Profil Koagulasi Protein Tahu Campuran Kacang Koro Pedang (*Canavalia ensiformis* DC) dengan Kacang Kedelai

*Protein Coagulation Profile of Mix Sword Bean (*Canavalia ensiformis* DC) and Soybean Tofu*

Dadang Supriatna *, Rienoviar *, H. Guring Pohan, Enny Hawani Lubis
dan Mirna Isyanti

Balai Besar Industri Agro (BBIA)
Center for Agro Based-Industry (CABI)
Jl. Ir. H. Juanda No, 11 Bogor 16122

Riwayat Naskah:

Diterima 08, 2019
Direvisi 09, 2019
Disetujui 09, 2019

ABSTRAK: Pembuatan tahu menggunakan campuran kacang koro pedang dan kacang kedelai telah dilakukan. Tahu dibuat melalui metode perendaman dengan air selama 3 jam, kemudian digiling, diperas, direbus dan digumpalkan menggunakan whey tahu atau sioko. Tujuan dari penelitian adalah untuk mempelajari profil koagulasi protein tahu dari campuran kacang koro pedang dan kedelai. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, pencampuran kacang koro pedang sebagai pencampur kacang kedelai dapat digunakan sebanyak 10%. Profil koagulasi protein yang diekstrak dari semua perlakuan mempunyai profil SDS-PAGE dan pita yang hampir sama yang tergolong ke dalam asam polipeptida.

Kata Kunci: kacang koro pedang, kedelai, profil koagulasi protein, tahu.

ABSTRACT: Making tofu using a mixture of sword beans and soybeans has been done. Tofu was made through a soaking method with water for 3 hours, then ground, squeezed, boiled and coagulated using whey tofu or sioko. The aim of the study was to study the coagulation profile of protein tofu from a mixture of sword beans and soybeans. The results showed that 10 % of sword bean can be mix with soybean to produce good tofu. The coagulation profile of the extracted proteins from all treatments had almost the same SDS-PAGE profile and bands belonging to the polypeptide acid.

Keywords: protein coagulation profile, soybean, sword bean, tofu.

* Kontributor utama
Email : Dadang Supriatna (diazarapapa@yahoo.co.id), Rienoviar (irinrienoviar@yahoo.com)

1. Pendahuluan

Konsumsi kedelai di Indonesia melebihi dari produksinya, sehingga dipenuhi dengan impor (Aldillah, 2015). Kondisi ini menuntut pengrajin tahu dan tempe untuk mencari alternatif pengganti kedelai sebagai bahan dasar tahu dan tempe, antara lain dengan kacang koro pedang. Menurut Susanti *et al.* (2013) kacang koro dapat dibuat menjadi tahu, tempe, koro goreng dan stik koro. Sedangkan menurut Kasno (2016), produktivitas rata-rata koro pedang sebanyak 7 ton/ha dengan potensi hasil mencapai 12 ton/ha. Luas lahan penanaman kacang koro pedang baru mencapai 1.590 hektar dengan produksi rata-rata 5 ton per tahun. Kacang koro pedang mengandung protein yang relatif tinggi, Menurut Gilang *et al.*, (2013), kacang koro pedang mengandung protein sekitar 25-29,7%, bergantung cara pengolahannya, seperti perendaman, perebusan sebelum digunakan, dan jumlah ragi yang digunakan (Diniyah *et al.*, 2014). Susanti *et al.* (2013) menganalisis protein kacang koro pedang sebesar 28,6%.

Tahu merupakan produk *curd* yang secara umum dihasilkan dari koagulasi protein susu kedelai (Dey *et al.*, 2017), yang memanfaatkan sifat gelasi protein. Pada pembuatan tahu, gelasi protein terjadi ketika koagulan ditambahkan ke dalam susu kedelai (Cheng-Chan dan Ling-Hua, 2015).

Gelasi protein terjadi ketika koagulan ditambahkan ke dalam sari kedelai. Konsentrasi koagulan dan suhu sari kedelai mempengaruhi proses kecepatan koagulasi dan agregasi protein, yang menyebabkan banyaknya protein menyatu membentuk matrik *curd* (Syah *et al.*, 2012).

Sifat gelasi protein ini berhubungan dengan interaksi hidrofobik, interaksi elektrostatis, ikatan hidrogen dan ikatan disulfida kemudian membentuk jaringan tiga dimensi (Kohyama *et al.*, 1995). Kemampuan protein untuk membentuk gel yang diinduksi panas dan memberikan tekstur yang tepat ditentukan oleh struktur molekulnya (primer, sekunder, tersier, kuaterner), interaksi dengan komponen lain (garam, asam, urea) dan kondisi pemrosesan (pH, kekuatan ionik, suhu pemanasan, tingkat pemanasan dan pendinginan) (Rimac *et al.*, 2009). Gel-gel yang disiapkan pada pH 3 menunjukkan kekerasan yang lebih tinggi dibanding pH 7 (Rimac *et al.*, 2009). Menurut Hettiarachchy dan Kalapathy (1998), pembentukan gel oleh perlakuan panas terjadi pada konsentrasi protein > 8 %.

Rimac *et al.* (2009), Selama hidrolisis, protein pecah menjadi peptida-peptida dan asam amino bebas dengan berbagai ukuran sehingga terjadi peningkatan interaksi diantara gugus fungsional dan hidrolisis enzimatis. Interaksi ini

bertanggung jawab terhadap kekuatan jaringan dan merupakan faktor penting dalam proses gelasi protein whey, dan karakteristik gel yang diperoleh adalah pH. pH mempengaruhi muatan bersih (*net charge*) yang dibawa oleh protein. Perbedaan pH pada suhu 80°C selama 30 menit menghasilkan perbedaan kekerasan tekstur gel. Semakin asam (pH 3) maka tekstur gel semakin keras, sedangkan semakin tinggi (pH 9) tidak terjadi pembentukan gel (Rimac *et al.*, 2009).

Berdasarkan uraian di atas, maka tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari profil koagulasi protein dari tahu yang dibuat dari campuran kacang koro pedang dan kedelai.

2. Bahan dan Metode

2.1. Bahan

Bahan baku pembuatan tahu terdiri dari kacang koro pedang dan kedelai. Bahan koagulan yang digunakan adalah asam asetat 5%, sioko dan whey tahu.

2.2. Alat

Peralatan yang digunakan terdiri dari: gilingan *type disk mill* dengan motor listrik 0,5 HP, timbangan kasar kapasitas 5 kg, panci perendaman, cetakan tahu yang terbuat dari *stainless steel*, kompor, panci dan kain saring.

2.3. Metodologi

Metodologi penelitian merupakan modifikasi dari Susanti *et al.* (2013), yang terdiri dari penelitian pendahuluan dan penelitian lanjutan. Penelitian pendahuluan bertujuan untuk melihat penggumpalan tahu dari bahan campuran kacang kedelai dan kacang koro pedang. Campuran kacang kedelai dan kacang koro pedang terlebih dahulu direndam dalam air selama 3 (tiga) jam, kemudian digiling dan diperas untuk mendapatkan susu dari campuran kedelai dan kacang koro pedang, kemudian direbus dan digumpalkan untuk menghasilkan tahu. Penelitian lanjutan untuk mengetahui profil koagulasi protein dari campuran kedelai dan kacang koro pedang.

Penelitian lanjutan

Rasio kacang kedelai dan kacang koro pedang adalah (1:9). Rasio air dan campuran kacang koro pedang dan kedelai untuk menghasilkan susu campuran kacang koro pedang dan kacang kedelai

adalah 10:1. Kacang koro pedang dan kacang kedelai direndam bersama-sama dalam air selama 3 jam. Campuran kacang koro pedang dengan kacang kedelai ditiriskan dan digiling dengan mengupas kulitnya terlebih dahulu. Campuran kacang koro pedang dan kacang kedelai dihancurkan sampai menjadi bubur. Bubur campuran kacang koro pedang dan kacang kedelai disaring menggunakan kain saring sambil diperas selanjutnya dimasak sampai mendidih.

Pembuatan tahu yaitu: susu campuran kacang koro pedang dan kedelai ditambahkan koagulan (*whey* atau *sioko* yang telah dilarutkan pada air mendidih sampai jenuh), sambil diaduk

perlahan sampai terjadi koagulasi. Biarkan proses koagulasi sempurna sampai air terlihat bening. Kemudian air dibuang dengan cara menempatkan kain saring diatas gumpalan tahu menggunakan gayung kecil. Setelah airnya berkurang, gumpalan protein dimasukkan ke dalam cetakan yang sudah dialas kain saring kemudian ceakan ditekan agar air keluar sebanyak mungkin dengan menempatkan pemberat diatas cetakan. Gumpalan protein dalam cetakan yang sudah padat, kemudian diangkat dan dipotong-potong. Skema proses pengolahan tahu dari campuran kacang koro pedang dengan kacang kedelai dapat dilihat pada Gambar 1.

Gambar 1. Skema proses pembuatan tahu campuran kacang koro pedang dengan kacang kedelai

2.4. Analisis

Analisis dilakukan terhadap kadar air metode oven (AOAC 925.10-1995), kadar protein dengan metode Kjeldahl (AOAC, 2010), kadar lemak dengan metode soxhlet (AOAC, 2010), abu (AOAC, 2010), karbohidrat, rendemen tahu (dengan cara penimbangan), analisis tekstur tahu dengan metode *texture profile analysis* (menggunakan instrumen TA-XT2i) serta analisis profil SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrilamide-Gel Electroforesis*).

Analisis Profil SDS-PAGE (Bollag et al. 1991)

Uji SDS-PAGE terdiri dari persiapan pereaksi, pembuatan media gel, preparasi sampel dan marker, serta proses pemisahan. Sampel yang dianalisis menggunakan uji SDS-PAGE hanya sampel dengan perlakuan lama pemanasan 25 menit pada tekanan 1, 2, 3, 4, dan 5 bar. 1. Persiapan Pereaksi untuk Proses Pewarnaan SDS-PAGE; a) Akrilamid/bis 19:1 dan Akrilamid dibuat dengan cara melarutkan sebanyak 7,4 gram akrilamid/bis dan 8 gram akrilamid dalam 50 ml akuades. Kemudian disimpan pada suhu 4 oC dalam ruangan gelap (maksimal 30 hari). b) Tris HCl 1,5 M; pH 8,8. Reagen ini dibuat dengan cara melarutkan sebanyak 27,23 gram Tris base dengan 80 ml akuades, kemudian pH diatur menjadi tepat 8,8 dengan HCl 6 N. Larutan ditara dengan akuades hingga volume mencapai 150 ml dan disimpan pada suhu 4 oC. c) Tris HCl 0,5 M; pH 6,8. Reagen ini dibuat dengan cara melarutkan sebanyak 6 gram Tris base dengan 60 ml akuades, kemudian pH diatur menjadi tepat 6,8 dengan HCl 6 N. Larutan ditara sampai volume 100 ml dengan akuades dan disimpan pada suhu 4 oC.

Membuat reagen SDS 10% (w/v)

Reagen ini dibuat dengan cara melarutkan sebanyak 10 gram SDS dalam 90 ml akuades dengan menggunakan stirrer dan ditara dengan akuades hingga volume mencapai 100 ml.

Buffer sampel (SDS Reducing Center) 5x

Reagen ini dibuat dengan cara mencampur zat-zat kimia berikut: Akuades 6,8 ml, Tris HCl 0,5 M; pH 6,8 2,0 ml, Gliserol 3,2 ml, SDS 20% (w/v) 1,6 ml, Bromofenol blue 1% (w/v) 1,6 ml, β -merkaptotanol 0,8 ml. Kemudian buffer sampel disimpan pada suhu 4 oC.

Buffer Elektroda (Running Buffer), pH 8.3

Reagen ini dibuat dengan cara mencampur zat-zat kimia berikut: Tris base 30,3 g, Glisin 144,0 g, SDS 10,0 g. Kemudian larutan ditara sampai volume 1000 ml dengan akuades. Larutan ini tidak boleh disesuaikan pH-nya menggunakan asam atau basa. Kemudian larutan disimpan pada suhu 4 oC. Jika

terjadi presipitasi, larutan dihangatkan pada suhu ruang sebelum dipakai.

APS 10%

Reagen ini dibuat dengan cara melarutkan sebanyak 100 mg ammonium persulfat dalam 1 ml akuades.

Larutan Pewarna (staining)

Reagen ini dibuat dengan cara melarutkan sebanyak 0,5 gram Coomassie Blue R 250; 50 ml asam asetat pekat; 200 ml methanol; dan akuades sehingga volume larutan menjadi 500 ml.

Larutan Pencuci (de-staining)

Reagen ini dibuat dengan cara mencampurkan 100 ml asam asetat pekat, 400 ml metanol 95%, dan akuades sehingga volume larutan menjadi 1 l.

Pembuatan Media Gel

Media gel terdiri dari *separating gel* dan *stacking gel* dibuat dengan cara mencampur bahan yang tertera pada Tabel 8. *Separating gel* dibuat dengan konsentrasi 12,5% sedangkan *stacking gel* dibuat dengan konsentrasi 4%.

Hal pertama yang dilakukan dalam pembuatan media gel yaitu mempersiapkan alat pencetak gel. Dua lempeng kaca direkatkan dan diberi pemisah dari plastik. Kemudian digunakan sebagai cetakan gel (*mini slab gel*). Gel yang dibuat terlebih dahulu yaitu gel bawah (*separating gel*). Buffer tris HCl, SDS 10%, akrilamid, dan akuades dicampur dan diaduk dalam gelas piala. Kemudian ditambahkan TEMED dan terakhir APS sambil tetap diaduk. Campuran dimasukkan dalam cetakan gel (*mini slab gel*) dengan menggunakan mikro pipet sampai sekitar 1 cm dari atas lempengan. Perlu diperhatikan ketika pemasukan larutan gel ke dalam *slab* jangan sampai terbentuk gelembung karena akan mengganggu jalannya proses separasi. Bagian yang tidak diisi gel, diberi akuades untuk meratakan gel yang terbentuk dan menghindari kontak udara dengan gel. Kemudian gel dibiarkan mengalami polimerisasi selama sekitar 30 menit. Lapisan air di atas gel dikeringkan dengan tisu. Gel atas (*stacking gel*) dibuat setelah gel bawah terbentuk. Buffer tris HCl, SDS 10%, akrilamid, dan akuades dicampur dan diaduk dalam gelas piala. Kemudian ditambahkan TEMED dan terakhir APS sambil tetap diaduk. Larutan gel atas dipipet dan dimasukkan ke dalam *mini slab* di atas *separating gel* hingga mencapai puncak plat. Kemudian sisir dipasang dengan cepat untuk menghindari terbentuknya gel sebelum sisir dimasukkan. Ketika memasukkan sisir diperlukan kehati-hatian agar tidak ada udara yang

terperangkap. Setelah gel terbentuk, sisir diangkat sehingga terbentuk sumur-sumur.

Persiapan Sampel Dan Marker

Sampel tepung kedelai sebanyak 0,2 gram dilarutkan ke dalam 10 ml larutan buffer tris HCl pH 8,5. Kemudian dikocok menggunakan stirrer selama 2 jam dengan kecepatan 200 rpm dan disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm (13000 xg) selama 30 menit. Supernatan diambil sebanyak 2 ml dan dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf ukuran 2 ml. Setelah itu disentrifuse dengan kecepatan 13000 rpm (15000 xg) selama 5 menit. Supernatan diambil dan diukur kadar protein terlarutnya menggunakan uji bradford. Setelah diperoleh konsentrasi dari masing-masing sampel, dilakukan pengenceran terhadap sampel hingga mencapai konsentrasi 60 µg/ml dengan menggunakan buffer trisHCl. Sampel tersebut digunakan untuk preparasi sampel pada uji SDS-PAGE. Marker yang digunakan yaitu LMW-SDS (*Low Molecular Weight*-SDS) sebanyak 10 µl. Sampel sebanyak 10 µl dicampur dengan 15 µl 5x buffer sampel. Kemudian di-*vortex* selama 40 detik. Setelah itu dipanaskan pada suhu 95 °C selama 5 menit dan di-*vortex* kembali selama 40 detik. Kemudian disentrifuse 10000 xg selama 5 menit. Running buffer 1x, alat elektroforesis, dan *power supply* disiapkan dan dirangkai.

Proses Pemisahan

Plate gel ditempatkan ke dalam *chamber* elektroforesis, kemudian diisi dengan *running buffer*. Sebanyak 15 µl sampel dimasukkan ke dalam masing-masing sumur (*well*) dengan menggunakan pipet mikro, sedangkan marker dimasukkan sebanyak 10 µl. Kemudian alat elektroforesis dihubungkan dengan arus listrik bertegangan 140 volt (dinaikkan menjadi 160 volt apabila sudah mencapai *separating gel*) dan besar arus 100 ampere. *Running* dilakukan selama sekitar 1 jam sampai protein standar mencapai batas akhir yaitu kira-kira 1 cm dari ujung gel. Setelah selesai, aliran listrik dimatikan dan katup elektroda dilepaskan. Kemudian *plate gel* dipindahkan dari *chamber* elektroforesis.

Proses Pewarnaan SDS-PAGE

Gel dikeluarkan dari *plate*-nya dengan cara membuka *plate* kaca yang tipis menggunakan spatula yang pipih. Kemudian dialiri air sampai gel terlepas dari *plate* kaca yang tebal. Gel diletakkan dalam wadah dan ditambahkan dengan akuades. Kemudian gel dibilas dengan menggunakan akuades sebanyak lima kali. Selanjutnya ditambahkan larutan *stain* (Coomassie Blue R 250) sampai terendam dan diinkubasi semalam. Larutan *stain* dibuang dan diganti dengan larutan penghilang warna (larutan *destain*). Kemudian gel dapat disimpan dalam

bentuk kering atau direndam dalam air. Apabila pita-pita belum terlihat jelas, dapat dilakukan pewarnaan perak (*silver staining*).

Proses Pewarnaan Perak (Silver Staining)

- Fiksasi” Reagen yang digunakan dalam tahap ini, dibuat dengan cara mencampurkan 25 ml etanol, 6 ml asam asetat, 25 µl formaldehid 37%, dan ditera hingga mencapai volume 50 ml. Gel direndam dalam larutan tersebut selama 1 jam;
- Wash*: Reagen yang digunakan dalam tahap ini yaitu etanol 50%. Larutan ini dibuat dengan cara mencampur 75 ml etanol dengan akuades sampai mencapai volume 150 ml. Gel direndam selama 20 menit, dan dilakukan sebanyak tiga kali perendaman. Setiap perendaman menggunakan 50 ml etanol 50%;
- Pretreatment*: Reagen yang digunakan dalam tahap ini, dibuat dengan cara melarutkan 0,016 gram sodium tiosulfat pentahidrat dalam akuades hingga volume akhir mencapai 50 ml. Gel direndam selama satu menit;
- Rinse*: Pada tahap ini, gel direndam dalam akuades selama 20 detik dan dilakukan sebanyak 3 kali perendaman;
- Impregnated*: Reagen yang digunakan dalam tahap ini, dibuat dengan cara melarutkan 0,1 gram perak nitrat (AgNO₃) dan 37,5 µl formaldehid 37% dalam akuades sampai volume mencapai 50 ml. Gel direndam dalam reagen ini selama 20 menit.

Rinse

Pada tahap ini, gel direndam dalam akuades selama 20 detik dan dilakukan sebanyak 3 kali perendaman.

Develop

Reagen yang digunakan dalam tahap ini, dibuat dengan cara melarutkan 6 gram natrium karbonat (Na₂CO₃), 200 µl *pretreatment solution*, dan 50 µl formaldehid dalam akuades hingga volume larutan mencapai 100 ml. Gel direndam hingga *band* protein mulai muncul.

Stop

Setelah *band* protein muncul, gel harus segera dipindahkan ke dalam *stop solution*. Larutan ini dibuat dengan cara mencampurkan 25 ml metanol, 6 ml asam asetat, dan akuades hingga diperoleh volume akhir sebesar 50 ml. Gel direndam selama 10 menit.

Wash

Reagen yang digunakan dalam tahap ini yaitu etanol 50%. Larutan ini dibuat dengan cara mencampur 25 ml etanol dengan akuades hingga

mencapai volume 50 ml. Gel direndam selama 20 menit. Setelah semua proses selesai, gel dapat disimpan dalam bentuk kering atau direndam dalam air.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Penelitian pendahuluan

3.1.a. Rendemen Tahu

Dalam penelitian pendahuluan digunakan 100% kacang koro pedang dan berbagai campuran kacang kedelai dan kacang koro pedang dengan perbandingan 65 : 35; 60 : 40 ; 55 : 45. Sedang bahan koagulan yang digunakan adalah asam asetat 5 %, atau *whey* tahu atau sioko. Hasil penelitian diperoleh bahwa semakin tinggi konsentrasi kacang koro pedang (35 : 65 ; 40 : 60 dan 45 : 55) menghasilkan rendemen tahu yang semakin rendah, yaitu 582 g, 565 g dan 532 g, sedang penggunaan kacang koro 100 % tidak terbentuk gumpalan tahu.

Hal ini karena perbedaan kandungan protein kedelai yang lebih tinggi dibanding kandungan protein kacang koro pedang. Menurut Susanti *et al.* (2013) bahwa kandungan protein kacang koro

$\pm 28,6\%$ sedangkan protein kacang kedelai sekitar 39-40% (Yulifianti dan Ginting, 2012). Rendemen tahu dipengaruhi oleh varietas kacang kedelai dan kandungan protein kacang kedelai (Yulifianti dan Ginting, 2012). Selain itu kandungan globulin dari kacang kedelai yang berbeda menyebabkan perbedaan rendemen (Yang dan James, 2014).

Analisis Proksimat

Analisis proksimat terhadap tahu yang dibuat dari rasio kacang koro pedang dan kacang kedelai 1:2 dan 1:1,5 disajikan pada Tabel 1. Kandungan protein dan lemak tahu yang dibuat dari rasio kacang koro pedang dan kacang kedelai sebesar 1 : 2 lebih besar dibanding tahu yang dibuat dengan rasio kacang koro pedang dan kacang kedelai sebesar 1:1,5, sedangkan penggunaan koagulan *whey* tahu umur 1 hari dan 2 hari tidak menunjukkan perbedaan kandungan protein dan lemak. Elygio *et al.* (2016) mengatakan bahwa perbedaan koagulan memberikan perbedaan rendemen dan protein tahu lebih tinggi pada pemberian 2% *whey* kacang kedelai.

a.

b.

Gambar 2. Gambar proses koagulasi protein (a. Foto produk susu kacang koro 100%; b. Foto produk susu dari variasi kacang koro dan kacang kedelai 25:65; 40:60; dan 45:55)

Tabel 1

Hasil analisis proksimat kacang koro, kacang kedelai dan tahu

Parameter	Kacang Koro	Kacang Kedelai	Tahu A	Tahu B	Tahu C	Tahu D
Air (%)	14,5	9,53	87,5	87,4	88,6	88,9
Abu (%)	3,24	5,02	0,24	0,19	0,20	0,20
Protein (Nx6,25) (%)	22,3	34,5	6,52	6,19	5,32	5,20
Lemak (%)	25,1	14,7	3,38	3,34	2,87	2,72
Karbohidrat (%)	57,5	36,3	2,06	2,88	3,01	2,98

Keterangan :

Tahu A = whey umur 1 hari (Koro : Kedelai = 1 : 2)

Tahu B = whey umur 2 hari (Koro : Kedelai = 1 : 2)

Tahu C = whey umur 1 hari (Koro : Kedelai = 1 : 1,5)

Tahu D = whey umur 2 hari (Koro : Kedelai = 1 : 1,5)

3.2. Penelitian Lanjutan

3.2.1. Karakteristik koagulasi

Faktor yang sangat berperan dalam proses koagulasi susu campuran kacang koro pedang dan kacang kedelai tersebut adalah suhu pemasakan. Apabila proses pemasakan suhunya kurang atau tidak mendidih, maka pada saat proses koagulasi kecenderungannya proses pembentukan tahu kurang sempurna. Hal ini ditandai dengan masih terdapatnya *whey* atau cairan sisa proses penggumpalan protein berwarna keruh karena adanya protein yang belum menggumpal atau dengan kata lain *whey* tidak berwarna bening. Menurut Murdia dan Wardhami (2010), kadar protein tahu dipengaruhi oleh tekanan, suhu koagulasi, dan konsentrasi koagulan (Syah *et al.*, 2014), Kohyama *et al.* (1995). Mekanisme gelasi tahu ada dua tahap yaitu denaturasi protein kemudian pembekuan hidrofobik. Denaturasi protein adalah mengekspos molekul protein yang berada dalam keadaan asli, yang terdiri dari bagian hidrofobik, terhadap panas untuk terjadinya denaturasi. Denaturasi protein kacang kedelai menghasilkan ion bermuatan negatif. Selanjutnya gen proton dipicu oleh glukono-delta-lakton (GDL) dan dinetralkan muatan bersih oleh ion kalsium yang ada dalam protein. Sehingga menghasilkan interaksi hidrofobik yang lebih baik antara molekul protein netral dan menginduksi agregasi molekul protein yang akhirnya mengarah pada pembentukan dadih kedelai. Adapun prosesnya dapat dijelaskan pada Gambar 3.

Gambar 3. Pembentukan gel tahu (mekanisme Koyama) (Koyama *et al.* 1995).

Dari hasil pengamatan selama proses koagulasi dengan menggunakan asam asetat, atau *whey* atau sioko hasilnya relatif sama dengan kata lain susu campuran kacang koro pedang dan kacang kedelai dapat menggumpal dengan baik. Namun jika dibandingkan produk tahu yang dihasilkan ternyata terdapat perbedaan yang sangat mencolok pada sifat fisik produk tahu yaitu kekerasannya yang diamati secara visual. Hasil yang diperoleh bahwa semakin besar jumlah kacang koro pedang yang ditambahkan semakin lunak produk tahu yang dihasilkan, karena

penggumpalan protein kacang koro pedang sangat sulit diakibatkan dari sifat proteinnya yang pada saat proses kemungkinan terjadi proses auto fermentasi yang membentuk koagulasi protein yang berupa butiran-butiran yang sangat kecil. Sehingga dengan penambahan asam atau basa butiran-butiran tersebut sudah tidak dapat membentuk butiran-butiran protein yang lebih besar. Hal ini berakibat pada produk tahu yang dihasilkan menjadi lebih lunak.

Terjadinya penggumpalan protein diakibatkan adanya perubahan pH dari basa ke asam. pH koagulasi sioko 6,7 dan pH whey tahu 6,2 dimana pH merupakan faktor yang penting dalam proses koagulasi protein. Dari ke dua jenis koagulan kecenderungan pH koagulasi diatas titik isoelektrik. Hal ini diduga akibat dari protein kacang koro yang kecenderungannya sulit terkoagulasi membentuk *curd*. Menurut Berk (1992), protein kacang kedelai akan menggumpal pada pH 4,2 – 4,6 dimana protein memiliki tingkat kelarutan terendah.

3.2.2. Analisis Tekstur (Menggunakan alat TA-XT2i)

Tekstur bahan pangan adalah salah satu faktor mutu yang penting bagi bahan pangan tersebut agar diterima konsumen. Analisis karakteristik tekstur tahu dengan penggumpal atau koagulan *whey* (tahu whey) dan tahu dengan penggumpal sioko (tahu sioko) secara fisik dianalisis menggunakan instrument TA-XT2i dengan metode *Texture Profile Analysis* (TPA). Parameter yang diukur menggunakan metode TPA adalah kekerasan, kelengketaan, dan kekenyalan. Adapun hasil analisis tekstur tahu *whey* dan tahu sioko dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Analisis Tekstur Tahu dengan Penggumpal *whey* (Metode *Texture Profile Analysis*)

Parameter	Sat	Hasil analisis		Metode
		Tahu Whey	Tahu Sioko	
Jarak	m	16,3075	16,679	Texture Analyzer
Kekerasan	gf	2658,37	981,8	Texture Analyzer
Kelengketaan	gf	-33,08	-23,75	Texture Analyzer
Kekenyalan	-	0,3411	0,3082	Texture Analyzer

Pengukuran tekstur menunjukkan kekerasan untuk tahu *whey* nilai rerata untuk jarak sebesar 16,3075 mm, kekerasan 2658,37 gf, kelengketaan - 33,08 gf dan kekenyalan 0,3411 gf. Sedangkan untuk tahu sioko menunjukkan nilai rerata jarak sebesar 16,679 mm, kekerasan sebesar 981,8 gf, kelengketaan sebesar -23,75 gf dan kekenyalan sebesar 0,3082. Dari hasil pengukuran secara obyektif antara tahu *whey* dan tahu sioko terlihat bahwa dari segi kekerasan tahu sioko memiliki

tekstur yang lebih lunak yaitu 981,8 gf dibandingkan dengan tahu *whey* sebesar 2658,37 gf. Pada tahu sioko diperoleh gaya sebesar 981,8 gf untuk memecah tahu. Nilai ini lebih rendah dibandingkan dengan tahu *whey* yang memiliki nilai 2658,37 gf. Dengan kata lain semakin besar nilai kekerasan yang didapat menunjukkan tahu yang dihasilkan lebih keras sehingga membutuhkan gaya yang lebih besar untuk memecah tahu.

Kekenyalan untuk tahu *whey* 0,3411, sedangkan tahu sioko 0,3082 gf, tahu *whey* memiliki kekenyalan lebih besar dibandingkan dengan tahu sioko. Kekenyalan menunjukkan kekompakan struktur tahu. Menurut Indrawijaya *et al.* (2017), kekenyalan tahu bisa dihasilkan dengan menambahkan kitosan pada susu tahu.

Pada penelitian ini kelengketan tahu *whey* sebesar -33,08 gf dan tahu sioko sebesar -23,75 gf. Hal menunjukkan bahwa tahu sioko mudah dihancurkan menjadi ukuran yang lebih kecil dan mudah ditelan. Hal ini sesuai dengan kadar protein tahu *whey* 12,9% dan lebih rendahnya kadar air tahu *whey* yaitu 87,4%, sedangkan tahu sioko kadar proteinnya sebesar 11,8% dan kadar airnya lebih besar 88,9%. Hal ini disebabkan oleh penggunaan bahan koagulan *whey* (asam) dan sioko (garam) yang memberikan pengaruh berbeda terhadap sifat fisik dari tahu. Tingkat sinergi gel yang menggunakan koagulan asam sebesar 36,72% dan yang disebabkan oleh garam sebesar 14,77% (Murekatete *et al.* 2014).

Pada proses pembuatan tahu, tahapan yang paling penting adalah pembekuan dari droplet protein dan minyak dalam susu kedelai rebus, melalui bantuan koagulan, yang mempengaruhi tekstur, rasa, warna dan penerimaan keseluruhan produk akhir (Murekatete, *et al.*, 2014). Koagulan asam bekerja dengan melepaskan proton untuk menetralkan muatan negatif agregat protein kedelai kemudian dikoagulasi melalui interaksi hidrofobik dan elektrostatis untuk membentuk jaringan tiga dimensi yang berkelanjutan (Liu dan Kuo, 2011).

3.1.1. Analisis profil SDS-PAGE

SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfate Prolyacrilamide-Gel Electrophoresis*) merupakan teknik biologi molekuler yang digunakan untuk memisahkan protein berdasarkan berat molekulnya. SDS itu sendiri merupakan deterjen yang dapat mengubah bentuk protein yang rumit menjadi protein linear sederhana. SDS yang mengandung muatan negatif akan mengubah protein menjadi bermuatan negatif. SDS juga dapat melepaskan ikatan hidrofobik, ikatan hidrogen, dan ikatan elektrostatis protein sehingga bentuk protein menjadi linear.

Molekul protein yang telah dielektroforesis perlu diberi pewarnaan agar dapat diamati dengan mudah. Beberapa metode yang dapat dipakai pada tahap pewarnaan ini adalah menggunakan *Comassie Blue Staining*, *Silver Staining*, atau *double staining* (*Comassie Blue* dan *Silver*). *Comassie Blue* merupakan salah satu bahan yang sering digunakan untuk pewarnaan gel dengan sensitivitas pewarnaan yang tinggi. Karena sifat *Comassie Blue* yang dapat bereaksi dengan protein, pita-pita protein yang ada di *gel* akan terwarnai tanpa disertai perubahan warna pada matriks *gel*.

Dalam penelitian ini dilakukan analisis SDS-PAGE terhadap produk tahu sioko, tahu *whey*, tepung koro, dan tepung kacang kedelai. Adapun pewarnaan yang digunakan adalah *Comassie Blue staining* dan *Silver staining*. Profil SDS-PAGE untuk protein yang terekstrak dari sampel tahu sioko, tahu *whey*, tepung koro dan tepung kacang kedelai dapat dilihat pada Gambar 4 dan 5.

Gambar 4 dengan pewarnaan *Comassie Blue*, menunjukkan bahwa terdapat beberapa pita protein pada sampel tahu sioko, tepung koro dan tepung kacang kedelai. Untuk sampel tepung kacang kedelai dan tepung koro terlihat pita-pita protein dengan berat molekul yang relatif sama antar perlakuan pada ukuran 23 kDa, 30 kDa, 42 kDa, 47 kDa, 50 kDa, dan 70 kDa. Pada sampel tahu *whey* tidak terlihat adanya pita protein. Pewarnaan dilakukan dengan proses dilusi 2 kali, kurang terlihat pita-pita protein yang jelas, kecuali tepung kacang kedelai. Oleh karena itu dilusi ditingkatkan menjadi 5 kali, dimana pita protein terlihat lebih terpisah terutama pada tepung kacang kedelai. Hasil SDS-PAGE dengan Pewarnaan *Silver Staining* (konsentrasi gel 12%) dapat dilihat pada Gambar 4.

Hasil profil SDS-PAGE dengan pewarnaan *Silver staining*, terlihat lebih jelas pita-pita proteinnya. Berbeda dengan *Comassie Blue*, *Silver staining* dapat mewarnai protein dengan tingkat sensitivitas yang lebih tinggi. Mekanisme dasar pewarnaan ini adalah adanya reduksi ion perak menjadi logam perak. *Silver nitrate* yang digunakan akan bereaksi dengan protein dalam kondisi asam. Reduksi ion perak menjadi logam perak terjadi karena adanya oksidasi formaldehid pada kondisi basa. Daerah yang terdapat pita protein dan memiliki potensial reduksi tinggi akan memberikan gambaran positif.

Pada sampel tahu *whey* (1), (2), dan (3) terlihat pita-pita protein yang cukup tebal pada ukuran 25 kDa, 37 kDa, 42 kDa, 50 kDa, dan 100 kDa. Sedangkan tahu sioko (1) terlihat pita-pita protein yang cukup tebal pada ukuran 30 kDa, 37 kDa, 42 kDa, 50 kDa, dan 100 kDa. Tahu sioko (4) terlihat protein yang cukup tebal pada ukuran 30 kDa, 42 kDa, 50 kDa, dan 100 kDa.

Gambar 3. Profil SDS-PAGE dengan pewarnaan *Coomassie blue* (konsentrasi Gel 12%)

Keterangan:

1 = (dilusi 2x)

2 = Tahu Sioko (dilusi 2x)

3 = Tepung Koro (dilusi 2x)

4 = Tepung Kedelai (dilusi 2 x)

5 = Marker

6 = Tahu *Whey* (dilusi 5x)

7 = Tahu Sioko (dilusi 5x)

8 = Tepung Koro (dilusi 5x)

9 = Tepung Kedelai (dilusi 5x)

Gambar 4. Profil SDS-PAGE dengan pewarnaan *silver staining*

M = Marker

Keterangan :

1 = Tahu *Whey* (1)

2 = Tahu Sioko (1)

3 = Tahu Sioko (2)

4 = Tahu *Whey* (2)

5 = Tahu *Whey* (3) (dilusi 5x)

6 = Tahu Sioko (3) (dilusi 5x)

7 = Tahu Sioko (4) (dilusi 5x)

8 = Tahu *Whey* (4) (dilusi 5x)

Hasil SDS-PAGE berdasarkan pita protein tersebut diatas menunjukkan bahwa jenis protein yang ada dalam tahu sama dengan jenis protein yang ada dalam tepung kacang kedelai dan tepung kacang koro yaitu polipeptida-polipeptida penyusun glisinin (11S) dan β -konglisinin (7S). Menurut Syah *et al.* (2012) protein kacang kedelai terdiri dari glisinin (11S) dan β -konglisinin (7S), rasio protein 11S / 7S berkontribusi terhadap sifat tekstur dadih terutama pada karakteristik kekerasan dan kekenyalan (Syah *et al.*, 2014).

Pita - pita hasil SDS- PAGE pada Gambar 4. secara visual tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Pada sampel tahu *whey* (1), (2), dan (3) terlihat pita-pita protein yang cukup tebal pada ukuran 25 kDa (grup polipeptida asam), 37 kDa (Polipeptida A3), 42 kDa (polipeptida A3), 50 kDa (β - konglisinin), dan 100 kDa (α' - konglisinin). Sedangkan tahu sioko (1) terlihat pita-pita protein yang cukup tebal pada ukuran 30 kDa (grup polipeptida asam), 37 kDa (polipeptida A3), 42 kDa (polipeptida A3), 50 kDa (β - konglisinin), dan 100 kDa ((α' - konglisinin). Tahu sioko (4) terlihat protein yang cukup tebal pada ukuran 30 kDa (grup polipeptida asam), 42 kDa (polipeptida A3), 50 kDa(β -konglisinin), dan 100 kD(α' - konglisinin). Protein yang diekstrak dari tahu *whey*, tahu sioko, tepung kacang kedelai dan tepung kacang koro memiliki pita yang hampir sama atau bahkan sama yaitu lebih dominan tergolong kedalam polipeptida asam.

4. Kesimpulan

Penggunaan kacang koro pedang 100 % dalam proses pembuatan tahu menggunakan koagulan asam (*whey* tahu) maupun koagulan basa (sioko) tidak dapat menghasilkan tahu karena campuran kacang koro yang sangat halus sehingga tidak dapat dicetak menjadi tahu.

Pencampuran kacang koro pedang sebagai pencampur kacang kedelai dapat digunakan sebanyak 10% dan masih dapat diterima oleh panelis melalui uji organoleptik. Penggumpalan protein masih dapat terjadi dengan penggunaan kacang koro pedang sampai 45%.

Penggumpalan protein pada pembuatan tahu kacang koro pedang dapat terjadi dengan menggunakan koagulan *whey* tahu pada pH 6,2 atau sioko pada pH 6,7 menggunakan suhu pemanasan rata-rata 97 °C.

Tahu dengan koagulan *whey* mempunyai tekstur lebih keras yaitu 2.658,37gf dibanding tahu dengan koagulan sioko yaitu sebesar 981,8 gf. Parameter kekenyalan hampir sama, yaitu tahu dengan koagulan *whey* sebesar 0,3411 gf dan tahu dengan koagulan sioko sebesar 0,3082 gf. Tahu dengan koagulan *whey* mempunyai nilai kelengketan

sebesar -33,08 gf sulit untuk dihancurkan dibanding tahu menggunakan koagulan sioko yaitu sebesar -23,75 gf.

Hasil analisis SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrilamide-Gel Electriforesis*) menunjukkan bahwa kacang koro pedang dibanding dengan kacang kedelai, memiliki pita protein dengan berat molekul yang relatif hampir sama pada ukuran 23 kDa, 37 kDa, 50 kDa dan 100 kDa dan tergolong pada polipeptida asam.

Daftar Pustaka

- Aldillah, R. [2015]. Proyeksi produksi dan konsumsi kedelai Indonesia. *J ekonomi kuantitatif terapan*. 8(1):9-23.
- Berk, Z. [1992]. *Chemical and Biochemical Factors That The Influence and Protein from Soybean*. FAO Agricultural Services. *Bulletin No. 97*. Rome: Food and Agriculture Organization of United Nations.
- Cheng-Chang, L dan Ching-Hua, T. [2015] Characterising the Progress of Gelation in Tofu Making with Ohmic Heating. *J. of Agric Chem and Environment* 04(02):1-7. DOI: 10.4236/jacen.2015.42B001.
- Dey, A., Prasad, R., Kaur, S., Singh, J., Luwang, M.D. [2017]. Tofu: technological and nutritional potential. *Indian Food Industry Mag.* 36 (3): 8-24.
- Diniyah, N., Windrati, W.S., Maryanto, Purnomo, B.H., dan Wardani, W. [2014]. Karakterisasi tempe Koro Pedang (*Canavalia ensiformis* (L) yang dibuat dengan variasi persentase ragi dan jenis Pengemas. *Warta Industri Hasil Pertanian*, 31(1):1- 38.
- Elygio, Y.D., Legowo, A.M., Al-Baarri, A.N. [2016]. Karakteristik curd berbahan dasar ekstrak kacang hijau (*Vigna radiata*) dengan whey tahu kedelai (*Glycine max*) sebagai bahan penggumpal. *J Tek Hasil Pertanian*, 9 (2):33-39
- Gilang, R., Affandi, D.R., Ishartani, D. [2013]. Karakteristik fisik dan kimia tepung koro pedang (*Canavalia ensiformis*) dengan variasi perlakuan pendahuluan. *J Teknosains Pangan*, 2(3):34-42.
- Hettiarachchy, N.S., and Kalapathy, U. [1998]. *Functional properties of soy proteins*. In: Whitaker, J.R., Shahidi, F., Munguia, A.L., Yada, R.Y., and Fuller, G. *Functional Properties of Proteins and Lipids*. Washington DC: American Chemical.
- Indrawijaya, B., Paradiba, A., Murni, S.A. [2017]. Uji organoleptik dan tingkat ketahanan produk tahu berpengawet kitosan. *Jurnal Ilmiah Teknik Kimia UNPAM*, 1(2):1-7.
- Kasno, Astanto. [2016]. Prospek Aneka Kacang Potensial: Koro Pedang sebagai Pengganti Kedelai. [http : //balitkabi.litbang.pertanian.go.id/infotek/ prospek-aneka-kacang-potensial-koro-pedang-sebagai-pengganti-kedelai /](http://balitkabi.litbang.pertanian.go.id/infotek/prospek-aneka-kacang-potensial-koro-pedang-sebagai-pengganti-kedelai/) Akses 12 Juli 2019.

- Kohyama, K., Sano, Y., dan Doit, E. [1995]. Rheological Characteristics and Gelation Mechanism of Tofu (*Soybean Curd*). *J. Agric. Food Chem.* 43:1808-1812.
- Liu, H.H., dan Kuo, M-I. [2011]. Effect of microwave heating on the viscoelastic Property and microstructure of soy protein Isolate gel. *J of Texture Studies* 42:1-9, DOI: [org/10.1111/j.1745-4603.2010.00262.x](https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2010.00262.x)
- Murdia, L.K., dan Wardhami, R. [2010]. Effect of processing parameters on texture and yield of tofu. *As. J. Food Ag-Ind.* 3(02): 232-241
- Rimac, S., Lelas, V., Bosiljkov, T., Sabolovic, M.B. [2009]. Thermal gelation of whey protein at different pH values. DOI: 10.3303/CET0917139
- Susanti, I., Hasanah, F., Siregar, N.C., dan Supriatna, D. [2013]. Potensi kacang koro pedang (*Canavalia ensiformis* DC) sebagai sumber protein produk pangan. *J Riset Industri* 7(1): 1-13
- Syah, D., Faradilla, R.H.F., Trisna, V., dan Karsono, Y. [2012]. Pengaruh koagulan dan kondisi koagulasi terhadap profil protein *curd* kedelai serta korelasinya terhadap tekstur. *J Teknol dan Industri Pangan*, 23 (1): 94-99.
- Syah, D., Sitanggang, A.B., Faradilla, R.H.F., Trisna, V., Karsono, Y., and Septianita, D.A. [2014]. The influences of coagulation conditions and storage proteins on the textural properties of soy-curd (tofu). *J of Food*, p. 1-5 <http://dx.doi.org/10.1080/19476337.2014.948071>.
- Yang, A., and James, A.T. [2014]. Influence of globulin subunit composition of soybean proteins on silken tofu quality. 1. Effect of growing location and 11SA4 and 7Sa' deficiency. *Crop & Pasture Science* 65, 259-267 Doi:[org/10.1071/CP13398](https://doi.org/10.1071/CP13398).
- Yulifianti, R., dan Ginting, E. [2012]. Karakteristik tahu dari bahan baku beberapa varietas unggul kedelai. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi*: 330-339. Doi:[org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb01605](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb01605).
- Murekatete, N., Hua, Y., Chamba, M.V.M., Djakpo, O., dan Zhang, C. [2013]. Gelation behavior and rheological properties of Salt or acid-induced soy proteins soft tofu-type gels. *J of Texture Studies*, 45: 62-73.