



## Isolat protein kacang tunggak termodifikasi melalui jenis dan konsentrasi bahan kimia

Choirul Anam\*, Emmy Hamidah, Dian Eka Kusumawati, Istiqomah Istiqomah, Mariyatul Qibtiyah, Ana Amiroh

*Agroteknologi, Universitas Islam Darul 'Ulum, Lamongan, Indonesia*

### Article history

*Diterima:*

5 September 2022

*Diperbaiki:*

31 Desember 2022

*Disetujui:*

2 Februari 2023

### Keyword

*Cowpea;*

*Chemical modification;*

*Gelation;*

*Protein isolate;*

### ABSTRACT

*Cowpea is a type of legume that contains a lot of protein. One of the uses of cowpea as a food ingredient is protein isolate. The purpose of this study was to determine the type and concentration of chemicals suitable for cowpea protein isolate as well as its physical and chemical properties. Implementation of modified cowpea protein isolate was divided into three stages. The first stage is to determine the best results from the addition of certain types and concentrations of chemicals: a)  $\text{CH}_3\text{COOH}$  (3%, 5%, 7%); b)  $\text{CaSO}_4$  (0.25%; 0.30%; 0.35%) and c)  $\text{MgSO}_4$  (0.25%; 0.30%; 0.35%). The second stage is to combine each of the best treatments. There are three treatments, namely treatment A is the addition of the best  $\text{CH}_3\text{COOH}$  concentration with the best  $\text{CaSO}_4$  concentration. Treatment B is the best concentration of  $\text{CH}_3\text{COOH}$  and the best concentration of  $\text{MgSO}_4$ . Treatment C was the best concentration of  $\text{CaSO}_4$  and the best concentration of  $\text{MgSO}_4$ . The third stage is the analysis of the physical and chemical properties of the treatment combinations formed. Each treatment was replicated three times. The data obtained were then analyzed descriptively. The results of the analysis are presented in the form of tables and histograms. The best treatment of chemically modified cowpea protein isolate was in treatment C (addition of 0.35%  $\text{CaSO}_4$  and 0.35%  $\text{MgSO}_4$ ), which had a gel strength texture of 13.87 gram force/0.1mm; with a water content of 81.04%; ash 6.77%; and protein 92.53%; and has the highest protein solubility at pH 8 of 22.47 mg/g.*



*This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.*

\* Penulis korespondensi

Email : choirulanam@unisda.ac.id

DOI 10.21107/agrointek.v18i2.16837

## PENDAHULUAN

Salah satu jenis kacang-kacangan sebagai sumber protein yaitu kacang tunggak (Mfeka *et al.* 2019). Penanaman kacang tunggak sudah lama di Indonesia, tetapi petani belum melakukan pembudidayaan komoditi ini secara komersial. Kacang tunggak memiliki nilai gizi yang tinggi, dengan kandungan protein antara 22,37 sampai dengan 24,54% (Gerrano *et al.* 2022). Kadar protein kacang tunggak di Brazil berkisar antara 20,82% hingga 26,92% (Freitas *et al.* 2022). Kacang tunggak di Indonesia memiliki zat gizi yaitu air (11,00%), protein (22,90%), lemak (1,4%), karbohidrat (61,60%) (Kanetro 2017).

Kelebihan kacang tunggak adalah memiliki kadar lemak yang lebih rendah sehingga dapat meminimalisasi efek negatif dari penggunaan produk pangan berlemak. Kacang tunggak juga memiliki kandungan vitamin B1 lebih tinggi dari pada kacang hijau serta asam amino lisin, asam aspartat dan glutamate merupakan asam amino penting dalam protein kacang tunggak (Rosida *et al.* 2013).

Perkembangan teknologi pengolahan yang semakin maju menjadikan pengolahan kacang-kacangan tidak hanya secara konvensional tetapi dapat sebagai *food ingredient* (bahan tambahan pangan), seperti tepung, konsentrat atau isolat protein (Witono *et al.*, 2014) (Strauch & Lila, 2021) (Burger *et al.*, 2022). Kebanyakan isolat protein di Indonesia masih impor karena produksinya masih sangat rendah (Bahar & Witono, 2015). Isolat protein merupakan produk hasil isolasi dari protein biji kacang-kacangan dengan batasan harus mengandung minimal 90% protein. Isolasi protein pada prinsipnya ada dua proses utama yaitu ekstraksi dan koagulasi (penggumpalan). Untuk keperluan ini pada umumnya menggunakan basa dan asam yang berturut-turut untuk proses ekstraksi dan penggumpalan atau pengendapan. Isolat protein kacang tunggak dengan pencucian menggunakan aseton dan pengeringan menggunakan oven vakum suhu 50°C selama  $\pm$  8 jam memiliki rendemen sebesar 16,638%; kadar air 7,932% (wb); kadar protein 90,305% (db); kadar lemak 1,050% (db); kadar karbohidrat 8,784% (db); dan kadar abu 3,852% (db) (Anam *et al.* 2013) (Anam *et al.* 2013). Isolat protein kacang polong di Chicago, AS memiliki: 81,3% protein, 7% lemak, dan 9% serat (Masiá *et al.* 2022).

Isolat protein kacang tunggak lebih banyak mengandung fraksi globulin 7S dari pada 11S dan daya gelasinya masih rendah yaitu 4 gf (Witono *et al.* 2014) Modifikasi secara kimia dengan menggunakan  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ,  $\text{CaSO}_4$ , dan  $\text{MgSO}_4$  merupakan salah satu upaya meningkatkan daya gelasi. Penggumpalan protein menggunakan  $\text{CH}_3\text{COOH}$  menyebabkan berkurangnya muatan negatif pada protein sehingga terbentuk gel. Penggumpalan protein dengan  $\text{CaSO}_4$  akibat adanya ikatan silang antara ion  $\text{Ca}^+$  dengan gugus karboksil melalui jembatan garam sehingga protein mengalami agregasi dan membentuk gel, begitu pula dengan penambahan  $\text{MgSO}_4$ . Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui jenis dan konsentrasi bahan kimia pada isolat protein kacang tunggak termodifikasi serta sifat fisik dan kimianya.

## METODE

### Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan antara lain blender (GMC), kain saring, pH meter (Jen Way 3320 Jerman), *centrifuge* (Medifringer Gyrozen 2236HR), tabung *centrifuge*, spatula, *waterbath* (Memmert), stirer (SM 24), batang stirer (SM 24), neraca analitik (Ohaus Ap-310-O), *vortex*, spektrofotometer (Genesis 10 UV), serta peralatan gelas.

Bahan baku yang digunakan adalah kacang tunggak dari daerah Malang dan bahan kimia yang digunakan meliputi Akuades, Aseton 70%, NaOH 0,1N, HCL 1N,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , buffer fospat 0,1 M pH 7, buffer fospat 0,05 M pH 7,  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ,  $\text{CaSO}_4$ , dan  $\text{MgSO}_4$ . Pelaksanaan penelitian ini di Laboratorium Rekayasa Proses Pangan dan Hasil Pertanian, Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan Hasil Pertanian, dan Laboratorium Analisa Terpadu Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Penelitian ini terdiri dari tiga tahap. Tahap pertama yaitu menentukan perlakuan terbaik dari penambahan konsentrasi bahan penggumpal pada masing-masing perlakuan berdasarkan keutuhan gel yang terbentuk. Variasi jenis dan konsentrasi bahan kimia yang diberikan yaitu:

- $\text{CH}_3\text{COOH}$  (3%; 5%; 7%),
- $\text{CaSO}_4$  (0,25%; 0,30%; 0,35%), dan
- $\text{MgSO}_4$  (0,25%; 0,30%; 0,35%)

Penelitian tahap kedua yaitu melakukan kombinasi dari masing-masing perlakuan terbaik. Perlakuan A ( $\text{CH}_3\text{COOH}$  konsentrasi terbaik

dengan CaSO<sub>4</sub> konsentrasi terbaik), perlakuan B (CH<sub>3</sub>COOH konsentrasi terbaik dengan MgSO<sub>4</sub> konsentrasi terbaik), dan perlakuan C (CaSO<sub>4</sub> konsentrasi terbaik dengan MgSO<sub>4</sub> konsentrasi terbaik). Tahap ketiga yaitu analisis sifat fisik, dan sifat kimia terhadap perlakuan kombinasi yang terbentuk. Pengulangan masing-masing perlakuan sebanyak tiga kali. Kemudian menganalisis data secara deskriptif serta hasil pengamatan ditampilkan dalam bentuk tabel dan histogram.

## **Pelaksanaan Penelitian**

### ***Preparasi Sampel***

Preparasi sampel dengan menimbang 100 gram kacang tunggak dan melakukan perendaman dalam air selama  $\pm$  5 jam untuk melunakkan jaringan kacang tunggak agar mempermudah proses ekstraksi. Hasil perendaman tersebut selanjutnya melakukan pengupasan kulit ari kacang tunggak. Kacang tunggak yang telah bersih diekstraksi menggunakan akuades dengan perbandingan akuades dan bahan yaitu 3: 1 (b/b). Penyaringan hasil ekstraksi menggunakan kain saring sehingga mendapatkan supernatan.

Memasukkan supernatant dan NaOH 0,1 N kedalam *beaker glass* dengan perbandingan NaOH dan bahan sebesar 0,5:1 untuk pengkondisian pH basa hingga pH 8 agar protein dapat larut optimal. Pemanasan supernatan menggunakan waterbath pada suhu 55°C selama 30 menit. Pelaksanakan sentrifugasi supernatan pada kecepatan 2000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan endapan dengan filtrat. Pengkondisian supernatan hasil sentrifugasi pada titik isoelektrik yaitu pH 5 dengan penambahan HCl 1N untuk mengendapkan protein kacang tunggak dan proses sentrifugasi kembali pada kecepatan 2000 rpm selama 10 menit. Pemurnian endapan hasil sentrifugasi menggunakan aseton 70 % sebanyak 3 kali berat endapan. Pengadukan hasil pemurnian selama 20 menit agar homogen dan melakukan sentrifugasi pada kecepatan 2000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan endapan dengan filtrat. Hasil pengadukan dan sentrifugasi merupakan isolat protein kacang tunggak.

### ***Modifikasi Isolat Protein Kacang Tunggak***

Penambahan hasil isolat protein kacang tunggak dari tahap preparasi sampel dengan CH<sub>3</sub>COOH, CaSO<sub>4</sub>, dan MgSO<sub>4</sub>. Masing-masing bahan terdapat tiga variasi konsentrasi. CH<sub>3</sub>COOH (3%; 5%; 7%), CaSO<sub>4</sub> (0,25%; 0,30%; 0,35%), serta MgSO<sub>4</sub> (0,25%; 0,30%; 0,35%).

Fungsi perlakuan ini adalah menentukan konsentrasi terbaik dari penambahan masing-masing bahan agar dapat membentuk gel dengan struktur yang kompak. Pengadukan isolat protein kacang tunggak dan bahan kimia tersebut dengan spatula agar isolat protein kacang tunggak dan bahan menjadi homogen. Proses pemanasan pada campuran bahan yang sudah homogen dengan menggunakan pemanas pada suhu 70°C selama 15 menit agar protein kacang tunggak terdenaturasi sehingga penggumpalan akan membuka kesempatan molekul protein saling berinteraksi satu dengan lainnya maka peristiwa terbentuknya gel terjadi. Pengamatan gel isolat protein kacang tunggak termodifikasi tentang kekokohan gel yang terbentuk.

### ***Kombinasi Modifikasi Isolat Protein Kacang Tunggak***

Perlakuan kombinasi modifikasi pada gel isolat protein kacang tunggak dengan perlakuan konsentrasi terbaik. Tiga perlakuan yang berbeda pada isolat protein kacang tunggak sebagai berikut: penambahan CH<sub>3</sub>COOH 7% dengan CaSO<sub>4</sub> 0,35%; penambahan CH<sub>3</sub>COOH 7% dengan MgSO<sub>4</sub> 0,35%; serta penambahan CaSO<sub>4</sub> 0,35% dengan MgSO<sub>4</sub> 0,35%. Pengadukan pada isolat protein kacang tunggak yang diberi perlakuan tersebut dengan spatula agar isolat protein kacang tunggak dan bahan menjadi homogen. Proses pemanasan pada campuran bahan yang sudah homogen dengan menggunakan pemanas pada suhu 70°C selama 15 menit agar protein kacang tunggak terdenaturasi pada suhu tersebut sehingga penggumpalan akan membuka kesempatan molekul protein saling berinteraksi satu dengan lainnya maka peristiwa terbentuknya gel terjadi. Analisis gel isolat protein kacang tunggak termodifikasi secara sifat fisik dan sifat kimia. Analisis sifat fisik yaitu tekstur (Rheotex), dan sifat kimia yaitu kadar air (AOAC, 2000), kadar abu (AOAC, 2000), kadar protein (Mikro Kjedahl, Rohman, 2013), protein Terlarut dalam berbagai pH (Metode Lowry, Rohman, 2013).

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Hasil Perlakuan Terbaik**

Penelitian tahap satu yaitu menentukan perlakuan terbaik, dari penambahan konsentrasi bahan penggumpal pada masing-masing perlakuan berdasarkan keutuhan gel yang terbentuk. Variasi jenis dan konsentrasi penambahan bahan penggumpal yaitu

penambahan CH<sub>3</sub>COOH 3%; 5%; dan 7%, CaSO<sub>4</sub> 0,25%; 0,3%; dan 0,35%, serta MgSO<sub>4</sub> 0,25%; 0,3%; dan 0,35%. Bentuk gel pada seperti Gambar 1, Gambar 2, dan Gambar 3.

Hasil perlakuan terbaik penambahan CH<sub>3</sub>COOH, yaitu pada penambahan CH<sub>3</sub>COOH sebanyak 7% karena dapat terlihat pada gambar bahwa kekokohan gel yang terbentuk lebih baik dengan ciri kemampuan pembentukan agregat yang tinggi, kelekatan yang tinggi, dan tekstur yang keras dari pada perlakuan CH<sub>3</sub>COOH 3% dan CH<sub>3</sub>COOH 5%. Penambahan konsentrasi

CH<sub>3</sub>COOH semakin tinggi maka menghasilkan gel yang lebih kokoh. Hal ini karena penambahan CH<sub>3</sub>COOH berarti menambahkan konsentrasi dari ion H<sup>+</sup> yang kemudian akan mengadakan reaksi dengan muatan negatif protein yang berasal dari gugus karboksil bebasnya. Penambahan konsentrasi ion H<sup>+</sup> semakin banyak maka semakin mendekati kondisi titik isoelektrik sehingga membentuk agregasi lebih padat dan struktur gel yang dihasilkan lebih kompak. Gelasi protein kacang polong bergantung pada faktor kekuatan ionic (Moreno *et al.* 2020)



A B C

Gambar 1 Penambahan CH<sub>3</sub>COOH 3% (A), penambahan CH<sub>3</sub>COOH 5% (B), penambahan CH<sub>3</sub>COOH 7% (C)



A B C

Gambar 2 Penambahan MgSO<sub>4</sub> 0,25% (A), penambahan MgSO<sub>4</sub> 0,30% (B), penambahan MgSO<sub>4</sub> 0,35% (C)



A B C

Gambar 3 Penambahan CaSO<sub>4</sub> 0,25% (A) penambahan CaSO<sub>4</sub> 0,3% (B) penambahan CaSO<sub>4</sub> 0,35% (C)

Hasil perlakuan terbaik penambahan  $MgSO_4$ , yaitu pada penambahan  $MgSO_4$  sebanyak 0,35% karena dapat terlihat pada gambar bahwa kekokohan gel yang terbentuk lebih baik dari pada perlakuan  $MgSO_4$  0,25% dan  $MgSO_4$  0,30%. Penambahan konsentrasi  $MgSO_4$  yang semakin tinggi maka menghasilkan gel semakin kokoh. Karena semakin banyak ion  $Mg^{+}$  yang mampu berikatan silang dengan molekul protein melalui jembatan garam sehingga gel yang terbentuk kuat.

Hasil perlakuan terbaik penambahan  $CaSO_4$ , yaitu pada penambahan  $CaSO_4$  sebanyak 0,35% karena dapat terlihat pada gambar bahwa kekokohan gel yang terbentuk lebih baik dari pada perlakuan  $CaSO_4$  0,25% dan  $MgSO_4$  0,30%. Penambahan konsentrasi  $CaSO_4$  yang semakin tinggi maka menghasilkan gel yang semakin kokoh. Semakin banyak ion  $Ca^{+}$  yang mampu berikatan silang dengan molekul protein melalui jembatan garam sehingga gel yang terbentuk kuat.

Penelitian tahap kedua yaitu melakukan kombinasi pada perlakuan terbaik agar terbentuk gel isolat protein termodifikasi dengan karakteristik yang sesuai. Kombinasi tersebut sebagai berikut: perlakuan A ( $CH_3COOH$  konsentrasi 7% dengan  $CaSO_4$  konsentrasi 0,35%), perlakuan B ( $CH_3COOH$  konsentrasi 7% dengan  $MgSO_4$  konsentrasi 0,35%), dan perlakuan C ( $CaSO_4$  konsentrasi 0,35% dengan  $MgSO_4$  konsentrasi 0,35%).

Analisis gel hasil kombinasi perlakuan terbaik yaitu sifat fisik, dan kimia. Gel isolat protein kacang tunggak termodifikasi perlakuan A seperti terlihat pada Gambar 4 sedangkan gel isolat protein kacang tunggak termodifikasi perlakuan B seperti terlihat pada Gambar 5 dan gel isolat protein kacang tunggak termodifikasi perlakuan C seperti terlihat pada Gambar 6.



Gambar 4 Isolat protein kacang tunggak termodifikasi perlakuan A.



Gambar 5 Isolat protein kacang tunggak termodifikasi perlakuan B



Gambar 6 Isolat protein kacang tunggak termodifikasi perlakuan C

### Tekstur Gel

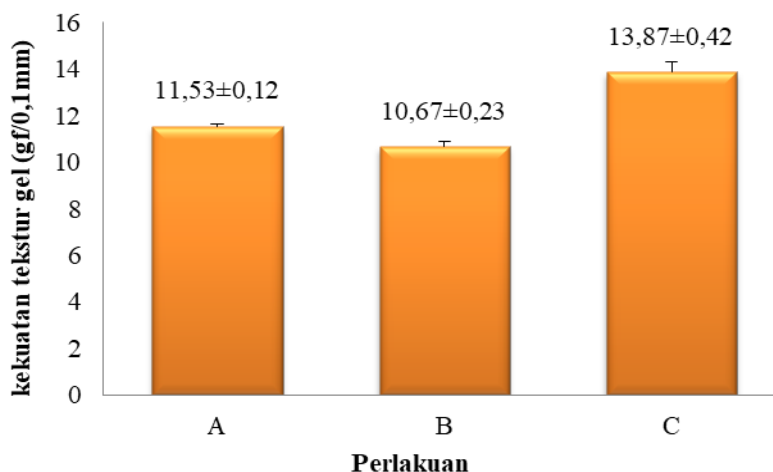
Tekstur gel isolat protein kacang tunggak termodifikasi berkisar antara 10,67 gf/0,1mm – 13,87 gf/0,1 mm. Hasil analisis ragam menunjukkan perbedaan nyata ( $p < 0,05$ ) antar perlakuan terhadap kekuatan tekstur gel isolat protein kacang tunggak. Hasil tekstur gel seperti Gambar 7. Uji lanjut Duncan seperti pada Tabel 1.

Tabel 1 Kekuatan tekstur gel (gf/0,1 mm)

Perlakuan	Tekstur gel
B	10,67 a
A	11,53 a
C	13,87 b

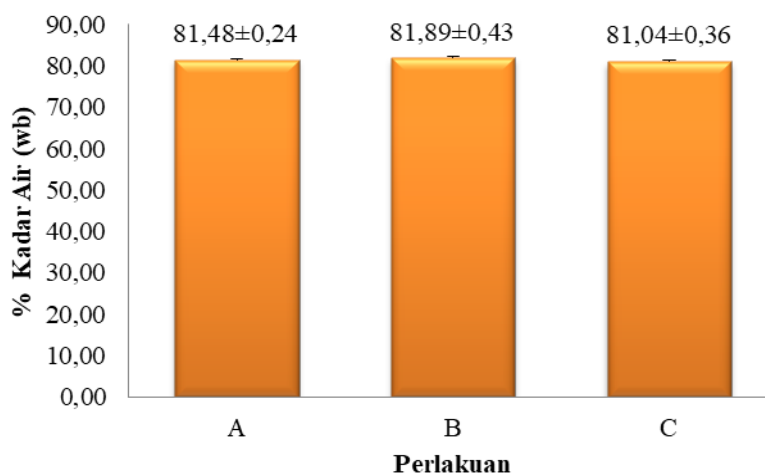
Tabel 1 menunjukkan bahwa perlakuan C memiliki nilai gel tertinggi sebesar 13,87 gf/0,1mm dan berbeda nyata dengan perlakuan A dan B. Gel yang terbentuk dari bahan penggumpal  $CaSO_4$  dan  $MgSO_4$  lebih keras dari pada gel yang terbentuk dari bahan penggumpal  $CH_3COOH$  dan  $MgSO_4$ . Karena  $CaSO_4$  dan  $MgSO_4$  mampu membentuk ikatan silang dengan molekul protein sehingga gel yang terbentuk semakin kuat serta matriks jaringan yang terbentuk kuat sehingga gel lebih keras. Asam akan menghasilkan gel dengan tekstur yang lebih lunak serta struktur remah (Hou *et al.* 1997).





Keterangan: A = kombinasi CH<sub>3</sub>COOH dan CaSO<sub>4</sub>; B = kombinasi CH<sub>3</sub>COOH dan MgSO<sub>4</sub>; C = kombinasi CaSO<sub>4</sub> dan MgSO<sub>4</sub>

Gambar 7 Kekuatan tekstur gel isolat protein kacang tunggak termodifikasi kemis



Keterangan: A = kombinasi CH<sub>3</sub>COOH dan CaSO<sub>4</sub>; B = kombinasi CH<sub>3</sub>COOH dan MgSO<sub>4</sub>; C = kombinasi CaSO<sub>4</sub> dan MgSO<sub>4</sub>

Gambar 8 Kadar air isolat protein kacang tunggak termodifikasi

Mekanisme penggumpalan protein dengan CH<sub>3</sub>COOH menggunakan titik isoelektrik. Penambahan CH<sub>3</sub>COOH berarti menambahkan konsentrasi dari ion H<sup>+</sup> yang kemudian akan mengadakan reaksi dengan muatan negatif protein yang berasal dari gugus karboksil bebasnya. Penambahan konsentrasi H<sup>+</sup> yang semakin banyak 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 (Triyono 2010).

Mekanisme penggumpalan dengan garam CaSO<sub>4</sub>, ion kalsium bereaksi dengan berbagai

molekul protein lain melalui jembatan garam sehingga terbentuk gel. Penggumpalan terjadi maka air, lemak, karbohidrat, dan senyawa-senyawa lain ikut terperangkap ke dalam gel yang terbentuk (Ono *et al.* 1991).

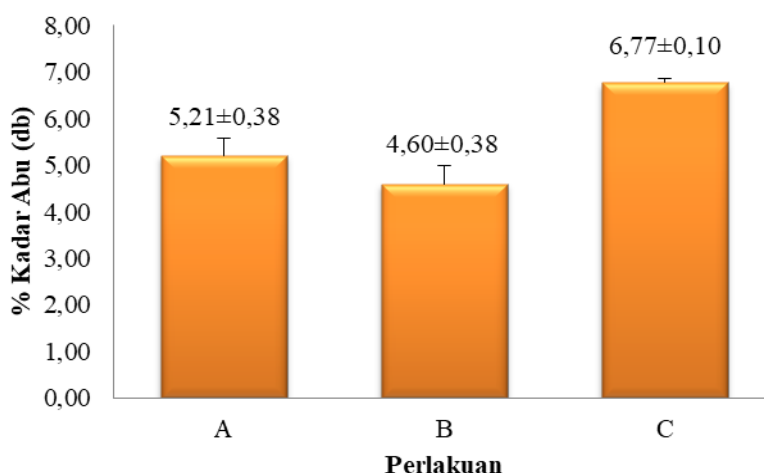
Sifat gelasi protein ada hubungannya dengan keberadaan protein 7S dan 11S. Kandungan protein 11S dan rasio 11S/7S memberikan korelasi positif terhadap kekerasan gel dari protein kedelai (Mujoo *et al.* 2003). Isolat protein kacang tunggak (kering) memiliki protein globulin 7S sebesar 0,03% dan protein globulin 11S 0,02% (Witono *et al.* 2014). Menurut Corredig (2006), gel dari isolasi glisinin (11S) memberikan karakter gel yang lebih keras dari pada gel yang diperoleh dari

$\beta$ -konglisinin (7S), dan struktur jaringan yang terbentuk memiliki perbedaan antar keduanya, tergantung dari komposisi protein. Gel yang terbentuk dari isolat protein kacang tunggak termodifikasi lebih keras dari pada gel yang terbentuk dari isolat protein kacang tunggak tanpa modifikasi. Kekuatan gel yang terbentuk dari isolat protein kacang tunggak tanpa modifikasi yaitu sebesar 4,0 gf (Witono *et al.* 2014).

**Kadar Air**

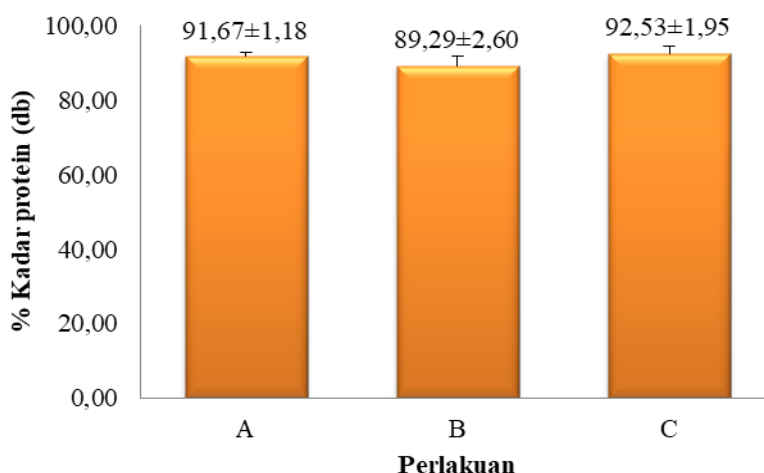
Kadar air isolat protein kacang tunggak termodifikasi berkisar antara 81,04% – 81,89%.

Hasil analisis ragam menunjukkan tidak beda nyata ( $p < 0,05$ ) antar perlakuan terhadap kadar air. Hasil kadar air pada Gambar 8. Perlakuan C (81,04%) memiliki kadar air yang lebih rendah dari pada perlakuan B (81,89%). Karena  $\text{CaSO}_4$  dan  $\text{MgSO}_4$  mampu berikatan silang dengan molekul protein, membentuk agregasi lebih padat sehingga air yang terperangkap oleh matriks lebih sedikit, akibatnya kadar air lebih kecil. Kadar air isolat protein kacang tunggak lebih rendah yaitu  $7,93 \pm 0,33\%$  (Witono *et al.* 2014).



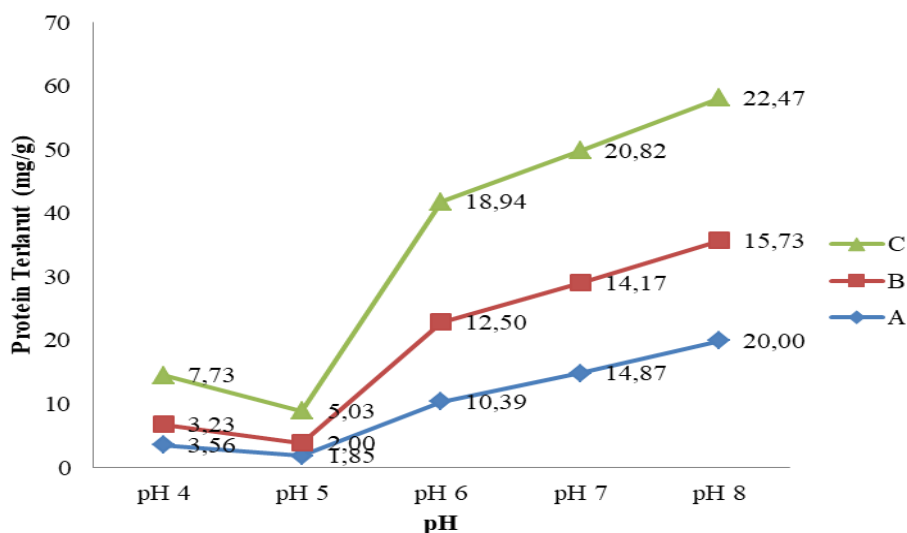
Keterangan: A = kombinasi  $\text{CH}_3\text{COOH}$  dan  $\text{CaSO}_4$ ; B = kombinasi  $\text{CH}_3\text{COOH}$  dan  $\text{MgSO}_4$ ; C = kombinasi  $\text{CaSO}_4$  dan  $\text{MgSO}_4$

Gambar 9 Kadar abu isolat protein kacang tunggak termodifikasi kemis



Keterangan: A = kombinasi  $\text{CH}_3\text{COOH}$  dan  $\text{CaSO}_4$ ; B = kombinasi  $\text{CH}_3\text{COOH}$  dan  $\text{MgSO}_4$ ; C = kombinasi  $\text{CaSO}_4$  dan  $\text{MgSO}_4$

Gambar 10 Kadar protein isolat protein kacang tunggak termodifikasi kemis



Keterangan: A = kombinasi CH<sub>3</sub>COOH dan CaSO<sub>4</sub>; B = kombinasi CH<sub>3</sub>COOH dan MgSO<sub>4</sub>; C = kombinasi CaSO<sub>4</sub> dan MgSO<sub>4</sub>

Gambar 11 Kelarutan protein isolat protein kacang tunggak termodifikasi pada berbagai pH

### Kadar Abu

Kadar abu (*dry basis*) isolat protein kacang tunggak termodifikasi kemis berkisar antara 4,60% – 6,77%. Hasil analisis ragam menunjukkan perbedaan nyata ( $p < 0,05$ ) antar perlakuan terhadap kadar abu. Hasil kadar abu pada Gambar 9. Uji lanjut Duncan seperti Tabel 2.

Tabel 2 Kadar abu (%)

Perlakuan	Kadar abu
B	4,60 a
A	5,21 a
C	6,77 b

Tabel 2 menunjukkan bahwa perlakuan C memiliki kadar abu tertinggi sebesar 6,77% dan berbeda nyata dengan perlakuan A dan perlakuan B. Kisaran yang sama pada kadar abu isolat protein kacang polong yaitu 6,0% (Mohanani *et al.* 2020). Gel isolat protein kacang tunggak dengan kandungan bahan penggumpal CaSO<sub>4</sub> dan MgSO<sub>4</sub> memiliki kadar abu yang lebih tinggi karena Ca dan Mg termasuk golongan garam sehingga menghasilkan lebih banyak residu. Adanya Ca yang terikat pada protein akan meningkatkan kadar abu dari tahu. Penambahan koagulan limbah garam (*bittern*) pada pembuatan tahu lebih baik dari pada koagulan cuka dengan kadar abu 1,3% (Dewi *et al.* 2021). Kadar abu isolat protein

kacang polong sebesar 6% berbasis kering (Bäuerle & Kühn, 2022).

### Kadar Protein

Kadar protein isolat protein kacang tunggak termodifikasi berkisar antara 89,29% – 92,53%. Hasil analisis ragam menunjukkan tidak beda nyata ( $p < 0,05$ ) antar perlakuan terhadap kadar protein. Hasil kadar protein seperti pada Gambar 10. Perlakuan C memiliki kadar protein tertinggi sebesar 92,53%, sedangkan perlakuan B memiliki kadar protein terendah sebesar 89,29%. Kadar protein Isolat protein kacang polong lebih rendah yaitu  $86 \pm 2\%$  (db) (Bäuerle & Kühn, 2022). Kadar protein gel isolat protein kacang tunggak dengan kandungan bahan penggumpal CaSO<sub>4</sub> lebih tinggi dibandingkan dengan gel isolat protein kacang tunggak dengan bahan penggumpal CH<sub>3</sub>COOH. Penggumpalan dengan CaSO<sub>4</sub> terjadi karena protein mengalami agregasi akibat terbentuknya ikatan silang antara ion Ca<sup>++</sup> dengan gugusan karboksil (-COO<sup>-</sup>) dari residu asam amino dari polipeptida. Selain pembentukan agregasi karena ikatan silang antara ion Ca<sup>++</sup> dengan gugus protein juga terjadi agregasi karena kondisi isoelektris dari globulin 11S, mengingat bahwa kondisi pH dengan penggumpal CaSO<sub>4</sub> adalah sekitar 6,5 dan pH tersebut merupakan pH isoelektris dari globulin 11S. Adanya dua mekanisme penggumpalan tersebut menyebabkan protein yang teragregasi membentuk gel lebih



banyak sehingga kadar proteinnya lebih tinggi. Kadar protein isolat protein kacang polong sebesar  $86 \pm 2\%$  berbasis kering (Bäuerle & Kühn, 2022). dan pada isolat protein kacang kapri (*Pisum sativum*) sebesar 85% (Gunyaphan *et al.* 2020).

### Protein Terlarut dalam Berbagai pH

Protein terlarut berkaitan dengan interaksi antara molekul protein dengan air. Hasil analisis protein terlarut dalam berbagai pH (*dry basis*) menunjukkan bahwa kelarutan protein perlakuan A tertinggi terletak pada pH 8 sebesar 20,00 mg/g, sedangkan kelarutan protein terendah pada pH 5 sebesar 1,85 mg/g. Kelarutan protein perlakuan B tertinggi terletak pada pH 8 sebesar 15,73 mg/g sedangkan kelarutan protein terendah pada pH 5 sebesar 2,00 mg/g. Kelarutan protein perlakuan C tertinggi terletak pada pH 8 sebesar 22,47 mg/g sedangkan kelarutan protein terendah pada pH 5 sebesar 5,03 mg/g.

Protein terlarut akan semakin meningkat seiring dengan bertambahnya pH. Protein terlarut isolat protein kacang tunggak termodifikasi tertinggi pada pH 8 dan protein terlarutnya lebih banyak karena pada pH diatas titik isoelektrik muatan protein akan berubah sehingga daya tarik menarik antar molekul protein menurun. Hal ini menyebabkan molekul protein mudah terurai dan kelarutan protein akan meningkat. Sedangkan isolat protein koro benguk memiliki kelarutan optimal pada pH 10 untuk kedua pelarut dan titik isoelektrik pH 4,4 pada pelarut NaOH dan pH 4,6 pada pelarut KOH (Sudrajat *et al.* 2016).

### KESIMPULAN

Perlakuan terbaik isolat protein kacang tunggak termodifikasi yaitu pada perlakuan C (kombinasi CaSO<sub>4</sub> dengan konsentrasi 0,35% dan MgSO<sub>4</sub> dengan konsentrasi 0,35%). Isolat protein kacang tunggak termodifikasi yang dihasilkan memiliki karakteristik : kekuatan gel 13,9 gf/0,1mm; kadar air 81,04%; kadar abu 6,77% (db); kadar protein 92,53% (db); protein terlarut pada pH 8 yaitu sebesar 22,47 mg/g (db).

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Pendidikan Kebudayaan/ Riset dan Teknologi atas Pendanaannya.

### DAFTAR PUSTAKA

Anam, C., Y. Witono, and B. KW. 2013. Teknologi Isolasi Protein Fungsional dari

Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata* L.) sebagai Food Ingredient. *Prosiding Semnas Peranan Teknologi Pangan dan Gizi mutu, Keamanan dan Kehalalan Produk Pangan Lokal*:39–45.

- Bahar, A., and Y. Witono. 2015. Process optimization of tempeh protein isolate from Soybean (*Glycine max* Merr) and Cowpea (*Vigna unguiculata*) mixture. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology* 5(2):139–143.
- Bäuerle, L., and S. Kühn. 2022. Development of a protein supplemented fruit smoothie using pea protein isolate as a plant-based protein alternative. *Future Foods* 5(April).
- Burger, T. G., I. Singh, C. Mayfield, J. L. Baumert, and Y. Zhang. 2022. The impact of spray drying conditions on the physicochemical and emulsification properties of pea protein isolate. *Lwt* 153(September 2021):112495.
- Dewi, S. R., R. Handayani, A. Bakar, and S. Ramli. 2021. Pemanfaatan Bittern Dan Cuka Sebagai Koagulan Pada Pembuatan Tahu. *Inovasi Ramah Lingkungan* 2(2):2–7.
- Freitas, T. K. T., F. de Oliveira Gomes, M. dos Santos Araújo, I. C. V. Silva, D. J. S. Silva, K. J. Damasceno-Silva, and M. de Moura Rocha. 2022. Potential of cowpea genotypes for nutrient biofortification and cooking quality. *Revista Ciencia Agronomica* 53:1–11.
- Gerrano, A. S., Z. G. Thungo, H. Shimelis, J. Mashilo, and I. Mathew. 2022. Genotype-by-Environment Interaction for the Contents of Micro-Nutrients and Protein in the Green Pods of Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). *Agriculture (Switzerland)* 12(4).
- Gunyaphan, S., N. On-Nom, U. Suttisansanee, A. Nana, R. Chamchan, C. Khemthong, and C. Chupeerach. 2020. Product qualities and sensory evaluation of high protein snack bar incorporated with pea protein isolate. *Food Research* 4:51–55.
- Hou, H. J., K. C. Chang, and M. C. Shih. 1997. Yield and textural properties of soft tofu as affected by coagulation method. *Journal of Food Science* 62(4):824–827.

- Kanetro, B. 2017. *Teknologi Pengolahan dan Pangan Fungsional Kacang-kacangan*. Page Plantaxia.
- Masiá, C., P. E. Jensen, I. L. Petersen, and P. Buldo. 2022. Design of a Functional Pea Protein Matrix for Fermented Plant-Based Cheese. *Foods* 11(2):1–13.
- Mfeka, N., R. A. Mulidzi, and F. B. Lewu. 2019. Growth and yield parameters of three cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) lines as affected by planting date and zinc application rate. *South African Journal of Science* 115(1):1–8.
- Mohanan, A., Y. R. Tang, M. T. Nickerson, and S. Ghosh. 2020. Oleogelation using pulse protein-stabilized foams and their potential as a baking ingredient. *RSC Advances* 10(25):14892–14905.
- Moreno, H. M., C. A. Tovar, F. Domínguez-Timón, J. Cano-Báez, M. T. Díaz, M. M. Pedrosa, and A. J. Borderías. 2020. Gelation of commercial pea protein isolate: Effect of microbitransglutaminase and thermal processing. *Food Science and Technology (Brazil)* 40(4):800–809.
- Mujoo, R., D. T. Trinh, and P. K. W. Ng. 2003. Characterization of storage proteins in different soybean varieties and their relationship to tofu yield and texture. *Food Chemistry* 82(2):265–273.
- Ono, T., M. Rak Choi, A. Ikida, and S. Odaori. 1991. Changes in the composition and size distribution of soymilk protein particles by heating. *Agricultural and Biological Chemistry* 55(9):2291–2297.
- Rosida, D. F., Q. Hardiyanti, and Murtiningsih. 2013. Kajian dampak substitusi kacang tunggak pada kualitas fisik dan sifat kimia tahu. *Jurnal Teknologi Pangan* 5(2):138–149.
- Strauch, R. C., and M. A. Lila. 2021. Pea protein isolate characteristics modulate functional properties of pea protein–cranberry polyphenol particles. *Food Science and Nutrition* 9(7):3740–3751.
- Sudrajat, A. B. N., N. Diniyah, and R. Fauziah. 2016. Metode Ekstraksi Alkali Pada Isolat Protein Koro Benguk (*Mucuna pruriens*). *Prosiding Seminar Nasional APTA*:112–118.
- Triyono, A. 2010. Mempelajari Pengaruh Penambahan Beberapa Asam pada Proses Isolasi Protein terhadap Tepung Protein Isolat Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus* L.). *Seminar Rekayasa Kimia dan Proses*:4–5.
- Witono, Y., C. Anam, H. Herlina, and A. Dwi Pamujiati. 2014. Chemical and Functional Properties of Protein Isolate from Cowpea (*Vigna unguiculata*). *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology* 4(2):94.