

PENGARUH JENIS DAN KONSENTRASI KOAGULAN TERHADAP FRAKSI PROTEIN TERKOAGULASI DAN TEKSTUR *CURD* KEDELAI (*Glycine max*)

Dahrul Syah^{1,2}, Rizal Fahmi², Dadang Supriatna³, RH. Fitri Faradilla¹

¹South East Asian Food and Agricultural Science and Technology (SEAFST) Center, Institut Pertanian Bogor.

²Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor

³Balai Besar Industri Agro

e-mail: dahrulsyah@ipb.ac.id

Penelitian ini bertujuan mengeksplorasi pengaruh jenis koagulan pada berbagai konsentrasi terhadap fraksi protein *curd* yang dihasilkan serta korelasinya terhadap tekstur. Koagulan yang digunakan yaitu $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan CH_3COOH pada konsentrasi 0,015 N, 0,03 N, dan 0,045 N. Fraksi protein *curd* didapat dengan fraksinasi Osborne dan dianalisis lebih lanjut dengan metode *sodium dodecyl sulfate* – *polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE). Fraksi protein yang didapat dari fraksinasi Osborne yaitu albumin, globulin, prolamin, dan glutelin. Tekstur *curd* kedelai dianalisis secara objektif dengan *texture profile analysis* (TPA) yang mencakup kekerasan, elastisitas, kohesivitas, dan *gumminess*. Dari hasil penelitian diketahui bahwa proses pengolahan kedelai menjadi *curd* menyebabkan penurunan konsentrasi fraksi protein albumin dan globulin yang signifikan, sebaliknya konsentrasi fraksi protein glutelin meningkat secara drastis. Pada konsentrasi koagulan 0,045 N, terdapat variasi pola pita fraksi protein SDS-PAGE pada kedua jenis *curd* ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan CH_3COOH). Jenis dan konsentrasi koagulan juga diketahui berpengaruh nyata terhadap profil tekstur objektif *curd* ($p=0,05$). Terdapat korelasi yang signifikan antara kadar fraksi protein terhadap profil tekstur objektif *curd* $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Sebaliknya, tekstur objektif *curd* CH_3COOH kurang dipengaruhi oleh kadar fraksi protein.

Kata kunci: *curd* kedelai, albumin, globulin, prolamin, glutelin, tekstur.

ABSTRACT. Dahrul Syah, Rizal Fahmi, Dadang Supriatna, RH. Fitri Faradilla. 2011. Effect of Coagulant Type and Concentration Toward Coagulated Protein Fraction and Soy Curd Texture (*Glycine max*). The aims of this research were to explore the effect of coagulant type and coagulant concentration on curd protein fraction, curd texture, and the correlation between these variables. Coagulants used were $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ and CH_3COOH with 0.015 N, 0.03 N, and 0.045 N concentration. Curd protein fractions were obtained by Osborne fractionation and was further analysed using sodium dodecylsulfate acrylamide gel electrophoresis (SDS-page) method. The protein obtained were albumin, globulin, prolamin, and glutelin. Curd textures that include hardness, elasticity, cohesiveness, and gumminess were analyzed by *texture profile analysis* (TPA). The result showed that conversing soybean to be curd caused decreasing of albumin and globulin concentration significantly. In contrast, glutelin concentration was increasing significantly. There were variations of protein fraction pattern of band SDS-PAGE between two type of curd ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ and CH_3COOH) in 0.045 N. Types and concentrations of coagulant were also influenced significantly to curd texture profile ($p=0.05$). There was a significant correlation between protein fraction content on objective texture profile of $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ curd. On the other hand the objective texture profile of CH_3COOH curd was not influenced by protein fraction content.

Keywords: soybean curd, albumin, globulin, prolamin, glutelin, texture.

PENDAHULUAN

Curd kedelai merupakan salah satu produk olahan kedelai yang memiliki tekstur beragam. Mulai dari *curd* sangat keras (*extra firm tofu*) hingga sangat lembut (*silken tofu*). Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengetahui pengaruh proses pembuatan *curd* terhadap tekstur *curd* yang dihasilkan. Telah lama diketahui bahwa peningkatan suhu koagulasi, kecepatan pengadukan, dan peningkatan konsentrasi koagulan dapat meningkatkan kekerasan *curd*^{1,2,3}. Selain itu, Cai dan Chang⁴ juga telah melaporkan pengaruh konsentrasi koagulan dan metode pencampuran skala produksi terhadap kualitas *curd*.

Selain pada tahap proses, jenis dan kandungan protein kedelai juga telah banyak diteliti untuk mempelajari pengaruhnya terhadap tekstur *curd*. Mujoo

*et al*⁵, meneliti korelasi protein simpanan pada berbagai varietas kedelai terhadap tekstur dan rendemen *curd*. Lebih jauh lagi, Poysa *et al*⁶ meneliti efek perbedaan kadar protein simpanan kedelai pada tingkat sub unitnya terhadap kualitas *curd*.

Penjelasan tentang faktor yang bertanggung jawab atas keragaman tekstur *curd* melalui pendekatan komponen yang ada pada *curd* itu sendiri masih sulit untuk ditemukan. Padahal pengetahuan tersebut sangatlah penting. Pemahaman terhadap komponen yang ada di *curd* baik mikro maupun makro dapat menjadi modal dalam proses rekayasa pembuatan *curd* dengan tekstur yang seragam dan sesuai keinginan. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan pengamatan terhadap pengaruh jenis dan konsentrasi koagulan terhadap perubahan kandungan fraksi protein (albumin, globulin, prolamin, dan glutelin) serta korelasinya terhadap tekstur *curd*.

BAHAN DAN METODE

A. Bahan

Penelitian dilakukan di laboratorium South East Asian Food and Agriculture Science and Technology (SEAFST) Center dan Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Institut Pertanian Bogor pada tahun 2009. Kedelai yang digunakan untuk membuat *curd* yaitu kedelai yang diperoleh dari pabrik tahu Diazara Tresna, Bogor, Jawa Barat, Indonesia. Koagulan yang digunakan adalah $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Merck) dan CH_3COOH . Koagulan CH_3COOH disiapkan dengan melarutkan asam asetat glasial (Merck) ke dalam aquades sesuai dengan konsentrasi yang digunakan. Bahan kimia lainnya merupakan bahan kimia dengan standar *analytical grade* yang didapat dari Bio Basic Inc., Merck, Sigma, dan AppliChem.

B. Pembuatan *Curd*

Sari kedelai akan dikoagulasi menjadi *curd* disiapkan dengan terlebih dahulu merendam kedelai yang telah dicuci selama enam jam di dalam air dengan perbandingan kedelai dan air sebanyak 1:6. Kedelai kemudian ditiriskan dan digiling bersama enam bagian air dengan menggunakan *waring blender*. Bubur kedelai yang didapat kemudian ditambahkan air sebanyak empat bagian dan dididihkan selama tiga menit sambil diaduk. Bubur yang mendidih ini kemudian disaring dan ampasnya dibilas dengan menggunakan lima bagian air. Sari kedelai ini kemudian dipanaskan hingga suhu 80°C . Setelah mencapai suhu 80°C , koagulan ditambahkan dengan konsentrasi 0,015 N, 0,030 N, dan 0,045 N. Reaksi koagulasi dibiarkan selama sepuluh menit. Setelah itu *whey* dan *curd* dipisahkan dengan sentrifuse (untuk dianalisis proteinnya) atau dengan cetakan *curd* (untuk dianalisis teksturnya). Sentrifuse (IEC Centra-8 centrifuge) digunakan pada kecepatan $20.960 \times g$ selama 15 menit. Cetakan tahu berukuran $10 \times 10 \text{ cm}^2$ dan dirancang sedemikian rupa sehingga *curd* dapat ditekan dengan gaya sebesar $4,71 \text{ g/cm}^2$ selama 30 menit.

C. Fraksinasi Protein Metode Osborne (Lookhart dan Bean^{7,8} yang Dimodifikasi)

Fraksinasi Osborne dilakukan terhadap tepung kedelai dan *curd* dengan terlebih dahulu menghilangkan kandungan lemaknya. Tepung kedelai yang digunakan berasal dari kedelai yang sama dengan kedelai yang digunakan untuk pembuatan *curd*. Tepung kedelai dan *curd* bebas lemak ditimbang sebanyak 50-100 mg di dalam *micro tube*. Fraksi pertama yang dilarutkan yaitu albumin. Aqua bidestilata ditambahkan sebanyak 400 μL ke dalam sampel, kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *vortex* (Velp Scientifica, Neutec Group Inc.). Proses

pelarutan dilakukan selama 30 menit dan dihomogenkan setiap interval 10 menit. Campuran kemudian dipisahkan dengan menggunakan sentrifuse (Hettich Zentifugen, mikro 22R) (12.500 rpm, 5 menit, 4°C). Filtrat yang merupakan albumin dipisahkan dari endapan dan disimpan pada *micro tube* A. Endapan kemudian ditambah lagi dengan 400 μL aqua bidestilata, dihomogenkan, dan didiamkan selama 5 menit. Campuran kemudian disentrifuse seperti tahap sebelumnya. Pelarutan selama 5 menit ini dilakukan dua kali. Filtrat yang didapat disimpan pada *micro tube* A. Endapan yang tersisa dilarutkan di dalam NaCl 0,5 N untuk mendapatkan fraksi globulin. Metode pelarutan sama dengan albumin. Setelah filtrat berisi globulin didapat dan disimpan di *micro tube* G, endapan dicuci dengan aqua bidestilata untuk menghilangkan sisa garam dan disentrifuse (12.500 rpm, 5 menit, 4°C). Filtrat yang didapat ini dibuang dan endapannya secara berturut-turut dilarutkan dalam etanol 70% dan NaOH 0,2% untuk memperoleh fraksi prolamin dan glutelin. Tahapan pelarutan sama dengan tahapan yang dilakukan terhadap albumin. Masing-masing filtrat disimpan di *micro tube* P untuk prolamin dan *micro tube* U untuk glutelin.

Fraksi-fraksi protein yang didapat dianalisa total proteinnya dengan metode Bradford⁸. Untuk menentukan persen perolehan kembali (*recovery*) fraksinasi, *curd* dan tepung kedelai bebas lemak dianalisa total proteinnya dengan metode Kjeldahl⁹. *Curd* yang belum dihilangkan lemak juga dianalisa kadar proteinnya dengan metode Kjeldahl untuk mengetahui pengaruh jenis dan konsentrasi koagulan terhadap total protein *curd*.

D. SDS-Polyacrylamide Gel Elektroforesis¹⁰

Analisis SDS-PAGE dilakukan menggunakan gel akrilamid dengan konsentrasi *separating gel* 12% dan *stacking gel* 5%. Sampel yang dielektroforesis adalah supernatan protein hasil fraksinasi dengan metode Osborne dan *whey*. Sebelum dielektroforesis, sampel ditambah dengan *buffer sample* dan dipanaskan selama lima menit dalam air mendidih (100°C). Sebagai *marker* digunakan *unstained protein molecular weight marker* (Fermentas) yang mengandung α -galaktosidase (116 kDa), *bovine serum albumin* (66,2 kDa), ovalbumin (45 kDa), laktat dehidrogenase (35 kDa), *restricton endonuclease* BSP 981 (25 kDa), α -laktoglobulin (18,4 kDa), dan lisozim (14,4 kDa). Setelah elektroforesis, gel diwarnai dengan larutan *staining* yang berisi 1 g *coomassie brilliant blue* R-250, 450 mL metanol, 100 mL asam asetat glasial, dan 450 mL aquades. Penghilangan warna biru pada gel digunakan larutan *destaining* yang merupakan campuran metanol:asam asetat glasial:aquades sebesar 1:1:8.

E. Analisis Tekstur *Curd* secara Objektif

Tekstur *curd* dianalisis dengan metode *Texture Profile Analysis* (TPA) menggunakan alat TA-XT2i. Alat TA-XT2i diseting dengan *pre-test speed*: 1,5 mm/detik, *test speed*: 1,5 mm/detik, *post-test speed*: 1,0 mm/detik, *target mode*: 0 = distance, *unit distance*: % strain, *distance*: 30%, *time*: 5 detik, *trigger type*: 0 = auto (force), *unit force*: grams, *trigger force*: 20 g, *tare mode*: 0 = auto.

Pengukuran sampel *curd* dilakukan sebanyak empat kali dari empat titik yang berbeda. *Curd* dipotong berbentuk silinder dengan diameter 3,5 cm. Sampel dianalisis menggunakan probe P/100 dengan diameter 100 mm. Parameter yang diukur menggunakan metode TPA adalah kekerasan, kohesivitas, elastisitas, dan *gumminess*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Kadar Protein dan Kadar Air *Curd*

Kadar protein *curd* pada berbagai konsentrasi koagulan disajikan pada Tabel 1. Kadar protein *curd* basis basah meningkat secara nyata dengan meningkatnya konsentrasi koagulan $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Sebaliknya, tidak terjadi peningkatan kadar protein secara nyata akibat kenaikan konsentrasi koagulan CH_3COOH . Pada konsentrasi koagulan 0,015 N dan 0,03 N, kadar protein *curd* yang dihasilkan dari koagulan CH_3COOH lebih tinggi jika dibandingkan dengan koagulan $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Ketika konsentrasi meningkat menjadi 0,045 N, kadar protein kedua jenis *curd* tersebut tidak berbeda nyata.

Peningkatan kadar protein *curd* akibat meningkatnya konsentrasi koagulan disebabkan oleh meningkatnya kemampuan koagulan dalam mengkoagulasi protein. Chang¹⁰ menyebutkan bahwa dengan meningkatnya konsentrasi $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, ion Ca^{2+} yang dapat menetralkan protein semakin banyak sehingga jumlah protein yang terkoagulasi meningkat.

Pengaruh jenis dan kadar koagulan terhadap kadar air *curd* disajikan juga pada Tabel 1. Peningkatan

Tabel 1. Kadar protein dan kadar air *curd*
Table 1. Protein and water content of *curd*

Jenis <i>Curd</i> / <i>Curd Type</i>	Kadar Protein/ Protein Content (%)	Kadar Air / Water Content (%)
$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,015 N	6,91 ^a	87,83 ^c
$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,030 N	8,86 ^b	83,32 ^d
$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,045 N	10,81 ^c	79,30 ^{bc}
CH_3COOH 0,015 N	10,75 ^c	80,14 ^c
CH_3COOH 0,030 N	10,97 ^c	77,29 ^{ab}
CH_3COOH 0,045 N	11,06 ^c	76,44 ^a

Keterangan/Remarks: huruf superscript berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata pada $p=0,05$ /Different superscript letters in the same column show that the values are obviously different at $p=0.05$

Tabel 2. Komposisi fraksi protein Osborne *curd*
Table 2. Composition of *curd* Osborne protein fraction

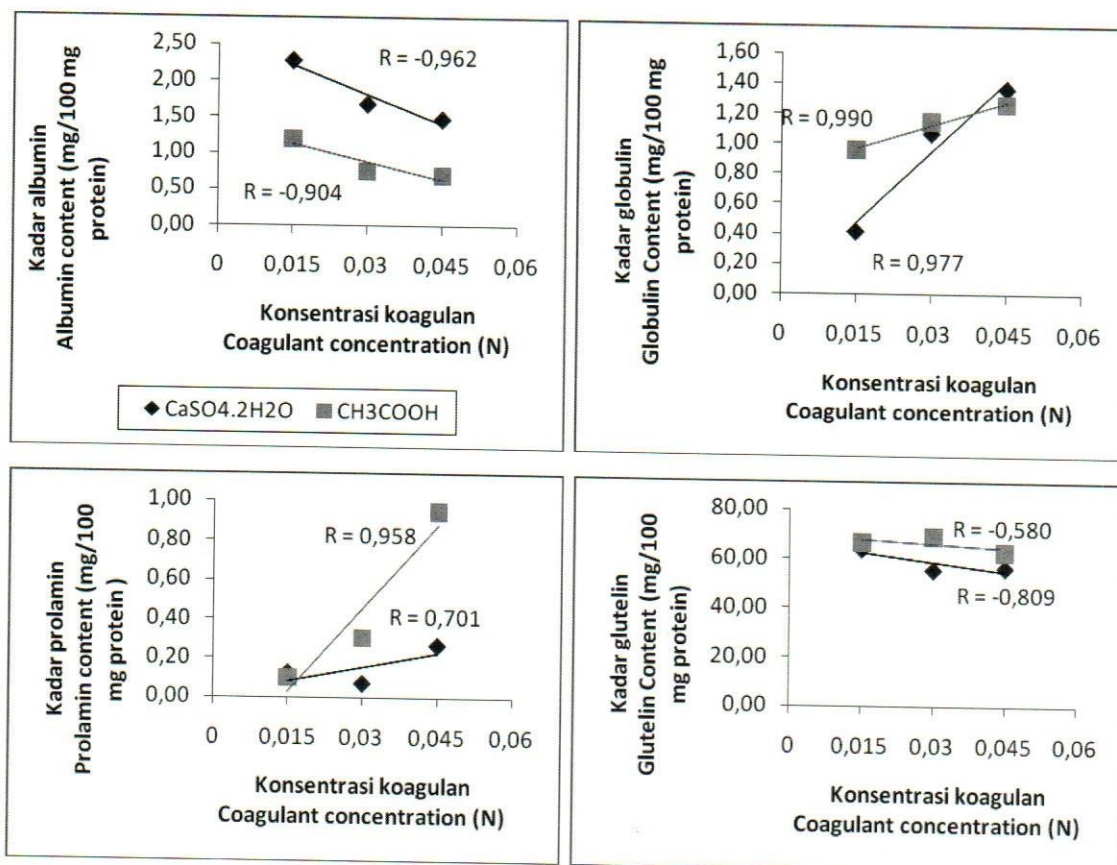
Sampel/Sample	Kadar Fraksi Protein/ Protein Fraction Content (%)			
	Albumin	Globulin	Prolamin	Glutelin
Tepung kedelai/ Soy Flour	57,08	17,84	0,29	24,79
$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,015 N	3,39	0,62	0,19	95,8
$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,030 N	2,87	1,83	0,12	95,18
$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,045 N	2,47	2,28	0,45	94,8
CH_3COOH 0,015 N	1,73	1,39	0,14	96,74
CH_3COOH 0,030 N	1,04	1,61	0,43	96,93
CH_3COOH 0,045 N	1,06	1,92	1,44	95,58

konsentrasi koagulan $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan CH_3COOH mengakibatkan kadar air *curd* basis basah menurun secara nyata. Chang¹⁰ menyebutkan bahwa peningkatan konsentrasi koagulan menyebabkan proses koagulasi terjadi semakin cepat. Proses koagulasi yang cepat menyebabkan air lebih sedikit terperangkap di dalam matriks *curd* karena kemampuan protein untuk mengikat air menurun. Hasil penelitian deMan *et al*¹¹ juga menunjukkan hal yang sama, yaitu dengan meningkatnya kadar koagulan akan menghasilkan *curd* dengan kadar air lebih rendah dan kadar protein lebih tinggi.

Pada konsentrasi yang sama, kadar air *curd* yang dibuat dengan koagulan $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ lebih tinggi jika dibandingkan *curd* yang dibuat dengan koagulan CH_3COOH . Perbedaan kandungan air pada kedua *curd* ini disebabkan oleh mekanisme agregasi protein dalam membentuk matriks. Menurut Prabhakaran *et al*¹² penurunan pH pada penggunaan koagulan CH_3COOH menurunkan interaksi elektrostatis yang berupa gaya tolak-menolak antar molekul protein sehingga menyebabkan agregasi protein dan melepaskan air. Sebaliknya, pada koagulan $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, air yang terperangkap dalam matriks lebih banyak karena agregasi protein disebabkan oleh koneksi antara ion Ca^{2+} dengan molekul protein sehingga struktur *curd* akan lebih renggang dan memerangkap air lebih banyak.

B. Fraksi Protein *Curd*

Hasil fraksinasi protein *curd* bebas lemak dan tepung kedelai bebas lemak disajikan pada Tabel 2. Terjadi penurunan kadar fraksi albumin dan globulin *curd* jika dibandingkan dengan tepung kedelai. Albumin merupakan fraksi protein dominan pada tepung kedelai. Namun ketika kedelai diolah menjadi *curd*, kadar albumin menjadi sangat rendah. Kadar albumin tepung kedelai adalah 57,08% dari total protein yang terekstrak, sedangkan albumin *curd* yang dibuat dengan koagulan $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ berkisar antara 2,47-3,39% dan albumin

Gambar 1. Hubungan antara konsentrasi koagulan dan fraksi protein *curd*.Figure 1. Correlation between coagulant concentration and protein fraction of *curd*.

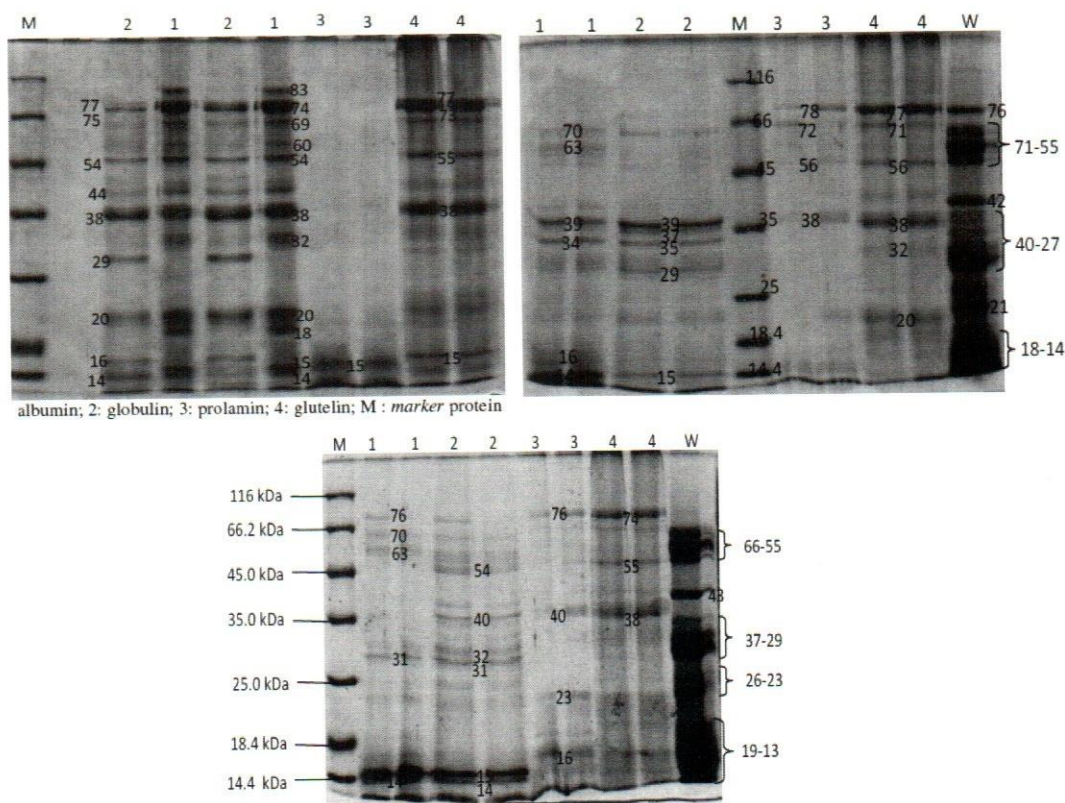
dari *curd* yang dibuat dengan koagulan CH_3COOH adalah 1,04-1,06%. Penurunan yang signifikan juga terjadi pada fraksi protein globulin. Kadar globulin tepung kedelai adalah 17,84% sedangkan kadar globulin *curd* $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan CH_3COOH berturut-turut hanya berkisar 0,62-2,28% dan 1,39-1,92%.

Rendahnya kadar albumin dan globulin *curd* jika dibandingkan dengan tepung kedelai kemungkinan disebabkan oleh salah satu di antara kedua faktor berikut. Pertama, selama pengolahan, protein albumin dan globulin mengalami perubahan sifat yang menyebabkan kedua protein ini tidak dapat larut air atau larutan garam encer. Selama pengolahan, terjadi proses gelasi protein yang terdiri atas dua tahapan yaitu denaturasi protein oleh panas dan agregasi hidrofobik oleh koagulan¹³. Perlakuan panas pada sari kedelai menyebabkan gugus hidrofobik molekul protein terpapar ke luar¹⁴. Selanjutnya ion positif kalsium dari koagulan $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ atau protonasi COO^- oleh koagulan CH_3COOH menetralkan protein yang bermuatan negatif sehingga terjadi pengendapan protein^{15,16}. Proses-proses tersebut kemungkinan mengubah struktur dan ikatan antar molekul protein sehingga sifat kelarutan protein *curd* berubah. Kemungkinan kedua yang menyebabkan rendahnya albumin dan globulin karena kedua protein tersebut tidak

ikut mengendap pada proses koagulasi saat pembuatan *curd*. Kedua kemungkinan tersebut perlu analisa lebih lanjut untuk membuktikannya. Pembuktian dapat dilakukan dengan melakukan fraksinasi pada setiap produk antara, yaitu sari kedelai, ampas, dan *whey*.

Fraksi protein yang dominan pada *curd* adalah glutelin (Tabel 2). Terjadi kenaikan secara signifikan pada fraksi protein glutelin *curd* jika dibandingkan dengan tepung kedelai. Tepung kedelai hanya mengandung 24,79% fraksi protein glutelin sedangkan *curd* mengandung sekitar 94,80-95,80% untuk *curd* $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan 95,58-96,93% untuk *curd* CH_3COOH . Menurut Zayas¹⁷, kelarutan protein meningkat dalam larutan yang bersifat basa (di atas titik isoelektrik) dibandingkan pada larutan bersifat asam. Selama koagulasi terjadi penurunan pH (data tidak disajikan). Oleh karena itu ketika protein *curd* yang bersifat asam dikondisikan pada pH basa banyak protein yang terekstrak.

Korelasi konsentrasi koagulan terhadap kadar fraksi protein *curd* disajikan pada Gambar 1. Albumin memiliki korelasi yang cukup tinggi terhadap konsentrasi koagulan yang ditandai dengan tingginya nilai *pearson correlation* ($R > 0,9$). Korelasi tersebut bersifat negatif, artinya semakin tinggi konsentrasi koagulan, semakin rendah



Gambar 2. Profil elektroforesis fraksi protein *curd* dan tepung kedelai.

Figure 2. Electrophoresis profile of curd and soybean flour protein fractions.

Keterangan/Remarks: kiri atas: tepung kedelai; kanan atas: *curd* $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,045 N); bawah: *curd* CH_3COOH (0,045 N); 1: albumin; 2: globulin; 3: prolamin; 4: glutelin; M: marker; W: whey/Top left: soy flour; top right: *curd* of $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,045 N); below: *curd* CH_3COOH (0,045 N); 1: albumin; 2: globulin; 3: prolamin; 4: glutelin; M: marker; W: whey

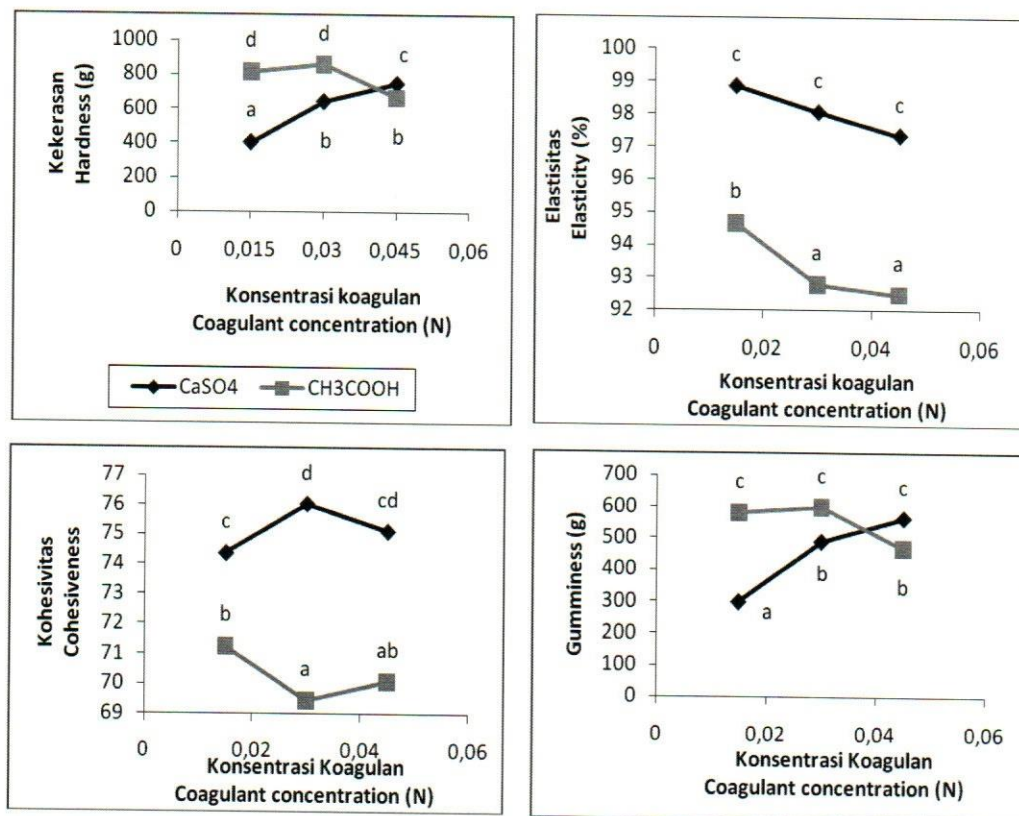
kadar albumin *curd*. Albumin merupakan protein yang larut air¹⁷.

Konsentrasi koagulan juga berkorelasi terhadap kadar globulin. Korelasinya bersifat positif yang artinya semakin tinggi konsentrasi koagulan yang ditambahkan, semakin tinggi kadar globulin. Prolamin *curd* $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ kurang berkorelasi terhadap kenaikan konsentrasi koagulan ($R < 0,9$). Sebaliknya prolamin *curd* CH_3COOH berkorelasi signifikan terhadap konsentrasi koagulan. Kadar glutelin untuk kedua jenis *curd* juga kurang berkorelasi terhadap kadar koagulan.

Profil SDS-PAGE untuk fraksi protein Osborne tepung kedelai dapat dilihat pada Gambar 2. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa fraksi albumin, globulin, dan glutelin sampel tepung memiliki pita protein dengan berat molekul yang hampir serupa. Jumlah pita prolamin yang terdeteksi pada sampel tepung kedelai merupakan yang paling sedikit dibandingkan fraksi lainnya. Tercatat hanya pita dengan kisaran berat molekul 15 kDa yang diperoleh pada penelitian ini.

Hasil elektroforesis untuk *curd* yang dikoagulasi dengan koagulan $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan CH_3COOH

menunjukkan adanya perbedaan pita protein dominan yang muncul. Pada penggunaan koagulan $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, pita protein dominan pada fraksi globulin yang terbentuk memiliki berat molekul sekitar 39 kDa, sedangkan pada penggunaan koagulan CH_3COOH , pita fraksi globulin yang dominan memiliki berat molekul sekitar 15 kDa. Fraksi albumin *curd* $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan CH_3COOH menunjukkan pembentukan pita protein yang relatif sama. Fraksi prolamin yang terbentuk melalui penggunaan dua jenis koagulan tersebut menunjukkan bahwa sampel *curd* dengan koagulan $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ lebih banyak didominasi pada pita dengan berat molekul tinggi, yaitu sekitar 70 kDa, sebaliknya fraksi prolamin *curd* CH_3COOH lebih didominasi oleh pita dengan berat molekul rendah, yaitu sekitar 15-20 kDa. Sementara itu, berdasarkan hasil yang diperoleh, tampak bahwa fraksi glutelin melalui penggunaan kedua jenis koagulan menunjukkan pita dengan berat molekul yang relatif sama. Protein-protein yang terbuang saat pembentukan *curd* memiliki keragaman yang tinggi dalam hal berat molekul penyusunnya. Hal ini dapat dilihat melalui analisis elektroforesis whey hasil pengepresan *curd*.



Gambar 3. Hubungan konsentrasi dan jenis koagulan terhadap tekstur objektif *curd*.
 Figure 3. Relation of coagulant concentration with curd objective texture.

Keterangan/Remarks: huruf berbeda pada kotak yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata pada $p=0,05$ /Annotation: different superscript letters in the same column show that the values are obviously different at $p=0,05$

E. Tekstur *Curd*

Gambar 3 menyajikan grafik hubungan konsentrasi dan jenis koagulan terhadap profil tekstur *curd* yang diukur secara objektif. Jenis koagulan maupun peningkatan konsentrasinya memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai kekerasan *curd* pada tingkat signifikansi 5%. Beberapa hasil penelitian sebelumnya juga menyebutkan bahwa konsentrasi dan jenis koagulan dapat mempengaruhi kekerasan *curd*^{11,3,18}. Penggunaan koagulan $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ menghasilkan *curd* yang lebih lunak daripada CH_3COOH . Peningkatan konsentrasi koagulan $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ meningkatkan kekerasan *curd* secara teratur. Hal ini disebabkan oleh peningkatan kepadatan *curd* sebagai akibat dari semakin rapatnya matriks *curd* yang terbentuk. Pada *curd* dari koagulan CH_3COOH , kekerasan *curd* meningkat ketika konsentrasi dinaikkan dari 0,015 N menjadi 0,030 N. Akan tetapi, kekerasan kemudian menurun pada konsentrasi 0,045 N. Menurut Puppo dan Anon¹⁹, pada pH asam (konsentrasi CH_3COOH tinggi), gel yang terbentuk semakin mudah pecah seiring dengan menurunnya kemampuan menahan air.

Elastisitas *curd* sangat dipengaruhi oleh jenis koagulan. *Curd* $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ memiliki nilai elastisitas

yang jauh lebih tinggi dibandingkan *curd* CH_3COOH . Kekompakan struktur matriks *curd*, yang ditunjukkan melalui parameter kohesivitas, dipengaruhi secara nyata oleh penggunaan koagulan. Penggunaan koagulan CH_3COOH memberikan struktur *curd* yang kurang kompak meskipun kekerasannya lebih tinggi dibandingkan *curd* dari koagulan $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Hal ini terbukti secara visual, *curd* yang dibentuk dengan koagulan CH_3COOH lebih sulit dicetak dan memberikan penampakan yang kasar, terlebih pada konsentrasi koagulan 0,045 N.

Daya kunyah sampel *curd* (*gumminess*) menunjukkan seberapa mudah sampel dipecah menjadi bagian-bagian kecil sebelum ditelan ketika sampel berada di dalam mulut. Nilai *gumminess* dipengaruhi oleh kekerasan serta kekompakan sampel¹⁷. Berdasarkan analisis ragam, jenis koagulan dan konsentrasi yang digunakan berpengaruh nyata terhadap daya kunyah *curd*. *Curd* dari koagulan $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ memberikan daya kunyah yang lebih rendah jika dibandingkan dengan *curd* CH_3COOH . Daya kunyah yang rendah ini karena kekerasan *curd* dari koagulan $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ memiliki nilai yang lebih kecil daripada *curd* dari koagulan CH_3COOH , meskipun kekompakan struktur pada *curd* dari *curd*

Tabel 4. Hasil korelasi tekstur *curd* objektif
Table 4. Correlation result of *curd* objective texture

	Korelasi Pearson/Pearson Correlation							
	Kekerasan/ Hardness		Elastisitas/ Elasticity		Kohesivitas/ Cohesiveness		Daya Kunyah/ Gumminess	
	<i>Curd</i> CaSO ₄	<i>Curd</i> CH ₃ COOH	<i>Curd</i> CaSO ₄	<i>Curd</i> CH ₃ COOH	<i>Curd</i> CaSO ₄	<i>Curd</i> CH ₃ COOH	<i>Curd</i> CaSO ₄	<i>Curd</i> CH ₃ COOH
Konsentrasi koagulan/ <i>Coagulant concentration</i>	0,976*	-0,731	-0,999**	-0,923	0,448	-0,636	0,970*	-0,796
Kadar protein <i>curd</i> / <i>Protein content of curd</i>	0,976*	-0,533	-0,999**	-0,990**	0,449	-0,811	0,970*	-0,616
Kadar air <i>curd</i> / <i>Water content of curd</i>	-0,983*	0,494	1,000***	0,996**	-0,478	0,837	-0,977*	0,579
Albumin	-0,984*	-0,120	1,000***	0,856	-0,484	0,998**	-0,979*	-0,019
Globulin	1,000***	-0,817	-0,984*	-0,861	0,629	-0,524	1,000***	-0,871
Prolamin	0,627	-0,971	-0,761	-0,741	-0,206	-0,341	0,607	-0,952*
Glutelin	0,989**	-0,765	-0,999**	-0,902	0,513	-0,595	0,985*	-0,826

Keterangan/Remarks: * signifikan pada $p=0,1$; ** signifikan pada $p=0,05$; *** signifikan pada $p=0,01$ /Annotation: * significant at $p=0,1$; ** significant at $p=0,05$; *** significant at $p=0,01$.

CaSO₄·2H₂O lebih tinggi. Semakin tinggi kekerasan sampel dan semakin kompak struktur sampel tersebut akan membuat daya kunyahnya menjadi semakin tinggi.

Tabel 4 menyajikan data korelasi profil tekstur objektif *curd* terhadap konsentrasi koagulan, kadar protein *curd*, kadar air *curd*, dan fraksi protein *curd*. Kekerasan *curd* CaSO₄·2H₂O berkorelasi secara signifikan pada semua variabel kecuali prolamin. Tidak terdeteksi korelasi yang signifikan antara kekerasan *curd* CH₃COOH terhadap ketujuh variabel tersebut.

Konsentrasi koagulan, kadar protein, kadar globulin, dan kadar glutelin *curd* CaSO₄·2H₂O berkorelasi positif terhadap kekerasan. Sebaliknya, kadar air dan kadar albumin *curd* CaSO₄·2H₂O berkorelasi negatif terhadap kekerasan. Peningkatan konsentrasi koagulan menyebabkan semakin banyak protein yang terkoagulasi (Tabel 1). Hal ini disebabkan oleh semakin banyaknya ion Ca²⁺ yang menetralkan protein susu kedelai²³. Peningkatan konsentrasi koagulan juga menyebabkan proses koagulasi terjadi semakin cepat. Proses koagulasi yang cepat ini menyebabkan air lebih sedikit terperangkap di dalam matriks *curd* karena kemampuan protein untuk mengikat protein menurun¹⁰.

Korelasi kekerasan *curd* CaSO₄·2H₂O yang negatif terhadap albumin dan korelasi yang positif terhadap globulin dan glutelin, kemungkinan dipengaruhi oleh sifat daya ikat air ketiga jenis protein tersebut. Globulin dan glutelin yang bersifat kurang polar, kurang dapat mengikat air, sebaliknya albumin yang bersifat polar mampu mengikat air. Oleh karena itu, semakin tinggi kadar albumin, semakin lunak *curd* yang dihasilkan. Sebaliknya, semakin tinggi kadar globulin dan glutelin menyebabkan *curd* semakin keras.

Tidak satu pun fraksi protein *curd* CH₃COOH berkorelasi terhadap kekerasan. Selain itu, kadar protein dan kadar air *curd* ini juga tidak berkorelasi secara signifikan terhadap kekerasan. Pada *curd* CH₃COOH, penambahan konsentrasi CH₃COOH yang menyebabkan kenaikan kadar protein dan penurunan kadar air tidak menyebabkan *curd* menjadi lebih keras. Kenaikan konsentrasi dari 0,015 menjadi 0,03 N mengakibatkan kenaikan kekerasan walau tidak signifikan. Namun ketika konsentrasi naik menjadi 0,045 N, kekerasan menurun drastis (Gambar 3). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat variabel selain fraksi protein, kadar protein, dan kadar air yang mempengaruhi kekerasan *curd* CH₃COOH.

Terjadinya penurunan kekerasan secara drastis pada saat konsentrasi CH₃COOH 0,045 N kemungkinan berhubungan dengan titik isoelektrik. Saat mendekati titik isoelektrik, kekuatan gel *curd* menjadi lebih lemah sehingga kekerasan menurun^{21,22}. Peningkatan konsentrasi CH₃COOH mengakibatkan penurunan pH larutan. Hal ini terbukti dari pH whey yang semakin rendah dengan meningkatnya konsentrasi koagulan (data tidak disajikan). Pada saat mendekati titik isoelektrik, atau pada saat konsentrasi CH₃COOH 0,045 N, protein yang terkoagulasi semakin tinggi (Tabel 1) dan kemungkinan membentuk struktur koarsa. Saat protein membentuk struktur koarsa, kemampuan mengikat air pun menjadi lebih rendah. Walau pun kadar air menjadi lebih rendah, namun kekerasan tidak semakin tinggi karena kekuatan gel yang melemah.

Elastisitas *curd* CaSO₄·2H₂O berkorelasi secara signifikan terhadap konsentrasi koagulan, kadar protein, kadar air, albumin, globulin, dan glutelin *curd*. Elastisitas *curd* CH₃COOH hanya berkorelasi secara signifikan pada

kadar protein dan kadar air *curd* (Tabel 4). Pada kedua jenis *curd*, kadar protein berkorelasi negatif, sedangkan kadar air berkorelasi positif terhadap elastisitas. Menurut Zayas¹⁷, saat pembentukan gel, interaksi hidrofobik antar molekul protein mendominasi dan kemampuan membentuk gel menurun dengan peningkatan interaksi ini. Oleh karena itu, *curd* dengan kadar protein tinggi kurang elastis jika dibandingkan dengan *curd* dengan kadar protein rendah dan *curd* dengan kadar air tinggi (interaksi hidrofobik lebih rendah) memiliki elastisitas yang lebih tinggi.

Albumin $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ berkorelasi positif terhadap elastisitas *curd* pada $p=0,01$. Sebaliknya globulin dan glutelin berkorelasi negatif terhadap elastisitas dengan tingkat kepercayaan berturut-turut $p=0,1$ dan $p=0,05$ (Tabel 4). Albumin yang hidrofilik berperan sebagai pengikat air sehingga elastisitas menjadi meningkat. Hal sebaliknya terjadi pada globulin dan glutelin.

Gumminess berhubungan dengan kekerasan dan kohesivitas. Variabel yang berkorelasi signifikan terhadap kekerasan *curd* $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ juga berkorelasi terhadap *gumminess* (Tabel 4). Hal yang berbeda terjadi pada *curd* CH_3COOH . Tidak ada satu pun dari ketujuh variabel yang diamati pada *Curd* CH_3COOH yang berkorelasi terhadap kekerasan. Namun pada tekstur *gumminess*, kadar prolamin *curd* CH_3COOH berkorelasi negatif dengan $p=0,1$.

KESIMPULAN

1. Proses pengolahan kedelai menjadi *curd* menyebabkan penurunan konsentrasi fraksi protein albumin dan globulin yang signifikan, sebaliknya konsentrasi fraksi protein glutelin meningkat secara drastis.
2. Pada konsentrasi koagulan 0.045 N, terdapat variasi pola pita fraksi protein SDS-PAGE pada kedua jenis *curd* ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan CH_3COOH).
3. Jenis dan konsentrasi koagulan juga diketahui berpengaruh nyata terhadap profil tekstur objektif *curd* ($p=0,05$).
4. Terdapat korelasi yang signifikan antara kadar fraksi protein terhadap profil tekstur objektif *curd* $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Sebaliknya, tekstur objektif *curd* CH_3COOH kurang dipengaruhi oleh kadar fraksi protein.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wang HL, Hesseltine CW. Coagulation conditions in tofu processing. *Process.Biochem.* 1982; 1:7-12.
2. Beddows CG, Wong J. Optimization of yield and properties of silken tofu from soybean. III. Coagulant concentration, mixing and filtration pressure. *Int.J.Food.Sci.Tech.* 1987; 22:29-34.
3. Sun N, Breene WM. Calcium sulfate concentration influence on yield and quality of tofu from five soybean varieties. *J.Food.Sci.* 1991; 56:1604-1607.
4. Cai TD, Chang KC. Characteristics of production-scale tofu as affected by soymilk coagulation method: propeller blade size, mixing time and coagulant concentration. *Food.Res.Int.* 1998; 31(4):289-295.
5. Mujoo R, Trinh DT, Ng PKW. Characterization of storage proteins in different soybean varieties and their relationship to tofu yield and texture. *Food.Chem.* 2003; 82:265-273.
6. Poysa V, Woodrow L, Yu K. Effect of soy protein subunit composition on tofu quality. *Food.Res.Int.* 2006; 39:309-317.
7. Lookhart G, Bean S. Separation and characterization of wheat protein fractions by high-performance capillary electrophoresis. *J.Cereal.Chem.* 1995; 72(6):527-532.
8. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *J.Analytical.Biochem.* 1976; 72: 248-254.
9. AOAC [Analysis of the Association of Official Agriculture Chemistry]. Microchemical determination of nitrogen. Method 960.52. Chapter 12. 1995.
10. Bollag DM, Edelstein SJ. Protein method. New York: Willey-Liss Inc; 1991.
11. deMan JM, deMan L, Gupta S. Texture and microstructure of soybean curd (tofu) as affected by different coagulants. *Food.Microstructure.* 1986; 5:83-89.
12. Prabhakaran MP, Perera CO, Valiyaveetil S. Effect of different coagulants on the isoflavone levels and physical properties of prepared firm tofu. *J.Food.Chem.* 2006; 99:492-499.
13. Kohyama K, Sano Y, Doi E. Rheological characteristics and gelation mechanism of tofu (soybean curd). *J.Agric.Food.Chem.* 1995; 43(7):1808-1812.
14. Wang CH, Damodaran S. Thermal gelation of globular proteins: influence of protein conformation on gel strength. *J.Agric.Food.Chem.* 1991; 39:433-438.
15. Kohyama K, Nishinari K. Rheological studies on the gelation process of soybean 7S and 11S proteins in the presence of glucono-delta-lactone. *J.Agric.Food.Chem.* 1993; 41:8-14.
16. Liu ZS, Chang KC, Li LT, Tatsumi E. Effect of selective thermal denaturation of soybean properties on soymilk viscosity and tofu's physical properties. *Food.Res.Int.* 2004; 37:815-822.
17. Zayas JF. Functionality of proteins in food. Berlin: Springer; 1997.
18. Tay SL, Tan HY, Perera CO. The coagulating effects of cations and anions on soy protein. *Int.J.Food.Properties.* 2005; (in press).
19. Puppo MC, Anon MC. Rheological properties of acidic soybean protein gels: salt addition effect. *J.Food.Hydrocolloid.* 1999; 13:167-176.
20. Yasir SBMD. The role of protein cross-linking in soy food texture [thesis]. New Zealand: University of Canterbury; 2005.
21. Hegg PO. Conditions for the formation of heat-induced gels of some globular food proteins. *J.Food.Sci.* 1982; 47:1241-1244.
22. Oakenfull D, Pearce J, Burley RW. Protein gelation. Di dalam: Damodaran S, Paraf A, editor. Food proteins and their applications. New York: Marcel Dekker Inc; 1997.