

Optimasi Ekstraksi Isolat Protein Jewawut dengan Metode Ultrasonic Assisted Extraction

Optimizing the Extraction Process of Millet Protein Isolate using Ultrasonic Assisted Extraction

Syahmidarni Al Islamiyah*, Margaretha H. Tiffany

Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian dan Kehutanan, Universitas Sulawesi Barat,
Jl. Prof. Dr. Baharuddin Lopa, S.H, Talumung, Kabupaten Majene, Sulawesi Barat, Indonesia

*Penulis korespondensi: Syahmidarni Al Islamiyah, e-mail: syahmidarni.alislamiyah@unsulbar.ac.id

ABSTRACT

The demand for protein from plant sources is increasing in line with the clean label trend. Emulsifiers often originate from synthetic or animal sources, which are less suitable for this trend; hence, plant-based emulsifiers have emerged as a promising solution. The aim of this research was to optimize the extraction of millet protein isolate, characterize the physicochemical properties of the produced isolate, and compare it with other emulsifiers. The extraction method employed Ultrasonic-Assisted Extraction and utilized a Response Surface Methodology optimization design based on a central composite design model. The research variables consisted of the solvent-to-sample weight ratio and extraction time, with the emulsion activity index (EAI) and emulsion stability index (ESI) as response variables. Other test parameters included oil absorption capacity, water absorption capacity, yield, and crude protein content. The results showed that the emulsion activity index increased as the solvent:sample weight ratio increased, as indicated by a positive regression coefficient. However, it decreased with longer extraction time, as indicated by a negative regression coefficient. Meanwhile, the emulsion stability index will increase with both higher solvent:sample weight ratios and longer extraction times, as indicated by a positive regression coefficient. The optimal extraction condition was obtained at solvent to sample of ratio (1:35) and extraction time of 22,15 minutes, resulting in a yield of 85,25%, EAI of 402,67 m²/g, ESI of 1508,45 minutes, an oil absorption capacity of 1,56 g/g, a water absorption capacity of 1,02 g/g, and a crude protein content 17,35% (dry weight). Compared to the gum arabic, the produced millet protein isolate exhibited better characteristics across all tested parameters.

Keywords: Millet; protein isolate; ultrasonic assisted extraction

ABSTRAK

Permintaan akan protein dari sumber nabati semakin meningkat sejalan dengan tren *clean label*. Emulsifier seringkali berasal dari sumber sintetis atau hewan, yang kurang sesuai dengan tren *clean label* sehingga emulsifier nabati sebagai solusi. Tujuan penelitian mengoptimalkan ekstraksi isolat protein jewawut, karakterisasi fisikokimia, dan membandingkannya dengan emulsifier lainnya. Metode ekstraksi isolate menggunakan *Ultrasonic Assisted Extraction* dengan model rancangan optimasi *Response Surface Methodology* model *Central Composite Design*. Variabel penelitian terdiri dari rasio pelarut:berat sampel dan waktu ekstraksi. Indeks aktivitas emulsi dan indeks stabilitas emulsi sebagai respon. Parameter uji lainnya terdiri dari daya serap minyak, daya serap air, rendemen, dan kadar protein kasar. Hasil penelitian menunjukkan nilai respon indeks aktivitas emulsi akan mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya rasio pelarut:berat sampel yang ditandai oleh koefisien regresi bernilai positif. Namun, akan mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya waktu ekstraksi yang ditandai oleh koefisien regresi bernilai negative. Sedangkan nilai respon indeks stabilitas emulsi akan mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya rasio

pelarut:berat sampel dan waktu ekstraksi yang ditandai oleh koefisien regresi bernilai positif. Kondisi ekstraksi yang optimal adalah rasio sampel:volume pelarut (1:35) dengan waktu ekstraksi selama 22,15 menit menghasilkan rendemen sebesar 85,25%, EAI sebesar 402,67 m²/g, ESI 1508,45 menit, daya serap minyak 1,56 g/g, daya serap air sebesar 1,02 g/g dan kadar protein kasar sebesar 17,35 % (bk). Jika dibandingkan dengan pengemulsi gum arab, isolat protein jewawut yang dihasilkan memiliki karakteristik yang lebih baik berdasarkan semua parameter yang diujikan.

Kata kunci: Isolat protein; jewawut; *Ultrasonic Assisted Extraction*

PENDAHULUAN

Produk *clean label* menurut Roobab *et al.* (2021) adalah produk yang diproses dengan menghilangkan penggunaan bahan sintetis dan menggantinya dengan bahan alami (ramah lingkungan) yang memberikan fungsi tertentu. Menurut konsumen, produk *clean label* lebih sehat dan lebih sedikit menimbulkan resiko bagi kesehatan (Asioli *et al.*, 2017). Produk emulsi pangan seperti mayones, saus salad, dan minuman, seringkali menggunakan pengemulsi dari sumber sintetis atau hewan, yang kurang sesuai dengan tren *clean label* (McClements, 2004). Berdasarkan hasil dari beberapa penelitian bahwa *emulsifier* sintetis menjadi salah satu bahan tambahan pangan penyebab penyakit seperti peradangan usus, obesitas yang berkaitan dengan sindrom metabolis dan resistensi glukosa (Aponso *et al.*, 2017; Chassang *et al.*, 2017; Cox *et al.*, 2021; Csáki & Sebestyén, 2019; Halmos *et al.*, 2019; Laster *et al.*, 2019; Partridge *et al.*, 2019). Pergeseran konsumsi pangan berbasis nabati dianggap lebih sehat, ramah lingkungan, dan rendah resiko terhadap kesehatan dibandingkan pangan berbasis hewani.

Jewawut (*Setaria italica*) adalah salah satu sereal penting di Asia Tenggara, namun masih kurang dimanfaatkan (Hutabarat & Bowie, 2022), memiliki potensi besar sebagai sumber protein nabati. Protein utama jewawut ada empat yaitu albumin, globulin, prolamin, dan glutelin. Prolamin adalah salah satu fraksi utama protein dalam millet lebih dari 50 % komponen total protein (Ji *et al.*, 2019) atau 60-65 % (Zhang *et al.*, 2024). Protein memiliki sifat amfifilik, yaitu memiliki bagian hidrofilik (suka air) dan hidrofobik (suka lemak) (Zhang *et al.*, 2024) yang mana sifat ini memungkinkan protein dapat berinteraksi dengan fase minyak dan air dalam sistem emulsi, sehingga berpotensi sebagai *emulsifier*. Umumnya, cara yang digunakan untuk membentuk dan menjaga emulsi tetap stabil adalah dengan menambahkan surfaktan. Penggunaan surfaktan sebagai penstabil emulsi, terutama surfaktan sintetis ini menimbulkan berbagai macam kekhawatiran akibat biodegradabilitasnya

rendah serta efek samping yang dapat ditimbulkan terhadap tubuh dalam jangka panjang (Choi *et al.*, 2020). Oleh karena itu, pemanfaatan protein jewawut sebagai *emulsifier* nabati menjadi solusi dengan mengoptimalkan sifat fungsional protein jewawut sebagai ingredient produk pangan mendukung keberlanjutan dan mengurangi ketergantungan pada bahan impor sejalan dengan visi misi dalam ASTA CITA 2 dan 5.

Beberapa penelitian telah mengeksplorasi kandungan gizi serta potensi fungsional dari jewawut. Zhang *et al.* (2021) melaporkan bahwa jewawut memiliki kadar protein yang setara dengan sereal utama dan mengandung asam amino esensial dalam proporsi yang seimbang. Penelitian yang dilakukan oleh Kumari *et al.* (2020) menunjukkan bahwa jewawut dapat dijadikan bahan pangan fungsional berkat indeks glikemik yang rendah serta kandungan serat yang tinggi. Selain itu, kemungkinan pemanfaatan protein dari jewawut sebagai bahan aditif makanan, meskipun saat ini masih dalam bentuk tepung kasar dan belum menjadi isolat. Walaupun memiliki potensi yang signifikan, penelitian yang mengkaji proses pengambilan serta pengoptimalan isolat protein dari jewawut masih sangat sedikit, baik di laboratorium maupun di tingkat industri. Padahal, untuk memperoleh isolat protein yang berkualitas tinggi, dibutuhkan pendekatan pengoptimalan proses yang memperhatikan interaksi antara parameter penting seperti pH, suhu, rasio pelarut terhadap bahan, dan durasi ekstraksi.

Metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) berperan sebagai teknologi alternatif yang potensial untuk ekstraksi protein dari matriks tanaman. Hal ini dikarenakan pengoperasian teknologi ultrasonik yang cepat dan mudah, mampu mempertahankan senyawa yang labil secara termal, serta mengoptimalkan penggunaan pelarut. Mekanisme kerja UAE menggunakan prinsip kavitasasi akustik yang dapat menyebabkan penghancuran dinding sel tanaman dan meningkatkan perpindahan massa zat terlarut ke dalam pelarut. Selain itu, efek ultrasonik juga berpotensi menyebabkan perubahan struktur

internal pada matriks tanaman (Islam *et al.*, 2023). Penerapan gelombang ultrasonik berintensitas tinggi yakni 20 KHz pada protein dapat mempengaruhi sifat fisikokimia dan fungsionalitas protein (Hegde *et al.*, 2025; Shen *et al.*, 2023; Yao *et al.*, 2023). Adapun pemilihan berbagai parameter seperti waktu ekstraksi dan rasio sampel-pelarut bergantung pada komponen target yang akan diekstraksi (Sengar *et al.*, 2022).

Berdasarkan latar belakang, rumusan masalah dari penelitian ini adalah bagaimana kondisi ekstraksi yang optimal untuk menghasilkan isolat protein jewawut dengan metode *UAE*, bagaimana karakteristik isolat protein jewawut yang dihasilkan, dan bagaimana perbandingan sifat fisikokimia dengan *emulsifier* lainnya. Adapun tujuan penelitian ini untuk mengoptimalkan kondisi ekstraksi isolat protein jewawut, karakterisasi fisikokimia, dan membandingkannya dengan *emulsifier* lainnya.

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) dengan rancangan *Central Composite Design* (CCD). Terdapat dua variabel independen, yaitu: rasio pelarut:sampel (A) dan waktu ekstraksi (B). Setiap variabel independen diuji pada lima level yang berbeda, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1.
Level variabel independen

Variabel independen	Simbol	Level				
		$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
Rasio pelarut:berat sampel (ml/g)	A	22,93	25	30	35	37,07
Waktu ekstraksi (menit)	B	17,93	20	25	30	32,07

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah jewawut yang diperoleh dari Kabupaten Majene.

Prosedur Penelitian

Preparasi Isolat Protein Jewawut

Proses isolasi protein dilakukan dengan modifikasi metode Constantino & Garcia (2020). Tepung jewawut direndam dalam etanol 96 % (One Healty; Indonesia) dengan ratio 1:5 b/v selama 24 jam dan dikeringkan pada suhu 70 °C selama $\pm$ 3 jam. Selanjutnya, tepung jewawut disuspensikan dalam air deionisasi (One Med; Indonesia) dan pH-nya diatur menjadi 9 menggunakan NaOH 1 M (Merck, Germany) dicampur dan diaduk selama 30 menit. Suspensi disentrifugasi dengan sentrifus (Centrifuge Biobase; China) pada kecepatan 6000 rpm selama 20 menit pada suhu 4 °C. Supernatan diatur pH menjadi 5 dengan HCl 1 M (Merck, Germany) dan disentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm pada suhu 4 °C selama 10 menit. Endapan disuspensikan dalam air deionisasi dan dinetralkan dengan NaOH 1 M, lalu dikeringkan pada suhu 85 °C selama $\pm$ 2 jam.

Ekstraksi Ultrasonic Isolat Protein Jewawut

Proses isolasi protein dilakukan dengan modifikasi metode Constantino & Garcia (2020). Isolat protein jewawut kering didispersikan ke dalam pelarut air deionisasi (sesuai perlakuan Tabel 1 dan Tabel 2) lalu diberikan perlakuan *ultrasonic* dengan *ultra sonicator* (*Soni Clean*) pada penggunaan daya 100 W. Isolat protein dikeringkan pada suhu 85 °C selama $\pm$ 2 jam.

Optimasi Kondisi Ekstraksi Isolat Protein Jewawut

Optimasi ekstraksi isolat protein jewawut menggunakan rancangan RSM model CCD dengan faktor berat sampel:volume pelarut (A) dan waktu ekstraksi (B) yang telah ditetapkan titik tengah, minimum, dan maksimum. Formula desain kondisi ekstraksi isolat protein jewawut setelah diinput ke dalam aplikasi *Design Expert* versi 12 terdiri dari 13 *running* (Tabel 2).

Parameter Penelitian

Sifat Emulsifikasi

Pengujian Indeks Aktivitas Emulsi (IAE) dan Indeks Stabilitas Emulsi (ISE) mengacu pada metode yang dilakukan oleh Constantino & Garcia (2020), dengan beberapa modifikasi. Larutan sampel sebanyak 10 mg/mL ditambahkan dengan 3,3 mL minyak kacang dihomogenisasi menggunakan ultraturax (T25D, IKA; Germany) dengan kecepatan 9500 rpm selama $\pm$ 3 menit.

Emulsi yang terbentuk diambil menggunakan mikropipet sebanyak 0,05 mL pada menit ke-0 dan menit ke-10 dan dicampur dengan 4,95 mL SDS 0,1%. Campuran tersebut dihomogenkan dengan menggunakan vorteks selama 5 detik. Kemudian diukur dengan spektrofotometer UV-1280 (Shimadzu) pada panjang gelombang 500 nm. Indeks aktivitas emulsi dan indeks stabilitas emulsi dihitung menggunakan Persamaan (1) dan Persamaan (2).

$$EAI (m^2/g) = (4.604 \times DF \times A0) / (C \times \theta \times \varphi \times 10000) \quad \dots (1)$$

$$ESI (min) = (A0 \times 10) / (A0 - A10) \quad \dots (2)$$

Keterangan: A0 = Absorbansi pada menit ke-0; A10 = Absorbansi pada menit ke-10; DF = Faktor pengenceran (100); C = Konsentrasi protein pada fase air (0,1g/mL); θ = Panjang kuvet (0,01 m); φ = Volume fraksi minyak (0,25)

Tabel 2.

Formula desain kondisi ekstraksi

Run	Rasio pelarut:berat sampel (ml/g)	Waktu ekstraksi (menit)
1	37,07	20
2	30	25
3	30	32,07
4	30	17,93
5	25	30
6	35	30
7	30	25
8	30	25
9	22,93	25
10	25	20
11	30	25
12	30	25
13	35	20

Daya Serap Minyak (DSM)

Penentuan daya serap minyak merujuk pada metode penelitian Ozgolet *et al.* (2024), dengan modifikasi. Lima puluh mg sampel/mL minyak kacang divortex selama 1 menit, lalu dibiarkan selama 30 menit sebelum disentrifugasi kecepatan 3500 rpm selama 30 menit. Supernatan dikeluarkan dan berat sampel basah yang tersisa ditimbang. Daya serap minyak dihitung dengan menggunakan Persamaan (3).

$$DSM = W2 - W1/W0 \quad \dots (3)$$

Keterangan: DSM = Oil absorption capacity (g/g); W2 = Berat sampel basah + berat tube (g); W1 = Berat sampel kering + berat tube (g); W0 = Berat sampel

kering (g)

Daya Serap Air (DSA)

Uji daya serap air merujuk pada metode penelitian Lim *et al.* (2015) dengan modifikasi. Tiga puluh mg sampel/mL air dicampur dengan vorteks selama 1 menit, lalu disentrifugasi selama 30 menit pada kecepatan 3500 rpm. Penghitungan daya serap air sama dengan daya serap minyak.

Rendemen

Menghitung nilai rendemen ekstraksi isolat protein jecawut merujuk pada Persamaan (4).

$$\%Rendemen = \frac{\text{bobot isolat protein kering (g)}}{\text{bobot jecawut (g)}} \quad \dots (4)$$

Kadar Protein Kasar (AOAC, 2005)

Kandungan protein dianalisis dengan mengukur kandungan total nitrogen menggunakan metode Kjeldhal (AOAC, 2005).

Analisis Data

Data penelitian dianalisis dengan ANOVA menggunakan software Design Expert versi 12.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi isolat protein jecawut menggunakan metode radiasi gelombang ultrasonik. Metode ini membantu pelepasan isolat protein dari dinding sel tanaman jecawut akibat adanya efek kavitasi inersia/transien. Prinsip dari ekstraksi ultrasonik adalah memanfaatkan gelombang akustik dengan frekuensi lebih besar 16-20 kHz dalam meningkatkan transfer massa. Saat gelombang akustik merambat ke dalam cairan yang berisi bahan yang akan diekstrak, getaran ultrasonik berkecepatan tinggi akan menggetarkan medium yang dilewatinya sehingga menyebabkan terjadinya perpindahan massa terhadap pelarut dan sampel. Proses getaran tersebut akan menghasilkan gelembung kavitasi pada dinding sel tanaman, saat gelembung pecah akan memperbesar pori-pori dinding sel dan akhirnya pecah sehingga komponen dalam sel akan keluar bercampur dengan larutan.

Kavitasi inersia merupakan fenomena pembentukan, pertumbuhan, dan pemecahan gelembung mikro (*microbubble*) yang menghasilkan energi akustik bertekanan tinggi untuk memfasilitasi kerusakan pada dinding sel tanaman dan meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam

dinding sel tersebut, sehingga terjadi peningkatan transfer massa antara zat terlarut dan pelarut (Sengar *et al.*, 2022). Isolat protein sebagai zat terlarut mengandung protein yang bersifat ampifilik. Protein dapat berkontribusi signifikan dalam pencampuran dua fasa yang tidak saling bercampur (minyak dan air) untuk membentuk emulsi homogen.

Optimasi Proses Ekstraksi Isolat Protein Jewawut

Formula desain kondisi ekstraksi isolat protein jewawut sesuai model RSM pada Tabel 2 telah dilakukan dan menghasilkan data hasil uji EAI dan ESI sebagaimana pada Tabel 3.

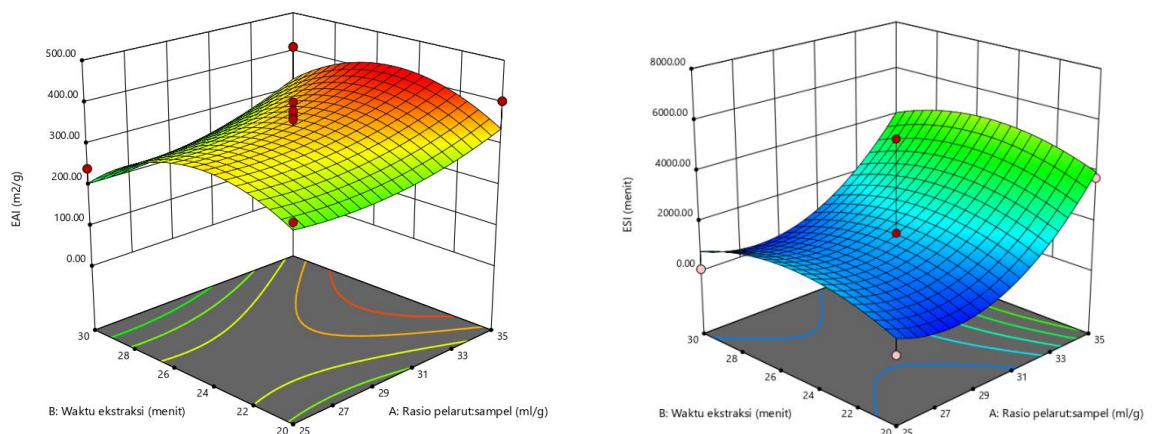
Berdasarkan Tabel 3 terlihat bahwa indeks aktivitas emulsi tertinggi sebesar 410,86 m²/g

didapat pada perlakuan 6 dan terendah pada perlakuan 3 sebesar 69,06 m²/g. Sedangkan indeks stabilitas emulsi tertinggi sebesar 7612,50 menit didapat pada perlakuan 1 dan terendah pada perlakuan 2 sebesar 17,05 menit. Data ini menunjukkan bahwa untuk memperoleh EAI yang tinggi proses ekstraksi dilakukan pada kondisi rasio volume pelarut:berat pelarut 35 ml/g sampel dengan durasi ekstraksi 30 menit, dan ESI yang tinggi pada kondisi 37,07 ml/g sampel selama 20 menit. Sebagaimana yang terlihat pada Gambar 1, grafik interaksi antara faktor dengan respon menunjukkan EAI dan ESI tertinggi pada rasio volume pelarut terbesar (35 dan 37,07) dengan durasi ekstraksi 30 menit dan 20 menit. Nilai EAI dan ESI mengalami perubahan seiring dengan perubahan volume pelarut dan durasi ekstraksi.

Tabel 3.

Indeks aktivitas emulsi (EAI) dan Indeks stabilitas emulsi (ESI) isolat protein jewawut hasil optimasi

Perlakuan	Rasio pelarut:berat sampel (ml/g)	Waktu ekstraksi (menit)	EAI (m ² /g)	ESI (menit)
1	37,07	20	390,05	7612,50
2	30	25	215,65	17,05
3	30	32,07	69,06	343,97
4	30	17,93	152,30	28,21
5	25	30	241,99	48,85
6	35	30	410,86	3752,45
7	30	25	402,02	447,30
8	30	25	369,98	79,43
9	22,93	25	328,08	3447,76
10	25	20	289,13	19,77
11	30	25	381,21	1534,82
12	30	25	360,40	5300,20
13	35	20	404,05	3757,14



Gambar 1. Indeks aktivitas emulsi (EAI) dan Indeks stabilitas emulsi (ESI) isolat protein jewawut pada berbagai kondisi ekstraksi

Tabel 4.

Hasil Anova respon indeks aktivitas emulsi isolat protein jewawut

Respon	Source	Sum of Square	Df	Mean Square	F-value	p-value	
Indeks	Model	93926,94	5	18785,39	2,72	0,1124	Not significant
aktivitas emulsi (EAI)	A-Rasio sampel:pelarut	17244,92	1	17244,92	2,50	0,1582	
	B-Waktu ekstraksi	3122,44	1	3122,44	0,4519	0,5230	
	AB	727,65	1	727,65	0,1053	0,7550	
	A ²	7130,27	1	7130,27	1,03	0,3435	
	B ²	59107,10	1	59107,10	8,55	0,0222	
	Residual	48368,79	7	6909,83			
	Lack of Fit	26217,39	3	8739,13	1,58	0,3268	Not significant
	Pure Error	22151,40	4	5537,85			
	Cor Total	1,423E+0	12				

Analisis Indeks Aktivitas Emulsi

Hasil ANOVA model linear kuadratik pada Tabel 4 menunjukkan pengaruh kondisi ekstraksi terhadap EAI. Penentuan ketepatan model didasarkan pada nilai signifikansi model dan ketidaktepatan model (*Lack of Fit*), dimana model yang tepat memprediksi nilai optimum yakni pada respon dengan nilai signifikansi model (nilai $p < 0,05$) dan nilai *Lack of Fit* yang tidak signifikan ($p > 0,05$) (Santi *et al.*, 2023). Berdasarkan hasil ANOVA model kuadratik menunjukkan bahwa variabel A dan variabel B tidak berpengaruh signifikan terhadap respon EAI ditunjukkan dengan nilai *P-value* $0,1124 > \alpha 0,05$. Menurut Hendrawan & Dewi (2018), faktor yang tidak berpengaruh signifikan diakibatkan oleh proses pengukuran antara respon dan variabel yang tidak presisi. Nilai *P-value Lack of Fit* juga lebih besar dari α ($0,3268 > 0,05$) sehingga menunjukkan bahwa *lack of fit* tidak signifikan.

Pemilihan model terbaik pada respon indeks aktivitas emulsi didasarkan oleh analisa jumlah kuadrat dari urutan model (*Sequential Model Sum of Squares*), ringkasan model statistik (*Model Summary Statistics*), dan pengujian ketidaktepatan (*Lack of Fit Tests*). Berdasarkan ketiga metode pemilihan model, maka model kuadratik yang tepat dipilih (*suggested*) untuk menjelaskan hubungan

antara faktor rasio pelarut:sampel dan waktu ekstraksi terhadap respon indeks aktivitas emulsi melalui persamaan regresi polinomial kuadratik (Persamaan 5).

Berdasarkan Persamaan (5) dapat disimpulkan bahwa nilai respon indeks aktivitas emulsi akan mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya rasio pelarut:sampel yang ditandai oleh koefisien regresi bernilai positif. Namun, nilai respon indeks aktivitas emulsi akan mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya waktu ekstraksi yang ditandai oleh koefisien regresi bernilai negatif. Hal ini sejalan dengan grafik pada Gambar 1 yang mengindikasikan bahwa perolehan indeks aktivitas emulsi meningkat seiring dengan peningkatan rasio:pelarut dan penurunan waktu ekstraksi hingga mencapai kondisi optimum. Setelah kondisi optimum tercapai akan terjadi penurunan indeks aktivitas emulsi yang dihasilkan seiring dengan peningkatan rasio pelarut:sampel dan waktu ekstraksi.

Semakin tinggi rasio pelarut:sampel, maka semakin tinggi pula perbedaan konsentrasi massa isolat protein di dalam dan di luar matriks selama ekstraksi yang akan menyebabkan peningkatan gaya dorong (*driving force*) untuk transfer massa isolat protein dalam larutan ekstraksi. Isolat protein berpindah dari dalam matriks (jewawut) ke pelarut

$$Y_1 = 345,85 + 46,43A - 19,76B + 13,49AB + 32,02A^2 - 92,18B^2 \quad \dots (5)$$

Keterangan: Y_1 = Indeks aktivitas emulsi (m^2/g); A = Faktor rasio pelarut:sampel (mL/g); B = Faktor waktu ekstraksi (menit)

(luar matriks) hingga tercapai kesetimbangan konsentrasi massa isolat protein tersebut. Metode ekstraksi menggunakan radiasi gelombang ultrasonik dapat membantu pelepasan isolat protein dari dinding sel tanaman jewawut akibat adanya efek kavitasi inersia/transien. Kavitasi inersia merupakan fenomena pembentukan, pertumbuhan, dan pemecahan gelembung mikro (*microbubble*) yang menghasilkan energi akustik bertekanan tinggi untuk memfasilitasi kerusakan pada dinding sel tanaman dan meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam dinding sel tersebut, sehingga terjadi peningkatan transfer massa antara zat terlarut dan pelarut (Sengar *et al.*, 2022). Isolat protein sebagai zat terlarut mengandung protein yang bersifat amfifilik. Protein dapat berkontribusi signifikan dalam pencampuran dua fasa yang tidak saling bercampur (minyak dan air) untuk membentuk emulsi homogen. Akan tetapi, semakin tinggi rasio pelarut:sampel menyebabkan penurunan densitas energi ultrasonik per satuan volume dalam larutan ekstraksi (Liu *et al.*, 2019). Densitas energi ultrasonik mengacu pada intensitas energi akustik yang dibawa oleh gelombang ultrasonik untuk menimbulkan efek kavitasi. Rasio pelarut terhadap padatan yang terlalu tinggi akan mempengaruhi peningkatan waktu ekstraksi yang dikarenakan meningkatnya jarak tempuh pelarut. Hal tersebut berdampak pada penurunan intensitas gelombang ultrasonik yang hanya akan mendorong partikel-partikel pelarut bergerak menjauh tanpa adanya energi akustik yang cukup untuk memecah gelembung mikro pada tahap akhir kavitasi stabil (Zhang *et al.*, 2018).

Indeks aktivitas emulsi adalah ukuran luas antarmuka air dan minyak yang distabilkan per satuan berat protein. Oleh karena itu, indeks aktivitas emulsi merepresentasikan kemampuan protein untuk teradsorpsi pada antarmuka air dan minyak. Indeks aktivitas emulsi bergantung pada sifat struktural protein, yakni: ukuran partikel dan hidrofobisitas permukaan protein. Kavitasi inersia yang dihasilkan dari penggunaan ultrasonik selama ekstraksi isolat protein mampu mengurangi distribusi ukuran partikel sehingga memungkinkan protein teradsorpsi secara efisien pada antarmuka air dan minyak. Semakin kecil ukuran protein maka akan menghasilkan aktivitas emulsifikasi yang lebih baik. Selain itu, kavitasi inersia juga dapat menyebabkan struktur protein terurai atau terdenaturasi yang akan meningkatkan hidrofobisitas permukaannya. Peningkatan hidrofobisitas permukaan dapat meningkatkan interaksi hidrofobik antarmolekul protein pada lapisan antarmuka air dan minyak yang berdampak terhadap

peningkatan aktivitas emulsifikasi. Hal tersebut dikarenakan protein yang hidrofobik akan lebih mudah teradsorpsi pada antarmuka air dan minyak (Yan *et al.*, 2021).

Waktu ekstraksi yang semakin meningkat akan memperpanjang efek kavitasi inersia untuk memecah ikatan hidrogen dan hidrofobik sehingga menurunkan berat molekul protein. Penurunan berat molekul menyebabkan pengurangan ukuran partikel isolat protein yang akan meningkatkan interaksi protein pada antarmuka air dan minyak. Namun, penggunaan waktu ekstraksi yang diperpanjang akan menginduksi pembentukan agregat protein sehingga mengakibatkan protein hidrofobik terkubur. Hal ini akan mengurangi efektivitas adsorpsi protein hidrofobik pada antarmuka minyak dan air (Ampofo & Michael, 2022).

Analisis Indeks Stabilitas Emulsi

Hasil ANOVA model linear kuadratik pada Tabel 5 menunjukkan pengaruh kondisi ekstraksi terhadap ESI. Berdasarkan data analisis ANOVA model kuadratik menunjukkan bahwa variabel A dan variabel B tidak berpengaruh signifikan terhadap respon ESI ditunjukkan dengan nilai P-value $0,0708 > \alpha 0,05$. Nilai P-value *Lack of Fit* juga lebih besar dari α ($0,9264 > 0,05$) sehingga menunjukkan *lack of fit* tidak signifikan.

Pemilihan model terbaik pada respon indeks aktivitas emulsi didasarkan oleh analisa jumlah kuadrat dari urutan model (*Sequential Model Sum of Squares*), ringkasan model statistik (*Model Summary Statistics*), dan pengujian ketidaktepatan (*Lack of Fit Tests*). Berdasarkan ketiga metode pemilihan model, maka model kuadratik yang tepat dipilih (*suggested*) untuk menjelaskan hubungan antara faktor rasio pelarut:sampel dan waktu ekstraksi terhadap respon indeks stabilitas emulsi melalui persamaan regresi polinomial kuadratik Persamaan (6).

Berdasarkan Persamaan (6) dapat disimpulkan bahwa nilai respon indeks stabilitas emulsi akan mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya rasio pelarut:sampel dan waktu ekstraksi yang ditandai oleh koefisien regresi bernilai positif. Hal ini sejalan dengan grafik pada Gambar 1 yang mengindikasikan bahwa perolehan indeks stabilitas emulsi meningkat seiring dengan peningkatan rasio pelarut:sampel dan waktu ekstraksi hingga mencapai kondisi optimum. Setelah kondisi optimum tercapai akan terjadi penurunan indeks stabilitas emulsi yang dihasilkan seiring dengan

peningkatan rasio pelarut:sampel dan waktu ekstraksi.

Peningkatan rasio pelarut:sampel menyebabkan meningkatnya gaya dorong (*driving force*) untuk transfer massa isolat protein dalam larutan ekstraksi. Akan tetapi, penggunaan rasio pelarut:sampel yang terlalu tinggi berdampak terhadap peningkatan jarak tempuh pelarut sehingga menimbulkan efek kavitasi stabil. Kavitasi stabil tercapai ketika adanya penurunan intensitas gelombang ultrasonik yang hanya akan mendorong partikel-partikel pelarut bergerak menjauh tanpa adanya energi akustik yang cukup untuk memecah gelembung mikro. Adapun, peningkatan waktu ekstraksi akan meningkatkan perolehan protein. Hal tersebut disebabkan oleh adanya efek kavitasi inersia yang menghasilkan energi akustik bertekanan tinggi untuk memfasilitasi kerusakan pada dinding sel tanaman dan meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam dinding sel tersebut, sehingga terjadi pelepasan protein ke pelarut. Namun, penggunaan waktu ekstraksi yang terlalu lama juga dapat mengakibatkan degradasi protein (Liu *et al.*, 2019).

Indeks stabilitas emulsi menunjukkan kemampuan protein untuk mempertahankan stabilitas emulsi selama periode waktu tertentu. Peningkatan indeks stabilitas emulsi tercapai

karena adanya orientasi protein pada antarmuka air dan minyak. Efek kavitasi inersia mengakibatkan pengurangan distribusi ukuran partikel protein serta denaturasi struktur protein yang akan meningkatkan hidrofobisitas permukaannya. Peningkatan hidrofobisitas permukaan mampu meningkatkan interaksi hidrofobik antarmolekul protein pada lapisan antarmuka air dan minyak yang berdampak terhadap peningkatan stabilitas emulsi. Adapun penurunan stabilitas emulsi tercapai karena adanya agregasi protein yang mengakibatkan protein hidrofobik terkubur. Hal ini akan mengurangi efektivitas adsorpsi dan protein hidrofobik pada antarmuka minyak dan air untuk menstabilkan emulsi (Constantino *et al.*, 2020).

Karakteristik isolat protein jewawut terbaik perlakuan terbaik (optimasi terbaik)

Berdasarkan nilai rata-rata EAI dan ESI tertinggi, maka kondisi optimasi terbaik diperoleh berdasarkan hasil model RSM yaitu rasio sampel dan pelarut (1:35 b/v) dengan waktu ekstraksi 22,15 menit. Hasil optimasi ini kemudian dikarakterisasi profil EAI, ESI, daya serap minyak (DSM), daya serap air (DSA), rendemen, dan kadar protein kasar.

Tabel 5.

Hasil Anova respon indeks aktivitas emulsi isolat protein jewawut

Respon	Source	Sum of Square	Df	Mean Square	F-value	p-value	
Indeks stabilitas emulsi (ESI)	Model	5,330E+07	5	1,066E+07	3,40	0,0708	Not significant
	A-Rasio sampel:pelarut	2,221E+07	1	2,221E+07	7,09	0,0324	
	B-Waktu ekstraksi	27723,30	1	27723,30	0,0088	0,9277	
	AB	285,10	1	285,10	0,0001	0,9927	
	A ²	2,220E+07	1	2,220E+07	7,08	0,0324	
	B ²	5,457E+06	1	5,457E+06	1,74	0,2286	
	Residual	2,195E+07	7	3,135E+06			
	Lack of Fit	2,180E+06	3	7,266E+05	0,1471	0,9264	Not significant
	Pure Error	1,977E+07	4	4,941E+06			
	Cor Total	7,524E+07	12				

$$Y_2 = 1475,76 + 1666,35A + 58,87B - 8,44AB + 1786,30A^2 - 885,72B^2 \dots\dots\dots(6)$$

Keterangan: Y₂ = Indeks stabilitas emulsi (menit); A = Faktor rasio pelarut:sampel (ml/g); B = Faktor waktu ekstraksi (menit)

Indeks Aktivitas Emulsi dan Indeks Stabilitas Emulsi

Indeks aktivitas emulsi adalah ukuran luas antarmuka air dan minyak yang distabilkan per satuan berat protein. Oleh karena itu, indeks aktivitas emulsi merepresentasikan kemampuan protein untuk teradsorpsi pada antarmuka air dan minyak. Indeks aktivitas emulsi perlakuan terbaik sebesar 402,67 m²/g lebih tinggi dari gum arab sebesar 393,73 m²/g. Nilai ini menunjukkan protein jewawut teradsorpsi lebih baik dibandingkan protein gum arab, yang berarti aktivitas emulsifikasinya lebih baik sehingga dapat diaplikasikan pada produk emulsi. Sifat emulsifikasi sangat dipengaruhi oleh seimbangannya komposisi asam amino hidrofilik dan hidrofobik. Hal ini terlihat dari daya serap minyak dan daya serap airnya (1,56 g/g dan 1,2 g/g), sebagaimana isolat protein biji sorgum merah daya serap minyaknya 151,45% dan daya serap airnya 132,40% (Wulandari *et al.*, 2019). Keberadaan protein hidroflik-lipofilik yang dapat teradsorpsi dengan minyak-air secara interfasial melalui mekanisme lipofilik berikatan pada fase minyak atau hidrofilik yang berikatan dengan fase air. Reaksi antara protein dan lemak membentuk lipoprotein dapat meningkatkan kapasitas emulsi. Selain itu, aktivitas emulsi juga dipengaruhi oleh kelarutan protein (Nurdjannah & Sri, 2006).

Indeks aktivitas emulsi bergantung pada sifat struktural protein, yakni: ukuran partikel dan hidrofobisitas permukaan protein. Kavitas inersia yang dihasilkan dari penggunaan ultrasonik selama ekstraksi isolat protein mampu mengurangi distribusi ukuran partikel sehingga memungkinkan protein teradsorpsi secara efisien pada antarmuka air dan minyak. Semakin kecil ukuran protein maka akan menghasilkan aktivitas emulsifikasi yang lebih baik. Selain itu, kavitas inersia juga dapat menyebabkan struktur protein terurai atau terdenaturasi yang akan meningkatkan hidrofobisitas permukaannya. Peningkatan hidrofobisitas permukaan dapat meningkatkan interaksi hidrofobik antarmolekul protein pada lapisan antarmuka air dan minyak yang berdampak terhadap peningkatan aktivitas emulsifikasi. Hal tersebut dikarenakan protein yang hidrofobik akan lebih mudah teradsorpsi pada antarmuka air dan minyak (Yan *et al.*, 2021).

Indeks stabilitas emulsi menunjukkan kemampuan protein untuk mempertahankan stabilitas emulsi selama periode waktu tertentu. Indeks stabilitas emulsi isolat protein jewawut sebesar 1508,45 menit lebih tinggi dari gum arab sebesar 402,68 menit, yang berarti kemampuan

isolat protein jewawut dalam membentuk dan mempertahankan emulsi yang stabil lebih baik dibandingkan gum arab. Menurut Halim *et al.*, (2023), indeks stabilitas emulsi ini tergolong *very tight emulsion* (ESI > 200 menit), sehingga kinerjanya sebagai *emulsifier* akan lebih baik dalam menciptakan produk emulsi yang lebih stabil dan tahan lama. Peningkatan indeks stabilitas emulsi tercapai karena adanya orientasi protein pada antarmuka air dan minyak. Efek kavitas inersia mengakibatkan pengurangan distribusi ukuran partikel protein serta denaturasi struktur protein yang akan meningkatkan hidrofobisitas permukaannya. Peningkatan hidrofobisitas permukaan mampu meningkatkan interaksi hidrofobik antarmolekul protein pada lapisan antarmuka air dan minyak yang berdampak terhadap peningkatan stabilitas emulsi. Adapun penurunan stabilitas emulsi terjadi karena adanya agregasi protein yang mengakibatkan protein hidrofobik terkubur. Hal ini akan mengurangi efektivitas adsorpsi dan protein hidrofobik pada antarmuka minyak dan air untuk menstabilkan emulsi (Constantino & Garcia, 2020).

Daya serap minyak (DSM)

Daya serap minyak menunjukkan kemampuan struktur menangkap dan mengikat sejumlah minyak cair setelah mendapatkan gaya secara eksternal. Semakin rapat struktur jaringan maka semakin tinggi nilai daya serap minyaknya karena semakin kecil pori-pori jalur keluarnya minyak (Barroso *et al.*, 2022). Kondisi ekstraksi optimal isolat protein jewawut menghasilkan daya serap minyak sebesar 1,56 g/g tidak berbeda jauh dengan daya serap minyak gum arab sebesar 1,05 g/g. Daya serap lemak yang tinggi menunjukkan bahwa isolat protein jewawut dapat dimanfaatkan sebagai *emulsifier* dalam mengikat dan menahan minyak yang diperlukan dalam menjaga kestabilan emulsi pada produk emulsi. Daya serap minyak dipengaruhi oleh keberadaan molekul-molekul yang bersifat non-polar seperti lemak dan struktur protein bersifat lipofilik yang berperan dalam meningkatkan daya serap pengemulsi (Lim *et al.*, 2015; Youlanda, 2016) termasuk keragaman dan jumlah konstituen non-protein seperti polisakarida, polifenol, dan mineral (Hadidi *et al.*, 2023). Mekanisme pengikatan minyak melibatkan asosiasi fisik antara minyak dengan komponen protein dan afinitas rantai protein non-polar untuk mengikat lipid (Domínguez *et al.*, 2023). Kemampuan dari isolat protein jewawut ini dapat dimanfaatkan sebagai *emulsifier* dalam mengikat

dan menahan lemak dalam membentuk dan mempertahankan emulsi tetap stabil.

Tren daya serap minyak pada isolat protein jewawut mirip dengan yang dilaporkan Badjona (2022) daya serap minyak isolate protein kacang fava (1,33 g/g) dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti struktur, ukuran partikel, hidrofobisitas dan permukaan asam amino. Penelitian lain melaporkan OHC 1,2 g/g untuk isolat protein kacang lentil kuning (Tang *et al.*, 2021). Perbedaan yang diamati dalam nilai OHC di antara protein yang diekstraksi dari sumber tanaman yang beragam disebabkan oleh perbedaan mendasar dalam penyusunan kimia permukaan (antarmuka antara dua fase) dan konformasi spasial dari protein ini. Variabilitas yang melekat ini memberikan sifat fungsional yang berbeda pada protein nabati, yang sangat penting untuk mengembangkan produk emulsi.

Daya serap air (DSA)

Daya serap air adalah kemampuan untuk mengikat dan menahan air dalam matriks protein. Daya serap isolat protein jewawut pada kondisi ekstraksi optimal sebesar 1,02 g/g lebih tinggi dari daya serap air gum arab sebesar 0,88 g/g. Temuan ini mirip dengan daya serap air pada kacang rumput sebesar 1,2 g/g (Feyzi *et al.*, 2018), daya serap lentil kuning 1,2 g/g (Tang *et al.*, 2021). Perbedaan nilai WHC dan OHC di antara protein yang diekstraksi dari sumber tanaman yang beragam disebabkan oleh perbedaan mendasar dalam penyusunan kimia permukaan (antarmuka antara dua fase) dan konformasi spasial dari protein ini. Variabilitas yang melekat ini memberikan sifat fungsional yang berbeda pada protein nabati, yang sangat penting untuk mengembangkan produk emulsi. Daya serap air dipengaruhi oleh keberadaan asam amino polar yang bersifat hidrofilik (mengikat air), sebagaimana yang dikemukakan oleh Youlanda (2016), bahwa sifat daya serap air isolat protein tergantung pada komposisi asam amino ionik, tingginya komponen asam amino hidrofilik dan hidroksiprolin dan juga jumlah gugus polarnya seperti gugus karbonil, karnonil, amina, sulfidril, dan hidroksil (Zaharuddin *et al.*, 2014; Lim *et al.*, 2015) yang mendorong interaksi dengan air (Ghasemi *et al.*, 2025). Jewawut mengandung asam amino polar seperti lisin, serin, asam aspartate, asam glutamate, tryptophan, sejalan yang dikemukakan oleh Abedin *et al.* (2022), bahwa tingginya polisakarida dan protein hidrofilik, terutama residu asam amino polar pada tepung millet sehingga kapasitas penyerapan air juga

tinggi. Tingginya daya serap air pada isolat protein jewawut dapat dimanfaatkan sebagai *emulsifier* alam mengikat dan menahan air yang diperlukan dalam menjaga kestabilan emulsi pada produk emulsi.

Rendemen

Rendemen isolat protein jewawut pada kondisi ekstraksi optimal sebesar 85,25% dari empat gram bahan kering. Nilai rendemen ini lebih tinggi dari nilai rendemen tertinggi isolat protein jewawut hasil ekstraksi (pH 12) tanpa ultrasonik (Pasally, 2022) sebesar 64,06%. Temuan mengungkapkan bahwa ekstraksi protein menggunakan ultrasonik, hasilnya lebih tinggi dibandingkan dengan teknik tradisional (Khan *et al.*, 2024), energi dari *ultrasound* mendorong disintegrasi sel, mempercepat pelarutan bahan dan zat seluler sehingga meningkatkan laju ekstraksi protein (Omura *et al.*, 2021). Selain itu, besarnya volume pelarut dapat mencegah energi yang memadai berdifusi ke area reaksi, sehingga mencegah pecahnya sel dan disintegrasi protein (Xu *et al.*, 2018). Hal ini sejalan dengan temuan pada ekstraksi protein kelor (Khan *et al.*, 2024) bahwa perlakuan *ultrasonic* menghasilkan persentase hasil yang lebih tinggi (28,81%) dibandingkan ekstraksi konvensional (8%).

Kadar protein kasar

Kadar protein kasar pada isolat protein jewawut sebesar 17,35% (bk). Proses ekstraksi protein menghasilkan peningkatan dibandingkan dengan kadar protein biji jewawut rata-rata 9,47% (bk) yang diperoleh pada kondisi ekstraksi optimal dengan ultrasonik. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Wulandari *et al.* (2019) bahwa kadar protein biji sorgum meningkat dari 11,64% menjadi 35,50%. Hal ini terjadi karena pada proses ekstraksi terjadi pelarutan protein secara maksimal akibat penurunan kondisi pH pelarut yang menyebabkan terjadinya proses koagulasi (pengendapan protein). Kadar protein lebih rendah dari kadar protein kasar isolat protein jewawut yang dilaporkan oleh Pasally (2022) tanpa ultrasonik perlakuan terbaik (pH 11) yaitu 20,72, dan mendekati nilai protein kasar pada pH 12 yaitu 17,94%. Hal ini menunjukkan bahwa kadar protein isolat protein jewawut yang optimal bisa diperoleh dengan proses ekstraksi ultrasonik (kondisi pH netral) pada lama ekstraksi 22,15 menit dengan volume pelarut 35 mL dan tanpa ultrasonik (kondisi pH 11). Hasil penelitian ini juga menandakan bahwa metode ekstraksi, kondisi pH pelarut dapat mengoptimalkan hasil ekstraksi kadar

protein isolat yang dihasilkan sebagaimana hasil penelitian oleh Pasally (2022) dan Wulandari *et al.*, (2019).

KESIMPULAN

Berdasarkan persamaan regresi polinomial kuadratik menunjukkan nilai respon indeks aktivitas emulsi akan mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya rasio pelarut:sampel yang ditandai oleh koefisien regresi bernilai positif. Namun, akan mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya waktu ekstraksi yang ditandai oleh koefisien regresi bernilai negatif hingga mencapai kondisi optimum. Setelah kondisi optimum tercapai akan terjadi penurunan indeks aktivitas emulsi yang dihasilkan seiring dengan peningkatan rasio pelarut:sampel dan waktu ekstraksi. Sedangkan nilai respon indeks stabilitas emulsi akan mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya rasio pelarut:sampel dan waktu ekstraksi hingga mencapai kondisi optimum yang ditandai oleh koefisien regresi bernilai positif. Setelah kondisi optimum tercapai akan terjadi penurunan indeks stabilitas emulsi yang dihasilkan seiring dengan peningkatan rasio pelarut:sampel dan waktu ekstraksi. Kondisi ekstraksi optimal yaitu rasio volume pelarut 35 ml/g sampel dengan waktu ekstraksi selama 22,15 menit. Karakteristik isolat protein jewawut pada kondisi ekstraksi optimal yaitu EAI sebesar 402,67 m²/g, ESI 1508,45 menit, daya serap minyak 1,56 g/g, daya serap air sebesar 1,02 g/g, kadar protein kasar sebesar 17,35% (bk), dan rendemen 85,25%. Nilai tersebut lebih tinggi dari gum arab (*emulsifier* komersil). Berdasarkan profil ini, isolat protein jewawut dapat dimanfaatkan sebagai pengemulsi (*emulsifier* nabati). Meskipun demikian masih diperlukan pengembangan lebih lanjut mengeksplor sifat fungsional isolat protein jewawut, pengaruh dari berbagai faktor, dan aplikasinya pada produk pangan untuk melihat kestabilan dan kinerja yang diberikan terhadap mutu produk emulsi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada semua pihak yang mendukung penelitian ini terutama kepada Kementerian Pendidikan Tinggi, Sains, dan Teknologi sebagai pemberi dana melalui Hibah penelitian/Pendanaan BIMA Skema Penelitian Dosen Pemula sesuai Kontrak Nomor 223/UN55.L1/DT.05.00/2025, Universitas

Sulawesi Barat, dan Laboratorium Ilmu dan Teknologi Pangan Universitas Hasanuddin.

DAFTAR PUSTAKA

- Abedin, M. J., Abdullah, A. T. M., Satter, M. A., & Farzana, T. (2022). Physical, functional, nutritional and antioxidant properties of foxtail millet in Bangladesh. *Heliyon*, 8(10).
- Ampofo, J., Michael N. (2022). Ultrasound-assisted processing: science, technology and challenges for the plant-based protein industry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 84, 105955.
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.105955>
- Aponso, M. M. W., De Silva, G. O., & Abeysundara, A. T. (2017). Emulsifiers as food additives: An overview on the impact to obesity and gut diseases. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(3), 485-487.
https://www.researchgate.net/profile/Achala-Abeysundara/publication/317603829_Emulsifiers_as_food_additives_An_overview_on_the_impact_to_obesity_and_gut_diseases/links/5942b867aca2722db499c68d/Emulsifiers-as-food-additives-An-overview-on-the-impact-to-obesity-and-gut-diseases.pdf
- Asioli, D., Aschemann-Witzel, J., Caputo, V., Vecchio, R., Annunziata, A., Næs, T., & Varela, P. (2017). Making sense of the “clean label” trends: A review of consumer food choice behaviour and discussion of industry implications. *Food Research International*, 99(Pt 1), 58-71. PMID:28784520.
<http://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.022>
- Badjona, A., Bradshaw, R., Millman, C., Howarth, M., & Dubey, B. (2024). Optimization of ultrasound-assisted extraction of faba bean protein isolate: Structural, functional, and thermal properties. Part 2/2. *Ultrasonics Sonochemistry*, 110, Article 107030.
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2024.107030>
- Barroso, N. G., Santos, M. A. S., Okuro, P. K., & Cunha, R. L. (2022). Composition and process approaches that underpin the mechanical properties of oleogels. *JAOCs, Journal of the American Oil*

- Chemists' Society, 99(11), 971–984.
<https://doi.org/10.1002/aocs.12635>
- Chassang, B., Van de Wiele, T., De Bodt, J., Marzorati, M., & Gewirtz, A. T. (2017). Dietary emulsifiers directly alter human microbiota composition and gene expression ex vivo potentiating intestinal inflammation *Gut*, 66(8), 1414-1427.
<https://doi.org/10.1136/gutjnl-2016-313099>
- Choi, H.-D., Hong, J. S., Pyo, S. min, Ko, E., Shin, H.-Y., & Kim, J.-Y. (2020). Starch nanoparticles produced via acidic dry heat treatment as a stabilizer for a Pickering emulsion: Influence of the physical properties of particles. *Carbohydrate Polymers*, 239, 116241.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116241>
- Constantino, A. B. T., & Garcia-Rojas, E. E. (2020). Modifications of physicochemical and functional properties of amaranth protein isolate (*Amaranthus cruentus* BRS Alegria) treated with high-intensity ultrasound. *Journal of Cereal Science*, 95, 103076.
<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.103076>
- Cox, S., Sandall, A., Smith, L., Rossi, M., & Whelan, K. (2021). Food additive emulsifiers: a review of their role in foods, legislation and classifications, presence in food supply, dietary exposure, and safety assessment. *Nutrition reviews*, 79(6), 726-741. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuaa038>
- Csáki, K.F., & Sebestyén, É. (2019). Who will carry out the tests that would be necessary for proper safety evaluation of food emulsifiers?. *Food Science and Human Wellness*, 8(2): 126-135.
<https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.04.001>
- Domínguez, R., Bermúdez, R., Pateiro, M., Lucas-González, R., & Lorenzo, J. M. (2023). Optimization and characterization of lupin protein isolate obtained using alkaline solubilization-isoelectric precipitation. *Foods*, 12(20), 3875.
- Feyzi, S., Milani, E., & Golimovahhed, Q. A. (2018). Grass pea (*Lathyrus sativus* L.) protein isolate: The effect of extraction optimization and drying methods on the structure and functional properties. *Food Hydrocolloids*, 74, 187–196.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.07.031>
- Ghasemi, P., Noshad, M., Behbahani, B. A., Nikfarjam, Z., & Vasiee, A. (2025). Black Lentil Protein Isolate: Extraction optimization, Structural, thermal, and physicochemical properties. *LWT*, 118160.
- Hadidi, M., Aghababaei, F., & McClements, D. J. (2023). Enhanced alkaline extraction techniques for isolating and modifying plant-based proteins. *Food Hydrocolloids*, 145.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109132>
- Halim, N. H., Panuganti, S. R., Misra, S., & Ibrahim, J. M. (2023). Emulsion stability prediction tool. *Egyptian Journal of Petroleum*, 32(2), 19-25.
- Halmos, E.P., Mack, A., & Gibson, P. R. (2019). Emulsifiers in the food supply and implications for gastrointestinal disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 49(1), 41-50.
<https://doi.org/10.1111/apt.15045>
- Hegde, K. R., Bhavana M. R., Buvaeswaran M., Sinija V. R., Rawson A., & Hema V. (2025). Exploring Millet Proteins: Extraction Techniques, Post-Processing, and Modification Using Novel Approaches. *Food and Humanity*, 4(6), 100504.
<https://doi.org/10.1016/j.foohum.2025.100504>
- Hendrawan, Y., & Dewi, S. R. (2018). Optimasi Nilai Rendemen Dalam Pembuatan Virgin Coconut Oil (VCO) Menggunakan Pemanasan Suhu Rendah dan Kecepatan Sentrifugasi Dengan Response Surface Methodology (RSM). *Journal of Tropical Agricultural Engineering and Biosystems-Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem*, 6(3), 218-228.
- Hutabarat, D. J. C., & Bowie, V. A. (2022). Bioactive compounds in foxtail millet (*Setaria italica*)-extraction, biochemical activity, and health functional: A Review. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1(998): p. 012060. IOP Publishing. DOI: 10.1088/1755-1315/998/1/012060
- Islam, M., Malakar, S., Rao, M. V., Kumar, N., & Sahu, J. K. (2023). Recent Advancement in Ultrasound-Assisted Novel echnologies for the Extraction of Bioactive Compounds from Herbal Plants: A Review. *Food Science Biotechnology*, 32(13), 1763-1782.
<https://doi.org/10.1007/s10068-023-01346-6>

- Ji, Z., Feng, R., & Mao, J. (2019). Separation and identification of antioxidant peptides from foxtail millet (*Setaria italica*) prolamins enzymatic hydrolysate. *Cereal Chemistry*, 96(6), 981-993. <https://doi.org/10.1002/cche.10202>
- Khan, M. K., Mazhar, H., Shehzadi, U., Ahmad, M. H., Nadeem, M. T., Ahmad, R. S., ... Mukonzo, E. L. (2024). The effect of ultrasound-assisted extraction process on techno-functional properties of protein from *Moringa oleifera* leaves. *Cogent Food & Agriculture*, 10(1). <https://doi.org/10.1080/23311932.2024.2436645>
- Kumari, D., Chandrasekara, A., Athukorale, P., & Shahidi, F. (2020). Bubur jewawut jari yang diproses dengan berbagai kondisi menunjukkan indeks glikemik rendah dan efikasi yang bervariasi terhadap kapasitas antioksidan plasma pada orang dewasa sehat. *Food Prod Process and Nutrition*, 2, 13. <https://doi.org/10.1186/s43014-020-00027-9>
- Laster, J., Bonnes, S.L., & Rocha, J. (2019). Increased use of emulsifiers in processed foods and the links to obesity. *Current gastroenterology reports*, 21, 1-6. <https://doi.org/10.1007/s11894-019-0723-4>
- Lim, V., Kardono, L. B. S., & Kam, N. (2015). Studi Karakteristik Dan Stabilitas Pengemulsi Dari Bubuk Lendir Okra (*Abelmoshus esculentus*). *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 4(3), 100-107.
- Liu, Y., X. -Y. Ma, L. -N. Liu, Y. -P. Xie, Y. -J. Ke, Z. -J. Cai, G. -J. Wu. (2019). Ultrasonic-assisted extraction and functional properties of wampee seed protein. *Food Science and Technology*, 39(1): 324-331. <https://doi.org/10.1590/fst.03918>
- McClements, D.J. (2004). *Food emulsions: principles, practices, and techniques*. CRC press. <https://doi.org/10.1201/9781420039436>
- Nurdjannah, N., & Usmiati, S. (2006). Isolasi dan karakterisasi protein ampas tahu. *Indonesian Journal of Agricultural Postharvest Research*, 3(2), 83-95.
- Ozgolet, M., Cakmak, Z. H. T., Bozkurt, F., Sagdic, O., & Karasu, S. (2024). Optimization of extraction parameters of protein isolate from milk thistle seed: Physicochemical and functional characteristics. *Food Science & Nutrition*, 12(5), 3346-3359.
- Omura, M. H., de Oliveira, A. P. H., de Souza Soares, L., dos Reis Coimbra, J. S., de Barros, F. A. R., Vidigal, M. C. T. R., ... & de Oliveira, E. B. (2021). Effects of protein concentration during ultrasonic processing on physicochemical properties and techno-functionality of plant food proteins. *Food Hydrocolloids*, 113, 106457.
- Partridge, D., Lloyd, K.A., Rhodes, J.M., Johnstone, A.M., & Campbell, B.J. (2019). Food additives: Assessing the impact of exposure to permitted emulsifiers on bowel and metabolic health—introducing the FADiets study. *Nutrition bulletin*, 44(4), 329-349. <https://doi.org/10.1111/nbu.12408>
- Pasally, S. (2022). Isolasi Protein Jewawut (*Setaria italica* L) Dengan Metode Kjeldahl. *INSOLOGI: Jurnal Sains dan Teknologi*, 1(3), 244-251.
- Roobab, U., Khan, A. W., Lorenzo, J. M., Arshad, R. N., Chen, B.-R., Zeng, X.-A., Bekhit, A. E.-D., Suleman, R., & Aadil, R. M. (2021). A systematic review of clean-label alternatives to synthetic additives in raw and processed meat with a special emphasis on high-pressure processing (2018-2021). *Food Research International*, 150(Pt A), 110792. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110792>
- Santi, A., Rusli, A., Arsyad, M. A., & Syukroni, I. (2023). Optimasi Ekstraksi Nanokalsium Cangkang Sotong Dengan Metode Response Surface Methodology (RSM). *Jurnal Informasi, Sains dan Teknologi*, 6(02), 122-135.
- Sengar, A.S., Thirunavookarasu N., Choudhary, P., Naik M., Surekha A., Sunil C. K., & Rawson A. (2022). Application of Power Ultrasound for Plant Protein Extraction, Modification and Allergen Reduction – A Review, 2(2), 100219. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100219>
- Shen, L., Pang, S., Zhong, M., Sun, Y., Qayum, A., Liu, Y., Rashid, A., Xu, B., Liang, Q., Ma, H., & Ren, X. A. (2023). Comprehensive Review of Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) for Bioactive Components: Principles, Advantages, Equipment, and Combined Technologies. *Ultrasonics Sonochemistry*, 101, 106646. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106646>
- Tang, X., Shen, Y., Zhang, Y., Schilling, M. W., & Li, Y. (2021). Parallel comparison of functional and physicochemical properties

- of common pulse proteins. *LWT*, 146, Article 111594.
- Wulandari, E., Sihombing, F. S. P., Sukarminah, E., & Sunyoto, M. (2019). Karakterisasi sifat fungsional isolat protein biji sorgum merah (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) varietas lokal Bandung. *Chimica et Natura Acta*, 7(1), 14-19.
- Xu, N., Sun, Y. H., Guo, X. L., Liu, C., Mao, Q., & Hou, J. M. (2018). Optimization of ultrasonic-microwave synergistic extraction of polysaccharides from *Morchella conica*. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(2), e13423.
- Yan, S., Xu, J., Zhang, S., & Li, Y. (2021). Effects of flexibility and surface hydrophobicity on emulsifying properties: ultrasound-treated soy bean protein isolate. *LWT-Food Science and Technology*, 42, 110881. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110881>
- Yao, S., Li, W., Wu, Y., Martin, G. J. O., & Ashokkumar, M. (2023). The Impact of High-Intensity Ultrasound-Assisted Extraction on the Structural and Functional Properties of Hempseed Protein Isolate (HPI). *Foods*, 12(2), 348. <https://doi.org/10.3390/foods12020348>
- Youlanda, H. (2016). *Ekstraksi dan evaluasi gelatin dari kulit sapi yang telah mengalami proses buang bulu menggunakan hidrolisis asam* (Bachelor's thesis). Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Zaharuddin, Nurul Dhanial, Mohamed Ibrahim Noordin, dan Ali Kadivar. 2014. The Use of Hibiscus Esculentus (Okra) Gum in Sustaining the Release of Propranolol Hydrochloride in a Solid Oral Dosage Form. *BioMed Research International* 2014.
- Zhang, F., Fu, Y., Liu, Z., & Shen, Q. (2021). Comparison of the characteristics of prolamins among foxtail millet varieties with different palatability: Structural, morphological, and physicochemical properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 186, 194-205. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.07.051>
- Zhang, Q. W., Lin, L.G., Ye, W.C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *China Medicine*, 13(20). <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>
- Zhang, W., Zhang, G., Liang, W., Tian, J., Sun, S., Zhang, X., Lv, X., Guo, P., Qu, A., & Wu, Z. (2024). Structure, Functional Properties, and Applications of Foxtail Millet Prolamin: A Review. *Biomolecules*, 14(8), 913. <https://doi.org/10.3390/biom14080913>

Copyright © The Author(s)



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)