

**Teknologi Pengolahan  
dan Pangan Fungsional  
Kacang-  
Kacangan**



**Teknologi Pengolahan  
dan Pangan Fungsional**

# **Kacang- Kacangan**

**Bayu Kanetro**



## **Teknologi Pengolahan dan Pangan Fungsional Kacang-kacangan**

*oleh Bayu Kanetro*

Hak Cipta © 2017 pada penulis



Ruko Jambusari 7A Yogyakarta 55283

Telp: 0274-889398; 0274-882262; Fax: 0274-889057;

E-mail: [info@plantaxia.com](mailto:info@plantaxia.com); Web: [www.plantaxia.com](http://www.plantaxia.com)

Hak Cipta dilindungi undang-undang. Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apa pun, secara elektronik maupun mekanis, termasuk memfotokopi, merekam, atau dengan teknik perekaman lainnya, tanpa izin tertulis dari penerbit.

Tajuk Entri Utama: Kanetro, Bayu

Teknologi Pengolahan dan Pangan Fungsional Kacang-kacangan/Bayu Kanetro

- Edisi Pertama. Cet. Ke-1. - Yogyakarta: Plantaxia, 2017

x + 240 hlm.; 25 cm

Bibliografi.: 227 - 239

ISBN : 978-602-6912-50-3

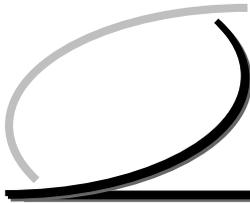
E-ISBN : 978-602-6912-51-0

1. Kacang

I. Judul

**633.3**

Semua informasi tentang buku ini, silahkan scan QR Code di cover belakang buku ini



## **KATA PENGANTAR**

Buku *Teknologi Pengolahan dan Pangan Fungsional Kacang-Kacangan* ini disusun sebagai upaya membantu mahasiswa dalam penyelesaian studi khususnya mahasiswa jurusan/program studi ilmu pangan/Teknologi Pangan/Teknologi Hasil Pertanian/Gizi dan Kesehatan dan mahasiswa jurusan lainnya yang ingin mengetahui lebih mendalam tentang pengolahan kacang-kacangan dan manfaatnya untuk pangan fungsional. Buku ini juga ditujukan bagi masyarakat yang banyak memanfaatkan kacang-kacangan sebagai bahan baku produk pangan dan sebagai sumber senyawa untuk menjaga kesehatan maupun mencegah penyakit. Buku ini disusun bersumber dari berbagai pustaka baik buku maupun jurnal hasil penelitian nasional maupun internasional dan sebagian sumbernya dari hasil penelitian penulis.

Materi teknologi pengolahan kacang-kacangan umumnya dibahas dengan tidak mengkaitkan potensinya sebagai sumber komponen bioaktif kacang-kacangan yang menyehatkan, tetapi penulis merancang buku ini dengan menggabungkan teknologi pengolahan kacang-kacangan menjadi berbagai produk olahan yang memanfaatkan potensinya sebagai sumber protein yang bisa berperan sebagai pangan fungsional. Oleh karenanya dasar-dasar tentang protein dan asam amino diuraikan dalam bagian awal buku ini untuk memperjelas karakteristik protein khususnya dalam

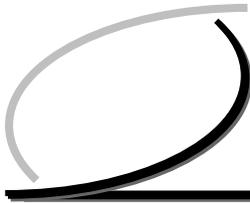
kaitannya untuk memahami pengolahan kacang-kacangan dan peranannya sebagai pangan fungsional. Hal ini dilakukan agar mahasiswa dan masyarakat dapat dengan mudah memahami peran kacang-kacangan sebagai bahan hasil pertanian dalam mencukupi kebutuhan pangan sehat sekaligus dapat mencegah munculnya berbagai penyakit degeneratif akibat perubahan pola makan masyarakat modern yang banyak bersumber dari protein hewani. Kacang-kacangan berperan penting dalam menggantikan protein hewani yang ditengarai mengakibatkan makin tingginya kejadian penyakit degeneratif pada masyarakat modern.

Sistematika dan cara penguraian buku ini telah diusahakan dengan seksama, namun kemungkinan masih terdapat kekurangan dan ketidaksempurnaan. Oleh karena itu segala kritik yang membangun dari pembaca akan penulis terima untuk perbaikan pada edisi selanjutnya. Akhirnya penulis mengucapkan puji syukur kepada Tuhan yang Maha Esa dan terima kasih kepada semua pihak sehingga buku ini dapat dipublikasikan. Penulis berharap semoga buku ini dapat memberikan manfaat sebesar-besarnya.

Yogyakarta, 1 Juni 2017

Penulis,

Dr. Ir. Bayu Kanetro, MP



# DAFTAR ISI

<b>KATA PENGANTAR</b>	<b>v</b>
<b>DAFTAR ISI</b>	<b>vii</b>
<b>BAB 1 PROTEIN DAN ASAM AMINO</b>	<b>1</b>
1.1 Sifat Protein dan Asam Amino	1
1.2 Katabolisme Protein dan Asam Amino	5
1.3 Anabolisme/Sintesis Asam Amino	8
<b>BAB 2 KACANG-KACANGAN SEBAGAI SUMBER PROTEIN DAN HAMBATAN PEMANFAATANYA</b>	<b>17</b>
2.1 Kacang-Kacangan Sebagai Sumber Protein	17
2.1.1 Kedelai	17
2.1.2 Kara Benguk	22
2.1.3 Kacang Tunggak	22
2.1.4 Kecipir	23
2.1.5 Kedelai hitam	24
2.1.6 Kacang Hijau	24
2.2 Hambatan Pemanfaatan Protein Kacangan-Kacangan	25
2.2.1 Sifat fisik tekstur biji	25
2.2.2 Flavor langu	25
2.2.3 Anti gizi	27

<b>BAB 3</b>	<b>PENGOLAHAN KACANG-KACANGAN BERBASIS PROTEIN</b>	<b>33</b>
3.1	Proses Pembuatan Susu Kacang-Kacangan	33
3.2	Proses Pembuatan Tahu	48
3.3	Proses Pembuatan Kembang Tahu	55
3.4	Proses Pembuatan Tempe	57
3.5	Proses Pembuatan Kecap	61
3.6	Proses Pembuatan Tepung Rendah Lemak/Kaya Protein	66
	3.6.1 Manfaat tepung rendah lemak	66
	3.6.2 Metode pengurangan lemak	69
3.7	Proses Pembuatan Konsentrat Dan Isolat Protein	71
	3.7.1 Konsentrat protein	72
	3.7.2 Isolat protein	74
	3.7.3 Manfaat protein kacang-kacangan sebagai <i>Ingredient</i> Fungsional	76
3.8	Proses Pembuatan Edible Film	77
<b>BAB 4</b>	<b>PERKECAMBAHAN DAN PENGARUHNYA TERHADAP PROTEIN KACANG-KACANGAN</b>	<b>81</b>
4.1	Perkecambahan	81
	4.1.1 Faktor-faktor perkecambahan	82
	4.1.2 Mobilisasi cadangan makanan	84
4.2	Pengaruh Perkecambahan Terhadap Protein.	89
	4.2.1 Kacang kara benguk	92
	4.2.2 Kacang tunggak	94
	4.2.3 Kacang kecipir	95
	4.2.4 Kedelai Hitam	96
4.3	Metode pembuatan kecambah kacang-kacangan	98
<b>BAB 5</b>	<b>KACANG-KACANGAN SEBAGAI PANGAN FUNGSIONAL</b>	<b>101</b>
5.1	Definisi Dan Prospek Pangan Fungsional	107
5.2	Klaim Kesehatan Dan Keamanan Pangan Fungsional	113
5.3	Potensi Kacang Kacangan Sebagai Pangan Fungsional	118

<b>BAB 6</b>	<b>PROTEIN KACANG-KACANG SEBAGAI SENYAWA BIOAKTIF PANGAN FUNGSIONAL</b>	<b>127</b>
6.1	Protein/Peptida dan asam amino sebagai Antioksidan	129
6.2	Protein/Peptida dan asam amino sebagai Anti-Hipertensif	130
6.3	Protein/Peptida dan asam amino sebagai Anti-Obesitas	131
6.4	Protein/ peptida dan asam amino sebagai Anti-Hiperkolesterolemik	133
<b>BAB 7</b>	<b>PENJAJAGAN ASAM AMINO KECAMBAAH KEDELAI SEBAGAI SENYAWA BIOAKTIF UNTUK PANGAN FUNGSIONAL DIABETES</b>	<b>137</b>
7.1	Diabetes Mellitus	137
	7.1.1 Klasifikasi dan penyebab diabetes mellitus	137
	7.1.2 Deteksi dan gejala diabetes mellitus	139
	7.1.3 Prevalensi dan penanganan diabetes	142
7.2	Sintesis Dan Sekresi Insulin Pada Sel Beta Pankreas	144
	7.2.1 Sintesis insulin	144
	7.2.2 Peranan insulin	146
7.3	Mekanisme Stimulasi Sekresi Insulin	150
7.4	Potensi Kecambah Kedelai Sebagai Makanan Fungsional untuk Mengatasi Diabetes	155
7.5	Penelitian Penjajagan Presipitat Protein Kecambah Kedelai Sebagai Penstimulasi Sekresi Insulin	157
	7.5.1 Protein total dan asam amino bebas pada presipitat protein berdasarkan isolasi protein dengan metode 1 dan 2	160
	7.5.2 Protein total, asam amino bebas, dan profil asam amino biji dan kecambah kedelai	162
	7.5.3 Profil asam amino total biji dan kecambah kedelai	163
	7.5.4 Profil asam amino bebas biji dan kecambah kedelai	165

7.5.5	Peningkatan jumlah insulin <i>pancreas islet</i> tikus normal dan diabetes pada media presipitat protein biji dan kecambah kedelai terhadap media glukosa (kontrol)	171
<b>BAB 8</b>	<b>PENELITIAN APLIKASI PEMANFAATAN PROTEIN KACANG-KACANGAN UNTUK PENGEMBANGAN PRODUK PANGAN FUNGSIONAL</b>	<b>181</b>
8.1	Pengembangan Oyek Ubi Kayu dengan Penambahan Isolat Protein Dan Tepung Kacang Tunggak	181
8.2	Pembuatan Beras Analog Growol-Oyek Ubi Kayu dengan Penambahan Kacang-Kacangan	186
8.3	Pembuatan <i>Meat Analog</i> Protein Kacang-Kacangan	194
8.4	Pembuatan Roti Tawar Dan Bubur Beras Instan dengan Penambahan Isolat Protein Kedelai	215
8.4.1.	Roti tawar	215
8.4.2	Bubur Beras Instan dengan Penambahan Isolat Protein Kecambah Kedelai	220
	<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	<b>227</b>

# BAB 1

## PROTEIN DAN ASAM AMINO

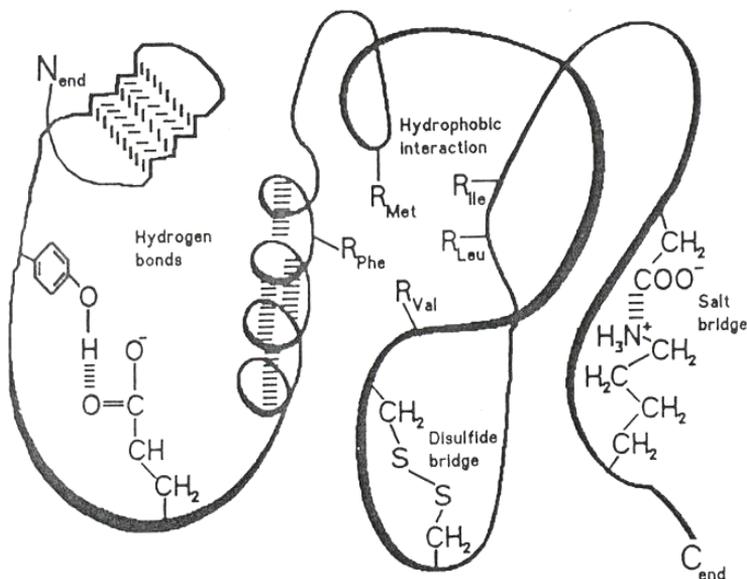
### 1.1 Sifat Protein dan Asam Amino

**P**rotein berasal dari kata *proteios* dari bahasa Yunani yang berarti *primary* (utama). Protein merupakan komponen penyusun tubuh terbesar kedua sesudah air yaitu sebesar 15% terhadap berat total tubuh atau lebih dari 50% terhadap berat kering. Protein juga disebut sebagai '*working molecules*' karena berperan dalam menjalankan fungsi operasional sistem kehidupan, misalnya enzim yang mengkatalisis reaksi biokimia adalah protein, antibodi yang berfungsi mencegah penyakit, dan hormon-hormon yang mengatur proses biokimiawi juga merupakan protein (Solomon, 1987).

Klasifikasi protein yang dikenal saat ini adalah berdasarkan kelarutan, bentuk, fungsi, sifat-sifat fisik, dan struktur. Berdasarkan kelarutannya dibedakan menjadi albumin, globulin, protamin, histon, skleroprotein. Berdasarkan bentuknya (rasio panjang terhadap lebar) dibedakan protein globular dan fibrosa yang memiliki bentuk lebih besar. Fungsi biologis bisa digunakan untuk membedakan protein menjadi protein struktural, katalitik, dan transpor. Pembedaan protein berdasarkan sifat-sifat fisik digunakan pada kelompok protein tertentu pada bidang khusus, misalnya di bidang kedokteran dan gizi dikenal lipoprotein yang bisa dibedakan berdasarkan densitasnya, yaitu *very low density lipoprotein*,

*low density lipoprotein*, dan *high density lipoprotein*. Sedangkan berdasarkan strukturnya protein dibedakan menjadi struktur primer, sekunder, tertier dan kuartener (Murray dkk., 2000).

Struktur primer protein menunjukkan urutan susunan asam amino yang saling berikatan membentuk rantai polipeptida protein. Konformasi protein pada bentuk tiga dimensi sebagai akibat adanya ikatan hidrogen dikenal sebagai struktur sekunder. Struktur sekunder protein dibedakan menjadi  $\alpha$ -heliks yang dibentuk oleh ikatan hidrogen pada rantai polipeptida yang sama dan  $\beta$ -sheet yang dibentuk oleh ikatan hidrogen pada sebuah rantai polipeptida di bagian lain yang berseberangan dan berdekatan. Struktur tertier protein dibentuk oleh interaksi/ikatan diantara residu asam amino yang menstabilkan struktur protein. Sedangkan struktur kuartener merupakan penggabungan (asosiasi) lebih dari satu rantai polipeptida (Solomon, 1987). Menurut Janecek (1993) ikatan/interaksi yang menstabilkan struktur protein seperti terlihat pada Gambar 1.1.



**Gambar 1.1.** Ikatan dan interaksi yang menstabilkan struktur protein (Janecek,1993)

Proses denaturasi dapat menghilangkan ikatan dan interaksi yang menstabilkan struktur alamiah protein sehingga mengubah struktur sekunder dan tersier protein. Proses ini mengakibatkan perubahan sifat protein. Perubahan yang nampak adalah penurunan kelarutan yang diikuti dengan presipitasi dan koagulasi. Denaturasi protein dapat terjadi karena pengaruh panas (di atas suhu 60 - 70°C), perubahan pH yang drastis, logam berat, detergen, pelarut organik, radiasi, dan guncangan yang keras (*violent shaking*), seperti terlihat pada Tabel 1.1. Denaturasi karena perubahan pH yang kecil bersifat reversibel, namun pada perubahan pH yang ekstrem bersifat irreversibel (Bettelheim dkk., 2004).

**Tabel 1.1.** Pengaruh agensia pendenaturasi terhadap ikatan dan interaksi pada protein

Agensia pendenaturasi	Ikatan dan interaksi yang dipengaruhi
Panas	Ikatan hidrogen
Urea 6 M	Ikatan hidrogen
Detergen	Interaksi hidrofobik
Asam dan basa	<i>Salt bridges</i> , ikatan hidrogen
Garam	<i>Salt bridges</i>
Agensia pereduksi	Ikatan disulfida
Logam berat	Ikatan disulfida
Alkohol	<i>Hydration layers</i>

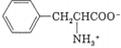
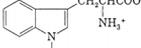
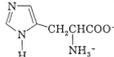
Sumber : Bettelheim dkk.(2004)

Protein merupakan polipeptida yang disusun oleh rantai asam-asam amino melalui ikatan peptida. Pembentukan ikatan peptida antara dua asam amino terjadi melalui reaksi antara gugus karboksil dengan gugus amino dengan membebaskan sebuah molekul air. Ikatan peptida dapat dihidrolisis, misalnya dengan asam klorida (6M) membentuk gugus karboksil dan gugus amino kembali. Ikatan peptida terjadi antara atom karbon dengan atom nitrogen (Bettelheim dkk., 2004).

Asam amino merupakan asam karboksilat yang memiliki gugus amino pada strukturnya. Gugus amino pada asam amino penyusun protein makhluk hidup terikat pada atom C $\alpha$ , sehingga dikenal sebagai  $\alpha$ -asam

amino. Setiap asam amino memiliki isomer optik yang dinyatakan dengan D atau L asam amino, kecuali asam amino glisin. Berdasarkan *Fischer Formula*, penentuan isomer D atau L dilakukan dengan penempatan asam amino secara vertikal dan atom C no 1 (C karboksil) berada pada posisi atas, maka dikatakan D-asam amino jika posisi gugus amino berada di sebelah kanan, sedangkan L-asam amino jika posisi gugus amino berada di sebelah kiri. Asam amino yang digunakan dalam sintesis protein pada sistem biokimiawi makhluk hidup adalah L-asam amino (Solomon, 1987). D-asam amino jarang ditemukan secara alamiah, namun sebagian terdapat dalam dinding sel beberapa tipe bakteri (Bettelheim dkk., 2004). Terdapat 20 macam asam amino yang dibedakan berdasarkan gugus R-nya, seperti terlihat pada Tabel 1.2.

**Tabel 1.2.** Jenis-jenis asam amino

Nonpolar Side Chains			
alanine (Ala, A) pI = 6.01	$\text{CH}_3\text{CHCOO}^-$   $\text{NH}_3^+$	phenylalanine (Phe, F) pI = 5.48	
glycine (Gly, G) pI = 5.97	$\text{HCHCOO}^-$   $\text{NH}_3^+$	proline (Pro, P) pI = 9.48	
isoleucine (Ile, I) pI = 6.02	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CHCHCOO}^-$   $\text{NH}_3^+$	tryptophan (Trp, W) pI = 5.88	
leucine (Leu, L) pI = 5.98	$(\text{CH}_2)_2\text{CHCH}_2\text{CHCOO}^-$   $\text{NH}_3^+$	valine (Val, V) pI = 5.97	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCHCOO}^-$   $\text{NH}_3^+$
methionine (Met, M) pI = 5.74	$\text{CH}_2\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{CHCOO}^-$   $\text{NH}_3^+$		
Polar but Neutral Side Chains			
asparagine (Asn, N) pI = 5.41	$\text{H}_2\text{NCOCH}_2\text{CHCOO}^-$   $\text{NH}_3^+$	serine (Ser, S) pI = 5.68	$\text{HOCH}_2\text{CHCOO}^-$   $\text{NH}_3^+$
glutamine (Gln, Q) pI = 5.65	$\text{H}_2\text{NCOCH}_2\text{CH}_2\text{CHCOO}^-$   $\text{NH}_3^+$	threonine (Thr, T) pI = 5.67	$\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CHCOO}^-$   $\text{NH}_3^+$
cysteine (Cys, C) pI = 5.07	$\text{HSCH}_2\text{CHCOO}^-$   $\text{NH}_3^+$		
tyrosine (Tyr, Y) pI = 5.66	$\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2\text{CHCOO}^-$   $\text{NH}_3^+$		
Acidic Side Chains		Basic Side Chains	
aspartic acid (Asp, D) pI = 2.77	$-\text{OOCCH}_2\text{CHCOO}^-$   $\text{NH}_3^+$	arginine (Arg, R) pI = 10.76	$\text{H}_2\text{NCNHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHCOO}^-$   $\text{NH}_3^+$
glutamic acid (Glu, E) pI = 3.22	$-\text{OOCCH}_2\text{CH}_2\text{CHCOO}^-$   $\text{NH}_3^+$	histidine (His, H) pI = 7.59	
		lysine (Lys, K) pI = 9.74	$\text{H}_2\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHCOO}^-$   $\text{NH}_3^+$

Sumber: Bettelheim dkk. (2004)

Asam amino bersifat *zwitterions*, yaitu asam amino bisa bermuatan positif atau negatif. Hal tersebut terjadi karena pada satu molekul asam

amino memiliki gugus karboksil (COOH) dan amino (NH<sub>2</sub>) sehingga dalam larutan air (netral) gugus COOH akan mendonorkan proton menjadi bermuatan negatif (COO<sup>-</sup>) pada gugus NH<sub>2</sub> menjadi bermuatan positif (NH<sub>3</sub><sup>+</sup>). Perubahan pH larutan akan mengubah muatan asam amino. Pada kondisi asam (penurunan pH misalnya dengan penambahan HCl) menyebabkan kelebihan proton atau ion H<sup>+</sup> yang akan didonorkan ke COO<sup>-</sup> menjadi COOH sehingga asam amino bermuatan positif (NH<sub>3</sub><sup>+</sup>). Sebaliknya pada kondisi basa (peningkatan pH misalnya dengan penambahan NaOH) menyebabkan kelebihan ion OH<sup>-</sup> yang akan menerima proton dari NH<sub>3</sub><sup>+</sup> menjadi NH<sub>2</sub> sehingga asam amino bermuatan negatif (COO<sup>-</sup>). Pada kondisi jumlah muatan negatif dan positif dari asam-asam amino penyusun protein tersebut sama, maka akan terjadi titik isoelektrik yang terjadi pada pH tertentu (pH isoelektrik). Kondisi titik isoelektrik ditandai dengan penurunan kelarutan protein (Bettelheim dkk., 2004).

## 1.2 Katabolisme Protein dan Asam Amino

Asam amino merupakan sumber karbon yang bisa dikatabolisasi untuk pembentukan energi melalui dua jalur. Jalur pertama adalah jalur pembentukan piruvat sebelum memasuki siklus TCA, dan jalur kedua tanpa pembentukan piruvat atau langsung memasuki siklus TCA sesudah mengalami deaminasi (Murray dkk., 2000). Conn dan Stumpf (1976) menjelaskan bahwa katabolisme asam amino sebagai sumber karbon akan menghasilkan produk akhir piruvat, asetil-Ko-A, asetoasetil-KoA, dan senyawa *intermediate* dalam siklus TCA sesudah melalui penghilangan gugus amino/deaminasi, seperti terlihat pada Tabel 1.3.

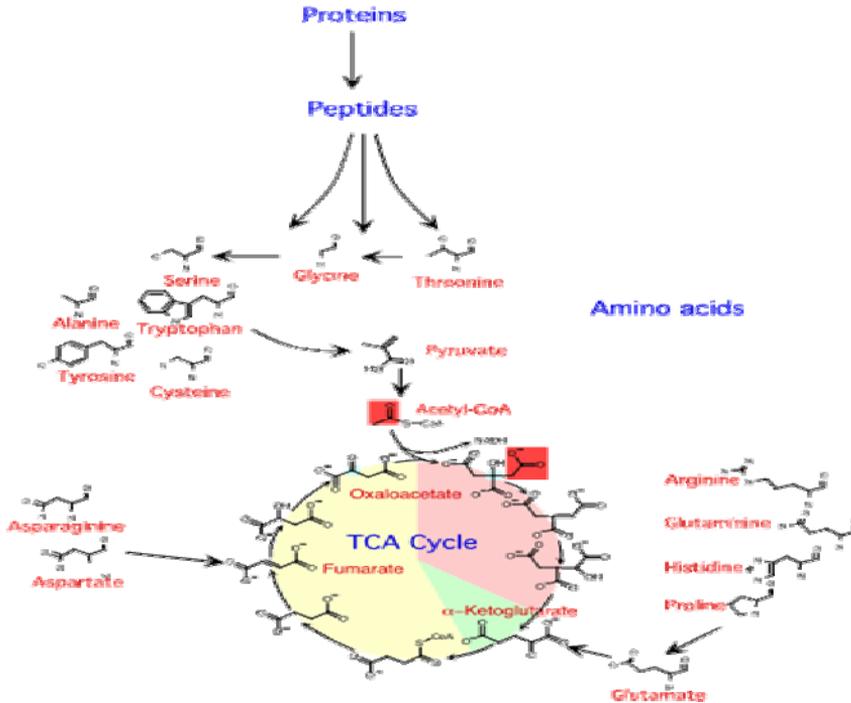
Paustian (2000) juga menjelaskan bahwa pemanfaatan asam amino sebagai sumber energi diawali dengan degradasi protein oleh enzim ekstraseluler yaitu protease menghasilkan peptida dan asam amino, sebelum ditransport ke dalam sel. Asam-asam amino tersebut selanjutnya dapat dikatabolisasi melalui berbagai jalur reaksi yang tergantung dari macam amino sehingga menghasilkan produk akhir yang bisa masuk ke dalam jalur siklus TCA menghasilkan energi, seperti terlihat pada Gambar

9. Sebelum masuk ke dalam jalur siklus TCA, asam amino melalui beberapa tahap reaksi khususnya untuk menghilangkan gugus amino, seperti dicontohkan pada Gambar 1.2 yang menunjukkan katabolisme Pro dan Arg menjadi  $\alpha$ -Ketoglutarat.

**Tabel 1.3.** Pengelompokan asam amino berdasarkan produk akhir yang diperoleh dari katabolisme berbagai macam asam amino untuk pembentukan energi.

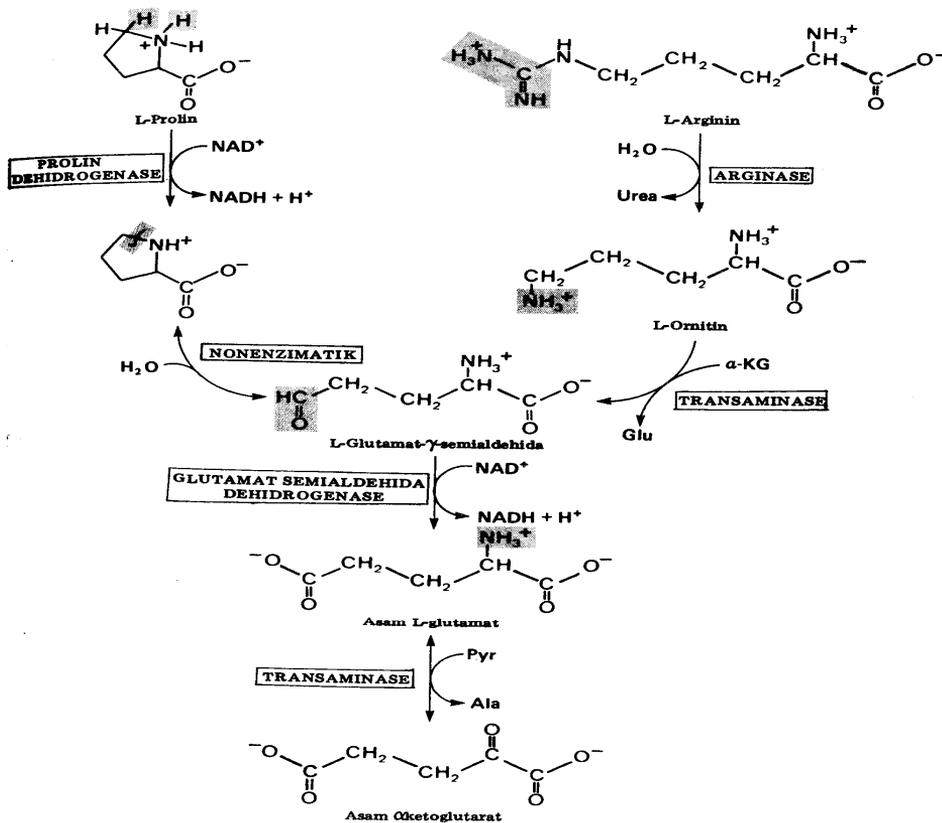
Kelompok	Produk akhir katabolisme asam amino						
	Asam Piruvat	Asetil-KoA	Asetoasetil-KoA	$\alpha$ -Keto-glutarat	Suksinil-KoA	Asam Fumarat	Asam Oksalo-asetat
Macam asam amino yang dikatabolisasi	Ala, Gly, Thr, Ser, Cys	Leu, Trp	Phe, Tyr, Lys, Leu, Trp	Glu, Pro, His, Arg	Met, Val, Ile	Phe, Tyr	Asp

Sumber: Conn dan Stumpf (1976)



**Gambar 1.2.** Jalur umum katabolisme protein dan asam amino (Paustian, 2000)

Beberapa asam amino yang tidak terlihat pada Gambar 1.3 harus melalui jalur spesifik agar bisa masuk ke dalam jalur siklus TCA, misalnya Leu. Leu bukan tergolong asam amino yang mudah dikatabolisisasi untuk pembentukan energi, karena deaminasi Leu menghasilkan *2-oxoisocaproate* yang tidak termasuk senyawa *central metabolites* pada siklus TCA. Sebelum masuk ke jalur siklus TCA, *2-oxoisocaproate* harus melalui jalur matabolisme yang spesifik. Katabolisme asam amino yang menghasilkan senyawa *central metabolites* ( $\alpha$ -Ketoglutarat, oksaloasetat, dan piruvat) akan lebih mudah dimetabolisasi lebih lanjut melalui jalur siklus TCA (Paustian, 2000).



Gambar 1.3. Katabolisme Pro dan Arg menjadi  $\alpha$ -Ketoglutarat (Martin dkk., 1983)

### 1.3 Anabolisme/Sintesis Asam Amino

Tumbuhan dapat mensintesis semua asam-asam amino yang dibutuhkan dari bahan baku di dalam sel, sementara binatang hanya dapat mensintesis beberapa asam amino (asam amino non-esensial) (Stern, 2000). Tumbuhan mampu mengabsorpsi nitrogen dari tanah dalam bentuk nitrat, selanjutnya senyawa nitrogen ini mengalami reduksi menjadi amonia sebelum dimanfaatkan oleh tanaman untuk membentuk komponen nitrogen dari tanaman, seperti asam amino. Pembentukan asam amino ini membutuhkan energi hasil respirasi dari karbohidrat yang diperoleh melalui proses fotosintesis tanaman. Karbohidrat juga merupakan sumber karbon untuk sintesis asam amino (Devlin dan Witham, 1983). Paustian (2000) menyebutkan bahwa sintesis asam amino berperan penting untuk menjaga kelangsungan sel makhluk hidup, karena tidak hanya bermanfaat untuk menyediakan kerangka penyusun protein, tetapi juga sebagai *starting point* untuk sintesis beberapa molekul penting yang dibutuhkan sel misalnya vitamin dan nukleotida.

Conn dan Stumpf (1976) telah menjelaskan bahwa biosintesis asam amino pada tanaman bisa dikelompokkan menjadi 5 berdasarkan atas sumbernya atau bahan asalnya (*progenitor*), seperti terlihat pada Tabel 1.4. Kerangka karbon dari glutamat dapat digunakan sebagai bahan dasar glutamin, prolin dan arginin, sehingga asam amino ini dikelompokkan dalam *glutamate family*. Kelompok asam amino yang lain adalah *aspartate*, *pyruvate*, *phosphoenol-pyruvate*, dan *3-phosphoglyserate families*.

**Tabel 1.4.** Pengelompokan asam amino berdasarkan senyawa progenitor (bahan asal) untuk biosintesis berbagai macam asam amino

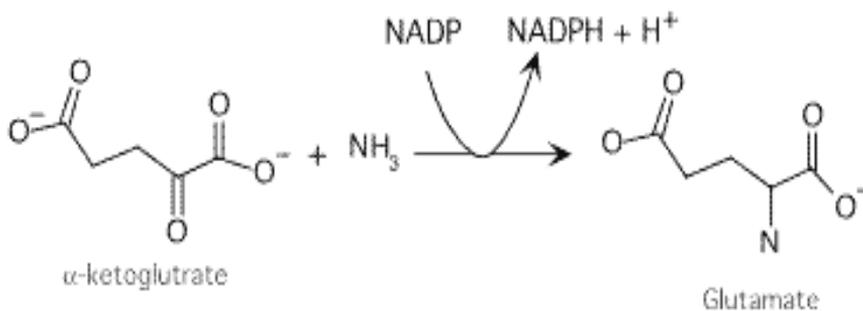
Kelompok	Senyawa progenitor				
	Glutamat	Aspartat	Piruvat	Fosfoenolpiruvat	3-Fosfoglisarat
Macam asam amino yang disintesis	glutamin prolin arginin	asparagin lisin metionin treonin	alanin leusin valin	fenilalanin tirosin triptofan	serin glisin sistein

Sumber: Conn dan Stumpf (1976)

Sedangkan menurut Paustian (2000) biosintesis asam amino dapat dikelompokkan menjadi 6 kategori berdasarkan atas jalur reaksinya, yaitu jalur biosintesis sederhana (*simple reactions pathways*), *branch chain amino acids pathways*, *aromatic amino acids pathways*, *threonin/lysine pathways*, *serin/glycine pathways*, dan *unique pathways*.

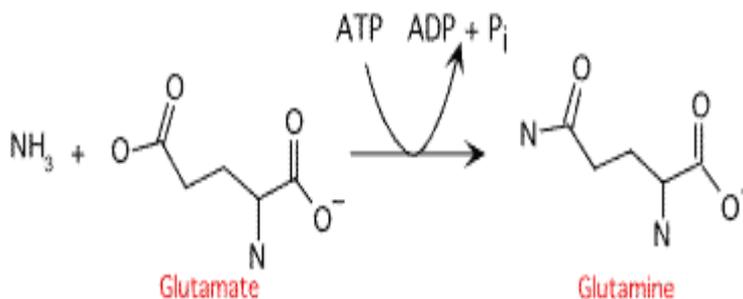
- a. *Simple reaction pathways*: Macam asam amino yang disintesis melalui jalur yang hanya terdiri atas satu tahap reaksi ini, meliputi glutamin, glutamat, aspartat, asparagin, dan alanin. Jalur-jalur biosintesis asam amino ini sebagai berikut:

Biosintesis glutamat terjadi melalui reaksi penambahan amonia pada alfa-ketoglutarat seperti terlihat pada Gambar 1.4.



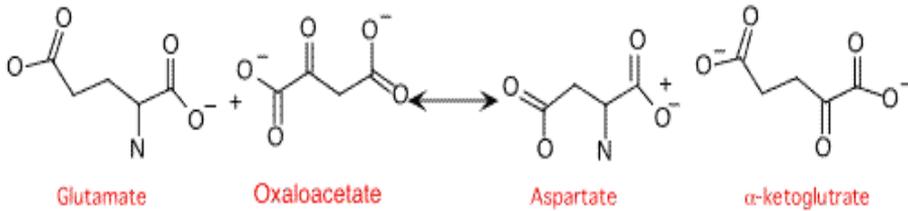
**Gambar 1.4.** Sintesis Glutamat (Paustian, 2000)

Glutamin disintesis melalui penambahan molekul amonia ke glutamat, seperti terlihat pada Gambar 1.5.



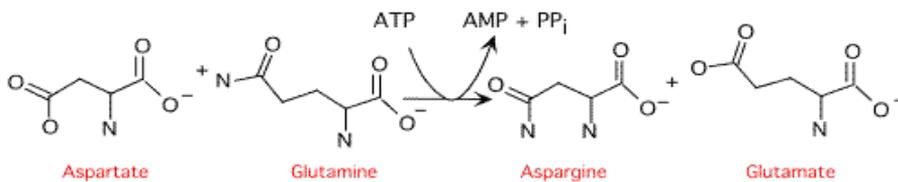
**Gambar 1.5.** Sintesis Glutamin (Paustian, 2000)

Reaksi-reaksi sederhana yang melibatkan transfer gugus amino (transaminasi) dari glutamat atau glutamin ke produk metabolit utama sering terjadi untuk menghasilkan asam amino yang dibutuhkan, misalnya sintesis aspartat. Aspartat disintesis melalui transfer gugus amonia dari glutamat ke oksaloasetat, seperti terlihat pada Gambar 1.6.

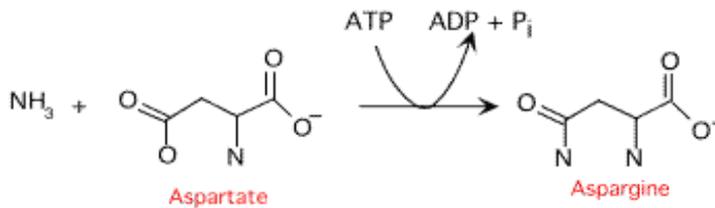


**Gambar 1.6.** Sintesis aspartat (Paustin, 2000)

Asparagin dibuat baik melalui transaminasi dari glutamat atau melalui penambahan amonia secara langsung ke aspartat, seperti terlihat pada Gambar 1.7.



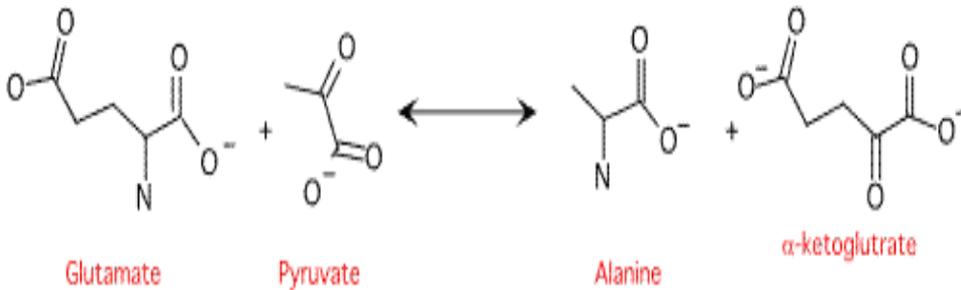
atau



**Gambar 1.7.** Pembentukan asparagin. Reaksi ini membebaskan energi yang diperlukan untuk mendorong sintesis yang ditunjukkan dengan perubahan ATP menjadi ADP (Paustin, 2000)

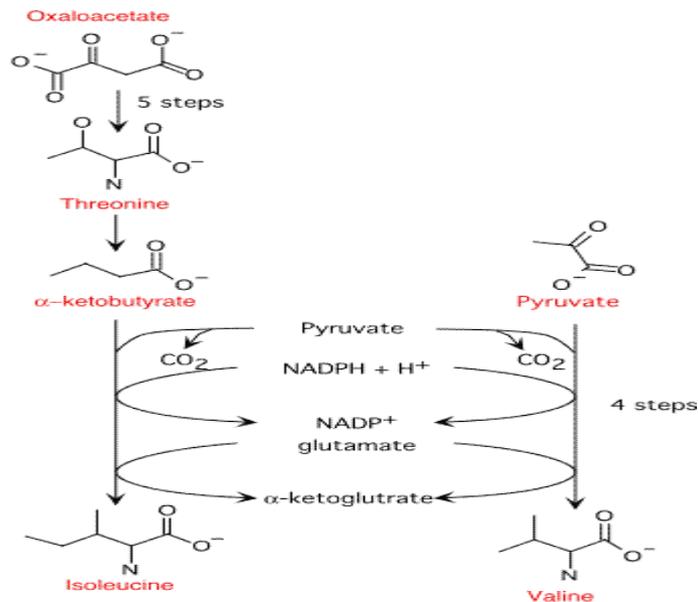
Sintesis alanin masih misterius, namun beberapa reaksi telah teridentifikasi menunjukkan jalur pembentukan alanin, diantaranya adalah

melalui transaminasi dari glutamat ke piruvat seperti terlihat pada Gambar 1.8.

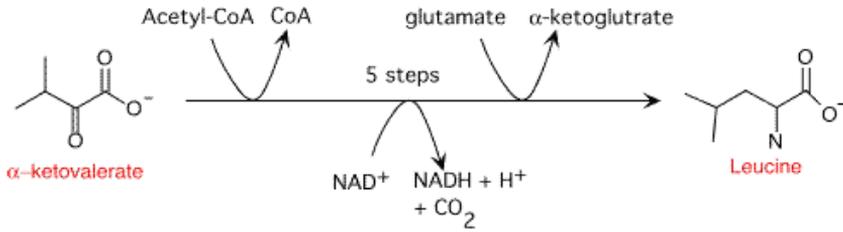


**Gambar 1.8.** Sintesis alanin (Paustin, 2000)

- b. *Branch chain amino acids pathways* : asam amino yang disintesis melalui jalur ini meliputi leusin, isoleusin, dan valin. Biosintesis asam amino ini saling berkaitan, misalnya leusin disintesis dari piruvat secara tidak langsung, karena disintesis dari senyawa *intermediate* biosintesis valin yang berasal dari piruvat, yaitu  $\alpha$ -ketovalerat seperti terlihat pada Gambar 1.9 dan Gambar 1.10 .

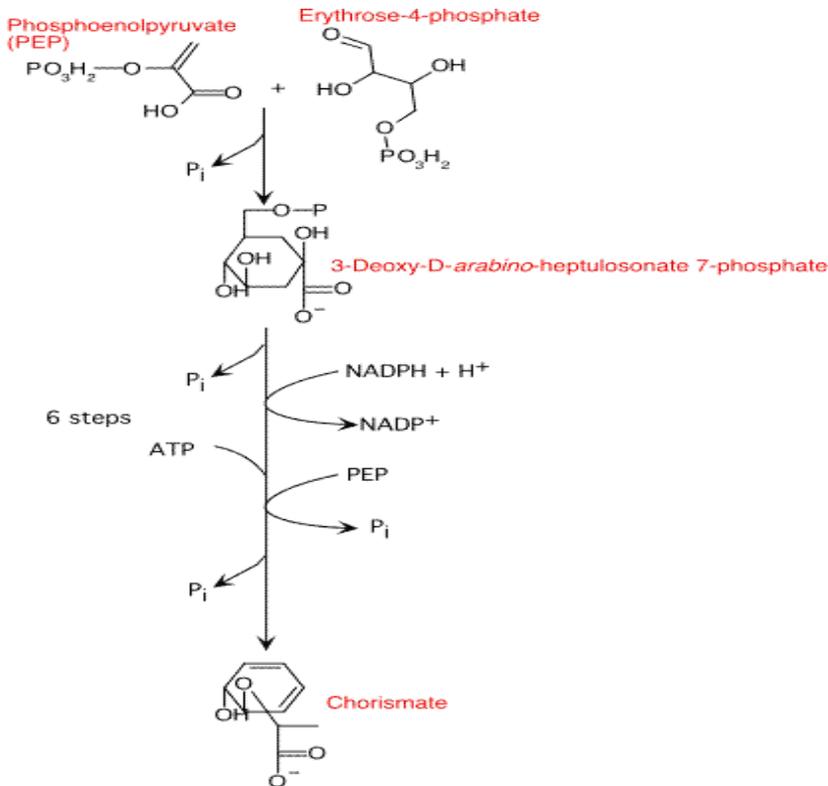


**Gambar 1.9.** Sintesis valin dan isoleusin (Paustin, 2000)



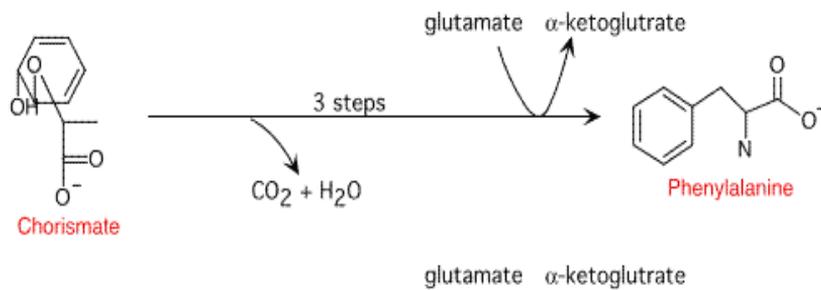
Gambar 1.10. Sintesis leusin (Paustin, 2000)

- c. *Aromatic amino acids pathways*: asam amino yang disintesis melalui jalur yang semuanya diawali dari sintesis senyawa *chorismate* ini meliputi triptofan, tirosin, dan fenilalanin. Substrat reaksi untuk pembentukan *chorismate* adalah *Phosphoenolpyruvate* dan *erythrose 4-phosphate* seperti terlihat pada Gambar 1.11.



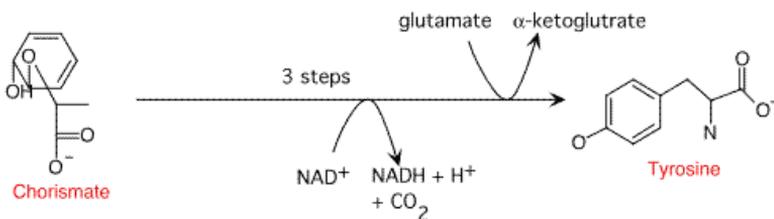
Gambar 1.11. Sintesis chorismate (Paustin, 2000)

*Chorismate* dikonversi menjadi *phenylpyruvate* melalui 3 langkah reaksi, selanjutnya fenilalanin disintesis melalui reaksi transaminasi dengan glutamat tanpa membutuhkan energi, seperti terlihat pada Gambar 1.12.



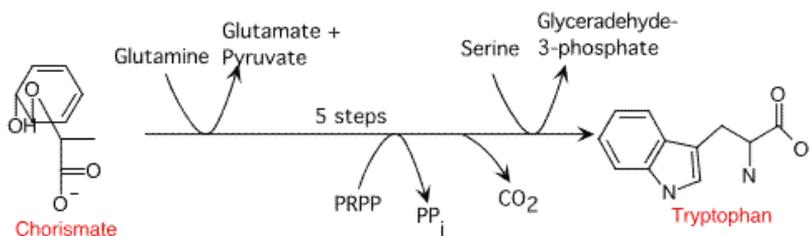
**Gambar 1.12.** Sintesis fenilalanin (Paustin, 2000)

Sintesis tirosin sama dengan sintesis fenilalanin, tetapi reaksinya melibatkan enzim dan pengendalian yang berbeda, seperti disajikan pada Gambar 1.13.



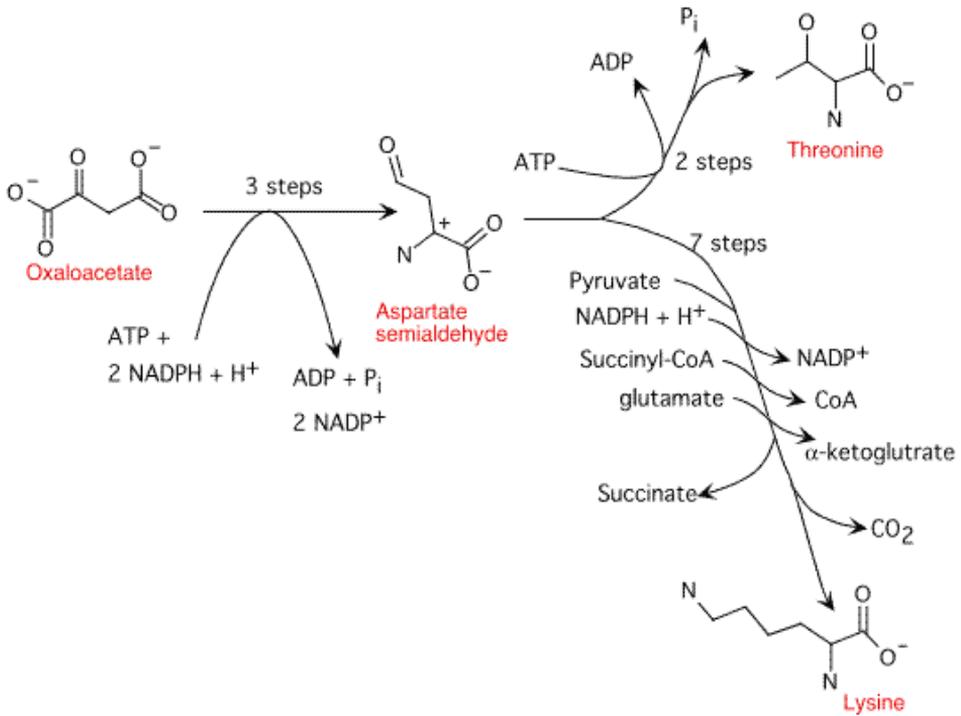
**Gambar 1.13.** Sintesis tirosin (Paustin, 2000)

Sintesis triptofan sangat kompleks dan melibatkan 5 step dari senyawa chrosimate, seperti disajikan pada Gambar 1.14.



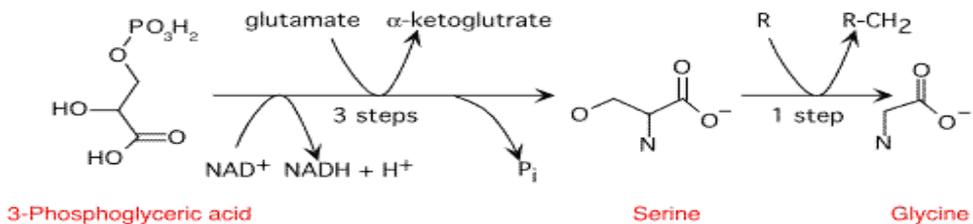
**Gambar 1.14.** Sintesis triptofan (Paustin, 2000)

- d. *Threonin/lysine pathways*: biosintesis asam amino dimulai dari jalur yang sama, yaitu pembentukan aspartat semialdehid, seperti terlihat pada Gambar 1.15.



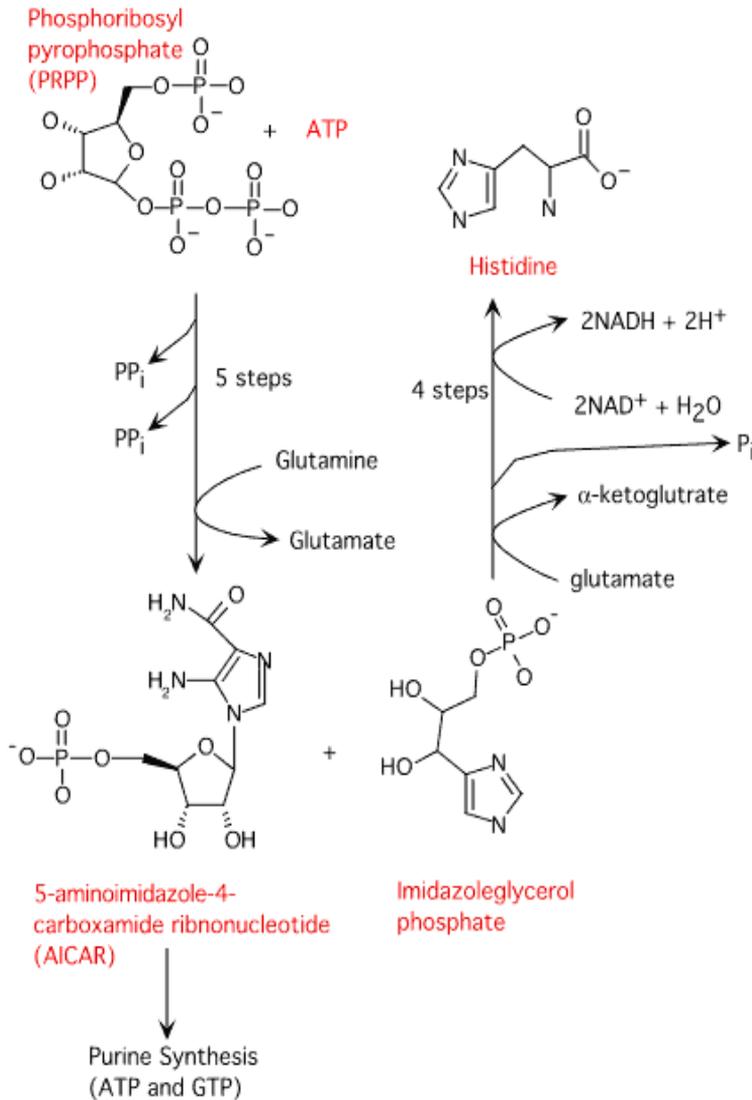
Gambar 1.15. Sintesis Thr dan Lys (Paustian,2000)

- e. *Serin/glycine pathways*: biosintesis asam amino ini disajikan pada Gambar 1.16.



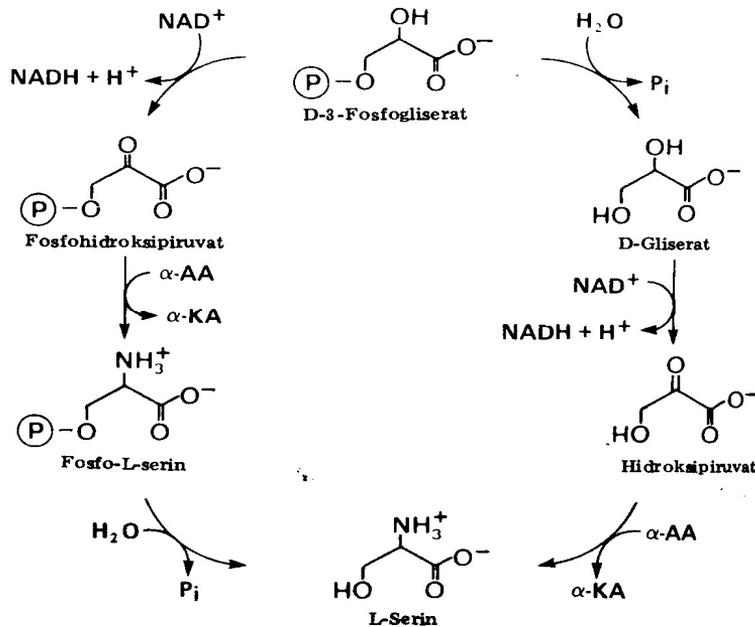
Gambar 1.16. Sintesis Ser dan Gly (Paustian, 2000)

- f. *Unique pathways*: asam amino yang disintesis melalui jalur ini meliputi sistein, metionin, prolin, arginin, dan histidin. Jalur ini merupakan jalur yang unik karena melibatkan senyawa-senyawa yang tidak biasa digunakan dalam biosintesis asam amino lainnya, misalnya senyawa sulfur, dan nukleotida. Contoh jalur ini disajikan pada Gambar 1.17.



**Gambar 1.17.** Sintesis His (Paustian, 2000)

Pada Gambar 1.10 sampai 1.17 terlihat bahwa reaksi biosintesis beberapa asam amino melalui beberapa tahap yang tidak terlihat pada gambar tersebut, misalnya Gly yang disintesis dari Ser seperti disajikan pada Gambar 1.16. Serta disintesis dari 3-fosfoglisarat melalui 3 tahap reaksi. Tahap-tahap reaksi sintesis Ser tersebut secara lengkap terlihat Gambar 1.18.



**Gambar 1.18** Tahap-tahap reaksi sintesis Ser (Martin dkk., 1983)

## BAB 2

---

# KACANG-KACANGAN SEBAGAI SUMBER PROTEIN DAN HAMBATAN PEMANFAATANYA

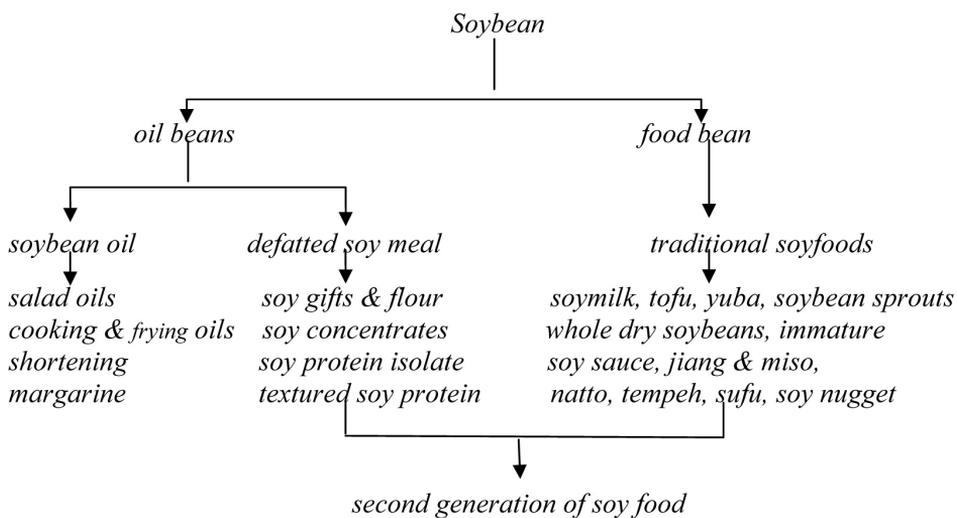
**K**acang-kacang atau legume merupakan kelompok tanaman yang digolongkan dalam famili *Leguminosae*. Banyak jenis kacang-kacangan yang dijumpai di kawasan tropis seperti Indonesia (kacang-kacangan lokal), namun baru kedelai yang dikenal dan dimanfaatkan secara luas sebagai sumber gizi utama dan sumber komponen pangan fungsional khususnya protein. Di bawah ini dijabarkan jenis-jenis legum potensial di Indonesia khususnya kedelai sebagai sumber protein.

## 2.1 Kacang-Kacangan Sebagai Sumber Protein

### 2.1.1 Kedelai

Tanaman kedelai (*Glicine max*) digolongkan dalam subfamili *Papilionoideae*, dan genus *Glicine*, L. Produksi kedelai mengalami peningkatan yang sangat tajam sejak tahun 1970 sampai tahun 1995, yaitu dari sekitar 40 juta ton menjadi 140 juta ton, dan separuhnya diproduksi oleh Amerika Serikat (Liu, 1999). Diperkirakan kebutuhan kedelai akan terus meningkat dari tahun ke tahun seiring dengan peningkatan pemanfaatan kedelai. Secara garis besar pemanfaatan biji kedelai dikelompokkan menjadi dua, yaitu sebagai sumber minyak makan dan bahan baku berbagai produk pangan, seperti terlihat pada Gambar 2.1. Pada Gambar 2.1. terlihat bahwa

pemanfaatan kedelai tidak terbatas atau sangat luas, sehingga tanaman kedelai akan terus dibudidayakan dan produksinya akan terus mengalami peningkatan. Tanaman kedelai mendapat julukan ' *The most economical and valuable agricultural commodity*' (Liu, 1999). Pemanfaatannya saat ini sudah memasuki generasi kedua, dengan bahan baku dari produk olahan *deffated soy meal* dan *traditional soy foods*. Banyaknya penelitian tentang protein kedelai sebagai makanan fungsional akan mendukung pemanfaatan *soy protein isolate* ke produk kedelai generasi kedua.



**Gambar 2.1.** Skema garis besar produk pangan dari kedelai berdasarkan Klasifikasi oil dan food beans. (Liu, 1999)

Biji kedelai utuh (*whole seeds*) tersusun dari 8% kulit biji (*hull/seed coats*), 90% keping biji (*cotyledon*), dan 2% hipokotil. Keping biji merupakan penyusun utama dari biji kedelai utuh, sehingga komposisi kimianya mendekati komposisi kimia biji kedelai utuh dibandingkan bagian yang lain. Komposisi proksimat kedelai dan bagian-bagiannya terlihat pada Tabel 2.1 yang menunjukkan kadar protein kedelai lebih tinggi dibandingkan komponen lain.

**Tabel 2.1.** Komposisi kimia komponen biji dan biji utuh

Bagian	Perbandingan terhadap biji utuh (%)	Komposisi kimia (% bk)			
		Protein	Lemak	Karbohidrat	Abu
Kulit biji	8	9	1	86	4,3
Hipokotil	2	41	11	43	4,4
Keping biji	90	43	23	29	5,0
Biji utuh	100	40	20	35	5,0

Sumber: Liu (1999)

Berdasarkan atas fungsi biologis dalam tanaman, protein biji diklasifikasikan menjadi dua tipe, yaitu protein metabolik (*metabolic protein*) dan protein cadangan (*storage protein*). Sebagian besar protein kedelai adalah protein cadangan yang disintesis selama pembentukan biji. Protein ini digunakan sebagai sumber karbon dan nitrogen untuk proses perkecambahan dan pertumbuhan tanaman baru (Liu, 1999).

Protein cadangan sebagian besar terdiri atas *conglycinin* (protein 7S dengan BM 180 kDa) dan *gyicinin* (protein 11S dengan BM 360 kDa) yang menyusun sekitar 65 - 80% dari protein biji kedelai. Protein 7S globulin mengendap pada pH sekitar 4,4 - 5,6, sedangkan protein 11S globulin mengendap pada pH sekitar 6,1 - 6,6 (Liu, 1999). Chau dkk. (1997) telah meneliti bahwa titik isoelektrik sebagian besar protein biji kedelai pada kondisi asam, yang ditunjukkan dengan kelarutan nitrogen kedelai paling rendah pada pH 4, sedangkan kelarutan paling tinggi pada pH 9 (Chau dkk, 1997). Pemisahan protein dengan cara ekstraksi pada pH 9 kemudian diendapkan pada pH 4 - 4,5 sudah diaplikasikan pada pembuatan isolat protein kedelai skala laboratorium maupun komersial (Snyder dan Kwon, 1987; Noor dkk., 1999).

Protein cadangan sebagian besar terdiri atas *conglycinin* (protein 7S dengan BM 180 kDa) dan *gyicinin* (protein 11S dengan BM 360 kDa) yang menyusun sekitar 65 - 80% dari protein biji kedelai. Protein 7S globulin mengendap pada pH sekitar 4,4 - 5,6, sedangkan protein 11S globulin mengendap pada pH sekitar 6,1 - 6,6 (Liu, 1999). Chau dkk. (1997) telah

meneliti bahwa titik isoelektrik sebagian besar protein biji kedelai pada kondisi asam, yang ditunjukkan dengan kelarutan nitrogen kedelai paling rendah pada pH 4, sedangkan kelarutan paling tinggi pada pH 9 (Chau dkk, 1997). Pemisahan protein dengan cara ekstraksi pada pH 9 kemudian diendapkan pada pH 4 - 4,5 sudah diaplikasikan pada pembuatan isolat protein kedelai skala laboratorium maupun komersial (Snyder dan Kwon, 1987; Noor dkk., 1999). Biji kedelai juga memiliki cadangan protein yang larut dalam air, diantaranya adalah *trypsin inhibitor* yang menyusun sekitar 0,2 - 2% dari total protein yang larut dalam air (Desphande dan Damodaran, 1990 dalam Desphande, 2002). Jenis protein ini akan diuraikan lebih detail pada sub bab hambatan pemanfaatan legum.

Protein biji kedelai mengandung 18 jenis asam amino, yaitu 11 asam amino esensial (*Cysteine/Cys*, *Histidine/His*, *Isoleucine/Ile*, *Leucine/Leu*, *Lysine/Lys*, *Methioine/Met*, *Phenylalanine/Phe*, *Threonin/Thr*, *Tryptophan/Trp*, *Tyrosine/Tyr*, dan *Valine/Val*) dan sisanya asam amino non-esensial (*Alanine/Ala*, *Arginine/Arg*, *Aspartic acid/Asp*, *Glutamic acid/Glu*, *Glycine/Gly*, *Proline/Pro*, dan *Serin/Ser*). Komposisi asam amino dua jenis varietas kedelai, dan fraksi protein yang larut dalam etanol (*ethanol-soluble fraction*) terlihat pada Tabel 2.2.

Asam amino penyusun protein kedelai paling banyak adalah asam glutamat. Asam amino bersifat asam (*acidic amino acids*) yaitu Glu dan Asp menyusun sekitar 25% dari total asam amino kedelai. Sedangkan asam amino yang bersifat basa (*basic amino acids*) yaitu Lys, Arg, dan His menyusun sekitar 20% dari total asam amino kedelai, sehingga total asam amino yang bermuatan (*total charged residu amino acids = acidic amino acids + basic amino acids*) adalah sekitar 45% dari total asam amino kedelai. Asam-asam amino non-polar/ *hydrophobic* yaitu Ala, Gly, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Trp, dan Val menyusun sekitar 19 - 20% dari total asam amino kedelai, dan sisanya merupakan asam amino polar/*hydrophilic* yang terdiri atas Cys, Tyr, Ser, dan Thr (Zarkadas dkk., 1994; Liu, 1999). Seperti jenis kacang-kacangan yang lain, asam amino pembatas protein kedelai adalah metionin yang kandungannya paling rendah, diikuti sistein dan threonin. Namun

protein kedelai mengandung banyak asam amino lisin yang biasanya merupakan asam amino pembatas pada serealia (Liu, 1999).

**Tabel 2.2.** Komposisi asam amino kedelai varietas tinggi protein /OT8916), normal/Maple Arrow, dan ethanol-soluble fraction (mg/g protein).

Asam amino	Maple Arrow*	OT89-16*	ethanol-soluble fraction**
<b>Essensial</b>			
<i>Cysteine</i>	25,00	23,25	89,97
<i>Histidine</i>	34,38	32,38	15,88
<i>Isoleucine</i>	51,58	50,05	23,49
<i>Leucine</i>	81,69	78,83	31,80
<i>Lysine</i>	68,37	62,06	20,55
<i>Methionine</i>	10,70	9,64	7,70
<i>Phenylalanine</i>	56,29	52,62	65,21
<i>Threonin</i>	41,94	42,05	20,88
<i>Tryptophan</i>	12,73	12,20	55,71
<i>Tyrosine</i>	41,55	38,83	63,20
<i>Valine</i>	54,27	51,08	20,23
<b>Nonessensial</b>			
<i>Alanine</i>	40,23	38,04	27,42
<i>Arginine</i>	77,16	80,21	87,88
<i>Aspartic acid</i>	68,86	81,77	134,12
<i>Glutamic acid</i>	190,16	200,07	236,18
<i>Glycine</i>	36,72	35,97	25,66
<i>Proline</i>	52,91	51,76	30,18
<i>Serine</i>	54,05	58,13	26,65

Sumber: \* Liu (1999); \*\* Zarkadas (1994)

Biji kedelai juga mengandung asam amino bebas yaitu asam amino yang keberadaannya tidak saling berikatan satu dengan yang lain. Kadar asam amino bebas biji kedelai sangat tergantung pada tingkat kemasakan (*maturity*), iklim, ketersediaan nutrisi dalam tanah, kondisi penyimpanan biji, dan faktor genetik tanaman (Martino-Rigano dkk., 1989 dalam

Zarkadas dkk., 1994). Yanagisawa dkk (1997) telah meneliti tentang perbandingan asam amino bebas pada biji kedelai belum masak/*immature* dan masak, yang menunjukkan bahwa biji kedelai mentah mengandung asam amino bebas lebih banyak dan turun sejalan dengan masaknya biji.

### 2.1.2 Kara Benguk

Kara benguk (*Mucuna pruriens*) merupakan salah satu jenis kacang-kacangan yang juga dapat tumbuh di daerah kurang subur dan kering. Terdapat berbagai varietas lokal kara benguk yang ada di Indonesia khususnya di Pulau Jawa, yaitu Rase, Lutung, Rempelo, dan Putih (Kanetro dan Hastuti, 2006). Varietas Lutung yang dicirikan dengan kulit biji hitam dan Putih yang dicirikan dengan kulit biji putih memiliki kadar protein yang lebih tinggi, sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai sumber protein nabati. Komposisi kimia berbagai jenis biji kara benguk terlihat pada Tabel 2.3.

**Tabel 2.3.** Komposisi kimia berbagai jenis biji kara benguk

Varietas	Protein (%)	Lemak (%)	Karbohidrat (%)	Abu (%)
Rase	28,4	5,1	63,1	3,2
Lutung	31,0	3,8	60,9	3,0
Rempelo	30,5	2,8	63,7	3,0
Putih	31,0	3,4	62,3	3,3

Sumber: Kanetro dan Hastuti (2006)

### 2.1.3 Kacang Tunggak

Kacang tunggak atau kacang tolo (*Vigna unguiculata*) merupakan salah satu jenis kacang-kacangan yang sudah lama di tanam di Indonesia tetapi masih jarang dipergunakan sebagai produk komersial sehingga belum dibudidayakan secara intensif. Padahal kacang tunggak memiliki kelebihan untuk dibudidayakan, yaitu mudah dibudidayakan karena memiliki daya adaptasi yang tinggi terhadap lingkungan tumbuh, tahan terhadap kekeringan, cepat berproduksi serta tahan terhadap hama dan penyakit

(Rukmana dan Oesman, 2000). Komposisi kimia biji kacang tuggak terlihat pada Tabel 2.4.

**Tabel 2.4.** *Komposisi kimia biji kacang tuggak*

Komposisi	Jumlah per 100 g bahan
Air (g)	11,00
Protein (g)	22,90
Lemak (g)	1,40
Karbohidrat (g)	61,60

Sumber: Kanetro dan Hastuti (2006)

#### 2.1.4 Kecipir

Tanaman kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus*) merupakan salah satu famili kacang-kacangan yang dapat beradaptasi lebih baik dibandingkan jenis kacang-kacangan lain, karena dapat tumbuh baik didataran rendah maupun tinggi sampai ketinggian 1800 meter di atas permukaan laut, dan dapat tumbuh di tanah yang kurang subur seperti tanah berpasir dan tanah liat (Joedoro, 1979). Tanaman kecipir memiliki potensi yang paling besar untuk menggantikan kedelai, karena produksi biji kecipir bisa melampaui kedelai apabila dibudidayakan dengan baik (Anonim, 1981 dalam Suhardi, 1984), dan mengandung protein dengan jumlah yang hampir sama dengan kedelai. Komposisi kimia biji kecipir terlihat pada Tabel 2.5.

**Tabel 2.5.** *Komposisi kimia biji kecipir*

Komposisi	Jumlah per 100 g bahan
Karbohidrat (g)	23,9 - 42,0
Protein (g)	29,8 - 39,0
Lemak (g)	15,0 - 20,4
Air (g)	8,7 - 24,6

Sumber: Kanetro dan Hastuti (2006)

### 2.1.5 Kedelai hitam

Kedelai hitam (*Glycine sojae*) sudah dikenal lama di Indonesia karena merupakan tanaman asli daerah Asia tropis di Asia Tenggara, sementara kedelai putih/kuning (*Glycine max*) merupakan tanaman asli daerah Asia subtropis dan diperkenalkan di Nusantara oleh pendatang dari Cina sejak maraknya perdagangan dengan Tiongkok. Seperti kedelai putih/kuning, kedelai hitam dapat tumbuh pada ketinggian hingga 1500 m di atas permukaan laut. Salah satu varietas kedelai hitam adalah Mallika yang berpotensi dikembangkan karena memiliki produktifitas yang tinggi, yaitu 2,9 ton/hektar, jauh diatas harapan pemerintah yang hanya 1,5 ton/hektar. Akhir-akhir ini Balai penelitian Tanaman Kacang-Kacangan dan Umbi-Umbian (BALITKABI) Malang telah menemukan varietas unggul kedelai hitam yaitu 9837/Kawi-D-8 yang memiliki produktifitas lebih tinggi daripada kedelai hitam Mallika (Anonim, 2008). Komposisi kimia berbagai varitas kedelai hitam disajikan pada Tabel 2.6. Kadar protein kedelai hitam bisa mencapai 45,4% bk yang melebihi kadar protein kedelai impor yang berkisar 35 - 36,8% bk (Anonim, 2008).

**Tabel 2.6.** Komposisi kimia berbagai varietas kedelai hitam.

Varietas kedelai hitam	Air (%bb)	Protein (%bk)	Lemak (%bk)
Cikuray	9,2	35,0 - 42,4	17,0 - 19,0
Merapi	7,2	41,0 - 42,6	7,5 - 13,0
Mallika	-	37,0	20,0
9837/Kawi-D-8	7,1	45,4	13,1

**Sumber; Anonim (2008)**

### 2.1.6 Kacang Hijau

Kacang hijau (*Phaseolus vulgaris*) termasuk kacang yang penting di masa yang akan datang, khususnya di kawasan tropis. Hal ini didasarkan pada sifat tanaman kacang hijau yang cepat masak (55-85 hari), mempunyai kemampuan untuk beradaptasi terhadap kisaran suhu yang lebar, serta dapat diterima atau dikonsumsi secara luas bagi masyarakat. Di

antara kacang-kacangan di Indonesia, produksi kacang hijau menempati urutan ketiga setelah kedelai dan kacang tanah. Komposisi kimia kacang hijau disajikan pada Tabel 2.7.

**Tabel 2.7.** *Komposisi kimia kacang hijau*

<b>Komposisi</b>	<b>Jumlah per 100 g bahan</b>
Karbohidrat (g)	18,6
Protein (g)	59,9
Lemak (g)	1,2
Air (g)	10,1

Sumber: Kanetro dan Hastuti (2006)

## **2.2 Hambatan Pemanfaatan Protein Kacangan-Kacangan**

### **2.2.1 Sifat fisik tekstur biji**

Kacang-kacangan merupakan salah satu komoditi pertanian penting, karena potensinya sebagai sumber protein nabati. Namun potensi yang dimiliki pada beberapa kacang-kacangan tersebut belum dimanfaatkan secara maksimal. Saat ini jenis kacang-kacangan yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan pangan masih terbatas pada kedelai, kacang hijau, dan kacang tanah karena adanya beberapa hambatan, di antaranya kulit bijinya yang keras sehingga mempersulit pengolahan. Kecipir merupakan salah satu kacang-kacangan dengan kulit biji yang sangat keras, sehingga belum banyak dimanfaatkan padahal kandungan proteinnya cukup tinggi. Perbedaan tektur kulit biji pada kacang-kacangan mengakibatkan perbedaan cara pengolahannya, misalnya waktu perendaman kacang-kacangan untuk pembuatan kecambah bervariasi. Waktu perendaman untuk memperlunak kulit biji pada kecipir, kara benguk, gude kedelai dan kacang hijau berturut turut 36, 24, 11, 8 dan 8 jam (Sutardi, 1996).

### **2.2.2 Flavor langu**

Lipoksigenase (linoleat: oksidoreduktase) banyak dijumpai pada tanaman kacang-kacangan. Enzim ini mengatalisa reaksi pembentukan hidroperoksida dari asam linoleat atau asam lemak poliunsaturasi lain

yang memiliki sistem ikatan rangkap cis-cis-1,4-pentadiena dengan adanya oksigen. Asam lemak utama pada kacang-kacangan adalah asam lemak tidak jenuh yaitu linoleat, sehingga memudahkan terjadinya oksidasi asam lemak tersebut. Produk oksidasi awal dari aktivitas lipoksigenase dapat mengalami degradasi menjadi senyawa dengan atom C-6 dan C-9 melalui isomerisasi dan/atau *bases* hidroperoksida. Senyawa-senyawa yang bersifat volatil tersebut adalah aldehid, keton, dan alkohol. Beberapa senyawa tersebut menyebabkan timbulnya flavor yang tidak diinginkan/*off flavor* atau lebih dikenal dengan *beany flavor* atau flavor langu (Liu, 1999).

Flavor yang tidak disukai pada produk olahan kacang-kacangan menjadi masalah dalam pemanfaatan kacang-kacangan sebagai sumber protein nabati. Adanya aktivitas lipoksigenase selama pengolahan kedelai menyebabkan terbentuknya flavor langu yang mengurangi penerimaan konsumen terhadap produk-produk olahan kedelai (Rice dkk., 1981). Aktivitas lipoksigenase berkorelasi positif dengan timbulnya flavor langu (King dan Puwastien, 1987).

Usaha untuk menginaktifkan enzim lipoksigenase biasanya didasarkan pada sifat-sifat yang dimiliki enzim tersebut, antara lain kepekaan terhadap panas dan pH tertentu. Suhu pemanasan yang biasanya digunakan untuk inaktivasi lipoksigenase lebih besar dari 80°C. Penggunaan panas yang berlebihan untuk inaktivasi lipoksigenase tidak dianjurkan karena menyebabkan protein kedelai tidak larut dan kehilangan sifat fungsional protein sehingga dapat mengurangi kualitas produk olahan kacang-kacangan.

Beberapa metode yang dikembangkan untuk mengeliminasi lipoksigenase dengan mencegah kerusakan protein adalah dengan pengaturan kadar air, perlakuan pH dan etanol atau kombinasinya. Pengaturan kadar air kedelai sekitar 16-18% sebelum dipanaskan menggunakan uap selama 10 detik telah terbukti efektif mengurangi aktivitas lipoksigenase sebesar 99%, mempertahankan kelarutan protein di atas 70%. Perendaman atau penghancuran kedelai dalam larutan etanol 29-90% selama 24 jam juga efektif mengurangi aktivitas lipoksigenase lebih dari 99%. Cara efektif lain adalah dengan kombinasi perlakuan panas dan

pH. Lipoksinase stabil pada pH 6 dan pH optimalnya sekitar pH netral sampai alkali. Enzim lipoksinase sangat sensitif terhadap perlakuan panas pada pH asam (Liu, 1999).

### 2.2.3 Anti gizi

#### a. Anti trispin/trispin inhibitor (TI)

Tripsin inhibitor merupakan protein yang larut dalam air (albumin) dan menyusun sekitar 0,2-2% dari total protein kacang-kacangan yang larut air (Desphande dan Damodaran, 1990 dalam Desphande, 2002). Di antara jenis kacang-kacangan, kedelai mengandung aktivitas TI yang paling tinggi (Boisen, 1989). Aktivitas TI kedelai, kacang hijau dan jenis kacang-kacangan lain berturut-turut 15,77; 2,37; dan kurang dari 12 mg inhibitor/g sampel (Saini, 1989).

Pada dasarnya ada 2 kelompok utama TI kacang-kacangan, yaitu *Kunitz* (KTI) dan *Bowman-Birk inhibitor* (BBI). BBI ditemukan pada semua jenis kacang-kacangan. KTI hanya ditemukan pada beberapa jenis kacang-kacangan, yaitu kedelai dan kecambah. Karakteristik yang penting dari kedua inhibitor tersebut adalah sebagai berikut.

KTI mempunyai berat molekul 21 kD dengan dua ikatan disulfida (Kunitz, 1947 dalam Reseland dkk., 1996), sedangkan BBI mempunyai berat molekul 8 kD yang mengandung asam amino cysteine lebih tinggi dengan membentuk 7 ikatan disulfida (Birk, 1987 dalam Reseland dkk., 1996). Struktur KTI dan BBI terlihat pada Gambar 2.2 dan Gambar 2.3. Gambar tersebut memperlihatkan bahwa struktur KTI disusun oleh 180 residu asam amino dan distabilkan dengan dua ikatan kovalen disulfida, sedangkan BBI disusun oleh 70 residu asam amino dan distabilkan dengan 7 ikatan kovalen disulfida (Birk, 1989; Frokier, dkk., 1997).

Perbedaan struktur pada kedua jenis inhibitor tersebut menyebabkan perbedaan sifat stabilitasnya terhadap panas. KTI mudah dinaktifkan oleh panas atau tidak stabil terhadap pemanasan (Bier, 1989), sedangkan BBI sangat stabil terhadap pemanasan (Frokier dkk, 1997). Rouhana dkk (1996) mengemukakan bahwa BI memiliki struktur yang lebih kompak dan kokoh



suhu tersebut terjadi penurunan kelarutan nitrogen (NSI) sebesar 80 -90% serta penurunan aktivitas TI sebesar 90% (Anderson, 1992).

BBI memiliki kestabilan terhadap panas yang lebih tinggi daripada KTI. Pemanasan BBI pada suhu 80°C selama 1 jam kemudian dilakukan pendinginan menunjukkan bahwa tidak terjadi perubahan konformasi dibandingkan struktur alaminya (*native structure*) dan 96% aktivitasnya masih ada. Hal tersebut menunjukkan BBI tetap stabil pada suhu 80 °C selama 1 jam dan bersifat reversibel jika dilakukan pendinginan (Wu dan Sessa, 1994). Birk (1961) dalam Wu dan Sessa (1994) juga mengemukakan bahwa BBI tetap memiliki aktivitas proteolitik sesudah dipanaskan pada suhu 100°C.

Usaha mengeliminasi TI sangat penting untuk dilakukan dalam pengolahan kacang-kacangan untuk menghasilkan produk dengan kualitas protein yang baik. Inaktivasi TI akan meningkatkan PER/protein efisiensi ratio yang menunjukkan peningkatan nilai gizi/daya cerna protein kacang-kacangan. Usaha inaktivasi TI dengan pemanasan belum cukup mengeliminasi TI secara sempurna dan juga dapat menyebabkan penurunan sifat fungsional protein, sehingga sering dikombinasikan dengan penggunaan bahan-bahan kimia. Bahan kimia tersebut antara lain senyawa-senyawa yang mengandung gugus thiol (misalnya cysteine dan glutathione) dan sodium sulfite. Perlakuan pemanasan tepung kedelai suhu 75°C dengan sodium sulfite 0,03 M selama 1 jam dapat menginaktivasi TI secara sempurna tanpa meninggalkan residu sulfite pada produk protein kedelai (Liu,1999).

#### **b. Phytate**

Senyawa phytate atau phytin merupakan inositol *hexaphosphoric acid* yang mengikat kalsium, magnesium atau potasium dan terdapat hampir pada semua jenis kacang-kacangan. Kandungan phytate kedelai berkisar 1-1,47% berat kering. Senyawa ini menyebabkan penurunan ketersediaan mineral karena dapat membentuk kompleks dengan kalsium dan magnesium, dapat mengurangi nilai gizi protein dan sifat fungsional protein melalui mekanisme pengikatan kalsium dan magnesium.

Metode pemanasan kurang efektif mengeliminasi phytate karena bersifat cukup stabil terhadap panas. Pengukusan dan pemasakan 20 menit hanya sedikit mengurangi phytate. Pemanasan kedelai menggunakan autoklafe suhu 115°C selama 4 jam dapat menghilangkan sebagian besar phytate, namun mengurangi nilai gizi dan menyebabkan timbulnya flavor yang tidak diinginkan karena kerusakan asam amino akibat pemanasan yang berlebihan. Cara cukup efektif mengurangi phytate adalah dengan cara perkecambahan dan fermentasi. Perkecambahan menyebabkan peningkatan enzim phytase sehingga mengurangi kandungan phytate. Fermentasi dalam pembuatan tempo menyebabkan penurunan phytate sekitar 67%.

### c. Oligosakarida

Oligosakarida dalam kacang-kacangan (stakiosa dan raffinosa) merupakan senyawa gula nonreduksi yang mengandung unit monosakarida fruktosa, glukosa, dan galaktosa yang saling berikatan dengan ikatan  $\beta$ -fruktosidik dan  $\alpha$ -galaktosidik. Stakiosa terdiri dari 4 unit monosakarida, sedangkan raffinosa terdiri dari 3 unit monosakarida.

Konsumsi kacang-kacangan pada manusia menyebabkan flatulensi karena adanya kandungan oligosakarida. Flatulensi adalah kondisi perut yang tidak nyaman. Hal ini disebabkan oligosakarida tidak dapat dicerna karena dalam pencernaan manusia tidak terdapat enzim  $\alpha$ -galaktosidase yang dibutuhkan untuk menghidrolisis oligosakarida, akibatnya senyawa ini masuk dalam usus besar. Dalam usus besar, oligosakarida dapat dimetabolisme oleh mikrobial dalam usus yang menghasilkan enzim tersebut. Hasil metabolisme tersebut adalah produksi gas, antara lain karbondioksida, hidrogen, nitrogen, methane dan sebagainya. Gas-gas yang dihasilkan merupakan penyebab flatulensi (Liener, 1994 dalam Liu, 1999).

Oligosakarida merupakan senyawa yang stabil terhadap panas, sehingga perlakuan panas kurang efektif untuk mengeliminasi. Metode yang cukup efektif adalah dengan ekstraksi menggunakan pelarut etanol. Metode eliminasi yang lain adalah dengan perkecambahan dan

fermentasi. Selama perkecambahan, enzim endogenous yang mendegradasi oligosakarida akan meningkat, sehingga dapat mengurangi oligosakarida dengan sempurna. Mikrobia yang digunakan dalam fermentasi kacang-kacangan, misalnya *R. oligosporits* juga diketahui dapat menghilangkan flatulensi (Liu, 1999).

#### **d. Senyawa Beracun**

Senyawa beracun hanya terdapat pada jenis kacang-kacangan tertentu khususnya koro benguk dan koro putih, yaitu senyawa glikosida sianogenik yang dapat menyebabkan keracunan jika membebaskan HCN / asam sianida melalui reaksi hidrolisa enzimatik. Enzim yang berperan adalah  $\beta$ -glukosidase. Dalam tanaman senyawa glikosida terpisah dengan enzim, sehingga hidrolisa tidak terjadi. Proses pengolahan seperti perendaman, pengirisan dan penghancuran menyebabkan terjadinya hidrolisis, sehingga dibebaskan senyawa HCN (Graham, 1980 dalam Wu dan Sessa, 1994).

Asam sianida mempunyai titik didih 26,5 °C, sangat larut dalam air dan alkohol, tetapi tidak larut dalam ether dan klorofom. Kadar yang mematikan dari sianida berkisar 0,5 - 3 mg/kg berat badan (Cheeke, 1985 dalam Utomo, 2004). Berdasarkan sifat-sifat asam sianida tersebut, maka langkah-langkah pengolahan untuk mengeliminasi HCN yang terikat pada senyawa glikosida pada prinsipnya adalah mengusahakan terjadinya hidrolisis yang membebaskan HCN dan selanjutnya menghilangkan HCN pada bahan. Langkah pertama dapat dilakukan dengan cara pengirisan dan perendaman. Langkah selanjutnya adalah dengan cara pembilasan dan pemanasan/perebusan.



## BAB 3

# PENGOLAHAN KACANG-KACANGAN BERBASIS PROTEIN

### 3.1 Proses Pembuatan Susu Kacang-Kacangan

**S**usu nabati adalah hasil ekstraksi kacang yang diperoleh dengan merendam kacang yang dilanjutkan dengan menggiling dan menyaringnya sehingga diperoleh cairan yang menyerupai susu sapi. Susu merupakan suatu sistem dispersi dengan fase kontinu air dan fase diskontinu protein, lemak, dan karbohidrat. Susu nabati yang telah banyak dikenal oleh masyarakat hanya terbatas pada susu kedelai. Susu kedelai mengandung dua zat gizi utama, yaitu protein dan lemak, yang keduanya mudah dicerna. Susu kedelai adalah bentuk olahan kedelai yang sederhana dan sumber gizi alternatif yang baik untuk negara-negara yang produk susu sapi tidak cukup atau sangat mahal.

Susu kedelai mempunyai kandungan protein yang lebih banyak dan kalori yang lebih rendah dibandingkan dengan susu sapi. Sebagai tambahan, susu kedelai menyediakan asam lemak esensial yang seimbang, lesitin dan bebas dari kolesterol. Prinsip dari pembuatan susu kedelai adalah:

1. Mendapatkan susu kedelai yang enak, bergizi, berkualitas baik dengan hasil yang tinggi dan biaya yang rendah.
2. Pembuatan susu kedelai dapat menggunakan satu cara atau kombinasi dari beberapa cara untuk dapat mencapai tujuan tersebut.

Susu kedelai yang berkualitas baik mempunyai kriteria sebagai berikut:

Komponen	Kriteria
Flavor langu	Tidak ada
Rasa di mulut	lembut
Konsistensi	baik
Faktor anti gizi	dihilangkan
Rasa	enak
Umur simpan	lama
Hasil produksi	tinggi
Penggunaan kedelai	seperti umumnya
Biaya peralatan	rendah

Cara yang digunakan untuk menghasilkan susu kedelai berkualitas baik adalah sebagai berikut:

**a. Cara untuk menghilangkan flavor yang tidak diinginkan:**

- Metode penggilingan dalam keadaan panas (untuk inaktivasi lipoksigenase yang menyebabkan flavor langu)
- Metode blanching (inaktivasi LPO)
- Penggunaan tepung kedelai rendah lemak (menghilangkan substrat LPO/minyak)
- Deodorisasi vakum (menghilangkan flavor yang tidak enak/*off-flavor* yang volatil)
- Penggunaan isolet protein kedelai (menghilangkan komponen flavor)
- Fermentasi enzimatik (menghilangkan *off-flavor*)
- Perendaman atau blanching dalam kondisi alkali/ basa (inaktivasi LPO)
- Penambahan flavor (menutupi *off-flavor*)
- Penggilingan dalam kondisi asam (inaktivasi LPO)
- Pengupasan kulit ari (mencegah rasa pahit)
- Metode UHT (ultra high temperature) langsung
- Rapid hydration hydrothermal *cooking*/RHHC (memperbaiki *flavor*)
- Pemasakan terbuka pada 95°C selama 15 menit (menghilangkan flavor langu)

**b. Cara untuk inaktivasi tripsin inhibitor (TI) dan zat-zat anti gizi**

- Proses pemanasan yang bervariasi
- Perendaman alkali

**c. Cara untuk menghilangkan oligosakarida (rafinosa dan stakiosa)**

- Perendaman alkali
- Penghilangan serat
- Perlakuan pangan
- Perlakuan enzimatis menggunakan enzim agalaktosidase

**Cara yang umum digunakan**

1. Mencegah flavor langu dengan *blanching* kedelai (100°C selama 10 - 30 menit) dan penggilingan ada suhu tinggi (di atas 80°C).
2. Inaktivasi tripsinin hibitor dengan pemanasan bubur kedelai pada 100°C selama 22 - 30 menit.
3. Penghilangan oligosakarida dengan perendaman dalam larutan alkali.

**Cara untuk hasil yang lebih tinggi**

Pada umumnya proses pengolahan susu kedelai, dapat diperoleh kembali 70-80% protein kedelai dan 55-65% padatan pada hasilnya (susu kedelai). Faktor-faktor yang penting meliputi:

- Penggunaan kedelai yang utuh (serat tidak dipisahkan)
- Seleksi kedelai menurut kualitasnya (dari varietas yang tinggi protein dan segar)
- Perlakuan ekstraksi dua kali atau lebih pada residu kedelai
- Pengendalian perbandingan kedelai: air Pengendalian suhu dan waktu ekstraksi
- Pemilihan prosedur pemasakan dan penvaringan
- Pengendalian ukuran dari hancuran kedelai
- Pengendalian kondisi dan waktu simpan kedelai
- Perlakuan menggunakan enzim proteinase.

### **Cara untuk biaya yang murah**

Biaya total proses pengolahan susu kedelai umumnya adalah sepertiga atau setengah dari harga susu sapi. Untuk mendapatkan biaya murah tersebut digunakan cara:

- Penggunaan metode tradisional
- Penggunaan isolat protein kedelai, konsentrat kedelai atau tepung susu kedelai sebagai bahan baku.
- Penggunaan peralatan yang sederhana
- Penggunaan pengemas yang murah.

### **Komposisi gizi susu kedelai**

Susu kedelai adalah sumber protein dan lemak. Kedelai mempunyai protein dengan kuantitas dan kualitas yang tinggi dan lemak kedelai merupakan sumber energi yang baik. Sayangnya, hanya 12% dari produksi kedelai dunia yang digunakan untuk makanan, sisanya 88% digunakan untuk ternak dan unggas.

Kelebihan dari susu kedelai, antara lain:

- Tidak mengandung laktose
- Bebas kolesterol
- Bergizi tinggi mudah dicerna
- Tidak mengandung alergen (bahan penyebab alergi)
- Harga murah
- Teknologi sederhana

Jika dibandingkan dengan susu sapi, kandungan proteinnya lebih tinggi, tetapi kandungan lemaknya lebih rendah, seperti disajikan pada Tabel 3.1.

Susu kedelai mengandung lebih banyak protein, zat besi dan asam lemak tidak jenuh, tetapi lebih sedikit mengandung kalori lemak, karbohidrat, dan kalsium, jika dibandingkan dengan susu sapi. *Biological value* (BV/jumlah protein yang dapat diserap dan digunakan oleh tubuh dari seluruh protein yang ada pada bahan) dari susu kedelai, sangat tinggi.

Kebutuhan anak-anak akan asam amino esensial per harinya dapat dicukupi dengan konsumsi 200 ml kedelai. Untuk mencukupi kebutuhan

metionin yang direkomendasikan (0,8 g/hari) akan membutuhkan konsumsi susu kedelai yang lebih tinggi atau tambahan konsumsi bahan berprotein lainnya.

**Tabel 3.1.** Komposisi susu kedelai dan susu sapi

Komponen/100 g	Susu Kedelai	Susu Sapi
Protein	3,6	2,9
Lemak	2,0	3,3
Karbohidrat	2,9	4,5
Abu	0,5	0,7
Air	90,8	88,6
Kalori	44,0	59,0

Sumber: Lucas dkk. (1989)

Susu kedelai tidak mengandung laktosa, sehingga aman bagi penderita *lactose intolerance*. Setelah bayi disapih, biasanya akan kehilangan kemampuannya untuk memproduksi laktase (enzim yang memecah laktosa menjadi glukosa dan galaktosa). Bagi penderita *lactose intolerance*, konsumsi susu sapi akan menyebabkan masalah perut kembung (flatulensi) dan diare.

Lemak merupakan zat gizi yang menyediakan kalori yang paling banyak dibandingkan protein dan karbohidrat. Susu kedelai kaya akan asam lemak tidak jenuh dan juga mengandung lesitin, sehingga konsumsi yang terus menerus akan menurunkan kolesterol darah. (sebagai catatan: asam lemak jenuh yang banyak ditemukan pada daging sapi dan susu sapi menyebabkan tingginya kolesterol darah. Kolesterol ini merupakan salah satu faktor penyebab penyakit kardiovaskuler)

### **Pengolahan minuman kedelai di Eropa**

Gambaran secara umum pengolahan minuman kedelai pada industri-industri di Eropa melalui tahapan sebagai berikut:

#### 1. Penyimpanan kedelai

Penyimpanan dalam silo (seperti tabung), dilengkapi dengan pendingin, sistem monitoring aerasi dan suhu untuk mencegah

kerusakan yang disebabkan oleh kadar air dan mikrobia. Secara otomatis kedelai dipindahkan dari tempat penyimpanan ke tahapan selanjutnya dengan konveyor.

2. Pembersihan dan pengupasan kulit ari  
Termasuk di dalam pembersihan adalah sortasi dari kotoran, pembersihan dengan aspirasi (untuk ukuran yang sangat kecil). Instalasi secara keseluruhan biasanya dihubungkan dengan sistem siklon untuk memperoleh hasil yang bebas debu.
3. *Blanching* dan inaktivasi enzim  
Kedelai yang sudah bersih, secara kontinyu dimasukkan ke dalam unit *blanching* (inaktivasi enzim) untuk inenetralsir substansi yang akan berpengaruh pada kualitas susu kedelai.
4. Penggilingan  
Kedelai setelah *di-blanching*, digiling dua kali (melalui dua tahap gilingan) dan di sini ditambah air panas sebelum penggilingan. Produk yang dihasilkan disebut bubur kedelai. Ukuran serat bubur kedelai diatur sedemikian rupa sehingga menghasilkan produk dengan kandungan protein yang tinggi tanpa ada residu serat pada produk akhir.
5. Pemisahan serat yang tidak larut  
Pada alat pemisah, serat tidak larut dipisahkan dari bubur kedelai. Cairan yang diperoleh disebut susu kedelai dan seratnya disebut okara. Susu kedelai dipompa masuk ke dalam tangki untuk standarisasi dan okara dipompa ke kontainer untuk dikumpulkan.
6. Formulasi yang ditujukan untuk pembentukan citarasa  
Penambahan pemanis, vitamin, mineral, stabilizer dan flavor dengan cara dilarutkan dalam air, kemudian larutan tersebut dipompa masuk ke dalam tangki standarisasi untuk dicampur dengan susu kedelai dan ditambah air untuk menghasilkan minuman yang dikehendaki.
7. Penambahan minyak dan homogenisasi  
Penambahan minyak ini dilakukan jika dikehendaki produk yang kandungan lemaknya tinggi. Penambahan lemak dilakukan dengan

cara ditambah lemak dan pengemulsi secara langsung pada susu kedelai, sebelum homogenisasi.

8. Penyimpanan susu kedelai

Penyimpanan di dalam tangki bertujuan untuk pendinginan

9. Perlakuan UHT

UHT dilakukan dengan pemanasan uap secara langsung dan secara aseptis dihomogenisasi. Selanjutnya diangkut ke tangki steril yang berfungsi sebagai tangki penyimpanan sementara sebelum masuk ke mesin pengemas.

### **Tahapan dasar dalam pembuatan susu kedelai**

#### **1. Sortasi Kedelai**

Kedelai yang dipilih harus dapat menghasilkan susu kedelai yang mempunyai flavor dan warna yang baik, serta yang menghasilkan produk dalam jumlah yang besar. Kedelai yang dipilih adalah yang segar, varietas dengan warna hilum yang putih dan kandungan protein yang tinggi, karena dapat menghasilkan susu kedelai dalam jumlah banyak (hilum biasanya mempunyai warna yang berbeda dengan kulit ari, tetapi warna hilum ini yang menentukan varietas kedelai. Warna hilum yang gelap dihindari dalam pembuatan susu kedelai dan tahu karena akan tampak sebagai kotoran dalam produk. Meskipun demikian, dengan berbagai pertimbangan sebagian besar pengusaha susu kedelai menggunakan kedelai kelas 2, yaitu kedelai dengan kulit berwarna kuning.

#### **2. Pembersihan**

Kedelai komersial banyak mengandung kotoran, debu dan mikroba pada permukaannya, sehingga harus dicuci. Benda asing seperti ranting, kerikil, logam, dan benda yang lain harus dihilangkan.

Pada saat pembersihan ini, kerusakan kedelai harus seminimal mungkin karena enzim lipoksigenase akan aktif pada asam lemak tak jenuh pada jaringan kedelai yang rusak dan memproduksi komponen yang berbau langu.

### 3. Pengupasan kulit ari

Berat kulit ari kedelai adalah 9% dari berat kedelai. Pengupasan yang umum dilakukan adalah dalam keadaan kering dengan mesin pengupas kedelai.

Pengupasan cara kering terdiri dari 3 tahap, yakni:

- a. Perlakuan panas yang ditujukan untuk merusak ikatan kulit ari dan kotiledon, supaya pengupasan berlangsung lebih efektif dan efisien.
- b. Pemecahan kedelai
- c. Pemisahan kulit ari dan kotiledon yang biasanya dengan hembusan udara (aspirasi), dengan efisiensi proses 88%.

Sedangkan pengupasan cara basah juga bisa dilakukan dengan merendam kedelai (tanpa pemanasan pendahuluan) dan kulit ari yang terkupas akan mengambang dan dipisahkan dengan pengaliran air.

Keuntungan pengupasan:

- meningkatkan protein *recovery*
- memperbaiki flavor susu dengan mengeliminasi flavor langu dan rasa pahit
- memperbaiki kecernaannya
- menghasilkan susu yang lebih cerah warnanya
- mengurangi oligosakarida, waktu perendaman dan energi untuk penggilingan
- mengurangi kontaminasi bakteri dari kulit ari, sehingga dapat memperpanjang umur simpan susu kedelai

### 4. Perendaman

Kedelai direndam di dalam air yang beratnya 3 kali berat kedelai dengan waktu perendaman yang bervariasi tergantung suhu air yang digunakan. Air perendam yang lebih dingin membutuhkan waktu perendaman yang lebih lama. Pada suhu 20°C, waktu perendamannya 8-10 jam dan pada suhu 10°C, waktunya 14-20 jam. Perendaman dapat dilakukan pada air yang disirkulasikan atau yang dialirkan secara kontinyu. Setelah waktu

perendaman mencukupi, berat kedelai akan mencapai 2-2,3 kali berat awalnya.

Sebagian besar unit pengolahan susu kedelai komersial menyebutkan bahwa perendaman kedelai mempunyai keuntungan:

- Mengurangi energi penggilingan
- Padatan terdispersi dan tersuspensi lebih baik selama ekstraksi
- Produksi susu lebih tinggi
- Waktu pemasakan lebih singkat.

Modifikasi selama perendaman adalah dengan merendam kedelai dalam larutan alkali (misalnya Na-bikarbonat, Na-sitrat). Perendaman dalam alkali (yang menggunakan natrium) dapat :

- mengurangi flavor langu, tetapi tidak menghilangkannya
- mengurangi waktu pemasakan
- memperbaiki homogenisasi
- mengurangi oligosakarida
- mempercepat inaktivasi tripsin inhibitor

Jika suhu perendaman melebihi 45°C, perolehan kembali padatan pada susu menurun dari 60% menjadi 50%, karbohidrat menurun dari 15% menjadi 10% dan terjadi penurunan sedikit pada kandungan protein dan lemak. Waktu perendaman yang lebih lama akan meningkatkan kehilangan komponen kedelai pada produk susunya. Perendaman kedelai kupas selama 24 jam akan menyebabkan kehilangan padatan sebesar 5%, sedangkan perendaman kedelai utuh kehilangan padatannya 1,5%. Padatan yang hilang sebagian besar adalah karbohidrat (73,2%), termasuk di dalam-triya oligosakarida penyebab flatulensi.

**Tabel 3.2.** Waktu perendaman untuk kedelai utuh dan kedelai kupas

Suhu Air Rendaman	Kedelai Utuh (Jam)	Kedelai Kupas (Jam)
30°C	7	2 - 3
50°C	3 - 4	1

Sumber: Lusas dkk. (1989)

## 5. Blanching

*Blanching* bisa menggunakan air atau larutan Nabikarbonat. Tujuan *blanching* adalah:

- inaktivasi enzim lipoksigenase (penyebab bau langu)
- menghilangkan oligosakarida yang larut air yang menyebabkan flatulensi
- menginaktifkan tripsin inhibitor yang mengurangi kecemasan protein

## 6. Penggilingan

Penggilingan dilakukan dengan penambahan air dingin atau air panas dengan menggunakan disintegrator, penggiling palu atau blender untuk menghasilkan koloid yang lolos ayakan 150 mesh. Penggilingan panas (di atas suhu 80°C) dapat menginaktifkan enzim lipoksigenase dengan tujuan untuk mencegah pembentukan yang tidak dikehendaki.

## 7. Penyaringan

Residu kedelai yang tidak larut dipisahkan dari bubur kedelai dengan setrifus (*a decanting centrifuge*), untuk memperbaiki flavor

## 8. Pemasakan

Tujuan pemasakan:

- a. Merusak mikrobia yang menyebabkan kerusakan produk
- b. Memperbaiki flavor
- c. Memperbaiki kualitas gizi karena inaktifnya tripsin inhibitor

Tripsin adalah enzim proteolitik yang dihasilkan oleh pankreas yang berperan penting dalam pencernaan protein dalam tubuh manusia, sedangkan tripsin inhibitor akan menghambat kerja tripsin, Berta dapat menyebabkan pembengkakan pankreas. Pemanasan pada suhu 100°C selama 14-30 menit atau 110°C selama 8-22 menit akan menginaktivasi 80-90% tripsin inhibitor (PER maksimum pada susu kedelai tercapai pada saat 80% tripsin inhibitor inaktif).

## 9. Formulasi

Penerimaan pada susu kedelai akan meningkat jika dilakukan penambahan zat pemanis dan pembentuk flavor yang sesuai dengan selera daerah pemasaran. Sedangkan, penambahan minyak, lesitin (atau pengemulsi yang lain) untuk memperbaiki gizinya dan rasa di mulut. Pengayaan zat gizi (misalnya minyak) penting dilakukan untuk negara-negara berkembang.

### Cara Alfa-Laval (Pengolahan secara kontinyu)

Minuman kedelai biasanya dimulai dengan ekstraksi kedelai menggunakan air. Cara yang dilakukan adalah cara kontinyu yang dikenal dengan Alfa-Laval. Produk yang menggunakan minuman dari kedelai sebagai bahan dasar adalah tabu, es krim, yoghurt, puding, dll.

Keuntungan cara Alfa-Laval :

- Tanpa perendaman dan *blanching*
- Inaktivasi lipoksigenase
- Inaktivasi tripsin inhibitor yang terkendali
- Protein *recovery* maksimum
- Energi dapat diperoleh kembali
- *Cleaning in Place (CIP)*, yaitu kebersihan proses selalu terkendali dengan sistem CIP otomatis yang dioperasikan dengan komputer.

Tahapan utama proses Alfa-Laval :

1. Penggilingan kacang dan inaktivasi lipoksigenase
2. Kedelai kering dan bersih, baik utuh maupun kupas yang berukuran seragam dimasukkan dalam penggiling. Beberapa parameter yang menentukan dikendalikan selama penghancuran untuk memproduksi bubur yang seragam, sesuai dengan kapasitas dan kandungan padatan total yang dikehendaki. Sebagai tambahan, waktu dan suhu harus diatur secara hati-hati untuk inaktivasi lipoksigenase tanpa menyebabkan protein terdenaturasi.

### 3. Pemisahan serat

Pemisahan serat dari bubur menggunakan sentrifus. Serat dapat dipisahkan secara kontinyu tanpa atau dengan pencucian kembali residu berserat untuk memperoleh residu yang lebih banyak.

### 4. Inaktivasi tripsin inhibitor dan deaerasi/deodorisasi

Pankreas mengeluarkan tripsin yang penting untuk pencernaan protein. Meskipun kaya akan protein, kedelai juga mengandung tripsin inhibitor yang dapat menghambat kerja tripsin. Protein susu kedelai bisa saja hanya 'numpang lewat' di dalam tubuh tanpa dapat dicerna, jika tripsin inhibitor tidak dirusak. Pada cara Alfa-Laval, inaktivasi tripsin inhibitor ini dikerjakan secara kontinyu dengan pemanasan. Setelah pemanasan, dengan segera suhu diturunkan dalam wadah vakum yang bertujuan untuk deaerasi (penghilangan udara/buih) dan deodorisasi (penghilangan bau) pada produk.

### 5. Kontrol produk dan standarisasi

Parameter yang harus dikendalikan selama proses (selain kondisi proses, misalnya: suhu, tekanan) adalah pH, padatan total dan kandungan protein (ada hubungan dengan mutu, produk akhir). Tiga faktor ini dikendalikan dan distandarisasi selama proses kontinyu, baik selama proses atau pada penyimpanan sementara setelah tahapan ekstraksi.

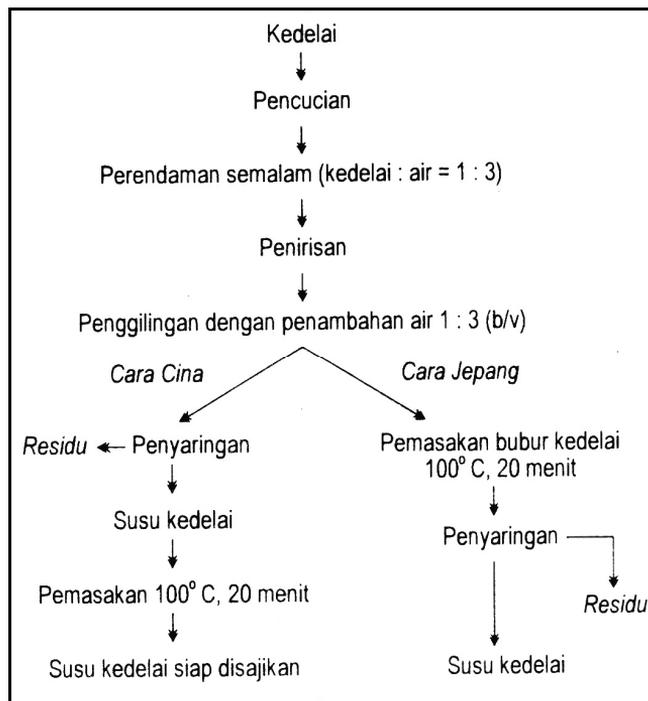
## **Cara-cara pembuatan susu kedelai**

Cara yang umum digunakan oleh produsen ada 10 macam, tetapi yang paling banyak digunakan ada 4 cara, yaitu :

### 1. Cara tradisional

Pembuatan susu kedelai cara tradisional dikenalkan di negara Jepang dan Cina. Cara tradisional ini menghasilkan padatan 55% dengan kandungan protein 65%. Perbedaan cara Cina dengan cara Jepang terdapat pada tahap penyaringan dan pemasakan. Pada cara Cina pemasakan susu dilakukan setelah penyaringan (pemisahan residu), sehingga penggunaan bahan bakar lebih hemat, sedangkan pada cara Jepang pemasakan dilakukan pada bubur kedelai yang selanjutnya

disaring untuk pemisahan residunya. Kedua cara ini disajikan dalam Skema 3.1.

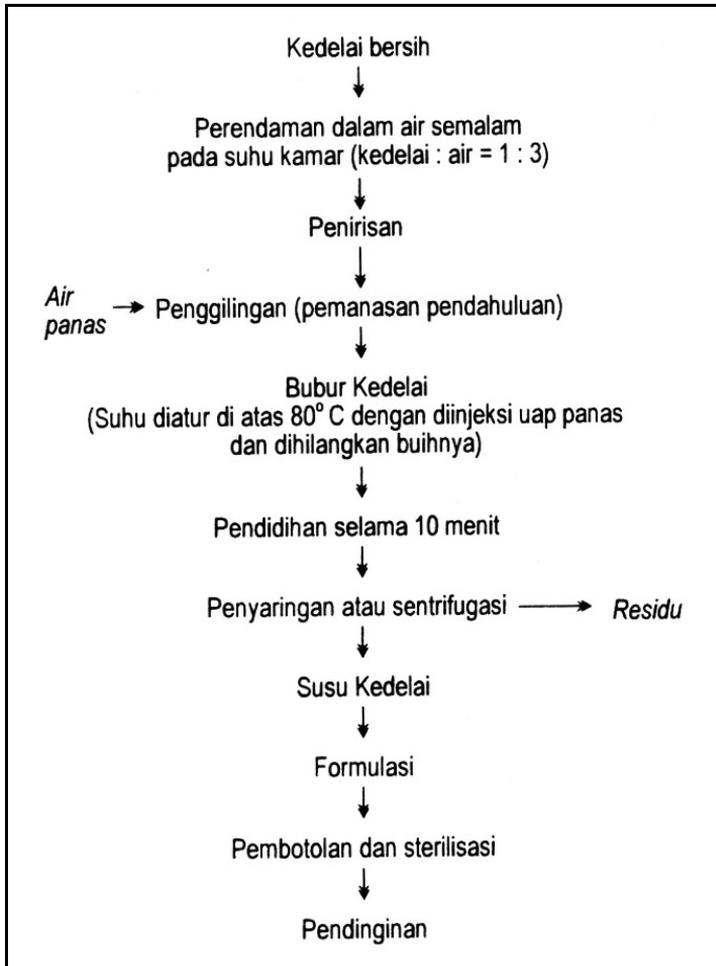


Sumber: Lusas dkk. (1989)

**Gambar 3.1** Skema Pembuatan susu kedelai secara tradisonal

## 2. Cara Cornell

Cara ini dikembangkan oleh Wilkens dan koleganya di Universitas Cornell pada tahun 1967. Pada cara ini penggilingan kedelai kupas dilakukan dengan penambahan air panas dan bubur kedelai yang diperoleh diatur suhunya pada 80-100°C dengan tujuan untuk inaktivasi enzim lipoksigenase. Bubur tersebut kemudian dididihkan di dalam *steam jacketed kettle* dengan pengadukan yang konstan selama 10 menit. Bubur panas disaring untuk mendapatkan susu kedelai. Susu kedelai diformulasi, dikemas dalam botol dan disteril lisasi pada suhu 121°C selama 12 menit. Hasil susu kedelai mengandung protein 78%. Cara Cornell ini juga dikenal dengan nama cara penggilingan panas (*hot grind method*) (seperti disajikan pada Skema 3.2.



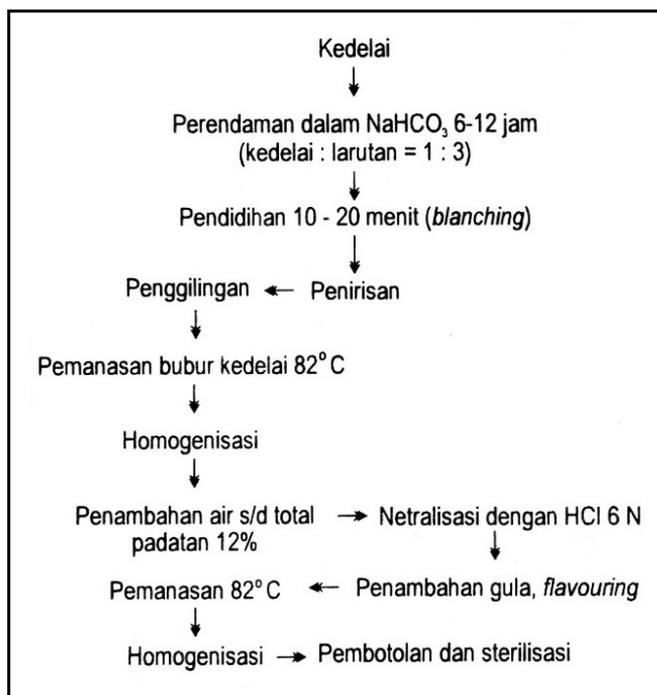
Sumber: Lusas dkk. (1989)

**Gambar 3.2** Skema Pembuatan Susu Kedelai Cara Cornell

### 3. Cara Illinois

Untuk menyempurnakan kontrol pada aktivitas enzim selama pembuatan susu kedelai, Nelson dkk dari Universitas Illinois, pada tahun 1976 memperkenalkan cara lain yang dikenal dengan nama Cara Illinois atau *pre-blanch method* (Skema 3.3). Cara ini dimulai dengan *mem-blanching* kedelai rendam dengan air mendidih selama 10 menit atau secara langsung *mem-blanching* kedelai kering di dalam air panas selama 20 menit. Kedua cara tersebut akan menyebabkan hidrasi

air dan menginaktivasi enzim. Selanjutnya ditiriskan dan digiling dengan penambahan air dingin. Sampai mencapai total padatan 12%. Bubur kedelai dipanaskan pada suhu 93,3°C dan dihomogenisasi, sehingga siap untuk dikemas atau dikonsumsi. Pada beberapa kasus, larutan Na-bikarbonat 0,25-0,5% digunakan sebagai pengganti air pada perendaman atau *blanching*, kemudian setelah homogenisasi dinetralkan dengan HCl sampai mencapai pH 6,8-7,2. Selanjutnya diformulasi, dipasteurisasi dan dihomogenisasi lagi serta dikemas dalam botol.



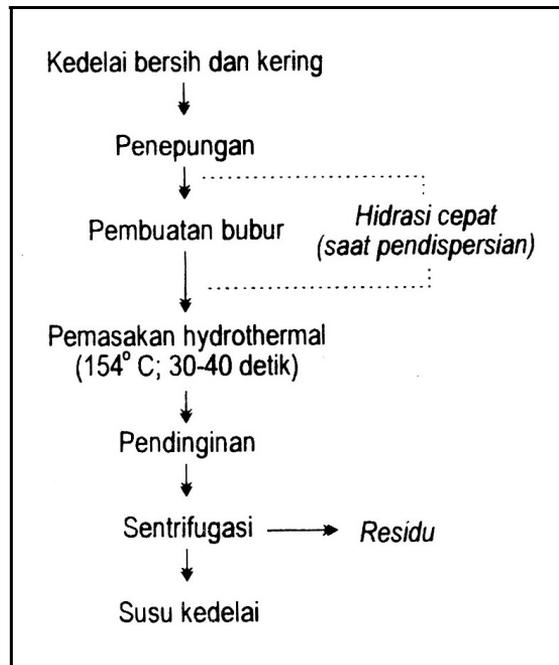
Sumber: Lusas dkk. (1989)

**Gambar 3.3** Skema Pembuatan Susu Kedelai Cara Illinois

#### 4. RHHC (*Rapid Hydration Hydrothermal Cooking*)

Cara yang dikernbangkan oleh Johnson dkk. pada tahun 1981 ini dimulai dengan penepungan kedelai, yang selanjutnya tepung kedelai dibuat bubur dengan penambahan air panas (pada tahapan ini dilakukan hidrasi cepat). Bubur tersebut diinjeksi dengan uap panas

pada suhu 154°C selama 30-40 detik (pemasakan hidrotermal) untuk menginaktivasi enzim lipoksigenase. Bubur masak ini kemudian didinginkan dan ditambah air untuk membuat kandungan padatnya 10%, selanjutnya disentrifugasi.



Sumber: Lusas dkk. (1989)

Gambar 3.4 Skema Pembuatan Susu Kedelai Cara RHHC

### 3.2 Proses Pembuatan Tahu

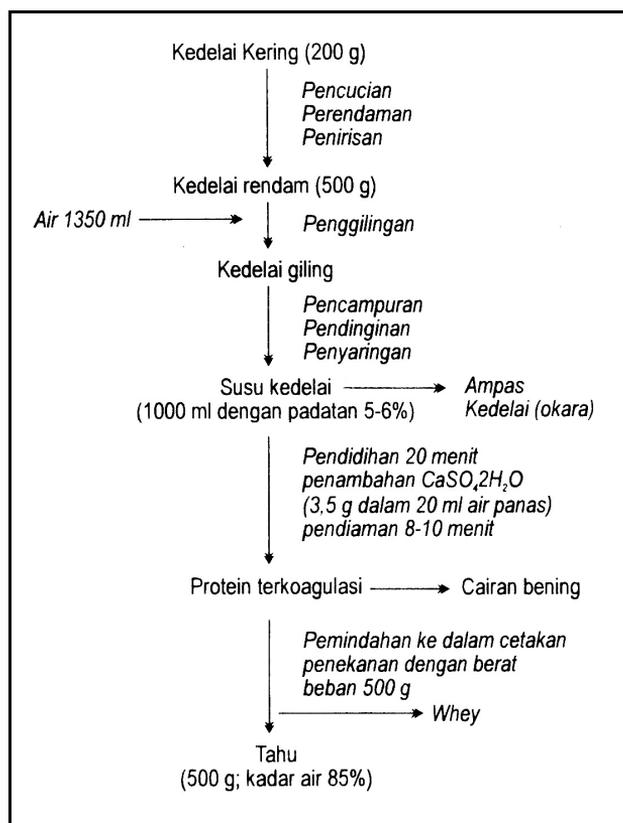
Tahu adalah produk yang diolah dari ekstrak kedelai yang digumpalkan dan mempunyai tekstui lembut dan berwarna putih. Tahu biasanya dibuat, dijual, dan dikonsumsi pada hari yang sama, meskipun dapat disimpan dalam air dingin selama beberapa hari. Sifat tahu yang mudah rusak dan sulit untuk pengangkutan jarak jauh, menyebabkan produksi tahu hanya dalam skala kecil.

Tahu merupakan produk dengan harga murah dan bergizi. Kandungan gizi tahu berdasarkan berat basahnya sebagai berikut: kadar

air 85%, protein 7,8%, lemak 4,2% dan kalsium 2 mg/g tahu. Sedangkan berdasarkan berat keringnya, tahu mengandung protein 50% dan lemak 27%, serta komponen lain yaitu karbohidrat dan mineral (Liu, 1999). Tahu dapat digunakan sebagai pengganti lauk pauk dari daging. Dibandingkan dengan daging, kalori yang dihasilkan tahu lebih rendah karena rasio protein/lemak tahu yang lebih tinggi, tahu bebas kolestrol serta kandungan lemak jenuh yang lebih rendah.

### a. Pembuatan tahu

Tahu berkaitan erat dengan susu kedelai, karena pembuatan susu kedelai merupakan tahapan awal pada pembuatan tahu. Cara pembuatan tahu pada skala laboratorium, seperti ditunjukkan pada Skema 3.5.



Sumber: Snyder dan Kwon (1987)

**Gambar 3.5** Skema Pengolahan Tahu Skala Laboratorium

1. Perendaman  
Kedelai kering dibersihkan, kemudian ditimbang beratnya dan direndam dalam air semalam. Volume air yang digunakan untuk merendam 2-3 kali berat kedelai.
2. Penirisan.  
Kedelai rendam dicuci dan ditiriskan dengan air bersih sebanyak 2-3 kali.
3. Penggilingan.  
Kedelai hasil rendaman digiling dengan ditambahkan air dengan rasio air: kedelai sekitar 6: 1 Bubur kedelai yang dihasilkan ditempatkan pada wadah besar untuk dihilangkan buihnya yang ada di permukaan.
4. Penyaringan.  
Bubur kedelai disaring dengan kain. Ampas kedelai (okara) biasanya diekstrak cairannya lagi dengan ditambah air panas, diaduk, dan disaring.
5. Pendidihan.  
Susu kedelai dipanaskan sampai mendidih. Untuk menghindari kegosongan pada dasar bejana pemasak, pendidihan dilakukan dengan api kecil dan diaduk terus menerus. Setelah dididihkan selama 10-20 menit, kemudian didinginkan.
6. Koagulasi.  
Larutan koagulasi/penggumpal disiapkan pada saat susu kedelai didinginkan. Pembuatan larutan penggumpal dengan ditambah air panas dan diaduk. Dua jenis penggumpal yang biasanya digunakan adalah kristal Ca-sulfat dan nigari yang kandungan utamanya adalah  $MgCl_2$ . Garam Ca mula-mula dilarutkan dalam air panas dan larutan tersebut dicampur rata dengan 1 liter susu kedelai panas (70-80°C).
7. Pengepresan.  
Setelah gumpalan mengendap, cairan supernatan dibuang dan endapan dipindah ke dalam cetakan kayu berlubang-lubang kecil pada dasar dan dinding cetakan yang telah diberi alas kain tipis. Bagian pinggir kain kemudian dilipat di bagian atas endapan dan endapan

yang terbungkus kain tersebut ditekan dengan beban seberat 500 g, selama 30 menit atau sampai terbentuk tahu. Tahu yang dihasilkan mempunyai rasa yang hambar, tekstur lembut, dan warna yang putih. Sebagian besar variasi dalam pembuatan tahu terclapat pada tiga tahapan, yaitu: cara ekstraksi kedelai, cara koagulasi protein Berta cara pengepresan dan pengemasan.

- a. Variasi cara ekstraksi kedelai atau pembuaan susu kedelai, meliputi:
  - varietas kedelai
  - kondisi penggilingan kedelai (pada suhu tinggi atau rendah)
  - saat pemanasan bubur kedelai (sebelum atau setelah penyaringan)
  - perbandingan kedelai: air
  - suhu pemanasan susu kedelai
- b. Variasi cara koagulasi protein, meliputi
  - suhu pada saat koagulan ditambahkan
  - tipe dan konsentrasi koagulan
  - cara pemberian koagulan
  - lama koagulasi
- c. Variasi cara pengepresan dan pengemasan, meliputi:
  - tekanan untuk pengepresan
  - lama pengepresan
  - cara pengemasan
  - kondisi tahu pada saat dikemas

## b. Tipe koagulan

1. Koagulan jenis Nigari atau Khlorida  
Koagulan jenis Nigari atau Khlorida meliputi nigari alami, nigari yang dimurnikan dan  $\text{CaCl}_2$ . Nigari alami diekstrak dari air laut dengan memisahkan  $\text{NaCl}$  dan airnya, oleh karenanya nigari mengandung  $\text{MgCl}_2$  dan garam lain serta mineral yang terdapat dalam air laut Sedangkan nigari yang dimurnikan adalah Kristal  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ .

Koagulan jenis khlorida yang tidak termasuk nigari adalah  $\text{CaCl}_2$ , karena tidak ditemukan dalam air laut.

Koagulan ini menghasilkan tahu dengan rasa dan aroma yang lezat, akan tetapi jumlah tahu yang dihasilkan lebih rendah karena lebih sedikit mengikat air dan teksturnya kurang baik dan kurang lembut. Koagulan ini dapat berupa bubuk, butiran (granular) atau serpihan (flake), bersifat sangat higroskopis dan mudah larut dalam air yang diserapnya. Bila digunakan pada susu kedelai,  $\text{CaCl}_2$  menghasilkan tahu yang kompak dan agak keras karena tiak mengikat terlalu banyak air, serta mempunyai sifat yang mudah larut dalam air.

2. Koagulan jenis sulfat

Koagulan yang banyak digunakan adalah  $\text{CaSO}_4$  dan  $\text{MgSO}_4$ . Kecepatan penggumpalannya lambat karena terdispersi secara lambat dalam air untuk memberikan larutan koloid.  $\text{CaSO}_4$  dan  $\text{MgSO}_4$  menghasilkan tahu 15-20% lebih banyak jika dibandingkan dengan jenis nigari, karena koagulan ini mengikat lebih banyak air dalam tahu. Tahu yang dihasilkan sangat lunak dan lembut teksturnya.  $\text{CaSO}_4$  dapat menghasilkan tahu yang kompak, tetapi lunak dibandingkan  $\text{CaCl}_2$ .  $\text{CaSO}_4$  sedikit larut dalam air sehingga saat dicampur dengan air membentuk suspensi yang tidak stabil. Sebagai tambahan potensi koagulan dari  $\text{CaSO}_4$  menurun secara gradual selama penyimpanan, terutama dengan keberadaan air. Oleh karenanya, setelah pembuatan larutan  $\text{CaSO}_4$  harus segera dicampurkan ke dalam susu kedelai, karena jika  $\text{CaSO}_4$  lama berada di dalam air, potensi koagulannya akan menurun.

3. Koagulan jenis glukono-delta-lakton (GDL)

GDL berbentuk kristal putih, halus dan tak berbau, yang merupakan produk oksidasi dari glukosa, yang dibuat dari pati jagung dan dilanjutkan dengan proses fermentasi. Jika GDL dilarutkan dalam air, maka akan terhidrolisis menjadi asam glutamat. Larutan GDL 1% mempunyai pH 3,6 dan setelah 2 jam pHnya menjadi 2,5.

Kelebihan pemakaian lakton sebagai koagulan dibandingkan dengan lainnya adalah dapat dicampur dengan susu kedelai dingin, sejumlah kecil lakton dicampur dengan susu kedelai dingin, kemudian dikemas dalam wadah dan ditutup segera. Wadah tersebut selanjutnya direndam dalam air panas sehingga mulai terjadi koagulan. Koagulasi terjadi dengan lambat karena adanya hidrolisis lakton menjadi asam glutamat dengan adanya panas. Panas tersebut juga dapat berfungsi untuk pasteurisasi tahu, sehingga dapat memperpanjang umur simpannya sampai dengan 1 minggu.

#### 4. Koagulan jenis asam

Yang termasuk koagulan jenis ini adalah asam sitrat dan asam asetat, asam laktat, dan vinegar. Asam laktat menghasilkan tahu dengan cita rasa yang lebih baik dan struktur yang lebih lembut jika dibandingkan dengan tahu menggunakan GDL. Penggunaan asam sitrat bisa digantikan dengan sari buah limun, tetapi tekstur dan hasil tahu lebih tidak menarik jika dibandingkan dengan tahu yang menggunakan koagulan lainnya.

#### c. Jenis tahu

Ada beberapa jenis tahu yang ada di pasaran yang perbedaannya biasanya didasarkan pada kadar air dan teksturnya. Secara umum tahu diklasifikasikan menjadi tahu lembut/lunak, keras, dan sangat keras. Tahu yang lunak mengandung air 88-90% dan protein 6%, tetapi masih bisa mempertahankan bentuknya setelah diiris. Tahu jenis ini disebut tahu sutera atau di Jepang dikenal dengan *kinugoshi tofu*, yang pembuatannya tanpa memisahkan *whey*-nya sehingga kandungan gizinya lebih tinggi. Tahu sutera ini dibuat dengan bahan penggumpal Ca-sulfat dihidrat atau GDL.

Tahu keras dan sangat keras biasanya melalui tahap pengepresan. Semakin berat beban penekanan semakin besar tekanan yang diberikan akan menghasilkan tahu yang semakin keras. Tekstur yang semakin keras ini disebabkan kandungan air yang lebih sedikit. Kelebihan tahu ini adalah lebih mudah dalam pengolahannya karena bentuk tahu tidak mengalami

perubahan selama pemasakan, sehingga sangat baik untuk diubah menjadi tahu goreng atau dicampurkan ke dalam sup.

Di Jepang yang dikenal sebagai negara asal tahu, terdapat beberapa jenis tahu kapas (*momen*) dan tahu sutera (*kinugoshi*); tahu yang dikeringbekukan (*kori*) dan tahu goreng (*namage*). Di Jepang yang paling banyak adalah tahu jenis tahu yang dipasteurisasi dan didinginkan, tahu *kori* dan tahu *namage*. Tahu kapas dibuat secara tradisional dari susu kedelai. Susu kedelai dibuat dari kedelai rendam, yang disaring untuk memisahkan bahan yang tidak larut (*okara*). Setelah pengaturan prosentase padatan susu kedelainya, beberapa penggumpal dapat dipilih untuk membuat tahu kupas, di antaranya: Ca-sulfat dihidrat, Mg-klorida, Nigari atau glukono-delta-lakton (GDL).

Tahu sutera dibuat dengan bahan penggumpal GDL atau larutan Ca-sulfat dihidrat yang larut sempurna. *Whey* tidak dipisahkan, sehingga kandungan gizinya lebih tinggi dan teksturnya lebih lembut. Konsistensi tahu tergantung pada tipe dan jumlah bahan penggumpal/koagulan dan tekanan yang diberikan. Tekstur tahu yang lembut diperoleh dari jumlah koagulan yang kecil dan tanpa diberi tekanan.

Faktor-faktor yang berpengaruh pada pembuatan tahu, antara lain:

1. Komposisi dan kualitas kacang
2. Suhu penggilingan
3. Konsentrasi susu nabati
4. Proses pemanasan susu nabati dan mekanisme penggumpalan tahu
5. Jenis koagulan
6. Konsentrasi koagulan
7. Suhu koagulasi
8. Cara penambahan koagulan
9. Waktu koagulasi
10. Kondisi pengepresan
11. Faktor-faktor lain

### 3.3 Proses Pembuatan Kembang Tahu

Kembang tahu (*soymilkfilm*) merupakan salah satu produk olahan dari susu kedelai, dengan kandungan gizi terutama protein dan lemak dalam jumlah yang relatif tinggi. Kembang tahu dikenal dengan berbagai nama tergantung dari daerahnya, yaitu *yuba* (Jepang), *dou fit pi* atau *fu zhit* (Cina), *kong kook* (Korea) dan *fu chok* (Malaysia). Kembang tahu ini merupakan makanan khas Oriental yang mempunyai tekstur yang kenyal dan jika dibanding dengan produk kacang non fermentatif lainnya, kembang tahu mempunyai umur simpan yang paling lama, karena kadar airnya yang rendah dengan nilai ekonomi yang lebih tinggi. Pengonsumsiannya dicampurkan dalam sayuran berkuah untuk menggantikan daging, terutama bagi konsumen yang vegetarian.

Kembang tahu yang ada di pasaran dalam 3 bentuk, yaitu bentuk segar, semi kering, dan kering. Kembang tahu segar harus disajikan sesegera mungkin setelah dibuat karena mudah sekali rusak. Kembang tahu segar dianggap sebagai jenis kembang tahu yang paling lezat dibandingkan dengan yang lain. Kembang tahu semi kering mempunyai umur simpan yang lebih lama daripada kembang tahu segar, tetapi tidak selama kembang tahu kering. Dari ketiga bentuk ini yang paling banyak terdapat di pasaran adalah kembang tahu kering dengan tekstur cukup keras dan umur simpan yang paling lama. Penggunaan kembang tahu bentuk ini harus dengan hidrasi air terlebih dahulu sehingga menyerupai produk yang bertekstur kenyal.

Kembang tahu merupakan makanan yang sangat bergizi, dengan kandungan protein yang tinggi. Laporan terakhir menunjukkan bahwa di antara makanan dari kedelai, kembang tahu ini yang mempunyai pencernaan protein tertinggi, yang mencapai 100% (Ikeda, 1995 dalam Liu, 1999). Komposisi kembang tahu menurut Liu (1999) adalah kadar protein 52,3%, lemak 24,1%, karbohidrat 11,9%, abu 3%, dan kadar air 8,7%. Komposisi ini sangat bergantung pada komposisi susu kedelai dan pada tahapan pembentukan kembang tahu pada permukaan susu kedelai. Secara umum, kandungan lemak dan protein dari kembang tahu yang

terbentuk berturut-turut akan turun, sebaliknya kandungan karbohidrat dan abu akan meningkat secara gradual.

Pembuatan kembang tahu dimulai dengan pembuatan susu kedelai. Susu kedelai tersebut kemudian dipanaskan dalam wadah terbuka dan datar dengan suhu 80 - 90°C atau mendekati suhu didih selama 20 - 30 menit. Pada saat pendinginan, lapisan akan terbentuk secara gradual pada permukaan susu kedelai karena dehidrasi pada permukaan. Setelah lapisan tersebut menguat, dapat diangkat dengan menggunakan semacam sumpit atau dengan memasang batang di bawah lapisan tersebut untuk mengangkatnya. Lapisan tersebut diletakkan di atas kawat semacam saringan untuk dikeringkan dan diperoleh kembang tahu. Pembentukan lapisan pada permukaan susu kedelai ini terjadi secara kontinyu dan pengambilannya dapat dilakukan secara berulang sampai tidak terbentuk lapisan lagi. Secara umum, pembentukan lapisan ini bisa mencapai 10-20 lembar (Lucas dkk., 1989).

### **Kondisi untuk Pembentukan Lapisan pada Susu Kedelai**

Lapisan pada permukaan susu kedelai yang terbentuk ini merupakan kembang tahu yang belum dikeringkan, sehingga kondisi yang berpengaruh pada pembentukan lapisan secara langsung juga berpengaruh pada struktur kembang tahu. Menurut Okamoto (1978), berdasarkan hasil penelitian, kondisi pembentukan lapisan kembang tahu dari susu kedelai dengan kandungan protein 5%, adalah sebagai berikut :

1. Suhu pemanasan. Susu kedelai harus dipanaskan, dengan suhu di atas 60°C sebelum pembentukan lapisan. Laju pembentukan lapisan ini akan meningkat dengan meningkatnya suhu pemanasan sampai mendekati suhu didih (95°C), tetapi menurut Shi and Ren (1993) dalam Liu (1999) suhu pemanasannya harus dikendalikan pada kisaran 82±2°C. Jika suhu yang digunakan terlalu tinggi dan sedikit di bawah suhu didih, kembang tahu yang dihasilkan akan berlubang dan berwarna gelap. Suhu tinggi juga menyebabkan kegosongan pada dasar bejana pemasak yang selanjutnya akan mengurangi hasil.

Sebaliknya jika suhu terlalu rendah, pembentukan lapisan akan berjalan lambat dan hasil yang diperoleh rendah.

2. Konsentrasi komponen dalam susu kedelai. Protein merupakan komponen penting dalam pembentukan lapisan, karena dalam suatu model sistem yang hanya mengandung lemak dan karbohidrat, lapisan tidak akan terbentuk. Konsentrasi optimal kadar protein susu kedelai adalah 5% dengan total padatan kurang dari 9%. Konsentrasi lebih tinggi akan menyebabkan pembentukan gel dan sistem menjadi lebih kental, dengan efek yang merusak pada pembentukan lapisan. Menurut Wu and Bates (1973) dalam Liu (1999) rasio protein dibanding lemak sebaiknya lebih tinggi dari 1,0 karena susu kedelai dengan rasio lebih rendah akan menghasilkan kembang tahu yang berlemak.
3. pH susu kedelai. pH susu kedelai sekitar 6,7. Menurut Okamoto (1978) dalam Liu (1999) pembentukan lapisan terjadi pada kisaran pH 6,2 - 10,2. Pada pH yang lebih rendah, yaitu yang mendekati daerah titik isoelektris protein susu kedelai, pembentukan lapisan akan terganggu karena protein akan mengendap pada kondisi tersebut. Pada pH 10,5 dan yang lebih tinggi, lapisan juga tidak terbentuk karena gagal tolak-menolak antar molekul protein yang bermuatan negatif. Lapisan akan terbentuk secara maksimal pada pH 9,0, tetapi di atas pH 8,0 akan berwarna gelap. Oleh karenanya yang paling baik adalah pf 17,0 - 8,0.

### **3.4 Proses Pembuatan Tempe**

Tempe merupakan makanan hasil fermentasi kacang-kacangan yang sangat populer di Indonesia. Tempe dikonsumsi oleh semua kalangan ekonomi dan merupakan sumber protein utama, kalori serta vitamin bagi kalangan bawah. Banyak industri rumah tangga yang membuat tempe dalam skala kecil. Pembuatan tempe yang detil untuk masing-masing industri rumah tangga bisa berbeda satu dengan yang lainnya. Dari berbagai variasi cara pembuatan, dapat dirangkum seperti disajikan pada gambar 3.6.

Prosedur Dasar	Kemungkinan
Kacang-kacangan	
↓	
Dicuci dari kotoran (tanah, ranting, kerikil, dll.)	Seringkali dilakukan pengupasan pada tahap ini. Pengupasan cara basah (ada hidrasi kacang) dapat dilakukan dengan tangan atau kaki dan cara kering dengan mesin, kemudian dibersihkan.
↓	
Direndam dalam air semalam sampai berbusa dan berbau masam yang spesifik	Perbandingan air dan biji, lama dan suhu perendaman bisa bervariasi berkisar 25-30°C.
↓	
Dikupas dan dicuci bersih	Jika pengupasan sudah dilakukan, tinggal pembersihan. Banyak perajin menyampurkannya kulit kembali untuk memperbesar volume.
↓	
Direbus/dikukus sampai agak lunak	½ jam sampai 1 jam mendidih.
↓	
Didinginkan dan ditiriskan	
↓	
Diinokulasi dengan jamur tempe	Banyak variasi sumber dan jumlah inokulumnya.
↓	
Dikemas	Pengemasan bervariasi
↓	
Diperam	Variasi dalam waktu fermentasi (24-48 jam)
↓	
Tempe	

**Gambar 3.6** Skema Cara Pembuatan Tempe (Sumber : Kasmidjo, 1987)

Tempe yang banyak beredar di pasaran adalah tempe kedelai. Oleh karena itu, penjelasan berikut akan banyak mengulas tentang tempe kedelai, sehingga yang dimaksud dengan tempe di sini adalah tempe kedelai.

Pada dasarnya tempe dibuat melalui tiga tahapan utama, yaitu:

- Hidrasi dan pengasaman biji kedelai, yang dilakukan dengan merendam biji selama semalam.
- Sterilisasi sebagian (bukan sterilisasi mutlak) yang dilakukan dengan mengukus atau merebus.
- Fermentasi kedelai oleh jamur tempe yang diinokulasikan pada kedelai (tahap utama).

Selama proses perendaman, kedelai akan mengalami hidrasi, sehingga kadar air biji mencapai 62%-65%. Proses perendaman juga

memberi kesempatan untuk tumbuhnya bakteri-bakteri asam laktat, sehingga terjadi penurunan pH dalam biji menjadi 4,5 - 5,3. Penurunan pH kedelai ini ditujukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri kontaminan yang menyebabkan pembusukan, tetapi tidak menghambat pertumbuhan jamur pada fermentasi utama. Jika perendaman tidak menyebabkan pengasaman biji kedelai, kondisi asam bisa dibuat dengan menambahkan larutan asam sneer atau menginokulasikan dengan *Lactobacillus plantarum* pada air rendaman.

Pemanasan akan lebih efektif jika dilakukan dengan perebusan, jika dibandingkan dengan pangkusan. Pada pangkusan, sulit terjadi hidrasi karena air tidak mudah mengalami difusi ke dalam biji kedelai. Perebusan biji kedelai ini bertujuan untuk membunuh bakteri-bakteri kontaminan, menginaktifkan senyawa tripsin inhibitor sorts membantu membebaskan senyawa-senyawa dalam biji yang diperlukan untuk pertumbuhan jamur.

Inokulum tempe disebut juga ragi tempe atau starter tempe. Kualitas tempe sangat dipengaruhi oleh kualitas inokulum yang dipergunakan. Beberapa persyaratan inokulum tempe untuk menghasilkan kualitas jamur tempe yang baik adalah :

- a. Mampu memproduksi spora dalam jumlah banyak
- b. Mampu bertahan dalam beberapa bulan tanpa mengalami perubahan genetik maupun kemampuan tumbuhnya.
- c. Memiliki prosentase perkecambahan spora yang tinggi setelah inokulasi.
- d. Mengandung biakan jamur tempe yang murni dan tidak digunakan dalam bentuk kultur campuran harus mempunyai proporsi yang tepat.
- e. Bebas dari mikrobia kontaminan (dibantu dengan menciptakan kondisi spesifik untuk strain yang dikehendaki, misalnya pengaturan pH dll.)
- f. Mampu menghasilkan produk yang stabil berulang-ulang
- g. Pertumbuhan miselia setelah inokulasi harus kuat,
- h. Lebat, berwarna putih bersih dan tidak mengalami sporulasi terlalu awal.

Jenis inokulum tempe yang dapat dipergunakan :

- a. Tempe dari pembuatan sebelumnya, yang telah mengalami sporulasi.
- b. Tempe segar yang dikeringkan dengan penjemuran (sinar matahari) atau dengan pengering beku (mengalami liofilisasi)
- c. Ragi tempe, yang berupa pulungan tepung bergs yang mengandung miselia dan spora jamur tempe
- d. Biakan mumi *Rhizopus oligosporus*
- e. Bekas pembungkus tempe dari pembuatan sebelumnya, yang pada permukaannya terdapat miselia jamur.
- f. Usar

### **Perubahan-perubahan yang terjadi selama fermentasi**

Pengolahan kedelai menjadi tempe akan memengaruhi komponen-komponennya. Menurut Boorsma (1900) dalam Kasmidjo (1989) kadar N total, selulosa, dan abu meningkat, sedangkan kadar N asal proteinnya, lemak, dan karbohidrat menurun.

Pengurangan disakarida terjadi pada senyawa stakhiosa, rafinosa, dan sukrosa. Penurunan tersebut lebih diakibatkan oleh perendaman dan perebusan kedelai jika dibandingkan dengan fermentasi. Menurut Kasmidjo (1989) perendaman dan perebusan menyebabkan penurunan stakhiosa, rafinosa, dan sukrosa masing-masing menjadi 51%, 48% dan 41% dari bahan awalnya, selanjutnya stakhiosa akan berkurang menjadi 7% saja setelah 72 jam fermentasi dan sukrosa akan berkurang menjadi sepertiganya.

Fermentasi tempe juga mengakibatkan penurunan lemak. Hasil penelitian Sudarmadji dan Makakis (1978) dalam Kasmidjo (1989) menunjukkan bahwa setelah fermentasi 48 jam menggunakan inokulum *Rhizoplis oligosportis*, 20% lemak akan terhidrolisis oleh enzim lipase. Sedangkan komponen utama lemak kedelai, yaitu asam linoleat akan habis termetabolisasikan pada fermentasi hari ketiga (Wagenknecht dkk., 1961 dalam Kasmidjo (1989).

Fermentasi akan menyebabkan nilai gizi protein tempe menjadi lebih baik daripada kedelai. Dukungan atas tingginya nilai gizi tempe juga

dikemukakan oleh Stillings dan Hackler (1965) dalam Kasmidjo (1989) bahwa fermentasi tempe meningkatkan PER (*protein efficiency ratio*) kedelai, tetapi khusus untuk fermentasi yang tidak lebih dari 24 jam. Demikian pula untuk asam amino bebasnya yang meningkat dengan dilakukannya fermentasi.

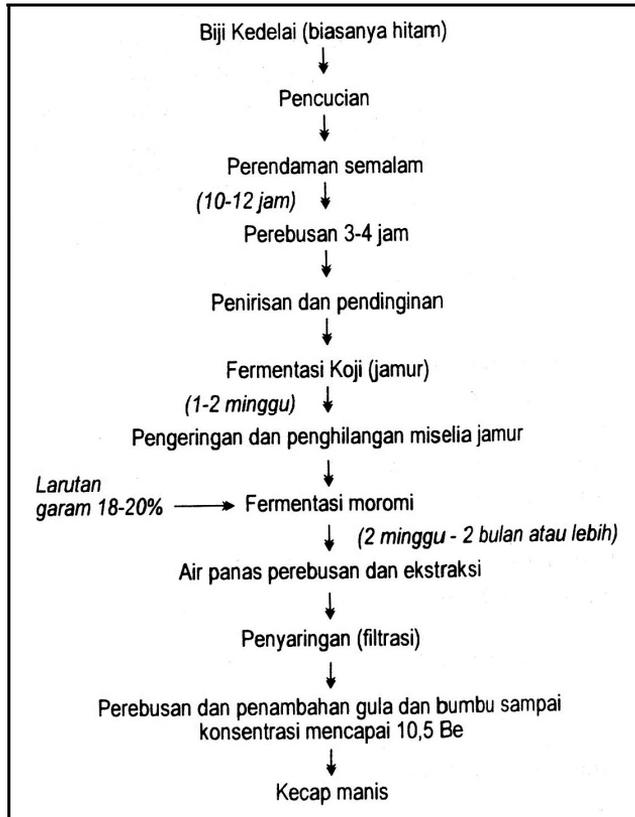
Menurut Maruta dkk. (1967) dalam Kasmidjo (1989) peningkatan optimum asam amino bebasnya terjadi setelah fermentasi 48 jam, tetapi beberapa di antaranya mulai menurun lagi setelah fermentasi 72 jam, misalnya asam glutamat.

### 3.5 Proses Pembuatan Kecap

Kecap dan shoyu/soy sauce merupakan jenis makanan fermentasi yang paling banyak dikonsumsi di seluruh dunia, merupakan produk cair berwarna coklat gelap, mempunyai rasa asin atau manis dan digolongkan dalam makanan yang mempunyai flavor dipergunakan kedelai kuning atau hitam dalam bentuk utuh, hancur atau sudah dihilangkan lemaknya.

Shoyu dari Jepang dibedakan atas tiga jenis atau tipe yaitu tipe koikuchi (warna coklat gelap dan flavor kuat), tipe usukuchi (warna lebih terang, dengan kandungan nitrogen total maksimum sebesar 12% dan tipe tamari menyerupai soy sauce dari China dengan bahan dasar utamanya kedelai dan sedikit dicampur dengan gandum. Jenis yang banyak dikonsumsi di Jepang adalah koikuchi sebesar 90% sedang usukuchi hanya sekitar 10% (Kuswanto dan Sudarmadji, 1998). Shoyu mempunyai viskositas yang lebih rendah dibandingkan dengan kecap, karena pada kecap (terutama kecap manis) ditambahkan, gula kelapa dalam jumlah yang besar, sehingga dapat menaikkan viskositas. Bahan dasar shoyu dipergunakan campuran biji kedelai dan gandum. Kedelai bebas lemak lebih banyak dipergunakan sebagai bahan dasar, karena komponen proteinnya relatif lebih tinggi. Penggunaan biji kedelai tanpa dihilangkan lemaknya hasilnya lebih stabil, tetapi fermentasi dalam larutan garam memerlukan waktu yang lebih lama karena asam-asam lemaknya dapat menghambat pertumbuhan *yeast*. Cara pembuatan kecap dan shoyu sedikit

berbeda terutama bahan dasarnya. Selanjutnya proses pembuatan kecap dapat dilihat pada Gambar 3.7



Sumber : Kuswanto dan Sudarmadji (1998).

**Gambar 3.7** Skema Diagram Alir pembuatan kecap secara tradisional

Pembuatan kecap di Indonesia sebagian besar masih dalam skala industri rumah tangga. Pada skala industri yang lebih besar biasanya menggunakan bahan dasar kedelai bebas lemak dengan dicampur dengan tepung gandum dan proses pembuatannya menyerupai shoyu. Inokulum yang dipergunakan merupakan stain murni *A. oryzae* atau *A. Sojae*, sedang pada industri rumah tangga inokulum yang dipergunakan adalah sisa-sisa fermentasi jamur yaitu yang menempel pada tempat-tempat fermentasi atau inokulasi atau secara alam. Beberapa industri kecap menggunakan inokulum ragi tempe.

Flavor spesifik kecap masih ditentukan oleh jenis bumbu yang diperlukan dan penambahan gula kelapa atau gula aren, sedang flavor shoyu dibentuk selama proses fermentasi dalam larutan. Penambahan gula kelapa/gula aren menyebabkan coklat karamel dan viskositasnya naik. Sifat spesifik kecap tradisional antara lain mempunyai tingkat kekentalan tertentu (lebih kental dibandingkan dengan. shoyu).

Urutan proses pembuatan shoyu sebagai berikut:

- a. Perendaman biji kedelai: dilakukan selama 10-15 jam pada suhu kamar, sampai berat biji 2,1 - 2,5 kali dari berat semula.
- b. Perebusan biji kedelai: dilakukan dengan alat autoclave dengan tekanan uap 1 kg/cm<sup>2</sup> selama 1 jam, sehingga proses hidrasi biji sempurna.
- c. Penggorengan gandum: gandum merupakan bahan utama untuk menghasilkan flavor shoyu yang khas. Biasanya dipergunakan tepung gandum kadar protein rendah. Penggorengan dilakukan pada suhu 170,5-180,5°C selama beberapa menit dengan menggunakan alat *rotary cylinder* dengan diameter 0,7m dan panjang 2m. Dapat juga dipergunakan tepung gandum yang tidak dilakukan penggorengan, hanya dengan pengukusan.
- d. Penyiapan koji: Jamur *Aspergillus oryzae* merupakan inokulan, ditumbuhkan pada campuran kedelai dan gandum. Dengan perbandingan 50 : 50 b/b atau 52 : 48 (v/v). Inokulan yang ditambahkan sebesar 1-2% b/b. Pembuatan koji biasanya dilakukan dengan menghamparkan bahan yang telah diinokulasi ke dalam nampan dari bambu yang berlubang-lubang atau *stainless steel* yang berlubang dengan tinggi hamparan 30-40 cm, pada suhu 25-35,5°C selama 45 jam. Pengaturan kondisi fermentasi meliputi suhu aerasi dan kadar air harus tepat, untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme kontaminan seperti *Mucor sp.* dan bakteri yang bersifat proteolitik.
- e. Fermentasi: koji kemudian dimasukkan ke dalam larutan 23% b/v sebesar 1,2 - 1,5 kali volume kojinya. Untuk membuat moromi, fermentasi dilakukan di dalam tangki yang terbuat dari kayu atau *stainless steel* dan diinokulasi dengan *Pediococcus soyae* dan *Saccharoyces*

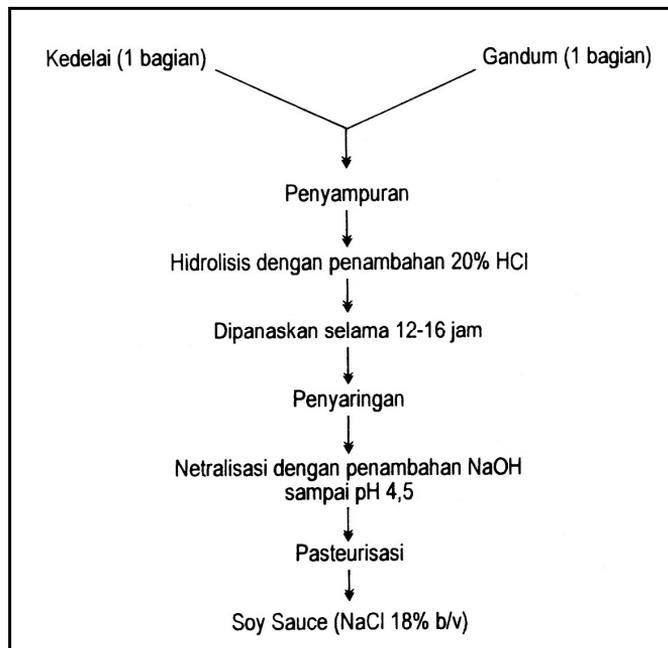
- rouxii*. Penambahan inokulum dilakukan dua kali yaitu pada permulaan fermentasi pada sate bulan setelah proses fermentasi. Proses fermentasi selama 1-3 tahun tanpa pengaturan suhu (suhu tergantung pada lingkungan). Makin lama waktu fermentasi flavor yang dihasilkan akan makin baik.
- f. Filtrasi: hasil fermentasi moromi dipisahkan cairannya dengan alat pengepres *hydraulic filter press* pada tekanan 100 kg/cm<sup>2</sup> (1379 psi) selama 2-3 hari.
  - g. Pasteurisasi: filtrat hasil pengepresan merupakan soy sauce, dipasteurisasi pada 70-80,5°C di dalam ketel *heat exchanger*, didinginkan, difiltrasi lagi dan disimpan. Pasteurisasi juga berfungsi membantu memisahkan komponen-komponen protein yang tidak larut. Sebagai bahan pengawet sering ditambahkan asam benzoat, propil atau butir phidroksi benzoat.

Pembuatan shoyu dapat dilakukan dengan cara hidrolisis kimiawi, yaitu dengan penambahan asam khlorida, tanpa fermentasi jamur. Proses ini dapat berjalan lebih cepat, mudah, dan murah tetapi flavor yang dihasilkan kurang baik. Cara pembuatannya dapat dilihat pada Gambar 3.8.

Di Jepang proses pembuatan secara semi kimiawi sering dilakukan, setelah proses hidrolisis asam dengan menggunakan 7-8% asam khlorida kemudian dilakukan fermentasi dalam larutan garam oleh bakteri asam laktat dan *yeast*.

### **Pengendalian proses fermentasi shoyu/soy sauce**

Kedelai dengan kandungan protein tinggi merupakan bahan dasar yang baik untuk pembuatan shoyu. Penggunaan bahan dasar kedelai bebas lemak selain harganya lebih murah, juga dapat memperpendek waktu fermentasi moromi selama 5 bulan. Gandum sebagai bahan dasar tambahan berfungsi untuk mengurangi kandungan air bahan yaitu dari 60% menjadi 45%, sehingga menghambat pertumbuhan bakteri kontaminan.



Sumber: Kuswanto dan Sudarmadji (1998)

**Gambar 3.8** Skema Pembuatan soy sauce/shoyu secara kimiawi

Perebusan atau pengukusan memerlukan suhu, waktu atau tekanan tertentu sehingga biji kedelai lebih lunak untuk mempermudah penetrasi miselia jamur ke dalam biji. Suhu optimum untuk pertumbuhan jamur pada 35,5°C, tetapi suhu optimum aktivitas enzim pada 30,5°C. Pengaturan suhu dilakukan dengan pengadukan kopi yang biasanya dua kali selama proses fermentasi sehingga suhu dan udara lebih merata.

Konsentrasi garam yang optimal antara 17 sampai 19% (b/v) berpengaruh terhadap hidrolisis protein dalam moromi dan kecepatan pembentukan asam laktat dan alkohol. Selama proses fermentasi dalam larutan garam dilakukan pengadukan 3-4 kali setiap bulan untuk menyeragamkan kandungan garam pada campuran dan untuk stimulasi pertumbuhan *yeast*. Pengaturan suhu dalam proses fermentasi moromi sangat penting. Pada konsentrasi garam 18% (b / v) suhu yang paling baik 40,5°C selama satu bulan dengan menggunakan inokulan *Lactobacillus delbruckii* NRRL445 dan *Pediococcus sojae*.

Proses pasteurisasi tidak hanya diperlukan untuk stabilitas flavor dan warna hasil akhirnya tetapi juga mempunyai peranan, antara lain:

- a. Menaikkan tingkat kejernihan shoyu, karena partikel-partikel lemak dapat tercampur dalam bentuk koagulan dengan adanya pemanasan.
- b. Menaikkan konsentrasi komponen fenolat, aldehid, asetat, merkaptan, asam-asam organik, pirazin, furfural, komponen alpha diketon dan komponen flavor lain.
- c. Tahan terhadap kerusakan *yeast* pembentuk lapisan tipis (film), dengan naiknya konsentrasi asam-asam organik dan komponen fenolat.
- d. Memperbaiki warna
- e. Menginaktifkan enzim

### **3.6 Proses Pembuatan Tepung Rendah Lemak/ Kaya Protein**

#### **3.6.1 Manfaat tepung rendah lemak**

Kacang-kacangan merupakan salah satu komoditi pertanian penting, karena potensinya sebagai sumber protein nabati dan minyak makan. Pada umumnya tepung kacang-kacangan diolah dari hasil samping pengolahan kacang-kacangan menjadi minyak makan, sehingga hanya sedikit perhatian diberikan pada kualitas hasil protein yang berupa bungkil kacang. Bungkil kacang ini tidak layak dikonsumsi manusia, karena nilai gizi khususnya protein sudah mengalami penurunan dan sanitasi yang tidak baik. Saat ini, proses pengolahan kacang-kacangan diarahkan untuk mendapatkan minyak sekaligus mempertahankan kualitas protein pada hasil sampingnya, sehingga dapat diolah lebih lanjut menjadi tepung, konsentrat, dan isolat protein. Cara pengolahan yang dikembangkan adalah ekstraksi minyak secara basah, prinsipnya adalah dengan mencampur dan mengaduk kacang-kacangan yang telah dihaluskan dengan sejumlah pelarut (air, heksan, etanol, atau kombinasi dari pelarut ini) secara berulang-ulang. Proses pemisahan minyak ini tidak menggunakan tekanan dan suhu tinggi, sehingga ticalak merusak protein.

Tepung kacang-kacangan rendah lemak khususnya dari kedelai umumnya digunakan sebagai ingredien fungsional dalam sistem pangan

(Narayana dan Narasinga, 1982). Industri roti banyak menggunakan tepung kedelai tersebut sebagai ingredien untuk memperbaiki emulsi, tekstur, penyerapan air, dan warna (Snyder dan Kwon, 1987). Penggunaan tepung kedelai rendah lemak lebih menguntungkan dibandingkan konsentrat dan isolat protein, karena harganya yang lebih murah. Namun penggunaan tepung kedelai tersebut pada formula makanan bayi tidak disarankan, karena masih adanya kandungan senyawa oligosakarida penyebab flatulensi, mengakibatkan warna produk lebih gelap dan flavor langu. (*beany flavor*) (Snyder dan Kwon, 1987).

Tepung kacang-kacangan rendah lemak yang banyak diproduksi adalah tepung kedelai, karena kacang kedelai paling banyak digunakan sebagai sumber minyak nabati di dunia (Snyder dan Kwon, 1987). Di Indonesia, sebagian besar minyak nabati sudah dipenuhi dari kelapa sawit, sehingga pengolahan tepung kedelai rendah lemak tidak banyak dikembangkan. Indonesia juga masih mengimpor kedelai untuk memenuhi kebutuhan industri pengolahan tempe, tahu, dan kecap. Oleh karena itu, tepung kacang-kacangan rendah lemak yang sebaiknya dikembangkan di Indonesia adalah dari jenis kacang-kacangan yang belum banyak dimanfaatkan dan kualitas proteinnya sama dengan kedelai, yang salah satunya adalah biji kecipir.

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk membuat tepung kecipir rendah lemak dan meneliti sifat-sifat fungsionalnya. Salah satunya dilakukan oleh Narayana dan Narasinga (1982). Pada penelitian tersebut tepung kecipir dibuat melalui tahap-tahap sebagai berikut: biji kecipir kering dilakukan pengupasan kulit dengan mesin pengupas, pengecilan ukuran dengan *flaking rolls*, *defatted* atau penurunan kadar lemak dengan ekstraksi menggunakan n-heksan, penghancuran dengan mesin penghancur, pengayakan dengan saringan 60 mesh, pengukusan dengan autoklaf selama 10 menit dan tekanan uap 1 kg/cm<sup>2</sup> untuk menurunkan aktivitas tripsin inhibitor, kemudian dilakukan pengeringan dengan *freeze dryer* sebagai tahap akhir.

Proses ini memiliki kelemahan bila tepung kecipir yang dihasilkan akan digunakan sebagai ingredien pengemulsi dan pembuih dalam

formulasi pangan, karena tahap pengukusan yang dilakukan dapat menurunkan persen nitrogen terlarut, kapasitas pengemulsian dan pembuihan (Narayana dan Narasinga, 1982). Selain itu, ukuran partikel tepung kurang halus. Snyder dan Kwon (1987) menyarankan apabila tepung kedelai akan digunakan sebagai konsumsi manusia maka ukuran partikelnya 97% lolos ayakan 100 mesh, sedangkan bila untuk pakan temak lebih kecil lagi atau sama dengan 80 mesh. Tepung kecipir rendah lemak dengan ukuran partikel lolos ayakan 100 mesh dan dibuat tanpa proses pengukusan telah dilakukan oleh Okezie dan Bello (1988).

Sifat-sifat fungsional tepung kecipir rendah lemak yang dibandingkan dengan tepung kedelai rendah lemak dan isolat protein kedelai ditunjukkan pada Tabel 3.3. Pada tabel tersebut terlihat bahwa kapasitas penyerapan air tepung kecipir berbeda dengan tepung kedelai rendah lemak. Perbedaan kapasitas penyerapan air tersebut disebabkan kadar protein kadar antara keduanya tidak sama, dan kemungkinan terjadi perubahan sifat-sifat protein dalam menyerap air (Narayana dan Narasinga, 1982). Hal ini didukung oleh kadar asam amino polar pada biji kecipir (51,1 g/100 g protein) tidak jauh berbeda dengan biji kedelai (50,8 g/100 g protein) (*National Academy of Sciences Report*, 1975 dalam Narayana dan Narasinga, 1982).

**Tabel 3.3.** Sifat-sifat fungsional tepung kecipir dan kedelai rendah lemak serta isolat protein

Sifat Fungsional	Tepung kecipir rendah lemak	Tepung kedelai rendah lemak	Isolat protein kedelai	Referensi
Kapasitas penyerapan minyak	1,4 2,39	1,2 -	- 4,88	1* 2**
Kapasitas penyerapan air	2,1 2,75 110	3,1 - 95	- 4,10 -	1' 2* 1*
Kapasitas pengemulsian	14,70 150	- 175	8,00 -	2** 1
Kapasitas pembuihan	28,00	-	96	2

Sumber. 1. Narayana dan Narasinga (1982); 2. Okezie dan Bello (1988)

Keterangan : \*g minyak/g protein; \*\*g minyak/g sampel  
'g air/g protein; \*gair/g sampel

### **3.6.2 Metode pengurangan lemak**

#### **a) Kempa Hidrolik**

Ekstraksi minyak dengan kempa hidrolik melalui tahap persiapan (sebelum pengempaan) meliputi:

1. Penghancuran kacang

Tujuan : Memperkecil ukuran: 0,008-0,012 inci, Membantu penganasan dan pengeringan, sehingga hasil bisa seragam.

2. Pemanasan

Tujuan : Membantu penghancuran set-sel yang mengandung minyak, menaikkan kemampuan alir dari minyak (karena viskositas yang turun), mengakibatkan penggumpalan protein Mematikan jamur dan bakteri, inaktivasi enzim dan mengendapkan bahan-bahan fosfatidat.

Cara : pemanasan dilakukan dalam suatu bejana (tunggal atau bertingkat) dilengkapi dengan alat pengaduk yang dimaksudkan agar pemanasan merata

Sumber panas : uap panas di sekeliling bejana

Panas tambahan: diberikan dengan jalan menyemprotkan uap panas pada massa kacang tanah yang dipanaskan.

Tiga variabel penting dalam pemanasan adalah suhu, waktu, dan kadar air kacang mula-mula. Ketiga variabel ini berpengaruh pada bungkil yang dihasilkan. Bungkil dikatakan berkualitas baik jika pemanasan dilakukan pada suhu yang rendah, waktu yang relatif cepat, dan kadar air yang dicapai rendah.

3. Pengeringan

Tujuan : mencapai kadar air optimum untuk pengempaan yaitu 4-9%. Biasanya untuk tahapan pemanasan dan pengeringan merupakan satu kesatuan operasi, yaitu bagian akhir dari proses pemanasan adalah proses pengeringan. Pemanasan/pemasakan dilakukan pada suhu 65,56-104,44°C dan pada pengeringan suhu dinaikkan 5,56-11,11°C.

Cara pengempaan hidrolis:

- Bahan dimasukkan ke dalam cetakan yang dilapisi kain dan bahan diratakan. Kain dilipat agar bahan tertutup semua oleh kain.
- Bahan dalam kain. tersebut ditekan untuk memberi bentuk yang sesuai dengan cetakan.
- Dipindahkan ke alat pengempaan yang disesuaikan dengan kapasitas alat, biasanya 12 s/d 16 cetakan dikempa dengan tekanan 2000 psi selama 20-60 menit.
- Kain dibuka dan bungkil dapat diambil dan kain dapat dipakai lagi.

Rendemen tergantung dari:

- tekanan yang diberikan
- lama penekanan
- kondisi dari preparasi/persiapan

Kandungan minyak pada bungkil 5 - 8

Syarat untuk pengoperasian yang efisien: kadar air lebih rendah daripada cara ekstraksi yang lain (kadar air bahan = 3%) dan akan dicapai kadar air bungkil 2,5 -4%.

## **b) Pelarut**

Ekstraksi dengan pelarut ini biasanya dikombinasikan dengan pengempaan karena untuk kadar minyak yang tinggi, lebih ekonomis jika didahului dengan pengempaan pendahuluan. Pelarut yang digunakan adalah pelarut organik yang mempunyai polaritas yang sama dengan polartias minyak kacang.

Cara ekstraksi dnegan pelarut ini ada yang kontinyu dan yang tidak kontinyu.

1. Cara kontinyu dengan mengalirkan pelarut secara kontinyu ke bahan yang akan diekstrak minyaknya. Pelarut yang telah melarutkan minyak akan bercampur dengan minyak dan campuran ini dipisahkan denagn pemanasan pada suhu penguapan pelarut. Uap pelarut

tersebut kemudian didistilasi dan dialirkan lagi melalui bahan kacang. Hal tersebut dilakukan berulang kali sampai minyak terekstrak semuanya.

2. Cara yang tidak kontinyu dengan cara perkolasi dan dekantasi. Bahan/kacang dan pelarut dicampur dengan pengadukan, kemudian dipisahkan dengan sentrifugasi atau pengendapan. Cairan yang berupa campuran minyak dan pelarut kemudian dipanaskan pada suhu penguapan pelarut untuk memisahkan pelarut dan minyak.

Ekstraksi dengan pelarut ini biasanya digunakan pada bahan dengan tandingan minyak yang relatif banyak dan minyak tersebut mempunyai nilai ekonomi yang tinggi. Dari ketiga cara di atas, cara yang paling efisien adalah pelarut, kemudian diikuti pengempaan ulir dan yang paling tidak efisien adalah pengempaan hidrolis.

### **3.7 Proses Pembuatan Konsentrat Dan Isolat Protein**

Konsentrat dan isolat protein merupakan produk olahan kacang-kacangan yang diperoleh dari kacang-kacangan rendah lemak. Peningkatan konsentrasi protein ini disebabkan oleh penghilangan komponen lain, yang tidak mempunyai sifat kelarutan yang sama dengan protein. Konsentrat protein berbeda dengan isolat protein. Menurut Snyder dan Kwon (1987), konsentrat protein kacang-kacangan harus mengandung protein sedikitnya 70%, sedangkan isolat protein harus mengandung lebih dari 90% protein dari bahan kering.

Pembuatan konsentrat maupun isolat protein dari kacang-kacangan didahului dengan pengurangan lemak dan minyak pada bahan atau dengan pembuatan tepung kacang rendah lemak. Pembuatan tepung biji kecipir rendah lemak didahului dengan penepungan biji kecipir dan dilanjutkan dengan ekstraksi minyak menggunakan pelarut campuran heksan dan etanol (4 : 1 v/v). Sedangkan menurut Gnanasambandam dkk. (1997) cara ekstraksi minyak dari bekatul untuk pembuatan bekatul rendah lemak, adalah dengan cara perkolasi dan dekantasi dengan perbandingan bahan dan pelarut 4 : 1 (b/v). Pengadukan dilakukan selama 30 menit, dan

pemisahan dengan sentrifugasi pada kecepatan 2500 x g selama 10 menit pada suhu kamar. Residu diekstrak sekali lagi dengan cara yang sama.

Snyder dan Kwon (1987) menyebutkan bahwa apabila tepung kedelai akan digunakan sebagai konsumsi manusia, maka ukuran partikelnya sebanyak 97% lolos ayakan 100 mesh, sedangkan bila untuk pakan, lebih kecil atau sama dengan 80 mesh. Tepung rendah lemak yang diperoleh diperlakukan lebih lanjut, sehingga diperoleh konsentrat maupun isolat protein.

Menurut Gnanasambandam dkk. (1997) dalam Kanetro dan Hastuti (2006) perbedaan utama antara proses pembuatan konsentrat dan isolat protein kacang-kacangan adalah pH ekstraksi. Pada pembuatan konsentrat protein digunakan pH ekstraksi 4,0 (pH isoelektris), sedangkan pada pembuatan isolat protein digunakan pH ekstraksi 8,0 (alkalis).

### **3.7.1 Konsentrat protein**

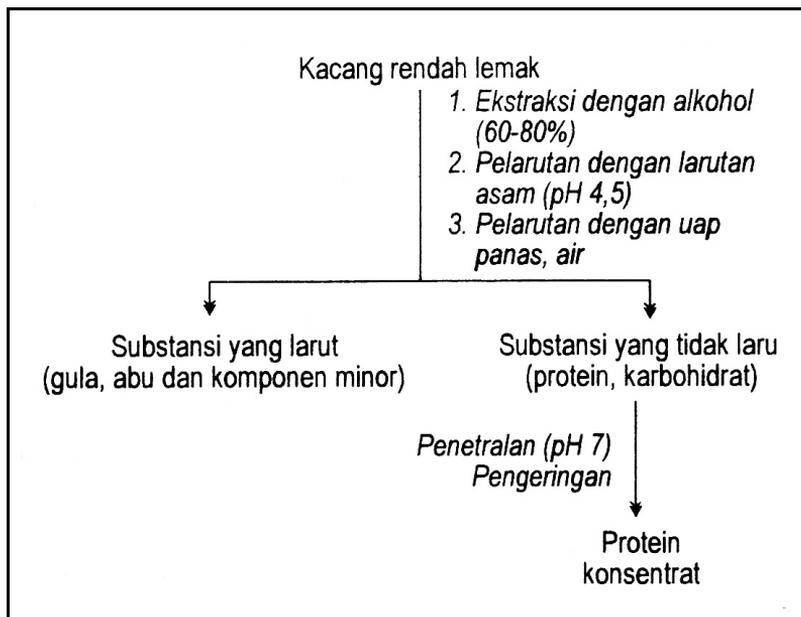
Pembuatan konsentrat protein dilakukan dengan pemisahan karbohidrat terlarut. Ada 3 cara dasar dalam pemisahan tersebut, seperti ditunjukkan pada Skema 3.9. Ketiga cara tersebut menyebabkan protein menjadi tidak larut, sedangkan sebagian dari karbohidrat tetap larut, yang kedua fraksi tersebut dapat dipisahkan dengan sentrifugasi secara komersial. Yang paling banyak dilakukan adalah ekstraksi dengan alkohol dan pelarutan dengan larutan asam.

#### **a) Ekstraksi dengan alkohol (60-80%)**

Pada proses ini karbohidrat dan komponen minor yang larut dalam alkohol akan terekstraksi dari padatnya. Padatan yang mengandung substansi yang sebagian besar adalah protein dan karbohidrat tidak larut dihilangkan sisa pelarutnya (*desolventized*) dan dikeringkan untuk menghasilkan konsentrat protein. Alkohol yang terpisah bersama fraksi yang larut, dipisahkan dari substansi yang larut dan dapat digunakan lagi. Konsentrat protein yang dihasilkan dari proses ini mempunyai kelarutan nitrogen yang rendah karena terdenaturasi oleh alkohol.

**b) Pelarutan dengan asam (pH 4,5)**

Proses ini dilakukan dengan melarutkan kacang rendah lemak dengan larutan asam (pH 4,5) dengan perbandingan larutan asam : bahan = 10-20 : 1, untuk memisahkan karbohidrat terlarut. Pelarutan ini dilakukan pada suhu 40°C selama 30-40 menit. Padatan tidak larut yang mengandung protein dipisahkan dengan sentrifugasi dan dinetralkan menjadi pH 7 dan dikeringkan. Konsentrat protein yang dihasilkan mempunyai kelarutan nitrogen yang tinggi dan jumlah mikrobia yang kecil.



Sumber : Wolt dan Kowan (1975) dalam Snyder dan Kwon(1987)

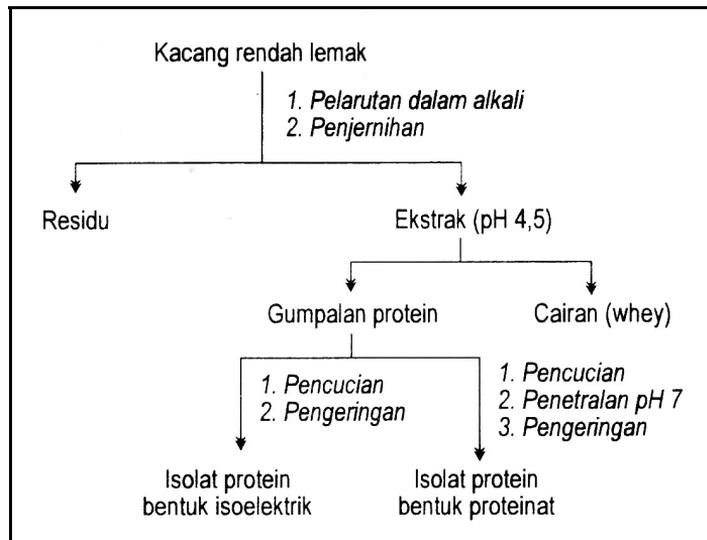
**Gambar 3.9** Skema Proses pembuatan konsentrat protein

**c) Pelarutan dengan uap panas - air**

Perlakuan uap panas akan mendenaturasi protein yang menyebabkannya tidak larut dalam air. Karbohidrat yang larut dan garam dapat dipisahkan dari protein dan karbohidrat yang tak larut dengan melarutkannya dalam air. Fraksi yang tidak larut tersebut kemudian dikeringkan untuk mendapatkan konsentrat protein

### 3.7.2 Isolat protein

Dalam pembuatan isolat protein, protein diekstrak dengan larutan alkali pH 9, pada suhu 50-55°C. Larutan alkali yang lebih kuat akan mengekstrak lebih banyak protein, tetapi juga akan merusak asam amino yang mengandung sulfur. Pada penelitian Okezie dan Bello (1988) setelah pengaturan pH, larutan ekstraksinya diinkubasi dengan lama waktu tertentu, untuk pH ekstraksi 10 dan 12, lama inkubasi masing-masing 90 dan 30 menit pada suhu 30°C. Hasil perlakuan tersebut berupa ekstrak yang mengandung protein yang terlarut dan residu yang sebagian besar merupakan karbohidrat, yang keduanya dipisahkan dengan sentrifugasi. Ekstraknya kemudian diatur pHnya menjadi 4,5 (titik isoelektris) dengan penambahan asam dan akan menghasilkan endapan protein yang terpisah dari cairannya (*whey*). Endapan yang dihasilkan dicuci dan dikeringkan, untuk mendapatkan isolat protein. Sedangkan jika diinginkan memperoleh isolat protein bentuk proteinat, sebelum dikeringkan, dinetralkan terlebih dahulu pada pH 6,8. Bentuk proteinat diperlukan untuk penggunaan isolat yang kelarutannya dalam air merupakan sifat yang dipentingkan. Untuk lebih mudahnya diagram alir proses tersebut disajikan pada Skema 3.10.



Sumber : Wolt dan Kowan (1975) dalam Snyder dan Kwon (1987)

**Gambar 3.10** Skema Proses pembuatan isolat protein

Pembuatan isolat protein ini akan sangat berpengaruh terhadap komposisinya. Hasil penelitian Okezie dan bello (1988) yang membandingkan tepung biji kecipir dengan isolate kecipir maupun isolate kedelai disajikan dalam Tabel 3.4.

**Tabel 3.4.** *Komposisi kimia tepung biji kecipir rendah lemak, isolate kecipir dan isolat kedelai*

Komponen	Tepung biji kecipir	Isolat kecipir	Isolat kedelai
Air (% bb)	7,13	4,07	4,70
Lemak kasar (% bk)	22,10	0,00	0,00
Abu (% bk)	3,93	6,00	3,40
Serat kasar (% bk)	0,22	0,00	0,10
Karbohidrat (% bk)	25,75	4,20	0,00
Protein (% bk)	48,00	89,80	96,50

Sumber : Okezie dan Bello (1988)

Proses isolasi protein akan menurunkan kualitas proteinnya, karena kandungan asam amino lisin dan sistin yang lebih rendah daripada bahan awalnya. Hasil penelitian Okezie dan Bello (1988), yang membandingkan kandungan lisin dan asam amino sulfur pada tepung biji kecipir rendah lemak dengan isolat proteinnya disajikan dalam Tabel 3.5.

**Tabel 3.5.** *Komposisi asam amino esensial dan skor protein pada tepung biji kecipir rendah lemak dan isolate proteinnya (g asam amino/16 g N)*

Komponen	Tepung biji kecipir rendah lemak	Protein isoelektrik*	Proteinat*
Lisin	6,70	7,24	5,98
Isoleusin	4,32	4,63	3,94
Leusin	8,11	8,80	7,44
Asam amino sulfur	2,37	2,09	1,94
Treonin	4,13	3,79	3,25
Asam amino aromatic	9,28	9,87	8,77
Valin	4,99	4,94	4,22
Skor protein (%)	73,00	55,00	52,00

Sumber : Okezie dan Bello (1988)

Keterangan : \* Isolat protein yang diekstrak pada pH 10

### 3.7.3 Manfaat protein kacang-kacangan sebagai *Ingredient Fungsional*

Kandungan protein yang tinggi pada kacang-kacangan sering dimanfaatkan untuk memperbaiki kualitas produk pangan atau sebagai *ingredient* fungsional. Sifat fungsional protein adalah kumpulan sifat kimiawi dan fisikawi yang dipengaruhi sifat protein dalam sistem pangan selama pengolahan, penyimpanan, dan konsumsi. Sifat-sifat tersebut memengaruhi atribut mutu dan organoleptik suatu produk pangan (Kinsella, 1981). Tipe sifat fungsional yang ditunjukkan oleh fungsi protein dalam sistem pangan disajikan dalam Tabel 3.6.

**Table 3.6.** *Sifat fungsional yang ditunjukkan oleh fungsi protein dalam sistem pangan*

<b>Sifat Fungsional</b>	<b>Fungsi Protein</b>	<b>Sistem Pangan</b>
Kelarutan	Pelarutan protein	Miniman
Pengikatan dan penyerapan air	Mengikat (ikatan hidro general) dan memerangkap air (no drip)	<i>Metas, sausages, breads, cakes</i>
Elastisitas	Membentuk ikatan hidrofobik dan disulfida	<i>Meat, bakery</i>
Viskositas	Mengentalkan dan mengikat air	<i>Soups, gravies</i>
Pengemulsian	Pembentukan dan penstabil emulsi minyak	<i>Sausages, bologna, soup, cakes</i>
Pembentukan Gel	Pembentukan dan perubahan matrik protein	<i>Meats, sausages, cheese</i>
Penyerapan Minyak	Mengikat lemak bebas	<i>Meats, sausages, doughnuts</i>
Kohesi-adesi	Protein bertindak sebagai materi perekat	<i>Meats, sausages, baked good</i>
Pembuihan	Membentuk film yang dapat memerangkap gas	<i>Whipped topping, chiffon dessert, angel cake, ice cream</i>
Nutrisi	Meningkatkan nilai gizi	Formula makan bayi dan produk bahan berprotein tinggi

Sumber : Giese (1994)

Beberapa sifat fungsional protein dipengaruhi komposisi asam amino. Jumlah asam amino basa dan asam menentukan muatan total protein pada pH tertentu. Jumlah asam amino hidrofilik dan hidrofobik mengendalikan sifat-sifat kelarutan, potensial pengikatan air, dan sifat-sifat permukaan. Apabila protein memiliki hidrofobisitas rendah dan muatan totalnya tinggi, maka kelarutannya tinggi. Sifat permukaan protein ditentukan oleh struktur protein yang melipat. Struktur protein yang melipat mengakibatkan sebagian besar residu hidrofobik terletak di dalam, sedangkan sebagian besar residu hidrofilik khususnya residu yang bermuatan mengarah ke luar sehingga berhubungan dengan pelarut. Pada sebagian besar protein globular kira-kira 40-50% merupakan gugus non polar yang terdistribusi merata pada permukaan (Damodaran, 1996).

Pada protein kacang-kacangan sering dilakukan modifikasi untuk mendapat sifat fungsional protein sesuai yang dihendaki. Modifikasi yang banyak dilakukan adalah cara enzimatik menggunakan enzim protease. Kapasitas pengemulsian protein kedelai akan meningkat apabila protein tersebut dihidrolisa oleh protease jamur sampai tingkat hidrolisa 5% (Mahmoud, 1994). Kapasitas pembuihan protein kecipir juga dapat ditingkatkan dengan hidrolisa protein sampai 18%. Semakin tinggi hidrolisa protein kecipir akan meningkatkan kelarutan protein, menurunkan kapasitas penyerapan air dan minyak (Narayana dan Narasinga, 1984).

### 3.8 Proses Pembuatan Edible Film

*Edible film* merupakan pengemas alternatif yang tidak menimbulkan masalah lingkungan. *Edible film* dapat dibuat dari bahan polimer, seperti lemak, protein, dan polisakarida atau kombinasinya. Kacang-kacangan merupakan sumber protein yang tinggi. Asam amino yang berperan penting dalam pembentukan dan stabilitas *edible film* adalah asam amino sulfur yang dapat membentuk ikatan disulfide. Semakin besar konsentrasi protein bahan akan menyediakan asam amino sulfur yang lebih banyak (Hastuti, 1999).

Mekanisme pembentukan film dimulai dengan polimerisasi protein dan dilanjutkan dengan penguapan pelarut. Polimerasi protein

membentuk matriks protein yang dibentuk oleh interaksi-interaksi protein melalui interaksi hidrofobik, ikatan hidrogen dan disulfide (Gennadios dkk., 1994)

Tahapan-tahapan penting yang dilakukan dalam pembuatan *edible* film dari bahan berprotein adalah:

1) Pensuspensian bahan berprotein dengan pelarut

Pada dasarnya pembuatan film didahului dengan pembuatan larutan film yang kemudian dikeringkan. Pembuatan larutan film ini dimulai dengan pensuspensian bahan dasar film ke dalam pelarut, misalnya aquades. Pada tahapan ini biasanya digunakan untuk menentukan konsentrasi bahan berprotein.

2) Penambahan *plasticizer*

*Plasticizer* merupakan agensia yang dapat membantu pembentukan film yang lentur, sehingga dapat memperbaiki sifat-sifat mekanik film dan menghindari keretakan film selama penanganan berikutnya serta selama penyimpanan. Bahan yang dapat digunakan sebagai *plasticizer* adalah komponen hidrofilik seperti polyol (gliserol, sorbitol, propanediol) dan monosakarida, disakarida serta oligosakarida, karena komponen hidrofilik tersebut dapat meningkatkan fleksibilitas film. *Plasticizer* (misalnya gliserol) merupakan molekul hidrofilik yang relatif kecil dan dapat dengan mudah masuk di rantai protein dan membentuk ikatan hidrogen antara gugus amida protein. Pada saat gliserol bergabung dengan laringan protein, interaksi langsung antara rantai protein dan kedekatan jaraknya menjadi berkurang. Oleh karena itu, jika pada film dikenai tekanan, maka gerakan rantai protein akan dipermudah oleh adanya gliserol (Gontard dkk., 1993). Menurut Gennadios dkk. (1998) pemakaian gliserin sebagai *plasticizer* berkisar 20-70% (b/b) terhadap protein.

3) Pengaturan pH larutan film

Pengaturan pH larutan film bertujuan untuk menghindari titik isoelektris, karena pada pH tersebut, kelarutan protein minimum.

4) Pengaturan suhu

Pengaturan suhu larutan film berfungsi untuk medenaturasi protein. Kisaran suhu yang digunakan untuk pembuatan film dengan bahan dasar protein adalah 70-80°C (Genadios dkk., 1993).

5) Pengeringan larutan film

Pengeringan larutan film dilakukan setelah pencetakan dalam plat plastik, plas felas atau teflon. Pengeringan dilakukan sampai film dapat dilepas dari cetakan. Suhu pengeringan yang digunakan bervariasi dari suhu kamar sampai dengan suhu 70°C.

-oo0oo-



## BAB 4

---

# PERKECAMBAHAN DAN PENGARUHNYA TERHADAP PROTEIN KACANG-KACANGAN

## 4.1 Perkecambahan

**K**ecambah kacang-kacangan merupakan salah satu produk olahan biji kacang-kacangan yang dibuat dengan cara sederhana dan murah. Kecambah sudah lama dikenal di Indonesia sebagai sayuran yang dikonsumsi dalam bentuk mentah/ lalapan atau sebagai bahan untuk diolah menjadi berbagai jenis sayur, misalnya soto, pecel, gado-gado dan sebagainya.

Jenis kecambah yang umumnya dikonsumsi adalah kecambah kacang hijau dan kedelai. Jumlah konsumsi kecambah di Indonesia cukup tinggi, yaitu sebesar 4,8 g/kapita/hari, jauh lebih besar bila dibandingkan dengan konsumsi kacang-kacangan dalam bentuk bijinya yaitu hanya 0,57 g/kapita/hari (Wahyuni, 1991 dalam Sutardi, 1994). Rendahnya konsumsi kacang-kacangan dalam bentuk biji disebabkan biji kacang-kacangan mengandung senyawa anti gizi, memiliki bau langu yang kuat, dan diperlukan waktu relatif lama untuk pemasakan atau penyajiannya.

Perkecambahan kacang-kacangan telah diketahui memiliki berbagai keuntungan sehingga dapat mengatasi kendala pemanfaatan biji kacang-kacangan. Perkecambahan dapat mempermudah pengupasan kulit dan mempersingkat waktu pemasakan, menurunkan aktivitas lipoksigenase penyebab bau langu (Kanetro dan Wariyah, 2002) dan *non digestable oligosacharides* penyebab flatulensi (King dan Puwastien, 1987),

meningkatkan daya cerna pati dan protein (Nnanna dan Phillips, 1990), serta menurunkan dan menghilangkan senyawa anti gizi (Vanderstoep, 1981).

Perkecambahan biji adalah proses berkembangnya biji menjadi kecambah yang merupakan permulaan aktivitas pertumbuhan embrio yang ditandai dengan pecahnya kulit biji dan munculnya calon individu baru berwarna putih yang belum ditumbuhi akar serabut maupun calon daun. Pecahnya kulit biji diikuti dengan munculnya akar primer yang berkembang dari bagian hipokotil biji. Akar primer selanjutnya tumbuh membentuk akar lateral dan rambut-rambut akar. Hipokotil selanjutnya tumbuh membentuk daun.

Perkecambahan terdiri dari suatu rangkaian proses yang menyebabkan biji kering mulai tumbuh menjadi tanaman. baru, yaitu imbibisi air, pembentukan dan aktivasi enzim, peruraian cadangan makanan menjadi senyawa yang larut air sehingga dapat diangkut ke sumbu embrio untuk pertumbuhan. Senyawa tersebut digunakan untuk respirasi yang menghasilkan energi, dan untuk sintesis senyawa-senyawa baru yang digunakan untuk menyusun sel-sel baru melalui pembelahan sel (Bewley dan Black, 1981).

#### **4.1.1 Faktor-faktor perkecambahan**

Faktor-faktor yang mempengaruhi perkecambahan terdiri dari faktor internal yang berasal dari dalam biji dan faktor eksternal yang berasal dari luar biji. Faktor internal salah satunya adalah tekstur kulit biji. Kulit biji yang keras seperti biji kecipir menyebabkan biji tersebut sulit menyerap air sehingga perkecambahannya memerlukan waktu yang lebih lama, sedangkan kedelai dan kacang hijau memerlukan waktu yang lebih singkat. Faktor eksternal dapat dikendalikan untuk menentukan kondisi perkecambahan, meliputi air, suhu, dan oksigen.

**a. Air**

Selama pemasakan biji terjadi dehidrasi sehingga aktivitas protoplasma dalam biji hampir seluruhnya terhenti, sehingga agar terjadi perkecambahan diperlukan penambahan air kembali melalui proses imbibisi. Imbibisi merupakan proses penyerapan air oleh biji lewat permukaan hidrofilik. Kandungan protein biji yang tinggi akan meningkatkan penyerapan air, karena adanya sifat hidrofilik protein. Air berfungsi untuk pengembangan embrio, memberi kemungkinan masuknya oksigen karena kemampuannya mengubah permeabilitas dinding sel terhadap gas, meningkatkan metabolisms, dan merupakan alat pengangkut cadangan makanan yang sudah diuraikan dari tempat penyimpanan ke sumbu embrio (Mayer dan Poljakoff Maber, 1989). Kadar air biji yang dipersyaratkan agar perkecambahan dapat terjadi secara alami adalah 50-55% (Sutardi, 1996). Biji kacang-kacangan memerlukan waktu imbibisi yang berbeda-beda untuk mencapai kadar air biji tersebut, karena perbedaan sifat kulit biji dan kotiledon. Sebagai contoh, waktu perendaman kacang hijau kedelai dan kecipir sebagai tahap awal perkecambahan untuk meningkatkan kadar air biji sampai mencapai lebih kurang 55%, berturut-turut adalah 8,8 dan 36 jam (Sutardi, 1994).

**b. Suhu**

Suhu perkecambahan berpengaruh terhadap proses-proses biokimiawi di dalam biji yang melibatkan aktivitas enzim. Hasil penelitian Nnanna dan Phillips (1988) tersebut menunjukkan bahwa aktivitas enzim protease, a-amilase, dan a-galaktosidase meningkat selama perkecambahan pada suhu 30 dan 35°C.

Peningkatan aktivitas enzim a-amilase dan protease pada suhu 25°C lebih rendah dari pada suhu 30 dan 35°C. Pada tunumnya suhu optimal perkecambahan adalah 10-30°C, sedangkan cahaya tidak mutlak dibutuhkan selama perkecambahan (Mallette dkk., 1960 dalam Sutardi, 1996).

### c. Oksigen

Oksigen diperlukan untuk respirasi yang menghasilkan energi. Energi digunakan untuk pembelahan sel sehingga plumula (calon daun) dan radikula (calon akar) yang merupakan bagian dari sumbu embrio dapat tumbuh. Sebagian besar biji dapat berkecambah dengan baik dalam udara dengan kadar oksigen normal, yaitu 20% (Mayer dan Poljakoff-Maber, 1989).

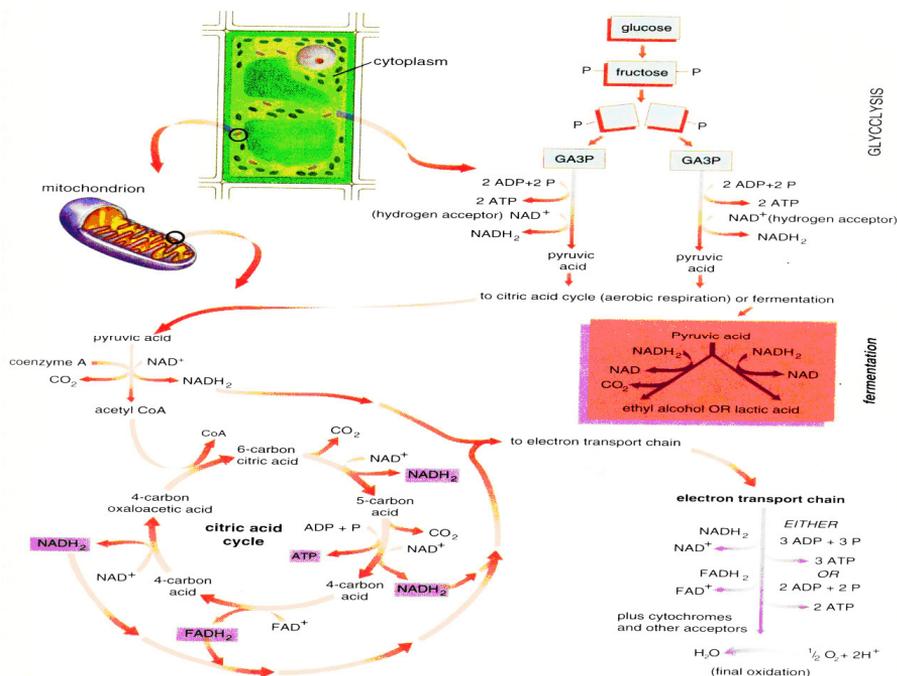
#### 4.1.2 Mobilisasi cadangan makanan

Perkecambahan biji adalah proses berkembangnya biji menjadi kecambah yang merupakan permulaan aktivitas pertumbuhan embrio dengan ditandai pecahnya kulit biji dan munculnya calon individu baru yang berwarna putih belum tumbuh akar serabut maupun calon daun. (Bewley dan Black, 1983). Perkecambahan terdiri dari suatu rangkaian proses yang menyebabkan biji kering mulai tumbuh menjadi tanaman baru, yaitu imbibisi air, pembentukan dan aktivasi enzim, mobilisasi cadangan makanan yang diawali dengan peruraian cadangan makanan menjadi senyawa yang larut air sehingga dapat diangkut ke sumbu embrio untuk pertumbuhan. Senyawa tersebut digunakan untuk respirasi yang menghasilkan energi, dan untuk sintesis senyawa-senyawa yang digunakan dalam penyusunan sel-sel baru (Bewley dan Black, 1983).

Respirasi adalah proses pembebasan energi dari molekul glukosa dengan oksigen yang menghasilkan produk samping karbondioksida dan air. Reaksi ini terjadi pada semua sel yang aktif dengan bantuan berbagai enzim, dan diawali dengan fase glikolisis. Fase selanjutnya adalah siklus Krebs/siklus asam sitrat/siklus *tricarboxylic acid* (TCA) dan transport elektron, seperti terlihat pada Gambar 4.1.

Pada fase awal terjadi glikolisis yang terjadi dalam sitoplasma: satu molekul gula dikonversi menjadi 2 molekul asam piruvat. Fase selanjutnya terjadi dalam matriks mitokondria. Pada kondisi aerob, asam piruvat akan mengalami pemecahan dalam siklus asam sitrat, dan energi ditransfer oleh komponen seperti NADH, ATP, dan FADH. Fase ini juga menghasilkan karbondioksida dan hidrogen. Hidrogen yang dibebaskan akan masuk ke

rantai transport elektron dan bergabung dengan oksigen membentuk molekul air (Bettelheim dkk., 2004).



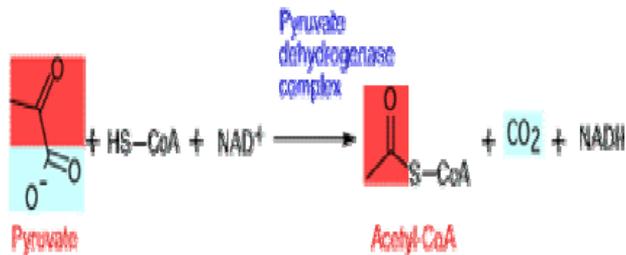
**Gambar 4.1.** Proses respirasi (Sumber: Bettelheim dkk., 2004)

Mobilisasi cadangan makanan pada biji yang sedang berkecambah terjadi karena adanya peningkatan aktivitas enzim selama perkecambahan. Enzim amilase menguraikan pati menjadi gula, lipase menguraikan lemak menjadi asam lemak dan gliserol, dan protease menguraikan protein menjadi asam amino. Hasil penelitian Nnanna dan Phillips (1988), menunjukkan bahwa perkecambahan kacang tunggak selama 48-72 jam pada suhu 25, 30 dan 35°C meningkatkan aktivitas alpha amilase 1,5 - 6,5 kali dari aktivitas awal (sebelum perkecambahan), sedangkan aktivitas protease meningkat 2,2 - 3,2 kali dari aktivitas awal (sebelum perkecambahan). Perkecambahan *Phaseolus vulgaris* sampai 6 hari sesudah imbibisi meningkatkan aktivitas protease sekitar 6 kali, namun perkecambahan setelah 6 hari menurunkan aktivitas protease (Bewley dan Black, 1983).

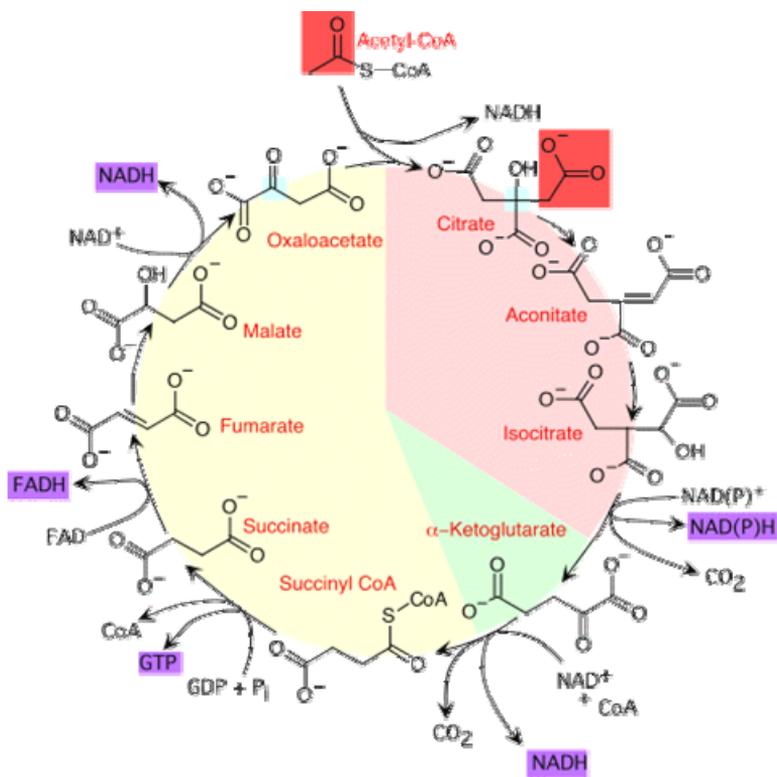
Tahap perkecambahan diawali dengan peningkatan aktivitas enzim pemecah karbohidrat kompleks, karena karbohidrat merupakan cadangan utama sebagai energi perkecambahan. Hasil penelitian Nnanna dan Phillips, 1988 menunjukkan bahwa perkecambahan kacang tunggak selama 48 - 72 jam pada suhu 25, 30 dan 35 °C meningkatkan aktivitas alpha amilase 1,5 - 6,5 kali dari aktivitas awal (sebelum perkecambahan).

Mobilisasi karbohidrat dapat terjadi apabila telah diuraikan menjadi glukosa. Karbohidrat dalam kotiledon sebagian besar adalah pati, hemiselulosa, dan oligosakarida. Pati dapat diuraikan melalui dua lintasan katabolik, yaitu reaksi hidrolitik dan fosforolitik. Reaksi hidrolitik melibatkan enzim amilase, sedangkan reaksi fosforolitik melibatkan enzim fosforilase yang akan menghasilkan glukosa 1P. Karbohidrat diangkut ke sumbu embrio dalam bentuk sukrosa, sehingga glukosa dan glukosa 1P akan dikonversi lebih dahulu menjadi sukrosa (Bewley dan Black, 1983). Oligosakarida juga akan diuraikan menjadi sukrosa melalui suatu rangkaian reaksi hidrolisis. Reaksi hidrolisis tersebut melibatkan enzim  $\alpha$ -galaktosidase yang memisahkan residu galaktosa dari rantai oligosakarida secara bertahap, sehingga diperoleh sukrosa. Hal ini ditunjukkan dengan adanya peningkatan sukrosa dan penurunan oligosakarida yang nyata setelah perkecambahan kacang tunggak selama 72 jam (Nnanna dan Phillips, 1988).

Katabolisme gula (glukosa) diawali dengan konversi glukosa menjadi piruvat melalui jalur EMP (*Emden-Meyerhoff-Parnas Pathway*), selanjutnya diubah menjadi *acetyl coenzyme A (acetyl-CoA)* seperti terlihat pada Gambar 4.2. *Acetyl-CoA* selanjutnya masuk ke dalam siklus TCA, seperti terlihat pada Gambar 4.3. Siklus TCA selain memberikan energi (satu putaran siklus TCA menghasilkan 1 GTP, 3 NADH, dan 1 FADH yang merupakan senyawa berenergi tinggi) juga memberikan senyawa-senyawa antara yang bermanfaat sebagai titik permulaan (*starting point*) untuk sintesis asam amino, asam nukleat, dan dinding sel (Paustian, 2000). Katabolisme glukosa ini merupakan metabolisme utama dalam perkecambahan karena memberikan energi utama untuk perkembangan embrio.



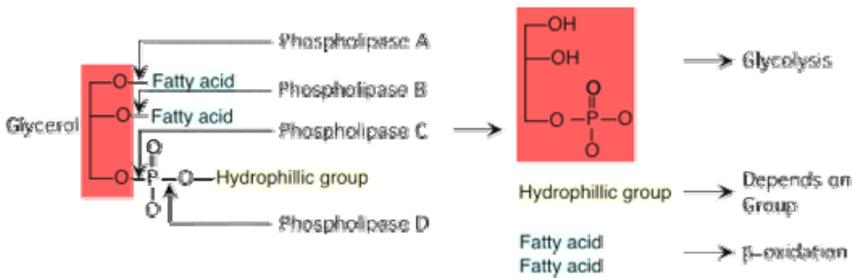
Gambar 4.2. Pembentukan Acetyl CoA dari piruvat (Sumber: Paustian, 2000)



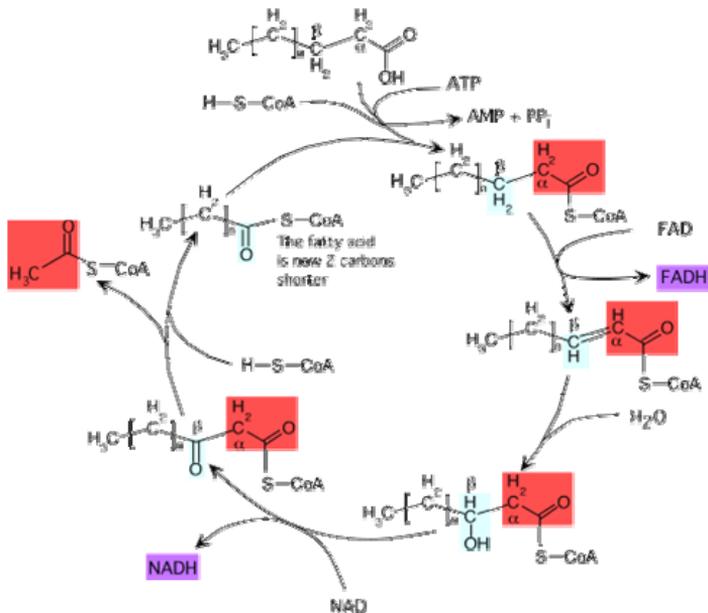
Gambar 4.3. Siklus TCA (Sumber: Paustian, 2000)

Lipida dalam kotiledon akan ditransportasikan ke embrio selama perkecambahan setelah dihidrolisis melalui serangkaian reaksi. Pada awalnya lipida (trigliserida) akan dihidrolisis melalui 3 tahap. Setiap tahap hidrolisis menghasilkan 1 asam lemak bebas (FFA), sehingga pada hidrolisis tahap akhir akan diperoleh gliserol dan 3 FFA. Asam lemak

bebas yang terbentuk selanjutnya dioksidasi menjadi Asetil KoA melalui lintasan beta-oksidatif, kemudian masuk dalam siklus gliksilat yang melibatkan banyak enzim sehingga diperoleh fosfoenolpiruvat (PEP). PEP akan dikonversi menjadi glukosa, kemudian gula ini digunakan sebagai sumber energi atau untuk sintesa sukrosa (Bewley dan Black, 1982). Katabolisme lipida dan jalur beta-oksidatif terlihat pada Gambar 4.4 dan 4.5. Terjadinya mobilisasi lemak selama perkecambahan ditunjukkan dengan adanya peningkatan FFA pada perkecambahan kacang tanah selama 48 jam (Chiou dkk., 1997).



Gambar 4.4. Katabolisme lipida (Sumber: Paustian, 2000)



Gambar 4.5. Jalur beta-oksidasi (Sumber: Paustian, 2000)

Mobilisasi protein pada biji yang berkecambah berkaitan dengan peningkatan aktivitas enzim-enzim protease yang menghidrolisis protein menjadi asam amino. Aktivitas protease meningkat 2,2 - 3,2 kali dari aktivitas awal (sebelum perkecambahan) setelah perkecambahan kacang tunggak selama 48 - 72 jam (Nnanna dan Phillips, 1988). Enzim protease diklasifikasikan menjadi enzim endopeptidase, dan eksopeptidase yang terdiri dari aminopeptidase dan karboksipeptidase. Hidrolisis protein oleh enzim eksopeptidase menghasilkan asam amino bebas, sedangkan oleh endopeptidase menghasilkan rantai peptida yang lebih pendek, kemudian peptida ini dihidrolisis lebih lanjut menjadi asam amino oleh peptida hidrolase. Asam amino yang dibebaskan digunakan untuk sintesis protein dan sebagai sumber energi (Bewley dan Black, 1983). Mobilisasi protein dan asam amino diuraikan lebih detil pada bagian selanjutnya tentang pengaruh perkecambahan terhadap protein.

#### **4.2 Pengaruh Perkecambahan Terhadap Protein.**

Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa selama perkecambahan terjadi perubahan protein, khususnya kadar dan komposisi asam amino bebas, serta berat molekul. Perkecambahan *Phaseolus vulgaris* sampai 5 hari sesudah imbibisi meningkatkan asam amino bebas, namun perkecambahan setelah 5 hari menurunkan asam amino bebas (Bewley dan Black, 1983). Perkecambahan biji kecipir selama 72 jam meningkatkan kadar *non-protein nitrogen* 1,5 kali terhadap kadar sebelum perkecambahan yang kemungkinan karena adanya peningkatan asam amino bebas akibat aktivitas proteolitik. Selama perkecambahan biji kecipir juga terjadi perubahan komposisi asam amino, seperti terlihat pada Tabel 4.1. Perubahan-perubahan terhadap protein tersebut disebabkan selama perkecambahan terjadi degradasi protein cadangan dan sintesa protein baru (King dan Puwastien, 1987). Perkecambahan kacang tanah sampai 72 jam juga meningkatkan kadar asam amino bebas (Chiou dkk., 1997). Profil asam amino bebas selama perkecambahan kacang tanah terlihat pada Tabel 4.1. Pada Tabel tersebut terlihat bahwa kandungan asam amino bebas meningkat secara nyata sampai perkecambahan 96 jam. Peningkatan asam

amino yang cukup tinggi mencapai sekitar 5 kali dari sebelum perkecambahan (0 jam) terjadi pada asam amino Thr, Ser, pro, Gly, Tyr, His, dan Arg (Chiou dkk., 1997).

**Tabel 4.1.** Perubahan total komposisi asam amino protein pada perkecambahan biji kecipir dan total asam amino bebas pada perkecambahan kacang tanah

Asam amino	Total asam amino protein (g/16 g N) selama perkecambahan (jam)*			Total asam amino bebas (mg/g protein) selama perkecambahan (jam)**		
	0	48	96	0	48	96
Asp	10.5	9.8	11.1	0.22	0.56	0.66
Thr	4.3	4.2	4.4	0.10	0.39	0.53
Ser	5.6	5.2	5.9	0.88	3.82	5.73
Glu	13.3	12.1	13.2	1.93	2.83	3.05
Pro	6.1	5.3	5.8	0.37	2.44	10.84
Gly	4.1	3.9	3.9	0.09	8.05	19.65
Ala	4.2	3.7	4.1	0.69	0.67	0.95
Cys	1.4	1.7	1.7	0.30	0.52	0.27
Val	4.8	4.4	4.7	0.36	0.97	1.32
Met	1.1	1.0	1.1	0.11	0.41	0.38
Ile	4.2	3.9	4.0	0.26	0.70	0.64
Leu	8.2	7.2	7.7	0.24	0.88	0.82
Tyr	4.4	4.3	4.1	0.27	1.76	2.01
Phe	4.6	4.4	4.5	0.54	1.75	2.27
His	2.7	2.6	2.9	0.11	1.41	1.82
Lys	7.2	6.8	6.9	0.08	0.30	0.34
Arg	6.1	5.4	5.6	0.21	1.62	3.52
Total	-	-	-	6.76	29.08	54.80

Sumber: \* King dan Puwastien (1987); \*\* Chiou dkk. (1997)

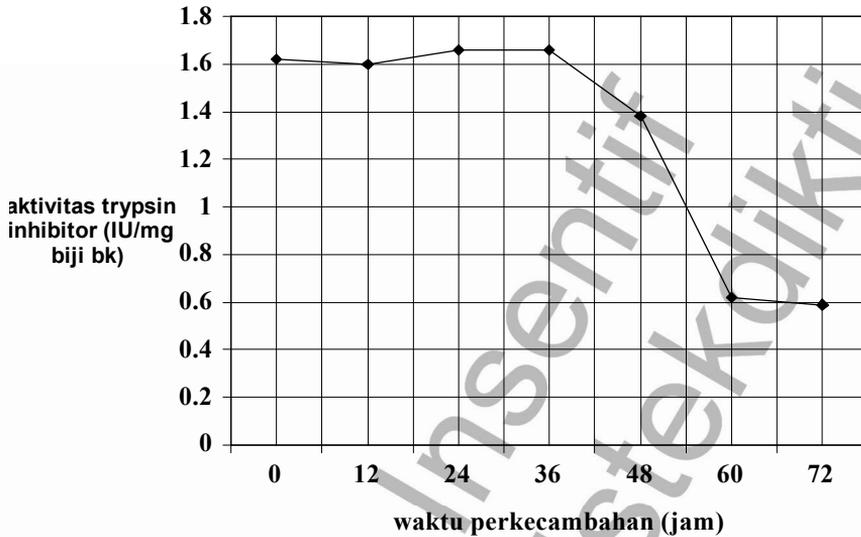
Perubahan BM protein selama perkecambahan kacang-kacangan dapat diamati dengan SDS-PAGE. Pada umumnya hasil pengamatan tersebut menunjukkan bahwa protein cadangan biji memiliki BM tinggi yang mengalami degradasi selama perkecambahan (Chiou, 1997; Ahmed dkk., 1995). Terjadinya degradasi ditunjukkan dengan hilangnya band/pita protein BM tinggi pada pengujian SDS-PAGE sesudah perkecambah.

Penurunan jumlah pita (*the number of band*) pada perkecambahan *C. Arientinum*, *V. faba*, dan *L. Termes* selama 7 hari adalah berturut-turut dari 19, 20, dan 19 pita menjadi 12, 22, dan 9 pita (Ahmed dkk., 1995).

Peningkatan kualitas protein setelah perkecambahan juga ditunjukkan dengan adanya peningkatan asam amino sistin, histidin, dan asam aspartat setelah pengecambahan biji kecipir selama 72 jam (King dan Puwastien, 1987a). Meskipun perubahan semua asam amino terjadi selama perkecambahan, perubahan yang paling signifikan terjadi pada asam aspartat dan asam glutamat. Makin lama waktu perkecambahan, kandungan asam aspartat meningkat secara gradual, sedangkan kandungan asam glutamat menurun. Peningkatan daya cerna protein sesudah perkecambahan terutama disebabkan oleh penurunan aktivitas anti tripsin. Aktivitas anti tripsin kedelai mengalami penurunan sebesar lebih dari 65% sesudah biji kedelai dikecambahkan selama 4 hari (Rackis dan Gumbmann, 1981).

Perkecambahan biji kedelai diketahui dapat menurunkan aktivitas protein *trypsin inhibitor*, seperti disajikan pada Gambar 4.6. Pada Gambar tersebut terlihat bahwa aktivitas *trypsin inhibitor* cenderung turun sampai perkecambahan selama 72 jam, dan hubungan antara lama perkecambahan dengan penurunan aktivitas *trypsin inhibitor* tersebut tidak bersifat linier ( $R^2 = 0,71$ ). Aktivitas *trypsin inhibitor* terlihat turun secara nyata sesudah perkecambahan 48 jam.

Penurunan aktivitas *trypsin inhibitor* kemungkinan berkaitan dengan fungsi *trypsin inhibitor* dalam biji sebagai salah satu cadangan protein yang larut dalam air (Bewley dan Black, 1983), sehingga *trypsin inhibitor* kemungkinan akan didegradasi selama perkecambahan berlangsung. Kemungkinan ini diperkuat oleh Rackis dan Gumbmann (1981) yang menyebutkan bahwa BM *trypsin inhibitor* turun selama perkecambahan biji kedelai sampai 96 jam, dan aktivitas *trypsin inhibitor* turun sebesar 65% dibandingkan aktivitas *trypsin inhibitor* biji sebelum dikecambahkan.



**Gambar 4.6.** Aktivitas trypsin inhibitor selama perkecambahan biji kedelai (Kanetro, 2009)

Hasil ini sesuai dengan penelitian Vinett dkk. (2006) yang menunjukkan bahwa perkecambahan biji kedelai menurunkan aktivitas *trypsin inhibitor* secara terus menerus. Sementara pada kacang-kacangan yang lain juga memperlihatkan bahwa perkecambahan kacang (King dan Puwastien, 1987), *V. faba*, *C. arietinum*, dan *L. termes* (Ahmed dkk., 1995) dan *kidney bean* (Alonso dkk., 2000) dapat menurunkan aktivitas *trypsin inhibitor* secara nyata. Hal ini memberikan harapan bahwa konsumsi kacang-kacangan dapat mengurangi resiko terjadinya *pancreatic hyperthropy*.

Pengaruh Lama Perkecambahan terhadap Kadar Protein Kecambah Kacang-Kacangan Lokal dijelaskan dalam uraian sebagai berikut :

#### 4.2.1 Kacang kara benguk

Selama perkecambahan biji kacang kara benguk sampai 48jam terjadi kenaikan kadar protein, meskipun kenaikan sesudah 24jam tidak berbeda nyata seperti terlihat pada Tabel 4.2. Hal ini kemungkinan disebabkan

selama perkecambahan terjadi penurunan kadar karbohidrat yang lebih cepat, sehingga terjadi kenaikan kadar protein secara relatif. Karbohidrat digunakan sebagai sumber energi utama pada tahap awal perkecambahan, sedangkan protein digunakan pada tahap-tahap perkembangan embrio (Hsu dkk., 1980 dalam King dan Puwastien, 1987). Penelitian lain juga menunjukkan bahwa perkecambahan berbagai jenis kacang-kacangan mampu meningkatkan kadar protein secara relatif (King dan Puwastien, 1987; Bayu Kanetro dan Wariyah, 2002).

Tabel 4.2 juga memperlihatkan bahwa perkecambahan biji kacang kara benguk sesudah 48jam ternyata menurunkan kadar protein. Hal ini kemungkinan selama perkecambahan terjadi hidrolisis protein menjadi peptida sederhana dan asam-asam amino bebas yang diduga digunakan sebagai sumber energi akibat berkurangnya ketersediaan karbohidrat sebagai sumber energi utama perkecambahan. Penelitian Nnanna dan Phillips (1988) menunjukkan bahwa aktivitas protease meningkat 2,2 - 3,2 kali dari aktivitas awal (sebelum perkecambahan) setelah perkecambahan kacang tunggak selama 48 - 72jam. Peningkatan aktivitas enzim tersebut menyebabkan kenaikan kadar protein terlarut dan asam amino bebas (King dan Puwastien, 1987; Bayu-Kanetro dan Wariyah, 2002; Bayu-Kanetro, 2009).

**Tabel 4.2.** Pengaruh lama perkecambahan terhadap kadar air dan protein total kecambah kacang kara benguk\*

Lama perkecambahan (jam)	Kadar air (% bb)	Kadar protein total (% bk)
0	50,07 a	27,73 a
12	52,26 b	28,17 ab
24	57,27 c	30,77 d
36	61,74 e	30,65 d
48	60,27 d	31,00 d
60	64,37 f	29,25 c
72	60,63 d	28,60 b

Keterangan:

\* Rata-rata dari 2 ulangan percobaan dan 3 ulangan analisis. Notasi huruf yang sama di belakang angka pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan analisis statistik pada tingkat kepercayaan 95% (Kanetro dan Dewi, 2009)

#### 4.2.2 Kacang tunggak

Perkecambahan biji kacang tunggak sampai 72 jam juga meningkatkan kadar protein, kecuali pada perkecambahan selama 48 jam seperti terlihat pada Tabel 4.3. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan pola perubahan kadar protein selama perkecambahan kacang kara bengkok dengan kacang tunggak. Peningkatan kadar protein kecambah kacang tunggak dari 0 sampai 36 jam kemungkinan disebabkan oleh penurunan kadar karbohidrat yang lebih cepat sehingga terjadi kenaikan kadar komponen lain termasuk protein secara relatif, seperti pada perkecambahan kacang kara bengkok. Sementara peningkatan kadar protein kecambah kacang tunggak dari 48 jam sampai 72 jam diduga akibat adanya sintesis protein yang ditunjukkan dengan kenampakan kecambah kacang tunggak yang sudah mulai tumbuh akar cabang dan berwarna kehijauan. Kenampakan kecambah tersebut merupakan tanda bahwa proses perkecambahan memasuki tahap akhir. Menurut Bewley dan Black (1983) pada tahap akhir perkecambahan cenderung terjadi sintesis protein untuk perkembangan embrio (Bewley dan Black, 1983).

**Tabel 4.3.** Pengaruh lama perkecambahan terhadap kadar air dan protein total kecambah kacang tunggak\*

Lama perkecambahan (jam)	Kadar air (% bb)	Kadar protein total (% bk)
0	55,20 a	26,14 a
12	58,22 b	28,84 b
24	59,61 c	29,28 c
36	75,52 e	29,97 d
48	66,09 d	25,92 a
60	79,08 f	29,61 c
72	80,35 g	30,50 d

Keterangan:

\* Rata-rata dari 2 ulangan percobaan dan 3 ulangan analisis. Notasi huruf yang sama di belakang angka pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan analisis statistik pada tingkat kepercayaan 95% (Kanetro dan Dewi, 2009)

### 4.2.3 Kacang kecipir

Data kadar protein kecambah kacang kecipir terlihat pada Tabel 4.4. yang menunjukkan bahwa kadar protein kecambah kacang kecipir naik sampai 36jam, kemudian turun sampai 72 jam. Kadar protein kecambah kacang kecipir usia 36jam tidak berbeda nyata dengan usia 24 jam yang memiliki kadar protein paling tinggi. Oleh karenanya kecambah kacang kecipir usia 24jam dipilih untuk digunakan pada penelitian tahap selanjutnya.

**Tabel 4.4.** Pengaruh lama perkecambahan terhadap kadar air dan protein total kecambah kacang kecipir\*

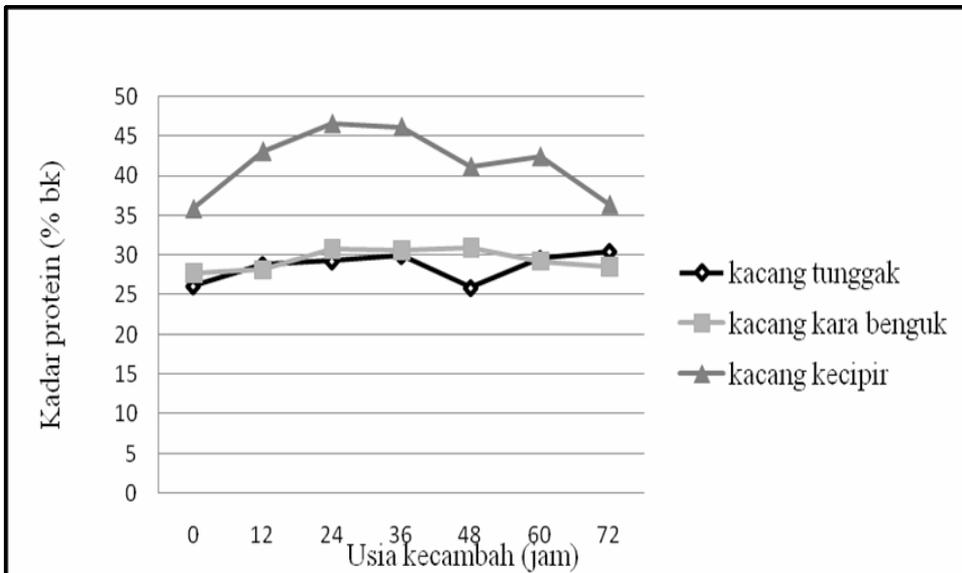
Lama perkecambahan (jam)	Kadar air (% bb)	Kadar protein total (% bk)
0	58,72 a	35,86 a
12	56,60 a	43,09 b
24	62,60 b	46,57 c
36	67,45 c	46,17 c
48	68,34 c	41,17 b
60	67,25 c	42,45 b
72	64,96 b	36,38 a

Keterangan:

\* Rata-rata dari 2 ulangan percobaan dan 3 ulangan analisis. Notasi huruf yang sama di belakang angka pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan analisis statistik pada tingkat kepercayaan 95% (Kanetro dan Dewi, 2009)

Pola perubahan kadar protein kacang kecipir selama perkecambahan ternyata hampir sama dengan kacang kara benguk, yaitu pada tahap awal perkecambahan terjadi kenaikan kadar protein sampai waktu tertentu

selanjutnya menurun. Pola ini berbeda dengan pola perubahan kadar protein selama perkecambahan kacang tunggak. Perbandingan perubahan kadar protein selama perkecambahan kacang kara bengkok, tunggak dan kecspir disajikan pada Gambar 4.7.



**Gambar 4.7.** Kadar protein berbagai kacang-kacangan selama perkecambahan (Kanetro dan Dewi, 2009)

#### 4.2.4 Kedelai Hitam

Hasil pengujian kadar air dan protein selama perkecambahan kedelai hitam terlihat pada Tabel 4.5. Berdasarkan analisis statistik diketahui bahwa lama perkecambahan berpengaruh terhadap kadar protein kecambah. Kadar protein cenderung naik selama perkecambahan dibandingkan biji kedelai hitam (tanpa perkecambahan). Kenaikan kadar protein ini disebabkan terjadi penurunan kadar komponen lain seperti karbohidrat yang lebih cepat daripada protein, sehingga kadar protein kecambah naik secara relatif. Hal ini sesuai dengan penelitian Bayu Kanetro (1999) yang menunjukkan bahwa kenaikan kadar protein selama perkecambahan biji kecspir diikuti dengan penurunan kadar karbohidrat yang terjadi pada tahap awal perkecambahan. Penurunan karbohidrat

disebabkan pemanfaatan gula sebagai sumber energi utama untuk perkecambahan biji (Bewley dan Black, 1983).

**Tabel 4.5.** *Kadar air dan protein total kedelai hitam dari berbagai lama perkecambahan\**

Lama perkecambahan (jam)	Kadar air (% bb)	Kadar protein total (% bk)
0 (tanpa perkecambahan)	58,72 b	37,86 b
12	56,60 a	43,09 c
24	62,60 c	42,57 c
36	67,45 e	46,17 d
48	68,34 e	42,17 c
60	67,25 e	42,45 c
72	64,96 d	35,38 a

\* notasi huruf yang sama dibelakang angka pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (Kanetro dan Dewi, 2009)

Dari Tabel 4.5. diketahui bahwa perkecambahan biji kedelai hitam selama 36 jam memberikan kadar protein kecambah tertinggi. Kadar protein yang tinggi ini diharapkan dapat memberikan rendemen isolasi protein yang tinggi pula, sehingga dapat lebih menguntungkan jika digunakan sebagai bahan baku *meat analog* dibandingkan biji yang tidak dikecambahkan. Hal ini sesuai dengan penelitian Bayu Kanetro (2009) yang menunjukkan bahwa rendemen presipitat protein kecambah kedelai lebih tinggi daripada biji kedelai pada proses isolasi protein. Oleh karena itu usia kecambah kedelai hitam yang dipilih untuk digunakan pada tahap penelitian selanjutnya (isolasi protein) adalah kecambah usia 36 jam. Sebelum protein kecambah kedelai hitam diisolasi perlu diketahui pH pengendapan protein yang tepat, yaitu pH isoelektris protein yang memberikan jumlah endapan protein terbanyak atau protein terlarut paling sedikit. Hal ini dibahas pada sub bab selanjutnya.

### 4.3 Metode pembuatan kecambah kacang-kacangan

Biji kacang-kacangan yang akan dibuat kecambah dipilih dari biji yang sehat/tidak cacat dan sudah tua, sehingga tahap awal proses pembuatan kecambah adalah sortasi/pemilihan biji. Tahap selanjutnya adalah pencucian biji, perendaman, dan inkubasi.

#### a. Perendaman

Tahap perendaman merupakan tahap yang paling menentukan keberhasilan proses perkecambahan. Pada tahap ini akan terjadi penyerapan air sehingga kadar air biji mencapai batas yang main u memacu biji mulai berkecambah. Perkecambahan kacang-kacangan tidak akan berlangsung baik jika kadar air kurang dari batas dipersyaratkan. Kadar air minimum agar perkecambahan kacang-kacangan berlangsung cepat berkisar antara 50-55%. Biji kacang-kacangan memerlukan waktu perendaman yang berbeda-beda agar bisa berkecambah, seperti terlihat pada Tabel 4.6.

**Tabel 4.6.** Waktu perendaman dan kadar yang dicapai sesudah perendaman kacang-kacangan

Jenis Kacang-kacangan	Waktu Perendaman	Kadar Air (%)
Kara Benguk	24	56,10
Kara Putih	4	62,80
Munggur	24	72,90
TO	24	59,70
Kecipir	36	50,10
Lamtoro	24	60,95
Tolo	8	57,63
Kacang Hijau	8	59,11
Kedelai	8	58,18
Gude	11	59,93

Sumber: Sutardi (1994); Sutardi (1996)

Perbandingan biji dengan air (b /v) yang digunakan untuk perendaman berkisar 1:3 sampai 1:5. Sterilisasi biji dan air rendaman perlu

dilakukan untuk mencegah pertumbuhan mikrobia dan pembusukan biji selama perendaman. Air yang digunakan sebaiknya air yang sudah disterilkan atau menggunakan aquades. Demikian juga biji yang akan direndam sudah dilakukan sterilisasi menggunakan bahan kimia, misalnya dengan senyawa yang mengandung klor (NaOCI). Sterilisasi biji dilakukan dengan merendam biji dengan larutan NaOCI 4% selama 15 menit. Perbandingan biji dalam larutan NaOCI tersebut adalah 0,5% (b/v) (Wanasundara dkk., 1999).

Beberapa bahan kimia dapat pula digunakan untuk mempercepat proses perkecambahan atau memecah kondisi dorman biji. Bahan-bahan kimia tersebut antara lain ethylene, cytokinins, dinitrophenol, hydrogen sulphide, hypochlorite dan lain-lain. Bahan-bahan kimia tersebut biasa digunakan dalam perkecambahan yang ditujukan untuk pengembangbiakan tanaman atau pada bidang budidaya tanaman. Sedangkan, perkecambahan yang ditujukan untuk menghasilkan kecambah yang akan dikonsumsi atau sebagai bahan pangan, sebaiknya penggunaan bahan kimia tersebut dihindarkan, karena kemungkinan meninggalkan residu yang membahayakan khususnya bila kecambah dikonsumsi dalam bentuk segar/sebagai lalapan.

#### **b. Inkubasi**

Tahap ini bertujuan untuk menghasilkan kecambah yang siap dikonsumsi dengan cara menyimpan biji sampai waktu tertentu dan pada kondisi terkendali sehingga biji dapat berkecambah. Pada umumnya yang dimaksud dengan kecambah kacang-kacangan adalah biji kacang-kacangan yang kulit bijinya telah pecah membentuk calon individu baru berwarna putih, belum keluar akar serabut dan calon daun, serta ukuran kecambah sekitar 10-20 mm (Sutardi, 1996).

Waktu inkubasi setiap jenis kacang-kacangan bervariasi, kedelai dan kacang hijau membutuhkan waktu 36-60 jam untuk mendapatkan kecambah yang layak dikonsumsi (Kanetro dan Wariyah, 2002). Sedangkan, waktu inkubasi kara bengkok, kara putih, munggur, turi, dan kecipir adalah berturut-turut 3-4, 2-3, 2-3, 3-4, dan 23 hari. (Sutardi, 1994).

Inkubasi biji sesudah direndam dapat dilakukan dengan berbagai cara. Pada dasarnya kondisi inkubasi diusahakan RH mendekati 100% untuk menjaga agar biji tetap lembab dan kadar air dalam biji tetap mencukupi untuk terjadinya perkecambahan. Cara yang dapat dilakukan antara lain menempatkan biji di atas kertas saring basah dan kertas diusahakan selalu basah, atau menempatkan biji dalam wadah/karung/kain/ ruangan selanjutnya dilakukan penyiraman/penyemprotan air 2 kali sehari. Cara yang lebih terkendali adalah biji ditempatkan dalam nampan berlubang yang sudah dialasi dengan kain strimin. Dasar nampan diberi penyangga setinggi 10 cm, kemudian nampan ditempatkan di atas nampan lain yang berukuran lebih besar dan berisi air. Nampan tempat biji yang dikecambahkan selanjutnya ditutup kain yang mudah menyerap air sampai sisi-sisi kain tercelup air dalam nampan besar. Air akan terserap sehingga membasahi seluruh permukaan kain. Dengan demikian, RH ruangan dalam kain tetap terjaga mendekati 100%. Untuk mengendalikan suhu maka proses inkubasi dapat dilakukan dalam inkubator. Suhu yang digunakan umumnya berkisar 25-30°C (Kanetro, 1999).

## BAB 5

# KACANG-KACANGAN SEBAGAI PANGAN FUNGSIONAL

Saat ini perkembangan penelitian tentang pangan fungsional tumbuh pesat dan produk pangan fungsional makin banyak beredar di pasaran. Menurut Wildman dan Kelley (2007) alasan utama pertumbuhan tersebut adalah makin tingginya populasi manusia dan tuntutan kesehatan. Tingkat harapan hidup makin panjang mendorong makin tingginya populasi, dan berdampak pada makin banyaknya populasi manusia yang berusia lanjut. Tingkat kejadian obesitas atau kegemukan yang makin tinggi menjadi isu global penyebab munculnya berbagai penyakit degeneratif antara lain jantung koroner. Di Amerika Serikat, 62% dari populasi orang dewasa diklasifikasikan sebagai overweight berdasarkan BMI (Body Mass Index) dan setengahnya dikategorikan dalam obesitas. Sebanyak 32% kematian di Amerika Serikat disebabkan oleh penyakit jantung koroner. Peningkatan obesitas di Eropa mencapai 50% dalam sepuluh tahun terakhir (Wildman dan Kelley, 2007).

Secara internasional terdapat peningkatan perhatian pada potensi kesehatan pangan, terutama perhatian pada makanan atau minuman yang tidak hanya berfungsi untuk mensuplai zat-zat gizi, tetapi lebih jauh lagi yaitu untuk menghilangkan suatu pengaruh terhadap fungsi atau proses fisiologis sistematis. Telah diketahui terdapatnya potensi kesehatan pada bahan pangan lebih daripada yang sudah biasa didefinisikan; dan hal ini telah menarik perhatian berbagai golongan masyarakat konsumen, industri

(produsen), pemerintah, ahli kesehatan dan para peneliti biomedis (Head, 1995 dalam Muchtadi, 2012).

Dewasa ini terutama di negara-negara maju, terdapat kecenderungan konsumen dalam mengonsumsi suatu makanan atau minuman, tidak hanya menilai dari segi kandungan zat gizinya serta lezat atau tidaknya suatu produk, tetapi juga mempertimbangkan segi pengaruh makanan tersebut pada kesehatan tubuhnya (Goldberg, 1994 dalam Muchtadi, 2012). Oleh karena itu, nampaknya kini fungsi pangan tidak hanya dua macam tetapi tiga macam. Setelah fungsinya sebagai penyuplai zat-zat gizi bagi tubuh dan memuaskan mulut dengan citarasanya, pangan juga dituntut untuk berfungsi menjaga kesehatan dan kebugaran tubuh (Hoogenkamp, 1994 dalam Muchtadi, 2012), atau menurunkan efek negatif dari suatu penyakit tertentu, dan bahkan kalau mungkin dapat menyembuhkan penyakit tersebut. Dengan demikian pangan tidak hanya harus bernilai gizi tinggi dan enak citarasanya, tetapi juga bersifat fungsional bagi tubuh. Makanan atau minuman dikatakan mempunyai sifat fungsional bila mengandung senyawa (zat gizi atau non-gizi) yang dapat mempengaruhi satu atau sejumlah tertentu fungsi fisiologis dalam tubuh, tetapi yang bersifat positif, sehingga dapat memenuhi kriteria fungsional atau menyehatkan.

Di Amerika Serikat, FDA (*Food and Drug Administration*) mendefinisikan makanan atau minuman sebagai produk yang terutama dikonsumsi karena rasanya, aromanya atau nilai gizinya. Akan tetapi dewasa ini muncul paradigma baru dalam ilmu pangan dan gizi, yaitu apa yang disebut sebagai "pangan fungsional" (*functional foods*). Meskipun semua makanan atau minuman mempunyai fungsi yang berkaitan dengan aroma, rasa atau zat-zat gizi esensial; pangan fungsional mengandung senyawa aktif secara fisiologis (senyawa bioaktif), dan digunakan untuk pencegahan atau penyembuhan sesuatu penyakit, atau untuk mencapai kesehatan tubuh yang optimal (Hasler, 1995 dalam Muchtadi, 2012). Selanjutnya istilah pangan fungsional (*functional foods*) digunakan secara luas untuk mengidentifikasi makanan atau minuman yang mempunyai kemampuan untuk mempengaruhi proses fisiologis, sehingga meningkatkan potensi kesehatan dari makanan atau minuman tersebut

(Head, 1995 dalam Muchtadi,2012). Dalam ilmu kesehatan tradisional Cina, pangan fungsional mempunyai beberapa macam fungsi, misalnya memperbaiki status kesehatan, mencegah timbulnya penyakit dan mengobati penyakit, serta memudahkan rehabilitasi tubuh setelah terserang oleh suatu penyakit (Weng dan Chen, 1995 dalam Muchtadi,2012).

Istilah pangan fungsional (*functional foods*) merupakan nama yang paling dapat diterima semua pihak untuk menggolongkan makanan dan minuman yang mengandung bahan (bahan-bahan) yang diperkirakan atau telah dibuktikan dapat meningkatkan status kesehatan dan mencegah timbulnya penyakit tertentu. Untuk konsumen, istilah lama yaitu *health foods* mungkin lebih menarik dan lebih berarti; namun istilah tersebut tidak dapat digunakan karena pada prinsipnya semua bahan pangan akan menyehatkan tubuh bila dikonsumsi secara baik dan benar. Sebelumnya pernah pula diusulkan beberapa nama lain, misalnya *designer foods*, *phannafoods*, *vitafoods*, dan *nutraceuticals*, namun akhirnya istilah *functional foods* secara internasional digunakan sampai sekarang ini.

Pangan fungsional harus mempunyai tiga fungsi dasar, yaitu: (1) *sensory* (wama dan penampilannya menarik, citarasanya enak), (2) *nutritional* (bernilai gizi tinggi), dan (3) *physiological* (memberikan pengaruh fisiologis menguntungkan bagi tubuh). Fungsi fisiologis dari suatu pangan fungsional antara lain: (a) pencegahan timbulnya suatu penyakit yang berhubungan dengan konsumsi pangan, (b) meningkatkan daya tahan tubuh (*regulating bio defensiveness*), (c) regulasi ritme kondisi fisik tubuh, (d) memperlambat proses penuaan (*aging*), (e) penyehatan kembali (*recovery*) tubuh setelah menderita suatu penyakit tertentu, (f) dan lain-lain.

Para ilmuwan Jepang menekankan pada tiga faktor yang harus dipenuhi oleh suatu produk pangan agar dapat dikategorikan sebagai pangan fungsional, yaitu: (1) produk tersebut harus berupa produk pangan (bukan kapsul, tablet atau serbuk) yang berasal dari bahan (*ingredient*) yang terdapat secara alami, (2) produk tersebut dapat dan selayaknya dikonsumsi sebagai bagian dari menu pangan sehari-hari, dan (3) produk tersebut mempunyai fungsi tertentu pada waktu dicerna, serta

memberikan peran tertentu dalam proses metabolisme di dalam tubuh, misalnya: (a) memperkuat mekanisme pertahanan tubuh, (b) mencegah timbulnya penyakit tertentu, misalnya penyakit kardiovaskuler, kanker, osteoporosis dan berbagai gangguan kesehatan akibat kekurangan zat gizi tertentu, (c) membantu untuk mengembalikan kondisi tubuh setelah terserang penyakit tertentu, (d) menjaga kondisi fisik dan mental, dan (e) memperlambat proses penuaan.

Menurut Muchtadi (2012) bahan-bahan (*ingredient*) yang mempunyai sifat fungsional dibagi menjadi 12 golongan, yaitu: (1) serat pangan, (2) oligosakarida, (3) gula alkohol, (4) peptida dan protein, (5) glukosida, (6) alkohol, (7) isoprenoid, (8) vitamin, (9) kholin, (10) bakteri asam laktat, (11) mineral, dan (12) asam lemak tidak jenuh jamak. Jepang merupakan negara pertama yang mengembangkan dan memasarkan pangan fungsional pada pertengahan tahun 1980-an. Sebagai pemimpin pasar di Jepang adalah Otsuka Pharmaceutical, yang pada tahun 1988 memasarkan *FibeMini*, suatu minuman yang mengandung serat larut, yaitu polidekstroza. Perusahaan ini juga memproduksi *Pocari Sweat*, suatu minuman yang mengandung mineral (elektrolit) dan diperuntukkan bagi olahragawan (Nienaber, 1996 dalam Muchtadi, 2012).

Merancang pangan fungsional didasarkan atas kebutuhan konsumen untuk menunjang kesehatannya, yang kemudian dipadukan dengan pengetahuan mengenai senyawa bioaktif yang terkandung dalam bahan pangan (zat gizi atau zat non-gizi). Selanjutnya pemilihan jenis produk yang akan dibuat, juga didasarkan atas keinginan konsumen (berdasarkan hasil survei pasar dan survei konsumen). Setelah hal-hal tersebut dikuasai, barulah dibuat formula, kemudian dilakukan uji coba produksi (skala laboratorium) dan uji organoleptik. Apabila hal initalah mencapai hasil positif, kemudian dilakukan uji coba produksi dalam Skala yang lebih besar, yang kemudian diikuti oleh pengujian organoleptik oleh konsumen secara luas. Setelah hal-hal tersebut berhasil, akhirnya dilakukan produksi secara komersial.

*Ingredient* yang paling penting dalam hubungan dengan pemasaran pangan fungsional adalah: serat pangan (*dietary fiber*), oligosakarida,

kalsium, zat besi, beta-karoten dan asam lemak DHA (dokosaheksaenoat). *Bikke*, suatu produk dari perusahaan Suntory (Jepang), mengandung bakteri *Bifidus* hidup, mineral dan *whey* (sebagai sumber Ca), oligosakarida, serat pangan dan ekstrak daun teh. pada tahun 1993, industri pangan fungsional di Jepang memfokuskan pada beta-karoten yang digunakan dalam minuman ringan. Kemudian jus wortel diperkenalkan; dan beta-karoten juga ditambahkan ke dalam produk susu, *confectionery* dan roti. Belum lama ini, *functional health teas* dan produk yang mengandung *amaranth* serta *Aloe vera*, juga telah dipasarkan (Nienaber, 1996 dalam Muchtadi,2012).

Di negara-negara Eropa terdapat banyak produk yang telah digunakan secara tradisional karena dipercaya mempunyai khasiat menyehatkan. Contoh yang paling dikenal misalnya bawang putih, *royal jelly*, lesion, dedak gandum dan bermacam-macam tanaman herbal (*herbs*). Produk-produk ini telah sejak lama dijual di toko-toko obat khusus atau *health food stores* dan sekarang telah dijual juga di beberapa pasar swalayan.

Di Indonesia sendiri, beberapa macam produk yang didaftarkan sebagai makanan atau minuman, dapat dikategorikan sebagai pangan fungsional, misalnya: (1) serbuk minuman *ber-flavor* buah-buahan yang diberi tambahan kalsium, beta-karoten, vitamin C dan vitamin E; (2) minuman dari susu terfermentasi yang mengandung strain khusus *Lactobacillus casei* yang dapat tetap hidup setelah melewati lambung (tahan terhadap asam lambung), sehingga dapat menekan pertumbuhan bakteri yang merugikan dalam usus; (3) susu rendah lemak siap konsumsi yang mengandung serat larut; (4) susu bubuk *non-fat* yang diperkaya dengan kalsium; dan (5) serbuk minuman rendah kalori berflavor jeruk atau buah-buahan lain yang mengandung fruktooligosakarida dan serat.

Untuk konsumen, adanya pangan fungsional menguntungkan, karena dapat dilakukan pencegahan terhadap timbulnya berbagai macam penyakit. Pangan fungsional juga dapat berfungsi untuk meningkatkan sistem imun tubuh; serta memperlambat proses penuaan dan meningkatkan penampilan fisik. Pangan fungsional memberikan kesempatan kepada konsumen untuk secara aktif memilih dan mengon-

sumsi produk mengandung *ingredient* yang menguntungkan bagi kesehatan tubuhnya, daripada hanya memfokuskan atau menghindari untuk mengonsumsi pangan tertentu.

Bagi Pemerintah, pangan fungsional juga menguntungkan, karena dapat menurunkan biaya yang diperlukan untuk memelihara kesehatan rakyat yang makin meningkat, seperti apa yang terjadi di Indonesia dewasa ini, serta juga di negara-negara maju seperti Amerika Serikat, Eropa dan Jepang. Untuk industri pangan, pangan fungsional memberikan kesempatan yang tidak terbatas untuk secara inovatif memformulasi produk yang mempunyai nilai tambah, baik bagi masyarakat secara luas maupun untuk segmen masyarakat tertentu. Akan tetapi, agar produk dapat sukses di pasaran, penampilannya harus menarik, rasanya dapat diterima oleh konsumen, dan klaim kesehatan yang disebutkan harus telah dibuktikan secara ilmiah.

Jepang merupakan negara pertama yang membuat peraturan (legislasi) dan prosedur registrasi terhadap *Foods for Specified Health Use (FOSHU)* pada tahun 1991. Kementerian Kesehatan dan Kesejahteraan Jepang mendefinisikan produk pangan fungsional sebagai: "*pangan olahan yang selain bergizi, juga mengandung bahan-bahan (ingredient) yang dapat membantu secara spesifik fungsi tubuh*". *The European Council* telah mengeluarkan peraturan mengenai *Food for Nutritional Uses (PARNUTS)*, yang mengatur Sembilan kategori produk pangan termasuk: susu formula, susu formula *follow up*, makanan bayi, makanan untuk mengontrol berat badan (*weight control foods*), makanan untuk obat (*dietary foods for special medical purposes*), dan makanan untuk atlet. Peraturan di Eropa menetapkan bahwa pelabelan gizi (*nutrition labeling*) merupakan keharusan bila klaim gizi digunakan untuk suatu produk pangan (Nienaber, 1996 dalam Muchtadi, 2012).

Meskipun klaim kesehatan secara eksplisit tidak diijinkan oleh US-FDA, pada bulan Januari 1993 peraturan untuk label makanan mengijinkan adanya klaim kesehatan untuk sejumlah terbatas hubungan antara makanan dengan penyakit, misalnya: kalsium dan osteoporosis, natrium dan hipertensi, lipida dan penyakit jantung koroner, serta lipida dan

penyakit kanker. Di Amerika Serikat pangan fungsional didasarkan pada desain produk, dan dapat termasuk desain *ingredient* yang tidak alami. Karena kegemukan (obesitas) merupakan masalah gizi dan kesehatan yang menonjol, *fat replacer (fat substitute)*, merupakan bahan yang banyak digunakan untuk mengurangi kadar lemak dan kalori dalam makanan. (Nienaber, 1996 dalam Muchtadi, 2012).

Muchtadi (2012) menjelaskan bahwa beberapa keterangan mengenai klaim kesehatan pada produk pangan di Indonesia dapat ditemukan dalam peraturan yang dikeluarkan oleh Ditjen. POM-Depkes (sekarang Badan POM) mengenai Mutu, Pelabelan dan Periklanan Makanan. Dalam peraturan tersebut dinyatakan bahwa: “tidak diperkenankan memuat pernyataan bahwa suatu makanan secara spesifik mempunyai efek menyehatkan, kecuali bila hal ini dapat dibuktikan berdasarkan komposisinya dan jumlah yang secara normal dikonsumsi setiap hari”. Pernyataan ini dapat diinterpretasikan bahwa klaim kesehatan diperbolehkan apabila produk tidak mengandung bahan-bahan yang dapat memberikan efek negatif terhadap kesehatan, dan senyawa yang disebutkan dapat memberikan efek positif bagi kesehatan terdapat dalam jumlah yang cukup. Hal ini harus didukung oleh bukti-bukti secara ilmiah. Di Indonesia tidak diperbolehkan adanya pernyataan bahwa suatu produk pangan dapat menyembuhkan suatu penyakit. Klaim boleh dibuat dalam hubungan dengan gizi, kegemukan, diabetes, tonik dan sifat-sifat restoratif. Sifat tonik tidak boleh disebutkan bila produk pangan mengandung alkohol, gula atau karbohidrat lain, protein atau hidrolisat protein, kafein atau turunan purin lainnya. Peraturan ini berlaku misalnya untuk minuman isotonik, minuman energi dan minuman untuk atlet. Makanan, minuman dan suplemen yang mengandung vitamin atau mineral lebih dari 100% AKG (Angka Kecukupan Gizi) per penyajian, harus didaftarkan sebagai obat (Muchtadi, 2012).

## 5.1 Definisi Dan Prospek Pangan Fungsional

Bahwa pangan dapat memberikan manfaat penyembuhan, bukanlah konsep yang bar-u. Ungkapan “*let food be thy medicine and medicine be thy*

*food*” telah diutarakan 2500 tahun yang lalu oleh Hippocrates, yang kemudian diberi julukan “*the father of medicine*”. Akan tetapi falsafah “*food as medicine*” tersebut pada abad ke 19 mulai ditinggalkan, sejalan dengan berkembangnya obat-obatan sebagai penyembuh penyakit. Selama 50 tahun pertama abad ke 20, ilmu pengetahuan difokuskan pada identifikasi elemen esensial khususnya vitamin, serta peranannya dalam pencegahan berbagai macam penyakit defisiensi (Hasler, 2002 dalam Muchtadi , 2012).

Pada sekitar tahun 1970-an, perhatian para ilmuwan secara dramatis beralih dari masalah “*undernutrition*” ke masalah “*overnutrition*”, seiring dengan berkembangnya penyakit akibat “gizi lebih”. Sejak itu muncul anjuran untuk mengonsumsi makanan rendah lemak jenuh, kaya akan sayuran dan buah-buahan, biji-bijian utuh dan kacang-kacangan, dalam rangka mengurangi risiko timbulnya penyakit kronis seperti penyakit jantung, kanker, osteoporosis, diabetes dan *stroke*. Para ilmuwan juga mulai mengidentifikasi senyawa aktif secara fisiologis baik dari tanaman (*phytochemicals*) maupun hewan (*zoochemicals*), yang berpotensi dapat mengurangi risiko timbulnya berbagai macam penyakit kronis. Kejadian-kejadian tersebut, bersamaan dengan adanya perubahan pandangan masyarakat terhadap kesehatan, perubahan regulasi pangan, serta perkembangan teknologi pangan dan gizi; pada sekitar tahun 1990-an muncullah konsep “pangan menyehatkan” (*health foods*), yang sekarang kita kenal sebagai “pangan fungsional” (*functional foods*) (Hasler, 2002 dalam Muchtadi , 2012).

Dapat dikatakan bahwa semua bahan pangan bersifat fungsional karena memberikan citarasa, aroma dan zat-zat gizi. Akan tetapi banyak kalangan di masyarakat menginginkan bahan pangan tersebut memberikan juga keuntungan fisiologis, yaitu dapat mengurangi risiko timbulnya penyakit kronis atau paling tidak dapat mengoptimalkan kesehatan tubuh. Hal inilah yang mendorong para ahli untuk melakukan penelitian-penelitian mengenai manfaat kesehatan senyawa yang terkandung dalam bahan pangan; yang pada akhirnya memunculkan apa yang disebut sebagai “pangan fungsional”.

Istilah “pangan fungsional” untuk pertama-kalinya diperkenalkan di Jepang pada sekitar tahun 1980-an, mengacu pada pangan olahan mengandung *ingredient* yang selain bernilai gizi juga dapat membantu fungsi-fungsi dalam tubuh. Sampai sekarang, Jepang merupakan satu-satunya negara yang telah menyusun peraturan secara rinci mengenai pangan fungsional (Hasler, 1998 dalam Muchtadi, 2012). Dikenal sebagai “*Food for Specified Health Use*” (FOSHU), pangan tersebut diberi tanda persetujuan (*approval*) dari Kementerian Kesehatan dan Kesejahteraan Jepang, dan diberi label FOSHU (Arai, 1996 dalam Muchtadi, 2012).

Di Amerika Serikat, kategori pangan fungsional tidak dikenal secara legal. Akan tetapi beberapa organisasi telah mengajukan definisi untuk area ilmu pangan dan gizi yang baru muncul ini. *The Institute of Medicine's Food & Nutrition Board* (IOM/NAS, 1994 dalam Muchtadi, 2012), mendefinisikan pangan fungsional sebagai “setiap pangan atau *ingredient* pangan yang dapat memberikan keuntungan kesehatan di luar manfaat zat-zat gizi yang dikandungnya”. *The International Life Sciences Institute* (ILSI), mendefinisikan pangan fungsional sebagai “pangan yang karena mengandung senyawa yang aktif secara fisiologis, dapat memberikan keuntungan kesehatan di luar zat-zat gizi dasar” (ILSI, 1999 dalam Muchtadi, 2012). *The American Dietetic Association* (ADA), mendefinisikan pangan fungsional sebagai “pangan yang dapat berbentuk utuh (*whole*), diperkaya (*enriched*), difortifikasi (*fortified*), atau ditingkatkan (*enhanced*) nilai gizinya”, tetapi juga ditekankan bahwa “pangan fungsional harus dikonsumsi sebagai bagian makanan sehari-hari, pada dosis efektif”, agar konsumen dapat memperoleh keuntungan kesehatan dari padanya (ADA, 1999 dalam Muchtadi, 2012).

Dari definisi pangan fungsional oleh *Vic American Dietetic Association*, yang dimaksud dengan “*whole foods*” adalah bahan pangan alami misalnya sayuran, buah-buahan, biji-bijian, kacang-kacangan dan lain-lain yang secara alami mengandung senyawa fitokimia (*phytochemicals*) yang dapat memberi manfaat kesehatan. Biji-bijian (misalnya gandum) apabila diolah menjadi terigu akan kehilangan beberapa macam zat gizi (vitamin dan mineral); yang dimaksud dengan “*enriched*” adalah penambahan kembali

vitamin dan mineral pada terigu dalam jumlah yang sebanding dengan yang hilang selama pengolahan gandum menjadi terigu. Difortifikasi (*fortified*) adalah penambahan zat gizi yang sebelumnya tidak terdapat dalam bahan pangan tersebut, misalnya penambahan kalsium (Ca) pada sari buah jeruk. Sedangkan yang dimaksud dengan "*enhanced*" adalah penambahan *ingredient* pada suatu bahan pangan yang bukan berupa vitamin atau mineral, misalnya diberi tambahan herbal.

Istilah lain yang sering digunakan bersama-sama dengan pangan fungsional, adalah "*nutraceuticals*", meskipun istilah ini kurang dapat dimengerti oleh konsumen. Istilah *nutraceuticals* untuk pertama-kalinya diungkapkan oleh *The Foundation for Innovation in Medicine* pada tahun 1991, untuk semua senyawa bioaktif yang memberikan keuntungan bagi kesehatan (Hasler, 1998 dalam Muchtadi, 2012). Zeisel (1999) dalam Muchtadi, (2012) membedakan pangan utuh dengan komponen hasil isolasi dari pangan tersebut, dan mendefinisikan *nutraceuticals* sebagai "suplemen mengandung senyawa bioaktif yang diperoleh dari bahan pangan dalam bentuk terkonsentrasi, disajikan bukan dalam bentuk pangan (misalnya dalam bentuk pil/tablet, kapsul atau serbuk) dan digunakan untuk meningkatkan kesehatan dalam dosis yang melebihi jumlah yang biasa dapat diperoleh dari pangan tersebut".

Menurut Roberfroid (1999) dalam Muchtadi, (2012), suatu bahan pangan dapat digolongkan sebagai "pangan fungsional" bila memenuhi salah satu atau kedua kriteria berikut ": (1) mengandung senyawa (zat gizi atau non-gizi) yang mempengaruhi satu atau sejumlah terbatas fungsi dalam tubuh, yang diartikan sebagai efek positif (Bellisle, 1998 dalam Muchtadi, 2012); dan (2) memberikan efek fisiologis atau psikologis di luar efek nutrisi seperti biasanya (Clydesdale, 1997 dalam Muchtadi, 2012). Secara kolektif, pangan fungsional harus memberikan efek yang menguntungkan bagi kesehatan dan/atau penurunan risiko timbulnya penyakit.

Senyawa yang membuat suatu bahan pangan menjadi "fungsional" dapat berupa makronutrien apabila dapat memberikan efek fisiologis spesifik (misalnya pati resistens atau asam lemak omega-3), maupun

mikronutrien esensial (vitamin atau mineral) apabila dikonsumsi per hari dalam jumlah lebih besar dari yang direkomendasikan (Angka Kecukupan Gizi, AKG). sebagai tambahan, bahan tersebut dapat juga berupa senyawa yang tidak mempunyai nilai gizi (misalnya oligosakarida, serat), bahkan dapat juga berupa bahan non-gizi (misalnya mikroorganisme atau senyawa kimia tanaman) (Roberfroid, 1999 dalam Muchtadi, 2012)).

Suatu bahan pangan “biasa” dapat diubah menjadi produk “pangan fungsional” melalui cara-cara sebagai berikut (Roberfroid, 1999 dalam Muchtadi, 2012):

1. Meningkatkan konsentrasi senyawa alami hingga mencapai suatu level yang dapat menginduksi pengaruh yang diinginkan [misalnya fortifikasi dengan mikro-nutrien hingga mencapai level konsumsi harian yang lebih tinggi daripada yang direkomendasikan, tetapi sesuai dengan petunjuk untuk mencegah timbulnya suatu penyakit (Block, 1993 dalam Muchtadi, 2012), atau dengan cara meningkatkan senyawa non-gizi, apabila terdapat data hasil penelitian yang mendukung bahwa senyawa tersebut memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan.
2. Menambahkan senyawa yang secara normal tidak terdapat dalam bahan pangan tersebut, tetapi telah dibuktikan bahwa senyawa tersebut memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan (misalnya antioksidan non-vitamin atau fruktan yang berfungsi sebagai prebiotik).
3. Mengganti komponen, umumnya makronutrien yang biasa dikonsumsi secara berlebihan sehingga memberikan efek merugikan pada tubuh (misalnya lemak atau minyak) dengan suatu senyawa yang telah terbukti dapat memberikan efek menguntungkan, misalnya dengan inulin *chicory* sebagai “*Rafticreme*” (Franck-Frippiat, 1993 dalam Muchtadi, 2012), atau bahan pengganti lemak (*fat replacer*) lain.
4. Meningkatkan ketersediaan (bioavailabilitas) senyawa tertentu dalam bahan pangan yang telah terbukti dapat memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan. Perlu ditekankan di sini bahwa bukti

“efek menguntungkan” tersebut harus didasari oleh pembuktian secara ilmiah.

Menurut *the Department of Health & Human Services (USA)*, konsumsi pangan mempunyai peranan dalam timbulnya 5 dari 10 macam penyakit penyebab kematian, termasuk penyakit jantung koroner, beberapa jenis kanker, stroke, diabetes tipe 2 (*non-insulin dependent*) dan aterosklerosis. Pola konsumsi pangan berkaitan dengan penyebab utama kematian di Amerika Serikat dan negara-negara maju lainnya, yang dikarakterisasi dengan relatif tingginya konsumsi lemak jenuh, kolesterol, natrium dan gula (*refined sugar*); serta relatif rendahnya konsumsi lemak tidak jenuh, biji-bijian, kacang-kacangan, sayuran dan buah-buahan (Roberfroid, 1999 dalam Muchtadi, 2012). Banyak hasil penelitian menunjukkan bahwa konsumsi pangan tertentu atau senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya berhubungan dengan penurunan risiko timbulnya penyakit (Hasler, 1998 dalam Muchtadi, 2012).

Sejumlah penelitian sedang dilaksanakan di seluruh dunia, dengan tujuan untuk lebih mengenal dan mengerti apa yang dimaksud dengan pangan fungsional. Akademisi, pemerintah dan lembaga penelitian swasta di seluruh dunia sedang berupaya untuk mengidentifikasi bagaimana pangan fungsional dan *ingredient* pangan dapat membantu mencegah timbulnya penyakit kronis atau mengoptimalkan kesehatan, sehingga akan menurunkan biaya kesehatan dan meningkatkan kualitas hidup masyarakat (Hasler, 2002 dalam Muchtadi, 2012).

Salah satu disiplin ilmu yang nampaknya akan mempengaruhi masa depan pangan fungsional adalah “*nutrigenomics*”, yang menyelidiki hubungan (interaksi) antara makanan yang dikonsumsi dan perkembangan penyakit, yang didasarkan atas profil genetik individu (Fogg-johnson dan Meroli, 2000 dalam Muchtadi, 2012). Sekuen genom manusia secara keseluruhan telah selesai dikerjakan pada tahun 2001 (The Cetera Genomics Sequencing Team, 2001 dalam Muchtadi, 2012). Dengan terobosan teknologi tersebut dimungkinkan untuk mengatur konsumsi pangan sesuai dengan profil genetik seseorang. Nutrigenomics akan memberikan pengaruh yang mendasar bagi usaha-usaha pencegahan

timbulnya penyakit termasuk industri pangan fungsional (Hasler, 2002 dalam Muchtadi , 2012).

Teknologi lain yang akan sangat mempengaruhi masa depan pangan fungsional adalah bioteknologi (Gura, 1999 dalam Muchtadi , 2012). Contoh produk bioteknologi yang akan muncul di pasaran masa depan adalah “*Golden Rice*” dan “*Iron fortified Rice*” (Institute of Food Technologists, 2000 dalam Muchtadi, 2012). Biji-bijian tersebut diperoleh melalui rekayasa genetik untuk mendapatkan beras dengan kadar karoten dan zat besi yang tinggi, sehingga dapat mencegah anemia gizi besi dan kekurangan vitamin A yang dapat menimbulkan kebutaan, di seluruh dunia. Dengan bioteknologi tersebut, di masa depan dimungkinkan untuk menghasilkan produk-produk pangan lainnya yang diperkaya dengan senyawa zat gizi maupun nongizi, yang bermanfaat untuk mencegah timbulnya berbagai macam penyakit kronis, misalnya penyakit jantung, osteoporosis atau kanker (Falk dkk., 2002 dalam Muchtadi , 2012).

## 5.2 Klaim Kesehatan dan Keamanan Pangan Fungsional

Klaim kesehatan pangan fungsional harus berdasarkan bukti-bukti ilmiah yang dapat dipertanggung-jawabkan. Pada Tabel 5.1 disajikan contoh kriteria bukti ilmiah beberapa macam pangan fungsional dan konvensional di Amerika Serikat, sedangkan pada Tabel 5.2 disajikan contoh klaim kesehatan yang telah disetujui oleh US-FDA. Pangan yang telah mendapat persetujuan klaim kesehatan dari US-FDA (misalnya sterol/stanol, *oats*, *psyllium*, kedelai) umumnya didukung oleh 2 lusin atau lebih penelitian Minis yang telah dipublikasikan. Sebagai contoh, petisi klaim kesehatan untuk kedelai didukung oleh lebih dari 40 penelitian klinis, sedangkan untuk jus *cranberry* dalam hubungan dengan infeksi saluran kemih hanya didukung oleh beberapa uji klinis (Hasler, 2002 dalam Muchtadi , 2012).

Untuk kesehatan jantung. *American Heart Association* merekomendasikan konsumsi ikan berlemak sebanyak 2 sajian per minggu (Krauss dkk., 2000 dalam Muchtadi , 2012). US-FDA memberikan izin untuk klaim kesehatan suplemen pangan yang menghubungkan antara konsumsi asam lemak omega-3 EPA dan DHA dengan penurunan risiko timbulnya

penyakit jantung koroner (US-FDA, 2002 dalam Muchtadi , 2012). Klaim kesehatan tersebut berbunyi: “konsumsi asam lemak omega-3 dapat menurunkan risiko timbulnya penyakit jantung koroner”.

FDA mengevaluasi bukti-bukti mengenai klaim kesehatan tersebut dan menyatakan bahwa meskipun terdapat bukti ilmiah yang mendukung klaim, namun bukti tersebut tidak konklusif. FDA mempertimbangkan keamanan konsumsi asam lemak omega-3 bila dikonsumsi dalam jumlah tinggi, antara lain: (1) meningkatkan waktu pendarahan (*bleeding times*), (2) meningkatnya risiko terjadinya stroke yang disertai dengan perdarahan (*hemorrhagic stroke*), (3) pembentukan produk hasil oksidasi asam lemak omega-3 yang dapat aktif secara biologis, (4) meningkatnya oksidasi LDL, dan (5) menurunnya kontrol glisemik pada penderita diabetes. Pada akhirnya FDA menyimpulkan bahwa konsumsi suplemen pangan yang mengandung asam lemak omega-3 (EPA- dan DHA) dianggap aman asalkan tidak melebihi 2 g per hari (US-FDA, 2002 dalam Muchtadi , 2012).

**Tabel 5.1.** kriteria bukti ilmiah pangan fungsional dan konvensional serta suplemen pangan yang beredar di pasaran Amerika Serikat

Pangan Fungsional	Komponen Bioaktif	Manfaat Kesehatan	Jenis Bukti Ilmiah	“Kekuatan” Bukti Ilmiah	Rekomendasi Konsumsi	Status Regulasi
Margarin difortifikasi	Ester sterol dan stanol tanaman	Menurunkan kadar kolesterol total dan LDL	Uji klinis	Sangat kuat	1.3 g sterol/hari 1.7 g stanol/hari	Klaim kesehatan
Psyllium	Serat pangan	Menurunkan kadar kolesterol total dan LDL	Uji klinis	Sangat kuat	1 g/hari	Klaim kesehatan
Kedelai	Protein	Menurunkan kadar kolesterol total dan LDL	Uji klinis	Sangat kuat	25 g/hari	Klaim kesehatan
Produk oat penuh	$\beta$ -glukan	Menurunkan kadar kolesterol total dan LDL	Uji klinis	Sangat kuat	3 g/hari	Klaim kesehatan

Pangan Fungsional	Komponen Bioaktif	Manfaat Kesehatan	Jenis Bukti Ilmiah	"Kekuatan" Bukti Ilmiah	Rekomendasi Konsumsi	Status Regulasi
Jus cranberry	Proantosianidin	Mengurangi infeksi saluran kemih	Sejumlah kecil uji klinis	Moderat	300 ml/hari	Pangan konvensional
Ikan berlemak	Asam lemak omega-3	Menurunkan kadar TG, mengurangi resiko kematian akibat penyakit jantung, fatal dan non-fatal infarisk miokardial	Uji klinis dan penelitian epidemiologis	Kuat	2 kali per minggu	Klaim kesehatan untuk suplemen pangan
Bawang putih	Senyawa belerang organik	Menurunkan kadar kolesterol total dan LDL	Uji klinis	Moderat	600-900 mg/hari	Pangan konvensional atau suplemen pangan
The hijau	Kafein	Mengurangi resiko timbulnya kanker tertentu	Epidemiologis	Lemah smp moderat	Ti diketahui	Pangan konvensional
Bayam, kale, collard greens	Lutein, zeaxantin	Mengurangi resiko degenerasi penglihatan akibat penuaan	Epidemiologis	Lemah smp moderat	6mg/hari	Pangan konvensional atau suplemen pangan
Tomat dan produk olahan tomat	Likopen	Mengurangi resiko kanker prostat	Epidemiologis	Lemah smp moderat	Setiap hari	Pangan konvensional
Daging sapi, kambing, kalkun, produk susu	CLA	Mengurangi resiko kanker payudara	Poenelitian in vitro dan in vivo	Lemah	Tidak diketahui	Pangan konvensional
Sayuran cruciferae	Glukosinola, indol	Mengurangi resiko kanker tertentu	Epidemiologis	Lemah	≥ 3 sajian per minggu	Pangan konvensional

Pangan Fungsional	Komponen Bioaktif	Manfaat Kesehatan	Jenis Bukti Ilmiah	"Kekuatan" Bukti Ilmiah	Rekomendasi Konsumsi	Status Regulasi
Susu fermentasi	Probiotik	Meningkatkan kesehatan saluran cerna, membantu memperbaiki sistem imun	Penelitian in vitro dan in vivo, uji klinis terbatas	Lemah	Setiap hari	Pangan konvensional atau suplemen pangan

Sumber : Hasler (2002) dalam Muchtadi (2012)

Meskipun terdapat bukti bahwa pangan fungsional atau *ingredient* pangan tertentu dapat berperan untuk mencegah timbulnya penyakit dan peningkatan kesehatan, namun untuk keamanannya bagi konsumen perlu mendapat perhatian serius. Masalah keamanan pangan tersebut terutama menyangkut penambahan berbagai macam herbal atau "botanicals", yang disertai dengan berbagai macam pernyataan untuk menarik konsumen, misalnya *alami (natural)*, "*back to nature*", "*go green*" dan sebagainya. Perlu ditekankan bahwa senyawa alami belum tentu aman untuk dikonsumsi.

**Tabel 5.2.** Hubungan antara pangan dengan penyakit serta klaim kesehatan yang diizinkan oleh US-FDA

Hubungan antara Pangan dengan Penyakit	Contoh Klaim Kesehatan
Kalsium dengan osteoporosis	Olahraga teratur dan konsumsi pangan menyehatkan dengan kandungan kalsium yang cukup dapat menolong wanita remaja dan dewasa untuk mempertahankan kesehatan tulang dan menurunkan risiko menderita osteoporosis
Natrium dengan hipertensi	Dapat menolong wanita remaja dan dewasa untuk mempertahankan kesehatan tulang dan menurunkan risiko menderita osteoporosis
Lemak pangan dengan kanker	Berkembangnya kanker tergantung pada banyak faktor. Konsumsi pangan rendah Lemak dapat menurunkan risiko timbulnya beberapa macam kanker
Lemak jenuh dan kolesterol	Banyak faktor menyebabkan timbulnya

Hubungan antara Pangan dengan Penyakit	Contoh Klaim Kesehatan
dengan penyakit jantung koroner	penyakit jantung; konsumsi pangan rendah Lemak jenuh dan kolesterol dapat menurunkan risiko mengidap penyakit ini
Produk biji-bijian, sayuran dan buah-buahan mengandung serat dengan kanker	Konsumsi pangan rendah Lemak dan kaya akan serat pangan yang terdiri dari biji-bijian, sayuran dan buah-buahan dapat menurunkan risiko timbulnya beberapa jenis kanker, suatu penyakit yang berhubungan dengan banyak factor
Sayuran, buah-buahan dan biji-bijian yang mengandung serat, terutama serat larut dengan penyakit jantung koroner	Konsumsi pangan rendah lemak kaya akan sayuran dan buah-buahan serta produk biji-bijian yang mengandung beberapa jenis serat pangan dapat menurunkan risiko timbulnya penyakit jantung, suatu penyakit yang berhubungan dengan banyak faktor
Sayuran dan buah-buahan dengan kanker	Konsumsi pangan rendah lemak kaya akan sayuran dan buah-buahan dapat menurunkan risiko timbulnya beberapa jenis kanker, suatu penyakit yang berhubungan dengan banyak faktor
Asam folat dengan kelainan tabung syaraf pada waktu dilahirkan	Konsumsi pangan menyehatkan dengan asupan folat harian yang cukup dapat menurunkan risiko pada ibu hamil melahirkan bayi dengan kelainan otak dan tabung syaraf
Gula alkohol dengan karies gigi ( <i>dental caries</i> )	Seringnya konsumsi pangan kaya akan gula dan pati seperti makanan selingan dapat menyebabkan kerusakan pada gigi. Gula alkohol (nama produk) yang digunakan sebagai pemanis makanan tersebut dapat menurunkan risiko timbulnya karies gigi( <i>dental caries</i> )
Pangan yang mengandung produk <i>oats</i> utuh ( <i>whole oats</i> ) dengan penyakit jantung koroner	Konsumsi pangan rendah Lemak dan kolesterol yang disertai dengan serat larut dari <i>oats</i> utuh ( <i>whole oats</i> ) dapat menurunkan risiko timbulnya penyakit jantung
Pangan yang mengandung serat dari <i>Psyllium</i> dengan penyakit jantung koroner	Konsumsi pangan rendah lemak dan kolesterol yang disertai dengan serat larut dari <i>Psyllium seed husk</i> penuh ( <i>whole oats</i> ) dapat menurunkan risiko timbulnya penyakit jantung

Hubungan antara Pangan dengan Penyakit	Contoh Klaim Kesehatan
Protein kedelai dengan penyakit jantung koroner	Konsumsi pangan rendah Lemak dan kolesterol yang disertai dengan 25 g protein kedelai per hari dapat menurunkan risiko timbulnya penyakit jantung. Satu sajian nama produk) dapat mensuplai 6,25 g protein kedelai
Ester sterol/stanol tanaman dengan penyakit jantung coroner	Sterol tanaman:
Kalium dengan tekanan darah dan stroke	Konsumsi pangan sumber kalium yang baik dan rendah natrium dapat menurunkan resiko timbulnya tekanan darah tinggi dan stroke
Biji-bijian utuh dengan penyakit jantung dan kanker	Konsumsi pangan kaya akan biji-bijian utuh serta pangan nabati lain, rendah dalam jumlah lemak total, lemak jenuh dan kolesterol dapat menurunkan resiko timbulnya penyakit jantung dan kanker.

Sumber: Muchtadi (2012)

Contoh yang paling mendapat perhatian adalah kasus *St John's wort* suatu herbal populer yang digunakan untuk mengobati depresi ringan. Ekstrak *Hypericuni perforatum* yang terdapat dalam *St John's wort* secara nyata meningkatkan aktivitas metabolik enzim sitokrom P450 dalam hati. Enzim tersebut dapat menginaktifkan beberapa macam obat, sehingga akan menurunkan kadar dan aktivitasnya dalam tubuh. Konsumsi *St John's wort* diketahui dapat menurunkan konsentrasi *theophylline*, *cyclosporine*, *warfarin* dan *ethinylestradiol / desogestrel* suatu pil KB dalam plasma (Greeson dkk., 2001 dalam Muchtadi , 2012). Berdasarkan data tersebut, *St John's wort* telah dilarang untuk dikonsumsi di Amerika Serikat maupun Kanada (Hasler, 2002 dalam Muchtadi , 2012).

### 5.3 Potensi Kacang Kacangan Sebagai Pangan Fungsional

Banyak bukti, baik yang berasal dari studi epidemiologis maupun penelitian-penelitian *in vitro* dan *in vivo* serta percobaan klinis, mengindikasikan bahwa konsumsi pangan yang berasal dari tanaman

dapat mengurangi risiko timbulnya penyakit kronis, terutama kanker. Block dkk. (1992) dalam Muchtadi (2012) berdasarkan 200 buah studi epidemiologis memperlihatkan bahwa risiko timbulnya penyakit kanker pada masyarakat yang mengonsumsi sayuran dan buah-buahan dalam jumlah tinggi hanya sekitar setengahnya dibandingkan dengan masyarakat yang kurang mengonsumsi bahan pangan tersebut. Dari data tersebut, terindikasikan bahwa dalam bahan pangan nabati terkandung senyawa lain selain zat-zat gizi, yang dapat mengurangi risiko timbulnya penyakit kanker tersebut. Steinmetz dan Potter (1991) dalam Muchtadi (2012) mengidentifikasi lebih dari selusin kelas bahan kimia yang terkandung dalam tanaman dan dapat aktif secara biologis, yang sekarang dikenal sebagai senyawa fitokimia.

Perkembangan produk olahan kacang-kacangan dewasa ini dan masa yang akan datang memfokuskan pada pemanfaatan komponen aktif yang terkandung dalam kacang-kacangan sebagai sumber pangan fungsional. Komponen-komponen yang saat ini sudah dikembangkan baru terbatas diperoleh dari kedelai yaitu protein dan isoflavan, komponen lain yang berpotensi untuk dikembangkan adalah oligosakarida, phytate, saponin, dan trypsin inhibitor. Komponen-komponen aktif yang terkandung dalam kacang-kacangan selain kedelai belum banyak diungkap.

Telah diketahui sejak sekitar 60 tahun yang lalu bahwa penggantian protein hewani dengan protein kedelai dapat menurunkan hyperlipoproteinemia dan atherosklerosis (Meeker dan Kesten, 1941 dalam Clarkson, 2002). Penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa tikus yang diberi pakan kasein mengalami peningkatan konsentrasi kolesterol, trigliserida, oksidasi lipoprotein, dan area luka atherosklerosis. Hal yang berlawanan terjadi pada pemberian pakan protein kedelai, yaitu terjadi penurunan konsentrasi peroksida lipid dan kolesterol dari fraksi beta-VLDL dan LDL, dan juga penurunan area luka atherosklerosis. Oleh karena itu, protein kedelai dapat dikatakan memiliki pengaruh yang menguntungkan terhadap pencegahan perkembangan atherosklerosis (Damasceno dkk., 2001). Mekanisme pencegahan protein kedelai terhadap atherosklerosis

ternyata berkaitan dengan penurunan plasma lipid, lipoprotein, dan oksidasi LDL.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa diet protein kedelai pada manusia dapat menurunkan LDL kolesterol sekitar 13% dan plasma trigliserida sekitar 10%, serta meningkatkan HDL kolesterol (Anderson, dkk., 1995 dalarn Clarkson, 2002). Penelitian yang lain juga menunjukkan bahwa konsumsi protein kedelai berkaitan dengan penurunan total kolesterol, LDL kolesterol, dan trigliserida berturut-turut sebesar 9,3%, 12,9% dan 10,5%. Sedangkan peningkatan HDL kolesterol tidak nyata (2,4%) (Arliss dan Biermann, 2002).

Selama periode 1970 sampai 1980 telah diteliti pengaruh komposisi asam amino terhadap plasma lipid dan lipoprotein. Percobaan pada kelompok kelinci yang diberi pakan casein dan kelompok kelinci lain diberi campuran asam amino casein (sebanyak dua kalinya), ternyata memberikan konsentrasi kolesterol plasma yang sama. Hasil serupa juga diamati pada percobaan menggunakan kelinci yang diberi pakan protein kedelai dan kelompok lainnya diberi asam amino dengan komposisi sama dengan protein kedelai. Pemberian protein kedelai ternyata justru lebih menurunkan kolesterol plasma dibandingkan campuran asam amino. Hal ini menunjukkan bahwa ada komponen lain dari protein kedelai (selain asam amino) yang bersifat hipokolesterolemik (Huff dkk., 1977 dalam Clarkson, 2002).

Penelitian terakhir ternyata memberikan hasil yang berbeda, yaitu konsentrasi asam amino khususnya arginin dan glisin memengaruhi kolesterol dan kedua asam amino tersebut bersifat hipokolesterolemik. Selanjutnya diketahui bahwa rasio arginin/lisin juga berperan penting dalam mengontrol level kolesterol (Sanchez dan. Hubbart, 1991 dalam Damasceno dkk., 2000). Rasio arginin/lisin pada diet SPI (1,57) lebih tinggi dari pada CAS (1,22). Tabel 5.3. menunjukkan bahwa beberapa asam amino berkaitan dengan kadar kolesterol yang tinggi seperti isoleusin, leusin, lisin dan valin, sedangkan asam amino arginin dan glisin berkaitan dengan level kolesterol yang rendah (Damasceno dkk., 2000). Perbedaan komposisi asam amino tersebut menyebabkan pemberian pakan CAS menghasilkan

kadar kolesterol LDL yang lebih tinggi dibandingkan SPI. Peningkatan kadar kolesterol LDL oleh CAS dibandingkan SPI juga melalui mekanisme peningkatan absorpsi kolesterol pada usus (Beyners dkk., 1983 dalam Damasceno dkk., 2000) dan *down-regulation receptor apolipoprotein B/E* pada sel (Vahoney dkk., 1985 dalam Damasceno dkk., 2000).

Penelitian yang dilakukan Balmir dkk. (1996) dalam Clarkson (2002) menunjukkan bahwa ada komponen lain yang berperan dalam penurunan kolesterol yaitu isoflavon (phytoestrogen) yang merupakan komponen tidak terekstrak menggunakan etanol. Pada percobaan tersebut tikus yang diberi pakan casein yang ditambah isoflavon, kedelai yang ditambah isoflavon, dan protein kedelai yang diekstraksi dengan etanol dapat menurunkan LDL kolesterol dibandingkan pakan kasein. Penelitian lain juga menunjukkan bahwa kombinasi protein kedelai dengan isoflavon sebagai pakan kera dapat menurunkan 30-40% kolesterol dan kolesterol HDL meningkat 50% (Arliss dan Biermann, 2002).

**Tabel 5.3.** Konsentrasi asam amino (g/kg protein), diet kasein (CAS), dan isolate protein kedelai (SPI)

Asam Amino	CAS	SPI
Alanine	48,30	36,10
Argimin (b)	71,50	105,70
Asam aspartat	113,30	70,40
Sistin	0,00	0,00
Asam glutamat	215,80	209,80
Glisin (b)	47,70	28,20
Histidin	26,80	29,60
Isoleusin (a)	50,00	46,90
Leusin (a)	84,20	85,20
Lisin (a)	58,80	67,20
Metionin	16,50	9,70
Fenilalanin	54,90	46,40
Profin	64,40	95,00
Serin	42,20	39,80
Treonin	34,60	33,10

Asam Amino	CAS	SPI
Tirosin	20,80	27,50
Valin (a)	57,00	60,80
Rasio asam amino hiper/ hipokolesterolemik	2,10	1,90
Rasio arginine/lisin	1,22	1,57

Sumber: Damasceno dkk., 2000

Keterangan : a = asam amino yang berhubungan dengan level kolesterol tinggi dalam sirkulasi darah

b = asam amino yang berhubungan dengan level kolesterol rendah dalam sirkulasi darah

Tikkanen dkk. (1998) dalam Clarkson (2002) mengemukakan bahwa pemberian protein kedelai mampu menghambat oksidasi LDL sekitar 20 menit. Hal ini juga ditunjukkan oleh Damasceno dkk. (2000), yaitu kelinci yang diberi pakan isolate protein kedelai (SPI) Mengandung produk oksidasi lipid pada LDL (phosphatidil, kolesterol ester dan trilinolein hidroperoksida) yang lebih rendah dibandingkan yang diberi pakan kasein (CAS). Adanya produk oksidasi LDL dalam plasma menyebabkan terbentuknya senyawa antibodi karena produk oxLDL bersifat sangat beracun. Pemberian SPI menyebabkan kandungan antibodi lebih rendah daripada CAS. Selain itu pemberian pakan CAS pada kelinci mengakibatkan timbul perser luka atherosklerosis yang lebih besar baik volume maupun luasnya dibandingkan pakan SPI (Damasceno dkk., 2000).

Senyawa lain dalam kedelai yang ikut berperan dalam mencegah oksidasi adalah isoflavon. Resisted LDL terhadap oksidasi ternyata secara nyata lebih tinggi pada kedelai yang ditambah isoflavon dibandingkan tanpa ditambah isoflavon (Wiseman dkk, 2000 dalam Clarckson. 2002). Selain itu kedelai berkulit hitam (*black soybean*) juga mengandung antioksidan seperti glutathione (GSH), genistein, dan vitamin E yang telah diketahui memiliki kemampuan penghambatan oksidasi LDL. Penelitian yang dilakukan oleh Shih dkk. (2002) menunjukkan bahwa produk olahan kedelai hitam, yaitu tofu masih memiliki aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan kedelai

hitam varietas *yellow cotylendon* lebih tinggi daripada varietal *green cotylendon*.

Kedelai merupakan sumber isoflavon yang lain meliputi aglycones, genistein, dan daidzein. Senyawa-senyawa ini telah diteliti memiliki kemampuan sebagai anti kanker. Penurunan resiko terjadinya kanker pada manusia yang mengonsumsi kedelai disebabkan oleh adanya kontribusi dari isoflavon. Komponen-komponen lain yang ikut memberi kontribusi sebagai senyawa dengan aktivitas anti karsinogenik adalah phytosterol, phytate, saponin, dan trypsin inhibitor.

Trypsin inhibitor (TI) juga merupakan senyawa yang bersifat hipoglisemik, yaitu memiliki kemampuan menurunkan gula darah (Noor dkk., 2000). Terbentuknya kompleks TI-enzim tripsin dalam pencernaan dapat memacu kerja pankreas untuk sekresi enzim pankreatik, seperti enzim tripsin, khimotripsin, amilase, dan elastase, (Holm dkk., 1992; Reseland dkk., 1996). Peningkatan sekresi enzim pankreatik tersebut ternyata diikuti dengan peningkatan hormon cholecystokinin (CCK) (Reseland dkk., 1996). Hormon CCK merupakan salah satu hormon intestinal yang dapat memacu sekresi hormon insulin (Ganong, 1998). Menurut Noor (1998), peningkatan kerja pankreas tersebut akan mengakibatkan peningkatan produksi insulin sebagai salah satu hormon pankreatik yang dibutuhkan dalam metabolisme karbohidrat.

TI telah diteliti memiliki kemampuan meningkatkan sekresi insulin secara *in vitro* (Krissetiana, 2000; Noor dkk., 2000). Penelitian yang membuktikan bahwa TI kedelai dapat digunakan untuk terapi diabetes secara *in vitro* memang belum ada, namun penggunaan di-(2s,3s)-2-amino-3-methyl-pentanoic-1,3-thiazolidine fumarate (dipeptidyl peptidase IV inhibitor/DP IV inhibitor) telah terbukti dapat menormalkan level insulin pada tikus yang diinduksi diabetes dengan streptozotocin/STZ (Pospisilik dkk., 2003). TI kedelai dan DP IV inhibitor merupakan inhibitor yang dikelompokkan dalam serin protease inhibitor (Whitaker, 1997 dan Pospisilik dkk., 2003).

Kedelai telah dikenal karena mengandung protein dan lemak dalam jumlah tinggi dan juga bernilai gizi tinggi, tetapi sekarang kedelai juga dikenal karena dapat berperan dalam mencegah timbulnya berbagai macam penyakit seperti kardiovaskuler (CVD), kanker, osteoporosis dan meringankan gejala menopause (Hasler, 1998 dalam Muchtadi, 2012). Efek penurunan kadar kolesterol akibat konsumsi protein kedelai, merupakan efek fisiologis yang paling banyak diteliti. Suatu *meta-analysis* dari 38 buah penelitian terpisah yang melibatkan sekitar 743 orang subyek, menunjukkan bahwa konsumsi protein kedelai secara nyata dapat menurunkan kadar kolesterol total (sebanyak 9,3%), kadar LDL (sebanyak 12,9%) dan trigliserida (sebanyak 10,5%), disertai dengan sedikit (tidak nyata) kenaikan kadar HDL (sebanyak 2,4%) (Anderson dkk., 1995 dalam Muchtadi, 2012). Analisis regresi Tinier mengindikasikan bahwa *threshold level* konsumsi protein kedelai agar terjadi efek yang nyata terhadap lipida darah adalah sebanyak 25 g per hari (Hasler, 1998 dalam Muchtadi, 2012).

Dalam mencari senyawa spesifik kedelai yang berperan dalam menurunkan kadar kolesterol darah, perhatian difokuskan pada isoflavon (Potter, 1998 dalam Muchtadi, 2012). Akan tetapi dua penelitian lain menunjukkan bahwa isoflavon kedelai tidak efektif menurunkan kadar kolesterol dalam darah (Hodgson dkk., 1998; Nestle dkk., 1997 dalam Muchtadi, 2012). Mekanisme yang pasti mengenai daya hipokolesterolemik kedelai belum dapat diungkapkan secara jelas. Pada tanggal 4 Mei 1998, *Protein Technologies International (PTI, St Louis, Mo)* mengajukan petisi kepada *US-FDA* tentang klaim kesehatan produk pangan mengandung protein kedelai untuk mengurangi risiko timbulnya penyakit jantung koroner. Berdasarkan dosis efektif sebanyak 25 g protein kedelai per hari, *PTI* menyatakan bahwa jumlah protein kedelai untuk mengkualifikasi suatu produk pangan dapat mencantumkan klaim kesehatan adalah bila mengandung minimum 6,25 g protein kedelai per sajian, dan mengandung minimum sebanyak 12,5 mg isoflavon total per sajian. Pada tanggal 12 Agustus 1998, *US-FDA* dapat menerima petisi tersebut, dan kemudian menyusun peraturan legal-nya (Hasler, 1998 dalam Muchtadi, 2012).

Beberapa kelas senyawa antikarsinogen telah diidentifikasi terdapat dalam kedelai, misalnya inhibitor protease, fitosterol, saponin, asam fenolat, asam fitat dan isoflavon (Messina dan Barnes, 1991 dalam Muchtadi, 2012). Dari antaranya, isoflavon (terutama genistein dan daidzein) menarik perhatian para ahli, karena kedelai merupakan satu-satunya bahan pangan yang dapat mensuplai senyawa tersebut dalam jumlah banyak. Isoflavon adalah senyawa fenol heterosiklis yang strukturnya mirip dengan steroid estrogenik. Karena bersifat sebagai estrogen lemah, isoflavon dapat bekerja sebagai anti-estrogen melalui kompetisi dengan estrogen endogen alami yang lebih kuat (misalnya 17 $\beta$ -estradiol) untuk dapat terikat pada reseptor estrogen. Hal ini dapat menjelaskan mengapa populasi yang banyak mengonsumsi kedelai (misalnya di Asia) mempunyai risiko lebih rendah terhadap timbulnya kanker yang tergantung pada estrogen. Walaupun demikian, data epidemiologis tentang konsumsi kedelai dan risiko timbulnya kanker pada waktu ini tidak konsisten (Messina dkk.,1997 dalam Muchtadi, 2012). Sampai sekarang belum ada publikasi tentang hasil percobaan intervensi klinis yang meneliti tentang peranan kedelai dalam menurunkan risiko timbulnya kanker (Hasler, 1998 dalam Muchtadi , 2012).

Kedelai dapat juga berperan untuk kesehatan tulang (Anderson dan Garner, 1997). Suatu studi klinis melibatkan 66 orang wanita *post-menopause* yang dilaksanakan di *University of Illinois* (Erdman dan Potter, 1997 dalam Muchtadi, 2012), menemukan bahwa konsumsi isolat protein kedelai sebanyak 40 g per hari (mengandung sekitar 90 mg isoflavon total), secara nyata meningkatkan (sekitar 2%) kandungan mineral dan densitas tulang papa, setelah dilakukan selama 6 bulan.

Teori bahwa kedelai dapat mengurangi gejala menopause didukung oleh hasil observasi bahwa wanita Asia secara nyata mengalami *hot flushes* dan *night sweats* yang lebih ringan dibandingkan dengan wanita di negara-negara Barat. Albertazzi dkk. (1998) dalam Muchtadi ,( 2012) melaporkan bahwa pemberian 60 g isolat protein kedelai per hari selama 3 bulan dapat mengurangi *hot flushes* pada 45% wanita *post-menopause* dari 104 orang subyek. Meskipun demikian, beberapa hasil penelitian tidak mendapatkan

hasil yang memuaskan, sehingga nampaknya terlalu awal untuk menyatakan bahwa kedelai dapat menggantikan terapi sulih hormon (*hormone replacement therapy, HRT*).

-oo0oo-

## BAB 6

# PROTEIN KACANG-KACANGAN SEBAGAI SENYAWA BIOAKTIF PANGAN FUNGSIONAL

Penelitian tentang manfaat kedelai untuk mencegah timbulnya penyakit degeneratif diarahkan pada protein dan bahkan pada turunan proteinnya yaitu peptida kedelai. Sebagai contoh, inhibitor Bowman-Birk suatu komponen protein 2S kedelai terbukti dapat menekan karsinogenesis pada hewan percobaan (Kennedy dkk., 2002 dalam Muchtadi, 2012) dan pada sel kanker prostat manusia (Kennedy dan Wan, 2002 dalam Muchtadi, 2012). Lunasin, suatu peptida kedelai, ditemukan dapat menekan transformasi karsinogenik pada sel mamalia (de Lumen, 2005 dalam Muchtadi, 2012). Peptida barn ini terdapat dalam kedelai dalam jumlah sekitar 0,10 - 1,33g per 100 g tepung kedelai Ueong dkk., 2003 dalam Muchtadi, 2012).

Untuk dapat berfungsi, peptida bioaktif tidak harus diserap oleh usus halus dan masuk ke dalam peredaran darah. Dalam hal peptida *anorectic* (dapat menekan nafsu makan), aksinya terjadi di dalam usus di mana mereka menstimulir reseptor hormon *opioid* dan kolesistokinin yang kemudian menginduksi timbulnya perasaan kenyang (*satiety*) (Pupovac dan Anderson, 2002 dalam Muchtadi, 2012). Tetapi fungsi lain, seperti menurunkan tekanan darah (hipotensif) atau aktivitas anti kanker, memerlukan masuknya peptida bioaktif melalui *barrier* usus dan harus ditransportasikan menuju organ target.

Penelitian tentang kinetika pencernaan peptida susu (sapi) pada hewan percobaan memperlihatkan bahwa peptida bioaktif tetap berada dalam usus halus (tidak terhidrolisis menjadi asam-asam amino) walaupun telah dicerna oleh enzim-enzim pankreas (Scanff dkk., 1992 dalam Muchtadi , 2012). Pengamatan ini memberikan petunjuk tentang ketersediaan (bioavailabilitas) peptida tersebut untuk diserap oleh usus halus (Shimizu, 2004 dalam Muchtadi , 2012). Chabance dkk. (1998) dalam Muchtadi (2012) memperlihatkan bahwa peptida-peptida dari susu dan *yoghurt* yang telah mengalami proses pencernaan, diserap oleh usus halus dan masuk ke dalam peredaran darah. Dalam penelitian tersebut, dua macam peptida yang rantainya cukup panjang, yaitu k-kaseinglikopeptida dan peptida N-terminal dari  $\alpha$ -SI-kasein, terdeteksi dalam plasma.

Juga diketahui bahwa karena penyerapannya yang lebih cepat dan efisien dibandingkan dengan asam-asam amino bebas, campuran peptida dan hidrolisat protein direkomendasikan sebagai sumber nitrogen untuk pasien yang menderita malnutrisi atau mempunyai masalah dalam pencernaan protein (Gill dkk., 1996 dalam Muchtadi , 2012). Meskipun masih diperlukan penelitian yang lebih mendalam, hasil-hasil penelitian yang telah diutarakan di atas memberikan dukungan atas konsep bahwa peptida yang berasal dari bahan pangan yang dicerna, dapat diserap oleh usus dan mempunyai aktivitas fisiologis dalam berbagai organ manusia.

Peptida bioaktif dapat dilepaskan dari protein baik melalui proses pengolahan pangan atau melalui proses pencernaan dalam saluran cerna manusia. Bukti-bukti tidak langsung memberi kesan bahwa peptida-peptida tersebut dapat diserap oleh usus halus dan kemudian masuk ke dalam peredaran darah, dan selanjutnya melakukan aksinya pada organ target spesifik. Peptida lain mungkin tidak memerlukan penyerapan oleh usus, dan bekerja di dalam usus. Protein kedelai dapat berfungsi sebagai sumber peptida dengan manfaat kesehatan yang bervariasi dan unik, yang dapat digunakan untuk pencegahan timbulnya beberapa macam penyakit degeneratif, misalnya penyakit jantung koroner, kanker, obesitas dan menurunnya fungsi immune seperti dijelaskan dalam uraian sebagai berikut menurut Muchtadi (2012)

## 6.1 Protein/Peptida dan asam amino sebagai Antioksidan

Beberapa macam asam amino seperti tirosin, metionin, histidin, lisin dan triptofan telah diketahui mempunyai aktivitas antioksidan (Wang dan de Meija, 2005 dalam Muchtadi, 2012). Selama hidrolisis, struktur protein kedelai akan termodifikasi dan *R-group* asam-asam amino yang lebih aktif akan terbuka. Oleh karena itu, peptida kedelai mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan protein aselinya (Chen dkk., 1998 dalam Muchtadi, 2012). Setelah dicerna oleh enzim, aktivitas antioksidan  $\beta$ -konghsinin dan glisinin dalam menginaktifkan radikal meningkat sekitar 3 - 5 kalinya. Proses pemanasan tidak mengubah aktivitas antioksidan protein, hal ini menunjukkan bahwa pembentukan peptida lebih berperan daripada perubahan struktur protein (Matoba, 2002 dalam Muchtadi, 2012).

Pada penelitian menggunakan tikus Wistar sebagai model, telah ditemukan bahwa baik isolat protein kedelai maupun peptida kedelai lebih mampu dalam mengurangi stress oksidatif akibat pemberian paraquat (PQ) dibandingkan dengan campuran asam-asam amino. Dalam hal ini, baik isolat protein kedelai maupun peptida kedelai dapat mencegah peningkatan konsentrasi senyawa reaktif asam tiobarbiturat dalam serum, dan cenderung untuk mencegah peningkatan berat paru-paru akibat pemberian paraquat (PQ); sedangkan campuran asam-asam amino tidak memberikan pengaruh (Takenaka dkk., 2003 dalam Muchtadi, 2012).

Kapasitas antioksidan peptida kedelai tergantung pada strukturnya, sehingga akan dipengaruhi oleh prosedur hidrolisis proteinnya (Yang dkk., 2000 dalam Muchtadi, 2012). Sewaktu memperbandingkan kapasitas antioksidan 28 macam peptida "sintetis" yang strukturnya mengandung Leu-LeuPro-His-His, mirip dengan hasil hidrolisis protein kedelai, telah diidentifikasi bahwa Pro-His-His sebagai pusat aktifnya. Dipercaya bahwa peptida yang mengandung His dapat mengkelat metal, serta menginaktifkan oksigen reaktif dan dapat "menetralkan" radikal hidroksil; sehingga mempunyai peranan penting dalam aktivitas antioksidatif peptida kedelai (Saito dkk., 2003 dalam Muchtadi, 2012).

Kondisi hidrolisis protein yang berbeda (enzim, suhu, persiapan sampel) akan menghasilkan campuran peptida dengan sifat antioksidan yang berbeda. Sebagai contoh, protein kedelai aseh dan yang telah terdenaturasi oleh panas dihidrolisis dengan enzim yang berbeda (pepsin, papain, kimotripsin, alkalase), menghasilkan derajat hidrolisis yang bervariasi antara 1,7 - 20,6%; dengan aktivitas antioksidan yang bervariasi antara 28 - 65% (Pena-Ramos dan Xiong, 2002 dalam Muchtadi, 2012).

Liu dkk. (2005) dalam Muchtadi (2012) mengamati bahwa *kefir* susu kedelai mempunyai aktivitas antioksidan. Hal ini menunjukkan bahwa produk hasil fermentasi susu kedelai mempunyai harapan untuk dikembangkan sebagai sumber antioksidan. Juga ditemukan bahwa sifat antioksidan peptide kedelai memberikan pengaruh sinergistik yang kuat pada antioksidan lain seperti senyawa fenolik (Saito dkk., 2003 dalam Muchtadi, 2012).

## **6.2 Protein/Peptida dan asam amino sebagai Anti-Hipertensif**

Peptida antihipertensif merupakan bioaktif peptida dalam pangan yang paling banyak diteliti. Peptida tersebut memperlihatkan aktivitasnya dengan cara menghambat *angiotensin I-converting enzyme (ACE)*. ACE adalah dipeptidil karboksipeptidase non-spesifik yang berhubungan dengan regulasi tekanan darah melalui modulasi sistem rennin-angiotensin. Enzim tersebut mengubah dekapeptida angiotensin I menjadi oktapeptida angiotensin II yang bersifat *vasoconstrictor*, sehingga kemudian menyebabkan naiknya tekanan darah. Oleh karena itu, penghambatan aktivitas ACE akan menyebabkan tidak naiknya tekanan darah atau timbulnya efek antihipertensif (Natesh dkk., 2003 dalam Muchtadi, 2012).

Dengan menggunakan tikus hipertensif spontan (*spontaneously hypertensive rat, SHR*), Li dkk. (2002) dalam Muchtadi, 2012 menemukan bahwa peptida bioaktif inhibitor ACE menurunkan tekanan darah sistolik, dan mereka menemukan adanya aktivitas ACE dalam aorta. Beberapa macam peptida bioaktif inhibitor ACE telah ditemukan dalam hidrolisat (hasil hidrolisis oleh enzim) protein kedelai. Chen dkk. (2003, 2004) dalam

Muchtadi (2012) mengidentifikasi peptida bioaktif inhibitor ACE dalam hasil hidrolisis protein kedelai oleh enzim pepsin. Fraksi peptida yang diberikan secara oral pada SHR dengan konsentrasi 2,0 g/kg berat badan, secara nyata menurunkan tekanan darah tikus.

Peptida antihipertensif juga telah ditemukan dalam hasil hidrolisis protein kedelai oleh enzim alkalase (Wu dan Ding, 2001 dalam Muchtadi , 2012). Tergantung pada dosis yang diberikan, peptida tersebut yang diberikan secara oral pada tikus SHR secara nyata menurunkan tekanan darah sistolik. Akan tetapi peptida tersebut hanya memberikan sedikit pengaruh pada tekanan darah tikus normal (*normotensive*), walaupun pada dosis tertinggi (1000 mg/kg berat badan/hari).

Produk olahan kedelai hasil fermentasi merupakan sumber peptida inhibitor ACE yang baik. Kimura et al. (2000) telah berhasil mengisolasi beberapa macam peptida inhibitor ACE dari produk hasil fermentasi kedelai dengan *Bacillus natto* dan *Bacillus subtilis*. Peptida tersebut adalah Val-Ala-His-Ile-Asn-Val-Gly-Lys dan Tyr-Val-Trp-Lys. Penelitian tersebut memperlihatkan potensi produk kedelai hasil fermentasi sebagai sumber peptida antihipertensif. Peptida inhibitor ACE juga telah ditemukan dalam berbagai produk hasil fermentasi kedelai di Asia, seperti *Korean soybean paste* (His-His-Leu) (Shin dkk., 2001 dalam Muchtadi , 2012), kecap kedelai/soy *sauce* (Okamoto dkk., 1995 dalam Muchtadi , 2012), serta dalam *natto* dan *tempe* (Gibbs dkk., 2004 dalam Muchtadi , 2012).

### **6.3 Protein/Peptida dan asam amino sebagai Anti-Obesitas**

Kedelai telah lama digunakan dalam mengatasi masalah kegemukan (Anderson dan Moore, 2004 dalam Muchtadi , 2012), dan dipercaya bahwa protein kedelai dapat berperan dalam menurunkan epidemi obesitas dengan cara menekan perasaan lapar, meningkatkan kecepatan metabolisme dalam tubuh dan membantu menurunkan berat badan (Fontaine dkk., dalam Muchtadi , 2012). Konsumsi kedelai juga dapat menurunkan simpanan trigliserida dalam hati (Ascencio dkk., 2004 dalam Muchtadi , 2012).

Isolat protein kedelai ditemukan dapat menurunkan kadar trigliserida dalam plasma dan meningkatkan *adiponectin* (Nagasawa dkk., 2002, 2003 dalam Muchtadi , 2012). *Adiponectin* adalah hormon protein yang memodulasi sejumlah proses metabolisms di dalam tubuh, termasuk regulasi glukosa dan katabolisme asarn lemak (Diet dan Iglesias, 2003 dalam Muchtadi , 2012). Kadar hormon ini berkorelasi negatif dengan persentase jumlah lemak dalam tubuh orang dewasa (Ukkola dan Santaniemi, 2002 dalam Muchtadi , 2012). Isolat protein kedelai juga dapat meningkatkan metabolisme lipida dan menurunkan jumlah lemak tubuh pada tikus dan mencit gemuk (Aoyama, 2000, 2000 dalam Muchtadi , 2012)

Setelah serpihan (*flakes*) kedelai dihidrolisis oleh enzim protease alkalin, hidrolisat yang diperoleh diberikan pada tikus Wistar, dan ternyata dapat menurunkan kadar lemak dalam tubuhnya dan menurunkan berat badannya. Pada dosis 10 ml/kg berat badan/hari, hidrolisat tersebut dapat menurunkan konsentrasi trigliserida serum darah tikus sebesar 11%. Pada dosis yang lebih tinggi (20 ml/kg berat badan/hari), dapat menurunkan trigliserida serum sebesar 30% disertai dengan penurunan berat badan hewan percobaan (Zhang dkk., 1998 dalam Muchtadi , 2012).

Beberapa peptida *anorectic* (dapat menekan nafsu makan) telah diidentifikasi dan menunjukkan aktivitas antiobesitas melalui pengurangan konsumsi pangan dan konsumsi lemak serta meningkatkan massa tubuh tanpa lemak, sehingga dapat menurunkan berat badan (Challis dkk., 2004 dalam Muchtadi , 2012). Contoh peptida *anorectic* tersebut adalah Leu-Pro-Tyr-Pro-Arg suatu peptida yang berasal dari protein glisinin kedelai subunit A5A4B3 dan Pro-Gly-Pro (Takenaka dkk, 2000 dalam Muchtadi , 2012).

Telah ditemukan bahwa hasil hidrolisis protein kedelai menjadi peptida dapat menstimulir perasaan kenyang (*satiety*). Pada tikus, pengaruh “mengenyangkan” protein kedelai tersebut dihubungkan dengan aktivasi reseptor hormon *opioid* dan kolesistokinin (PupoVac dan Anderson, 2002 dalam Muchtadi , 2012). Hidrolisat P-konglisinin kedelai oleh enzim pepsin ditemukan dapat menekan konsumsi ransum dan laju pengosongan

lambung pada tikus dengan cara mempengaruhi sel-sel mukosa usus halus secara langsung (Nishi dkk., 2003 dalam Muchtadi , 2012).

Berdasarkan hasil-hasil penelitian tentang aktivitas antiobesitas protein dan peptida kedelai tersebut di atas, telah dikembangkan beberapa macam makanan dan minuman anti-kegemukan. sebagai contoh, *soy protein meal replacement formula (Scan Diet)*, yang telah dibuktikan efektif untuk menurunkan berat badan dan mengurangi massa lemak di dalam tubuh para penderita obesitas (Allison dkk., 2003 dalam Muchtadi , 2012). Produk antiobesitas lain misalnya formula yang mengandung protein kedelai, serat pangan larut dan gelatin, asam amino dan/atau peptida (Fujita, 2000 dalam Muchtadi , 2012).

Selain itu, telah pula dikembangkan minuman kopi tanpa gula yang mengandung hidrolisat protein kedelai (Miura, 2002 dalam Muchtadi , 2012). Minuman kopi ini mengandung oligo-peptida dengan 3 sampai 6 residu asam amino, yang dibuat dengan cara menghidrolisis protein kedelai menggunakan enzim. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa konsumsi minuman kopi tersebut selama 8 minggu dapat menurunkan berat badan sukarelawan manusia sebanyak 4 - 7%. Peptida kedelai juga telah digunakan sebagai bahan penurun kadar lemak tubuh. Telah diamati pada manusia bahwa kadar lemak tubuh serta gliserida dan kolesterol serum dapat diturunkan oleh peptida kedelai tanpa mengurangi kadar protein tubuh (Inaba dkk., 2002 dalam Muchtadi , 2012).

#### **6.4 Protein/peptida dan asam amino sebagai Anti-Hiperkolesterolemik**

Menurut Carrol (1991) dalam Muchtadi (2012), penurunan kadar kolesterol-LDL sebanyak 20% atau lebih pada penderita hiperkolesterolemia dapat diperoleh dengan cara mengonsumsi protein kedelai dalam jumlah relatif banyak (20% dari total energi) disertai dengan pengurangan konsumsi lemak. Kadar trigliserida dalam darah juga dapat diturunkan, terutama pada penderita hipertrigliseridemia; akan tetapi protein kedelai tidak berpengaruh terhadap kadar kolesterol -HDL- Hasil penelitian Bakhit dkk. (1994) dalam Muchtadi (2012) pada manusia

menunjukkan bahwa konsumsi 25 gram protein kedelai per hari dengan atau tanpa serat, efektif dalam menurunkan kadar kolesterol total dalam darah. Penurunan tersebut terutama disebabkan karena terjadinya perubahan kadar kolesterol-LDL. Sedangkan Kanazawa dkk. (1993) dalam Muchtadi (2012) menyatakan bahwa selain menurunkan kadar kolesterol-LDL dalam darah, kedelai juga dapat menghambat teroksidasinya LDL.

Banyak upaya yang telah dilakukan untuk menjelaskan mekanisme protein kedelai dalam menurunkan kadar kolesterol plasma. Sanchez dan Hubbard (1991) dalam Muchtadi (2012) membuat hipotesis bahwa rendahnya rasio lisin: arginin dalam protein kedelai akan menurunkan sekresi insulin tetapi meningkatkan sekresi glukagon, sehingga proses lipogenesis terhambat. Forsythe (1995) dalam Muchtadi (2012) menyatakan bahwa protein kedelai dapat menurunkan kadar kolesterol plasma melalui peningkatan kadar hormon tiroksin dalam darah. Telah diketahui bahwa peningkatan kadar hormon timid akan meningkatkan proses lipolisis yang diikuti dengan penurunan kadar kolesterol darah. Sedangkan Kanazawa (1996) dalam Muchtadi (2012) menyatakan bahwa selain menurunkan kadar kolesterol-LDL dalam plasma, protein kedelai juga memberikan efek lain, yaitu mencegah pembesaran ukuran molekul LDL, mencegah teroksidasinya LDL, dan mencegah terjadinya agregasi platelet.

Yamamoto dkk. (1996) dalam Muchtadi (2012) berpendapat bahwa yang bertanggungjawab terhadap sifat antikolesterolemik protein kedelai adalah suatu peptida. Peptida yang dihasilkan dari protein kedelai di dalam lumen akan mengikat steroid-steroid dan kemudian mengekskresikannya ke feces, sedangkan peptida-nya sendiri diserap oleh usus yang selanjutnya di dalam tubuh akan mempengaruhi metabolisme lipida. Wong dkk. (1996) dalam Muchtadi (2012) menyatakan bahwa sifat hipokolesterolemik protein kedelai disebabkan karena kemampuannya untuk meningkatkan ekskresi kolesterol melalui jalur asam kenodioksikholat.

Efek menguntungkan kedelai pada penyakit kardiovaskuler pertamanya dilihat dari pengaruhnya terhadap kadar kolesterol dalam darah. Diantara semua komponen kedelai, protein dan isoflavon kedelai dipercaya

sebagai faktor utamanya. Banyak hasil penelitian yang mengindikasikan bahwa protein kedelai dapat mengurangi konsentrasi kolesterol darah baik pada hewan percobaan maupun pada manusia (Potter, 1995 dalam Muchtadi, 2012). Sagara dkk. (2004) dalam Muchtadi (2012) menemukan bahwa konsumsi protein kedelai (sedikitnya 20 g per hari) dan isoflavon kedelai (sedikitnya 80 mg per hari) selama 5 minggu, sangat efektif dalam menurunkan risiko timbulnya penyakit jantung koroner pada laki-laki dewasa paruh baya (*middle-aged men*) berisiko tinggi.

Protein kedelai telah dibuktikan dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah (hipokolesterolemik) sehingga akan dapat mencegah timbulnya penyakit aterosklerosis dan jantung koroner. US-FDA (*United States, Food & Drug Administration*) memberikan izin untuk mencantumkan klaim kesehatan (*health claim*) tentang hubungan antara protein kedelai dan penyakit jantung koroner, pada label produk pangan yang mengandung protein kedelai (Anderson dkk., 1995 dalam Muchtadi, 2012). Untuk dapat mencantumkan klaim kesehatan tersebut, produk pangan harus mengandung: 25 g atau lebih protein kedelai, kurang dari 3 g lemak (*low fat*), kurang dari 1 g lemak jenuh (*saturated fat*), dan kurang dari 20 mg kolesterol. (Muchtadi, 2012)

Wang dkk. (2004) dalam Muchtadi (2012) menemukan bahwa protein kedelai dapat mengurangi kadar kolesterol dan trigliserida yang bersirkulasi dalam darah pada individu penderita hiperkolesterolemia. Adams dkk. (2004) dalam Muchtadi (2012) dan Moriyama dkk. (2004) dalam Muchtadi (2012) memperlihatkan bahwa  $\beta$ -konglisirtin dapat menghambat aterosklerosis pada mencit. Protein kedelai juga ditemukan dapat mengubah partikel LDL menjadi komponen yang kurang aterogenik tanpa mengikutsertakan isoflavon. Akan tetapi mekanisme yang mendasari sifat hipokolesterolemik protein kedelai masih belum jelas (Desroches dkk., 2004 dalam Muchtadi, 2012).

Suatu hipotesis dikemukakan bahwa mungkin protein kedelai dapat mengikat asam empedu dalam usus dan mencegah re-absorpsinya sehingga akan menurunkan kolesterol darah. Dalam hampir semua penelitian menggunakan hewan percobaan dan penelitian klinis, protein kedelai

diberikan baik pada subyek hewan maupun manusia secara oral. Pada kondisi semacam ini protein kedelai akan mengalami hidrolisis oleh enzim-enzim protease di dalam saluran pencernaan, dan melepaskan peptida-peptida yang aktif secara biologis. Kemungkinan peptida-peptida inilah yang berikatan dengan asam empedu, yang kemudian akan menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Berdasarkan observasi ini, mungkin peptida kedelai yang mempunyai peranan menimbulkan efek hipokolesterolemik protein kedelai (Wang dan de Mejia, 2005 dalam Muchtadi, 2012).

Telah dilaporkan bahwa hidrolisat protein kedelai (*soy protein peptic hydrolysate, SPH*) memberikan pengaruh lebih kuat dalam menurunkan kolesterol serum darah tikus dibandingkan dengan protein kedelai aselinya (Sugano dkk., 1990 dalam Muchtadi, 2012). Dibandingkan dengan kasein, hidrolisat protein kedelai bukan hanya secara nyata menurunkan kadar kolesterol serum tetapi juga meningkatkan ekskresi steroid dalam feces. Data ini mengindikasikan bahwa hidrolisat protein kedelai benar-benar dapat menghambat penyerapan kolesterol. Dalam sistem saluran pencernaan, kolesterol terlarut dalam campuran *micelle* garam empedu dan kemudian diserap oleh usus halus. Dalam suatu penelitian *in vitro*, ditemukan bahwa kelarutan kolesterol senyawa nyata lebih rendah dengan adanya *soy protein peptic hydrolysate (SPH)* dibandingkan dengan adanya protein kedelai (Nagaoka dkk., 1999 dalam Muchtadi, 2012). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa peptida kedelai mempunyai pengaruh hipokolesterolemik dibandingkan dengan protein kedelai, melalui penghambatan penyerapan kolesterol disebabkan karena menurunnya kelarutan kolesterol (Nagaoka dkk., 1999 dalam Muchtadi, 2012).

## BAB 7

# PENJAJAGAN ASAM AMINO KECAMBAH KEDELAI SEBAGAI SENYAWA BIOAKTIF UNTUK PANGAN FUNGSIONAL DIABETES

## 7.1 Diabetes Mellitus

**E**ndemi diabetes mellitus pertama kali diketahui di Mesir sekitar 1500 S.M. yang dikenal sebagai *polyuria* yang berarti banyak mengeluarkan urin. Pada abad ke 2 muncul istilah diabetes dari bahasa Yunani yang berarti *siphon* (pipa) dan dapat dijelaskan sebagai penyakit yang terjadi pada pasien yang merasa selalu haus. Selanjutnya pada abad 17 muncul istilah "mellitus" yang berarti madu, dan selanjutnya ditambahkan pada istilah diabetes mellitus karena pada penderita ditemukan glukosa pada urin. 'Diabetes mellitus' dalam istilah kedokteran diartikan sebagai sugar diabetes (Burtis dkk., 1988).

### 7.1.1 Klasifikasi dan penyebab diabetes mellitus

Pada dasarnya diabetes mellitus diklasifikasikan menjadi dua, yaitu diabetes mellitus tipe 1 (*Insulin Dependent Diabetes Mellitus/IDDM*) dan diabetes mellitus tipe 2 (*Insulin Independent Diabetes Mellitus/IIDM* atau *Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus/NIDDM*).

Diabetes mellitus tipe 1 ditandai oleh sel  $\beta$  pankreas tidak mampu memproduksi insulin sebagai akibat kerusakan sel  $\beta$  pankreas. Kerusakan sel  $\beta$  pankreas dapat disebabkan oleh faktor gen, autoantigen, dan faktor

lingkungan. Gen penyebab diabetes mellitus tipe 1 telah diketahui yaitu MHC genes (*Mono Histocompatibility Complex*) yang banyak dimiliki oleh Etnik *Scandinavians* dan *Sardinians*. Autoantigen merupakan protein asing yang ditemukan dalam sel  $\beta$  pankreas pada saat terjadi  *$\beta$ -cell turn over* dan  *$\beta$ -cell injury/ $\beta$ -cell-infection*. Beberapa virus seperti *rubella*, *cytomegalovirus*, dan *coxsackievirus* sering dikaitkan dengan munculnya diabetes mellitus tipe 1. Sedangkan faktor lingkungan yang meningkatkan resiko diabetes mellitus tipe 1, misalnya nitrat dalam air mineral dan kekurangan Vitamin D pada masa anak-anak sebagai akibat kurangnya paparan terhadap sinar matahari (Crandall, 2007).

Diabetes mellitus tipe 2 ditandai oleh sel  $\beta$  pankreas masih mampu memproduksi insulin, namun tidak mampu menurunkan glukosa darah. Secara umum, diabetes mellitus tipe 2 terbagi lagi menjadi dua kelompok, yaitu pertama *insulin resistance* (gangguan reseptor insulin) yang ditandai oleh jumlah insulin berlebihan namun tidak mampu digunakan untuk menurunkan glukosa darah, dan kedua produksi insulin yang kurang dari kebutuhannya untuk menurunkan glukosa darah (Crandall, 2007). Penderita diabetes mellitus tipe 2 yang tergolong kelompok *insulin resistance* lazim mengkonsumsi OHG kelompok *biguanide* dan *sulfonylurea* tipe ekstra-pankreatik, yang berfungsi untuk meningkatkan afinitas insulin pada reseptor dan mempercepat regenerasi reseptor insulin. Sementara penderita diabetes mellitus tipe 2 yang tergolong kelompok kekurangan insulin lazim mengkonsumsi OHG kelompok *sulfonylurea* tipe pankreatik yang dapat meningkatkan kandungan insulin di pankreas dan sekresi insulin (Askandar-Tjokroprawiro, 1994).

Sherwood (2001) menjelaskan bahwa *insulin resistance* lebih disebabkan oleh faktor reseptor insulin tidak normal yang menimbulkan insulin tidak mampu dimanfaatkan untuk menurunkan glukosa darah. Kondisi demikian mengakibatkan peningkatan insulin dalam darah secara berlebihan namun glukosa dalam darah tetap melebihi keadaan normal, sehingga sel  $\beta$  pankreas akan terus terpacu untuk membebaskan insulin agar glukosa dalam darah kembali normal. Kerja pankreas secara terus menerus tersebut dapat menimbulkan kelelahan sel  $\beta$  pankreas, sehingga

sel  $\beta$  pankreas tidak mampu lagi membebaskan insulin dalam jumlah yang cukup atau berkembang menjadi penderita diabetes mellitus tipe 2 yang tergolong kekurangan produksi insulin. Kegemukan merupakan faktor utama penyebab *insulin resistance*, sehingga prevalensinya akan terus meningkat seiring dengan perubahan pola makan yang mengarah ke peningkatan konsumsi gula dan lemak dengan tidak diimbangi peningkatan aktivitas tubuh atau olah raga sehingga berakibat kegemukan (Elbein, 1997).

Diabetes mellitus tipe 2 yang tergolong kelompok kekurangan produksi insulin selain ditimbulkan oleh dampak yang lebih parah dari *insulin resistance*, juga ditimbulkan oleh adanya gangguan pada sintesis insulin dan sekresi insulin. Gangguan sintesis insulin mengakibatkan kandungan insulin dalam sel  $\beta$  pankreas rendah, sedangkan gangguan sekresi insulin dari sel  $\beta$  mengakibatkan jumlah insulin dalam darah rendah sehingga tidak cukup untuk menurunkan glukosa darah (Sherwood, 2001). Kandungan insulin dalam sel  $\beta$  pankreas yang rendah antara lain disebabkan oleh kelainan hormon dan peningkatan degradasi insulin (*accelerated insulin degradation*). Sedangkan gangguan sekresi insulin antara lain disebabkan oleh terjadinya kondisi metabolisme nutrisi, c-AMP (Adenosin Monofosfat siklik), dan *ionic fluxes* pada sel  $\beta$  pankreas yang tidak normal (Askandar-Tjokroprawiro, 1994). Gangguan sekresi insulin juga ditimbulkan oleh adanya gangguan aliran kalsium akibat kurangnya ketersediaan energi untuk sekresi insulin (Carnerio dkk., 1995).

### 7.1.2 Deteksi dan gejala diabetes mellitus

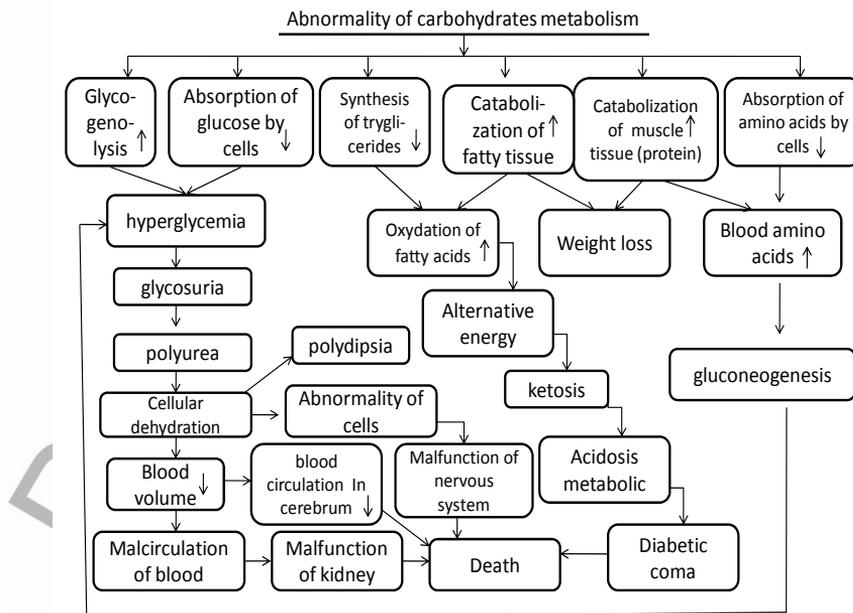
Penyakit diabetes mellitus dapat dideteksi melalui uji *Fasting Plasma Glucose*/FPG (kadar glukosa darah sesudah puasa 8 - 12 jam), dan *Oral Glucose Tolerance Test*/OGTT (kadar glukosa darah sesudah 2 jam pemberian larutan glukosa) dengan hasil uji seperti disajikan pada Tabel 7.1.

**Tabel 7.1.** Standar hasil uji FPG dan OGTT yang menunjukkan seseorang normal (tidak menderita diabetes mellitus), mengalami *impaired glucose regulation* (gangguan pengendalian glukosa darah), atau menderita diabetes mellitus

Metode pengujian	Glukosa dalam darah (mg/dL) atau (mmol/L)		
	Normal	<i>Impaired glucose regulation</i>	Diabetes mellitus
FPG	<100 /5,6	100 - 125 /5,6 - 6,9	≥ 126 /≥ 7,0
OGTT	<140 /7,7	140 - 199 /7,7 - 11,0	≥ 200 /≥ 11,1

Sumber: Crandall, 2007

Menurut Burtis dkk. (1988) dan Sherwood (2001) diabetes mellitus lebih disebabkan oleh abnormalitas metabolisme karbohidrat dan sekaligus menunjukkan terganggunya metabolisme lemak dan protein serta ketidakseimbangan elektrolit. Indikasi munculnya gejala diabetes mellitus dan dampak yang ditimbulkan akibat abnormalitas metabolisme karbohidrat tersebut ditunjukkan pada Gambar 7.1.



**Gambar 7.1.** Abnormalitas metabolisme karbohidrat pada diabetes mellitus dan dampak yang ditimbulkan (Sherwood, 2001).

Burtis (1988) menjelaskan bahwa gejala diabetes mellitus dan dampak yang ditimbulkan ditandai beberapa hal sebagai berikut:

- a. *Hyperglycemia*. Glukosa tidak dapat dimanfaatkan oleh sel tubuh atau tidak bisa dikonversi menjadi glikogen, sehingga terjadi peningkatan jumlah glukosa dalam darah, kenaikan tekanan osmosis pada pembuluh darah dan keluarnya cairan dari dalam sel. Kondisi demikian menyebabkan berlangsungnya dehidrasi seluler. Apabila kadar glukosa darah melebihi kemampuan ginjal untuk menyerap kembali glukosa (180 mg/dl), maka glukosa akan dikeluarkan bersama urin.
- b. *Glycosuria*. *Glycosuria* merupakan kondisi dikeluarkannya glukosa bersama urin yang dapat menaikkan tekanan osmotis urin, dan mencegah berlangsungnya absorpsi air sehingga banyak air yang akan dikeluarkan dalam bentuk urin. Keadaan ini lazim disebut *polyuria* yang memicu Natrium dan Kalium keluar bersama urin.
- c. *Polyuria* adalah pemicu *polydipsia*, yaitu timbulnya rasa haus yang terus menerus (tanpa henti).
- d. *Polyphagia* dan *asthenia*. Kondisi ini merupakan akibat dari sel-sel tidak mampu menggunakan energi dari glukosa, sehingga berdampak lanjut kekurangan energi. Dampak dari kejadian tersebut memacu pemecahan protein pada jaringan otot dan lemak pada jaringan adiposa untuk memasok energi yang dibutuhkan.
- e. Pemecahan protein pada jaringan otot menyebabkan turunnya berat badan dan neraca nitrogen menjadi negatif. Sedangkan pemecahan lemak yang berlebihan menyebabkan ketosis. Ketosis terjadi apabila tubuh kelebihan asam lemak akibat pemecahan lemak sebagai sumber energi. Sedangkan otot tidak dapat menggunakannya sebagai sumber energi dengan cepat, sehingga liver mengubahnya menjadi *keton bodies*. Keluarnya senyawa keton dari tubuh bersama urin disertai oleh pengeluaran dengan ekskresi ion Natrium pembentuk Ph basa. Kondisi demikian menyebabkan metabolisme asam (*diabetic acidosis*) yang mengakibatkan *diabetic coma* dan berujung pada kematian.

### 7.1.3 Prevalensi dan penanganan diabetes

Pada saat ini prevalensi terhadap penyakit diabetes khususnya diabetes tipe II semakin tinggi. WHO memperkirakan bahwa jumlah orang dewasa diatas usia 20 tahun yang terkena diabetes akan meningkat dari 135 juta pada tahun 1995 menjadi 300 juta pada tahun 2025. Di negara maju meningkat dari 51 juta menjadi 72 juta (42%), sedangkan di negara sedang berkembang mengalami peningkatan yang lebih besar, yaitu dari 84 juta menjadi 228 juta (170%) yang sebagian besar terjadi di Asia. Data prevalensi diabetes di Indonesia saat ini belum lengkap, namun sebagai gambaran telah ada data prevalensi diabetes di Jakarta. Data tersebut menunjukkan bahwa prevalensi penderita diabetes meningkat dari 1,7% pada tahun 1982 menjadi 5,7% pada tahun 1995 (Soegondo dkk., 2003).

Pada masa mendatang, prevalensi diabetes akan terus meningkat seiring dengan perubahan pola makan yang mengarah ke peningkatan konsumsi gula dan lemak yang tidak diimbangi dengan peningkatan aktivitas tubuh atau olah raga, sehingga berakibat kegemukan. Kegemukan merupakan faktor utama terjadinya diabetes, karena menyebabkan insulin resistance yang berakibat penurunan respon sel  $\beta$  pankreas dalam memproduksi insulin. Hal tersebut menyebabkan timbulnya diabetes mellitus tipe II (Burtis, 1988; Elbein, 1997).

Penderita diabetes akan mengalami komplikasi berupa perubahan pembuluh darah sebagai akibat dari hiperglisemia dan hiperlipidemia yang kronis. Atherosklerosis yang merupakan salah satu keadaan perubahan pembuluh darah akan terjadi lebih awal pada penderita diabetes dibandingkan nondiabetes (Burtis dkk., 1988). Manifestasi klinis dari atherosklerosis terutama terjadi pada pembuluh darah arteri jantung yang menyebabkan *coronary artery disease* (CAD) dan pembuluh darah otak yang menyebabkan *cerebrovascular disease* (Beckman dkk., 2002). CAD menyebabkan kondisi yang semakin buruk dan kematian pada pasien diabetes. Tingkat kematian akibat CAD meningkat 2 - 4 kali pada penderita diabetes. Diabetes berpengaruh terhadap sirkulasi darah pada *cerebrovascular* yang dapat menyebabkan stroke. Resiko stroke akan meningkat 150 sampai 400% pada pasien diabetes (Beckman dkk., 2002).

Penanganan diabetes diarahkan pada pencegahan peningkatan gula darah dan terjadinya komplikasi. Saat ini obat hipoglisemik/obat anti diabetik (OAD) banyak tersedia. Pada umumnya OAD mengandung senyawa *tolbutamide* atau *sulfonylurea* yang dapat menginduksi sekresi insulin sehingga membantu menurunkan level gula darah. Terapi menggunakan OAD dapat memperbaiki kondisi penderita diabetes tipe II, sedangkan pada penderita diabetes tipe I tidak bisa sehingga membutuhkan injeksi insulin dari luar (Zapsalis dan Beck, 1986).

Obat-obat anti diabetes tersebut bersifat perawatan, dan tidak untuk penyembuhan sehingga harus diberikan secara kontinyu yang berakibat membosankan bagi penderita (Chase, 1979 dalam Zuheid-Noor dan Rheizy-Fitriana 2002). Selain itu pemberian OAD menimbulkan efek samping, yaitu penambahan berat badan penderita, mual di perut, dan diare (Burtis, 1988). Pemberian OAD tidak bisa mengatasi komplikasi diabetes, sehingga penderita tetap harus menjalani diet yang ketat untuk mencegah komplikasi. Diet yang ketat bagi penderita diabetes juga untuk mengatasi terjadinya hiperglikemia atau hipoglikemia pada diet yang terlalu ketat.

Terkait dengan terapi diet, produk pangan yang dipilih oleh penderita diabetes seharusnya memiliki indeks glisemik rendah, karena tidak mengakibatkan peningkatan gula darah yang tajam maupun penurunan gula darah yang drastis. Indeks Glisemik dapat didefinisikan sebagai perbandingan antara luas kurva glukosa darah makanan yang diuji yang mengandung karbohidrat total setara 50 g gula, terhadap luas kurva glukosa darah setelah makan 50 g glukosa, pada hari yang berbeda dan pada orang yang sama (Truswell, 1992 dalam Marsono, 2004).

Angka IG dapat digunakan sebagai acuan dalam pemilihan makanan untuk menekan kenaikan glukosa darah penderita diabetes. Namun respon glukosa tidak ditentukan oleh makanan tunggal, tetapi semua makanan yang disantap. Asosiasi Diabetes Inggris menganjurkan bahwa paling sedikit 50% energi harus berasal dari makanan yang memiliki IG rendah (BNF, 1990 dalam Marsono, 2004). Sebagai contoh produk olahan tepung terigu memiliki indeks glisemik (IG) yang tertinggi (misalnya roti

tawar/*white bread* sebagai standar dengan nilai IG = 100). IG roti tawar tersebut lebih tinggi dibandingkan bahan makanan pokok lain, misalnya nasi (*white rice*) yang bernilai IG = 83 (Jenkins dkk., 1984 dalam Burtis dkk., 1988)). Hal ini merupakan permasalahan bagi penderita diabetes untuk mengkonsumsi produk olahan tepung terigu yang banyak disukai apabila tidak diimbangi dengan konsumsi pangan dengan IG rendah.

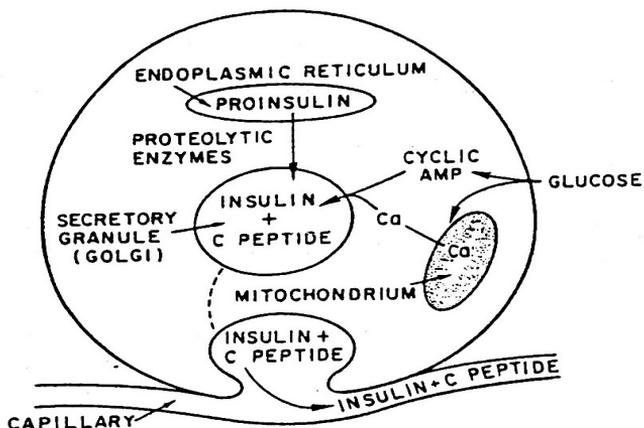
Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengatasinya adalah mengambil komponen aktif dari bahan pangan yang memiliki indeks glisemik rendah dan difortifikasikan kedalam tepung terigu. Cara ini diharapkan dapat menghasilkan tepung terigu khusus bagi penderita diabetes yang tidak mengakibatkan peningkatan gula darah yang tajam atau bahkan dapat bersifat hipoglisemik. Kedelai kering memiliki indeks glisemik rendah dengan nilai IG = 20 (Jenkins dkk., 1984 dalam Burtis dkk., 1988). Salah satu komponen yang menyebabkan indeks glisemik kedelai rendah adalah protein, sehingga protein kedelai kemungkinan dapat digunakan sebagai komponen makanan fungsional bagi penderita diabetes. Makanan fungsional diharapkan dapat menggantikan OAD dan membantu diet penderita diabetes, sehingga penderita diabetes dapat mengkonsumsi makanan yang lebih beragam dan nikmat tanpa khawatir terjadi komplikasi atau peningkatan gula darah.

## 7.2 Sintesis Dan Sekresi Insulin Pada Sel Beta Pankreas

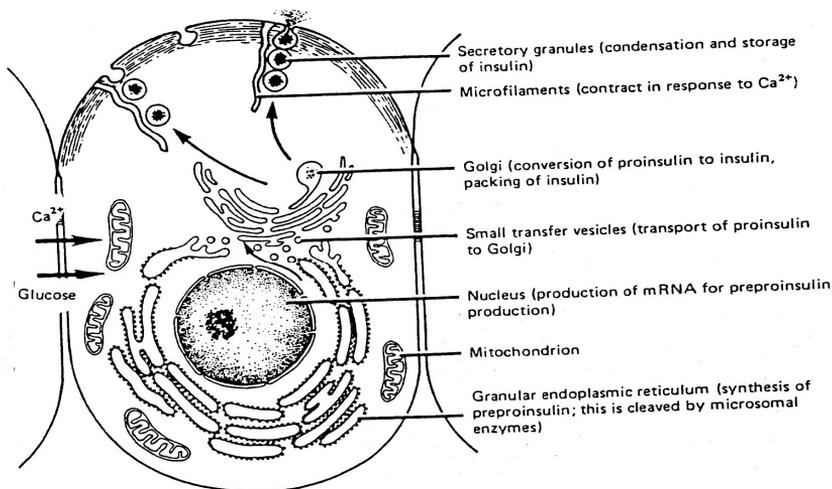
### 7.2.1 Sintesis insulin

Insulin dibentuk dalam sel  $\beta$  pankreas dari prekursor pre-proinsulin, yang memiliki BM 12.000 Da dan disintesis dalam ribosom pada retikulum endoplasma, seperti terlihat pada Gambar 7.2 dan 7.3. Preproinsulin selanjutnya segera dipotong menjadi proinsulin dengan BM 9.000 Da. Proinsulin terdiri atas 3 rantai peptida seperti terlihat pada Gambar 2.16, yaitu rantai A, B, dan C. Rantai A dan B dihubungkan dengan Rantai C-peptida, dan dua ikatan disulfida (Madsbad dkk., 1997). Gambar 7.2 dan 7.3 menunjukkan bahwa proinsulin selanjutnya ditransfer dari retikulum endoplasma ke badan Golgi, kemudian rantai C-peptida dipotong dari molekulnya melalui aktivitas enzim proteolitik. Rantai peptida A dan B

yang tersisa merupakan molekul insulin dan disimpan dalam granula sitoplasma yang siap untuk disekresikan dari sel  $\beta$  pankreas (Jubiz, 1979 ; Greenspan dan Forsham, 1986). Metabolisme yang berkaitan dengan sintesis dan sekresi insulin terlihat pada Gambar 7.5 dan 7.6.

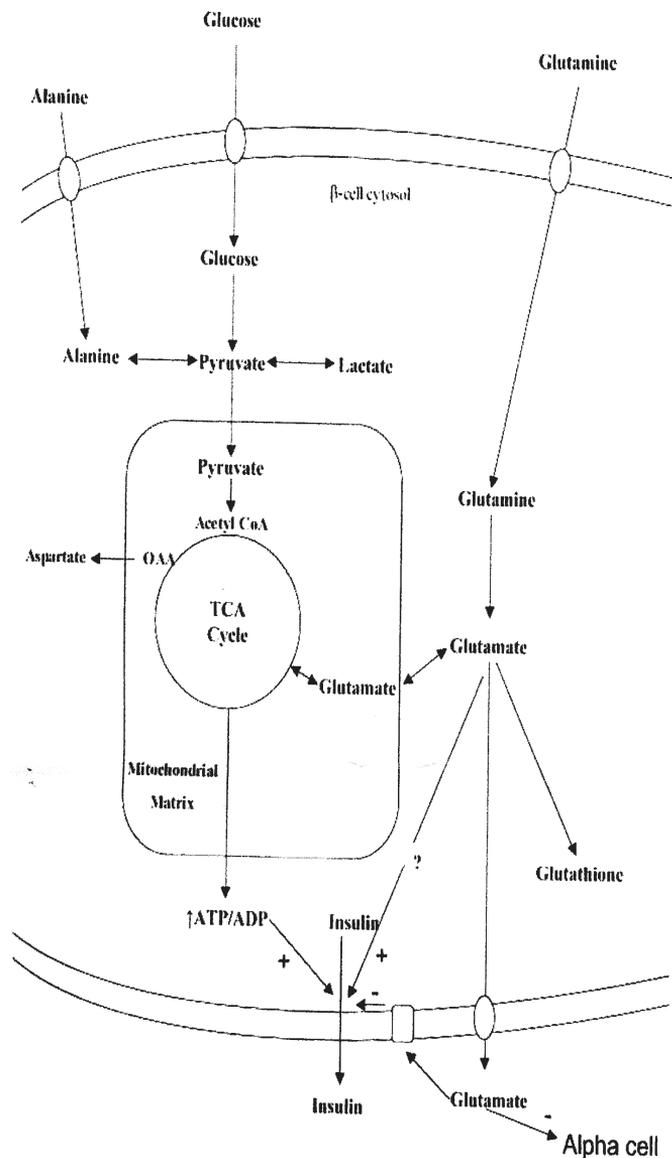


Gambar 7.2. Mekanisme sintesis dan sekresi insulin (Jubiz, 1979).

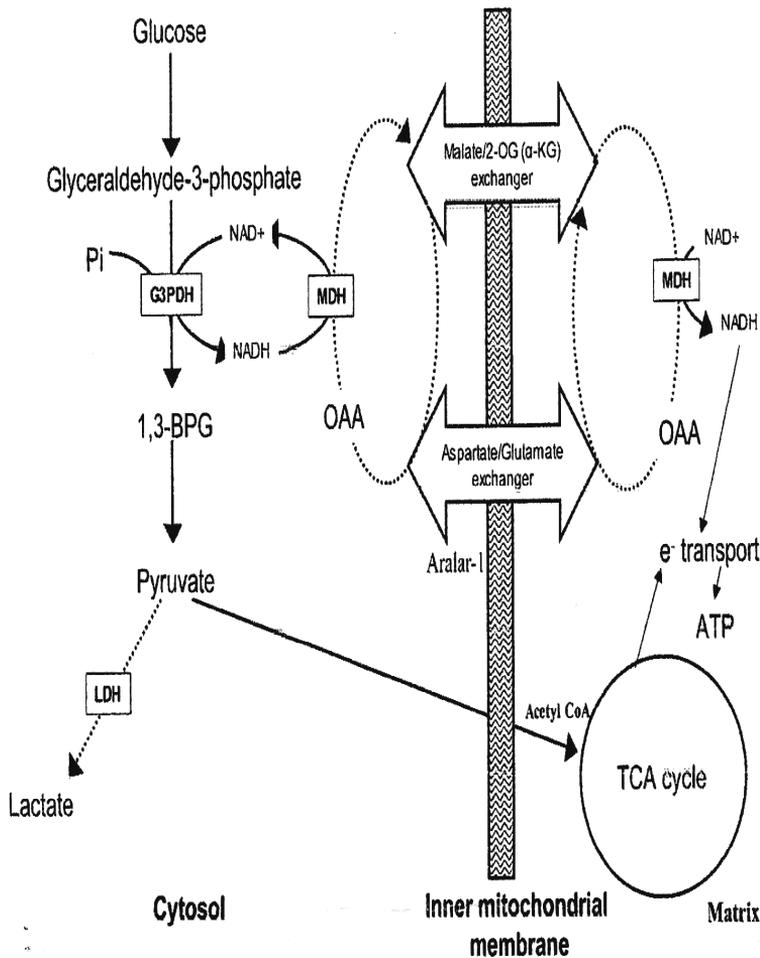


Gambar 7.3. Komponen struktural sel  $\beta$  pankreas yang terlibat dalam biosintesis dan sekresi insulin (Greenspan dan Forsham, 1986)





Gambar 7.5. Metabolisme beberapa asam amino dalam hubungannya dengan siklus TCA yang berpengaruh terhadap sekresi insulin. Jalur metabolisme glutamin adalah melalui glutaminase, GDH (glutamat dehidrogenase) dan masuk ke siklus TCA (glutaminolisis).



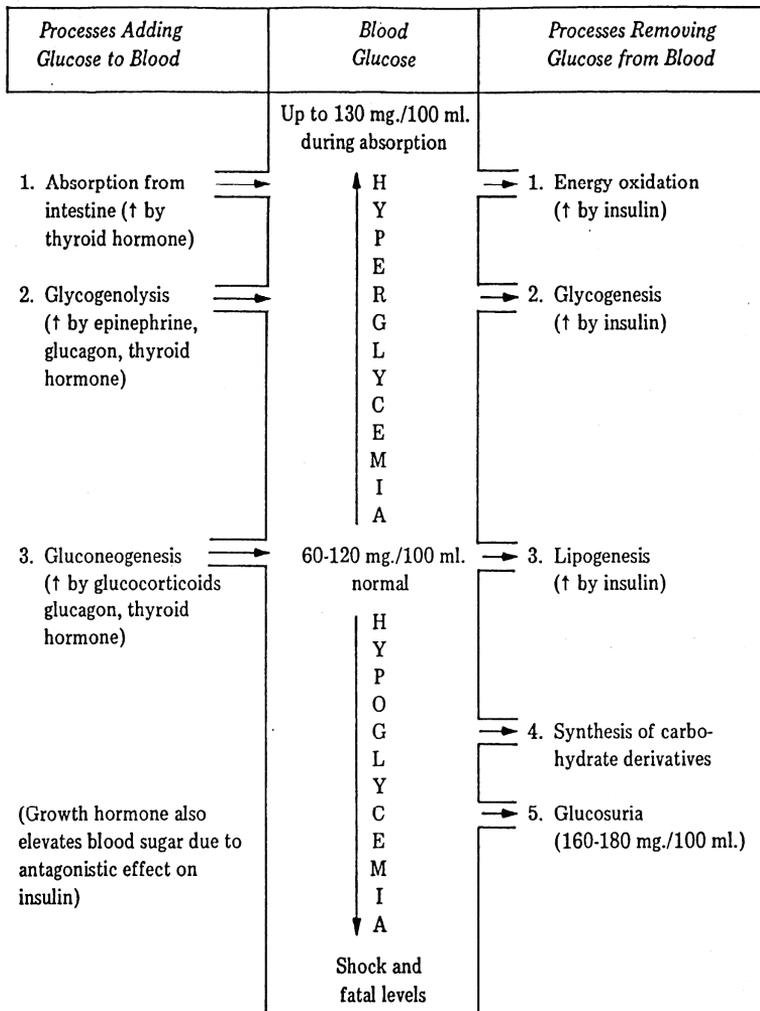
**Gambar 7.6.** Malate-aspartat/glutamat shuttle dan pembentukan ATP. Cytoplasmic malate dehydrogenase mengkatalisa perubahan oxaloacetate (OAA) menjadi malate yang mengoksidasi NADH menjadi NAD<sup>+</sup>. Malate selanjutnya masuk ke mitokondria. Reaksi ini bersifat dapat balik dengan katalisa mitochondrial malate dehydrogenase. Perpindahan mitochondrial OAA ke sitoplasma untuk mengatur siklus ini yang dilakukan dengan transaminasi (mendonorkan gugus amin) glutamat ke aspartat.

**Tabel 7.2.** Pengaruh insulin pada jaringan-jaringan

Liver	Otot	Lemak
Efek anabolik: Mendorong penyimpanan glikogen Meningkatkan sintesis trigliserida, kolesterol, dan VLDL Mendorong glikolisis Efek antikatabolik Menghambat glikogenolisis Menghambat ketogenesis Menghambat glukoneogenesis	Mendorong sintesis protein Meningkatkan transport asam amino Menstimulasi sintesis protein ribosomal Mendorong sintesis glikogen Meningkatkan transport glukosa Memperkuat aktivitas glikogen sintetase Menghambat aktivitas glikogen fosforilase	Mendorong penyimpanan trigliserida Menginduksi lipoprotein lipase, mengakibatkan asam lemak tersedia untuk diabsorpsi dalam sel-sel lemak Meningkatkan transport glukosa ke sel lemak, sehingga meningkatkan ketersediaan gliserol fosfat untuk sintesis trigliserida Menghambat lipolisis intraseluler.

Sumber: Greenspan dan Forsham, 1986.

Pada dasarnya fungsi utama insulin adalah menjaga gula darah dalam kondisi normal sehingga insulin terlibat langsung dalam metabolisme karbohidrat bersama-sama dengan hormon yang lain, yaitu glukagon, *thyroxin*, *adrenocorticoïd*, dan *catecholamine* (Burtis dkk., 1988), seperti terlihat pada Gambar 7.7.



Gambar 7.7. Proses penstabilan level gula darah (Burtis dkk.,1988).

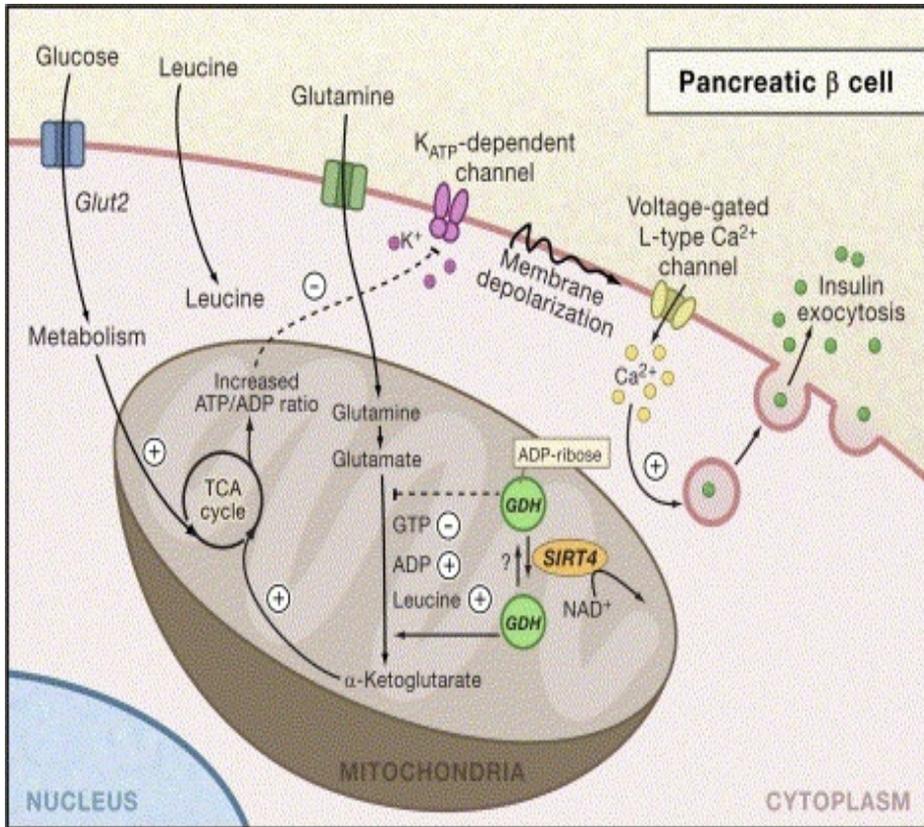
### 7.3 Mekanisme Stimulasi Sekresi Insulin

Sekresi insulin dari sel  $\beta$  pankreas distimulasi terutama oleh glukosa dengan nilai ambang untuk sekresi insulin adalah kadar glukosa plasma puasa 80 - 100 mg/dL dan akan diperoleh tanggapan maksimal pada kadar glukosa plasma 300 - 500 mg/dL. Gambar 2.14 menunjukkan bahwa glukosa akan menstimulasi pembentukan c-AMP dalam sel  $\beta$  pankreas

yang berperan dalam memobilisasi  $\text{Ca}^{2+}$  dari mitokondria (kalsium intraseluler), selanjutnya akan menstimulasi sekresi insulin yang diperkuat juga oleh  $\text{Ca}^{2+}$  ekstraseluler. Perjalanan sekresi insulin dimulai dari migrasi granula yang mengandung insulin ke bagian *periphery cell*, selanjutnya mengadakan fusi dengan plasma membran dan mengeluarkan insulin yang dikandungnya melalui proses *exocytosis* (Jubiz, 1979).

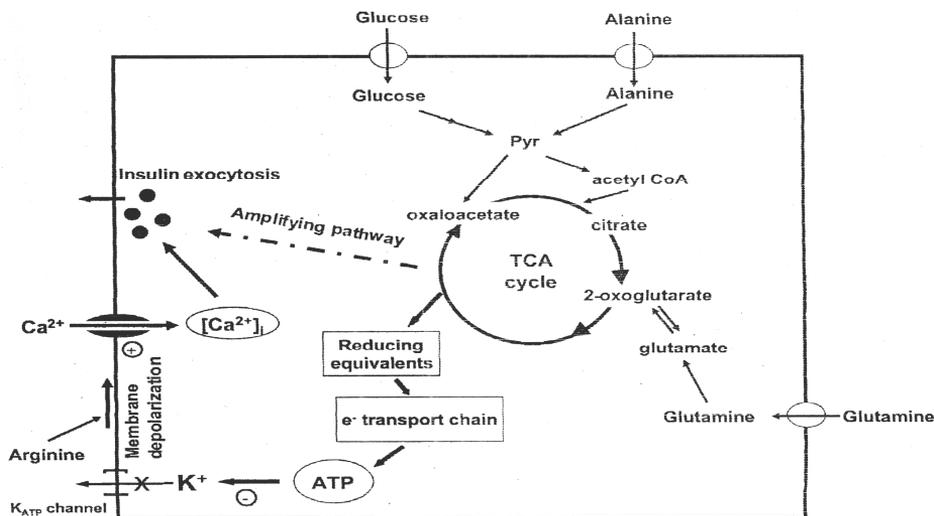
Greenspan dan Forsham (1986) mengemukakan bahwa pengaruh glukosa terhadap peranan  $\text{Ca}^{2+}$  dalam menstimulasi sekresi insulin melalui 3 mekanisme, yaitu (1) glukosa meningkatkan pengambilan  $\text{Ca}^{2+}$  oleh sel  $\beta$  pankreas, (2) glukosa memperlambat aliran  $\text{Ca}^{2+}$  keluar dari sel  $\beta$  pankreas, (3) glukosa menginduksi c-AMP untuk memobilisasi  $\text{Ca}^{2+}$  dari mitokondria. Mobilisasi  $\text{Ca}^{2+}$  dalam sel  $\beta$  berkaitan dengan peningkatan penggunaan ATP yang diperoleh dari metabolisme glukosa, khususnya melalui peranan glukokinase yang merupakan enzim penentu kecepatan reaksi glikolisis. Ketersediaan energi (ATP) tersebut juga akan meningkatkan  $\text{Ca}^{2+}$  masuk ke dalam sel dan berperan menstimulasi sekresi insulin (Ganong, 2003).

Potensi glukosa sebagai stimulator utama sekresi insulin juga dijelaskan oleh Argmann dan Auwerx (2006), seperti terlihat pada Gambar 7.8. Glukosa masuk ke dalam membran plasma sel  $\beta$  pankreas melalui *glucose transporters* dan dimetabolisasi melalui jalur siklus glikolisis dalam sitoplasma menghasilkan piruvat selanjutnya dimetabolisasi melalui jalur siklus TCA dalam mitokondria, sehingga menghasilkan ATP/energi. Ketersediaan energi menyebabkan penutupan *ATP-dependent  $\text{K}^+$  channels* yang menimbulkan depolarisasi plasma membran. Hal tersebut mengakibatkan pembukaan *voltage-gated L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels*, sehingga meningkatkan  $\text{Ca}^{2+}$  masuk ke dalam sel  $\beta$  pankreas. Akhirnya  $\text{Ca}^{2+}$  akan berperan menstimulasi sekresi insulin dari sel  $\beta$  pankreas melalui proses *insulin exocytosis* (Argmann dan Auwerx, 2006).

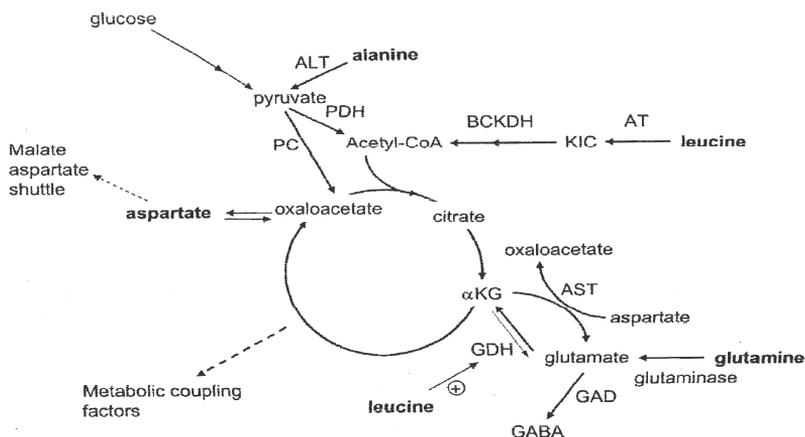


**Gambar 7.8.** Pengendalian sekresi insulin oleh glukosa dan asam amino dalam sel  $\beta$  pankreas (Argmann dan Auwerx, 2006)

Sekresi insulin dari sel  $\beta$  pankreas juga distimulasi oleh asam amino melalui mekanisme meningkatkan energi dalam mitokondria melalui jalur TCA dan efisiensi produksi ATP, seperti terlihat pada Gambar 7.9. dan 7.10.. Asam-asam amino akan meningkatkan ATP, sehingga menghasilkan penutupan *channels*  $K^+$ , depolarisasi plasma membran sel, peningkatan *voltage-dependent*  $Ca^{2+}$ , pemasukan  $Ca^{2+}$  kedalam membran, dan akhirnya meningkatkan fusi granula sel yang mengandung insulin pada plasma membran sehingga terjadi *insulin exocytosis* (Newsholme dkk., 2007).



**Gambar 7.9.** Model regulasi sekresi insulin dalam sel  $\beta$  pankreas yang distimulasi oleh glukosa dan asam amino (Newsholme dkk., 2007)



**Gambar 7.10.** Metabolisme beberapa asam amino dalam hubungannya dengan siklus TCA yang berpengaruh terhadap sekresi insulin. GDH = glutamat dehidrogenase, a KG =  $\alpha$ -Ketoglutarat, ALT = Alanin Aminotransferase, AST = Aspartate Aminotransferase, AT = Aminotransferase, BCKDH = Branched-chain  $\alpha$ -asam ketodehidrogenase, PC = piruvat karboksilase, PDH = piruvat dehidrogenase, KIC = asam  $\alpha$ -Ketoisokaproat (Newsholme dkk., 2006)

Newsholme dkk. (2006) telah mempelajari bahwa mekanisme stimulasi sekresi insulin oleh beberapa asam amino tersebut saling tergantung misalnya kemampuan stimulasi sekresi insulin dari Glu tergantung oleh adanya Leu, seperti terlihat pada Gambar 7.10. Glutamin mampu meningkatkan sekresi insulin yang diinduksi oleh Leu yang mengaktivasi glutamat dehidrogenase sehingga meningkatkan pemanfaatan karbon dari glutamin masuk kedalam siklus TCA membentuk energi. Namun adanya glukosa akan menghambat glutaminolisis sehingga terjadi akumulasi glutamat dan pembentukan asam  $\gamma$  amino butirat (GABA), yang berakibat kemampuan glutamin dalam mensekresi insulin rendah. Hal ini juga didukung oleh Argmann dan Auwerx (2006), seperti disajikan pada Gambar 7.8 yang menunjukkan bahwa Glu akan berperan dalam menstimulasi sekresi insulin pada kondisi kadar glukosa rendah atau kekurangan energi, karena adanya GTP (Guanosin Trifosfat) akan menghambat aktivitas glutamat dehidrogenase sehingga rasio GTP/ADP dalam sel  $\beta$  berperan mengendalikan pemanfaatan Glu untuk sekresi insulin.

Mekanisme stimulasi sekresi insulin oleh leusin melalui peningkatan metabolisme dalam mitokondria dengan cara leusin mengaktivasi glutamat dehidrogenase, dan peningkatan ATP karena leusin dapat dioksidasi dalam siklus TCA melalui pembentukan asetil Ko-A (Newsholme dkk., 2006). Yang dkk. (2006) mengemukakan bahwa leusin yang dikulturkan dengan sel  $\beta$  pankreas mampu meningkatkan regulasi glukokinase. Glukokinase merupakan enzim yang berperan dalam glikolisis yang mengontrol metabolisme glukosa dalam sel  $\beta$  pankreas. Peningkatan glukokinase berdampak pada peningkatan oksidasi NADPH<sub>2</sub> (dihidro-Nikotinamid Adenin Dinukleotida Fosfat) dan produksi ATP. Peningkatan produksi ATP tersebut menyebabkan peningkatan *glucose-induced cytosolic Ca<sup>2+</sup>* dan sekresi insulin. Leu juga dapat dikonvers menjadi senyawa  *$\alpha$ -ketoisocaproate* yang diketahui mampu menghambat *K<sub>ATP</sub> channel activity*, sehingga meningkatkan pengambilan Ca<sup>2+</sup> ekstraseluler yang berakibat peningkatan stimulasi sekresi insulin (Newsholme dkk., 2006).

Mekanisme stimulasi sekresi insulin dari arginin berbeda dengan asam amino lain, karena arginin merupakan asam amino kationik yang dapat mengakibatkan depolarisasi plasma membran dengan adanya glukosa, sehingga meningkatkan pengambilan  $Ca^{2+}$  yang berakibat peningkatan sekresi insulin. Selain itu Arg juga dapat dikonversi menjadi Glu yang selanjutnya dapat berperan dalam menstimulasi sekresi insulin. Sedangkan peran alanin dalam menstimulasi sekresi insulin melalui metabolisme dan oksidasi alanin pada jalur siklus TCA sehingga akan meningkatkan produksi energi (Newsholme dkk., 2006).

Pada umumnya asam-asam amino tersebut berfungsi memperkuat stimulasi sekresi insulin oleh glukosa, atau tanpa adanya glukosa maka asam-asam amino tersebut tidak dapat memperkuat stimulasi sekresi insulin (Newsholme dkk., 2007). Asam amino selain mampu menstimulasi sekresi insulin juga dapat menstimulasi sekresi glukagon yang tergantung pada rasio karbohidrat dan protein dalam diet. Semakin tinggi karbohidrat maka sekresi glukagon rendah dan sekresi insulin tinggi, sebaliknya apabila diet protein lebih tinggi daripada karbohidrat maka sekresi glukagon tinggi dan sekresi insulin rendah. Diet tinggi protein yang tidak diimbangi dengan karbohidrat menyebabkan asam amino kurang berpotensi menstimulasi sekresi insulin dan lebih berpotensi menstimulasi sekresi glukagon, karena kondisinya tidak mengalami hiperglikemia (Greenspan dan Forsham, 1986). Macam asam amino juga berpengaruh terhadap peran asam amino dalam menstimulasi sekresi insulin atau glukagon. Asam amino aromatis (tirosin dan triptofan) cenderung menstimulasi sekresi glukagon, sedangkan asam amino alifatis (alanin, leusin dan isoleusin) cenderung menstimulasi sekresi insulin (Rocha dkk, 1972 dalam Calbet MacLean, 2002).

#### **7.4 Potensi Kecambah Kedelai Sebagai Makanan Fungsional Untuk Mengatasi Diabetes**

Penelitian tentang pemanfaatan kecambah kedelai sebagai makanan fungsional saat ini sedang digalakkan, mengingat kecambah mudah dibuat melalui proses perkecambahan yang dapat dilakukan secara alamiah,

murah, dan memberikan banyak manfaat. Pertemuan ASCFST (*Asean Sub-Committee on Food Science and Technology*) di Bangkok juga telah merekomendasikan untuk meneliti tentang produksi pangan fungsional dari kecambah kedelai sebagai sumber antioksidan (Anonim, 2008). Beberapa peneliti telah mempelajari bahwa perkecambahan kedelai dapat meningkatkan aktivitas antioksidan, sehingga kecambah berpotensi sebagai pangan fungsional (Senaratna dkk., 1985; Patrick dkk., 2004; Boue dkk., 2008). Khalil dkk. (2006) juga telah menguji bahwa protein hidrolisat dari kecambah kedelai memiliki sifat antioksidatif yang lebih baik daripada biji kedelai.

Sejauh ini belum banyak penelitian tentang pemanfaatan kecambah kedelai sebagai makanan fungsional bagi penderita diabetes mellitus, khususnya yang berkaitan dengan perubahan asam amino selama perkecambahan. Penelitian terakhir tentang kecambah kedelai sebagai makanan fungsional bagi penderita diabetes mellitus telah dilakukan oleh Pathak (2005), namun tidak mengkaitkannya dengan potensi asam amino bebas. Penelitian tersebut dilakukan terhadap 35 pasien diabetes mellitus tipe 2 yang diberi asupan tepung kecambah kedelai usia 24 jam sebanyak 15 g, dan diberikan sebanyak 2 kali sehari sebagai pengganti OHG selama 3 bulan, serta diamati kadar glukosa darahnya secara periodik. Hasilnya menunjukkan bahwa tepung kecambah kedelai dapat digunakan untuk menurunkan glukosa darah dan lebih efektif daripada OHG. Sifat anti-diabetes mellitus dari tepung kecambah tersebut disebabkan oleh sintesis *phosphatidylinositol 3 kynase* selama perkecambahan kedelai yang merupakan komponen utama reseptor insulin (*tyrosin kinase*) (Khan, 1997; Pathak, 2005). Penelitian lain telah menunjukkan bahwa penghambatan terhadap aktivitas *phosphatidylinositol 3 kynase* mengakibatkan bloking sintesis glikogen (Bouzakri dkk., 2003). Selain itu selama perkecambahan juga terjadi sintesis *D-chiro inositol* yang telah diketahui bersifat anti-diabetes mellitus (Larner, 2002 dalam Pathak, 2005).

Perkecambahan juga diketahui mampu meningkatkan beberapa vitamin yang bersifat sebagai antioksidan (Sutardi, 1996; Ceriello, 2003). Antioksidan dalam kecambah kedelai bermanfaat untuk mencegah

komplikasi pada penderita diabetes mellitus (Pathak, 2005), misalnya atherosklerosis yang lebih mudah terjadi pada penderita diabetes mellitus. Manifestasi klinis dari atherosklerosis terutama terjadi pada pembuluh darah arteri jantung yang menyebabkan *coronary artery disease* (CAD) dan pembuluh darah otak yang menyebabkan *cerebrovascular disease*. Tingkat kejadian CAD dan *cerebrovascular disease* berturut-turut meningkat 2 - 4 kali dan 1,5 sampai 4 kali pada penderita diabetes mellitus. (Beckman dkk., 2002).

## **7.5 Penelitian Penjajagan Presipitat Protein Kecambah Kedelai Sebagai Penstimulasi Sekresi Insulin**

Penelitian Penjajagan Presipitat Protein Kecambah Kedelai Sebagai Penstimulasi Sekresi Insulin dilakukan oleh Kanetro (2009). Penelitian diawali pengamatan profil asam amino protein kecambah dan biji kedelai seperti disajikan pada Tabel 7.3 untuk sampel presipitat protein yang diisolasi dengan metode 1 dan Tabel 7.4 untuk sampel presipitat protein yang diisolasi dengan metode 2. Metode presipitasi protein pada pH 3 dan metode 2 dengan pH presipitasi protein pada pH 4.

Profil asam amino terdiri atas profil asam amino total dan bebas. Jumlah seluruh asam amino total menunjukkan kadar protein, sedangkan jumlah seluruh asam amino bebas menunjukkan kadar asam amino bebas. Definisi asam amino total dan bebas telah diuraikan pada batasan istilah (halaman xv). Profil asam amino total maupun bebas dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok asam amino yang telah diketahui kemampuannya menstimulasi sekresi insulin (asam amino penstimulasi insulin) dan asam amino yang belum diketahui kemampuannya menstimulasi sekresi insulin (asam amino non-penstimulasi insulin).

**Tabel 7.3.** Profil asam amino presipitat protein biji dan kecambah kedelai yang diisolasi dengan metode 1\*\*\*

Kelompok Asam amino	Macam asam amino	Profil asam amino total (% bk)		Profil asam amino bebas (% bk)	
		Biji	Kecambah	Biji	Kecambah
Penstimulasi insulin	Leu	0,02	0,02 *	0,00	0,00 *
	Arg	0,03	0,03 *	0,00	0,00 *
	Ala	0,09	0,10 *	0,00	0,03 *
	Phe	0,00	0,01 *	0,00	0,00 *
	Ile	0,02	0,03 *	0,01	0,01 *
	Lys	0,02	0,02 *	0,00	0,00 *
	Met	0,01	0,02 *	0,00	0,00 *
	Sub-jumlah	0,18	0,24 *	0,02	0,06 *
Non-penstimulasi insulin	Asp	0,05	0,08 *	0,00	0,01 *
	Glu	0,07	0,09 *	0,00	0,01 *
	Ser	0,02	0,02 *	0,00	0,00 *
	His	0,01	0,02 *	0,00	0,00 *
	Gly	0,00	0,01 *	0,00	0,00 *
	Thr	0,02	0,02 *	0,00	0,00 *
	Tyr	0,00	0,00 *	0,00	0,00 *
	Trp	0,02	0,01 *	0,01	0,01 *
	Val	0,01	0,02 *	0,01	0,00 *
Sub-jumlah	0,20	0,27	0,03	0,03	
Jumlah		0,39	0,50 *	0,05	0,10 *

Sumber Kanetro (2009)

Keterangan:

- \* tidak berbeda nyata antara biji dan kecambah pada baris dan kolom profil asam amino yang sama berdasarkan uji statistik pada tingkat kepercayaan 95%
- \*\* berbeda nyata antara biji dan kecambah pada baris dan kolom profil asam amino yang sama berdasarkan uji statistik pada tingkat kepercayaan 95%
- \*\*\* rata-rata dari dua ulangan percobaan.

**Tabel 7.4.** Profil asam amino presipitat protein biji dan kecambah kedelai yang diisolasi dengan metode 2 \*\*\*

Kelompok Asam amino	Macam asam amino	Profil asam amino total (% bk)		Profil asam amino bebas (% bk)	
		Biji	Kecambah	Biji	Kecambah
Penstimulasi insulin	Leu	1,19	1,08 **	0,02	0,07 **
	Arg	1,05	0,94 *	0,08	0,03 **
	Ala	2,28	2,13 *	0,06	0,51 **
	Phe	0,44	0,49 **	0,15	0,26 **
	Ile	1,14	1,12 *	0,04	0,04 *
	Lys	1,65	1,64 *	0,04	0,11 **
	Met	0,83	0,88 *	0,15	0,07 **
	Sub-jumlah	8,60	7,80 **	0,52	1,08 **
Non-penstimulasi insulin	Asp	2,81	2,92 *	0,10	0,13 *
	Glu	5,24	5,43 *	0,06	0,30 **
	Ser	0,84	0,75 **	0,03	0,27 **
	His	0,66	1,92 **	0,02	0,19 **
	Gly	0,22	0,03 **	0,00	0,02 **
	Thr	1,37	1,37 *	0,03	0,26 **
	Tyr	0,44	0,39 *	0,05	0,06 *
	Trp	0,37	0,36 *	0,30	0,06 **
	Val	1,29	1,06 **	0,06	0,06 *
	Sub-jumlah	13,24	14,23	0,65	1,35
Jumlah		21,83	22,01 *	1,13	2,39 **

Sumber Kanetro (2009)

Keterangan:

- \* tidak berbeda nyata antara biji dan kecambah pada baris dan kolom profil asam amino yang sama berdasarkan uji statistik pada tingkat kepercayaan 95%
- \*\* berbeda nyata antara biji dan kecambah pada baris dan kolom profil asam amino yang sama berdasarkan uji statistik pada tingkat kepercayaan 95%
- \*\*\* rata-rata dari dua ulangan percobaan.

### 7.5.1 Protein total dan asam amino bebas pada presipitat protein berdasarkan isolasi protein dengan metode 1 dan 2

#### a. Protein total pada presipitat protein berdasarkan isolasi protein dengan metode 1 dan 2

Perbandingan kadar protein total biji maupun kecambah kedelai pada Tabel 7.3 dengan 7.4 menunjukkan bahwa adanya perbedaan metode isolasi protein (metode 1 dan 2) tersebut mengakibatkan kadar protein total presipitat protein yang diperoleh dari metode 1 lebih kecil daripada presipitat protein yang diperoleh dari metode 2 baik pada biji maupun kecambah kedelai. Hal ini didukung dengan data rendemen presipitat protein biji dan kecambah dari metode 2 berturut-turut sebesar 31,70 dan 29,96% bk, sedangkan rendemen presipitat protein biji dan kecambah dari metode 1 berturut-turut 0,73 dan 0,79% bk.

Metode 2 (Tabel 4.2) menghasilkan kadar protein total dan rendemen lebih besar daripada metode 1 (Tabel 4.1) karena pada metode 2 protein diekstraksi pada pH kelarutan protein biji kedelai yang paling tinggi (pH 9) dan dipresipitasi pada kelarutan protein biji kedelai yang paling rendah atau pada pH isoelektrisnya (pH 4). Chau dkk. (1997) telah meneliti profil kelarutan protein biji kedelai yang menunjukkan bahwa kelarutan protein kedelai paling rendah terjadi pada pH 4, yaitu 5,26%. Selain itu prosedur isolasi protein dengan metode 2 tersebut telah diaplikasikan pada pembuatan isolat protein biji kedelai skala industri (Snyder dan Kwon, 1987) dan skala laboratorium (Zuheid Noor dkk. 1999). Jenis protein kedelai yang diperoleh dari metode 2 kemungkinan sebagian besar adalah protein 7S yang memiliki BM 180 kDa dan pH isoelektris sekitar 4 (Liu, 1999). Kandungan protein kedelai 7S dan 11S mencapai 80% dari protein kedelai (Liu, 1999).

Sementara pada metode 1 protein diekstraksi pada pH 4 yang merupakan pH kelarutan protein paling rendah, kemudian dipresipitasi pada pH 3 sehingga hanya sebagian kecil protein yang terdenaturasi pada pH 3. Salah satu jenis protein yang terdenaturasi pada pH 3 adalah *trypsin inhibitor* (Hilyati dan Sri-Benti 1991; Henny-Krissetiana, 2000). Presipitat

protein yang diperoleh dari metode 1 kemungkinan memiliki aktivitas *trypsin inhibitor*. Oleh karenanya perlu diuji aktivitas *trypsin inhibitor* pada presipitat protein dari metode 1 maupun 2, mengingat beberapa pustaka menunjukkan bahwa *trypsin inhibitor* juga bisa berperan meningkatkan jumlah insulin.

**b. Asam amino bebas pada presipitat protein berdasarkan isolasi protein dengan metode 1 dan 2**

Keberadaan asam amino bebas pada presipitat protein yang diisolasi dengan metode 1 maupun 2 disebabkan oleh asam amino berada pada titik isoelektrisnya sehingga ikut mengendap pada saat presipitasi protein. Asam amino yang tidak berada pada titik isoelektrisnya kemungkinan bisa terperangkap dalam molekul protein sehingga terikat dalam endapan protein. Penyebab lain adalah pada saat terjadi denaturasi protein, ikatan dan interaksi yang menstabilkan struktur alamiah protein akan hilang, yaitu ikatan hidrogen, *salt bridge*, *disulfida bridge*, dan interaksi hidrofobik (Janecek, 1993). Hal tersebut kemungkinan mengakibatkan terjadi interaksi antara asam amino penyusun protein dengan asam amino bebas, sehingga asam amino bebas bisa terikat dalam endapan protein yang mengalami denaturasi. Beberapa asam amino non-polar, misalnya Leu, Ile, dan Ala kemungkinan mengikuti mekanisme pengendapan dengan mengadakan interaksi hidrofobik dengan asam amino non-polar pada molekul protein yang mengendap. Mekanisme diatas dapat dibuktikan pada percobaan ini yang menunjukkan bahwa kadar asam amino bebas pada metode jauh lebih besar daripada metode 1.

Pembahasan sebelumnya menunjukkan bahwa protein yang dapat diendapkan pada metode 2 lebih banyak daripada metode 1, sehingga asam amino bebas pada metode 2 yang bisa terperangkap dan ikut mengendap pada molekul protein yang terdenaturasi juga lebih banyak daripada metode 1. Selain itu sebagian besar asam amino bebas akan larut pada kondisi basa dengan  $\text{pH} \geq 9$  (Bettelheim dkk., 2004), sehingga pada isolasi protein metode 2 sebagian besar asam amino bebas bisa terekstrak pada pH 9 (larut pada supernatan) dan bisa ikut diendapkan pada pH 4. Sedangkan pada isolasi protein metode 1 kemungkinan hanya sebagian

kecil asam amino bebas yang bisa larut dalam supernatan selama ekstraksi pada pH 4, sehingga yang bisa diendapkan pada pH 3 juga hanya sedikit. Hal tersebut mengakibatkan jumlah asam amino bebas yang bisa dideteksi pada metode 1 sangat kecil, dan bahkan beberapa macam asam amino bebas tidak terdeteksi. Demikian juga jumlah asam amino bebas antara biji dan kecambah pada metode 1 tidak bisa dibedakan (tidak beda nyata).

Berdasarkan pembahasan sub bab ini dapat disimpulkan bahwa untuk mendapatkan asam amino bebas pada presipitat protein lebih tepat digunakan metode 2 daripada metode 1. Oleh karena itu pembahasan selanjutnya tentang perbandingan profil asam amino khususnya asam amino bebas antara biji dan kecambah didasarkan oleh hasil analisis profil asam amino pada presipitat protein dari metode 2, karena jumlah asam amino bebas antara biji dan kecambah pada metode 2 berbeda nyata. Dengan demikian pengaruh perkecambahan biji kedelai selama 36 jam terhadap profil asam amino dapat diketahui.

## **7.5.2 Protein total, asam amino bebas, dan profil asam amino biji dan kecambah kedelai**

### **a. Protein total biji dan kecambah kedelai**

Pengujian kadar protein total pada penelitian ini didasarkan pada jumlah N dalam sampel. Kadar protein total presipitat protein kecambah tidak berbeda nyata dengan biji kedelai. Hal ini menunjukkan bahwa perkecambahan selama 36 jam tidak mengubah total N dalam biji kedelai. Pada umumnya tumbuhan selalu memanfaatkan N yang tersedia dan tidak mengekskresikan kelebihan N dalam bentuk amonia sebagai hasil samping katabolisme asam amino (Devlin dan Witham, 1983). Penelitian yang dilakukan oleh King dan Puwastien (1987) juga menunjukkan bahwa perkecambahan biji kecipir tidak mengubah total N.

### **b. Asam amino bebas biji dan kecambah kedelai**

Perkecambahan meningkatkan kadar asam amino bebas yang ditunjukkan oleh kadar asam amino bebas pada presipitat protein kecambah lebih tinggi daripada biji. Peningkatan kadar asam amino bebas kecambah

kedelai tersebut mencapai 2,12 kali terhadap biji kedelai, seperti terlihat pada Tabel 7.4. Hal ini menunjukkan bahwa perkecambahan biji kedelai selama 36 jam telah mengakibatkan degradasi protein khususnya dikatalisis oleh eksopeptidase (aminopeptidase dan karboksipeptidase). Aminopeptidase mengkatalisis degradasi protein dari ujung amino, sementara karboksipeptidase mengkatalisis degradasi protein dari ujung karboksi sehingga secara langsung menghasilkan asam amino bebas. Sedangkan degradasi protein yang dikatalisis oleh endopeptidase menghasilkan polipeptida dengan BM lebih kecil atau peptida sederhana, karena endopeptidase mendegradasi protein mulai dari bagian tengah rantai. Peptida selanjutnya didegradasi lebih lanjut oleh peptida hidrolase menjadi asam amino bebas (Bewley dan Black, 1983). Terjadinya degradasi protein cadangan selama perkecambahan, juga didukung adanya naiknya aktivitas protease selama perendaman maupun perkecambahan biji kacang-kacangan (Bewley dan Black, 1983 ; Nnanna dan Phillips, 1988). Selama perkecambahan kedelai diduga juga terjadi sintesis asam amino sehingga meningkatkan kadar asam amino bebas.

Penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa perkecambahan kedelai bisa menghasilkan protein hidrolisat yang mengandung asam amino bebas lebih tinggi daripada biji (Khalil dkk., 2006). Martinez dkk. (2006) juga telah membuktikan bahwa perkecambahan kedelai meningkatkan asam amino bebas, dan kadar asam amino bebas paling tinggi dicapai pada perkecambahan selama 96 jam. Perkecambahan pada biji kacang-kacangan lain, yaitu *Phaseolus vulgaris* (Bewley dan Black, 1983), kecipir (King dan Puwastien, 1987), dan kacang tanah (Chiou dkk., 1997) juga meningkatkan kadar asam amino bebas.

### 7.5.3 Profil asam amino total biji dan kecambah kedelai

Tabel 7.4. menunjukkan bahwa sebagian besar kadar berbagai macam asam amino total presipitat protein kecambah tidak berbeda nyata dengan biji kedelai. Macam asam amino total kecambah yang menurun secara nyata dibandingkan biji adalah Leu, Ser, Gly, dan Val sedangkan yang meningkat adalah His dan Phe. Hal ini menunjukkan bahwa

perkecambahan biji selama 36 jam hanya dapat mengubah kadar sebagian kecil asam amino total (6 macam), sedangkan asam amino lainnya yang terdeteksi pada pengujian ini (10 macam) kadarnya tidak berubah. Sementara penelitian yang dilakukan King dan Puwastien (1987) menunjukkan bahwa kadar sebagian besar asam amino (12 macam) berubah secara nyata selama perkecambahan biji kecipir. Perubahan kadar berbagai macam asam amino tersebut sangat dipengaruhi oleh waktu perkecambahan, misalnya Lys meningkat pada perkecambahan 24 jam kemudian menurun sampai perkecambahan 120 jam, His meningkat sampai perkecambahan 120 jam, dan Arg menurun sampai perkecambahan 120 jam.

Penurunan kadar beberapa asam amino total tersebut kemungkinan disebabkan oleh katabolisme asam amino menjadi kerangka karbon, dan selanjutnya dimanfaatkan untuk proses respirasi melalui jalur siklus TCA yang menghasilkan energi untuk perkecambahan. Katabolisme Leu menghasilkan produk akhir asetil-KoA dan asetoasetil-KoA, Ser dan Gly menghasilkan asam piruvat, dan Val menghasilkan suksinil-KoA (Conn dan Sumpf, 1976; Murray dkk., 2000), sehingga produk akhir dari katabolisme asam amino tersebut dapat dimanfaatkan untuk respirasi melalui jalur siklus TCA.

Sedangkan kenaikan kadar beberapa asam amino total tersebut kemungkinan disebabkan oleh sintesis asam amino yang dibutuhkan untuk pertumbuhan embrio selama perkecambahan. Kenaikan kadar His kemungkinan berkaitan dengan kebutuhan asam amino tersebut pada tahap awal perkembangan. Pada binatang yang sedang tumbuh biasanya membutuhkan tambahan His dari makanannya (Martin dkk., 1983), sedangkan tumbuhan dapat mensintesis semua asam amino yang dibutuhkan untuk pertumbuhannya (Stern, 2000). His disintesis dari senyawa 5-fosforibosil-1-pirofosfat (PribPP/PRPP) yang berkondensasi dengan ATP. Biosintesis His mirip dengan reaksi permulaan biosintesis purin (ATP dan GTP) yang juga melibatkan senyawa PribPP/PRPP (Martin dkk., 1983; Paustin, 2000). Sedangkan kenaikan Phe kemungkinan juga disebabkan oleh sintesis Phe selama perkecambahan biji. Sintesis Phe

dimulai dengan sintesis senyawa *chorismate* yang merupakan senyawa *intermediate* penting untuk biosintesis asam amino aromatik.

#### 7.5.4 Profil asam amino bebas biji dan kecambah kedelai

Tabel 7.4. menunjukkan bahwa kadar sebagian besar macam asam amino bebas (12 macam) berubah secara nyata sesudah perkecambahan biji selama 36 jam. Kadar asam amino bebas kecambah yang naik secara nyata dibandingkan biji adalah Leu, Ala, Phe, Lys, Glu, Ser, His, Gly, dan Thr, sedangkan asam amino yang turun secara nyata adalah Arg, Met, dan Trp. Sementara penelitian yang dilakukan oleh Chiou dkk. (1997) menunjukkan bahwa waktu perkecambahan sangat berpengaruh terhadap macam asam amino bebas yang terbetuk pada kecambah kacang tanah dan kadar sebagian besar macam asam amino bebas (15 macam) naik secara nyata sampai perkecambahan 72 jam, sedangkan Ala dan Cys turun. Kenaikan tertinggi kadar berbagai macam asam amino bebas selama perkecambahan biji kacang tanah sampai 72 jam mencapai 5 kali terhadap biji, yaitu Thr, Ser, Pro, Gly, Tyr, His, dan Arg (Chiou dkk., 1997).

Kenaikan kadar berbagai macam asam amino bebas seperti terlihat pada Tabel 7.4. selain disebabkan oleh degradasi protein selama perkecambahan, kemungkinan juga disebabkan oleh biosintesis Glu, Ala, Leu, Phe, Thr dan Lys, Ser dan Gly, His, melalui reaksi yang telah dijelaskan oleh Paustin (2000) yang disajikan pada Bab 1 halaman 8 tentang sintesis asam amino berturut-turut disajikan pada Gambar 2.4, 2.5, 2.6, 2.7 dan 2.8, 2.9, 2.10, 2.11. Leu dan Ala; Phe; Lys dan Thr; Ser dan Gly disintesis dari senyawa *progenitor*, yaitu berturut-turut piruvat, fosfoenolpiruvat, aspartat, 3-fosfoglisarat (Conn dan Stumpf, 1976). Leu tidak langsung disintesis dari senyawa *progenitor* piruvat tetapi dari senyawa *intermediate* ( $\alpha$ -ketovalerat) yang berasal dari biosintesis valin yang langsung berasal dari piruvat (Paustin, 2000). Sedangkan biosintesis Glu melalui jalur reaksi sederhana, yaitu kemungkinan selama perkecambahan terjadi proses asimilasi nitrogen atau pemanfaatan nitrogen dalam bentuk nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) yang direduksi menjadi nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) oleh enzim nitrat reduktase, selanjutnya direduksi menjadi amonia ( $\text{NH}_3$ )

oleh nitrit reduktase. Amonia bereaksi dengan kerangka karbon ( $\alpha$ -ketoglutarat) sehingga terbentuk Glu (Devlin dan Witham, 1983, Paustin, 2000).

Sementara penurunan kadar beberapa macam asam amino bebas yang terlihat pada Tabel 7.4., yaitu Arg, Met, dan Trp kemungkinan berkaitan dengan pemanfaatannya untuk sintesis protein atau untuk proses respirasi melalui katabolisme asam amino. Katabolime asam amino bebas Arg, Met, dan Trp akan menghasilkan produk akhir dalam bentuk kerangka karbon yang bisa masuk ke jalur siklus TCA pada proses respirasi, yaitu berturut-turut  $\alpha$ -ketoglutarat, suksinil-KoA, dan asetoasetil-KoA (Conn dan Stumpf, 1976 ; Murray dkk., 2000).

Tabel 7.4 juga memperlihatkan bahwa peningkatan kadar beberapa macam asam amino bebas diikuti dengan penurunan kadar asam amino totalnya secara nyata, misalnya Leu. Hal ini menunjukkan bahwa kecepatan pemanfaatan asam amino tersebut untuk pembentukan energi atau untuk sintesis protein lebih rendah daripada pembebanan asam amino tersebut. Menurut Paustin (2000) Leu bukan tergolong asam amino yang mudah dikatabolisasi untuk pembentukan energi, karena deaminasi Leu menghasilkan  $\alpha$ -ketoisokaproat yang tidak termasuk senyawa *central metabolites* pada siklus TCA. Sebelum masuk ke jalur siklus TCA,  $\alpha$ -ketoisokaproat harus melalui jalur metabolisme yang spesifik, sedangkan katabolisme asam amino yang menghasilkan senyawa *central metabolites* ( $\alpha$ -ketoglutarat, oksaloasetat, dan piruvat) akan lebih mudah dimetabolisasi lebih lanjut melalui jalur siklus TCA (Paustin, 2000).

### **7.5.5 Profil asam amino total dan bebas penstimulasi insulin biji dan kecambah kedelai**

Tujuan utama pengujian profil asam amino adalah mengetahui kadar kelompok asam amino yang telah diketahui kemampuannya menstimulasi sekresi insulin, khususnya dalam bentuk asam amino bebas. Berbagai macam asam amino tersebut berturut-turut mulai dari kemampuan menstimulasi sekresi insulin paling tinggi, yaitu Leu, Arg, Ala, Phe, Ile, Lys, dan Met.

Tabel 7.4. menunjukkan bahwa perkecambahan biji kedelai selama 36 jam menurunkan kadar asam amino total penstimulasi insulin, namun meningkatkan asam amino bebas penstimulasi insulin. Pembahasan perubahan kadar berbagai macam asam amino total maupun bebas ini telah dijelaskan pada pembahasan sebelumnya.

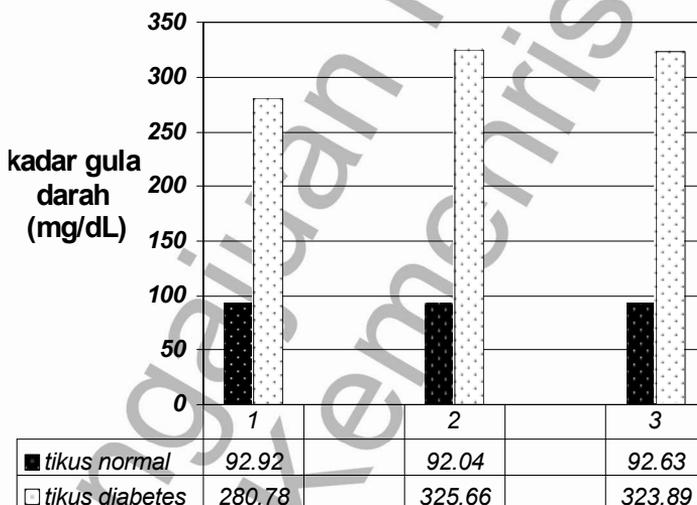
Tabel 7.4. menunjukkan bahwa kadar berbagai macam asam amino bebas penstimulasi insulin pada kecambah dibandingkan biji kedelai yang naik adalah Ala, Leu, Lys dan Phe berturut-turut naik sebesar 8,5; 3,5; 2,8 dan 1,7 kali. Sedangkan macam asam amino bebas penstimulasi insulin yang turun adalah Arg dan Met, sementara Ile tidak berubah sesudah perkecambahan selama 36 jam. Diantara asam amino bebas penstimulasi insulin yang naik, terlihat bahwa kenaikan Ala paling tinggi dibandingkan asam amino lainnya, hal ini kemungkinan berkaitan dengan biosintesis Ala yang lebih sederhana atau hanya melalui satu tahap reaksi dibandingkan dengan asam amino lainnya yang disintesis melalui beberapa tahap reaksi.

Berdasarkan pembahasan pada sub bab ini, dapat disimpulkan bahwa perkecambahan biji kedelai selama 36 jam menurunkan kadar asam amino total penstimulasi insulin, namun meningkatkan kadar asam amino bebas penstimulasi insulin, yaitu Ala, Leu, Lys dan Phe. Sementara macam asam amino bebas penstimulasi insulin yang lain, yaitu Arg, dan Met turun akibat perkecambahan biji selama 36 jam. Adanya kenaikan dan penurunan kadar berbagai macam asam amino bebas penstimulasi insulin akibat perkecambahan biji selama 36 jam tersebut menimbulkan dugaan apakah kecambah kedelai masih mampu meningkatkan stimulasi sekresi insulin dibandingkan biji kedelai. Hal tersebut dibuktikan pada percobaan selanjutnya sehingga dapat ditentukan bahwa macam asam amino bebas pada kecambah kedelai yang berperan meningkatkan jumlah insulin adalah Ala, Leu, Lys dan Phe.

#### **7.56 Jumlah Insulin *Pancreas Islet* Tikus Normal dan Diabetes pada Media Presipitat Protein Biji dan Kecambah Kedelai**

Pembuktian presipitat protein kecambah kedelai untuk mengatasi diabetes dilakukan dengan cara pengukuran insulin pada pengujian biologis secara

*in vitro* menggunakan tikus. Pengujian biologis secara *in vitro* untuk mengukur jumlah insulin *pancreas islet* diawali dengan pengukuran kadar gula darah tikus percobaan, dan protein *pancreas islet* dalam berbagai media inkubasi. Berdasarkan pengukuran gula darah tikus percobaan sebelum injeksi aloksan diketahui bahwa gula darah tikus sesudah puasa sekitar 64 - 68 mg/dL, yang menunjukkan semua tikus percobaan dalam kondisi normal. Pada penderita diabetes gula darah puasa akan lebih dari 125 mg/dL, sedangkan pada kondisi normal sekitar 60 -110 mg/dL. Gula darah tikus percobaan sesudah injeksi aloksan mencapai 280,78 - 325,66 mg/dL, seperti terlihat pada Gambar 7.11. yang menunjukkan bahwa injeksi aloksan pada tikus percobaan menyebabkan peningkatan gula darah yang mengindikasikan terjadinya diabetes mellitus.



**Gambar 7.11.** Kadar gula darah tikus percobaan sesudah injeksi aloksan Sumber Kanetro (2009)

Injeksi aloksan bisa menyebabkan tikus percobaan menderita diabetes mellitus, karena aloksan menyebabkan nekrosis pada pulau-pulau *Langerhans* pankreas dan secara selektif merupakan toksin sel  $\beta$  pankreas yang bertanggung jawab dalam pembentukan insulin (Lenzen dkk., 1996). Aloksan bisa secara cepat menyebabkan gangguan sekresi insulin pada

tikus percobaan sehingga kenaikan gula darah dapat segera diketahui dalam jangka waktu 5 menit sesudah injeksi aloksan (Bondy dan Rosenberg, 1974). Ganong (2003) dan Khan dkk. (1997) mengelompokkan aloksan sebagai salah satu faktor penghambat sekresi insulin.

*Pancreas islets* yang diperoleh dari tikus normal dan diabetes diinkubasi dengan berbagai media inkubasi. Media inkubasi yang digunakan tidak hanya presipitat protein kecambah dari metode 2 yang telah diketahui mengandung asam amino bebas lebih tinggi daripada biji, tetapi juga digunakan presipitat protein dari metode 1. Hal ini untuk memastikan bahwa asam amino bebas adalah komponen yang paling berperan dalam menstimulasi sekresi insulin. Pada pengujian ini juga digunakan protein BBI dan KTI sebagai pembanding presipitat protein dari metode 1 karena presipitat protein ini memiliki aktivitas *trypsin inhibitor*. Sementara presipitat protein dari metode 2 tidak memiliki aktivitas *trypsin inhibitor*.

Supernatan yang diperoleh dari sentrifugasi *Pancreas islets* dalam berbagai media inkubasi terlebih dahulu kadar protein diukur sebelum jumlah insulinnya diukur. Pengukuran kadar protein digunakan sebagai dasar penentuan jumlah antigen (insulin *pancreas islet*) pada pengujian Metode ELISA. Pengukuran kadar protein juga digunakan sebagai indikator bahwa berbagai media inkubasi yang digunakan berpengaruh terhadap kinerja sel-sel pada *pancreas islet*, khususnya dalam mensekresikan berbagai hormon maupun enzim pankreatik. Hal tersebut ditunjukkan oleh adanya perbedaan kadar protein dari berbagai media inkubasi, seperti terlihat pada Tabel 7.5.

Jumlah insulin diukur pada supernatan yang diperoleh dari sentrifugasi *pancreas islets* dalam berbagai media inkubasi. Sentrifugasi dengan kecepatan tinggi (7500 g) tersebut akan memisahkan insulin yang dibebaskan dari sel  $\beta$  pankreas sehingga terlarut dalam supernatan, dengan komponen padatan media inkubasi yang tidak larut sehingga dapat diendapkan. Oleh karenanya jumlah insulin pada pengujian biologis secara *in vitro* ini bisa digunakan sebagai petunjuk adanya stimulasi sekresi insulin (pembebasan insulin dari sel  $\beta$  *pancreas islet* ke plasma darah).

Jumlah insulin *pancreas islet* dinyatakan sebagai nilai absorbansi (ditampilkan pada ELISA reader) dari reaksi pewarnaan yang terjadi pada pengujian (timbul warna kuning). Makin tinggi intensitas warna kuning, maka nilai absorbansi makin besar yang menunjukkan bahwa jumlah insulin *pancreas islet* makin tinggi. Hasil pengukuran jumlah insulin *pancreas islet* tikus normal dan diabetes disajikan pada Tabel 7.6.

**Tabel 7.5.** Kadar protein *pancreas islet* tikus normal dan diabetes dari berbagai media inkubasi (mg/ml supernatan)\*

Media inkubasi	Kadar protein <i>pancreas islet</i>	
	normal	diabetes
Glukosa (kontrol)	2,63b	1,79a
Glukosa + presipitat protein biji dari metode 1	3,00bcd	2,64b
Glukosa + presipitat protein kecambah dari metode 1	3,59efg	2,91bc
Glukosa + presipitat protein biji dari metode 2	3,24cdef	3,10bcde
Glukosa + presipitat protein kecambah dari metode 2	4,05g	3,69fg
Glukosa + KTI	4,53h	3,68fg
Glukosa + BBI	3,47def	3,22cdef

Sumber Kanetro (2009)

Keterangan:

\* = rata-rata dari 2 ulangan percobaan dan 3 ulangan analisis, notasi huruf yang sama di belakang menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan uji statistik pada tingkat kepercayaan 95%

**Tabel 7.6.** Jumlah insulin *pancreas islet* tikus normal dan diabetes dari berbagai media inkubasi yang dinyatakan dengan nilai absorbansi pada panjang gelombang 405 nm \*

Media inkubasi	Jumlah insulin <i>pancreas islet</i>	
	normal	diabetes
Glukosa (kontrol)	0,71b	0,56a
Glukosa + presipitat protein biji dari metode 1	0,87d	0,84cd
Glukosa + presipitat protein kecambah dari metode 1	1,11f	0,91de
Glukosa + presipitat protein biji dari metode 2	0,83bcd	0,72bc
Glukosa + presipitat protein kecambah dari metode 2	1,02ef	0,88d
Glukosa + KTI	1,06f	0,81bcd
Glukosa + BBI	1,04f	0,83bcd

Sumber Kanetro (2009)

Keterangan:

\* = rata-rata dari 2 ulangan percobaan dan 3 ulangan analisis, notasi huruf yang sama di belakang angka menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan uji statistik pada tingkat kepercayaan 95%

### 7.5.7 Peningkatan jumlah insulin *pancreas islet* tikus normal dan diabetes pada media presipitat protein biji dan kecambah kedelai terhadap media glukosa (kontrol)

Dari Tabel 7.6 dapat diketahui bahwa jumlah insulin normal yang dihasilkan oleh sel  $\beta$  pankreas untuk merespon glukosa adalah sebesar 0,71 yang ditunjukkan dari jumlah insulin kontrol (*pancreas islet* tikus normal dalam media glukosa). Semua perlakuan media dengan penambahan berbagai protein pada *pancreas islet* tikus normal dan diabetes ternyata dapat bersinergi dengan glukosa untuk meningkatkan jumlah insulin sehingga lebih dari 0,71, meskipun beberapa perlakuan media inkubasi menunjukkan peningkatan jumlah insulin yang tidak berbeda nyata dengan kontrol. Perbedaan jumlah insulin yang nyata antara perlakuan dengan kontrol tersebut menunjukkan bahwa semua perlakuan berbagai

jenis protein sebagai media inkubasi memberikan pengaruh positif terhadap peningkatan stimulasi sekresi insulin. Beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa pemberian glukosa yang dikombinasikan dengan protein atau asam amino pada pengujian secara *in vivo* maupun *in vitro* akan meningkatkan jumlah insulin (Tse dkk., 1995; Iritani dkk., 1997; Van Loon dkk., 2000; Henny Krissetiana, 2000; Calbet dan MacLean, 2002; Van Loon dkk., 2003; Kim dkk., 2004; Sans dkk., 2006; Yang dkk., 2006).

Tikus diabetes yang diinduksi aloksan akan mengalami gangguan sekresi insulin, sehingga jumlah insulin yang disekresikan oleh *pancreas islet* tikus diabetes lebih sedikit dibandingkan *pancreas islet* tikus normal. Namun jika dilihat dari peningkatan jumlah insulin yang disekresikan dari semua perlakuan media terhadap kontrol, diketahui bahwa rata-rata peningkatan jumlah insulin pada *pancreas islet* tikus diabetes sama dengan *pancreas islet* tikus normal, yaitu 0,27. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan berbagai jenis presipitat protein menstimulasi sekresi insulin pada *pancreas islet* tikus normal sama dengan pada *pancreas islet* tikus diabetes.

Tabel 7.6 juga menunjukkan bahwa peningkatan jumlah insulin media presipitat protein kecambah terhadap kontrol (1,44-1,56) lebih tinggi daripada peningkatan jumlah insulin media presipitat protein biji terhadap kontrol (1,17-1,22) pada *pancreas islet* tikus normal. Kecenderungan yang sama terjadi juga pada *pancreas islet* tikus diabetes, yaitu peningkatan jumlah insulin media kecambah dan biji berturut-turut 1,60-1,62 dan 1,29-1,50 kali terhadap kontrol. Hal ini memberikan indikasi bahwa potensi presipitat protein kecambah untuk menstimulasi sekresi insulin lebih tinggi daripada biji, yang diduga disebabkan oleh adanya peningkatan berbagai macam asam amino bebas penstimulasi insulin akibat perkecambahan biji selama 36 jam.

Penelitian lain tentang pengujian biologis secara *in vitro* melalui inkubasi *pancreas islet* dengan berbagai asam amino, menunjukkan bahwa penambahan glukosa dengan Ala 10 mmol/L atau 0,089% b/v (Newsholme dkk., 2007), Leu 10 mmol/L atau 0,13% b/v (Yang dkk., 2006), dan Arg 10 mmol/L atau 0,18% b/v (Tse dkk. 1994) dapat meningkatkan

sekresi insulin *pancreas islet* mencapai berturut-turut 3; 3,5; dan 3,5 kali terhadap kontrol (media glukosa tanpa penambahan asam amino). Kenaikan jumlah insulin pada media presipitat protein terhadap kontrol dari hasil penelitian ini ternyata lebih rendah dibandingkan dengan hasil penelitian lain tersebut, padahal jika dilihat kadar asam amino bebas penstimulasi insulin dalam media presipitat protein lebih tinggi (0,33 - 0,72% b/v) daripada asam amino yang digunakan pada penelitian lain tersebut (0,089 - 0,18% b/v). Hal ini disebabkan dalam media presipitat protein pada percobaan ini terdapat berbagai komponen yang spesifik maupun tidak spesifik menstimulasi sekresi insulin dan kemungkinan saling berinteraksi sehingga berpengaruh terhadap sekresi insulin.

Berdasarkan pembahasan pada sub bab ini dapat disimpulkan bahwa media glukosa yang ditambah presipitat protein dapat meningkatkan jumlah insulin dibandingkan media glukosa tanpa penambahan presipitat protein (kontrol), baik pada *pancreas islet* tikus normal maupun diabetes. Kenaikan jumlah insulin *pancreas islet* tikus normal maupun diabetes terhadap kontrol pada media presipitat protein kecambah lebih tinggi daripada biji kedelai. Hal ini diduga adanya peranan asam amino bebas penstimulasi insulin pada presipitat protein kecambah yang jumlahnya lebih tinggi daripada biji kedelai. Pembahasan berikutnya akan membuktikan hal tersebut.

### **7.5.8 Hubungan jumlah insulin *pancreas islet* tikus normal dan diabetes dengan profil asam amino pada media presipitat protein biji dan kecambah kedelai**

#### **a. Hubungan jumlah insulin *pancreas islet* tikus normal dan diabetes dengan profil asam amino pada media presipitat protein biji dan kecambah kedelai dari metode 1**

Tabel 7.7 menunjukkan bahwa peningkatan asam amino total dan bebas penstimulasi insulin pada kecambah dibandingkan biji tidak berbeda nyata. Namun ternyata jumlah insulin media kecambah bisa lebih tinggi daripada biji khususnya pada *pancreas islet* tikus normal. Kecenderungan tersebut diduga bukan disebabkan oleh adanya aktivitas *trypsin inhibitor*

dalam presipitat protein kecambah, karena aktivitas *trypsin inhibitor* kecambah lebih rendah daripada biji. Selain itu aktivitas *trypsin inhibitor* dalam kecambah maupun biji sangat kecil dibandingkan dengan jumlah *trypsin inhibitor* yang dibutuhkan dalam waktu singkat agar bisa meningkatkan jumlah insulin sebesar jumlah insulin media presipitat protein. Hal ini bisa diketahui dari perbandingan jumlah insulin pada media KTI dan BBI dibandingkan perlakuan media presipitat protein, seperti terlihat pada Tabel 7.6. Aktivitas *trypsin inhibitor* KTI standar dalam media inkubasi jauh lebih besar (610 IU/L media inkubasi) daripada presipitat protein biji maupun kecambah kedelai ( 2,13 - 2,25 IU/L media inkubasi).

Oleh karena itu kecenderungan jumlah insulin media kecambah lebih tinggi daripada biji diduga lebih disebabkan oleh peran asam amino bebas. Meskipun jumlah asam amino bebas penstimulasi insulin kecambah tidak berbeda nyata dengan biji, namun jika dilihat macam asam amino bebasnya ternyata terdapat kandungan Leu dan Ala dalam kecambah kedelai yang lebih tinggi daripada biji, seperti terlihat pada Tabel 7.8.

**Tabel 7.7.** Hubungan jumlah insulin dengan kadar asam amino penstimulasi insulin, dan aktivitas *trypsin inhibitor* pada media presipitat protein biji dan kecambah kedelai dari metode 1\*

Media	Jumlah insulin (Absorbansi) <i>pancreas islet</i> tikus		Kadar asam amino penstimulasi insulin** (% b/v)		Aktivitas <i>trypsin inhibitor</i> (IU/L media)
	Normal	Diabetes	Total	Bebas	
Biji	0,87 b	0,84 a	0,25 a	0,03 a	2,25 a
kecambah	1,11 a	0,91 a	0,30 a	0,07 a	2,13 b

Sumber Kanetro (2009)

Keterangan:

\* = notasi huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan uji statistik pada tingkat kepercayaan 95%

\*\* = diperhitungkan terhadap volume media inkubasi

**Tabel 7.8.** Profil asam amino penstimulasi insulin pada media presipitat protein biji dan kecambah kedelai dari metode 1

Macam asam amino penstimulasi insulin	Profil asam amino * (% b/v)			
	Total		Bebas	
	Biji	Kecambah	Biji	Kecambah
Leu	0,03	0,03	0,00	0,01
Arg	0,04	0,04	0,00	0,00
Ala	0,12	0,13	0,01	0,04
Phe	0,00	0,01	0,00	0,00
Ile	0,03	0,04	0,01	0,01
Lys	0,03	0,03	0,00	0,00
Met	0,00	0,00	0,00	0,00
Jumlah	0,25	0,30	0,03	0,07

Sumber Kanetro (2009)

Keterangan:

\* = diperhitungkan terhadap volume media inkubasi

Tabel 7.8 memperlihatkan bahwa kemampuan Leu dalam menstimulasi sekresi insulin paling tinggi dibandingkan asam amino lain, sehingga keberadaan Leu pada jumlah yang sedikit lebih tinggi diduga dapat berperan meningkatkan jumlah insulin. Demikian juga dengan Ala yang tergolong memiliki kemampuan stimulasi insulin pada urutan ketiga sesudah Leu dan Arg, sehingga dengan peningkatan Ala pada kecambah sebesar 4 kali terhadap biji bisa membantu meningkatkan jumlah insulin media kecambah dibandingkan biji. Namun demikian tidak menutup kemungkinan adanya komponen-komponen lain dalam presipitat protein dari metode 1 yang lebih berperan menstimulasi sekresi insulin yang belum dapat diketahui dari penelitian ini, mengingat jumlah asam amino bebas penstimulasi insulin pada media presipitat protein kecambah kedelai sangat sedikit.

**b. Hubungan jumlah insulin *pancreas islet* tikus normal dan diabetes dengan profil asam amino pada media presipitat protein biji dan kecambah kedelai dari metode 2**

Peran asam amino bebas penstimulasi insulin bisa diketahui lebih jelas pada pengukuran jumlah insulin *pancreas islet* dalam media presipitat protein dari metode 2, seperti disajikan pada Tabel 7.9. Tabel tersebut menunjukkan bahwa peningkatan jumlah insulin pada media kecambah dibandingkan biji kedelai lebih disebabkan oleh asam amino bebas penstimulasi insulin daripada asam amino total penstimulasi insulin, karena kadar asam amino bebas penstimulasi insulin pada media kecambah meningkat sebesar 2,19 kali terhadap biji kedelai. Sementara kadar asam amino total penstimulasi insulin-nya tidak berbeda nyata. *Trypsin inhibitor* tidak berperan meningkatkan jumlah insulin, karena aktivitas *trypsin inhibitor* pada media presipitat protein biji maupun kecambah tidak terdeteksi.

**Tabel 7.9.** Hubungan jumlah insulin dengan kadar asam amino penstimulasi insulin, dan aktivitas *trypsin inhibitor* pada media presipitat protein biji dan kecambah kedelai dari metode 2\*

Media	Jumlah insulin (Absorbansi) <i>pancreas islet</i> tikus		Kadar asam amino penstimulasi insulin** (% b/v)		Aktivitas <i>trypsin inhibitor</i> (IU/L media)
	Normal	Diabetes	Total	Bebas	
Biji	0,83 b	0,72 b	5,42 a	0,33 b	-
kecambah	1,02 a	0,88 a	5,21 a	0,72 a	-

Sumber Kanetro (2009)

Keterangan:

\* = notasi huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata

\*\* = diperhitungkan terhadap volume media inkubasi  
= tidak terdeteksi

Kadar berbagai macam asam amino bebas pada kecambah yang naik adalah Ala, Leu, Lys, Phe, dan Ile berturut-turut naik sebesar 8,5; 4; 2,7; 1,9;

dan 1,5 kali terhadap biji kedelai, seperti terlihat pada Tabel 7.10. Kenaikan asam-asam amino bebas ini dapat meningkatkan kemampuan presipitat protein kecambah kedelai dalam menstimulasi sekresi insulin sebesar 1,22 kali terhadap biji baik pada *pancreas islet* tikus normal maupun diabetes.

Mekanisme penstimulasi sekresi insulin oleh asam amino bebas telah dijelaskan oleh Newsholme dkk. (2007). Asam amino bebas pada presipitat protein kecambah kedelai dapat mempercepat terbentuknya ATP yang merupakan senyawa sumber energi tinggi. Pemecahan ATP menjadi ADP akan menghasilkan energi yang dapat memobilisasi  $Ca^{2+}$  dari mitokondria ke sitoplasma dalam sel  $\beta$  pankreas, sehingga dapat berperan menstimulasi sekresi insulin. Mobilisasi  $Ca^{2+}$  tersebut juga diperkuat oleh induksi cAMP yang kemungkinan lebih banyak diproduksi dengan adanya asam amino bebas, karena asam amino bebas dapat menyediakan ATP lebih banyak melalui jalur siklus TCA, dan ATP merupakan prekursor cAMP (Ganong, 2003).

**Tabel 7.10.** *Profil asam amino penstimulasi insulin pada media presipitat protein biji dan kecambah kedelai dari metode 2*

Macam asam amino penstimulasi insulin	Profil asam amino * (% b/v)			
	Total		Bebas	
	Biji	Kecambah	Biji	Kecambah
Leu	0,76	0,72	0,01	0,04
Arg	0,68	0,63	0,05	0,02
Ala	1,44	1,42	0,04	0,34
Phe	0,27	0,32	0,09	0,17
Ile	0,72	0,75	0,02	0,03
Lys	1,04	0,78	0,03	0,08
Met	0,52	0,58	0,09	0,04
Jumlah	5,42	5,21	0,33	0,72

Keterangan:

\* = diperhitungkan terhadap volume media inkubasi Sumber Kanetro (2009)

Peptida sederhana diduga juga terdapat pada presipitat protein kecambah, dan kemungkinan juga berperan dalam mempercepat stimulasi sekresi insulin, karena peptida sederhana dapat ditransportasikan masuk ke dalam sel (Paustin, 2000). Peran protein dan peptida sederhana kemungkinan lebih rendah daripada asam amino bebas untuk menstimulasi sekresi insulin yang dilandasi oleh beberapa alasan, yaitu protein adalah makromolekul yang harus didegradasi terlebih dahulu oleh enzim ekstraseluler sebelum dimobilisasi masuk ke dalam sel. Sementara peptida sederhana tidak dapat langsung dimanfaatkan oleh sel untuk memproduksi energi melalui jalur siklus TCA tetapi harus didegradasi lebih dahulu menjadi asam amino bebas, meskipun peptida sederhana dapat ditransportasikan masuk ke dalam sel (Paustin, 2000). Sedangkan asam amino bebas dapat langsung dimanfaatkan oleh sel  $\beta$  pankreas dalam penyediaan energi untuk sekresi insulin, sesudah melalui deaminasi (pelepasan gugus amino). Hal inilah yang menyebabkan asam amino bebas lebih cepat dimanfaatkan oleh sel  $\beta$  pankreas, sehingga perannya untuk menstimulasi sekresi insulin kemungkinan lebih tinggi daripada protein dan peptida sederhana.

Berdasarkan pembahasan pada sub ini dapat diketahui bahwa kemampuan presipitat protein kecambah dalam menstimulasi sekresi insulin lebih tinggi daripada biji kedelai. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya, yaitu penelitian Usuki dkk. (2007) yang menunjukkan bahwa diet *germinated brown-rice* menurunkan glukosa darah secara nyata dibandingkan diet *brown rice* dan *white rice*. Tepung kecambah kedelai juga telah diuji secara klinis dapat menggantikan OHG, yaitu berdasarkan penelitian Pathak (2005) yang menyebutkan bahwa untuk menggantikan OHG, penderita diabetes mellitus tipe 2 dapat mengkonsumsi tepung kecambah kedelai usia 24 jam 2 kali sehari masing-masing 15 g. Tepung kecambah tersebut mampu menurunkan gula darah karena selama perkecambahan dapat disintesis *phosphatidylinositol-3-kinase* yang merupakan komponen reseptor insulin. Berdasarkan fakta tersebut dapat diketahui bahwa tepung kecambah kedelai dapat mengatasi diabetes mellitus tipe 2 akibat gangguan reseptor insulin. Padahal kemungkinan ada faktor lain yang lebih utama, yaitu kenaikan jumlah asam amino bebas

penstimulasi insulin selama perkecambahan biji kedelai yang telah dibuktikan pada penelitian ini dapat meningkatkan jumlah insulin *pancreas islet* tikus diabetes. Berdasarkan pembuktian pada penelitian ini dapat diketahui bahwa kecambah kedelai usia 36 jam dimungkinkan dapat mengatasi diabetes mellitus tipe 2 akibat gangguan sekresi insulin. Kecambah usia 24 jam kemungkinan juga mengandung asam amino bebas yang lebih tinggi daripada biji kedelai, karena peningkatan asam amino bebas sudah dimulai sejak awal perkecambahan kacang-kacangan (Bewley dan Black, 1983; Chiou dkk., 1997; Martinez dkk., 2006). Oleh karena itu kecambah kedelai sebenarnya dimungkinkan tidak hanya bisa mengatasi diabetes mellitus tipe 2 akibat gangguan reseptor insulin tetapi juga akibat gangguan sekresi insulin.

Hal ini menjadikan hasil penelitian ini lebih bermanfaat daripada penelitian sebelumnya, karena dimungkinkan mampu mengatasi gangguan sekresi insulin yang merupakan kondisi diabetes mellitus tipe 2 yang lebih parah dibandingkan gangguan reseptor insulin. Gangguan reseptor insulin biasanya merupakan penyebab awal terjadinya diabetes mellitus tipe 2 dengan gejala *insulin resistance* yang apabila tidak ditangani dengan baik (melalui diet atau OHG) akan berakibat gangguan sekresi insulin (Sherwood, 2001). Kegemukan dan ketidakseimbangan asupan makanan ditengarai menjadi faktor timbulnya gangguan reseptor insulin, sehingga sebenarnya gangguan ini bisa diatasi dengan diet yang ketat untuk memberi kesempatan regenerasi reseptor insulin (Sherwood, 2001).

Selain itu berdasarkan pengamatan kenampakan/ukuran kecambah pada penelitian ini, diketahui bahwa kecambah kedelai usia 24 jam belum lazim dikonsumsi segar sebagai sayur/*lalapan*. Sedangkan kecambah usia 36 jam dari penelitian ini sudah memenuhi syarat sebagai kecambah yang lazim dikonsumsi segar. Melalui perhitungan kesetaraan dosis tepung kecambah usia 24 jam dari hasil penelitian Pathak (2005) dengan kecambah usia 36 jam dari hasil penelitian ini (disajikan pada Lampiran B13), dapat diketahui bahwa dosis kecambah segar sebagai *lalapan* adalah 40 g sebanyak dua kali sehari. Jika akan dikonsumsi dalam bentuk presipitat protein kecambah maka dosisnya adalah 4,5 g presipitat protein (bk)

sebanyak dua kali sehari. Apabila diasumsikan kandungan asam amino bebas penstimulasi insulin pada kecambah kedelai usia 24 jam sama dengan kecambah kedelai usia 36 jam (yaitu 1,2 g/100 g kecambah bk), maka dapat diketahui bahwa jumlah asam amino bebas penstimulasi insulin dalam kecambah kedelai yang digunakan sebagai dosis pengganti OHG adalah sebanyak 0,16 g asam amino bebas penstimulasi insulin. Jadi konsumsi asam amino bebas penstimulasi insulin sebesar 0,16 g sebanyak dua kali sehari diduga dapat menurunkan gula darah penderita diabetes mellitus tipe 2 khususnya yang diakibatkan oleh gangguan sekresi insulin.

-oo0oo-

# **PENELITIAN APLIKASI PEMANFAATAN PROTEIN KACANG-KACANGAN UNTUK PENGEMBANGAN PRODUK PANGAN FUNGSIONAL**

## **8.1 Pengembangan Oyek Ubi Kayu Dengan Penambahan Isolat Protein Dan Tepung Kacang Tunggak**

**U**bi kayu (*Manihot utilissima* Pohl) atau singkong merupakan komoditas hasil pertanian tanaman pangan yang penting, menempati urutan kedua setelah beras (Husodo, 2003). Berdasarkan warnanya singkong dapat dibedakan menjadi varietas warna putih dan warna kuning. Sebagian besar penyusun singkong ialah karbohidrat 92,5% (db) dan air 62,5% (wb) (Anonim, 1981). Singkong dapat diolah menjadi tape, tiwul, gatot, gula cair (glukosa dan fruktosa), growol, tepung atau dapat dimakan setelah dikukus atau direbus.

Growol merupakan makanan fermentasi tradisional yang terbuat dari singkong dan mempunyai rasa asam. Jenis makanan ini hanya dibuat di daerah Yogyakarta, khususnya Kulon progo dan daerah sekitarnya, yang digunakan sebagai pengganti nasi. Makanan ini tergolong makanan semi basah dengan kadar air 35,52% (Maryanto, 2000) dengan komposisi kimia seperti terlihat pada Tabel 8.1.

Growol mempunyai ciri sebagai makanan yang padat, berwarna putih, berasa hambar, tidak ada penambahan bumbu-bumbu, pulen, awet, dan tidak berbau 'kecing' yang menyengat. Growol kadang-kadang

bertekstur kenyal, *gelatinous* (*cenit-cenit*, Jawa). Sebagian masyarakat di daerah Kebumen – Jawa Tengah sudah terbiasa mengkonsumsi oyek yaitu beras growol (growol yang dikeringkan) sebagai makanan cadangan pada waktu kesulitan beras. Oyek merupakan produk pengeringan growol, yang berfungsi sebagai cadangan makanan penduduk didaerah Kulonprogo DIY dan Kebumen - Jawa Tengah dimanfaatkan pada waktu paceklik pangan.

**Tabel 8.1.** *Komposisi Kimia Growol*

No.	Komponen	%
1.	Air	35,2
2.	Protein	0,32
3.	Lemak	0,08
4.	Abu	0,02
5.	Pati	30,50
6.	Serat	1,90
7.	Gula Reduksi	0,45

Sumber: Maryanto (2000).

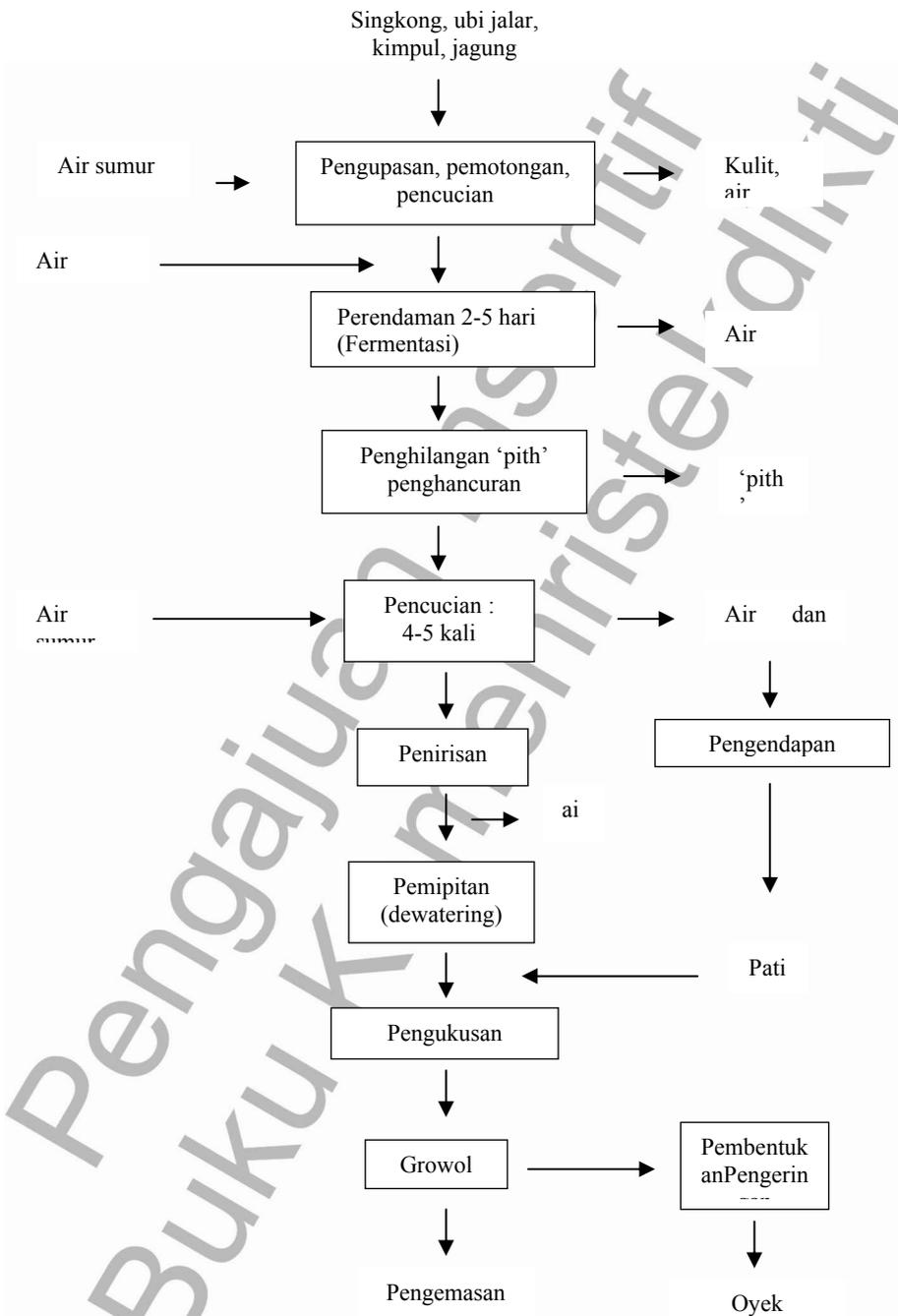
Kandungan protein oyek yang rendah (2,59%) menyebabkan kurangnya perhatian dan minat masyarakat untuk mengkonsumsinya. Penelitian sebelumnya telah dilakukan untuk meningkatkan kadar protein growol, yaitu dengan penambahan tepung dan isolat protein kacang tunggak. Hasilnya menunjukkan menunjukkan bahwa penambahan kacang tunggak dapat meningkatkan kadar protein oyek dari 1,74%bb (1,86%bk) menjadi 8,68%bb (9,20%bk) pada penambahan tepung kacang tunggak dan menjadi 9,47%bb (10,93%bk) pada penambahan isolat protein kacang tunggak, sehingga peningkatan kadar protein oyek dari ubi kayu dan kacang tunggak mencapai 4,9 sampai 5,9 kali terhadap oyek dari ubi kayu saja. Kadar protein oyek dari penelitian ini ternyata bisa mendekati kadar protein beras sekitar 6 - 8% (Luwihana dan Kanetro, 2013)

Proses pembuatan growol dengan cara merendam singkong yang telah dikupas dan diiris kecil-kecil selama 4 hari pada suhu kamar di dalam bejana yang terbuka dari tanah liat, kemudian ditiriskan dan dihancurkan

sebelum akhirnya dikukus. Selama perendaman ini terjadi fermentasi alami, berbagai jenis mikrobial yang tumbuh pada hari pertama ialah *Streptococcus* sp, hari kedua grup *Coryneform*, hari ketiga khamir, *Enterobacteriaceae*, *Bacillus* sp, dan *Actinobacter* sp, dilanjutkan hari keempat oleh *Lactobacillus* dan hari kelima *Moraxella* sp (Rascana dan Wibowo, 1987). Selama proses fermentasi, bakteri asam laktat yang paling dominan tumbuh, bakteri tersebut bersifat anaerob, amilolitik dan fermentatif. Jumlah bakteri asam laktat pada cairan fermentasi mencapai  $1,64 \times 10^8$ /ml (Suharni, 1984). Fermentasi merupakan tahapan yang sangat penting, karena akan menentukan flavor, aroma, dan tekstur yang spesifik dari growol. Proses pembuatan growol dapat dilihat pada Gambar 8.1.

Makanan fermentasi tradisional di nusantara telah diketahui berpotensi mengandung probiotik dan prebiotik. Beberapa bakteri asam laktat yang berpotensi sebagai probiotik telah diisolasi dari makanan fermentasi tradisional. Bakteri asam laktat, salah satu golongan komponen (ingredien) yang dianggap mempunyai fungsi-fungsi fisiologis tertentu di dalam pangan fungsional. Pangan fungsional merupakan jenis makanan yang dirancang tidak saja berfungsi memenuhi kebutuhan gizi dan memuaskan selera, tetapi juga dapat menjaga kesehatan dan kebugaran tubuh, mengurangi efek negatif dari suatu penyakit bahkan menyembuhkannya.

Penelitian mengenai potensi bakteri probiotik yang diisolasi dari sumber lokal (probiotik *indigenous*) di Indonesia menunjukkan bahwa bakteri asam laktat dari gatot (*Lactobacillus plantarum* Mut7 dan *Lactobacillus sake* Mut13), growol (*Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* TGR2), tape singkong (*Lactobacillus plantarum*), tempoyak (*Lactobacillus fermentum*), asinan rebung (*Lactobacillus acidophilus*), tempe (*Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* TTE1) mampu bertahan pada suasana asam di saluran cerna, tahan dalam konsentrasi garam empedu, tetapi yang memiliki potensi aktivitas antimikrobia hanya *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* TGR2 yang diisolasi dari growol (Rahayu dkk, 1996).



**Gambar 8.1.** Proses Pembuatan Growol dan Oyek (Growol kering) dari Singkong.  
Sumber Kanetro dan Luwihana (2015)

Pada penelitian epidemiologi yang melibatkan sekitar 472 anak berusia 1-5 tahun di Kabupaten Kulonprogo menunjukkan adanya hubungan yang signifikan antara frekuensi konsumsi growol dengan angka kejadian diare. Semakin tinggi frekuensi konsumsi growol, semakin kecil kemungkinan terkena diare. Untuk dapat mencegah kejadian diare, frekuensi konsumsi growol sebaiknya minimal 6,4 kali/minggu atau rutin setiap hari dikonsumsi. Responden yang tidak mengonsumsi growol mempunyai kemungkinan menderita diare sebesar 47,4% dibandingkan responden yang tidak mengonsumsi growol (Lestari, 2009).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Luwihana dkk. (2013) telah berhasil mengembangkan oyek berprotein tinggi dengan penambahan isolat protein atau tepung kacang tunggak. Isolat protein atau tepung kacang tunggak ditambahkan sebelum tahap pengukusan pada proses pembuatan growol-oyek seperti disajikan pada Gambar 8.1. Penambahan tepung kacang tunggak 30% menghasilkan oyek yang lebih disukai daripada isolat protein. Penambahan tepung kacang tunggak dapat meningkatkan kadar protein oyek dari 1,74%bb (1,86%bk) menjadi 8,68%bb (9,20%bk) sehingga peningkatan kadar protein oyek dari ubi kayu dan kacang tunggak mencapai 4,9 terhadap oyek dari ubi kayu saja. Kadar protein oyek dari penelitian ini ternyata bisa mendekati kadar protein beras sekitar 6 - 8%. Oleh karena itu oyek hasil penelitian bisa memperbaiki kualitas gizi oyek yang selama dibuat dan bisa digunakan sebagai pangan pokok alternatif pengganti beras. Komposisi kimia oyek sengan dan tanpa penambahan kacang tunggak disajikan pada Tabel 8.1. Protein kacang tunggak diketahui mampu menurunkan atau mencegah peningkatan kolesterol (Kanetro, 2015). Selain itu protein kacang tunggak juga diketahui mampu menurunkan gula darah. Oleh karena itu oyek berprotein tinggi hasil penelitian ini diduga mampu bersifat hipokolesterolemik dan hipoglisemik, sehingga bisa digunakan sebagai makanan fungsional.

Protein kacang tunggak diketahui mampu menurunkan atau mencegah peningkatan kolesterol. Selain itu protein kacang tunggak juga diketahui mampu menurunkan gula darah. Oleh karena itu oyek berprotein tinggi hasil penelitian ini diduga mampu bersifat

hipokolesterolemik dan hipoglisemik, sehingga bisa digunakan sebagai makanan fungsional. Potensi protein kacang tunggak ini diuraikan pada sub bab selanjutnya tentang pemanfaatannya sebagai bahan dasar *meat analog*.

**Tabel 8.1.** Komposisi kimia oyek dengan penambahan tepung dan isolat protein kacang tunggak dari perlakuan terbaik berdasarkan sifat fisik dan inderawi

Komponen	Kontrol (oyek tanpa penambahan kacang tunggak)	Oyek dengan penambahan tepung kacang tunggak 30%
Air	6,48	5,70
Abu	0,48	0,16
Protein	1,74	8,68
Lemak	0,08	0,35
Pati	47,02	32,85
Serat Kasar	1,72	1,35
Karbohidrat lain (by difference)	42,48	50,91

Sumber: Kanetro dan Luwihana (2015)

## 8.2 Pembuatan Beras Analog Growol-Oyek Ubi Kayu dengan Penambahan Kacang-Kacangan

Masyarakat di Indonesia mengkonsumsi beras sebagai sumber karbohidrat. Pertumbuhan penduduk yang semakin meningkat dan berkurangnya lahan pertanian mengakibatkan persediaan beras yang tidak mencukupi sehingga pemerintah Indonesia melakukan impor beras untuk memenuhi kebutuhan pangan tersebut. Upaya untuk memenuhi sumber karbohidrat dapat dilakukan dengan cara mengembangkan produk olahan pangan selain beras. Salah satu produk olahan sumber karbohidrat yang saat ini dikembangkan adalah beras analog atau beras *artificial*. Beras analog merupakan beras tiruan yang terbuat dari tepung-tepungan selain beras dan terigu (Budijanto *et al*, 2011). Beras analog yang diperkaya

dengan protein dapat bermanfaat untuk mengurangi defisiensi protein (Kato, 2006; Ichikawa & Chiharu, 2007).

Beras analog dapat dibuat dari growol mentah maupun oyek dengan penambahan tepung kacang-kacangan sebagai sumber protein. Kacang yang dapat digunakan sebagai tambahan dalam pembuatan beras analog dari growol mentah meliputi kacang kedelai, kacang hijau, kacang tunggak dan kacang koro. Oyek merupakan makanan yang dibuat melalui proses fermentasi singkong yang telah dikupas dengan cara perendaman dalam air selama tiga sampai lima hari, diikuti dengan penirisan, pencucian, penghancuran dan pembentukan butiran seperti beras, pengukusan dan pengeringan (Wargino dan Baret, 1987).

Growol merupakan makanan fermentasi tradisional yang terbuat dari singkong dan mempunyai rasa asam. Growol mempunyai ciri sebagai makanan yang padat, berwarna putih, berasa hambar, tidak ada penambahan bumbu-bumbu, pulen, awet dan tidak berbau "kecing" yang menyengat. Growol kadang-kadang bertekstur kenyal, *gelatinous* (*cenit-cenit*, Jawa). Makanan ini tergolong makanan semi basah dengan kadar air 35,52%, kadar pati 30,50% dan kadar protein 0,32% (Maryanto, 2000). Growol berfungsi sebagai makanan penduduk di daerah Kulon Progo, DIY dan Kebumen, Jawa Tengah.

Rastelo<sup>+</sup> merupakan nama dari beras analog yang terbuat dari telo yang berasal dari Bahasa Jawa yang berarti Singkong, (+) berarti beras analog dari singkong mengandung nilai tambah yaitu memiliki kandungan protein yang berasal dari kacang-kacangan yang digunakan. Protein memiliki manfaat untuk memperbaiki sel-sel tubuh yang rusak serta dapat membantu dalam fungsi metabolisme tubuh. Adanya kandungan protein dalam beras diharapkan mampu mengurangi defisiensi protein bagi konsumen.

Kendala utama dalam pengembangan beras analog selama ini yaitu aspek penerimaan produk dalam hal bentuk dan warna yang berbeda dengan beras pada umumnya. Selain itu, beras analog yang terbuat dari growol adalah memiliki bau khas dari growol (kecing) yang kurang

disukai sehingga diperlukan pengembangan beras analog dari growol agar disukai konsumen. Kelemahan produk beras analog adalah tekstur yang kurang kokoh. Penambahan pati bertujuan untuk memperbaiki tekstur dan bentuk dari beras analog karena adanya kandungan amilosa dan amilopektin. Kandungan amilosa yang tinggi akan menyebabkan tekstur menjadi keras dan amilosa yang rendah mengakibatkan tekstur lunak.

Kandungan kimia beras analog yang terbuat dari tepung growol dengan penambahan kacang-kacangan yang meliputi kacang kedelai, kacang hijau, kacang tunggak dan kacang koro disajikan pada Tabel 8.2. Sebagai pembanding digunakan kontrol beras IR 64 yang biasa dikonsumsi oleh masyarakat. Kandungan Indeks Glikemik pada beras perlu dianalisis untuk mengetahui kadar glukosa darah dalam sampel. Indeks Glikemik (IG) adalah nilai yang mencerminkan laju peningkatan kadar glukosa darah setelah mengonsumsi pangan yang mengandung karbohidrat, semakin tinggi IG maka semakin tinggi kadar glukosa darah setelah pangan dikonsumsi, kenaikan kadar glukosa darah tidak semata ditentukan oleh IG tetapi juga oleh jumlah karbohidrat yang dikonsumsi (beban glikemik/*glycemic load*). Kategori indeks glikemik adalah pengelompokan pangan berdasarkan nilai IG yaitu tinggi, sedang dan rendah. Indeks glikemik tinggi dengan nilai indeks glikemik lebih dari 70, indeks glikemik sedang dengan nilai 55-70, dan indeks glikemik rendah dengan nilai kurang dari 55 (BPOM, 2011). Kandungan Indeks Glisemik beras analog diuji di Laboratorium Kesehatan Yogyakarta dengan cara mengonsumsi glukosa sebagai standar dan mengonsumsi beras analog dari growol dengan penambahan kacang-kacangan. Hasil analisis indeks glisemik (IG) beras analog dari growol dengan penambahan tepung kacang-kacangan disajikan pada Tabel 8.3.

**Tabel 8.2.** Kandungan Kimia Beras Analog dari Growol dengan Penambahan Tepung Kacang-Kacangan

Sampel	Air (%)	Abu (%)	Lemak (%)	Protein (%)	Karbohidrat by diff (%)	Kalori (Kal/100g)
Beras Analog Kacang Kedelai	7,7794	1,7251	2,2448	10,1713	78,0795	349,4533
Beras Analog Kacang Hijau	9,7687	1,2300	0,5472	6,5327	81,9215	337,1310
Beras Analog Kacang Koro Putih	7,3118	1,2389	0,3189	6,7821	84,3483	345,0962
Beras Analog Kacang Tunggak	4,7387	1,1639	0,5895	6,3505	87,1575	356,8255
Beras IR 64	13,8796	0,4700	0,3624	7,1796	78,1085	323,0482

Sumber : Hasil Uji di Lab. TPHP UGM (Kanetro dkk., 2015)

**Tabel 8.3.** Hasil Analisis IG terhadap Beras Analog dari Growol dengan Penambahan Tepung Kacang-Kacangan

Sampel	Nilai IG (%)
Beras Analog Kacang Kedelai	40,66
Beras Analog Kacang Hijau	53,83
Beras Analog Kacang Kara Putih	65,66
Beras Analog Kacang Tunggak	76,66

Sumber : Hasil Uji di Lab. BLK Yogyakarta (Kanetro dkk., 2015)

**Pembuatan beras analog ini melalui beberapa tahap sebagai berikut:**

### **1. Proses Pembuatan Tepung Growol Mentah atau tepung oyek**

Proses pembuatan growol mentah diawali dengan sortasi bahan baku yaitu melakukan pemilihan singkong yang masih segar, dengan kondisi fisik yang masih utuh dan tidak cacat atau terpotong. Singkong selanjutnya dikupas. Pengupasan bertujuan untuk memisahkan daging singkong dengan kulit, baik kulit dalam maupun kulit luar. Singkong yang telah dikupas kemudian dicuci hingga 2-3 kali dengan air mengalir yang bertujuan untuk memisahkan bahan dari kotoran yang menempel pada daging singkong. Kotoran dapat berupa debu maupun tanah.

Singkong yang telah bersih kemudian dipotong-potong dengan ukuran  $\pm 5$  cm agar diperoleh ukuran yang seragam dan mempermudah proses perendaman. Singkong yang telah dipotong-potong kemudian direndam menggunakan air dengan perbandingan 1:3 (b/v) yaitu singkong sebanyak 1 kg direndam menggunakan air sebanyak 3 liter selama 5 hari. Selanjutnya dilakukan pemanenan yang meliputi proses pencucian, penyaringan dan pemerasan. Tahap pencucian dilakukan menggunakan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan bau dan mengurangi tingkat keasaman bahan. Proses penyaringan dilakukan menggunakan kain saring yang kemudian dilanjutkan dengan proses pemerasan. Proses pemerasan bertujuan untuk mengurangi air yang ada di dalam bahan dan diperoleh pati singkong. Proses pembuatan growol mentah selanjutnya di press menggunakan hydrolic press untuk mengurangi kadar air dalam tepung growol dan mempercepat proses pengeringan. Proses selanjutnya yaitu pengeringan menggunakan cabinet dryer pada suhu 50-60° C selama 2,5-3 jam sampai diperoleh growol kering. Seperti disajikan pada Gambar 8.2.

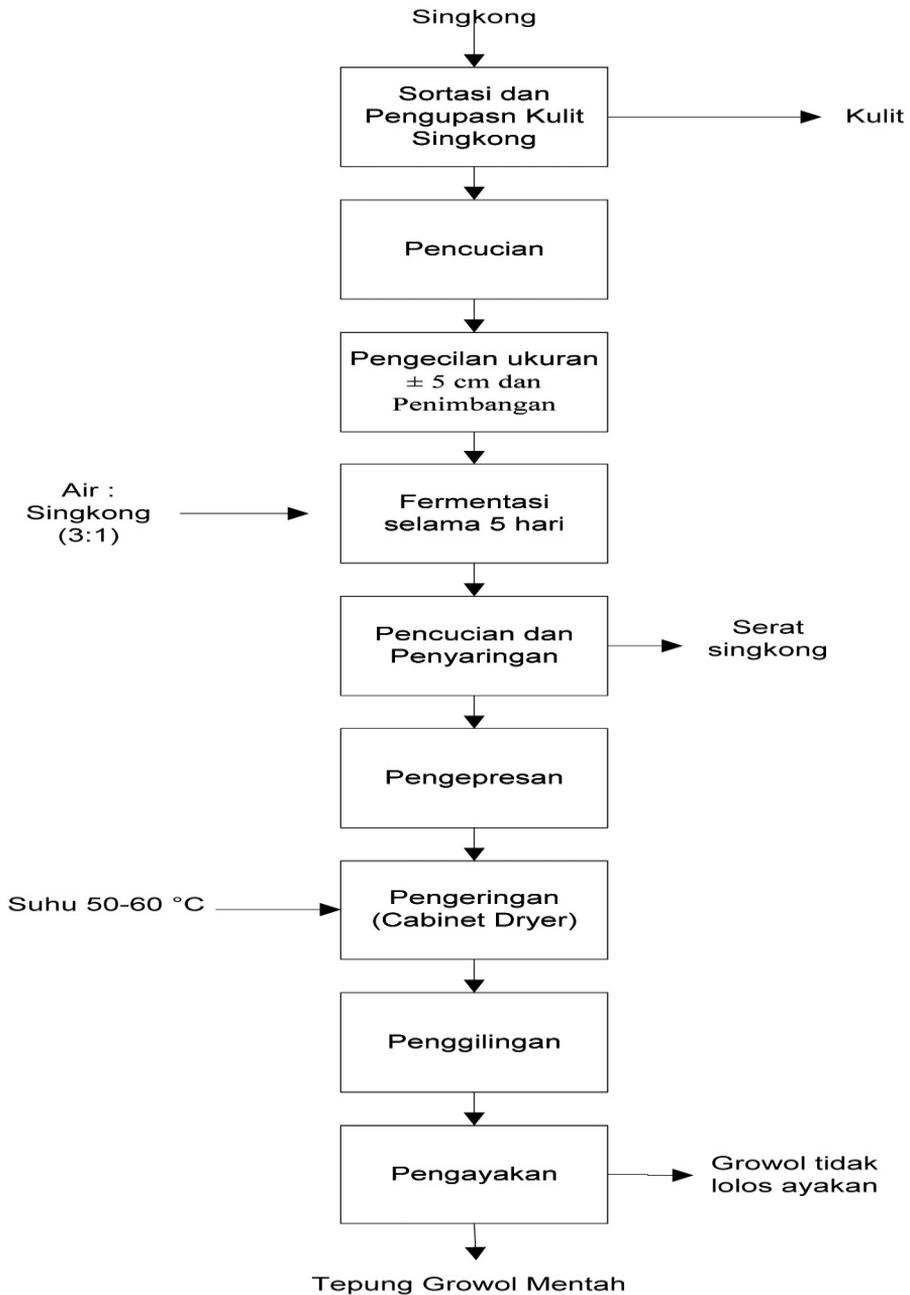
### **2. Proses Pembuatan Tepung Kacang-Kacangan**

Kacang-kacangan yang digunakan dalam pembuatan beras analog antara lain kacang hijau, kacang koro, kacang tunggak dan kacang kedelai. Cara pembuatan tepung kacang-kacangan tersebut meliputi tahap sortasi. Sortasi bertujuan untuk memisahkan kacang yang tidak utuh dan kotoran

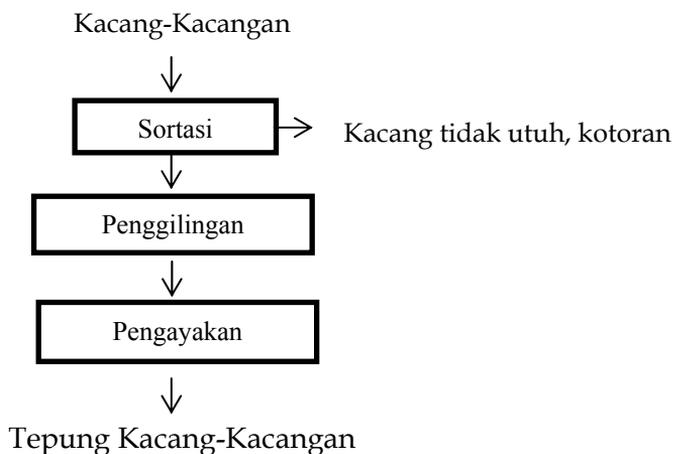
yang terikut. Tahap selanjutnya yaitu penggilingan, penggilingan bertujuan untuk mengubah ukuran kacang menjadi halus. Tahap terakhir yaitu pengayakan yang bertujuan untuk mendapatkan ukuran tepung kacang yang halus dan seragam. Proses pembuatan tepung kacang-kacangan disajikan pada Gambar 8.3.

### 3. Proses Pembuatan Beras Analog dari Growol-Oyek Ubi Kayu

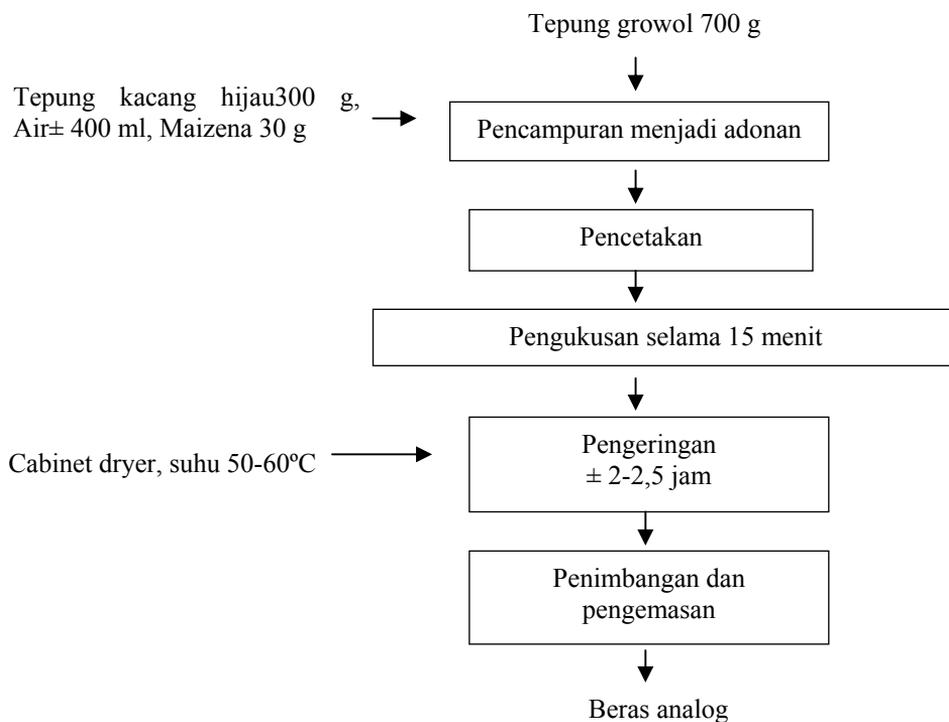
Pembuatan beras analog dari tepung growol mentah/tepung oyek menggunakan tepung growol mentah : tepung kacang 70:30. Adonan sebanyak 1000g terdiri dari tepung growol yang digunakan sebanyak 700 g dan tepung kacang 300 g. Pati yang digunakan sebagai *filler* adalah maizena sebanyak 3% dari jumlah adonan. Dari 1000 g adonan menggunakan penambahan tepung maizena 30 g. Tujuan penambahan tepung maizena adalah untuk membentuk tekstur beras menjadi lebih kokoh dan tidak mudah rapuh. Adonan tersebut dicampur dalam satu wadah kemudian ditambah dengan air masak sebanyak 400 ml. Adonan dicampur sampai homogen, kemudian dimasukkan ke dalam mesin pencetak beras. Beras yang sudah tercetak selanjutnya dikukus selama 15 menit. Pengukusan bertujuan untuk membuat beras menjadi setengah matang. Tahap selanjutnya yaitu pengeringan menggunakan *cabinet dryer* atau oven pada suhu 50-60°C selama 2,5-3 jam sampai beras menjadi kering. Pengeringan bisa menggunakan sinar matahari, akan tetapi waktu yang diperlukan semakin lama dibandingkan dengan menggunakan *cabinet dryer*. Apabila pengeringan menggunakan sinar matahari kendala yang dihadapi adalah pada saat musim penghujan waktu pengeringan juga akan semakin lama. Beras analog yang telah kering selanjutnya ditimbang dan dimasukkan ke dalam kemasan plastik yang sudah dibuat dan diberi label. Proses pembuatan beras instan analog dari growol disajikan pada Gambar 8.4.



**Gambar 8.2.** Proses Pembuatan Tepung Growol Mentah Sumber: Kanetro dkk. (2015)



**Gambar 8.3.** Proses Pembuatan Tepung Kacang-Kacangan Sumber: Kanetro dkk. (2015)



**Gambar 8.4.** Proses Pembuatan Beras Analog dari Growol Mentah. Sumber: Kanetro dkk. (2015)

### 8.3 Pembuatan *Meat Analog* Protein Kacang-Kacangan

*Meat analog* termasuk produk teksturisasi protein nabati (*textured vegetable protein*) yang dibuat dari pemanasan pendahuluan campuran isolat protein kedelai, minyak nabati, gluten, *cereal binder* dan lain-lain berbentuk lembaran dan dipotong seperti daging atau diekstruksi menyerupai rentengan sosis (Zuheid Noor, 1987). Perkembangan Produk *meat analog* di negara-negara barat terdiri dari 2 jenis yaitu *Soy Frankfurters* dan *Soy Bologna*. Ingredients atau bahan-bahan baku untuk pembuatan kedua jenis *meat analog* tersebut terlihat pada Tabel 8.2.

**Tabel 8.2.** Bahan-bahan baku pembuatan *meat analog* *Soy Frankfurters* dan *Soy Bologna*

Bahan-bahan	<i>Soy Frankfurters</i> (g)	<i>Soy Bologna</i> (g)
Air	596	640
Trisodium phosphate	24	16
Isolat protein	220	100
Lemak dan emulsifier	120	100
<i>Smoke flavor</i>	8	12
<i>Spices</i>	8	8
<i>Certified color</i>	<i>optional</i>	<i>optional</i>

Sumber: Snyder dan Kwon (1987)

Proses pembuatan *meat analog* bisa dilakukan dengan cara konvensional atau ekstruksi pemasakan. Cara konvensional dilakukan melalui tahap-tahap proses pengaturan pH larutan isolat protein pada pH isoelektris, pencampuran (*mixer*) dengan larutan trisodium phosphate dan bahan-bahan lain, pemanasan sampai terbentuk larutan kental, pembungkusan atau *casing*, dan pengukusan pada tekanan 10 - 15 psig selama 10 menit (*retort*). Pengukusan ini mengakibatkan protein terdispesi dan berubah dari bentuk *viscous* sol menjadi gel sehingga dapat mengikat lemak, air, dan komponen lain (Snyder dan Kwon, 1987). Sedangkan cara ekstruksi membutuhkan investasi yang mahal karena membutuhkan mesin ekstrusi. Cara ekstrusi pemasakan lebih tepat dilakukan untuk skala yang

lebih besar karena proses bisa dilakukan secara kontinyu (Zuheid Noor, 1987).

Penyimpanan produk *meat analog* dilakukan dengan cara pendinginan. Untuk menghasilkan produk yang lebih awet, maka *meat analog* dikeringkan terlebih dahulu sampai kadar air 6% sebelum disimpan. Namun produk kering ini sebelum digunakan harus direhidrasi dalam air dengan rasio produk kering : air = 1 : 3. Sesudah direhidrasi *meat analog* dapat digoreng, dipanggang atau diolah sebagaimana daging sebenarnya (Noor, 1987).

Sifat-sifat fisik dan sensoris *meat analog* sangat dipengaruhi oleh sifat fungsional protein sebagai bahan dasarnya. Produk *meat analog* membutuhkan sifat fungsional protein yang dapat menyerap air dan membentuk gel selama pemanasan (Kinsella, 1981). Giese (1994) juga menunjukkan bahwa produk *meat analog* membutuhkan sifat fungsional protein tertentu, yaitu memiliki kapasitas pengikatan dan penyerapan air, pembentukan gel serta pengemulsian yang baik. Sifat-sifat fungsional protein dipengaruhi oleh komposisi asam amino, struktur protein, ukuran, bentuk, total muatan dan rasio hidrofobisitas/hidrofilisitas dari protein sebagai komponen utama pada sistem pangan (Damodaran, 1996).

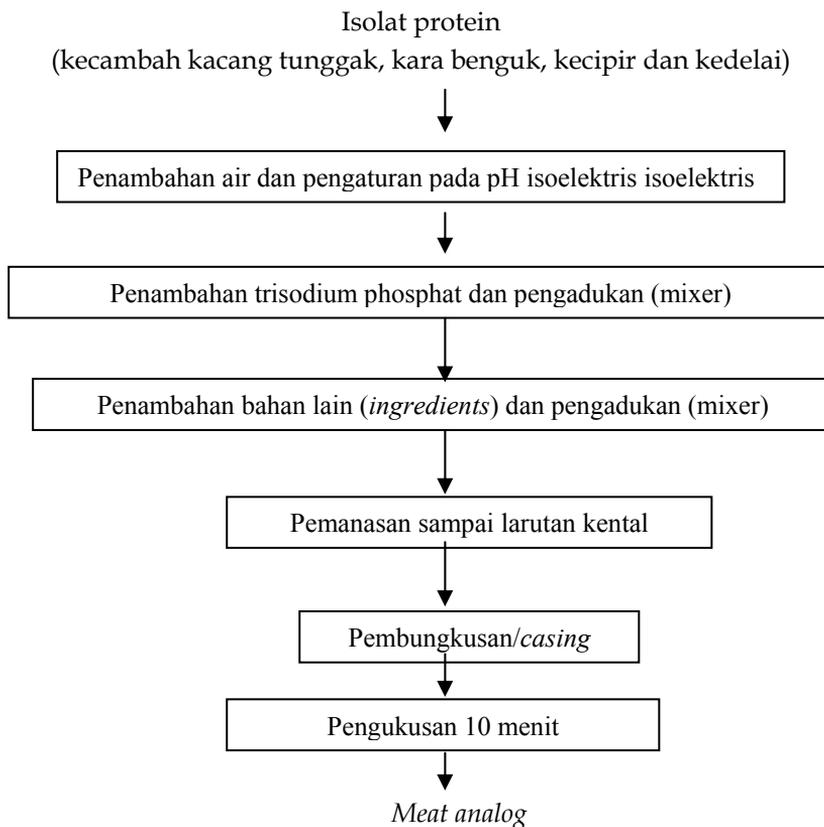
Menurut Kanetro dan Dewi (2013) protein kacang-kacangan dapat dibuat menjadi *meat analog* dengan cara seperti disajikan pada Gambar 8.5. Pada penelitian ini biji kacang tunggak dikecambahkan terlebih dahulu sebelum diisolasi proteinnya untuk meningkatkan kadar protein terlarut, sehingga meningkatkan rendemen isolat protein sebagai bahan dasar *meat analog*. Pengujian karakteristik *meat analog* yang dihasilkan menunjukkan bahwa protein kacang tunggak memiliki karakteristik yang terbaik, sehingga berpotensi menggantikan protein kedelai sebagai bahan dasar *meat analog*. Hal ini untuk mengurangi ketergantungan biji kedelai yang pemanfaatannya sudah sangat banyak sehingga untuk mencukupi ketersediaan harus diimpor. Uraian karakteristik atau sifat kimia, fisik dan sensoris *meat analog* dari berbagai kacang-kacangan adalah sebagai berikut.

Karakteristik *meat analog* yang diuji yaitu sifat fisik meliputi tekstur kekerasan, deformasi (keuletan/elastisitas), warna dan sifat sensoris meliputi tingkat kesukaan warna, bau, rasa, tekstur dan kesukaan keseluruhan. Sementara sifat kimia meliputi kadar protein, dan kadar asam amino arginin serta lisin (Kanetro dan Dewi, 2013).

## 1. Sifat Fisik

### a. Tekstur

Hasil pengujian tekstur dan deformasi *meat analog* kacang kara benguk, tunggak, kecipir dan biji kedelai sebagai kontrol disajikan pada Tabel 12



**Gambar 8.5.** Diagram alir pembuatan *meat analog* protein kacang kacangan (Kanetro dan Dewi, 2013)

**Tabel 8.3.** *Tekstur kekerasan dan deformasi meat analog dari kecambah kacang kara bengkok, tunggak, kecipir dan biji kedelai (kontrol)\**

Macam Kacang-Kacangan	Tekstur Meat Analog	
	Kekerasan (N)	Deformasi (%)
Kecambah Kacang Kara Bengkok	3,79 d	32,32 b
Kecambah Kacang Tunggak	0,90 a	8,57 a
Kecambah Kacang Kecipir	2,45 c	13,60 a
Biji Kedelai (Kontrol)	1,72 b	12,13 a

Keterangan:

\* Rata-rata dari 2 ulangan percobaan dan 3 ulangan analisis. Notasi huruf yang sama di belakang angka pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan analisis statistik pada tingkat kepercayaan 95% Sumber: Kanetro dan Dewi (2013)

Berdasarkan analisis statistik diketahui bahwa jenis kacang-kacangan berpengaruh terhadap tekstur kekerasan maupun deformasi. Perbedaan tekstur tersebut diduga oleh adanya perbedaan sifat protein diantara berbagai kacang-kacangan, yaitu BM protein dan komposisi asam amino penyusun protein yang berpengaruh terhadap sifat fungsional protein antara lain kemampuannya untuk mengikat air maupun minyak (kapasitas penyerapan air maupun minyak) dan kemampuannya sebagai pengemulsi serta pembentuk gel. Sifat-sifat fungsional protein tersebut sangat berperan untuk menghasilkan *meat analog* yang disukai (Giese, 1994). BM protein berpengaruh terhadap sifat fungsional protein, yaitu BM makin kecil biasanya akan menurunkan kapasitas penyerapan air (Narayana dan Narasinga, 1984). Selain itu makin besar BM protein, maka kemampuan protein untuk memerangkap air maupun minyak makin besar sehingga berpengaruh terhadap tekstur produk yang dihasilkan( Stainsby, 1986).

Asam amino terdiri dari kelompok asam amino non polar (hidrofobik) dan polar (hidrofilik), sehingga perbedaan komposisi asam amino akan berpengaruh juga terhadap sifat fungsional protein. Makin banyak asam amino polar khususnya dengan rantai samping yang

terionisasi (aspartat, glutamat dan lisin) akan meningkatkan kapasitas penyerapan air (Damodaran, 1996). Sedangkan kapasitas penyerapan minyak dipengaruhi oleh banyaknya asam amino hidrofobik, antara lain leusin, isoleusin, dan alanin. Makin banyak asam amino hidrofobik, maka kapasitas penyerapan minyak makin besar (Sathe dkk., 1982).

Perbedaan lama perkecambahan pada berbagai kacang-kacangan yang digunakan sebagai bahan baku *meat analog* kemungkinan juga berpengaruh terhadap tekstur produk yang dihasilkan. Lama perkecambahan kacang kara bengkok, tunggak, dan kecipir berturut adalah 48, 36 dan 24 jam. Makin lama perkecambahan mengakibatkan tingkat hidrolisis protein makin besar sehingga BM protein makin kecil, sehingga menurunkan kemampuan protein untuk menyerap air dan membentuk gel. Hal tersebut menyebabkan perbedaan tekstur *meat analog* dari berbagai jenis kacang-kacangan, seperti terlihat pada Tabel 12. Penelitian yang dilakukan oleh Parmer dkk. (2003) juga menunjukkan bahwa ada perbedaan tekstur *meat analog* dari protein kedelai dengan nilai tekstur 20 N dibandingkan *meat analog* dari campuran protein kedelai dengan kacang tanah dengan nilai tekstur 12 N.

Tekstur *meat analog* kecabah kacang-kacangan yang dikehendaki adalah yang sesuai dengan *meat analog* yang biasanya dibuat dari protein biji kedelai (kontrol). Oleh karena itu berdasarkan teksturnya, *meat analog* dari protein kecabah kacang kecipir dipilih sebagai perlakuan terbaik karena nilai tekstur kekerasan dan deformasinya paling mendekati dengan tekstur *meat analog* dari protein biji kedelai.

#### **b. Warna**

Hasil Pengujian warna *meat analog* dari protein kecabah kacang kara bengkok, tunggak, dan kecipir serta protein biji kedelai sebagai kontrol disajikan pada Tabel 8.4.

**Tabel 8.4.** Warna *meat analog* dari kecambah kacang kara bengkok, tunggak, dan kecipir serta dari biji kedelai (kontrol)\*

Macam Kacang-Kacangan	Nilai Warna <i>Meat Analog</i>		
	<i>Redness</i>	<i>Yellowness</i>	<i>Blueness</i>
Kecambah Kacang Kara Bengkok	40,00 b	25,00 b	35,00 b
Kecambah Kacang Tunggak	4,76 a	1,50 a	0,00 a
Kecambah Kacang Kecipir	4,25 a	2,55 a	0,00 a
Biji Kedelai (Kontrol)	5,50 a	2,95 a	0,05 a

Keterangan:

\* Rata-rata dari 2 ulangan percobaan dan 3 ulangan analisis. Notasi huruf yang sama di belakang angka pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan analisis statistik pada tingkat kepercayaan 95% Sumber: Kanetro dan Dewi (2013)

Berdasarkan analisis statistik diketahui bahwa jenis kacang-kacangan berpengaruh terhadap warna *redness*, *yellowness*, dan *blueness meat analog*, khususnya warna *meat analog* dari protein kecambah kara bengkok yang berbeda nyata dibandingkan lainnya. Sedangkan warna *meat analog* kacang-kacangan selain kara bengkok tidak berbeda nyata. Hal ini disebabkan warna keping biji kacang kara bengkok (tanpa kulit biji) kehitaman, sementara warna keping biji kacang tunggak dan kecipir hampir sama dengan kedelai. Meskipun warna kulit biji kecipir kecoklatan, namun pada penelitian ini kulit biji dihilangkan terlebih dahulu sebelum kacang-kacangan digunakan sebagai bahan dasar *meat analog*.

Warna *meat analog* kecambah kacang-kacangan yang dikehendaki adalah yang sesuai dengan *meat analog* yang biasanya dibuat dari protein biji kedelai (kontrol). Oleh karena itu berdasarkan warnanya, *meat analog* dari protein kecambah kacang kecipir dipilih sebagai perlakuan terbaik karena nilainya paling mendekati dengan nilai warna *meat analog* dari protein biji kedelai, meskipun tidak berbeda nyata dengan *meat analog* dari protein kecambah kacang tunggak.

### 3. Sifat Sensoris

Sifat sensoris yang diuji adalah tingkat kesukaan terhadap warna, tekstur bau, rasa, dan keseluruhan pada *meat analog* sebelum dan sesudah digoreng yang dibandingkan dengan *meat analog* dari protein biji kedelai sebagai kontrol 1 dan produk olahan daging sapi yang biasanya digantikan oleh produk *meat analog*, yaitu sosis daging sapi sebagai kontrol 2. Tingkat kesukaan diukur berdasarkan penilaian oleh 20 panelis terlatih dengan skala penilaian 1 sampai 7. Skala 1 menunjukkan sangat disukai, sedangkan skala 7 menunjukkan sangat tidak disukai. Hasil Pengujian tingkat kesukaan *meat analog* dari protein kecambah kacang kara benguk, tunggak, dan kecipir serta protein biji kedelai sebagai kontrol disajikan pada Tabel 8.5 untuk produk sebelum digoreng, dan pada Tabel 8.6 untuk produk sesudah digoreng yang siap dikonsumsi.

**Tabel 8.5.** Tingkat kesukaan produk sebelum digoreng pada *meat analog* dari kecambah kacang kara benguk, tunggak, dan kecipir yang dibandingkan dengan *meat analog* dari biji kedelai sebagai kontrol 1 dan sosis daging sapi sebagai kontrol 2 \*

Macam Kacang-Kacangan	Tingkat Kesukaan <i>Meat Analog</i> *				
	Warna	Tekstur	Bau	Rasa	Keseluruhan
Kecambah Kacang Kara Benguk	5,33 c	4,93 c	4,20 b	4,67 c	4,93 c
Kecambah Kacang Tunggak	3,60 b	4,60 c	4,33 b	4,87 c	4,60 b
Kecambah Kacang Kecipir	2,75 b	4,01 bc	3,87 b	3,77bc	3,80 b
Biji Kedelai (Kontrol 1)	2,93 b	3,20 b	3,20 b	2,47 b	3,73 b
Sosis daging sapi (Kontrol 2)	1,73 a	1,60 a	1,93 a	1,53 a	1,53 a

Keterangan:

- \* Rata-rata dari 2 ulangan percobaan. Notasi huruf yang sama di belakang angka pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan analisis statistik pada tingkat kepercayaan 95% Sumber: Kanetro dan Dewi (2013)

**Tabel 8.6.** *Tingkat kesukaan produk sesudah digoreng pada meat analog dari kecambah kacang kara benguk, tunggak, dan kecipir yang dibandingkan dengan meat analog dari biji kedelai sebagai kontrol 1 dan sosis daging sapi sebagai kontrol 2 \**

Macam Kacang-Kacangan	Tingkat Kesukaan Meat Analog*				
	Warna	Tekstur	Bau	Rasa	Keseluruhan
Kecambah Kacang Kara Benguk	5,27 d	5,80 d	4,47 c	5,00 c	5,27 d
Kecambah Kacang Tunggak	4,53bc	4,73 cd	4,46 c	4,67 c	4,59cd
Kecambah Kacang Kecipir	3,73ab	3,25 c	4,07 b	4,15bc	3,79 c
Biji Kedelai (Kontrol 1)	2,00 a	2,14 b	3,72 b	3,09 b	2,87 b
Sosis daging sapi (Kontrol 2)	1,55 a	1,47 a	1,89 a	1,25 a	1,72 a

Keterangan:

\* Rata-rata dari 2 ulangan percobaan. Notasi huruf yang sama di belakang angka pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan analisis statistik pada tingkat kepercayaan 95% Sumber: Kanetro dan Dewi (2013)

Pada Tabel 8.5 terlihat bahwa nilai tingkat kesukaan secara keseluruhan *meat analog* protein kecambah kacang kecipir paling mendekati dengan kontrol 1 (*meat analog* protein biji kedelai) dan tidak berbeda nyata dengan *meat analog* kecambah kacang tunggak. Hal ini didukung oleh penilaian warna, bau dan rasa *meat analog* protein kecambah kacang kecipir yang tidak berbeda nyata dengan *meat analog* protein biji kedelai. Sementara teksturnya menunjukkan perbedaan yang nyata.

Pengujian pada produk sesudah digoreng seperti terlihat pada Tabel 8.6., juga menunjukkan bahwa *meat analog* protein kecambah kacang kecipir lebih baik dibandingkan *meat analog* dari kecambah kacang-kacangan lainnya dan tidak berbeda nyata dengan *meat analog* protein kecambah kacang tunggak, namun tingkat kesukaan secara keseluruhan masih berbeda nyata dengan kontrol 1 (*meat analog* protein biji kedelai). Hal ini utamanya disebabkan oleh perbedaan tingkat kesukaan tekstur yang didukung juga pengujian tekstur secara obyektif (dengan alat) seperti

terlihat pada Tabel 8.3. Oleh karena itu perlu diupayakan perlakuan untuk memperbaiki tekstur *meat analog* dari kecambah kacang-kacangan terpilih agar dapat menyamai tekstur *meat analog* dari protein biji kedelai.

Pada Tabel 8.5 dan 8.6 juga terlihat bahwa tingkat kesukaan produk *meat analog* tidak dapat menggantikan produk olahan daging yang sejenis, yaitu sosis. Hal ini dapat dipahami karena protein hewani memang memiliki karakteristik yang sangat berbeda dengan nabati, sehingga sampai saat ini produk olahan dari protein nabati 100% atau tanpa dicampur protein hewani memang belum dapat menyamai tingkat kesukaan produk olahan protein hewani. Oleh karena itu *meat analog* lebih banyak dikonsumsi oleh kelompok vegetarian. Selain itu juga dikonsumsi oleh orang yang mengurangi diet daging hewani akibat kegemukan atau menderita penyakit degeneratif, sehingga *meat analog* saat ini lebih tepat dimanfaatkan sebagai pangan fungsional daripada untuk menggantikan daging hewani.

Berdasarkan pengujian sensoris ini diketahui bahwa *meat analog* terbaik adalah *meat analog* dari kecambah kacang kecipir karena nilai tingkat kesukaan paling mendekati kontrol 1. Meskipun demikian *meat analog* dari kecambah kacang kecipir tidak berbeda nyata dengan *meat analog* dari kecambah kacang tunggak. Oleh karena itu berdasarkan pengujian ini *meat analog* dari kecambah kacang kecipir dan kacang tunggak dapat dipilih untuk menggantikan *meat analog* dari protein biji kedelai, tetapi seharusnya diperbaiki teksturnya terlebih dahulu. Upaya perbaikan tekstur ini direncanakan dikerjakan pada penelitian tahun kedua.

#### 4. Sifat Kimia

Pengujian sifat kimia untuk mengetahui potensi *meat analog* dari kecambah kacang-kacangan lokal sebagai pangan fungsional yang tidak kalah dengan *meat analog* dari biji kedelai. Protein biji kedelai telah dikenal sebagai sumber pangan fungsional, karena antara lain karena mengandung asam amino tertentu terutama arginin dengan jumlah yang tinggi dan bersifat hipoglisemik serta hipokolesterolemik. Kandungan arginin pada protein

biji kedelai lebih tinggi dibandingkan protein kasein susu, yaitu pada protein kedelai sebesar 105,70 g/kg protein sedangkan pada kasein susu sebesar 71,50 g/kg protein (Damasceno dkk., 2000). Kelebihan lain dari protein kedelai adalah mengandung asam amino lisin lebih sedikit daripada protein kasein susu, sehingga menguntungkan jika dikonsumsi oleh penderita hiperkolesterol karena lisin bersifat dapat memicu peningkatan kolesterol (Sanches dan Hubbart, 1991 dalam Damasceno dkk., 2000). Sifat kimia *meat analog* dari berbagai kecambah kacang-kacangan lokal yang menunjukkan kadar asam amino arginin dan lisin sebagai indikasi adanya kemampuan sebagai pangan fungsional disajikan pada Tabel 8.7. Kandungan arginin dan lisin juga ditunjukkan pada kromatogram hasil pengujian profil asam amino dengan HPLC pada Gambar 8.6, 8.7, 8.8, dan 8.9.

**Tabel 8.7.** Kadar protein, arginin, dan lisin *meat analog* dari berbagai kecambah kacang-kacangan lokal dan biji kedelai\*

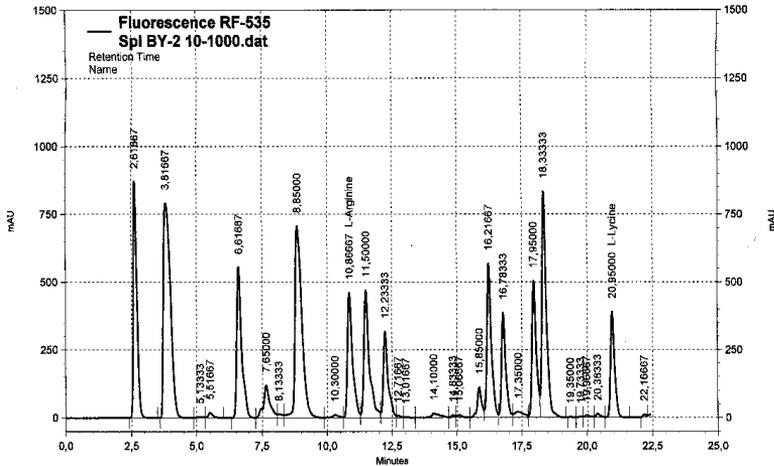
Macam Kacang-Kacangan	Kadar Komponen Kimia <i>Meat Analog</i>				Rasio Arginin :Lisin
	Air (% bb)	Protein Total (% bk)	Arginin (% bk)	Lisin (% bk)	
Kecambah Kacang Kara Benguk	55,07	58,94bc	3,12 a	4,36 a	0,72 b
Kecambah Kacang Tunggak	49,58	54,67 a	4,13 b	5,15 b	0,80bc
Kecambah Kacang Kecipir	53,94	60,42 c	5,32 c	8,72 d	0,61 a
Biji Kedelai (Kontrol 1)	55,63	62,58 c	5,41 c	6,08 c	0,89 c

Keterangan:

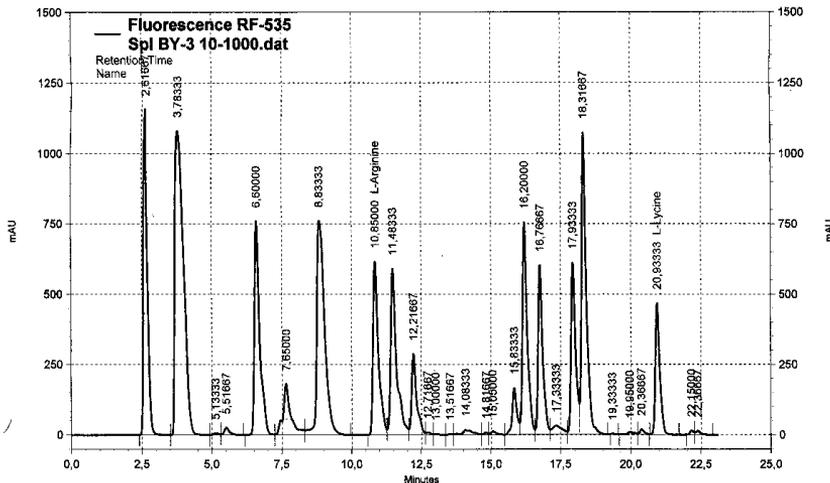
\* Rata-rata dari 2 ulangan percobaan. Notasi huruf yang sama di belakang angka pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan analisis statistik pada tingkat kepercayaan 95% Sumber: Kanetro dan Dewi (2013)

Pada Tabel 8.7 terbukti bahwa *meat analog* dari biji kedelai mengandung arginin paling tinggi dan memiliki rasio arginin/lisin juga paling tinggi. Kandungan arginin *meat analog* dari kecambah kacang kecipir ternyata tidak berbeda nyata dengan *meat analog* dari biji kedelai. Hal ini diduga akibat proses perkecambahan kacang kecipir selama 24 jam dapat meningkatkan kandungan arginin, seperti telah ditemukan oleh Chiou

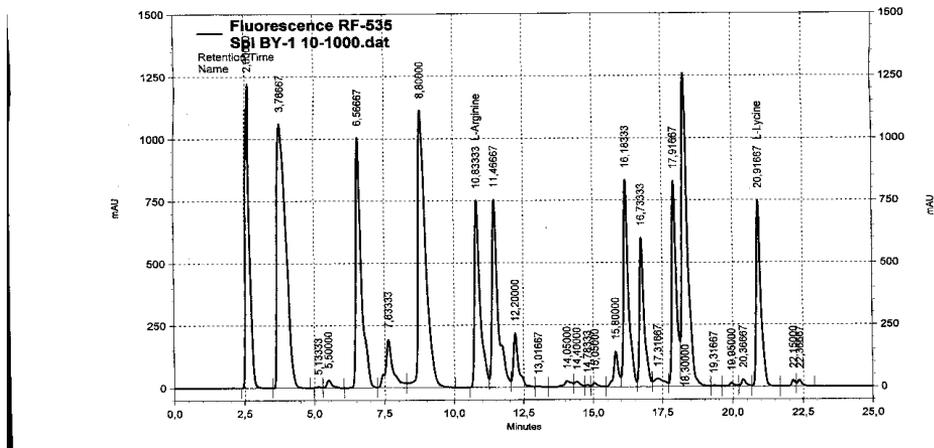
dkk. (1997) yaitu perkecambahan kacang tanah dari 0 sampai 96 jam mampu meningkatkan arginin dari 0,21 sampai 3,52 mg/g protein.



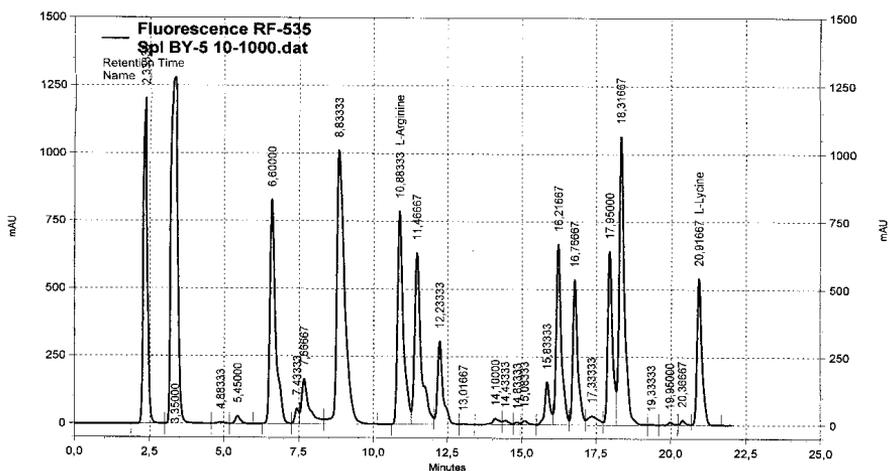
**Gambar 8.6.** Kromatogram profil asam amino yang menunjukkan kandungan arginin dan lisin pada meat analog dari kecambah kacang kara benguk. Sumber: Kanetro dan Dewi (2013)



**Gambar 8.7.** Kromatogram profil asam amino yang menunjukkan kandungan arginin dan lisin pada meat analog dari kecambah kacang tunggak. Sumber: Kanetro dan Dewi (2013)



**Gambar 8.8.** Kromatogram profil asam amino yang menunjukkan kandungan arginin dan lisin pada meat analog dari kecambah kacang kedipir Sumber: Kanetro dan Dewi (2013)



Sumber: Kanetro dan Dewi (2013)

**Gambar 8.9.** Kromatogram profil asam amino yang menunjukkan kandungan arginin dan lisin pada meat analog dari biji kedelai (kontrol)

Pada Tabel 8.7 terlihat bahwa meskipun *meat analog* dari kecambah kacang kedipir mengandung arginin yang sama dengan *meat analog* biji kedelai namun mengandung lisin lebih tinggi, sehingga rasio arginin/lisin

*meat analog* dari kecambah kacang kecipir lebih rendah daripada biji kedelai. Rasio arginin/lisin lebih berperan dalam memberikan efek hipokolesterolemik. Sementara pada kecambah kacang tunggak, kandungan arginin yang lebih rendah daripada biji kedelai diikuti juga oleh kandungan lisinnya yang lebih rendah, sehingga rasio arginin/lisin *meat analog* dari kecambah kacang tunggak tidak berbeda nyata dengan biji kedelai. Oleh karena itu berdasarkan pengujian ini diketahui bahwa *meat analog* dari kecambah kacang tunggak lebih berpotensi digunakan sebagai pangan fungsional untuk menggantikan biji kedelai, dibandingkan *meat analog* dari kecambah kacang kecipir dan benguk. Potensi *meat analog* dari kecambah kacang tunggak ini akan dibuktikan melalui pengujian biologis secara *in vivo*

Berdasarkan pengujian sifat-sifat *meat analog* tersebut diketahui bahwa *meat analog* terbaik adalah dari protein kecambah kacang tunggak. Protein kacang tunggak diketahui mampu menurunkan kolesterol dan glukosa darah melalui pengujian biologis secara *in vivo* (Kanetro 2015) seperti ditunjukkan pada uraian sebagai berikut:

## **5. Sifat biologis protein kacang tunggak untuk bahan dasar *meat analog***

### **a. Kadar trigliserida**

Kadar trigliserida pada perlakuan tikus normal menunjukkan tidak ada perbedaan nyata antara perlakuan jenis pakan standar dan perlakuan pakan isolat protein. Sedangkan pada perlakuan tikus diabetes menunjukkan perbedaan nyata khususnya pada pengamatan hari ke-12 dan 15, seperti terlihat pada Tabel 8.8. Pada tikus diabetes yang diberi pakan standar juga terlihat bahwa kadar trigliserida meningkat tajam sampai hari ke 15, sementara yang diberi pakan isolat protein pada awal perlakuan meningkat sampai hari ke-6 dan selanjutnya menurun sampai level normal. Kadar trigliserida normal untuk manusia menurut *US National Cholesterol Education Program* (NCEP) adalah < 150mg/dl (Anonim, 2007), sedangkan untuk tikus adalah < 120mg/dl (Herlina *etal*, 2013) Berdasarkan data ini terbukti bahwa isolat protein berpotensi menekan peningkatan

trigliserida yang biasa dialami oleh penderita diabetes. Menurut Burtis *etal* (1988) penderita diabetes diawali dengan terjadinya abnormalitas metabolisme karbohidrat selanjutnya diikuti terganggunya metabolisme lemak (trigliserida) yang berakibat peningkatan kadar trigliserida darah.

**Tabel 8.8.** Pengaruh pakan isolat protein kecambah kacang tunggak terhadap kadar trigliserida darah tikus normal dan diabetes (mg/dL)

Kondisi Tikus	Jenis Pakan	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6	Hari ke-9	Hari ke-12	Hari ke-15
Normal	Standar	72,4b	74,8a	73,5a	75,4a	75,9a	77,0a
	Isolat protein	77,9b	79,3b	78,7a	76,7a	75,0a	76,6a
Diabetes	Standar	75,2b	154,3c	152,2b	156,9b	158,1c	160,9c
	Isolat protein	67,2a	157,3c	155,3b	141,1b	135,1b	92,5 b

Sumber: Kanetro (2015)

Keterangan:

\* Rata-rata dari 2 ulangan percobaan.

\*\* Notasi huruf yang sama di belakang angka pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan analisis statistik pada tingkat kepercayaan 95%

**b. Kadar total kolesterol**

Selama perlakuan pemberian pakan, kadar total kolesterol tikus normal maupun diabetes cenderung naik, namun kenaikan pada tikus diabetes lebih tinggi seperti terlihat pada Tabel 4. Pada Tabel tersebut juga terlihat bahwa kenaikan kadar total kolesterol tikus dapat dihambat dengan pemberian pakan isolat protein kecambah kacang tunggak, bahkan pada tikus diabetes dapat menurunkan kadar total kolesterol secara nyata sebesar 40,4% dari pengamatan hari ke-6 sampai ke-15. Sebelum hari ke-6 kadar total kolesterol tikus diabetes tersebut meningkat secara nyata. Namun demikian kadar kolesterol darah tikus diabetes tersebut masih normal, yaitu < 200mg/dl (Anonim, 2007; Herlina *etal*, 2013).

Hal tersebut mengindikasikan bahwa isolat protein berpotensi memperbaiki kondisi penyakit diabetes khususnya dalam menormalkan kadar total kolesterol. Oleh karenanya pemberian isolat protein kecambah kacang tunggak dimungkinkan dapat mencegah komplikasi diabetes, khususnya atherosklerosis yang disebabkan oleh tingginya kadar kolesterol. Potensi protein kecambah kacang tunggak ini sama dengan potensi protein kedelai. Menurut Damasceno *etal.* (2000) protein kedelai memiliki pengaruh hipokolesterolemik dan dapat mencegah perkembangan atherosklerosis.

**Tabel 8.9.** Pengaruh pakan isolat protein kecambah kacang tunggak terhadap kadar total kolesterol darah tikus normal dan diabetes (mg/dL)

Kondisi Tikus	Jenis Pakan	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6	Hari ke-9	Hari ke-12	Hari ke-15
Normal	Standar	104,5ab	105,7a	105,1a	107,8a	108,5a	111,8b
	Isolat protein	111,5b	112,4b	111,1a	109,3a	107,6a	100,0a
Diabetes	Standar	106,4ab	192,4c	189,7b	193,3c	195,5c	200,8c
	Isolat protein	99,3a	193,3c	189,7b	165,3b	153,5b	106,3ab

Sumber: Kanetro (2015)

Keterangan:

- \* Rata-rata dari 2 ulangan percobaan.
- \*\* Notasi huruf yang sama di belakang angka pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan analisis statistik pada tingkat kepercayaan 95%

### c. Kadar HDL

HDL merupakan protein yang berfungsi untuk mengangkut kolesterol darah, sehingga kandungan HDL yang tinggi pada darah mengakibatkan kolesterol bisa didistribusikan dan tidak tertinggal dalam darah. HDL lazim disebut dengan kolesterol baik karena mencegah terakumulasinya kolesterol dalam darah yang berakibat kenaikan resiko atherosklerosis. Kadar HDL tikus selama pengamatan pada penelitian ini relatif stabil, kecuali pada tikus diabetes yang diberi pakan standar yang menurun

secara nyata sampai akhir pengamatan (hari ke-15) sehingga kadarnya tidak normal, seperti terlihat pada Tabel 8.10. Kadar HDL normal pada manusia yang diharapkan menurut *US National Cholesterol Education Program* (NCEP) adalah  $\geq 60\text{mg/dl}$  (Anonim, 2007), sedangkan pada tikus  $> 45\text{mg/dl}$  (Herlina *etal*, 2013).

Pada Tabel 8.10 terlihat secara jelas bahwa pada tikus diabetes kadar HDL turun secara nyata dari awal sampai akhir pengamatan, sedangkan pada tikus yang diberi pakan isolat protein kecambah kacang tunggak penurunan tersebut dapat dicegah. Bahkan pada pengamatan hari ke-15, kadar HDL tikus diabetes yang diberi pakan isolat protein kecambah kacang tunggak meningkat dan lebih tinggi secara nyata dibandingkan tikus diabetes yang diberi pakan standar. Hal ini mengindikasikan bahwa protein kecambah kacang tunggak diduga mampu menginduksi pembentukan HDL sehingga dapat mencegah komplikasi diabetes. Sementara protein kasein yang terkandung pada pakan standar diduga justru berdampak memperparah kondisi diabetes karena menurunkan kadar HDL. Hal ini sesuai dengan penelitian Airliss dan Biermann (2002) yang telah membuktikan bahwa pemberian pakan protein kedelai pada kera dapat menurunkan kolesterol 30-40% dan menaikkan HDL 50%. Potensi yang dimiliki protein kecambah kacang tunggak ini terbukti tidak kalah dengan protein kedelai, sehingga dapat digunakan sebagai alternatif pengganti biji kedelai untuk bahan dasar isolat protein dan pangan fungsional.

#### **d. Kadar LDL**

LDL biasa disebut sebagai kolesterol jahat, karena merupakan protein yang sudah banyak membawa kolesterol. Kadar LDL lebih mengindikasikan kadar kolesterol dalam darah, makin tinggi LDL maka kadar kolesterol darah juga tinggi sehingga makin meningkatkan resiko komplikasi diabetes atau penyakit degeneratif lainnya akibat meningkatnya resiko atherosklerosis.

**Tabel 8.10.** Pengaruh pakan isolat protein kecambah kacang tunggak terhadap kadar HDL darah tikus normal dan diabetes (mg/dL)

Kondisi Tikus	Jenis Pakan	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6	Hari ke-9	Hari ke-12	Hari ke-15
Normal	Standar	67,3a	62,3b	63,7b	62,7b	61,3b	61,0b
	Isolat protein	71,8a	69,7b	71,0b	73,3b	70,2b	72,1b
Diabetes	Standar	69,2a	40,8a	41,8a	40,4a	39,4a	38,2a
	Isolat protein	63,0a	40,3a	41,4a	43,6a	47,7a	62,2b

Sumber: Kanetro (2015)

Keterangan:

\* Rata-rata dari 2 ulangan percobaan

\*\* Notasi huruf yang sama di belakang angka pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan analisis statistik pada tingkat kepercayaan 95%

Pada penelitian ini, kenaikan LDL seperti terlihat pada Tabel 8.11., sejalan dengan kenaikan kadar kolesterol darah tikus percobaan (Tabel 8.10). Kecenderungan yang sama juga terjadi pada tikus diabetes yang diberi pakan isolat protein kecambah kacang tunggak, yaitu pada awal pengamatan naik sampai hari ke-6, sesudahnya turun sampai hari ke-15 sehingga mendekati kadar normalnya (hari ke-0/sebelum perlakuan). Sementara pada tikus diabetes yang diberi pakan standar, kadar LDL naik secara tajam mencapai 4,87 kali pada pengamatan hari ke-15 dibandingkan hari ke-0. Kadar LDL normal pada manusia menurut *US National Cholesterol Education Program* (NCEP) adalah < 100mg/dl (Anonim, 2007), sedangkan pada tikus < 135mg/dl (Herlina *etal*, 2013). Potensi isolat protein kecambah kacang tunggak ini juga terlihat pada tikus normal, yaitu kadar LDL pada tikus yang diberi pakan standar relatif tetap, sementara pada tikus yang diberi pakan isolat protein kecambah kacang tunggak turun sebesar 47,82%.

Potensi protein kecambah kacang tunggak ini mirip dengan protein biji kedelai yang telah terbukti mampu menurunkan LDL karena memiliki rasio asam amino arginin/lisin yang besar (1,57) lebih tinggi dari pada

kasein (1,22) (Damasceno *etal*, 2000). Berdasarkan penelitian sebelumnya, kemampuan kecambah kacang tunggak dalam memberikan efek hipokolesterolemik ini diduga juga berkaitan dengan rasio arginin/lisin yang nilainya paling tinggi dibandingkan jenis kacang-kacangan lokal lainnya dan paling mendekati protein kedelai (Kanetro dan Dewi, 2013) .

**Tabel 8.11.** Pengaruh pakan isolat protein kecambah kacang tunggak terhadap kadar LDL darah tikus normal dan diabetes (mg/dL)

Kondisi Tikus	Jenis Pakan	Hari ke-0	Hari Ke3	Hari ke-6	Hari ke-9	Hari ke-12	Hari ke-15
Normal	Standar	22,8a	28,4a	26,7a	30,1a	32,0a	35,4a
	Isolat protein	24,1a	26,8a	24,4a	20,6a	22,3a	12,6a
Diabetes	Standar	22,2a	120,8b	117,4b	121,5b	124,6b	130,4b
	Isolat protein	22,8a	121,6b	117,2b	93,4b	78,7ab	25,5a

Sumber: Kanetro (2015)

Keterangan:

\* Rata-rata dari 2 ulangan percobaan

\*\* Notasi huruf yang sama di belakang angka pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan analisis statistik pada tingkat kepercayaan 95%

**e. Rasio total kolesterol/HDL dan LDL/HDL**

Rasio ini ditujukan untuk memberikan gambaran pengaruh kadar kolesterol terhadap kesehatan dengan mempertimbangkan kolesterol baik dan jahat. Rasio juga mengindikasikan *coronary risk ratio* (Fernandez dan Webb, 2008) dan nilai yang normal untuk rasio total kolesterol/HDL adalah < 5, sedangkan untuk rasio LDL/HDL adalah < 3,2 pada wanita dan < 3,5 pada pria (Chandler dan Zamora, 2011). Pengamatan hari ke-0 (sebelum perlakuan) pada penelitian ini menunjukkan bahwa nilai rasio total kolesterol /HDL dan LDL/HDL berturut-turut berkisar 1,54 - 1,58 dan 0,32 - 0,38 yang menunjukkan tikus-tikus dalam kondisi normal. Namun sesudah tikus mendapat perlakuan diabetes dan pakan isolat

protein nilai rasio tersebut berubah pada akhir perlakuan atau pengamatan hari ke-15, seperti terlihat pada Tabel 8.12 dan 8.13.

Sebagian besar kelompok tikus tersebut masih memiliki nilai rasio yang normal, kecuali tikus diabetes yang diberi pakan standar dengan nilai rasio total kolesterol /HDL dan LDL/HDL berturut-turut sebesar 5,26 dan 3,41. Hal ini menunjukkan bahwa tikus-tikus tersebut sudah tidak normal dan kemungkinan besar mengalami peningkatan resiko komplikasi diabetes, utamanya atherosclerosis. Oleh karenanya berdasarkan Tabel 8.12. dan 8.13. dapat dibuktikan bahwa protein kecambah kacang tunggak yang diberikan dalam bentuk isolat protein memiliki potensi dalam mencegah peningkatan kolesterol dan LDL sehingga diduga dapat mencegah komplikasi diabetes. Sedangkan kasein yang terkandung dalam pakan standar tidak memiliki potensi tersebut.

**Tabel 8.12.** Pengaruh pakan isolat protein kecambah kacang tunggak terhadap rasio total kolesterol /HDL darah tikus normal dan diabetes pada akhir perlakuan (hari ke-15) dan sebelum perlakuan (hari ke-0)\*

Kondisi Tikus	Jenis Pakan	Hari ke-0	Hari ke-15
Normal	Standar	1,6	1,8
	Isolat protein	1,6	1,4
Diabetes	Standar	1,5	5,3
	Isolat protein	1,6	1,7

\* Dihitung berdasarkan data pada Tabel 8.9 dan 8.10.

Sumber: Kanetro (2015)

**Tabel 8.13** Pengaruh pakan isolat protein kecambah kacang tunggak terhadap rasio LDL/HDL darah tikus normal dan diabetes pada akhir perlakuan (hari ke-15) dan sebelum perlakuan (hari ke-0)

Kondisi Tikus	Jenis Pakan	Hari ke-0	Hari ke-15
Normal	Standar	0,3	0,6
	Isolat protein	0,3	0,2
Diabetes	Standar	0,3	3,4
	Isolat protein	0,4	0,4

\* Dihitung berdasarkan data pada Tabel 8.10 dan 8.11 Sumber: Kanetro (2015)

#### f. Kadar glukosa darah

Pada Tabel 8.13 terlihat bahwa kadar glukosa darah tikus pada hari ke-0 berkisar 72,23 - 73,07mg/dL yang menunjukkan bahwa tikus-tikus yang digunakan dalam kondisi normal atau belum diabetes. Kondisi diabetes melitus ditunjukkan apabila kadar glukosa puasa > 126mg/dL. Sementara kadar glukosa sesaat (tanpa puasa) pada penderita diabetes akan melebihi kemampuan ginjal untuk menyerap kembali glukosa yaitu sebesar 180mg/dL (Burtis *etal*, 1988). Sedangkan pada tikus kondisi diabetes ditunjukkan apabila kadar glukosa puasa > 109mg/dL (Garrison, 2013)

Pengamatan kadar glukosa pada hari ke-3 menunjukkan bahwa perlakuan injeksi aloksan mengakibatkan peningkatan glukosa darah berkisar 221,87 - 223,16mg/dL, sehingga kelompok tikus ini sudah menderita diabetes karena kadar glukosa darahnya > 180 mg/dL. Injeksi aloksan bisa menyebabkan tikus percobaan menderita diabetes mellitus, karena aloksan menyebabkan nekrosis pada pulau-pulau *Langerhans* pankreas dan bisa secara cepat menyebabkan gangguan sekresi insulin pada tikus percobaan sehingga kenaikan gula darah dapat segera diketahui dalam jangka waktu 5 menit sesudah injeksi aloksan (Bondy dan Rosenberg, 1974).

Perlakuan pemberian pakan isolat protein kecambah kacang tunggak terbukti dapat mencegah peningkatan glukosa darah pada tikus diabetes, seperti terlihat lebih jelas pada Tabel 1. Bahkan sesudah perlakuan pemberian pakan hari ke-6, kadar glukosa darah tikus-tikus diabetes tersebut menurun sebesar 51,3% sampai kondisi normal pada hari ke-15. Sedangkan tikus-tikus diabetes yang diberi pakan standar tetap mengalami kondisi diabetes sampai akhir pengamatan dengan kadar glukosa darah mencapai 228,27 mg/dL. Penelitian ini telah membuktikan bahwa secara biologis isolat protein kecambah kacang tunggak mampu memberikan efek hipoglisemik.

**Tabel 8.13.** Pengaruh pakan isolat protein kecambah kacang tunggak terhadap kadar glukosa darah tikus normal dan diabetes (mg/dL)

Kondisi Tikus	Jenis Pakan	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6	Hari ke-9	Hari ke-12	Hari ke-15
Normal	Standar	72,2a	72,5a	72,4a	73,6a	73,3a	74,6a
	Isolat protein	73,1a	73,1a	72,8a	72,6a	71,3a	71,8a
Diabetes	Standar	72,4a	223,2b	223,6b	226,2b	225,2b	228,3b
	Isolat protein	72,5a	221,9b	221,4b	189,7b	160,3b	104,8ab

\* Rata-rata dari 2 ulangan percobaan

\*\* Notasi huruf yang sama di belakang angka pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan analisis statistik pada tingkat kepercayaan 95% Sumber: Kanetro (20015)

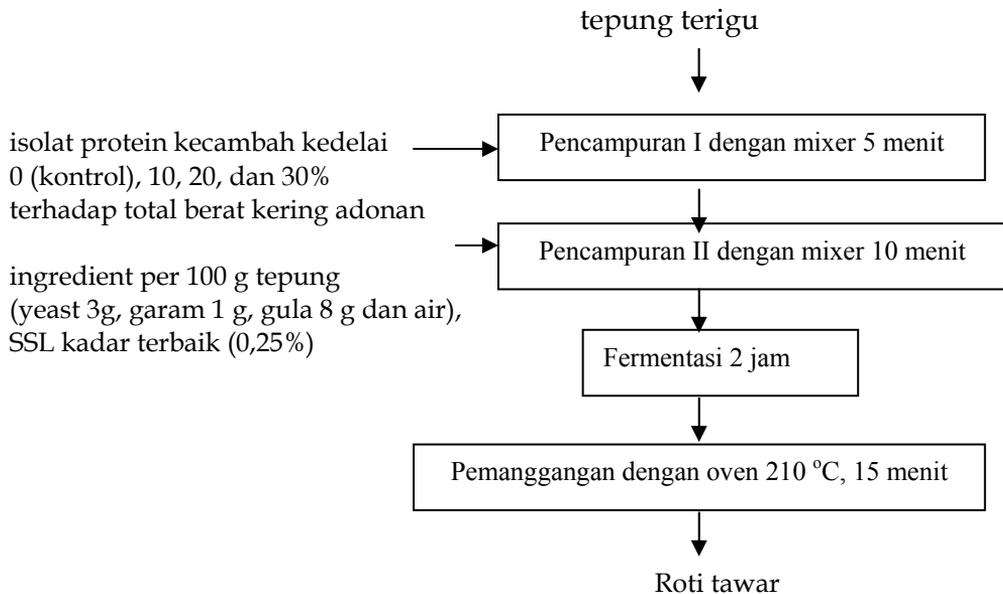
Hal tersebut menunjukkan bahwa protein kecambah kacang tunggak diduga mampu mempercepat *recovery* pankreas tikus yang mengalami kerusakan sementara akibat injeksi aloksan atau diduga mampu meningkatkan stimulasi sekresi insulin yang menurunkan glukosa darah. Mekanisme peningkatan stimulasi sekresi insulin oleh protein kecambah kacang tunggak ini didukung oleh tingginya kadar arginin protein kecambah kacang tunggak yaitu sebesar 4,13%bk yang mendekati protein kedelai yaitu sebesar 5,41%bk (Kanetro dan Dewi, 2013). Arginin merupakan salah satu asam amino penstimulasi sekresi insulin yang baik (Newsholme *etal*, 2007). Protein kedelai telah terbukti lebih unggul daripada protein kasein susu (yang terkandung pada pakan standar) karena kandungan arginin yang lebih tinggi yaitu sebesar 105,7g/kg protein, sementara pada kasein susu sebesar 71,50g/kg protein (Damasceno *etal*, 2000). Pengujian biologi secara *in vitro* juga telah membuktikan bahwa protein biji dan kecambah kedelai mampu memacu sekresi insulin (Kanetro *etal*, 2008). Kemampuan isolat protein kecambah kacang tunggak diduga juga disebabkan oleh komponen hipoglisemik yang muncul akibat proses perkecambahan, seperti yang telah diteliti oleh Pathak (2005), Usuki *etal* (2007); Pathak dan Martirosyan (2011).

Berdasarkan sifai biologis ini diketahui bahwa *Isolat protein* protein kecambah kacang tunggak mampu memberikan efek hipokolesterolemik dan hipoglisemik. Kemampuan hipokolesterolemik ditunjukkan oleh pemberian pakan isolat kecambah kacang tunggak pada tikus diabetes yang dapat menurunkan kadar total kolesterol secara nyata sebesar 40,4% dari pengamatan hari ke-6 sampai ke-15. Sedangkan kemampuan hipoglisemik ditunjukkan sesudah perlakuan pemberian pakan isolat protein kecambah kacang tunggak hari ke-6, yaitu kadar glukosa darah tikus-tikus diabetes tersebut menurun sebesar 51,3% sampai kondisi normal pada hari ke-15. Isolat protein kacang tunggak diharapkan dapat digunakan untuk menormalkan level gula darah pada penderita diabetes sekaligus mencegah terjadinya komplikasi diabetes yang ditimbulkan oleh kolesterol. Selain itu isolat protein kecambah kacang tunggak diharapkan dapat digunakan sebagai bahan dasar pangan fungsional menggantikan protein kedelai, misalnya *meat analog*.

## **8.4 Pembuatan Roti Tawar Dan Bubur Beras Instan Dengan Penambahan Isolat Protein Kedelai**

### **8.4.1. Roti tawar**

Penelitian tentang pembuatan roti tawar dengan penambahan isolat protein telah dilakukan oleh Kanetro dan Setyowati (2007) dengan variasi penambahan isolat protein yang digunakan adalah 0 (kontrol), 10, 20, dan 30% terhadap berat kering adonan dan penambahan bahan pengembang SSL (Sodium Stearoly-2-Lactylate) 0,25%. Proses pembuatan roti tawar pada penelitian ini disajikan pada Gambar 8.10.



**Gambar 8.10** Pembuatan roti tawar dengan penambahan isolat protein kecambah kedelai Sumber: Kanetro dan Setyowati (2007)

**Sifat fisik dan sensoris roti hasil penelitian ini adalah sebagai berikut:**

**a. Sifat fisik**

Hasil pengamatan sifat fisik roti tawar terlihat pada Tabel 8.14. Berdasarkan pengujian statistik diketahui bahwa kadar isolat protein berpengaruh terhadap sifat fisik kekerasan dan TPV, namun tidak berpengaruh terhadap deformasi dan warna. Makin tinggi kadar isolat protein, maka roti tawar makin keras dan tingkat pengembangannya makin kecil. Perbedaan ini disebabkan makin adanya penurunan kadar gluten pada roti tawar yang ditambah isolat protein. Gluten merupakan protein pada tepung terigu yang dapat menghasilkan tekstur roti tawar disukai. Selain itu gluten mampu menahan pengembangan gas selama fermentasi adonan roti tawar, sehingga bisa menghasilkan TPV roti tawar yang baik dan berpori halus, serta merata.

**Tabel 8.14.** Pengaruh penambahan isolat protein kecambah kedelai terhadap sifat fisik roti tawar dengan penambahan SSL 0,25% \*

Penambahan isolat protein (%)	Kekerasan (N)	Deformasi (%)	TPV (%)	Warna
Kontrol (0%)	31,98 b	77,27 a	680,76 c	0,09 a
10%	20,44 ab	77,71 a	643,57 bc	0,09 a
20%	16,43 ab	74,48 a	586,91 b	0,08 a
30%	14,24 a	77,67 a	427,98 a	0,10 a

Keterangan:

\* rata-rata dari 2 ulangan percobaan dan 3 ulangan analisis, notasi huruf yang sama pada baris dan kolom yang berbeda menunjukkan tidak ada beda nyata

Kontrol = roti tawar tanpa penambahan isolat protein total kecambah kedelai dan SSL Sumber: Kanetro dan Setyowati (2007)

Penambahan isolat protein 30% tidak disarankan untuk dipilih karena menghasilkan sifat fisik kekerasan dan TPV roti tawar yang berbeda nyata dengan kontrol. Penambahan isolat protein sampai 20% ternyata bisa menghasilkan sifat fisik roti tawar yang tidak berbeda nyata dengan kontrol, kecuali tingkat pengembangannya. Tingkat pengembangan roti tawar dengan kadar isolat protein 20% tidak berbeda nyata dibandingkan kadar isolat protein 10%. Oleh karena itu berdasarkan sifat fisiknya, perlakuan yang dipilih adalah penambahan isolat protein kecambah sebesar 20%.

**b. Sifat sensoris/inderawi**

Sifat inderawi yang diuji adalah tingkat perbedaan dan kesukaan roti tawar, seperti terlihat pada Tabel 8.15 dan 8.16.

Tabel 8.15 menunjukkan bahwa penambahan isolat protein 10% sudah memberikan perbedaan sifat dibandingkan kontrol, yaitu warna roti tawar makin kecoklatan dan flavornya makin tidak berbau khas roti tawar (langu).

**Tabel 8.15.** Pengaruh penambahan isolat protein kecambah kedelai terhadap tingkat perbedaan roti tawar dengan penambahan SSL 0,25%.\*

Penambahan isolat protein (%)	Warna bagian dalam**	Bau dan rasa (Flavor)***
Kontrol (0%)	4,06 b	1,67 a
10%	2,56 a	2,78 b
20%	2,44 a	3,28 b
30%	2,13 a	4,11 c

Sumber: Kanetro dan Setyowati (2007)

Keterangan:

\* rata-rata dari 2 ulangan percobaan, notasi huruf yang sama pada baris dan kolom yang berbeda menunjukkan tidak ada beda nyata

Kontrol = roti tawar tanpa penambahan isolat protein total kecambah kedelai dan SSL

\*\* skala penilaian warna dari 1= sangat gelap sampai 5 = sangat terang

\*\*\* skala penilaian flavor dari 1= sangat tidak langu sampai 5 = sangat langu

Namun berdasarkan pengujian inderawi tingkat kesukaan (Tabel 8.16) roti tawar dengan penambahan isolat protein sampai 20% masih dalam kisaran disukai. Penambahan isolat protein sampai 20% ternyata masih menghasilkan tingkat kesukaan tekstur yang tidak berbeda nyata dibandingkan kontrol. Oleh karena itu berdasarkan sifat inderawinya, perlakuan yang dipilih adalah penambahan isolat protein kecambah sebesar 20%.

**Tabel 8.16.** Pengaruh penambahan isolat protein kecambah kedelai terhadap tingkat kesukaan roti tawar dengan penambahan SSL 0,25%.\*) \*\*)

Penambahan isolat protein (%)	Warna	Tekstur	Bau	Rasa	Keseluruhan
Kontrol (0%)	1,53 a	2,80 a	2,40 a	2,40 a	2,33 a
10%	2,20 b	2,13 a	2,60 a	2,33 a	2,40 a
20%	3,80 c	2,87 a	3,80 b	4,53 b	4,13 b
30%	5,60 d	5,33 b	5,00 c	5,20 b	5,67 c

\* rata-rata dari 2 ulangan percobaan, notasi huruf yang sama pada baris dan kolom yang berbeda menunjukkan tidak ada beda nyata

Kontrol = roti tawar tanpa penambahan isolat protein total kecambah kedelai dan SSL

\*\* skala penilaian dari 1 = sangat disukai sampai 7 sangat tidak disukai Sumber: Kanetro dan Setyowati (2007)

**c. Sifat kimia**

Roti tawar yang dianalisis sifat kimia adalah roti tawar dari perlakuan terbaik atau terpilih berdasarkan sifat fisik dan inderawinya, yaitu dari perlakuan penambahan isolat protein kecambah 20% dan SSL 0,25%. Hasil analisis kimia tersebut yang dibandingkan dengan roti tawar tanpa penambahan isolat protein terlihat pada Tabel 8.17.

Tabel 8.17 tersebut menunjukkan bahwa penambahan isolat protein mengakibatkan perubahan komposisi kimia roti tawar dibandingkan kontrol. Beberapa komponen mengalami penurunan karena adanya peningkatan komponen lain, khususnya protein. Kadar protein roti tawar perlakuan mengalami peningkatan sebesar 47% terhadap kontrol (berdasarkan perhitungan berat basah) dibandingkan kontrol, bahkan berdasarkan perhitungan berat kering terjadi peningkatan kadar protein sebesar 71% terhadap kontrol dari 13,32% db menjadi 22,72% db. Peningkatan kadar protein ini menunjukkan bahwa roti tawar yang ditambah isolat protein kecambah kedelai memiliki peluang digunakan sebagai makanan fungsional.

**Tabel 8.17.** Sifat kimia roti tawar dengan penambahan isolat protein kecambah kedelai 20% \*

Komponen (% wb)	Roti tawar	
	Perlakuan (dengan isolat protein)	Kontrol (tanpa isolat protein)
air	47,27	38,83
abu	1,03	1,03
lemak	2,44	5,35
protein	11,98	8,15
pati	29,54	39,85
gula total	3,16	2,50
serat(by difference)	5,56	4,29

\* rata-rata dari dua ulangan analisis Sumber: Kanetro dan Setyowati (2007)

Kadar asam amino bebas dari isolat protein kecambah yang terdapat dalam roti tawar diperkirakan sebesar 1,60% db. Adanya asam amino

bebas khususnya asam amino bebas pemacu sekresi insulin dalam jumlah sedikit ternyata sudah dapat meningkatkan stimulasi sekresi insulin, berdasarkan pengujian secara *in vitro* (Henny-Krissetiana, 2000). Berdasarkan analisis komposisi asam amino bebas dalam protein kecambah kedelai ditemukan asam amino bebas pemacu sekresi insulin yang mengalami peningkatan dibandingkan protein biji kedelai, yaitu Ala, Leu, Lis, dan Phe (Kanetro, 2006). Pada penelitian tahap selanjutnya (tahun kedua) akan dibuktikan kemampuan roti tawar yang mengandung asam amino bebas dari isolat protein kecambah sebagai makanan fungsional bagi penderita diabetes melalui pengujian biologis secara *in vivo*.

#### **8.4.2 Bubur Beras Instan dengan Penambahan Isolat Protein Kecambah Kedelai**

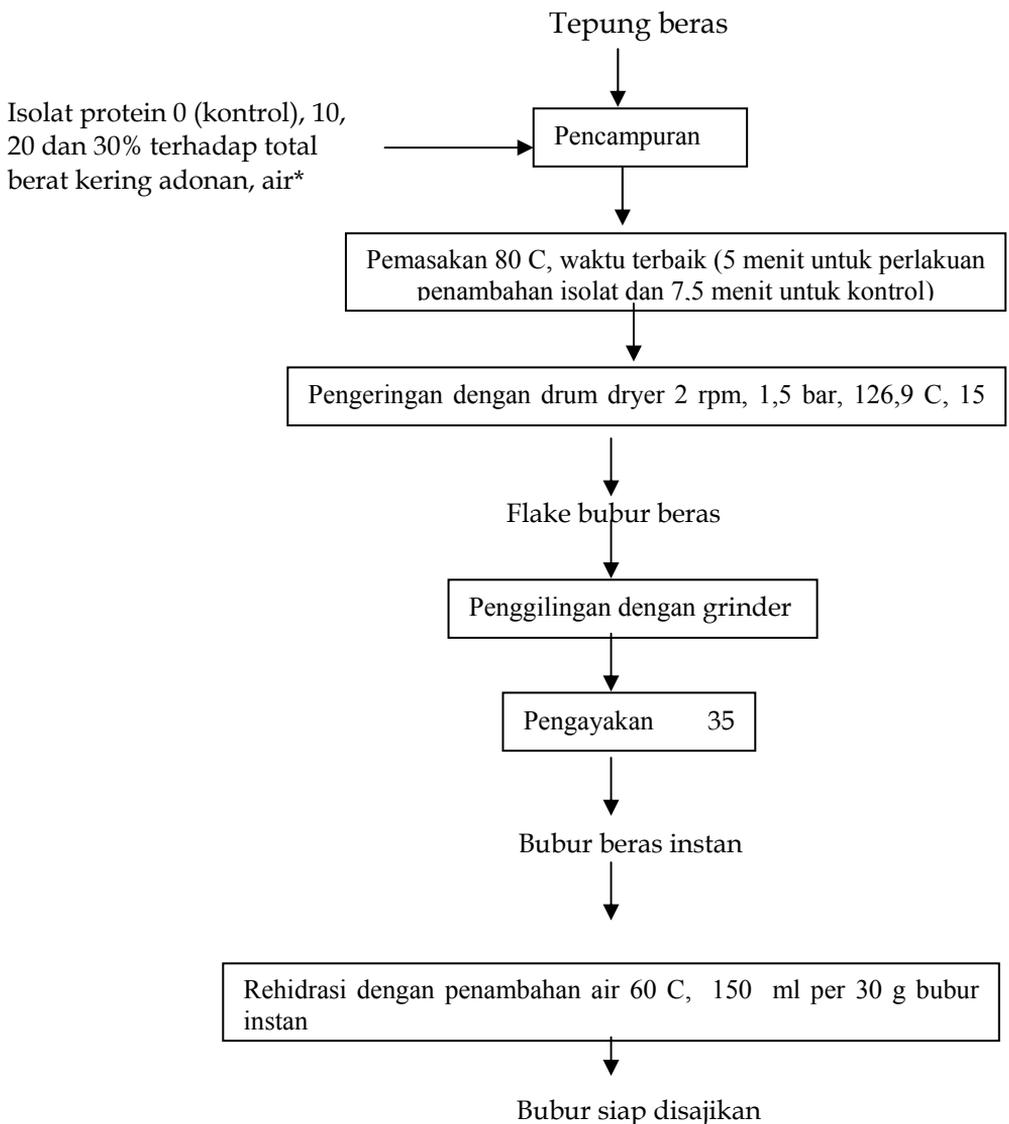
Penelitian tentang pembuatan bubur beras instan dengan penambahan isolat protein telah dilakukan oleh Kanetro dan Setyowati (2007) dengan variasi penambahan isolat protein yang digunakan adalah 0 (kontrol), 10, 20, dan 30% terhadap berat kering adonan dengan waktu pemasakan menggunakan drum dryer selama 5 menit. Proses pembuatan bubur beras instan ini disajikan pada Gambar 8.11.

**Sifat fisik dan sensoris bubur ini adalah sebagai berikut:**

##### **a. Sifat fisik**

Hasil pengamatan sifat fisik bubur beras instan terlihat pada Tabel 8.18. Tabel tersebut menunjukkan bahwa penambahan isolat protein kecambah kedelai tidak berpengaruh terhadap sifat fisik, kecuali kapasitas penyerapan air (KPA). Makin tinggi penambahan isolat protein, maka terjadi kecenderungan penurunan viskositas atau kekentalan bubur dan KPA. Hal ini disebabkan terjadi kompetisi penyerapan air antara protein kecambah kedelai dengan pati beras yang berakibat penurunan penyerapan air oleh pati beras. Proses pengeringan yang singkat dengan drum dryer pada pembuatan bubur beras instan ternyata bisa mempertahankan warna bubur yang ditambah isolat protein tetap sama dengan kontrol. Padahal peluang terjadinya pencoklatan reaksi Maillard

pada bubur dengan penambahan isolat protein lebih besar dibandingkan kontrol karena kadar proteinnya meningkat.



**Gambar 8.11.** Proses pembuatan bubur beras instan dengan penambahan isolat protein kedelai. Sumber: Kanetro dan Setyowati (2007)

Berdasarkan sifat fisik tersebut maka perlakuan terbaik yang dipilih adalah penambahan isolat protein kecambah kedelai sebesar 30%.

Pertimbangannya adalah perlakuan ini memiliki viskositas, KPA dan warna yang tidak berbeda nyata dibandingkan kontrol. Hal ini didukung juga oleh adanya optimasi waktu pemasakan pada perlakuan penambahan isolat protein kecambah 30% yang mengakibatkan sifat fisik bubur dari perlakuan ini tidak berbeda nyata dengan kontrol.

**Tabel 8.18.** Pengaruh penambahan isolat protein kecambah kedelai terhadap sifat fisik bubur beras instan dengan waktu pemasakan 5 menit\*

Penambahan isolat protein (%)	Viskositas	KPA	Warna
Kontrol (0%)	130,00 a	11,33 b	0,53 a
10%	116,67 a	11,00 b	0,47 a
20%	123,33 a	8,50 a	0,53 a
30%	111,67 a	9,33 ab	0,50 a

\* rata-rata dari 2 ulangan percobaan, 3 ulangan analisis, notasi huruf yang sama pada baris dan kolom yang berbeda menunjukkan tidak ada beda nyata  
Kontrol = bubur beras instan tanpa penambahan isolat protein total kecambah kedelai dan waktu pemasakan 7,5 menit Sumber: Kanetro dan Setyowati (2007)

#### b. Sifat sensoris/inderawi

Sifat inderawi yang diuji adalah tingkat perbedaan dan kesukaan bubur beras instan, seperti terlihat pada Tabel 8.19 dan 8.20.

Hasil pengujian tingkat perbedaan menunjukkan bahwa warna dan flavor bubur beras instan yang ditambah isolat protein kecambah tidak berbeda nyata dengan kontrol (Tabel 8.19). Hal ini disebabkan adanya proses perkecambahan kedelai yang dapat mengurangi flavor langu, sehingga tidak terdeteksi oleh panelis pada produk hasil olahannya. Pada umumnya produk yang dibuat dengan penambahan kacang-kacangan atau hasil olahannya (tepung, dan isolat protein) tetap memiliki flavor langu yang masih terdeteksi panelis.

**Tabel 8.19.** Pengaruh penambahan isolat protein kecambah kedelai terhadap tingkat perbedaan bubur beras instan dengan waktu pemasakan 5 menit\*

Penambahan isolat protein (%)	Warna **	Bau dan rasa (Flavor)***
Kontrol (0%)	3,80 a	2,87 a
10%	3,27 a	2,80 a
20%	3,47 a	3,00 a
30%	3,80 a	2,87 a

Sumber: Kanetro dan Setyowati (2007)

Keterangan:

- \* rata-rata dari 2 ulangan percobaan, notasi huruf yang sama pada baris dan kolom yang berbeda menunjukkan tidak ada beda nyata  
Kontrol = bubur beras instan tanpa penambahan isolat protein total kecambah kedelai dan waktu pemasakan 7,5 menit
- \*\* skala penilaian warna dari 1= sangat gelap sampai 5 = sangat terang
- \*\*\* skala penilaian flavor dari 1= sangat tidak langu sampai 5 = sangat langu

Hasil pengujian tingkat kesukaan bubur beras instan menunjukkan bahwa penambahan isolat protein lebih dari 10% mengakibatkan perbedaan tingkat kesukaan warna dan tekstur dibandingkan dengan kontrol (Tabel 8.20). Namun tingkat kesukaan secara keseluruhan ternyata menunjukkan tidak ada perbedaan nyata antara bubur dengan penambahan isolat protein 30% dibandingkan kontrol. Oleh karena itu berdasarkan sifat inderawi maka perlakuan terbaik yang dipilih adalah penambahan isolat protein 30%. Bubur dari perlakuan ini selanjutnya digunakan untuk penelitian sifat kimia bubur instan.

**Tabel 8.20.** Pengaruh penambahan isolat protein kecambah kedelai terhadap tingkat kesukaan bubur beras instan dengan waktu pemasakan 5 menit\*) \*\*)

Penambahan isolat protein (%)	Warna	Tekstur	Bau	Rasa	Keseluruhan
Kontrol (0%)	4,53 b	3,20 a	3,67 ab	3,67 ab	3,93 ab
10%	3,47 a	2,80 a	3,20 a	3,07 a	3,07 a
20%	6,07 c	3,80 ab	4,13 ab	4,80 c	5,33 c
30%	5,80 c	4,67 b	4,47 b	4,20 bc	4,80 bc

Sumber: Kanetro dan Setyowati (2007)

Keterangan:

- \* rata-rata dari 2 ulangan percobaan, notasi huruf yang sama pada baris dan kolom yang berbeda menunjukkan tidak ada beda nyata  
Kontrol = bubur beras instan tanpa penambahan isolat protein total kecambah kedelai dan waktu pemasakan 7,5 menit
- \*\* skala penilaian dari 1 = sangat disukai sampai 7 = sangat tidak disukai.

### c. Sifat kimia

Hasil pengujian sifat kimia bubur instan dari perlakuan terbaik berdasarkan sifat fisik dan inderawi (penambahan isolat protein kecambah 30% dan waktu pemasakan 5 menit) yang dibandingkan dengan kontrol terlihat pada Tabel 8.21.

**Tabel 8.21.** Sifat kimia bubur beras instan dengan penambahan isolat protein kecambah kedelai 30%\*

Komponen (% wb)	Bubur beras instan	
	Perlakuan (dengan isolat protein)	Kontrol (tanpa isolat protein)
air	3,85	3,87
abu	0,76	0,39
lemak	3,52	0,52
protein	13,87	7,56
pati	70,92	79,54
gula total	1,28	0,04
serat(by difference)	5,80	8,08

Sumber: Kanetro dan Setyowati (2007)

Keterangan:

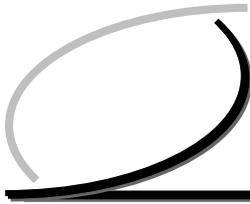
- \* rata-rata dari dua ulangan analisis

Tabel 8.21. tersebut menunjukkan bahwa penambahan isolat protein mengakibatkan perubahan komposisi kimia bubur instan dibandingkan kontrol. Beberapa komponen mengalami penurunan karena adanya peningkatan komponen lain, khususnya protein. Kadar protein bubur perlakuan mengalami peningkatan sebesar 84% terhadap kontrol (berdasarkan perhitungan berat basah) dibandingkan kontrol. Peningkatan

kadar protein ini menunjukkan bahwa bubur beras yang ditambah isolat protein kecambah kedelai memiliki peluang digunakan sebagai makanan fungsional, karena mengandung asam amino bebas khususnya pemacu sekresi insulin. Selain itu produk bubur beras instan ini berpotensi menurunkan kolesterol karena protein kedelai telah terbukti mampu menurunkan kolesterol.

-oo0oo-





## **DAFTAR PUSTAKA**

- Ahmed, F.A.D, E.A.M.A Rahim, O.M.A. Fatah, V.A. Erdmann and C. Lippmann, 1995. The changes of protein pattern during one week of germination of some legumes seeds and roots. *Food Chem.* 52: 433-437.
- Alonso, R., A. Aguirre, and F. Marzo, 2000. Effects of extrusion and traditional processing methods on antinutrients and in vitro digestibility of protein and starch in faba and kidney beans. *Food Chem.* 68:159-165.
- Anderson, R.L., 1992. Effects of steaming on soybean protein and trypsin inhibitors. *JAOCs* 69:1170 -1176.
- Anonim, 1981, Daftar komposisi bahan makanan, Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI, Bharata, Jakarta.
- Anonim, 2008. ASCFST activities on functional food. Asean Sub-Committee on Food Science and Technology, National Science and Technology Development Agency, Bangkok.
- Argmann, C. and J. Auwerx, 2006. Insulin secretion: SIRT 4 gets in on the act. *Cell Vol.* 26:837-839.
- Arliss, R.M. and Biermann, C.A., 2002. Do soy isoflavon lower cholesterol, inhibit atherosclerosis, and paly a role in cancer prevention. *Holist Nurs Pract.* 16(5): 40-48

- Askandar-Tjokroprawiro, 1991. *Diabetes mellitus: Klasifikasi, diagnosis, dan dasar-dasar terapi*. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2011. Nomor HK. 03.1.23.11.11.09909 tentang Pengawasan Klaim dalam Label dan Iklan Pangan Olahan. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Beckman, J.A., M.A. Creager and P. Libby, 2002. *Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management*. JAMA 287: 2570-2574.
- Bettelheim, F.A., W.H. Brown and J. March, 2004. *Introduction to organic and biochemistry*. Thomson Books/Cole, Australia.
- Bewley, J.D. and M. Black, 1983. *Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination Vol 1*. Springer-verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Birk, Y., 1989. Protein protease inhibitors of plant origin and their significance in nutrition in *Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds*, Huisman, j., van der Poel, T.F.B., dan Liener, I.E. (eds). Pudoc Wageningen.
- Boisen, S., 1989. Comparative studies on trypsin inhibitors in legumes and cereal in *Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds*, Huisman, j., van der Poel, T.F.B., dan Liener, I.E. (eds). Pudoc Wageningen.
- Bondy, P.K. and L.E. Rosenberg, 1974. *Diseases of metabolism; Genetic metabolism and endocrinology*. W.B. Saunders Co, Philadelphia.
- Boue, S.M., F.F Shih, B.Y. Shih, K.W. Daigle, C.H. Carter-Wientjes and T.E. Cleveland, 2008. Effect of biotic elicitors on enrichment of antioxidant properties and induced isoflavones in soybean. *J. Food Sci.* 73: 43 - 49.
- Brotonegoro S., b. Santoso dan Q.J. Laumans, 1987, *Mungbeans research and development in East Java*, *Proceeding of the 2<sup>nd</sup> International*

- Symposium, Asian Vegetable Research and Development Center, Bangkok.
- Budijanto S. 2011. Pengembang Rantai Nilai Serealia Lokal (Indegenous Cereal) untuk Memperkokoh Ketahanan Pangan Nasional. Laporan Program Riset StrategiKemenristek, Serpong.
- Burtis, G., J. Davis and S. Martin, 1988. Applied nutrition and diet therapy. W.B. Saunders Co., Philadelphia.
- Calbet, J.A.L. and D.A. MacLean, 2002. Plasma glucagons and insulin responses depend on the rate of apperance of amino acids after ingestion of different protein solutions in human. *J. Nutr* 132: 2174 - 2182.
- Carneiro, E.M., M.A.R. Mello, C.A. Gobatto and A. C. Boschero, 1995. Low protein diet impars glucose-induced insulin secretion from and Ca uptake by pancreatic rat islets. *J. Nutr. Biochem.* 6:314-318.
- Cerny, K. 1978, Comparative Nutritional and Clinical Aspect of The Winged Bean, Paper Presented in The 1st Internatonal Symposium on Developing The Potentials of Winged Bean, Los Banos, Los Banos, Laguna.
- Ceriello,A., 2003. New insighs on oxidative stress and diabetic complications may lead to a "causal" antioxidant therapy. *Diabetes Care* 26:1589-1596.
- Chau, C-F, P.C.K. Cheung and Y-S Wong, 1997. Functional properties of protein concentrates from three chinese indigenous legume seeds. *J. Agric. Food Chem.* 45: 2500 - 2503.
- Chiou, R.Y.,K.L. Ku and W.L. Chen, 1997. Compositional characterization of peanut kernels after subjection to various germination times. *J. Agric. Food Chem.* 45:3060-3064.
- Clarkson, T.B., 2002. Soy, soy phytoestrogens and cardiovascular disease., 2003. *J. Nuts.* 132: 566S-569S

- Conn, E.E. and P.K. Stumpf, 1976. *Outlines of biochemistry*. John Wiley and Sons, Inc, New York.
- Crandall, J.P., 2007. Diabetes mellitus and disorders of carbohydrate metabolism, <http://www.merck.com>.
- Damasceno, N.R., Goto, H., Fernanda, M.D.R., Dias, C.T.S, Okawabata, F.S., Dulcinela, S.P., Abdalia, D.S., and Gidlund, M.A., 2000. Soy protein isolate reduce the oxidizability of LDL and the generation of oxidized LDL autoantibodies in rabbit with diet-induced atherosclerosis. *J. Nutr.* 130: 2641-2647.
- Damasceno, N.R., Gidlund, M.A., Goto, H., Dias, C.T., Okawabata, F.S., and Abdalia, D.S., 2000. Casein and soy protein isolate in experimental atherosclerosis influence on hyperlipidemia and lipoprotein oxidation. *Annals of Nutrition & Metabolism* 45:38-46
- Damodaran, S., 1996. *Functional protein in food protein:properties and characterization*, S. Nakai (ed). VCH Publ., New York.
- Desphande, S.S., 2002. *Handbook of food toxicology*. Marcel Dekker Inc, New York.
- Devlin, R.M. and F.H. Witham, 1983. *Plant Physiology*. Willard Grant Press, Boston.
- Frokier, H., T.M.R. Jorgensen, A.Rosendal, M.C. Tonsgaard and V. Barkholt, 1997. Antinutritional and allergenic proteins in Antinutrient and phytochemical in food, Shahidi, F. (ed). American Chemical Society, Washington DC.
- Ganong, F.G., 2003. *Review of medical physiologi*, diterjemahkan oleh Bram U, Djauhari Widjajakusumah (ed), Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Ganong, W.F., 1998. *Buku ajar fisiologis kedokteran terjemahan dari Review of medical physiology*, penerjemah M. Djauhari Wijayakusuma dkk. Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.

- Gennadios, A., T.H. McHugh, C.L. Weller and J.M. Krochta, 1994. Edible coatings and films to improve food quality, Krochta J.M., E.A. Baldwin and M.O. Nisperos-Carriedo (eds). Technomic Publ. Co.Inc., Lancaster, Bassel.
- Giese, J., 1994. Protein as ingredient: types, function, applications. Food Tech. 38:50-60.
- Gontard, N., S.Guilbert, and J.I. Cuq, 1993. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. J. Food Sci. 57:190-195,199.
- Greenspan, F.S. and P.H. Forsham, 1986. Basic and clinical endrocrinology. Lange Medical Publ., California.
- Hastuti, S., 1999. Sifat-sifat fisik da kimia edible film dari tepung biji kecipir rendah lemak. Tesis S2, Proram Pasca Sarjana, UGM, Yogyakarta.
- Henny-Krissetiana, 2000. In vitro bioassay pancreas tikus yang dibuat diabetic dalam berbagai medium. Thesis S-2 Pasca Sarjana, UGM, Yogyakarta.
- Hilyati dan Sri-Benti, 1991. Kerentanan tripsin-inhibitor biji turi terhadap panas. Agritech Vol 11. No 1: 2 - 9.
- Holm, H., J.E. Reseland, L.I. Thorsen, A. Flatmark, and L.e. Hanssen, 1992. Raw soybean stimulate uman pancreatic proteinase secretion. J. Nutr. 122: 1407-1416.
- Ichikawa, K. & Chiharu, M. 2007. Method of producing artificialrice from soybean employed as the main starting material and artiũcial rice produced by the method.
- Iritani, N., T. Susimoto, H. Fukuda, M. Komiya and H. Ikeda, 1997. Dietary soybean protein increases insulin receptor gen expression in wistar fatty rats when dietary polyunsaturated fatty acid level is low. J.Nutr. 126:1077 - 1083.
- Janecek, S., 1993. Strategies for obtaining stable enzymes. Process Biochem. 28:435-445. Aspen Publ. Inc., Ghaitersburg, Maryland.

- Joedoro, S., 1979, Kecipir, tanaman baru penghasil protein dan minyak, Yayasan pembina Fakultas Pertanian UGM, Yogyakarta.
- Jubiz, W., 1979. *Endocrinology a logical approach from clinicians*. Mc Graw-Hill LTD, Tokyo.
- Kanetro, B., 1999. Sifat-sifat fungsional tepung rendah lemak dari biji kecipir setelah pengecambahan pada berbagai suhu dan lama. Tesis S-2, Program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Kanetro, B. dan Wariyah, 2002. Perubahan sifat kimia dan aktivitas lipoksigenase kacang-kacangan selama perkecambahan. *Buletin Agroindustri* No. 11:34-43.
- Kanetro, B dan Hastuti, S. 2006. *Ragam produk olahan kacang-kacangan*, Unwama Press, Yogyakarta.
- Kanetro, B dan Setyowati, A. 2007. Pengembangan isolat protein kecambah kedelai dalam memacu sekresi insulin dan aplikasinya pada produk sereal sebagai makanan fungsional penderita diabetes, Laporan Penelitian Hibah Bersaing DIKTI, Jakarta.
- Kanetro, B. dan Dewi, S.H.C, 2009. Pengembangan protein kecambah kacang-kacangan lokal sebagai bahan dasar meat artificial dan potensinya dalam memberikan efek hipokolesterolemik serta hipoglisemik. Laporan Penelitian Hibah Bersaing, DIKTI, Jakarta
- Kanetro, B. dan Dewi, S.H.C, 2009. Pengembangan protein kecambah kacang-kacangan lokal sebagai bahan dasar meat artificial dan potensinya dalam memberikan efek hipokolesterolemik serta hipoglisemik. Laporan Penelitian Hibah Bersaing, DIKTI, Jakarta.
- Kanetro, B., 2009. Profil asam amino kecambah kedelai: Keteraitannya dengan pankreas tikus normal dan diabetes. Disertasi Program Studi S3-Ilmu Pangan, UGM, Yogyakarta.
- Kanetro, B dan Dewi, S.H.C., 2013. Pengaruh berbagai kecambah kacang-kacangan lokal sebagai bahan dasar meat analog terhadap sifat fisik, kesukaan dan rasio arginin/lisin. *Agritech* Vol 33 No1: 1-7.

- Kanetro, B., 2015. Hypocholesterolemic properties of protein isolate from cowpeas (*Vigna unguiculata*) sprout in normal and diabetic rats. *Procedia Food Science* 3 (2015):112-118.
- Kanetro, B. dan Luwihana, S, 2015. Komposisi proksimat dan kandungan bakteri asam laktat oyek terbaik dari perlakuan penambahan kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) berdasarkan tingkat kesukaannya. *Agritech Vol 35 No 3*: 261-265.
- Kanetro, B. Sahrah, A., Luwihana, S, dan Pujimulyani, D., 2015. Pengembangan oyek berprotein tinggi menjadi beras artificial dan pembiasaan konsumsinya di dusun sangon kalirejo kulonprogo. Laporan Penelitian MP3EI kemenristek-dikti, UMBY, Yogyakarta
- Kasmidjo, R.B., 1989. Tempe: Mikrobiologi dan biokimia pengolahan serta pemanfaatannya. PAU Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Kato K . 2006. Soy-based rice substitute.0060073259:1-10.
- Khalil, A.A., S.S Mohamed, F.S.Taha and E.N. Karisson, 2006. Production of functional protein hydrolysates from Egyptian breeds of soybean and lupin seeds. *African Journal of Biotechnology* 5:907-916.
- Kim, S.W., R.L. McPherson and G. Wu, 2004. J. Dietary arginine supplementation enhances the growth of milk-fed young pigs. *J. Nutr.* 134:625-630.
- King, R.D. and P. Puwastien, 1987. Effect of germination on proximate composition and nutritional quality of winged bean. *J. Food Sci.* 52:106-108.
- King, R.D. and P. Puwastien, 1987. Respiratory hydrogen following consumption of winged bean seed milk prepared from blanched and soaked seeds and germinated seeds. *J. Food Sci.* 52: 729-731.
- Kinsella, J.E and L.G. Phillips, 1989. Structure: function relationships in food proteins, film and foaming behavior in Food Protein. J.E.

- Kinsella and William G. (eds). The American Oil Chemists Society, Champaign, IL.
- Lenzen, T., M. Tiedge, A. Jorns and R. Munday, 1996. Alloxan derivatives as a tool for elucidation of the mechanism of diabetogenic action of alloxan. *Lesson from Animal Diabetes VI* Ed. E. Shaffir, USA.
- Liu, K., 1999. *Soybeans: Chemistry, technology, and utilization*. Aspen Publ., Inc. Gaithersburg, Maryland.
- Lusas, E.D., D.R. Erickson, and Wai-Kit-Nip, 1989. Food uses of whole oil and protein seeds. Food Protein Research and Development Center, The Texas A & M University System, Texas.
- Luwihana, S dan Kanetro, B., 2013. Pengembangan oyek berprotein sebagai pangan pokok dan pangan fungsional. Laporan penelitian Hibah Bersaing Dikti, Universitas Mercu Buana Yogyakarta.
- Madsbad, S. S.G. Hartling and O.K. Faber, 1997. C-peptide and proinsulin in *International textbook of diabetes mellitus*, Alberti, P (ed). John and Willey Sons Ltd, New York.
- Mahmoud, M.I., 1994. Physicochemical and functional properties of protein hydrolysates in nutritional product. *Food Tech.* 38:89-95
- Martinez, V.C, K. Yu-Haey, L. Fernand, J. Fria and C. Vidal-Valverde, 2006. Kinetic of free protein amino acids, free non protein amino acids, and trigonelline in soybean and lupin sprouts. *European Food Research and Technology*, Vol 224:177 - 186.
- Martin, D.W., P.A. Mayes and V.W. Rodwell, 1983. Review of biochemistry, diterjemahkan oleh Adji Dharma, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Mayer, A.M. and A. Poljakoff, 1989. *The germination of seeds*. Pergamon Press, Oxford.
- Muchtadi, 2012, *Pangan fungsional dan senyawa bioaktif*. Alfabeta Bandung

- Murray, R.K., D.K. Granner, P.A. Mayes and V.N. Rodwel, 2000. Biochemistry, diterjemahkan oleh Andry Hartono, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Narayana, K. And S. Narasinga, 1982. Functional properties of raw and heat processed winged bean flour. *J. Food Sci.* 47:1534-1538.
- Narayana, K. And S. Narasinga, 1984. Effect of partial proteolysis on the functional properties of winged bean flour. *J. Food Sci.* 49:944-947.
- Newsholme, P., L. Brennan and K. Bender, 2007. Amino acid metabolism, insulin secretion, and diabetes . *Biochemical Society Transactions* 35: 1180-1186.
- Newsholme, P., Brennan, L., dan Bender, K. (2006). Amino Acid Metabolism,  $\beta$ -Cell Function, and Diabetes . *Diabetes* 55:S39 – S47.
- Nnanna, L.A. and R.D. Phillips, 1990. Protein and starch digestibility and flatulence properties of germinated cowpeas. *J. Food Sci.* 55:151-153.
- Noor, Z., 1987. Teknologi pengolahan kacang-kacangan. PAU Pangan dan Gizi, UGM, Yogyakarta.
- Noor, Z., 1998. Penjajagan kemungkinan penggunaan kedelai sebagai komponen makanan fungsional. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pangan dan Gizi, PATPI, Yogyakarta.
- Noor, Z., Y. Marsono, dan M. Astuti, 2000. Sifat hipoglisemik komponen kedelai. Prosiding Seminar Nasional Industri Pangan Vol II PATPI, Surabaya.
- Okezie, B.O. and A.B. Bello, 1988. Phsycochemical and Functional Properties of Winged Bean Flour and Isolate Compared with Soy Isolate, *J. Food Sci.* 53:450-454.
- Pathak, M., 2005. Soaked and germinated Glycine max (soybean seeds) is highly effective blood sugar regulator. *Natural Product Radiance*, <http://www.sproutnet.com>, <http://www.wipo.int>

- Patrick, M.C., A. Horri and K. Shetty, 2004. Mobilization of phenolic antioxidant from deffated soybean powders by *Lentinus edodes* during solid-state bioprocessing is associated with enhanced production of laccase. Department of Food Science, University of Massachusetts, USA.
- Paustin, T., 2000. Basic Metabolism. University of Wisconsin, Madison. <http://lecturer.metabolism.ac.id>
- Pospisilik, J.A., J. Martin, T. Doty, J.A. Ehses, N. Pamir, F.C. Lynn, S. Piteau, H.U. Demuth, C.H.S. McIntosh, and R.A. Pederson, 2003. Dipeptidyl peptidase IV inhibitor treatment stimulates b-cell survival and islet neogenesis in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes* 52: 741-750
- Rackis, J.J. and M.R. Gumbmann, 1981. Protease inhibitors: Physiological properties and nutritional significance in Antinutrients and natural toxicants in foods, Ory, R.L. (ed). Food and Nutrition Press, Inc., Westport, Connecticut.
- Rascana, A.P. dan Wibowo, D. 1987. Mikroflora Fermentasi Growol Tradisional. Lanjuran Simposium Bioproses dalam Industri Pangan. Yogyakarta: 278-288.
- Reseland, J.E, H. Holm, M.B. Jacobsen, T.G. Jensen and L.E. Hanssen, 1996. Proteinase inhibitor induced selective stimulation of human trypsin and chymotrypsin secretion. *J. Nutr.* 126:634-642.
- Rukmana, R. dan Oesman, Y., 2000. Kacang Tunggak, Budidaya dan Prospek Usaha Tani. Kanisius. Yogyakarta.
- Saini, H.S., 1989. Activity and thermal inactivation of protease inhibitors in grain legumes in Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds, Huisman, j., van der Poel, T.F.B., dan Liener, I.E. (eds). Pudoc Wageningen.
- Sajjan, S.U. and D.B. Waukhede, 1981, Carbohydrate composition of winged bean, *J. Food Sci.* 46:601.

- Sans, M.D., M. Tashiro and N.L. Vogel, 2006. Leucine activates pancreatic translational machinery in rats and mice through mTOR independently of CCK and insulin 1-3. *J. Nutr.* 136:1792-1799.
- Senaratna, T., B.D. McKersie and R.H. Stinson, 1985. Antioxidant levels in germinating soybean seed axes in relation to free radical and dehydration tolerance. *Plant Physiol.* 78:168-171.
- Sherwood, L., 2001. Human physiology from cell to systems, diterjemahkan oleh Brahm U, Beatricia I. Santoso (ed), Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Shih, Yang, K.T., dan Kuo, S.J., 2002. Quality and antioxidative activity of black soybean tofu as affected by bean cultivar. *J. Food Sci.* 67:480-488.
- Snyder, H.E. and T.W. Kwon, 1987. Soybean utilization. An Avi Book Publ., New York.
- Sri Kantha, S. and J.W. Erdman, 1984, The winged bean as an oil and protein source : A Review, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 61: 515.
- Stern, K.R., 2000. Introductory plant biology. McGraw-Hill, New York.
- Suhardi, 1984. Pengurangan asam fitat dalam biji kecipir selama perendaman. Tesis S2, Fakultas Pasca Sarjana, UGM, Yogyakarta.
- Sunarno, 1989, Pengaruh perbandingan dan waktu kontak bahan pelarut serta cara ekstraksi terhadap protein terpengut biji koro benguk, Skripsi, Fkultas Teknologi Pertanian UGM, Yogyakarta.
- Susanto, T dan B. Saneto, 1994, Teknologi Pengolahan Hasil Pertanian, PT. Bina Ilmu, Surabaya.
- Sutanti, A., Kanetro, B., dan Luwihana, S. 2013. Pengaruh perlakuan pendahuluan dan konsentrasi tepung kacang tunggak terhadap sifat fisik dan kesukaan oyek berprotein tinggi. Proseding Seminar Nasional Agroindustri, Universitas Mercu Buana Yogyakarta.

- Sutardi, 1996. Perubahan kadar vitamin E, B1, dan karoten selama perkecambahan beberapa kacang-kacangan. Laporan penelitian F.TP UGM, Yogyakarta.
- Sutardi, 1994. Kajian perubahan kadar vitamin C dan riboflavin pada perkecambahan beberapa jenis kacang-kacangan. Laporan penelitian Fak. Teknologi Pertanian, UGM, Yogyakarta.
- Sutardi, 1996. Perubahan kadar vitamin E, B1 dan karoten selama perkecambahan beberapa kacang-kacangan. Laporan penelitian Fak. Teknologi Pertanian, UGM, Yogyakarta.
- Tse, E.O., F.M. Gregoire, L.J. Magrum, P.R. Johnson and J.S. Stern, 1995. A low protein diet lowers islet insulin secretion but does not alter hyperinsulinemia in obese zucker rats. *American Institute of Nutrition* 1923 - 1929.
- Usuki, S., Y.Ito, K. Morikawa, M. Kise, T. Ariga, M. Rivner and R.K. Yu, 2007. Effect of pre-germinated brown rice intake on diabetic neuropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutrition and Metabolism*: Vol. 4:25-39.
- Utomo, M.I.D, 2004. Optimasi suhu dan waktu perendaman ubi kayu pahit varietas SPP untuk menurunkan kadar HCN keripik ubi kayu rasa gadung. Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Wangsa Manggala, Yogyakarta.
- Vanderstoep, J. 1981. Effect of germination on the nutritive value of legumes. *Food Chem.* 65:289-295.
- Van Loon, L.J., M. Kruijshoop, H. Verhagen, W.H.M Sarris and A.J.M Wagenmakers, 2000. Ingestion of protein hydrolysate and amino acid-carbohydrate mixture increases postexercise plasma insulin response in men. *J. Nutr.* 130,10: 2508 - 2513.
- Van Loon, L.J., M. Kruijshoop, P.P Menheere, W.H.M Sarris, and A.J.M Wagenmakers and H.A. Keizer, 2003. Amino acids ingestion strongly enhances insulin secretion in patients with long-term type 2 diabetes. *Diabetes Care* Vol 26:625-630.

- Wanasundara, P.K.J.P.D., F. Shahidi and M.E.Brosnan, 1999. Changes in flax seeds nitrogenous compounds during germination. *Food Chem.* 65:289-295.
- Wargino dan Diane M. Barret., 1987. *Budidaya Ubi Kayu*. Yayasan Obor Indonesia dan Gramedia, Jakarta
- Whitaker, J.R., 1997. Protease and alpha-amylase inhibitors of higher plants in *Antinutrients and phytochemicals in food*, Shahidi, F. (ed). American Chem. Society, Washington, DC.
- Wu, Y.V. and D. J. Sessa, 1994. Conformation of Bowman-Birk inhibitor. *J. Agric. Food Chem* 42: 2136 - 2138.
- Yanagisawa, Y., T. Akazawa, T. Abe and T. Sasahara, 1997. Changes in free amino acid and Kjeldahl N concentrations in seeds from vegetable-type and grain-type soybean cultivars during the cropping season. *J. Agric. Food Chem.* 45:1720 - 1724.
- Yang, J., R.K. Wong, M. J. Park and J. Wu, 2006. Leucine regulation of glucokinase and ATP synthase sensitizes glucose-induced insulin secretion in pancreatic  $\beta$ -cells. *Diabetes* 55:193 -201.
- Zarkadas, C.G., Z. Yu, H.D. Voldeng, H.J. Hope, A. Minero-Amador and J.A. Rochemont, 1994. Comparison of the protein-bound and free amino acid contents of two northern adapted soybean cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 42:21-33.

