

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kimia Protein

Protein adalah makromolekul organik yang mempunyai susunan kompleks dan merupakan polimer alam dari asam-asam alfa amino. Kata protein berasal dari bahasa Yunani kuno : *proteos*, yang artinya paling penting atau yang utama. Memang protein ternyata memegang peranan yang penting dalam organisme hidup, yaitu dalam struktur, reproduksi dan fungsi.

Karena protein tersusun atas asam-asam alfa amino, maka susunan kimianya juga mengandung unsur-unsur seperti yang terdapat dalam asam-asam amino penyusunnya, yaitu karbon, oksigen, hidrogen dan nitrogen. Kadang-kadang dalam molekul protein terdapat unsur belerang, yaitu jika diantara monomernya terdapat asam amino sistein atau metionin. Pada protein majemuk disamping unsur-unsur tersebut kemungkinan masih mengandung fosfor, besi dan magnesium. Susunan bagian-bagian protein untuk berbagai macam protein tidak jauh berbeda, yaitu sekitar : 52,40 % karbon, 6,09 % - 7,30 % hidrogen, 15,30 % - 18,00 % nitrogen,

21,00% - 23,50 % oksigen dan 0,08 % - 2,00 % belerang (Martin,1987).

Dewasa ini telah dikenal banyak sekali macam protein. Perbedaan protein yang satu dengan protein yang lain pada umumnya terletak pada, antara lain :

- Jumlah asam alfa amino penyusunnya
- Macam asam alfa amino penyusunnya
- Cara kombinasi dari macam-macam asam alfa amino penyusunnya

Suatu jenis protein yang baik atau sempurna apabila mengandung semua jenis asam alfa amino dalam jumlah cukup.

Protein terdapat pada semua sel hidup, mempunyai berat molekul tinggi yang sukar ditentukan secara tepat, berada dalam bentuk koloidal sehingga sukar dipisahkan atau dimurnikan.

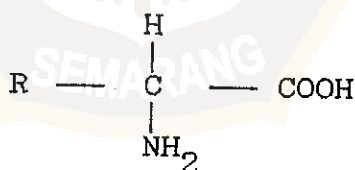
Berbagai jenis protein yang telah dikenal ada yang mempunyai fungsi spesifik, misal sebagai pengatur metabolik (hormon), sebagai biokatalisator (enzim), sebagai pertahanan tubuh (antibodi), sebagai pembangun struktur, sebagai pengatur pH, sebagai pembawa sifat turunan, sebagai sumber energi, sebagai pengangkut lipida, oksigen atau ion tembaga dalam tubuh (Winarno, 1984).

Protein yang terdapat dalam tanaman dikenal

sebagai protein nabati. yang dibentuk dari bahan-bahan yang terdapat dalam tanah dan bahan-bahan yang terdapat dalam air melalui proses kimiawi yang rumit. Protein nabati yang baik adalah yang terdapat pada jenis kacang-kacangan. Protein yang terdapat pada hewan dikenal sebagai protein hewani yang pada umumnya mengandung semua asam alfa amino yang sama dengan yang digunakan oleh tubuh manusia. Karena itulah maka protein hewani dianggap sebagai protein yang tinggi nilai biologisnya (Martin, 1987).

2.2. Asam α -amino penyusun protein

Monomer dari protein seperti telah disebutkan di depan adalah dari jenis asam alfa amino karboksilat yaitu jenis asam karboksilat yang radikal aminonya terikat pada atom karbon alfa ($C\alpha$).



asam α -amino karboksilat

Sebenarnya di alam, kita mengenal banyak asam alfa amino karboksilat, namun yang diketahui ikut membangun protein hanya sekitar 20 - 21 macam.

Semua asam alfa amino yang merupakan penyusun protein (kecuali glisin atau asam amino asetat) mempunyai sebuah atau lebih atom karbon asimetrik.

Beberapa asam alfa amino karboksilat dapat membentuk rantai. Rangkaian beberapa asam amino karboksilat yang membentuk rantai tersebut disebut rantai peptida. Sedangkan ikatan antara $\overset{|}{\text{C}}=\text{O}$ dengan $\overset{|}{\text{N}}-\text{H}$ dalam rantai asam amino yang satu dengan asam amino yang lain disebut ikatan peptida.

Beberapa asam amino karboksilat dalam molekul protein terdapat dalam bentuk rantai peptida yang panjang atau dalam bentuk rantai polipeptida. Rantai peptida dari banyak asam amino tersebut kini telah dapat dibuat secara sintetik.

2.3. Ikatan-ikatan dalam protein

Protein tersusun atas sebuah atau lebih rantai polipeptida. Pada rantai polipeptida terdapat ikatan ikatan peptida yang juga dikenal sebagai ikatan amida asam. Ikatan ini tidak lain adalah ikatan antara residu asam amino yang satu dengan residu asam amino yang lain.

Skema rantai peptida dalam molekul protein dapat digambarkan : (Martin, 1987)

2.3.2. Ikatan garam

Dalam molekul protein maupun dalam rantai polipeptida ikatan garam terjadi secara heteropolar atau elektrovalen, hal itu disebabkan oleh gaya-gaya elektrostatika antara gugusan-gugusan yang bermuatan berlawanan. Jadi syarat agar terjadi ikatan garam adalah adanya rantai samping residu asam amino dengan gugusan karboksil yang berdekatan dengan rantai samping residu asam amino dengan gugusan amino bebas. Radikal karboksil akan melepas proton sehingga bermuatan negatif, kemudian proton yang dilepaskan ini akan ditangkap oleh gugusan amino bebas, sehingga gugusan ini akan bermuatan positif. Akibatnya akan terjadi tarik menarik antara muatan positif dan negatif tersebut. (Martin, 1987)

2.3.3. Ikatan hidrogen

Ikatan hidrogen juga dikenal sebagai jembatan hidrogen yang banyak terdapat dalam molekul protein. Ikatan ini berasal dari atom hidrogen yang terikat pada atom nitrogen dan oksigen karbonil. Disamping itu dapat pula terjadi antara rantai cabang residu asam amino yang mempunyai gugusan hidrogen donor dan

hidrogen akseptor. (Martin, 1987)

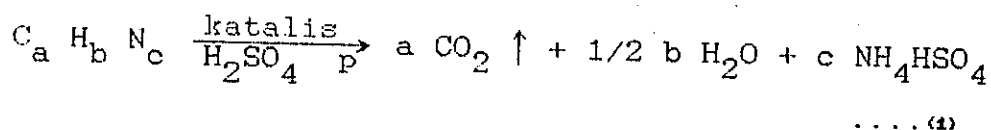
2.3.4. Ikatan hidrofobik

Meskipun ikatan hidrofobik ini sangat lemah, ikatan hidrofobik ini juga ikut berperan dalam mempertahankan struktur protein. Interaksi hidrofobik atau ikatan hidrofobik ini terjadi karena kecenderungan dari rantai samping residu asam amino non polar yang netral untuk saling berdekatan. (Martin, 1987)

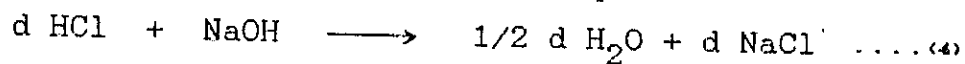
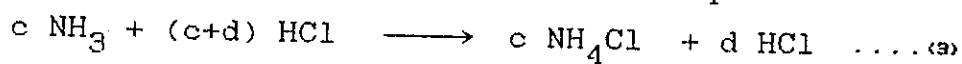
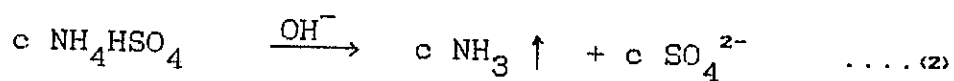
2.4. Analisa Protein (Metode Kjeldahl)

Suatu metode penting dan relatif tepat untuk menentukan atom nitrogen secara kuantitatif yang terdapat dalam protein dan nitrogen yang terdapat dalam senyawa secara keseluruhan adalah dengan metode Kjeldahl. Jumlah protein dapat dihitung berdasarkan prosentase nitrogen yang diketahui. Meskipun banyak metode untuk menentukan kadar protein, tetapi metode Kjeldahl adalah metode dasar dari semua metode yang ada.

Prinsip dari metode ini adalah bahan didestruksi (dirusak) dengan asam sulfat pekat untuk menguraikan dan mengubah nitrogen menjadi amonium hidrogen sulfat. Reaksi yang terjadi :
(Christian, 1986)



Kemudian larutan ditambah alkali pekat untuk memberikan suasana alkali. Amonia yang dibebaskan didestilasi dan ditangkap oleh larutan asam standar berlebih (Christian, 1986). Sisa asam dititrasi dengan basa standar.



Dengan demikian banyaknya atom nitrogen dapat dihitung sebagai berikut :

$$\text{mgrek } NH_3 = \text{mgrek HCl yang bereaksi dengan } NH_3$$

$$= \text{mgrek HCl awal} - \text{mgrek HCl sisa}$$

$$= \text{mgrek HCl awal} - \text{mgrek NaOH}$$

$$(V \times N) NH_3 = (V \times N) HCl \text{ awal} - (V \times N) NaOH$$

$$(V \times n \times M) NH_3 = (V \times n \times M) HCl \text{ awal} -$$

$$(V \times n \times M) NaOH$$

Oleh karena tidak terjadi reaksi redoks, maka n dianggap sebagai valensi, dan karenanya n NH_3 , HCl , dan $NaOH$ masing-masing adalah 1 (satu), maka :

$$(V \times M) NH_3 = (V \times M) HCl \text{ awal} - (V \times M) NaOH$$

$$\text{mmol } NH_3 = (V \times M) HCl \text{ awal} - (V \times M) NaOH$$

$$= x \text{ mmol}$$

Oleh karena 1 molekul NH_3 terdiri dari 1 atom N dan 3 atom H, maka 1 mol molekul NH_3 akan berarti juga terdiri dari 1 mol atom N dan 3 mol atom H. Dengan demikian apabila NH_3 ternyata diketahui sejumlah x mmol, maka itu berarti terdiri dari x mmol atom N dan 3x mmol atom H atau 14 mgram atom N dan 3x mgram atom H.

Destruksi sampel dipercepat dengan penambahan K_2SO_4 untuk menurunkan titik didih dan sebagai katalis sering digunakan Selenium, Merkuri, atau garam tembaga. Jumlah protein yang ada di dalam sampel dihitung dari berat nitrogen hasil analisa dengan mengalikannya dengan faktor gravimetri.

Sebagian besar protein terdiri dari prosentase nitrogen yang hampir sama. Faktor gravimetri yang dipakai untuk mengubah berat N ke berat protein dari protein serum (globulin dan albumin) dan protein dalam bahan-bahan makanan adalah 6.25 (Christian, 1986). Faktor ini dapat dijelaskan sebagai berikut :

$$\% \text{ N dalam protein} = \frac{\text{gr N}}{\text{gr protein}} \times 100 \%$$

Menurut penelitian Kjeldahl (1886), % N dalam protein murni rata-rata adalah 16 % (Christian,

1986). Dengan demikian angka tersebut dapat dipakai sebagai faktor konversi untuk menghitung massa protein berdasarkan massa unsur N, yaitu sebagai berikut :

$$\begin{aligned} \% \text{ N dalam protein} &= \frac{\text{gr N}}{\text{gr protein}} \times 100 \% \\ 16 \% &= \frac{\text{gr N}}{\text{gr protein}} \times 100 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jadi gr protein} &= \text{gr N} \times \frac{100}{16} \\ &= \text{gr N} \times 6,25 \end{aligned}$$

Atau dapat juga dituliskan :

$$\% \text{ N dalam protein} = \frac{(\text{Ar N}) \times z}{\text{Mr protein}} \times 100 \%$$

dengan z = jumlah unsur N dalam protein

Ar N = massa atom relatif unsur N

Mr protein = massa molekul protein

Jika kedua persamaan itu dipersamakan, maka akan diperoleh :

$$\begin{aligned} \frac{\text{gr N}}{\text{gr protein}} &= \frac{(\text{Ar N}) \times z}{\text{Mr protein}} \\ \text{gr protein} &= \text{gr N} \times \frac{\text{Mr protein}}{(\text{Ar N}) \times z} \end{aligned}$$

Jadi faktor gravimetri pada penentuan kadar protein dengan menggunakan metode Kjeldahl adalah :

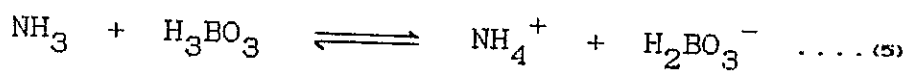
$$\begin{aligned} \text{faktor gravimetri} &= \frac{\text{Mr protein}}{(\text{Ar N}) \times z} \\ &= 6,25 \end{aligned}$$

Pada metode Kjeldahl yang umum, biasanya digunakan 2 larutan standar, larutan asam digunakan untuk menangkap amonia dan basa untuk titrasi kembali (Christian, 1986).

2.5. Modifikasi Kjeldahl - Winkler

Ada beberapa macam modifikasi metode Kjeldahl yang dikemukakan pada penentuan kadar protein. Salah satu yang digunakan pada penelitian ini adalah metode Kjeldahl dengan modifikasi yang dikemukakan oleh Winkler.

Pada modifikasi ini hanya digunakan asam standar untuk titrasi langsung. NH_3 yang dibebaskan, ditampung/ditangkap dalam larutan asam borat 4 %. Pada penangkapan NH_3 dengan asam borat ini akan terjadi reaksi sebagai berikut :
(Christian, 1986)



Asam borat ini terlalu lemah untuk dititrasi, ion borat yang terbentuk ekuivalen dengan jumlah

amonia. Ion borat ini juga merupakan suatu basa Bronsted yang kuat yang dapat dititrasi dengan suatu asam standar hingga titik akhir titrasi, dengan indikator metil merah. Titik ekuivalen ditandai dengan perubahan warna dari kuning (warna basa) menjadi merah (warna asam). Asam borat ini encer dan tidak berwarna dan konsentrasinya tidak perlu diketahui (Christian, 1986).

