

# Asam Amino dan Protein

Dra. Susi Sulistiana, M.Si.



## PENDAHULUAN

---

Modul 1 ini membahas 2 unit kegiatan praktikum, yaitu pemisahan asam amino dengan elektroforesis kertas dan uji kualitatif Buret untuk penentuan protein.

Setelah mempelajari modul ini secara umum Anda diharapkan dapat mengerti cara pemisahan beberapa asam amino dengan elektroforesis kertas dan uji kualitatif untuk penentuan protein dengan metode Biuret.

## KEGIATAN PRAKTIKUM 1

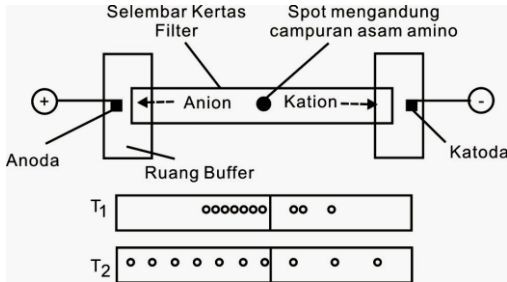
## Pemisahan Asam Amino dengan Elektroforesis Kertas

Ⓐ dapatkah Anda bayangkan bahwa suatu zat yang berada di dalam tubuh kita, yang tampaknya sederhana, ternyata tersusun oleh berbagai partikel dan ion yang bersama-sama menyusun suatu senyawa yang sangat kompleks. Untuk membuktikan hal ini, perlu dilakukan suatu percobaan dengan menggunakan metode Elektroforesis. Elektroforesis merupakan suatu cara untuk memisahkan fraksi-fraksi suatu zat berdasarkan migrasi dari partikel bermuatan atau ion-ion makromolekul di bawah pengaruh medan listrik. Contoh partikel atau molekul bermuatan adalah asam amino, protein, enzim, asam nukleat (DNA), dan ion-ion. Kegunaan elektroforesis adalah, (1) dapat digunakan untuk menentukan berat molekul, misalnya pada sektor industri, pangan, kesehatan, dan sebagainya; (2) mendeteksi terjadinya pemalsuan dan kerusakan bahan pangan, seperti protein dalam pengolahan dan penyimpanan; (3) memisahkan molekul dari berbagai spesies, baik secara kualitatif maupun kuantitatif; (4) menetapkan titik isoelektrik; (5) identifikasi dan klasifikasi.

Tujuan dari praktikum ini, Anda diharapkan dapat melakukan pemisahan asam amino dengan menggunakan metode elektroforesis kertas.

### TEORI

Metode yang paling sederhana untuk memisahkan asam amino adalah dengan elektroforesis kertas. Hal ini dapat dilakukan dengan meneteskan larutan dari campuran asam amino di atas kertas dan dikeringkan. Kertas tersebut dibasahi dengan buffer pada pH tertentu yang berfungsi pembawa larutan asam amino standar atau mengalirkan arus yang bermuatan positif/negatif, kemudian kertas tersebut ditempatkan di antara lempengan pendingin. Ujung kertas dicelup ke dalam kompartemen elektroda. Penggunaan medan listrik dengan aliran listrik searah, memisahkan asam amino berdasarkan muatan listrik total pada pH yang dipergunakan. Asam amino yang bersifat sebagai kation pada pH tersebut akan bergerak menuju katoda atau kutub negatif. Contoh asam amino bermuatan positif adalah lisin,



Gambar 1.4.  
Pemisahan Asam Amino dengan  
Elektroforesis Kertas

arginin, dan histidin. Sedangkan asam amino yang bersifat sebagai anion (misalnya asam aspartat dan asam glutamat) akan bergerak menuju anoda atau kutub positif seperti yang ditunjukkan pada T1. Pada akhir proses T2, kertas dikeringkan, disemprot dengan ninhidrin, dan dipanaskan, akan memperlihatkan letak asam amino. Spot berwarna

biru atau ungu, masing-masing menunjukkan adanya asam amino, akan muncul pada kertas (Gambar 1.4).



## LATIHAN

Untuk memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah latihan berikut!

- 1) Apa yang dimaksud dengan elektroforesis? Jelaskan!
- 2) Sebutkan contoh dari molekul bermuatan!
- 3) Mengapa pada metode elektroforesis kertas memerlukan pH sistem buffer tertentu?

### *Petunjuk Jawaban Latihan*

- 1) Lihat kembali definisi elektroforesis.
- 2) Lihat kembali contoh dari molekul bermuatan.
- 3) Sebab pada metode ini, asam amino akan bermigrasi menuju arah dan kecepatan yang berbeda di sepanjang kertas tergantung dari sistem buffer dan tegangan listrik yang dipergunakan. Selanjutnya lihat kembali uraian mengenai asam amino yang bermuatan negatif dan positif.

**RANGKUMAN**

---

Elektroforesis adalah suatu cara untuk memisahkan fraksi-fraksi suatu zat berdasarkan migrasi partikel bermuatan atau ion-ion makro molekul di bawah pengaruh medan listrik. Metode yang paling sederhana untuk memisahkan asam amino adalah dengan elektroforesis kertas. Asam amino yang termasuk bermuatan positif adalah lisin, arginin, dan histidin. Sedangkan asam amino dan aspartat asam glutamat merupakan asam amino yang bermuatan negatif.

**TES FORMATIF 1**

---

Pilihlah satu jawaban yang paling tepat!

- 1) Kegunaan dari elektroforesis adalah sebagai berikut, *kecuali* ....
  - A. mendeteksi terjadi pemalsuan bahan
  - B. menentukan konsentrasi larutan
  - C. menetapkan titik isoelektrik
  - D. memisahkan spesies molekul yang berbeda
  
- 2) Jika pada elektroforesis kertas digunakan pH 1.0 maka asam amino lisin dan arginin yang mempunyai muatan +2 akan bergerak ... dibanding asam amino lainnya yang bermuatan +1.
  - A. lebih cepat menuju katoda
  - B. lebih lambat menuju katoda
  - C. tinggal pada titik asal
  - D. lebih cepat menuju anoda
  
- 3) Adanya asam amino maka pada kertas, spot akan berwarna ....
  - A. kuning
  - B. hijau
  - C. biru
  - D. merah

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes Formatif 1 yang terdapat di bagian akhir modul ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Kegiatan Praktikum 1.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan: 90 - 100% = baik sekali

80 - 89% = baik

70 - 79% = cukup

< 70% = kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan dengan Kegiatan Praktikum 2. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi Kegiatan Praktikum 1, terutama bagian yang belum dikuasai.

## A. PELAKSANAAN PRAKTIKUM

### 1. Alat

- a. Kertas saring, mikropipet 1,5, dan 10  $\mu$ l, alat elektroforesis (mendatar).
- b. Botol semprot, oven 100°C, gunting, pinset.

### 2. Bahan:

- a. Campuran beberapa asam amino
- b. Buffer tris 0.07 M pH 7.6 (larutkan 8.47 g tris (hidroksimetil) amino metan ke dalam 1 liter air. pH diusahakan menjadi 7.6 dengan penambahan HCl pekat. Simpan pada suhu 40°C).
- c. Pewarna ninhidrin.
- d. n-butanol untuk melarutkan ninhidrin.

### 3. Prosedur

- a. Persiapkan kompartemen / ruang pada alat elektroforesis dengan buffer tris 0.07 M pH 7.6. Usahakan permukaannya yang merata!
- b. Buat garis awal di tengah-tengah kertas elektroforesis. Garis ini dibuat pada ujung kertas saja, dan tidak pada keseluruhan kertas. Gunakan pensil, buat tanda (+) dan (-) pada ujung yang mengarah ke katoda (-) dan anoda (+). Tempatkan kertas pada alat elektroforesis. Letakkan 10 - 20  $\mu$ l larutan asam amino (1.0 mg/ml buffer tris) pada garis awal (hanya di daerah tengah, dan tidak sampai ke pinggir).
- c. Basahilah kertas dengan buffer, gunakan pipet. Mulailah dari masing-masing ruang elektroforesis, mengarah ke garis awal. Hentikan pembasahan ini dalam jarak beberapa cm dari garis awal. Pembasahan harus merata.
- d. Sesudah seluruh kertas basah, pasang aliran listrik. Lakukan elektroforesis selama 3 jam pada 8 volt/cm panjang kertas. Jika panjang kertas Anda 20 cm, gunakan 160 volt. Hati-hati dalam penggunaan alat ini!
- e. Bila proses ini selesai, matikan sumber listrik, angkat kertasnya.

- f. Semprot kertas dengan ninhidrin. Kemungkinan kertas perlu diangin-anginkan di udara terbuka selama semalam, atau panaskan pada suhu 100 °C selama 5 - 10 menit. Kita dapat juga melakukan pemanasan di dalam oven setelah diangin-anginkan selama semalam. Spot asam amino akan muncul sebagai warna biru.
- g. Amati Rf masing-masing spot. Bandingkan dengan pustaka atau tabel berikut ini.

Tabel 1.2. Rf dan Warna Asam Amino dengan ninhidrin

Asam Amino	Rf (x 100) dalam BAA = n butanol - asam asetat - air 4:1:1	Warna dengan Ninhidrin
Glisin	18	merah lembayung
Alanin	22	
Serin	18	
Sistein	10	lembayung
Treonin	20	
Valin	32	
Leusin	44	lembayung
Isoleusin	43	
Metionin	35	
As. Aspartat	17	biru lembayung coklat jingga
Asparagin	14	
As. Glutamat	24	lembayung
Glutamin	15	
Arginin	6	
Lisin	3	kuning
Prolin	14	
Fenilalanin	43	
Tirosin	41	lembayung kelabu
Triptofan	47	
Histidin	5	

## B. PETUNJUK PELAKSANAAN PRAKTIKUM

Satu Kelompok terdiri atas minimal 5-10 mahasiswa. Setiap kelompok mengerjakan satu set praktikum ini (Kegiatan Praktikum 1).

### C. PETUNJUK PENULISAN LAPORAN PRAKTIKUM

Laporan diketik di atas kertas kuarto dengan jarak 1,5 spasi. Format laporan adalah sebagai berikut:

- I. Pendahuluan
- II. Tinjauan Pustaka
- III. Alat, Bahan, dan Cara Kerja
- IV. Hasil dan Pembahasan. Pembahasan mengemukakan hasil yang diperoleh dan pembahasan atas hasil tersebut
- V. Kesimpulan
- VI. Daftar Pustaka

### D. PENYERAHAN LAPORAN

Laporan dikumpulkan sesuai dengan jadwal yang ditentukan oleh instruktur.



## KEGIATAN PRAKTIKUM 2

## Uji Kualitatif Biuret untuk Penentuan Protein

Protein adalah suatu polipeptida yang mempunyai berat molekul yang sangat bervariasi, dari 5.000 hingga lebih dari satu juta. Di samping berat molekul yang berbeda-beda, protein mempunyai sifat yang berbeda pula, seperti protein yang mudah larut dalam air dan protein yang sukar larut dalam air. Contohnya rambut dan kuku, adalah suatu protein yang tidak larut dalam air dan tidak mudah bereaksi, sedangkan protein yang terdapat dalam bagian putih telur termasuk protein yang mudah larut dalam air dan mudah bereaksi.

Protein merupakan polimer yang tersusun oleh banyak asam amino yang saling dihubungkan oleh rantai amida. Asam amino merupakan molekul organik yang mengandung gugus karbonyl ( $-\text{COOH}$ ) dan gugus amin ( $-\text{NH}_2$ ). Gugus amin ( $-\text{NH}_2$ ) bersifat basa karena dapat menerima  $\text{H}^+$  dan gugus karbonyl ( $-\text{COOH}$ ) bersifat asam karena dapat memberikan ion  $\text{H}^+$ .

Tujuan dari praktikum ini, Anda diharapkan dapat melakukan uji kualitatif penentuan protein dengan metode Biuret.

### TEORI

Berdasarkan struktur dasarnya, protein terdiri dari 4 tingkat, yaitu struktur primer, struktur sekunder, struktur tersier, dan struktur kuartener. Struktur primer protein merupakan struktur yang paling sederhana, terbentuk oleh ikatan peptida atau bila ada ikatan disulfida. Di dalam struktur sekunder, asam amino tidak hanya dihubungkan oleh ikatan peptida, tetapi juga diperkuat oleh ikatan hidrogen antar atom oksigen dari gugus karbonyl, dengan atom hidrogen dari gugus amino dalam suatu rantai polipeptida. Kemudian struktur tersier protein, merupakan struktur protein yang lebih rumit karena struktur ini terbentuk bila terjadi pelipatan (**fold**ing) pada konformasi heliks ( $\beta$ ), sedangkan struktur kuartener terbentuk di dalam suatu molekul protein karena penggabungan 2 atau lebih struktur tersier sehingga membentuk molekul yang sangat besar.

Adanya protein dalam larutan dapat diketahui dengan uji kualitatif Biuret. Uji Biuret ini dapat mengidentifikasi semua protein larutan yang

mengandung dua atau lebih ikatan peptida. Bila larutan protein ditempatkan pada larutan bersifat basa, dan direaksikan dengan kupri sulfat ( $\text{CuSO}_4$ ) akan menghasilkan warna merah jambu sampai biru ungu.



## LATIHAN

---

Untuk memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah latihan berikut!

- 1) Ada berapa tingkat struktur dasar protein, sebutkan!
- 2) Jelaskan yang dimaksud dengan protein sederhana dan protein gabungan!
- 3) Selain memiliki besar molekul yang berbeda, karakteristik apa yang membedakan antarjenis protein? Jelaskan!

### *Petunjuk Jawaban Latihan*

- 1) Ada 4 tingkat, yaitu struktur primer, sekunder, tersier, dan kuarternier.
- 2) Lihat kembali uraian tentang definisi protein sederhana dan protein gabungan.
- 3) Karakteristiknya bahwa protein mempunyai sifat-sifat yang berbeda. Untuk lebih rinci lihat kembali uraian materinya!



## RANGKUMAN

---

Protein adalah suatu polipeptida yang mempunyai berat molekul yang sangat bervariasi, dari 5000 hingga lebih dari satu juta. Protein juga merupakan polimer yang tersusun oleh banyak asam amino yang saling berhubungan oleh rantai amida. Ada empat tingkat struktur dasar protein, yaitu struktur primer, sekunder, tersier, dan kuarternier. Struktur primer menunjukkan jumlah, jenis, dan urutan asam amino dalam molekul protein. Dan dari segi strukturnya, protein dapat dibagi dalam dua golongan, yaitu golongan protein sederhana dan protein gabungan.

**TES FORMATIF 2**

---

Pilihlah satu jawaban yang paling tepat!

- 1) Unit terkecil penyusun protein adalah ....
  - A. asam amino
  - B. gliserida
  - C. monosakarida
  - D. asam lemak
  
- 2) Asam amino mempunyai gugus karbonil dan gugus ....
  - A. alkohol
  - B. amin
  - C. keton
  - D. aldehid
  
- 3) Untuk uji kualitatif protein dilakukan uji Biuret yang menggunakan larutan  $\text{CuSO}_4$  dalam keadaan basa yang memberikan hasil positif bila menghasilkan warna ....
  - A. coklat tua
  - B. kuning
  - C. merah jambu - biru ungu
  - D. hijau

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes Formatif 2 yang terdapat di bagian akhir modul ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Kegiatan Praktikum 2.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan: 90 - 100% = baik sekali  
80 - 89% = baik  
70 - 79% = cukup  
< 70% = kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan dengan materi selanjutnya. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi Kegiatan Praktikum 2, terutama bagian yang belum dikuasai.

## **A. PELAKSANAAN PRAKTIKUM**

### **1. Alat**

- a. Tabung reaksi
- b. Pipet tetes
- c. Pengaduk/spatula

### **2. Bahan**

- a. 2% albumin atau putih telur
- b. Gelatin
- c. Kaldu
- d.  $\text{CuSO}_4$  0.5%
- e. NaOH 6 M

### **3. Prosedur**

- a. Larutan yang akan diuji adalah 2% albumin atau putih telur, gelatin, dan kaldu.
- b. Ambil masing-masing larutan tersebut sebanyak 3 ml masukkan ke dalam tabung reaksi dan berilah label.
- c. Pada setiap tabung reaksi tambahkan 15 tetes NaOH 6 M.
- d. Kemudian masukkan 5 - 10 tetes larutan  $\text{CuSO}_4$  0.5 %, aduk dengan baik. Amati apa yang terjadi dan catat hasil pengamatan Anda.

## **B. PETUNJUK PELAKSANAAN PRAKTIKUM**

Satu Kelompok terdiri dari minimal 5-10 mahasiswa. Setiap kelompok mengerjakan satu set praktikum.

## **C. PETUNJUK PENULISAN LAPORAN PRAKTIKUM**

Laporan diketik di atas kertas kuarto dengan jarak 1,5 spasi. Format laporan adalah sebagai berikut:

- I. Pendahuluan
- II. Tinjauan Pustaka
- III. Alat, Bahan, dan Cara Kerja
- IV. Hasil dan Pembahasan

Pembahasan mengemukakan hasil yang diperoleh dibandingkan dengan pustaka

V. Kesimpulan

VI. Daftar Pustaka

#### **D. PENYERAHAN LAPORAN**

Laporan dikumpulkan sesuai dengan jadwal yang ditentukan oleh instruktur.

## Kunci Jawaban Tes Formatif

### *Tes Formatif 1*

- 1) B
- 2) A
- 3) C

### *Tes Formatif 2*

- 1) A
- 2) B
- 3) C