

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Sari Kedelai

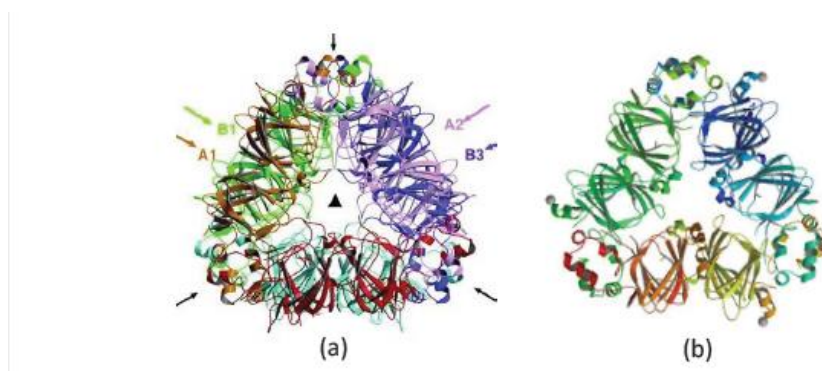
Kedelai merupakan salah satu jenis kacang-kacangan yang kaya akan nutrisi dan senyawa bioaktif, namun mengandung beberapa senyawa anti nutrisi seperti inhibitor tripsin, lektin dan asam fitat (Penas *et al.*, 2004) serta tanin pada kulit bijinya (Haliza *et al.*, 2007). Senyawa anti nutrisi tersebut dapat dihilangkan atau dikurangi melalui pemanasan dan pengolahan pangan (Friedman *et al.*, 1991) salah satunya menjadi produk sari kedelai. Sari kedelai mengandung isoflavon sebanyak  $194,8 \pm 30,0$  mg (Wang dan Murphy, 1996) dan sangat baik digunakan sebagai pengganti susu sapi bagi masyarakat yang menderita intoleransi laktosa karena mempunyai kandungan susunan asam amino yang mirip dengan susu sapi (Herawati dan Wibawa, 2011; Koswara, 1992). Komposisi kimia sari kedelai dan susu sapi tiap 100 gram disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Kimia Sari Kedelai dan Susu Sapi tiap 100 gram (Direktorat Gizi, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1992)

Komponen	Sari Kedelai	Susu Sapi
Kalori (kkal)	41,00	61,00
Protein (g)	3,50	3,20
Lemak (g)	2,50	3,50
Karbohidrat (g)	5,00	4,30
Fosfor (g)	45,00	60,00
Vitamin A (SI)	200,00	130,00
Vitamin B (mg)	0,08	0,03
Air (g)	87,00	88,33

## 2.2. Protein Kedelai

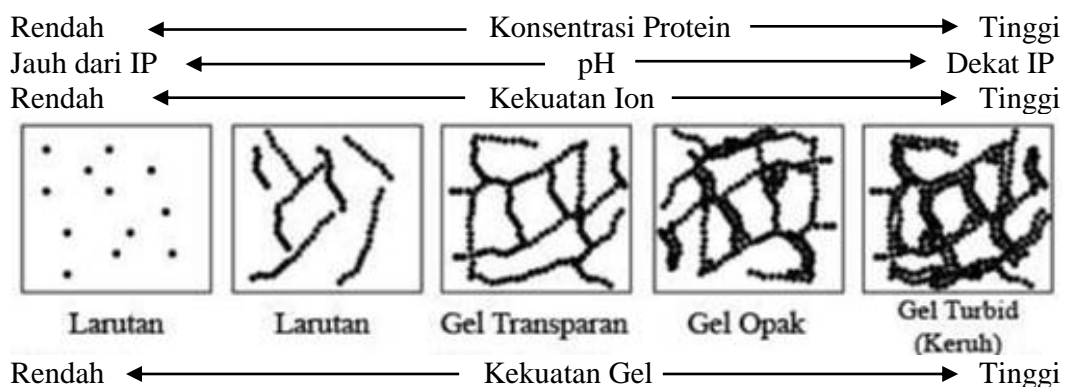
Kandungan protein yang tinggi pada kedelai (37-42%) (Khrisnan *et al.*, 2007) menyebabkan produk yang dihasilkan juga mengandung protein tinggi. Berdasarkan kelarutannya, protein kedelai terdiri dari globulin yang merupakan kandungan protein kedelai terbesar (90%) dan sisanya adalah albumin (larut dalam air), glutelin (larut dalam basa encer) serta prolamin (larut dalam alkohol 70%) (Belitz dan Grosch, 1999). Fraksi protein utama penyusun globulin adalah protein 7S (18-32%) dan 11S (31-52%) dari total protein kedelai (He *et al.*, 2015). Globulin 7S maupun 11S terdiri atas subunit-subunit protein. Protein 7S atau  $\beta$ -conglycinin merupakan protein dengan struktur trimer yang terdiri atas 3 tipe subunit ( $\alpha'$ ,  $\alpha$  dan  $\beta$ ) sedangkan protein 11S atau *glycinin* merupakan protein yang tersusun atas polipeptida asam dan basa yang saling dihubungkan oleh ikatan disulfida (Zhao *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2008). Protein 7S dan 11S berperan penting dalam proses penggumpalan protein kedelai. Model pita protein *glycinin* (11S) dan  $\beta$ -conglycinin (7S) disajikan pada Ilustrasi 1.



**Ilustrasi 1.** Model Pita Protein: (a) *Glycinin* (11S) subunit A<sub>3</sub>B<sub>4</sub> dan (b)  $\beta$ -conglycinin (7S) subunit  $\alpha'$  (Maruyama *et al.*, 2004)

### 2.3. Koagulasi Protein Kedelai

Koagulasi dikenal sebagai proses dimana protein tidak lagi terdispersi sebagai suatu koloid karena unit ikatan yang terbentuk cukup banyak sehingga membentuk gumpalan. Koagulasi dapat dilakukan dengan pemanasan yang dikombinasi dengan pengasaman, garam maupun enzim (Anggraini *et al.*, 2013). Koagulasi terjadi ketika pH mendekati titik isoelektrik protein kedelai yaitu 4,5-4,8 (Nishinari *et al.*, 2014) lalu menggumpal tergantung dari jenis dan konsentrasi koagulan serta suhu koagulasi (Syah *et al.*, 2012). Denaturasi akibat pemanasan yang diikuti dengan agregrasi dan pembentukan gel merupakan tahap penting untuk menjamin protein dalam suspensi menyatu (Zhao *et al.*, 2016). Gel terbentuk karena gangguan dari kedua hidrofobik dan jembatan garam yang dipengaruhi oleh pH, pelarut, kekuatan ion, struktur protein dan tekanan (Kajiyama *et al.*, 1995). Pembentukan gel ini akan mempengaruhi struktur matriks protein pada gel yang terbentuk sehingga dapat berdampak pada kualitas *whey* kedelai yang dihasilkan. Model pembentukan struktur matriks protein dengan perubahan konsentrasi protein, pH dan kekuatan ion disajikan pada Ilustrasi 2.



**Ilustrasi 2.** Pembentukan Struktur Matriks Protein dengan Perubahan Konsentrasi Protein, pH dan Kekuatan Ion (Zhao *et al.*, 2016; Oakenfull *et al.*, 1997)

Koagulasi akan membentuk *curd* sebagai bagian sari kedelai yang menggumpal dan *whey* kedelai sebagai bagian sari kedelai yang tidak menggumpal. Protein yang strukturnya terbuka sebagian akan terurai menjadi segmen-segmen polipeptida lalu berinteraksi pada titik tertentu untuk membentuk ikatan silang tiga dimensi sehingga terbentuk gel (Fahmi *et al.*, 2010). Jaringan gel baru akan terbentuk setelah sebagian protein mengalami denaturasi. Pembentukan struktur jaringan gel dipengaruhi oleh kekuatan anion dan kation yang berhubungan dengan kemampuan gel protein kedelai dalam mengikat air (Karsono *et al.*, 2010). Selain itu, kecepatan koagulasi berdampak pada matriks dan tekstur *curd* (Komar *et al.*, 2009; Obatolu, 2007), sehingga semakin tinggi penambahan koagulan dapat mengurangi palatabilitas (Blazek, 2008) serta berpotensi besar mengalami proteolisis (Anggraini *et al.*, 2013).

Sifat koagulasi protein kedelai sering dihubungkan dengan protein 7S dan 11S yang merupakan subunit protein utama penyusun protein globulin pada kedelai. Rasio 7S akan mempengaruhi elastisitas gel sedangkan rasio 11S berkontribusi terhadap tingkat kekerasan dan kekokohan gel. Protein 11S akan membentuk matriks tiga dimensi sehingga mempunyai kekuatan pembentukan gel dan *Water Holding Capacity* (WHC) yang lebih besar dibandingkan protein 7S (Hettiarachchy dan Kalapathy, 1998). Hal ini disebabkan karena adanya ikatan disulfida pada protein 11S akan mempengaruhi disosiasi/assosiasi dan perilaku subunit protein *unfold* (struktur terbuka). Karakteristik gel hasil koagulasi protein yang terbentuk dapat mempengaruhi karakteristik mutu suatu produk pangan berbasis *curd* sehingga mempengaruhi sifat *whey* kedelai yang dihasilkan.

#### 2.4. Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*)

Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) merupakan sejenis tanaman buah yang banyak tumbuh di pekarangan rumah. Tanaman ini sudah tumbuh menyebar hampir diseluruh Nusantara dan buahnya sering disebut belimbing sayur. Belimbing wuluh merupakan tanaman tropis sehingga dapat berbuah sepanjang tahun (Parikesit, 2011). Tanaman belimbing wuluh dapat tumbuh dengan ketinggian 5-10 meter, batang pendek bergelombang, daun majemuk menyirip dengan anak daun berbentuk oval, bunga kecil berbentuk bintang yang bergerombol berwarna merah kekuningan, buah lonjong dengan panjang 4-10 cm, berair, berwarna hijau saat muda dan kuning pucat jika sudah masak, berkulit tipis dan mengkilap (Winarto, 2003). Belimbing wuluh jarang dikonsumsi secara langsung dan apabila sudah matang harus segera dipanen karena mudah gugur dari pohon dan cepat membusuk.

Taksonomi belimbing wuluh menurut Parikesit (2011) adalah *Kingdom* : *Plantae*, *Divisio* : *Magnoliophyta*, *Subdivisio* : *Spermatophyta*, *Class* : *Magnoliopsida*, *Ordo* : *Geraniales*, *Familia* : *Oxalidaceae*, *Genus* : *Averrhoa* dan *Species* : *Averrhoa bilimbi*. Kandungan gizi dalam 100 gram belimbing wuluh adalah 23 kkal energi, 0,7 g protein, 0,2 g lemak, 4,5 g karbohidrat, 1,5 g serat kasar, 0,3 g abu, 8 mg kalsium, 11 mg fosfor, 0,4 mg besi, 100 ug beta karoten, 17 ug Vitamin A, 0,01 mg thiamin, 0,03 mg riboflavin, 0,3 mg niacin, 18 mg Vitamin C dan 94,3 g kadar air (Parikesit, 2011). Selain itu, kandungan kimia alami dalam belimbing wuluh antara lain saponin, tanin, glukosida, kalsium oksalat, sulfur, berbagai jenis asam dan peroksida (Winarto, 2003) serta kandungan fenol sebanyak  $1261,63 \pm 31,41$  mg GAE/100 g dan nilai aktivitas antioksidan sebesar  $91,89\% \pm$

0,01% (Sabularse, 2009). Belimbing wuluh mengandung asam sitrat tinggi mencapai 92-133 meq asam/100 g total padatan (Prahadi *et al.*, 2015) dan mengandung vitamin C sebesar 25 mg/100 g belimbing wuluh segar (Prastian, 2008). Kandungan vitamin C pada belimbing wuluh mendekati kandungan vitamin C pada jeruk nipis yaitu 27 mg/100 g jeruk nipis segar.

## 2.5. Teknik Koagulasi dengan Pengasam dari Buah

Proses pengasaman dapat dilakukan dengan pengasaman langsung (*direct acidification*) atau pengasaman dengan mikroba (*starter acidification*) untuk menghasilkan *curd* atau *whey*. Pengasaman langsung dapat menggunakan asam sitrat, asam asetat, cuka, asam laktat dan asam klorida (Cahyadi, 2008). Eksplorasi koagulasi menggunakan pengasaman langsung dari buah dalam pembuatan keju, sudah dilakukan pada beberapa buah seperti pada buah nanas dan lemon (Rakhmah dan Suryani, 2016), jeruk nipis (Sumarmono dan Suhartati, 2012), belimbing wuluh (Widarta *et al.*, 2016) dan sebagainya.

Mudah tidaknya pemisahan *curd* dari *whey* dipengaruhi oleh perbedaan tingkat keasaman dari ekstrak buah (Sumarmono dan Suhartati, 2012). Proses penurunan pH lebih cepat dengan penambahan asam karena menambah ion hidrogen pada larutan sehingga mampu menetralkan muatan protein (Hsia *et al.*, 2016) sedangkan dengan penambahan kultur bakteri harus menunggu kultur bakteri memproduksi asam laktat. Penurunan pH bertujuan untuk mengoptimalkan kerja bahan yang ditambahkan sebagai pengkoagulan (Pardede *et al.*, 2013). Penggunaan ekstrak buah dapat dikembangkan lebih lanjut karena mudah didapatkan dengan

harga yang murah, proses penyiapan mudah, dan hasil yang diperoleh cukup tinggi dengan komposisi yang memadai (Sumarmono dan Suhartati, 2012).

## 2.6. *Whey* Kedelai

*Whey* kedelai dikenal sebagai hasil samping dari proses koagulasi protein kedelai dengan menggunakan bahan koagulan, yang telah dipisahkan dari *curd* dan berbentuk cairan yang masih mengandung beberapa zat terlarut. *Whey* kedelai mengandung senyawa organik seperti oligosakarida, protein dan isoflavon karena tidak semua kandungan seperti protein terkoagulasi pada *curd* sehingga akan larut pada *whey* (Belen *et al.*, 2012). *Whey* protein dari kedelai mengandung lipoksigenase (LOX, 102 kDa),  $\beta$ -amilase (61,7 kDa), lektin (33 kDa) dan *Kunitz trypsin inhibitor* (KTI, 20 kDa) (Iwabuchi dan Yamauchi, 1987; Rackis *et al.*, 1986; Koshiyama *et al.*, 1981). *Whey* kedelai mengandung fraksi 2S dan 7S yang mempunyai kekuatan *foaming* yang baik dan kelarutan tinggi (Penas *et al.*, 2004). *Whey* kedelai (tahu) mengandung nitrogen sebanyak 1,36%, gula reduksi 1,40%, COD 238.000 mg/L dan pH 5,0 yang dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan *nata de soya* (Nisa, 2002). *Whey* kedelai dari tahu mengandung kadar air sebanyak 99,28%, total padatan sebanyak 0,67% dan kadar protein sebanyak 0,17% (Hariyadi *et al.*, 2002).

Volume *whey* dapat digunakan untuk mengetahui persentase cairan (hasil samping) yang dihasilkan dari pembentukan *curd* pada koagulasi yang dilakukan. Penggumpalan di atas titik isoelektrik mengakibatkan masih adanya muatan protein yang belum menggumpal sehingga berpengaruh terhadap nilai rendemen

(Anggraini *et al.*, 2013). Jenis dan pH koagulan yang digunakan mempengaruhi koagulasi yang berdampak pada mudah atau tidaknya pemisahan *whey* dari *curd* (Rekha dan Vijayalakshmi, 2010; Nurlaela, 2010). Banyaknya cairan *whey* yang terikut pada *curd* menyebabkan kadar air *curd* tinggi (Jaya dan Hadikusuma, 2009), sehingga diduga dapat mempengaruhi volume *whey* keju kedelai yang dihasilkan.

Besarnya total padatan dalam *whey* menunjukkan jumlah padatan yang tidak terkoagulasi menjadi *curd*. pH koagulan akan mempengaruhi sifat-sifat protein yang digumpalkan sehingga berpengaruh terhadap peran protein 11S/7S (Zhao *et al.*, 2016; Nawaz *et al.*, 2011). Peran protein saat proses koagulasi akan berdampak pada struktur matriks gel yang terbentuk dan kemampuan mengikat air (WHC) sehingga berdampak pada mudah tidaknya *curd* dipisahkan dari *whey* (Sumarmono dan Suhartati, 2012; Guo *et al.*, 2012). Hal ini diduga dapat mempengaruhi kelarutan padatan ke dalam *whey* keju kedelai saat penyaringan.

Nilai pH merupakan penentu kuantitas ion hidrogen dalam larutan protein yang berfungsi untuk pengendali proses penggumpalan protein (Triyono, 2010). Penggumpalan dapat terjadi jika pH sari kedelai turun dari sekitar 7,0 (SNI, 1995) hingga menjadi 4,5-4,8 yang variasinya tergantung pada pH titik isoelektris atau pI (Aryanti *et al.*, 2016; Nishinari *et al.*, 2014). pH koagulan akan mempengaruhi waktu tercapainya pH titik isoelektrik (pI) (Aryanti *et al.*, 2016)

Kadar protein yang terkoagulasi menjadi *curd* atau larut ke dalam *whey* kedelai dipengaruhi oleh jenis susu, pH dan jenis koagulan yang digunakan (Sumarmono dan Suhartati, 2012). Jenis dan konsentrasi koagulan dapat mempengaruhi ikatan protein saat pembentukan gel pada proses koagulasi



(Ariyanti *et al.*, 2016; Fahmi *et al.*, 2010; Prabhakaran *et al.*, 2006). Hal ini berdampak pada jumlah protein yang akan terkoagulasi menjadi *curd* maupun protein yang larut pada *whey* kedelai (Belen *et al.*, 2012). Kekuatan ikatan antar protein yang terbentuk pada matriks gel (gumpalan) diduga berpengaruh pada kelarutan protein pada saat penyaringan.

Uji spektrum menggunakan spektrofotometer digunakan untuk menentukan puncak dan korelasinya dengan gugus-gugus standar (Yugatama *et al.*, 2015), serta mengetahui intensitas warna atau kekeruhan dari sampel (Effendi, 2003). Jenis dan konsentrasi koagulan diduga dapat mempengaruhi warna dan kejernihan dari *whey* kedelai yang dihasilkan. Semakin jernih suatu suspensi maka nilai absorbansinya akan semakin rendah, dan sebaliknya jika semakin sedikit cahaya yang dapat diteruskan maka absorbansinya semakin tinggi (Rachmawati *et al.*, 2016; Hardoko *et al.*, 2003). Selain itu, perlakuan yang berbeda pada suatu bahan dapat menyebabkan hasil spektrum juga berbeda (Adyono *et al.*, 2015).