



Profil Protein pada Kedelai dan Tempe berbasis *SDS-PAGE*

Soybean and Tempe Protein Profile based on SDS-PAGE

Meka Faizal Farabi¹, Akhmad Mubarok²

^{1,2}Program Studi D4 Teknologi Laboratorium Medis, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Al Irsyad Al Islamiyyah Cilacap
Cilacap, Jawa Tengah, Indonesia
e-mail : mekalchemia@gmail.com

INFO ARTIKEL

Kata Kunci :
Profil protein,
kedelai, tempe,
SDS-PAGE

Keyword :
Protein profile,
soybean, tempe,
SDS-PAGE

ABSTRAK / ABSTRACT

Tempe merupakan salah satu makanan tradisional Indonesia yang kaya gizi. Tempe terbuat dari kedelai (*Glycine max (L.) Merrill.*) yang mengalami fermentasi oleh jamur *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus oryzae* dengan ciri khas produk berwarna putih, tekstur kompak dan flavor khas campuran aroma jamur dan kedelai. Karena adanya proses fermentasi yang mengubah kedelai menjadi tempe, menyebabkan terjadinya perubahan protein kedelai dari yang kompleks menjadi lebih sederhana. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui profil protein kedelai dan tempe dengan variasi lama fermentasi.

Tempe one of traditional food in Indonesia that contain lots of nutrient. Tempe made of soybean (*Glycine max (L.) Merrill.*) that fermented by *Rhizopus oligosporus* and *Rhizopus oryzae* with characteristic of white colored, dense texture and specific flavor mixed aroma of soybean and mushroom. Fermentation processes that change soybean to tempe cause the change of soybean protein from complex to basic. Because of that it's important to do research to find out soybean protein profile and tempe with variation of tempe fermentation duration.

A. PENDAHULUAN

Tanaman kedelai (*Glycine max (L.) Merrill.*) merupakan tanaman yang banyak dibudidayakan di Indonesia, namun tanaman ini bukan merupakan tanaman asli dari Indonesia. Kedelai diperkenalkan oleh pendatang Cina pada permulaan abad 18. Komposisi kimiawi kedelai kering per 100 gram adalah protein 35-54%, lemak 18-32%, karbohidrat 12-30%, kalsium 222 mg dan fosfor 682 mg. Kedelai dapat diolah menjadi berbagai macam produk pangan seperti susu, kecap, tahu dan tempe^[1].

Tempe merupakan salah satu makanan tradisional Indonesia yang kaya gizi. Tempe terbuat dari kedelai yang mengalami fermentasi oleh jamur *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus oryzae* dengan ciri khas produk berwarna putih, tekstur kompak dan flavor khas campuran aroma jamur dan kedelai. Makanan ini banyak diminati masyarakat sebagai lauk-pauk atau camilan yang rasanya khas dan lezat^[2].

Tempe mudah dijumpai pada pasar-pasar tradisional maupun supermarket, harganya yang relatif terjangkau menjadikan tempe pilihan semua kalangan. Tempe berbahan dasar kacang-kacangan sehingga tempe merupakan sumber protein nabati, tak hanya protein nabati, tempe juga memiliki kandungan gizi lainnya seperti lemak nabati dan asam lemak. Tempe juga mengandung mineral yaitu Seng dan Cu^[3].

Proses fermentasi menyebabkan tempe memiliki beberapa keunggulan dibandingkan kedelai, yang dapat dilihat dari komposisi zat gizi secara umum, daya cerna protein dan kandungan asam amino esensial yang lebih tinggi, zat anti gizi yaitu anti trypsin dan asam fitat yang jauh lebih rendah dibanding kedelai. Pada tempe, terdapat enzim-enzim pengurai yang dihasilkan oleh jamur tempe sehingga protein, lemak dan

karbohidrat menjadi lebih mudah dicerna.

Adanya proses fermentasi yang mengubah kedelai menjadi tempe, menyebabkan terjadinya perubahan protein kedelai dari yang kompleks menjadi lebih sederhana^[4]. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui profil protein kedelai dan tempe dengan variasi lama fermentasi guna mengetahui daya cerna dan.

B. METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Chamber elektroforesis, mikro pipet, Power supply, vortex, sarung tangan, tempat pembuangan cairan biologis, centrifuge, water bath, yellow tip, blue tip, Erlenmeyer, rotator.

Bahan terbagi menjadi beberapa komponen, untuk sampel menggunakan kedelai, tempe fermentasi 1-3 hari, dan PBS 1x pH 7,4 sebagai larutan buffernya. Separating gel menggunakan bahan Aquades steril; polyacrylamid 30%; 1,5 M tris (pH 8,8); 10% SDS; 10% APS; TEMED. Stacking gel bahannya adalah Aquades steril; polyacrylamid 30%; 1,0 M tris (pH 6,8); 10% SDS; 10% APS; TEMED, Loading buffer terdiri dari 1,5 M tris (pH 6,8); SDS; DTT; Bromophenol blue; Glycerin dan pewarnaan menggunakan Coomassie Brilliant Blue R-250.

Prosedur Kerja

1. Total Protein Kedelai dan Tempe

Masing-masing sample dihaluskan dalam cawan mortir, ditambahkan PBS 1x pH 7,4 kemudian dihomogenkan, dimasukkan ke dalam mikrotube sebanyak 1500 μ L, selanjutnya disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C, lalu diambil supernatannya dan dibaca

dengan spektrofotometer panjang gelombang 595 nm.

2. Separasi Protein Kedelai dan Tempe menggunakan SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulphate - Polyacrylamid Gel Electrophoresis).

Separasi Protein Kedelai dan Tempe menggunakan SDS-PAGE menurut metode Laemli (1970). Disiapkan glasplate, sisir dan spacer yang telah dibersihkan menggunakan detergen dan alkohol 70% untuk pencetak gel. Setelah alat pencetak gel disiapkan, dilakukan pembuatan separating gel dengan cara dipipet aquadest steril 4900 μL dimasukkan ke dalam erlenmeyer, ditambahkan polyacrylamid 30% 6000 μL , ditambahkan 1,5M tris (pH 8,8) 3800 μL , ditambahkan 10% SDS 150 μL , ditambahkan 10% APS 150 μL , ditambahkan TEMED 6 μL , dihomogenkan dan dimasukkan ke dalam glasplate ditunggu hingga terjadi polimerisasi.

Setelah gel mengeras dilakukan pembuatan stacking gel dengan cara dipipet aquadest steril 2700 μL dimasukkan kedalam erlenmeyer, ditambah polyacrylamid 30% 670 μL , ditambahkan 1,0M tris (pH 6,8) 500 μL , ditambahkan 10% SDS 40 μL , ditambahkan 10% APS 40 μL , ditambahkan TEMED 4 μL , homogenkan. Stacking gel dimasukkan di atas separating gel dengan cepat, dimasukkan sisir diatasnya. Ditunggu hingga terjadi polimerisasi, sisir diangkat dari atas stacking gel secara perlahan.

Setelah terjadi polimerisasi kemudian dimasukkan ke dalam alat elektroforesis, dimasukkan running buffer ke dalamnya, dimasukkan sampel ke dalam sumuran yang telah disediakan 20 μL , diberikan aliran listrik dengan tegangan 100 V, setelah *bromophenol blue* mencapai dasar stacking gel tegangan ditambah menjadi 200 V, aliran listrik dimatikan setelah *bromophenol blue* mencapai dasar separating gel. Gel dikeluarkan dari alat pencetak secara perlahan, kemudian dimasukkan ke dalam larutan pewarna dengan 0,1%

Coomassie Brilliant Blue R-250 selama 30-60 menit hingga pita protein terwarnai. Selanjutnya untuk menghilangkan warna pada gel yang tidak mengandung protein diberi larutan destaining, larutan destaining diganti 3-4 kali hingga gel tampak bersih. Untuk menentukan berat molekul protein yang diinginkan menggunakan R_f dan diplotkan pada grafik logaritma dari R_f marker protein yang berat molekulnya telah diketahui.

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Analisis Kadar Protein

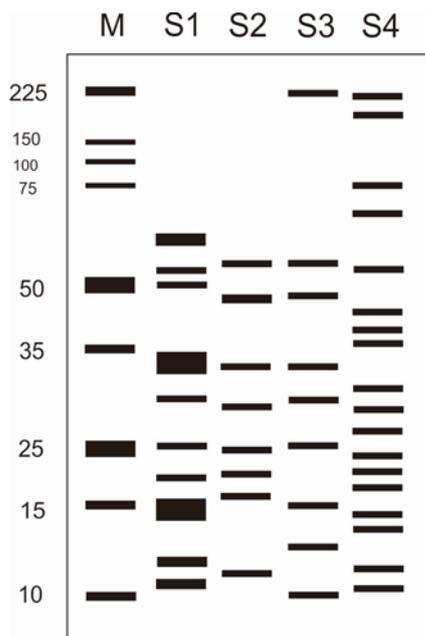
Kadar protein dianalisa menggunakan metode Spektrofotometri dengan cara supernatan diambil 2 μL ditambah 198 μL Biorad Assay dan 800 μL aquadest dimasukkan ke dalam kuvet dan dibaca pada spektrofotometer λ 595 nm. Hasil pembacaan absorbansi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Kadar Protein Total Sampel Kedelai dan Tempe yang Difermentasi Selama 1 hari, 2 Hari dan 3 Hari

Sampel	Absorbansi (λ 595nm)	Kadar Protein ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)
Kedelai	0,220	0,253
Tempe Fermentasi 1 Hari	0,160	0,189
Tempe Fermentasi 2 Hari	0,208	0,241
Tempe Fermentasi 3 Hari	0,346	0,389

2. Hasil Analisis Profil Protein Metode SDS-PAGE

Analisis Profil protein dilakukan dengan metode SDS-PAGE 10% terhadap sampel kedelai, tempe fermentasi 1 hari, tempe fermentasi 2 hari dan tempe fermentasi 3 hari menunjukkan hasil sebagai berikut :



Gambar 1. Visualisasi Hasil SDS-PAGE Kedelai dan Tempe

3. Analisis Profil Protein Metode SDS-PAGE

Sampel dalam bentuk supernatan diseparasi dengan SDS-PAGE dan diwarnai dengan *Coomassie Brilliant Blue* (CBB). Menurut Gunanti^[5] penentuan berat molekul (BM) protein dilakukan dengan menghitung Rf (*Retardation factor*) dari masing-masing pita (*band*) protein dengan rumus sebagai berikut.

$$Rf = \frac{\text{Jarak pergerakan protein dari tempat awal}}{\text{Jarak pergerakan warna dari tempat awal}}$$

Standar pewarnaan CBB diperoleh harga Rf dengan *Marker* yang dapat dilihat pada Tabel 3 berikut:

Tabel 2. Hasil Perhitungan Rf Marker

Marker (kDa)	Rf
225	0,07
150	0,13
100	0,18
75	0,22
50	0,39
35	0,52
25	0,61
15	0,79
10	0,97

Untuk mengetahui Berat Molekul Sampel (BM), Rf yang sudah diketahui nilainya diplotkan pada grafik logaritmik dengan BM (Marker) yang sudah diketahui nilainya.

Dari marker yang diketahui didapat berat molekul sampel berdasarkan harga Rf. Hasil berat molekul sampel dapat dilihat pada Tabel 4 berikut:

Tabel 3. Rf dan Berat Molekul Sampel Kedelai dan Tempe yang Difermentasi Selama 1 hari, 2 Hari dan 3 Hari

Kedelai		Tempe					
Rf	BM	Fermentasi 1 Hari		Fermentasi 2 Hari		Fermentasi 3 Hari	
		Rf	BM	Rf	BM	Rf	BM
0,31	61	0,36	54	0,07	225	0,07	225
0,37	52	0,43	45	0,36	54	0,10	190
0,40	49	0,55	32	0,42	36	0,22	75
0,52	35	0,61	25	0,55	31	0,30	57
0,60	26	0,69	21	0,60	26	0,37	47
0,67	21	0,73	18	0,67	21	0,43	42
0,75	17	0,78	16	0,79	15	0,48	37
0,79	15	0,91	12	0,85	13	0,51	35
0,88	12			0,97	10	0,58	28
0,94	11					0,61	25
						0,64	23
						0,69	20
						0,72	19
						0,75	17
						0,79	15
						0,82	15
						0,90	12
						0,96	10

4. Pembahasan

Reagen *Biorad Assay* berisi pewarna *Coomassie Brilliant Blue* (CBB), asam fosfat dan methanol. CBB dalam kondisi asam akan berwarna merah, jika mengikat protein yang terdapat dalam sampel yang telah direaksikan dengan detergen anionik SDS akan membentuk warna biru yang dapat dibaca pada spektrofotometer dengan λ 595 nm (Compton and Jones, 1985). Kadar protein total dari sampel kedelai 0,253 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, sampel tempe fermentasi 1 hari 0,189 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, sampel tempe fermentasi 2 hari 0,241 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ dan sampel tempe fermentasi 3 hari 0,389 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Kadar protein total tersebut dihitung menggunakan persamaan garis:

$$Y = aX + b$$

$$X = \frac{Y + 0,0157}{0,465}$$

Keterangan :

a : Konstanta

b : Lereng/slope

X : Konsentrasi total protein

Y: Absorbansi

Perubahan sub unit protein terjadi karena adanya proses fermentasi yang mengubah kedelai menjadi tempe, menyebabkan terjadinya perubahan protein kedelai dari yang kompleks menjadi lebih sederhana^[4]. Pada kedelai terdapat protein mayor yang pada proses fermentasi tempe dipecah menjadi protein minor. Semakin lama proses fermentasi sub unit protein tempe akan bertambah jumlahnya.

Proses fermentasi memiliki 3 fase yaitu fase pertumbuhan cepat (0-30 jam fermentasi) jamur tumbuh cepat, terlihat dengan terbentuknya miselia pada permukaan biji yang semakin lama semakin lebat.

Fase transisi (30-50 jam fermentasi) merupakan fase optimal fermentasi tempe. Pada fase ini pertumbuhan jamur hampir tetap atau bertambah sedikit. Kapang menghasilkan enzim-enzim protease yang merombak senyawa kompleks protein menjadi senyawa-senyawa lebih sederhana. Fase pembersihan atau fermentasi lanjutan (50-90 jam fermentasi) terjadi kenaikan jumlah asam lemak bebas, pertumbuhan jamur menurun, dan pertumbuhan jamur terhenti, sehingga terjadi perubahan flavor karena degradasi protein lanjut yang membentuk amonia.

Protein-protein dapat terpisah menjadi sub-sub unit protein karena adanya proses separasi. Protein terpisah menjadi molekul protein berbentuk pita dengan panjang yang sama. Protein diberi gaya listrik untuk melewati medium berisi gel (poliakrilamid). Molekul-molekul dari protein akan bermigrasi dari kutub negatif menuju kutub positif. Pemisahan molekul

protein berdasarkan tingkat migrasi dan berat molekulnya dalam sebuah medan listrik^[6].

Hasil fermentasi yang mengubah gambaran pita protein dari kedelai yang kebanyakan adalah protein Mayor menjadi tempe dengan gambaran pita protein yang Minor menunjukkan adanya penyederhanaan protein yang terkandung. Hal ini menyebabkan tempe dengan lama fermentasi 3 hari lebih mudah dicerna, sejalan dengan penelitian Nurrahman^[2] dan Murtini^[7] yang menyimpulkan bahwa berdasarkan karakteristik kandungan kimia tempe mengandung gizi dan daya cerna yang lebih tinggi dari bahan dasarnya.

KESIMPULAN

Hasil penelitian tentang profil protein pada kedelai dan tempe berbasis SDS-PAGE menunjukkan sub unit protein pada tempe mengalami perubahan dari bahan dasarnya kedelai, dimana kedelai yang terdiri dari beberapa sub unit protein mayor dan protein minor diubah dalam proses fermentasi menjadi sub unit protein minor dan bertambah banyak sesuai lama waktu fermentasi. Perubahan tersebut menambah daya cerna dan kandungan gizi pada tempe.

SARAN

Dari hasil penelitian disarankan untuk mengkonsumsi tempe sebagai sumber protein nabati karena kandungan proteinnya yang sederhana dan mudah dicerna.

UCAPAN TERIMA KASIH

Rasa terima kasih penulis ucapkan kepada dosen pembimbing dan Ibu saya Endang Triwahyuni Maharani, dan teman-teman sejawat yang membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

PUSTAKA

1. Suwasri, Wiwin. 2011. *Tempe dan Aneka Olahannya*. PT. Maraga Borneo Tarigas. Singkawang Kalimantan Barat
2. Nurrahman, Mary Astuti, Suparmo dan Marsetyawan HNE Soesatyo. 2012. Peran Tempe Kedelai Hitam dalam *Meningkatkan* Aktivitas Enzim Antioksidan dan Daya Tahan Limfosit Tikus Terhadap Hidrogen Peroksida In Vivo. Seminar Hasil-Hasil Penelitian. ISBN : 978-602-18809-0-6
3. Utari, D.M. 2010. Kandungan Asam Lemak, Zink, dan Copper pada Tempe, Bagaimana Potensinya untuk Mencegah Penyakit Degeneratif. *Gizi Indonesia*. 33(2): 108-115
4. Nurrahman dan Nurhidajah. 2014. Pengaruh Konsumsi Tempe Kedelai Hitam Terhadap Berat Badan Tikus. Seminar Hasil-Hasil Penelitian & Pengabdian. ISBN : 978-602-18809-1-3
5. Gunanti. 2010. Karakteristik Protein *Lernaea cyprenacea* dengan Metode Elektroforesis SDS-PAGE. Fakultas perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga Surabaya. *Jurnal Ilmial perikanan dan Kelautan* Vol.2 No.2
6. Wibowo, M.S. 2010. *Elektroforesis*. Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung
7. Murtini, E.S., A.G. Radite dan A. Sutrisno. 2011. Karakteristik Kandungan Kimia dan Daya Cerna Tempe Sorgum Coklat (*Sorghum bicolor*). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 21(2): 150-155