



**KARAKTERISTIK DAN AKTIVITAS HAMBAT ANGIOTENSIN
CONVERTING ENZYME (ACE-1) GARAM PEPTIDA BERBASIS
KOMBINASI HIDROLISAT DUA JENIS KACANG**

SKRIPSI

oleh

Oriza Krisnata Wiwata

NIM 141710101043

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

2019



**KARAKTERISTIK DAN AKTIVITAS HAMBAT ANGIOTENSIN
CONVERTING ENZYME (ACE-1) GARAM PEPTIDA BERBASIS
KOMBINASI HIDROLISAT DUA JENIS KACANG**

-SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Jurusan Hasil Pertanian (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian

oleh

Oriza Krisnata Wiwata

NIM 141710101043

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

2019

PERSEMBAHAN

Yang Utama Dari Segalanya..

Ucapan syukur atas kuasa Allah SWT. Limpahan kasih sayang serta anugrah kemudahan yang telah diberikan kepada saya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lancar.

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

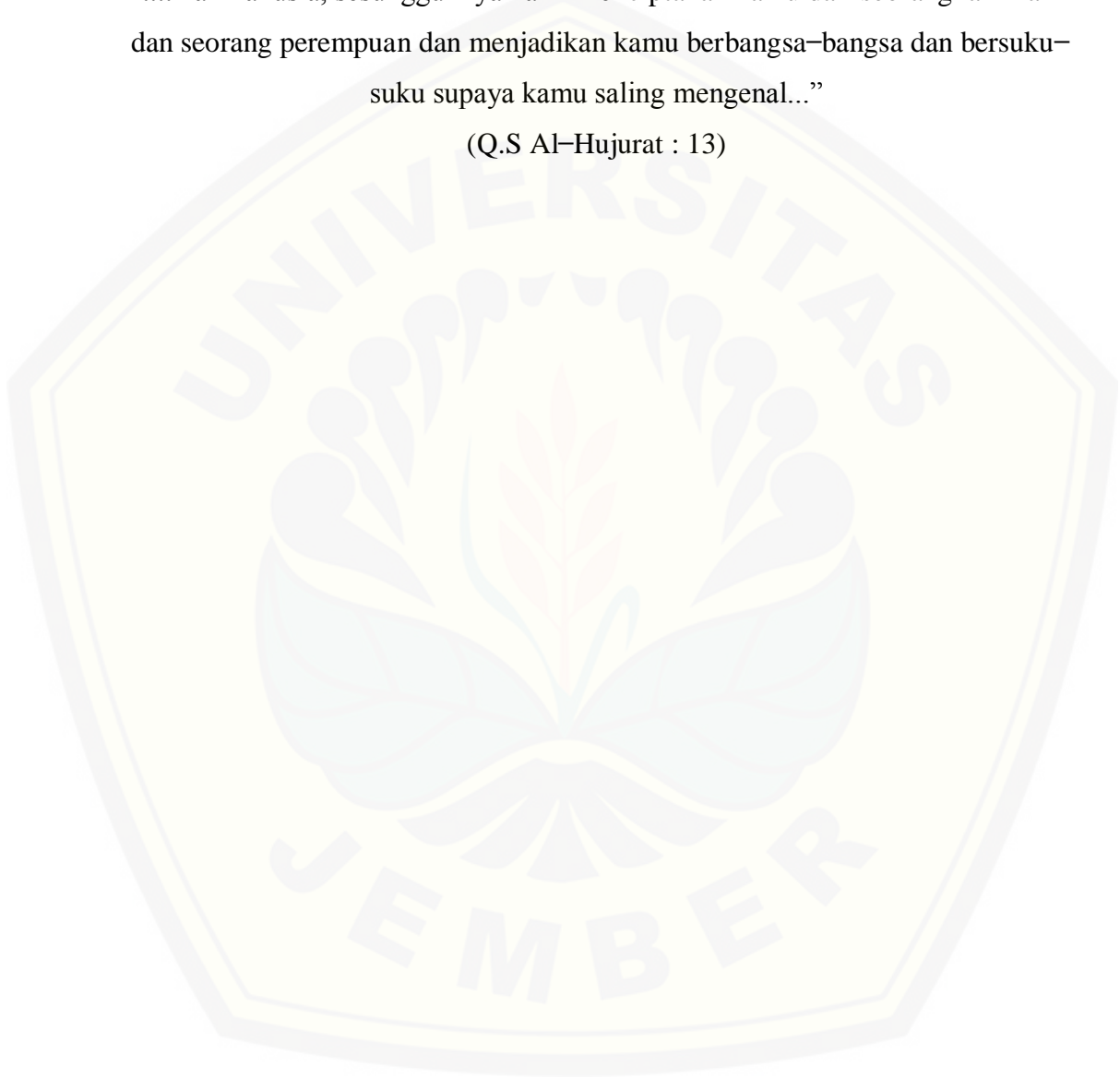
1. Kedua orang tua saya yang selalu mendoakan atas kelancaran saya dalam menyelesaikan studi.
2. Kakak saya Hybrisma Hermadi Wiwata, S.P yang selalu memotivasi saya untuk segera menyelesaikan studi.
3. Dosen pembimbing skripsi saya, Prof. Dr. Ir. Tejasari, M.Sc, Ardiyan Dwi Masahid, S.TP, M.P dan Alm. Ir. Wiwik Siti Windarti, M.P yang selalu membimbing dengan sepenuh hati serta memberikan ilmu demi kelancaran studi.
4. Keluarga besar THP A 2014 dan seluruh teman-teman THP angkatan 2014 yang telah memberikan bantuan dan dukungan dari awal hingga akhir terselesaikannya penelitian ini.
5. Muhammad Dwi Nurcahyo, dan Denny Devandya N, Pungky Wildan Z, Annga Setiawan, Subhan, Danang, Hamid, Ergi Guntara, Prana, Yogi Dwi, Rio Bagus, yang telah memberikan semangat serta dukungan kepada saya untuk menyelesaikan tugas akhir ini.
6. Keluarga Besar UKM-O Sahara yang telah memberikan motivasi dan masukan yang luar biasa kepada saya dalam menempuh studi.
7. Almamater Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

MOTTO

“...Dengan Menyebut Nama Allah Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang...”

“...Hai manusia, sesungguhnya kami menciptakan kamu dari seorang laki-laki dan seorang perempuan dan menjadikan kamu berbangsa-bangsa dan bersuku-suku supaya kamu saling mengenal...”

(Q.S Al-Hujurat : 13)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Oriza Krisnata Wiwata

NIM : 141710101043

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “**Karakteristik Dan Aktivitas Hambat Angiotensin Converting Enzyme (ACE-1) Garam Peptida Berbasis Kombinasi Hidrolisat Dua Jenis Kacang**” adalah benar – benar hasil karya sebagai milik tim peneliti Hibah Keris Batch 4 tahun 2018, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun dan bukan karya jiplakan. Saya dan tim peneliti bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 06 Maret 2019
Yang menyatakan,

Oriza Krisnata Wiwata
NIM 141710101043

SKRIPSI

**KARAKTERISTIK DAN AKTIVITAS HAMBAT ANGIOTENSIN
CONVERTING ENZYME (ACE-1) GARAM PEPTIDA BERBASIS
KOMBINASI HIDROLISAT DUA JENIS KACANG**

Oleh

Oriza Krisnata Wiwata

NIM 141710101043

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Prof. Dr. Ir. Tejasari, M.Sc

Dosen Pembimbing Anggota : Ardiyan Dwi Masahid, S.TP, M.P

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Karakteristik Dan Aktivitas Hambat Angiotensin Converting Enzyme (ACE-1) Garam Peptida Berbasis Kombinasi Hidrolisat Dua Jenis Kacang**” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Teknologi Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Jember pada:

Hari : Rabu

Tanggal : 06 Maret 2019

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota

Prof. Dr. Ir. Tejasari, M.Sc
NIP. 196102101987032002

Penguji Utama

Ardiyani Dwi Masahid, S.TP, M.P
NRP. 760016797

Penguji Anggota

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

Dr. Ir. Sih Yuwanti, MP
NIP. 196507081994032002

Mengesahkan
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember

Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M. Eng.
NIP. 196809231994031009

RINGKASAN

Karakteristik Dan Aktivitas Hambat *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE-1) Garam Peptida Berbasis Kombinasi Hidrolisat Dua Jenis Kacang; Oriza Krisnata Wiwata; 141710101043; 2019; 78 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian; Fakultas Teknologi Pertanian; Universitas Jember.

Hipertensi merupakan kondisi kenaikan tekanan darah di atas normal akibat menyempitnya pembuluh darah karena adanya tekanan osmotik. Hipertensi menjadi salah satu faktor resiko penyakit jantung koroner dan penyakit cerebrovaskuler. Tindakan pencegahan hipertensi akan efektif dalam penurunan risiko penyakit tersebut. Salah satunya dengan mengurangi konsumsi natrium serta mengkonsumsi produk antihipertensi. Antihipertensi yang dapat menurunkan tekanan darah mempunyai mekanisme penghambatan terbentuknya *Angiotensin converting enzyme 2* (ACE-2), dengan mengikat sisi reaktif dari ACE-1. Komponen pangan yang diketahui berpotensi dalam pencegahan penyakit hipertensi adalah hidrolisat protein. Hidrolisat protein dapat didapatkan dari kacang-kacangan yang mempunyai kandungan protein cukup tinggi, diantaranya kacang hijau, kacang tunggak, koro kratok dan kacang merah.

Penelitian menggunakan rancangan *eksploratif eksperimental laboratory* dengan satu faktor yaitu bahan dasar kacang. Kacang yang digunakan yaitu kacang hijau, kacang tunggak, koro kratok dan kacang merah. Proses pembuatan hidrolisat protein kacang diawali dengan penepungan kacang 80 mesh. Tepung kacang kemudian dilakukan proses *defatting* (pengurangan komponen lemak), yang selanjutnya diekstraksi komponen proteinnya. Ekstrak protein masing-masing kacang dihidrolisis menggunakan enzim alkalase. Suspensi hasil hidrolisis dilakukan *freeze drying* (pengeringan beku). Tepung hidrolisat kacang kemudian diformulasikan. Komposisi produk dengan berat total 500 mg dengan 2 jenis hidrolisat kacang ditambah 20% maltodekstrin. Hasil formulasi dicetak dan hasil cetakan disebut hidrolisat kacang. Hidrolisat kacang dianalisis warna (derajat putih), bagian tak larut air, kadar air, kadar lemak, protein terlarut dan aktivitas penghambatan ACE-1.

Hasil penelitian dilakukan dengan analisis secara fisik dan kimia. Karakteristik fisik garam peptida hidrolisat kacang yaitu nilai derajat putih (W) hidrolisat kacang akan berbanding lurus dengan tingkat kecerahan (L) garam peptida hidrolisat kacang. Garam peptida mempunyai nilai (W) dari 59,63 – 67,90. Nilai tertinggi A2 yaitu (W) 67,90 dan terendah nilai sampel A4 sebesar 59,63. Bagian tak larut air merupakan senyawa yang pada umumnya non polar sehingga sukar untuk berikatan dengan air. Hasil bagian tak larut air tertinggi pada garam peptida A6 dengan nilai 29,16%, sedangkan nilai terendah terdapat pada garam peptida A1 sebesar 10,64%.

Karakteristik kimia garam peptida hidrolisat kacang, kadar air berkisar 5,90 sampai 8,75%. Kadar air tertinggi garam peptida A4 8,75% dan terendah pada A3 5,90%. Terdapat satu garam peptida yang sesuai dengan SNI garam beryodium yaitu A3. Kadar protein garam peptida tertinggi pada A2 sebesar

22,03% dan terendah A5 18,42%. Kandungan lemak garam peptida tertinggi pada A3 1,42% dan terendah A4 0,38%. Garam peptida dengan bahan dasar kacang merah mempunyai nilai kadar lemak yang tinggi dibanding kacang lain. Persentase penghambatan ACE-1 (*Angiotensin Converting Enzyme*) dari hidrolisat protein kacang berturut-turut yaitu; (A1) 36,009; (A2) 37,867; (A3) 32,574; (A4) 63,635; (A5) 46,265; (A6) 43,842. Suatu inhibitor antihipertensi dapat digunakan sebagai terapi pencegahan hipertensi apabila memiliki nilai persentase penghambatan ACE-1 minimal sebesar 40–50%, sehingga garam peptide hidrolisat kacang A4, A5 dan A6 mampu dijadikan sebagai terapi pencegahan hipertensi.



SUMMARY

Characterizations and Angiotensin 1-Converting Enzyme (ACE-1) Inhibitory Activity of Peptide Salt Based on the Combination of Two Types of Bean Hydrolysis; Oriza Krisnata Wiwata; 141710101043; 2019; pages; Department Of Agricultural Technology; Faculty Of Agricultural Technology; University Of Jember.

Hypertension is a condition of increasing blood pressure above normal due to narrowing of blood vessels by osmotic pressure. Hypertension is one of the risk factors for coronary heart disease and cerebrovascular disease. Preventive measure of hypertension will be effective in reducing the risk of disease. One of them is reducing sodium consumption and consuming of antihypertensive products. Antihypertensive which one can reduce blood pressure, has a mechanism to inhibit the formation of Angiotensin converting enzyme 2 (ACE-2), by binding to the reactive side of ACE-1. The component of food that is known to potentially prevent hypertension disease is the hydrolyzate of protein. Hydrolysate of protein can be obtained from beans which have high enough protein content, like a green beans, cowpea, koro kratok and kidney beans.

The plan of research used exploratory laboratory experimental with one factor, that is peanut base material. The beans of used that are green beans, cowpea, koro kratok and red beans. The process of making hydrolyzates of protein peanut is begins with make a flour of 80 mesh nuts. Peanut flour then is do the defatting process (reduction components of fat), and next extracted the components of protein. protein extracts of each bean were hydrolyzed using alcalase enzyme. Suspension of hydrolysis results are do freeze drying. The peanut hydrolyzate powder is then formulated. Composition of product with a total weight of 500 mg with 2 types of peanut hydrolyzate plus 20% maltodextrin. The results of the formulation are printed and the product is called peanut hydrolysate. The peanut hydrolyzate was analyzed color (white degree), water insoluble solid, moisture content, fat content, dissolved protein and ACE-1 inhibitory activity.

Results of the study were analyzed physically and chemically. Physical characteristics peptide salt of the beans hydrolyzate, the value of white degree (W) from beans hydrolyzate will be directly proportional to the brightness level (L) from peptide salt of beans hydrolyzate. Peptide salts have a value (W) from 59.63-67.90. The highest value A2 is (W) 67.90 and the lowest A4 sample value is 59.63. water insoluble solids are compounds that are generally non polar so it is difficult to bind to water. The highest water insoluble solids in salt peptide A6 with a value of 29.16%, while the lowest value found in peptide salt A1 is 10.64%.

Chemical characteristics peptide salt from beans hydrolyzate, water content ranges from 5.90 - 8.75%. The highest water content from peptide salt that is A4 8.75% and the lowest is A3 5.90%. There is one peptide salt that is in accordance with the SNI for iodized salt that is A3. highest protein content of

peptide salts in A2 is 22.03% and the lowest is A5 18.42%. The highest fat content from salts peptide that is A3 with value 1.42% and the lowest is A4 0.38%. Peptide salts with basic ingredients red beans have high fat content values compared to other nuts. Percentage from inhibition of ACE – 1 (Angiotensin Converting Enzyme) from hydrolyzates peanut protein successive,; (A1) 36,009; (A2) 37,867; (A3) 32,574; (A4) 63,635; (A5) 46,265; (A6) 43,842. An antihypertensive inhibitor can be used as a preventative therapy for hypertension if it has a minimum ACE–1 inhibition value of 40–50%, so that the peptide salt from beans hydrolyzates of A4, A5 and A6 can be used as prevention of hypertension.



PRAKATA

Sujud syukur Alhamdulillah senantiasa penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala limpahan rahmat, hidayah, serta inayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Karakterisasi Dan Aktivitas Penghambatan *Angiotensin Converting Enzyme* – 1 (ACE- 1) Garam Peptida Berbasis Hidrolisat Kombinasi Dua Jenis Kacang” dengan baik. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan Strata satu (S1) di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember. Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh sebab itu penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas jember.
2. Dr. Ir. Jayus selaku Ketua jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
3. Dr. Triana Lindriati, ST. MP selaku Dosen Pembimbing Akademik
4. Prof. Dr. Ir. Tejasari, M.Sc selaku dosen pembimbing utama dan Ardiyan Dwi Masahid, STP, MP selaku dosen pembimbing anggota yang selalu membimbing dengan sepenuh hati serta memberikan ilmu demi kelancaran studi.
5. Prof. Dr. Yuli Witono, STP, MP dan Dr. Ir. Sih Yuwanti, MP selaku dosen penguji skripsi yang telah memberikan saran dan evaluasi demi perbaikan skripsi yang saya susun.
6. Orang tua saya Ninik Hartini dan kakak saya Hybrisma Hermadi Wiwata, S.P yang selalu mendoakan atas kelancaran saya dalam menyelesaikan studi.
7. Keluarga besar Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian, Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember serta cDAST (*Center for Development of Advanced Sciences and Technology*) Universitas Jember.
8. Muhammad Dwi Nurcahyo, Denny Devandya N, Pungky Wildan Z, Angga Setiawan dan M. Muhaimin yang selalu memberikan dukungan luar biasa kepada penulis dalam menyusun karya tulis ini.

9. Teman–teman seperjuangan THP 2014, khususnya THP A 2014 yang telah memberikan bantuan dan dukungan selama pelaksanaan penelitian.

11. Kafein dan Cangkir yang telah mensupport penulis dalam menyelesaikan karya ini.

12. Keluarga Besar UKM–O Sahara yang turut memberikan pengalaman luar biasa selama penulis menyelesaikan karya ini.

14. Seluruh pihak yang turut membantu dalam penyusunan skripsi baik secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah ini masih terdapat banyak kekurangan dan belum dapat dikatakan sempurna. Oleh karena itu saran dan kritik yang bersifat membangun dari semua pihak sangat diharapkan bagi sempurnanyakarya ini.

Jember, 30 April 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN SAMPUL	i
PERSEMBAHAN	ii
MOTTO	iv
PERNYATAAN	v
SAMPUL	vi
PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	ix
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	4
1.4 Manfaat	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Kacang–Kacangan	6
2.1.1 Kacang Hijau (<i>Vigna radiate</i> L)	6
2.1.2 Kacang Tunggak (<i>Vigna unguiculata</i>)	8
2.1.3 Kacang Merah (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	10
2.1.4 Koro Kratok (<i>Phaseolus lunatus</i> L.)	12
2.2 Bahan Pengikat	14
2.3 Protein	15
2.4 Peptida Rasa Gurih	16
2.5 Hidrolisis Peptida Secara Enzimatis	18
2.6 Enzim Alkalase	19

2.7 Peptida <i>Angiotensin Converting Enzyme</i> (ACE) Inhibitor.....	20
2.8 Penghambatan ACE Inhibitor.....	20
2.9 Hipertensi.....	22
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	24
3.1 Tempat dan Waktu	24
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	24
3.2.1 Alat Penelitian.....	24
3.2.2 Bahan Penelitian	24
3.3 Rancangan Penelitian	25
3.4 Pelaksanaan Penelitian	26
3.4.1 Persiapan Sampel	26
3.4.2 Pembuatan Hidrolisat Protein	31
3.4 Parameter Pengamatan	32
3.5 Prosedur Pengamatan.....	32
3.6 Analisa Data	35
BAB 4. PEMBAHASAN	36
4.1 Warna Hidrolisat Protein Kacang.....	36
4.2 Kadar Air Hidrolisat Protein Kacang.....	38
4.3 Kadar Lemak	41
4.4 Bagian Tak Larut Air Hidrolisat Protein Kacang.....	42
4.5 Kadar Protein Terlarut.....	45
4.6 Aktivitas Penghambatan ACE-1.....	47
BAB 5. PENUTUP	52
5.1 Kesimpulan.....	52
5.2 Saran.....	52
DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN	61

DAFTAR GAMBAR

	halaman
Gambar 2.1 Kacang hijau (<i>Vigna radiate</i> L.)	6
Gambar 2.2 Kacang tunggak (<i>Vigna unguiculata</i>)	8
Gambar 2.3 Kacang merah (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	10
Gambar 2.4 Koro kratok (<i>Phaseolus lunatus</i> L.)	13
Gambar 2.5 Ikatan peptida antar dua asam amino	15
Gambar 3.1 Rancangan percobaan.....	25
Gambar 3.2 Proses penepungan kacang–kacangan.....	26
Gambar 3.3 <i>Defatting</i> tepung kacang–kacangan	27
Gambar 3.4 Proses ekstraksi protein	28
Gambar 3.5 Hidrolisis enzimatis ekstrak protein.....	30
Gambar 3.6 Kempa cetak langsung.....	31
Gambar 4.1 Derajat putih hidrolisat protein kacang	36
Gambar 4.2 Kecerahan (<i>lightness</i>) hidrolisat protein kacang.....	37
Gambar 4.3 Kadar air hidrolisat protein kacang	39
Gambar 4.4 Kadar lemak.....	41
Gambar 4.5 Bagian tak larut air	43
Gambar 4.6 Kadar protein terlarut	46
Gambar 4.7 Garam peptida hidrolisat kacang.....	48

DAFTAR TABEL

	halaman
Tabel 2.1 Kadar zat gizi kacang hijau dan ekstrak protein kacang hijau	7
Tabel 2.2 Komposisi asam amino ekstrak protein kacang hijau.....	7
Tabel 2.3 Kandungan gizi kacang tunggak	9
Tabel 2.4 Komposisi asam amino isolat protein kacang tunggak.....	9
Tabel 2.5 Kandungan gizi kacang merah	11
Tabel 2.6 Komposisi asam amino dalam kacang merah	12
Tabel 2.7 Kandungan asam amino koro kratok.....	13
Tabel 2.8 Asam amino pembentukan rasa.....	17
Tabel 2.9 Persentase penghambatan ACE dengan enzim alkalase	21
Tabel 2.10 Klasifikasi tekanan darah (TD)	23
Tabel 3.1 Ekstraksi tepung kacang-kacangan	29
Tabel 3.2 Hidrolisis ekstrak protein kacang-kacangan.....	31
Tabel 4.1 Kadar air tepung kacang-kacangan.....	40
Tabel 4.2 Kadar lemak kacang-kacangan	42
Tabel 4.3 Kandungan lemak dan abu kacang-kacangan.....	43
Tabel 4.4 Derajat hidrolisis hidrolisat protein kacang-kacangan.....	45
Tabel 4.5 Kadar protein terlarut ekstrak kacang-kacangan	47
Tabel 4.6 Asam amino hidrofobik kacang-kacangan	49

DAFTAR LAMPIRAN

	halaman
Lampiran A. Warna derajat putih (<i>whitness</i>).....	61
A1. Data analisis warna derajat putih (<i>whitness</i>)	61
A2. Contoh perhitungan warna derajat putih (<i>whitness</i>)	63
Lampiran B. Kadar air.....	64
B1. Data analisis kadar air	64
B2. Contoh perhitungan kadar air	65
Lampiran C. Bagian tak larut air	66
C1. Data analisis bagian tak larut air	66
C2. Contoh perhitungan bagian tak larut air	68
Lampiran D. Kadar lemak	69
D1. Data analisis kadar lemak	69
D2. Contoh perhitungan kadar lemak	70
Lampiran E. kadar protein terlarut.....	70
E1. Data kurva standar <i>bovine serum albumin</i> (BSA).....	70
E2. Data analisis kadar protein terlarut.....	71
E3. Contoh perhitungan kadar protein terlarut.....	72
Lampiran F. Perhitungan penghambatan aktivitas ACE-1	73
F1. Hidrolisat prtotein kombinasi dua jenis kacang tanpa malt	73
F2. Hidrolisat protein kombinasi dua jenis kacang	75
F3. Contoh perhitungan penghambatan aktivitas ACE-1.....	76
Lampiran G. Gambar Hidrolisat protein kombinasi dua jenis kacang.....	77

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Beragam makanan menggunakan *food additive* (bahan tambahan makanan) dalam proses pengolahannya. Salah satu BTP (bahan tambahan pangan) yang sering digunakan pada pengolahan makanan adalah garam. Bahan tambahan pangan seperti garam berfungsi menambah citarasa pada makanan. Garam merupakan komponen yang terbentuk dari unsur natrium dan klorida, dengan kandungan natrium klorida pada garam beryodium dihitung dari jumlah klorida (Cl^{2-}) minimal 94% (SNI 3556:2010). Meskipun diperkenankan sebagai penyedap masakan, penggunaan garam berlebihan dapat mengganggu kesehatan. Kejadian ini menyebabkan WHO menetapkan ADI (*Acceptable daily intake*) untuk konsumsi garam dan disetarakan dengan konsumsi MSG pada manusia sebesar 120 mg/kg (Setiawati, 2008).

Konsumsi garam dan MSG yang berlebihan menyebabkan kenaikan kadar garam dalam darah (Nuryani dan Kensaku, 2006). Garam yang dikonsumsi terurai menjadi natrium dan klorida dalam tubuh. Konsentrasi natrium yang tinggi menyebabkan tekanan osmotik ekstraseluler menjadi lebih tinggi, sehingga cairan intraseluler ditarik ke luar. Meningkatnya volume cairan ekstraseluler menyebabkan meningkatnya volume darah sehingga berdampak kepada timbulnya hipertensi. Menurut *Joint National Committee (JNC) 7* (2003), hipertensi adalah tekanan darah sistolik ≥ 140 mmHg dan tekanan darah diastolik ≥ 90 mmHg pada seseorang yang tidak sedang mengonsumsi obat antihipertensi (Yogiantoro, 2006). Di Indonesia proporsi penduduk yang biasa mengonsumsi makanan asin ≥ 1 kali sehari pada tahun 2013 adalah 26,2 persen dan penduduk yang mengonsumsi natrium tinggi (≥ 2000 mg per hari) ditemukan cukup tinggi yaitu 52,7%, sementara program pengendalian konsumsi natrium belum menjadi prioritas (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan RI, 2015). Berdasarkan hal tersebut, pengembangan sumber cita rasa alternatif perlu dilakukan. Diharapkan cita rasa alternatif pengganti garam dapat memberikan rasa gurih

dan/atau asin pada makanan, namun juga memberikan efek fungsional pada manusia.

Cita rasa asin dan/atau umami pengganti garam membutuhkan teknologi cara pengolahan pangan. Teknik yang sering digunakan yaitu proses hidrolisis, karena menurut Witono *et al.*, (2007) melalui teknik hidrolisis, protein dari suatu bahan dapat diubah menjadi senyawa asam amino L, nukleotida, dan berbagai ragam peptida. Hasil penelitian Subagio (2002) menjelaskan bahwa hasil hidrolisis tempe oleh enzim protease menghasilkan peptida-peptida pendek yang mempunyai rasa gurih. Penelitian Tada *et al.*, (1984) juga menemukan peptida hasil sintesis yang mempunyai rasa asin yang hampir sama bahkan lebih besar daripada garam NaCl, seperti *L-Ornithylalanine* dan *l-Ornithyltaurine*. Hidrolisat hasil hidrolisis dimungkinkan mengandung peptida dengan rantai pendek yang mempunyai rasa umami dan asin tanpa adanya kandungan natrium. Penelitian ini menjadi dasar bahwa rasa asin bisa didapatkan dari peptida asin hasil proses hidrolisis protein yang dinamakan garam peptida.

Hidrolisis protein dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu hidrolisis kimiawi dan hidrolisis enzimatis. Hidrolisis kimiawi mulai dihindari oleh kebanyakan industri makanan, karena produk yang dihasilkan kurang terjamin bagi kesehatan. Hidrolisis enzimatis merupakan pilihan metode yang aman, enzim yang sering digunakan adalah bromelin, papain dan fisin (Sun, 2011). Proses hidrolisis protein menggunakan enzim protease jenis alkalse. Selain enzim protease berpotensi menghasilkan peptida dengan rasa gurih, enzim protease jenis alkalase mampu memotong ikatan peptida pada bagian tengah yang menghasilkan residu asam amino hidrofobik pada ujung terminal C dan N. Sifat hidrofobik residu asam amino mampu menurunkan terjadinya resiko hipertensi dengan cara berikatan sisi aktif ACE (Li *et al.*, 2005).

Protein dapat bersumber dari hewan dan tumbuhan. Potensi protein pada kacang – kacangan cukup tinggi, seperti kacang hijau (*Vigna radiate* L.) 23,84% (Brishti *et al.*, 2017), kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) 20,5–22,11% (Badan Penelitian Kacang-kacangan dan Umbi-umbian, 2008) koro kratok (*Phaseolus lunatus*) 19,93 – 21,40% (Diniyah *et al.*, 2013) dan kacang merah (*Phaseolus*

vulgaris L.) 23,10% (Nio, 2012). Kandungan protein yang cukup banyak dapat menjadikan kacang-kacangan sebagai bahan dasar dalam pembuatan bahan tambahan pangan yang mempunyai efek fungsional. Pada penelitian sebelumnya telah didapatkan efek fungsional antihipertensi pada hasil hidrolisis protein kacang hijau, kacang tunggak, koro kratok dan kacang merah dengan aktivasi penghambatan ACE-1 (Li *et al.*, 2005; Segura-Campos *et al.*, 2010; Betancur-Acona *et al.*, 2015; Rui *et al.*, 2012).

Sebagian besar sumber protein nabati memiliki kandungan protein yang tidak lengkap (Stanfield *et al.*, 2009). Kandungan protein yang tidak lengkap pada produk nabati menunjukkan rendahnya *biological value* dan biasanya menyediakan asam amino dalam jumlah yang terbatas (Jeremiah Stamler *et al.*, 2009). Kandungan asam amino triptofan merupakan contoh asam amino yang dimiliki kacang tunggak dan koro kratok, namun tidak dimiliki kacang hijau dan kacang merah (Rangel *et al.*, 2004; Che-guerrero *et al.*, 2012). Hidrolisat hasil proses hidrolisis dikombinasikan dua jenis kacang yang diyakini dapat meningkatkan penghambatan ACE-1 karena melengkapi jenis asam amino antar hidrolisat kacang. Maka dari itu, perlu dilakukan penelitian seberapa besar tingkat aktivitas penghambatan ACE-1 pada formulasi garam peptida hidrolisat kacang.

1.2 Rumusan Masalah

Penduduk Indonesia yang mengonsumsi natrium tinggi (≥ 2000 mg per hari) cukup besar yaitu 52,7%. Hal ini bisa menjadi penyebab meningkatnya prevalensi hipertensi dan stroke di Indonesia (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan RI, 2015 dalam Rahajeng 2016). Konsumsi natrium berlebih didapatkan dari konsumsi garam penduduk Indonesia yang tinggi. Konsentrasi natrium yang tinggi menyebabkan tekanan osmotik ekstraseluler menjadi lebih tinggi, sehingga cairan intraseluler ditarik ke luar. Meningkatnya volume cairan ekstraseluler menyebabkan meningkatnya volume darah sehingga berdampak kepada timbulnya hipertensi. Bahan tambahan pangan pengganti garam perlu dikembangkan dengan menghilangkan natrium dan meningkatkan

efek fungsional. Protein dapat menjadi komponen dasar pembentukan BTP pengganti garam. Telah banyak studi yang mendapatkan bahwa, rasa umami dan asin dapat dihasilkan dari hidrolisis protein karena membentuk peptide-peptida pendek yang mempunyai rasa umami dan asin (Subagio, 2001; Tada *et al.*, 1984 dan Murtadho, 2005).

Hidrolisat protein kacang dengan efek fungsional antihipertensi dapat dilakukan dengan hidrolisis enzimatik dengan *protease* seperti alkalase. Penggunaan enzim alkalase tersebut mampu menghasilkan peptida dengan aktivitas penghambatan ACE tinggi. Guang dan Phillips (2009) menyatakan bahwa peptida berat molekul rendah dengan urutan asam amino pendek memiliki potensi terbaik dalam aktivitas penghambatan ACE karena lebih mudah menyesuaikan pada sisi aktif ACE. Peptida hasil hidrolisis dari enzim alkalse bersifat hidrofobik, sehingga ujung C-terminal dan N-terminal asam amino dapat berikatan dengan sisi reaktif enzim ACE. Garam peptida yang diperoleh dari formulasi hidrolisat kacang perlu diuji efek fungsional seperti uji penghambatan ACE secara *in vitro*.

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk menentukan kemampuan garam peptida yang diformulasikan dengan kombinasi hidrolisat protein dua jenis kacang. Menentukan karakteristik fisik garam peptida hidrolisat kacang berupa warna dan bagian tak larut, serta karakteristik secara kimia berupa kadar air, lemak, protein dan penghambatan aktivitas ACE-1.

1.4 Manfaat

Penelitian diharapkan dapat memberikan manfaat diantaranya yaitu:

1. Membantu memecahkan permasalahan nasional mengenai informasi bahan tambahan pangan yang sehat.
2. Meningkatkan nilai efek fungsional pangan yang bersumber kacang-kacangan lokal.

3. Mendapatkan informasi bahan tambahan pangan yang sesuai dengan keinginan konsumen dengan mempunyai efek fungsional.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kacang–Kacangan

2.1.1 Kacang Hijau (*Vigna radiate* L.)

Kacang hijau merupakan tanaman yang dapat tumbuh disemua wilayah di Indonesia. Tanaman ini dapat tumbuh disegala macam tanah, namun dapat tumbuh optimal pada tanah berliat tinggi, kaya bahan organik dan *sistem drainase* yang baik. Adapun klasifikasi tanaman kacang hijau adalah sebagai berikut:

Regnum : Plantae
Divisio : Spermatophyta
Subdivisio : Angiosperma
Classis : Dicotylidoneae
Ordo : Leguminales
Familia : Leguminosae
Genus : Vigna
Species: *Vigna radiata* L. (Purwono dan Hartono, 2005)

Kacang hijau yang digunakan dalam penelitian yaitu jenis VIMA–1. Kacang hijau ini memiliki ciri– ciri seperti biji kecil dan warna hijau tua, dapat dilihat pada Gambar 2.1 (Balitkabi, 2008).



Gambar 2.1 Kacang hijau (*Vigna radiate* L.)

Kacang hijau mengandung protein sebesar 23,84% (Brishti *et al.*, 2017). Apabila dibandingkan dengan kacang– kacang yang lainnya, kacang hijau menempati peringkat ketiga setelah kedelai dan kacang tanah. Kandungan asam amino pada kacang hijau juga cukup lengkap yang terdiri atas asam amino esensial yaitu isoleusin, leusin, lisin, metionin, Phenilalanin, treonin, valin, dan asam amino nonesensial yaitu alanin, arginin, asam aspartat, asam glutamat,

glisin, triptofan, dan tirosin. Kadar zat gizi kacang hijau dan ekstrak kacang hijau yang dilakukan oleh Brihsti *et al.*, (2017) dapat dilihat pada Tabel 2.1

Tabel 2.1 Kadar zat gizi kacang hijau dan ekstrak protein kacang hijau (%)

Komposisi	Bahan	
	Kacang Hijau	Ekstrak Protein Kacang Hijau
Karbohidrat	56,43	8,66
Serat	4,95	0,73
Protein	23,84	81,53
Lemak	1,53	0,14
Abu	3,02	4,38
Air	10,21	4,56

Sumber: Brishti *et al.*, (2017)

Protein kacang hijau juga mengandung asam amino hidrofobik dan hidrofilik yang berpotensi sebagai sumber protein fungsional seperti antihipertensi (Li *et al.*, 2005). Berikut komposisi asam amino ekstrak protein kacang hijau pada Tabel 2.2

Tabel 2.2 Komposisi asam amino ekstrak protein kacang hijau

Jenis Asam Amino		Ekstrak Protein Kacang Hijau (mg/g Protein)
Hidrofilik	Arginin	46,00
	Asam Glutamat	203,28
	Serin	53,22
	Treonin*	48,84
	Tirosin	26,62
	Histidin	37,54
	Lisin	140,19
	Asam Aspartat	97,99
	Hidrofobik	Alanin
Glisin		28,66
Leusin		69,09
Valin		32,39
Isoleusin		64,48
Phenilalanin		53,13
Prolin		42,96
Sistein		42,99
Metionin		129,96

*= Asam amino esensial

Sumber: Brishti *et al.*, (2017)

Kacang hijau dapat dimanfaatkan menjadi berbagai macam pangan olahan. Bahan pangan kaya protein ini dapat pula berfungsi sebagai pencegahan berbagai jenis penyakit seperti antihipertensi (Viernes *et al.*, 2012), antioksidan (Deraz dan Ashraf, 2008), antiinflamasi, antidiabetes, anti tumor (Tang *et al.*, 2014). Efek fisiologis tersebut dapat diperoleh melalui proses hidrolisis secara enzimatis. Penelitian oleh Li *et al.*, (2006) yaitu protein kacang hijau yang terhidrolisis enzimatis menggunakan *enzim protease* yaitu alkalase dapat menghasilkan ikatan peptida berpotensi sebagai ACE inhibitor dengan urutan asam amino Lys-Asp-Try-Arg-leu atau Val-Thr-Pro-Ala-Leu-Arg dan Lys-Leu-Pro-Ala-Gly-Thr-Leu-Phe (Li *et al.*, 2006).

2.1.2 Kacang Tunggak

Kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) termasuk dalam keluarga *Leguminoceae*. Potensi kacang tunggak dapat mencapai 15–2 ton/ha jika varietas, lokasi, musim tanam dan budidaya sesuai dengan yang diharapkan (Sayekti *et al.*, 2011). Kacang tunggak mempunyai ciri fisik berwarna putih kekuningan dan pada bagian tengahnya terdapat lingkaran berwarna hitam, dapat dilihat pada Gambar 2.2



Gambar 2.2 Kacang tunggak (*Vigna unguiculata*)

Varietas unggul kacang tunggak di Indonesia mempunyai kandungan protein 20,50–22,11% (Badan Penelitian Kacang–kacangan dan Umbi–umbian, 2008). Komposisi zat gizi dan nilai energi kacang tunggak dapat dilihat pada Tabel 2.3

Tabel 2.3 Kandungan gizi kacang tunggak per 100 gram

Kandungan Gizi	Satuan	Jumlah
Air	G	11,0
Karbohidrat	G	61,6
Lemak	G	1,4
Protein	G	22,9
Energi	Kkal	342,0
Abu	G	2,5
Kalsium	mg	77,0
Fosfor	mg	449,0
Besi	mg	6,5
Vitamin C	mg	2,0

Sumber: Mahmud, 2005

Biji kacang tunggak mengandung protein sebesar 22,90%, dimana tersusun atas beberapa asam amino. Asam amino yang mendominasi pada kacang tunggak yaitu kandungan asam amino lisin, asam aspartat dan glutamat (Rosida *et al.*, 2013). Isolat kacang tunggak mengandung berbagai macam asam amino essensial pada proteinnya, dapat dilihat pada Tabel 2.4

Tabel 2.4 Komposisi asam amino isolat protein kacang tunggak

Asam Amino	Isolat Protein (mg/g Protein)
Asam Aspartat	116
Treonin	50
Serin	53
Asam Glutamat	162
Glycin	38
Alanin	39
Valin	50
Cystin	18
Methionin	14
Isoleusin	47
Leusin	74
Tyrosin	39
Phenylalanin	66
Lysin	68
Histidin	37
Arginin	75
Prolin	45
Triptofan	9

Sumber: Rangel *et al.*, 2004

Menurut Hernandez (2013) protein kacang tunggak yang telah dihidrolisis secara enzimatik menggunakan enzim *flavoenzyme*, dihasilkan peptida dengan ukuran < 1 Kda. Semakin kecil ukuran molekul protein yang dihasilkan, maka daya penghambat ACE semakin tinggi (Hernandez, 2013).

2.1.3 Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.)

Kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.) banyak dibudidayakan dan menjadi komoditas kacang – kacangan yang cukup dikenal oleh masyarakat Indonesia. Kacang merah merupakan tanaman suku kacang – kacangan (*Leguminosae* atau *Papilionaceae*). Adapun klasifikasi tanaman kacang hijau adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub division	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Sub kelas	: Calyciflorae
Ordo	: Rosales (Leguminales)
Famili	: Leguminosae (Papilionaceae)
Sub family	: Papilionoideae
Genus	: Phaseolus
Spesies	: <i>Phaseolus vulgaris</i> L. (Kumar <i>et al.</i> , 2011)

Produksi kacang merah di Indonesia mencapai 103.376 ton pada tahun 2013 (Direktorat Jenderal Holtikultura, 2014). Kacang merah nama spesies (*Phaseolus vulgaris* L.), mempunyai karakteristik fisik berwarna merah gelap seperti pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.)

Kacang merah umumnya digunakan dalam diet tinggi protein dikarenakan kacang ini mengandung 20–30% protein dalam berat kering. Komposisi asam amino pada protein kacang merah kaya akan asam amino lisin namun rendah akan asam amino metionin dan asam amino yang mengandung sulfur. Jenis vitamin yang banyak ditemukan dalam kacang merah berupa vitamin B, sedangkan jenis mineral yang banyak ditemukan dalam kacang merah berupa potassium, zat besi, seng, magnesium dan mangan (Audu dan Aremu, 2011). Kandungan gizi kacang merah dapat dilihat pada Tabel 2.5

Tabel 2.5 Kandungan gizi kacang merah per 100 g bahan

Kandungan Zat Gizi	Jumlah
Energi (Kal)	346,0
Air (g)	12,0
Protein (g)	23,1
Lemak (g)	1,7
Karbohidrat (g)	59,5
Mineral (g)	3,7
- Kalsium (mg)	80,0
- Fosfor (mg)	400,0
- Besi (mg)	5,0
Vitamin (mg)	0,6
- Tiamin (mg)	0,6

(Sumber: Nio, 2012)

Pemanfaatan kacang merah lebih populer digunakan sebagai atribut pangan yang memiliki rasa dan aroma yang khas. Beberapa negara menyajikan kacang merah dalam berbagai makanan olahan seperti nasi kacang merah, makaroni, makanan berkuah merah (*Casserole*), salad kacang merah, saus cuka kacang merah (*Vinalgrette*), daging analog burger dan lain-lain (Kumar *et al.*, 2011). Dalam penelitian yang dilakukan Mundi dan Aluko (2012), ekstrak protein kacang merah dapat pula digunakan sebagai bahan tambahan protein dalam memformulasi produk pangan kaya protein. Kacang merah juga berkontribusi sebagai sumber gizi bagi manusia dan memiliki beberapa manfaat dengan aktivitas biologisnya seperti antitumor, antihistamin, immunomodulator, antifungal, anti-*human immunodeficiency virus* (HIV) dan antiserangga. Hal ini dikarenakan adanya kandungan protein kacang merah yang memiliki aktivitas

biologis dengan fungsi tertentu (Luna – Vital *et al.*, 2015). Kandungan protein sebesar 23,10% dalam berat basah (Nio, 2012) menyebabkan kacang merah dapat memberikan nilai gizi yang tinggi dikarenakan kaya akan asam amino esensial. Asam amino esensial yang utama dalam kacang merah berupa lisin yang lebih tinggi dibanding kacang – kacang lainnya. Akan tetapi kacang merah rendah akan asam amino yang mengandung sulfur, metionin, sistein dan triptofan (Luna – Vital *et al.*, 2015). Komposisi asam amino pada kacang merah dapat dilihat pada Tabel 2.6

Tabel 2.6 Komposisi asam amino dalam kacang merah per 100 g protein

Komposisi Asam Amino	Jumlah (g)
Lisin	7,0
Histidin	3,0
Arginin	6,9
Asam Aspartat	9,5
Treonin	3,4
Serin	3,1
Asam Glutamat	10,2
Prolin	3,3
Glisin	5,2
Alanin	4,4
Sistein	1,2
Valin	4,1
Metionin	1,7
Isoleusin	3,7
Leusin	7,2
Tirosin	3,1
Fenilalanin	4,6

(Sumber : Audi dan Aremu 2011)

2.1.4 Koro Kratok (*Phaseolus lunatus* L.)

Koro kratok (*Phaseolus lunatus* L.) merupakan jenis kacang – kacang dari polong – polongan (*Leguminosae*) yang dibudidayakan di Indonesia. Pembudidayaan koro kratok guna memanen biji muda dan biji kering (Maesen dan Somaatmadja, 1993). Koro kratok umumnya memiliki warna kulit biji hijau muda atau putih seperti edamame, dapat dilihat pada Gambar 2.4



Gambar 2.4 Koro kratok (*Phaseolus lunatus* L.)

Biji koro kratok mengandung glukosida sianogenik tinggi dan sebelum atau selama pemasakan harus direndam. Koro kratok memiliki kandungan asam amino yang dapat dilihat pada Tabel 2.7

Tabel 2.7 Kandungan asam amino koro kratok per 100 gram

Asam Amino	Kandungan (g/100 g protein)
Lisin	5,99
Histidin	3,24
Arginin	4,96
Asam Aspartat	12,8
Treonin	4,40
Serin	7,39
Asam Glutamat	15,3
Prolin	7,62
Glisin	4,67
Alanin	6,08
Sistein	3,87
Valin	4,79
Metionin	0,35
Isoleusin	4,30
Leusin	9,19
Tirosin	3,54
Fenilalanin	0,52
Triptofan	0,98

Sumber : Chel-guerrero *et al.*, (2012)

Menurut Diniyah *et al.*, (2013) Kandungan zat gizi pada 100 g kacang tunggak mempunyai nilai yaitu: protein 19,93– 21,40 g, lemak 0,99– 1,21,

karbohidrat 60,55–74,62 g, serat 4,20–5,50 g dan abu 3,46–3,61 g. Senyawa anti nutrisi dan racun pada koro akan menimbulkan citarasa yang kurang disukai, mengurangi bioavailabilitas nutrisi dalam tubuh dan menyebabkan keracunan. Asam fitat mempunyai sifat rakhitogenik (menimbulkan penyakit tulang karena tubuh kekurangan kalsium). Jika asam fitat berikatan dengan kalsium atau mineral maka akan membentuk garam yang tidak larut, sehingga mineral tersebut tidak dapat diserap oleh usus (Noor, 1992).

2.2 Bahan Pengikat

Karbohidrat seperti pati, maltodekstrin, merupakan bahan penyalut yang baik karena viskositasnya rendah pada padatan tinggi dan mempunyai sifat kelarutan yang tinggi (Balasubramani *et al.*, 2014). Maltodekstrin merupakan produk modifikasi pati, hasil hidrolisis secara kimia maupun enzimatis dengan DE (*Dextrose Equivalent*) kurang dari 20. Penambahan maltodekstrin biasanya bertujuan untuk melapisi komponen flavor, memperbesar volume, mempercepat proses pengeringan, mencegah kerusakan bahan akibat panas serta dapat meningkatkan daya kelarutan dan karakteristik organoleptik (Yuliawaty *et al.*, 2015). Maltodekstrin mengandung unit α -D-glukosa yang sebagian besar terikat melalui ikatan 1,4 glikosidik. Penelitian Wiyono (2012) menunjukkan perlakuan konsentrasi maltodekstrin 20% dan suhu pengering 50°C merupakan perlakuan terbaik pada pembuatan serbuk sari temulawak.

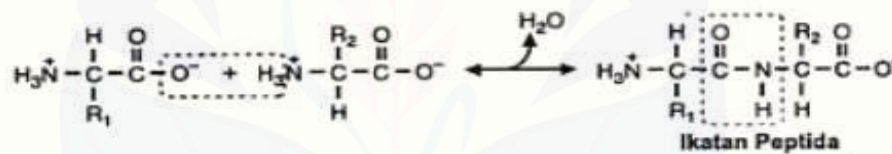
Maltodekstrin sebagai produk modifikasi pati mempunyai rumus kimia $(C_6H_{10}O_5)_nH_2O$, adalah produk degradasi bahan baku pati. Kelebihan yang dimiliki maltodekstrin dapat bercampur dengan air membentuk cairan koloid bila dipanaskan dan mempunyai kemampuan sebagai perekat, dan tidak bersifat toksik sehingga dapat digunakan dalam pembuatan tablet obat (Banker dan Anderson, 2002). Menurut Anwar (2004) salah satu fungsi maltodekstrin yaitu sebagai pengisi, pengikat dan penghancur.

Maltodekstrin terdiri dari granula – granula yang hidrofilik. Molekul maltodekstrin tersebut mempunyai banyak gugus hidroksil sehingga dapat mengikat air dalam jumlah besar. Terjadinya ikatan antara gugus hidroksil dengan

molekul air akan menyebabkan molekul air yang semula berada diluar granula maltodekstrin dan dalam keadaan bebas menjadi berada dalam granula menyebabkan tidak bebas lagi. Semakin tinggi kadar maltodekstrin yang ditambahkan makin kental larutan yang dihasilkan, sehingga makin sulit terjadinya penguapan air, karena maltodekstrin mempunyai kemampuan pengikatan yang baik (Hui, 1993).

2.3 Protein

Protein merupakan polipeptida berbobot molekul tinggi yang tersusun atas beberapa asam amino yang bergabung membentuk ikatan peptida (-CONH-). Semua asam amino (kecuali prolin) mempunyai struktur dasar yang sama, yaitu terdiri dari gugus karboksilat (-COOH), gugus amino (-NH₂), gugus R sebagai gugus fungsional (*side chain*) yang menentukan sifat kimia protein (Jain, 2005). Ikatan peptida antar dua asam amino dapat dilihat pada Gambar 2.5



Gambar 2.5 Ikatan peptida antar dua asam amino (Murray *et al.*, 2009)

Selain ikatan peptida, protein juga memiliki ikatan nonkovalen. Struktur tersier protein terbentuk melalui interaksi antara gugus R pada rantai polipeptida. Ikatan disulfida (HS-SH) merupakan ikatan kovalen yang dibentuk melalui ikatan nonkovalen baik sebagai nonpolar (hidrofobik) atau polar (ikatan hidrogen dan ionik) (Fatchiyah *et al.*, 2011).

Protein dengan berat molekul yang rendah dapat diperoleh dengan menghidrolisis protein secara enzimatik (Fatchiyah *et al.*, 2011). Hidrolisat yang dihasilkan memiliki struktur sekunder yang lebih sedikit dari pada sebelum dihidrolisis sehingga dapat memperbaiki fungsinya diantaranya meningkatkan kelarutan mendekati titik isoelektrik, meningkatkan ketahanan terhadap panas, meningkatkan pemutusan dan emulsifikasi kemampuan tersebut menjadikan hidrolisat hasil hidrolisis menguntungkan dalam aplikasi berbagai makanan.

Protein yang rantainya telah terhidrolisis disebut dengan peptida. Peptida tersusun atas beberapa asam amino. Peptida terdiri dari asam amino– asam amino yang jumlahnya lebih sedikit jika dibandingkan dengan protein. Protein mampu mempunyai lebih dari 100 asam amino, sementara peptida tidak lebih dari 50.

Degradasi dan penyerapan asam amino dari protein endogen dan eksogen cukup efisien berkisar 70–95% dari protein tanaman dan 95–100% dari protein hewani (atau manusia) yang diserap. Sekitar 6% N- terkonsumsi dan/atau disekresi ke dalam saluran pencernaan akhirnya hilang melalui feses. Terutama dalam bentuk bakteri dan protein tidak tercerna. Oleh karena itu, rata-rata manusia 170 gram protein yang masuk ke dalam saluran pencernaan dan hampir semuanya (160 gram) diserap kembali dalam bentuk asam amino bebas dan peptida–peptida kecil (Linder M C, 1992).

2.4 Peptida Rasa Gurih

Menurut Shallenberger (1992), pada umumnya rasa peptida dipengaruhi oleh *sequence* asam amino, konfigurasi molekul, kehidrofobikan rantai samping dan pengikatan terminal C dan N dengan gugus substitusi. Peptida yang mengandung residu glutamil pada ujung terminal amino memiliki citarasa umami, namun bila digabungkan dengan asam amino hidrofobik, residu glutamil menimbulkan rasa pahit (Linden dan Lorient, 1999). Peptida berkontribusi terhadap *flavor* mempunyai kisaran berat molekul dari dipeptida (terdiri dari 2 residu asam amino) hingga molekul yang mengandung banyak residu asam amino dengan berat molekul yang besar. Peptida berkontribusi terhadap berbagai jenis *flavor*, baik yang digunakan maupun *off-flavor* (weir, 1992). Menurut Kirimura *et al.*, (1969) ambang batas beberapa peptida dapat mencapai separuh dari asam amino penyusunnya. Tada *et al.*, (1984) menemukan peptida hasil sintesis yang mempunyai rasa asin yang hampir sama bahkan lebih besar daripada garam NaCl, seperti *L-Ornithylalanine* dan *L-Ornithyltaurine*. Tada *et al.*, (1984) mensintesis beberapa peptida dengan HCL–*dioxane* dengan beberapa metode. Beberapa asam amino mempunyai kontribusi terhadap pembentukan citarasa. Asam amino pembentuk citarasa dapat dilihat pada Tabel 2.8

Tabel 2.8 Asam amino pembentukan rasa

Asam Amino	Rasa Bentuk D	Rasa Bentuk D, L	Rasa Bentuk L
Glisin	–	Manis	–
Alanin	Manis	Manis	Manis
Isoleusin	Manis/Pahit	Pahit	Pahit
Leusin	Manis	Manis	Pahit
Valin	Manis	Manis/Pahit	Manis/Pahit
Serin	Manis	Manis/Pahit	Manis/Pahit/Asam
Threonin	Manis	Manis	Manis
Asam Aspartat	Asam	Asam	Asam
Asam Glutamat	Asam	Asam	Asam
Asparagin	Manis	Manis	Pahit/Manis
Glutamin	Manis	Asin	Asin/Pahit
Arginin	Manis/Pahit	Pahit/Manis	Pahit
Lisin	Manis/Pahit	Manis/Pahit	Manis/Pahit
Sistein	Manis/Pahit/Asam	Masni/Pahit	Pahit/Manis
Methionin	Manis	Manis	Pahit.Manis
Fenilalanin	Manis/Pahit	Manis/Pahit	Pahit
Tirosin	Tawar	Tawar	Tawar
Triptofan	Sangat Manis	Manis	Pahit
Histidin	Sangat Manis	Manis	Pahit
Prolin	Pahit/Asam	Manis/Pahit.Asam	Manis/Pahit

Sumber: Haefeli dan Glaser (1990)

Peptida yang disintesis dengan metode *conventional* didapatkan beberapa jenis peptida yang mempunyai rasa asin setelah diuji panelis yaitu: Orn–Gly–HCL, Orn–b–Ala–HCL, Orn–y–Abu–HCL, Lys–Gly–HCL. Peptida yang disintesis dengan metode aktif ester mempunyai rasa asin yaitu Orn–Tau–HCL dan Lys–Tau–HCL yang rasa asin lebih tinggi dibandingkan NaCL setelah diuji panelis (Tada *et al.*, 1984).

Rasa gurih merupakan salah satu dari lima rasa dasar yaitu manis, pahit, asam dan asin (Temussi, 2011). Diketahui beberapa senyawa memiliki kontribusi terhadap timbulnya rasa umami, yaitu monosodium glutamat (MSG), inosin monofosfat (IMP) dan guanosis monofosfat (GMP). Campuran dari ketiga senyawa tersebut menghasilkan sifat sinergis pada perbandingan tertentu (Yamaguchi *et al.*, 1971). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa selain MSG, IMP dan GMP, peptida dengan sekuen tertentu juga mempunyai rasa gurih. Peptida merupakan kumpulan dari 2–50 asam amino yang terikat satu sama lain melalui ikatan peptida. Hasil beberapa penelitian menunjukkan bahwa peptida

yang diperoleh dari hasil hidrolisis protein, baik protein nabati (Schlichtherle-Cerny dan Amadò, 2002) atau hewani (Maehashi *et al.*, 1999) yang mempunyai rasa gurih. Peptida yang mempunyai rasa gurih mengandung asam glutamat dalam sekuennya yaitu H-Lys-Gly-Asp-Glu-Glu-Ser-Leu-Ala-OH (Temussi, 2011).

2.5 Hidrolisis Peptida Secara *Enzimatis*

Hasil beberapa penelitian menunjukkan bahwa peptida yang diperoleh dari hasil hidrolisis protein, baik protein nabati (Schlichtherle-Cerny dan Amadò, 2002) atau hewani (Maehashi *et al.*, 1999) yang mempunyai rasa gurih. Peptida yang mempunyai rasa gurih mengandung asam glutamat dalam sekuennya yaitu H-Lys-Gly-Asp-Glu-Glu-Ser-Leu-Ala-OH (Temussi, 2011). Selain itu, penelitian menunjukkan protein beberapa kacang-kacangan seperti edamame, kacang koro dan kacang tunggak yang dihidrolisis menggunakan enzim *protease* memiliki sifat fungsional yaitu antihipertensi. Enzim *protease* yang biasa digunakan adalah alkalase atau *Flavourzyme*® (Segura-Campos *et al.*, 2011, Hernandez-Alvarez *et al.*, 2012) dimana enzim *protease* akan memotong ikatan yang berada pada protein atau menghidrolisis protein dari ujung N-terminal (*aminopeptidase*), C-terminal (*karboksipeptidase*) atau spesifik pada dipeptida (*hidrolase dipeptidase*).

Enzim alkalase banyak digunakan dalam hidrolisis protein untuk menghasilkan peptida fungsional, seperti peptida antihipertensi atau peptida antioksidan. Pada penelitian Morais *et al.*, (2013) dapat diketahui penggunaan enzim alkalase pada semua konsentrat *whey* protein yang diuji menunjukkan aktivitas penghambatan ACE-1 (*angiotensin converting enzyme-1*). Hasil tersebut mengindikasikan bahwa pemilihan enzim *protease* tersebut sebagai penghidrolisis protein dapat menghasilkan hidrolisat peptida penghambat kinerja ACE-1 karena struktur peptida terhidrolisis dan menghasilkan senyawa yang diinginkan.

2.6 Enzim Alkalase

Alkalase adalah enzim berbentuk cair yang tergolong dalam enzim protease. Alkalase adalah enzim alkalin yang dihasilkan oleh *Bacillus licheniformis* (Chel-guerrero *et al.*, 2012). Mendapatkan enzim alkalase perlu dilakukan proses pemisahan dan pemurnian dari organisme penghasil enzim. Alkalase tergolong jenis *endoprotease* tipe serin yang memiliki kekhususan substrat yang sangat luas, katalase dapat memutus sebagian besar ikatan peptida dalam molekul protein (Novozymes, 2015).

Protease serin adalah endopeptidase yang bekerja optimum pada pH mendekati netral dan mempunyai residu sistein reaktif. Protein serin mempunyai aktivitas maksimum pada pH alkalis. Alkalase aktif bekerja pada pH 6,5 hingga 8,5 suhu 45°C hingga 65°C dengan aktivitas maksimum pada suhu 60°C. Penyimpanan enzim Alkalase sebaiknya pada suhu antara 3–5°C (Novozymes, 2015). Hidrolisis protein koro kratok menghasilkan nilai derajat hidrolisis sebesar 51,28% dengan menggunakan enzim alkalase (Chel – Guerrero *et al.*, 2012). Penelitian Betancur–Acona *et al.*, (2015), hidrolisat dengan berat molekul 30,5–21,6 kDa dihasilkan pada protein *Phaseolus lunatus* yang dihidrolisis menggunakan enzim alkalase.

Peptida yang memiliki potensi penghambatan kinerja ACE-1 adalah yang mengandung aromatik (triptofan, tirosin, fenilalanin), hidrofobik (prolin) atau asam amino dengan kandungan lisin atau arginin pada rantai C-nya (Ferreira *et al.*, 2007). Hidrolisis menggunakan enzim alkalase yang tergolong endopeptidase, bekerja dengan cara memotong ikatan peptida pada bagian tengah rantai peptida. Enzim ini dapat memecah ikatan peptida yang menggabungkan asam amino–asam amino yang bersifat hidrofobik seperti fenilalanin (Phe), tirosin (Tyr), triptofan (Trp), leusin (Leu), isoleusin (Ile), valin (Val), dan metionin (Met) tepatnya pada sisi C-terminal pada jenis-jenis asam amino yang bersifat hidrofobik. Protein hasil proses hidrolisis enzimatik tersebut dapat menghasilkan peptida yang terdiri dari residu asam–asam amino yang bersifat hidrofobik pada ujung rantai peptida (Li *et al.*, 2005).

2.7 Peptida *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE) Inhibitor

Isolasi peptida biasanya dilakukan dengan cara memfraksi hidrolisat dengan fraksinasi *chromatographic* untuk selanjutnya menganalisa aktivitasnya tiap fraksi. Hidrolisis yang digunakan dapat berupa hidrolisis secara enzimatik menggunakan enzim tripsin, alkalase, *flavourzyme*, dan protease lainnya.

Beberapa karakter peptida yang sudah terbukti memiliki aktivitas penghambatan ACE diantaranya adalah: peptida ACE inhibitor yang memiliki prolin, tirosin atau triptofan pada ujung karboksil; asam amino hidrofobik dengan rantai samping didominasi alifatik seperti *glycine*, *isoleucine*, *leucine* dan *valine* pada ujung asam amino peptida; tripeptida yang memiliki dasar asam amino (Lys, Arg) atau prolin pada posisi keduanya (Leo *et al.*, 2009).

Menurut Cheung *et al* (1980), peptida yang memiliki Pro, Phe atau Try pada ujung rantai C dan Val dan Ile pada ujung rantai N menunjukkan aktivitas penghambatan tinggi. Meskipun spesifikasi substrat tidak diketahui secara pasti, peptida yang mengikat ACE sangat dipengaruhi oleh urutan C-terminal dari tripeptida substrat. ACE cenderung berikatan dengan substrat atau inhibitor kompetitif yang mengandung residu asam amino hidrofobik (rantai samping aromatik atau bercabang) pada tiga posisi C-terminal. Selain itu C-terminal Lys atau Arg dengan muatan positif pada kelompok asam amino juga meningkatkan aktivitas penghambatan.

2.8 Penghambatan ACE Inhibitor

Aktivitas penghambatan ACE, terdapat 2 jenis mekanisme, yaitu mekanisme yang bersifat kompetitif dan non kompetitif. Inhibitor kompetitif mampu masuk dan berinteraksi dengan molekul enzim ACE sehingga membentuk *dead-end complex* atau molekul substrat berikatan atau tidak (Wijasekara *et al.*, 2011). Angiotensin converting enzyme (ACE) lebih dapat mengikat suatu substrat atau inhibitor kompetitif yang mengandung asam amino hidrofobik pada C-terminal tripeptida (Tsai *et al.*, 2008). Biopeptida yang bersifat hidrofobik memiliki mekanisme penghambatan ACE dengan cara melakukan ikatan baik pada sisi aktif C-terminal dan N-terminal ACE, sedangkan peptida hidrofilik

hanya dapat mengikat pada sisi aktif C-terminal ACE (Turner dan Hopper, 2002). Selain itu C-terminal pada lisin dan ariginin yang merupakan rantai dengan muatan positif juga mampu menghambat aktivitas ACE dengan mekanisme ikatan ionik dengan sisi aktif ACE.

Penelitian Li *et al* (2005) menggunakan hidrolisat kacang hijau yang dihidrolisis menggunakan alkalase didapatkan nilai penghambatan tertinggi pada waktu hidrolisis 2 jam dengan nilai IC₅₀ sebesar 0,64 mg/ml. Penelitian sebelumnya telah mengukur persentase penghambatan ACE inhibitor dengan menggunakan metode Li *et al.*, (2005) yang telah dimodifikasi dari Cushman dan Cheung (1971). Metode yang digunakan dengan menggunakan konsentrasi hidrolisat kacang hijau sebesar 10 mg/ml dengan larutan sampel sebanyak 40 ul. Berikut tabel penelitian persentase penghambatan ACE-1 sebelumnya, dengan kacang berbeda dapat dilihat pada Tabel 2.9

Tabel 2.9 Persentase penghambatan ACE dengan enzim alkalase

Jenis Kacang	Penghambatan ACE-1 (%)	Keterangan
Kacang Hijau VMA-1	91,00	Afsari, 2018
Kacang Tunggak	79,89	Ahmad, 2018
Koro Kratok	83,00	Aulia, 2018
Kacang Merah	88,00	Agustina, 2018

Penelitian sebelumnya selain dilakukan dengan *in vitro* juga dengan metode *in vivo*. Penelitian secara *in vivo* bertujuan untuk mempermudah formulasi suatu produk dalam penerapannya pada konsumen. Amhar, A (1998) secara *in vivo*, melakukan pengukuran penurunan tekanan darah pada tikus SHR (*Spontaneously Hypertensive Rats*). Penggunaan tikus SHR dalam penelitian ini karena anatomi sistem peredaran SHR tersebut sama dengan anatomi sistem peredaran darah pada manusia. Sampel yang mengandung peptida bioaktif Ile-Pro-Ala (pencernaan susu dengan enzim proteinase-K) diberikan kepada tikus SHR sebanyak 8 mg/kg berat badan (2 mg protein dicerna/ 2 ml aquades) dan tekanan darah SHR diukur setelah 4 jam pemberian sampel. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis dan lama pemberian tersebut dapat menurunkan

tekanan darah sampai 55 mmHg (Amhar, 1998). Penelitian secara invitro, Susalit *et al* (2013) menjelaskan bahwa ekstrak daun zaitun dengan berat 500 mg mampu menurunkan tekanan darah sistolik dan diastolik pasien setara dengan captopril 12,5–25,0 mg.

2.9 Hipertensi

Mekanisme terjadinya hipertensi melalui terbentuknya angiotensin 2 dari angiotensin 1 oleh *angiotensin converting enzyme* (ACE). ACE memegang peran penting dalam mengatur tekanan darah. Darah mengandung *angiotensinogen* yang diproduksi di hati. Selanjutnya renin (diproduksi oleh ginjal) akan diubah menjadi angiotensin 1. ACE yang terdapat di paru-paru, merubah angiotensin 1 menjadi angiotensin 2. Angiotensin 2 memiliki peranan penting dalam meningkatkan tekanan darah melalui dua modus aksi (Nuraini, 2015).

Modus aksi pertama adalah meningkatkan sekresi hormon antidiuretik (ADH) dan rasa haus. ADH diproduksi di hipotalamus (kelenjar pituitari) dan bekerja pada ginjal untuk mengatur osmolalitas dan volume urin. Dengan meningkatnya ADH, sangat sedikit urin yang diekskresikan ke luar tubuh (antidiuresis), sehingga menjadi pekat dan tinggi osmolalitasnya. Untuk mengencerkannya, volume cairan ekstraseluler akan ditingkatkan dengan cara menarik cairan dari bagian intraseluler (Nuraini, 2015). Modus aksi kedua dengan menstimulasi sekresi aldosteron dari korteks adrenal. Aldosteron merupakan hormon steroid yang memiliki peranan penting pada ginjal. Mengatur volume cairan ekstraseluler, aldosteron akan mengurangi ekskresi NaCl (garam) dengan cara mereabsorpsinya dari tubulus ginjal. Meningkatnya konsentrasi NaCl akan diencerkan kembali dengan cara meningkatkan volume cairan ekstraseluler yang pada gilirannya akan meningkatkan volume dan tekanan darah (Lembaga Teknologi Fakultas Teknik Universitas Indonesia, 2002).

Penanganan hipertensi menurut JNC VII bertujuan mengurangi angka morbiditas dan mortalitas penyakit kardiovaskuler dan ginjal. Berikut klasifikasi tekanan darah pada tabel 2.10

Tabel 2.10 Klasifikasi tekanan darah (TD) menurut JNC VII

Klasifikasi	TD Sistolik	TD Diastolik
Normal	< 120 MmHg	< 80 MmHg
Pre-Hipertensi	120–139 MmHg	80–89 MmHg
Hipertensi <i>Stage-1</i>	140–159 MmHg	90–99 MmHg
Hipertensi <i>Stage-2</i>	> 159 MmHg	> 99 MmHg

Sumber: (JNC VII dalam Nuraini 2015)

Pencapaian tekanan darah target secara umum dapat dilakukan dengan dua cara. Pertama Terapi non farmakologis terdiri dari; menghentikan kebiasaan merokok, menurunkan berat badan berlebih, konsumsi alkohol berlebih, asupan garam dan asupan lemak, latihan fisik serta meningkatkan konsumsi buah dan sayur. Menurunkan berat badan bila status gizi berlebih. Meningkatkan aktifitas fisik, orang yang aktivitasnya rendah berisiko terkena hipertensi 30–50% daripada yang aktif. Mengurangi asupan natrium. Menurunkan konsumsi kafein dan alkohol, kafein dapat memacu jantung bekerja lebih cepat, sehingga mengalirkan lebih banyak cairan pada setiap detiknya. Sementara konsumsi alkohol lebih dari 2–3 gelas/hari dapat meningkatkan risiko hipertensi (*Cortas K et al.*, 2008 dalam Nuraini 2015).

Cara kedua yaitu terapi farmakologi. Terapi farmakologis yaitu obat antihipertensi yang dianjurkan oleh JNC VII yaitu diuretika, terutama jenis *thiazide* (Thiaz) atau *aldosterone antagonis*, *beta blocker*, *calcium channel blocker* atau *calcium antagonist*, *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor* (ACE – 1), *Angiotensin II Receptor Blocker* atau *AT1 receptor antagonist/ blocker* (ARB) diuretik *thiazide* (misalnya bendroflumetiazid) (Yogiantoro M, 2006) Adapun contoh – contoh obat anti hipertensi antara lain yaitu: *beta-blocker*, (misalnya propanolol), penghambat *angiotensin converting enzymes* (misalnya captopril, enalapril), antagonis angiotensin II (misalnya candesartan, losartan), *calcium channel blocker* (misalnya amlodipin, nifedipin) dan *alpha-blocker* (misalnya doksasozin) (Yogiantoro M, 2006).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian, Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember serta cDAST (*Center for Development of Advanced Sciences and Technology*) Universitas Jember. Waktu Pelaksanaan pada bulan Juli–November 2018.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan meliputi alat proses pembuatan dan alat uji. Alat proses pembuatan yaitu blender panasonic, pH meter (NAVI F–51), Soxhlet, tabung reaksi (PYREX IWAKI asahi glass), *stopwatch* (Xiaomi Redmi note 5A), *cold storage*, ayakan 80 mesh, *Freeze dryer*, *plate stirrer* (Stir US 151), *magnetic stirrer*, *thermometer*, neraca analitik (Precisia ES 2200 c), *shaker incubator* (Stuart S1600), *sentrifuse* (Tomy MRX 150 dan Hitachi CR21GIII), *Spektrofotometer* (Hitachi tipe U–2900 UV–Vis), *dry block heater* (Techne), mikro pipet tip 5ml;1000 ul; y–10ul (SOCOREX acura 825 autoclavable), *waterbath* (Stuart shaking water bath SBS 40), botol timbang, *beaker glass* 500ml;1000ml (PYREX IWAKI asahi glass), oven (*Froilabo*), Erlenmeyer 2000 ml (IWAKI asahi techo glass), gelas ukur 1000ml; 500ml; 100ml (IWAKI CTE 33 asahi glass), ruang asam (JAVVA FH 180), Rotary evaporator (Steroglass Strike 300), alat cetak, kulkas panasonic, gelas piala.

3.2.2 Bahan Penelitian

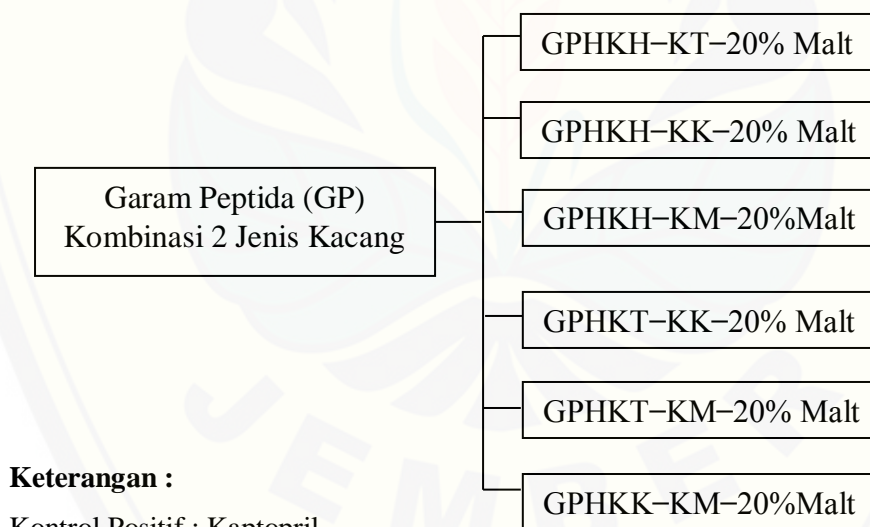
Bahan penelitian yang digunakan meliputi bahan baku dan bahan kimia. Bahan baku berupa kacang hijau, kacang tunggak, kacang merah dan koro kratok yang diperoleh dari pasar tanjung. Bahan kimia yang digunakan meliputi aquades, Aquades mili–Q, 1 M NaOH, *bovine serum albumin* (BSA) (Sigma), *n–hexane*, 1 N HCL, 0.1M Potassium phosphate buffer, 0.1 K₂HPO₄, 0.1 KH₂PO₄, 0.5M dan 0.3 NaCL, *etil asetat*, maltodekstrin, 0.1M sodium tetraborat, 0.1M asam borat,

enzim alkalase Sigma Aldrich, 2% Na_2CO_3 , 0,1 N NaOH, 1% CuSO_4 + 1% sodium potassium tartrat, *hippuryl-l-histidyl-l-leucine* (HHL), Lowry A (Folin-Ciocalteu (Merck) dengan aquades 1:1), buffer Sodium borat pH 8.3, NaCl, dan kertas saring.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *eksploratif eksperimental laboratory* yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh bahan dasar hidrolisat kacang terhadap aktivitas penghambatan ACE-1 (*Angiotensin Converting Enzyme*).

Rancangan percobaan pada penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 1 faktor yaitu sumber jenis protein (Kacang hijau, Kacang tunggak, Koro kratok dan Kacang merah) dengan dua kali ulangan pada masing-masing perlakuan formulasi. Perlakuan yang dilakukan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3.1



Keterangan :

Kontrol Positif : Kaptopril

Kontrol Negatif : Maltodekstrin

GPKH : Garam Peptida Hidrolisat Kacang hijau

GPKT : Garam Peptida Hidrolisat Kacang tunggak

GPKK : Garam Peptida Hidrolisat Koro kratok

GPKM : Garam Peptida Hidrolisat Kacang Merah

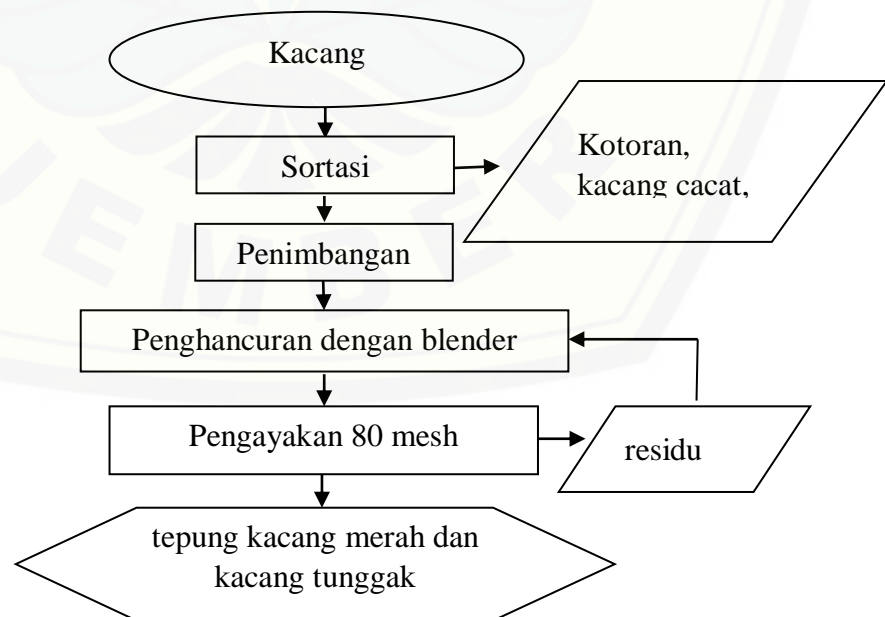
Gambar 3.1 Rancangan percobaan

3.4 Pelaksanaan Penelitian

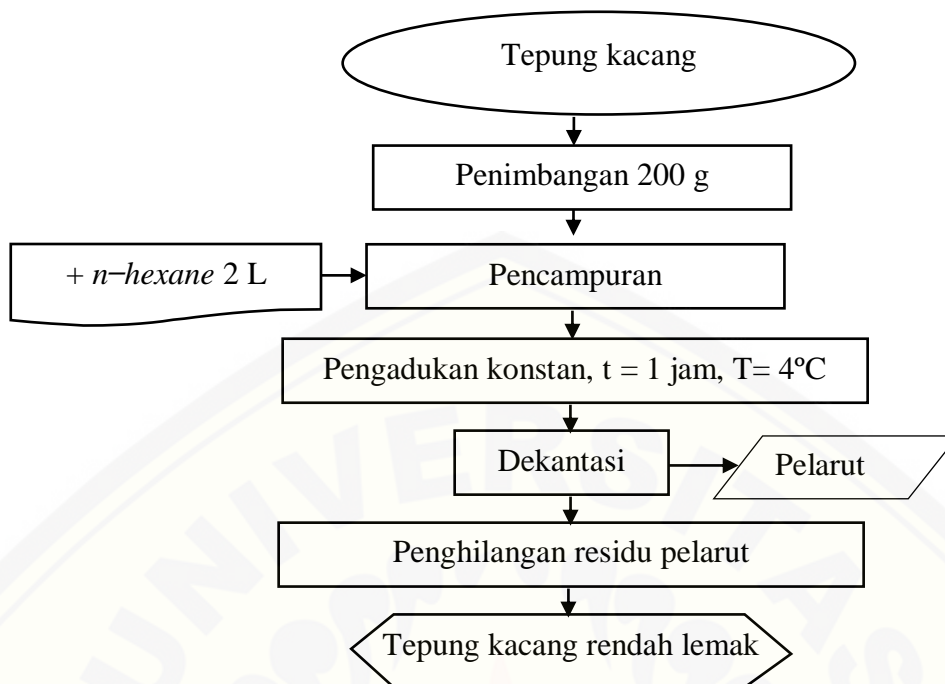
Pada penelitian ini dilakukan 2 (dua) tahapan proses. Proses pertama persiapan sampel yang terdiri dari penepungan, preparasi bahan (*defatting*), ekstraksi protein dan hidrolisis protein. Proses kedua merupakan yang kegiatan yang diteliti oleh peneliti yaitu pembuatan hidrolisat protein kacang kombinasi dua jenis kacang.

3.4.1 Persiapan Sampel

Proses *defatting* dilakukan sesuai metode Viernes *et al.*, (2012). Proses ini bertujuan untuk menghilangkan kandungan lemak yang terdapat pada bahan sehingga mempermudah proses selanjutnya. Tepung kacang yang sudah halus hasil pengayakan ayakan 80 mesh menimbang masing-masing 100 gram (1: 10 (w/v)). Selanjutnya tepung ditempatkan di *beaker glass* dan menambahkan *n-hexane* 1 L dan melakukan *defatting* di *cooling room* untuk menjaga suhu konstan 4°C selama 1 jam dengan pengadukan konstan. Setelah itu pelarut dihilangkan dengan dekantasi dan tepung dikering anginkan hingga kering dan aroma *n-hexane* hilang. Tepung rendah lemak selanjutnya disimpan pada suhu 4°C sampai digunakan. Gambar 3.2 dan Gambar 3.3 menunjukkan diagram alir proses penepungan dan *defatting*.



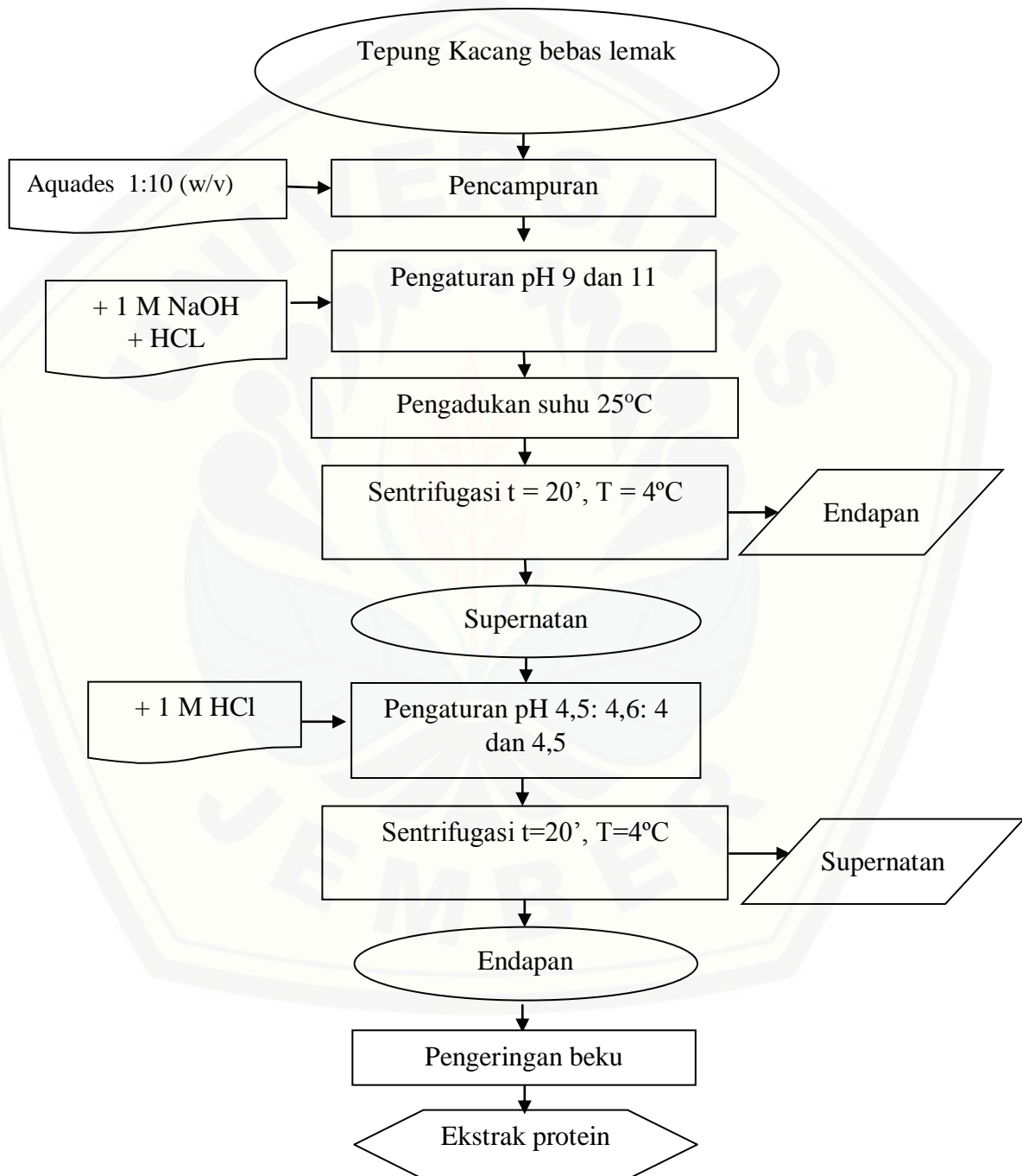
Gambar 3.2 Proses penepungan kacang-kacangan



Gambar 3.3 Defatting tepung kacang-kacangan

Ekstraksi protein mengacu pada Salcedo – Chavez *et al.*, (2002) yang menggunakan prinsip presipitasi isoelektrik protein. Mengencerkan bahan yang sudah *didefatting* dengan menambahkan aquades (perbandingan 1:10) dan diatur pH nya pada, pH 9 kacang hijau, pH 11 kacang tunggak, pH 9 kacang merah dan pH 11 koro kratok dengan menambahkan 1 M NaOH. Setelah pH tercapai, melakukan pengadukan dengan stirer secara konstan selama 1 jam pada suhu 25°C. Setelah itu sampel disentrifugasi dengan kecepatan 5.000 rpm (kacang hijau), 7000 rpm (kacang tunggak), 9500 rpm (kacang merah), rpm 4000 (koro kratok) pada suhu 4°C selama 20 menit. Supernatan yang didapat selanjutnya dipresipitasi protein pada pH isoelektriknya yaitu pH 4,6 kacang hijau, pH 4 kacang tunggak, pH 4,5 kacang merah dan pH 4,5 koro kratok dengan penambahan 1 N HCL dan pengadukan konstant hingga pH stabil. Setelah itu melakukan pendiaman 30 menit untuk memungkinkan protein dapat terendapkan sempurna. Setelah mengendap, melakukan sentrifugasi pada kecepatan 5.000 rpm (kacang hijau), 7000 rpm (kacang tunggak), rpm 9500 (kacang merah) dan 4000 rpm (koro kratok) selama 20 menit pada suhu 4°C untuk memisahkan protein dan

sisanya bahan-bahan terlarut, lebih jelas dapat dilihat Tabel 3.1. Endapan yang didapat selanjutnya dikeringkan dengan *freeze dryer* dan disimpan pada suhu 4°C untuk dilakukan analisa selanjutnya. Gambar 3.4 menunjukkan proses ekstraksi protein.

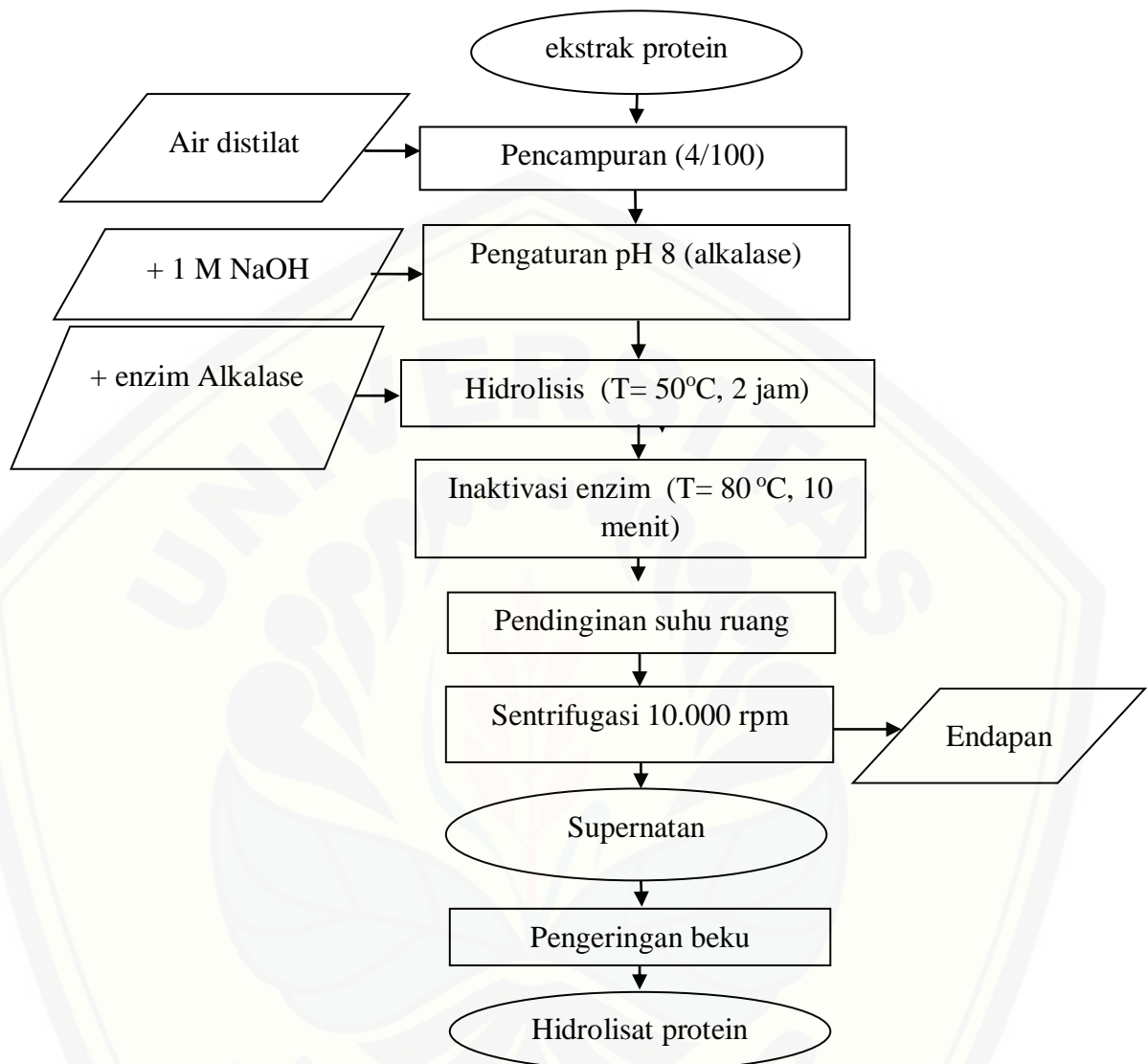


Gambar 3.4 Proses ekstraksi protein

Tabel 3.1 Ekstraksi tepung kacang-kacangan

Kacangan	Perbandingan (w/v)	Waktu Pengadukan	Pengaturan pH		Kecepatan Putar (Xg)		Sumber
			Keluturan	Isoelektrik	Keluturan	Isoelektrik	
Hijau	1:10	30 Menit	9	4,6	2000 (20 Menit)	2000 (20 Menit)	Li <i>et al.</i> , (2005)
Merah	1/10	60 Menit	9	4,5	8000 (20 Menit)	8000 (20 Menit)	Shevani <i>et al.</i> , (2014)
Tunggak	1:5	20 Menit	9	4	4000 (20 Menit)	4000 (20 Menit)	Khalid (2013)
Koro Kratok	1:6	60 Menit	11	4,5	1317 (20 Menit)	1317 (20 Menit)	Chel Gueron <i>et al.</i> , (2012)

Hidrolisis Protein secara Enzimatis (Hernandez–Ledesma, 2013). Ekstrak protein yang sudah dikeringkan disuspensikan dalam air distilat (4/100 w/v) dan dilakukan pengadukan dengan *stirrer*. Selanjutnya Suspensi diatur pHnya pada suhu pH 8 untuk *enzyme* alkalase melakukan pengadukan konstan untuk selanjutnya suspensi diberi penambahan enzim. Proses hidrolisis enzimatis dilakukan selama 90 menit pada suhu 50 °C. Rasio enzim/substrat yang ditambahkan yaitu 1/10. Proses ini dilakukan pada *shaker incubator*. Proses hidrolisis diakhiri dengan inaktivasi enzim menggunakan pemanasan selama 10 menit pada suhu 80 °C selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit pada suhu 4°C untuk memisahkan supernatan dengan endapan, rincian dapat dilihat pada Tabel 3.2. Supernatan yang dihasilkan yaitu berupa hidrolisat protein yang mengandung campuran peptida dan asam amino, kemudian hasil tersebut disimpan pada suhu 20°C hingga digunakan lebih lanjut. Diagram alir hidrolisis enzimatis dapat dilihat pada Gambar 3.5



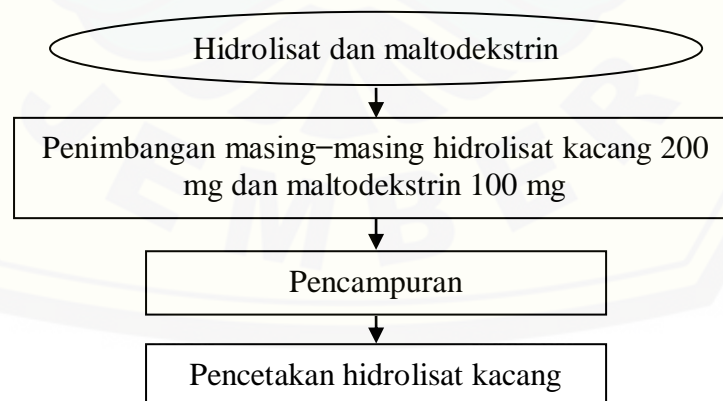
Gambar 3.5 Hidrolisis enzimatis ekstrak protein

Tabel 3.2 Hidrolisis ekstrak protein kacang–kacangan

Perlakuan	Kacang Hijau	Kacang Merah	Kacang Tunggak	Koro Kratok
Konsentrasi Suspensi	4% (w/v)	5% (w/v)	4% (w/v)	4% (w/v)
Konsentrasi Enzim	0,3 AU/g	0,3 AU/g	0,3 AU/g	0,3 AU/g
Enzim/Substrat	2 ul/g (v/w)	4% (w/w)	1/10	1/10
Suhu	55 °C	50 °C	50 °C	50 °C
Waktu	90 menit	240 menit	120 menit	120 menit
Ph	8	9	8	8
Inaktivasi	85 °C 10 menit	85 °C 10 menit	80 °C 20 menit	85 °C 20 menit
Teknis Hidrolisis	<i>Shaker incubator</i>	<i>Shaker incubator</i>	<i>Shaker incubator</i>	<i>Shaker incubator</i>
Kecepatan Putar	10.000 rpm 4 °C	10.000 rpm 4 °C	10.000 rpm 4 °C	10.000 rpm 4 °C
Sumber	t= 20 menit Lee <i>et al.</i> , (2005)	t= 30 menit Mundi dan Aluko (2014)	t= 20 menit Segura–campos <i>et al.</i> , (2013)	t= 20 menit Chel–guerrero <i>et al.</i> , (2012)

3.4.2 Pencetakan Hidrolisat Protein Kacang

Proses pencetakan hidrolisat protein kacang dengan metode kempa cetak langsung (Suhery *et al.*, 2016). Diagram alir hidrolisis enzimatis dapat dilihat pada Gambar 3.6

**Gambar 3.6** Kempa Cetak Langsung

Menyiapkan hidrolisat protein kacang dan maltodekstrin. Dua hidrolisat protein kacang ditimbang dengan total berat 400 mg, masing–masing hidrolisat kacang ditimbang dengan berat 200 mg serta maltodekstrin 100 mg. Bahan dicampur

hingga homogen, dengan total berat 1 (satu) formulasi 500 mg. masukkan ke dalam alat cetak, dan kemudian dikempa langsung.

3.4 Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan dalam penelitian ini menggunakan uji fisik dan uji kimia. Uji fisik meliputi Warna dengan menggunakan *colour reader* CR-10 (Hutching, 1999) dan Bagian yang tidak larut dalam air metode SNI 3556:2010 (gram beryodium). Uji kimia meliputi kadar air dengan metode AOAC (1995), kadar lemak metode soxhlet AOAC (2005), protein terlarut metode lowry (Purwanto 2014) dan Uji Aktivitas Penghambatan ACE - 1 (*Angiotensin Converting Enzyme-1*) (Li *et al.*, 2005).

3.5 Prosedur Pengamatan

Pengukuran **warna** dilakukan dengan alat *Colour Reader* tipe CR-10 (Hutching, 1999). Prinsip dari alat *colour reader* adalah pengukuran perbedaan warna melalui pantulan cahaya oleh permukaan sampel pembacaan dilakukan pada 5 titik pada sampel berwarna. Menghidupkan *Colour Reader* dengan menekan tombol *power*. Meletakkan lensa pada porselin standar secara tegak lurus dan menekan tombol "Target" maka muncul nilai pada layar (L, a, b) yang merupakan nilai standarisasi. Melakukan pembacaan pada sampel pewarna dengan kembali menekan tombol "Target" sehingga muncul nilai dE, dL, da, dan db. Nilai pada standar porselin diketahui L = 94,35, a = -5,75, b = 6,51, sehingga dapat menghitung L, a, b dari sampel.

Rumus :

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

$$a = \text{standart } a + da$$

$$b = \text{standart } b + db$$

Nilai L menyatakan parameter kecerahan (*lightness*) yang mempunyai nilai dari 0 (hitam) sampai 100 (putih). Nilai a menyatakan cahaya pantul yang menghasilkan warna kromatik campuran merah-hijau dengan nilai +a (positif) dari 0-100 untuk warna merah dan nilai a (negatif) dari 0-(-80) untuk warna hijau. Notasi b menyatakan warna kromatik campuran biru kuning dengan nilai +b

(positif) dari 0–70 untuk kuning dan nilai b (negatif) dari 0–(-70) untuk warna biru. Pada peneliatian ini, pengamatan warna hanya pada parameter tingkat kecerahan (*Lightness*).

Penentuan Kadar Air untuk mengukur kadar air menggunakan metode AOAC (1995), dengan menimbang 1–2 gram sampel pada cawan yang telah diketahui bobotnya. Keringkan pada oven dengan suhu 105°C selama 4 jam. Dinginkan dalam eksikator. Timbang, dan ulangi langkah ini sampai diperoleh berat konstan. Bahan dikatakan konstan apabila beratnya berkurang tidak lebih dari 0,2 gram. Pengurangan bobot merupakan banyaknya air dalam bahan (AOAC).

$$\% \text{Kadar Air} = \frac{\text{Berat awal} - \text{berat akhir}}{\text{Berat awal}} \times 100\%$$

Penentuan **kadar lemak** menggunakan metode AOAC (2005). Penimbangan sampel, kertas saring dan tali yang sudah dikeringkan dalam oven 105 °C, untuk dihilangkan kandungan air. Letakkan sampel dalam tabung lemak. Pelarut lemak (*n-hexane*) tuangkan kedalam tabung lemak secukupnya. Pasang tabung lemak dan labu lemak ke alat ekstraksi soxhlet. Panaskan labu lemak dan lakukan ekstraksi 5–6 jam. Setelah 6 jam, angkat tabung dan labu lemak. Pelarut lemak pisahkan dengan sampel dengan dekantasi. Sisa pelarut dapat disulingkan. Sampel dikeringkan dalam oven 105 °C. Timbang sampai berat sampel konstan.

Rumus:

$$\% \text{ Lemak} = \frac{(\text{sampel setelah pengeringan} - \text{sampel setelah ekstraksi}) \times 100\%}{\text{Berat sampel awal}}$$

Penentuan bagian yang tidak larut air menggunakan metode SNI 3556:2010 (gram beryodium). Penimbangan sampel 2 gram (W_0) dan letakkan dalam gelas piala 400 ml. Penambahan air panas 200 ml dan diaduk hingga homogen serta dingin. Keringkan kertas saring dan cawan petri dalam oven suhu 105 °C selama 2 jam kemudian didinginkan dan ditimbang (W_2). Saring larutan yang telah dingin dan bilas kertas saring dengan air panas hingga bening. Keringkan kertas saring berikut cawan petri dalam oven pada suhu 105 °C selama

2 jam. Dinginkan kertas saring dalam desikator dan timbang hingga berat konstan (W_1)

Bagian yang tak larut: $((W_1 - W_2) / W_0) \times 100\%$

Analisa **kadar protein** menggunakan metode Purwanto (2014). Prinsip dari metode ini adalah protein dengan asam fosfomolibdat dan fosfotungstat dalam suasana alkalis akan memberikan warna biru yang intensitasnya tergantung pada konsentrasi protein yang ditera. Sampel sebanyak 0.05 gram dilarutkan dengan aquades hingga 50 ml untuk mendapatkan larutan sampel dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$. Sebanyak 250 μl sampel atau standar yang terlarut dalam larutan NaOH 1 N dilakukan penambahan reagen Lowry sebanyak 2 ml yang terdiri dari campuran 50 ml larutan (2% Na_2CO_3 + 0,1 N NaOH) + 1 ml larutan (1% CuSO_4 + 1% sodium potassium tartrat) dalam air. Kemudian dibiarkan selama 10 menit. Selanjutnya larutan ditambahkan 250 μl larutan reagen Folin cialcalteau (1:1) dalam air distilat dan dilakukan pemusingan menggunakan vortex. Campuran yang telah divortex didiamkan pada suhu ruang selama 20 menit. Campuran selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 600 nm. Pengukuran jumlah protein dilakukan dengan cara memasukkan data absorbansi yang diperoleh ke dalam persamaan matematik dari kurva standar protein, sehingga diperoleh kadar protein terlarut yang terkandung dalam larutan. Sebagai standart digunakan Bovine Serum Albumin (BSA) dengan konsentrasi 0 hingga 1000 $\mu\text{g/ml}$. Untuk persen protein pada bahan dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Protein} = \frac{(\text{konsentrasi protein bahan}) \times \text{Volume Total}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\%$$

Uji Penghambatan Aktivitas ACE-1 (*Angiotensin Converting Enzyme-1*) (Li *et al.*, 2005). Sampel yang digunakan adalah hidrolisat kacang tunggak dengan enzim penghidrolisis berbeda. Sampel sebanyak 40 μl dengan konsentrasi 10 mg/ml ditambahkan 100 μl HHL (Hip-His-Leu) 5 mM dalam 0,1 M buffer borat pH 8,3 yang mengandung 300 mM NaCl dan campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 5 menit. Setelah itu ditambahkan 10 μl enzim ACE dengan konsentrasi 100 mU/ml dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37 °C. Reaksi

dihentikan dengan menambahkan 150 μ l HCl 1 N dan divortex hingga homogen. Selanjutnya ditambahkan 1,5 ml etil asetat untuk melarutkan asam hippurit yang dibebaskan dari Hip-His-Leu oleh ACE. Setelah itu larutan disentrifugasi dengan kecepatan 1000 g selama 10 menit lalu diambil 1 ml supernatan yang mengandung etil asetat yang mengandung asam hippurit untuk diuapkan etil asetatnya. Penguapan etil asetat dilakukan dengan cara memanaskan sampel pada air mendidih. Asam hippuric yang didapatkan selanjutnya diencerkan dengan menambahkan 3 ml aquades dan divorteks. Larutan yang terbentuk dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 228 nm, absorbansi yang didapat dimasukkan rumus berikut untuk mendapatkan tingkat penghambatan ACE. Dihitung dengan kurva inhibisi dengan regresi linier.

$$\text{Persentase penghambatan ACE (\%)} = [(B-A) / (B-C)] \times 100\%$$

A = nilai absorbansi dengan penambahan ACE dan sampel

B = nilai absorbansi kontrol (buffer menggantikan sampel)

C = nilai absorbansi blanko (HCL ditambahkan sebelum ACE)

3.6 Analisa Data

Data dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam tabel dan grafik yang merupakan data primer dari kadar air, kadar lemak, kadar protein terlarut, derajat putih, uji aktivitas *inhibitor* ACE dan padatan tak larut air hidrolisat protein kacang. Selain itu digunakan juga data sekunder yang yang diperoleh dari beberapa refrensi dan beberapa penelitian terkait. Data yang diperoleh dari analisa pengujian diolah dengan bantuan *Microsoft Excel 2010*.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Karakteristik fisik garam peptida hidrolisat kacang yaitu nilai derajat putih (W) garam peptida hidrolisat kacang akan berbanding lurus dengan tingkat kecerahan (L) garam peptida hidrolisat kacang. Garam peptida hidrolisat kacang mempunyai nilai (W) dari 59,63–67,90. Dengan nilai tertinggi A2 dengan nilai (W) 67,90 dan terendah nilai garam peptida A4 sebesar 59,63. Bagian tak larut air merupakan senyawa yang pada umumnya non polar sehingga sukar untuk berikatan dengan air. Hasil bagian tak larut air tertinggi pada garam peptida hidrolisat kacang A6 dengan nilai 29,16%, sedangkan nilai terendah terdapat pada garam peptida hidrolisat kacang A1 sebesar 10,64%.

Karakteristik kimia garam peptida hidrolisat kacang, kadar air hidrolisat protein berkisar 5,90–8,75%. Kadar air tertinggi garam peptida hidrolisat kacang A4 8,75% dan terendah pada A3 5,90%. Terdapat satu garam peptida hidrolisat kacang yang sesuai dengan SNI garam beryodium yaitu A3. Kadar protein garam peptida hidrolisat kacang tertinggi pada A2 sebesar 22,03% dan terendah A5 18,42%. Kandungan lemak garam peptida hidrolisat kacang tertinggi pada A3 1,42% dan terendah A4 0,38%. Garam peptida hidrolisat kacang dengan bahan dasar kacang merah mempunyai nilai kadar lemak yang tinggi dibanding kacang lain. Persentase penghambatan ACE-1 (*Angiotensin Converting Enzyme*) dari garam peptida hidrolisat kacang berturut – turut yaitu; (A1) 36,009; (A2) 37,867; (A3) 32,574; (A4) 63,635; (A5) 46,265; (A6) 43,842. Suatu inhibitor antihipertensi dapat digunakan sebagai terapi pencegahan hipertensi apabila memiliki nilai persentase penghambatan ACE-1 minimal sebesar 40–50%, sehingga garam peptida hidrolisat kacang A4, A5 dan A6 mampu dijadikan sebagai pangan untuk terapi pencegahan hipertensi.

5.2 Saran

Garam peptida hidrolisat kacang diharapkan mampu diaplikasikan secara luas. Maka perlu dilakukannya uji lanjutan secara *in vivo* pada garam peptida

hidrolisat kacang, untuk mengetahui pengaruh pencegahan hipertensi. Selain itu, tingkat keamanan garam peptida hidrolisat kacang terhadap tubuh manusia apabila dikonsumsi.



DAFTAR PUSTAKA

- Afsari, Y. L. 2018. Hidrolisat Enzimatis Protein Kacang Hijau (*Vigna Radiata*) Berpotensi Antihipertensi. *Skripsi*. Jember. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Jember.
- Agustina, N. 2018. Aktivitas Penghambatan *Angiotensin Converting Enzyme (ACE-1)* Garam peptida hidrolisat kacang Merah (*Phaseolus Vulgaris L.*) Terhidrolisis Enzimatis. *Skripsi*. Jember. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Jember.
- Ahmad, M. B. 2018. Aktivitas Penghambatan *Angiotensin Converting Enzyme (ACE-1)* Garam peptida hidrolisat kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*) Terhidrolisis Enzimatis. *Skripsi*. Jember. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Jember.
- Aluko, R. E. 2015. Antihypertensive peptides from food proteins. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 6:235–62.
- Amhar, A., Tadao, S., Haruki, K., Yasushi, K dan Takatoshi, I. 1998. Structural analysis of new antihypertensive peptides derived from cheese whey protein by proteinase k digestion. *J Dairy Sci.* 81: 3131–3138.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. *Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical of Chemist*. Arlington: The Association of Official Analytical Chemist, Inc.
- Aretzy, A., Ansarullah dan Wahab, D. 2018. Pengembangan minuman instan dari limbah biji buah alpukat (*persea americana mill*) dengan pengaruh penambahan maltodekstrin. *J Sains dan Teknologi Pangan.* 3(1):1027–1035.
- Asgar, A dan Musaddad, D. 2008. Pengaruh media, suhu, dan lama blansing sebelum pengeringan terhadap mutu lobak kering. *J. Hort.* 18(1):87–94.
- Audu, S. S dan Aremu, M. O. 2011. Effect of processing on chemical composition of red kidney bean (*phaseolus vulgaris L*) flour. *Pakistan Journal Nutrition.* 10(11): 1069–1075.
- Aulia, F. 2018. Aktivitas Penghambatan ACE – 1 Peptida Pada Hidrolisat Enzimatis Protein Koro Kratok (*Phaseolus Lunatus L. Sweet*). *Skripsi*. Jember. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Jember.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Riset Kesehatan Dasar 2013*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Badan Standarisasi Nasional. 2010. *Standar Nasional Indonesia (SNI)*. SNI 3556:2010: Garam Konsumsi Beryodium.
- Balasubramani, P., Palaniswamy, P. T., Visvanathan, R., Thirupathi, V., Subbayaran, A dan Maran, J. P. 2014. Microencapsulation of garlic

- oleoresin using maltodextrin as wall material by spray drying technology. *International Journal of Biological Macromolecules* 72: 210–217.
- Balitkabi. 2008. *Deskripsi Varietas Unggul Kacang-kacangan dan Umbi-umbian*. Malang: Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian, 171.
- Banker, G. S dan Anderson, C. T. 2002. *Modern Pharmaceutics, Revised and Expanded*. New York: Marcel Dekker Inc. Halaman 235–239.
- Betancur–Ancona, D., Da´vila–Ortiz, G., Chel–Guerrero, L. A dan Torruco–Uco, J. G. 2015. ACE– 1 inhibitory activity from phaseolus lunatus and phaseolus vulgaris peptide fractions obtained by ultrafiltration. *Journal Medical Food*. (1)1–8.
- Brishti, F. H., Zarei, M., Muhammad, S. K. S., Ismail–Fifty, M. R., Shukri, R dan Saari, N. 2017. Evaluation of the functional properties of mung bean protein isolate for development of textured vegetable protein. *International Food Research Journal*. 24 (4): 1595–1605.
- Chel–guerrero, L., Dominguez–Magana, M., Martinez–Ayala, A., Davila–Ortiz, G., Betancur–Acona, D. 2012. Lima bean (*Phaseolus lunatus*) protein hydrolysates with ACE–1 inhibitory activity. *Food and Nutrition Sciences*. 3: 511–521.
- Cheung, H. S., Wang, F. L., Ondetti, M. A., Sabo, E. F dan Cushman, D. W. 1980. Binding of peptide substrate and inhibition of angiotensin converting enzyme: importance of the COOH terminal dipeptides sequence. *Journal of Biological Chemistry*. 255(2): 401–407.
- Cushman, D. W dan Cheung, H. S. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin converting enzyme of rabbit lung. *Biochemical Pharmacology*. 20: 1637–1648.
- Darmatika, K., Ali, A dan Pato, U. 2018. Rasio tepung terigu dan tepung kacang tunggak (*vigna unguiculata*) dalam pembuatan crackers. *Jom Faperta*. Volume 5(1): 1–14.
- Daskaya–Dikmen, C., Yucetepe, A., Karbancioglu–Guler, F., Daskaya, H dan Ozoelik, B. 2016. Angioten converting enzyme (ACE)–inhibitory peptide from plants. *Journal Nutrients*. 9: 316.
- Deraz, S. F., dan Khalil, A. A. 2008. Strategies to improve protein quality and reduce antinutritional factors in mung bean. *Journal Food*. 2(1): 25–38.
- Dewi, N. S., Parnanto, N. H. R dan Ridwan, A. A. 2012. Karakteristik sifat fisikokimia tepung bengkuang (*pachyrhizus erosus*) dimodifikasi secara asetilasi dengan variasi konsentrasi asam asetat selama perendaman. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*. Vol 5(2): 104–112.
- Direktoral Jenderal Holtikultura. 2014. *Statistik Tanaman Kacangs Holtikultura Tahun 2013*. Jakarta: Kementerian Pertanian Direktorat Jenderal Holtikultura.

- Erni, N., Kadirman dan Fadilah, R. 2018. Pengaruh suhu dan lama pengeringan terhadap sifat kimia dan organoleptik tepung umbi talas (*colocasia esculenta*). *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian*. Vol 4: 95–105 95.
- Fatchiyah, A. L. A., Widyarti, S dan Rahayu, S. 2011. *Biologi Molekuler Prinsip Dasar Analisis*. Jakarta: Erlangga.
- Ferreira, I. M. P. L. V. O., Pinho, O., Mota, M. V., Tavares, P., Pereira, A., Goncalves, M. P., Torres, D., Rocha, C dan Teixeira, J. A. 2007. Preparation of ingredients containing an ACE inhibitory peptide by tryptic hydrolysis of whey protein concentrates. *International Dairy Journal*. 17: 481–487.
- Guang, C dan Phillips, R.D. 2009. Plant food-derived angiotensin i converting enzyme inhibitory peptides. *J Agric Food Chem*. 57:5113–5120.
- Haefeli, R. J dan Glasser, D. 1990. Taste responses and threshold obtained with the primary amino acids in humans. *Lebensm. Wiss Technol*. Vol 23:253–257.
- Hasbullah., U, H. Asy'ari dan Umiyati, R. 2017. Perbandingan warna tepung suweg fase dorman dan vegetatif secara instrumental dan sensoris. *Agrisaintifika Jurnal Ilmi–Ilmu Pertanian*. Vol 1(1): 64–69.
- Hernandez – Alvarez, A. J., Carrasco – Castilla, J., Davila – Ortiz, G., Alaiz, M., Giron – Calle, J., Vioque – Pena, J., Jacinto – Hernandez, C and Jimenez – Martinez, C. 2012. Angiotensin – converting enzyme – inhibitory activity in protein hydrolysates from normal and anthracnose disease – damaged – *phaseolus vulgaris* seeds. *J Sci Food Agric*. Vol 1(1): 1–6.
- Hui, Y. H. 1993. Dairy Science and Technology Handbook. *VCH Publisher*. Inc. New York.
- Hutching, J. B. 1999. Food Colour And Appereance. *Aspen Publisher*. Inc. Marylan.
- Jeremiah, S. 2009. Glutamic Acid, The Main Dietary Amino Acid and Blood Pressure. The Intermap Study. *Journal of American Heart Association (120)*. Halaman 211-218.
- Kirimura, J., Shimizu, A., Kimizuka, A., Ninomiya, T., dan Katsuya, N. 1969. *The contribution of peptides and amino acids to the taste of foodstuffs*. *J. Agric. Food Chem*. 17(4): 689–695.
- Kumar, S., Verma, A. K., Misra, A., Tripathi, A., Chaudari, B. P., Prasad, R., Jais, S. K., Das M dan Dwivedi, D. 2011. Allergenic responses of red kidney bean (*phaseolus vulgaris cv chitra*) polypeptides BALB/c mice recognized by bronchial asthma and allergic rhinitis patients. *Food Research International*. 44: 2868–2879.
- Leo, F. D., Panarese, S., Gallerani, R dan Ceci, L. R. 2009. Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides: production and

- implementation of functional food. *Journal Current Pharmaceutical Design*. 15(31): 3622–3643.
- Li, G. H., Le, G. W., Liu, H dan Shi, Y. H. 2005. Mung bean protein hydrolysates obtained with alkalase exhibit angiotensin converting enzyme inhibitory activity. *Food Science and Technology International*. Vol 11(4): 281–287.
- Linden G dan Lorient D. 1999. New Ingridients in Food Processing Biochemistry and Agriculture. *Woodhead Publ. LTD*. Cambridge: England.
- Luna–Vital, D. A., Mojica, L., Mejia, E. G., Mendoza, S dan Loarca–Pina, G. 2015. Biological potential of protein hydrolysates of common bean (*Phaseolus vulgaris L.*): A review. *Food Research International*. 76: 39–50.
- Maehashi, K., Matsuzaki, M., Yamamoto, Y dan Udaka, S. 1999. Isolation of peptides from an enzymatic hydrolysate of food proteins and characterization of their taste properties. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*. 63:555–559.
- Mahmud, M. K. 2005. *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Persatuan Ahli Gizi Indonesia. Jakarta.
- Markland, F.S. dan Smith, E. L. 1971. Subtilisins: Primary Structure, Chemical and Physical Properties. New York: Academic Press.
- Muhamyankaka, V., Shoemaker, C. F., Nalwoga, M dan Zhang, X. M. 2013. Physicochemical properties of hydrolysates from enzymatic hydrolysis pumpkin (*Curcubita mochata*) protein meal. *Journal International Food Research*. 20(5): 2227–2240.
- Mundi, S dan Aluko, R. E. 2014. Inhibitory properties of kidney bean protein hydrolysate and its membrane fraction against renin, angiotensin converting enzyme, and free radicals. *Austin J Nutr Food Sci*. (2): 1008.
- Murray., Robert, K., Daryl, K. G dan Victor, W. R. 2009. *Biokimia Harper*. Jakarta: EGC.
- Murtadho. 2005. Isolasi Dan Analisa Profil Peptida Berasa Gurih Dari Ekstrak Ikan Asin Jambal Roti. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Nafi', A., Diniyah, N dan Hastuti, F. T. 2015. Karakteristik fisikokimia dan fungsional teknis tepung koro kratok (*phaseolus lunatus L.*) Termodifikasi yang digaram peptida hidrolisat kacangsi secara fermentasi spontan. *Jurnal Agrotek*. Vol 9(1): 24–32.
- Nafi', A., T, Susanto dan Subagio, A. 2006. Pengembangan tepung kaya protein (TKP) dari koro komak (*Lablab Purpureus (L) Sweet*) dan koro kratok (*Phaseolus Lunatus*). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 3(17): 159–165.
- Nio, O. K. 2012. *Daftar Analisis Bahan Makanan*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

- Novozymes. 2015. Protease Novozymes Alcalase®. Denmark. <http://www.ncbe.reading.ac.uk/ncbe/materials/enzymes/alcalase.html> [15 Juni 2017].
- Nuraini, B. 2015. Risk factors of hypertension. *J Majority*. Volume 4 Nomer 5.
- Nuryani, H dan Kensaku, T. 2006. Evaluation of peptide contribution to the intense umami taste of japanese soy sauces. *Journal of Food Science*. 71(3): 277–283.
- Pangastuti, H A., Affandi, D. R dan Ishartani, D. 2013. Karakterisasi sifat fisik dan kimia tepung kacang merah (*Phaseolus Vulgaris L.*) dengan beberapa perlakuan pendahuluan. *Jurnal Teknosains Pangan*. Vol 2(1): 20–29.
- Pratama, I. A dan Nisa, F. C. 2014. Formulasi mie kering dengan substitusi tepung kimpul (*Xanthosoma Sagittifolium*) dan penambahan tepung kacang hijau (*Phaseolus Radiatus L.*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol 2(4): 101–112.
- Purwanto, M. G. M. 2014. Perbandingan analisa kadar protein terlarut dengan berbagai metode spektroskopi *uv – visible*. *Jurnal Ilmiah Sains dan Teknologi*. Vol 7(2): 64–71.
- Rangel, A., Karina, S., Patricia, S., Marcelo, S. N., Gilberto, B. D., Sergio, T. F dan Cristiana, P. 2004. Biological evaluation of a protein isolate from cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds. *Food Chemistry*. 87:491–499.
- Rosida, D. F., Hardiyanti, Q dan Murtiningsih. 2012. Kajian dampak substitusi kacang tunggak pada kualitas fisik dan kimia tahu. *Jurnal Teknologi Pangan*. Vol 5(2): 138–139.
- Rukmana. 1994. *Budidaya Tanaman Buncis*. Yogyakarta: Kanisius.
- Rui, X. S., Boye, J. I., Simpson, B. K dan Prasher, S. O. 2012. Angiotensin 1–converting enzyme inhibitory properties of phaseolus vulgaris bean hydrolysates: effects of different thermal and enzymatic digestion treatments. *Food Research International*. 49 : 739–746.
- Salcedo–Chavez, B., Juan, A. O. C., Fidel, G. L., Jorgee, D. D dan Octavio, P. L. 2002. Optimization of the isoelectric precipitation method to obtain protein isolates from amaranth (*Amaranthus cruentus*) seeds. *J. Agric. Food Chem*. Vol 50: 6515–6520.
- Sayekti, S dan Rahmi. 2011. Karakterisasi Delapan Aksesori Kacang Tunggak (*Vigna Unguiculata L. Walp*) Asal Daerah Istimewa Yogyakarta. *Skripsi*. Yogyakarta. Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada.
- Schlichtherle–Cerny, H dan Amadò, R. 2002. Analysis of taste–active compounds in an enzymatic hydrolysate of deamidated wheat gluten. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50:1515–1522.
- Segura–Campos, M. R., Chel–Guerrero, L. A dan Betancur–Ancona, D. A. 2010. Purification of angiotensin I–converting enzyme inhibitory peptides from a

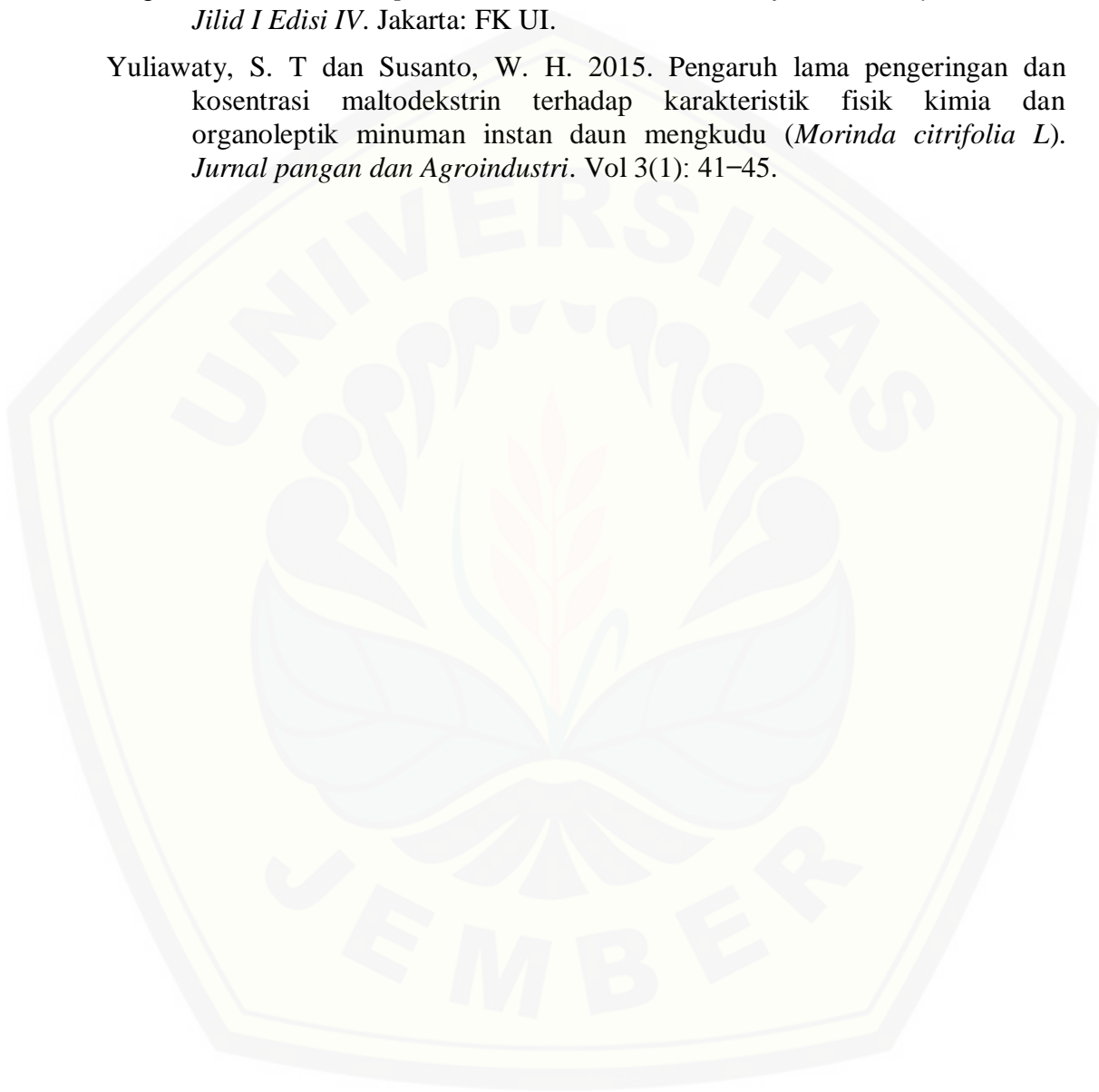
- cowpea (*Vigna unguiculata*) enzymatic hydrolysate. *Process Biochemistry*. 46: 864–872.
- Setiawati, S. N. 2008. Dampak penggunaan monosodium glutamat terhadap kesehatan lingkungan. *Jurnal Orbith*. 4(3): 453–459.
- Shallenberger, R. S. 1993. *Taste Chemistry*. London: Blackie Academic & Professional.
- Stanfield, P. 2009. *Nutrition and Diet Therapy Self-Instructional Approaches. Fifth Edition*. USA: Library of Congress Cataloging.
- Subagio, A. 2002. Kajian sifat fisikokimia dan organoleptik hidrolisat tempe hasil hidrolisis protease. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 13(3): 204–210.
- Suhery, W. N., Fernando, Armon dan Giovanni, B. 2016. Perbandingan metode granulasi basah dan kempa langsung terhadap sifat fisik dan waktu hancur orally disintegrating tablets (ODTS) piroksikam. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. 2(2): 138–144.
- Sun, D. S. 2011. Enzymatic hydrolysis of soy protein and the hydrolysates utilisation. *International Journal of Food Science and Technology*. 46: 2447–2459.
- Tada, M., Shinodu, I dan Okai, H. 1984. *L-ornithyltaurine, a new salty peptide*. *J. Agric. Food Chem*. 32(5): 992–996.
- Tang, D., Dong, Y., Ren, H., Li, L dan He, C. 2014. A review a of phytochemistry,metabolite changes, and medicinal uses of the common food mung bean and its sprouts (*Vigna radiata*). *Journal Chemistry Central*. (8):4.
- Tsai, J. S., Chen, T. J., Pan, B. S., Gong, S. D dan Chung, M. Y. 2008. Antihypertensive effect of bioactive peptides produced by protease facilitated lactic acid fermented of milk. *Food Chemistry*. 106: 552–558.
- Turner, A. J dan Hooper, N. M. 2002. The angiotensin converting enzyme gene family, genomics and pharmacology. *Trends in Pharmacological Science*. 23: 177–183.
- Viernes, L. B. G., Garcia, R. N., Torio, M. A. O dan Angelia, M. R. N. 2012. Antihypertensive peptides from vicilin, the major storage protein of mung bean (*Vigna Radiata L.*). *Journal of Biological Sciences* . 12(7): 393–399.
- Weir, G. S. D. 1992. *Protein As A Source Of The Flavor*. Dalam *Biochemistry Of Food Proteins*. B. J. F. Hodson (ed.). Elsevier Applied Science. London.
- Witono, Y., Aulanni'am., Subagio, A dan Widjanarko, S. B. 2007. Karakterisasi hidrolisat protein kedelai hasil hidrolisis menggunakan protease dari tanaman biduri (*calotropis gigantea*). *Berk Penel Hayati*. 13:7–13.
- Wiyono, R. 2012. Studi pembuatan serbuk effervescent temulawak (*curcuma xanthorrhiza roxb*) kajian suhu pengering, konsentrasi dekstrin,

konsentrasi asam sitrat dan Na–bikarbonat. *Skripsi*. Bandung. Universitas Padjajaran.

Yamaguchi, S. 1971. The synergistic taste effect of monosodium glutamate and disodium 5' inosinate. *Journal of Food Science*. 32:473–478.

Yogiantoro, M. 2006. *Hipertensi Esensial Dalam Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid I Edisi IV*. Jakarta: FK UI.

Yuliawaty, S. T dan Susanto, W. H. 2015. Pengaruh lama pengeringan dan konsentrasi maltodekstrin terhadap karakteristik fisik kimia dan organoleptik minuman instan daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*). *Jurnal pangan dan Agroindustri*. Vol 3(1): 41–45.



LAMPIRAN

Lampiran A. Perhitungan Warna Derajat putih (Whitness)

A1. Data analisis derajat putih (*whitness*)

Sampel Pertama

Warna	
Standar	
L	84
A	1.7
B	-0.9
$W=100-((100-L)^2+(a^2+b^2))^{0,5}$	

Sampel	Kode	Ulangan	dA	dL	db	L	a	b	W
Kacang hijau dan Kacang tunggak	A1	1	-1.8	-9.8	22	74.2	-0.1	21.1	66.6704
		2	-1.2	-11.1	23.2	72.9	0.5	22.3	64.9009
		3	-1.7	-9.9	20.4	74.1	0	19.5	67.5799
		4	-1.5	-10.7	21.4	73.3	0.2	20.5	66.3373
		5	-1.8	-9.9	22.4	74.1	-0.1	21.5	66.3389
Kacang hijau dan Koro kratok	A2	1	-3.4	-8.5	20.3	75.5	-1.7	19.4	68.703
		2	-2.2	-9.7	23.9	74.3	-0.5	23	65.5074
		3	-4	-7.5	21.1	76.5	-2.3	20.2	68.9262
		4	-3.7	-8.9	20.8	75.1	-2	19.9	68.0622
		5	-2.8	-9.9	24.1	74.1	-1.1	23.2	65.2112
Kacang hijau dan Kacang merah	A3	1	-4.7	-8.7	11.8	75.3	-3	10.9	72.8357
		2	-1.3	-15.9	18.6	68.1	0.4	17.7	63.5163
		3	-3	-15.2	17.6	68.8	-1.3	16.7	64.5879
		4	-2.4	-14.4	17.1	69.6	-0.7	16.2	65.5458
		5	-3.1	-15.2	18	68.8	-1.4	17.1	64.3937
Kacang tunggak dan Koro kratok	A4	1	-1.7	-15.4	23.1	68.6	0	22.2	61.5448
		2	-1.8	-14.7	27.1	69.3	-0.1	26.2	59.6399
		3	-0.3	-17.1	28.8	66.9	1.4	27.9	56.6874
		4	-1.2	-15.9	24.5	68.1	0.5	23.6	60.316
		5	-1.3	-14.8	23.8	69.2	0.4	22.9	61.6176
Kacang tunggak dan Kacang merah	A5	1	-0.1	-12.1	19.4	71.9	1.6	18.5	66.3188
		2	-0.4	-12	17.4	72	1.3	16.5	67.474
		3	-0.3	-12.8	17.8	71.2	1.4	16.9	66.5783
		4	-0.4	-12.2	17.3	71.8	1.3	16.4	67.352
		5	-0.5	-12.9	18.3	71.1	1.2	17.4	66.2449
Koro kratok dan Kacang merah	A6	1	-1.8	-13	18	71	-0.1	17.1	66.3337
		2	-1.4	-12	18.7	72	0.3	17.8	66.8197
		3	-1.4	-14.6	18.3	69.4	0.3	17.4	64.7976
		4	-2	-12.8	18.2	71.2	-0.3	17.3	66.4021
		5	-1.9	-12.4	17.8	71.6	-0.2	16.9	66.9514

Sampel Kedua

Warna	
Standar	
L	83.8
A	1.5
B	-1.1
$W=100-((100-L)^2+(a^2+b^2))^{0,5}$	

Sampel	Kode	Ulangan	dA	dL	db	L	a	b	W
Kacang hijau dan Kacang tunggak	A1	1	-1.6	-9.7	22	75.1	-0.1	20.9	67.49108
		2	-2.1	-8.7	21.4	76.1	-0.6	20.3	68.63665
		3	-2	-8.9	21.8	75.9	-0.5	20.7	68.22658
		4	-1.8	-10.7	22.6	74.1	-0.3	21.5	66.33771
		5	-1.2	-9.8	22.4	75	0.3	21.3	67.15521
Kacang hijau dan Koro kratok	A2	1	-2.8	-8.2	21.5	76.6	-1.3	20.4	68.92895
		2	-3.1	-7	20.1	77.8	-1.6	19	70.73569
		3	-3.6	-7.5	20.8	77.3	-2.1	19.7	69.87045
		4	-2.2	-9.3	23.5	75.5	-0.7	22.4	66.79608
		5	-2.3	-9.7	23.8	75.1	-0.8	22.7	66.29629
Kacang hijau dan Kacang merah	A3	1	-2.8	-14.7	17.3	70.1	-1.3	16.2	65.96854
		2	-3.1	-9	12.1	75.8	-1.6	11	73.36919
		3	-3.7	-9.6	12.8	75.2	-2.2	11.7	72.49055
		4	-1.8	-15.1	18.2	69.7	-0.3	17.1	65.20647
		5	-2.7	-13.9	16.8	70.9	-1.2	15.7	66.91314
Kacang tunggak dan Koro kratok	A4	1	-1.8	-14.1	26.8	70.7	-0.3	25.7	61.02475
		2	-1.6	-14.8	27.2	70	-0.1	26.1	60.23544
		3	-1.5	-15.6	27.9	69.2	0	26.8	59.17256
		4	-0.9	-17.6	28.3	67.2	0.6	27.2	57.38498
		5	-1.1	-16.3	27.8	68.5	0.4	26.7	58.70472
Kacang tunggak dan Kacang merah	A5	1	-0.9	-11.6	17.3	73.2	0.6	16.2	68.67844
		2	-0.3	-12.8	17.8	72	1.2	16.7	67.37593
		3	-0.2	-12.2	17.3	72.6	1.3	16.2	68.14266
		4	-0.3	-12.7	18	72.1	1.2	16.9	67.35862
		5	-0.5	-12	18.1	72.8	1	17	67.90888
Koro kratok dan Kacang merah	A6	1	-1.1	-12.8	18.2	72	0.4	17.1	67.18887
		2	-1.8	-13.9	17.6	70.9	-0.3	16.5	66.5463
		3	-1.8	-14.2	16.9	70.6	-0.3	15.8	66.62201
		4	-1.4	-14.4	16.8	70.4	0.1	15.7	66.49388
		5	-1.5	-12.7	18.5	72.1	0	17.4	67.11885

Standar Deviasi *Lightness* (L) dan *Whitness* (W)

Kode	Rata - rata (L)	Rata - rata total	Rata - rata (W)	Rata - rata total (W)	Standar deviasi (L)	Standar deviasi (W)
A1	74.65	74.48	67.08	66.97	0.48	0.59
	74.5		66.77			
	75		67.90			
	73.7		66.34			
	74.55		66.75			
A2	76.05	75.78	68.82	67.90	0.87	1.41
	76.05		68.12			
	76.9		69.40			
	75.3		67.43			
	74.6		65.75			
A3	72.7	71.23	69.40	67.48	1.39	1.84
	71.95		68.44			
	72		68.54			
	69.65		65.38			
	69.85		65.65			
A4	69.65	68.77	61.28	59.63	0.91	1.29
	69.65		59.94			
	68.05		57.93			
	67.65		58.85			
	68.85		60.16			
A5	72.55	72.07	67.50	67.34	0.27	0.16
	72		67.42			
	71.9		67.36			
	71.95		67.36			
	71.95		67.08			
A6	71.5	71.12	66.76	66.53	0.73	0.50
	71.45		66.68			
	70		65.71			
	70.8		66.45			
	71.85		67.04			

A2. Contoh Perhitungan Warna Derajat Putih (*Whitness*)

Diketahui:

$$L = 75.1$$

$$a = -0.1$$

$$b = 20.9$$

$$\text{Maka: } W = 100 - ((100 - L)^2 + (a^2 + b^2))^{0.5}$$

$$W = 100 - ((100 - 75.1)^2 + ((-0.1)^2 + (20.9)^2))^{0.5}$$

$$= 67,49$$

Lampiran B. Perhitungan Kadar air

B1. Data analisis kadar air

Kadar air sampel pertama

No	Ulangan	Berat botol timbang (g)	Berat botol timbang + sampel (g)	Berat botol timbang + sampel akhir (g)	Kadar air (%)
1	U1 A1	9.7877	10.2802	10.2382	8.53
2	U1 A2	12.3895	12.8812	12.8415	8.07
3	U1 A3	9.779	10.267	10.2402	5.49
4	U1 A4	12.4993	12.9779	12.9302	9.97
5	U1 A5	9.7085	10.2029	10.1668	7.30
6	U1 A6	9.7695	10.2716	10.2307	8.15
7	U2 A1	11.694	12.1923	12.1535	7.79
8	U2 A2	12.3479	12.8347	12.8005	7.03
9	U2 A3	9.6049	10.0944	10.0696	5.07
10	U2 A4	9.9978	10.4724	10.4325	8.41
11	U2 A5	9.6463	10.1413	10.0995	8.44
12	U2 A6	10.0666	10.5662	10.5268	7.89

Kadar air sampel kedua

No	Ulangan	Berat botol timbang (g)	Berat botol timbang + sampel (g)	Berat botol timbang + sampel akhir (g)	Kadar air (%)
1	U1 A1	12.3456	12.8279	12.787	8.48
2	U1 A2	12.3848	12.8923	12.8581	6.74
3	U1 A3	9.7748	10.2703	10.2394	6.24
4	U1 A4	9.725	10.2193	10.1805	7.85
5	U1 A5	9.705	10.2509	10.2052	8.37
6	U1 A6	9.6448	10.1094	10.0801	6.31
7	U2 A1	10.0748	10.5856	10.5472	7.52
8	U2 A2	9.9978	10.4053	10.3756	7.29
9	U2 A3	9.6048	10.1503	10.1131	6.82
10	U2 A4	12.3885	12.8328	12.7938	8.78
11	U2 A5	9.7685	10.2144	10.1805	7.60
12	U2 A6	9.7485	10.2631	10.2287	6.68

Standar Deviasi Kadar air

Sampel	Rata-rata kadar air ulangan 1	Rata-rata kadar air ulangan 2	Rata-rata Total	Standar deviasi
A1	8.50	7.65	8.08	0.60
A2	7.41	7.16	7.28	0.18
A3	5.86	5.94	5.90	0.06
A4	8.91	8.59	8.75	0.22
A5	7.84	8.02	7.93	0.13
A6	7.23	7.29	7.26	0.04

B2. Contoh Perhitungan Kadar air

Diketahui:

$$\text{Berat botol timbang (g)} = 9.7877$$

$$\text{Berat botol timbang + sampel (g)} = 10.2802$$

$$\text{Berat botol timbang + sampel akhir (g)} = 10.2382$$

Maka:

$$\begin{aligned} \% \text{ Air} &= (((\text{Berat awal} - \text{Berat akhir}) / (\text{Berat Sampel awal})) \times 100\% \\ &= (((10.2802 - 9.7877) - (10.2382 - 9.7877)) / (10.2802 - 9.7877)) \times 100\% \\ &= 8.53\% \end{aligned}$$

Lampiran C. Perhitungan Bagian Tak Larut Air

C1. Data analisis bagian tak larut air

Sampel pertama

No	Kode Sampel	(W2) Berat botol timbang + Kain saring (g)	(W0) Berat Sampel (g)	(W1) Berat botol timbang + Kain saring + sampel (g)	Bagian yang tak larut (%)	Kadar air (%)	Bagian yang tak larut Adbbk (%)
1	U1A1	18.3348	0.5	18.3832	9.68	8.08	10.53
2	U1A2	23.2848	0.5	23.3664	16.32	7.28	17.60
3	U1A3	11.0443	0.5	11.1674	24.62	5.90	26.16
4	U1A4	12.3927	0.5	12.4759	16.64	8.75	18.24
5	U1A5	10.432	0.5	10.5087	15.34	7.93	16.66
6	U1A6	10.9613	0.5	11.1003	27.8	7.26	29.97
7	U2A1	10.3091	0.5	10.3565	9.48	8.08	10.31
8	U2A2	12.5523	0.5	12.6329	16.12	7.28	17.39
9	U2A3	22.8502	0.5	22.9833	26.62	5.90	28.29
10	U2A4	19.0233	0.5	19.1053	16.4	8.75	17.97
11	U2A5	12.3943	0.5	12.462	13.54	7.93	14.71
12	U2A6	12.0821	0.5	12.2229	28.16	7.26	30.36

Sampel Kedua

No	Kode Sampel	(W2) Berat botol timbang + Kain saring (g)	(W0) Berat Sampel (g)	(W1) Berat botol timbang + Kain saring + sampel (g)	Bagian yang tak larut (%)	Kadar air (%)	Bagian yang tak larut Adbbk (%)
1	U1A1	12.5677	0.5	12.6191	10.28	8.08	11.18
2	U1A2	12.0881	0.5	12.1667	15.72	7.28	16.95
3	U1A3	18.332	0.5	18.4511	23.82	5.90	25.31
4	U1A4	10.9878	0.5	11.066	15.64	8.75	17.14
5	U1A5	10.3101	0.5	10.3828	14.54	7.93	15.79
6	U1A6	10.4344	0.5	10.5644	26.00	7.26	28.03
7	U2A1	23.2798	0.5	23.3282	9.68	8.08	10.53
8	U2A2	22.8529	0.5	22.9285	15.12	7.28	16.31
9	U2A3	12.3456	0.5	12.4637	23.62	5.90	25.10
10	U2A4	10.4532	0.5	10.5304	15.44	8.75	16.92
11	U2A5	12.3976	0.5	12.4603	12.54	7.93	13.62
12	U2A6	10.7644	0.5	10.8954	26.20	7.26	28.25

Standar Deviasi Bagian Tak Larut Air

Sampel	Rata-rata Bagian tak larut ulangan 1	Rata-rata Bagian tak larut ulangan 2	Rata-rata Total	Standar deviasi
A1	10.42	10.86	10.64	0.307698783
A2	17.49	16.63	17.06	0.610111883
A3	27.23	25.21	26.22	1.42779169
A4	18.10	17.03	17.57	0.759415361
A5	15.68	14.71	15.19	0.69120958
A6	30.17	28.14	29.16	1.433363453

C2. Contoh Perhitungan Bagian Tak Larut Air

Diketahui:

$$(W2) \text{ Berat botol timbang + Kain saring (g)} = 18.3348$$

$$(W0) \text{ Berat Sampel (g)} = 0.5$$

$$(W1) \text{ Berat botol timbang + Kain saring + residu sampel (g)} = 18.3832$$

$$\text{Kadar air} = 8.08\%$$

$$\begin{aligned} \text{Maka: \% Tak larut} &= ((18.3832 - 18.3348)/0.5) \times 100\% \\ &= 9.68\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ tak larut (Adbk)} &= ((100)/(100 - 8.08)) \times 9.68 \\ &= 10.53\% \end{aligned}$$

Perhitungan D. Perhitungan Kadar Lemak

D1. Data analisis kadar lemak

Sampel 1

No	Ulangan	Berat sampel (g)	Berat kertas saring + sampel (g)	Berat kertas saring + sampel akhir (g)	Kadar lemak (%)
1	U1 A1	0.5013	1.441	1.437	0.80
2	U1 A2	0.5008	1.3397	1.3377	0.40
3	U1 A3	0.5005	1.385	1.3782	1.36
4	U1 A4	0.5012	1.2526	1.2511	0.30
5	U1 A5	0.5005	1.2792	1.2734	1.16
6	U1 A6	0.5008	1.3226	1.3177	0.98
7	U2 A1	0.5008	1.2901	1.2892	0.18
8	U2 A2	0.5005	1.3103	1.3085	0.36
9	U2 A3	0.5005	1.3752	1.3677	1.50
10	U2 A4	0.5006	1.2486	1.2473	0.26
11	U2 A5	0.5008	1.4001	1.3949	1.04
12	U2 A6	0.5013	1.2439	1.241	0.58

Sampel 2

No	Ulangan	Berat sampel (g)	Berat kertas saring + sampel (g)	Berat kertas saring + sampel akhir (g)	Kadar lemak (%)
1	U1 A1	0.5014	1.2398	1.2376	0.44
2	U1 A2	0.5014	1.3752	1.373	0.44
3	U1 A3	0.5015	1.2367	1.2302	1.30
4	U1 A4	0.5009	1.4534	1.4514	0.40
5	U1 A5	0.5005	1.3489	1.344	0.98
6	U1 A6	0.5011	1.4432	1.4381	1.02
7	U2 A1	0.5018	1.3533	1.3522	0.22
8	U2 A2	0.5005	1.3954	1.3922	0.64
9	U2 A3	0.5013	1.3086	1.301	1.52
10	U2 A4	0.5016	1.463	1.4601	0.58
11	U2 A5	0.5008	1.463	1.458	1.00
12	U2 A6	0.5013	1.4367	1.4336	0.62

Standar Deviasi Lemak

Sampel	Rata - rata kadar air ulangan 1	Rata - rata kadar air ulangan 2	Rata - rata Total	Standar deviasi
A1	0.62	0.20	0.41	0.296
A2	0.42	0.50	0.46	0.057
A3	1.33	1.51	1.42	0.127
A4	0.35	0.42	0.38	0.049
A5	1.07	1.02	1.04	0.036
A6	1.00	0.60	0.80	0.283

D2. Contoh Perhitungan Kadar Lemak

Berat sampel (g) = 0.5013

Berat kertas saring + sampel (g) = 1.441

Berat kertas saring + sampel akhir (g) = 1.437

Maka:

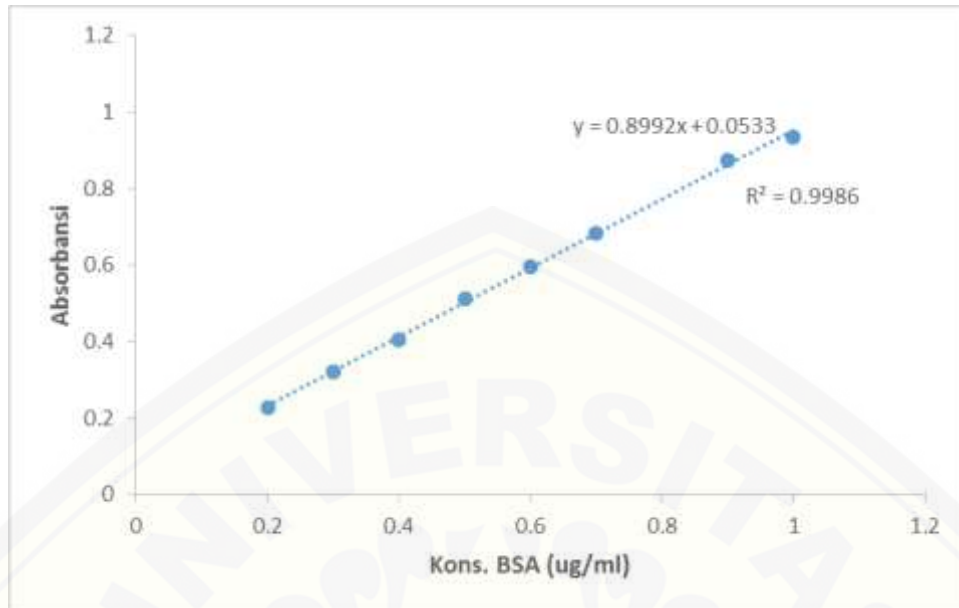
Kadar lemak = $\frac{((\text{Berat kertas saring} + \text{sampel (g)} - \text{Berat kertas saring} + \text{sampel akhir (g)}) / \text{Berat sampel (g)}) \times 100\%}{}$
 $= \frac{((1.441 - 1.437) / 0.5013) \times 100\%}{}$
 $= 0.80\%$

Lampiran E. Perhitungan Protein Terlarut

E1. Analisis data kurva standar BSA (*Bovine Serum Albumin*)

Kurva Standar BSA (*Bovine Serum Albumin*)

Konsentrasi BSA (mg/ml)	Abs. Sampel	Abs. Blanko	Abs. Sampel - Abs. Blanko
0.2	0.288	0.059	0.229
0.3	0.381	0.059	0.322
0.4	0.465	0.059	0.406
0.5	0.572	0.059	0.513
0.6	0.655	0.059	0.596
0.7	0.744	0.059	0.685
0.9	0.935	0.059	0.876
1	0.995	0.059	0.936



E2. Analisa data protein terlarut

Sampel 1

Kode sampel	Ulangan 1	Ulangan 2	ug/ml	ug/ml	mg/ml	mg/ml	% protein	% protein
A1	0.291	0.284	200.67	194.83	0.201	0.195	20.1	19.5
A2	0.316	0.306	221.50	213.17	0.222	0.213	22.2	21.3
A3	0.235	0.254	154.00	169.83	0.154	0.170	15.4	17.0
A4	0.284	0.293	194.83	202.33	0.195	0.202	19.5	20.2
A5	0.239	0.252	157.33	168.17	0.157	0.168	15.7	16.8
A6	0.269	0.259	182.33	174.00	0.182	0.174	18.2	17.4

Sampel 2

Kode sampel	Ulangan 1	Ulangan 2	ug/ml	ug/ml	mg/ml	mg/ml	% protein	% protein
A1	0.296	0.271	204.83	184.00	0.205	0.184	20.5	18.4
A2	0.331	0.305	234.00	212.33	0.234	0.212	23.4	21.2
A3	0.302	0.322	209.83	226.50	0.210	0.227	21.0	22.7
A4	0.303	0.308	210.67	214.83	0.211	0.215	21.1	21.5
A5	0.287	0.307	197.33	214.00	0.197	0.214	19.7	21.4
A6	0.307	0.308	214.00	214.83	0.214	0.215	21.4	21.5

Standar Deviasi Protein Terlarut

Sampel	Rata - rata kadar protein ulangan 1	Rata - rata kadar protein ulangan 2	Rata - rata Total	Standar deviasi
A1	19.78	19.44	19.61	0.236
A2	21.73	22.32	22.03	0.412
A3	16.19	21.82	19.00	3.977
A4	19.86	21.28	20.57	1.002
A5	16.28	20.57	18.42	3.035
A6	17.82	21.44	19.63	2.563

E3. Contoh Perhitungan Protein Terlarut

Diketahui:

Persamaan kurva standar: $y = 0.8992x + 0.0533$

Absorbansi = 0.291

Maka,

$$y = 0.8992x + 0.0533$$

$$0.291 = 0.8992x + 0.0533$$

$$x = (0.291 - 0.0533)/0.8992$$

$$= 200.67 \text{ ug/ml}$$

$$= 0.20067 \text{ mg/ml}$$

$$\% \text{ protein terlarut} = ((x.FP / \text{sampel}) \times 100\%)$$

$$= ((0.20067 \text{ mg/ml} \times 50 \text{ ml} / 50 \text{ mg}) \times 100\%)$$

$$= 20.067\%$$

Lampiran F. Perhitungan Penghambatan Aktivitas ACE-1

F1. Hidrolisat kombinasi dua jenis kacang tanpa maltodekstrin

Sampel 1

no	jenis bahan	Kode	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	B (Kontrol)	C (blanko)	B - A (ulangan 1)	B - A (ulangan 2)	B - A (ulangan 3)	B - C	persentase Ace (ulangan 1)	persentase Ace (ulangan 2)	persentase Ace (ulangan 3)	Rata - rata total
1	KH – KT	B1	1.974	1.998	2.025	1.412	2.205	-0.562	-0.5855	-0.613	0.79	70.870	73.834	77.301	74.00
2	KH – KK	B2	2.061	2.086	2.117	1.412	2.187	-0.649	-0.674	-0.705	0.78	83.742	86.968	90.968	87.23
3	KH – KM	B3	2.009	2.02	2.03	1.412	2.137	-0.597	-0.608	-0.618	0.73	82.345	83.862	85.241	83.82
4	KT – KK	B4	2.192	2.22	2.242	1.412	2.304	-0.78	-0.808	-0.83	0.89	87.444	90.583	93.049	90.36
5	KT – KM	B5	2.361	2.384	2.405	1.412	2.562	-0.949	-0.972	-0.993	1.15	82.522	84.522	86.348	84.46
6	KK – KM	B6	2.222	2.177	2.128	1.412	2.932	-0.81	-0.765	-0.716	1.52	53.289	50.329	47.105	50.24

Sampel 2

no	jenis bahan	Kode	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	B (Kontrol)	C (blanko)	B - A (ulangan 1)	B - A (ulangan 2)	B - A (ulangan 3)	B - C	persentase Ace (ulangan 1)	persentase Ace (ulangan 2)	persentase Ace (ulangan 3)	Rata - rata total
1	KH – KT	B1	2.48	2.498	2.519	1.925	2.714	-0.555	-0.5726	-0.594	0.79	70.342	72.572	75.2852	72.73
2	KH – KK	B2	2.551	2.547	2.613	1.925	2.677	-0.626	-0.622	-0.688	0.75	83.244	82.712	91.4894	85.82
3	KH – KM	B3	2.511	2.514	2.529	1.925	2.644	-0.586	-0.589	-0.604	0.72	81.502	81.919	84.0056	82.48
4	KT – KK	B4	2.687	2.727	2.739	1.925	2.796	-0.762	-0.802	-0.814	0.87	87.485	92.078	93.4558	91.01
5	KT – KM	B5	2.951	2.89	2.913	1.925	3.102	-1.026	-0.965	-0.988	1.18	87.170	81.988	83.9422	84.37
6	KK – KM	B6	2.75	2.695	2.638	1.925	3.381	-0.825	-0.77	-0.713	1.46	56.662	52.884	48.9698	52.84

F2. Hidrolisat protein kombinasi dua jenis kacang

Sampel pertama

No	Sampel	Ulangan (1)	Ulangan (2)	B (kontrol)	C (blanko)	B - A (ulangan 1)	B - A (Ulangan 2)	B - C	Persentase Ace (ulangan 1)	Persentase Ace (ulangan 2)
1	A1	2.547	2.556	2.8265	2.069	0.280	0.271	0.758	36.898	35.710
2	A2	2.489	2.488	2.8265	2.035	0.338	0.339	0.792	42.641	42.767
3	A3	2.724	2.729	2.8265	2.351	0.103	0.098	0.476	21.556	20.505
4	A4	2.141	2.14	2.8265	2.021	0.686	0.687	0.806	85.102	85.227
5	A5	2.169	2.648	2.8265	2.064	0.658	0.179	0.763	86.230	23.410
6	A6	2.405	2.391	2.8265	1.966	0.422	0.436	0.861	48.983	50.610
7	A7	2.517	2.518	2.8265	2.178	0.310	0.309	0.649	47.726	47.571
8	A8	2.816	2.816	2.8265	2.178	0.011	0.011	0.649	1.619	1.619

Sampel kedua

No	Sampel	Ulangan (1)	Ulangan (2)	B (kontrol)	C (blanko)	B - A (ulangan 1)	B - A (Ulangan 2)	B - C	Persentase Ace (ulangan 1)	Persentase Ace (ulangan 2)
1	A1	3.2	3.197	3.211	3.176	0.011	0.014	0.035	31.429	40.000
2	A2	3.154	3.159	3.211	3.046	0.057	0.052	0.165	34.545	31.515
3	A3	3.132	3.125	3.211	3.024	0.079	0.086	0.187	42.246	45.989
4	A4	3.187	3.187	3.211	3.154	0.024	0.024	0.057	42.105	42.105
5	A5	3.141	3.146	3.211	3.032	0.07	0.065	0.179	39.106	36.313
6	A6	3.137	3.138	3.211	3.017	0.074	0.073	0.194	38.144	37.629
7	A7	3.124	3.123	3.211	3.067	0.087	0.088	0.144	60.417	61.111
8	A8	3.194	3.193	3.211	3.011	0.017	0.018	0.2	8.500	9.000

Standar Deviasi Sampel hidrolisat kacang

Sampel	Rata - rata Persentase Ace (ulangan 1)	Rata - rata Persentase Ace (ulangan 2)	rata rata Total	Standar Deviasi
A1	34.163	37.855	36.009	2.61039
A2	38.593	37.141	37.867	1.02671
A3	31.901	33.247	32.574	0.95169
A4	63.604	63.666	63.635	0.04389
A5	62.668	29.861	46.265	23.19769
A6	43.564	44.119	43.842	0.39297
A7	54.071	54.341	54.206	0.19100
A8	5.060	5.310	5.185	0.17678

F3. Contoh Perhitungan Persentase Aktivitas Penghambatan ACE-1

Persentase penghambatan ACE (%) = $[(B - A)/(B - C)] \times 100\%$

A = nilai absorbansi dengan penambahan ACE dan sampel

B = nilai absorbansi kontrol (buffer menggantikan sampel)

C = nilai absorbansi blanko (HCL ditambahkan sebelum ACE)

Absorbansi A = 2.547

Absorbansi B (kontrol) = 2.8265

Absorbansi C (blanko) = 2.069

% Penghambatan = $[(B - A)/(B - C)] \times 100\%$

= $((2.8265 - 2.547)/(2.8265 - 2.069)) \times 100\%$

= 36.89%

Lampiran G. Gambar Hidrolisat protein kombinasi dua jenis kacang

Gambar sampel hidrolisat kacang



Proses freeze drying

