



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**IDENTIFIKASI PROTEIN MENGGUNAKAN  
FOURIER TRANSFORM INFRARED (FTIR)**

**SKRIPSI**

**MAYANG SARI  
0806368023**

**DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA FAKULTAS  
TEKNIK UNIVERSITAS INDONESIA**

**DEPOK**

**2010/2011**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**IDENTIFIKASI PROTEIN MENGGUNAKAN  
FOURIER TRANSFORM INFRARED (FTIR)**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana**

**MAYANG SARI  
0806368023**

**PROGRAM S-1 EKSTENSI TEKNIK KIMIA  
DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA  
UNIVERSITAS INDONESIA  
DEPOK  
2010/2011**

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Mayang sari

NPM : 08063682023

Tanda Tangan :



Tanggal : 24 Juni 2011

## LEMBAR PENGESAHAN

JUDUL SEMINAR      Identifikasi Protein Menggunakan Fourier  
                                 Transfrom Infra Red (FTIR)

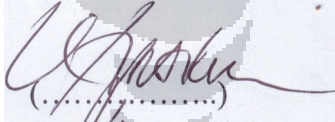
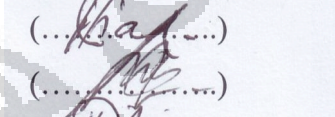
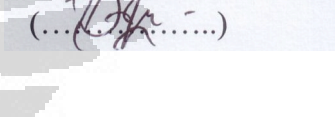

NAMA                      Mayang Sari

NIM                        0806368023

PROGRAM STUDI      Teknik Kimia

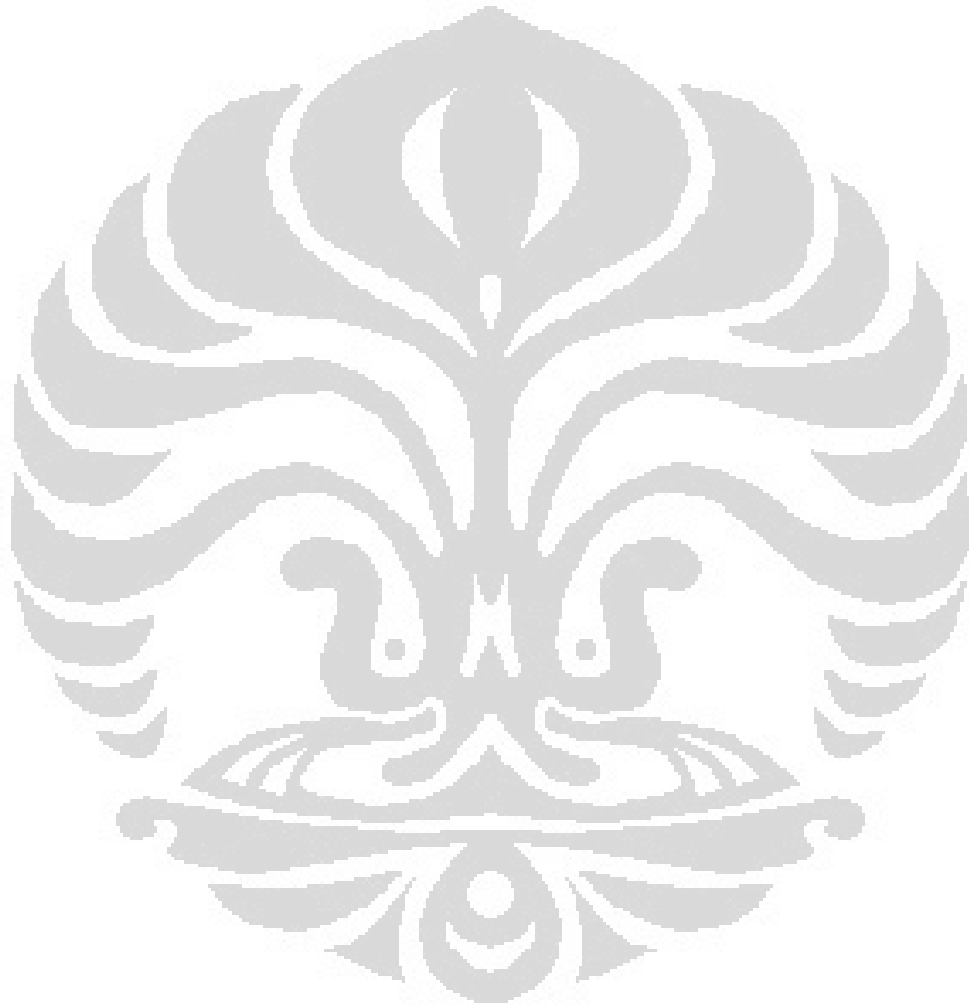
Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Pengujian dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik pada Program Studi Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia.

### DEWAN PENGUJI

Penguji 1	: Ir. Setiadi, M. Eng	
Penguji 2	: Dr. Eny Kusriani, S. Si	
Penguji 3	: Dianursanti, ST, MT	
Pembimbing	: Prof. Dr. Ir. M. Nasikin, M. Eng	

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 24 Juni 2011



## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadiran Allah SWT yang selalu memberikan rahmat dan hidayah-Nya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan makalah skripsi dengan judul “**Identifikasi Protein Menggunakan Fourier Transform Infrared (FTIR)**”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan menjadi Sarjana Teknik di Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis banyak mendapat bantuan, bimbingan dan dorongan serta doa dari berbagai pihak. Untuk itu penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih kepada yang terhormat:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. M. Nasikin, M. Eng, selaku dosen pembimbing seminar dan skripsi, yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan dalam penyusunan makalah skripsi.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Widodo W. Purwanto, DEA, selaku kepala Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia.
3. Bapak Ir. Yuliusman, M. Eng, selaku koordinator mata kuliah skripsi.
4. Dosen Departemen Teknik Kimia UI yang telah memberikan ilmu.
5. Orang tua, adik, dede setiadi dan keluarga yang selalu memberikan dukungan moral, material serta doa dalam penyusunan skripsi.
6. Anak-anak Teknik kimia Ekstensi UI angkatan 2008 yang telah melewati hari-hari kuliah bersama.
7. Semua pihak yang tidak dapat disebut satu persatu.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna, penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun demi tercapainya kesempurnaan dari makalah ini. Akhirnya dengan segala kerendahan hati, penulis berharap agar laporan ini dapat memberikan manfaat bagi rekan-rekan mahasiswa dan bagi mereka yang membutuhkannya.

Depok, Juni 2011

Penulis

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Mayang Sari  
NPM : 0806368023  
Program Studi : Teknik Kimia  
Departemen : Teknik Kimia  
Fakultas : Teknik  
Jenis karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif ( Non-exclusive Royalty-Free Right) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Identifikasi Protein Menggunakan Fourier Transform Infrared (FTIR) beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalih media / formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan membulikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Bogor

Pada tanggal : 24 Juni 2011

Yang menyatakan



(Mayang Sari)

## ABSTRAK

Nama : Mayang sari  
Program Studi : Teknik Kimia  
Judul : Identifikasi Protein Menggunakan Fourier Transform  
Infrared (FTIR)

Protein adalah salah satu unsur dalam makanan yang terdiri dari asam-amino yang mengandung unsur karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen, dan belerang. Identifikasi protein selama ini dilakukan dengan menggunakan metode spektroskopi konvensional misalnya spektroskopi UV-Vis dan metode Kjeldhal. Kedua metode ini membutuhkan persiapan sampel yang lama dan rumit, serta biaya yang mahal. Hal ini karena harus dilakukan pemisahan protein dari makromolekul yang lain yang tidak diinginkan dalam analisa. Spektroskopi FTIR (Fourier Transform Infrared) merupakan salah satu metode baku untuk mendeteksi struktur molekul senyawa melalui identifikasi gugus fungsi penyusun senyawa. Identifikasi protein dilakukan dengan menganalisa serapan gugus fungsi dengan Fourier Transform Infrared (FTIR). Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi protein dengan FTIR, dan mengenali puncak dari protein.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari ke-empat sampel (keju hewani, keju nabati, susu dan mentega) protein dapat dikenali dengan tiga peak yaitu amida III ( $1240-1265\text{ cm}^{-1}$ ), amida IV ( $633-721\text{ cm}^{-1}$ ), dan amida VI ( $551-586\text{ cm}^{-1}$ ). Peak untuk amida III mewakili gugus CN *stretching* dan NH *bending*, amida IV mewakili gugus OCN *bending* dan amida VI mewakili gugus *out-of-plane* NH *bending*. kadar protein relatif per karbonil untuk susu, keju hewani, keju nabati, dan mentega adalah 0,67, 1,37, 2,17, dan 1,70 dengan kadar protein 9,47 %, 19,08 %, 30,67 %, dan 24,03 %.

Kata kunci : Spektroskopi FTIR, protein, gugus fungsi.



## ABSTRACT

Name : Mayang Sari  
Study Program : Chemical Engineering  
Title : Protein Identification using Fourier Transform Infra Red (FTIR)

Protein is one of the elements in food which consists of amino acids that contain carbon, hydrogen, oxygen, nitrogen, and sulfur. Identification of the protein had been done using conventional spectroscopic methods such as UV-Vis spectroscopy and Kjeldhal methods. Preparation of the sample for both methods were long enough, complicated, and expensive. This was because had to do separation of proteins from other macromolecules that are not desirable in the analysis. FTIR Spectroscopy (Fourier Transform Infra Red) is one of the standard methods for detecting the molecular structure of compound through the identification of functional groups that make up the compound. Identification is done by analyzing the absorption of the functional protein by Fourier Transform Infrared (FTIR). The aims of the research are to identify protein by FTIR, and describe their peaks.

The results of the research show that of four samples (cheese, vegetable cheese, milk, and butter), proteins can be identified by three peaks, that are amide III (1240-1265  $\text{cm}^{-1}$ ), amide IV (633-721  $\text{cm}^{-1}$ ), and amide VI (551-586  $\text{cm}^{-1}$ ). Peak of the amide III represents the CN stretching and NH bending, amide group IV represents the OCN bending, and amide VI represents out-of plane NH bending. Protein relative levels per carbonyl for milk, cheese, vegetable cheese, and butter are 0.67, 1.37, 2.17, and 1.70 with a protein content of 9.47%, 19.08%, 30.67% , and 24.03%.

*Keywords:* FTIR spectroscopy, proteins, functional group.

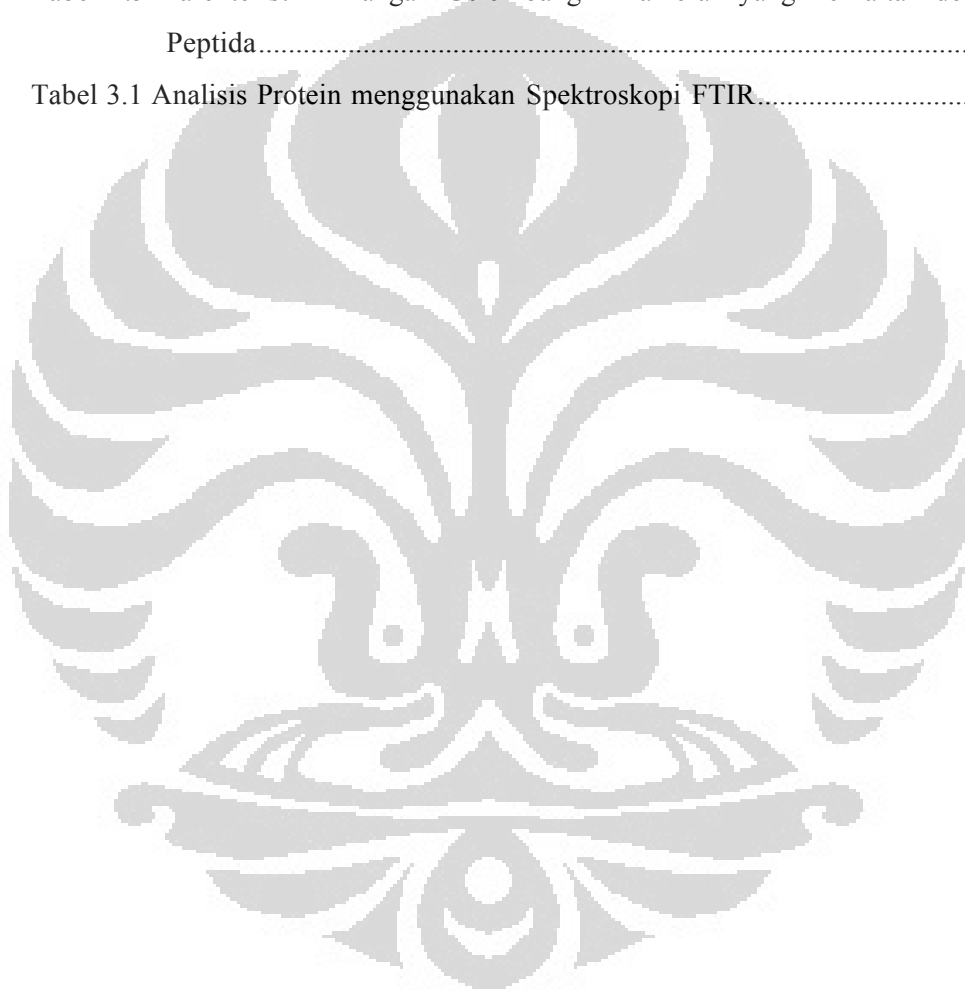
## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	iv
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	v
<b>LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH</b> .....	vi
<b>ABSTRAK</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ix
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiii
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang Masalah .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	2
1.4 Batasan Masalah .....	2
1.5 Sistematika Penulisan .....	2
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
2.1 Protein .....	4
2.1.1 Pengertian Protein .....	4
2.1.2 Sejarah Protein .....	5
2.1.3 Ciri-ciri Protein .....	5
2.1.4 Komposisi Protein .....	6
2.1.5 Klasifikasi Protein .....	7
2.1.6 Komponen Penyusun Protein .....	10
2.1.7 Struktur Arsitektur Protein .....	12
2.1.8 Sifat-Sifat Protein .....	14
2.1.9 Fungsi Protein .....	15
2.2 Analisa FTIR .....	15
<b>BAB 3 METODE PENELITIAN</b> .....	25
3.1 Diagram Alir Penelitian .....	25
3.2 Skema Alat .....	26

3.3 Peralatan dan Bahan Penelitian .....	28
3.3.1 Bahan .....	28
3.3.2 Peralatan .....	29
3.4 Prosedur Penelitian .....	29
3.4.1 Preparasi Sampel.....	29
3.4.1.1 Preparasi Sampel Cair .....	29
3.4.1.1.1 Urin Manusia.....	29
3.4.1.1.2 Urin Hewan .....	29
3.4.1.1.3 Susu.....	28
3.4.1.2 Preparasi Sampel Padatan dengan Metode Pelet KBr.....	29
3.4.1.2.1 Keju Hewani .....	29
3.4.1.2.2 Keju Nabati .....	29
3.5 Tahap Uji Sampel dan Analisa Data .....	29
<b>BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>33</b>
4.1 Profil Protein Hasil Analisis FTIR .....	33
4.2 Kadar Asam Amino .....	39
<b>BAB 5 SIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>45</b>
5.1 Simpulan .....	45
5.2 Saran .....	45
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>46</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>49</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Protein Majemuk/Konjugasi .....	9
Tabel 2.2 Nama-Nama Asam Amino.....	11
Tabel 2.3 Pembagian Sinar Berdasarkan Panjang Gelombang .....	16
Tabel 2.4 Gugus Fungsi Spesifik pada Bilangan Gelombang Tertentu .....	17
Tabel 2.5 Karakteristik Bilangan Gelombang Inframerah yang Berkaitan dengan Peptida.....	19
Tabel 3.1 Analisis Protein menggunakan Spektroskopi FTIR.....	31



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Asam Amino $\alpha$ .....	10
Gambar 2.2 Contoh Struktur dari beberapa Asam Amino .....	11
Gambar 2.3 Pembentukan Ikatan Peptida .....	12
Gambar 2.4 Struktur Primer Protein .....	13
Gambar 2.5 Alpha Helix dan Beta Sheet sebagai Struktur Sekunder Protein .....	13
Gambar 2.6 Struktur Tersier dari Protein Enzim Triosa Fosfat Isomerase (TPI) .....	13
Gambar 2.7 Struktur Hemoglobin yang merupakan Struktur Kuartener Protein .....	14
Gambar 2.8 Skema Spektrofotometer Inframerah atas menggunakan Kisi Difraksi, bawah, bawah monokromator prisma .....	22
Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian .....	25
Gambar 3.2 Skema Spektroskopi FTIR .....	26
Gambar 3.3 Instrumentasi Spektroskopi Shimadzu .....	27
Gambar 3.4 Diagram Interferometer Shimadzu .....	28
Gambar 3.5 Window $\text{CaF}_2$ .....	30
Gambar 3.6 Mortar untuk Mengerus Sampel Padatan .....	30

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Analisis Kadar Protein pada Sampel Susu .....	49
Lampiran 2. Analisis Kadar Protein pada Sampel Keju Hewani .....	51
Lampiran 3. Analisis Kadar Protein pada Sampel Keju Nabati .....	54
Lampiran 3. Analisis Kadar Protein pada Sampel Mentega .....	55
Lampiran 4. Spektrum FTIR untuk Keju Hewani (Cheddar ) .....	56
Lampiran 5. Spektrum FTIR untuk Keju Hewani (Prohciz).....	57
Lampiran 6. Spektrum FTIR untuk Keju Hewani (Belcube cheese sprod).....	58
Lampiran 7. Spektrum FTIR untuk Keju Nabati .....	59
Lampiran 8. Spektrum FTIR untuk Susu .....	60
Lampiran 9. Spektrum FTIR untuk Mentega .....	61
Lampiran 10. Spektrum FTIR untuk Urin Manusia.....	62
Lampiran 11. Spektrum FTIR untuk Urin Hewan .....	63

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Perkembangan teknologi tentang metode penentuan protein selalu mengalami perkembangan. Semua sistem kehidupan mengandung sejumlah protein yang berbeda dalam hal susunan asam amino, urutan asam amino, dan faktor yang mempengaruhi struktur molekul protein. Oleh karena itu, penentuan keberadaan dan keadaan protein mempunyai arti penting bagi kehidupan sehari-hari. Keberadaan protein dapat dikaitkan dengan kondisi kesehatan manusia.

Saat ini metode penentuan protein dilakukan dengan berbagai metode misalnya dengan metode kjedhal dalam penentuan kadar protein susu (Sofjan, 2008), metode UV-Vis, metode Fourier Transform Infrared (FTIR). Karena metode UV-VIS dan metode kjedhal ini membutuhkan preparasi sampel yang lama, rumit, sampel yang digunakan dalam fase padatan dan larutan, dan biaya yang cukup mahal. Hal ini karena harus dilakukan pemisahan protein dari makromolekul yang lain yang tidak diinginkan dalam analisa. Maka diperlukan metode yang lebih sederhana salah satunya metode FTIR, karena metode ini lebih sederhana dalam preparasi sampelnya, biaya yang cukup murah, sampel yang digunakan bisa dalam berbagai fase (padatan, gas, atau cairan). Karena kesederhanaannya metode FTIR digunakan sebagai identifikasi protein.

Penelitian ini merupakan titik awal dalam mengidentifikasi protein menggunakan FTIR dan digunakan untuk mengenali sebanyak mungkin puncak protein sehingga nantinya ada tahap lebih lanjut dalam mengidentifikasi protein menggunakan FTIR.

Protein adalah salah satu bio-makromolekul yang penting peranannya dalam makhluk hidup. Fungsi utamanya sebagai pembentukan struktur sel. Selain itu pula berfungsi sebagai biokatalisator untuk reaksi-reaksi kimia dalam metabolisme makhluk hidup.

Penelitian ini bertujuan untuk mengenali puncak protein, mengidentifikasi protein menggunakan FTIR. Fourier Transform Infrared (FTIR) merupakan salah satu metode baku untuk mendeteksi struktur molekul senyawa melalui identifikasi

gugus fungsi penyusun senyawa. Metode spektroskopi yang digunakan adalah metode spektroskopi absorpsi, yaitu spektroskopi yang didasarkan atas perbedaan penyerapan radiasi infra merah oleh molekul suatu materi. Absorpsi inframerah oleh suatu materi dapat terjadi jika dipenuhi dua syarat, yakni kesesuaian antara frekuensi radiasi inframerah dengan *frekuensi vibrasional* molekul sampel dan perubahan momen dipol selama bervibrasi (Chatwal, 1985).

Komponen utama spektroskopi FTIR adalah interferometer Michelson yang mempunyai fungsi menguraikan (mendispersi) radiasi infra merah menjadi komponen-komponen frekuensi. Penggunaan interferometer Michelson tersebut memberikan keunggulan metode FTIR dibandingkan metode spektroskopi infra merah konvensional maupun metode spektroskopi yang lain. Diantaranya adalah dapat digunakan untuk mengidentifikasi sampel dalam berbagai fase (gas, padat atau cair) (Harmita, 2006).

### **1.2 Perumusan Masalah**

Bagaimana caranya mengidentifikasi adanya protein dalam suatu sampel dan mengetahui berbagai jenis gugus fungsi dengan menggunakan metode FTIR.

### **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Mengidentifikasi protein dengan menggunakan spektroskopi FTIR
2. Mengenali puncak protein.

### **1.4 Batasan Masalah**

1. Sampel protein yang dianalisis berupa keju hewani, keju nabati, urin hewan, urin manusia, susu, dan mentega.
2. Identifikasi sampel protein dengan cara menganalisis ada dan tidaknya gugus fungsi atau ikatan molekul yang ada pada sampel.

### **1.5 Sistem Penulisan**

Sistematika penulisan terdiri dari lima bab, yaitu

## **BAB 1 PENDAHULUAN**

Bab ini berisi tentang gambaran secara umum permasalahan yang akan diungkap mencakup latar belakang masalah, rumusan masalah, tujuan penelitian, batasan masalah, dan sistematika penulisan



**BAB II TINJAUAN PUSTAKA**

Memberikan informasi mengenai hal-hal yang berkaitan dengan penelitian identifikasi protein menggunakan FTIR.

**BAB III METODE PENELITIAN**

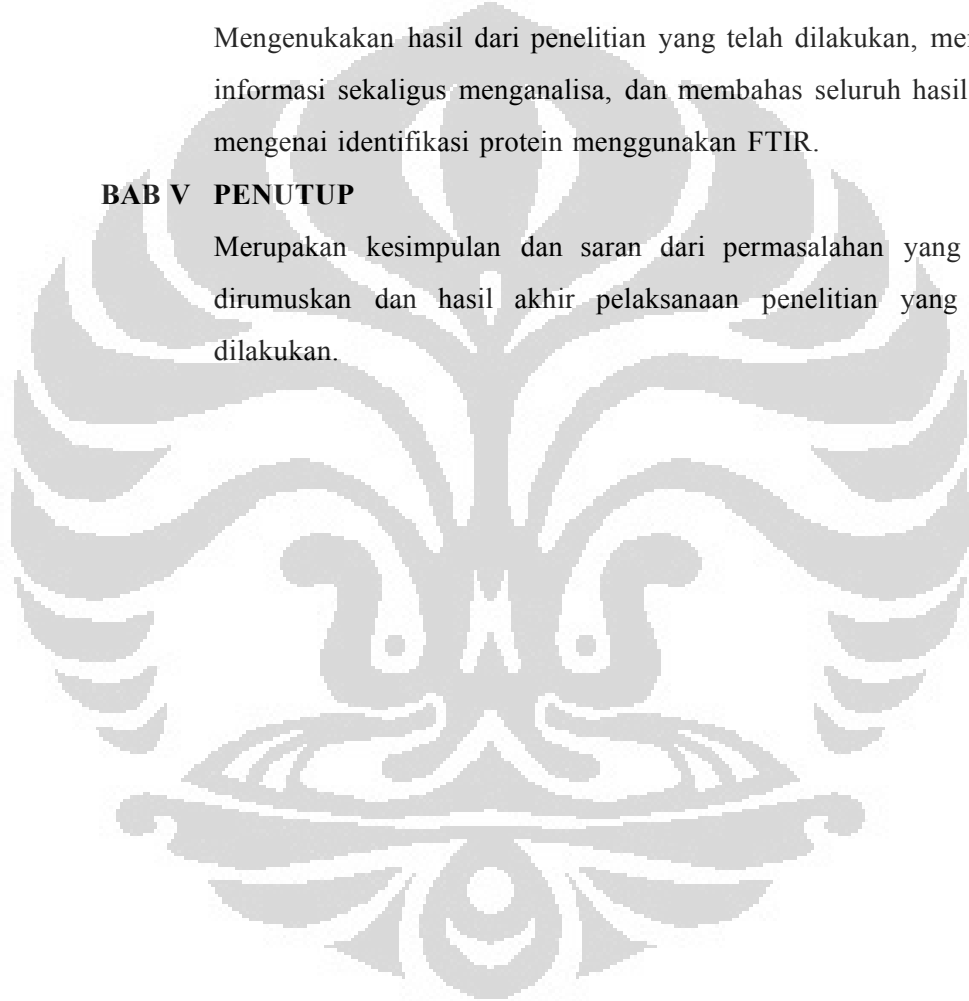
Menjelaskan tahapan-tahapan, cara kerja, dan alat/bahan yang digunakan dari awal sampai akhir penelitian.

**BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

Mengemukakan hasil dari penelitian yang telah dilakukan, memberi informasi sekaligus menganalisa, dan membahas seluruh hasil studi mengenai identifikasi protein menggunakan FTIR.

**BAB V PENUTUP**

Merupakan kesimpulan dan saran dari permasalahan yang telah dirumuskan dan hasil akhir pelaksanaan penelitian yang telah dilakukan.



## **BAB II TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1 Protein**

#### **2.1.1 Pengertian Protein**

Protein merupakan suatu zat makanan yang amat penting bagi tubuh, karena zat ini berfungsi sebagai zat pembangun dan pengatur. Protein adalah sumber asam amino yang mengandung unsur-unsur C, H, O, dan N. (Winarno, 1992).

Protein merupakan bagian terpenting dari sel-sel tubuh dan merupakan bagian terbesar dari substansi kering dari organ-organ tubuh dan otot-otot. Segala jenis protein mengandung unsur nitrogen, karbon, hidrogen, oksigen, dan belerang (Sediaoetama, 1976).

Sedangkan protein menurut pendapat Adams (1988) merupakan kumpulan dari beberapa asam amino. Asam amino itu sendiri mengandung unsur karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen, dan belerang. Asam amino sendiri dikelompokkan menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok asam (oksigen, karbon, dan belerang) dan kelompok amino (nitrogen dan hidrogen) yang menempel pada atom karbon.

Protein merupakan suatu zat makanan yang amat penting bagi tubuh, karena zat ini mempunyai fungsi utama yaitu sebagai zat pembangun dalam tubuh dan juga berfungsi sebagai bahan bakar dan zat pengatur.

Protein sebagai zat pembangun karena protein merupakan bahan pembentukan jaringan-jaringan baru yang selalu terjadi dalam tubuh, terutama pada masa pertumbuhan, protein juga menggantikan jaringan tubuh yang rusak dan yang perlu dirombak serta mempertahankan jaringan yang telah ada.

Protein dikatakan berfungsi sebagai bahan bakar karena protein mengandung karbon yang digunakan tubuh sebagai bahan bakar. Protein akan dibakar manakala keperluan tubuh akan energi tidak terpenuhi oleh karbohidrat dan lemak. Apabila tubuh memerlukan energi tambahan, maka pembakaran protein menjadi energi didalam tubuh akan didahulukan sehingga pada saat itu sebagian protein tidak digunakan untuk pembentukan jaringan.

Disamping itu protein dikatakan sebagai zat pengatur karena protein mengatur keseimbangan cairan dalam jaringan dan pembuluh darah. Protein juga dapat membentuk enzim dan hormon yang dibutuhkan oleh tubuh untuk kelancaran metabolisme.

Berdasarkan sumbernya protein dapat digolongkan menjadi 2 jenis, yaitu:

1. Protein hewani

Protein hewani merupakan protein yang berasal dari hewan baik dari apa yang dihasilkan oleh hewan tersebut (susu), maupun dari dagingnya. Protein hewani merupakan sumber protein yang terbesar.

2. Protein nabati

Protein nabati adalah protein yang dihasilkan oleh tumbuhan baik secara langsung maupun hasil olahan dari tumbuhan-tumbuhan seperti sereal, tepung dan lain-lain.

Pada dasarnya semua sel hewan dan tumbuhan mengandung unsur protein, tetapi jumlah dari protein berbeda antara satu dengan yang lainnya. Protein yang berasal dari hewan mempunyai nilai protein yang lebih tinggi dibandingkan dengan protein yang berasal dari tumbuhan karena hewan mempunyai struktur jaringan ikat otot yang hampir sama dengan manusia.

Disamping protein yang berasal dari hewan lebih tinggi nilainya karena memiliki kandungan asam amino esensial yang lengkap. Asam amino esensial yang berasal dari hewan namun tidak dimiliki oleh tumbuhan adalah *lysine, leucine, isoleucine, threonine, methionine, valine, phenylalanine, dan tryptophane*.

### 2.1.2 Sejarah Protein

Seorang ahli kimia belanda yang bernama Mulder, mengisolasi susunan tubuh yang mengandung nitrogen dan menamakannya protein terdiri dari suatu dasarnya yaitu asam amino (biasa disebut juga unit pembangun protein) (suhardjo dan Kusharto,1999).

### 2.1.3 Ciri-ciri Protein

Beberapa ciri molekul protein adalah

- a. Berat molekulnya besar, hingga mencapai ribuan bahkan jutaan sehingga merupakan suatu makromolekul.

- b. Umumnya terdiri dari 20 macam asam amino, asam amino tersebut berikatan secara kovalen satu dengan yang lainnya dalam variasi urutan yang bermacam-macam membentuk suatu rantai polipeptida.
- c. Ada ikatan kimia lainnya.
- d. Ikatan kimia lain mengakibatkan terbentuknya lengkungan-lengkungan rantai polipeptida menjadi struktur tiga dimensi protein, sebagai contohnya ikatan hidrogen dan ikatan ion.
- e. Struktur tidak stabil terhadap beberapa faktor antara lain pH, radiasi, temperatur dan pelarut organik.

#### 2.1.4 Komposisi Protein

Berbeda dengan lemak dan karbohidrat dimana susunan dasarnya adalah karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen, masih mengandung juga unsur-unsur seperti belerang, fosfor, kadang-kadang besi dan unsur-unsur yang lain. Presentase rata-rata dari unsur-unsur di dalam bermacam-macam protein adalah kurang lebih sebagai berikut:

Karbon	: 50-55%	Nitrogen	: 15-18%
Hydrogen	: 6,5-7,3%	Belerang	: 0,4-2,5%
Oksigen	: 20-24%	Fospor	: 0,1-1,0%

Kalau semuanya dijumlah ternyata kurang dari 100%, hal ini kemungkinan adanya unsur-unsur lain yang jumlahnya sangat sedikit. Protein adalah satu-satunya yang mengandung gizi nitrogen, sebuah fakta yang menjadikannya kedua penting dan berpotensi beracun. Protein terdapat di dalam kulit, rambut, otot, tanduk, sutera, putih telur, dan sebagainya. Protein terdiri dari molekul-molekul yang besar yang mempunyai berat molekul antara 12.000 hingga beberapa juta (Sastrohamidjojo, 2005).

Asam amino merupakan blok bangunan lebih besar struktur molekul protein. Beberapa dari asam amino ini dapat sintesis dari asam amino lain (disebut sebagai non essensial asam amino), sementara beberapa harus diperoleh dari makanan kami makan (disebut sebagai asam amino essensial).

Setelah terhubung dalam rantai protein, asam amino individu yang disebut sebagai residu, dan rangkaian terkait karbon, nitrogen, dan oksigen atom dikenal sebagai rantai utama atau tulang punggung protein.

### 2.1.5 Klasifikasi Protein

Kriteria yang biasanya digunakan untuk menentukan senyawa organik seperti titik cair, titik didih, berat molekul, bentuk kristal, tidak dapat digunakan dalam protein. Protein diklasifikasikan seperti berikut (Muhammad,1983) :

a. Berdasarkan fungsi biologisnya

1. Protein Enzim

Golongan protein ini berperan pada biokatalisator dan pada umumnya mempunyai bentuk globular. Protein enzim ini mempunyai sifat yang khas karena hanya bekerja pada substrat tertentu, yang termasuk golongan ini antara lain:

- a) *Peroksidase* yang mengkatalisa peruraian hidrogen peroksida
- b) Pepsin yang mengkatalisa pemutusan ikatan peptida
- c) *Polinukleotidase* yang mengkatalisa hidrolisa polinukleotida

2. Protein Pengangkut

Protein pengangkut mempunyai kemampuan membawa ion atau molekul tertentu dari suatu organ ke organ lain melalui aliran darah, yang termasuk golongan ini antara lain:

- a) Hemoglobin pengangkut oksigen
- b) Lipo protein pengangkut *lipid*

3. Protein Struktural

Peranan protein struktural adalah sebagai pembentuk struktural sel jaringan dan memberi kekuatan pada jaringan, yang termasuk golongan ini adalah elastin, fibrin dan keratin.

4. Protein Hormon

Protein hormon adalah hormon yang dihasilkan oleh kelenjar endokrin membantu mengatur aktivitas metabolisme di dalam tubuh.

#### 5. Protein Pelindung

Protein ini pada umumnya terdapat dalam darah, melindungi organisme dengan cara melawan serangan zat asing yang masuk dalam tubuh.

#### 6. Protein Kontraktil

Golongan ini berperan dalam proses gerak, memberi kemampuan pada sel untuk berkonsentrasi atau mengubah bentuk, yang termasuk golongan ini antara lain miosin dan aktin.

#### 7. Protein Cadangan

Protein cadangan atau protein simpanan adalah protein yang disimpan dan dicadangkan untuk beberapa proses metabolisme.

#### b. Berdasarkan bentuk molekulnya

##### 1. Protein Bentuk Serabut (*fibrous*)

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

##### 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, yang termasuk dalam protein globular adalah albumin, globulin histon dan protamin.

##### 3. Protein Konjugasi

Protein konjugasi adalah protein sederhana yang terikat dengan bahan-bahan non asam amino, yang termasuk dalam protein konjugasi adalah kromoprotein, glikoprotein, posoprotein, nukleoprotein, lesitoprotein dan lipoprotein.

#### c. Berdasarkan komponen penyusunnya

##### 1. Protein Sederhana

Protein sederhana tersusun oleh asam amino saja oleh karena itu pada hidrolisisnya hanya diperoleh asam-asam amino penyusunnya saja, yang termasuk golongan ini adalah albumin, globulin, histon dan prolamin.

## 2. Protein Majemuk/Konyugasi

Protein ini tersusun oleh protein sederhana dan zat lain yang bukan protein. Zat lain yang bukan protein disebut radikal prostetik, yang termasuk golongan ini dapat dilihat dalam table 2.1, di bawah ini :

Table 2.1 Protein Majemuk/Konyugasi

Nama	Tersusun oleh	Terdapat pada
Nukleoprotein	Protein + asam nukleat	Inti sel, kecambah biji-bijian
Glikoprotein	Protein + karbohidrat	Musin pada kelenjar ludah, tendomusin pada tendon, hati
Fosfoprotein	Protein + fosfat yang mengandung lesitin	Kasein susu, kuning telur
Kromoprotein/ metaloprotein	Protein + pigmen/ ion logam	Hemoglobin
Lipoprotein	Protein + lemak	Serum darah, kuning telur, susu, membran sel

Sumber: Muhammad, 1983.

### d. Berdasarkan asam amino penyusunnya

#### 1. Protein yang tersusun oleh asam amino esensial

Asam amino esensial adalah asam amino yang dibutuhkan oleh tubuh, tetapi tubuh tidak dapat mensintesisnya sendiri sehingga didapat atau diperoleh dari protein makanan. Ada 10 jenis asam amino esensial yaitu isoleusin (ile), leusin (leu), lisin (lys), metionin (met), sistein (Cys), valin (val), triptofan (tryp), tirosina (tyr), fenilalanina (Phe) dan Treonina (tre).

#### 2. Protein yang tersusun oleh asam amino non esensial

Asam amino non esensial adalah asam amino yang dibutuhkan oleh tubuh dan tubuh dapat mensintesa sendiri melalui reaksi

aminasi reduktif asam keton atau melalui transaminasi, yang termasuk golongan ini antara lain alanin, aspartat, glutamate, glutamine.

### 2.1.6 Komponen Penyusun Protein

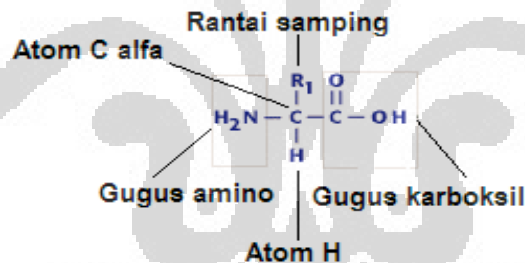
Unit dasar penyusun struktur protein adalah asam amino. Dengan kata lain protein tersusun atas asam-asam amino yang saling berikatan.

#### Struktur asam amino

Suatu asam amino- $\alpha$  terdiri atas:

1. Atom C  $\alpha$ . Disebut  $\alpha$  karena bersebelahan dengan gugus karboksil (asam).
2. Atom H yang terikat pada atom C  $\alpha$ .
3. Gugus karboksil yang terikat pada atom C  $\alpha$ .
4. Gugus amino yang terikat pada atom C  $\alpha$ .
5. Gugus R yang juga terikat pada atom C  $\alpha$ .

Agar lebih jelas dapat Anda cermati Gambar 2.2 berikut.



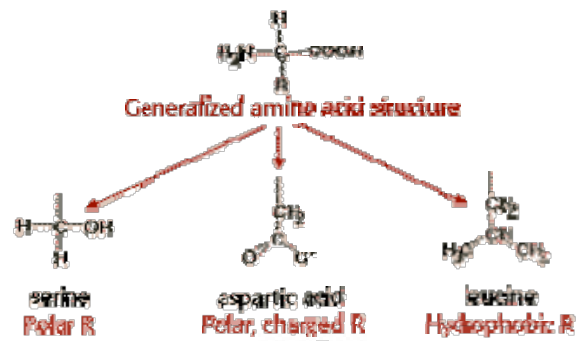
Gambar 2.1 Struktur asam amino  $\alpha$

Sumber: [www.biology.arizona.edu/biochemistry/biochemistry.html](http://www.biology.arizona.edu/biochemistry/biochemistry.html), 2003, The Biology Project-Biochemistry.

#### Macam asam amino

Ada 20 macam asam amino, yang masing-masing ditentukan oleh jenis gugus R atau rantai samping dari asam amino. Jika gugus R berbeda maka jenis asam amino berbeda. Contohnya ada pada Gambar 2.2 dari gambar tersebut tampak bahwa asam amino serin, asam aspartat dan leusin memiliki perbedaan hanya pada jenis gugus R saja.





Gambar 2.2 Contoh struktur dari beberapa asam amino

Sumber: [www. biology.arizona.edu/biochemistry/bi chemistry. html](http://www.biology.arizona.edu/biochemistry/biochemistry.html), 2003, The Biology Project-Biochemistry.

Gugus R dari asam amino bervariasi dalam hal ukuran, bentuk, muatan, kapasitas pengikatan hidrogen serta reaktivitas kimia. Kedua puluh macam asam amino ini tidak pernah berubah. Asam amino yang paling sederhana adalah glisin dengan atom H sebagai rantai samping, berikutnya adalah alanin dengan gugus metil (-CH<sub>3</sub>) sebagai rantai samping. Untuk selanjutnya, dapat Anda cermati nama dan struktur dari 20 macam asam amino pada Tabel 2.2 dan Gambar 2.3.

Tabel 2.2 Nama-nama asam amino

No	Nama	Singkatan
1	Alanin ( <i>Alanine</i> ) Arginin	Ala
2	( <i>Aginine</i> ) Asparagin	Arg
3	( <i>Asparagine</i> )	Asn
4	Asam aspartat ( <i>Aspartic Acid</i> )	Asp
5	Sistein ( <i>Cystine</i> )	Cys
7	Asam glutamat ( <i>Glutamic Acid</i> )	Glu
8	Glisin ( <i>Glycine</i> )	Gly
9	Histidin ( <i>Histidine</i> )	His
10	Isoleusin ( <i>Isoleucine</i> )	Ile
11	Leusin ( <i>Leucine</i> )	Leu
12	Lisin ( <i>Lysine</i> )	Lys
13	Metionin ( <i>Methionine</i> )	Met
14	Fenilalanin ( <i>Phenilalanine</i> )	Phe

Sumber: [www. biology.arizona.edu/biochemistry/bi chemistry. html](http://www.biology.arizona.edu/biochemistry/biochemistry.html), 2003, The Biology Project-Biochemistry.

Tabel 2.2 Nama-nama asam amino (lanjutan)

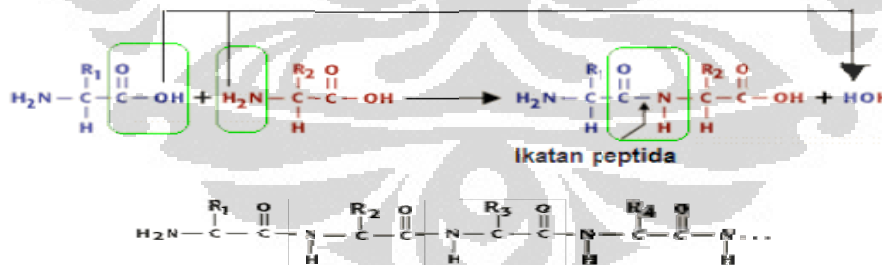
No	Nama	Singkatan
15	Prolin ( <i>Proline</i> )	Pro
16	Serin ( <i>Serine</i> )	Ser
17	Treonin ( <i>Threonine</i> )	Thr
18	Triptofan ( <i>Tryptophan</i> )	Trp
19	Tirosin ( <i>Tyrosine</i> )	Tyr
20	Valin ( <i>Vine</i> )	Val

Sumber: [www.biology.arizona.edu/biochemistry/biochemistry.html](http://www.biology.arizona.edu/biochemistry/biochemistry.html), 2003, The Biology Project-Biochemistry.

### Ikatan peptida

Kedua puluh macam asam amino saling berikatan, dengan urutan yang beraneka ragam untuk membentuk protein. Proses pembentukan protein dari asam-asam amino ini dinamakan sintesis protein. Ikatan antara asam amino yang satu dengan lainnya disebut ikatan peptida. Ikatan peptida ini dapat disebut juga sebagai ikatan amida.

Pada protein atau rantai asam amino, gugus karboksil (-COOH) berikatan dengan gugus amino (-NH<sub>2</sub>). Setiap terbentuk satu ikatan peptida, dikeluarkan 1 molekul air (H<sub>2</sub>O), dapat dilihat pada Gambar 2.4 pembentukan ikatan peptidanya.



Gambar 2.3 Pembentukan ikatan peptida

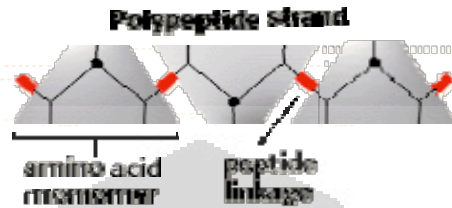
Sumber: [www.biology.arizona.edu/biochemistry/biochemistry.html](http://www.biology.arizona.edu/biochemistry/biochemistry.html), 2003, The Biology Project-Biochemistry.

### 2.1.7 Struktur arsitektur protein

Ada 4 tingkat struktur protein yaitu struktur primer, struktur sekunder, struktur tersier dan struktur kuartener.

### 1. Struktur primer

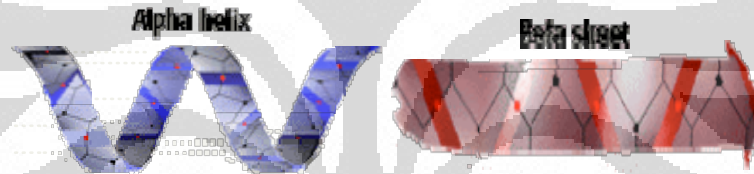
Struktur primer adalah urutan asam-asam amino yang membentuk rantai polipeptida dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Struktur primer protein (Hawab, 2006).

### 2. Struktur sekunder

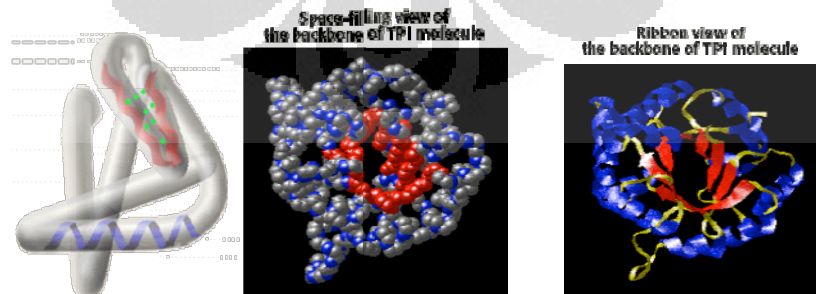
Struktur sekunder protein bersifat reguler, pola lipatan berulang dari rangka protein. Dua pola terbanyak adalah alpha helix dan beta sheet, dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Alpha helix dan beta sheet sebagai struktur sekunder protein (Hawab, 2006).

### 3. Struktur tersier

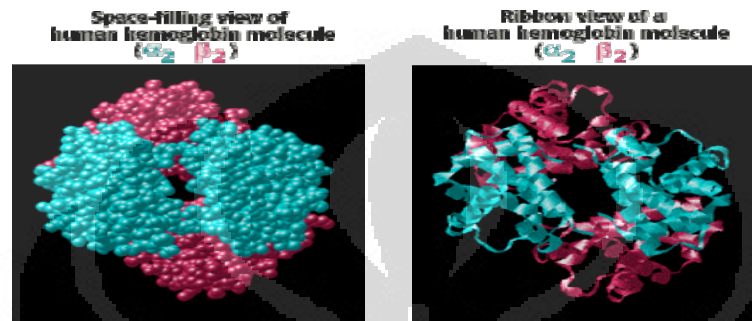
Struktur tersier protein adalah lipatan secara keseluruhan dari rantai polipeptida sehingga membentuk struktur 3 dimensi tertentu. Sebagai contoh, struktur tersier enzim sering padat, berbentuk globuler, dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Struktur tersier dari protein enzim triosa fosfat isomerase (TPI) (Hawab, 2006).

#### 4. Struktur kuartener

Beberapa protein tersusun atas lebih dari satu rantai polipeptida. Struktur kuartener menggambarkan subunit-subunit yang berbeda dipak bersama-sama membentuk struktur protein. Sebagai contoh adalah molekul hemoglobin manusia yang tersusun atas 4 subunit, yang dipaparkan pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Struktur hemoglobin yang merupakan struktur kuartener protein (Hawab, 2006).

#### 2.1.8 Sifat-Sifat Protein

##### a. Pembentukan warna protein

Penambahan bahan kimia tertentu pada larutan protein yang semula tidak berwarna menjadi berwarna. Reaksi pembentukan warna ini sering sekali dipakai untuk menunjukkan adanya protein.

##### b. Protein sebagai amphotir

Dalam molekul protein terdapat gugus karbonil dan gugus amino bebas. Adanya gugus karbonil yang bersifat asam dan adanya gugus amino yang bersifat basa dalam satu molekul, maka dapat terjadi netralisasi intra molekul membentuk ion dwi kutub atau zwitter ion.

##### c. Sifat koloid

Larutan protein mempunyai sifat koloid. Bentuk koloid dari larutan protein dikenal sebagai emulsoid atau koloid hidrofil sebab di dalam molekul protein yang besar itu terdapat radikal-radikal hidrofil seperti radikal karboksil dan radikal hidroksil.

##### d. Denaturasi protein

Denaturasi protein adalah suatu perubahan konfigurasi tiga dimensi dari molekul protein tanpa menyebabkan adanya pemecahan ikatan peptida

yang terdapat antara asam-asam amino dalam struktur protein. Hal-hal yang dapat menyebabkan denaturasi protein meliputi asam, basa, garam, temperatur, deterjen, radiasi dan sebagainya.

### 2.1.9 Fungsi Protein

Protein dalam makanan akan terlibat dalam pembentukan jaringan protein dan berbagai fungsi metabolisme yang spesifik.

- ✚ Pertumbuhan (untuk anak) dan pemeliharaan (untuk orang dewasa).

Protein diubah menjadi asam amino yang diperlukan untuk membangun dan mempertahankan jaringan tubuh.

- ✚ Pembentukan ikatan-ikatan esensial tubuh
- ✚ Mengatur keseimbangan air
- ✚ Memelihara netralitas tubuh
- ✚ Pembentukan antibodi

Protein ikut serta dalam fungsi sistem kekebalan tubuh.

- ✚ Mengangkut zat-zat gizi
- ✚ Sumber energi

Hormon adalah pengantar zat kimia yang disatukan dan dikeluarkan oleh jaringan (kelenjar) endokrin dan mengangkut darah ke jaringan atau organ-organ pengikat ke sel yang peka terhadap rangsangan protein.

Enzim adalah molekul protein (yang ditunjukkan akhiran *ase*) berlaku sebagai katalisator untuk perubahan tingkat reaksi yang terjadi di dalam tubuh. Enzim di golongankan menurut jenis reaksi mengkatalisasinya contoh :

- ✚ *Hidrolases* membelah campuran.
- ✚ *Isomerases* memindahkan atom dalam suatu molekul.
- ✚ *Ligases (synthases)* bergabung dengan campuran.
- ✚ *Oxidoreductases* memindahkan elektron.
- ✚ *Transverases* pindahkan golongan fungsional

## 2.2 Analisa FTIR

Dalam spektroskopi inframerah, sinar inframerah dilewatkan pada sampel lalu diukur fraksi radiasi yang terabsorpsi pada rentang panjang gelombang menghasilkan spektrum yang menunjukkan informasi kualitatif dari protein.

Struktur kimia dan bentuk ikatan molekul serta gugus fungsional tertentu sampel yang diuji menjadi dasar bentuk spektrum yang akan diperoleh dari hasil analisis. Dengan demikian alat ini dapat digunakan untuk pengujian secara kualitatif dan kuantitatif. Spektroskopi Infra Red atau Inframerah merupakan suatu metode yang mengamati interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik yang berada pada daerah panjang gelombang 0,75-1000  $\mu\text{m}$  atau pada bilangan gelombang 13000-10  $\text{cm}^{-1}$ .

Inframerah merupakan sinar elektromagnetik yang panjang gelombangnya lebih daripada cahaya tampak dan kurang dari mikrogelombang, yaitu di antara 700 nm dan 1 mm. Infra merah dapat dibagi menjadi tiga macam yang dapat dilihat pada Tabel 2.3

Tabel 2.3 Pembagian sinar berdasarkan panjang gelombang

Penandaan	Panjang Gelombang		Frekwensi, Hz	Bilangan Gelombang, $\text{cm}^{-1}$
	Satuan Umum	Meter		
Sinar - X	$10^2 - 10^4 \text{ \AA}$	$10^{-12} - 10^{-8}$	$10^{20} - 10^{16}$	
Ultra Ungu Jauh	10 - 200 nm	$10^{-12} - 2 \times 10^{-7}$	$10^{16} - 10^{15}$	
Ultra Ungu Dekat	200 - 400 nm	$2 \times 10^{-7} - 4,0 \times 10^{-7}$	$10^{15} - 7,5 \times 10^{14}$	
Sinar Tampak	400 - 750 nm	$4,0 \times 10^{-7} - 7,5 \times 10^{-7}$	$7,5 \times 10^{14} - 4 \times 10^{14}$	25.000 - 13.000
Infra Merah Dekat	0,75 - 2,5 $\mu\text{m}$	$7,5 \times 10^{-7} - 2,5 \times 10^{-6}$	$4 \times 10^{14} - 1,2 \times 10^{14}$	13.000 - 4.000
Infra Merah Pertengahan	2,5 - 50 $\mu\text{m}$	$2,5 \times 10^{-6} - 5,0 \times 10^{-5}$	$1,2 \times 10^{14} - 6 \times 10^{12}$	4.000 - 200
Infra Merah Jauh	50 - 1.000 $\mu\text{m}$	$5,0 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-3}$	$6 \times 10^{12} - 10^{11}$	200 - 10
Gelombang Mikro	0,1 - 100 cm	$1 \times 10^{-3} - 1$	$10^{11} - 10^8$	$10 - 10^{-2}$
Gelombang Radio	1 - 1.000 m	$1 - 10^3$	$10^8 - 10^5$	

Sumber: Sastrohamidjojo, 1991.

Dari pembagian daerah spektrum elektromagnetik tersebut diatas, daerah panjang gelombang yang digunakan spektroskopi inframerah adalah pada daerah infra merah pertengahan, yaitu pada panjang gelombang 2,5-50  $\mu\text{m}$  atau pada bilangan gelombang 4000-200  $\text{cm}^{-1}$ . Vibrasi yang digunakan untuk identifikasi adalah vibrasi bengkokan, khususnya goyangan (*rocking*), yaitu yang berada di daerah bilangan gelombang 2000-400  $\text{cm}^{-1}$ . Karena di daerah antara 4000-2000  $\text{cm}^{-1}$  merupakan daerah yang khusus yang berguna untuk identifikasi gugus fungsional. Oleh karena itu daerah 2000-400  $\text{cm}^{-1}$  tiap senyawa organik mempunyai absorpsi yang unik, sehingga daerah tersebut sering disebut sebagai daerah sidik jari (*fingerprint region*). Daerah ini menunjukkan absorpsi yang disebabkan oleh vibrasi sangat rumit, karena vibrasi regangan maupun bengkokan mengakibatkan absorpsi pada daerah tersebut. Gugus karbonil yang teroksidasi

teridentifikasi pada bilangan gelombang 1720-1710 $\text{cm}^{-1}$  yang termasuk dari wilayah daerah infra merah pertengahan.

Cara kerja spektroskopi inframerah adalah sampel di scan, yang berarti sinar inframerah akan dilalukan ke sampel. Gelombang yang diteruskan oleh sampel akan ditangkap oleh detektor yang terhubung ke komputer, yang akan memberikan gambaran spektrum sampel yang di uji. Struktur kimia dan bentuk ikatan molekul serta gugus fungsional tertentu sampel yang di uji menjadi dasar bentuk spektrum yang akan diperoleh dari hasil analisis. Dengan demikian alat ini dapat digunakan untuk pengujian secara kualitatif dan kuantitatif. Para ahli kimia telah menetapkan ribuan spektrum inframerah dan menentukan panjang gelombang absorpsi masing-masing gugus fungsi. Vibrasi suatu gugus spesifik pada bilangan gelombang tertentu. Pada table 2.4 ditunjukkan beberapa gugus fungsi spesifik pada bilangan gelombang tertentu.

Tabel 2.4 Gugus fungsi spesifik pada bilangan gelombang tertentu

Gugus	Jenis Senyawa	Daerah Serapan ( $\text{cm}^{-1}$ )
C-H	Alkana	2850-2960, 1350-1470
C-H	Alkena	3020-3080, 675-870
C-H	Aromatik	3000-3100, 675-870
C-H	Alkuna	3300
C=C	Alkena	1640-1680
C=C	Aromatik	1500-1600
C-O	alkohol, eter, asam karboksilat, ester	1080-1300
C=O	aldehida, keton, asam karboksilat, ester	1690-1760
O-H	alkohol, fenol(monomer)	3610-3640
O-H	alkohol, fenol (ikatan H)	2000-3600 (lebar)
O-H	asam karboksilat	3000-3600 (lebar)
N-H	amina	3310-3500
C-N	amina	1180-1360
NO <sub>2</sub>	nitro	1515-1560, 1345-1386

Sumber : Sastrohamidjojo, 1992.

Secara keseluruhan, analisis menggunakan spektrofotometer ini memiliki dua kelebihan utama dibandingkan metoda konvensional lainnya, yaitu :

- ✚ Dapat digunakan pada semua frekuensi dari sumber cahaya secara simultan sehingga analisis dapat dilakukan lebih cepat daripada menggunakan cara sekuensial atau pemindaian.
- ✚ Sensitivitas dari metoda spektroskopi Fourier Transform Infrared lebih besar daripada cara dispersi, sebab radiasi yang masuk ke sistem detektor lebih banyak karena tanpa harus melalui celah.

Ada berbagai teknik untuk persiapan sampel, bergantung pada bentuk fisik sampel yang akan dianalisis.

#### A. Padat

Jika zat yang akan dianalisis berbentuk padat, maka ada dua metode untuk persiapan sampel ini, yaitu melibatkan penggunaan *Nujol mull* atau pelet KBr.

##### 1. *Nujol Mull*

Cara persiapan sampel dengan menggunakan *Nujol Mull* yaitu: Sampel digerus dengan *mortar* dan *pestle* agar diperoleh bubuk yang halus. Dalam jumlah yang sedikit bubuk tersebut dicampur dengan *Nujol* agar terbentuk pasta, kemudian beberapa tetes pasta ini ditempatkan antara dua plat *sodium klorida* (NaCl) (plat ini tidak mengabsorpsi inframerah pada wilayah tersebut). Kemudian plat ditempatkan dalam tempat sampel pada alat spektroskopi inframerah untuk dianalisis.

##### 2. Pelet KBr

Sedikit sampel padat (kira-kira 1 - 2 mg), kemudian ditambahkan bubuk KBr murni (kira-kira 200 mg) dan diaduk hingga rata. Campuran ini kemudian ditempatkan dalam cetakan dan ditekan sampai 7-8 ton dengan menggunakan alat tekanan mekanik. Tekanan ini dipertahankan beberapa menit, kemudian sampel (pelet KBr yang terbentuk) diambil dan kemudian ditempatkan dalam tempat sampel pada alat spektroskopi inframerah untuk dianalisis.



## B. Cairan

Bentuk ini adalah paling sederhana dan metode yang paling umum pada persiapan sampel. Setetes sampel ditempatkan antara dua plat KBr atau plat NaCl untuk membuat film tipis. Kemudian plat ditempatkan dalam tempat sampel alat spektroskopi inframerah untuk dianalisis.

Polipeptida dan protein dianalisis dengan FTIR dengan beberapa kali ulangan memberikan sembilan karakteristik *band* penyerapan IR yaitu amida A, B dan I-VII yang dapat dilihat pada tabel 2.5 (Jilie dan Shaoning, 2007). Pada analisis struktur sekunder protein di dalam larutan H<sub>2</sub>O dan D<sub>2</sub>O sebagai medianya dengan menggunakan spektroskopi FTIR BOMEM (*ABB Bomen Inc, St-Laurent, Kanada*) dan *Beckman FH-01 sel IR (Beckman Coulter Inc, Fullerton, USA)* dengan *window CaF<sub>2</sub>*. Dalam larutan D<sub>2</sub>O bahwa protein ada pada daerah serapan 1658 dan 1650 cm<sup>-1</sup> yang dikenal dengan amida I. Sedangkan H<sub>2</sub>O memiliki absorbansi IR yang kuat di tiga daerah serapan yaitu 3400 cm<sup>-1</sup> (O-H stretching), 2125 cm<sup>-1</sup> (*water association*), dan 1645 cm<sup>-1</sup> (H-O-H bending). Vibration amida I untuk absorbansi protein diantara 1600 dan 1700 cm<sup>-1</sup>, tumpang tindih dengan H<sub>2</sub>O bending pada daerah 1645 cm<sup>-1</sup>.

Tabel 2.5 Karakteristik bilangan gelombang inframerah yang berikatan dengan peptida

Jenis Senyawa	Daerah serapan (cm <sup>-1</sup> )	Deskripsi
Amide A	3300	NH stretching
Amide B	3100	NH stretching
Amide I	1600-1690	C=O stretching
Amide II	1480-1575	CN stretching, NH bending
Amide III	1229-1301	CN stretching, NH bending
Amide IV	625-767	OCN bending
Amide V	640-800	Out-of plane C=O bending
Amide VI	537-606	Out-of plane NH bending
Amide VII	200	Skeletal torsion

Sumber : Jilie dan Shaoning, 2007.

Gelatin merupakan turunan protein dari serat kolagen yang ada pada tulang rawan. Gugus fungsi gelatin dikarakteristikan dengan dengan spektroskopi FTIR. Sampel bubuk gelatin dari tulang rawan ikan pari sebanyak 2 mg dicampur

dengan 100 mg serbuk KBr dan ditumbuk hingga halus. Campuran tersebut dimampatkan dalam sebuah cetakan menggunakan pompa hidrolik sehingga membentuk kepingan tipis. Karakterisasi terhadap kepingan sampel dilakukan dengan menggunakan FTIR *Buck Scientific* model M-500 pada panjang gelombang antara 4000-500  $\text{cm}^{-1}$ . Analisis FTIR terhadap bubuk gelatin memiliki serapan panjang gelombang gugus amida A sekitar 2930  $\text{cm}^{-1}$ , amida I berada pada puncak serapan 1565-1644  $\text{cm}^{-1}$ , amida II berada pada puncak serapan 1560-1335  $\text{cm}^{-1}$  dan amida III yang merupakan daerah serapan gugus fungsi khas gelatin berada pada puncak serapan 1240-670  $\text{cm}^{-1}$  (Karlina dan Lukman, 2009).

Sampel gelatin yang digunakan ialah serbuk gelatin dari kulit ikan pari yang diperoleh melalui variasi proses perendaman antara lain perendaman dengan HCl 4% (GC), CH<sub>3</sub>COOH 4% (GA), dan H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 4% (GP). Spektrum FTIR dipeoleh dari kepingan yang berisi 2 mg sampel dalam 100 mg KBr. Spektrum dari perendaman GC menunjukkan adanya *stretching* C=O pada gelombang 1647  $\text{cm}^{-1}$ . Spektrum gelatin dari perendaman GA menunjukkan adanya *stretching* C=O pada gelombang 1650  $\text{cm}^{-1}$ . Sedangkan untuk perendaman GP menunjukkan adanya *stretching* C=O pada gelombang 1648  $\text{cm}^{-1}$  (Martianingsih dan lukman, 2009).

Gelatin dalam poliamida protein sehingga spektrum inframerah *gelatin* dapat dilihat pada daerah serapan amida dan ikatan hidrogen karakteristik penyerapan panjang gelombang pada 1639  $\text{cm}^{-1}$  (amida I), 1554  $\text{cm}^{-1}$  (amida II), 1241  $\text{cm}^{-1}$  (amida III), dan 3317  $\text{cm}^{-1}$  (ikatan hidrogen) (Chongjun *et al.*, 2010).

Sampel darah diambil sebanyak 50  $\mu\text{L}$  kemudian diteteskan ke kristal bromida talium, setelah itu dianalisis dengan menggunakan FTIR menghasilkan pita absorpsi dengan bilangan gelombang pada 3600 – 3000  $\text{cm}^{-1}$  terdiri dari CH, OH dan NH peregangan getaran dari protein. Penyerapan menonjol puncak 3300  $\text{cm}^{-1}$  disebabkan modus peregangan NH (amida A) protein. Para asimetris dan simetris peregangan CH getaran dari metil dan kelompok metilen adalah ditemukan untuk hadir sekitar 2930 - 2875  $\text{cm}^{-1}$ . Penyerapan band yang kuat pada 1650  $\text{cm}^{-1}$  sesuai dengan C=O (Amida I) sedangkan pita getaran pada 1542  $\text{cm}^{-1}$  disebabkan sebagai II amida yang timbul dari NH lentur getaran kuat ditambah dengan peregangan CN protein (Sankari *et al.*, 2010).

Penentuan kadar protein menggunakan FTIR dalam susu mentah didasarkan pada karakteristik daerah serapan protein susu, yang termasuk dua daerah serapan dalam kisaran  $1500-1700\text{ cm}^{-1}$  yang dikenal dengan amida I dan amida II, dan daerah serapan  $1060-1100\text{ cm}^{-1}$  yang dihubungkan dengan gugus fosfat kovalen yang terkait pada kasein protein (Etzion *et al.*, 2004).

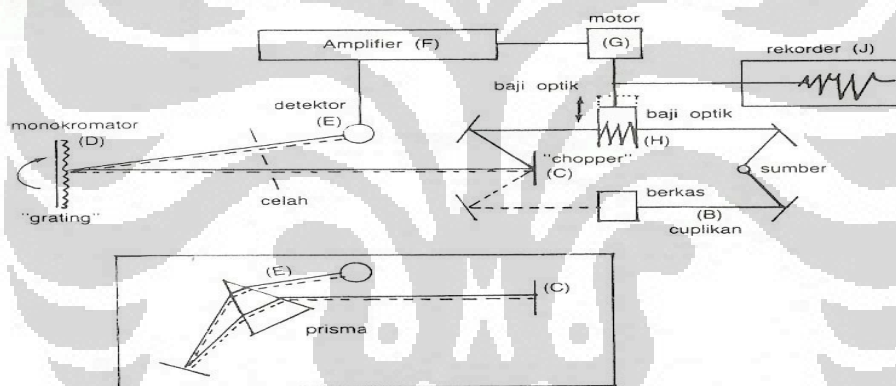
Penggunaan spektroskopi FTIR selain digunakan untuk mengidentifikasi protein bisa juga digunakan untuk membedakan sel-sel normal dengan sel-sel tumor serta tingkat keganasan yang berbeda atau untuk diagnosa kanker, maka pada dasarnya instrument ini juga bisa menghitung tingkat diseminasi status tumor/pra-ganas melalui biopsi pada ruang pasti dari inti tumor dan menganalisis kerangka-kerangka reseksi untuk pasien individual. Spektroskopi infra merah merupakan sebuah metode baru yang berpotensi untuk diagnosis kanker, karena sensitifitas teknik terhadap perubahan biokimia seluler yang menyertai stadium-stadium penyakit. Radiasi inframerah diserap oleh jaringan, cairan dan sel untuk mempromosikan vibrasi ikatan-ikatan kovalen dari molekul-molekul dalam sampel. Contohnya kasusnya untuk kasus jaringan servikal, penyakit kanker, dan sell biologi (Zanyar *et al.*, 2008). Contoh kasusnya penggunaan spektroskopi FTIR di bidang kedokteran adalah serpihan *serviks* diambil dan ditempatkan di dalam *medium ThinPrep<sup>TM</sup>*. Untuk analisis spektroskopi FTIR, sampel dikeringkan dan dipancarkan dengan sinaran infra merah pada frekuensi dari  $4000$  sehingga  $400\text{ cm}^{-1}$ . Data serapan diserap menggunakan spektrometer spektrum *BX II FTIR* dan dibandingkan dengan bacaan serapan rujukan sampel yang diketahui menggunakan perisian spektroskopi FTIR. Bacaan spektroskopi FTIR dibandingkan dengan keputusan uji sitologi.

Data hasil analisis menggunakan spektroskopi FTIR dapat membedakan sel normal daripada sel abnormal pada 800 sampel yang dikaji. Spektrum normal dicirikan dengan glikogen yang jelas/kuat pada panjang gelombang  $1,029 (\pm 4.5)\text{ cm}^{-1}$ , regangan C-O yang agak jelas/kuat pada karbohidrat pada panjang gelombang  $1,156.4 (\pm 4.7)\text{ cm}^{-1}$  dan asimetris fosfodiester pada asam nukleat pada panjang gelombang  $1,234 (\pm 4.60)\text{ cm}^{-1}$ , sedangkan untuk spektrum abnormal pada gradient yang berbeda menunjukkan penurunan pada intensitas glikogen pada panjang gelombang  $1,029 (\pm 4.5)\text{ cm}^{-1}$  dan intensitas *fosfodiester* yang lebih

jelas/kuat pada panjang gelombang  $1,234 (\pm 4.6) \text{ cm}^{-1}$ . Spektra abnormal juga dilihat ketika ada pergeseran dari fosfodiester simetris pada panjang gelombang  $1,078 (\pm 1.6) \text{ cm}^{-1}$  ke frekuensi yang lebih tinggi dan penurunan intensitas C-OH pada panjang gelombang  $1,156 (\pm 4.7) \text{ cm}^{-1}$ . Sensitivitas untuk mengenal sel serviks abnormal adalah 85%, spesifisitas 91%, prediksi nilai positif 19.5% dan nilai negatif 99.5% (Shady, 2008).

### Data Hasil Rangkaian Sensor Basis Inframerah

Sensor berfungsi untuk mendeteksi gejala-gejala atau sinyal-sinyal yang berasal dari perubahan suatu energi seperti energi listrik, energi fisika, energi kimia, energi biologi, energi mekanik dan sebagainya. Skema spektroskopi inframerah, atas menggunakan kisi difraksi, bawah monokromator prisma dapat dilihat pada Gambar 2.8 (Sudjadi, 1985).



Gambar 2.8 Skema spektrofotometer inframerah, atas menggunakan kisi difraksi, bawah monokromator prisma ( Sudjadi, 1985).

Dari skema diatas biasanya spektroskopi berkas ganda dan komponen dasarnya terdiri dari lima bagian utama yaitu sumber radiasi, daerah cuplikan, kisi difraksi (monokromator), dan detektor.

### Sumber Radiasi

Radiasi inframerah biasanya dihasilkan oleh pemijar *Nernst* dan *Globar*. Pemijar *Globar* merupakan batangan silikon karbida yang dipanasi sehingga sekitar  $1.200^{\circ}\text{C}$ , sehingga memancarkan radiasi kontinyu pada daerah  $1-40\mu\text{m}$ . Diagram sistem optik spektroskopi infra merah berkas ganda ditunjukkan pada Gambar 2.9 *Globar* merupakan sumber radiasi yang sangat stabil. Pijar *Nersnt*

merupakan batangan cekung dari *sirkonium* dan *yttrium oksida* yang dipanasi sehingga sekitar  $1.500^{\circ}\text{C}$  dengan arus listrik. Sumber ini memancarkan radiasi antara  $0,4\text{-}200\mu\text{m}$  dan kurang stabil jika dibandingkan dengan *Globar*, tetapi *Globar* memerlukan pendinginan air.

### Monokromator

Monokromator ini terdiri dari sistem celah masuk dan celah keluar, alat pendispersi yang berupa kisi fraksi atau prisma, dan beberapa cermin untuk memantulkan dan memfokuskan berkas sinar.

Bahan yang lazim digunakan untuk prisma adalah natrium klorida, kalium bromida, sesium bromida, dan litium fluorida. Prisma natrium klorida paling banyak digunakan untuk monokromator inframerah, karena dispersinya tinggi untuk daerah antara  $5,0\text{-}16\mu\text{m}$ , tetapi dispersinya kurang baik untuk daerah antara  $1,0\text{-}5,0\mu\text{m}$ . Kalium bromida dan sesium bromida merupakan bahan prisma yang baik untuk inframerah jauh. Litium fluorida merupakan bahan yang baik untuk inframerah dekat. Bahan-bahan tersebut di atas bersifat higroskopik, sehingga dapat rusak oleh uap air.

Sekarang spektroskopi inframerah kebanyakan menggunakan kisi difraksi bukan prisma. Keuntungan kisi difraksi adalah resolusi lebih baik, energi sinar yang hilang lebih sedikit sehingga dapat digunakan lebar celah yang lebih sempit, memberikan dispersi yang linier dan tahan uap air. Sedangkan keberatan terhadap kisi difraksi adalah jumlah sinar hamburan lebih banyak dan dihasilkannya lebih dari satu spektrum dari berbagai orde. Untuk mengatasi kelemahan ini maka digunakan prisma dan filter bersama dengan kisi difraksi (monokromator ganda), sehingga hanya dihasilkan spektrum dari satu orde saja. Hal yang sama dapat juga diperoleh dengan membuat sudut jalur kisi sedemikian rupa sehingga sinar yang didispersikan terpusat pada satu orde saja.

### Detektor

Sebagian besar alat modern menggunakan detektor panas. Detektor fotolistrik tidak dapat digunakan untuk mendeteksi sinar inframerah, karena energi foton tidak cukup besar untuk membebaskan elektron dari permukaan katoda suatu tabung foton. Detektor panas untuk mendeteksi sinar inframerah

yaitu *termokopel*, *bolometer*, dan *sel Golay*. Ketiga detektor ml bekerja berdasarkan efek pemanasan yang ditimbulkan oleh sinar inframerah.

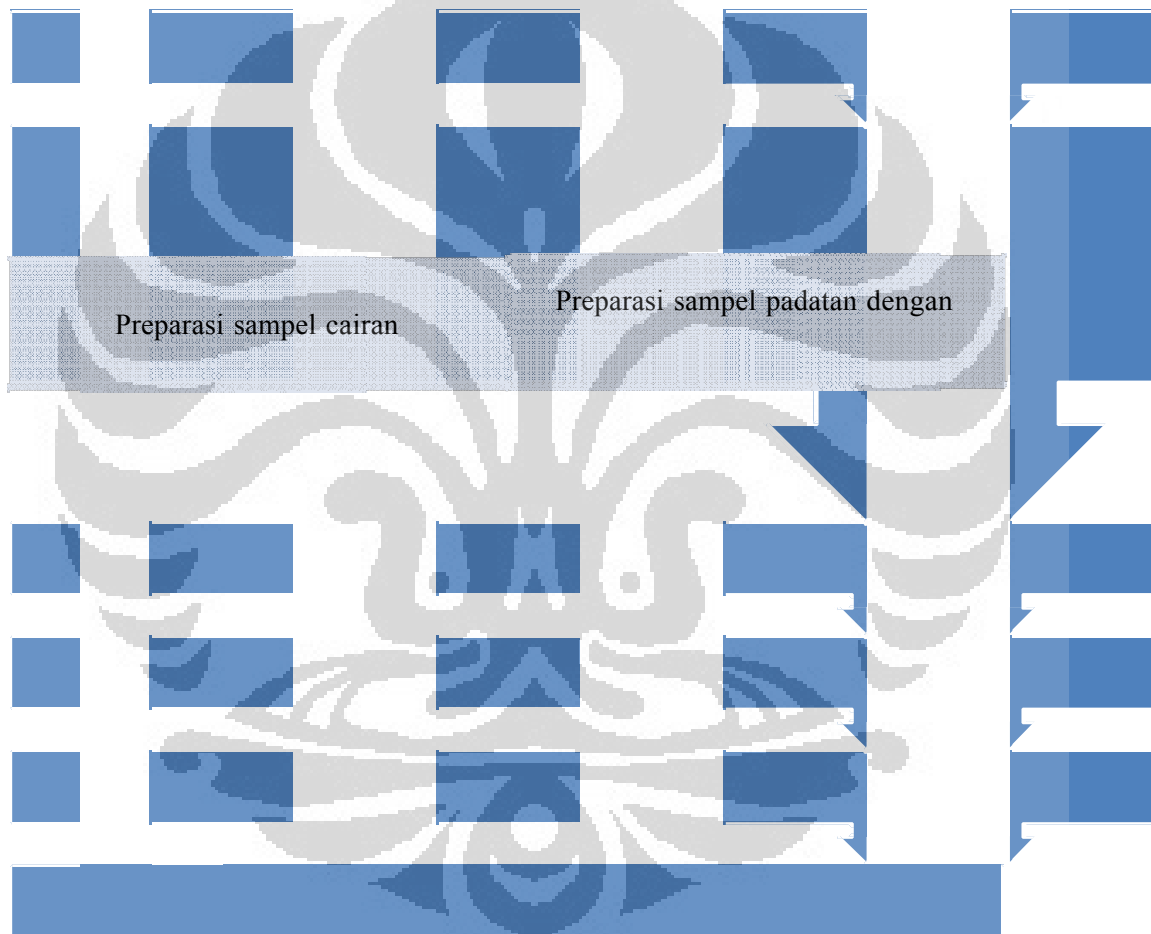


### BAB III

#### Metode Penelitian

Penelitian yang akan dilakukan dibagi menjadi tiga tahap yaitu tahap preparasi sampel, tahap uji sampel menggunakan spektroskopi FTIR dan tahap analisa FTIR. Bagan alir penelitian Identifikasi Protein menggunakan Fourier Transform Infrared (FTIR) dapat dilihat pada Gambar 3.1

#### 3.1 Diagram Alir Pnelitian



**Gambar 3.1** Bagan alir penelitian Identifikasi Protein menggunakan Fourier Transform Infra Red (FTIR) secara umum.

Tahapan awal penelitian adalah studi literatur yang dilakukan dengan mempelajari jurnal publikasi nasional maupun internasional yang berkaitan dengan penelitian identifikasi protein sebelumnya. Peralatan yang digunakan adalah spektroskopi Fourier Transfrom Infrared (FTIR).

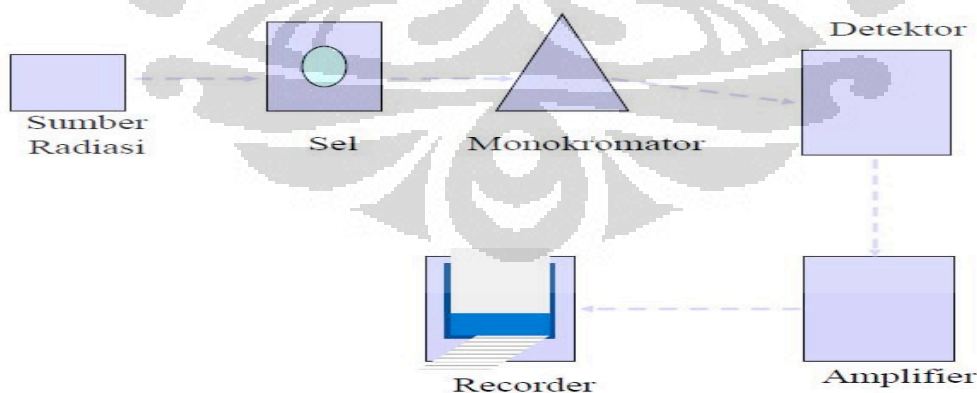
Langkah berikutnya adalah preparasi sampel. Preparasi sampel diawali dengan penyiapan sampel padatan dengan metode pelet KBr yaitu sampel dihaluskan dengan hati-hati agar tidak merusak struktur material tertentu, kemudian sampel tersebut di gerus dengan mortal, setelah halus kemudian ditambahkan dengan bubuk KBr sampai tercampur dengan rata. Campuran ini kemudian ditempatkan dalam cetakan dan ditekan sampai 7-8 ton dengan menggunakan alat tekanan mekanik. Tekanan ini dipertahankan beberapa menit, kemudian sampel (pelet KBr yang terbentuk) diambil. Sampel yang sudah jadi kemudian ditempatkan pada sampel pan dan siap untuk dianalisis.

Preparasi sampel cairan dengan cara memipet sampel tersebut kemudian diteteskan ke dalam sel infra-merah *window* kristal  $\text{CaF}_2$ . Setelah itu sampel tersebut di ditempatkan dalam *holder* atau wadah sampel dalam alat spektroskopi FTIR yang selanjutnya akan dianalisis.

Data pengamatan yang diambil adalah nilai transmittan (%). langkah selanjutnya adalah pengujian sampel protein dengan menggunakan FTIR untuk mengetahui jenis gugus fungsi yang terdapat dalam sampel tersebut. Setelah itu dilakukan analisa hasil melalui pembahasan untuk mencapai suatu kesimpulan.

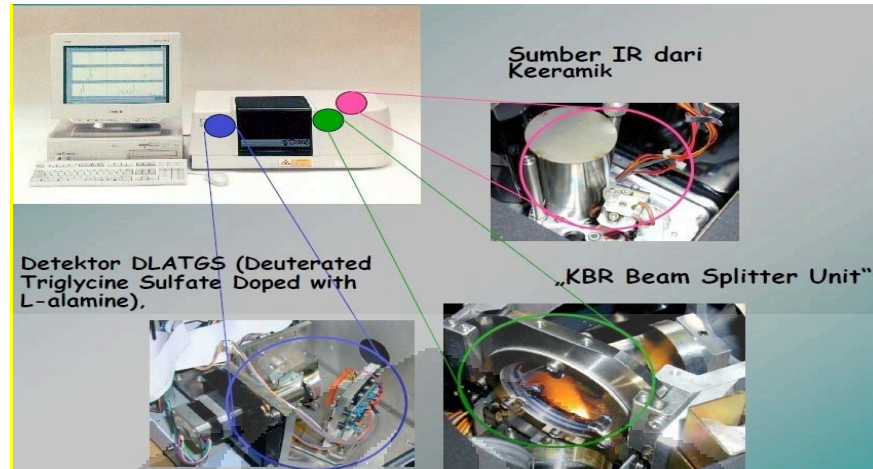
### 3.2 Skema Alat

Skema spektroskopi FTIR yang akan digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3.2 berikut ini:



Gambar 3.2 Skema Spektroskopi FTIR (Sastrohamidjojo, 1992).

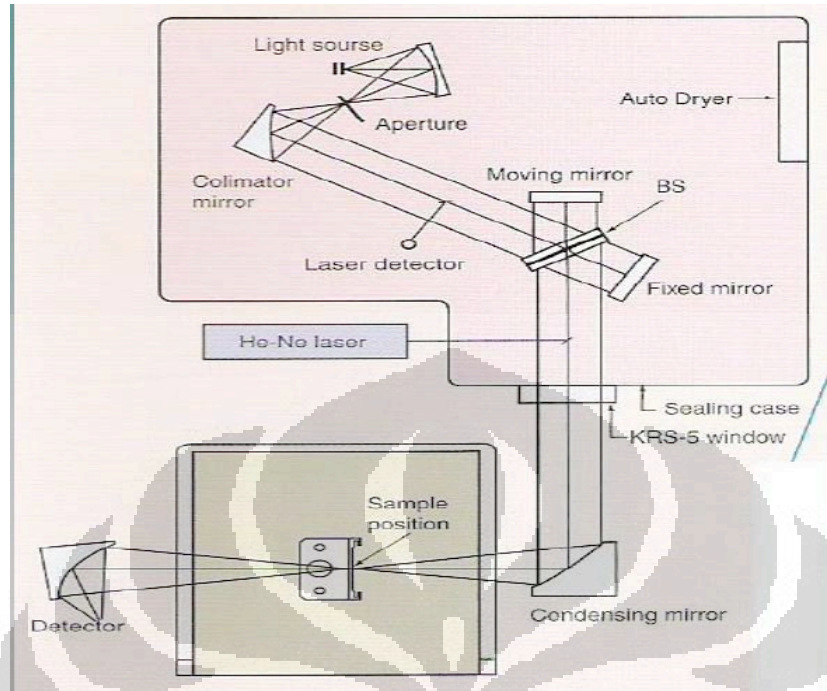




Gambar 3.3 Instrumentasi Spektroskopi Shimadzu (Mudzakir, 2010)

Proses instrumental normal adalah sebagai berikut:

1. Sumber : energi infra merah dipancarkan dari pijaran sumber benda hitam (*black body*). Sinar ini melewati celah yang mengontrol jumlah energi yang disampaikan kepada sampel (dan akhirnya untuk detektor).
2. Interferometer : sinar memasuki interferometer dimana "*encoding spektral*" terjadi. Sinyal Interferogram yang dihasilkan kemudian keluar interferometer.
3. Tempat Sampel : sinar memasuki ruang sampel dimana ditransmisikan melalui atau terpantul dari permukaan sampel, tergantung pada jenis analisis yang dicapai. Di sinilah frekuensi energi tertentu, yang karakter unik dari sampel, diserap.
4. Detektor : sinar akhirnya lolos ke detektor untuk pengukuran akhir. Detektor yang digunakan secara khusus dirancang untuk mengukur sinyal *interferogram* khusus.
5. Komputer : Sinyal yang diukur didigitalkan dan dikirim ke komputer dimana transformasi fourier terjadi. Spektrum inframerah terakhir ini kemudian dipresentasikan kepada pengguna untuk interpretasi dan setiap manipulasi lebih lanjut.



Gambar 3.4 Diagram Interferometer Shimadzu (Mudzakir, 2010)

Skema alat percobaan seperti pada Gambar 3.6 digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi suatu sampel. Prinsip kerjanya adalah energi yang dikeluarkan dari sumbernya (*special coated heating element*) akan melewati bagian interferometer *sebelum melewati bagian contoh* dan dilanjutkan ke detektor, komputer serta bagian pembacaan. Sumber radiasi di dalam inferometer akan dibagi dua oleh *beam splitter* menuju ke arah cermin diam dan cermin bergerak. Kedua cahaya tersebut kemudian digabungkan kembali oleh *beam splitter*. *Gelombang dari cahaya-cahaya tersebut* akan saling mempengaruhi satu dengan lainnya sehingga memperlihatkan variasi-variasi intensitas sesuai dengan pergerakan cermin.

### 3.3 Bahan dan Alat

#### 3.3.1 Bahan

Bahan yang akan digunakan adalah

- Keju hewani, dan Susu, dan
- keju nabati Mentega
- Urin manusia, dan Bubuk KBr
- urin hewan

### 3.3.2 Alat

Peralatan yang akan digunakan adalah

- |                                  |                         |
|----------------------------------|-------------------------|
| ✚ Spktroskopi FTIR merk himadzu  | ✚ Sampel pan            |
| ✚ Mortal                         | ✚ Spatula               |
| ✚ <i>Window</i> CaF <sub>2</sub> | ✚ Pipet tetes           |
|                                  | ✚ Alat tekaanan mekanik |

## 3.4 Prosedur Penelitian

### 3.4.1 Persiapan Sampel

#### 3.4.1.1 Preprasi Sampel Cair

##### 3.4.1.1.1 Urin Manusia,

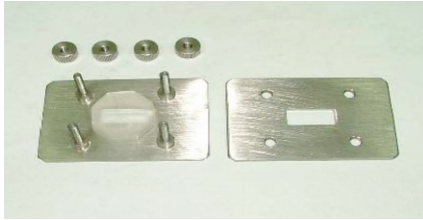
- Sampel urin manusia diambil beberapa tetes, kemudian teteskan sedikit cairan sampel yang akan diukur pada satu bagian *window* CaF<sub>2</sub>, setelah itu pasangkan satu bagian *window* CaF<sub>2</sub> lagi sehingga cairan merata pada permukaan *window*.
- Siapkan *window* CaF<sub>2</sub> pada holder, kemudian lakukan pengukuran dengan alat FTIR

##### 3.4.1.1.2 Urin Hewan dan

- Sampel urin hewan diambil beberapa tetes, kemudian teteskan sedikit cairan sampel yang akan diukur pada satu bagian *window* CaF<sub>2</sub>, setelah itu pasangkan satu bagian *window* CaF<sub>2</sub> lagi sehingga cairan merata pada permukaan *window*.
- Siapkan *window* CaF<sub>2</sub> pada holder, kemudian lakukan pengukuran dengan alat FTIR

##### 3.4.1.1.3 Susu

- Sampel susu diambil beberapa tetes, kemudian teteskan sedikit cairan sampel yang akan diukur pada satu bagian *window* CaF<sub>2</sub>, setelah itu pasangkan satu bagian *window* CaF<sub>2</sub> lagi sehingga cairan merata pada permukaan *window*.
- Siapkan *window* CaF<sub>2</sub> pada holder, kemudian lakukan pengukuran dengan alat FTIR



Gambar 3.5 *Window CaF<sub>2</sub>*

### 3.4.1.2 Preparasi Sampel Padatan dengan Metode Pelet KBr

#### 3.4.1.2.1 Keju Hewan dan

Sampel keju hewani digerus dengan mortal sampai halus kemudian ditambahkan dengan bubuk KBr sampai tercampur rata. Campuran ini kemudian ditempatkan dalam cetakan dan ditekan sampai 7-8 ton dengan menggunakan alat tekanan mekanik. Tekanan ini dipertahankan beberapa menit, kemudian sampel (pelet KBr yang terbentuk) diambil sampel yang sudah jadi kemudian ditempatkan pada sampel pan dan siap untuk dianalisis.

#### 3.4.1.2.2 Keju Nabati

Sampel keju nabati digerus dengan mortal sampai halus kemudian ditambahkan dengan bubuk KBr sampai tercampur rata. Campuran ini kemudian ditempatkan dalam cetakan dan ditekan sampai 7-8 ton dengan menggunakan alat tekanan mekanik. Tekanan ini dipertahankan beberapa menit, kemudian sampel (pelet KBr yang terbentuk) diambil sampel yang sudah jadi kemudian ditempatkan pada sampel pan dan siap untuk dianalisis.



Gambar 3.6 Mortal untuk mengerus sampel padatan

### 3.5 Tahap Uji Sampel dan Analisa Data

Hasil uji sampel protein menggunakan spektroskopi FTIR akan memberikan informasi antara lain jenis senyawa, transmittan atau absorbansi (%), daerah serapan dan deskripsinya yang dapat dilihat pada Table 3.2 ini secara analisis kualitatif.

Tabel 3.1 Analisis protein menggunakan spektroskopi FTIR

Sampel	Jenis Senyawa	Daerah Serapan	Transmitan (%)	keterangan
Keju hewani	Amida A	3300		NH stretching
	Amida B	3100		NH stretching
	Amida I	1600-1690		C=O stretching
	Amida II	1480-1575		CN stretching, NH bending
	Amida III	1229-1301		CN stretching, NH bending
	Amida IV	625-767		OCN bending
	Amida V	640-800		Out-of plane C=O bending
Keju nabati	Amida VI	537-606		Out-of plane NH bending
	Amida VII	200		Skeletal torsion
	Amida A	3300		NH stretching
	Amida B	3100		NH stretching
	Amida I	1600-1690		C=O stretching
	Amida II	1480-1575		CN stretching, NH bending
	Amida III	1229-1301		CN stretching, NH bending
Susu	Amida IV	625-767		OCN bending
	Amida V	640-800		Out-of plane C=O bending
	Amida VI	537-606		Out-of plane NH bending
	Amida VII	200		Skeletal torsion
	Amida A	3300		NH stretching
	Amida B	3100		NH stretching
	Amida I	1600-1690		C=O stretching
Mentega	Amida II	1480-1575		CN stretching, NH bending
	Amida III	1229-1301		CN stretching, NH bending
	Amida IV	625-767		OCN bending
	Amida V	640-800		Out-of plane C=O bending
	Amida VI	537-606		Out-of plane NH bending
	Amida VII	200		Skeletal torsion

Tabel 3.1 Analisis protein menggunakan spektroskopi FTIR (lanjutan)

Sampel	Jenis Senyawa	Daerah Serapan	Transmitan (%)	keterangan
Urin hewan	Amida A	3300		NH stretching
	Amida B	3100		NH stretching
	Amida I	1600-1690		C=O stretching
	Amida II	1480-1575		CN stretching, NH bending
	Amida III	1229-1301		CN stretching, NH bending
	Amida IV	625-767		OCN bending
	Amida V	640-800		Out-of plane C=O bending
Urin manusia	Amida VI	537-606		Out-of plane NH bending
	Amida VII	200		Skeletal torsion
	Amida A	3300		NH stretching
	Amida B	3100		NH stretching
	Amida I	1600-1690		C=O stretching
	Amida II	1480-1575		CN stretching, NH bending
	Amida III	1229-1301		CN stretching, NH bending
	Amida IV	625-767		OCN bending
	Amida V	640-800		Out-of plane C=O bending
	Amida VI	537-606		Out-of plane NH bending
	Amida VII	200		Skeletal torsion

Analisis secara kuantitatif dilakukan dengan cara membandingkan spektrum gugus fungsi suatu senyawa dengan transmitan dari gugus fungsi yang sudah diketahui kadarnya dengan rumus di bawah ini:

$$\frac{\text{Transmitan}_1}{\text{Transmitan}_2} = \frac{I_1}{I_2} = \frac{100 - A_1}{100 - A_2}$$

Untuk melihat kadar gugus karbonil dalam sampel, ditunjukkan data dari sampel susu, Pada sampel susu diasumsikan bahwa semua sampel berupa air sehingga transmitan gugus OH ( $3381 \text{ cm}^{-1}$ ) mewakili 100% susu. Oleh karena itu kadar karbonil dihitung sebagai berikut:

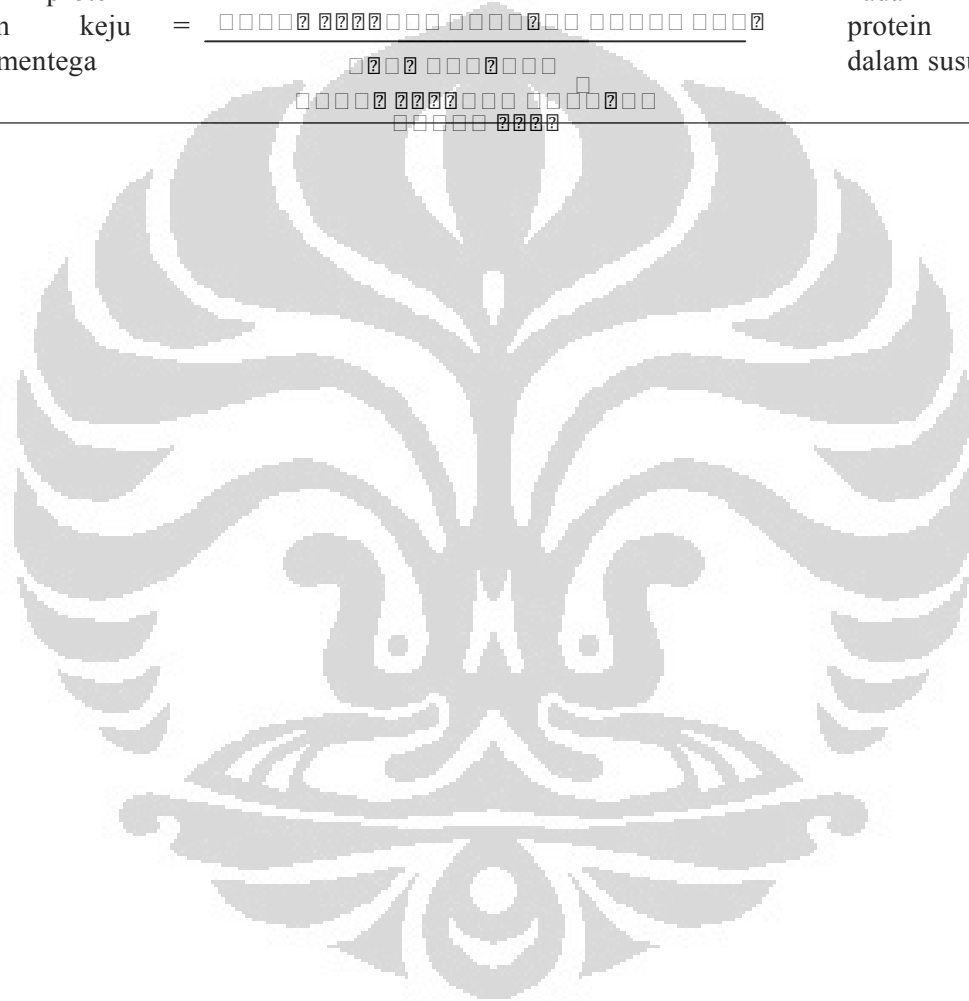
$$\frac{\text{Transmitan}_{\text{OH}}}{\text{Transmitan}_{\text{Karbonil}}} = \frac{I_{\text{OH}}}{I_{\text{Karbonil}}} = \frac{100 - A_{\text{OH}}}{100 - A_{\text{Karbonil}}}$$

Perhitungan kadar protein dalam susu sebagai berikut:

$$\text{kadar protein dalam susu} = \text{kadar protein relatif dalam susu} \times \text{Kadar karbonil dalam susu}$$

Perhitungan kadar protein dalam keju atau mentega sebagai berikut:

$$\text{kadar protein dalam keju atau mentega} = \frac{\text{kadar protein dalam susu}}{\text{kadar protein dalam susu}}$$

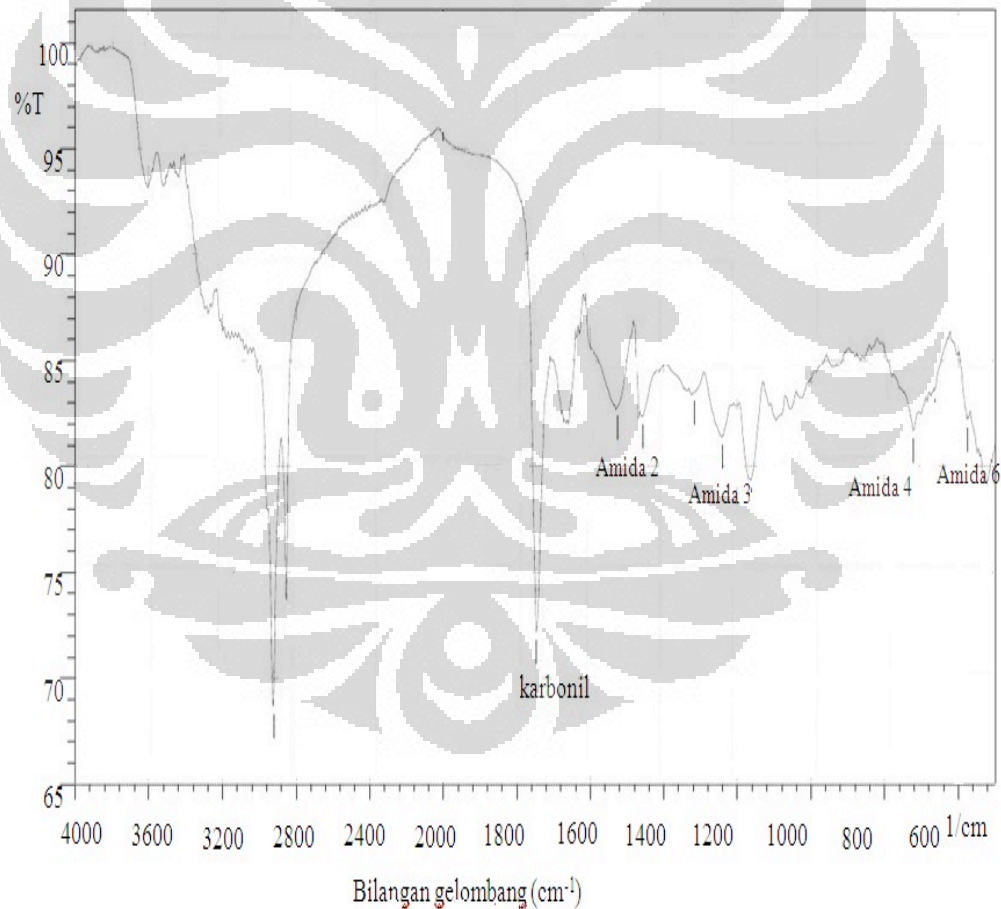


## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Profil protein hasil analisis FTIR

Analisa spektroskopi FTIR didasarkan pada karakteristik gugus fungsi dari protein yang terdapat pada sampel keju hewani, keju nabati, susu, urin manusia, dan urin hewan. Data spektra FTIR masing-masing sampel diperoleh dari hasil *scanning* sampel protein dengan alat FTIR pada daerah IR dengan bilangan gelombang 4000-600  $\text{cm}^{-1}$  dan resolusi 4  $\text{cm}^{-1}$ . Dari uji spektroskopi FTIR dengan sampel keju hewani didapatkan spektrum inframerah seperti yang terlihat pada Gambar 4.1.

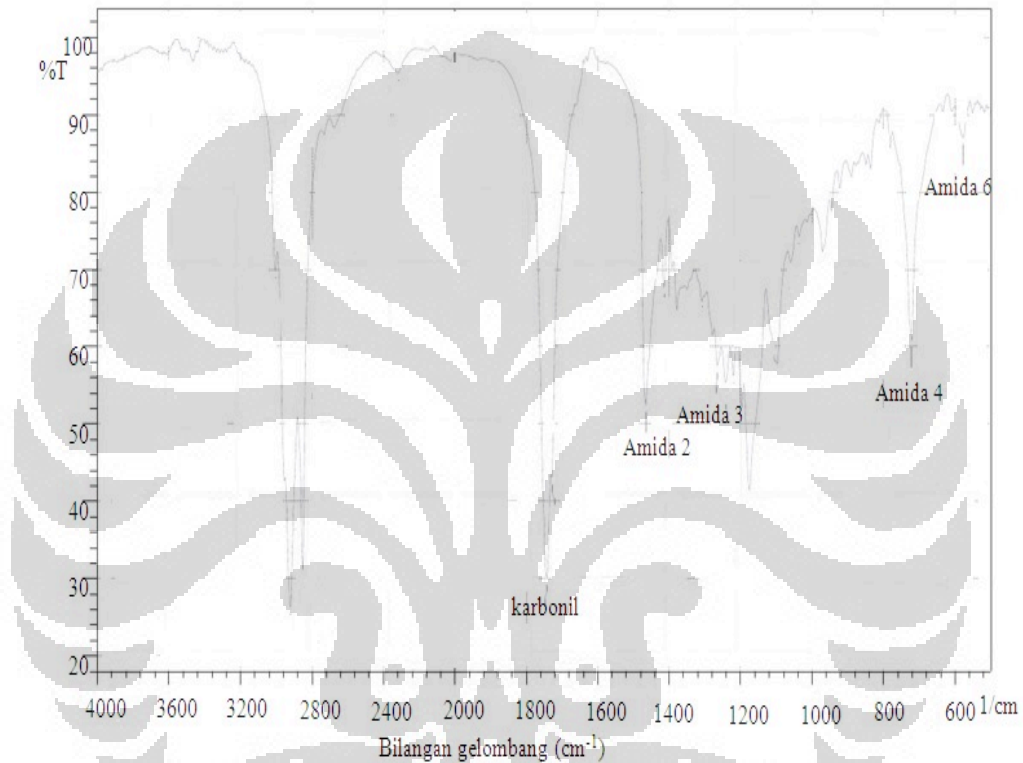


Gambar 4.1 spektrum FTIR untuk keju hewani

Spektrum FTIR keju hewani memperlihatkan tiga puncak tajam yang berada pada daerah serapan 2922  $\text{cm}^{-1}$ , 2853  $\text{cm}^{-1}$  dan 1746  $\text{cm}^{-1}$ . Serapan yang



muncul pada daerah  $1746-1744\text{ cm}^{-1}$  yang merupakan gugus karbonil ( $\text{O}=\text{C}-\text{H}$ ) dari aldehida, serapan pada bilangan gelombang  $1526\text{ cm}^{-1}$  ( amida II) diberikan oleh gugus *CN stretching* dan *NH bending* (Muyonga, dkk, 2004),  $1240\text{ cm}^{-1}$  (amida III) yang diberikan oleh gugus *CN stretching* dan *NH bending* (Hashim, dkk, 2009), gugus fungsi dari *OCN bending* (amida IV) pada daerah serapan  $721\text{ cm}^{-1}$  dan daerah serapan  $577\text{ cm}^{-1}$  dari *out-of plane NH bending* (amida VI).

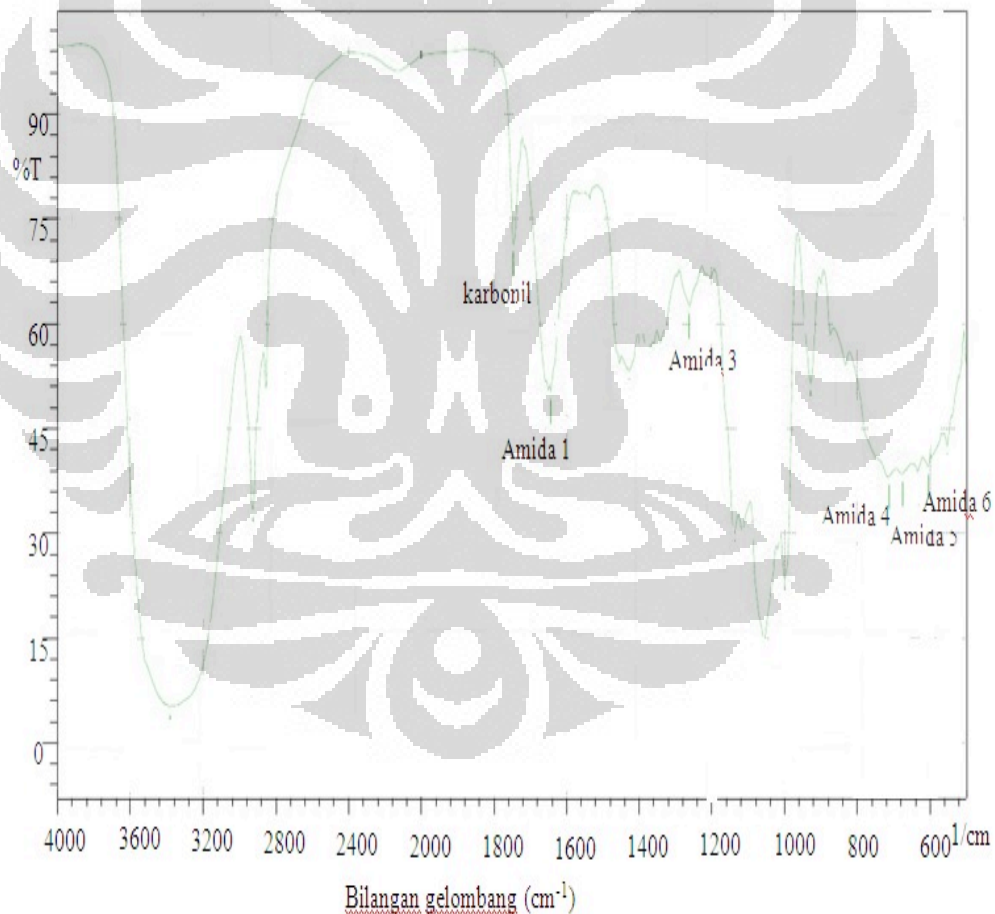


Gambar 4.2 spektrum FTIR untuk keju nabati

Untuk lebih menyakinkan bahwa gugus amida tidak hanya terdapat pada sampel keju hewan maka diperlukan perbandingan dengan sampel keju yang lainnya yaitu sampel keju nabati. Spektrum FTIR keju nabati ditunjukkan pada Gambar 4.2. Spektrum FTIR keju nabati memunculkan gugus fungsi amida II, III, IV, dan VI yang juga dimiliki oleh sampel keju hewani. Namun terdapat perbedaan yang cukup jelas dari kedua sampel tersebut yaitu pada daerah serapan amida II dan amida IV. Pada keju nabati, amida II dan amida IV puncak yang tajam, sedangkan puncak amida II yang terlihat lebar pada sampel keju hewani mengindikasikan adanya gugus fungsi lain yang memiliki bilangan gelombang yang berdekatan dengan amida IV dalam serapan bilangan gelombang.

Seperti terlihat pada Gambar 4.2, spektrum FTIR keju nabati memperlihatkan juga tiga *peak* tajam seperti halnya pada keju hewani yaitu berada pada daerah serapan yang sama dengan *peak* pada keju hewani. Demikian juga dengan *peak-peak* pada gugus karbonil (O=C-H) dari aldehid, serapan daerah  $1564\text{ cm}^{-1}$  dari vibrasi tekuk N-H (amida II),  $1265\text{ cm}^{-1}$  (amida III) yang diberikan oleh gugus CN *stretching* dan NH *bending*, serapan pada daerah  $719\text{ cm}^{-1}$  adalah OCN *bending* (amida IV), dan daerah serapan  $577\text{ cm}^{-1}$  dari *out-of plane* NH *bending* (amida VI).

Dari kedua sampel yaitu keju hewani dan nabati, protein selalu ditandai dengan munculnya puncak amida II ( $1564\text{-}1526\text{ cm}^{-1}$ ), amida III ( $1240\text{-}1265\text{ cm}^{-1}$ ), amida IV ( $719\text{-}721\text{ cm}^{-1}$ ), dan amida VI ( $577\text{ cm}^{-1}$ ).



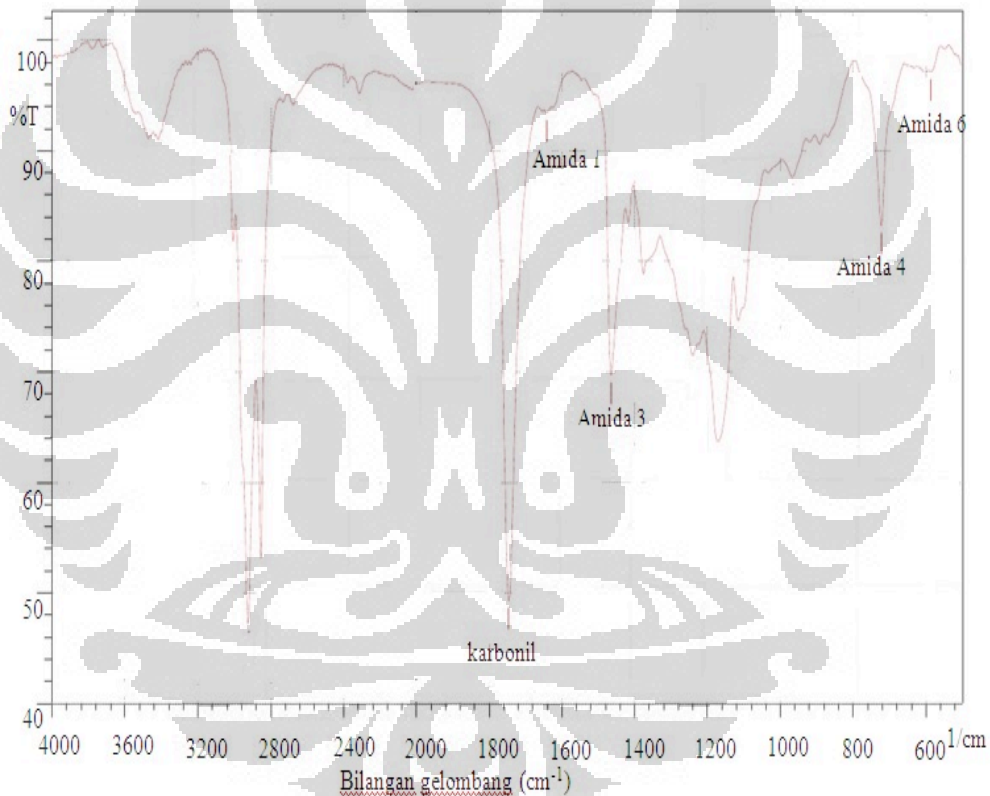
Gambar 4.3 Spektrum FTIR untuk susu

Spektrum FTIR pada sampel susu memperlihatkan perubahan pola serapan terutama hilangnya puncak pada daerah  $3318\text{ cm}^{-1}$ , yang menandakan kandungan

air dalam susu lebih banyak dibandingkan keju. Hal ini secara jelas terlihat pada Gambar 4.3. Sedangkan gugs karbonil muncul di bilangan gelombang yang sama pada sampel keju yaitu pada daerah  $1746\text{-}1744\text{ cm}^{-1}$ .

Serapan bilangan gelombang yaitu pada  $1643\text{ cm}^{-1}$  milik C=O stretching (amida I). Amida III yang terlihat pada  $1265\text{ cm}^{-1}$  milik CN *stretching* dan NH *bending*. Amida IV yang terlihat pada  $713\text{ cm}^{-1}$  milik OCN *bending*. Amida V yang terlihat pada  $675\text{ cm}^{-1}$  milik *out-of plane* C=O *bending*. Amida VI yang terlihat pada  $551\text{ cm}^{-1}$  milik *out-of plane* NH *bending*.

Pada susu, protein terlihat dari puncak amida I ( $1643\text{ cm}^{-1}$ ), amida III ( $1265\text{ cm}^{-1}$ ), amida IV ( $713\text{ cm}^{-1}$ ), amida V ( $675\text{ cm}^{-1}$ ), dan amida VI ( $551\text{ cm}^{-1}$ ).



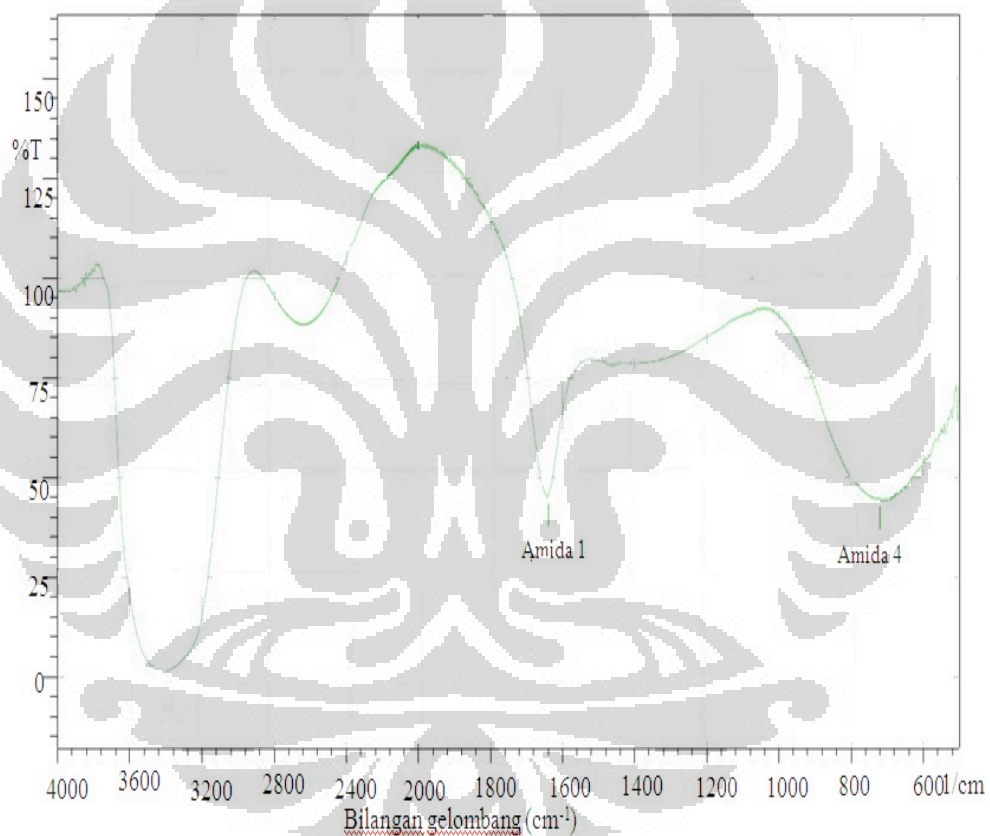
Gambar 4.4 Spektrum FTIR untuk mentega

Spektrum FTIR pada sampel mentega memperlihatkan juga tiga puncak yang tajam seperti pada sampel keju hewani dan nabati yang berada pada daerah serapan yang sama. Demikian juga dengan puncak pada gugus karbonil pada daerah serapan yang sama, amida I terlihat pada  $1641\text{ cm}^{-1}$  milik regangan C=O. Serapan pada  $1240\text{ cm}^{-1}$  adalah regangan dari CN dan vibrasi tekuk N-H (amida

III),  $721\text{ cm}^{-1}$  dari *OCN bending* (amida IV), dan  $586\text{ cm}^{-1}$  dari *out-of plane NH bending* (amida VI).

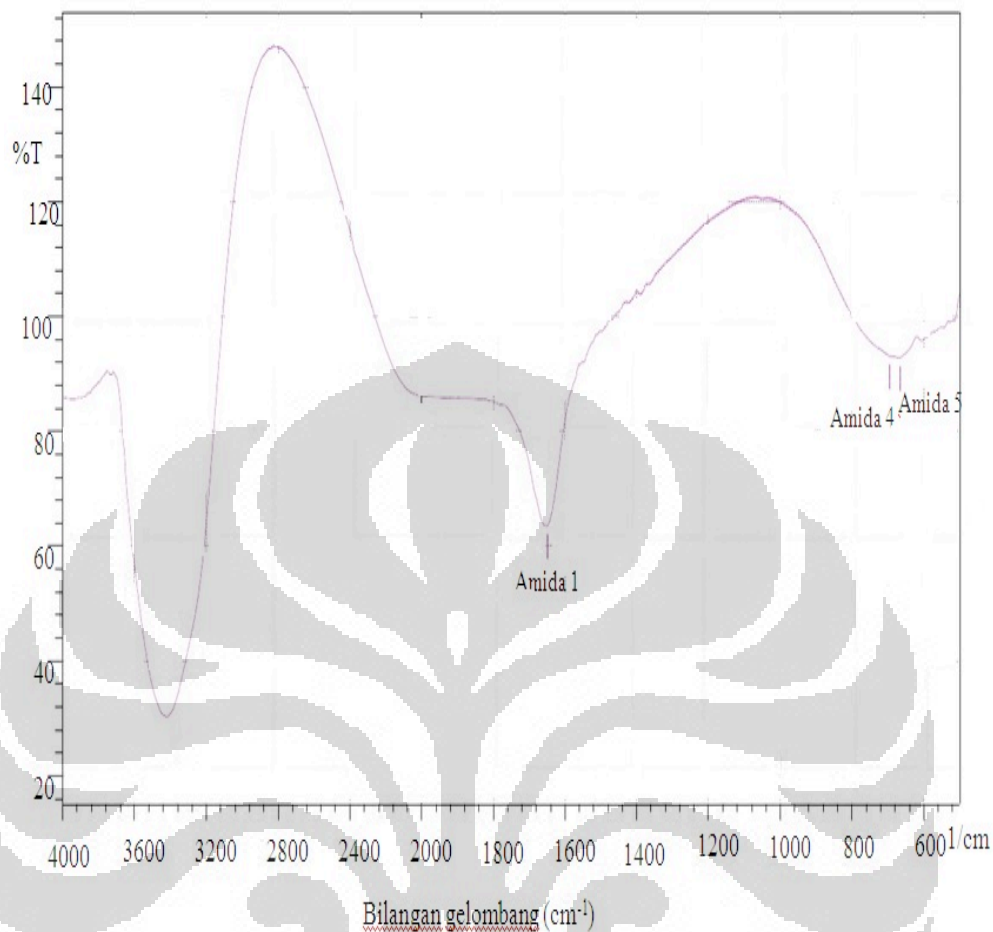
Pada mentega protein ditandai dengan munculnya puncak amida I ( $1641\text{ cm}^{-1}$ ), amida III ( $1240\text{ cm}^{-1}$ ), amida IV ( $721\text{ cm}^{-1}$ ), dan amida VI ( $586\text{ cm}^{-1}$ ).

Dari ke-empat sampel, keju hewani, keju nabati, susu, dan mentega protein dapat dikenali dengan tiga puncak yaitu amida III ( $1240\text{--}1265\text{ cm}^{-1}$ ), amida IV ( $633\text{--}721\text{ cm}^{-1}$ ), dan amida VI ( $551\text{--}586\text{ cm}^{-1}$ ). *Peak* untuk amida III mewakili gugus *CN stretching* dan *NH bending*, amida IV mewakili gugus *OCN bending* dan amida VI mewakili gugus *out-of plane NH bending*.



Gambar 4.5 Spektrum FTIR untuk urin manusia

Spektrum FTIR pada sampel urin manusia dapat dilihat pada Gambar 4.5. Serapan pada daerah bilangan gelombang  $1639\text{ cm}^{-1}$  adalah vibrasi ulur karbonil (amida I) dan  $719\text{ cm}^{-1}$  adalah *OCN bending* (amida IV).



Gambar 4.6 Spektrum FTIR untuk urin hewan

Spektrum FTIR pada sampel urin hewan dapat dilihat pada Gambar 4.6. Serapan pada daerah bilangan gelombang  $1639\text{ cm}^{-1}$  adalah vibrasi ulur karbonil (amida I),  $719\text{ cm}^{-1}$  adalah OCN *bending* (amida IV) dan  $665\text{ cm}^{-1}$  adalah *out-of plane C=O bending* (amida V).

Spektrum FTIR dari urin hewan dapat dilihat pada Gambar 4.6. Spektrum FTIR urin manusia pada Gambar 4.5 memunculkan gugus fungsi amida I, dan amida IV yang juga dimiliki oleh sampel urin hewan pada Gambar 4.6. Namun terdapat perbedaan dari kedua sampel tersebut pada daerah serapan amida I dan amida VI. Sampel urin manusia memiliki *peak* yang tajam pada amida I dan *peak* amida IV terlihat lebih lebar sedangkan pada sampel urin hewan *peak* amida I terlihat tajam sedikit lebar dan amida IV terlihat lebar.

Spektrum FTIR untuk urin manusia dan hewan hanya memunculkan dua *peak* yaitu amida I ( $1639\text{ cm}^{-1}$ ) dan amida IV ( $719\text{ cm}^{-1}$ ) oleh karena itu FTIR

tidak dapat dipakai untuk mendeteksi protein di urin. Hal ini salah satunya disebabkan karena konsentrasi protein terlalu rendah.

#### 4.2 Kadar Asam Amino

Hasil diatas adalah hasil analisis secara kualitatif yang berbentuk spektrum FTIR. Selain itu perlu dilakukan analisis kuantitatif untuk menentukan kadar protein. Analisis kuantitatif dilakukan dengan cara membandingkan transmittan ke-tiga *peak* penanda kadar protein dengan transmittan gugus fungsi yang dianggap diketahui kadarnya yaitu gugus karbonil. Hasil analisis kuantitatif dapat dilihat dibawah ini:

Tabel 4.1 Kadar protein pada sampel susu

sampel	Jenis senyawa	Bilangan gelombang (cm <sup>-1</sup> )	Transmittan (%T)	kadar protein relatif/karbonil	kadar protein (%)	
Susu	Amida III	1261	62,47	0,88	9,47	
	Amida IV	633	38,75	0,54		
	Amida VI	552	42,41	0,59		
	Rata-rata				0,67	
	Standar deviasi (Sd)				91,19	
	karbonil	1746	71,39	kadar karbonil dalam susu (%)		
	OH	3381	5,05	14,14		

Pada tabel 4.1 ditunjukkan bahwa kadar protein relatif per karbonil pada susu untuk gugus fungsi amida III sebesar 0,88, amida IV sebesar 0,54, dan amida VI sebesar 0,59. Kadar protein dalam susu adalah 9,47%.

Kandungan kadar protein dalam susu didapatkan dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Komposisi kimia rata-rata susu sapi

Komponen	Persentase (%)
Air	87,29
Abu	0,71
Protein	3,42
Laktosa	4,92
Lemak	3,66
Jumlah zat padat	12,71

Sumber: Lampert, 1975.

Tabel 4.3 Komposisi kimia rata-rata susu segar dari berbagai mamalia

Mamalia	% Air	% Lemak	% Protein	% Laktosa	% Mineral
Sapi	87,29	3,66	3,42	4,29	0,71
Kerbau	82,44	7,40	4,74	4,46	0,78
Unta	87,67	3,02	3,45	5,51	0,71
Kambing	80,60	8,28	5,44	4,70	0,90
Domba	87,81	3,80	3,50	4,10	0,79
Manusia	87,60	3,80	1,20	7,00	0,21

Sumber: Lampert, 1975.

Jika dibandingkan dengan literatur kadar protein dalam susu sapi sebesar 3,42% lebih kecil dibandingkan yang dianalisis dengan FTIR sebesar 9,47 %.

Hasil analisis kuantitatif pada sampel keju hewani ditunjukkan pada tabel 4.4.

Tabel 4.4 Kadar protein pada sampel keju hewani

Sampel	Jenis senyawa protein	Bilangan gelombang (cm <sup>-1</sup> )			Transmitan (%T)			kadar protein relatif/karbonil				Kadar protein (%)
		Cheddar	Prochiz	Belcube cheese sprod	Cheddar	Prochiz	Belcube cheese sprod	Cheddar	Prochiz	Belcube cheese sprod	Rata-rata	
Keju hewani	Amida III	1240	1240	1240	81,38	54,62	77,55	1,13	0,78	1,97	1,23	19,08
	Amida IV	721	721	721	81,68	62,48	86,87	1,13	0,89	2,20	1,41	
	Amida VI	575	573	525	82,19	60,74	87,13	1,14	0,86	2,21	1,40	
	Rata-rata										1,35	
	Standar deviasi (Sd)							232,88				
	karbonil	1746	1746	1746	72,16	70,26	39,44					

Dari hasil tabel 4.4 dapat disimpulkan bahwa kadar protein relatif per karbonil pada keju hewani untuk gugus fungsi amida III sebesar 1,29, amida IV sebesar 1,41 dan amida VI sebesar 1,40. Kadar protein dalam keju hewani adalah 19,08%.

Kandungan kadar protein dalam keju hewani yang terbuat dari susu sapi memiliki nilai kadar protein sebesar 3,42 % (Lampert, 1975). Kadar ini lebih kecil dari pada kadar protein dari hasil analisis menggunakan spektroskopi FTIR sebesar 19,32 %.



Hasil analisis kuantitatif pada sampel keju nabati ditunjukkan pada tabel 4.5.

Tabel 4.5 Kadar protein pada sampel keju nabati

sampel	jenis senyawa	Bilangan geombang (cm <sup>-1</sup> )	Transmitan (%T)	Kadar protein relatif/karbonil	kadar protein (%)
keju nabati	Amide III	1265	57,48	1,82	30,67
	Amide IV	721	60,79	1,93	
	Amide VI	577	87,01	2,76	
	karbonil	1746	31,55	-	
	Rata-rata				
Standar deviasi (Sd)				160,09	

Tabel 4.5 menunjukkan bahwa kadar protein relatif per karbonil pada keju nabati untuk gugus fungsi amida III sebesar 1,82, amida IV sebesar 1,93 dan amida VI sebesar 2,76. Kadar protein dalam keju nabati adalah 30,67 %.

Kandungan protein keju nabati yang terbuat dari susu kedelai dapat dilihat pada tabel 4.6.

Tabel 4.6. Komposisi kimia susu kedelai

Komponen dalam susu kedelai	Kadar (%)
Air	87,00
Protein	3,50
Lemak	2,50
Karbohidrat	5,00
Mineral	2,00

Sumber: Direktorat Gizi, Depkes RI, 1992.

Jika dibandingkan dengan literatur kadar protein keju nabati yang terbuat dari susu kedelai memiliki kadar protein sebesar 3,50 % lebih besar dibandingkan dengan kadar protein yang didapatkan dari hasil analisis menggunakan spektroskopi FTIR sebesar 30,67 %.

Sedangkan tabel 4.7 dibawah ini menunjukkan hasil analisis kuantitatif pada sampel mentega.

Tabel 4.7 Kadar protein pada sampel mentega

sampel	jenis senyawa	Bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ )	Transmitan (%T)	Kadar protein relatif/karbonil	kadar protein (%)	
Mentega	Amide III	1240	71,47	1,45	24,03	
	Amide IV	721	83,18	1,69		
	Amide VI	586	97,08	1,97		
	karbonil	1746	49,29	-		
	Rata-rata				1,70	
	Standar deviasi (Sd)				156,26	

Pada tabel 4.7 terlihat bahwa kadar protein relatif per karbonil pada mentega untuk gugus fungsi amida III sebesar 1,45, amida IV sebesar 1,69, dan amida VI sebesar 1,97. Kadar protein dalam mentega adalah 24,03 %. Kandungan kadar protein dalam mentega dapat dilihat pada tabel 4.8.

Tabel 4.8 Kandungan gizi produk olahan susu

Komponen dalam olahan susu	Produk olahan susu		
	Kadar (%)		
	Mentega	Es krim	Yogurt
Protein	0.5	4	3.3
Lemak	81.6	12.5	2.5
Karbohidrat	1.4	20.6	4
Air	16.5	62.1	88

Sumber: Daftar komposisi bahan makanan, Depkes RI, 2005.

Kadar protein pada mentega berdasarkan Depkes (2005) sebesar 0,5 % lebih kecil dibandingkan hasil analisis spektroskopi FTIR nilai kadar protein mentega sebesar 24,05 %.

Perbandingan hasil analisis kadar protein menggunakan metode FTIR terhadap literatur ditunjukkan pada tabel 4.9.

Tabel 4.9 Perbandingan hasil analisis FTIR terhadap literatur.

Sampel	Hasil analisis FTIR	Literatur
Susu	9,47	3,42
Keju hewani	19,08	3,42
Keju nabati	30,67	3,50
Mentega	24,03	0,5

Seperti ditunjukkan pada tabel 4.9 bahwa hasil analisis metode FTIR selalu menunjukkan angka yang lebih tinggi dibandingkan literatur. Hal ini menunjukkan bahwa metode FTIR yang dipakai pada penelitian ini belum sepenuhnya akurat yang salah satunya disebabkan oleh kondisi sampel yang tidak murni.

Dari ke-empat sampel, kadar protein relatif per karbonil untuk susu, keju hewani, keju nabati, dan mentega adalah 0,67, 1,37, 2,17, dan 1,70 dengan kadar protein 9,47 %, 19,08 %, 30,67 %, dan 24,03 %. Hasil tersebut bahwa kadar protein mentega lebih besar daripada susu. Hal ini disebabkan oleh rendahnya konsentrasi protein dalam susu, sedangkan untuk keju seharusnya kadar protein keju hewani lebih besar dari keju nabati. Perbedaan ini disebabkan sumber keju nabati berupa kedelai yang memiliki protein lebih tinggi.

## BAB V

### SIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Simpulan

- ✚ Dari ke-empat sampel, keju hewani, keju nabati, susu, dan mentega protein dapat dikenali dengan tiga *peak* yaitu amida III ( $1240-1265\text{ cm}^{-1}$ ), amida IV ( $633-721\text{ cm}^{-1}$ ), dan amida VI ( $551-586\text{ cm}^{-1}$ ). Peak untuk amida III mewakili gugus CN *stretching* dan NH *bending*, amida IV mewakili gugus OCN *bending* dan amida VI mewakili gugus *out-of plane* NH *bending*.
- ✚ Dari ke-empat sampel, kadar protein relatif per karbonil untuk susu, keju hewani, keju nabati, dan mentega adalah 0,67, 1,37, 2,17, dan 1,70 dengan kadar protein untuk susu, keju hewani, keju nabati, dan mentega adalah 9,47 %, 19,08 %, 30,67 %, dan 24,03 %.

#### 5.2 Saran

Sampel yang akan digunakan untuk analisis identifikasi protein menggunakan spektroskopi FTIR terlebih dahulu harus dimurnikan sehingga data yang diperoleh lebih akurat dan murni.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adams, A., & Ray., C. 1988. *Catering technology*, 1<sup>st</sup> ed. London: B.T. Batsford Ltd.,.
- Chatwall, G. 1985. *Spectroscopy Atomic and Molecule*. Bombay: Himalaya Publishing House.
- Chongjun, H., Yaqin, H., Na, T., et al., ed. 2010. *Preparation And Characterization of Gelatin/Cerium(III) Film*. Journal Of Rare Earths, 28(5), 756.
- Etzion, Y., Linker, R., Cogan, U., and Shmulevich, I. 2004. *Determination of Protein Concentration in Raw Milk by Mid-Infrared Fourier Transform Infrared/Attenuated Total Reflectance Spectroscopy*. Journal of Dairy Science 87( 9), 2779-2788.
- Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI. 1992. *Daftar Komposisi Zat Gizi Pangan Indonesia*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI. 2005. *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Harmita. 2006. *Analisis Fisika Kimia*, Departemen Farmasi FMIPA-UI, Jakarta.
- Hashim, D., M., Che Man, Y., B., et al., ed. 2009. *“Potential Use of Fourier Transform Infrared Spectroscopy for Differentiation of Bovine and Porcine Gelatins”*. Food Chemistry 118, 856-860.
- Hawab, H., M. 2006. *Dasar-Dasar Biokimia*. Bogor: Akademi Kimia Analisis.
- Karlina, I., R., & Lukman, A. 2010. *Ekstrak Gelatin Dari Tulang Rawan Ikan Pari (Himantura gerardi) Pada Variasi Larutan Asam Untuk Perendaman*. Program Studi Kimia MIPA Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Kong, J., & Shaoning, Y. 2007. *Fourier Transform Infrared Spectroscopic Analysis of Protein Secondary Structures*. Acta Biochimica et Biophysica Sinica., 39(8), 549–559.

- Lampert, L. M., 1975. *Modern Dairy Product*. Chemical Publishing Company. Inc., New York.
- Martianingsih, N., & Lukman, A. 2009. *Analisis Sifat Kimia, Fisik, dan Termal Gelatin dari Ekstraksi Kulit Ikan Pari (Himantura gerardi) melalui Variasi Jenis Larutan Asam*. Program Studi Kimia MIPA Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Zanyar, M., Shazza, R., and Ihtesham, U., R. 2008. *Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues. Applied Spectroscopy Review*. 43, 134-179.
- Mudzakir, A. 2010. *Metode Spektroskopi Inframerah untuk Analisis Material*. Bandung: UPI.
- Muhammad, W. 1983. *Biokimia Proteina, Enzima dan Asam Nukleat*. Bandung: ITB.
- Muyonga, J., H., Cole, C., G., B., and Duodu, K., G. 2004. *“Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy Study of Acid Soluble Collagen and Gelatin from Skins and Bones of Young and Adult Nile Perch (Lates Niloticus)”*. Food Chemistry 86, 325-332.
- Protein. 2003. <http://www.Biology.arizona.edu/biochemistry/biochemistry.html>, The Biology Project-Biochemistry (accessed Agustus 14, 2010).
- Sankari, G., Krishnamoorthy, E., et al., ed. 2010. *Analysis of Serum Immunoglobulins Using Fourier Transform Infrared Spectral Measurements*. Biology and Medicine, 2(3), 42-48..
- Sastrohamidjojo, H. 2005. *Kimia Organik Stereokimia, Karbohidrat, Lemak dan Protein*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Sastrohamidjojo, H. 1991. *Spektroskopi*. Yogyakarta : Liberty. Sastrohamidjojo, H. 1992. *Spektroskopi Inframerah*. Yogyakarta : Liberty.
- Sediaoetama, A., D. 1976. *Ilmu Gizi dan Ilmu Diet di Daerah Tropik*. 1<sup>st</sup> ed. Jakarta: PN Balai Pustaka.

- Shady, El-Tawil., DR., , Ghaleb, Mahmoud. 2008. *A New Approach in the Screening for Cervial Cancer using Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy*. A Thesis Submitted in Fulfillment of The Requirements for The Degree of Master of Science, University Sains Malaysia.
- Sudjadi. 1985. *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Jakarta: Ghalia Indonesia.
- Suhardjo, C., dan Kusharto, M. 1999. *Prinsip-prinsip Ilmu Gizi*. Yogyakarta: Kanisius.
- Suseno, J., E., K., dan Sofjan, F. 2008. *Rancang Bangun Spektroskopi FTIR (Fourier Transform Infrared) untuk Penentuan Kualitas Susu Sapi*. Jurusan Fisika FMIPA UNDIP, 11(1), 23-28.
- Winarno, F.G. 1992. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.



## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Kadar Protein pada Sampel Susu

Tabel 1. Kadar protein pada sampel susu

sampel	Jenis senyawa protein	Bilangan gelombang (cm <sup>-1</sup> )	Transmitan (%T)	kadar protein relatif/ karbonil	kadar protein (%)		
Susu	Amida II	1261	62.47	0,88	9,47	81,16	6586,95
	Amida IV	633	38.75	0,54		-38,75	1501,56
	Amida VI	552	42.41	0,59		-42,41	1798,61
	Jumlah			143.63		0	9887,12
	Rata-rata				0.67		
	Standar deviasi			91,19			
		karbonil	1746	71.39	kadar karbonil dalam susu (%)		
		OH	3381	5.05	14,14		

- Hitung kadar protein relatif/ karbonil adalah

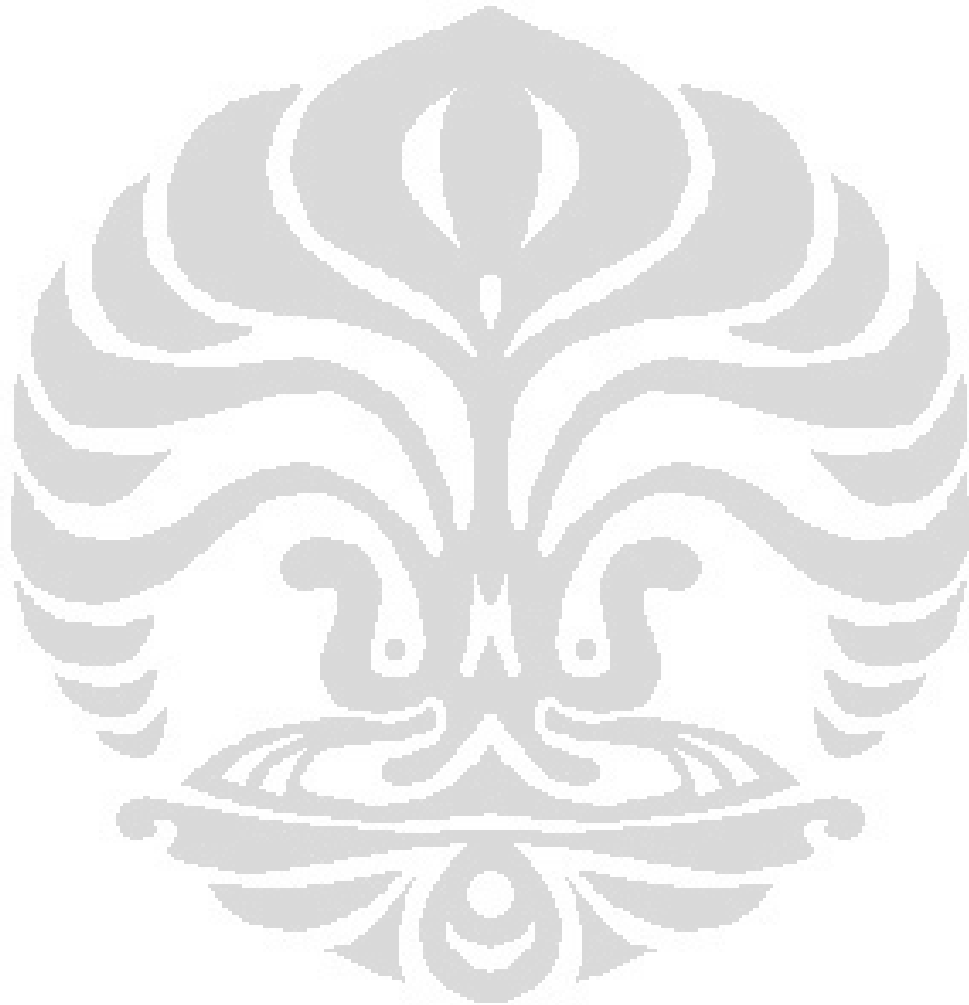
$$\begin{array}{r}
 \frac{62,47}{71,39} = 0,88 \\
 \frac{38,75}{71,39} = 0,54 \\
 \frac{42,41}{71,39} = 0,59
 \end{array}$$

- Rata-rata dari kadar protein relative/karbonil dari tiga puncak amida:

$$\frac{0,88 + 0,54 + 0,59}{3}$$



□ 0,67



- Kadar karbonil dalam susu adalah

$$\frac{5,05}{71,39} \times 100\% = 7,07\%$$

$$\frac{5,05}{71,39} \times 14,14 = 9,97$$

- Kadar protein dalam susu adalah

$$\text{kadar protein dalam susu} = \text{kadar protein relatif dalam susu} \times \text{kadar karbonil dalam susu}$$

$$9,47 = 14,14 \times 0,672$$

- Rumus standar deviasi:

$$\frac{9887,12}{31} = 319$$

$$\frac{9887,12}{31} = 319$$

$$319 = 17,9$$

Lampiran 2. Kadar Protein pada Sampel Keju Hewani

Tabel 2. Kadar protein pada sampel keju hewani

Sampel	Jenis senyawa protein	Bilangan gelombang (cm-1)			Transmitan (%T)			kadar protein relatif/karbonil				Kadar protein (%)
		Cheddar	Prochiz	Belcube cheese sprod	Cheddar	Prochiz	Belcube cheese sprod	Cheddar	Prochiz	Belcube cheese sprod	Rata-rata	
Keju hewani	Amida III	1240	1240	1240	81,38	54,62	77,55	1,13	0,78	1,97	1,23	19,08
	Amida IV	721	721	721	81,68	62,48	86,87	1,13	0,89	2,20	1,41	
	Amida VI	575	573	525	82,19	60,74	87,13	1,14	0,86	2,21	1,40	
	karbonil	1746	1746	1746	72,16	70,26	39,44					
		Jumlah			245,25	177,84	251,55					
		Rata-rata										1,35
	Standar deviasi										232,88	

- Hitung kadar protein relatif/ karbonil adalah

$$\frac{\text{Bilangan gelombang} \times \text{Transmitan}}{\text{Bilangan gelombang} \times \text{Transmitan}} \times 100\%$$

1. Cheddar

$$\frac{81,38}{72,16} \times 1,13 = 1,13$$

$$\frac{82,19}{72,16} \times 1,14 = 1,14$$

2. Prochiz

$$\frac{52,62}{70,26} = 0,78$$

$$\frac{60,74}{70,26} = 0,86$$

$$\frac{62,48}{70,26} = 0,89$$

3. Belcube cheese sproad

$$\frac{77,55}{39,44} = 1,29$$

$$\frac{87,13}{39,44} = 1,40$$

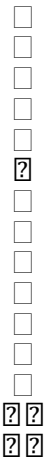
$$\frac{86,87}{39,44} = 1,41$$

- Rata-rata dari kadar protein relative/karbonil dari tiga puncak amida:

$$\frac{1,29 + 1,40 + 1,41}{3} = 1,35$$

- Perhitungan kadar protein dalam keju:

kadar protein dalam keju	$\frac{1,35}{100} \times 100$	=	1,35
atau mentega	$\frac{1,35}{100} \times 100$		



kadar protein dalam x  
susu



- Kadar protein dalam keju =  $\frac{2,22}{2,22} \times 4,75 = 19,32$

Tabel 2. Kadar protein pada sampel keju hewani (lanjutan)

Sampel	Jenis senyawa protein	Bilangan gelombang (cm <sup>-1</sup> )			Transmitan (%T)			$(x - \bar{X})$			$(x - \bar{X})^2$				
		Cheddar	prochiz	Belcube cheese sprod	Cheddar	Prochiz	Belcube cheese sprod	Cheddar	Prochiz	Belcube cheese sprod	rata-rata	Cheddar	Prochiz	Belcube cheese sprod	rata-rata
Keju hewani	Amida III	1240	1240	1240	81,38	54,62	77,55	163.87	123.22	174	461.09	26853.38	15183.17	30276	72312.55
	Amida IV	721	721	721	81,68	62,48	86,87	-81.68	-62.48	-86.87	-231.03	6671.62	3903.75	7546.4	18121.77
	Amida VI	575	573	525	82,19	60,74	87,13	-82.19	-60.74	-87.13	-230.06	6755.2	3689.35	7591.64	18036.19
	jumlah				245,25	177,84	251,55	0	0	0	0	40280.2	22776.27	45414.03	108470.5
	Standar deviasi				232,88										

- Rumus standar deviasi:

$$\frac{108470,50}{3} = 36156,83$$

$$\sqrt{36156,83} = 190,15$$

$$190,15 = 190,15$$

**Lampiran 3. Kadar Protein pada Sampel Keju Nabati**

Tabel 3. Kadar protein pada sampel keju nabati

Sampel	Jenis senyawa	Bilangan geombang (cm <sup>-1</sup> )	Transmitan (%T)	Kadar protein relatif/karbonil	Kadar protein (%)		
Keju nabati	Amida III	1265	57,48	1,82	30,67	147,80	21844,80
	Amida IV	721	60,79	1,93		-60,79	21844,90
	Amida VI	577	87,01	2,76		-87,01	7570,74
	karbonil	1746	31,55	-		0	51260,4
Jumlah			205,28				
Rata-rata				2,17			
Standar deviasi (Sd)				160,09			

- Hitung kadar protein relatif/ karbonil adalah

$\frac{\text{Transmitan Amida}}{\text{Transmitan Karbonil}} \times 100\%$	$\frac{57,48}{31,55} \times 100\% = 1,82$
$\frac{60,79}{31,55} \times 100\% = 1,93$	$\frac{87,01}{31,55} \times 100\% = 2,76$

- Rata-rata dari kadar protein relative/karbonil dari tiga puncak amida:

$$\frac{1,82 + 1,93 + 2,76}{3} = 2,17$$

Perhitungan kadar protein keju:

$$\frac{2,17}{0,67} \times 9,47 = 30,67$$

### Lampiran 3. Kadar Protein pada Sampel Mentega

Tabel 5. Kadar protein pada sampel mentega

Sampel	Jenis senyawa	Bilangan gelombang (cm-1)	Transmitan (%T)	Kadar protein relatif/karbonil	Kadar protein (%)		
Mentega	Amida III	1240	71.47	1,45	24,03	180.26	32493.7
	Amida IV	721	83.18	1,69		-83.18	6918.91
	Amida VI	586	97.08	1,97		-97.08	9424.53
	karbonil	1746	49,29	-		0	48837.1
Jumlah			251.73				
rata-rata				1,70			
Standar deviasi				156,26			

- Hitung kadar protein relatif/ karbonil adalah

$$\frac{\text{Transmitansi karbonil}}{\text{Transmitansi amida}} \times 100\%$$

$$\frac{49,29}{71,47} \times 100\% = 1,45$$

$$\frac{49,29}{83,18} \times 100\% = 1,69$$

$$\frac{49,29}{97,08} \times 100\% = 1,97$$

- Rata-rata dari kadar protein relative/karbonil dari tiga puncak amida:

$$\frac{1,45 + 1,69 + 1,97}{3} = 1,70$$

- Perhitungan kadar protein mentega:

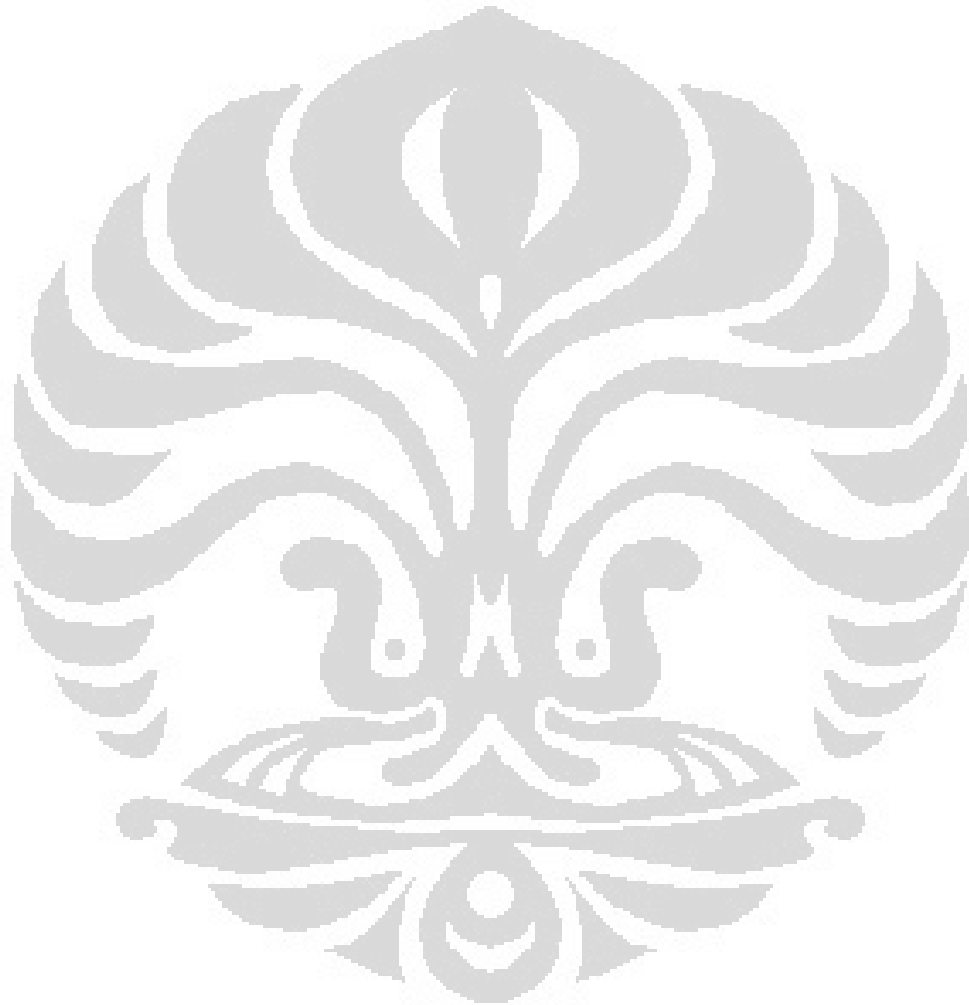
$$\frac{1,70}{0,67} \times 24,03 = 9,47$$

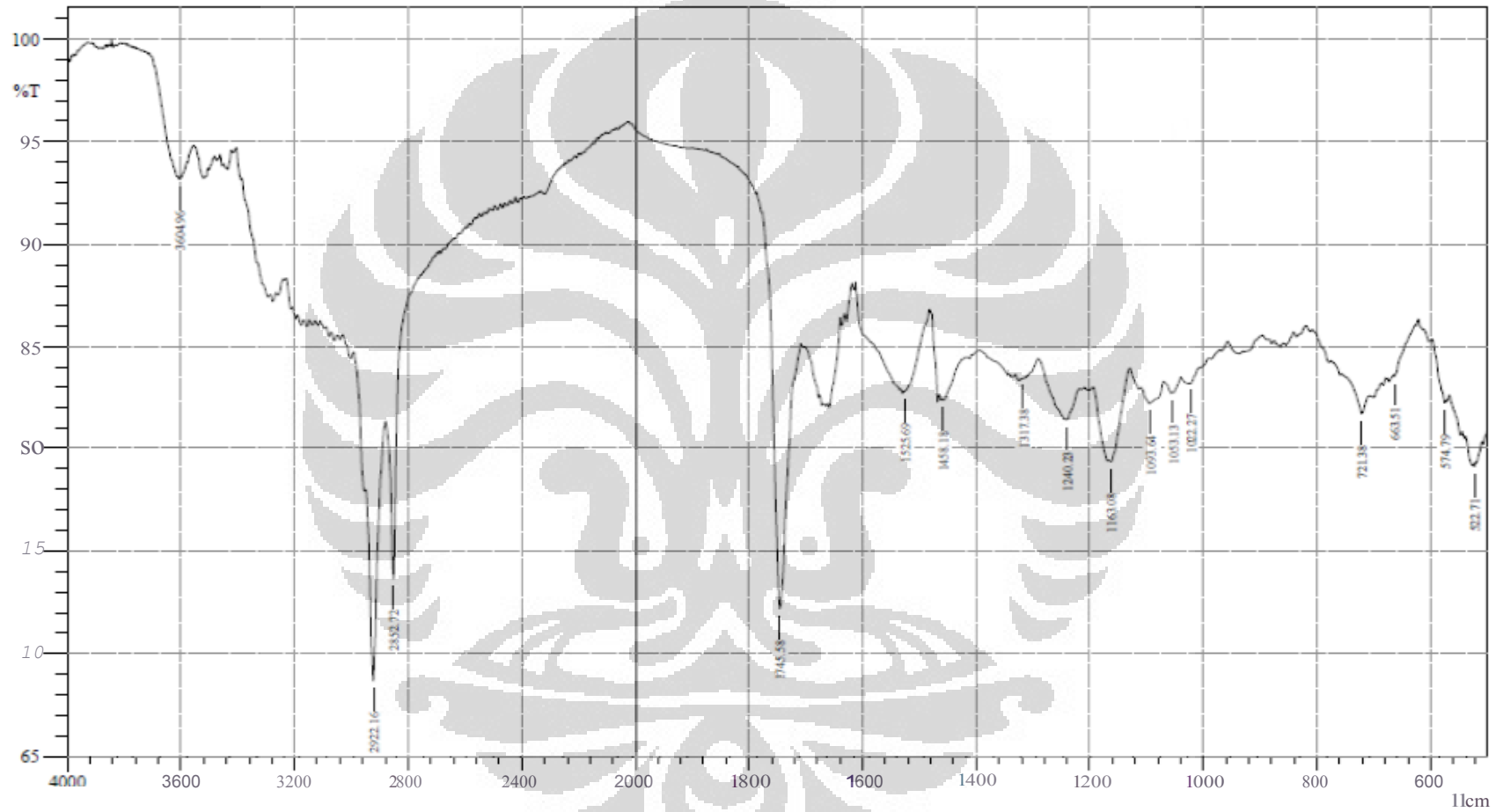
- Rumus standar deviasi:

$$\sqrt{\frac{48837,11}{3 - 1}}$$



□ □ □ 156,26



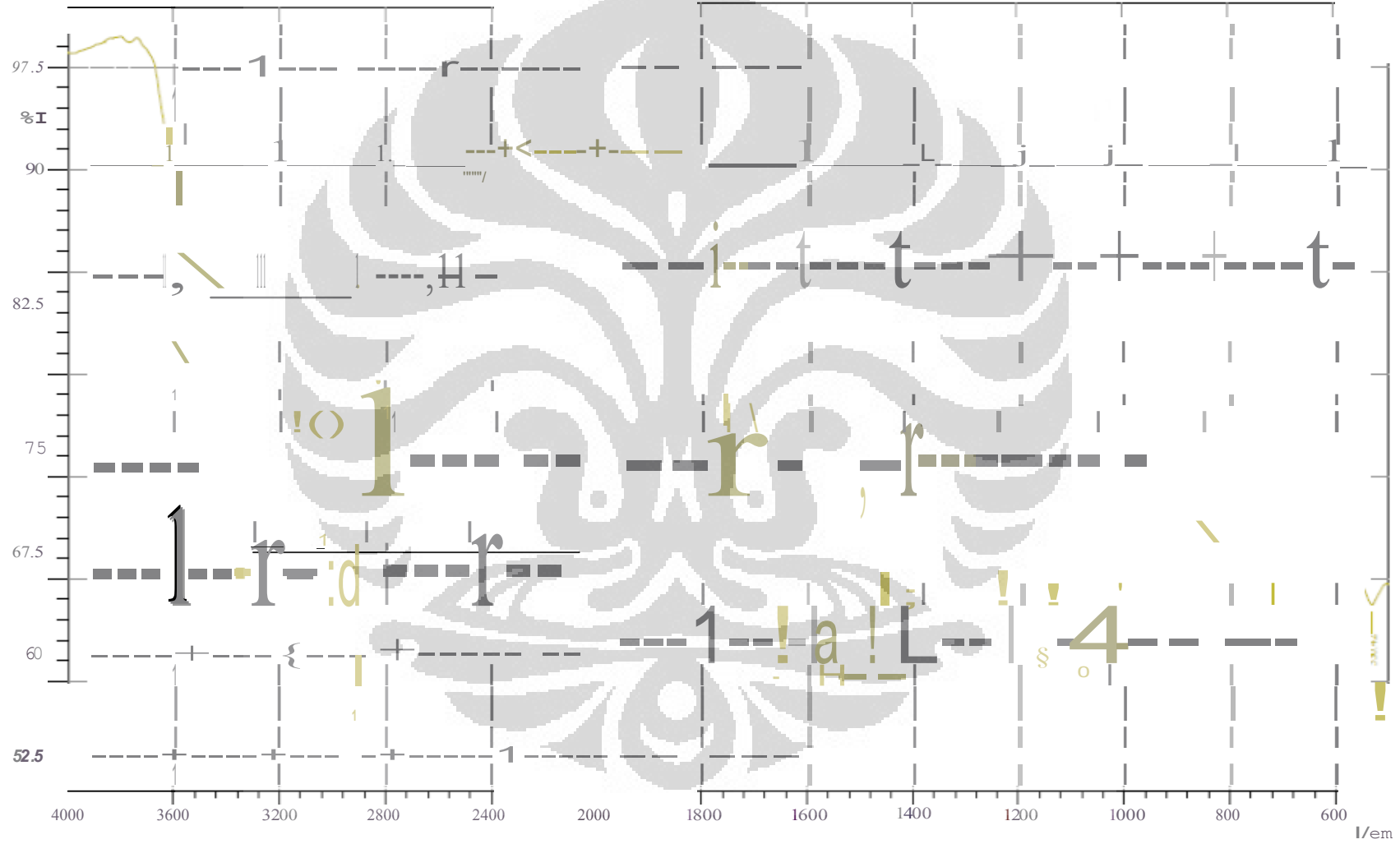


keju hewani

No. of Scans: 45  
Resolution: 4 [11cm]

L'.BORAI'ORitiM AFU. ASI DEPLKIMIA UI

[i]SHIMADZUJ

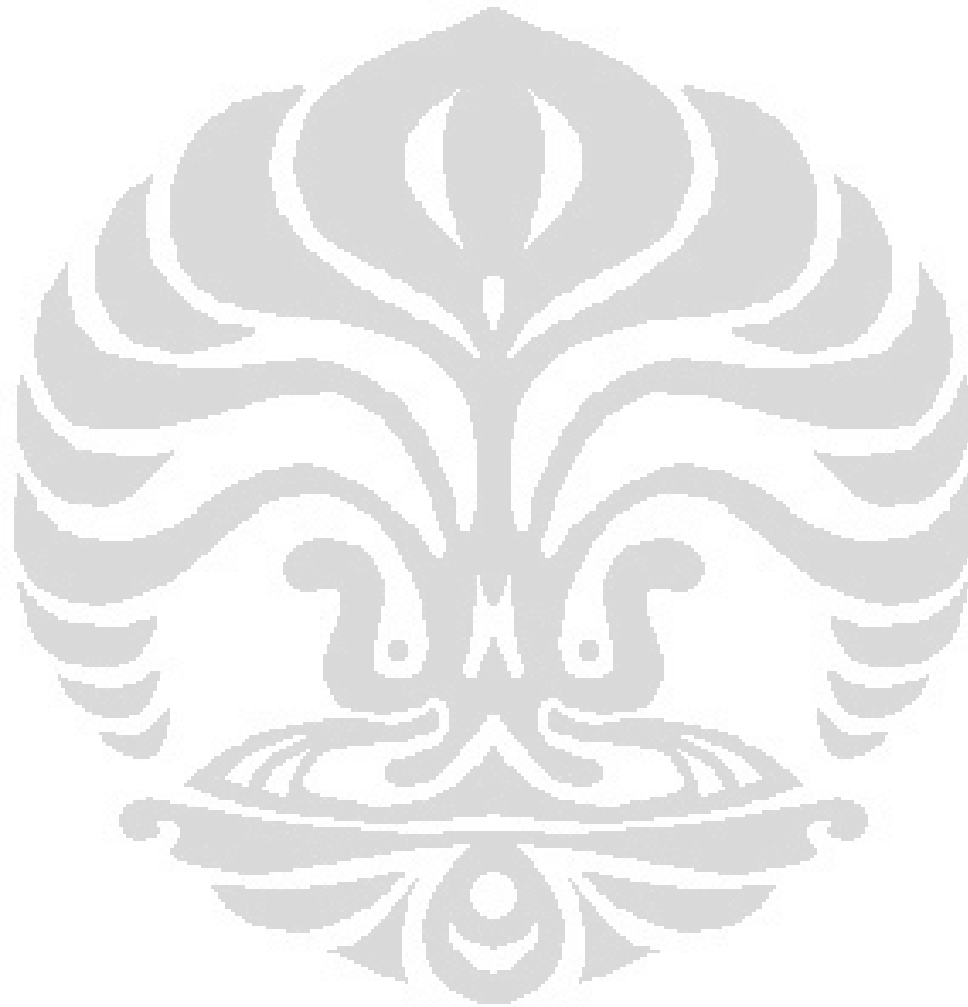


Universitas Indonesia

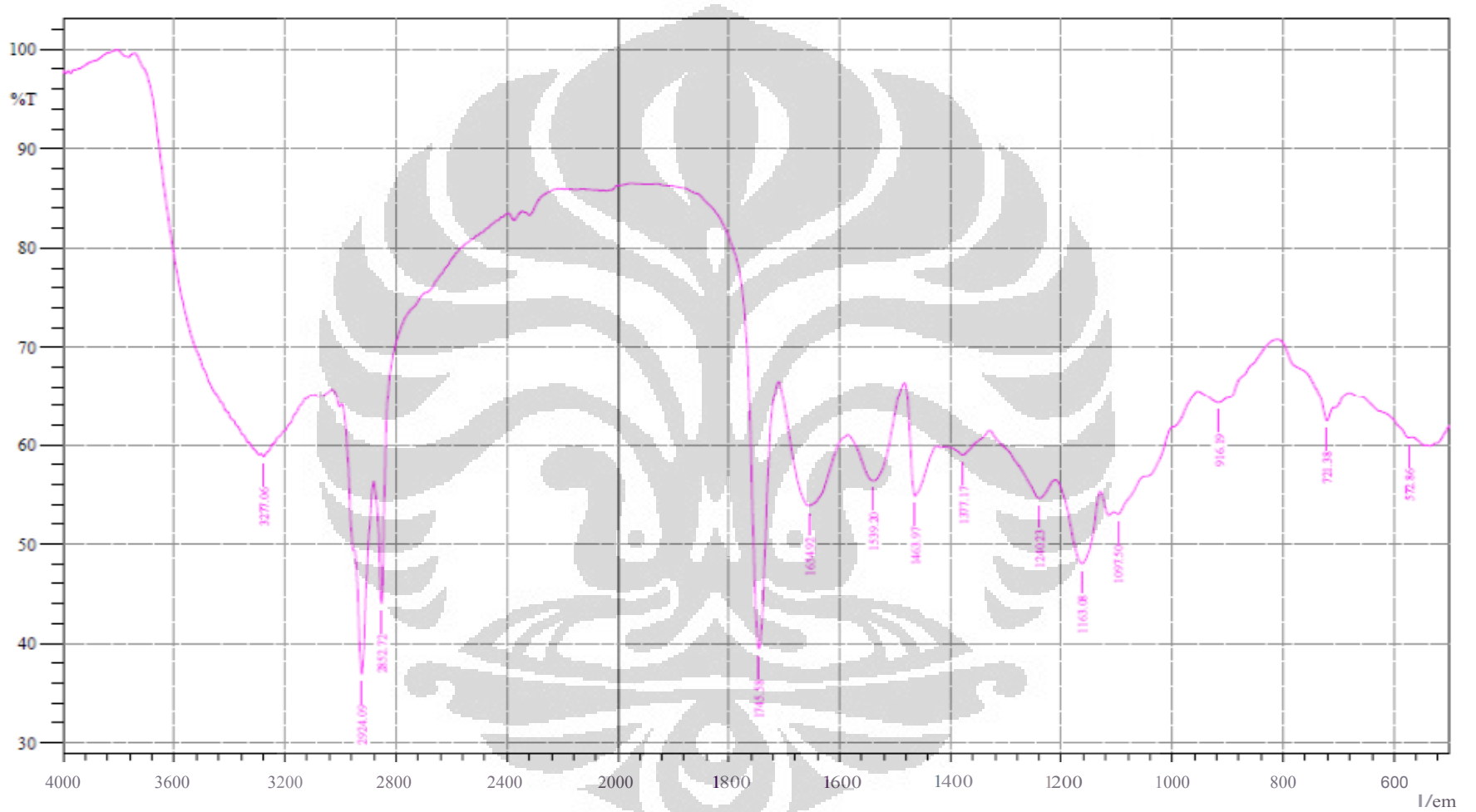
keju2

No. of Scans: 45  
Resolution: 4 [1/cm]

Lo.BORATORIUM AFILIASI DEPT.KIMI.-. UI



Universitas Indonesia

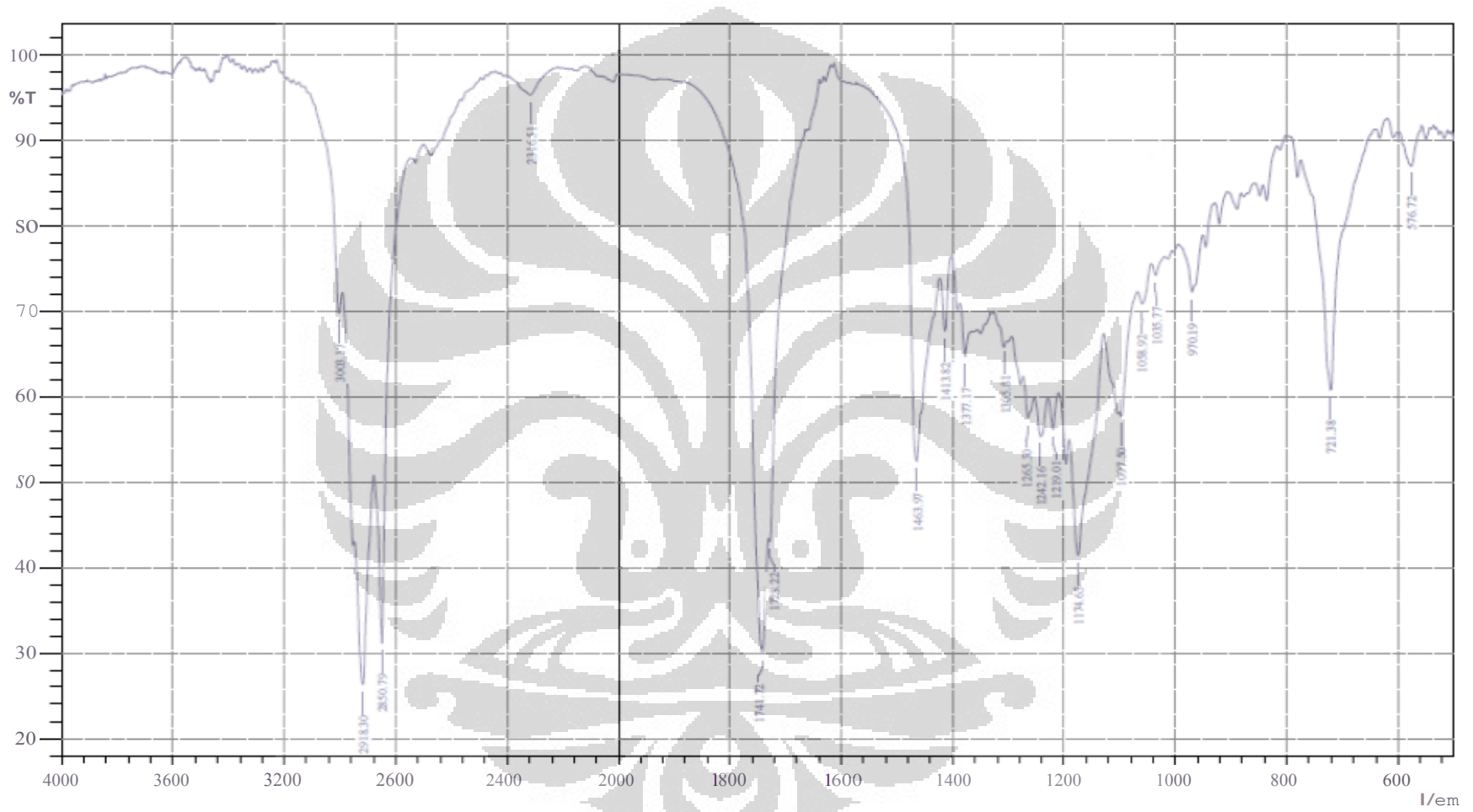


keju 3

No. of Scans: 45  
Resolution; 4 [1/cm]

L<BORATORIUM AFIL!ASI DEPT.K!MA U1

Universitas Indonesia



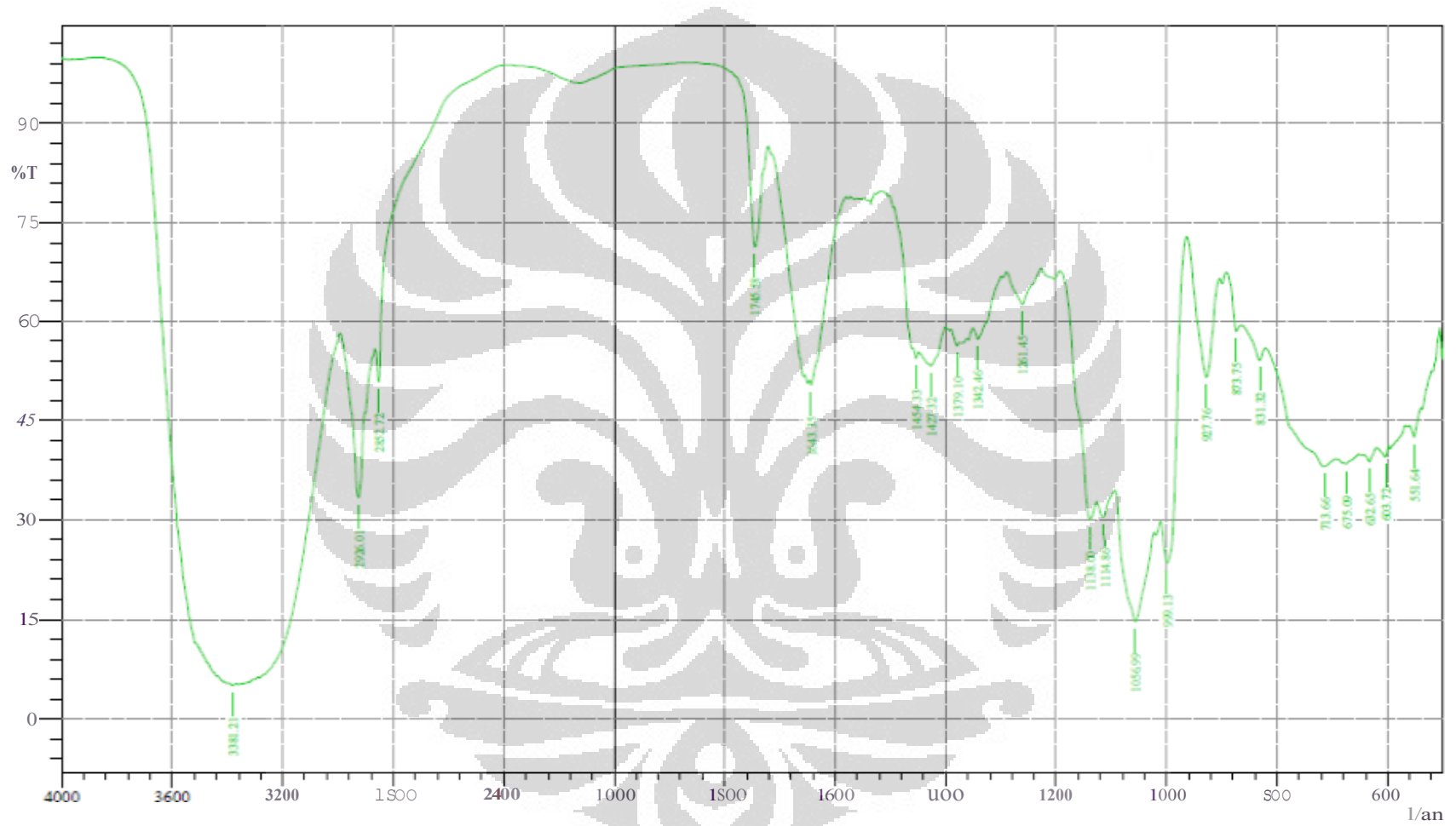
*keju nabati*

No. of Scans:45  
Resolution; 4 (1/cm)

L>.BORAI'ORIUM AFJLJASJ DEPT. KIML.>. UJ

Universitas Indonesia

@SHIMADZU



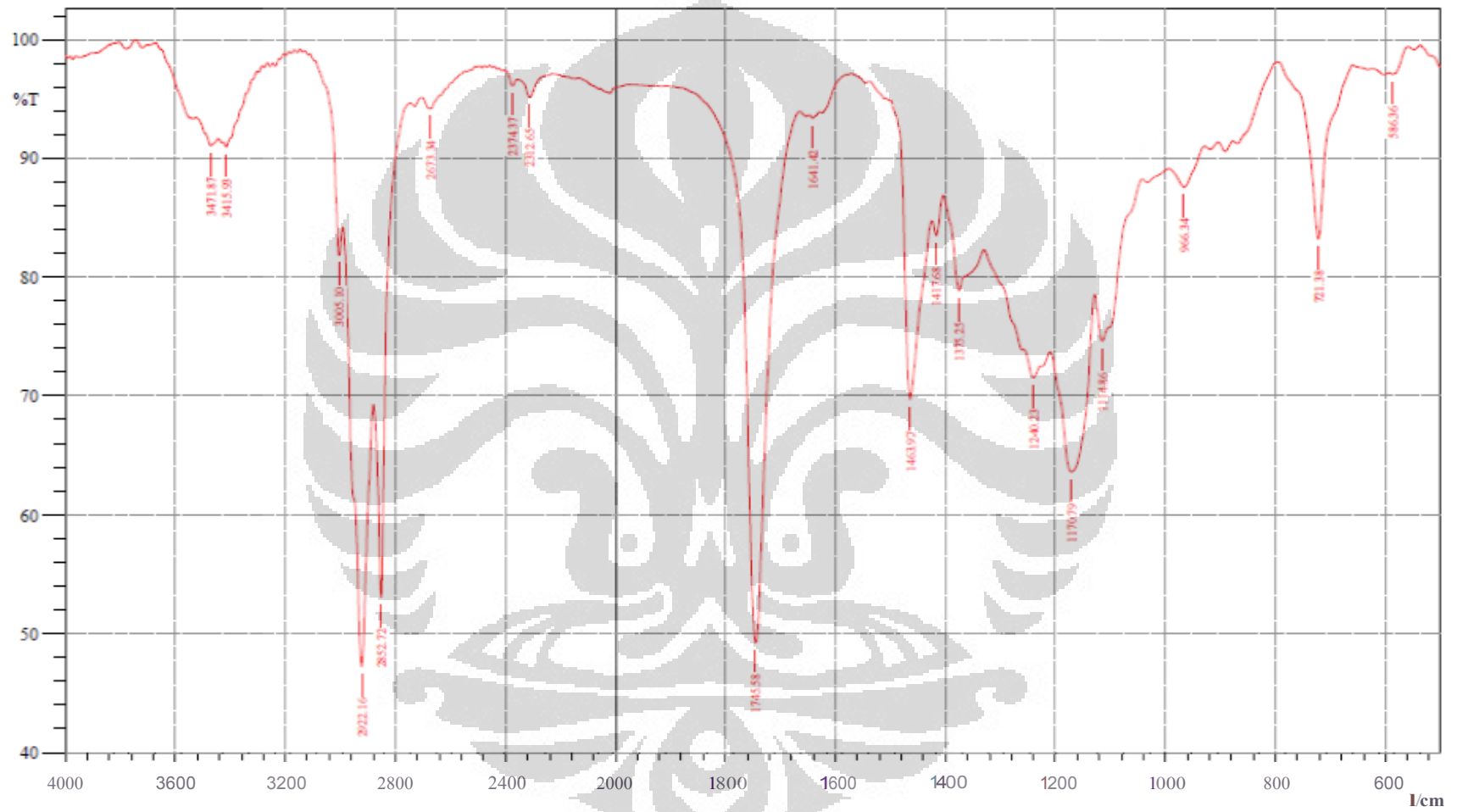
8

No. of Scans: 45  
Resolution: 4 (1!cm]

L&gt;.BORATORIUM AFILIASI DEPT.KIML.\1.f1

Universitas Indonesia

[ilSHINIAOZU



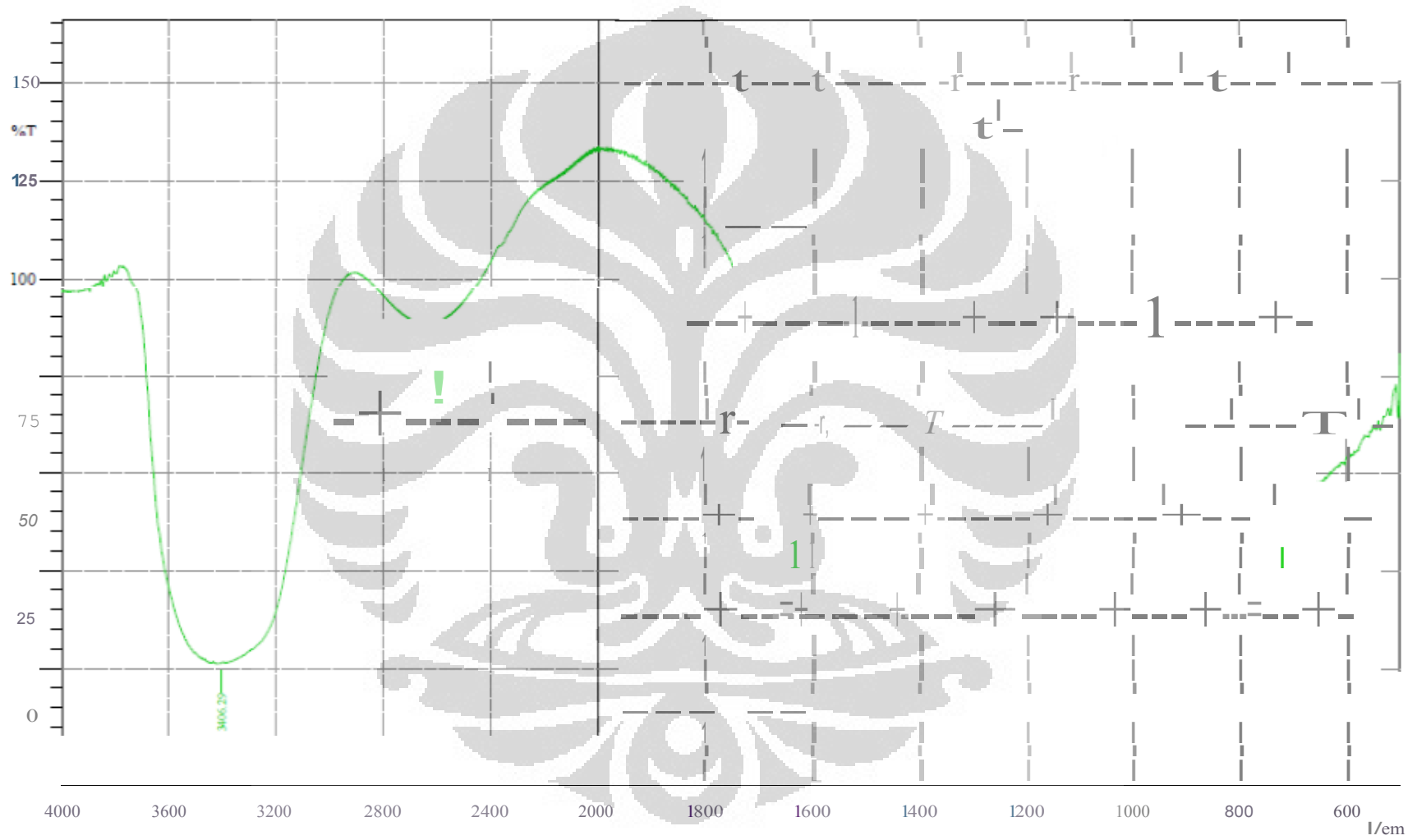
k•ju5

No. of Scans: 45  
Resolution: 4 [1/cm]

L".BORATORim-I AFILIASI DEPI.KIMIA UI

Universitas Indonesia



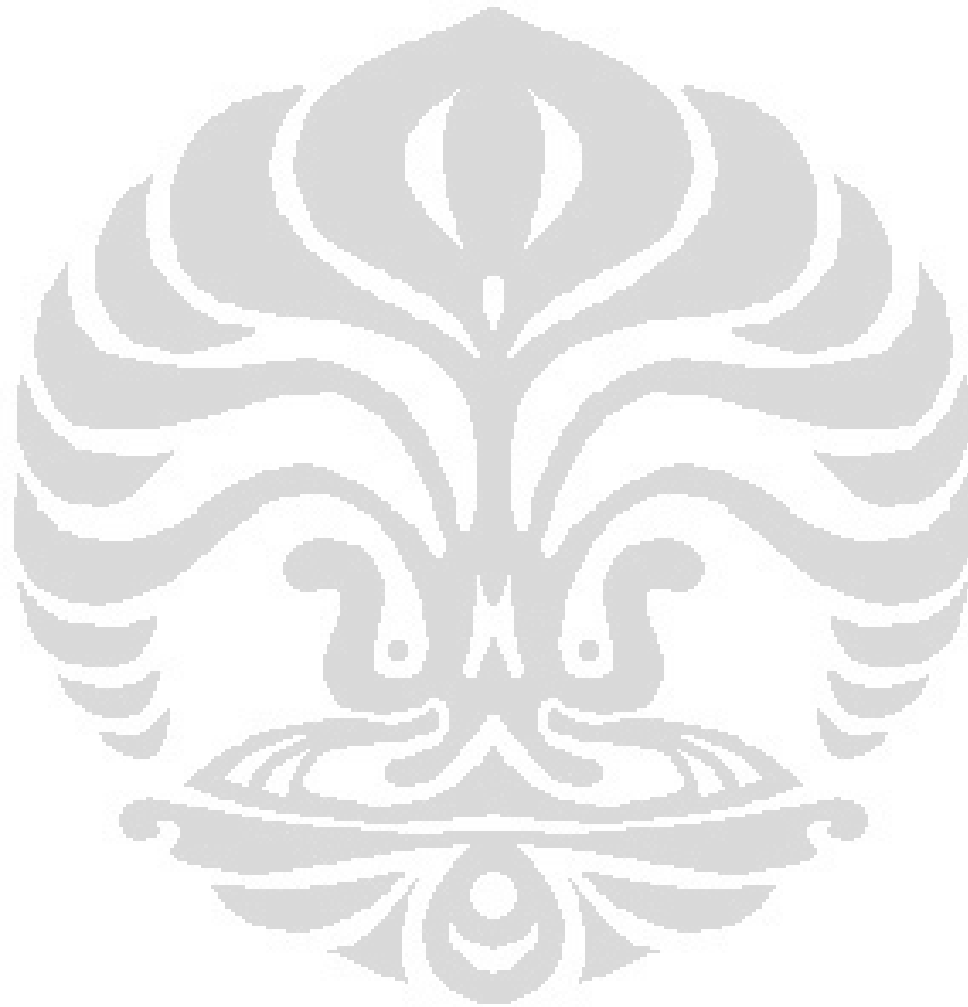


wi.n manusia

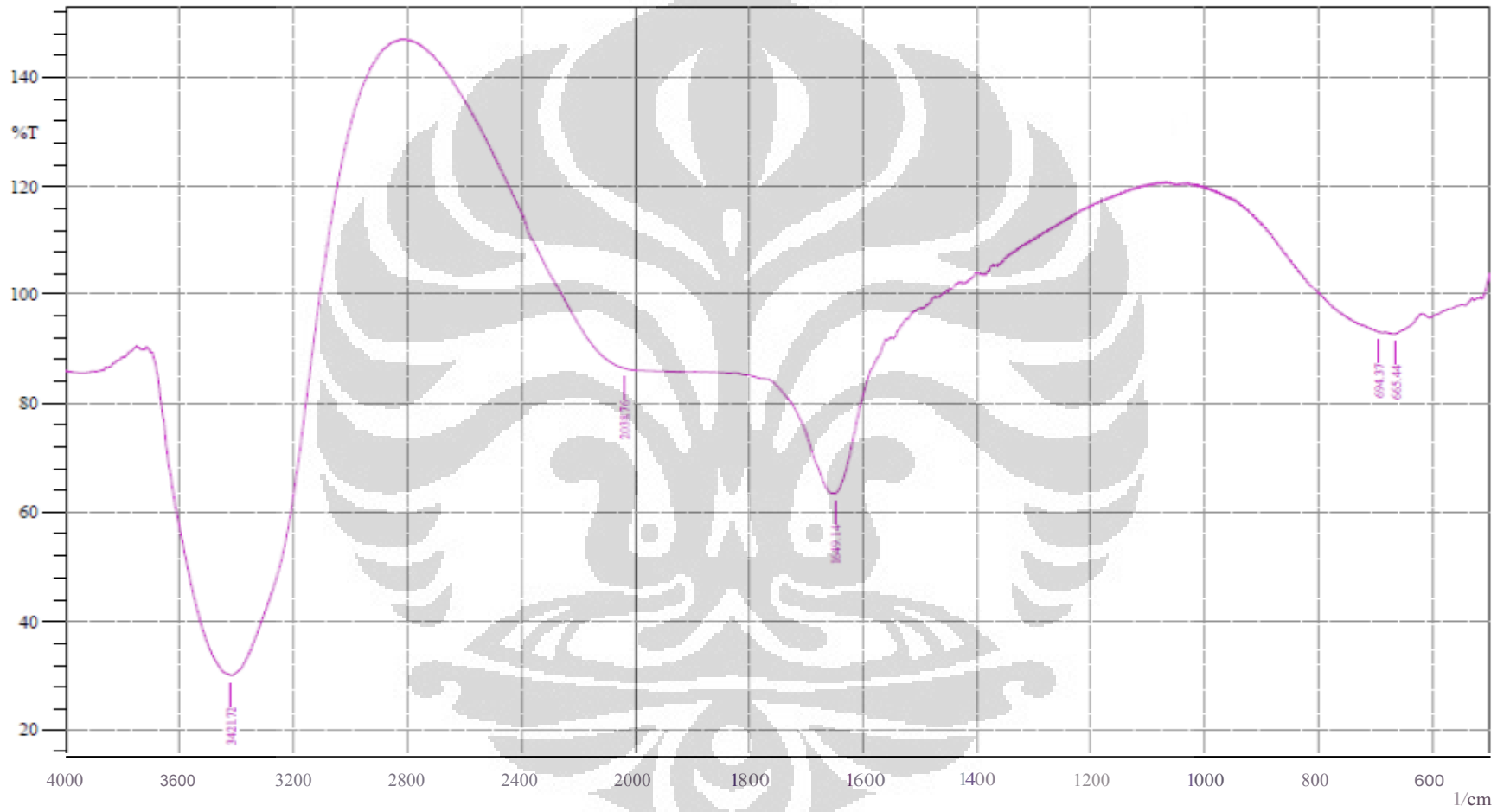
No. of Scans: 45

Resolution; 4 [1/cm]

Universitas Indonesia



@SHIMAOZUJ



v.rin sapi

No. of Scans: 45  
Resolution: 4 (1/cm)

L"-BBRATORIIDI AFILJASI DEPTKIMIA UJ

Universitas Indonesia

