

ANALISIS KANDUNGAN PROTEIN YANG TERDAPAT DALAM DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) MENGGUNAKAN METODE KJELDAHL & SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

ANALYSIS OF OBTAINED PROTEIN CONTENTS IN THE LEAVES OF GUAVA SEED (*Psidium guajava* L.) USING THE KJELDAHL METHOD & UV-VIS SPECTROPHOTOMETRY

Diana Sylvia^{1*}, Vira Apriliana¹, La Ode Akbar Rasydy¹

¹Sekolah Tinggi Farmasi Muhammadiyah Tangerang

*Corresponding Author Email : didisylvia817@gmail.com

DOI : <http://dx.doi.org/10.47653/farm.v8i2.557>

ABSTRAK

Protein merupakan salah satu makronutrisi yang memiliki peranan penting dalam pembentukan biomolekul. Protein dapat ditemukan dalam berbagai tumbuhan, salah satunya adalah daun jambu biji. Daun jambu biji mempunyai manfaat bagi kesehatan yaitu sebagai antiinflamasi, antidiare, analgesik, antibakteri, antidiabetes, antihipertensi, mengurangi demam dan penambah trombosit. Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat apakah terdapat kandungan protein pada daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan berapa besar kandungan protein daun jambu biji tersebut. Parameter yang digunakan yaitu uji kualitatif dan uji kuantitatif, pada uji kualitatif dilakukan dengan menggunakan metode biuret untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan protein pada daun jambu biji, sedangkan uji kuantitatif dilakukan dengan metode kjeldahl dan Spektrofotometri UV-Vis untuk mengetahui kadar protein yang terdapat pada daun jambu biji tersebut. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa terdapat kandungan daun jambu biji dengan uji biuret, dan pada metode kjeldahl diperoleh kadar protein rata-rata 0,131% pada daun jambu biji tua dan diperoleh rata-rata 0,113% pada daun jambu biji muda, sedangkan pada metode Spektrofotometri UV-Vis diperoleh rata-rata pada daun jambu biji tua sebesar 0,142% dan daun jambu biji muda sebesar 0,053%.

Kata Kunci: Daun Jambu Biji, Kjeldahl, Protein, Spektrofotometri UV-Vis

ABSTRACT

*Protein is a macronutrient that has an important role in ordering biomolecules. Protein can be found in various plants, one of which is guava leaves. Guava leaves have health benefits, namely as anti-inflammatory, anti-diarrhea, analgesic, antibacterial, anti-diabetic, antihypertensive, reduces fever and increases platelets. The purpose of this study was to see whether there is protein content in guava leaves (*Psidium guajava* L.) and how much protein content of guava leaves. The parameters used are the qualitative test and the quantitative test, the qualitative test is carried out using the biuret method to determine the presence or absence of protein content in guava leaves, Meanwhile, the quantitative test was carried out using the Kjeldahl method and UV-vis spectrophotometry to determine the protein content in the guava leaves from the results of the study it can be concluded that there is a guava leaf content with the biuret test, and the kjeldahl method obtained an average protein content of 0.131% in old guava leaves and an average of 0.113% was obtained in young guava leaves, Meanwhile, the UV-vis spectrophotometric method obtained an average of 0.142% for old guava leaves and 0.053% for young guava leaves.*

Keywords: Guava Leaves, Kjeldahl, Protein, UV-Vis Spectrophotometry

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki potensi sumber daya alam yang sangat berlimpah baik yang berasal dari hewan maupun dari tanaman, yang dapat dijadikan sebagai sumber makanan ataupun obat-obatan. Salah satu tanaman yang dapat

dimanfaatkan sebagai bahan makanan dan obat-obatan adalah daun jambu biji (*Psidium guajava* L.). Tanaman jambu biji atau *Psidium guajava* L termasuk familia Myrtaceae. Jambu biji memiliki beberapa

kelebihan, antara lain buahnya dapat dimakan sebagai buah segar, dapat diolah menjadi berbagai bentuk makanan dan minuman. Daun jambu biji mempunyai manfaat bagi kesehatan yaitu sebagai antiinflamasi, antidiare, analgesik, antibakteri, antidiabetes, antihipertensi, mengurangi demam dan penambah trombosit (Susilowati, 2007).

Protein merupakan salah satu makronutrisi yang memiliki peranan penting dalam pembentukan biomolekul. Protein merupakan makromolekul yang menyusun lebih dari separuh bagian sel. Protein menentukan ukuran dan struktur sel, komponen utama dari enzim yaitu biokatalisator berbagai reaksi metabolisme dalam tubuh (Mustika, 2012).

Analisis kadar protein secara kualitatif dapat dilakukan dengan berbagai metode salah satunya dengan reaksi biuret, Larutan protein dibuat alkalis dengan NaOH kemudian ditambahkan larutan CuSO_4 encer. Uji ini untuk menunjukkan senyawa-senyawa yang mengandung gugus amida asam yang berada bersama gugus amida yang lain. Uji ini memberikan reaksi positif yang ditandai dengan timbulnya warna merah violet atau biru violet (Apriandi, 2011).

Sedangkan analisis kuantitatif dapat dilakukan dengan berbagai metode, seperti: cara dumas, cara lowry, spektrofotometri uv, turbidimetri atau kekeruhan, cara pengecatan, titrasi formol dan cara kjeldahl. Metode kjeldahl merupakan metode sederhana untuk penetapan nitrogen total pada asam amino, protein dan senyawa yang mengandung nitrogen. Metode kjeldahl digunakan untuk menentukan jumlah Nitrogen total dimana dengan mengalikan hasil analisis kadar nitrogen tersebut dengan faktor konversi 6,25 diperoleh nilai protein dalam bahan makanan tersebut (Winarno, 2004). Spektrofotometri merupakan suatu metode analisa yang didasarkan pada pengukuran serapan sinar monokromatis oleh suatu lajur larutan berwarna pada panjang gelombang spesifik dengan menggunakan monokromator prisma atau kisi difraksi dengan detektor fototube. Spektrofotometer merupakan alat yang digunakan untuk mengukur absorbansi dengan cara melewatkan cahaya dengan panjanggelombang tertentu pada suatu obyek kaca atau kuarsa yang disebut kuvet.

Berdasarkan banyaknya kandungan dan manfaat pada daun jambu biji, maka peneliti melakukan penelitian tentang Analisis

Kandungan pada Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) muda dan Daun Jambu Biji tua, yang memiliki daging buah berwarna putih dengan menggunakan Metode Kjeldahl & Spektrofotometri Uv-Vis.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif yang dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif yang dilakukan di Laboratorium Sekolah Tinggi Farmasi Muhammadiyah Tangerang yang bertujuan untuk menentukan kadar protein pada Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) dengan menggunakan metode kjeldahl & Spektrofotometri Uv-Vis.

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Labu Kjeldahl, Seperangkat alat destilasi, Erlenmeyer (pyrex) 250 mL, Buret 50 mL, Seperangkat alatdestruksi, Timbangan digital, Pipet tetes 5 mL, 10 mL, 25 mL, Corong dan kertas saring, Glass ukur (pyrex) 10 mL, 100 mL, Beaker glass (pyrex) 100 mL, 250 mL, Labu ukur (pyrex) 100 mL, Klem, statif dan ring stand, Spatula, perkamen, Cawan, Neraca analitik, Sentrifuge, Spektrofotometer UV-Vis.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Sampel daun jambu biji sebanyak 5 kg (daun muda 2,5 kg dan daun tua 2,5 kg), Asam Sulfat Pekat (H_2SO_4), Aquadest, Natrium Hidroksida (NaOH 10%, 50%, 0,1N, 1M), Tembaga Sulfat (CuSO_4), Zinc (Zn), Kalium Sulfat (K_2SO_4), Asam Klorida Pekat (HCl 0,1 N), Natrium Kalium Tartarat, Indikator Fenolftalein (PP), Batu Didih, Larutan Bovin Serum Albumin (BSA).

Metode

1. Penentuan kadar air

Prinsip "Pengurangan bobot selama 8 jam pengeringan dalam oven yang terkontrol pada suhu 90 °C".

Timbang sebanyak 10 g (daun muda 5 g dan daun tua 5 g) ke dalam cawan tertutup yang terlebih dahulu telah ditetapkan bobotnya, Tempatkan cawan beserta isinya di dalam oven pada suhu 90 °C (cawan dalam keadaan terbuka) selama 8 jam,

dengan tidak sekali-kali membuka oven, sesudah 8 jam, cawan ditutup menggunakan penutupnya dan dikeluarkan dengan segera untuk dimasukkan ke dalam desikator, Timbang cawan bertutup.

Kadar air dinyatakan dalam persentase bobot / bobot sama dengan:

$$\text{Kadar air} = \frac{(M1 - M2)}{(M1 - M0)} \times 100\%$$

Dengan pengertian:

M0 = bobot cawan dan tutupnya, dinyatakan dalam gram,

M1 = bobot cawan, tutup dan contoh uji sebelum pengeringan, dinyatakan dalam gram,

M2 = bobot cawan, tutup dan contoh uji sesudah pengeringan, dinyatakan dalam gram.

2. Uji Kualitatif Protein Dengan Uji Biuret

Sampel yang sudah dilarutkan dengan air sebanyak 2 ml ditambahkan dengan pereaksi biuret 5 ml (0,15 gram larutan tembaga sulfat (CuSO₄), 0,6 gram natrium kalium tartarat dan 30 ml NaOH 10%) maka akan terbentuk warna ungu.

3. Penetapan Kadar Protein pada Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)

a. Metode Kjeldahl

1). Tahap Dekstruksi

Ditimbang 1,00 gram sampel yang telah dihaluskan, dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl dengan di tambahkan batu didih. Tambahkan 7,5 gram kalium sulfat (K₂SO₄) dan 0,35 gram tembaga sulfat (CuSO₄) dan 15 mL asam sulfat pekat (H₂SO₄), lalu gojog hingga homogen. Panaskan semua bahan dalam labu Kjeldahl di dalam lemari asam sampai berhenti beresap dan diteruskan pemanasan sampai mendidih dan cairan sudah jernih. Diteruskan pemanasan kurang lebih 30 menit, pemanasan dimatikan dan dibiarkan dingin.

2). Tahap Destilasi

Masukkan hasil dekstruksi ke dalam labu destilasi, bilas labu kjeldahl dengan aquadest. Tambahkan 50 ml NaOH 50%, kemudian tambahkan Zn 200 mg, lalu tambahkan aquadest 100ml. Panaskan labu Kjeldahl perlahan-

lahan sampai cairan tercampur, kemudian dipanaskan dengan cepat sampai mendidih. Tampung hasil destilat dalam Erlenmeyer yang telah diisi dengan larutan baku asam klorida (HCL 0,1 N) sebanyak 50 mL dan indikator fenolftalien 1% sebanyak 3-5 tetes, ujung pipa destilator dipastikan masuk ke dalam larutan asam klorida 0,1 N. Destilasi di akhiri setelah tetesan destilat terakhir sudah tidak basa.

3). Tahap Titrasi

Hasil destilasi dititrasi dengan natrium hidroksida (NaOH) 0,1 N. Titik akhir titrasi tercapai jika terjadi perubahan warna sampai warna merah muda konstan. Kemudian dilakukan pengulangan duplo dan penetapan blanko.

Perhitungan kadar Nitrogen:

$$\text{Kadar N} = \frac{(\text{ml NaOH blanko} - \text{ml NaOH sampel}) \times \text{N NaOH} \times 14.008}{\text{Gram sampel} \times 1000} \times 100\%$$

Setelah diketahui kadar nitrogen, selanjutnya dihitung kadar proteinnya dengan mengalikan faktor konversi daun jambu biji (*Psidium guajava* L.).

Rumus perhitungan kadar protein :

$$\text{Kadar Protein (\%)} = \text{Kadar Nitrogen} \times \text{Faktor Konversi}$$

Keterangan : Faktor konversi yaitu 6,25

b. Metode Spektrofotometri Uv-Vis

1) Pembuatan Larutan Induk (Li)

Ditimbang 0,6 gram Bovin Serum Albumin (BSA), dilarutkan dengan air suling dalam labu ukur 6 ml sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 10% b/v.

2) Penentuan panjang gelombang optimum

Dalam tabung reaksi dimasukkan larutan standar BSA dengan konsentrasi 3%, yaitu dengan cara mengambil sebanyak 0,9 ml larutan BSA ditambahkan 0,8 ml pereaksi Biuret kemudian dicukupkan volume menjadi 3 ml dengan penambahan air suling. Larutan didiamkan selama ± 10 menit (agar bereaksi) lalu serapan

diukur pada panjang gelombang 500-600 nm. Dicatat panjang gelombang serapan maksimum yang diperoleh.

3) Pembuatan Kurva Standar

Disiapkan enam tabung reaksi.

Tabung pertama diisi larutan blanko (pelarut). Pada tabung yang lain diisi larutan dengan komposisi sebagai berikut:

Tabel 1. Pembuatan kurva larutan standar

Larutan Induk (ml)	Pereaksi Biuret (ml)	Air Suling (ml)	Konsentrasi BSA (%)
0	0	3,0	0
0,3	0,8	1,9	1
0,6	0,8	1,6	2
0,9	0,8	1,3	3
1,2	0,8	1,0	4
1,5	0,8	0,7	5

4) Penentuan Kadar Protein dalam Sampel

Sampel daun jambu biji yang telah dihaluskan ditimbang 5 gram, ditambah 5 ml NaOH 1 M dan aquades hingga 25 ml. Kemudian dipanaskan pada suhu 90°C selama 10 menit. Setelah itu larutan didinginkan dan disentrifuse selama 10 menit. Kemudian diambil 5 ml supernatan dan ditambah 5 ml reagen Biuret. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 20 menit pada suhu kamar. Kemudian absorbansi sampel diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Hasil absorbansi larutan sampel diinterpolasikan pada persamaan $y = bx + a$, sehingga diperoleh konsentrasi protein dari larutan sampel.

pada suhu 90°C selama 8 jam. Tujuan dilakukannya pengujian kadar air yaitu untuk memberikan batasan minimal atau rentang besarnya kandungan air di dalam bahan, pada penetapan kadar air dan susut pengeringan memiliki keterkaitan satu dengan yang lainnya (Simbolan, 2008).

Standar mutu Materia Medica Indonesia (MMI) menetapkan bahwa nilai kadar air maksimal suatu bahan pangan atau simplisia adalah $\leq 10\%$. Nilai kadar air suatu bahan yang lebih dari 10% berpotensi mengalami kerusakan yang lebih cepat dibandingkan nilai kadar air yang kurang dari 10% (Isnawati, 2006).

Berdasarkan hasil pengukuran sampel untuk penetapan kadar air dengan menggunakan oven pada suhu 90°C selama 8 jam pada daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) tua sebesar 9,78% dan daun jambu biji muda sebesar 7,82% hasil yang diperoleh telah memenuhi syarat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pengujian kadar air

Pengujian kadar air dilakukan di Laboratorium Sekolah Tinggi Farmasi Muhammadiyah Tangerang, pengujian kadar air dilakukan menggunakan oven

Tabel 2. Hasil identifikasi kadar air

Sampel	Rata-rata kadar air (%)
Daun Tua	9,78%
Daun Muda	7,82%

2. Pengujian Protein Secara Biuret

Pengujian protein secara biuret, dilakukan untuk mengetahui adanya ikatan peptida yang ditandai dengan timbulnya warna biru violet pada larutan uji. Metode identifikasi yang digunakan

adalah metode biuret, metode ini didasarkan pada prinsip zat yang mengandung dua atau lebih ikatan peptida dapat membentuk kompleks berwarna ungu dengan garam Cu dalam larutan alkali. Metode biuret merupakan

metode yang baik untuk menentukan kandungan larutan protein karena seluruh protein mengandung ikatan peptida (Sudarmadji, 2007).

Pengujian secara biuret ini sampel harus berupa larutan, selanjutnya sampel sebanyak 2 ml ditambahkan dengan 5 ml pereaksi biuret maka akan terbentuk warna ungu. Untuk hasil yang lebih baik maka menggunakan kontrol positif dan kontrol negatif sebagai pembanding, kontrol positif yang digunakan yaitu putih telur.

Dengan demikian uji biuret tidak hanya untuk protein tetapi zat lain seperti biuret atau malonamida juga memberikan reaksi positif yaitu ditandai dengan timbulnya warna merah-violet atau biru-violet (Sudarmadji, 2007).

Dari hasil analisis semua sampel memberikan reaksi positif dengan warna ungu yang terbentuk berbanding langsung dengan konsentrasi protein, dimana semakin meningkat intensitas warnanya konsentrasi protein semakin besar.

Tabel 3. Hasil identifikasi protein secara biuret

No	Sampel	Hasil	Keterangan
1	Putih telur (kontrol positif)	Warna ungu	(+) Positif
2	Daun jambu bijitua	Warna ungu	(+) Positif
3	Daun jambu bijimuda	Warna ungu	(+) Positif

3. Penetapan Kadar Protein Pada Daun Jambu Biji Tua Dan Daun Jambu Biji Muda Dengan Menggunakan Metode Kjeldahl

Tujuan dilakukannya penelitian kali ini yaitu untuk mengetahui kadar protein yang terdapat dalam daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) tua dan daun jambu biji muda, metode yang digunakan dalam penetapan kadar protein pada daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) tua dan daun jambu biji muda inisecara kuantitatif dengan metode kjeldahl dimana metode ini dapat menentukan kandungan nitrogen total seacara kasar. Penetapan kadar protein dengan menggunakan metode Kjeldahl pada dasarnya dibagi menjadi tiga tahap yaitu: tahap destruksi, tahap destilasi, dan tahap titrasi (Sudarmadji, 2003).

Pada tahap yang pertama yaitu destruksi atau tahap penghancuran, terlebih dahulu sampel ditimbang sebanyak 1 gram kemudian sampel dimasukkan kedalam labu Kjeldahl dengan ditambah dengan batu didih, fungsi penambahan batu didih adalah membantu dalam proses pemanasan agar panas yang ditimbulkan dalam proses destruksi merata. Kemudian ditambahkan 7,5 gram kalium sulfat dan 0,35 gram tembaga sulfat sebagai katalisator yang bertujuan untuk menaikkan titik didih dari asam sulfat sehingga destruksinya berjalan lebih

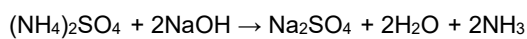
cepat. Setelah semua bahan dimasukkan kedalam labu Kjeldahl kemudian ditambahkan 15 ml asam sulfat pekat. Penambahan asam sulfat pekat dilakukan agar terjadi penguraian unsur-unsurnya yaitu C, H, O, N, S dan P. Unsur N adalah ciri khas protein dalam suatu bahan. Setelah asam sulfat pekat ditambahkan dilakukan penggojokan sehingga semua bahan yang berada di dalam labu dapat bercampur pada saat destruksi. Kemudian dilakukan proses destruksi dengan pemanasan api langsung sampai berhenti berasap dan diteruskan pemanasan sampai mendidih dan cairan sudah jernih, lalu dibiarkan dingin. Reaksi yang terjadi pada proses dekstruksi adalah:



Setelah tahap destruksi selesai, diperoleh cairan berwarna hijau jernih kemudian ditambah akuades untuk mengencerkan hasil destruksi. Kemudian masuk pada tahap kedua yaitu tahap destilasi yang bertujuan untuk memisahkan zat yang diinginkan, yaitu dengan memecah ammonium sulfat (NH_3). Tambahkan 50 ml NaOH 50% kedalam labu destilasi, dengan menambahkan NaOH untuk memberikan suasana basa. Lalu ditambahkan 200 mg zn agar tidak terjadi pemercikan cairan atau timbulnya gelembung gas yang

besar, lalu tambahkan aquadest 100 ml.

Selanjutnya panaskan labu kjeldahl perlahan-lahan sampai cairan tercampur dan sampai mendidih. Tampung hasil destilat yang telah diisi dengan larutan baku asam klorida sebanyak 50 ml dan indicator fenolplatein sebanyak 3-5 tetes. Ammonium (NH_3) yang dibebaskan selanjutnya akan ditangkap oleh larutan asam penampungnya (HCl 0,1 N). Agar ammonia dapat ditangkap secara maksimal, maka sebaiknya ujung alat destilasi harus benar-benar tercelup kedalam larutan, sehingga ammonia (NH_3) yang terbentuk tidak dapat menguap, karena langsung akan bereaksi dengan larutan asam penampungnya. Proses destilasi diakhiri bila ammonia yang telah terdestilasi tidak bereaksi basa terhadap fenolftalein yaitu dengan dilakukan pengecekan pH menggunakan pH universal. Reaksi yang terjadi pada tahap destilasi yaitu:



Setelah tahap destilasi selesai, kemudian masuk pada tahap ketiga yaitu tahap titrasi, hasil destilat kemudian dititrasi dengan natrium hidroksida (NaOH 0,1 N), tahap titrasi yaitu kelebihan HCl 0,1 N yang tidak bereaksi dengan ammonia dititrasi dengan larutan standar NaOH 0,1 N sampai titik akhir titrasi ditandai dengan berubahnya warna larutan menjadi merah muda konstan yang tidak hilang selama 30 detik. Reaksi yang terjadi pada tahap titrasi yaitu:



Titrasi merupakan tahap akhir dari seluruh metode Kjeldahl pada penentuan kadar protein dalam bahan pangan yang dianalisis. Dengan melakukan titrasi, dapat diketahui banyaknya asam klorida yang bereaksi dengan ammonia. Melalui titrasi ini, dapat diketahui kandungan N dalam bentuk NH_4 sehingga kandungan N dalam protein pada sampel dapat diketahui. Umumnya, metode ini didasarkan pada asumsi bahwa kadar nitrogen (N) di dalam protein adalah sekitar 16%. Oleh karena itu, untuk mengubah kadar nitrogen menjadi kadar protein sering digunakan faktor konversi sebesar 6,25 (yaitu hasil

pembagian 100 dengan 16) (Sudarmadji, 2003).

Dari data-data yang dikumpulkan, diperoleh perhitungan antara satu dengan sampel pengulangan rata-rata protein yaitu daun jambu biji tua 0,131% dan daun jambu biji muda 0,113%. Perbedaan ini disebabkan karena daun jambu biji tua lebih banyak kandungan klorofil dari pada daun jambu biji muda, dari warna daunnya pun dapat di bedakan pada daun jambu biji muda berwarna hijau muda dan berubah menjadi hijau tua pada daun yang sudah tua. Daun muda teksturnya lembut dan lemas sedangkan daun tua agak kaku dan keras. Walaupun begitu daun jambu biji muda tetap dapat dijadikan sumber protein nabati karena memiliki kandungan proteinyang cukup. Daun merupakan organ tanaman tempat berlangsungnya fotosintesa yang sering digunakan dalam parameter pertumbuhan.

Pada proses fotosintesis, klorofil pada tanaman aktif dalam mengubah senyawa CO_2 dan H_2O menjadi $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ dan O_2 serta energi (ATP) dengan bantuan cahaya matahari. Energi hasil fotosintesis tersebut akan digunakan tanaman dalam melakukan proses-proses pembentukan unsur nutrisi tanaman seperti penyerapan N dalam penyusunan protein untuk peningkatan kualitasnya.

Kaitan erat yang menghubungkan antara kandungan protein dan klorofil daun adalah pada proses pemanfaatan unsur N oleh tanaman. Nitrogen yang diserap tanaman aktif dalam proses fotosintesis yang mendorong penyusunan dari semua protein dan asam nukleat dan dengan demikian merupakan penyusun protoplasma secara keseluruhan. Unsur hara nitrogen berfungsi sebagai pendorong pertumbuhan, menguatkan hijauan dan meningkatkan kadar protein serta pertumbuhan, mikroorganisme yang penting bagi kesuburan tanaman. Apabila unsur nitrogen yang tersedia lebih banyak daripada unsur lainnya, dapat dihasilkan protein lebih banyak dan daun dapat tumbuh lebih lebar dan lebih hijau. Oleh sebab itu, diduga lebar dan hijaunya daun yang mengandung klorofil yang tersedia bagi fotosintesis secara kasar sebanding dengan jumlah nitrogen yang diberikan. Terdapat kecenderungan makin tingginya dosis N yang diberikan tanaman, maka

produksi bahankering yang dihasilkan akan semakin tinggi pula (Whiteman, 1974).

Pada beberapa proses penyusunan protein dari senyawa nitrogen dimulai saat tanaman menyerap unsur hara dalam tanah dalam bentuk kation dan anion. Jadi dalam bentuk yang larut dalam air. Pada umumnya nitrogen diambil oleh tanaman dalam bentuk Amonium (NH_4^+) dan Nitrat

(NO_3), tapi nitrat yang terserap segera tereduksi menjadi Amonium melalui enzim yang mengandung molibdenim. Ion-ion Amonium dan beberapa karbohidrat mengalami sintesis dalam daun dan diubah menjadi asam amino yang akan membentuk protein, terutama terjadi dalam daun hijau yang berklorofil (Syarief, 1985).

Tabel 4. Hasil penetapan kadar protein pada daun jambu biji tua dan daun jambu biji muda

No	Sampel	Kadar Protein (percobaanke-1)	Kadar Protein (percobaanke-2)	Rata-rata (%)
1	Daun jambu biji tua	0,122	0,14	0,131
2	Daun jambubiji muda	0,113	0,131	0,113

4. Penetapan Kadar Protein Pada Daun Jambu Biji Tua Dan Daun Jambu Biji Muda Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis

Analisis kadar protein pada daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) tua dan daun jambu biji muda dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis yang dilakukan di Sekolah Tinggi Farmasi Muhammadiyah Tangerang. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kadar protein yang terdapat didalam daun jambu biji.

Protein adalah senyawa organik dengan berat molekul tinggi, mengandung unsur-unsur C, H, O dan N serta beberapa protein mengandung unsure S dan P. Protein merupakan komponen utama jaringan tubuh yang berfungsi dalam pertumbuhan sel, mengatur keseimbangan air dalam jaringan, penyusun antibody, hormone dan enzim, berdasarkan sumbernya, protein yang berasal dari tumbuhan disebut protein nabati (Prawirokusumo, 1994).

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Pada penelitian ini untuk menentukan Panjang gelombang dilakukan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dengan mengukur absorbansi dari baku Bovin Serum Albumin (BSA) yaitu antara 500-600 nm. Protein standar yang digunakan adalah BSA (Bovine Serum Albumin) atau albumin serum sapi. Albumin merupakan salah satu jenis protein globuler yang larut dalam air dan terkoagulasi oleh panas. BSA dalam

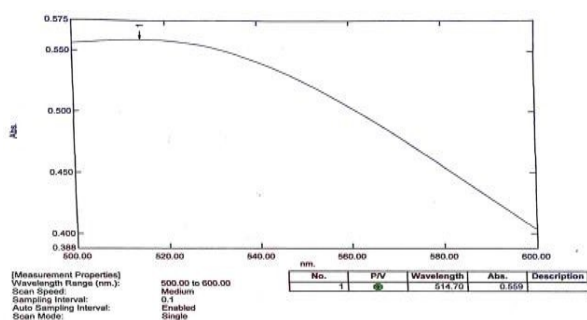
penelitian ini berfungsi untuk membuat

kurva standar. BSA digunakan karena stabilitas untuk meningkatkan sinyal dalam tes, kurangnya efek dalam reaksi biokimia, dan biaya rendah, karena jumlah besar maka dapat segera dimurnikan dari darah sapi, produk sampingan dari industri ternak (Winarno, 1974).

Tujuan dilakukannya panjang gelombang maksimum adalah untuk mengetahui serapan optimum dari bovin serum albumin selanjutnya Panjang gelombang ini akan digunakan untuk mengukur absorbansi sampel. Pada penelitian ini digunakan metode spektroskopi yaitu pengidentifikasian suatu objek dengan menggunakan kriteria warna. Dalam percobaan ini, menggunakan kriteria warna ungu dari protein. Untuk mendapat warna, maka larutan protein direaksikan dengan unsur tembaga dalam reagen biuret dalam lingkungan alkali. Sehingga didapatkan larutan protein yang berwarna ungu pada masing-masing konsentrasi.

Pada tahap pengukuran Panjang gelombang maksimum diawali dengan memasukan larutan blanko kedalam kuvet kemudian diatur serapan hingga menjadi 0 absorbansinya, larutan blanko yang digunakan yaitu aquadest, selanjutnya kuvet diangkat dan diisi dengan larutan baku BSA (Bovin Serum Albumin) sebanyak 0,9 ml lalu ditambahkan larutan pereaksi biuret sebanyak 0,8 ml dan ditambahkan aquadest sampai volume menjadi 3 ml. kemudian dilakukan pengukuran panjang gelombang antara

500-600 nm.

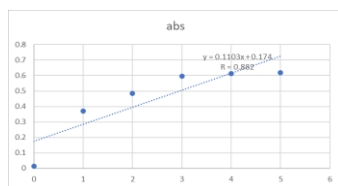


Gambar 1. Hasil Spektrum baku BSA (Bovin Serum Albumin)

Hasil yang diperoleh pada panjang gelombang maksimum larutan baku BSA (Bovin Serum Albumin) yang diperoleh yaitu 514 nm dengan nilai absorbansi 0,599, sedangkan yang tertera diliteratur adalah 540 nm (Andarwulan *et al.*, 2011). Panjang gelombang ini mengalami pergeseran hipsokromik yaitu pergeseran puncak absorbansi ke arah Panjang gelombang yang lebih kecil karena adanya substitusi atau efek pelarut. (Depkes RI, 2014).

b. Pembuatan Kurva Standar

Pada tahap pembuatan kurva baku standar disiapkan enam tabung reaksi, tabung pertama diisi larutan blanko sedangkan pada tabung yang lain diisi larutan dengan konsentrasi yang telah ditentukan, kemudian diukur dengan panjang gelombang maksimum 514 nm. Tujuan pembuatan kurva baku yaitu untuk memperoleh suatu persamaan regresi linear yang digunakan untuk menghitung dan menetapkan kadar zat analit. Masing- masing serapan larutan dengan berbagai konsentrasi diukur, kemudian dibuat kurva yang merupakan hubungan antara serapan dengan konsentrasi.



Gambar 2. Hasil kurva kalibrasi BSA

Berdasarkan gambar grafik diatas diperoleh persamaan regresi linear yang menghubungkan antara konsentrasi larutan standar dengan absorbansi, sehingga didapatkan persamaan linear $y = 0,1103x + 0,174$ dan $r = 0,882$ dimana y adalah absorbansi, dan x adalah konsentrasi dengan koefisien korelasi sebesar 0,882. Dari hasil data yang diperoleh, didapatkan suatu kurva antara absorbansi larutan protein dengan nilai yang didapat ini hubungan antara konsentrasi dan absorbansi tidak terlalu baik, hal ini dimungkinkan konsentrasi BSA yang digunakan terlalu kecil.

c. Pengukuran Kadar Protein Daun JambuBiji

Setelah melakukan pengukuran kurva kalibrasi selanjutnya menghitung kadar protein yang terdapat pada daun jambu biji tua dan daun jambu biji muda, tujuan dilakukannya penetapan kadar protein yaitu untuk mengetahui jumlah kadar yang terdapat pada sampel. Pada tahap ini sampel daun jambu biji sebanyak 5 gram ditambahkan 5 ml NaOH 1 M dan aquadest hingga 25 ml. kemudian dipanaskan pada suhu 90°C selama 10 menit. Setelah itu larutan didinginkan dan di sentrifus 2000 rpm selama 10 menit, kemudian diambil 5 ml supernatannya dan ditambah 5 ml reagen biuret. Setelah itu dilakukan pengenceran dengan perbandingan 1:10 dimana larutan tersebut diambil sebanyak 1 ml dan ditambahkan dengan 10 ml pereaksi biuret, pengenceran ini dilakukan sebanyak 2 kali sampai larutan menjadi encer atau tidak pekat. Selanjutnya larutan dihomogenkan dan diinkubasi selama 20 menit, kemudian absorbansi sampel diukur dengan spektrofotometer pada Panjang gelombang 514 nm. Hasil kadar protein pada daun jambu biji tua dan daun jambu biji muda dengan menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 5. Hasil Kadar Protein Daun Jambu Biji

No	Sampel	Kadar Protein Percobaan ke-1	Kadar Protein Percobaan ke-2	Rata-rata (%)
1	Daun Jambu Biji Tua	0,27	0,014	0,142
2	Daun Jambu Biji Muda	0,048	0,058	0,053

Dari hasil tabel diatas terdapat kadar protein rata-rata pada daun jambu biji tua sebesar 0,142% dan pada daun jambu biji muda sebesar 0,053%, dimana pada daun jambu biji tua lebih banyak mengandung protein dari pada daun jambu biji muda. Hal ini dapat terjadi karena kandungan klorofil pada daun tua lebih banyak dari pada daun muda.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dari penelitian yang dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Berdasarkan uji kualitatif dengan menggunakan metode biuret daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) tua dan daun jambu biji muda positif mengandung protein.
2. Berdasarkan uji kuantitatif dengan menggunakan metode kjeldahl diperoleh kadar protein pada daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) tua sebesar 0,131% dan daun jambu biji muda sebesar 0,113%. Sedangkan berdasarkan uji kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometri uv-vis diperoleh kadar daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) tua sebesar 0,142% dan daun jambu biji muda sebesar 0,053%.

DAFTAR PUSTAKA

- Apriandi, Azmim. 2011. *Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Keong Ipong-Ipong (Fasciolaria Salmo)*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2014. *Farmakope Indonesia Edisi V*.
- Simbolan, M.J., Sitorus, M., dan Katharina, N. 2008. *Cegah Malnutrisi dengan Kelor*, Penerbit Kansius, Yogyakarta.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi. 2007. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Cetakan Pertama. Yogyakarta: Liberty. Hal. 141-145.
- Sudarmadji, S. Haryono, B. Suhardi. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian* Liberty. Yogyakarta.
- Susilowati, E., Ariani, S.R.D., dan Nugraheni, A. 2007. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Kuersetin Dari Ekstrak Metanol Daun Jambu Biji (Psidium guajava L.)*. Laporan Seminar Kimia P. MIPA FKIP UNS, Surakarta.
- Syarief, E. S. 1985. *Kesuburan dan Pemupukan Tanah Pertanian*. Pustaka Buana. Bandung.
- Whiteman, P. C. 1974. The Enviroment and Pasture Growth," *In A Course Manual in Tropical Pasture Science*". A. V. C. Watson Fergusson and co, Ltd. Brisbade.
- Winarno, F.G. dan Rahman A. 1974. *Protein Sumber dan Peranannya*, Jakarta: Gramedia Pustaka Utama
- Winarno, F.G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Winarno, F. G., Fardiaz, S., dan Fardiaz, D. 1995. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT. Gramedia. Hal. 5-6.
- Yazid, E., dan Nursanti, L. 2006. *Penuntun Praktikum Biokimia untuk Mahasiswa Analisis*. Yogyakarta: Penerbit Andi Offset. Hal. 65-68.
- Yuniastuti, A. 2008. *Gizi dan Makanan*. Edisi Pertama. Cetakan Pertama. Yogyakarta: Graha Ilmu. Hal. 38,4.