

Rendemen dan Kadar Protein Konsentrat Protein Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*) yang Diekstraksi dengan Larutan Etanol dan Aseton dengan konsentrasi berbeda

Yield and Protein Content of Cowpea (Vigna unguiculata) Protein Concentrate which Extracted by Ethanol and Acetone Solution with Different Concentration

Muhammad Johan Adhibuana, Antonius Hintono, Yoyok Budi Pramono*

Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang

*Korespondensi dengan penulis: yok_b_p@yahoo.com

Artikel ini dikirim pada tanggal 02 Februari 2018 dan dinyatakan diterima tanggal 27 Mei 2018.

Artikel ini dipublikasi secara online melalui www.ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/tekpangan. eISSN 2597-9892.

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang diperbanyak untuk tujuan komersial.

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh interaksi jenis dan konsentrasi larutan etanol dan aseton yang digunakan terhadap hasil ekstraksi protein dari kacang tunggak (*Vigna unguiculata*). Ekstraksi protein pada kacang tunggak sejauh ini lazim menggunakan aseton 70%, akan tetapi larutan aseton jarang dijual bebas dan harganya cukup mahal. Untuk itu etanol diteliti sebagai alternatif dari aseton dan dianalisis perbedaan hasil konsentrat antara larutan etanol dan aseton. Penelitian ini menggunakan metode statistik Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial dengan 2 faktor yaitu faktor jenis larutan (etanol dan aseton) dan faktor konsentrasi larutan (96% dan 70%) serta dilakukan 5 kali ulangan untuk tiap perlakuan. Parameter hasil uji dianalisis secara statistik menggunakan *Two Way Analysis of Variance (Two Way ANOVA)*. Konsentrat dibuat melalui tahap penghancuran, presipitasi, pemurnian dengan larutan organik, dan pengeringan. Parameter uji konsentrat protein yang digunakan yaitu rendemen dan kadar protein. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh interaksi antara jenis dan konsentrasi larutan terhadap rendemen dan kadar protein. Jenis dan konsentrasi larutan tidak berpengaruh pada rendemen. Kadar protein dipengaruhi oleh jenis larutan, sedangkan konsentrasi protein tidak mempengaruhi kadar protein. Larutan dengan hasil konsentrat terbaik ada pada konsentrat protein yang diekstrak menggunakan larutan etanol konsentrasi 70%.

Kata kunci : Konsentrat protein, ekstraksi protein, larutan organik, etanol, aseton.

Abstract

This research aims to analyze the interaction effect between type and concentration of organic solvent to protein concentrate made by cowpea (Vigna unguiculata). Protein extractions from cowpea usually make use of acetone 70%, however acetone availability is quite rare and its price relatively expensive compared with other organic solvent. Therefore, the alternative organic solvent such as ethanol should be analyzed its effectiveness for protein extraction and the effect from difference type and concentration of organic solvent should be investigated. This research using statistical model of completely randomized design factorial using 2 kind of factor which is organic solvent type (ethanol and acetone) and organic solvent concentration (96% and 70%) and 5 replication. The extraction methods include destruction, precipitation, purification by organic solvent, and drying. The quality parameters in this research containing yield mass and protein content. From research outcome, the result can be concluded that there is no visible interaction effect from type and concentration of organic solvent to yield mass and protein content. Type of organic solvent doesn't affect yield mass yet influence protein content significantly, while solvent concentration doesn't affect yield mass or protein content. The result suggested that the most efficient solvent come from Ethanol 70%

Keywords : protein concentrate, organic solvent, ethanol, acetone

Pendahuluan

Kacang tunggak merupakan jenis tanaman legum yang pembudidayaannya tersebar di daerah Jawa. Jenis kacang ini memiliki produktivitas 1,5-2,0 ton/ha (Sayekti *et al.*, 2012). Kadar protein pada kacang tunggak sebesar 22,9 g per 100 g, lebih besar dibandingkan dengan kacang hijau dimana kadar protein kacang hijau adalah 22,2 g per 100 g (Haliza *et al.*, 2007). Walaupun dari segi produktivitas dan kadar protein kacang tunggak bersaing dengan kacang-kacangan lainnya, pemanfaatan kacang tunggak di Indonesia masih terbatas sebagai bahan masakan rumah tangga. Salah satu cara untuk memperluas penggunaan kacang tunggak yaitu dengan mengekstrak zat protein kacang tunggak menjadi konsentrat protein kacang tunggak.

Konsentrat protein merupakan zat protein dari bahan mentah yang dimurnikan dari zat gizi lain. Tujuan dari ekstraksi protein adalah untuk mendapatkan zat protein yang murni dan bersifat stabil (Ahmed, 2004). Penggunaan konsentrat protein yaitu dapat digunakan untuk meningkatkan atau mengembalikan protein yang hilang sebagai akibat proses pemasakan dan produksi. Kemurnian konsentrat protein dapat mencapai lebih dari 70%, dan komposisi dari konsentrat akan dipengaruhi oleh setiap metode yang digunakan dalam ekstraksi (Tiwari dan Singh, 2012) Untuk mendapatkan protein dengan tingkat kemurnian tinggi perlu dilakukan proses ekstraksi yang dapat memisahkan protein dari zat lain secara maksimal. Oleh karena itu setiap langkah ekstraksi perlu diuji efektivitasnya,

dan proses yang belum teruji keefektifannya salah satunya adalah pengaruh dari larutan organik yang digunakan pada proses ekstraksi protein.

Pada metode ekstraksi protein konsentrat kacang tunggak, Witono *et al* (2014) menggunakan aseton pada proses terakhir ekstraksi untuk memurnikan konsentrat dari zat-zat selain protein. Tetapi masih belum dapat dipastikan bahwa aseton merupakan larutan organik paling baik untuk pemurnian konsentrat protein kacang tunggak. Etanol memiliki sifat yang hampir serupa dengan aseton seperti dapat dicampur dengan air dan memiliki konstanta dielektrik lebih rendah dari air sehingga etanol memiliki kemungkinan menggantikan aseton sebagai larutan organik (Deutscher, 1990).

Parameter pengamatan kualitas konsentrat protein yang paling mendasar adalah rendemen protein dan kadar protein. Rendemen protein merupakan perbandingan antara massa konsentrat yang dihasilkan dengan massa bahan mentah yang digunakan. Semakin besar presentase rendemen konsentrat protein yang dihasilkan menandakan bahwa semakin banyak konsentrat yang dapat dihasilkan dari jumlah bahan baku yang sama (Dunford, 2012). Parameter kadar protein digunakan untuk analisis kemurnian konsentrat protein. Kadar protein menunjukkan seberapa murni protein dari konsentrat protein yang dihasilkan. Hal ini menjadi parameter dasar dari penentuan kualitas konsentrat protein karena tujuan dari ekstraksi protein merupakan memisahkan zat protein dari zat lainnya agar didapat protein dalam bentuk murninya. Oleh karena itu tingginya kadar protein pada hasil konsentrat protein menunjukkan bahwa ekstraksi konsentrat protein yang dilakukan efektif (Dennison, 2003).

Penelitian ini dilakukan untuk menentukan jenis dan konsentrasi larutan terbaik untuk menghasilkan konsentrat protein kacang tunggak terbaik dari segi rendemen dan kadar protein. Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai etanol sebagai alternatif larutan pemurni konsentrat protein.

Materi dan Metode

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan September 2017 hingga Desember 2017 di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Proses penelitian yang dilakukan yaitu proses pembuatan konsentrat protein, penghitungan rendemen, dan penentuan kadar protein. Data penelitian setiap parameter dianalisis menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial 2x2 dengan 2 faktor yaitu jenis larutan (etanol dan aseton) dan konsentrasi larutan (96% dan 70%).

Materi

Bahan yang digunakan untuk pembuatan konsentrat protein kacang tunggak adalah kacang tunggak dalam bentuk biji, kondisi kering, dan kulit ari dari kacang belum dikupas. Bahan proses ekstraksi konsentrat protein yaitu aquades, NaOH 0,1 N, dan HCL 1 N. Bahan yang digunakan untuk kadar protein adalah H₂SO₄ teknis, H₃BO₃, Indikator MR + MB, NaOH 45%, dan HCl 0,1 N. Bahan yang digunakan untuk kelarutan protein dan nilai WHC adalah aquades. Alat yang digunakan untuk pembuatan konsentrat protein kacang tunggak adalah *centrifuge*, kompor, blender, dan oven. Alat yang digunakan untuk kadar protein adalah timbangan, labu Kjeldahl, destilator, kompor, kondensor, serta buret dan statif. Alat yang digunakan untuk kelarutan protein adalah labu ukur, *centrifuge*, timbangan, labu Kjeldahl, destilator, kompor, kondensor, serta buret dan statif. Alat yang digunakan dalam uji WHC adalah *centrifuge*, *vortex*, dan kertas saring Whatmann No. 51.

Pembuatan konsentrat protein

Pembuatan konsentrat protein menggunakan metode yang serupa dengan Witono *et al*. (2014). Kacang tunggak direndam dalam air selama ± 5 jam dan kulit ari kacang tunggak dikupas. Setelah itu kacang tanpa kulit sebanyak 250 g dihancurkan menggunakan blender yang diisi aquades dengan perbandingan antara aquades dengan kacang sebanyak 3 : 1. Kacang yang telah dihancurkan disaring menggunakan kain mori dan diambil cairannya. Cairan yang telah disaring dituangkan kedalam *beaker glass* dan ditambahkan NaOH dengan perbandingan NaOH dengan supernatan senilai 0,5 : 1. Cairan dipanaskan pada suhu 55°C selama 30 menit. Cairan didinginkan dalam suhu ruang sejenak dan disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit. Supernatan hasil sentrifugasi diberi penambahan HCL 1 N hingga pH supernatan mencapai nilai 4,5 dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit. Endapan hasil sentrifus lalu dicampur dengan larutan (aseton 96 %, aseton 70%, etanol 96%, etanol 70%) dengan volume 3 kali berat dari endapan. Setelah itu larutan disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit lalu endapan dipisahkan dari supernatan dan ambil endapan hasil sentrifus. Endapan dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C selama 8 jam hingga endapan kering dan berubah menjadi kristal.

Analisis Rendemen Konsentrat Protein

Perhitungan rendemen dilakukan sesuai dengan metode yang tercantum pada Dunford (2012) yaitu dengan menimbang sampel konsentrat protein yang telah dikeringkan. Rendemen dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Massa sampel kering}}{\text{"massa bahan baku "}} \times 100$$

Analisis Kadar Protein Konsentrat Protein

Kadar protein pada konsentrat protein diuji dengan metode uji protein mikro-kjeldahl sesuai dengan AOAC 960.52 (2006). Sampel sebanyak 0,3 g dimasukkan kedalam labu Kjeldahl dan dicampur katalisator campuran selenium, natrium sulfat, dan cupri sulfat sebanyak 0,3 g serta H₂SO₄ pekat sebanyak 10 ml. Setelah semua bahan masuk kedalam labu Kjeldahl, bahan didestruksi dengan panas hingga warnanya berubah menjadi hijau jernih. Hasil destruksi didinginkan dan didestilasi dengan menggunakan larutan penangkap H₃BO₃ 4% sebanyak 5 ml dan diberikan 2 tetes indikator MR+MB. Sampel yang telah didinginkan dimasukkan kedalam labu destilasi lalu diberi aquadest 100 ml dan 40 ml NaOH 45%. Proses destilasi dilakukan hingga larutan penangkap berubah warna dari ungu menjadi hijau. Setelah didestilasi bahan dititrasi menggunakan HCL 0,1 N hingga muncul warna ungu pada sampel. Kadar protein pada sampel dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar Protein (\%)} = \frac{(\text{Titran sampel}-\text{Blangko}) \times N \text{ HCL} \times 0,014 \times 6,25 \times 100\%}{\text{berat sampel}}$$

Hasil dan Pembahasan

Rendemen konsentrat protein

Konsentrat protein dengan penggunaan larutan etanol 96% memiliki presentase rendemen 5,43% dan konsentrat protein yang dihasilkan menggunakan etanol 70% memiliki presentase rendemen 4,85%. Konsentrat protein yang dihasilkan dengan menggunakan aseton 96% memiliki presentase rendemen 3,89% dan konsentrat protein menggunakan larutan aseton 70% menghasilkan konsentrat protein dengan rendemen 4,60%. Berdasarkan analisis RAL faktorial 2x2 dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat interaksi jenis larutan dengan konsentrasi larutan terhadap rendemen konsentrat protein. Sementara berdasarkan analisis pengaruh untuk masing-masing faktor dapat disimpulkan bahwa presentase rendemen konsentrat tidak dipengaruhi baik oleh jenis larutan maupun konsentrasi larutan.. Hasil ini diduga karena larutan etanol maupun aseton memiliki batas konsentrasi dimana saat konsentrasi melebihi batas tersebut maka tidak akan ada lagi peningkatan pada rendemen konsentrat protein. Pendapat ini sesuai dengan pendapat Rosenberg (2005) bahwa pada metode pengendapan protein dengan penambahan larutan organik seperti aseton atau etanol penggunaan konsentrasi 20% hingga 30% akan membuat protein mulai mengendap, dan pada saat konsentrasi telah mencapai 50% sebagian besar protein telah mengendap.

Tabel 1. Hasil perhitungan rendemen konsentrat terhadap perbedaan jenis dan konsentrasi larutan

Jenis larutan	Konsentrasi larutan (%)		Rata-rata
	96	70	
	------(%)-----		
Etanol	5,43±0,52 _a	4,85±0,79 _a	5,14±1,33 ^a
Aseton	3,89±0,79 _a	4,60±0,73 _a	4,24±0,80 ^a
Rata-rata	4,66±1,25 ^a	4,73±1,14 ^a	

Keterangan : - Subskrip huruf kecil yang sama menunjukkan bahwa tidak pengaruh interaksi jenis dan konsentrasi larutan
 - Superskrip huruf kecil yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata

Tabel 2. Hasil kadar protein konsentrat terhadap perbedaan jenis dan konsentrasi larutan

Jenis larutan	Konsentrasi larutan (%)		Rata-rata
	96	70	
	------(%)-----		
Etanol	94,87±2,72 _a	94,09±2,73 _a	94,48±2,60 ^a
Aseton	60,23±6,00 _a	64,49±4,23 _a	62,36±5,39 ^b
Rata-rata	77,55±18,78 ^a	79,29,±15,96 ^a	

Keterangan : - Subskrip huruf kecil yang sama menunjukkan bahwa tidak pengaruh interaksi jenis dan konsentrasi larutan
 - Superskrip huruf kecil yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata

Kadar protein dari konsentrat protein

Konsentrat protein dengan penggunaan etanol konsentrasi 96% memiliki kadar protein sebanyak 94,87% sementara penggunaan etanol konsentrasi 70% menghasilkan kadar protein sebanyak 94,09%. Sementara konsentrat protein yang dibuat menggunakan aseton konsentrasi 96% hanya memiliki kadar protein sebanyak 60,23% dan konsentrat protein dari penggunaan aseton 70% memiliki kadar protein hanya 64,49%. Berdasarkan hasil analisis dengan metode statistik RAL Faktorial 2x2, dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat interaksi jenis dan konsentrasi larutan terhadap kadar protein konsentrat. Sementara berdasarkan hasil analisis per faktor diperoleh hasil bahwa faktor yang dapat mempengaruhi kadar protein secara signifikan adalah jenis larutan, sementara faktor perbedaan konsentrasi larutan tidak mempengaruhi secara signifikan. Hasil ini diduga karena etanol mampu melarutkan komponen non-protein lebih baik dibandingkan dengan aseton. Rendahnya kemurnian protein pada konsentrat disebabkan oleh adanya komponen non-protein yang terdapat pada konsentrat protein. Semakin banyak komponen non-protein dalam konsentrat protein, maka semakin berkurang pula kemurnian konsentrat protein. Oleh karena itu proses ekstraksi konsentrat protein harus mampu memisahkan komponen non-protein dari konsentrat

protein. Dugaan ini diperkuat dengan pendapat Subagjo (2006) yang berpendapat bahwa etanol dapat digunakan pada pemurnian ekstraksi protein karena etanol mampu melarutkan komponen non-protein yang tersisa pada konsentrat protein seperti gula sederhana, pigmen, dan material abu pada hasil ekstraksi.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengujian tidak terdapat interaksi antara jenis larutan dan konsentrasi larutan terhadap presentase rendemen dan kadar protein konsentrat protein. Hasil rendemen konsentrat protein kacang tunggak tidak dipengaruhi baik oleh jenis maupun konsentrasi larutan. Sementara kadar protein dari konsentrat protein kacang tunggak dipengaruhi oleh perbedaan larutan namun tidak dipengaruhi oleh perbedaan konsentrasi. Hasil terbaik diperoleh dari larutan etanol 70% karena memiliki kadar protein tinggi dan tidak jauh berbeda dengan etanol konsentrasi 96%.

Daftar Pustaka

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2006. Official Methods of Analytical of The Association of Official Analytical Chemist. Washington DC.
- Ahmed, H. 2004. Principles and Reactions of Protein Extraction, Purification, and Characterization. Taylor & Francis Inc, U. S. A.
- Dennison, C. 2003. A Guide to Protein Isolation. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- Deutscher, M. 1990. Guide to Protein Purification, Volume 182. Academic Press, U.S.A.
- Dunford, N. T. 2012. Food and Industrial Bioproducts and Bioprocessing. Wiley-Blackwell, U.S.A.
- Haliza, W., E. Y. Purwani, dan R. Thahir. 2007. Pemanfaatan kacang-kacangan lokal sebagai substitusi bahan baku tempe dan tahu. Buletin Teknologi Pascapanen Pertanian, 3: 1 – 8.
- Rangel, A., K. Saraiva., P. Schwengber., M. S. Narciso., G. B. Domont., S. T. Ferreira., C. Pedrosa. 2004. Biological Evaluation of a protein isolate from cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds. Food Chemistry, 87 (4) : 491–499.
- Rosenberg, I. M. 2005. Protein Analysis and Purification. Birkhäuser, Berlin.
- Sayekti, R. S., P. Djoko, dan Toekidjo. 2012. Karakterisasi delapan aksesori kacang tunggak (*Vigna unguiculata* L. Walp) asal Daerah Istimewa Yogyakarta. Jurnal Penelitian 1 (1).
- Subagjo, A. 2006. Characterization of hyacinth bean (*Lablab purpureus* (L.) sweet) seeds from Indonesia and their protein isolate. Food Chemistry 95(1) : 65-70
- Tiwari, K., and N. Singh. 2012. Pulse Chemistry and Technology. RSC Publishing, U. K.
- Witono, Y., C. Anam., Herlina., and A. D. Pamujiati. 2014. Chemical and Functional Properties of Protein Isolate from Cowpea (*Vigna unguiculata*). Advance Science Engineering Information Technology 4(2) : 58 - 62