

**PENGARUH WAKTU FERMENTASI LIMBAH PADAT TAHU
TERHADAP KADAR PROTEIN DAN
AKTIVITAS ENZIM TRIPSIN**

Skripsi
Untuk memenuhi sebagian persyaratan
Mencapai derajat Sarjana S-1

Program studi kimia



Diajukan oleh
Istiqomah
04630007

Kepada
PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UIN SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA
2009



PENGESAHAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Nomor : UIN.02/D.ST/PP.01.1/2242/2009

Skripsi/Tugas Akhir dengan judul : Pengaruh Waktu Fermentasi Limbah Padat Tahu terhadap Kadar Protein dan Aktivitas Enzim Tripsin
Yang dipersiapkan dan disusun oleh :
Nama : Istiqomah
NIM : 0463 0007
Telah dimunaqasyahkan pada : 28 Mei 2009
Nilai Munaqasyah : B
Dan dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga

TIM MUNAQASYAH :

Ketua Sidang

Drs. Winarto Haryadi, M.Si
NIP. 132133469

Penguji I

Esti Wahyu Widowati, M.Si
NIP.19760830 200312 2 001

Penguji II

Maya Rahmayanti, M.Si
NIP.19810627 200604 2 003

Yogyakarta, 7 Juli 2009
UIN Sunan Kalijaga
Fakultas Sains dan Teknologi
Dekan

Dra. Maizer Said Nahdi, M.Si
NIP. 19550427 198403 2 001

Hal : Nota Dinas Konsultan Skripsi
Lamp : -

Kepada
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta
Di Yogyakarta

Assalamu`alaikum wr. wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya terhadap skripsi yang telah dimunaqosahkan, maka kami selaku konsultan berpendapat bahwa skripsi Saudari :

Nama : Istiqomah
NIM : 04630007
Judul Skripsi : **PENGARUH WAKTU FERMENTASI LIMBAH
PADAT TAHU TERHADAP KADAR PROTEIN
DAN AKTIVITAS ENZIM TRIPSIN**

Sudah dapat diajukan kembali kepada Fakultas Sains dan Teknologi Jurusan Program Studi Kimia UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Bidang Kimia.

Atas perhatiannya kami ucapkan terima kasih.

Wassalamu`alaikum wr. wb.

Yogyakarta, 8 Juni 2009

Konsultan



Esti Wahyu Widowati M.Si
NIP.150327074

PERSEMBAHAN

Skripsi ini

DIPERSEMBAHKAN

*Untuk Almamaterku Tercinta
Prodi Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri
Sunan Kalijaga Yogyakarta*

MOTTO

Katakanlah, “Kalau sekiranya lautan menjadi tinta untuk (menulis) kalimat-kalimat Tuhan-ku, sungguh habislah lautan itu sebelum habis (ditulis) kalimat-kalimat Tuhan-ku, meskipun Kami datangkan tambahan sebanyak itu (pula).”

(Q.S Al-Kahfi: 109)

“Hanya ada satu standar kesuksesan yang memuaskan, yaitu pengembangan kepribadian yang sepenuhnya dan selaras dimana kekuatan akan tampak, bertahita dengan anggun, sangat simpatik dan penuh cinta serta kebahagiaan”

(Henry Knight Miller)

Allah tidak akan membebani seseorang kecuali dengan kesanggupannya

(QS AL-Baqarah 286)

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji dan syukur yang tiada terkira saya persembahkan kepada Allah SWT, yang telah memberikan karunia, serta kekuatan luar biasa, sehingga saya dapat melalui masa-masa berat, panjang dan melelahkan dalam proses pembuatan skripsi ini. Selalu saya ingat ayat Al-Qur'an yang menginspirasi saya dalam melalui ini semua, yaitu, "Didalam kesulitan ada kemudahan." Shalawat serta salam dan tidak lupa penulis ucapkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah membawa kita dari zaman jahilliyah menuju zaman yang terang benderang ini.

Terselesainya skripsi ini bukan merupakan hasil dari penulis seorang, namun berkat partisipasi, dukungan dan doa berbagai pihak sehingga skripsi ini dapat berjalan dengan baik. Pada kesempatan ini penulis ingin memberikan penghargaan dan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Mamaku tercinta, terima kasih atas do'a yang tak henti-hentinya, bapakku terima kasih, adek-adekku yang menyayangiku dan memberikan motivasi, nasihat, dan dukungan dengan ikhlas untuk segera menyelesaikan skripsi ini.
2. A'yudi tersayang yang selalu sabar, ikhlas yang tak henti-hentinya memberikan dukungan moral maupun materi, dan memberikan motivasi, menemani dalam suka dan duka selama penulisan skripsi ini.
3. Dra. Maizer Said Nahdi, M.Si., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
4. Khamidinal, M.Si., selaku Ketua Progam studi kimia.

5. Drs Winarto Haryadi, M.Si., selaku dosen pembimbing skripsi yang dengan ikhlas dan sabar meluangkan waktunya dalam membimbing, mengarahkan dan memotivasi dalam penyusunan skripsi ini.
6. Seluruh Staf Karyawan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga Yogyakarta yang selalu mengarahkan penulis sehingga penyusunan skripsi ini dapat berjalan dengan lancar.
7. Bapak Slamet Raharjo di C.V Chem-Mix Pratama dan seluruh Staf Laboratorium Kimia Analitik FMIPA UGM selaku laboran yang selalu memberikan pengetahuan dan pengarahan selama melakukan penelitian.
8. Semua pihak yang telah bersedia membantu dan memberi semangat dalam proses pembuatan skripsi ini. Sahabat-sahabatku ncit, diyah, mal's, Linda goni, dan semua teman-temanku yang selalu mendukung dan membantu penulis menjalani setiap langkah hidup ini. Karena merekalah penulis mampu untuk bertahan. Terimakasih untuk semuanya.
9. Teman-teman Progam Studi Kimia'04 : ayu, heni, ninik, miko dan lain-lain yang telah memberikan bantuan dan dukungan.
10. Semua pihak yang telah ikut berjasa dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Kepada semua pihak tersebut, semoga bantuan, bimbingan, dan pengarahan serta do'a yang diberikan kepada penulis dapat dinilai ibadah oleh Allah SWT dan mendapatkan ridho-Nya.

Penulis menyadari dalam penyusunan skripsi ini banyak terdapat keterbatasan kemampuan, pengalaman, dan pengetahuan sehingga dalam penyusunan skripsi

ini masih terdapat kekurangan. Oleh karena itu saran dan kritik yang bersifat membantu, membangun sangat penulis harapkan. Akhirnya besar harapan penulis semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat dan sumbangan bagi kemajuan dan perkembangan ilmu pengetahuan terutama dalam bidang kimia. Amiin Ya Robbal ‘Alamin.

Yogyakarta, 28 Mei 2009

Penyusun

Istiqomah
04630007

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN NOTA DINAS PEMBIMBING	ii
HALAMAN NOTA DINAS KONSULTAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
HALAMAN MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
ABSTRAK	xix

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Identifikasi Masalah	3
C. Pembatasan Masalah	4
D. Perumusan Masalah	5
E. Tujuan penelitian.....	5
F. Kegunaan penelitian.....	6

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka	7
B. Landasan Teori.....	9
1. Tahu	9
2. Kedelai	9
3. Limbah Padat Tahu	11
4. Fermentasi	11

5. Protein.....	20
6. Penetapan kadar protein dengan menggunakan metode Lowry.	23
7. Enzim	24
8. Enzim Tripsin.....	26
9. Penentuan Aktivitas Enzim dengan Menggunakan Metode Anson	28
C. Hipotesis Penelitian.....	29

BAB III. METODE PENELITIAN

A. Instrumen Penelitian	30
1. Alat yang digunakan	30
2. Bahan- Bahan yang digunakan	30
B. Prosedur Penelitian	30
1. Perlakuan Pendahuluan	30
2. Pembuatan Tempe gembus	30
A. Pembuatan pereaksi yang digunakan	31
B. Penentuan kadar protein terlarut dengan metode Lowry	33
C. Penetapan aktivitas enzim.....	34
D. Analisis Data	37

BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian	45
1. Penentuan kadar protein terlarut dengan metode Lowry	45
2. penetapan aktivitas enzim tripsin dengan metode Anson	47
B. Pembahasan.....	51
1. Pembuatan Tempe Gembus	51
2. Penentuan kadar protein terlarut dengan metode Lowry	52
3. Penetapan aktivitas enzim metode Anson.....	57

BAB V. PENUTUP

A. Kesimpulan 64
B. Saran-saran..... 65
C. Penutup

DAFTAR PUSTAKA 66

LAMPIRAN..... 68

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Kandungan Gizi Per 100 Gram Bahan Makanan.....	9
Tabel 2.	Komposisi Kimia Ampas Tahu Dalam 100 Gram Bahan Makanan...	10
Tabel 3.	Komposisi Unsur yang Dibutuhkan Oleh Mikroorganisme.....	19
Tabel 4.	Cara Pembuatan Buffer Fosfat.....	31
Tabel 5.	Data Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Untuk Penentuan Aktivitas Enzim Tripsin.....	43
Tabel 6.	Data Penentuan pH Optimum.....	44
Tabel 7.	Data Penentuan Suhu Optimum.....	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme.....	13
Gambar 2. Grafik Hubungan Absorbansi Larutan dengan Konsentrasi Larutan.....	37
Gambar 3. Grafik Hubungann antara Waktu dengan Absorbansi.....	48
Gambar 4. Grafik Hubungan Panjang Gelombang dengan Absorbansi.....	49
Gambar 5. Grafik Hubungan antara Lama Fermentasi dengan Kadar Protein Terlarut.....	50
Gambar 6. Grafik Hubungan Panjang Gelombang dengan Absorbansi.....	52

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.....	63
A. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	63
B. Penentuan Kurva Standar Protein.....	63
C. Penentuan Kadar Protein Terlarut Limbah Padat Tahu.....	64
D. Penentuan Aktivitas Enzim Metode Anson.....	65
Lampiran 2. Data Penentuan Waktu Kesetabilan.....	66
Lampiran 3. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kasein.....	67
Lampiran 4. Perhitungan Garis Persamaan Regresi Linear.....	68
Lampiran 5. Perhitungan Konsentrasi dan Kadar Protein Terlarut.....	72
Lampiran 6. Penentuan panjang gelombang maksimum aktivitas enzim tripsin	75
Lampiran 7. Penentuan Aktivitas enzim Tripsin.....	77
Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian.....	79

PENGARUH WAKTU FERMENTASI LIMBAH PADAT TAHU TERHADAP KADAR PROTEIN DAN AKTIVITAS ENZIM TRIP SIN

Oleh:
Istiqomah
NIM: 04630007

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui besarnya kadar protein terlarut limbah padat tahu, besarnya aktivitas enzim tripsin terhadap protein terlarut limbah padat tahu dengan cara difermentasi, mempelajari pengaruh fermentasi limbah padat tahu terhadap kadar protein terlarut, dan mempelajari pengaruh lama fermentasi limbah padat tahu terhadap aktivitas enzim tripsin.

Populasi penelitian dalam penelitian ini adalah limbah padat tahu yang dihasilkan oleh produsen pembuatan tahu di jalan Imogiri, Sewon, Bantul. Sampel dalam penelitian ini adalah limbah padat tahu yang diperoleh dari bapak Sukardi. Variasi lama fermentasi yang dilakukan adalah 0, 24, 48, 72, 96, dan 120 jam. Penentuan protein terlarut ditentukan dengan metode Lowry menggunakan larutan standar kasein, dengan terlebih dahulu menentukan waktu kesetabilan, panjang gelombang maksimum dan kurva protein standar. Penentuan aktivitas enzim tripsin dilakukan dengan menggunakan metode Anson, dengan terlebih dahulu menentukan pH dan suhu optimumnya. Variasi pH yang dilakukan adalah 6,5; 7,0; 7,5; 8,0; dan 8,5. sedangkan variasi suhu yang dilakukan adalah 34, 35, 36, 37, dan 38 °C. Analisis data dilakukan secara diskriptif kualitatif.

Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa waktu kesetabilan terjadi pada menit ke-64 sampai ke-72 dengan panjang gelombang maksimum 700 nm. Persamaan garis regresi linear yang diperoleh adalah $Y = 5,4727 X + 0,0972$ dengan $f_{reg} = 50,6048$. Kadar protein terlarut limbah padat tahu dengan fermentasi selama 0, 24, 48, 72, 96, dan 120 jam berturut-turut adalah 0,0348; 0,0767; 0,0842; 0,0974; 0,1408; 0,1201; dan 0,1055% b/b. kondisi optimum pH dan suhu optimum tripsin adalah 8,0 dan 37 °C. Besarnya aktivitas enzim tripsin terhadap limbah padat tahu yang difermentasi selama 0, 24, 48, 72, 96, dan 120 jam berturut-turut adalah 0,66; 0,83; 2,16; 17,41; 7,5; dan 7,2 unit. Semakin lama fermentasi maka akan semakin besar kadar protein terlarutnya dan akan mencapai kondisi optimum pada fermentasi ke 72 jam kemudian mengalami penurunan pada hari berikutnya. Semakin lama fermentasi maka akan semakin besar aktivitas enzim tripsinnya dan akan mencapai kondisi optimum pada fermentasi ke 72 dan akan mengalami penurunan pada hari berikutnya.

Kata kunci : Limbah padat tahu, protein, enzim

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Kemajuan teknologi pangan telah memberikan keyakinan pada ahli pangan bahwa kedelai dan jenis kacang-kacangan yang lainnya mempunyai peluang besar untuk menjadi alternatif sumber protein yang bermutu. Protein merupakan komponen utama dalam sel hidup. Fungsi utama protein adalah sebagai senyawa pembentuk struktur sel. Fungsi lain dari protein adalah menyediakan bahan-bahan yang penting peranannya untuk pertumbuhan dan pemeliharaan jaringan tubuh, bekerja sebagai pengatur kelangsungan dalam tubuh, memberikan energi jika keperluannya tidak dapat dipenuhi oleh karbohidrat dan lemak, selain itu protein dapat pula berfungsi sebagai protein aktif, yaitu sebagai enzim. Enzim dapat berperan sebagai biokatalisator pada semua proses biokimia yang terjadi dalam sel.

Di negara berkembang seperti Indonesia, 80% dari seluruh protein yang dikonsumsi adalah protein nabati dan 60% diantaranya berasal dari protein biji-bijian. Protein yang berasal dari bahan makanan agar dapat diserap oleh tubuh melalui dinding usus halus maka dibutuhkan suatu proses pemecah protein menjadi molekul-molekul yang lebih kecil. Protein dalam bahan makanan yang dikonsumsi manusia akan diserap oleh usus dalam bentuk asam amino. Dalam tubuh enzim pencernaan yang berperan dalam menghidrolisis protein menjadi asam

amino antara lain adalah enzim Tripsin. Enzim tripsin mampu menghidrolisis ikatan peptida dari polipeptida menjadi asam amino.¹

Kedelai merupakan sumber protein yang murah dan efisien. Berkat kemajuan teknologi pangan kedelai dapat berpotensi menjadi sumber makanan yang sangat diminati oleh konsumen, disamping susu dan telur sapi. Kandungan protein kedelai hasil olahan secara tradisional, seperti tempe dan tahu sangat mudah dicerna oleh tubuh². Kedelai dapat diolah menjadi tempe, tahu, kecap, selain itu kedelai dapat langsung dikonsumsi setelah direbus. Pada proses pengolahan kedelai menjadi tahu, akan dihasilkan produk sampingan yang berupa limbah. Limbah tersebut terdiri dari limbah cair dan limbah padat. Limbah padat tahu lebih dikenal masyarakat dengan sebutan ampas tahu. Meskipun merupakan limbah namun ampas tahu mempunyai nilai gizi yang tinggi, sehingga masih dapat diolah lagi menjadi bahan makanan.

Ampas tahu selain dimanfaatkan sebagai bahan makanan ternak juga dapat digunakan sebagai bahan makanan manusia yang sering disebut dengan tempe gembus. Tempe gembus ini dapat dibuat dengan cara memfermentasi ampas limbah tahu. Kandungan protein tempe gembus adalah sebesar 4,9 gr dalam 100 gr bahan³. Pembuatan tempe gembus oleh masyarakat tradisional

¹. Zuheid Noor, 1990, *Biokimia Nutrisi*, Yogyakarta, PAU Pangan dan Gizi, hal 15

². Sumarno, 1991, *Kedelai Dan Citra Budidanya*, Bogor, PT Yasaguna.

³. Amaliah, 1993, *Perubahan Kimiawi dan Pertumbuhan Kapang Selama Proses Fermentasi Tempe dan Ampas Tahu Dengan Penambahan Bekatul*, Skripsi, Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.

biasanya ditambah dengan bekatul, penambahan bekatul ini bertujuan untuk meningkatkan kandungan vitamin B₁ dari tempe gembus tersebut.⁴

Tempe gembus merupakan bahan makanan yang murah dan dapat dijangkau oleh seluruh lapisan masyarakat. Kandungan bahan padat terlarut lebih tinggi karena selama proses pembuatan tempe gembus terjadi perubahan senyawa kompleks menjadi lebih sederhana yang sifatnya lebih mudah dicerna. Tempe gembus merupakan salah satu produk fermentasi, selama proses fermentasi terdapat faktor-faktor yang sangat mempengaruhi proses fermentasi tersebut, antara lain; suhu, kadar ragi, dan lamanya proses fermentasi. Dalam proses fermentasi ini protein yang terkandung pada tempe gembus akan diubah menjadi asam amino penyusunnya.

B. Rumusan Masalah dan Batasan Masalah

1. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah diuraikan di atas, maka permasalahan yang dapat muncul dalam penelitian ini adalah:

- a. Berapakah kadar protein yang terlarut di dalam limbah padat tahu yang difermentasi selama 0, 1, 2, 3, 4, dan 5 hari?
- b. Berapakah besarnya aktivitas enzim tripsin dalam limbah padat tahu yang difermentasi selama 0, 1, 2, 3, 4, dan 5 hari?

⁴ Amaliah, 1993, *Perubahan Kimiawi Dan Pertumbuhan Kapang Selama Proses Fermentasi Tempe Dan Ampas Tahu Dengan Penambahan Bekatul*, Skripsi, Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

- c. Bagaimanakah pengaruh lama fermentasi limbah padat tahu terhadap aktivitas enzim tripsin pada berbagai variasi lama fermentasi?

2. Pembatasan Masalah

Untuk menghindari kesalahan persepsi dan meluasnya masalah, maka permasalahan dibatasi sebagai berikut:

- a. Inokulum yang digunakan adalah *Rhizopus oligosporus*
- b. Protein limbah padat tahu yang ditentukan adalah protein terlarut.
- c. Penentuan kadar protein terlarut dilakukan dengan menggunakan metode Lowry.
- d. Aktivitas enzim tripsin dilakukan dengan menggunakan metode Anson sedangkan enzim tripsin yang akan digunakan dalam penelitian ini enzim tripsin perdagangan bermerk E merk yang siap digunakan
- e. Penentuan besarnya aktivitas enzim tripsin dilakukan dengan variasi lama fermentasi 0, 1, 2, 3, 4, dan 5 hari pada kondisi yang optimum.

C. Tujuan dan Manfaat Penelitian

1. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui :

- a. Kadar protein terlarut dalam limbah padat tahu yang difermentasi selama 0, 1, 2, 3, 4, dan 5 hari.
- b. Besarnya aktivitas enzim tripsin dalam limbah padat tahu yang difermentasi selama 0, 1, 2, 3, 4, dan 5 hari.

- c. Pengaruh lama fermentasi limbah padat tahu terhadap aktivitas enzim tripsin pada berbagai variasi lama fermentasi.

D. Manfaat Penelitian

1. Bagi peneliti

Menerapkan teori yang telah diperoleh di bangku kuliah dalam bentuk aplikasi penelitian tugas akhir berupa karya tulis ilmiah sebagai syarat memperoleh gelar Sarjana Kimia di UIN Sunan Kalijaga.

2. Bagi mahasiswa

Menambah khasanah ilmu pengetahuan tentang penelitian kimia dan sebagai referensi dalam pembuatan laporan kimia.

3. Bagi lembaga

Sebagai acuan dan arsip yang bermanfaat untuk hal yang lebih berguna

4. Bagi masyarakat

Dapat memberikan informasi mengenai kandungan nilai gizi, khususnya protein dalam tempe gembus yang berasal dari limbah padat tahu yang diolah dengan cara fermentasi, selain itu diharapkan mampu memberikan informasi mengenai bagaimana pengaruh lama fermentasi limbah padat tahu terhadap aktivitas enzim tripsin.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan maka dapat diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Kadar protein terlarut yang terdapat dalam limbah padat tahu yang telah difermentasi selama 0, 1, 2, 3, 4, dan 5 hari berturut-turut adalah 0,034; 0,0767; 0,0842; 0,0947; 0,1408; 0,1201; 0,1055 %.
2. Besar aktivitas enzim tripsin setelah mengalami proses fermentasi selama 0, 1, 2, 3, 4, dan 5 berturut-turut adalah 0,63; 0,66; 0,83; 2,16; 17,41; 7,5; 7,2 unit
3. Semakin lama proses fermentasi limbah padat tahu maka akan semakin besar kadar protein terlarutnya dan akan mencapai kondisi maksimum setelah mengalami proses fermentasi selama 3 hari, setelah mencapai kondisi optimum maka kadar protein terlarutnya akan kembali menurun.
4. Semakin lama proses fermentasi limbah padat tahu maka akan semakin besar pula aktivitas enzim tripsinnya, dan akan mencapai kondisi optimum pada waktu fermentasi 3 hari dan pada hari berikutnya aktivitas enzim tripsin akan mengalami penurunan.

B. Saran-Saran

Bagi peneliti selanjutnya perlu di teliti lagi kadar protein terlarut limbah padat tahu dengan penambahan bekatul dan dengan menggunakan metode yang lainya. Selain itu bagi para peneliti selanjutnya dapat juga meneliti tentang faktor-faktor yang

mempengaruhi fermentasi protein pada limbah padat tahu, seperti suhu, pH dan oksigen. Selain itu disarankan bagi para peneliti selanjutnya bahwasanya penentuan kadar protein dapat berupa penentuan protein total dan dapat pula berupa penentuan protein terlarut.

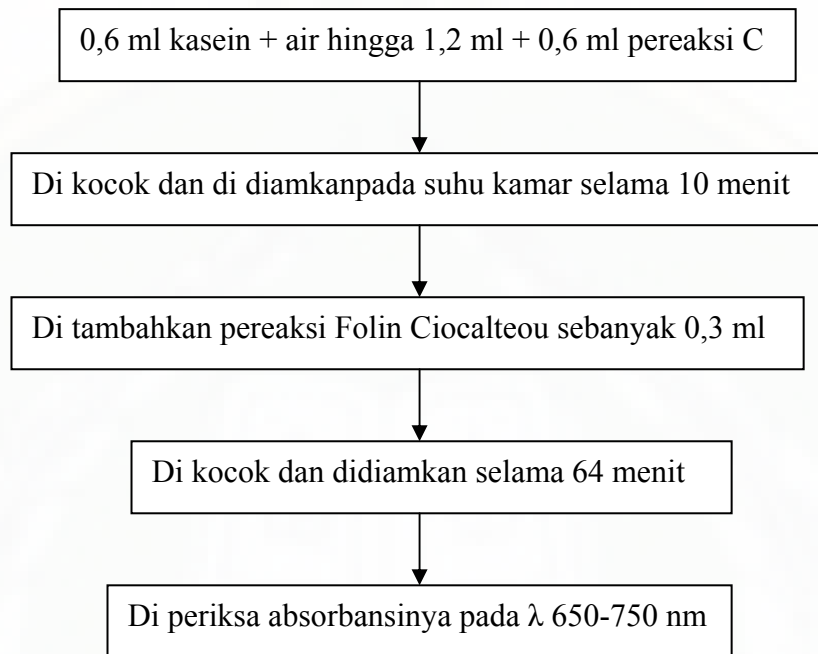
DAFTAR PUSTAKA

- Agnes Murdiati, 1990, *Ampas Tahu sebagai Bahan Dasar dalam Pembuatan Cookies Manis*. Laporan pemnelitian, Yogyakarta: Fakultas Pertanian UGM.
- Amaliah, 1993, *Perubahan Kimiawi dan Pertumbuhan Kapang Selama Proses Fermentasi Tempe Dan Ampas Tahu Dengan Penambahan Bekatul* , skripsi, yogyakarta, fakultas teknologi pertanian. UGM. Yogyakarta
- Anna Pedjiadi, 1994, *Dasar-Dasar Biokimia*, Jakarta: UI Press.
- Astuti Budi Dian, Skripsi, *Pengaruh Fermentasi Tempe terhadap Kadar Protein yang Terlarut Dalam Air* , (FMIPA UNY Yogyakarta)
- Direktorat Gizi Depkes RI, 1989:21
- Elkowicz. K dan Soluski. F. W, 1982, *Antinutritive Factors In Ewleven Legumes and Their Air Classified Protein and Starch Fraction*, *Jornal Food Science*, vol 47, hal 13021-1304
- Ennis Lyne, 1957, *Spectrofotometric and Turbidimetric Methods for Measuring Protein, Methods In Enzimology*, Vol III, Colowik Sp, Nathan O Kaplan, New York , Academic Press Inc
- F.G. Winarno, *Kimia Pangan dan Gizi*, Jakarta: Gramedia Pusataka Utama
- Hans Ulrich & Belgenmeyer, 1994, *Methods Of Enzimatic Analysis*, Vol 2, New York, Academic Press Inc.
- Holleman, A.F. and J.P. Wibaut, 1951, *Organic Chemistry*. Elsevier publishing Company. Amsterdam
- Lehninger, Albert L, 1995, *Principles Of Biochemistry*, (Maggy Thena Wijaya, terjemahan), Worth Publisher, buku asli diterbitkan tahun 1982
- Lubert Styrer, M. Sadikin , 1996, *Biokimia*, vol 1, edisi ke-4, Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Rahmat Nur.,Skripsi, *Pengaruh Ekstrak Kedelai, Tempe Bosok dan Tempe terhadap Tripsin*,(Yogyakarta FMIPA UGM 1990)
- Prescott, S.C and Dann, C.G, 1949, *Mikrobiologi Industri*, Thirth Edition, Mc. Graw-Hill, New York

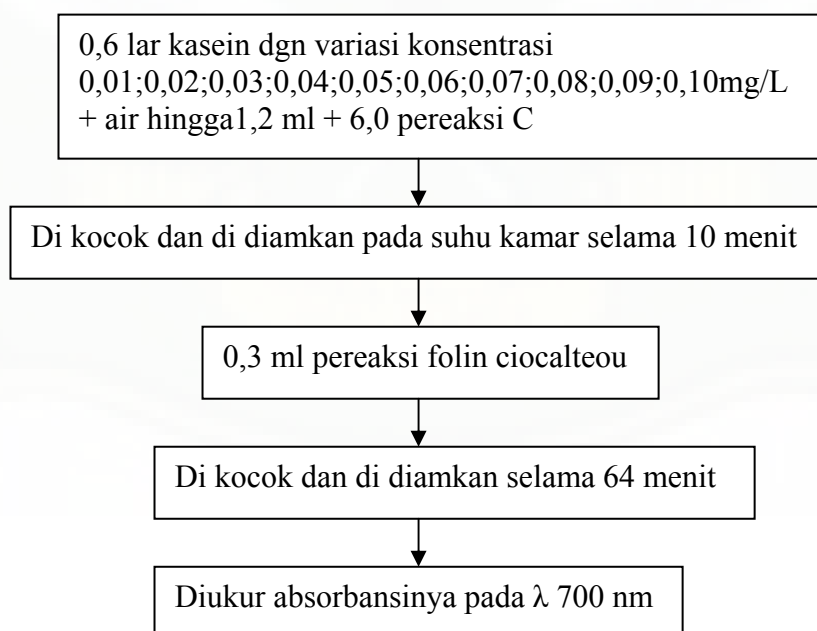
- Retno Sri Endah Lestari, 1994, *Memasyarakatkan Model Usaha Industri Nata De Soya Dalam Rangka Perwujudan Pengembangan Agroindustri Akrab Lingkungan*, Pangan No 20, Vol 5-1994.
- Srikandi Fardiaz, *Mikro biologi pangan 1* (Jakarta: Gramedia, 1992), hal. 250
- Stanbury, P.F., A. Whitaker and S.J. Hall, 1995. *Principles of Fermentation Technology*, Elsevier Science Ltd., Oxford
- Suliantri dan Winiati Pudji Rahayu, 1990, *Teknologi Fermentasi Umbi-Umbian dan Biji-Bijian*, PAU, Pangan dan Gizi IPB
- Sumarno, 1991, *Kedelai Dan Citra Budidanya*, Bogor, PT Yasaguna
- Timotius. 1982, *Mikrobiologi Dasar*, Penerbit Universitas Satya Wacana. Salatiga

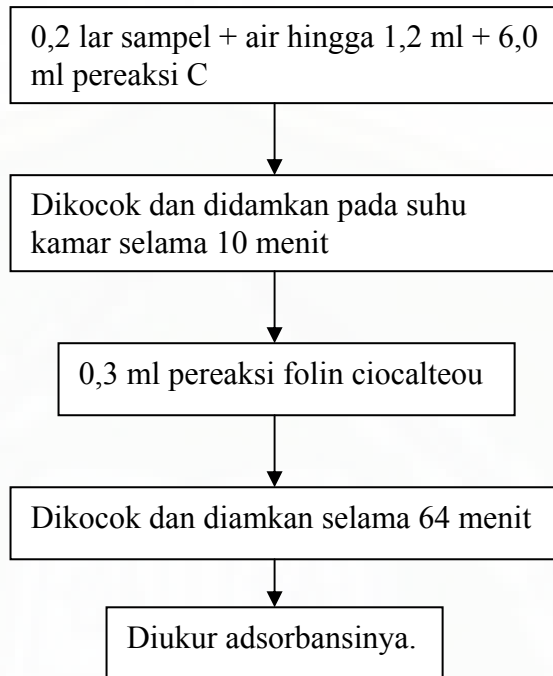
Lampiran 1

A. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum



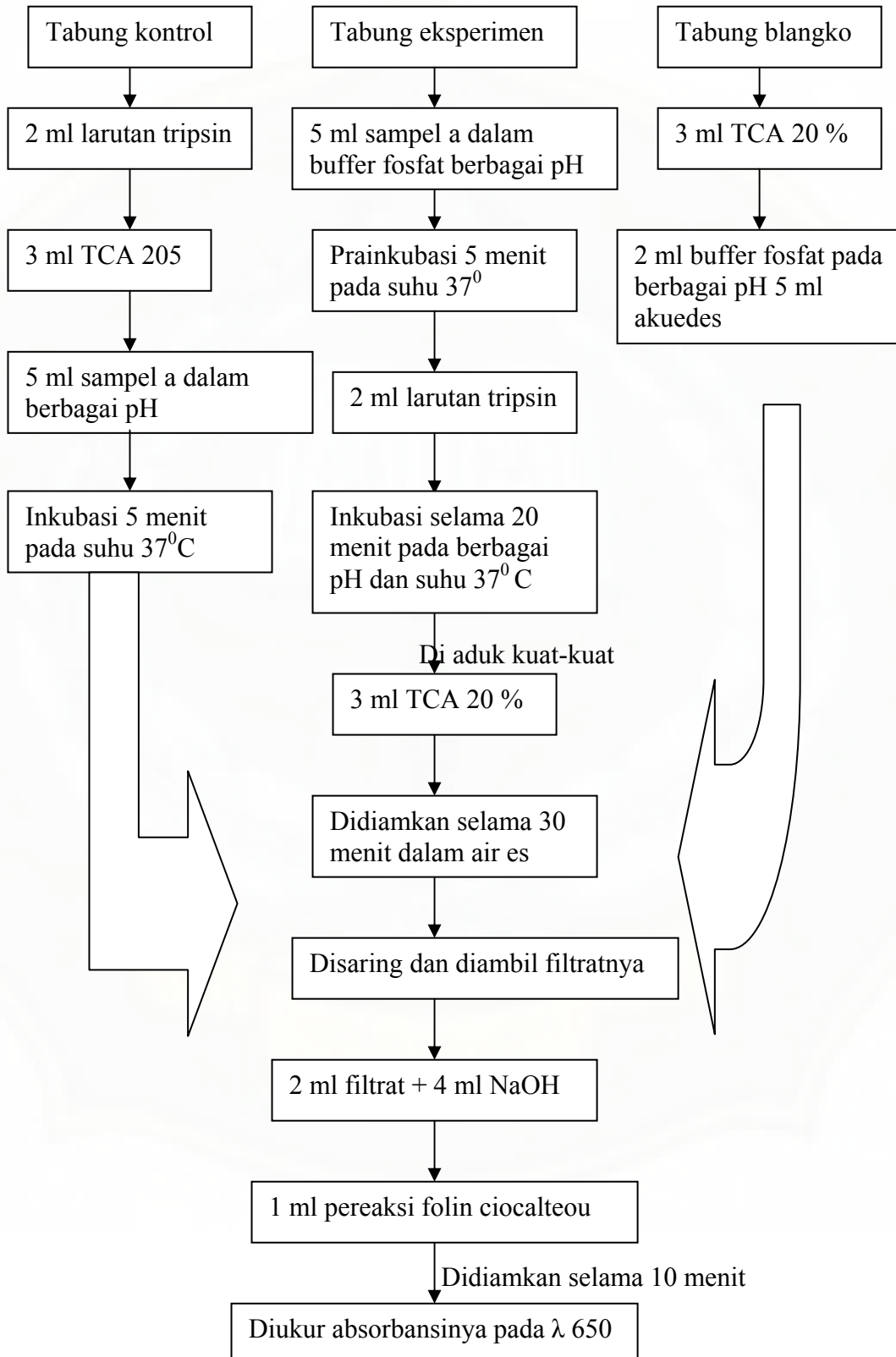
B. Penentuan Kurva Protein Standar



C. Penentuan kadar protein terlarut limbah padat tahu

D. PENENTUAN AKTIVITAS ENZIM METODE ANSON

Penentuan pH Optimum



Lampiran 2

Data penentuan waktu kesetabilan

Tabel 12. Data penentuan waktu kesetabilan

waktu (menit)	Absorbansi (A)
4	0.354
8	0.344
12	0.334
16	0.330
20	0.324
24	0.314
28	0.306
32	0.301
36	0.292
40	0.286
44	0.280
48	0.273
52	0.267
56	0.26
60	0.254
64	0.250
68	0.250
72	0.250
76	0.247
80	0.240
84	0.235
88	0.230
92	0.223
96	0.217
100	0.209
104	0.203
108	0.199
112	0.195
116	0.190
120	0.186

Lampiran 3

Penentuan panjang gelombang maksimum kasein

Tabel 13. Data Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang (nm)	Absorbansi (A)
500	0.256
600	0.380
800	0.362
650	0.359
660	0.363
670	0.368
680	0.378
690	0.382
700	0.392
710	0.388
720	0.384
730	0.376
740	0.368
750	0.341

Lampiran 4

**PERHITUNGAN PERSAMAAN GARIS REGRESI LINEAR DARI
KURVA STANDAR PROTEIN**

Tabel 14. Data penentuan kurva protein standar

Konsentrasi kasein (mg/ml)	Absorbansi (A)
0.010	0.094
0.020	0.178
0.030	0.218
0.040	0.292
0.050	0.364
0.060	0.420
0.070	0.466
0.080	0.490
0.090	0.550
0.100	0.598

A. Menentukan Persamaan Garis Regresi Linear $Y = aX + b$

Dari data penentuan kurva standar protein dapat ditentukan persamaan garis regresi linear

Tabel 15. Statistik dasar untuk penentuan persamaan garis regresi linear

No	X	Y	X ²	Y ²	XY
1	0.010	0.094	0.0001	0.0088	0.0009
2	0.020	0.178	0.0004	0.0316	0.0035
3	0.030	0.218	0.0009	0.0475	0.0065
4	0.040	0.292	0.0016	0.0852	0.0116
5	0.050	0.364	0.0025	0.1324	0.0182
6	0.060	0.420	0.0036	0.1764	0.0252
7	0.070	0.466	0.0049	0.2171	0.0326
8	0.080	0.490	0.0064	0.2401	0.0392
9	0.090	0.550	0.0081	0.3025	0.495
10	0.100	0.598	0.0100	0.3576	0.598
Σ	0.550	0.094	3.6700	1.5992	0.2470

Untuk menentukan linearitas persamaan garis regresi linear larutan protein standar maka dapat dilakukan dengan cara menghitung F regresinya dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\begin{aligned} a &= \frac{n(\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)}{n(\sum X^2) - (\sum X)^2} \\ &= \frac{10 - (0,2470) - (0,5500 \times 3,6700)}{10(0,0385) - (0,5500)^2} \\ &= 5,4727 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} b &= \frac{(\sum Y)(\sum X^2) - (\sum X)(\sum XY)}{n(\sum X^2) - (\sum X)^2} \\ &= \frac{(3,6700 \times 0,0385) - (0,5500 \times 0,2470)}{10(0,0385) - (0,5500)^2} \\ &= 0,0972 \end{aligned}$$

Dari hasil perhitungan diperoleh besarnya $a = 5,4727$ sedangkan untuk $b = 0,0972$ Sehingga persamaan garis regresi linearnya adalah $Y = 5,4727X + 0,0972$

B. Menentukan Signifikasi Korelasi Larutan Standar

$$\begin{aligned} r_{xy} &= \frac{\sum XY}{\sqrt{(\sum X^2)(\sum Y^2)}} \\ \sum XY &= \sum XY - \frac{(\sum X)(\sum Y)}{N} \\ &= 0,2470 - \frac{0,5500 \times 3,6700}{10} \\ &= 0,0425 \\ \sum X^2 &= \sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{N} \\ &= 0,0385 - \frac{(0,5500)^2}{10} \\ &= 0,0083 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \sum Y^2 &= \sum Y^2 - \frac{(\sum Y)^2}{N} \\
 &= 1,5992 - \frac{(3,6700)^2}{10} \\
 &= 0,2524 \\
 r_{xy} &= \frac{0,0425}{\sqrt{(0,0083)(0,2524)}} \\
 &= 2,9513
 \end{aligned}$$

Harga r_{xy} tersebut kemudian dikonsultasikan dengan harga r table pada signifikansi 5% dengan jumlah $N = 10$ yaitu 0,632. jadi dapat disimpulkan bahwa ada korelasi antara konsentrasi larutan standar protein (X) dan absorbansi (Y) yang bermakna karena $r_{xy} > r$ tabel.

C. Uji Linearitas Persamaan Garis Regresi Linear Larutan Standar Protein

Untuk menentukan linearitas persamaan garis regresi linear larutan standar protein maka dapat dilakukan dengan cara menghitung Fregresinya dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$jk_{reg} = \frac{(\sum XY)^2}{\sum X^2} = \frac{(0,0425)^2}{0,0083} = 0,2176$$

$$db_{reg} = 1$$

$$rjk_{reg} = \frac{jk_{reg}}{db_{reg}} = \frac{0,2176}{1} = 0,2176$$

$$jk_{res} = \sum Y^2 - \frac{(\sum XY)^2}{\sum X^2}$$

$$= 0,2524 - \frac{0,0018}{0,0083}$$

$$= 0,0348$$

$$db_{res} = 10 - 2$$

$$rjk_{res} = \frac{jk_{res}}{db_{res}} = \frac{0,0348}{8} = 0,0043$$

$$f_{reg} = \frac{rjk_{reg}}{rjk_{res}} = \frac{0,2176}{0,0043} = 50,6048$$

Harga F regresi kemudian dikonsultasikan dengan harga F table pada taraf signifikansi 5 % dengan db pembilang =1 dan db penyebut = 8, sehingga diperoleh harga F dalam table sebesar 5,32. harga F regresi > F table sehingga persamaan garis regresi larutan standar protein adalah linear.

Lampian 5.

Perhitungan Konsentrasi dan Kadar Protein Terlarut dalam Sampel

1. Perhitungan Konsentrasi Protein Terlarut dalam Sample (mg/mL)

Berdasarkan data absorbansi larutan sample yang telah dituangkan dalam tabel, maka konsentrasi protein terlarut dalam larutan sample dapat ditentukan dengan mensubstitusikan data absorbansi tersebut kedalam persamaan garis regresi linear larutan protein standarnya. Persamaan garis regresi linear protein standarnya adalah $Y = 5,4727X + 0,0972$. perhitungan konsentrasi protein terlarut dalam larutan sample dapat dijabarkan sebagai berikut:

misal : larutan sample yang digunakan adalah limbah padat tahu yang difermentasikan selama 0 jam dengan absorbansi sebesar 0,441 maka:

$$0,441 = 5,4727X + 0,0972$$

$$X = \frac{0,441 - 0,0972}{5,4727}$$

$$= 0,0628 \text{ mg/mL}$$

Dengan menggunakan cara yang sama, maka dapat dicari konsentrasi protein terlarut dalam semua sample. Harga konsentrasi protein terlarut tersebut data dilihat dalam tabel 16.

2. Perhitungan kadar protein terlarut dalam sampel

Berdasarkan data konsentrasi protein terlarut dalam sampel yang telah dihitung, maka kadar protein terlarut dalam sampel dapat ditentukan dengan menggunakan rumus :

$$C = \frac{A}{B} \times 100\%$$

Dengan :

C = kadar protein terlarut (%b/b)

A = berat protein terlarut

B = berat sampel

Sampel yang digunakan (B) adalah 4 gr limbah padat tahu yang telah dihaluskan dan kemudian dilarutkan dalam buffer fosfat. Konsentrasi substrat limbah padat tahu yang digunakan adalah 4gr/50 mL = 80 gr/L. perhitungan kadar protein terlarut dalam sampel dapat dijabarkan sebagai berikut:

Misal : larutan substrat limbah padat tahu yang difermentasi selama 0 jam dengan konsentrasi protein terlarut sebesar 0,0628 mg/mL maka dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$50 \text{ mL} \times 0,0628 \text{ mg/mL} = 3,14 \text{ mg} = 3,14 \times 10^{-3}$$

Maka kadar protein terlarutnya adalah:

$$\begin{aligned} C &= \frac{314 \times 10^{-3}}{4} \times 100\% \\ &= 0,0785 \% \end{aligned}$$

Dengan menggunakan rumus yang sama, maka dapat dicari kadar protein terlarut tersebut dalam semua sampel. Harga kadar kadar protein terlarut dapat dilihat dalam tabel:

Tabel 16. Data Penentuan Kadar Protein Terlarut

Sampel	Absorbansi (A)	Konsentrasi (mg/mL)	Kadar protein terlarut (%b/b)	Rata-rata kadar protein terlarut (%b/b)
Tanpa fermentasi	0,209	0,0277	0,0346	0,0348
	0,231	0,0287	0,0355	
	0,208	0,0275	0,0344	
0 jam fermentasi	0.441	0.0628	0.0785	0.0767
	0.440	0.0626	0.0782	
	0.420	0.0589	0.0735	
24 jam fermentasi	0.450	0.0644	0.0805	0.0842
	0.490	0.0717	0.0895	
	0.460	0.0662	0.0827	
48 jam fermentasi	0.521	0.0774	0.0967	0.0974
	0.541	0.0810	0.1012	
	0.511	0.0756	0.0945	
72 jam fermentasi	0.701	0.1103	0.1377	0.1408
	0.727	0.1150	0.1437	
	0.715	0.1128	0.1410	
96 jam fermentasi	0.605	0.0927	0.1157	0.1201
	0.645	0.1000	0.1257	
	0.622	0.0958	0.1197	
120 jam fermentasi	0.560	0.0845	0.1055	0.1055
	0.569	0.0862	0.1077	
	0.551	0.0829	0.1035	

Lampiran 6.

1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Aktivitas Enzim Tripsin

Tabel 17. Data Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Untuk Penentuan Aktivitas Enzim Tripsin

Panjang gelombang (nm)	Absorbansi (A)
600	0.219
610	0.221
620	0.226
630	0.229
640	0.234
650	0.238
660	0.237
670	0.236
680	0.233
690	0.222
700	0.220

2. Data Penentuan pH Optimum

Tabel 18. Data Penentuan pH Optimum

pH	Absorbansi		Aktivitas enzim tripsin (unit)	Rata-rata aktivitas enzim tripsin (unit)
	Kontrol (tk)	Sampel (t0)		
6.5	0.210	0.218	0.40	0.57
		0.220	0.50	
		0.226	0.80	
7.0	0.218	0.238	1.00	1.30
		0.249	1.55	
		0.245	1.35	
7.5	0.236	0.264	1.40	1.40
		0.262	1.30	
		0.266	1.50	
8.0	0.244	0.268	1.20	1.55
		0.279	1.75	
		0.278	1.70	
8.5	0.235	0.264	1.35	1.25
		0.260	1.25	
		0.258	1.15	

3. Data Penentuan Suhu Optimum

Tabel 19. Data Penentuan Suhu Optimum

Suhu (°C)	Absorbansi		Aktivitas enzim tripsin (unit)	Rata-rata aktivitas enzim tripsin (unit)
	Kontrol (tk)	Sampel (te)		
34	0.204	0.228	1.20	1.00
		0.216	0.60	
		0.228	1.20	
35	0.216	0.242	1.30	1.17
		0.244	1.40	
		0.232	0.80	
36	0.240	0.262	1.10	1.30
		0.264	1.20	
		0.272	1.60	
37	0.253	0.284	1.60	1.45
		0.278	1.30	
		0.281	1.45	
38	0.248	0.276	1.40	1.35
		0.273	1.25	
		0.276	1.40	

Lampiran 7.

Perhitungan Aktivitas Enzim Tripsin

1 unit aktivitas enzim tripsin adalah banyaknya enzim tripsin yang bekerja spesifik pada substrat limbah padat tahu dan menghasilkan produk dengan kenaikan absorbansi sebesar 0,001 dari absorbansi kontrol pada kondisi percobaan (pH dan suhu yang optimum) per menit. Berdasarkan data absorbansi yang diperoleh maka 1 unit aktivitas enzim tripsin dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$V = \frac{At_e - At_k}{0,001 \times t}$$

Dengan :

At_e = Absorbansi pada tabung eksperimen

At_k = Absorbansi pada tabung control

T = Waktu inkubasi optimum (20 menit)

Misal pada limbah padat tahu yang difermentasi selama 0 jam absorbansi pada waktu 20 menit sebesar 0,080 dan absorbansi pada 0 menit sebesar 0,058 maka aktivitas enzim tripsinya sebesar :

$$V = \frac{0,080 - 0,058}{0,001 \times 20}$$

$$= 1,1$$

Dengan menggunakan cara yang sama maka aktivitas enzim tripsin pada semua sampel dapat diketahui besarnya. Harga aktivitas enzim tripsin tersebut dapat dilihat pada tabel 20.

Tabel 20. Data Penentuan Aktivitas Enzim Tripsin

Sampel	Absorbansi		Aktivitas Enzim Tripsin (unit)	Rata-rata Aktivitas Enzim Tripsin (unit)
	Kontrol (t ₀)	Sampel (t ₂₀)		
Tanpa fermentasi	0.043	0.056	0,8	0,63
	0.042	0.059	0,95	
	0.045	0.053	0,4	
0 jam fermentasi	0.058	0.080	1.1	0.66
	0.056	0.070	0.7	
	0.057	0.061	0.2	
24 jam fermentasi	0.089	0.092	0.15	0.83
	0.099	0.110	0.55	
	0.089	0.125	1.8	
48 jam fermentasi	0.204	0.248	1.85	2,16
	0.199	0.247	2.4	
	0.205	0.250	2.25	
72 jam fermentasi	0.333	0.660	16.35	17.41
	0.338	0.700	18.1	
	0.332	0.688	17.8	
96 jam fermentasi	0.266	0.450	9.2	7.5
	0.272	0.475	10.15	
	0.280	0.395	3.15	
120 jam fermentasi	0.200	0.345	7.25	7.2
	0.201	0.331	6.5	
	0.194	0.351	7.85	

Lampiran 8
Dokumentasi penelitian



1. Vortex Mixer



2. Spektrofotometer



3. Limbah Padat Tahu Setelah Dikukus



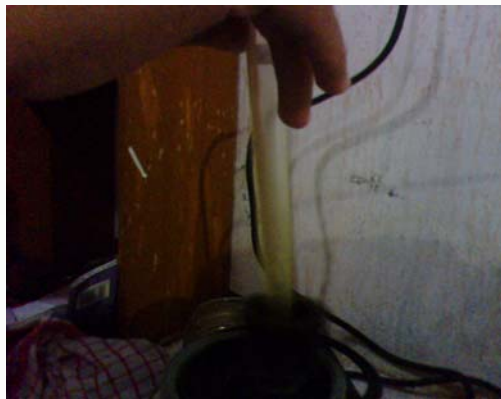
4. Tempe Gembus Telah Difermentasi



5. pH Meter



6. Pengambilan Substrat limbah padat tahu



7. Sampel di campur menggunakan *Vortex Mixer*