

PENGARUH PROSES PEREBUSAN TERHADAP KADAR PROTEIN YANG TERKANDUNG DALAM TAUZE BIJI KACANG HIJAU (*Phaseolus Radiatus*)

Submitted : 27 April 2016

Edited : 17 Mei 2016

Accepted : 25 Mei 2016

Anita Agustina, Desi Rahmawati

DIII Farmasi Stikes Muhammadiyah Klaten

Email : agustyn_01@yahoo.com

ABSTRACT

Protein is an important or main component of animal and human cells. The source of vegetable protein can be obtained from soybeans and other legumes, as well as their processed results. This component can be denatured due to changes in temperature, pH, heavy metal ions, mechanical movement, alcohol, acetone, ether, and detergent. The main aim of this study was to determine the effect of boiling on protein in the seeds of mung beans. The samples were analyzed using the Lowry method. The result of quantitative test showed that the average level of protein in the samples before boiled was 1.664% w/w, while after boiled was 0632% w/w. The statistical test showed that t-score of the sample was 43.827 and t-table was 2.920, and p-score was 0.001. Of the results of the study, it can be concluded that there is a significantly difference between the levels of protein before and after boiled. Boiling gives effect to the protein levels in the samples.

Keywords : Protein, Mung Bean Sprouts, Lowry Method.

PENDAHULUAN

Dalam kehidupan, protein memegang peranan yang penting di dalam tubuh manusia dan binatang, karena protein bertanggungjawab untuk menggerakan otot-otot, protein hemoglobin mempunyai peranan mengangkut oksigen dari paru-paru ke jaringan seluruh tubuh. Protein sangat dibutuhkan untuk masing-masing individu⁽¹⁾.

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). Kekurangan protein sering ditemukan secara bersamaan dengan kekurangan energi yang

menyebabkan kondisi yang dinamakan marasmus⁽²⁾.

Makanan yang mengandung protein antara lain telur, susu, daging, unggas, ikan, kerang, kacang kedelai, dan kacang-kacangan lain⁽²⁾. Penggunaan kacang hijau untuk bahan makanan manusia harus diolah terlebih dahulu. Pengolahan kacang hijau menjadi makanan, misalnya untuk tauge⁽³⁾. Tauge adalah sayuran yang merupakan tumbuhan muda yang baru saja berkecambah dan dilindungi dari cahaya. Kata tauge sendiri adalah serapan dari dialek Hokkian, istilah Mandarin-nya adalah douya yang secara harfiah berarti kecambah kacang-kacangan, umumnya berasal dari

kacang hijau dan sering disajikan dalam menu makanan dari Asia Timur⁽⁴⁾.

Protein biji kacang hijau mengandung asam amino yang cukup lengkap terdiri atas asam amino esensial dan asam amino nonesensial⁽³⁾. Dengan adanya pemanasan, protein dalam bahan makanan akan mengalami perubahan dan membentuk persenyawaan dengan bahan lain, misalnya antara asam amino hasil perubahan protein dengan gula-gula reduksi yang membentuk senyawa rasa dan aroma makanan⁽³⁾.

Bahkan pemanasan yang tidak begitu tinggipun dapat menyebabkan perubahan struktur kimiawi pada berbagai asam amino esensial, sehingga kehilangan fungsinya bagi tubuh⁽⁶⁾.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

1. Alat : Spektrofotometri UV-Vis, pipet volume, labu ukur, timbangan analitik, pipet tetes, mikropipet, erlenmeyer, beaker glass, tabung reaksi, water bath, vortek, centrifuge, corong, wadah berlubang dengan dasar yang datar.
2. Bahan : aquadest, asam fosfotungstat, asam fosfomolibdat, Na_2CO_3 , NaOH 1 N, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, kalium natrium tartrat. $4\text{H}_2\text{O}$, larutan bovin serum albumin (BSA), biji kacang hijau, tauge kacang hijau.

Jalannya Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Tanaman kacang hijau dideterminasi terlebih dahulu untuk memastikan bahwa biji yang digunakan sebagai sampel merupakan biji kacang hijau. Determinasi tanaman kacang hijau dilakukan di Fakultas MIPA Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

2. Pembuatan sampel



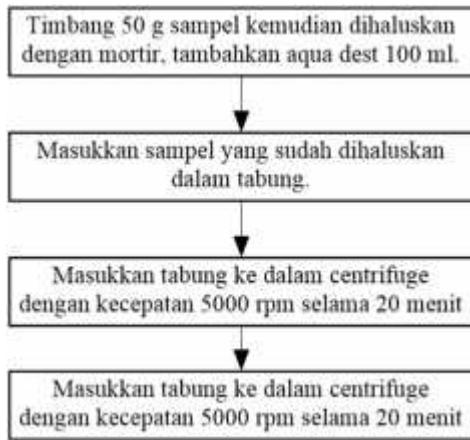
Gambar 1. Cara Pembuatan Sampel⁽⁷⁾

3. Perebusan Sampel



Gambar 2. Proses Perebusan Sampel

4. Penyiapan Filtrat Sampel



Gambar 3. Cara Penyiapan Filtrat Sampel

5. Analisa Kuantitatif

Analisa kuantitatif sampel sebelum dan sesudah direbus dilakukan dengan metode lowry. Cara kerja metode lowry yaitu :

a. Pembuatan reagen

Pembuatan reagen Lowry dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut⁽⁸⁾ :

1) Reagen Lowry A

Mengandung 2 g kalium natrium tartrat, 100 g Na₂CO₃, 500 ml NaOH 1 N, aquadest hingga 1 L. Reagen ini dapat disimpan 2 sampai 3 bulan.

2) Reagen Lowry B

Mengandung 2 g kalium natrium tartrat, 1 g CuSO₄.5H₂O, 90 ml H₂O, 10 ml NaOH 1 N. Reagen ini dapat disimpan 2 sampai 3 bulan.

3) Reagen Lowry C

Mengandung 1 bagian reagen Folin-Ciocalteau dilarutkan dengan 15 bagian aqua dest.

b. Pembuatan Kurva Blanko

Kurva blanko digunakan untuk menentukan maks dan OT (*operating time*). Pembuatan kurva blanko dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut⁽⁸⁾ :

1) Ambil 0.5 ml aquadest, masukkan dalam tabung reaksi.

2) Tambahkan 0.45 ml reagen Lowry A, gojog kemudian inkubasi selama 10 menit dalam water bath dengan suhu 50°C. Kemudian dinginkan sampai suhu ruangan.

3) Tambahkan 0.05 ml reagen Lowry B, gojok kemudian inkubasi selama 10 menit dalam suhu ruangan.

4) Tambahkan dengan cepat 1.5 ml reagen Lowry C, gojog kemudian inkubasi selama 10 menit dalam water bath dengan suhu 50°C. Kemudian dinginkan sampai suhu ruangan.

5) Baca absorbansinya (OD) pada panjang gelombang 450-900 nm dengan Spektrofotometer UV-Vis.

c. Pembuatan Kurva Baku

Kurva baku digunakan untuk menentukan persamaan regresi linier. Pembuatan kurva baku dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut⁽⁸⁾ :

1) Siapkan larutan protein bovin serum albumin (BSA) atau albumin serum darah sapi dengan konsentrasi bertingkat dari 100-500 µg/ml.

2) Ambil 0.5 ml larutan protein standar, masukkan dalam tabung reaksi.

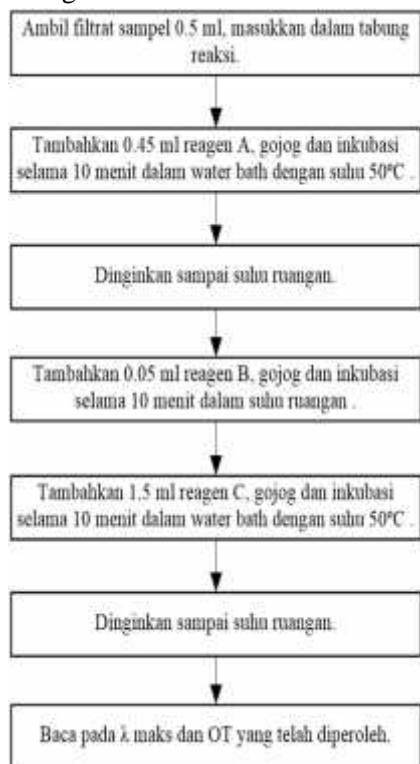
3) Tambahkan 0.45 ml reagen Lowry A, gojog kemudian inkubasi selama 10 menit dalam water bath dengan suhu 50°C. Kemudian dinginkan sampai suhu ruangan.

4) Tambahkan 0.05 ml reagen Lowry B, gojog kemudian inkubasi selama 10 menit dalam suhu ruangan.

5) Tambahkan dengan cepat 1.5 ml reagen Lowry C, gojog kemudian inkubasi selama 10 menit dalam water bath dengan suhu 50°C. Kemudian dinginkan sampai suhu ruangan.

6) Baca absorbansinya (OD) pada maks dan OT yang telah diperoleh.

- 7) Buat kurva standar pada kertas grafik yang menunjukkan hubungan antara absorbansi (pada ordinat) dan konsentrasi (pada absis).
 d. Penyiapan sampel
 Sampel sebelum dan sesudah direbus disiapkan dengan cara sebagai berikut :



Gambar 4. Cara Kerja Penyiapan⁽⁸⁾

Analisis Data

Data yang diperoleh berupa data kuantitatif dari hasil regresi linier data kurva baku, dengan persamaan $Y = bx + a$. Dari data regresi linear digunakan untuk menentukan konsentrasi atau kadar protein yang terkandung dalam tauge kacang hijau sebelum dan sesudah direbus.

Untuk menghitung kadar protein dalam % b/b dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar \% b/b} = \frac{C \times FP \times V}{BS} \times 100 \%$$

Keterangan : C = konsentrasi (μg)
 FP = faktor pengenceran
 V = volume (ml)
 BS = berat sampel (μg)

Kadar protein sampel sebelum dan sesudah direbus dianalisa dengan *Paired t Test* (uji beda rata-rata untuk sampel yang berhubungan). Penggunaan *paired t test* adalah untuk menguji efektifitas suatu perlakuan terhadap suatu besaran variabel yang ingin ditentukan⁽⁹⁾. Perlakuan dalam penelitian ini berupa perebusan pada salah satu kelompok sampel. Hipotesis dalam penelitian ini adalah :

- H_a : ada beda secara signifikan antara kadar protein sebelum dan sesudah direbus.
- H_0 : tidak ada beda secara signifikan antara kadar protein sebelum dan sesudah direbus.

Penerimaan hipotesis jika :

- $t_{\text{hitung}} > t_{\text{tabel}}$, maka H_a diterima dan H_0 ditolak.
- Nilai $p < 0.05$, maka H_a diterima dan H_0 ditolak

Tabel t yang digunakan dengan derajat bebas ($df = db = dk = n - 1$.

Dengan taraf kepercayaan yang digunakan adalah 95%, atau dengan nilai 0,05.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman

Setelah dilakukan determinasi di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, diperoleh hasil yang menyatakan bahwa sampel yang digunakan benar berasal dari tanaman kacang hijau (*Phaseolus Radiatus*).

Uji Kuantitatif

Uji kuantitatif dilakukan dengan mencari persamaan regresi linier dari data kurva baku, terlebih dahulu membuat larutan

blanko untuk menentukan Maks dan OT (*Operating Time*).

Hasil penentuan maks atau panjang gelombang maksimum yaitu pada 746.50 nm dengan absorbansi 1.443 dan setelah dilakukan pengukuran *Operating Time* (OT) diperoleh warna biru yang stabil pada 720 detik dengan absorbansi 0,4803. Hasil

perhitungan regresi linier dari data tersebut diperoleh persamaan

$$y = 0.001279x + 0.1017.$$

- Data Kadar Protein Sampel Sebelum Direbus
- Data Kadar Protein Sampel Sesudah Direbus
- Analisa Data

Tabel 1. Data Sampel Sebelum Direbus

| No. | BS | FP | Abs. (y) | Kadar (x) | Rata-rata | Kadar (% b/b) | Rata-rata (% b/b) |
|-----|------|----|----------|-----------|-----------|---------------|-------------------|
| 1 | 50 g | 20 | 0.633 | 415.403 | | 1.662 | |
| 2 | 50 g | 20 | 0.634 | 416.185 | 415.924 | 1.665 | 1.664 |
| 3 | 50 g | 20 | 0.634 | 416.185 | | 1.665 | |

Dari data di atas, kadar rata-rata sampel sebelum direbus yaitu 1.664% b/b.

Tabel 2. Data Sampel Sesudah Direbus

| No. | BS | FP | Abs. (y) | Kadar (x) | Rata-rata | Kadar (% b/b) | Rata-rata (% b/b) |
|-----|------|----|----------|-----------|-----------|---------------|-------------------|
| 1 | 50 g | 10 | 0.476 | 292.651 | | 0.585 | |
| 2 | 50 g | 10 | 0.516 | 323.925 | 316.628 | 0.645 | 0.632 |
| 3 | 50 g | 10 | 0.528 | 333.307 | | 0.667 | |

Dari data di atas, kadar rata-rata sampel setelah direbus yaitu 0.632% b/b.

Tabel 3. Data Statistik Uji t

| Sampel | T | df | Sig. |
|-----------------|--------|----|-------|
| Sebelum direbus | | | |
| Sesudah direbus | 43.827 | 2 | 0.001 |

Dalam uji statistik diketahui bahwa t hitung yaitu 43.827 dan t tabel 2.920, dan nilai p = 0.001.

Pada penelitian ini sampel yang digunakan merupakan biji kacang hijau (*Phaseolus Radiatus*). Hal ini dibuktikan dengan adanya hasil uji determinasi tanaman yang menunjukkan bahwa tanaman yang diuji benar merupakan tanaman kacang hijau (*Phaseolus Radiatus*).

Uji kuantitatif dengan metode Lowry dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut :

1. Penentuan maks atau panjang gelombang maksimum

Panjang gelombang maksimum digunakan untuk mencari absorbansi tertinggi pada panjang gelombang tertentu. Kadar protein dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 450-900 nm. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh yaitu 746.50 nm dengan absorbansi maksimum 1.443.

2. *Operating Time* (OT)

Pengukuran waktu kerja (*Operating Time*) protein digunakan untuk mengetahui kestabilan absorbansi dan warna pada larutan blanko yang diukur dari 0-3600 detik atau 0-1 jam. Berdasarkan penentuan waktu kerja protein diperoleh hasil *Operating Time* pada waktu 12 menit atau 720 detik. Hasil *Operating Time* ini digunakan untuk melakukan pengukuran absorbansi sampel yaitu pada menit ke-12.

3. *Absorbansi* larutan protein standar bovin serum albumin (BSA)

Pengukuran absorbansi larutan protein standar bovin serum albumin (BSA) yang kadarnya telah diketahui digunakan untuk mencari persamaan regresi linier untuk menentukan konsentrasi sampel.

Dalam analisis kuantitatif metode yang digunakan adalah dengan metode Lowry. Setelah ditambahkan

dengan reagen Lowry A, Lowry B, dan Lowry C, kemudian dibaca absorbansinya dengan Spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang maksimal dan *Operating Time* (OT) yang telah diperoleh. Dalam pengukuran absorbansi sampel perlu dilakukan pengenceran apabila sampel terlalu pekat. Karena sampel yang terlalu pekat, absorbansinya dapat melebihi absorbansi maksimum yang telah diperoleh. Dalam uji kuantitatif ini sampel sebelum direbus diencerkan sebanyak 20 kali, pengenceran dilakukan dengan mengambil 0.5 ml larutan sampel kemudian ditambahkan dengan aquadest sampai 10 ml. Sedangkan sampel yang sudah direbus diencerkan sebanyak 10 kali, pengenceran dilakukan dengan cara mengambil 1 ml larutan sampel kemudian ditambahkan aquadest sampai 10 ml.

Pada uji kuantitatif diperoleh hasil rata-rata protein sampel sebelum direbus yaitu 1.664% b/b, sedangkan hasil rata-rata protein sampel sesudah direbus yaitu 0.632% b/b. Perbedaan kadar protein pada sampel dikarenakan protein yang terdapat dalam sampel yang sudah direbus mengalami denaturasi protein. Denaturasi protein dapat disebabkan oleh : pH, suhu tinggi, ion logam berat, gerakan mekanik, alkohol, aseton, eter dan detergen⁽¹⁰⁾. Tetapi dalam penelitian ini, perbedaan protein disebabkan karena proses perebusan pada suhu yang terlalu tinggi sehingga pada sampel yang belum direbus kadar proteinnya lebih tinggi.

Analisa Data

Dari hasil uji statistik diketahui bahwa t hitung $>$ t tabel, dan $p < 0.05$

sehingga Ha diterima dan Ho ditolak. Artinya ada beda secara signifikan antara kadar protein sebelum dan sesudah direbus.

SIMPULAN

1. Kadar rata-rata protein yang terkandung dalam sampel sebelum direbus yaitu 1.664 % b/b.
2. Kadar rata-rata protein yang terkandung dalam sampel sesudah direbus yaitu 0.632 % b/b.
3. Berdasarkan hasil uji statistik diketahui t hitung = 43.827, t tabel = 2.920, dan nilai p = 0.001. Sehingga ada perbedaan secara signifikan antara kadar protein pada sampel sebelum dan sesudah direbus.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sastrohamidjojo, Hardjono. 2009. *Kimia organik*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
2. Almatsier, Sunita. 2009. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

3. Cahyono, bambang. 2007. *Teknik Budidaya dan Analisis Usaha Tani Kacang Hijau*. CV.Aneka Ilmu. Semarang.
4. Agoes, azwar. 2010. *Buku 1 Tanaman obat Indonesia*. Salemba Medika. Jakarta.
5. Sudarmadji, Haryono, dan Suhardi. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertaian*. Liberty. Yogyakarta.
6. Sediaoetama, Achmad Djaeni. 2004. *Ilmu Gizi Jilid II*. Dian Rakyat. Jakarta.
7. Anonim. 2013. *Pengertian Tauge*. <http://id.wikipedia.org/wiki/Tauge>. diakses pada 14/10/2013 15.03
8. Anonim. 2014. *Protein Dengan Metode Lowry*. www.ruf.rice.edu/~bioslabs/methods/protein/lowry.html. diakses pada 07/02/2014 10.06
9. Riwidikdo, handoko. 2012. *Statistik Kesehatan*. Nuha Medika. Yogyakarta. Poedjiadi dan Supriyanti. 2006. *Dasar-dasar biokimia*. Universitas Indonesia Press. Jakarta