

## B A B I

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 1. Tinjauan Tentang Protein.

##### 1.1. Sejarah Duan.

Protein asal kata dari "Protein (Yunani) , yang mempunyai arti sesuatu yang terpenting, mula-mula diperkenalkan oleh Berzelius dan Mulder sekitar tahun 1838 (44).

Protein merupakan suatu molekul yang kompleks dan dapat diketemukan hampir setiap jasad hidup, baik hewan, tumbuh-tumbuhan maupun manusia serta menduduki posisi yang penting dalam kelangsungan hidup organisme tersebut. Segala aktivitas fisik maupun kimia dari sel-sel hidup dikatalisir oleh enzim-enzim dan enzim-enzim ini tidak lain juga terdiri dari protein (2, 25, 42, 43). Bahan protein dibentuk mula-mula di dalam tanah-tanahan dan pabrik-pabrik kecil di dalam daun dan akar ini bekerja terus menerus dan mengubah bahan kimia lain yang sederhana menjadi bahan yang sangat rumit seperti protein.

Adapun kegunaan protein dalam tubuh manusia antara lain :

1. Membangun sel-sel jaringan tubuh baru.
2. Mengganti sel-sel yang rusak.

3. Membuat enzim-enzim, hormon-hormon, pigmen-pigmen, zat-zat pelawan penyakit dan lain-lain.
4. Bersama-sama dengan garam besi dan garam tembaga membuat sel-sel darah merah.
5. Mengatur pertumbuhan sel dalam tubuh.
6. Memberikan kalori.
7. Bekerja sebagai buffer atau penyangga.

Kekurangan proteina yang agak lama dapat mengakibatkan antara lain :

1. Tubuh tidak mampu menyerap proteina
2. Proteina banyak yang dibakar karena kekurangan proteina.
3. Menimbulkan gangguan faali.
4. Mudah terserang penyakit busung lapar.
5. Mengurangi kemampuan penyerapan terhadap vitamin A

Oleh karena itu dapatlah dikatakan bahwa proteina merupakan suatu kebutuhan mutlak bagi manusia (2, 6, 11, 25, 38).

### 1.2. Susunan Kimia. (11, 29, 30, 41, 42, 43).

Proteina adalah zat yang tersusun oleh unsur-unsur Karbon, Hidrogen, Oksigen, Nitrogen dan kadang-kadang mengandung juga Belerang, Fosfor, Besi dan Jodium. Pada hakikatnya proteina merupakan agregat dari pelbagai macam asam amino yang mutlak yaitu: Arginina, Histidino

Leusina, Iso-leusina, Lisina, Metionina, Fenilalanina, -  
Treonina, Triptofan, Valina dan asam amino tidak mutlak  
seperti : Alanina, Asam aspartat, Sitrulina, Sietina, -  
Asam glutamat, Glisina, Sietina, Hidroksi prolina, Proli  
na, Serina, Tirocina dan lain-lain.

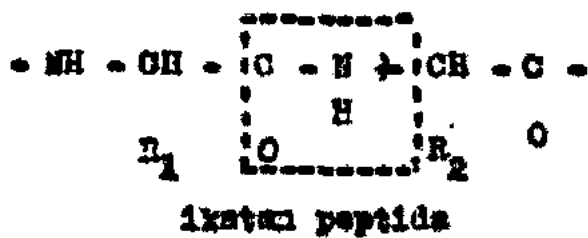
Proteina mempunyai berat molekul yang besar, ber-  
kisar dari 5000 sampai berjuta-juta dan sebagai satuan -  
dasar terkecil adalah asam amino. Didalam molekul prote-  
ina ada yang mengandung asam amino mutlak dengan lengkap  
dan ada yang kurang lengkap.

Bilamana suatu proteina dihidrolisa maka akan di-  
dapatkan asam amino penyusunnya. Ciri khas struktur asam  
amino adalah :



- Suatu  $\alpha$  amino asam karboksilat.
- R merupakan gugus organik lain yang menentukan je  
nis suatu asam amino tertentu.

Dua atau lebih asam amino digabungkan satu dengan  
lainnya oleh suatu ikatan yang disebut ikatan peptida, -  
yaitu : ikatan yang menghubungkan karboksil grup dari -  
asam amino yang satu dengan amino grup dari asam amino -  
yang lain.



Bilamana dua asam amino bergabung menjadi satu disebut : dipeptida, tiga asam amino disebut: tripeptida, - lebih dari tiga asam amino disebut : polipeptida, Penggabungan yang komplek dari polipeptida-polipeptida inilah yang dikenal sebagai protein.

### 1.3. Klasifikasi (42, 43).

Sistem klasifikasi yang pasti dari protein - belum dapat diketemukan oleh karena banyaknya macam protein dengan sifat-sifatnya yang berbeda-beda. Cara termudah, para umumnya menggolongkan protein berdasarkan struktur dari protein tersebut.

Pembagian protein dibawah ini diambil dari salah-satu literatur (43) yang membagi protein berdasarkan sifat-sifat umumnya yaitu :

- Bentuk atau ukuran.
- Kelarutan
- Unsur kimia

#### 1. Protein bentuk serat ("Fibrous Protein).

Sifat :

- Proteina hewani yang sukar larut dalam air.
- Merupakan molekul yang panjang.
- Mempunyai daya tahan yang tinggi pada proses pencernaan oleh enzima-enzima proteolitik,
- Meliputi proteina-proteina dari sutera, wool, kulit, rambut, kuku dan lain-lain.

Contoh :

- Kolagen pada tulang rawan.
- Miosina pada otot.
- Keratina pada rambut.
- Fibrina pada darah.
- Dan lain-lain.

## II. Proteina bentuk bulat ("Globular Protein").

Sifat :

- Umumnya larut dalam air.
- Larut dalam larutan encer asam, basa, garam dan etanol.

Contoh :

- Albumina pada telur.
- Globulina pada serum darah.
- Histon pada kelenjar pankreas.
- Prothamina pada sel-sel sperma ikan Salmon.
- Dan lain-lain.

## III. Proteina terkonjugasi ("Conjugated protein").

Sifat :

Tergantung adanya gugus-gugus lain yang ikut menyusun molekul proteina yaitu yang disebut: Prosthetic group.

Contoh :

- Mukleoproteina hasil konjugasi dengan asam nukleat.
- Mukoproteina hasil konjugasi dengan karbohidrat.
- Lipoproteina hasil konjugasi dengan lemak.
- Metaloproteina, hasil konjugasi dengan logam.



#### 1.4. Reaksi Identifikasi.

Pemeriksaan kandungan proteina pada umumnya dikerjakan sebagai reaksi warna yang memperlihatkan reaksi antara radikal-radikal dalam kompleks molekul proteina dengan reagensia-reagensia tertentu (29, 33, 42, 43).

##### 1. Reaksi Biuret.

Proteina dalam suasana alkalis kuat dengan pemanasan bahan larutan sangat encer tembaga (II) sulfat akan terbentuk warna lerbayung.

Reaksi ini positif untuk ikatan peptida, polipeptida pada proteina.

##### 2. Reaksi Ninhidrina.

Proteina dengan larutan ninhidrina akan membentuk warna biru keunguan.

Proteina, asam amino, peptida, amin primer menberikan reaksi yang positif.

### 3. Reaksi Millon.

Proteina dengan Reagen Millon (Larutan raksa dan raksa-ion dalam asam nitrat dan nitrit) dan dipanaskan 1-2 menit maka pada pendinginan akan terbentuk warna merah.

Reaksi ini menunjukkan adanya gugus hidroksi-fenil, terutama positif terhadap proteina-proteina yang mengandung asam amino tirofina.

### 4. Reaksi aldenid (Reaksi Hopkin's Cole, Reaksi Erlich). Proteina dengan dimetilaminobenzaldehid P dan asam sulfat P pekat akan terbentuk warna-kemerahan (reaksi cincin).

Indol grup (dalam triptofan) memberikan reaksi positif.

### 5. Reaksi terhadap sulfur.

Kedalam labu erlenmeyer kecil, masukkan larutan-proteina, tambahkan larutan natrium hidroksida sampai alkalis kuat dan larutan timbal (II asetat) 5 %, dididihkan beberapa menit, maka akan timbul endapan hitam.

Bila proteina terdiri dari asam amino yang mengandung sulfur (sistin, sisteina, metionina) dengan pendidihan bersama larutan alkali, sulfida

diri atau disulfide grup akan berubah menjadi sulfur inorganik yang dengan timbal (II) asetat membentuk endapan hitam dari timbal (II) sulfida

## 2. Tinjauan Tentang Tempe.

### 2.1. Gambaran Umum.

Di Indonesia yang mempunyai iklim tropik secara tidak langsung memberikan kebebasan bagi mikroorganisma untuk tumbuh dengan subur (5). Penduduk memanfaatkan keadaan ini dengan menggunakan mikroorganisma tersebut untuk membuat pelbagai makanan hasil fermentasi yang terkenal seperti : tempe, kecap, oncom, dan lain-lain.

Van Veen dan Schafer mengemukakan bahwa tempe lebih mudah dicernakan dari pada kedele, jadi dapat dikatakan bahwa hasil fermentasi lebih bermanfaat daripada bahan bakunya.

Tempe pertama-tama dibuat di Indonesia dan merupakan salah satu ciri khas makanan Indonesia. Di luar negeri dikenal orang sebagai "tempeh Indonesian food" (17) awal sekali yang dimaksud dengan tempe adalah tempe yang dibuat dari kedele dan kemudian dikenal dengan jenis-jenis tempe yang lain (15), misalnya :

- Tempe gabus (ampas tahu sebagai substrat).
- Tempe bongkrek (bungkil kelapa atau kelapa parut-



sebagai substrat).

- Tempe bungkil (smpas kacang sebagai substrat).
- Dan lain-lain.

Untuk selanjutnya yang dimaksud dengan tempe disini adalah tempe kedele.

Akhir-akhir ini banyak dilaporkan adanya keracunan dengan tempe yang lazim disebut "bongkrek", diduga jenis kacang-kacangan terutama kacang tanah mengandung sejumlah senyawa toksik, pada umumnya berupa senyawa alkaloida, cyanoglukosida, cyanida dan senyawa nitro.

R.I. Ferdinand Wenas (34) didalam penelitiannya telah menemukan bahwa racun-racun tersebut larut di dalam air, sehingga mudah untuk menghilangkannya, sebelum bahan tersebut digunakan sebagai preparat bahan makanan. Demikian pula dengan jalan perebusan lebih dari satu kali dan perendaman dalam air yang berbeda dua sampai tiga kali akan dapat menghilangkan racun tersebut (2, 17, 34).

Sebagai bahan dasar tempe adalah kedele. Kedele dapat diklasifikasikan sebagai berikut : (3, 4, 36).

Divisio	: Spermatophyta.
Classis	: Angiospermae.
Sub classis	: Dicotyledonae.
Ordo	: Rosales.
Familia	: Leguminosae.
Sub familia	: Papilionoideae.

Genus : Glycine.

Species : Glycine soja Sieb et Zucc.

Kedele ini banyak ditanam orang disawah sebagai pa-  
nen padi, sebagai tanaman palawija yang mempunyai sifat -  
dapat memperbaiki tanah.

Pohonnya berumur satu tahun (annual), daunnya segitiga -  
berbentuk bulat telur, terlihat kurang menarik. Bunganya  
berbentuk kupu-kupu dengan warna kuning keputihan. Buah -  
nya disebut buah polongan, tiap-tiap tangkai buah berie-  
dua sampai lima biji, agak keras, lonjong atau elip, war-  
nanya bervariasi dari putih sampai kuning kehijauan. Ada-  
dua jenis kedele yaitu kedele hitam dan kedele kuning, -  
yang lazim digunakan untuk tempe adalah kedele yang kuning  
(4, 36, 33).

Tempe adalah salah satu jenis makanan terolah yang  
diproses secara fermentasi dengan kedele yang telah digu-  
sak sebagai substrat dan ragi tempe (laru) sebagai mikro-  
organismenya. (9, 16). Mikroorganisma yang diketemukan pa-  
da tempe bermacam-macam diantaranya : *Rhizopus* sp., *Mucor*  
sp, *Frichosporon* sp, *Aspergillus* sp., *Fusarium*, dan lain-  
lain.

Djien dan Hesseltine (13) dalam risetnya memperli-  
hatkan bahwa pembuatan tempe dapat dikerjakan dengan em-  
pat species yang berbeda dari strain *Rhizopus* (gambar 1)-  
yaitu :



1. *Rhizopus otolonifer*.
2. *Rhizopus oligosporus*.
3. *Rhizopus oryzae*.
4. *Rhizopus arrhizus*.

*Rhizopus oligosporus* (gambar 2) adalah "species of choice" dalam menghasilkan tempe yang paling baik (gambar 3).

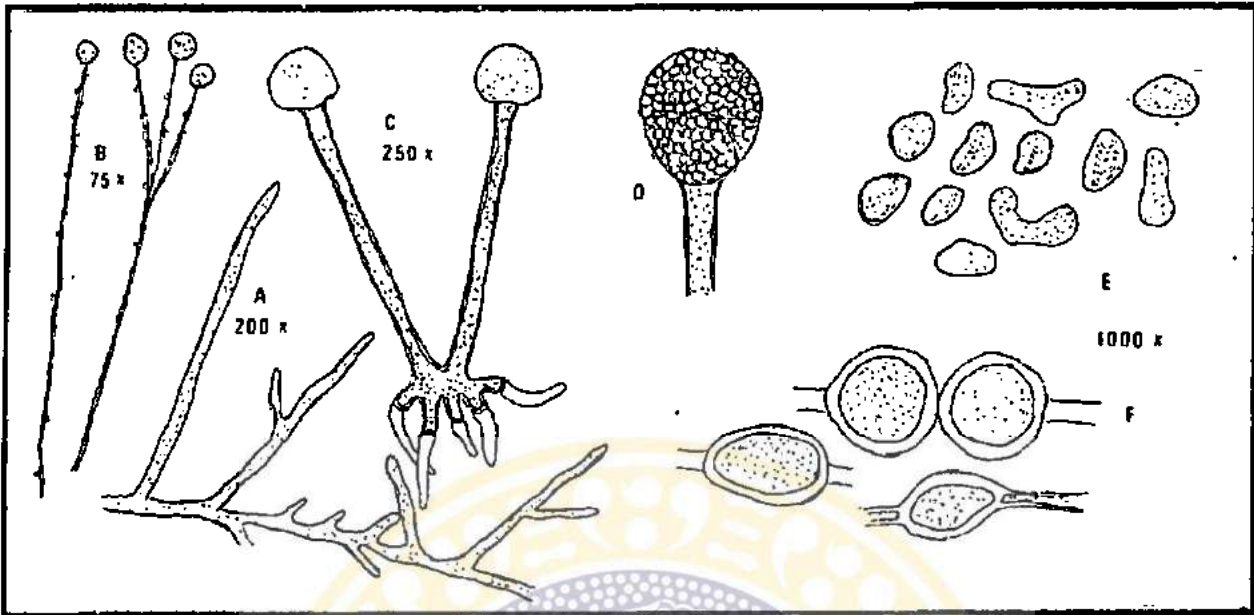


GAMBAR 1  
RHIZOPUS sp. (14).

Koloni tumbuh sangat cepat pada S.D.A. (cahu kasar) seperti kapas, berwarna putih keabuan, mycelium menutupi petri perbenihan dalam waktu tiga hari.

Gambaran mikroskopis :

- a. Sporangiofere.
- b. Sporangium yang masak penuh dengan sporangiospora.
- c. Rhizoid menempel pada substrat.
- d. Columella.



GAMBAR 2

**RHIZOPUS OLIGOSPORUS SAITO, HASIL ISOLASI  
DARI TEMPE DARI WAIANG (B)**

- A. Mycelium dengan bentuk kasar.
- B. Sporangioophore, lurus dan beresbang dengan tetesan air yang menempel.
- C. Sporangioophore yang kuat dengan rhisoidnya.
- D. Sporangium.
- E. "Non straited sporangiospore".
- F. "Intercalary Chlamidospore".



GAMBAR 1.3

KEMAS 100, SUTERA DIFABRIKASI DAN  
MILIKI (LINDA) (1)

## 2.2. Pembuatan. (9, 10, 13, 15, 17, 28).

Sebagai salah satu jenis makanan terdapat dapat  
lah dikatakan bahan tempe pada umumnya masih dikerjakan se  
cara "hand production". Selama proses pembuatan dari bahan  
baku (kedelai) sampai berbentuk tempe dapat dikelompokkan -

dalam tiga tahap yaitu :

- I. Pencucian dan perebusan.
- II. Panaburan benih/ ragi tempe.
- III. Pemeraman.

Dari seluruh proses pembuatan mulai dari bahan bakunya - (kedele) membutuhkan waktu sedikit-dikitnya 64 jam.

Streinkraus dan kawan-kawannya mengemukakan hasil- percobaannya bahwa, dari 100 gram kedele akan dihasilkan 72,5 gram tempe (bobot kering). (13).

Djien dan Hasseltine menguraikan cara pembuatan - tempe sebagai berikut :

1. Kedele direndam semalam.
2. Hilangkan kulit kedele.
3. Rebuslah selama 30 menit.
4. Tabarkan kedele yang telah masak diatas dalam bambu untuk mengeringkan dan mendinginkannya.
5. Campurlah dengan spora tempe (ragi tempe).
6. Bungkus dengan daun pisang  $\pm 1 \times 5 \times 10$  cm).
7. Taruh dalam suhu kamar selama 1 - 2 hari.

Dikatakan pula bahwa selain dalam bentuk kecil yang dibungkus dengan daun pisang, adapula yang dibentuk mirip- kue yang besar dengan cetakan dari bambu.

Hal-hal yang perlu diperhatikan di dalam pembuatan- tempe adalah :

1. Pengawasan kulit kedelai.
2. Pengaturan pH sekitar 4,0 - 5,0 untuk mencegah pertumbuhan bakteri.
3. Usahakan pengaliran oksigen yang cukup pada masa ke-4.
4. Pengaturan kelembaban yang tinggi untuk mencegah pengeringan.
5. Selama proses fermentasi suhu dijaga jangan melebihi 45°C.

#### 2.3. Zat Kendurutan (4, 13, 17, 20, 27, 37).

Tempe mengandung bahan-bahan yang sangat kompleks.

Ditinjau dari bahan bakunya yaitu : kedelai (*Glycine max* Soja Sieb et Zucc) yang mengandung :

#### 1. Protein ( $\pm 50\%$ ).

Kandungan pokok yaitu : globulin, pascolina dan albumina yang terdiri dari legumina dalam jumlah lebih besar dibandingkan "Soy legumina".

#### 2. Karbohidrat ( $\pm 35\%$ ).

Pentosan, galaktan, galakturon dan mengandung banyak asam galakturonat.

#### 3. Glikosida.

Genistin (bilamana dihidrolisis akan membentuk satu molekul glukosa dan satu molekul genistein).

#### 4. Sapogenin.

#### 5. Iso-flavon.

Tatoina, metil-genistein, metil iso genistein, iso-genistein.

#### 6. Enzima.

Lipoksidase (suatu peroksidase yang akan rusak oleh pemanasan atau pengasaman).

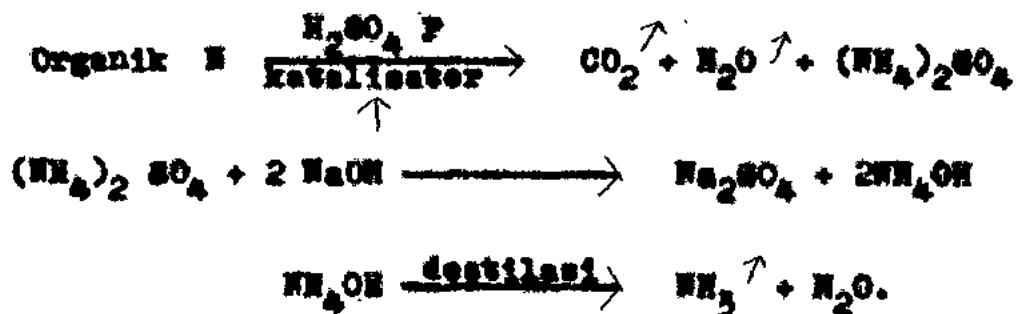
#### 7. Asam-asam lemak.

Asam liknokrat, asam linoleat, asam arakidat, asam stearat, asam palmitat, asam oleat dan asam linoleat.

Proteina sebagai kandungan utama terdiri dari asam-amino-asam amino sebagai berikut : arginina, histidina, lisina, triptofan, fenilalalina, sisteina, metionina, treonina, leusina, iso-leusina dan valina.

### 3. Tinjauan Tentang Metode Kjeldahl. (7, 12, 16, 18, 19, 21, 27, 30, 41, 44).

Metode Kjeldahl adalah suatu cara penentuan kadar Nitrogen dalam bahan organik dengan dasar destruksi bahan tersebut, secara pendidihan bersama-sama asam sulfat pekat. Metode ini mula-mula diperkenalkan oleh Kjeldahl untuk menentukan kadar Nitrogen dalam bir dan memberikan hasil yang memuaskan, selanjutnya dikenal sebagai metode Kjeldahl (44).





Dengan pendidihan bersama-sama asam sulfat pekat dan katalisator-katalisator Karbon dan Hidrogen dari zat organik teroksidir menjadi gas. Karbon dioksida dan uap-air, sedang Nitrogen dengan asam sulfat membentuk garam amonium-sulfat. Hidrogen yang terikat sebagai garam tersebut dapat didasak keluar secara kuantitatif sebagai Amonia oleh penambahan larutan basa kuat (natrium hidroksida atau kalium hidroksida) yang dilakukan secara destilasi. Selanjutnya Amonia yang keluar ditampung dalam asam klorida 0,1 N atau asam sulfat 0,1 N berlebih dan kelebihan asam dapat dititrasi kembali dengan natrium hidroksida 0,1 N menggunakan indikator fenolftalein atau jingga metil<sup>40</sup> (40). Selain itu sebagai penampung dapat pula dipergunakan larutan asam borat, dimana dengan Amonia akan membentuk amonium-borat yang bersifat alkalis dan ditentukan dengan asam klorida 0,1 N atau asam sulfat 0,1 N menggunakan indikator merah metil atau hijau bromkresol. Untuk menghindari adanya Nitrogen yang bukan berasal dari sampel maka perlu dilakukan reaksi blangko (7, 12, 21).

Metoda ini kemudian dimodifikasi oleh Gunning dan Arnold dengan menambahkan garam kalium sulfat atau natrium sulfat yang berguna untuk menaikkan titik didih asam sulfat dan raksa atau raksa (II) oksida atau tembaga (II) sulfat sebagai katalisator ("oksigen carrier"), sehingga reaksi yang terjadi selama proses destruksi dapat dipercepat.

Gunning menggunakan perbandingan molal asam sulfat dengan kalium atau natrium sulfat sebesar 3 : 2 (21). Bila dipergunakan raksa atau raksa (II) oksida maka dalam destilasi perlu ditambahkan kalium sulfida atau natrium sulfida dan sisa destilasi yang mengandung bahan beracun (raksa II sulfida harus hati-hati pembuangannya (35, 44).

Bahan-bahan yang mengandung Nitrogen sebagai amina atau amida dapat ditentukan secara tepat dengan menggunakan metoda Kjeldahl, sedang dalam bentuk yang lain misalnya Nitro, Nitroso, Hidrazin dan lain-lain akan mengalami modifikasi-modifikasi lebih lanjut (16, 18, 21).

Selanjutnya Nitrogen yang didapat dikalikan suatu faktor proteina (faktor konversi) diperoleh kadar proteinanya. Faktor ini didapatkan dari hasil penyelidikan bahwa proteina dari sejenis kacang-kacangan mengandung unsur nitrogen sebesar 16% ( $\frac{100}{16} = 6,25$ ), sedang untuk bahan-bahan lainnya dapat dilihat dalam tabel I di bawah ini (21, 32, 35, 44).

**TABEL - I**  
**KONVERSI DARI KADAR N MENJADI KADAR PROTEINA**  
**BERBAGAI MACAM BAHAN (35)**

No.	B a h a n	Faktor konversi
1.	beer	6,25
2.	gandum	5,70
3.	roti	5,70
4.	Sirup	6,25
5.	Coklat	-
6.	sereal (biji-bijian)	6,25
7.	susu kental manis	5,38
8.	yeast ( ragi )	6,25
9.	makanan ternak	6,25
10.	buah-buahan	6,25
11.	padi-padian kecuali gandum	6,25
12.	makaroni, bakmi	5,70
13.	malt	6,25
14.	nut, kacang-kacangan	6,25
15.	t e h	6,25
16.	anggur	6,25
17.	wort (malt untuk pembuatan bir)	6,25

## B A B II

### METODA PENELITIAN

#### Tempe-Tempe

1. Cara survey dan pengambilan sampel.
2. Penelitian dalam laboratorium.

#### 1. Cara Survey Dan Pengambilan Sampel.

##### 1.1. Cara survey(S3).

Sebagaimana telah disebutkan dalam judul skripsi ini yaitu : "Penelitian kadar proteina total tempe - yang beredar dipasar-pasar resmi kota Surabaya" maka sebagai daerah "generalisasi" hanya terbatas pada pasar-pasar resmi di kota Surabaya.

Karena itu dilakukan survey dengan tujuan untuk memperoleh keterangan yang mewakili seluruh populasi, dimana disini populasinya adalah pasar resmi, yaitu pasar yang telah terdaftar dalam organisasi Perusahaan Pasar Kota Madya Daerah Tingkat II Surabaya; sedangkan pasar yang hendak disurvei dipilih secara random. Adapun pembagian Strata (Rayon) disesuaikan dengan "Bagan Struktur Organisasi Perusahaan Pasar Kota Madya Daerah Tingkat II Surabaya, dimana terdapat 6 Rayon yaitu :

1. Rayon Selatan I.
2. Rayon Selatan II.
3. Rayon Timur.
4. Rayon Utara I.
5. Rayon Utara II.
6. Rayon Pasar Proyek.

Berdasarkan perbandingan jumlah pasar dari setiap Rayon dipilih pasar-pasar yang dimaksud secara perorangan undian, kemudian dibuat daftar nama-nama pasar tersebut untuk selanjutnya dilakukan penelitian terhadap tempe yang beredar dalam pasar-pasar tersebut.

#### 1.2. Cara pengambilan sampel.

Pengambilan sampel untuk tujuan ini dilakukan secara systematic stratified random sampling (38). Oleh karena sebagai sampel adalah tempe yang beredar di pasar-pasar resmi kota Surabaya, maka sebagai langkah pendahuluan ditentukan dahulu jumlah sampel yang diambil. Pembagian Strata (Rayon) menurut "Badan Struktur Perusahaan Pasar Kota Madya Daerah Tingkat II Surabaya" dimana terbagi dalam 6 rayon, dari tiap-tiap Rayon diambil beberapa pasar sebagai pasar sampel yang diperiksa dan jumlah pasar tersebut sebanding dengan banyak-

nya jumlah pasar dari Bayan yang lain. Tiap lima pasar dalam satu Bayan yang ada secara undian, diambil sebuah pasar sampel dan akhirnya diperoleh 13 pasar sampel.

Selanjutnya pengambilan sampel tempe untuk dianalisis dalam tiap-tiap pasar sampel dilakukan sebagai berikut (15) :

- Sampel tempe dibeli dari pedagang dan disamping itu diusahakan sedapat mungkin menamakan produsen-nya, guna mengumpulkan keterangan lebih terperinci tentang pembuatannya.
- Karena tidak mudah membuat "aliquat" sampel yang homogen dari tiap pedagang dalam tiap pasar sampel maka diambil sampel acak untuk dianalisis dari pertengahan-pertengahan harga tiap tempe yang dibeli dari empat pedagang dalam tiap pasar sampel.
- Segera setelah diperoleh sampel dianalisis di laboratorium.

Susunan organisasi perusahaan pasar dapat dilibatkan dalam daftar yang akan lampirkan di belakang.

## 2. Penelitian Dalam Laboratorium.

### 2.1. Analisis kuantitatif.

#### 2.1.1. Organoleptis :

Dari tempe-tempe yang di dapat diperi-

ketikan bentuk, warna, bau dan rasanya.

**2.1.2. Analisa kualitatif dengan metoda reaksi warna, warna-warna yang terjadi memperlihatkan reaksi antara radikal radikal atau gugus-gugus dalam molekul proteina (29, 33, 42, 43).**

**a. Reaksi Biuret.**

Larutan sampel sebanyak 3 ml dalam tabung reaksi, ditambahkan sejumlah yang sama larutan natrium - hidroksida P. 10 %, kocok homogen, tambahkan 3-5 tetes larutan tembaga (II) sulfat 0,5%, maka akan terbentuk warna ungu.

**b. Reaksi Ninhidrina.**

Ke dalam 5 ml larutan sampel ditambahkan 1 ml larutan ninhidrina P. 0,01%, panaskan 1-2 menit, - dinginkan akan terjadi warna biru.

**c. Reaksi Millon.**

Tambahkan ke dalam 4 ml larutan sampel, 5 tetes larutan pereaksi Millon, kocok homogen dan panaskan hati-hati sampai mendidih selama 1-2 menit, - dinginkan, akan terjadi warna merah.

**d. Reaksi Aldehida ( Reaksi Hopkin's Cole, Reaksi - Erlich).**

Dalam tabung reaksi, pipet 2 ml larutan sampel, tambahkan sedikit serbuk p- dimetilaminobenzal -

dehidra P. kocok homogen, hati-hati melalui dinding tabung tuangkan 3 ml asam sulfat P, diamkan beberapa menit, maka akan timbul warna ungu kemerahan pada pertemuan kedua cairan (reaksi cincin).

**e. Reaksi terhadap Sulfur.**

Dalam labu Erlenmeyer kecil, masukkan 5 ml larutan sampel, tambahkan 10 ml larutan natrium hidroksida 10 % dan 3 tetes larutan tirbal (II) asetat P. 5 %, dididihkan larutan beberapa menit, akan terbentuk endapan.

**Keterangan :**

1. Larutan sampel adalah larutan 10 % b/v, yang dibuat dari tempe seberat 10 g, dipotong kecil-kecil dan digerus halus dalam mortir, tambahkan air suling sampai 100 ml, aduk homogen dan saring dengan kertas saring, filtrat dipakai sebagai larutan sampel.
2. Larutan pereaksi Millon dibuat dengan melarutkan 1 g raksa P. dalam asam nitrat P. (o.d.1,4) 1,5 ml dan air suling 2 ml, sambil dipanaskan.

**2.2. Pengantuan kadar proteina dengan metode biuret  
dari Gunning-Arnold (18, 19, 21, 22, 44).**

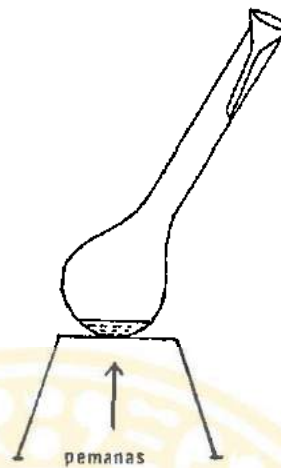
**Dasar :** Proteina tempe diestruksi dengan



asam sulfat P. dengan katalisator natrium sulfat anhidrat P. dan tembaga (II) sulfat anhidrat P., Nitrogen proteina terikat sebagai garam Amonium-sulfat, selanjutnya dengan penambahan larutan natrium hidroksida P 40 % secara destilasi, Amonia dibebaskan dan diterpung dalam larutan asam klorida-0,1 N berlebih, kelebihan asam dititrasi kembali dengan natrium hidroksida-0,1 N dan sebagai indikator adalah fenolftalein I.P.

#### Cara kerja :

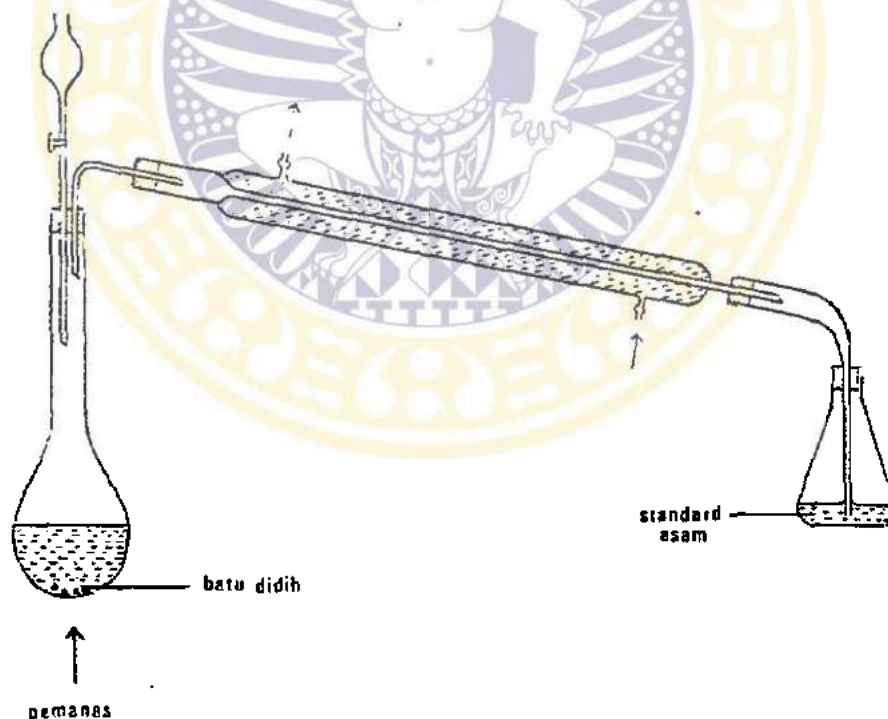
- Timbang saksama lebih kurang 1 g sampel.
- Masukkan kedalam labu Kjeldahl (750 ml), tambahkan natrium sulfat anhidrat P. 7 g dan tembaga (II) sulfat anhidrat P. 0,5 g, melalui dinding labu tambahkan 15 ml (dengan pipet ukur).
- Kedudukan labu diatur miring, lebih kurang membentuk sudut  $60^{\circ}$ , tutup ujung labu dengan corong kecil, alasi atas yang berlobang (jarak tengah 3 cm) dan diatur sedemikian rupa sehingga lubang corong tepat dibawah sampel yang akan didistilasi (gambar 4).



Gambar 4 : Pendidihan (destruksi) sampel dalam labu KJELDAHL

- Kalor-mala pemanas labu dengan api kecil, pakai pemanas Bunsen, sampai baih yang terjadi hilang ( ± 30 menit ), sambil kedadukan labu sering diputar.
- Setelah baih hilang, lanjutkan pemanasan dengan-nyalia yang kuat sampai destruksi sempurna yang ditandai dengan terbentuknya larutan biru kehi-jauan yang jernih.
- Setelah destruksi selesai, matikan api dan dinginkan labu.
- Tambahkan air suling 150 ml, masukkan batu didih secukupnya, dinginkan labu.

- Pasang alat destilasi : pipa bengkok, cerong pisah, pendingin "Liebig" (40cm) dan adapter dengan ujung adapter teroslap dolex larutan penguap. Sebagai penampung dipakai labu Erlenmeyer yang berisi 25,0 ml larutan asam klorida P 0,1N (dengan pipet volume) dan 10 tetes indikator fenolftalein L.P.
- Setelah semua alat destilasi tersusun rapi (gambar 5), dengan hati-hati melalui cerong pisah dimasukkan 70 ml larutan natrium hidroksida P. 40 %.



Gambar 5 : Alat destilasi KJELDAHL

- Julankan destilasi dengan pemanasan langsung dan diakhiri setelah isi labu tinggal sepertiga bagian.
- Titrasi kembali (dipakai buret) kelebihan asam klorida dengan larutan natrium hidroksida 0,1 N sampai warna rosa.
- Dilakukan pula percobaan blangko.

#### 2.2.1. Perhitungan kadar proteina total -

(35).

Kadar proteina total = kadar Nitrogen total x fP.

$$\text{Kadar Nitrogen total} = \frac{(B - S)N}{0,1} \times \frac{1,4008}{Z \times 1000} \times 100 \%$$

Keterangan :

- B = Volume larutan natrium hidroksida blangko (ml).
- S = Volume larutan natrium hidroksida sampel (ml).
- Z = Bobot sampel (g).
- N = Normalitas larutan natrium hidroksida.
- fP = Faktor Proteina (6,25).