

## Protein Biji Kelor Sebagai Bahan Aktif Penjernihan Air

### (Kelor Seeds Proteins As Water Purification Agent)

Saleh HIDAYAT<sup>1)</sup>

Staf Pengajar Universitas Muhammadiyah Palembang

**ABSTRAK.** Kelor memiliki sejumlah keuntungan bagi manusia seperti bahan sayur yang higienis, obat-obatan, bahan baku kosmetik dan sabun. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa biji kelor bisa digunakan sebagai bio-koagulan karena mengandung protein bermuatan positif yang dapat berperan sebagai kation polielektrolit dan penting dalam agen bio-koagulan.

**Kata kunci:** biji kelor, protein bermuatan positif, agen bio-koagulan.

**ABSTRACT.** *Kelor* has a number of benefits for human beings such as for hygienic vegetables, medicines, raw materials for cosmetic and soap. The result of the study shows that the *kelor* seeds can be used as bio-coagulant because they contain positive charged proteins that can act as cationic polyelectrolyte and it is important as bio-coagulant agent.

**Kata kunci:** kelor, seed, positive charge protein, bio-coagulant agent.

### PENDAHULUAN

Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) adalah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai penurun kekeruhan air atau sebagai koagulan di negara tropis (Mayer dan Stelz, 1993:33; Jahn (1981, 1986) dalam Tauscher, 1994:57; Hidayat, 2006). Kelor juga bermanfaat sebagai sayuran bergizi tinggi, sebagai obat, bahan baku pembuatan kosmetik dan sabun. Kelor merupakan tumbuhan asli India Utara, saat ini banyak ditemukan di wilayah Asia Tenggara, termasuk Indonesia (Polprasid, 1993; Ramachandran, 1980). Penurunan kekeruhan air menggunakan serbuk biji kelor telah dilakukan di Afrika Utara, Mesir Selatan, dan Sudan Utara. Bahkan secara sporadis digunakan di Indonesia, terutama di Jawa Timur (Hidayat, 2006). Jahn (1986) dalam Tauscher (1994: 57) menyatakan: "...seeds of *Moringa oleifera*, *Moringa stenopala*, and the bark of *Boscia senegalensis* are the best sources of natural flocculants of plant origin".

Dengan pengetahuan tentang bagian tumbuhan sebagai bahan penjernih air, kita dapat mengembangkan pemanfaatan sumber daya alam yang kita miliki dan dikenal dengan baik. Hanya diperlukan penyesuaian terhadap kondisi kekeruhan awal dari air baku yang ada di daerah masing-masing. Untuk ini diperlukan upaya pemberdayaan masyarakat bantaran sungai

yang sumber airnya selalu keruh (Hidayat, 2006). Serbuk biji kelor ketika diaduk dengan air, protein terlarutnya memiliki muatan positif. Larutan ini dapat berperan sebagai polielektrolit alami yang kationik. Fakta ini sangat menguntungkan karena kebanyakan koloid di Indonesia bermuatan listrik negatif, karena banyak berasal dari material organik. Ion koagulan dengan muatan serupa dengan muatan koloid akan ditolak, sebaliknya ion yang berbeda muatan akan ditarik.

Prinsip perbedaan muatan antara koagulan dan koloid inilah yang menjadi dasar proses koagulasi. Semakin tinggi ion yang berbeda muatan semakin cepat terjadi koagulasi (Raju, 1995:139). Pemanfaatannya sebagai biokoagulan khususnya di negara tropis, memberikan keuntungan karena ketersediaannya di alam sangat banyak, mudah dibudidayakan, dan belum dimanfaatkan secara intensif. Berdasarkan telaah pustaka bahwa yang berperan aktif sebagai agen penjernihan air dari biji kelor adalah protein, maka perlu diketahui kandungan protein yang dimiliki oleh masing-masing bagian biji kelor.

### METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan pemanfaatan serbuk biji kelor dalam pengembangan aplikasi proses penjernihan air. Tahap penelitian terdiri dari 3

segmen; *pertama*, mengisolasi protein biji kelor mengacu pada prosedur kerja Stacy & Aalen (2004); Randall & Castsel (1987) dalam Vandees (2003:24). *Kedua*, menentukan kandungan konsentrasi protein biji kelor, dengan menggunakan regresi sederhana kurva standar *bovine serum albumine* (BSA) pada  $\lambda$  450 nm berdasarkan metode biuret (Aulanni'am, 2004:16–22). *Ketiga*, mendeteksi sifat keelektropositifan protein biji kelor, menggunakan alat *Elphor Micro Rapid System* dari Bender & Hobein. Kegiatan ini dilakukan di laboratorium Biokimia Universitas Brawijaya Malang.

### 1. Mengisolasi protein biji kelor

Cara kerja isolasi protein biji kelor ini adalah sebagai berikut:

- a. Biji tanpa kulit, biji dengan kulit, dan kulit biji diblender terpisah. Kemudian digerus sampai halus dengan mortar.
- b. Selanjutnya ditambahkan heksan 1:4 (b/v) sambil tetap digerus sampai heksannya kering. Sampel dimasukkan ke dalam ependorf + heksan 1:4 lagi, kemudian disentrifugasi 3.000 rpm 10 menit pada suhu kamar, supaya lemaknya larut dan mengapung.
- c. Supernatan berupa heksan dibuang, endapan dikeluarkan dari ependorf dan dimasukkan ke dalam mortar sambil diaduk supaya sisa heksannya menguap.
- d. Menyiapkan *buffer* ekstrak:
  - 1) 29,3 gram NaCl (0,5 M)                      0,5 M NaCl
  - 2) 0,24 gram Tris (0,02 M)                      0,02 M Tris
  - 3) 0,017 gram PMSF (1 mM)                      1 mM PMSF (*Phenylmethyl Sulfonyl Fluoride*)
  - 4) Menambahkan akuades sampai 100 ml sebagai stok.
  - 5) Untuk pemakaiannya, kita tambahkan DTT 50  $\mu$ l dengan *buffer* ekstrak (setelah tahap a, b, c, dan d) sampai 10 ml. Setelah itu siap digunakan sebagai campuran untuk menggerus sampel.
- e. Selanjutnya masing-masing sampel kita ambil 0,1 gram:
  - 1) Biji tanpa kulit 0,1 gram + 2 ml *buffer* ekstrak.
  - 2) Biji dengan kulit 0,1 gram + 2 ml *buffer* ekstrak.
  - 3) Kulit biji 0,1 gram + 2 ml *buffer* ekstrak.
- f. Sampel digerus lagi dengan mortar pada suhu dingin selama 0,5 jam sampai larut. Untuk mempercepat penghalusan, tambahkan sedikit pasir kuarsa yang telah disterilisasi. Setelah itu masing-masing sampel dimasukkan ke dalam ependorf.
- g. Disentrifugasi 11.000 rpm pada suhu 4°C selama 15 menit. Ketika melakukan sentrifugasi jumlah ependorf harus genap, volumenya diupayakan sama agar seimbang.
- h. Setelah disentrifugasi, supernatan diambil dan dimasukkan ke dalam ependorf. Kita perhatikan apakah masih terdapat lemak yang mengapung. Jika masih ada, supernatan diambil dimasukkan ke dalam ependorf lain dan disentrifugasi lagi dengan kecepatan 11.000 rpm pada suhu 4°C selama 15 menit.
- i. Setelah sampel bebas lemak, kita tambahkan etanol dengan 1:1 (v/v) dalam ependorf. Tujuannya untuk mengendapkan protein. Selanjutnya disentrifugasi pada suhu kamar dengan kecepatan 3.000 rpm 10 menit, dinginkan (endapan protein terlihat berwarna putih). Setelah itu etanol sebagai supernatan dibuang dengan membalikkan ependorf di atas kertas tisu. Biarkan sampai bau etanol hilang. Tambahkan Tris-Cl 20 mM 300  $\mu$ l, kemudian disentrifugasi pada suhu kamar 3.000 rpm 10 menit. Sampel akan berwarna bening, dan siap dielektroforesis. Untuk mengawetkannya, sampel dapat disimpan di dalam *freezer*. Jika akan digunakan harus dihangatkan terlebih dulu dengan menggosokkannya di antara kedua telapak tangan sambil diputar bolak-balik.
- j. Menyiapkan alat elektroforesis (Bio-Rad, 2000), dicoba terlebih dulu dengan memasukkan akuades untuk mengetahui kebocoran. Jika tidak bocor, kita hisap akuades dengan tisu.
- k. Menyiapkan *separating gel* 12%, kita masukkan ke dalam *plate* elektroforesis sampai batas 0,5 cm dari ujung sisir pembentuk sumuran. Tambahkan akuades, biarkan selama  $\pm$  15 menit agar mengejel.
- l. Menyiapkan *stacking gel* 3%, kita masukkan ke dalam *plate* elektroforesis. Benamkan sisir (misalnya untuk tipe 10 sumur), biarkan mengejel ( $\pm$  15 menit). Sisir pada *plate* elektroforesis dicabut ketika sampel akan dimasukkan ke dalam sumuran.
- m. Menyiapkan *Reducing Sample Buffer* (RSB). Menambahkan 20  $\mu$ l RSB pada 20  $\mu$ l sampel dalam ependorf.
- n. Masing-masing sampel dimasukkan ke dalam 3 sumuran, kosongkan sumuran

- nomor 1 (dapat digunakan untuk tempat protein *marker*). Sumuran 2, 3, 4 untuk sampel biji tanpa kulit; sumuran 5, 6, 7 untuk sampel biji dengan kulit; sumuran 8, 9, 10 untuk sampel kulit biji.
- Setiap sumuran diisi dengan  $\pm 30\text{--}35 \mu\text{l}$  sampel. *Running* pada 130 volt, 30 mA (konstan Ampere) dengan *power supply* selama 1 jam atau sampai 0,5 cm *tracking dye* dari bagian bawah gel.
  - Hasil *running* dilepas dari perangkat elektroforesis, *staining* dengan Coomasie blue 25–30 menit sambil digoyang di atas *shaker* dengan kecepatan minimal.
  - Melakukan *destaining* juga sambil digoyang di atas *shaker* dengan kecepatan minimal, selama 24 jam. Segera lakukan *scanning* terhadap hasil pewarnaan pita protein biji tersebut dengan *scanner*.

## 2. Menentukan Konsentrasi Protein Biji Kelor

Cara kerja penentuan konsentrasi protein menggunakan metode biuret adalah sebagai berikut:

- Menyiapkan larutan stok *Bovine Serum Albumine* (BSA) dengan cara melarutkan 10 mg BSA + 3 tetes NaOH 1 N, kemudian ditambah akuades sampai 10 ml. Selanjutnya divortex, dan disimpan sebentar dalam lemari es.
- Lakukan pemanasan terhadap alat Spektrofotometer.
- Menyiapkan larutan standar biuret dengan cara:
  - BSA 200  $\mu\text{l}$  + 800  $\mu\text{l}$  biuret (setara 1.000 ppm).
  - BSA 150  $\mu\text{l}$  + akuades 50  $\mu\text{l}$  + 800  $\mu\text{l}$  biuret (setara 750 ppm).
  - BSA 125  $\mu\text{l}$  + akuades 75  $\mu\text{l}$  + 800  $\mu\text{l}$  biuret (setara 625 ppm).
  - BSA 100  $\mu\text{l}$  + akuades 100  $\mu\text{l}$  + 800  $\mu\text{l}$  biuret (setara 500 ppm).
  - BSA 75  $\mu\text{l}$  + akuades 125  $\mu\text{l}$  + 800  $\mu\text{l}$  biuret (setara 375 ppm).
  - BSA 50  $\mu\text{l}$  + akuades 150  $\mu\text{l}$  + 800  $\mu\text{l}$  biuret (setara 250 ppm).
  - BSA 25  $\mu\text{l}$  + akuades 175  $\mu\text{l}$  + 800  $\mu\text{l}$  biuret (setara 125 ppm).
- Masing-masing larutan standar tersebut diukur absorbansi dengan  $\lambda$  mulai dari 500 sampai 600 dengan interval 10. Masing-masing sampel larutan standar biuret dimasukkan ke dalam kuvet dengan mikropipet sebanyak 2  $\mu\text{l}$ , disertai

- pengamatan ulangan. Selanjutnya diambil nilai absorbansi tertinggi, dalam penelitian ini diperoleh pada  $\lambda$  540 nm.
- Sampel yang akan diukur kadar proteinnya pada  $\lambda$  540 nm disiapkan dengan cara: setiap sampel dari kulit (K), biji (B), kulit dan biji (K+B) diambil 50  $\mu\text{l}$  + akuades 150  $\mu\text{l}$  (masing-masing diulang 3x) + biuret 800  $\mu\text{l}$ . Divortex, kemudian diamkan selama 30 menit. Setiap mengukur absorbansi sampel yang berbeda, lakukan kalibrasi spektrofotometer dengan memasukkan kuvet berisi akuades 2  $\mu\text{l}$ .
  - Menentukan persamaan regresi dan grafik kurva standar BSA dengan absorbansi pada  $\lambda$  540 nm, dilakukan dengan bantuan program *Microsoft Excel* 2003.
  - Memasukkan nilai absorbansi yang telah direratakan ke dalam persamaan regresi yang telah diperoleh.
  - Kita perhatikan faktor pengenceran yang telah dilakukan misalnya, ketika isolasi protein 50  $\mu\text{l}$  sampel protein + 300  $\mu\text{l}$  tris-Cl (= 7 x pengenceran), konversi 0,1 gram sampel menjadi 1 gram sampel (= 10 x), dan ketika pengukuran absorbansi 50  $\mu\text{l}$  sampel protein + 150  $\mu\text{l}$  akuades (= 4 x pengenceran).
  - Dari hasil perkalian nilai absorbansi sampel dengan nilai pengencerannya, dapat diketahui jumlah protein per gram biji (lihat bagian Hasil dan Pembahasan).

## 3. Mengukur Sifat Keelektropositifan Protein Biji Kelor

Sebelumnya menyiapkan terlebih dahulu larutan transfer *buffer* sebanyak 1 liter yang terdiri dari: tris 3,03 gram; glisin 14,4 gram; metanol 200 ml; selanjutnya ditambahkan ddH<sub>2</sub>O sampai menjadi 1 liter. Menyiapkan juga kertas (*foil*) *Elphor Micro Rapid System* yang berukuran 15 x 2,5 cm. Berdasarkan cara kerja alat *Elphor Micro Rapid System*, selanjutnya disingkat *Elphor MRS* (Bender & Hobein, 2005), terdiri dari tahapan sebagai berikut:

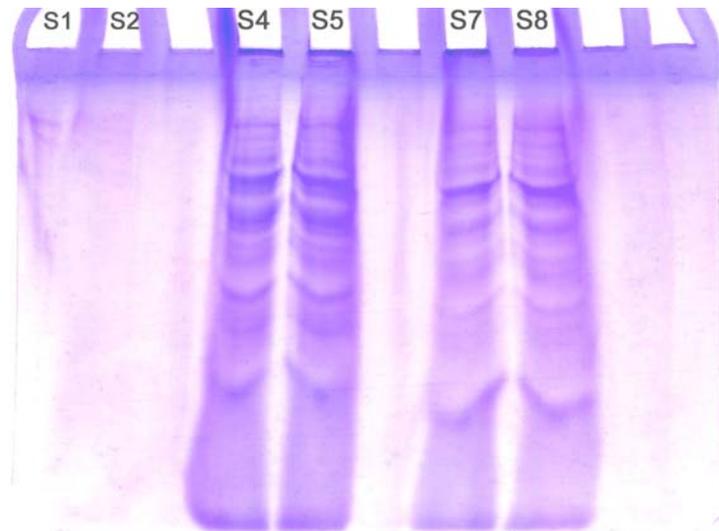
- Menyiapkan ruang *Elphor MRS*.
- Meletakkan kertas *Elphor* berlubang pada kait yang ada di ruang separasi.
- Memasukkan transfer *buffer* 200 ml ke bagian kiri dan kanan bak *Elphor MRS*.
- Membiarkan transfer *buffer* merembes pada kertas *Elphor* (selama  $\pm 20$  menit).
- Menotolkan sampel dengan penotol khusus dari *Elphor MRS*.

- f. Menghubungkan dengan arus listrik melalui stabilisator voltase 115 volt.
- g. Mengatur voltase dengan indikator pada pangkal kabel di bagian bak *Elphor MRS* menyala minimal.
- h. Membiarkan sampel bergerak melalui kertas *Elphor MRS* yang telah dirembesi transfer *buffer* selama 10 menit.
- i. Melakukan pewarnaan dengan meneteskan *Ponceau S Red*.
- j. Melunturkan warna dengan akuades, dan mebiarkan kertas *Elphor MRS* kering.
- k. Melakukan *scanning* dengan *scanner*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### **Konsentrasi Protein Biji Kelor**

Protein biji kelor diisolasi dengan prosedur kerja yang diadaptasi dari Stacey & Aalen (2004); Randall & Castsel (1987) dalam Vandes (2003:24). Kemudian dilakukan elektroforesis gel poliakrilamid, diistilahkan dengan *sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE). Hasil elektroforesis pada gel poliakrilamid dapat dilihat pada Gambar 1.

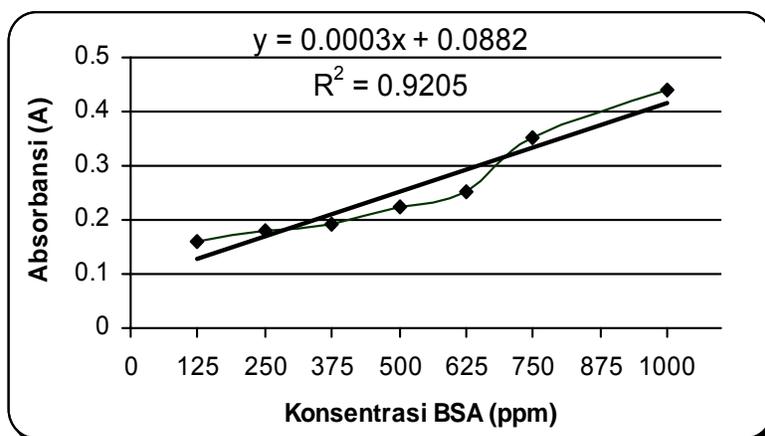


Gambar 1. Hasil Elektroforesis SDS-PAGE Biji Kelor. S1, S2 = sumuran kulit biji; S4, S5 = sumuran biji; S7, S8 = sumuran biji dengan kulit biji

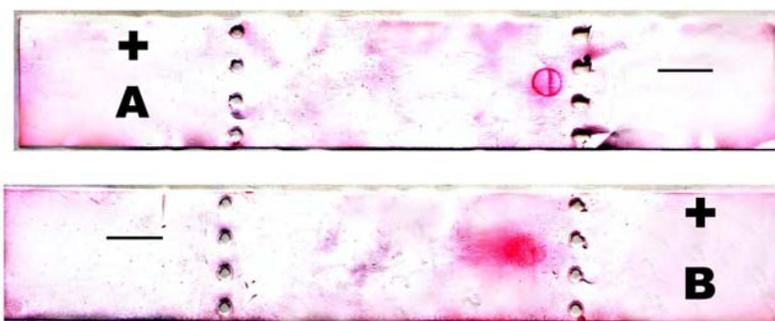
Selanjutnya adalah menentukan jumlah protein yang dimiliki oleh biji kelor pada bagian kulit, biji, serta pada bagian kulit dan biji dengan metode biuret. Berdasarkan kurva standar *bovine serum albumine* (BSA) dari pengukuran dengan Spektrofotometer pada  $\lambda$  540 nm diperoleh persamaan regresi dan kurva (Gambar 2) sebagai berikut.

Nilai absorbansi protein pada  $\lambda$  540 nm dari bagian kulit (K) diperoleh nilai 0,105; dari bagian biji (B) = 0,246; serta pada bagian kulit dan biji (K+B) = 0,167. Kemudian nilai-nilai tersebut dimasukkan ke dalam persamaan regresi:  $y = 0,0003x + 0,0882$ . Selanjutnya dikalikan dengan 4 dari faktor pengenceran akuades, dikalikan 7 dari faktor pengenceran tris Cl, dan dikalikan 10 yang berasal dari konversi 0,1 gram menjadi 1 gram sampel. Sehingga pada akhirnya diperoleh konsentrasi protein dari K = 15.680 ppm/gram, dari B = 147.280 ppm/gram, dan dari K+B = 73.547 ppm/gram.

Dari hasil pengukuran yang telah dilakukan berdasarkan metode biuret diperoleh konsentrasi protein dari kulit biji kelor sebesar 15.680 ppm/gram, dari biji dalam/kotiledon sebesar 147.280 ppm/gram, dan dari kulit biji beserta kotiledon sebesar 73.547 ppm/gram. Tingginya konsentrasi protein pada biji kelor oleh Jahn (1986) dalam Muyibi dan Evison (1995:1102) dinyatakan sebagai flokulan polielektrolit kationik alami berbasis polipeptida dengan berat molekul berkisar antara 6.000–16.000 dalton. Mengandung 3 asam amino yang sebagian besar merupakan asam glutamat, metionin, dan arginin. Hal ini diperkuat oleh LaMer dan Healy (1963) dalam Muyibi dan Evison (1995:1102) yang menyatakan; sebagai polielektrolit kelor dapat dijadikan bahan penjernih air dengan cara adsorpsi dan membuat jembatan antar partikel.



Gambar 2. Kurva Standar BSA dengan  $\lambda$  540 nm



Gambar 3. Penotolan pada Kertas *Elphor MRS*, Pewarnaan dengan *Ponceau S Red*. A. Penotolan sampel protein biji kelor dari arah negatif (tidak ada jejak yang bergerak ke arah positif). B. Penotolan sampel protein biji kelor dari arah positif (ada jejak yang bergerak ke arah negatif) (Hidayat, 2006).

Konsentrasi protein dari bagian dalam/kotiledon biji kelor menunjukkan nilai yang paling tinggi. Protein biji kelor yang tidak dikupas kulit bijinya mengandung separuh bagian dibandingkan dengan protein dari bagian kotiledon biji kelor saja. Oleh karena itu, jika akan digunakan sebagai bahan penjernih air maka sebaiknya kulit biji kelor dikupas terlebih dahulu. Memang kegiatan tersebut memerlukan waktu yang lebih lama tetapi akan lebih efektif jika dibandingkan dengan menggunakan kelor sebagai bahan penjernih air tanpa dikupas kulit bijinya. Ndabigengesere dkk. (1995:705) juga menyatakan bahwa, kotiledon kelor beserta kulit biji dan kotiledon kelor saja sama-sama memiliki aktivitas koagulasi.

#### **Sifat Keelektropositifan Protein Biji Kelor**

Untuk mengetahui sifat keelektropositifan protein biji kelor, protein yang telah diisolasi ditotolkan pada kertas *Elphor Micro Rapid System (Elphor MRS)*. Hasil penotolan kemudian diwarnai

dengan pewarna *Ponceau S Red*, lihat Gambar 3 (Hidayat, 2006).

Hasil penotolan (Gambar 3) membuktikan bahwa protein biji kelor memiliki muatan positif. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Fink (1984) dalam Tauscher (1994:60) yang menyatakan protein yang terdapat dalam biji kelor bersifat kationik. Demikian pula Jahn (1986) dalam Muyibi dan Evison (1995:1102) menyatakan bahwa protein yang terdapat pada biji kelor merupakan flokulan polielektrolit kationik. Perbedaan muatan antara protein biji kelor yang dilarutkan dalam air yang diketahui bermuatan positif dengan partikel penyebab kekeruhan air yang bermuatan negatif, menyebabkan terjadinya flok yang semakin membesar dan mengendapkan partikel penyebab kekeruhan air.

## KESIMPULAN

Biji kelor dapat digunakan sebagai bahan penjernih air karena di dalam biji kelor terdapat kandungan protein bermuatan positif yang berperan sebagai *polielektrolit kationik* dan penting sebagai agen penjernihan air. Hal ini mengargumentasikan bahwa, biji-bijian yang menghasilkan komponen bermuatan listrik positif dapat dipakai sebagai bahan penjernih air yang alami. Perlu diadakan penelitian lain dalam mengeksplorasi bahan penjernih air alami yang berasal dari biji-bijian yang lain. Perlu diadakan penelitian lanjutan tentang efek bakterisida dari serbuk biji kelor, sehingga memungkinkan munculnya rekomendasi bahwa air hasil penjernihan dengan menggunakan serbuk biji kelor dapat dijadikan air minum.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian disertasi saya di Universitas Negeri Malang tahun 2006. Pada kesempatan ini saya ingin menyampaikan terima kasih kepada Prof. Drs. H. Sutiman Bambang Sumitro, S.U. D.Sc., Prof. Dr. Yusuf Abdurrajak, Prof. Dr. Ir. Chandrawati Cahyani, M.S., dan Dr. Ir. Aulanni'am, M.Sc. (yang mungkin sekarang juga sudah menjadi Profesor). Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada Rektor Universitas Muhammadiyah Palembang, dan Bupati Muara Enim Sumatera Selatan yang telah membantu pendanaan kegiatan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aulanni'am.** 2004. *Prinsip dan Teknik Analisis Biomolekul*. Cetakan pertama. Surabaya: Usaha Nasional—Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.
- Bender & Hobein.** 2005. *Elphor Micro Rapid System; On Foil Without Transparency Bath* 12200. (Online) (<http://www.jeconet.de/bildergross/elektrophorese-bender.jpg>, diakses tanggal 20 April 2005).
- Bio-Rad.** 2000. *Discover Bio-Rad; Life Science Research Products*. Edisi 1998/99 California: Bio-Rad Laboratories, Hercules.
- Hidayat, S..** 2006. *Pemberdayaan Masyarakat Bantaran Sungai Lematang dalam Menurunkan Kekeruhan Air dengan Biji Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) sebagai*

*Upaya Pengembangan Proses Penjernihan Air*. Disertasi tidak diterbitkan. Malang: Program Studi Setara Jurusan Pendidikan Biologi Universitas Negeri Malang.

- Mayer, F.A., & Stelz, E.** 1993. Distribution, Ecological Requirements and Uses of the Multipurpose Tree *Moringa stenopala* in Southern Ethiopia. Dalam *Plant Research and Development*. vol. 38. Pontius, F.W. (Ed.). Tubenigen: Institute for Scientific Cooperation.
- Muyibi, Suleyman, & Evison, Lilian.** 1995. *Moringa oleifera* Seeds for Softening Hardwater. *Wat. res.* Volume 29 nomor 4.
- Ndabigengesere, A., Narasiah, K.S. & Talbot, B.G.** 1995. Active Agents and Mechanism of Coagulation of Turbid Waters Using *Moringa oleifera*. *Wat. res.* Volume 29 nomor 2.
- Polprasid, P.** 1993. *Moringa oleifera* Lamk. dalam Siemonsma, J.S. & Kasem P. (Eds.). *Plant Resources of South-East Asia (Prosea)* No. 8. Wageningen: Pudoc Scientific Publisher.
- Raju, B.S.N.** 1995. *Water Supply and Wastewater Engineering*. New Delhi: Tata McGraw-Hill Publishing Company Limited.
- Ramachandran, C., Peter, K.V. & Gopalakrishnan, P.K.** 1980. Drumstick (*Moringa oleifera*): A Multipurpose Indian Vegetable. *Economic Bot.* 34 (3). Halaman 276–282.
- Stacy, Robin & Aalen, Reidun.** 2004. *Isolation of Total Protein*. (Online), (<http://biologi.uio.no/molbiol/protocol/protein.htm>, diakses 28 Desember 2004).
- Tauscher, Bernhard.** 1994. Water Treatment by Flocculant Compounds of Higher Plants. dalam *Plant Research and Development; A Biannual Collection of Recent German Contributions Concerning Development through Plant Research*. Vol. 40. Tübingen: Institute for Scientific Cooperation.
- Vandes, Exe Isvan.** 2003. *Karakteristik Protein Globulin pada Beberapa Varietas Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.) dengan Elektroforesis*. Skripsi tidak diterbitkan. Malang: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya.