

MEMPELAJARI PENGARUH PENAMBAHAN BEBERAPA ASAM PADA PROSES ISOLASI PROTEIN TERHADAP TEPUNG PROTEIN ISOLAT KACANG HIJAU (*Phaseolus radiatus L.*)

Agus Triyono

¹Balai Besar Pengembangan Teknologi Tepat Guna - LIPI
K.S Tubun No. 5 Subang, Telp (0260) 411478, Fax (0260) 411239
E-mail : atriyono_b2pttg@yahoo.com,

Abstraks

Protein nabati dari kacang hijau dapat diisolasi untuk diproduksi menjadi isolat protein sebagai bahan suplemen pangan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan jenis asam dan nilai pH isoelektrik yang tepat agar terbentuk koagulan protein kacang hijau. Manfaat dari hasil penelitian yang dilakukan adalah hasilnya sebagai bahan suplemen protein produk pangan bagi masyarakat di negara sedang berkembang dengan pemanfaatan protein dari sumber kacang-kacangan. Maksud penelitian untuk peningkatan diversifikasi produk olahan kacang hijau sehingga menaikkan nilai tambah kacang hijau. Metoda penelitian dengan cara penggumpalan pada pH isoelektrik dari berbagai asam yang ditambahkan, dengan Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah desain faktorial 3x3 Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 3 kali ulangan, yang diikuti dengan perhitungan analisa ANAVA dan Uji Duncan. Penelitian dilaksanakan untuk menentukan pengaruh jenis asam (A) yang berbeda, dari a_1 (asam asetat), a_2 (asam sitrat), dan a_3 (asam klorida) serta untuk menentukan pengaruh pH (B) yang berbeda dari $b_1 = \text{pH } 4.0$, $b_2 = \text{pH } 4.5$, dan $b_3 = \text{pH } 5.0$. Analisis kimia yang dilakukan terdiri dari kadar air dan kadar protein. Hasil penelitian pendahulua, yaitu pembuatan larutan/sari kacang hijau dengan penambahan antara dengan air yang terpilih yang optimum adalah 1:3. Hasil analisis penelitian /utama menunjukkan bahwa produk tepung protein isolate kacang hijau yang mempunyai kadar protein paling tinggi adalah perlakuan $a_1 b_2$ sebesar 76,56 % yaitu dengan penambahan asam asetat(a_1) dengan nilai pH larutan 4.5 (b_2).

Kata kunci : *Phaseolus radiatus, Isolasi, koagulasi, pH isoelektrik*

Pendahuluan

Kacang-kacangan merupakan sumber protein yang baik, dengan kandungan protein berkisar antara 20–35%. Kacang-kacangan selain sumber protein, juga mengandung senyawa lainnya seperti mineral, vitamin B1, B2, B3, karbohidrat dan serat. (Koswara, 2009). Protein merupakan salah satu unsur gizi penting dalam bahan pangan. Kandungan protein dalam bahan pangan beragam, untuk memperoleh protein dalam konsentrasi tinggi, dibuat protein dalam bentuk konsentrat atau isolat. Isolasi protein pada prinsipnya didasarkan atas dua proses utama yaitu ekstraksi dan koagulasi (penggumpalan). Untuk keperluan ini pada umumnya digunakan basa dan asam yang berturut-turut digunakan untuk proses ekstraksi dan penggumpalan/pengendapan.

Pembuatan isolat protein dilakukan dengan menggunakan sifat-sifat fungsional protein. Salah satu yang paling berpengaruh adalah sifat kelarutan protein. Isolat protein dibuat dengan cara mengendapkan protein pada titik isoelektriknya. Dengan cara ini, protein dapat diisolasi dan dipisahkan dari bagian bahan lainnya yang tidak diinginkan. Hasil isolat protein kacang hijau, ini dapat merupakan olahan lanjutan dari pembuatan pati kacang hijau (tepung hunkwe), yaitu dengan mengekstraksi dari kacang hijau dengan air, dan memanfaatkan filtrat. Sedangkan bagian yang mengendap merupakan karbohidrat pati. Koagulasi dan pengendapan dilakukan dengan cara pemanasan, dan penambahan asam, agar mencapai pH tertentu (pH isoelektrik), terjadi penggumpalan, dan endapan (protein) dipisahkan dari cairan (pati). Jenis asam dan pengaruh pH larutan (filtrat) yang sangat berpengaruh pada kemampuan untuk mengkoagulasi protein, dan endapan protein yang terjadi. Endapan protein yang diperoleh dipisahkan melalui proses pencucian, penyaringan dan pengeringan.

Bahan Dan Metodologi Penelitian

Bahan Dan Peralatan

Bahan bahan yang digunakan dalam penelitian adalah kacang hijau (*Phaseolus radiatus L.*), air, asam asetat, asam sitrat, dan asam klorida encer. Bahan analisis kimia adalah toluen, xylol, garam Kjeldahl, selenium, indicator campuran, H₂SO₄ pekat, aquades, NaOH 30%, penolphtalin, HCl 0,1N, dan asam borat (H₃BO₃) 2%. Peralatan yang digunakan untuk proses pembuatan tepung isolat protein kacang hijau adalah panci, kompor gas, timbangan analitik, *blender*, kertas pH, penyaring, alat pengering, dan ayakan 70 *mesh*.

Metode Penelitian

Penelitian pendahuluan disamping dilakukan karakterisasi kacang hijau, juga dilakukan untuk menentukan perbandingan penambahan air dengan kacang hijau, yang optimum yaitu 1:2, 1:3, dan 1:4 yang digunakan pada proses ekstraksi dan pengendapan. Filtrat yang dipisahkan dari endapan dilakukan proses koagulasi dengan dipanaskan pada suhu 80 °C, dan penambahan asam. Hasil dari penentuan perbandingan kacang hijau dengan air yang terbaik dijadikan acuan untuk proses isolasi protein dengan cara koagulasi pembentukan endapan dari hasil filtrat proses ekstraksi air penelitian lanjutan. Penelitian utama terdiri dari rancangan perlakuan terdiri dari 2 faktor yaitu jenis asam (A) dan pH (B). Rancangan Percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 3 faktor perlakuan (3 taraf), masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3. Untuk menguji adanya perbedaan pengaruh perlakuan terhadap respon yang diamati, maka dilakukan analisis dengan model (Gasperzs, 1995) sebagai berikut : $Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \epsilon_{ijk}$
Faktor penambahan jenis asam (A), terdiri 3 taraf (a_1 = asam asetat, a_2 = asam sitrat, dan a_3 = asam klorida), dan faktor pH larutan, terdiri dari 3 taraf (b_1 = pH 4.0, b_2 = pH 4.5, dan b_3 = 5.0). Pengamatan respon kimia terdiri dari kadar protein dan kadar air.

Hasil Dan Pembahasan

1. Penelitian Pendahuluan

1.1. Kadar Protein Kacang Hijau

Hasil dari karakterisasi bahan kacang hijau yang digunakan dapat dilihat pada tabel 2

Tabel 2. Hasil analisis karakterisasi (fisiko-kimia) bahan biji kacang hijau

No	Parameter	Satuan	Nilai
1	Protein	%	22,85
2	Lemak	%	1,20
3	Karbohidrat	%	62,90
4	Kalsium	mg/100g	125,00
5	Fosfor	mg/100 g	320,00

Sumber : *Lab. Pangan dan pakan B2PTTG-LIPI & Lab. BBIA,

Hasil analisis kadar protein pada kacang hijau adalah sebesar 22,85%, analisis kadar protein pada bahan baku ini adalah sebagai acuan untuk mengetahui seberapa besar peningkatan kadar protein setelah menjadi tepung isolate kacang hijau.

1.2. Proporsi Air Ekstraksi

Penelitian pendahuluan dilakukan, untuk mendapatkan perbandingan antara kacang hijau dengan air pengeksrak yang optimum. Pada proses ekstraksi dilakukan melalui tahap perendaman, penggilingan dan pembuburan, pengendapan dan pemisahan antara endapan (pati) dan cairan (filtrat). Filtrat dilanjutkan proses koagulasi dengan pemanasan dan penambahan asam terbentuk koagulan/endapan. Perendaman selama 6 jam, dimaksudkan untuk melunakkan struktur kacang hijau sehingga mudah dilakukan ekstraksi dengan air dengan cara penggilingan, menghasilkan dispersi/suspensi. Perendaman yang terlalu lama dapat mengurangi total padatan

terlarut, dan mempengaruhi kadar protein. Menurut Anglemier dan Montgomery (1976) menyatakan kadar protein semakin menurun dengan semakin lama waktu perendaman. Hal ini disebabkan perendaman yang lama juga mengakibatkan lunaknya struktur sel kacang hijau, mengakibatkan air lebih mudah masuk kedalam struktur sel, dan terjadi putusnya ikatan struktur protein, sehingga protein terlarut dalam air.

Tabel 1. Koagulan yang terbentuk, dari variasi perlakuan perbandingan air pada proses ekstraksi dan koagulasi asam asetat pada pH 4,5.

Variasi perbandingan air pengestrak	Berat kacang hijau Kering (gram)	Filtrat hasil pengendapan bubuk (gram)	Endapan hasil koagulasi filtrate (gram)
1:2	500	1030	390
1:3	500	1580	540
1:4	500	2050	370

Perlakuan variasi perbandingan penambahan air dengan kacang hijau 1:3, menghasilkan koagulan/endapan yang optimum dibandingkan dengan penambahan air perbandingan 1:2 dan 1:4. Karena kemungkinan sebagian protein yang terkandung dalam kacang sebagian ikut bersama endapan pati pada proses ekstraksi dengan air. Pada saat proses pemanasan dan penambahan asam, terjadi proses koagulasi dan ada yang terdenaturasi lebih lanjut pada saat pemanasan.

Penambahan jumlah air sebagai pelarut, dan protein yang larut cara berdifusi ke pelarut air semakin banyak. Sehingga kadar protein yang tersisa dalam rafinat (ampas) semakin sedikit. Interaksi ini didasarkan pada adanya sifat hidrofilik dari protein. Sifat ini timbul oleh adanya rantai sisi polar di sepanjang rantai peptida, yaitu gugus karboksil dan amino. Molekul protein mempunyai beberapa gugus yang mengandung atom N atau O yang tidak berpasangan. Atom N pada rantai peptida bermuatan negatif sehingga mampu menarik atom H dari air yang bermuatan positif. Molekul air yang telah terikat tersebut dapat berikatan dengan molekul air yang lain, karena memiliki sebuah atom O dengan elektron yang tidak berpasangan (Damodaran *and* Paraf, 1997).

Asam amino utama yang terkandung pada kacang hijau adalah metionin dan sistein, dan masing-masing mempunyai titik isoelektrik 5,7 dan 4,3. Kedua asam amino tersebut termasuk ke dalam asam amino polar. yang memiliki sifat sebagai berikut, memiliki gugus R yang tidak bermuatan, dan bersifat hidrofilik, serta cenderung terdapat di bagian luar molekul protein. Sifat protein yang hidrofilik atau mampu menyerap air disebabkan oleh adanya rantai yang mempunyai gugus-gugus polar, seperti karbonil, hidroksil, amino, karboksil, dan sulfhidril, sehingga dapat membentuk ikatan hidrogen dengan air. Dengan jumlah dan tipe gugus-gugus polar yang berbeda maka kemampuan protein dalam menyerap air pun berbeda (Kilara, 1994).

Selain itu penggumpalan protein dan endapan yang terbentuk dapat disebabkan oleh terjadinya koagulasi dan denaturasi protein. Denaturasi dapat mengubah sifat protein menjadi sukar larut dalam air. Penggumpalan ini dapat disebabkan oleh pemanasan, penambahan asam, penambahan enzim, dan adanya logam berat. Penambahan asam asetat dilakukan setelah pemanasan pada suhu 80°C. Pemanasan lebih lanjut dan penambahan asam ini akan menyebabkan denaturasi rusaknya struktur protein sehingga protein akan mengendap.. Denaturasi dapat diartikan sebagai perubahan atau modifikasi terhadap struktur sekunder, tersier dan kuartener molekul protein, tanpa terjadinya pemecahan ikatan-ikatan kovalen. Karena itu denaturasi dapat pula dikatakan sebagai suatu proses terpecahnya ikatan hydrogen interaksi hidrofobik, ikatan garam, dan terbentuknya lipatan atau wiru molekul (Winarno, 1992).

Pengendapan protein oleh asam asetat terjadi cukup cepat karena adanya panas. Pertama-tama akan terjadi presipitasi yaitu pembentukan presipitat atau partikel kecil yang melayang-layang dalam larutan dan dapat mengendap dalam waktu singkat (Suwedo, 1994). Presipitat

tersebut akan saling bergabung membentuk agregat (partikel yang lebih besar) dari presipitat tapi belum mengendap. Jika jumlah agregat terus bertambah maka akan saling membentuk endapan. Adanya ion H^+ menyebabkan sebagian jembatan atau ikatan peptida terputus. Dalam suasana asam, ion H^+ akan bereaksi dengan gugus COO^- membentuk $COOH$ sedangkan sisanya (asam) akan berikatan dengan gugus amino NH_2 membentuk NH_3^+ , sehingga apabila larutan peptida dalam keadaan isoelektris diberi asam akan menyebabkan bertambahnya gugus bermuatan yang membentuk afinitas terhadap air dan kelarutan dalam air.

Kelarutan protein akan meningkat jika diberi perlakuan asam yang berlebih, hal ini terjadi karena ion positif pada asam yang menyebabkan protein yang semula bermuatan netral atau nol menjadi bermuatan positif yang menyebabkan kelarutannya bertambah. Semakin jauh derajat keasaman larutan protein dari titik isoelektrisnya, maka kelarutannya akan semakin bertambah.

Suhardi (1991), menyatakan tiap-tiap asam amino mempunyai titik isoelektris yang berbeda-beda. Titik isoelektris adalah saat dimana pada pH asam amino berada pada bentuk amfoter (zwitter ion), dan pada saat titik isoelektris ini kelarutan protein menurun dan mencapai angka terendah, protein akan mengendap dan menggumpal. Pada saat titik isoelektris ini jumlah kation dan anion yang terbentuk sama banyaknya. Sejalan dengan pendapat (Soeharsono, 1989), yang menyatakan berdasarkan struktur molekulnya, pada dasarnya asam amino merupakan senyawa yang bermuatan ganda atau zwitter ion, keadaan ini mudah berubah karena dipengaruhi oleh keadaan sekitar atau pH lingkungan. Pada pH rendah (suasana asam) asam amino akan bermuatan positif sedangkan pada pH tinggi (suasana basa) akan bermuatan negatif. Pada pH 4,8–6,3 (pH isoelektris) asam amino akan berada pada keadaan dipolar atau ion zwitter. Pada keadaan ini kelarutan protein dalam air paling kecil sehingga protein akan menggumpal dan mengendap

2. Hasil penelitian Utama

Penelitian utama dilakukan untuk mengetahui pengaruh penambahan jenis asam yang berbeda terhadap kadar protein tepung isolat kacang hijau. Penelitian utama untuk mengetahui pengaruh jenis asam dan pH larutan terhadap hasil tepung isolat protein. Dengan melakukan pengamatan beberapa respon fisika kimia yaitu kadar protein dan kadar air.

2.1. Kadar Protein Tepung solat

Berdasarkan hasil analisis statistik menunjukkan bahwa penambahan jenis-jenis asam (A) dan nilai pH yang berbeda (B), serta interaksinya (AB) berpengaruh terhadap kadar protein tepung isolat kacang hijau. Hasil perhitungan analisis variansi menunjukkan bahwa interaksi penambahan jenis asam dan nilai pH berbeda memberikan pengaruh terhadap kadar protein isolat kacang hijau.

Tabel 3. Pengaruh interaksi jenis asam dan nilai pH terhadap protein isolat kacang hijau

Asam (A)	pH (B)		
	$b_1 = 4,0$	$b_2 = 4,5$	$b_3 = 5,0$
$a_1 = a.$ asetat	62.75 A a	76.56 C c	64.69 C b
$a_2 = a.$ sitrat	61.94 A c	56.75 A b	54.73 A a
$a_3 = a.$ klorida	75.28 B c	68.72 B b	60.48 B a

Keterangan : Huruf kecil dibaca horizontal dan huruf besar dibaca vertikal. Setiap huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata berdasarkan uji lanjut Duncan pada taraf 5%.

Pada tabel 3 menunjukkan bahwa perlakuan a_1b_1 , a_1b_2 , a_1b_3 berpengaruh nyata terhadap kadar protein isolat kacang hijau. Hal yang sama juga ditunjukkan oleh perlakuan a_2b_1 , a_2b_2 , dan

a_2b_3 serta perlakuan a_3b_1 , a_3b_2 , a_3b_3 . Dari ketiga jenis asam tersebut mempunyai perbedaan sifat daya koagulasi yang berbeda. Perlakuan penambahan asam dan pemanasan mengakibatkan gumpalan protein yang banyak pada filtrat, dengan intensitas gumpalan cukup tinggi. Hidrolisis protein dapat dilakukan dengan penambahan larutan asam kuat seperti HCl dan asam lemah seperti asam asetat serta asam sitrat pada suhu tinggi yang dapat mengakibatkan terjadinya denaturasi. Penambahan asam mengakibatkan penambahan ion H^+ sehingga akan menetralkan protein dan tercapainya pH isoelektrik. Menurut Suhardi (1991), pada titik isoelektris protein bersifat hidrofobik. Tiap jenis protein mempunyai titik isoelektrik pada pH tertentu. Pada titik isoelektrik protein akan berikatan antara muatannya sendiri membentuk lipatan ke dalam sehingga terjadi pengendapan yang relatif cepat.

Asam sitrat merupakan asam lemah, dan mempunyai daya koagulasi, dan menghasilkan endapan protein yang rendah, yang rendah berkisar 54,73 %- 61,94 %. sehingga hanya dapat menyebabkan denaturasi protein dalam jumlah yang lebih sedikit. dengan sifat keelektronegatifannya yang rendah.

Penambahan asam asetat dalam larutan protein dapat menyebabkan denaturasi protein. Hal ini terjadi karena asam asetat tidak dapat terionisasi sempurna dengan sifat keelektronegatifannya yang lebih kecil dibandingkan asam klorida. Penambahan asam asetat dengan nilai pH 4,5 memberikan hasil yang optimum terhadap kadar protein isolat kacang hijau, karena dengan nilai pH tersebut mendekati titik isoelektrik asam amino cistin yang terkandung dalam kacang hijau yaitu berkisar 4,3. Penambahan asam asetat pada filtrat yang telah dipanaskan berarti menambahkan konsentrasi dari ion H^+ yang kemudian akan mengadakan reaksi dengan muatan negatif protein yang berasal dari gugus hidroksil bebasnya. Semakin banyak konsentrasi H^+ yang ditambahkan maka semakin banyak pula penurunan pH dari filtrat sehingga titik isoelektriknya semakin dekat. Apabila pH isoelektrik sudah tercapai maka muatan yang saling berlawanan akan saling menetralkan sehingga akan terbentuk gumpalan. Semakin kecil pH buffer asetatnya, semakin banyak endapannya. Karena pH yang kecil akan banyak membentuk endapan berarti selisih muatan listriknya antara yang positif dan negatif sama. Sehingga, tidak dapat bergerak dan membentuk endapan atau warna keruh.

Penambahan asam klorida (HCl) yang bersifat asam kuat mengakibatkan terdapat ion H^+ yang berlebih, yang menunjukkan adanya kekeruhan dan adanya endapan lebih banyak pada proses pemanasan. Keelektronegatifan asam kuat lebih besar sehingga menarik ikatan elektron lebih kuat daripada atom hidrogen, dan lebih mudah dalam pembentukan ion H^+ . Kekuatan asam meningkat dengan naiknya keelektronegatifan atom X pada ikatan H-X. Jenis asam amino yang lebih banyak terkandung dalam kacang hijau adalah asam amino cistin dan metionin, sehingga penambahan asam kuat ini tidak memberikan hasil kadar protein isolat kacang hijau yang optimum, karena penggunaan asam kuat seperti HCl akan berpengaruh terhadap beberapa asam amino sehingga mengakibatkan kerusakan seperti pada cistin, triptofan, serina dan treonin. Sejalan dengan pendapat Lehninger (1982), yang menyatakan pengaruh pH didasarkan pada adanya perbedaan muatan antara asam-asam amino penyusun protein, daya tarik menarik yang paling kuat antar protein yang sama terjadi pada pH isoelektrik. Sedangkan pada pH di atas dan di bawah titik isoelektrik protein akan mengalami perubahan muatan yang menyebabkan menurunnya daya tarik menarik antar molekul protein, sehingga molekul lebih mudah terurai. Semakin jauh perbedaan pH dari titik isoelektrik maka kelarutan protein akan semakin meningkat.

Denaturasi protein dapat diartikan suatu perubahan atau modifikasi terhadap struktur sekunder, tertier dan kuartener molekul protein tanpa terjadinya pemecahan ikatan-ikatan kovalen. Karena itu, denaturasi dapat diartikan suatu proses terpecahnya ikatan hydrogen, interaksi hidrofobik, ikatan garam dan terbukanya lipatan atau wiru molekul protein (Winarno, 1992). Ada dua macam denaturasi protein, yaitu pengembangan rantai peptida dan pemecahan protein menjadi unit yang lebih kecil tanpa disertai pengembangan molekul. Terjadinya kedua jenis denaturasi ini tergantung pada keadaan molekul. Yang pertama terjadi pada rantai polipeptida, sedangkan yang kedua terjadi pada bagian-bagian molekul yang tergabung dalam ikatan sekunder. Ikatan-ikatan yang dipengaruhi oleh proses denaturasi ini adalah ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik misalnya pada leusin, valin, fenilalanin, triptofan yang saling berikatan membentuk suatu misel dan tidak

larut dalam air, ikatan ionik antara gugus bermuatan positif dan gugus bermuatan negatif, dan ikatan intramolekuler seperti yang terdapat pada gugus disulfida dalam sistin (Winarno1992).

Protein yang terdenaturasi akan mengendap karena gugus-gugus yang bermuatan positif dan negatif dalam jumlah yang sama atau netral atau dalam keadaan titik isoelektrik. Pada denaturasi terjadi pemutusan ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik dan ikatan garam hingga molekul protein tidak punya lipatan lagi. Pengembangan molekul protein yang terdenaturasi akan membuka gugus reaktif yang ada pada rantai polipeptida. Selanjutnya akan terjadi pengikatan kembali pada gugus reaktif yang sama atau berdekatan. Bila unit ikatan yang terbentuk cukup banyak sehingga protein tidak lagi terdispersi sebagai suatu koloid, maka protein akan mengalami koagulasi. Apabila ikatan-ikatan antara gugus-gugus reaktif protein tersebut menahan seluruh cairan, akan terbentuklah gel. Sedangkan bila cairan terpisah dari protein yang terkoagulasi itu, maka protein akan mengendap (Winarno,1992).

Ophart, C.E., (2003), menyatakan ikatan peptida protein tidak seluruhnya dapat terputus akibat denaturasi, karena struktur primer protein tetap sama setelah proses denaturasi. Pada struktur protein tersier terdapat empat jenis interaksi yang membentuk ikatan pada rantai samping seperti; ikatan hidrogen, rantai garam, ikatan disulfida dan interaksi hidrofobik non polar, yang kemungkinan mengalami gangguan. Denaturasi yang umum ditemui adalah proses presipitasi dan koagulasi protein Protein yang terdenaturasi akan berkurang kelarutannya. Lapisan molekul bagian dalam yang bersifat hidrofobik akan keluar sedangkan bagian hidrofilik akan terlipat ke dalam. Pelipatan atau pembalikan akan terjadi bila protein mendekati pH isoelektris lalu protein akan menggumpal dan mengendap. Viskositas akan bertambah karena molekul mengembang menjadi asimetrik, sudut putaran optis larutan protein juga akan meningkat (Winarno, 1992).

Protein yang menggumpal atau mengendap merupakan salah satu ciri fisik dari terdenaturasinya suatu protein. Terjadinya denaturasi pada protein ini dapat disebabkan oleh banyak faktor, seperti pengaruh pemanasan, asam atau basa, garam, dan pengadukan. Masing-masing cara mempunyai pengaruh yang berbeda-beda terhadap denaturasi protein.

Protein akan mengalami denaturasi apabila dipanaskan pada suhu 50⁰C sampai 80⁰C. Laju denaturasi protein dapat mencapai 600 kali untuk tiap kenaikan 10⁰C. Koagulasi ini hanya terjadi apabila larutan protein berada pada titik isoelektriknya. Protein yang terdenaturasi pada titik isoelektriknya masih dapat larut pada pH di luar titik isoelektrik tersebut. Air ternyata diperlukan untuk proses denaturasi oleh panas. (Poedjiadi, 1994)

Sejalan dengan pendapat Winarno (1992), yang menyatakan perlakuan panas dapat memberikan pengaruh yang menguntungkan dan merugikan terhadap protein. Pengaruh yang menguntungkan yaitu meningkatnya daya guna protein, sebab adanya pemanasan pada proses pengolahan dapat menginaktifkan atau menurunkan protein inhibitor. Pemanasan akan membuat protein bahan terdenaturasi sehingga kemampuan mengikat airnya menurun.

Ophart, C.E., (2003), menyatakan ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik non polar protein dapat dirusak akibat panas. Energi kinetik yang meningkat akibat suhu tinggi dapat menyebabkan molekul penyusun protein bergerak atau bergetar semakin cepat sehingga merusak ikatan molekul tersebut. Selain itu, energi panas akan mengakibatkan terputusnya interaksi non-kovalen yang ada pada struktur alami protein tapi tidak memutuskan ikatan kovalennya yang berupa ikatan peptida. Asam atau basa akan memecah ikatan ion intramolekul yang menyebabkan koagulasi protein. Semakin lama protein bereaksi dengan asam atau basa kemungkinan besar ikatan peptida terhidrolisis sehingga struktur primer protein rusak. Asam lemah, yaitu asam yang dalam air sebagian kecil molekulnya terurai menjadi ion-ionnya atau hanya akan berdisosiasi sebagian dalam larutan yang asam. Asam kuat adalah asam yang dalam air sebagian besar atau seluruh molekulnya terurai menjadi ion-ionnya.

Mekanisme penggumpalan protein sebenarnya masih belum sepenuhnya diketahui, namun paling tidak melalui 2 cara. Pertama, akibat denaturasi protein, konformasi molekul protein berubah, baik karena pemanasan atau kimiawi. Kedua, tahap penggumpalan karena peristiwa denaturasi protein merupakan syarat mutlak, dimana penggumpalan akan membuka kesempatan molekul protein saling berinteraksi satu dengan lainnya, sehingga peristiwa gelatinisasi atau terbentuknya gel terjadi (Simon, 2009) Sifat-sifat fungsional protein dapat diklasifikasikan ke

dalam tiga kelompok utama, yaitu (1) sifat hidrasi (berhubungan dengan interaksi protein-air) seperti daya ikat air, kebasahan, daya lekat, kekentalan, dan kelarutan ; (2) sifat yang berhubungan dengan interaksi protein-protein seperti pembentukan gel, dan (3) sifat-sifat permukaan seperti tegangan permukaan, emulsifikasi dan pembentukan buih (Cheftel et al., 1985).

2.2. Kadar Air Isolat Protein

Penambahan jenis-jenis asam (A) dan nilai pH yang berbeda (B), serta interaksinya (AB) tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar air tepung isolat kacang hijau. Hasil perhitungan analisis variansi menunjukkan bahwa interaksi penambahan jenis-jenis asam dan nilai pH yang berbeda, tidak memberikan pengaruh terhadap kadar air tepung isolat kacang hijau.

Tabel 4. Pengaruh interaksi jenis Asam dan nilai pH terhadap kadar air isolat kacang hijau

Asam (A)	pH (B)		
	$b_1 = 4,0$	$b_2 = 4,5$	$b_3 = 5,0$
$a_1 = \text{a. asetat}$	7,29 A a	7,27 A a	6,87 A a
$a_2 = \text{a. sitrat}$	7,73 A a	5,87 A a	7,12 A a
$a_3 = \text{a. klorida}$	7,29 A a	6,76 A a	7,39 A a

Keterangan : Huruf kecil dibaca horizontal dan huruf besar dibaca vertikal. Setiap huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata berdasarkan uji lanjut Duncan pada taraf 5%.

Pada tabel 4, menunjukkan bahwa perlakuan a_1b_1 , a_1b_2 , a_1b_3 tidak berpengaruh nyata terhadap kadar air isolat kacang hijau. Ditunjukkan pula oleh perlakuan a_2b_1 , a_2b_2 , dan a_2b_3 serta perlakuan a_3b_1 , a_3b_2 , a_3b_3 . Hal ini dapat disebabkan oleh nilai pH dan jenis asam yang ditambahkan tidak berpengaruh, tetapi lebih dipengaruhi oleh akibat suhu dan waktu pengeringan yang digunakan sama. Kadar air produk sangat tergantung dari pengemasan dan lama penyimpanan. Pengemasan yang kurang baik akan menyebabkan terjadinya kerusakan pada produk dan daya simpan produk tersebut tidak akan tahan lama. Produk-produk yang memiliki kadar air yang rendah biasanya bersifat higroskopis atau mudah menyerap air. Produk kering akan lebih stabil daripada yang lembab. Kadar air yang rendah dapat menekan sedikit mungkin pertumbuhan jamur dan bakteri dalam produk sehingga produk akan menjadi lebih awet.

Proses pengeringan pada pembuatan tepung isolat protein kacang hijau bertujuan untuk menurunkan jumlah air yang dikandung oleh bahan. Kadar air merupakan salah satu parameter yang cukup penting pada produk tepung karena berkaitan dengan mutu. Semakin rendah kadar airnya, maka produk tepung tersebut semakin baik mutunya karena dapat memperkecil media untuk tumbuhnya mikroba yang dapat menurunkan mutu pada produk tepung. Kadar air tepung yang diperoleh berkisar antara 5,87 % sampai 7,39 %. Kondisi ini sudah memenuhi syarat kadar air yang aman untuk tepung yaitu < 13 % sehingga dapat mencegah pertumbuhan kapang.

Pengeringan juga dipengaruhi oleh keadaan kelembaban udara disekitarnya, Semakin kering udara maka makin cepat pula proses pengeringan yang terjadi. Udara kering dapat menyerap dan menampung uap air lebih banyak daripada udara lembab. Jika udara sekitar memiliki kelembaban yang tinggi uap air di atmosfer akan menjadi jenuh, sehingga udara sekitar tidak dapat lagi menangkap uap air yang dihasilkan dari proses pengeringan. Kadar air awal dalam bahan pangan ikut menentukan tingkat penerimaan konsumen, kesegaran dan daya tahan dari makanan tersebut, oleh karena itu penentuan kadar air perlu dilakukan untuk mengetahui kondisi suatu produk makanan (deman, 1997).

Air dalam bahan pangan merupakan komponen terpenting karena kandungan air dalam bahan pangan ikut menentukan cita rasa, tekstur, serta kenampakan makanan, selain itu air menentukan pula kesegaran dan daya tahan bahan makanan. Kandungan air dalam bahan makanan mempengaruhi daya tahan bahan makanan tersebut terhadap serangan mikroba yang dinyatakan dalam aw (Winarno, 1993). Semakin rendah kadar air yang dimiliki suatu produk maka semakin baik mutu produk yang dihasilkan. Winarno (1993) menjelaskan bahwa produk makanan yang memiliki kadar air berkisar 3 - 4% maka akan tercapai kestabilan yang optimum pada produk makanan tersebut. Kadar air yang rendah pertumbuhan mikroba, reaksi-reaksi kimia akan berkurang.

Kesimpulan Dan Saran

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian Kajian Penambahan Beberapa Jenis Asam Terhadap Kadar Protein Isolat Tepung Kacang Hijau (*Phaseolus Radiatus L.*) dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Pada penelitian pendahuluan perbandingan air dengan kacang hijau yang optimu menghasilkan koagulasi atau endapan protein terpilih adalah 1:3.
2. Ada interaksi pengaruh jenis asam (A) dan nilai pH (B) yang berbeda berpengaruh terhadap kadar protein tepung isolat kacang hijau, tetapi tidak berpengaruh pada kadar air isolat protein
3. Hasil analisis penelitian utama menunjukkan bahwa Produk tepung isolat kacang hijau yang mempunyai kadar protein paling tinggi adalah perlakuan a_1b_2 , sebesar 77,576 % yaitu kombinasi dengan penambahan asam asetat (a_1) pH larutan 4,5 (b_2)

Saran

1. Dalam pembuatan tepung isolat protein dari kacang hijau dapat menggunakan asam asetat pada pH larutan (filtrat) 4,5 sebagai bahan koagulan yang terbaik untuk pembuatan isolat protein dari kacang hijau.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pengaruh lama perendaman biji kacang hijau, sistim pengeringan yang tepat terhadap isolat protein kacang hijau.

Daftar Pustaka

- Anglemier, A.E. and M. W. Montgomery, (1976), **Amino Acids Peptides and Protein**. Mercil Decker Inc. , New York.
- Anonim,(2009), **Isolat Protein**, <<http://www.capuholic.blogspot.com>> Akses 13 September 2009.
- Anonim,(2008), **Amino dan Protein**, <<http://www.darmaqua.blogspot.com>> Akses 13 September 2009.
- Anonim,(2007), **Pengetahuan Protein**, <<http://www.blogspot.com>> Akses 13 September 2009.
- Anonim,(2009), **Asam asetat**, <<http://www.wikipedia.org>>, Akses 13 September 2009.
- Anonim,(2009), **Asam sitrat**, <<http://www.wikipedia.org>>, Akses 13 September 2009.
- Anonim,(2009), **Asam klorida**, <<http://www.wikipedia.org>>, Akses 13 September 2009.
- Astawan, M., (2009), **Sehat dengan Hidangan Kacang dan Biji-bijian**, Penerbit Penebar Swadaya, Jakarta.
- Cheft el, J.C., J.L Cuq and D Lorient, (1985) **Amino Acid, Peptide and Protei** Marcell Dekker Inc, New York.
- Darmawan., (2008), **Amino dan Protein**, <<http://www.darmaqua.blogspot.com>>Akses 13 September 2009.
- Damodaran, S. dan Kinsella, J.E., (1982), **Effect of Conglycinin On Thermal Aggregation of Glycinin**, J.Agric. Food Chem.deMan, J.M., (1997) **Kimia Makanan**, Institut Teknologi Bandung, Bandung
- Hutton, C.W. dan Campbell, A.M., (1977), **Functional Properties Of Soy Concentrate And Soy Isolates In Simple System And In Food System Emulsion Properties, Thickening Function And Fat Absorption**, J. Food Science.
- Kinsella, J.E., (1985), **Functional Criteria For Expanding Utilizations Of Soy Protein in**



- Foods**, World Soybean Research Conference III, Proceedings Westview Press. Kinsella, J.E. dan Damodaran, S., (1981), **Interaction Of Carbonyls With Soy Protein Conformation Effects**, J.Agric. Food Chem.
- Koswara, S., (2009), **Kacang-kacangan Sumber Serat yang Kaya Gizi**, <<http://www.wikimiku.com>>, Akses 13 September 2009.
- Lestari, I., (1996), **Mempelajari Formulasi Food Ingridients Dari Isolat Protein Kedelai dengan Modifikasi Kimiawi**, skripsi, Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor.
- Lehninger, A.L., (1982), **Principle Of Biochemistry**. Worth Publ. Inc., NewYork.
- Lingga. LM., (2001), **Mempelajari Variasi Konsentrasi NaOH Dan Ukuran Tepung Kedelai Dalam Ekstraksi Terhadap Pembuatan Isolate Protein Kedelai Dan Rancang Bangun Ekstraktor Kapasitas 1,2 Liter Menjadi Kapasitas 50 Liter**, Skripsi, Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Unpas Bandung.
- Maulana, L., (1999), **Isolasi Protein dari Kecipir, Kacang Hijau, dan Kacang Tolo dengan variasi NaOH**, Skripsi, Program Studi Teknologi Pangan, Unpas Bandung.