembuatan resolving gel dilakukan dengan mencampur 1,67 ml aquades; 1,25 ml Tris-HCl 1,5 M pH 8,8; 0,05 ml SDS 10 %; 2 ml acrylamide kemudian dilakukan aerasi untuk mengeluarkan udara. Setelah aerasi, larutan gel ditambah dengan 50 μ l ammonium persulfat 10 % dan 5 μ l TEMED. Larutan yang tercampur segera disuntikkan di antara dua lempengan kaca berukuran 10 x 10 cm, dan di atasnya diberi aquades untuk meratakan permukaan gel. Aquades diambil kembali setelah gel terbentuk. Stacking gel dibuat dengan mencampur 1,525 ml aquades; 0,625 ml Tris-HCl 0,5 M pH 6,8; 0,325 ml acrylamide dan 0,025 ml SDS 10 % kemudian dilakukan aerasi untuk mengeluarkan udara. Larutan kemudian ditambah dengan 50 μ l ammonium persulfat 10 % dan 5 μ l TEMED. Larutan gel dimasukkan dan sisir diletakkan diatas gel untuk membentuk sumur di bagian atas gel. Sisir dilepaskan jika gel telah terbentuk.

Protein yang akan dianalisa dengan elektroferesis SDS-PAGE perlu dilakukan pengukuran kadar protein dengan metode lowry dengan tujuan untuk mengetahui volume pengenceran dari protein keringnya. Protein kemudian diberi pelarut Tris-HCl buffer 0,30 M yang mengandung 0,01 M 2-merkaptotanol pH 8,00 sesuai dengan perhitungan sebelumnya. Protein yang sudah diencerkan perlu dilakukan pengukuran kembali dengan lowry untuk menentukan volume penyuntikan dalam sumur gel. Persiapan sampel untuk elektroforesis dilakukan dengan mencampur protein dengan buffer sampel dengan perbandingan 1:4 (atau sesuai dengan kebutuhan). Pemanasan sampel pada suhu 100° C perlu dilakukan selama 10 menit dengan tujuan untuk memecah struktur tiga dimensi dari protein. Elektroforesis dilakukan setelah sampel disuntikkan menggunakan syringe ke dalam sumur dan diruning pada 100mA selama kurang lebih 1,5 jam. Pembacaan protein dilakukan dengan mewarnai protein memakai larutan coomassie blue

staining gel. Hasil pewarnaan kemudian dicuci dengan coomassie gel destain selama satu malam dengan tujuan membersihkan pewarnaan yang berlebihan.

Berat molekul dari protein dapat dihitung dengan menggunakan persamaan standart dari marker. Persamaan standar didapatkan berdasarkan hubungan antara log BM (sumbu Y) dan Rf (sumbu X). Nilai Rf didapatkan dengan membagi jarak tempuh sampel dibagi jarak tempuh pelarut. Berat molekul dari sampel dihitung dengan memasukkan nilai Rf dari masing-masing fraksi ke dalam persamaan $\text{Log BM} = aRf + b$.



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Sifat Fisikokimia Koro Komak (*L. purpureus* (L.) Sweet)

Polong Koro Komak



Biji Koro Komak

Gambar 4. Polong dan Biji Koro Komak (*L. purpureus* (L.) Sweet)

Data yang diolah meliputi data sifat fisik dan sifat kimia dari biji koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) serta hasil fraksinasi protein dan fraksinasi globulin 7S globulin 11S. Data yang didapat akan diolah secara deskriptif dengan cara penyusunan data ke dalam daftar, penggambaran grafik, analisa dan interpretasi data (Pasaribu, 1981). Hasil perhitungan sifat fisik biji koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) dapat dilihat pada Tabel 2 sebagai berikut.

Tabel 2. Sifat Fisik Biji Koro Komak (*L. purpureus* (L.) Sweet)

Sifat Fisik	Rerata ± Standart Deviasi
Tebal Biji (cm)	0,40 ± 0,03
Lebar Biji (cm)	0,74 ± 0,05
Panjang Biji (cm)	1,05 ± 0,10
Berat Biji (g)	0,2334 ± 0,0287
Luas Permukaan Biji Koro (cm ²)	0,8466 ± 0,1253
Volume 10 Biji (ml)	1,908 ± 0,399
BDD (%)	83,2128 ± 1,1077
Ketebalan Kulit (mm)	0,10 ± 0,01
Warna	L = 73,4 c* = 10,1 H = 67,3° a* = 3,9 ± 1,4 b* = 9,3 ± 2,3

Koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) yang juga dikenal dengan nama koro wedus mempunyai ciri penampakan fisik yaitu ketebalan biji rata-rata 0,40 cm; lebar biji rata-rata 0,74 cm; panjang biji rata-rata 1,05 cm. Berat biji rata-rata 0,2334 gram; luas permukaan yang terukur adalah 0,8466 cm² dengan volume 1,908 ml / 10 biji. Koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) mempunyai lapisan kulit yang cukup keras dengan ketebalan rata-rata 0,1 mm. Jika kulit ini tidak ikut dimakan, maka bagian biji yang dapat dimakan dari biji koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) adalah 83,2128 %. Warna dari biji koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) yang sudah tua berkisar antara kuning hingga oranye. Nilai pembacaan color reader memberikan nilai a* = 3,9 dan b* = 9,3. Hal ini menunjukkan bahwa warna biji koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) mengarah pada perpaduan warna kuning dan merah, di mana warna kuning lebih mendominasi. Nilai ini ditunjukkan dari nilai H (hue) yang bernilai 67,3°. Hue dengan sudut 67,3° jika dipetakan dalam skala warna hunter, L, a, b berdasarkan

Hui (1992), akan menunjukkan kecenderungan warna kuning. Nilai L menunjukkan kecerahan dari obyek yang diamati. Koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) mempunyai nilai L = 73,3 yang berarti menunjukkan bahwa kecerahan biji mendekati warna putih.

Berdasarkan sifat fisik yang ada (tebal, panjang, dan lebar), ukuran koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) termasuk biji-bijian yang mempunyai ukuran biji cukup besar. Koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) mempunyai lapisan kulit yang cukup tipis (rata-rata 0,1 mm) dengan kekerasan yang tinggi sehingga nilai BDD cukup besar (diatas 80 %). Hal ini menunjukkan bahwa koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) dapat dijadikan sumber pangan alternatif yang cukup menjanjikan.

Dilihat dari komposisi kimia koro komak, karbohidrat mempunyai kandungan yang paling tinggi yaitu rata-rata 67,0 % disusul protein, lemak, kadar air, kadar abu dengan nilai berturut-turut 17,1 %; 9,3 %; 3,6 %; 1,1 %. Kandungan karbohidrat yang cukup tinggi membuat koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) cukup menjanjikan untuk digunakan sebagai sumber makanan pokok. Kandungan lemak yang sangat sedikit memungkinkan orang-orang yang menghindari lemak dapat mengkonsumsinya, selain itu juga dapat digunakan sebagai sumber lemak tidak jenuh. Perbandingan dengan berbagai jenis legume lainnya (dalam persen) dapat dilihat pada Tabel 3 di bawah.

Tabel 3. Kandungan Kimia Koro Komak dengan Koro Lainnya dan Kedelai

Legume	Karbohidrat	Protein	Lemak	Kadar Air	Kadar Abu
Komak	67,9 ± 4,2	17,1 ± 1,5	1,1 ± 0,4	9,3 ± 0,5	3,6 ± 0,1
Kratok ^{a)}	64,0 ± 5,2	14,8 ± 1,4	2,2 ± 0,6	9,0 ± 1,0	2,9 ± 0,1
Pedang ^{a)}	70,2 ± 4,2	21,7 ± 2,1	4,0 ± 0,3	8,4 ± 0,1	2,9 ± 0,1
Kedelai ^{b)}	34,8	34,9	18,1	-	4,9

Sumber : ^{a)} Subagio, (2003).

^{b)} Koswara, (1995).

Dibandingkan dengan jenis koro yang lain, komponen kandungan protein, karbohidrat, lemak, kadar air dan kadar abu tidak berbeda jauh dengan komposisi pada koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet). Kandungan karbohidrat koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) lebih sedikit jika dibandingkan dengan koro pedang, demikian pula dengan kandungan proteinnya. Kandungan lemak koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) paling sedikit dibandingkan dua jenis koro yang lain sedangkan kadar air dan kadar abu paling besar. Jika dibandingkan dengan kedelai, kandungan protein, kandungan lemak dan kadar abu koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) lebih sedikit jumlahnya namun unggul pada kandungan karbohidratnya. Kandungan karbohidrat yang tinggi pada koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) berpotensi jika digunakan sebagai sumber makanan pokok alternatif pengganti beras. Kandungan protein yang cukup tinggi juga berpotensi digunakan sebagai sumber protein nabati baru.

4.2 Fraksinasi Protein Berdasarkan Kelarutannya

Hasil fraksinasi protein dari koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) mendapatkan empat jenis protein berdasarkan kelarutannya, dengan satu jenis protein yang tidak dapat terukur / tidak teridentifikasi. Hal ini diakibatkan kecilnya kuantitas dari protein yang hendak diamati sehingga tidak masuk dalam range kurva standart. Hasil secara kuantitatif tersaji dalam Tabel 4 di bawah ini.

Tabel 4. Hasil Fraksinasi Protein Koro Komak (*L. purpureus* (L.) Sweet)

Protein	Kadar (%)
Albumin	18,22
Globulin	55,15
Glutelin	26,63
Prolamin	Tidak Teridentifikasi

Globulin merupakan fraksi yang paling dominan dalam koro komak, hal ini sesuai dengan pernyataan Zayas (1997) yang mengatakan bahwa protein legume di mana protein cadangan utamanya disusun oleh dua globulin, yaitu legumin dan vicilin. Legumin adalah komponen penyusun utama dari globulin sedangkan vicilin adalah komponen utama kedua dari globulin biji-bijian (Dieckert et al., 1985). Hal ini akan berkaitan dengan cara isolasi protein dari koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) yang berarti cara isolasi proteinnya harus berdasarkan pada sifat-sifat fisikokimia dari globulin seperti kelarutan, titik isoelektrik dan sifat lainnya yang dapat mempengaruhi cara ekstraksi protein.

4.3 Fraksinasi Globulin 7S dan Globulin 11S

Globulin merupakan protein utama di dalam biji-bijian. Fraksi 7S didapatkan dengan pengendapan pada titik isoelektrisnya yaitu pada pH 4,8 sedangkan fraksi 11S diendapkan pada pH 6,4. Hasil fraksinasi globulin 7S dan globulin 11S menghasilkan data bahwa kadar globulin 7S lebih banyak daripada globulin 11S seperti tersaji pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Fraksinasi Globulin 7S dan Globulin 11S

Jenis Fraksi	Kadar (%)
Globulin 7S	3,50
Globulin 11S	0,67

Nilai kandungan globulin 7S dan 11S yang didapatkan belum menunjukkan nilai sesungguhnya dari kandungan globulin yang ada. Hal ini disebabkan adanya faktor eksternal yang mempengaruhi proses fraksinasi sehingga ada globulin, baik 7S maupun 11S, yang teragregasi. Permasalahan ini sudah berusaha diatasi dengan menambahkan senyawa merkaptoetanol pada Tris-HCl buffer 0,03 M yang mengandung 0,01 M 2-merkaptoetanol pH 8,00, namun metode tersebut belum dapat mencegah teragregasinya protein. Kondisi alat sentrifugasi juga memberi kontribusi kurang baiknya data, di mana kecepatan putaran (rpm) yang diinginkan kurang dapat dipenuhi.

Persentase globulin 7S yang lebih banyak dibandingkan globulin 11S menghasilkan rasio $7S/11S = 5,23$. Rasio dari globulin 7S dan 11S akan mempengaruhi sifat-sifat fungsional dari protein seperti kelarutan, water holding capacity (WHC), daya emulsi, daya buih, sifat gel dan kemampuan mengikat minyak atau lemak. Kandungan protein fraksi 7S yang lebih banyak menyebabkan kelarutan protein koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) lebih tinggi pada kondisi basa. Hal ini sesuai dengan pernyataan yang diungkapkan oleh Zayas (1997) yaitu perbedaan sifat kelarutan dari keadaan yang sama dihasilkan dari protein 7S dan 11S, tapi protein 7S lebih larut dalam kondisi basa dibandingkan protein 11S.

Tingginya fraksi protein 7S akan meningkatkan kemampuan emulsi dari protein koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet). Sifat daya emulsi yang lebih baik dari fraksi globulin 7S dapat berhubungan dengan tingginya rasio difusi interfase dan dimungkinkan karena ikatan disulfida pada fraksi globulin 11S menghambat pelipatan dan menurunkan interaksi pada air dan minyak. Protein dengan kapasitas penyerapan air dan minyak rendah akan membentuk emulsi dengan kestabilan rendah. Tingginya daya emulsi dari protein koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) memungkinkan proteinnya dapat digunakan sebagai emulsifier yang baik. Hal ini berguna sekali apabila diaplikasikan sebagai bahan emulsifier dalam bahan pangan yang membutuhkan pengemulsi, seperti pada pembuatan roti.

Gel yang dibuat dari protein fraksi globulin 7S akan memiliki kemuluran dan regangan yang lebih lemah daripada gel yang dibuat dari globulin 11S. Gel yang dibuat dari globulin 11S didukung dengan adanya ikatan disulfida, sedangkan pada gel 7S peranan penting dipegang oleh ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik (Utsumi and Kinsella, 1985). Rendahnya daya gel yang dihasilkan oleh protein koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) diduga akan mengakibatkan isolat proteinnya kurang baik jika digunakan untuk membuat makanan yang membutuhkan pembentukan daya gelasi tinggi. Pembuatan tahu adalah contohnya. Pembuatan tahu dengan penggunaan protein koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) akan menghasilkan tahu dengan kekerasan yang terlampau lunak. Hal ini tidak diinginkan karena tekstur tahu yang diinginkan adalah keras dan kenyal sehingga tidak mudah hancur ketika diolah.

Fraksi protein 7S yang tinggi akan menyebabkan meningkatnya daya buih dari protein koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet). Hal ini disebabkan jumlah ikatan disulfida yang lebih sedikit dibandingkan pada protein 11S. Daya buih yang cukup tinggi dari protein koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) diprediksi potensial sekali jika digunakan untuk membuat minuman dan produk roti.

Globulin 7S bersifat lebih hidrofobik dibandingkan dengan globulin 11S. Hal ini dapat dilihat berdasarkan asam amino penyusunnya. Komposisi grup sulfhidril dan kadar asam amino sulfur globulin 7S yang lebih sedikit dibandingkan globulin 11S mengakibatkan globulin 11S bersifat lebih hidrofilik. Berdasarkan pernyataan di atas, kadar globulin 7S yang lebih besar dari globulin 11S diduga akan mengakibatkan water holding capacity (WHC) dari protein koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) lebih rendah daripada sifat oil holding capacitynya (OHC). Zayas (1997) menyatakan bahwa kemampuan menyimpan air dari protein tanaman dapat digunakan sebagai bahan tambahan makanan dalam memperbaiki kualitas karakter makanan.

4.4 Elektroforesis SDS-PAGE

Analisa hasil fraksinasi protein dan fraksinasi globulin 7S/11S dilakukan dengan elektroforesis SDS-PAGE untuk menentukan berat molekul dari protein tersebut. Adanya SDS (sodium dodecyl sulphate) dan 2-merkaptotanol serta pemanasan akan memecah struktur tiga dimensi dari protein, terutama ikatan disulfida menjadi subunit-subunit polipeptida secara individual. SDS dan protein akan membentuk ikatan kompleks dikarenakan SDS akan membungkus rantai polipeptida yang tidak terikat dengan muatan negatif yang sama. SDS-protein mempunyai muatan yang sama sehingga pergerakan kompleks pada gel tidak dipengaruhi oleh besarnya muatan melainkan berdasarkan ukuran molekul protein. Molekul SDS-protein yang lebih besar akan bergerak lebih lambat dibandingkan dengan kompleks yang lebih kecil.

Pengukuran berat molekul dari protein dapat dihitung dengan menggunakan kit penciri protein (marker) berat molekul (BM) rendah yang sudah diketahui BM-nya. Nilai Rf dari marker dapat diukur dari jarak perpindahan

sampel dibagi jarak perpindahan pelarut. Hubungan antara nilai $\log BM$ (sumbu Y) dan R_f (sumbu X) dapat dibuat suatu persamaan standar:

$$\text{Log } BM = aR_f + b$$

Persamaan standar ini akan digunakan untuk menghitung nilai BM protein berdasarkan nilai R_f yang diukur. Daftar berat molekul dan nilai R_f dari kit penciri protein tersaji pada Tabel 6 sebagai berikut:

Tabel 6. Nilai Berat Molekul dan R_f dari Kit Penciri Protein BM Rendah

Protein	Berat Molekul (kD)	R_f
Albumin (bovine serum)	66	0,237
Albumin (chicken egg)	45	0,356
Carbonic anhydrase	29	0,542
α - lactalbumin	14,2	0,898

Berdasarkan data di atas, maka dapat diperoleh suatu persamaan antara nilai R_f dan $\text{Log } BM$ sebagai berikut:

$$\text{Log } BM = -1,0033 R_f + 5,0449$$

$$R^2 = 0,9912$$

Perkiraan berat molekul (BM) dari albumin, globulin, glutelin, globulin 7S dan globulin 11S dapat dihitung dengan memasukkan nilai R_f dari masing-masing fraksinya. Gambar empat menampilkan hasil elektroforesis dari albumin, globulin, glutelin, globulin 7S dan globulin 11S; sedangkan pada Tabel 7 dapat dilihat nilai berat molekul dari masing-masing fraksi protein.

Tabel 7. Mobilitas Relatif (Rf) dan Perkiraan Berat Molekul

No. Fraksi	Albumin		Globulin		Glutelin		Globulin 7S		Globulin 11S	
	Rf	BM (kD)	Rf	BM (kD)	Rf	BM (kD)	Rf	BM (kD)	Rf	BM (kD)
1	0,017	101,7	0,288	54,9	0,339	48,9	0,068	90,5	0,271	57,0
2	0,305	52,8	0,492	34,5	0,525	32,0	0,254	59,3	0,441	38,8
3	0,492	34,5	0,542	30,8	0,610	26,4	0,475	35,9	0,475	35,9
4			0,593	27,4	0,847	15,4	0,525	32,0	0,525	32,0
5					0,898	13,7	0,576	29,3	0,593	27,4
6					0,983	11,3		-		

Albumin mempunyai tiga fraksi di mana berat molekulnya berkisar antara 101,7 kD dan 34,5 kD. Dua fraksi dari albumin merupakan fraksi mayor dengan berat molekul masing-masing 52,8 kD dan 34,5 kD. Albumin hanya mempunyai satu fraksi minor dengan berat molekul 101,7 kD.

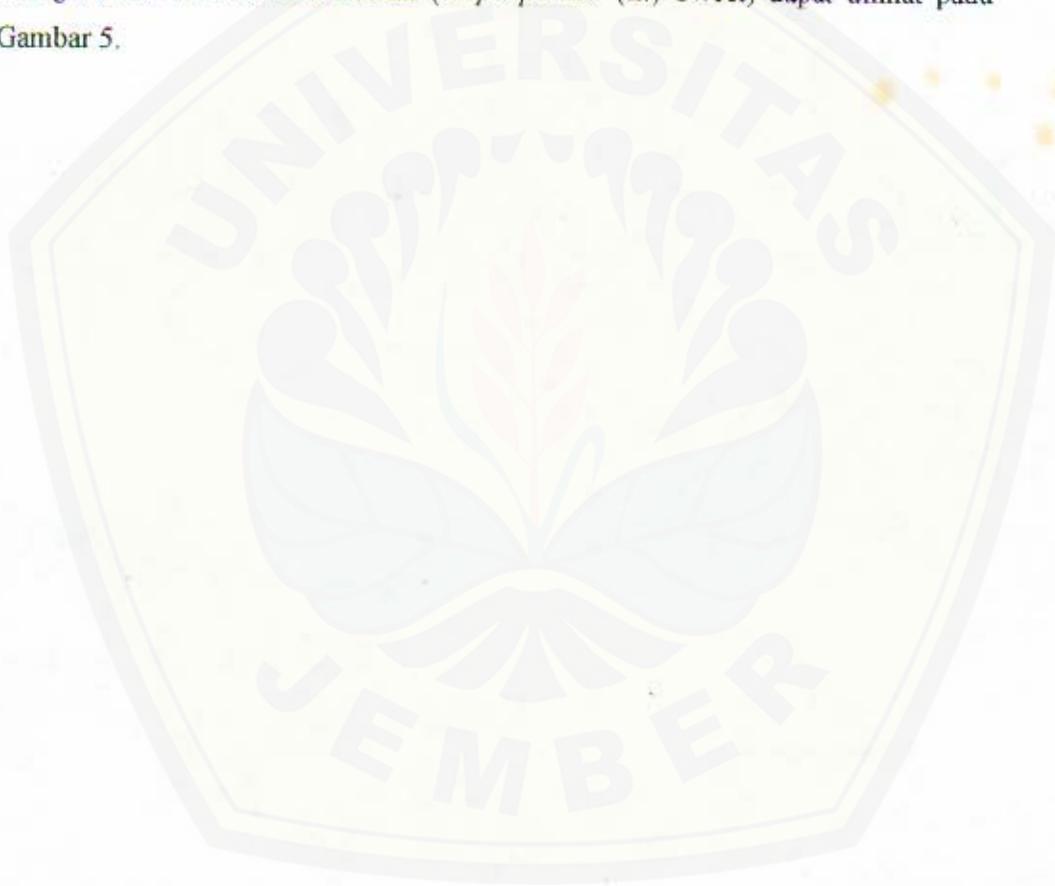
Globulin disusun dari empat fraksi yang mempunyai berat molekul antara 54,9 kD hingga 27,4 kD. Dua fraksi mayor tampak pada gel SDS-PAGE dengan berat molekul 54,9 kD dan 27,4 kD. Dua fraksi lainnya merupakan fraksi minor dengan berat molekul 34,5 kD dan 30,8 kD.

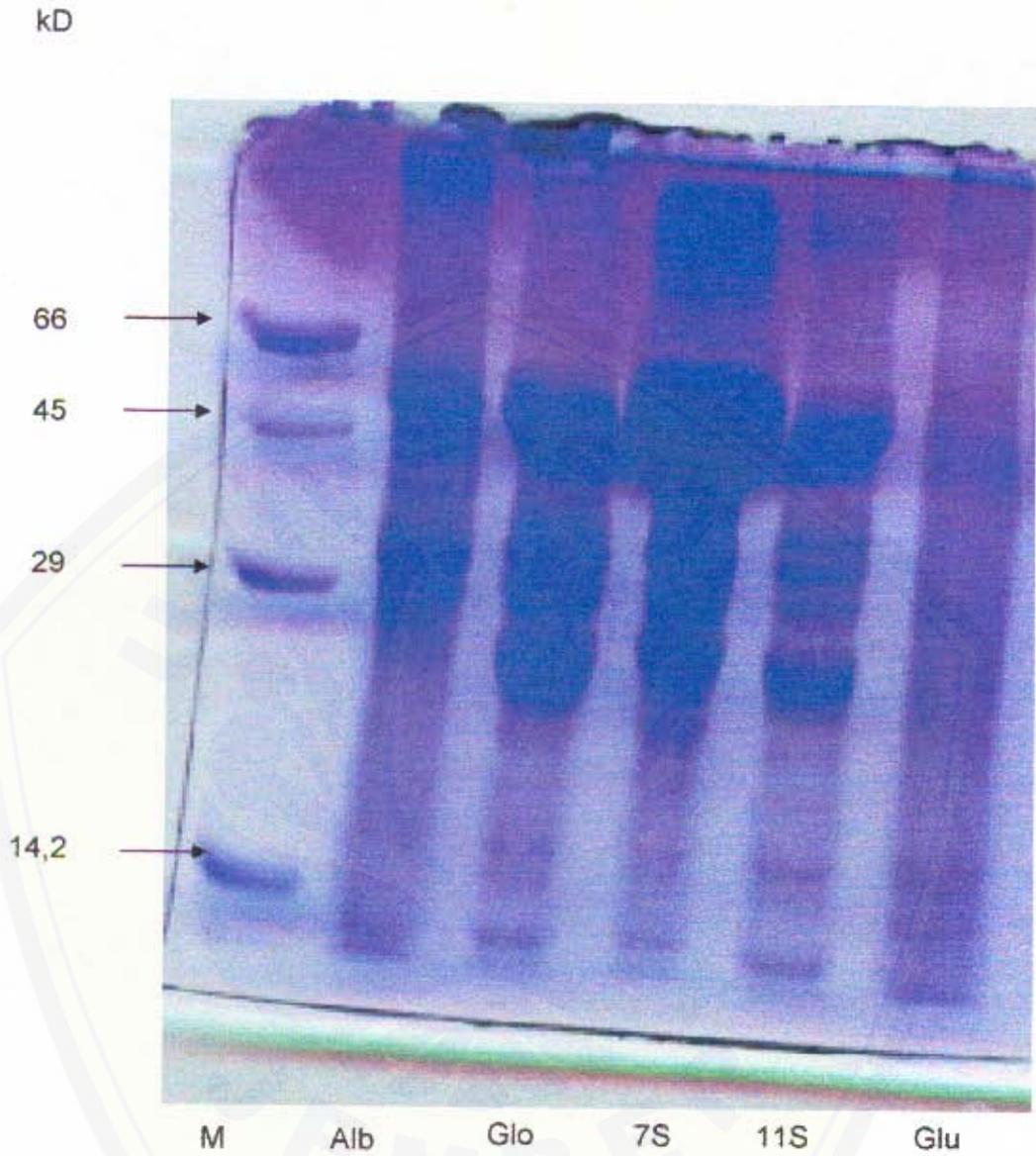
Glutelin memiliki enam fraksi di mana berat molekulnya berkisar antara 48,9 kD dan 11,3 kD. Tiga fraksi mayor dari glutelin mempunyai berat molekul masing-masing 48,9 kD; 32 kD dan 26,4 kD. Tiga fraksi lainnya merupakan fraksi minor dengan berat molekul masing-masing 15,4 kD; 13,7 kD dan 11,3 kD.

Globulin 7S mempunyai lima fraksi di mana berat molekulnya berkisar antara 90,5 kD hingga 29,3 kD. Dua fraksi diantaranya merupakan fraksi mayor dengan berat molekul masing-masing 59,3 kD dan 29,3 kD. Tiga fraksi lainnya merupakan fraksi minor dengan berat molekul antara lain 90,5 kD; 35,9 kD dan 32 kD.

Globulin 11S mempunyai lima fraksi dengan berat molekul terentang pada kisaran 57 kD hingga 27,4 kD. Fraksi mayor dari globulin 11S ada dua dengan berat molekulnya 57 kD dan 27,4 kD. Tiga fraksi lainnya adalah fraksi minor dengan berat molekul 38,8 kD; 35,9 kD dan 32 kD.

Fraksi mayor merupakan fraksi protein yang mempunyai ketebalan dan intensitas warna yang lebih besar dibandingkan iraksi minor. Hal ini diakibatkan oleh konsentrasi fraksi mayor yang lebih tinggi dibandingkan fraksi-fraksi lainnya (Widowati dan Wijaya, 1997). Hasil elektroforesis SDS-PAGE dari fraksi protein dan globulin 7S/11S koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) dapat dilihat pada Gambar 5.





Gambar 5. SDS-PAGE dari Fraksi Protein dan Globulin 7S / 11S Koro Komak (*L. purpureus* (L.) Sweet).
M: Marker; Alb: Albumin; Glo: Globulin; 7S: Globulin 7S;
11S: Globulin 11S; Glu: Glutelin



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik suatu kesimpulan bahwa:

1. Kondisi fisik dari biji koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) mempunyai bentuk menyerupai oval dengan ukuran biji cukup besar. Panjang biji rata-rata 1,05 cm; lebar 0,74 cm; tebal 0,40 cm; luas permukaan 0,8466 cm²; berat biji 0,2334 gram; volume 10 biji 1,908 ml; ketebalan kulit 0,10 mm dengan BDD 83,2128 %. Warna biji berkisar pada warna kuning hingga oranye dengan sedikit warna merah.
2. Kandungan senyawa organik dari koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) yang paling tinggi adalah karbohidrat (67,9 %) disusul protein (17,1 %) sehingga potensial digunakan sebagai sumber makanan dan protein alternatif. Kandungan lemak cukup rendah (1,1 %) dengan kadar air 9,3 % dan kadar abu 3,6 %.
3. Fraksi globulin merupakan jenis protein yang paling banyak (55,15 %) di mana fraksi globulin 7S merupakan fraksi terbesar.
4. Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa albumin mempunyai tiga fraksi dengan berat molekul berkisar antara 101,7 kD hingga 34,5 kD; di mana disusun dua fraksi mayor dan satu fraksi minor. Globulin mempunyai empat fraksi dengan berat molekul antara 54,9 kD hingga 27,4 kD; di mana terdapat dua fraksi mayor dan dua fraksi minor. Glutelin mempunyai enam fraksi dengan berat molekul antara 48,9 kD hingga 11,3 kD; di mana terdapat tiga fraksi mayor dan tiga fraksi minor. Globulin 7S mempunyai lima fraksi dengan berat molekul antara 90,5 kD hingga 29,3 kD. Globulin 7S mempunyai dua fraksi mayor dan tiga fraksi minor. Globulin 11S mempunyai lima fraksi dengan berat molekul antara 57 kD hingga 27,4 kD dengan dua fraksi mayor dan tiga fraksi minor.

5.2 Saran

Perlu diadakannya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui sifat-sifat fungsional dari protein koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet), sehingga dapat digunakan sebagai dasar aplikasi protein koro komak (*L. purpureus* (L.) Sweet) sebagai bahan tambahan makanan. Kurang baiknya data fraksinasi protein yang didapatkan, maka perlu adanya suatu modifikasi pada metode yang digunakan sehingga akan didapatkan hasil yang benar.



DAFTAR PUSTAKA

- Bonvehi, J. Serra dalam Bonvehi, J. Serra and F. Ventura Coll. 1999. Protein Quality Assessment in Cocoa Husk. Canada: Food Research International.
- Clemente, A., Vioque, J., Sanchez-Vioque, R. , Pedroche, J., Bautista, J., and Milan, F. 1999. Protein Quality of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Protein Hydrolysates. *Food Chem.*, 67: 269-274.
- Copeland, Robert A. 1994. Methods for Protein Analysis. New York: Chapman & Hall.
- Dieckert, Julius W. and M. C. Dieckert, dalam Altschul, Aaron M and Harold L. Wilcke. 1985. New Protein Foods. Orlando: Academic Press, Inc.
- Dwidjoseputro, D. 1985. Pengantar Fisiologi Tumbuhan. Jakarta: P.T. Gramedia.
- Friedman, M. 1996. Nutritional Value of Protein from Different Food Sources. A review. *Agric. Food Chem.*, 44: 6-29.
- Harborne, J. B. 1996. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. Bandung: Penerbit ITB.
- Hui, Y. H. 1992. Encyclopedia of Food Science and Technology. New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Iwabuchi, S. and F. Yamauchi. 1987. Electrophoretic Analysis of Whey Proteins Present an Soybean Globulin Fraction. *J. Agric. Food Chem.*, 35:205-209.
- Iwabuchi and Yamauchi dalam Widowati, Sri dan Sri Kusuma Susi Wijaya. 1997. Isolasi dan Karakterisasi Globulin 7S dan Globulin 11S dari Sepuluh Varietas Kedelai Indonesia. Prosiding Seminar Teknologi Pangan.
- Kinsella dalam Widowati, Sri dan Sri Kusuma Susi Wijaya. 1997. Isolasi dan Karakterisasi Globulin 7S dan Globulin 11S dari Sepuluh Varietas Kedelai Indonesia. Prosiding Seminar Teknologi Pangan.
- Koswara, Sutrisno. 1995. Teknologi Pengolahan Kedelai Menjadikan Makanan Bermutu. Jakarta: Pustaka Sinar Harapan.
- Newman, C. W., Roth, N. R., and Lockerman, R. H. 1987. Protein Quality of Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Nutr. Rep. Int.* 36:1-5.

- Nielsen, Niels C. dalam Aaron M. Altschul and Harold L. Wilcke. 1985. New Protein Foods. Orlando: Academic Press, Inc.
- Pasaribu, Amudi. 1981. Pengantar Statistik. Jakarta: Ghalia Indonesia.
- Sackheim, George I. and Ronald M. Schultz. 1977. Chemistry for The Health Sciences. New York: Macmillan Publishing Co., Inc.
- Somaatmadja, S dan L. J. G. van der Maesen. 1993. Prosea Sumber Daya Nabati Asia Tenggara 1 Kacang-kacangan. Jakarta: P.T. Gramedia Pustaka Utama.
- Subagio, A. 2003. Pengembangan Kekara Sebagai Sumber Protein Untuk Mencukupi Kebutuhan Pangan di Daerah Marginal. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Subagio, A., Siti H., Wiwik S. W., Unus, M. Fauzi dan B. Herry. 2002. Kajian Sifat Fisikokimia dan Organoleptik Hidrolisat Protease. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan Volume XIII No. 3*. Bogor.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 1997. Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Yogyakarta: Penerbit Liberty.
- Suhardi. 1989. Kimia dan Teknologi Protein. Yogyakarta: PAU. Pangan dan Gizi . Universitas Gajah Mada.
- Tanh and Shibasaki dalam Widowati, Sri dan Sri Kusuma Susi Wijaya. 1997. Isolasi dan Karakterisasi Globulin 7S dan Globulin 11S dari Sepuluh Varietas Kedelai Indonesia. Prosiding Seminar Teknologi Pangan.
- Tohir, Kaslan A. 1960. Pedoman Bertjotjok Tanam. Djakarta: Dinas Penerbitan Balai Pustaka.
- Utsumi, S. and J.E. Kinsella. 1985. Structure Function Relationships in Food Protein Sub Unit imteractions in Heat induced Gelation of 7S, 11S and Soy Isolate Protein. *J. Agric. Food Chem.*, 33: 297-302.
- Waggle, Doyle H., Fred H. S. and J. L. Shen, dalam Ruth H. Matthews (Ed). 1989. Legumes. Chemistry, Technology and Human Nutrition. New York: Marcel Dekkers, Inc.
- Widowati, S dan S. K. S. Wijaya. 1997. Isolasi dan Karakterisasi Globulin 7S dan 11S dari Sepuluh Varietas Kedelai Indonesia. Prosiding Seminar Teknologi Pangan.

Wolf, T. K. and J. C. Cowan. 1977. Soybean as a Food Source di dalam Graham, H. D. 1977. Food Colloids. The Avi publishing. Co. Inc. Westport, Connecticut.

Yu, M. and S. Damodaran. 1991. Kinetic of Destabilization of Soy Protein Foams. *J. Agric. Food Chem.*, 39:1563-1568.

Zayas, Joseph F. 1997. Functionality of Protein in Food. Berlin: Springer.



Lampiran 1. Sifat Fisik Koro Komak

A. Sifat Berat, Tebal, Lebar, dan Panjang

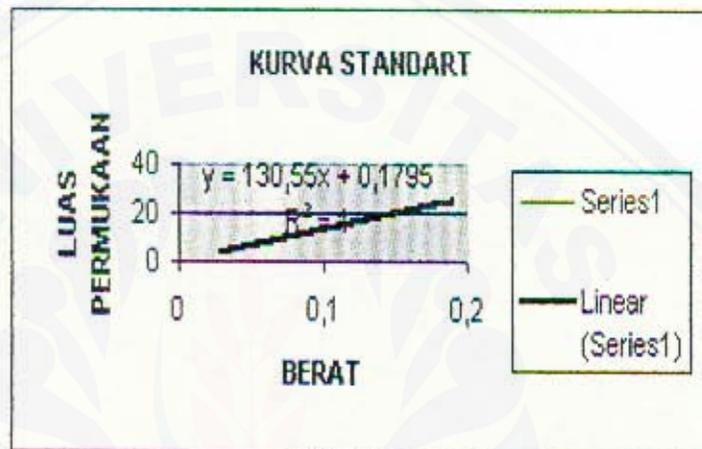
Biji ke	Tebal (cm)	Rerata	Lebar (cm)	Rerata	Panjang (cm)	Berat (gr)
1	0,4	0,434	0,69	0,67667	0,96	0,2021
	0,47		0,64			
	0,49		0,7			
	0,41					
	0,4					
2	0,4	0,442	0,7	0,70667	0,99	0,214
	0,44		0,74			
	0,44		0,68			
	0,44					
	0,49					
3	0,4	0,398	0,74	0,77	1,2	0,2599
	0,41		0,8			
	0,41		0,77			
	0,41					
	0,36					
4	0,4	0,416	0,74	0,77	1	0,2515
	0,43		0,8			
	0,46		0,77			
	0,4					
	0,39					
5	0,35	0,38	0,64	0,64	0,86	0,1853
	0,39		0,66			
	0,4		0,62			
	0,41					
	0,35					
6	0,34	0,348	0,81	0,83333	1,05	0,2281
	0,37		0,86			
	0,36		0,83			
	0,35					
	0,32					
7	0,37	0,412	0,73	0,74333	1,12	0,2768
	0,41		0,78			
	0,44		0,72			
	0,43					
	0,41					

Biji ke	Tebal	Rerata	Lebar	Rerata	Panjang	Berat
	(cm)		(cm)			
8	0,36	0,394	0,74	0,77667	1,22	0,256
	0,41		0,82			
	0,43		0,77			
	0,42					
	0,35					
9	0,34	0,374	0,67	0,72	1,04	0,2538
	0,4		0,78			
	0,4		0,71			
	0,38					
	0,35					
10	0,41	0,436	0,75	0,75333	1,05	0,2065
	0,47		0,78			
	0,5		0,73			
	0,45					
	0,35					
RERATA		0,4034		0,739	1,049	0,2334
SD		0,0288		0,052	0,103	0,028

B. Luas Permukaan Biji Kacang Koro

Luasan	1 cm ²	4 cm ²	9 cm ²	16 cm ²	25 cm ²
Berat ke					
1	0,0079	0,0295	0,0661	0,1211	0,1883
2	0,0079	0,0299	0,0678	0,1202	0,1887
3	0,0079	0,0298	0,0663	0,1219	0,1906
4	0,0079	0,0297	0,0678	0,1201	0,1932
5	0,0079	0,0296	0,0674	0,1219	0,1908
Rerata	0,0079	0,0297	0,06708	0,12104	0,19032

x	y
0,0079	1
0,0297	4
0,06708	9
0,12104	16
0,19032	25



Biji ke	Berat Kertas yang diblat (gram)	Luas Permukaan (cm ²)
1	0,0065	1,02808
2	0,0055	0,89753
3	0,0052	0,85836
4	0,0051	0,84531
5	0,0063	1,00197
6	0,006	0,9628
7	0,0048	0,80614
8	0,004	0,7017
9	0,0043	0,74087
10	0,0034	0,62337
	rerata	0,84661

SD = 0,1253

C. Volume Biji

Biji ke	Gelas Kosong	Gelas+air	Air	Vol Air
1	2,707	5,283	2,576	2,58349
2	2,709	5,195	2,486	2,49323
3	2,702	4,636	1,934	1,93962
4	2,703	3,928	1,225	1,22856
5	2,708	4,604	1,896	1,90151
6	2,717	4,806	2,089	2,09508
7	2,708	4,689	1,981	1,98676
8	2,708	4,292	1,584	1,58861
9	2,705	4,475	1,770	1,77515
10	2,705	4,192	1,487	1,49132
BJ air =0,9971 g/ml			rerata	1,90833
			SD	0,39949

D. BDD

No.	Biji Utuh (g)	Biji (g)	BDD (%)
1	0,2564	0,2144	83,6193
2	0,2346	0,1949	83,0776
3	0,2269	0,1915	84,3984
4	0,26	0,2205	84,8077
5	0,1879	0,1518	80,7877
6	0,221	0,1857	84,0271
7	0,2382	0,1976	82,9555
8	0,2175	0,1802	82,8506
9	0,2465	0,2059	83,5294
10	0,2304	0,1891	82,0747
rerata			83,2128
SD=			1,1077246

E. Ketebalan Kulit

Biji ke	Tebal Kulit (mm)
1	0,09
2	0,1
3	0,09
4	0,12
5	0,09
6	0,09
7	0,1
8	0,08
9	0,12
10	0,12
rerata	0,1
SD = 0,0141	

F. Warna

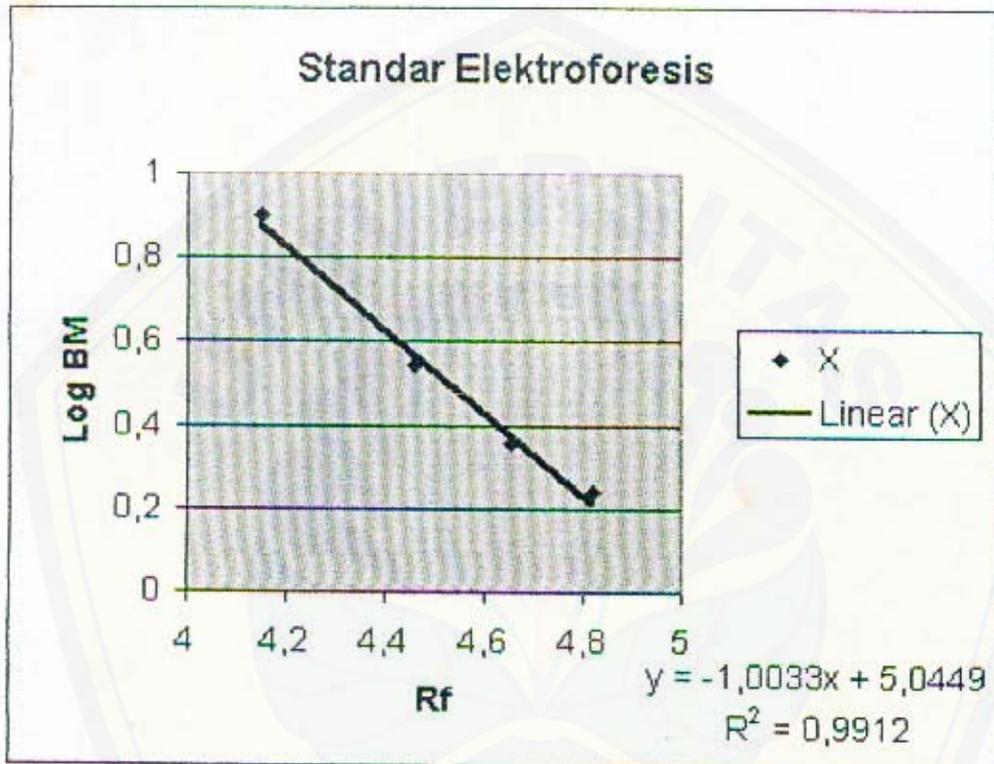
No.	dE	dL	da	db
1	28,3	-26,8	3,4	8,5
2	28,3	-25,3	5,7	11,4
3	32,1	-31,3	3,1	6,5
4	26,9	-25,7	2	7,6
5	27,6	-24,5	5,4	11,4
6	27,4	-24,2	4,7	11,9
7	26,7	-23,2	5,8	11,9
8	34,6	-34,2	1,7	5,3
9	27,8	-26	3,7	9,1
10	29,1	-27,2	3,2	8,7
11	25,2	-22,2	3,5	11,4
12	29,7	-28,1	4,2	8,5
13	28,7	-26,9	4,3	9
rerata	28,646154	-26,5846	3,9	9,32308
		SD	1,4149205	2,35038

L= 73,415385
 C= 10,105927
 H= 67,299621

Lampiran 2. Persamaan Standar Elektroforesis

Persamaan Standar Elektroforesis

Y	X	Keterangan
4,819544	0,237	Y = Log BM
4,653213	0,356	X = Rf
4,462398	0,542	
4,152288	0,898	





Lampiran 3. 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
	0.6
0.912	0.85

