

**PENGARUH VARIASI SUHU ISOLASI TERHADAP KADAR
PROTEIN PADA TEMPE YANG DIBUNGKUS DAUN PISANG
MENGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VISIBLE**

SKRIPSI



Oleh:

KHAIRENE REZKIANDA
NIM : 1304128

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
PERINTIS PADANG
2019**

PERNYATAAN ORISINILITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Khairene Rezkianda
NIM : 1304128
Judul Skripsi : Pengaruh Variasi Suhu Isolasi Terhadap Kadar Protein Pada Tempe Yang Dibungkus Daun Pisang Menggunakan Spektrofotometri UV-Visible

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Skripsi yang saya tulis merupakan hasil karya saya sendiri, terhindar dari unsur plagiarisme, dan data beserta seluruh isi skripsi tersebut adalah benar adanya
2. Saya menyerahkan hak cipta dari skripsi tersebut Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Perintis Padang untuk dapat dimanfaatkan dalam kepentingan akademis

Padang, 10 September 2019

Khairene Rezkianda

Lembar Pengesahan Skripsi

Dengan ini dinyatakan bahwa :

Nama : Khairene Rezkianda
NIM : 1304128
Judul Skripsi : Pengaruh Variasi Suhu Isolasi Terhadap Kadar Protein
Pada Tempe Yang Dibungkus Daun Pisang
Menggunakan Spektrofotometri UV-Visible

Telah diuji dan disetujui skripsinya sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) melalui ujian sarjana yang diadakan pada tanggal 20 Agustus 2019 berdasarkan ketentuan yang berlaku

Ketua Sidang

Farida Rahim, S.Si, M.Farm, Apt

Pembimbing I

Anggota Penguji I

Dedi Nofiandi, M.Farm, Apt

Yahdian Rasyadi, M.farm, Apt

Pembimbing II

Anggota Penguji II

Prof. Dr. H. Hazli Nurdin, M.Sc

Lola Azyenela, M.Farm, Apt

**Mengetahui :
Ketua Program Studi S1 Farmasi**

Farida Rahim, S.Si, M.Farm, Apt

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan maka apabila telah selesai (dari suatu urusan) kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain dan hanya

kepada Tuhanlah hendaknya kamu berharap

(Qs. Alam Nasyrati: 7,9)

Alhamdulillah Sebuah langkah usai sudah Satu cita telah ku gapai Namun

Itu bukan akhir dari perjalanan Melainkan awal dari satu perjuangan,sepercik ilmu telah engkau karuniakan kepadaku hanya untuk mengetahui sebagian kecil dari engkau muliakan...

Syukur alhamdulillah ku ucapkan kepada Allah S.W.T

Sebuah perjalanan telah ku tempuh dengan izinmu ya Allah

Walau terkadang tersandung dan terjatuh.....

Ya Rabbi..... sujudku padamu

Sepercik ilmu telah aku dapat atas ridhaMu ya Allah

Semoga hari-hari yang cerah membentang di depanku

Bersama rahmat dan ridhaMu ya Allah

Ayah... Bunda.....

Telah ku lalui hari-hari ini

Ini berkat do'a dan air mata disetiap sujudmu...

kini telah ku gapai sebuah cita-cita yang akan aku persembahkan untukmu ayah.. bunda... ku tercinta...

Bunda

Tiada yang dapat membalas jasmu....

Kau melahirkan dan membesarkanku...

Do'a mu menjadikan ku bersemangat..

Kasih sayang mu yang membuatku menjadi kuat...

Kau yang selalu membimbingku...

Kau yang memberi penyejuk dalam hidupku..

Terima kasih Bunda.....

Ayah.

tiada yang sejati yang pernah ku temui selain tulus suci kasihmu untukku

Kau yang selalu mengiringiku dengan pengorbanan, doa dan air mata.....

Kau yang membangunkanku di setiap kelelapanku....

Kau yang memberi semangat tanpa henti untuk perjuanganku....

Terima kasih ayah ku tercinta..

Buat Kakak-kakak ku

Terima kasih atas segala kasih sayang serta dukungan yang engkau berikan

kepadaku... Engkau menjadikan ku kuat disetiap langkah ku....

Teruntuk semua dosen dan staf STIFI Perintis Padang, terimakasih untuk ilmu yang sangat

berarti semoga berguna dimasa depan. Teristimewa kepada bapak Dedi Nofandi, M.Farm,

Apt dan bapak Prof. Dr. H. Hazli Nurdin, M.Sc sebagai pembimbingku.

" For My Friend's"...

Amelisa dan momon ...terima kasih atas semangat dan dukungan yang telah

diberikan.

Suka, duka kita lalui bersama, semua kenangan itu takkan kulupakan dan juga buat semua

angkatan 13 yang tak bisa disebutkan namanya satu persatu, perjalanan panjang telah kita

lalui bersama, semoga kita semua bisa dapatkan apa yang kita cita-citakan. Amin ya robbal'alamin.

Once again thanks for all who have helped and supported all this time...

By Khairine Rezkanda, S.Farm

**Skripsi Ini Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat
Untuk Menempuh Ujian Sarjana Pada
Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia
Yayasan Perintis
Padang**

Disetujui oleh:

Pembimbing I

Pembimbing II

Dedi Nofiandi, M.Farm, Apt

Prof. Dr. H. Hazli Nurdin, M.Sc

Skripsi ini telah dipertahankan didepan Panitia Ujian Sarjana Farmasi

Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Perintis Padang

Pada tanggal : 20 Agustus 2019

No.	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1.	Farida Rahim, S.Si, M.Farm, Apt	Ketua	
2.	Dedi Nofiandi, M.Farm, Apt	Sekretaris	
3.	Prof. Dr. H. Hazli Nurdin, M.Sc	Anggota	
4.	Yahdian Rasyadi, M.Farm, Apt	Anggota	
5.	Lola Azyenela, M.Farm, Apt	Anggota	

KATA PENGANTAR



Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya. Sehingga penulis telah dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul **“PENGARUH VARIASI SUHU ISOLASI TERHADAP KADAR PROTEIN PADA TEMPE YANG DIBUNGKUS DAUN PISANG MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VISIBLE”**. Skripsi ini merupakan salah satu persyaratan untuk menyelesaikan program pendidikan sarjana strata satu pada Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Yayasan Perintis Padang.

Dalam penulisan skripsi ini tidak terlepas dari iringan do'a tulus dan dukungan tiada hentinya yang diberikan oleh Ayahanda Khairul Syam dan Ibunda Darlisma sangat penulis sayangi, kasih sayang beserta do'a tulus ikhlas memberikan semangat dan dukungan yang tiada ternilai bagi penulis. Selain itu, penulis juga mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Dedi Nofiandi, M.Farm, Apt. dan Bapak Prof. Dr. H. Hazli Nurdin, M.Sc selaku pembimbing yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah berkenan meluangkan waktu, memberikan petunjuk, ilmu, nasehat, arahan serta bimbingan selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Bapak H. Zulkarni R, S.Si, MM, Apt selaku Ketua STIFI Perintis Yayasan Perintis Padang.

3. Bapak Dedi Nofiandi, M.Farm, Apt selaku Pembimbing akademik, yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam kegiatan akademis penulis di STIFI Perintis Yayasan Perintis Padang.
4. Bapak/Ibu Dosen yang telah mendidik dan mencurahkan ilmu selama ini kepada penulis dan Staf Karyawan/karyawati serta analis labor STIFI Perintis Yayasan Perintis Padang.

Semoga Allah SWT membalas dan melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada kita semua. Penulis berharap semoga skripsi ini menjadi sumbangan yang bernilai ilmu pengetahuan dan bermanfaat bagi kita semua. Kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi perbaikan penyempurnaan skripsi ini. Akhirnya, hanya kepada Allah SWT penulis serahkan segalanya mudah-mudahan dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi kita semua.

Padang, 10 September 2019

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai pengaruh variasi suhu isolasi terhadap kadar protein pada tempe yang dibungkus daun pisang. Penentuan kadar protein dilakukan menggunakan metode biuret yang diukur dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532 nm. Hasil rata-rata kadar protein tempe yang dibungkus daun pisang pada suhu 30°C didapat sebesar 0,126%, suhu 40°C didapat sebesar 0,097%, suhu 50°C didapat sebesar 0,090%, suhu 60°C didapat sebesar 0,077%, dan suhu 70°C didapatkan sebesar 0,070%. Selanjutnya dilakukan uji statistik dengan uji ANOVA satu arah menggunakan SPSS 23.0. Hasil yang diperoleh berbeda nyata ($P < 0,05$) antara variasi suhu dengan kadar protein. Dari hasil penentuan kadar protein pada tempe yang dibungkus daun pisang diambil pada suhu terbaik yaitu 30°C diperoleh nilai rata-rata 0,126 %.

Kata kunci: Tempe, biuret, Spektrofotometri Uv-Vis, protein, suhu.

ABSTRACT

Has conducted research on the effect of temperature variations on the isolation of the protein content of soybean wrapped in banana leaves. Determination of protein concentration was performed using biuret method as measured by UV-Vis spectrophotometer at a wavelength of 532 nm. The average yieldsoybean protein content wrapped in banana leaves at a temperature of 30°C obtained amounted to 0.126%, temperature 40°C obtained amounted to 0.097%, temperature 50°C obtained amounted to 0.090%, temperature 60°C obtained amounted to 0.077%, and a temperature of 70°C obtained amounted to 0.070%. Further statistical test to test One-way ANOVA SPSS 23.0, The results were significantly different ($P < 0.05$) between variation in temperature to protein content. From the result of the determination of protein content in soybean wrapped in banana leaves taken on the best temperature is 30°C obtained by the average value of 0.126%.

Keywords: *Tempe, biuret, Uv-Vis spectrophotometry, protein, temperature.*

DAFTAR ISI

JUDUL.....	i
PERNYATAAN ORISINALITAS PENYERAHAN HAK CIPTA.....	ii
PENGESAHAN.....	iii
PERSEMBAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	ix
ABSTRAK.....	xi
ABSTRACT	xii
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Rumusan Masalah Penelitian.....	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Tinjauan Umum	4
2.1.1. Taksonomi Kedelai.....	4
2.1.2. Morfologi	4
2.1.3. Asal dan nama daerah	6
2.2. Tempe.....	6
2.3. Protein.....	8
2.3.1. Ciri-Ciri Molekul Protein.....	9
2.3.2. Sifat Fisiko Kimia Protein.....	10
2.3.3. Klasifikasi Protein	11
2.3.4. Kekurangan Dan Kelebihan Protein	13
2.3.5. Sumber Protein	15
2.4. Tinjauan Farmakologi	16
2.5. Tinjauan Farmasetik.....	17
2.6. Analisis Protein	17
2.6.1. Uji Kualitatif	17
2.6.2. Uji Kuantitatif	19
2.7. Spektrofotometri UV-Visible	21
2.7.1. Prinsip Spektrofotometri UV-Visible	21
2.7.2. Sistem Peralatan Spektrofotometer UV-Visible	23
BAB III METODE PENELITIAN	26
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	26
3.2. Alat dan Bahan.....	26
3.2.1. Alat	26
3.2.2. Bahan	26
3.3. Prosedur dan cara kerja	27
3.3.1. Pengambilan dan penyiapan sampel.....	27
3.3.2. Pembuatan Reagensia	27
3.3.2.1. Larutan NaOH 10%.....	27
3.3.2.2. Buffer Asetat pH 5	27
3.3.2.3. Pembuatan larutan HCl 0,1 N	28

3.3.2.4. Pembuatan larutan HNO ₃	28
3.3.2.5. Pembuatan larutan NaOH 0,1 N	28
3.4. Isolasi Protein.....	28
3.5. Karakterisasi Isolat Protein.....	29
3.5.1. Rendemen Isolat Protein	29
3.5.2. Organoleptis Isolat Protein.....	29
3.5.3. Penentuan Kadar Abu Isolat Protein	29
3.5.4. Penentuan Kadar Air Isolat Protein	30
3.5.5. Uji Kualitatif Isolat Protein	30
3.5.5.1. Uji Biuret.....	30
3.5.5.2. Uji Ninhidrin	30
3.5.5.3. Uji Xanthoprotein	30
3.5.5.4. Uji Millon.....	31
3.6. Penentuan Kadar Protein Isolat.....	31
3.6.1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Larutan BSA	31
3.6.2. Pembuatan Kurva Kalibrasi Larutan BSA	31
3.6.3. Uji Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantitasi (BK)	32
3.6.4. Pengukuran Kadar Protein Sampel dengan Spektrofotometer UV-Visible.....	32
3.7. Pengolahan Data Kadar Protein	33
3.7.1. Uji Analisa Varian (ANOVA Satu Arah) Dengan menggunakan SPSS 23.0.	33
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	34
4.1. Hasil.....	34
4.2. Pembahasan	36
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	42
5.1. Kesimpulan	42
5.2. Saran.....	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	46

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Sampel Penelitian	46
2. Skema Prosedur Bebas Lemak Tempe dengan Metode Sokhletasi	48
3. Skema Prosedur Isolasi Protein Tempe	49
4. Skema Prosedur Penetapan Kadar Protein Tempe	50
5. Skema Pengukuran Sampel dengan Spektrofotometer UV-Visible	51
6. Rendemen Protein Tempe	52
7. Penentuan Kadar Abu Tempe.....	54
8. Penentuan Kadar Air Tempe	56
9. Uji Kualitatif Tempe	58
10. Spektrum Panjang Gelombang Serapan Maksimum BSA.....	61
11. Pembuatan Kurva Kalibrasi Larutan Standar BSA	62
12. Contoh Perhitungan Kadar Protein Pada Sampel	67
13. Hasil Analisis Data Anova Satu arah.....	70
14. Alat yang Digunakan	72

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Kimia Kedelai dan Tempe per 100 g Bahan.....	8
2. Hasil Rendemen Protein Tempe	52
3. Hasil Penentuan Kadar Abu Tempe	54
4. Hasil Penentuan Kadar Air Tempe	56
5. Hasil Uji Kualitatif Protein Tempe	58
6. Deret Standar	62
7. Data Perhitungan Regresi Linear Kurva Kalibrasi BSA.....	63
8. Data Perhitungan Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantitasi (BK).....	65
9. Hasil Pengukuran Kadar Protein Pada Sampel Tempe Daun Pisang	67
10. Hasil Perhitungan Statistik Kadar Protein Tempe (ANOVA Satu Arah, SPSS 23.0.)	70

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Asam Amino	9
2. Diagram Spektrofotometer UV-Visible.....	25
3. Reaksi antara ikatan peptida dengan ion Cu (berasal dari Pereaksi Biuret) dalam suasana basa.	38
4. Sampel Tempe.....	46
5. Serbuk Tempe Bebas Lemak	46
6. Isolat Protein Tempe.....	47
7. Skema Prosedur Bebas Lemak Tempe dengan Metode Sokhletasi	48
8. Skema Prosedur Isolasi Protein Tempe	49
9. Skema Prosedur Penetapan Kadar Protein Tempe	50
10. Skema Pengukuran Sampel dengan Spektrofotometer UV-Visible.....	51
11. Diagram Pengaruh Variasi Terhadap Protein Tempe.....	53
12. Hasil Uji Kualitatif dengan Reagen Biuret	59
14. Hasil Uji Kualitatif dengan Reagen Ninhidrin.....	59
14. Hasil Uji Kualitatif dengan Reagen Xanthoprotein	60
15. Hasil Uji Kualitatif dengan Reagen Millon	60
16. Spektrum Panjang Gelombang Serapan Maksimum.....	61
17. Kurva Kalibrasi Larutan Standar Protein	62
18. Seperangkat Alat Spektrofotometer UV-Visible	72

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Salah satu sumber protein pada makanan adalah tempe. Tempe adalah hasil fermentasi kacang kedelai kuning oleh kapang *Rhizopus oligosporus*. Tempe mengandung berbagai nutrisi yang diperlukan oleh tubuh seperti protein, lemak, karbohidrat, mineral, dan isoflavon. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa zat gizi tempe lebih mudah dicerna, diserap dan dimanfaatkan tubuh. Hal ini dikarenakan kapang yang tumbuh pada kedelai menghidrolisis senyawa-senyawa kompleks menjadi senyawa sederhana yang mudah dicerna oleh manusia (Kasmidjo, 1990).

Protein merupakan salah satu unsur gizi penting dalam bahan pangan. Kandungan protein dalam bahan pangan beragam, untuk memperoleh protein dalam konsentrasi tinggi, dibuat protein dalam bentuk konsentrat atau isolat. Isolasi protein pada prinsipnya didasarkan atas dua proses utama yaitu ekstraksi dan koagulasi (penggumpalan). Untuk keperluan ini pada umumnya digunakan basa dan asam yang berturut-turut digunakan untuk proses ekstraksi dan penggumpalan/pengendapan (Koswara, 2009).

Protein yang menggumpal atau mengendap merupakan salah satu ciri fisik dari terdenaturasinya suatu protein. Terjadinya denaturasi pada protein ini dapat disebabkan oleh banyak faktor, seperti pengaruh pemanasan, asam atau basa, garam, dan pengadukan. Protein akan mengalami denaturasi apabila dipanaskan pada suhu 50°C sampai 80°C. Laju denaturasi protein dapat mencapai 600 kali untuk tiap kenaikan 10°C (Poedjiadi, 1994). Perlakuan panas dapat memberikan

pengaruh yang menguntungkan dan merugikan terhadap protein. Pengaruh yang menguntungkan yaitu meningkatnya daya guna protein, sebab adanya pemanasan pada proses pengolahan dapat menginaktifkan atau menurunkan protein inhibitor. Pemanasan akan membuat protein bahan terdenaturasi sehingga kemampuan mengikat airnya menurun (Winarno, 1992).

Kemasan yang umum dipakai oleh produsen tempe ada dua jenis yaitu daun dan plastik. Daun yang umum digunakan adalah daun pisang. Di antara kedua bungkus tersebut tempe yang dibungkus daun pisang lebih diminati dibandingkan tempe yang dibungkus plastik karena rasanya lebih enak dan masa simpannya lebih lama. Kemasan daun pisang memberikan kondisi tetap hangat namun lembab sehingga kebutuhan kapang akan oksigen dapat teratasi dengan baik, sehingga pembentukan miselia jamur lebih baik (Astuti, 2009).

Penggunaan pembungkus dalam fermentasi akan mempengaruhi kadar protein dari tempe yang diproduksi. Faktor yang mempengaruhinya adalah faktor koreksi lingkungan yang dibentuk oleh kemasan selama proses fermentasi dan reaksi yang mungkin terjadi antara bahan yang difermentasikan dengan komponen kemasan (Radiati, 2016).

Metoda yang digunakan untuk penentuan kadar protein adalah metode biuret menggunakan Spektrofotometer UV-Vis, karena metoda ini sangat spesifik terhadap protein, juga tidak mendeteksi nitrogen dari komponen non protein dan lebih cepat pengerjaannya di bandingkan metoda lain (Pratama, 2016).

Berdasarkan uraian diatas penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh variasi suhu isolasi terhadap kadar protein pada tempe yang dibungkus daun pisang menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

1.2. Rumusan Masalah Penelitian

1. Apakah variasi suhu isolasi dapat mempengaruhi kadar protein tempe yang dibungkus daun pisang?
2. Pada suhu isolasi berapakah memberikan kadar protein tertinggi pada tempe yang dibungkus daun pisang?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh variasi suhu isolasi terhadap kadar protein tempe yang dibungkus daun pisang.
2. Mengetahui kadar protein tertinggi terhadap suhu optimal dalam mengisolasi protein.

1.4. Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang nilai gizi makanan terutama protein pada tempe yang dibungkus daun pisang.
2. Dapat menghasilkan produk dari isolasi protein tempe yang dibungkus daun pisang untuk meningkatkan minat masyarakat akan mengonsumsi olahan tempe.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Umum

2.1.1. Tumbuhan Kedelai

Menurut Adisarwanto (2005), kedudukan kedelai dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyte
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Rosales
Famili	: Leguminosae (papilinoceae)
Sub famili	: Papilionoideae
Genus	: Glycine
Spesies	: <i>Glycine max (L.)</i>

2.1.2. Morfologi

Struktur akar tanaman kedelai terdiri atas akar lembaga, akar tunggang dan akar cabang berupa akar rambut. Perakaran kedelai dapat menembus tanah pada kedalaman \pm 150 cm, terutama pada tanah yang subur. Perakaran tanaman kedelai mempunyai kemampuan membentuk bintil (nodula-nodula) akar yang merupakan koloni dari bakteri *Rhizobium japonicum*. Bakteri *Rhizobium* bersimbiosis dengan akar tanaman kedelai untuk menambat Nitrogen bebas dari udara. Unsur nitrogen tersebut dimanfaatkan untuk pertumbuhan tanaman kedelai, sedangkan bakteri *Rhizobium* memerlukan makanan yang berasal dari tanaman kedelai,

sehingga proses ini merupakan hubungan hidup yang saling menguntungkan (Rukmana, 1996).

Tanaman kedelai termasuk berbatang semak yang dapat mencapai ketinggian antara 30-100 cm, batang beruas-ruas dan memiliki percabangan antara 3-6 cabang. Daun kedelai mempunyai ciri-ciri antara lain helai daun oval, bagian ujung daun meruncing dan tata letaknya pada tangkai daun bersifat majemuk berdaun tiga (Cahyono, 2007). Umur keluarnya bunga tergantung pada varietas kedelai, pengaruh suhu, dan penyinaran matahari. Tanaman kedelai di Indonesia pada umumnya mulai berbunga pada umur 30 –50 hari setelah tanam. Buah kedelai disebut buah polong seperti buah kacang-kacangan lainnya yang tersusun dalam rangkaian buah.

Polong kedelai yang sudah tua ada yang berwarna coklat, coklat tua, coklat muda, coklat kekuning-kuningan, coklat keputih-putihan dan kehitaman. Tiap polong kedelai berisi antara 1 –5 biji, jumlah polong pertanaman tergantung pada varietas kedelai, kesuburan tanah, dan jarak tanam yang digunakan. Kedelai yang ditanam pada tanah subur pada umumnya dapat menghasilkan antara 100 –200 polong/pohon (Suhaeni, 2007).

Biji kedelai umumnya berbentuk bulat atau bulat-pipih sampai bulat-lonjong. Warna kulit biji bervariasi antara lain kuning, hijau, coklat dan hitam. Ukuran biji berkisar antara 6 –30 gram/100 biji. Di Indonesia ukuran biji kedelai diklasifikasikan dalam 3 kelas, yaitu biji kecil (6 –10 gr/100 biji), sedang (11 –12 gr/100 biji) dan besar (13 gr atau lebih/100 biji). Biji-biji kedelai dapat digunakan sebagai bahan perbanyakan tanaman secara generatif (Cahyono, 2007).

2.1.3. Asal dan nama daerah

Kedelai (*Glycine max (L.)*) dikenal dengan nama berbagai daerah antara lain: sojaboom, soja, soja ohne, soybean, kedelai, kacang gambol, kacang bulu, kacang ramang, retak mejong, kacang jepun, dekamen, demekun, dele, kadele, kudang jepun, lawui, sarupapa titak, dole, kadule dan puwe mon (Cahyadi, 2012).

Kedelai merupakan salah satu jenis kacang-kacangan yang dapat digunakan sebagai sumber protein, lemak, vitamin, mineral dan serat. Kacang kedelai mengandung sumber protein nabati yang kadar proteinnya tinggi yaitu sebesar 35% bahkan pada varietas unggul dapat mencapai 40-44%. Selain itu juga mengandung asam lemak essensial, vitamin dan mineral yang cukup. Disamping protein, kacang kedelai mempunyai nilai hayati yang tinggi setelah diolah, karena kandungan susunan asam aminonya mendekati susunan asam amino pada protein hewani (Koswara, 1992). Kedelai mendapat perhatian besar di seluruh dunia karena berbagai keunggulan lain yang dimilikinya diantaranya memiliki adaptabilitas agronomis yang tinggi, dapat hidup di daerah tropis dan subtropis, juga di daerah dengan tanah dan iklim yang memungkinkan tanaman pangan lainnya untuk tumbuh, serta memiliki kandungan gizi yang relatif tinggi

2.2. Tempe

Tempe merupakan produk pangan tradisional Indonesia berbahan dasar kedelai yang diolah melalui proses fermentasi. Tempe memiliki penampakan berwarna putih yang disebabkan oleh miselia kapang yang menghubungkan biji-biji kedelai sehingga terbentuk tekstur yang kompak. Kapang yang tumbuh pada kedelai akan mendegradasi senyawa-senyawa kompleks pada kedelai menjadi

senyawa-senyawa sederhana yang lebih mudah dicerna oleh manusia (Syarief, 1999).

Tempe memiliki beberapa keunggulan dibandingkan kacang kedelai. Pada tempe, terdapat enzim-enzim pencernaan yang dihasilkan oleh kapang tempe selama proses fermentasi, sehingga protein, lemak dan karbohidrat menjadi lebih mudah dicerna. Kapang yang tumbuh pada tempe mampu menghasilkan enzim protease untuk menguraikan protein menjadi peptida dan asam amino bebas (Astawan, 2008).

Enzim lipase menguraikan lemak menjadi lipid dan asam lemak, serta enzim amilase menguraikan karbohidrat menjadi gula sederhana (Hermana dan Karmini, 1999). Tempe juga memiliki berbagai sifat unggul seperti mengandung lemak jenuh rendah, kadar vitamin B12 tinggi, mengandung antibiotik dan berpengaruh baik pada pertumbuhan badan. Keberadaan vitamin B12 dalam tempe sangat istimewa. Vitamin B12 umumnya terdapat pada produk-produk hewani, tetapi tidak dijumpai pada makanan nabati (sayuran, buah-buahan dan biji-bijian).

Tempe mengandung berbagai unsur yang bermanfaat, seperti protein, lemak, hidrat arang, serat, vitamin, enzim, serta komponen antibakteri dan zat antioksidan yang berkhasiat sebagai obat, diantaranya fitosterol, asam fitat, asam fenolat, lesitin dan inhibitor protease. Perbandingan komposisi kimia kedelai dan tempe dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimia kedelai dan tempe per 100 g bahan

KOMPOSISI	KEDELAI	TEMPE KEDELAI
Protein	30,2 g	18,3 g
Lemak	15,6 g	4,0 g
karbohidrat	30,1 g	12,7 g
Air	20,0 g	64,0 g
Abu	5,5 g	1,6 g
Energi	331 kal	149 kal
Kalsium	227 mg	129 mg
Fosfor	585 mg	154 mg
Zat besi	8 mg	10 mg
Seng	4,80 mg	8,05 mg

Sumber : Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI (2004).

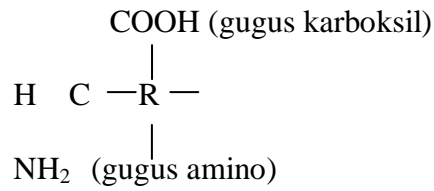
2.3. Protein

Istilah protein berasal dari kata proteos, yang berarti yang utama atau yang didahulukan. Kata ini diperkenalkan oleh seorang ahli kimia Belanda, Gerardus Mulder (1802-1880), karena ia berpendapat bahwa protein adalah zat paling penting dalam setiap organisme (Almatsier, 1997).

Protein adalah bagian dari semua sel hidup dan merupakan bagian terbesar tubuh sesudah air. Seperlima bagian tubuh adalah protein, separohnya ada di dalam otot, seperlima di dalam tulang dan tulang rawan, sepersepuluh di dalam kulit, dan selebihnya di dalam jaringan lain dan cairan tubuh. Semua enzim, berbagai hormon pengangkut zat-zat gizi dan darah, matriks intraseluler dan sebagainya adalah protein. Di samping itu asam amino yang membentuk protein bertindak sebagai prekursor sebagian besar koenzim, hormon, asam nukleat dan molekul molekul yang esensial untuk kehidupan.

Protein mempunyai fungsi khas yang tidak dapat digantikan oleh zat lain, yaitu membangun serta memelihara sel-sel dan jaringan tubuh. Protein juga berperan dalam pembentukan ikatan-ikatan esensial tubuh, mengatur

keseimbangan air, memelihara netralitas tubuh, pembentukan antibody, mengangkut zat-zat gizi, dan sebagai sumber energi.



Gambar 1. Struktur asam amino (Almatsier, 1997).

2.3.1. Ciri-ciri Molekul Protein

Protein adalah molekul makro yang mempunyai berat molekul antara lima ribu hingga beberapa juta. Protein terdiri atas rantai-rantai panjang asam amino, yang terikat satu sama lain dalam ikatan peptida. Asam amino terdiri atas unsur-unsur karbon, hidrogen, oksigen, dan nitrogen; beberapa asam amino di samping itu mengandung unsur-unsur fosfor, besi, sulfur, iodium, dan kobalt. Unsur nitrogen adalah unsur utama protein, karena terdapat didalam semua protein akan tetapi tidak terdapat di dalam karbohidrat dan lemak. Unsur nitrogen merupakan 16% dari berat protein (Almatsier, 1997).

Molekul protein lebih kompleks dari pada karbohidrat dan lemak dalam hal berat molekul dan keanekaragaman unit-unit asam amino yang membentuknya. Berat molekul protein bisa mencapai empat puluh juta; dibandingkan dengan berat molekul glukosa yang besarnya 180. Jenis protein sangat banyak, mungkin sampai $10^{10} - 10^{12}$. Ini dapat dibayangkan bila diketahui bahwa protein terdiri atas sekian kombinasi berbagai jenis dan jumlah asam amino. Ada dua puluh jenis asam amino yang diketahui sampai sekarang yang terdiri atas asam amino esensial (asam amino yang tidak dapat dibuat tubuh dan harus didatangkan dari makanan) dan sebelas asam amino nonesensial.

2.3.2. Sifat Fisiko Kimia Protein

Protein merupakan molekul yang sangat besar, sehingga mudah sekali mengalami perubahan bentuk fisik maupun aktifitas biologis. Banyak faktor yang menyebabkan perubahan sifat alamiah protein misalnya : panas, asam, basa, pelarut organik, pH, garam, logam berat maupun sinar radiasi radioaktif. Perubahan sifat fisik yang mudah diamati adalah terjadinya penjendelan (menjadi tidak larut) atau pematatan (Sudarmadji, 1997).

Ada protein yang larut dalam air, ada yang tidak larut dalam air, tetapi semua protein tidak larut dalam pelarut organik seperti misalnya etil asetat. Daya larut protein akan berkurang jika ditambahkan garam, akibatnya protein akan terpisah sebagai endapan. Apabila protein dipanaskan atau ditambahkan alkohol, maka protein akan menggumpal. Hal ini disebabkan alkohol menarik mantel air yang melingkupi molekul-molekul protein. Adanya gugus amino dan karboksil bebas pada ujung-ujung rantai molekul protein, menyebabkan mempunyai banyak muatan dan bersifat amfoter (dapat bereaksi dengan asam maupun basa). Dalam larutan asam (pH rendah), gugus amino bereaksi dengan H^+ , sehingga protein bermuatan positif. Bila pada kondisi ini dilakukan elektrolisis, molekul protein akan bergerak ke arah katoda. Sebaliknya, dalam larutan basa (pH tinggi) molekul protein akan bereaksi sebagai asam atau bermuatan negatif, sehingga molekul protein akan bergerak menuju anoda (Winarno, 1995).

Sifat-sifat protein yang penting adalah :

- a. Ionisasi : Apabila larut dalam air akan membentuk ion +
dan -

- b. Denaturasi : Perubahan konformasi serta posisi protein sehingga aktifitasnya berkurang atau kemampuan menunjang aktifitas organ tertentu dalam tubuh hilang sehingga menyebabkan tubuh mengalami keracunan.
- c. Viskositas : Tahanan yang timbul karena adanya gesekan antara molekul didalam zat cair yang mengalir.
- d. Kristalisasi : Proses yang sering dilakukan dengan jalan penambahan garam ammonium sulfat atau NaCl pada larutan dengan pengaturan pH pada titik isolistriknnya.
- e. Sistem Koloid : Sistem yang heterogen terdiri atas 2 fase yaitu partikel kecil yang terdispersi dari medium atau pelarutnya (Poedjiadi, 1994).

2.3.3. Klasifikasi Protein

Protein terdapat dalam bentuk serabut (*fibrous*), globular dan konjugasi:

1. Protein Bentuk Serabut

Protein bentuk serabut terdiri atas beberapa rantai peptida berbentuk spiral yang terjalin satu sama lain sehingga menyerupai batang yang kaku. Karakteristik protein berbentuk serabut adalah rendahnya daya larut, mempunyai kekuatan mekanis yang tinggi dan tahan terhadap enzim pencernaan. Protein ini terdapat dalam unsur-unsur struktur tubuh.

Kolagen merupakan protein utama jaringan ikat. Kolagen tidak larut air, mudah berubah menjadi gelatin bila direbus dalam air, asam encer atau alkali.

Kolagen tidak mengandung triptofan tapi banyak mengandung hidroksiprolin dan hidroksilisin. Sebanyak 30% protein total manusia adalah kolagen.

Elastin terdapat dalam urat, otot, arteri (pembuluh darah) dan jaringan elastis lain. Elastin tidak dapat diubah menjadi gelatin. Keratin adalah protein rambut dan kuku. Protein ini mengandung banyak sulfur dalam bentuk sistein. Rambut manusia mengandung 14% sistein. Miosin merupakan protein utama serat otot.

2. Protein Globular

Protein globular berbentuk bola, terdapat dalam cairan jaringan tubuh. Protein ini larut dalam larutan garam dan asam encer, mudah berubah dibawah pengaruh suhu, konsentrasi garam, serta mudah mengalami denaturasi.

Albumin terdapat dalam telur, susu, plasma, dan hemoglobin. Albumin larut dalam air dan mengalami koagulasi bila dipanaskan. Globulin terdapat dalam otot, serum, kuning telur, dan biji tumbuh-tumbuhan. Globulin tidak larut dalam air tetapi larut dalam larutan garam encer dan garam dapur yang mengendap dalam larutan garam konsentrasi tinggi. Globulin mengalami koagulasi bila dipanaskan. Histon terdapat dalam jaringan-jaringan kelenjar tertentu seperti timus dan pankreas. Histon didalam sel terikat dengan asam nukleat. Protamin dihubungkan dengan asam nukleat.

3. Protein Konjugasi

Protein konjugasi adalah protein sederhana yang terikat dengan bahan-bahan nonasam amino. Gugus nonasam amino ini dinamakan gugus prostetik. Nukleoprotein adalah kombinasi protein dengan asam nukleat yang mengandung 9-10% fosfat. Hidrolisis asam nukleat menghasilkan purin, pirimidin, gula (ribosa

atau deoksiribosa) dan asam fosfat. Nukleoprotein terdapat dalam inti sel dan merupakan bagian penting DNA dan RNA (pembawa gen). Nukleoprotein adalah kombinasi protein dengan karbohidrat dalam jumlah besar. Karbohidrat ini merupakan polisakarida kompleks yang mengandung N-asetil heksoamina dan asam uronat atau gula lain. Nukleoprotein yang dapat larut dalam air, tidak mudah didenaturasi oleh panas.

Lipoprotein adalah protein larut air yang berkonjugasi dengan lipida, seperti lesitin dan kolesterol. Lipoprotein terdapat dalam plasma dan berfungsi sebagai pengangkut lipida dalam tubuh. Fosfoprotein adalah protein yang terikat melalui ikatan ester dengan asam fosfat seperti pada kasein dalam susu. Metaloprotein adalah protein yang terikat dengan mineral, seperti feritin dan hemosiderin dimana mineralnya adalah besi, tembaga, dan seng. Bentuk protein konjugasi adalah hemoprotein dan flavoprotein (Almatsier, 1997).

2.3.4. Kekurangan dan Kelebihan Protein

Kekurangan protein banyak terdapat pada masyarakat sosial ekonomi rendah. Kekurangan protein murni pada stadium berat menyebabkan kwashiorkor pada anak-anak di bawah lima tahun (balita). Kwashiorkor lebih banyak terdapat pada usia dua hingga tiga tahun yang sering terjadi pada anak yang terhambat menyapih sehingga komposisi gizi makanan tidak seimbang terutama dalam hal protein. Kwashiorkor dapat terjadi pada konsumsi energi yang cukup atau lebih. Gejalanya adalah pertumbuhan terhambat, otot-otot berkurang dan melemah, edema, muka bulat seperti bulan (*moonface*) dan gangguan psikomotor. Edema terutama pada perut, kaki, dan tangan merupakan ciri khas kwashiorkor dan kehadirannya erat kaitan dengan albumin dalam serum. Anak apatis, tidak nafsu

makan, tidak gembira dan suka merengek. Kulit mengalami depigmentasi, kering, bersisik, pecah-pecah, dan dermatosis. Luka sukar sembuh. Rambut mengalami depigmentasi, menjadi kurus, kusam, halus, dan mudah rontok (rambut jagung). Hati membesar dan berlemak; sering disertai anemia dan eroftalmia. Kwashiorkor pada orang dewasa jarang ditemukan.

Penyakit lainnya adalah marasmus. Marasmus pada umumnya merupakan penyakit pada bayi umur dua belas bulan pertama karena terlambat diberi makanan tambahan. Penyakit ini dapat terjadi karena penyapihan mendadak, formula pengganti ASI terlalu encer dan tidak higienis atau sering terkena infeksi terutama gastroenteritis. Marasmus berpengaruh jangka panjang terhadap mental dan fisik yang sukar diperbaiki.

Marasmus adalah penyakit kelaparan dan terdapat banyak diantara kelompok sosial ekonomi rendah di sebagian besar negara sedang berkembang dan lebih banyak dari pada kwashiorkor. Gejalanya adalah pertumbuhan terhambat, lemak di bawah kulit berkurang serta otot-otot berkurang dan melemah. Berat badan lebih banyak terpengaruh dari pada ukuran kerangka, seperti panjang, lingkaran kepala, dan lingkaran dada. Berkurangnya otot dan lemak dapat diketahui dari ukuran lingkaran lengan, lipatan kulit daerah bisept, trisept, skapula, dan umbilikal. Anak apatis dan terlihat seperti sudah tua. Tidak ada edema, tetapi seperti pada kwashiorkor kadang-kadang terjadi perubahan pada kulit, rambut dan pembesaran hati. Anak sering kelihatan waspada dan lapar. Sering terjadi gastroenteritis yang diikuti oleh dehidrasi, infeksi saluran pernafasan, tuberkulosis, cacangan berat, dan penyakit kronis lain. Marasmus sering diikuti defisiensi vitamin terutama vitamin A dan vitamin D.

Protein secara berlebihan tidak menguntungkan bagi tubuh. Makanan yang tinggi protein biasanya tinggi lemak sehingga dapat menyebabkan obesitas. Diet protein tinggi yang sering dianjurkan untuk menurunkan berat badan kurang beralasan. Kelebihan protein dapat menimbulkan masalah lain, terutama pada bayi. Kelebihan asam amino memberatkan ginjal dan hati yang harus memetabolisme dan mengeluarkan kelebihan nitrogen. Kelebihan protein dapat menimbulkan asidosis, dehidrasi, diare, kenaikan amoniak darah, kenaikan ureum darah, dan demam. Ini dapat dilihat dari bayi yang diberi susu skim atau formula dengan konsentrasi tinggi, sehingga konsumsi protein mencapai 6 g/kg berat badan. Batas yang dianjurkan untuk konsumsi protein adalah dua kali Angka Kecukupan Gizi (AKG) untuk protein (Almatsier, 1997).

2.3.5. Sumber Protein

Bahan makanan hewani merupakan sumber protein yang baik, dalam jumlah maupun mutu, seperti telur, susu, daging, unggas, ikan dan kerang. Sumber protein nabati adalah kacang kedelai dan hasilnya, seperti tempe dan tahu, serta kacang-kacangan yang lain. Kacang kedelai merupakan sumber protein nabati yang mempunyai mutu dan nilai biologi tertinggi. Seperti telah dijelaskan semula protein kacang-kacangan terbatas dalam asam amino metionin.

Bahan makanan hewani kaya dalam protein bermutu tinggi, tetapi hanya merupakan 18,4% konsumsi protein rata-rata penduduk Indonesia. Bahan makanan nabati yang kaya dalam protein adalah kacang-kacangan. Kontribusinya rata-rata terhadap konsumsi protein hanya 9,9%. Sayur dan buah-buahn rendah dalam protein, kontribusinya rata-rata terhadap konsumsi protein adalah 5,3%.

Gula, sirop, lemak, dan minyak murni tidak mengandung protein (Almatsier, 1997).

2.4. Tinjauan Farmakologi

Dalam proses pencernaan, protein akan dipecah menjadi satuan-satuan dasar kimia. Dimana protein terbentuk dari unsur-unsur organik yang hampir sama dengan karbohidrat dan lemak yaitu terdiri dari unsur karbon (C), hydrogen (H), dan oksigen (O), akan tetapi ditambah dengan unsur lain yaitu nitrogen (N). Satu molekul protein dapat terdiri dari 12 sampai 18 macam asam amino dan dapat mencapai jumlah ratusan asam amino (Page, 1997).

Protein yang terkandung dalam bahan makanan setelah dikonsumsi akan mengalami pencernaan menjadi unit-unit penyusunnya, yaitu asam amino. Asam amino inilah yang selanjutnya diserap oleh tubuh melalui dinding usus, masuk ke dalam peredaran darah dan disampaikan ke jaringan-jaringan tubuh.

Perombakan terhadap protein tidak terjadi dalam mulut, melainkan perombakan pertama kalinya di lambung. Dalam lambung, media atau cairan lambung yang sangat asam membantu dan mempermudah pepsin dalam melakukan perombakan rantai khusus ikatan peptide dari asam amino yang rantainya pendek disebut pepton. Selanjutnya sebagian protein yang sudah dicerna masuk dalam usus. Sekitar 30% protein dirombak menjadi asam amino sederhana yang dapat diserap oleh usus, dan 70% lagi dipecah menjadi dipeptide dan tripeptida yang terdiri dari lebih dari satu asam amino (Champe, 2011).

Didalam tubuh juga terjadi sintesa protein yang baru untuk mengganti protein yang lama. Waktu yang diperlukan untuk mengganti separuh dari jumlah kelompok protein tertentu dengan protein baru disebut *half time* atau waktu paruh

jangka hidup protein. Kebutuhan protein untuk tubuh manusia rata-rata sebesar 1gram protein/kg berat badan perhari (Champe, 2011).

2.5. Tinjauan Farmasetik

Beberapa industri farmasi saat ini sudah banyak yang membuat sediaan farmasi yang mengandung protein sebagai bahan obatnya, yang digunakan untuk kepentingan medis diantaranya adalah sebagai berikut (Mims, 2011; ISO, 2012):

1. Dexta Medica (Albuminar[®])

Albumin (human) 20 gr/100 ml larutan infus setara dengan 400 ml plasma normal. Indikasi : syok disebabkan oleh luka terbakar, trauma, operasi, dan infeksi. Kontra indikasi : anemia dan gagal jantung. Dosis dapat diberikan dengan atau tanpa pengenceran dengan larutan garam normal atau glukosa 5%, dosis awal 100 ml diberikan secepat yang dapat ditoleransi, bila belum memberikan efek yang sesuai yang diharapkan, tambahan 100 ml dapat diberikan.

2. Combiphar (Gammaraas[®])

Plasma immune globulin IV (human)5%, Dosis: IV imunodefisiensi primer atau sekunder; dosis bulanan: 100-200 mg/kgBB, Maks 300-400mg/kgBB. Purpura trombositopenia idiopatik 400mg/kgBB/Hari selama 5 hari; pemeliharaan 400mg/kgBB 1 kali perminggu. Sindrom Kawasaki 2 g/kgBB.

2.6. Analisis Protein

2.6.1. Uji Kualitatif

1. Reaksi Xantoprotein

Larutan asam nitrat pekat ditambahkan dengan hati-hati ke dalam larutan protein. Setelah dicampur terjadi endapan putih yang dapat berubah menjadi kuning apabila dipanaskan. Reaksi yang terjadi ialah nitrasi pada inti benzena

yang terdapat pada molekul protein. Reaksi ini positif untuk protein yang mengandung tirosin, fenilalanin dan triptofan (Bintang, 2011).

2. Reaksi Hopkins-Cole

Larutan protein yang mengandung triptofan dapat direaksikan dengan pereaksi Hopkins-Cole yang mengandung asam glioksilat. Pereaksi ini dibuat dari asam oksalat dengan serbuk magnesium dalam air. Setelah dicampur dengan pereaksi Hopkins-Cole, asam sulfat dituangkan perlahan-lahan sehingga membentuk lapisan di bawah larutan protein. Beberapa saat kemudian akan terjadi cincin ungu pada batas antara kedua lapisan tersebut (Bintang, 2011).

3. Reaksi Millon

Pereaksi Millon adalah larutan merkuro dan merkuri nitrat dalam asam nitrat. Apabila pereaksi ini ditambahkan pada larutan protein, akan menghasilkan endapan putih yang dapat berubah menjadi merah oleh pemanasan. Pada dasarnya reaksi ini positif untuk fenol-fenol, karena terbentuknya senyawa merkuri dengan gugus hidroksifenil yang berwarna (Sumardjo, 2008).

4. Metode Biuret

Larutan protein dibuat alkalis dengan NaOH kemudian ditambahkan larutan CuSO_4 encer. Uji ini untuk menunjukkan adanya senyawa-senyawa yang mengandung gugus amida asam yang berada bersama gugus amida yang lain. Uji ini memberikan reaksi positif yaitu ditandai dengan timbulnya warna merah violet atau biru violet (Sacher, 2004).

2.6.2. Uji Kuantitatif

Adapun analisa kuantitatif protein dapat dibagi sebagai berikut:.

1. Metode Spektrofotometri UV-Visible

Prinsip metode ini berdasarkan kemampuan protein menyerap (atau membaurkan) cahaya di daerah UV-Visible. Atau secara kimiawi atau fisik memodifikasi protein untuk membuatnya menyerap (atau membaurkan) cahaya di daerah UV-Visible. Prinsip dasar di balik masing-masing uji ini serupa (Sudarmadji, 1996).

Pertama-tama, semua serapan kurva kalibrasi dengan kadar protein disiapkan menggunakan satu seri larutan protein yang sudah diketahui kadarnya. Serapan larutan yang dianalisis kemudian diukur pada panjang gelombang yang sama, dan kadar protein ditentukan dari kurva kalibrasi. Perbedaan utama pengujian ini adalah gugus fungsi yang berperan untuk absorpsi atau pembiasan radiasi elektromagnetik, misalnya ikatan peptida, rantai samping aromatis, gugus inti dan agregat protein. Sejumlah metode UV-Visible untuk penetapan kadar protein sebagai berikut :

a) Pengukuran langsung pada 280nm

Tryptophan dan tyrosine mengabsorpsi kuat cahaya uv pada 280 nm. Kandungan tryptophan dan tyrosine berbagai protein umumnya konstan sehingga serapan larutan protein pada 280 nm dapat digunakan untuk menentukan kadarnya (Sudarmadji, 1996).

b) Metode Biuret

Warna violet akan terbentuk bila ion cupri (Cu^{2+}) berinteraksi dengan ikatan peptida dalam suasana basa. Reagen biuret, yang mengandung semua

bahan kimia yang diperlukan untuk analisis sudah tersedia di pasaran. Reagen ini dicampurkan dengan larutan protein, didiamkan 15-30 menit, kemudian diukur serapannya pada 540 nm.

Keuntungan utama dari teknik ini adalah tidak adanya gangguan dari senyawa yang menyerap pada panjang gelombang yang lebih rendah. Penyimpangan warna jarang ditemukan dibandingkan dengan metode lain, cepat dan sederhana, sangat sedikit substansi lain yang terdeteksi (Sudarmadji, 1996).

c) Metode Lowry

Metode Lowry mengkombinasikan pereaksi biuret dengan pereaksi lain (Folin-Ciocalteu phenol) yang bereaksi dengan residu tyrosine dan tryptophan dalam protein. Reaksi ini menghasilkan warna kebiruan yang bisa dibaca di antara 500-750 nm, tergantung sensitivitas yang dibutuhkan. Akan muncul puncak kecil di sekitar 500 nm yang dapat digunakan untuk menentukan protein dengan konsentrasi tinggi dan sebuah puncak besar di sekitar 750 nm yang dapat digunakan untuk menentukan kadar protein dengan konsentrasi rendah (Sudarmadji, 1996).

d) Metode Turbidimetri

Molekul protein yang umumnya larutan dapat dibuat mengendap dengan penambahan senyawa kimia tertentu, seperti asam trikloroasetat. Pengendapan protein menyebabkan larutan menjadi keruh, sehingga konsentrasi protein dapat ditentukan dengan mengukur derajat kekeruhan (turbiditas) (Sudarmadji, 1996).

e) Metoda Kjeldahl

Prinsip metode ini yaitu senyawa nitrogen dilepaskan dari sampel melalui destruksi menggunakan asam sulfat pekat dengan bantuan panas hingga didapat larutan jernih, dimana senyawa nitrogen terikat oleh sulfat membentuk ammonium sulfat. Selanjutnya ammonium sulfat diubah menjadi garam basa ammonium hidroksida (NH_4OH) dengan penambahan NaOH. NH_4OH didestilasi menggunakan panas uap untuk memisahkan senyawa amoniak. Amoniak ditangkap oleh asam borat membentuk ammonium borat dan selanjutnya dilakukan titrasi dengan asam klorida. Penetapan jumlah nitrogen dihitung secara stokiometri dan kadar protein diperoleh dengan mengalikan jumlah nitrogen dengan faktor konversi. Metode Kjeldahl terdiri dari tiga langkah : destruksi, netralisasi dan titrasi (Sudarmadji, 1996).

2.7. Spektrofotometri UV-Visible

Spektrofotometri UV-Visible merupakan gabungan antara spektrofotometri UV dan Visible. Alat ini menggunakan dua buah sumber yang berbeda, yaitu sumber cahaya UV dan sumber cahaya Visible. Spektrofotometri UV-Visible adalah suatu teknis analisis spektroskopi yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) (Aeni, 2012).

2.7.1. Prinsip Spektrofotometri UV-Visible

Prinsip dari spektrofotometer UV-Visible ini adalah radiasi pada rentang panjang gelombang 200-700 nm dilewatkan melalui suatu larutan senyawa. Elektron-elektron pada ikatan di dalam molekul menjadi terseksitasi sehingga menempati keadaan kuantum yang lebih tinggi dan dalam proses menyerap

sejumlah energi yang melewati larutan tersebut. Semakin longgar elektron tersebut ditahan didalam ikatan molekul, semakin panjang gelombang (energi lebih rendah) radiasi yang diserap (Watson, 2009).

Hukum Lambert-Beer menyatakan bahwa intensitas yang diteruskan oleh larutan zat penyerap berbanding lurus dengan tebal dan konsentrasi larutan. Hal tersebut sesuai dengan persamaan:

$$A = a \cdot b \cdot c$$

$$A = \text{Log } I_0/I$$

Dimana : A = absorban

a = absorptivitas

b = tebal kuvet (cm)

c = konsentrasi

I_0 = intensitas mula-mula

I = intensitas sinar yang melewati media

Kuantitas spektroskopi yang diukur biasanya adalah transmitans (T) = I/I_0 dan absorbansi (A) yang mana $A = \text{Log } 1/T$. Absorbtivitas (a) merupakan suatu konstanta yang tidak tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet, dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel. Absorptivitas tergantung pada suhu, pelarut, struktur molekul, dan panjang gelombang radiasi. Satuan a ditentukan oleh satuan-satuan b dan c . Jika satuan c dalam molar (M) maka absorptivitas disebut dengan absorptivitas molar dan disimbolkan dengan ϵ dengan satuan $M^{-1} \text{cm}^{-1}$ atau liter $\text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$. Jika c dinyatakan dengan persen berat/volume (g/100 mL) maka absorptivitas dapat ditulis dengan $E_{1\text{cm}}^{1\%}$

Dalam hukum Lambert-Beer tersebut ada beberapa pembatasan yaitu:

- a. Sinar yang digunakan dianggap monokromatis.
- b. Penyerapan terjadi dalam suatu volume yang mempunyai penampang luas yang sama.
- c. Senyawa yang menyerap dalam larutan tersebut tidak tergantung terhadap yang lain dalam larutan tersebut.
- d. Tidak terjadi peristiwa fluoresensi atau fosforesensi.
- e. Indeks bias tidak tergantung pada konsentrasi larutan (Gandjar dan Rohman, 2007).

Apabila suatu larutan mendapat radiasi berupa sinar polikromatik yaitu sinar yang terdiri atas beberapa macam warna (polikromatis), maka hanya sinar dengan panjang gelombang tertentu yang diserap, sedangkan sinar dengan panjang gelombang lain diteruskan melalui larutan tersebut. Sinar mempunyai warna yang tidak diserap akan diteruskan. Warna yang diteruskan sebenarnya adalah warna larutan tersebut, sedangkan warna komplementer dari warna itu tidak diteruskan atau yang diserap yaitu warna seperti yang terlihat oleh mata (Sudarmadji, 1997).

2.7.2. Sistem Peralatan Spektrofotometer UV-Visible

Spektrofotometer UV-Vis merupakan pengukuran suatu interaksi antara elektromagnetik dan molekul atau atom dari suatu zat kimia. Spektrofotometer yang cocok untuk pengukuran di daerah spektrum ultraviolet dan cahaya tampak terdiri dari suatu optik dengan kemampuan menghasilkan cahaya monokromatik dalam jangkauan 200-800 nm (Dachriyanus, 2004).

Bagian-bagian alat spektrofotometer UV-Vis antara lain :

a. Sumber Cahaya

Untuk mendapatkan pengukuran absorban yang cocok, sumber cahaya hendaknya menghasilkan sinar dengan kekuatan yang cukup *continue* dan merata pada panjang gelombang yang dikehendaki dan stabil selama waktu yang diperlukan.

b. Monokromator

Digunakan untuk menghamburkan cahaya kedalam panjang gelombang unsur-unsurnya, yang diseleksi lebih lanjut dengan celah monokromator berotasi sehingga rentang panjang gelombang dilewatkan melalui sampel.

c. Kuvet

Kuvet atau bejana tempat larutan dibuat sedemikian rupa sehingga dapat meneruskan sinar yang digunakan dan dinding sel yang akan ditentukan harus tegak lurus terhadap cahaya yang masuk, kuvet digunakan untuk sinar tampak yang biasanya terbuat dari kaca atau plastik dan sedangkan ultraviolet digunakan kuarsa.

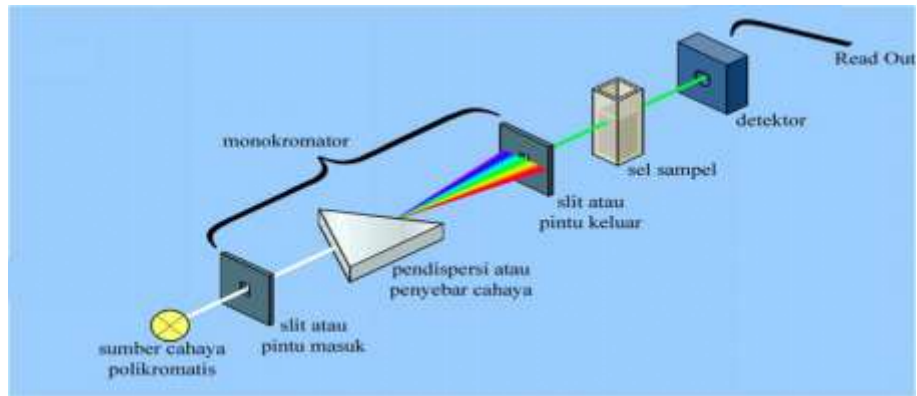
d. Detektor

Detektor adalah suatu alat yang dapat mengubah energi sinar menjadi listrik dengan menyerap energi foton sinar yang jatuh dirubah menjadi besaran yang dapat di ukur.

e. Alat baca (Recorder)

Recorder adalah suatu alat untuk membaca isyarat dari detektor. Untuk menganalisa kimia secara spektrofotometri pengaruh berkurangnya intensitas sinar

yang disebabkan oleh pemantulan pada dinding kuvet dapat dihilangkan dengan pemakaian sel pembanding yang disebut blanko.



Gambar 2. Diagram Spektrofotometer UV-Visible (David, 2005)

BAB III. METODA PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan dari Januari - Maret 2019 Laboratorium LLDIKTI wilayah X Padang Sumatera Barat.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer UV-Visible (T-70 series), sentrifus (H-C-12 centrifuge), seperangkat alat destilasi (Pyrex), statif & klem, erlemeyer 100 ml (Pyrex), labu ukur (50 ml, 100 ml) (Pyrex), gelas ukur (5 ml, 50 ml), beaker glass (Pyrex) 250 ml, batang pengaduk, timbangan analitik (Denver), spatel, pipet tetes, pipet ukur (2 ml, 10 ml, 25 ml) (Pyrex), pipet gondok 10 ml (Pyrex), filler (Marienfeld), kaca arloji, stamper & mortil, oven (Mettler), desikator, corong, penangas air, tanur (Furnes), cawan porselin (Pyrex).

3.2.2. Bahan

Bahan utama yang digunakan untuk penetapan kadar protein dalam penelitian ini adalah tempe bungkus daun pisang, aquadest, N-heksan (Bratachem), natrium hidroksida 0,1 N (Meck), asam klorida 0,1 N 9 (Merck), natrium hidroksida 10% (Merck), tembaga (II) sulfat asam nitrat 0,1%, HNO₃ 0,5 N (Merck), asam asetat p.a (Merck), natrium asetat p.a (Merck), dan larutan BSA induk (*Bovine Serum Albumin*) 22 % (J.Mitra & Co. Pvt. Ltd).

3.3. Prosedur dan Cara Kerja

3.3.1. Pengambilan Sampel dan Penyiapan Sampel

Sampel tempe yang dibungkus daun pisang diperoleh dari pabrik pengolahan tempe di daerah Alai, Padang, Sumatra Barat. Dimana tempe basah di iris tipis-tipis ditimbang 200 gram, dikeringkan dan digerus sampai halus, diayak dengan ayakan ukuran 100 mesh. Semua hasil serbuk tempe diekstrak lemaknya dengan memakai n-heksan, dengan cara semua hasil serbuk tempe dibungkus menggunakan kertas saring dan dimasukkan kedalam selongsong, lalu dipasangkan ke alat sokhlet yang telah dihubungkan dengan labu lemak, 50 ml n-heksan dimasukkan ke dalam alat sokhlet. Proses ekstraksi dilakukan selama ± 4 jam. Setelah proses ekstraksi selesai didapatkan ampas dan ekstrak, lalu ampas diambil dan dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 37°C selama 30 menit. Kemudian didinginkan dalam desikator selama 15 menit, didapatkan serbuk tempe bebas lemak (Winarno, 1993).

3.3.2. Pembuatan Reagensia

3.3.2.1. Larutan NaOH 10%

NaOH ditimbang 10 gram dilarutkan dalam aquadest 30 ml, masukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan di encerkan sampai tanda batas (Mulyono, 2006).

3.3.2.2. Buffer Asetat pH 5

Larutan buffer ini merupakan campuran dari 2,8 ml asam asetat 0,2 M dengan 5 ml natrium asetat 0,2 M maka terlebih dahulu dibuatlah:

a. Larutan asam asetat 0,2 M

Encerkan 1,2 ml asam asetat glasial 100% dengan aquadest ad 100 mL.

b. Larutan natrium asetat 0,2 M

Larutan 1,64 gram natrium asetat dengan aquadest ad 100 ml. Setelah itu campurkan kedua larutan dalam labu ukur 100 ml, tambahkan aquadest sampai tanda batas dan kocok. Ukur pH larutan yang dikehendaki yaitu 5 (Tarmizi, 2008).

3.3.2.3. Pembuatan Larutan HCl 0,1 N

Asam klorida pekat 8,29 ml diencerkan dengan aquadest sampai 1 liter (Mulyono, 2006).

3.3.2.4. Pembuatan Larutan HNO₃

Diambil HNO₃ sebanyak 5 ml dimasukkan dalam labu ukur 1000 ml, kemudian diencerkan dengan air suling (Mulyono, 2006).

3.3.2.5. Pembuatan Larutan NaOH 0,1 N

NaOH ditimbang 4 gram dimasukkan kedalam gelas piala 250 ml ditambahkan aquadest hingga larut. Masukkan kedalam labu takar 1000 ml, tambahkan aquadest sampai tanda batas (Mulyono, 2006).

3.4. Isolasi Protein

Serbuk tempe yang bebas lemak di isolasi proteinnya dengan cara: dimasukkan kedalam labu ukur 500 ml ditambahkan aquadest sampai tanda batas, lalu diambil dari labu ukur 100 ml sampel dan dimasukkan kedalam beker glass. Kemudian dibasakan dengan NaOH 0,1 N sampai pH 8. Kemudian diaduk dengan suhu divariasikan yaitu 30; 40; 50; 60; 70°C waktu masing-masing 15 menit dengan perlakuan yang sama. Lalu disaring dan filtratnya diasamkan dengan HCl 0,1 N sampai pH 5. Pada pH 5 protein yang terlarut mengendap, setelah itu

panaskan pada suhu 70°C selama 10 menit. Selanjutnya disimpan didalam lemari es selama 1 malam. Protein yang mengendap dipisahkan dengan membuang larutan atas dengan menggunakan pipet tetes, endapan dicuci dengan aquadest, lalu dibiarkan selama 2 hari dilemari es untuk memisahkan sebagian air. Endapan protein dibiarkan pada suhu kamar, ditimbang dan selanjutnya dianalisa kadar proteinnya (Winarno, 1993).

3.5. Karakterisasi Isolat Protein

3.5.1. Rendemen Isolat Protein

Rendemen dinyatakan dalam persentase berat produk akhir yang dihasilkan per berat bahan olahan (Moayed, 2010). Dapat dirumuskan sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat akhir sampel}}{\text{berat awal sampel}} \times 100\%$$

3.5.2. Organoleptis Isolat Protein

Pemeriksaan organoleptis meliputi pengamatan bentuk, warna, rasa, dan bau (Saleh, 2004).

3.5.3. Penentuan Kadar Abu Isolat Protein

Ditimbang masing- masing sampel sebanyak 2 g, dimasukkan kedalam krus yang telah dipijar dan ditara. Pijarkan perlahan- lahan dalam furnace pada suhu 600°C, dinginkan dalam desikator dan timbang (Sudarmadji, 1997).

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{C-A}{B-A} \times 100 \%$$

A = berat krus kosong

B = berat krus + sampel sebelum dipijar

C = berat krus + sampel setelah dipijar

3.5.4. Penentuan Kadar Air Isolat Protein

Ditimbang masing- masing sampel sebanyak 2 g, dimasukkan dalam krus porselen bertutup sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara. Kemudian krus berisi sampel dipanaskan pada suhu 105°C selama 3 - 5 jam. Setelah itu dikeluarkan dan dinginkan dalam desikator lalu ditimbang. Dilakukan dengan cara yang sama sampai diperoleh berat konstan (Sudarmadji, 1997).

$$\% \text{Kadar Air} = \frac{(B-A)-(C-A)}{B-A} \times 100 \%$$

A = berat krus kosong

B = berat krus + sampel sebelum dipanaskan

C = berat krus + sampel setelah dipijar

3.5.5. Analisa Kualitatif Protein

3.5.5.1. Uji Biuret

Dibuat larutan sampel 2% dalam aquadest. Ambil 1 ml sampel, tambahkan 1ml NaOH 10%, kemudian tambahkan 1 ml CuSO₄ 0,1% kocok. Reaksi positif terbentuknya warna kemerah-merahan sampai ungu (Sudarmadji, 1996).

3.5.5.2. Uji Ninhidrin

Dibuat larutan sampel 2% dalam aquadest. Ambil 1 ml sampel, tambahkan 1 ml pereaksi ninhidrin, kemudian panaskan. Reaksi positif terbentuknya warna biru (Sudarmadji, 1996).

3.5.5.3. Uji Xanthoprotein

Dibuat larutan sampel 2% dalam aquadest. Ambil 1 ml sampel, tambahkan

1ml HNO₃ pekat, kemudian panaskan. Reaksi positif dengan terbentuknya endapan putih segera menjadi kuning (Sudarmadji, 1996).

3.5.5.4. Uji Millon

Kedalam 1 ml larutan protein ditambahkan 1 ml HgCl₂ 1%. Reaksi positif didapatkan bila pereaksi tersebut menghasilkan endapan putih (Sudarmadji, 1996).

3.6. Penentuan Kadar Protein Isolat

3.6.1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Larutan BSA 6,6% dengan Spektrofotometer UV-Visible

Dipipet sebanyak 0,9 ml larutan BSA 22% ke dalam tabung reaksi kemudian tambahkan pereaksi biuret 0,8 ml dan tambahkan aquadest sebanyak 1,3 ml, sehingga diperoleh konsentrasi BSA 6,6%. Diamkan selama 10 menit hingga terbentuk warna ungu yang stabil, lalu serapan diukur pada panjang gelombang 400-800 nm. Dicatat panjang gelombang serapan maksimum yang diperoleh (Jubaidah, 2016).

3.6.2. Pembuatan Kurva Kalibrasi Larutan BSA

Disiapkan enam tabung reaksi. Tabung pertama diisi larutan blanko yaitu 0,8 ml reagen biuret dan aquadest 2,2 ml. Pada tabung kedua, diisi larutan standar BSA konsentrasi 6,6 % dengan cara mengambil sebanyak 0,9 ml larutan BSA. Kemudian tambahkan pereaksi biuret 0,8 ml dan cukupkan dengan aquadest 1,3 mL. Pada tabung ketiga, diisi larutan standar BSA konsentrasi 8,8% dengan cara mengambil sebanyak 1,2 ml larutan BSA, kemudian tambahkan pereaksi biuret 0,8 ml dan cukupkan dengan aquadest 1,0 ml.

Pada tabung keempat, diisi larutan standar BSA konsentrasi 11% dengan cara mengambil sebanyak 1,5 ml larutan BSA, kemudian tambahkan pereaksi

biuret 0,8 ml dan cukupkan dengan aquadest 0,7 ml. Pada tabung kelima, diisi larutan standar BSA konsentrasi 13,2% dengan mengambil sebanyak 1,8 ml larutan BSA, kemudian tambahkan pereaksi biuret 0,8 ml dan cukupkan dengan aquadest 0,4 ml. Pada tabung keenam, diisi larutan standar BSA konsentrasi 15,4% dengan cara mengambil sebanyak 2,1 ml larutan BSA, kemudian tambahkan pereaksi biuret 0,8 ml dan cukupkan dengan aquadest 0,1 ml.

Keenam larutan pada tabung reaksi tersebut didiamkan selama 10 menit hingga terbentuk warna ungu yang stabil. Setelah itu, diukur absorbansi masing-masing larutan pada tabung reaksi dengan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum yang diperoleh (Sumantri, 2007).

3.6.3. Uji Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantisasi (BK)

Uji ini dilakukan dengan mengukur konsentrasi standar yang paling rendah yang dapat terdeteksi absorbansinya (Ibrahim, 1997).

BD dapat dihitung dengan rumus:

$$BD = \frac{3 \times SD_{X/Y}}{\text{Slope}}$$

Sedangkan BK dapat dihitung dengan rumus:

$$BK = \frac{10 \times SD_{x/y}}{\text{Slope}}$$

3.6.3. Pengukuran Kadar Protein Isolat dengan Spektrofotometri UV-Visible

Protein tempe ditimbang dengan seksama sebanyak 1 gram, dimasukkan labu ukur 100 ml lalu dicukupkan dengan aquadest sampai tanda batas, Kemudian dipipet 2,1 ml sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 0,8 ml reagen biuret dan 0,1 ml larutan buffer asetat pH 5. Didiamkan selama 10 menit,

kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali (Purwanto, 2014).

3.7. Pengolahan Data Kadar Protein

Data yang diolah berdasarkan data yang diperoleh dari pengukuran larutan standar dengan membuat kurva kalibrasinya. Konsentrasi larutan sampel dihitung berdasarkan kurva kalibrasi larutan standar (Purwanto, 2014). Sehingga kadar protein dalam masing-masing sampel dapat dihitung dengan rumus:

$$C_s = \frac{C_x V_x F_p}{W} \times 100\%$$

Keterangan:

C = Konsentrasi larutan sampel (%)

V = Volume total larutan sampel (ml)

F_p = Faktor pengenceran

W = Berat sampel (gram)

3.7.1. Uji Analisa Varian (ANOVA Satu Arah) Dengan menggunakan SPSS 23.0.

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini yaitu Varian (ANOVA) 1 arah, dikarenakan pada penelitian ini membandingkan dua variabel, yaitu Variabel bebas dan terikat, Variabel bebas adalah suhu yang digunakan, sedangkan variabel terikat adalah nilai atau kadar dari masing-masing suhu, dengan menggunakan SPSS dan dilanjutkan dengan uji Duncan.

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

Setelah dilakukan penelitian mengenai analisa protein pada tempe yang dibungkus daun pisang dengan Spektrofotometri UV-Vis, maka diperoleh hasil sebagai berikut :

1. Hasil isolasi dari serbuk tempe bebas lemak didapatkan isolat protein dengan hasil pemeriksaan rendemen 17,4563 gram isolat pada suhu 30°C 49,51%, suhu 40°C 45,27%, suhu 50°C 36,10%, suhu 60°C 34,10%, dan suhu 70°C 32,71%. Persen rata-rata rendemen tidak kurang dari 18% (Lampiran 6, Tabel 2).
2. Hasil pemeriksaan karakteristik organoleptis isolat protein, berbentuk serbuk, tidak berbau, berwarna putih kekuningan, dan tidak berasa.
3. Nilai rata- rata kadar abu isolat protein pada suhu 30°C 0,74%, suhu 40°C 0,71%, suhu 50°C 0,71%, suhu 60°C 0,70%, suhu 70°C 0,70%, dan tanpa pemanasan 0,75% (Lampiran 8, Tabel 3).
4. Nilai rata- rata kadar air isolat protein pada suhu 30°C 61,27%, suhu 40°C 58,78%, suhu 50°C 56,36%, suhu 60°C 54,02%, suhu 70°C 53,72%, dan tanpa pemanasan 64,59% (Lampiran 9, Tabel 4).
5. Hasil analisa kualitatif protein pada isolat protein yang direaksikan dengan reagen biuret positif memberikan warna ungu sedangkan dengan uji reagen ninhidrin positif memberikan warna biru, dan uji xantoprotein memberikan warna kuning, dan uji millon positif endapan putih (Lampiran 10, Tabel 5).

6. Hasil pemeriksaan panjang gelombang serapan maksimum bovin serum albumin yang diukur pada rentang panjang gelombang 400-800 nm adalah 532 nm dengan absorban 0,235 (Lampiran 11, Gambar 16).
7. Hasil pembacaan absorban dan kurva kalibrasi pada konsentrasi 6,6% didapatkan absorban 0,235; konsentrasi 8,8% absorban 0,286; konsentrasi 11% absorban 0,336; konsentrasi 13,2% absorban 0,379 dan konsentrasi 15,4% absorban 0,422 (Lampiran 11, Tabel 6).
8. Hasil perhitungan koefisien korelasi $r = 0,9990$; koefisien regresi $b = 0,021$; $a = 0,0981$ (Lampiran 11 lanjutan, Tabel 7).
9. Hasil perhitungan batas deteksi dan batas kuantisasi didapatkan nilai simpangan baku 0,0047, nilai batas deteksi 0,67 dan nilai batas kuantisasi 2,23 (Lampiran 11 lanjutan, Tabel 8).
10. Hasil perhitungan kadar protein isolat pada suhu $30^{\circ}\text{C} = 0,126\%$, suhu $40^{\circ}\text{C} = 0,097\%$, suhu $50^{\circ}\text{C} = 0,090\%$, suhu $60^{\circ}\text{C} = 0,077\%$, suhu $70^{\circ}\text{C} = 0,070\%$, dan tanpa pemanasan = 0,143% (Lampiran 12, Tabel 9).
11. Hasil perhitungan SD dan KV sampel pada suhu 30°C 0,0031 dan 2,46, sampel suhu 40°C 0,0025 dan 2,52, sampel suhu 50°C 0,0012 dan 1,33, sampel suhu 60°C 0,0025 dan 3,24, sampel suhu 70°C 0,0021 dan 3,00 dan tanpa pemanasan 0,0067 dan 4,68 (Lampiran 12 lanjutan).
12. Hasil perhitungan ANOVA menunjukkan bahwa nilai F hitung = 265,225 dengan signifikan 0,000 ($< 0,05$), hal ini menunjukkan bahwa pemanasan mempengaruhi kadar protein secara bermakna (Lampiran 13, Tabel 10).

4.2. Pembahasan

Pada penelitian ini digunakan sampel tempe yang dibungkus daun pisang. Sampel diperoleh dari pabrik pengolahan tempe di daerah Alai, Padang, Sumatra Barat. Pemilihan sampel karena harga yang relatif murah memberikan alternatif pilihan dalam pengadaan makanan bergizi yang terjangkau.

Dilakukan isolasi protein dari serbuk tempe yang bebas lemak dengan suhu divariasikan yaitu 30; 40; 50; 60; 70°C untuk mendapatkan isolat protein dengan pemeriksaan rendemen isolat pada suhu 30°C 49,51%, suhu 40°C 45,27%, suhu 50°C 36,10%, suhu 60°C 34,10%, dan suhu 70°C 32,71%. Semakin tinggi suhu hasil rendemen semakin menurun karena menyebabkan kandungan air yang teruapkan lebih banyak. Suhu merupakan salah satu faktor penentu dalam proses pengeringan. Selain itu sifat bahan yang dikeringkan seperti kadar air awal dan ukuran produk akan mempengaruhi proses pengeringan (Ramelan, 1996). Menurut syarat mutu rendemen SNI 01 - 3144 -2009 tidak kurang dari 18%.

Pemeriksaan karakteristik organoleptis isolat protein, pengujian dengan menggunakan alat indra manusia yang memiliki peranan penting dalam penerapan penerapan mutu. Pengujian organoleptik adalah pengujian yang didasarkan pada proses penginderaan. Bagian organ tubuh yang berperan dalam penginderaan adalah mata, telinga, indera pencicip, indera pembau dan indera perabaan atau sentuhan (Saleh, 2004). Hasil uji organoleptik menunjukkan bentuk serbuk, tidak berbau, berwarna putih kekuningan, dan tidak berasa.

Pada pengujian kadar abu diperoleh nilai rata-rata isolat tanpa pemanasan yaitu 0,75%, isolat pada suhu 30°C yaitu 0,74%, isolat pada suhu 40°C yaitu 0,71%, isolat pada suhu 50°C yaitu 0,71%, isolat pada suhu 60°C yaitu 0,70%,

dan isolat pada suhu 70°C yaitu 0,70% . Berdasarkan hasil yang diperoleh, terlihat pengukuran kadar abu dari sampel tempe yang dibungkus daun pisang mengalami penurunan disebabkan variasi suhu. Pengujian kadar abu dilakukan untuk mengetahui sisa yang tidak menguap dari suatu simplisia dari pembakaran. Kadar abu menggambarkan kandungan mineral dari sampel bahan makanan. Kadar abu merupakan material yang tertinggal bila bahan makanan dipijarkan dan dibakar pada suhu 500 – 800 °C semua bahan organik akan terbakar sempurna menjadi air dan CO₂ serta NH₃ sedangkan elemen- elemen yang tertinggal merupakan hasil oksidasinya (Soediatama, 1986). Menurut syarat mutu tempe kedelai SNI 01 – 3144 – 2009, kadar abu maksimal adalah 1,5 % sehingga kadar abu tempe yang dibungkus daun pisang memenuhi syarat mutu kadar abu tempe.

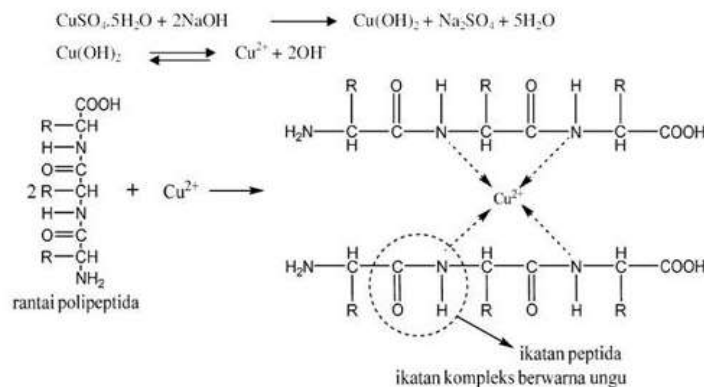
Pada penentuan kadar air yang dilakukan, diperoleh rata- rata kadar air tanpa pemanasan yaitu 64,59%, pada suhu 30°C yaitu 61,27%, suhu 40°C yaitu 58,78%, suhu 50°C yaitu 56,36%, suhu 60°C yaitu 54,02%, dan suhu 70°C yaitu 53,72%. Penentuan kadar air prinsipnya yaitu menguapkan air yang ada dengan cara pemanasan. Kemudian menimbang bahan sampai berat konstan yang berarti semua air sudah diuapkan (Sudarmadji, 1997). persentase senyawa yang hilang selama proses pemanasan (tidak hanya menggambarkan air yang hilang, tetapi juga senyawa menguap lain yang hilang). Menurut syarat mutu tempe kedelai SNI 01 – 3144 – 2009, kadar air maksimal adalah 65 %, sehingga kadar air tempe yang dibungkus daun pisang memenuhi syarat mutu kadar air tempe.

Uji analisa kualitatif protein pada isolat protein tempe yang direaksikan dengan reagen biuret positif berwarna ungu, dengan reagen ninhidrin positif

memberikan warna biru, uji reagen xantoprotein positif memberikan warna kuning, dan pada reagen millon positif memberikan endapan putih. Hal ini menandakan sampel uji mengandung protein.

Setelah uji kualitatif, dilakukan pengukuran kadar protein dengan metode biuret karena metode ini didasarkan pada pengukuran serapan cahaya berwarna ungu terbentuk karena adanya reaksi antara ion Cu^{2+} dari pereaksi biuret dalam suasana basa dengan polipeptida atau ikatan-ikatan peptida yang menyusun protein. Reagen biuret pada metode ini mengandung ion Cu^{2+} yang akan bereaksi dengan gugus N pada ikatan peptida protein dalam suasana basa dimana ion Cu^{2+} hanya dapat mengikat protein jika larutan dikondisikan menjadi basa, dalam hal ini NaOH pada reagen biuret merupakan agen pembuat suasana basa (Bintang, 2010).

Keuntungan dari metode biuret ini adalah bahan yang digunakan relatif murah akan tetapi kelemahan dari metode ini adalah sensitivitas terhadap bahan yang diidentifikasi rendah sehingga diperlukan bahan dalam jumlah yang tidak sedikit.



Gambar 3. Reaksi antara ikatan peptida dengan ion Cu (berasal dari Pereaksi Biuret) dalam suasana basa.

Penentuan panjang gelombang serapan maksimum bovin serum albumin dilakukan pada rentang panjang gelombang 400–800 nm. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa panjang gelombang serapan maksimum terdapat pada panjang gelombang 532 nm dengan nilai absorbansi 0,235 dikarenakan bovin serum albumin membentuk warna ungu yang menyerap pada panjang gelombang tersebut. Oleh karena itu, panjang gelombang 532 nm digunakan sebagai patokan untuk pengukuran selanjutnya. BSA dalam penelitian ini berfungsi untuk membuat kurva standar. BSA digunakan karena stabilitas untuk meningkatkan sinyal dalam tes, kurangnya efek dalam reaksi biokimia, dan biaya rendah, karena jumlah besar maka dapat segera dimurnikan dari darah sapi, produk sampingan dari industri ternak (Sudarmadji, 1997).

Kurva kalibrasi dibuat dari pengukuran bovin serum albumin pada panjang gelombang maksimum dengan variasi konsentrasi larutan baku konsentrasi 6,6%; 8,8%; 11%; 13,2% dan 15,4% dengan absorbansi masing-masingnya 0,235; 0,286; 0,336; 0,379; 0,422. Berdasarkan hasil yang didapat semakin besar konsentrasi BSA maka nilai absorbansinya juga semakin besar, ini menyatakan bahwa terdapat hubungan antara konsentrasi dan absorbansi. Kurva kalibrasi yang terbentuk memiliki persamaan regresi $y = 0,0981 + 0,021x$ dengan nilai koefisien korelasi (r) = 0,9990 (Sumantri, 2007).

Setelah persamaan regresi diperoleh tentukan juga Batas deteksi (BD) dan Batas Kuantitasi (BK). Batas deteksi (BD) merupakan kadar senyawa terkecil yang dapat dianalisis yang dapat memberikan respon signifikan. Sedangkan batas kuantitasi (BK) adalah jumlah senyawa terkecil yang dapat dianalisis (Buick, 1990). Dari hasil pengujian diperoleh batas deteksi pada konsentrasi 0,67 dan

batas kuantitasi pada konsentrasi 2,23. Penentuan nilai batas deteksi dan kuantitasi sangat tergantung pada nilai b (kemiringan garis), dimana hubungan linear yang ideal dicapai jika nilai $b = 0$ dan $r = 1$ atau $r = -1$ tergantung pada arah garis. Metode analisis dikatakan kurang sensitif apabila b bernilai negatif sehingga memberikan BD dan BK yang lebih besar (Ibrahim, 1997).

Penentuan kadar protein isolat protein tempe dilakukan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Metode ini memerlukan pengompleks sehingga dapat membentuk warna yang spesifik dapat terukur dalam Spektrofotometer UV-Vis. Sampel tempe sebelum ditentukan kadar proteinnya, dilakukan terlebih dahulu, preparasi sampel penghalusan dan pengeringan dengan cara digerus sampai halus dan dikeringkan dibawah sinar matahari. Tujuan menghaluskan sampel ini untuk memperluas permukaan sampel, sehingga menjadi homogen dan reaksi semakin cepat berlangsung.

Hasil analisa protein dengan spektrofotometri UV-Vis dengan metode biuret pada isolat protein tempe tanpa pemanasan 0,143% dan dengan variasi suhu 30°C; 40°C; 50°C; 60°C; 70°C yaitu 0,126%; 0,097%; 0,090%; 0,077%; 0,070%. Perbandingan variasi suhu didapatkan hasil yang paling baik pada suhu 30°C ditandai dengan tingginya kadar protein pada sampel dibanding suhu lainnya, karena terjadinya denaturasi pada protein disebabkan oleh banyak faktor, seperti pengaruh pemanasan, asam atau basa, garam, dan pengadukan. Protein akan mengalami denaturasi apabila dipanaskan pada suhu 50°C sampai 80°C. Laju denaturasi protein dapat mencapai 600 kali untuk tiap kenaikan 10°C (Poedjiadi, 1994).

Pada penelitian ini dilakukan uji ANOVA 1 arah, dikarenakan pada penelitian ini membandingkan dua variabel, yaitu Variabel bebas dan terikat, Variabel bebas adalah suhu yang digunakan, sedangkan variabel terikat adalah nilai atau kadar dari masing-masing suhu, dengan menggunakan SPSS dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil perhitungan ANOVA menunjukkan bahwa nilai F hitung 265,225 dengan signifikan 0,00 ($< 0,05$), hal ini menunjukkan bahwa suhu mempengaruhi kadar protein secara bermakna (Lampiran 13).

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh variasi suhu isolasi terhadap kadar protein tempe yang dibungkus daun pisang. Dengan suhu isolasi 30°C, 40°C, 50°C, 60°C dan 70°C didapatkan suhu optimal untuk mengisolasi kadar protein adalah suhu 30°C. Memberikan kadar protein tertinggi dibanding suhu lainnya.
2. Pada suhu optimal 30°C didapatkan kadar protein tempe yang dibungkus daun pisang yaitu 0,126%.

5.2. Saran

Diharapkan pada penelitian selanjutnya dapat melakukan penetapan kadar protein tempe yang dibungkus daun pisang dengan memvariasikan lama pengadukan pada suhu isolasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Adisarwanto, T. 2005. *Kedelai*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Aeni, N. 2012. *Spektrofotometer UV-Visible*. Universitas Tadulako. Palu.
- Almatsier, S. 1997. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Astawan, M. 2008. *Sehat Dengan Tempe . Panduan Lengkap Menjaga Kesehatan dengan Tempe*. PT Dian Rakyat. Jakarta.
- Astuti, N. P. 2009. *Sifat Organoleptik Tempe Kedelai Yang Dibungkus Plastik*. Fakultas Ilmu Kesehatan. UMS. Skripsi.
- Bintang, M. 2010. *Biokimia Teknik Penelitian*. Jakarta: Erlangga.
- Bintang, M. 2011. *Biokimia Teknik Penelitian*. Bogor: Erlangga.
- Cahyadi, W. 2012. *Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan*. Penerbit Bumi aksara. Jakarta.
- Cahyono, B. 2007. *Kedelai. Teknik Budidaya dan Analisis Usaha Tani*. C.V. Aneka Ilmu. Semarang.
- Champe, Pamela C. 2011. *Biokimia Ulasan Bergambar*. EGC. Jakarta.
- Dachriyanus. 2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi Cetakan I*. Padang: Andalas University Press. Hal. 39
- David, W. 2005. *Analisis Farmasi Edisi 2*. EGC : Penerbit Buku Kedokteran.
- Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI. 2004. *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Bintara Aksara. Jakarta.
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. Hal. 419, 425.
- Hermana dan Karmini, M. 1999. *The Development of Tempe Technology*. Di dalam Agranoff, J (editor dan penerjemah), *The Complete Handbook of Tempe: The Unique Fermented Soyfood of Indonesia*, hlm. 80-92. Singapura: The American Soybean Association. 23 page.
- Ibrahim, S. 1997. *Penggunaan Statistik dalam Validasi Metode Analitik dan Penerapannya*. Prosiding : Temu Ilmiah Nasional Bidang Farmasi. ITB. Bandung.

- Jubaidah, S. 2016. *Penetapan Kadar Protein Tempe Jagung (Zea Mays L.) Dengan Kombinasi Kedelai (Glycine Max (L)Merill Secara Spektrofotometri Sinar Tampak*. In *Jurnal Ilmiah Manuntung* (Vol.2. pp. 111-119).
- Kasmidjo R. B. 1990. *Tempe : Mikrobiologi dan Kimia Pengolahan serta Pemanfaatannya*. PAU Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta.
- Koswara, S.M. 1992. *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Penerbit Bharata. Jakarta.
- Koswara, S. 2009. *Kacang-kacangan Sumber Serat yang Kaya Gizi*. eBook Pangan.
- Moayed. Omana. Chan. Xu dan Betti. 2010. *Alkali-aided protein extraction of chicken dark meat: composition and stability to lipid oxidation of the recovered proteins*. Poultry Science Association Inc. Vol. 89: 766-775.
- Mulyono, H. 2006. *Membuat reagen kimia*. Jakarta: PT Bumi Aksara.
- Page, D. S. 1997. *Prinsip-prinsip Biokimia*. Erlangga: Jakarta.
- Poedjiadi, A. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. Penerbit UI-Prees. Jakarta.
- Purwanto, M. G. M. 2014. *Perbandingan Analisa Kadar Protein Terlarut Dengan Berbagai Metode Spektroskopi UV-Visible*. *Jurnal Ilmiah Sains Dan Teknologi*.
- Pratama, Y.R. 2016. *Penetapan Kadar Protein Total pada Daging Lokan (Batisca volacea), Cipuik (Pomea canaliculata), dan Langkitang (Faunus ater) dengan Metoda Kjeldahl*. *Skripsi*. Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Yayasan Perintis Padang.
- Radiati. 2016. *Analisis Sifat Fisik, Sifat Organoleptik dan Kandungan Gizi pada Produk Tempe dari Kacang Non-Kedelai*. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 5(1), 16-22.
- Rukmana, S.K dan Yuniarsih, Y. 1996. *Kedelai, Budidaya Pasca Panen*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Ronald, A. Sacher. 2004. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Jakarta: Erlangga.
- Saleh. 2004. *Evaluasi Gizi pada Pengolahan Bahan Pangan*. Penerbit Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Sudarmadji, Slamet. 1996. *Teknik Analisa Biokimiawi*. Yogyakarta: Liberty Yogyakarta.

- Sudarmadji, S. 1997. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta.
- Suhaeni, N. 2007. *Petunjuk Praktis Menanam Kedelai*. Nuansa. Bandung.
- Sumantri, A R. 2007. *Analisis Makanan*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press. IKAPI.
- Sumardjo, Damin. 2008. *Pengantar Kimia*. Jakarta: EGC.
- Sediaoetama. 1986. *Ilmu Gizi Untuk Profesi dan Mahasiswa*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Syarief, R. Joko, H. Purwiyatno, H. Sutedja, W. Suliantari. Dahrul, S. Nugraha, E. S, dan Pieter, Y, S. 1999. *Wacana Tempe Indonesia*. Universitas Tatipata, A. 2008. The Effect of Moisture Content, Package and Storage Period on Mitochondrial Inner Membrane Protein of Soybean Seed. *Buletin Agronomi*. 36(1). 8-16.
- Tarmizi. 2008. *Pembuatan Pereaksi Kimia*. Padang : UNP Press.
- Watson David, G. 2009. *Analisis Farmasi: Buku Ajar Untuk Mahasiswa Farmasi*
- Winarno, F.G. 1992. *Kimia pangan dan Gizi*. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Winarno, F.G. 1993. *Pangan: Gizi Teknologi dan Konsumen*, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Winarno, F. G. 1995. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Lampiran 1. Sampel Penelitian



Gambar 4. Sampel tempe yang dibungkus daun pisang



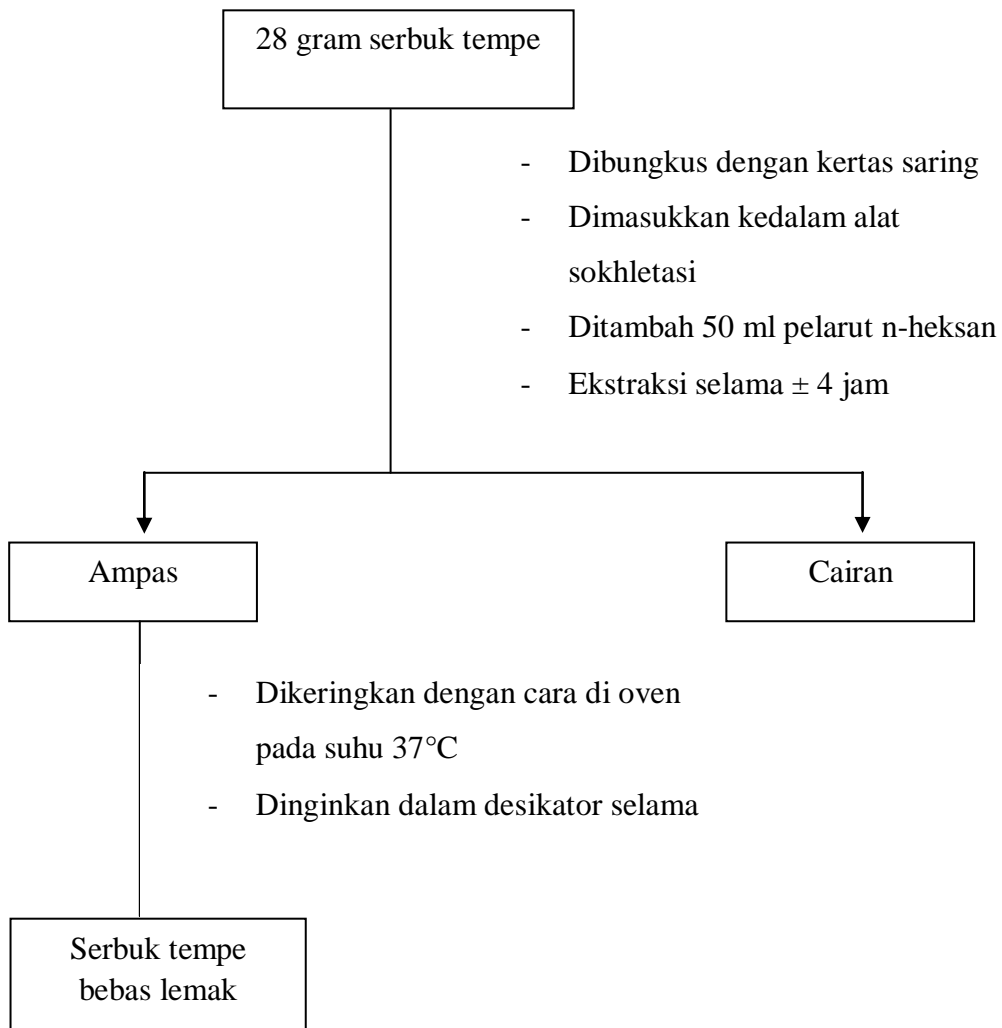
Gambar 5. Serbuk tempe bebas lemak

Lampiran 1. (Lanjutan) Sampel Penelitian



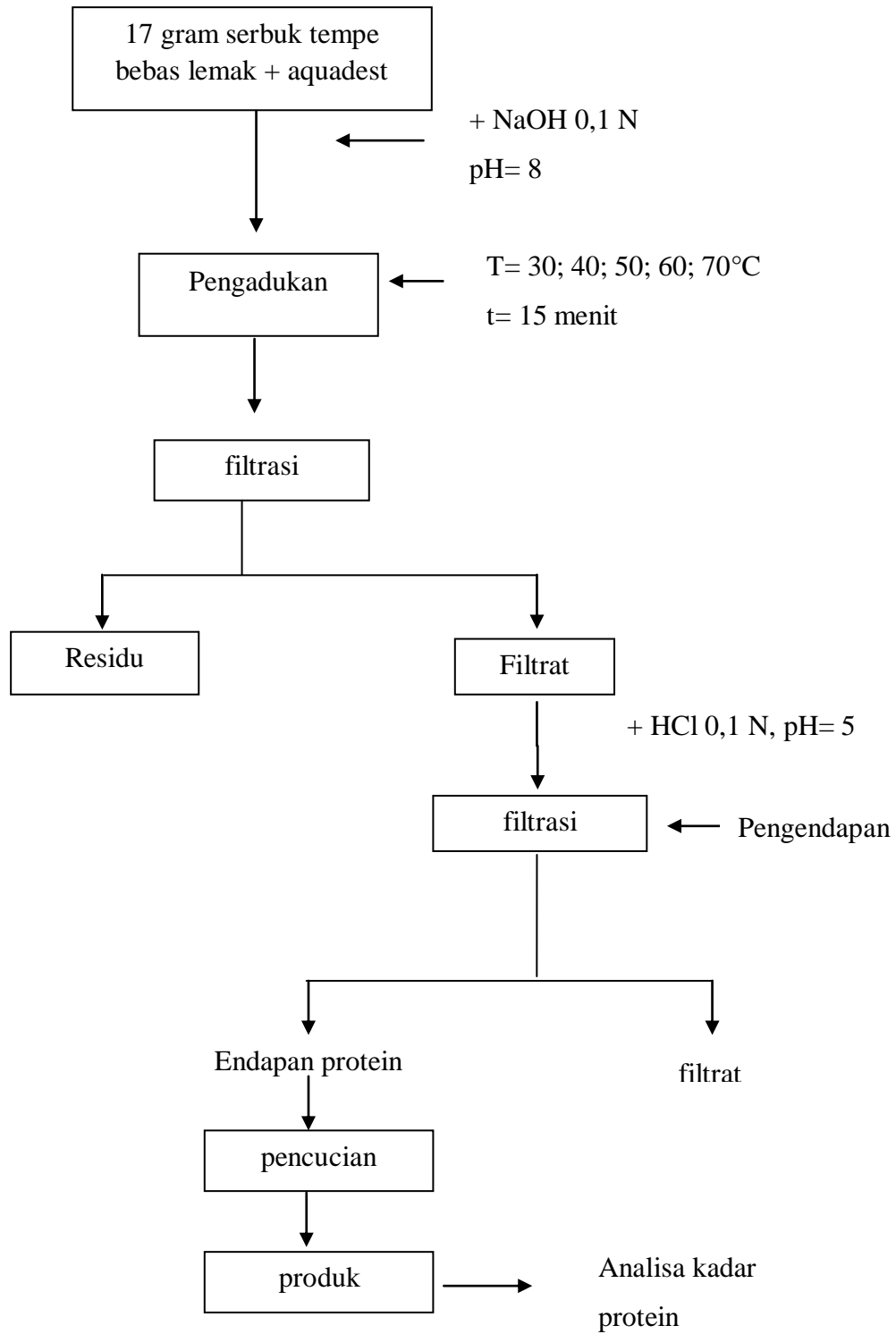
Gambar 6. Isolat protein tempe

Lampiran 2. Skema Prosedur Bebas Lemak Tempe dengan Metode Sokhletasi



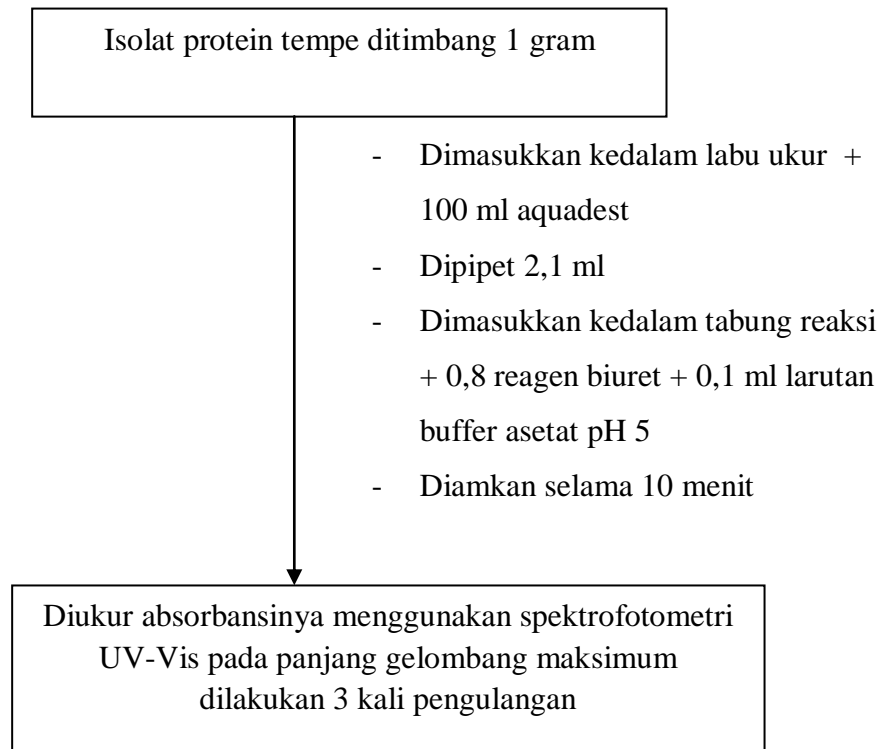
Gambar 7. Skema Prosedur Bebas Lemak Tempe dengan Metode Sokhletasi

Lampiran 3. Skema Prosedur Isolasi Protein Tempe



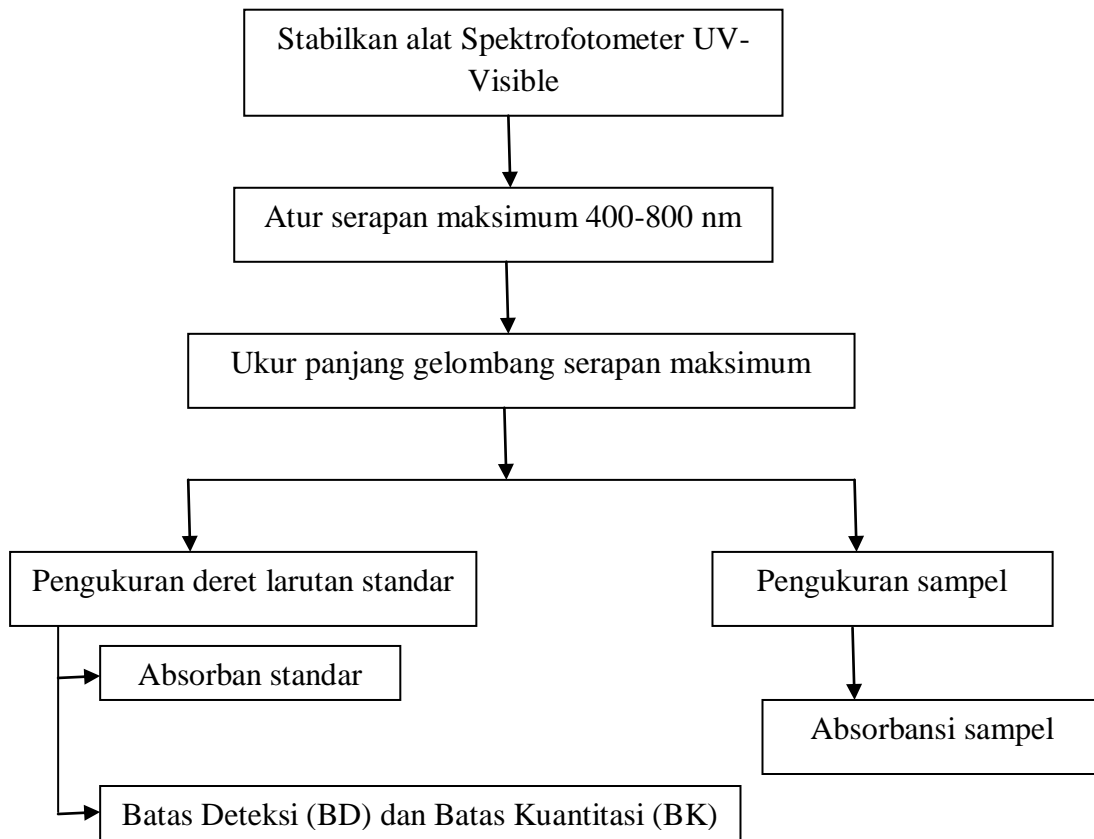
Gambar 8. Skema Prosedur Isolasi Protein Tempe

Lampiran 4. Skema Prosedur Penetapan Kadar Isolat Protein Tempe



Gambar 9. Skema Prosedur Penetapan Kadar Isolat Protein Tempe

Lampiran 5. Skema Pengukuran Sampel dengan Spektrofotometer UV-Visible



Gambar 10. Skema Pengukuran sampel dengan Spektrofotometer UV-Visible

Lampiran 6. Rendemen Isolat Protein Tempe

Tabel 2. Hasil Rendemen Isolat Protein Tempe

Berat awal sampel	Berat akhir sampel	Rendemen	Persyaratan mutu
17,4563 g	Sampel A (8,6436) g	49,51%	Tidak kurang dari 18%
	Sampel B (7,9028) g	45,27%	
	Sampel C (6,3003) g	36,09%	
	Sampel D (5,9490) g	34,07%	
	Sampel E (5,7102) g	32,71%	

Keterangan:

Sampel A = Suhu 30°C

Sampel B = Suhu 40°C

Sampel C = Suhu 50°C

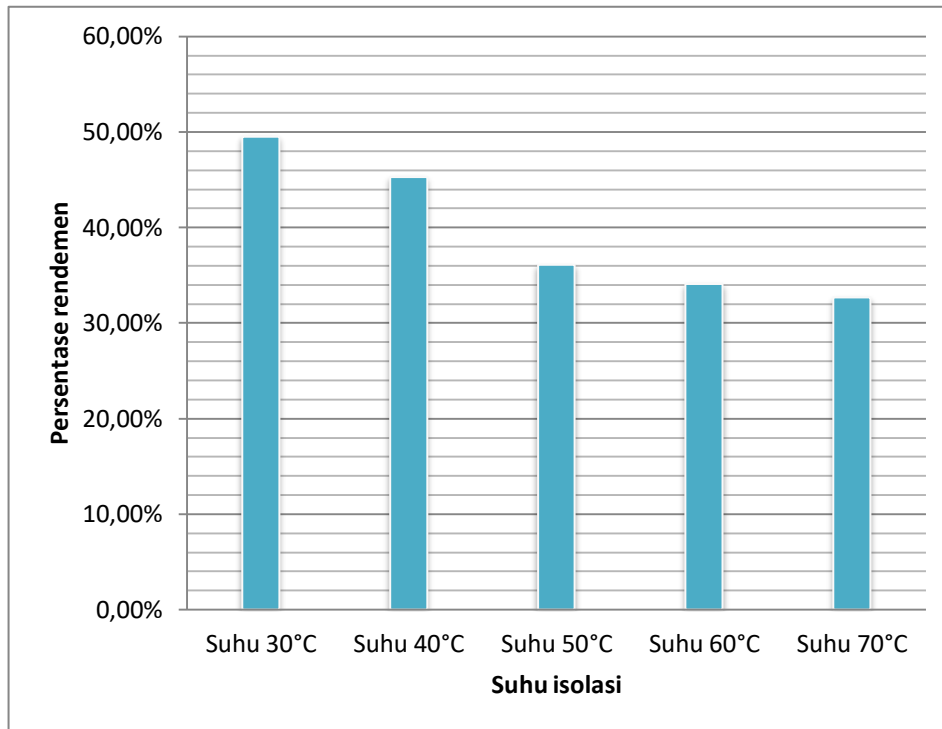
Sampel D = Suhu 60°C

Sampel E = Suhu 70°C

Contoh perhitungan:

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat hasil isolat protein}}{\text{berat awal isolat protein}} \times 100\% \\ &= \frac{8,6436 \text{ g}}{17,4563 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 49,51 \%\end{aligned}$$

Lampiran 6. (Lanjutan) Diagram Pengaruh Suhu Terhadap Isolat Protein Tempe



Gambar 11. Diagram Pengaruh Suhu Terhadap Isolat Protein Tempe

Lampiran 7. Penentuan Kadar Abu Isolat Protein Tempe

Tabel 3. Hasil penentuan kadar abu isolat protein tempe

Sampel	No.	Berat krus kosong (A)	Berat krus + sampel sebelum dipijar (B)	Berat krus + sampel setelah dipijar (C)	Persen (%) kadar abu	Rata-rata ($\bar{x} \pm SD$) (%)
30°C	1	24,6939 g	29,7103 g	24,7308 g	0,735 %	0,74% ± 0,013
	2	24,1454 g	29,1536 g	24,1834 g	0,758 %	
	3	24,1846 g	29,1943 g	24,2215 g	0,736 %	
40°C	1	24,6578 g	29,8477 g	24,6943 g	0,703 %	0,71% ± 0,013
	2	24,1100 g	29,1565 g	24,1467 g	0,727 %	
	3	24,1483 g	29,3378 g	24,1849 g	0,705 %	
50°C	1	24,6576 g	29,8541 g	24,6942 g	0,704 %	0,71% ± 0,011
	2	24,1091 g	29,2947 g	24,1466 g	0,723 %	
	3	24,1482 g	29,3503 g	24,1847 g	0,701 %	
60°C	1	24,6572 g	29,9462 g	24,6940 g	0,695 %	0,70% ± 0,010
	2	24,1102 g	29,3132 g	24,4989 g	0,703 %	
	3	24,1479 g	29,4989 g	24,1847 g	0,687 %	
70°C	1	24,6570 g	29,9115 g	24,6939 g	0,702 %	0,70% ± 0,008
	2	24,1100 g	29,2577 g	24,1467 g	0,712 %	
	3	24,1483 g	29,3813 g	24,1849 g	0,699 %	
Tanpa pemanasan	1	24,6570 g	29,6616 g	24,6939 g	0,737 %	0,75% ± 0,16
	2	24,1104 g	28,8758 g	24,1469 g	0,765 %	
	3	24,1475 g	29,1498 g	24,1845 g	0,739 %	

➤ Contoh perhitungan Persen (%) kadar abu isolat protein tempe

$$\% \text{ kadar abu} = \frac{C - A}{B - A} \times 100\%$$

$$\% \text{ kadar abu} = \frac{24,7308 \text{ g} - 24,6939 \text{ g}}{29,7103 \text{ g} - 24,6939 \text{ g}} \times 100\%$$

$$\% \text{ kadar abu} = 0,7355 \%$$

- Rata-rata persen (%) kadar abu isolat protein tempe

$$\bar{x} = \frac{\sum xi}{n}$$

$$\bar{x} = \frac{0,7355 \% + 0,7587 \% + 0,7365 \%}{3} = 0,7435 \%$$

- Standar deviasi (Sd)

$$Sd = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$$Sd = \sqrt{\frac{(0,008)^2 + (-0,0152)^2 + (0,007)^2}{3 - 1}}$$

$$= \sqrt{\frac{0,000064 + 0,000231 + 0,000049}{2}}$$

$$Sd = 0,013$$

Lampiran 8. Penentuan Kadar Air Isolat Protein Tempe

Tabel 4. Hasil penentuan kadar air isolat protein tempe

Sampel	No.	Berat krus kosong (A)	Berat krus + sampel sebelum dipanaskan (B)	Berat krus + sampel setelah dipanaskan (C)	Persen (%) kadar abu	Rata-rata ($\bar{x} \pm SD$) (%)
30°C	1	22,7571 g	24,7961 g	23,5437 g	60,90 %	61,27% ± 0,54
	2	22,4465 g	24,4685 g	23,2345 g	61,02 %	
	3	21,1846 g	23,9297 g	22,6847 g	61,90 %	
40°C	1	22,7511 g	24,7661 g	23,5891 g	58,41 %	58,78% ± 0,46
	2	22,4593 g	24,4749 g	23,2793 g	59,31 %	
	3	21,9087 g	23,9247 g	22,7427 g	58,63 %	
50°C	1	21,6891 g	24,2351 g	22,8051 g	56,16 %	56,36% ± 0,43
	2	21,9565 g	24,2235 g	22,9341 g	56,87 %	
	3	21,5455 g	23,7431 g	22,5109 g	56,07 %	
60°C	1	22,5565 g	24,6688 g	23,5276 g	54,02 %	54,02% ± 0,05
	2	22,2465 g	24,3685 g	23,2210 g	54,07 %	
	3	21,7163 g	23,8285 g	23,6885 g	53,97 %	
70°C	1	22,5469 g	24,6640 g	23,5246 g	53,81 %	53,72% ± 0,17
	2	22,2683 g	24,3794 g	23,2429 g	53,83 %	
	3	21,7095 g	23,8255 g	22,6928 g	53,52 %	
Tanpa pemanasan	1	24,7807 g	26,7811 g	25,4907 g	64,50 %	64,59% ± 0,38
	2	24,4897 g	26,4905 g	25,1896 g	65,01 %	
	3	23,9508 g	25,9407 g	24,6618 g	64,26 %	

➤ Contoh perhitungan persen (%) kadar air isolat protein tempe

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{(B - A) - (C - A)}{B - A} \times 100\%$$

% Kadar air

$$= \frac{(24,7691g - 22,7571g) - (23,5437g - 22,7571g)}{24,7691g - 22,7571g} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar air} = 60,90 \%$$

➤ Rata-rata persen (%) kadar air isolat protein tempe

$$x = \frac{\sum xi}{n}$$

$$x = \frac{(60,90 + 61,02 + 61,90)}{3} = 61,27\%$$

➤ Standar deviasi (Sd)

$$Sd = \sqrt{\frac{\sum(x - Xi)^2}{n - 1}}$$

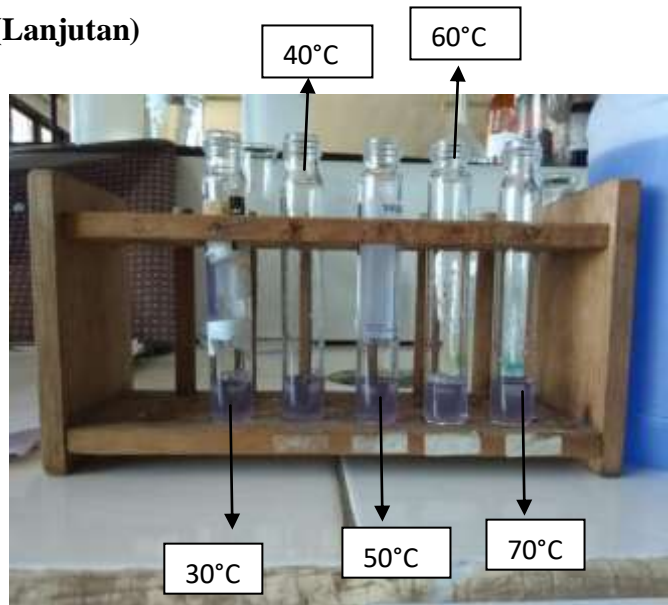
$$\begin{aligned} Sd &= \sqrt{\frac{(0,37)^2 + (0,25)^2 + (-0,63)^2}{3 - 1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,1369 + 0,0625 + 0,3969}{2}} \\ Sd &= 0,54 \end{aligned}$$

Lampiran 9. Uji Kualitatif Isolat Protein Tempe

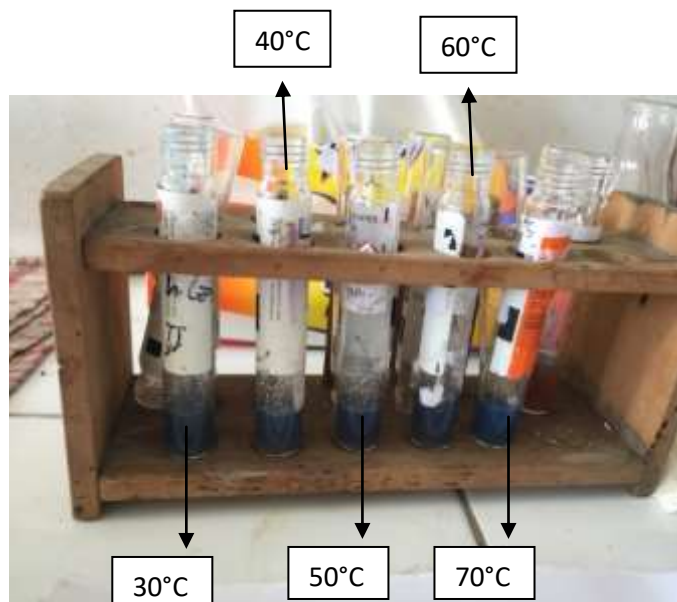
Tabel 5. Hasil uji kualitatif isolat protein tempe

Sampel	Reagen Biuret	Reagen Ninhidrin	Reagen Xantoprotein	Reagen Millon
tanpa pemanasan	Larutan berwarna ungu (+)	Larutan berwarna biru (+)	Larutan berwarna kuning (+)	Larutan berwarna endapan putih (+)
suhu 30°C	Larutan berwarna ungu (+)	Larutan berwarna biru (+)	Larutan berwarna kuning (+)	Larutan berwarna endapan putih (+)
suhu 40°C	Larutan berwarna ungu (+)	Larutan berwarna biru (+)	Larutan berwarna kuning (+)	Larutan berwarna endapan putih (+)
suhu 50°C	Larutan berwarna ungu (+)	Larutan berwarna biru (+)	Larutan berwarna kuning (+)	Larutan berwarna endapan putih (+)
suhu 60°C	Larutan berwarna ungu (+)	Larutan berwarna biru (+)	Larutan berwarna kuning (+)	Larutan berwarna endapan putih (+)
suhu 70°C	Larutan berwarna ungu (+)	Larutan berwarna biru (+)	Larutan berwarna kuning (+)	Larutan berwarna endapan putih (+)

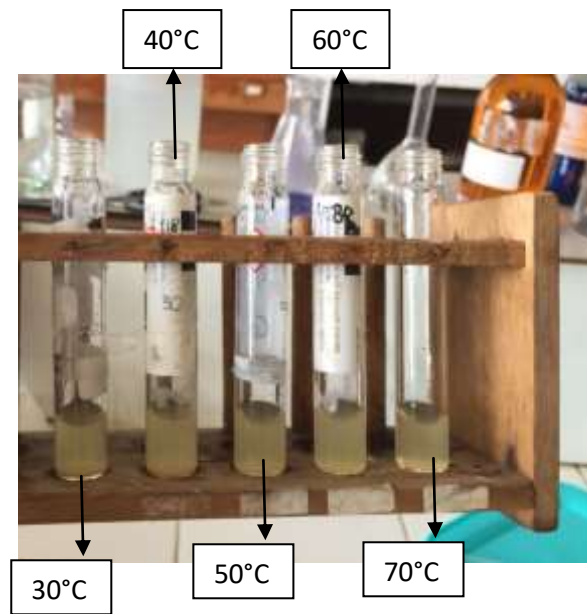
Lampiran 9. (Lanjutan)



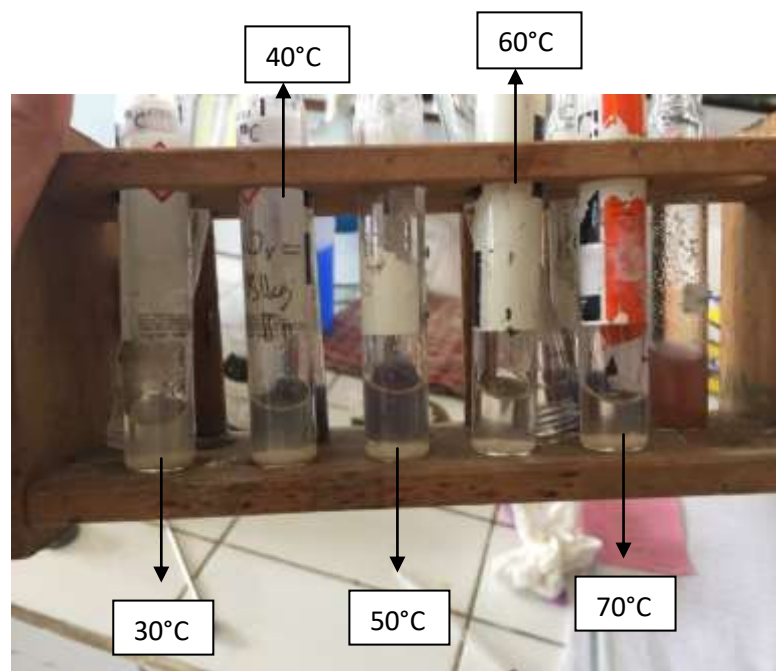
Gambar 12. Hasil Uji Kualitatif Sampel Terhadap Reagen Biuret



Gambar 13. Hasil Uji Kualitatif Sampel Terhadap Reagen Ninhidrin



Gambar 14. Hasil Uji Kualitatif Sampel Terhadap Reagen Xanthoprotein



Gambar 15. Hasil Uji Kualitatif Sampel Terhadap Reagen Millon

Lampiran 10. Spektrum Panjang Gelombang Serapan Maksimum BSA 6,6 %

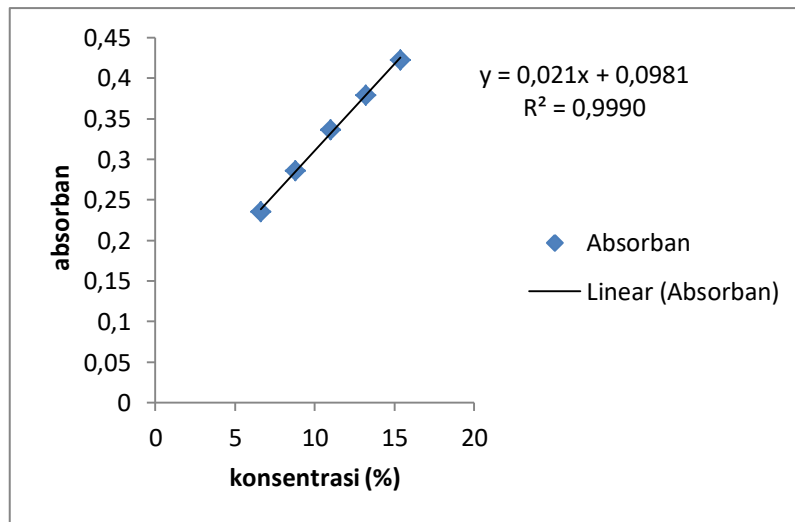


Gambar 16. Spektrum Panjang Gelombang Serapan Maksimum BSA 6,6 %

Lampiran 11. Pembuatan Kurva Kalibrasi Larutan Standar Bovin Serum Albumin

Tabel 6. Deret Standar

No.	Konsentrasi (%)	Absorban
1	6,6	0,235
2	8,8	0,286
3	11	0,336
4	13,2	0,379
5	15,4	0,422



Gambar 17. Kurva kalibrasi deret larutan standar protein

Lampiran 11. (Lanjutan)

Tabel 7. Data Perhitungan Regresi Linear Kurva Kalibrasi Larutan Standar Bovin Serum Albumin pada Panjang Gelombang 532 nm.

No.	x (%)	Y	x ²	y ²	Xy
1	6,6	0,235	43,56	0,055225	1,551
2	8,8	0,286	77,44	0,081796	2,5168
3	11	0,336	121	0,112896	3,696
4	13,2	0,379	174,24	0,143641	5,0024
5	15,4	0,422	237,16	0,178084	6,4988
	∑ x =55 (∑ x) ² =3025	∑ y =1,658 (∑ y) ² =2,748964	∑ x ² =653,4	∑ y ² =0,571642	∑ xy =19,2654

Keterangan : x = Konsentrasi Protein

y = Serapan pada panjang gelombang 532 nm

Persamaan regresi : y = a + bx

y = serapan

x= kadar

a b= koefisien regresi

a. Koefisien korelasi (r)

$$r = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{\sqrt{[(n \sum x^2) - \sum (x)^2][n \sum y^2 - \sum (y)^2]}}$$

$$r = \frac{5(19,2654) - (55)(1,658)}{\sqrt{[5(653,4) - 3025][5(0,571642) - 2,748964]}}$$

$$r = \frac{5,137}{\sqrt{(242)(0,10927)}}$$

$$r = \frac{5,137}{\sqrt{26,437532}}$$

$$r = \frac{5,137}{5,14174406}$$

$$r = 0,9990$$

b. Koefisien regresi (b)

$$b = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{(n \sum x^2) - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{5(19,2654) - (55)(1,658)}{5(653,4) - 3025}$$

$$b = \frac{96,327 - 91,19}{3267 - 3025}$$

$$b = \frac{5,137}{242}$$

$$b = 0,021$$

c. Tetapan Regresi (a)

$$a = \frac{\sum y - b \sum x}{n}$$

$$a = \frac{1,658 - (0,021227272)(33)}{5}$$

$$a = \frac{0,490500001}{5}$$

$$a = 0,0981$$

Lampiran . Lanjutan

Tabel 8. Data Perhitungan Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantitasi (BK)

No.	Xi (%)	Yi	\hat{Y}_i	$Y_i - \hat{Y}_i$	$(Y_i - \hat{Y}_i)^2$
1	6,6	0,235	0,2367	-0,0017	0,00000289
2	8,8	0,285	0,2829	0,0021	0,00000441
3	11	0,336	0,3291	0,0069	0,00004761
4	13,2	0,379	0,3753	0,0037	0,00001369
5	15,4	0,422	0,4215	0,0005	0,00000025
					$\sum(Y_i - \hat{Y}_i)^2 = 0,00006885$

Persamaan regresi : $y = 0,0981 + 0,021x$

a. Simpangan Baku (SB)

$$SB = \sqrt{\frac{\sum (Y_i - \hat{Y}_i)^2}{n - 2}}$$

$$SB = \sqrt{\frac{0,00006885}{5 - 2}}$$

$$SB = \sqrt{\frac{0,00006885}{3}}$$

$$SB = \sqrt{0,00002295}$$

$$SB = 0,0047$$

b. Batas Deteksi (BD)

$$BD = \frac{3SB}{slope}$$

$$BD = \frac{3.0,0047}{0,021}$$

$$BD = \frac{0,00141}{0,021}$$

$$BD = 0,67$$

c. Batas Kuantitasi (BK)

$$BK = \frac{10SB}{Slope}$$

$$BK = \frac{10(0,0049)}{0,021}$$

$$BK = \frac{0,0141}{0,021}$$

$$BK = 2,23$$

Keterangan : X_i = Deret konsentrasi BSA

Y_i = Serapan dari daerah larutan standar BSA

\hat{Y}_i = Serapan yang ditentukan dari persamaan regresi

SB = Simpangan baku

BD = Batas deteksi

BK = Batas kuantitasi

Lampiran 12. Penentuan Kadar Protein Sampel

Tabel 9. Hasil Pengukuran Kadar Protein Sampel

Sampel	No.	Absorban	C (g/100 ml)	Cs (%)	Cs (Rata-rata b/b) $\bar{x} \pm SD$	KV
30°C	1	0,357	0,0000123285	0,123	0,126± 0,003	2,46
	2	0,365	0,0000127095	0,127		
	3	0,369	0,000012900	0,129		
40°C	1	0,295	0,000009376	0,094	0,097± 0,002	2,52
	2	0,301	0,000009662	0,097		
	3	0,307	0,000009948	0,099		
50°C	1	0,290	0,000009138	0,091	0,090± 0,001	1,33
	2	0,286	0,000008948	0,089		
	3	0,289	0,000009091	0,090		
60°C	1	0,254	0,000007424	0,074	0,077± 0,002	3,24
	2	0,265	0,000007948	0,079		
	3	0,260	0,000007709	0,077		
70°C	1	0,248	0,000007138	0,071	0,070± 0,002	3,00
	2	0,251	0,000007281	0,072		
	3	0,241	0,000006805	0,068		
Tanpa pemanasan	1	0,390	0,000013900	0,139	0,143± 0,005	4,68
Tanpa pemanasan	2	0,394	0,000014091	0,141		
Tanpa pemanasan	3	0,413	0,000014995	0,149		

Keterangan : C = konsentrasi sampel (g/100mL)

Cs = kadar protein pada sampel (%)

\bar{x} = kadar protein rata-rata (%)

SD = standar deviasi

KV = koefisien variasi

Lampiran 12. (Lanjutan) Contoh Perhitungan Kadar Protein pada Sampel

1. Konsentrasi sampel (Absorban =0,357)

$$y = a + bx$$

$$0,357 = 0,0981 + 0,021x$$

$$x = \frac{0,357 - 0,0981}{0,021}$$

$$x = 12,3285 \text{ mg/l}$$

$$x = 0,0000123285 \text{ g/ml}$$

2. Penetapan kadar protein pada sampel

$$C_s = \frac{C_x V_x F_p}{W} \times 100\%$$

$$C_s = \frac{0,0000123285 \text{ g/ml} \times 100 \text{ ml}}{1 \text{ g}} \times 100 \%$$

$$C_s = 0,123285\%$$

3. Kadar rata-rata protein pada sampel

$$R\hat{x} = \frac{0,123 + 0,127 + 0,129}{3}$$

$$R\hat{x} = 0,126 \%$$

Lampiran. Lanjutan

4. Standar Deviasi sampel

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \hat{X})^2}{n-1}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{(0,123 - 0,126)^2 + (0,127 - 0,126)^2 + (0,129 - 0,126)^2}{3-1}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{0,000009 + 0,000001 + 0,000009}{2}}$$

$$SD = \sqrt{0,0000095}$$

$$SD = 0,0031$$

5. Koefisien Variasi sampel

$$KV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \%$$

$$KV = \frac{0,0031}{0,126} \times 100\%$$

$$KV = 2,46$$

Lampiran 13. Hasil Pengukuran Protein

Tabel 10 : Hasil Perhitungan Statistik Kadar Protein Tempe Yang Dibungkus Daun Pisang (ANOVA satu arah , SPSS 23.0.)

Descriptives

kadarprotein

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Tanpa pemanasan	3	.14300	.005292	.003055	.12986	.15614	.139	.149
Suhu 30	3	.12633	.003055	.001764	.11874	.13392	.123	.129
Suhu 40	3	.09667	.002517	.001453	.09042	.10292	.094	.099
Suhu 50	3	.09000	.001000	.000577	.08752	.09248	.089	.091
Suhu 60	3	.07667	.002517	.001453	.07042	.08292	.074	.079
Suhu 70	3	.07033	.002082	.001202	.06516	.07550	.068	.072
Total	18	.10050	.026943	.006350	.08710	.11390	.068	.149

Test of Homogeneity of Variances

kadarprotein

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.172	5	12	.126

ANOVA

kadarprotein

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.012	5	.002	265.225	.000
Within Groups	.000	12	.000		
Total	.012	17			

Lampiran. Lanjutan

Kadarprotein

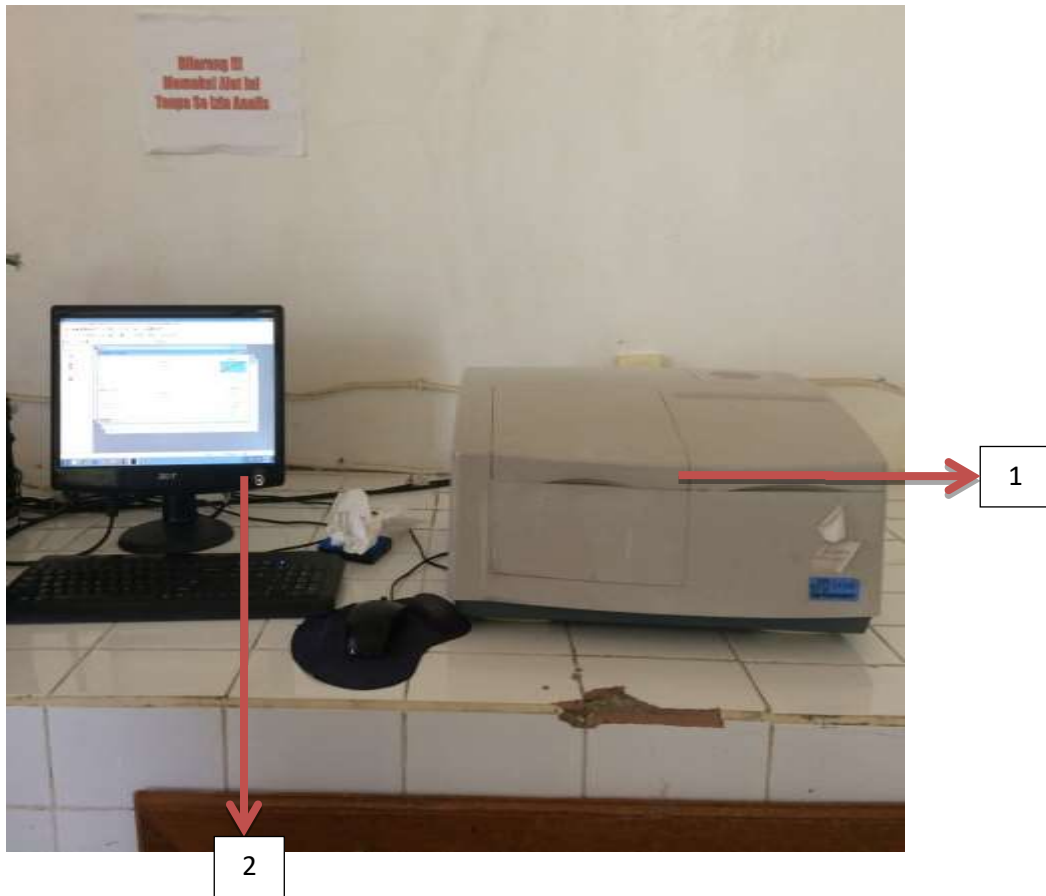
Duncan^a

Suhu	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Suhu 70	3	.07033					
Suhu 60	3		.07667				
Suhu 50	3			.09000			
Suhu 40	3				.09667		
Suhu 30	3					.12633	
Tanpa pemanasan	3						.14300
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 14. Alat yang Digunakan



Keterangan :

1. Seperangkat Alat Spektrofotometer UV-Visible
2. Monitor

Gambar 18. Seperangkat Alat Spektrofotometer UV-Visible