

## Protein content of soybean tempeh in different primary packaging materials and storage parameters

### Kandungan protein tempe kedelai yang berbeda bahan pengemas primer dan parameter penyimpanan

Nurkholifah Pujiastuti<sup>a</sup>, Broto Santoso<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of pharmacy, Muhammadiyah University of Surakarta, Central Java, Indonesia.

\*Corresponding Authors: [broto.santoso@ums.ac.id](mailto:broto.santoso@ums.ac.id)

#### Abstract

Soybean tempeh products are in great demand by most Indonesian people. The most of producers use plastic as packaging material, but some of them use natural materials such as banana leaves and teak. Soybean tempeh packaged with leaves is more popular with the public than plastic because it has a distinctive aroma and a savory taste. This study aims to determine the differences in protein content in soybean tempeh with different primary packaging materials with raw soybeans as a comparison. The three tempeh packages were produced using raw soybeans and under the same conditions. The protein content of the samples was determined by the Lowry reaction at a wavelength of 748.5 nm. This method has been determined for its validity through repeatability, linearity, and accuracy tests. Together with raw soybeans, samples that had been stored in the freezer were measured for their protein content at two different times. The Lowry method used is valid because all parameters have met the acceptance requirements where  $r^2$  linearity = 0.9954-0.9972 ( $> 0.9950$ ); %RSD repeatability = 0.291-0.768 ( $< 2\%$ ); and %recovery accuracy = 98.769-101.118% (80-120%). The average results of the protein content of raw soybeans, plastic-packaged soybean tempeh, banana leaves, and teak leaves on the 11<sup>th</sup> day were 5.531-7.967% while on the 35<sup>th</sup> day it was 5.881-7.972%. The results of the One-Way ANOVA statistical test with sig = 0.0001 ( $p < 0.05$ ) so it can be said that there is a significant difference between soybean tempeh with different primary packaging materials.

**Keywords:** Protein, Soybean Tempeh, Lowry Method, Primary Packaging Materials

#### Abstrak

Produk tempe kedelai digemari masyarakat Indonesia. Produk ini didapati dominan dengan pembungkus plastik, namun masih ditemukan dengan pembungkus daun seperti daun pisang atau daun jati. Tempe dengan kedua bungkus daun lebih disukai karena aromanya yang khas dengan rasanya yang lebih gurih. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan kandungan protein pada tempe kedelai yang berbeda bahan pengemas primer dengan kedelai mentah sebagai perbandingan. Ketiga tempe kemasan tersebut diproduksi menggunakan kedelai mentah dan dalam kondisi yang sama. Kandungan protein sampel telah ditetapkan secara reaksi Lowry pada panjang gelombang 748,5 nm. Metode ini telah dilakukan penentuan validitasnya melalui uji keberulangan, linieritas, dan akurasi. Bersama dengan kedelai mentah, sampel yang telah disimpan di dalam freezer telah diukur kandungan proteinnya di dua waktu yang berbeda. Metode Lowry yang digunakan sudah valid karena semua parameter sudah memenuhi syarat keberterimaan dimana  $r^2$  linieritas = 0,9954-0,9972 (tidak kurang dari 0,980); %RSD keberulangan = 0,291-0,768 (tidak lebih dari 2%); dan persen perolehan kembali = 98,77-101,12% (80-120%). Hasil rata-rata kadar protein kedelai mentah, tempe kedelai kemasan plastik, daun pisang, dan daun jati pada hari ke-11 yaitu 5,531-7,967% sedangkan hari ke-35 yaitu 5,881-7,972%. Hasil uji statistika *One-Way ANOVA* dengan hasil sig = 0,000 ( $p < 0,05$ ) sehingga dapat dikatakan adanya perbedaan yang signifikan antara tempe kedelai yang berbeda bahan pengemas primer.

**Kata Kunci:** Protein, Tempe Kedelai, Metode Lowry, Bahan Pengemas Primer



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

#### Article History:

Received: 02/12/2024  
Revised: 13/01/2025  
Accepted: 15/01/2025,  
Available Online: 15/01/2025.

#### QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v8i1.718>

## Pendahuluan

Setiap individu memiliki salah satu aspek yang menjadi prioritas di hidupnya yaitu kesehatan [1]. Secara alamiah kualitas fisik dan daya tahan tubuh seseorang dapat menurun seiring bertambahnya usia karena berkurangnya aktivitas fisik, hilangnya massa otot secara progresif, dan penurunan kekuatan otot secara bersamaan [2]. Seseorang yang mengonsumsi makanan sumber protein dapat menjaga pertumbuhan dan pemeliharaan jaringan yang ada di dalam tubuh. Sumber protein yang terdapat pada makanan dibagi menjadi dua yaitu protein hewani dan protein nabati. Contoh sumber protein hewani yaitu daging, ikan, telur, susu, ayam [3]. Contoh sumber protein nabati yaitu kacang-kacangan seperti kacang kedelai, kacang merah, kacang hijau dan lain-lain.

Kacang-kacangan dianggap sebagai pilihan sumber protein nabati terbaik karena mengandung karbohidrat, protein, energi, vitamin, mineral, dan seratnya yang melimpah. Salah satu jenis kacang-kacangan yang terkenal di Indonesia sebagai sumber protein dan nutrisi yaitu kacang kedelai dalam bentuk produk tempe [4]. Kacang kedelai dalam 100 gram mengandung protein sebesar 34,9 gram. Kacang kedelai dapat diolah menjadi salah satu produk olahan makanan yaitu tempe kedelai. Tempe kedelai memiliki kandungan protein yang cukup tinggi yaitu dalam 100 gram mengandung 18,3 gram protein setara dengan protein dalam 100 gram daging sebesar 18,8 gram [5]. Tempe kedelai memiliki standar kandungan protein menurut SNI 3144:2015 yaitu 15% [29].

Tempe kedelai dapat dibuat dengan melalui proses pencucian, perebusan, perendaman, peragian (fermentasi), dan pengemasan. Proses pengemasan produk akhir tempe kedelai merupakan suatu hal yang harus diperhatikan untuk menjaga mutu, kerapian, kebersihan, dan kandungan suatu produk sehingga kemasan harus menggunakan bahan yang tidak membahayakan kesehatan. Kemasan dibagi menjadi dua, yaitu kemasan organik dan anorganik. Kemasan organik berasal dari bahan alami yang dapat terurai (*degradable*) di lingkungan [6]. Contoh kemasan organik yaitu daun pisang, daun jati, daun waru, kertas, dan lain-lain. Kemasan anorganik berasal dari bahan kimia yang membutuhkan waktu lama untuk terurai (*undegradable*). Contoh kemasan anorganik yaitu plastik, kaca, dan *styrofoam*. Hampir di seluruh Indonesia plastik dapat digunakan sebagai bahan pengemas primer tempe kedelai karena lebih efektif, efisien, ringan, kuat, dan awet [7]. Daun pisang disenangi oleh sebagian besar masyarakat karena memiliki aroma yang khas, umur simpan yang lebih lama, dan mudah ditemukan di hampir seluruh wilayah Indonesia [8]. Daun jati juga memiliki aroma khas, permukaan daun yang kasar, dan biasanya ditemukan di Jawa Tengah dan Jawa Timur [9].

Hasil penelitian sebelumnya melakukan penelitian mengenai pengaruh bahan pengemas terhadap kadar protein tempe kedelai. Penelitian tersebut memberikan hasil bahwa jenis bahan pengemas memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar protein pada tempe kedelai dengan hasil kadar protein pada tempe kemasan daun pisang sebesar 5,1624% dan tempe kemasan plastik sebesar 4,3291% [10]. Berbeda dengan

penelitian sebelumnya, penelitian ini juga mengukur kandungan protein pada kedelai mentah (yang telah melewati proses pencucian, perendaman, perebusan, dan sebelum diberikan ragi tempe). Selain itu, pada penelitian ini juga memperhatikan parameter penyimpanan tempe kedelai seperti suhu, kelembapan, lama fermentasi, dan tempat penyimpanan. Perbedaan jenis bahan pengemas primer tempe kedelai jika dilihat dari nilai ekonomis dan kemudahannya, pengemas plastik lebih dipilih. Bahan pengemas tempe kedelai dari daun juga banyak diminati oleh masyarakat karena memiliki aroma khas dan rasa yang lebih gurih. Perbedaan bahan pengemas primer tempe kedelai ini yang menjadi rumusan masalah penelitian ini untuk mengetahui perbedaan kandungan protein pada tempe kedelai yang berbeda bahan pengemas primer dan parameter penyimpanan.

## Metode Penelitian

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1280), Centrifuge PLC Series, kuvet (Hellme), neraca analitik (Ohaus), pipet volume (1 mL dan 5 mL), mikropipet (100-1000  $\mu$ L; 20-200  $\mu$ L) (Soccorex), Vortex (Barnstead M376-33Q), alat-alat gelas (Pyrex), seperti gelas beaker (50 mL, 100 mL, 250 mL), labu takar (5 mL dan 10 mL), gelas ukur, cawan porselin, batang pengaduk, corong kaca, pipet tetes, blender, sendok tanduk, dan kertas saring.

Bahan yang digunakan yaitu kedelai mentah, tempe kedelai dengan bahan pengemas daun jati, daun pisang, dan plastik, *Bovine Serum Albumin* (Central Drug House P Ltd.), KNa Tartrat (Merck KGaA),  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (Merck KGaA), NaOH 1 N (Merck KGaA),  $\text{CuSO}_4$  (Merck KGaA), larutan pereaksi *Folin-Ciocalteu* (Merck KGaA), dan akuades.

### Orientasi Sampel

Observasi dan wawancara terhadap produsen telah dilakukan sebelum proses pengukuran kadar protein pada tempe kedelai. Hal ini ditujukan untuk memastikan bahwa parameter sumber tempe, kondisi fermentasi telah dilakukan dengan kondisi yang sama pada semua sampel. Kegiatan ini dilakukan kepada salah satu produsen tempe kedelai di Kabupaten Sragen. Penetapan kandungan protein pada kedelai mentah ini menggunakan kedelai yang sama (asal dan waktu pengadaan) dengan pembuatan tempe yang dikemas dengan plastik, daun pisang, dan daun jati.

### Parameter Produksi Tempe Kedelai

Proses pembuatan tempe kedelai dari kedelai mentah hingga menjadi tempe siap olah dan siap jual, perlu memperhatikan beberapa parameter saat proses penyimpanan tempe kedelai. Setelah melakukan observasi dan wawancara dengan seorang produsen tempe kedelai di Kabupaten Sragen, parameter penyimpanan yang perlu diperhatikan saat menyimpan kedelai hingga menjadi tempe kedelai yaitu suhu, kondisi lingkungan atau kelembapan, tempat penyimpanan, dan lama fermentasi. Setelah mengetahui waktu yang dibutuhkan untuk fermentasi kedelai hingga menjadi tempe kedelai pada setiap jenis bahan pengemas, maka dapat mengambil sampel tempe kedelai yang siap diolah dan dijual lalu dapat melakukan penetapan kadar protein pada masing-masing tempe kedelai [30].

### Parameter Penyimpanan

Sampel kedelai mentah, tempe kedelai yang dikemas dengan plastik, daun pisang, dan daun jati disimpan di dalam *freezer*. Sampel tersebut ditetapkan kadarnya pada hari ke-11 dan hari ke-35 setelah tempe kedelai siap diolah [11].

### Pembuatan Larutan Pereaksi Lowry A, B, C, dan Larutan Baku BSA 0,1%

Prosedur pembuatan larutan pereaksi Lowry A, B, C, dan baku BSA 0,1% telah dilakukan oleh penelitian sebelumnya [10]. Pembuatan Larutan Pereaksi Lowry A dilakukan dengan menimbang 200 mg kalium natrium tartarat, 1 gram  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , dilarutkan dalam 10 mL NaOH 1 N, kemudian ditambahkan akuades hingga 100 mL. Pembuatan Larutan Pereaksi Lowry B dilakukan dengan menimbang 2 gram K Na tartrat dan 1 gram  $\text{CuSO}_4$  dilarutkan dalam 90 mL akuades, kemudian ditambahkan 10 mL NaOH 1 N. Pembuatan Larutan Pereaksi Lowry C dengan mengambil 1 mL larutan pereaksi *Folin-Ciocalteu* dan dilarutkan dengan

15 mL akuades. Pembuatan Larutan Baku BSA 0,1% dengan menimbang serbuk *Bovine Serum Albumin* (BSA) 10 mg dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian dilarutkan dengan akuades hingga tanda batas [10].

### **Pembuatan Larutan Blanko**

Diambil 500  $\mu$ L akuades dan ditambahkan 450  $\mu$ L larutan pereaksi Lowry A, 50  $\mu$ L larutan pereaksi Lowry B, dan 1,50 mL larutan pereaksi Lowry C. Setiap penambahan larutan pereaksi Lowry digojog hingga homogen dan didiamkan selama 10 menit, kemudian ditambahkan akuades hingga tanda batas dan dihomogenkan dengan vortex [10].

### **Penentuan Panjang Gelombang Maksimal**

Penentuan panjang gelombang maksimal telah dilakukan dengan modifikasi dari penulis untuk volume penambahan larutan pereaksi Lowry B menjadi 1000  $\mu$ L untuk menghasilkan intensitas larutan warna yang diinginkan. Diambil 1 mL larutan BSA 0,1% dan dimasukkan ke labu ukur 5 mL, kemudian ditambahkan 500  $\mu$ L akuades dan 450  $\mu$ L larutan pereaksi Lowry A, 1000  $\mu$ L larutan pereaksi Lowry B, dan 1,50 mL larutan pereaksi Lowry C. Setiap penambahan larutan pereaksi Lowry digojog hingga homogen dan didiamkan selama 10 menit, kemudian ditambahkan akuades hingga tanda batas dan dihomogenkan dengan vortex. Kemudian diukur absorbansinya pada rentang panjang gelombang 400–800 nm. Hasil panjang gelombang maksimal pada penelitian sebelumnya yaitu 741 nm [10].

### **Penentuan Operating Time (OT)**

Pembuatan larutan OT dilakukan dengan mengambil 1 mL larutan BSA 0,1% lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL, kemudian ditambahkan 450  $\mu$ L larutan pereaksi Lowry A, 1000  $\mu$ L larutan pereaksi Lowry B, dan 1,50 mL larutan pereaksi Lowry C. Setiap penambahan larutan pereaksi Lowry digojog hingga homogen dan didiamkan selama 10 menit, kemudian ditambahkan akuades hingga tanda batas dan dihomogenkan dengan vortex lalu dibaca absorbansinya pada rentang 1-60 menit dengan interval 1 menit [10].

### **Pembuatan Kurva Baku**

Pembuatan kurva baku standar BSA 0,1% dilakukan dengan mengikuti cara penelitian sebelumnya dengan modifikasi rentang konsentrasi menjadi 5-180 ppm. Masing-masing konsentrasi larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL, lalu ditambahkan 500  $\mu$ L akuades dan 450  $\mu$ L larutan pereaksi Lowry A, 800  $\mu$ L larutan pereaksi Lowry B, dan 1,50 mL larutan pereaksi Lowry C. Setiap penambahan larutan pereaksi Lowry digojog hingga homogen dan didiamkan selama 10 menit, kemudian ditambahkan akuades hingga tanda batas dan dihomogenkan dengan vortex. Larutan didiamkan selama 21 menit pada suhu kamar sebagai *Operating Time* (OT), kemudian masing-masing konsentrasi larutan diukur absorbansinya [10].

### **Preparasi Sampel**

Kedelai mentah, plastik, daun pisang dan jati diperlakukan sama dengan cara ditimbang 1 gram kemudian dihaluskan dengan mortir hingga halus. Sampel yang sudah halus dilarutkan dalam 5 mL akuades [10].

### **Penentuan Parameter Linieritas**

Validasi metode linieritas telah dilakukan dengan modifikasi dari penulis untuk volume penambahan larutan pereaksi Lowry B menjadi 800  $\mu$ L. Parameter linieritas dilakukan untuk mendapatkan 7 seri kadar dengan rentang 0,5-1,2 gram untuk semua sampel. Sampel tersebut dilarutkan dalam 5 mL akuades lalu disaring untuk mendapatkan larutan yang jernih. Sejumlah 0,5 mL larutan ini dilarutkan dalam 5 mL akuades, diambil 400  $\mu$ L larutan hasil lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL. Larutan terakhir ini ditambahkan 450  $\mu$ L larutan pereaksi Lowry A, 800  $\mu$ L larutan pereaksi Lowry B, dan 1,50 mL larutan pereaksi Lowry C. Setiap penambahan larutan pereaksi Lowry digojog hingga homogen dan didiamkan selama 10 menit, kemudian ditambahkan akuades hingga tanda batas lalu dihomogenkan dengan vortex. Larutan didiamkan selama 21 menit pada suhu kamar kemudian diukur absorbansinya [10].

### Penentuan Parameter Keberulangan

Validasi metode keberulangan telah dilakukan dengan modifikasi dari penulis untuk volume penambahan larutan pereaksi Lowry B menjadi 800  $\mu$ L. Masing-masing sampel ditimbang 1 gram kemudian dilarutkan dalam 5 mL akuades dan disaring untuk diambil larutan yang jernih. Sejumlah 0,5 mL larutan ini dilarutkan dalam 5 mL akuades, diambil 400  $\mu$ L larutan hasil lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL. Larutan terakhir ini ditambahkan 450  $\mu$ L larutan pereaksi Lowry A, 800  $\mu$ L larutan pereaksi Lowry B, dan 1,50 mL larutan pereaksi Lowry C. Setiap penambahan larutan pereaksi Lowry digojog hingga homogen dan didiamkan selama 10 menit, kemudian akuades hingga tanda batas lalu dihomogenkan dengan vortex. Larutan didiamkan selama 21 menit pada suhu kamar kemudian diukur absorbansinya dan diulangi hingga 10 kali replikasi [10].

### Penentuan Parameter Akurasi

Validasi metode akurasi dilakukan dengan menimbang masing-masing sampel 0,6 gram kemudian dilarutkan dalam 5 mL akuades disaring untuk diambil larutan yang jernih. Sejumlah 0,5 mL larutan ini dilarutkan dalam 5 mL akuades, diambil 400  $\mu$ L larutan hasil lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL. Setiap sampel dibagi menjadi 4 kelompok percobaan. Kelompok 1 (penambahan 0  $\mu$ L) dan kelompok 2-4 (penambahan 200-300  $\mu$ L). Kelompok 1 menambahkan 450  $\mu$ L larutan pereaksi Lowry A, 800  $\mu$ L larutan pereaksi Lowry B, dan 1,50 mL larutan pereaksi Lowry C. Setiap penambahan larutan pereaksi Lowry digojog hingga homogen dan didiamkan selama 10 menit, kemudian akuades hingga tanda batas lalu dihomogenkan dengan vortex. Larutan didiamkan selama 21 menit pada suhu kamar lalu diukur absorbansinya dan dilakukan replikasi 3 kali. Untuk kelompok 2, 3, dan 4 masing-masing ditambahkan larutan baku BSA 0,1% dengan rentang penambahan 200-300  $\mu$ L terlebih dahulu dan digojog hingga homogen, kemudian sampel tersebut diukur absorbansinya [10].

### Penetapan Kadar Protein

Pengukuran kadar protein dilakukan dengan menimbang masing-masing sampel 1 gram dan dilarutkan dalam 5 mL akuades dan disaring untuk diambil larutan yang jernih. Sejumlah 0,5 mL larutan ini dilarutkan dalam 5 mL akuades, diambil 400  $\mu$ L larutan hasil lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL. Larutan terakhir ini ditambahkan 450  $\mu$ L larutan pereaksi Lowry A, 800  $\mu$ L larutan pereaksi Lowry B, dan 1,50 mL larutan pereaksi Lowry C. Setiap penambahan larutan pereaksi Lowry digojog hingga homogen dan didiamkan selama 10 menit, kemudian akuades hingga tanda batas lalu dihomogenkan dengan vortex. Larutan didiamkan selama 21 menit pada suhu kamar kemudian diukur absorbansinya dan diulangi hingga 4 kali replikasi [10].

### Analisis Data

Analisis data menggunakan uji statistik *One-Way ANOVA* dikarenakan variabel yang digunakan lebih dari 2 dan digunakan untuk membandingkan perbedaan kelompok perlakuan. Uji *One-Way ANOVA* dilakukan dengan menggunakan *software GraphPad Prism* secara *online*. Interpretasi hasil uji statistik dilihat dari nilai signifikansi yang dibandingkan dengan nilai P. Jika nilai P lebih dari 0,05 maka dapat dikatakan terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok percobaan [31].

### Hasil dan Diskusi

Metode Lowry didasarkan pada reaksi biuret dengan larutan pereaksi tambahan yang berfungsi untuk meningkatkan sensitivitas deteksi. Pada reaksi biuret, tembaga berinteraksi dengan empat atom nitrogen peptida yang kemudian membentuk  $\text{Cu}^{2+}$ . Asam fosfomolibdat atau fosfotungstat yang ditambahkan pada metode lowry dikenal sebagai larutan pereaksi *Folin-Ciocalteu*. Larutan pereaksi *Folin-Ciocalteu* bersifat reaktif hanya untuk waktu yang singkat setelah penambahan [12]. Larutan pereaksi *Folin-Ciocalteu* untuk mendeteksi  $\text{Cu}^{2+}$  yang tereduksi. Hal ini menyebabkan uji Lowry hampir 100 kali lebih sensitif daripada hanya dengan reaksi Biuret tunggal [13]. Larutan pereaksi ini dapat menghasilkan warna biru-hijau karena adanya interaksi antara ion  $\text{Cu}^{2+}$  dengan rantai samping tirosin, triptofan, dan sistein [12]. Warna ini terbentuk karena pergeseran elektronik yang melibatkan elektron valensi ke elektron lain [13]. Warna biru-hijau yang dihasilkan ini menyebabkan uji protein dapat dideteksi pada panjang gelombang 650 nm-750 nm [12].

### Preparasi Sampel

Tempe kedelai yang digunakan sebagai sampel penelitian diperoleh dari seorang produsen tempe kedelai di Kabupaten Sragen. Setelah melakukan wawancara dan observasi, produsen tersebut memproduksi tempe kedelai dengan kemasan plastik, daun pisang, dan daun jati. Jenis kedelai yang digunakan yaitu kedelai lokal. Kedelai mentah (yang telah melewati proses pencucian, perendaman, perebusan, dan sebelum diberikan ragi tempe) juga diukur kadar proteinnya. Hal ini digunakan untuk membandingkan kandungan protein kedelai sebelum diolah dengan setelah diolah. Tujuan pengambilan tempe kedelai pada satu produsen yaitu agar tidak terdapat perbedaan perlakuan dan pengolahan pada tempe kedelai sehingga pada saat pengukuran kadar protein menggunakan satu *batch* produk yang sama.

### Parameter Produksi Tempe

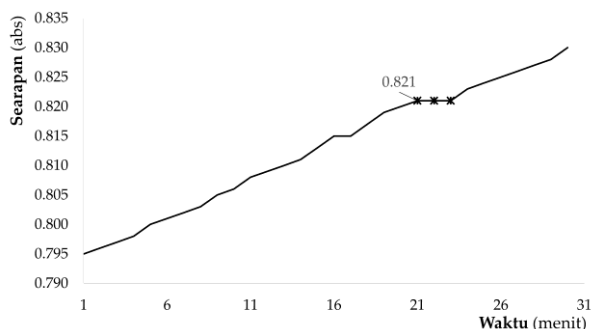
Keberhasilan dalam pembuatan tempe kedelai dapat dipengaruhi beberapa faktor lingkungan, seperti suhu, kelembapan ruangan, lama fermentasi, dan tempat penyimpanan tempe kedelai. Berdasarkan wawancara dan observasi dengan produsen tempe kedelai, didapatkan hasil bahwa lama fermentasi kedelai menjadi tempe kedelai selama 3-4 hari yang disimpan di suatu ruangan dan tidak secara langsung terkena sinar matahari. Suhu dan kelembapan ruangan yang digunakan pada pagi hari  $26,3^{\circ}\text{C}\pm 74\%$ ; siang hari  $32,2^{\circ}\text{C}\pm 54\%$ ; dan malam hari  $31,2^{\circ}\text{C}\pm 45\%$  [30].

### Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Panjang gelombang maksimal ditentukan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm dengan serapan 1,0 A. Panjang gelombang maksimal yang didapat setelah pengukuran yaitu 748,5 nm dengan absorbansi 0,838. Hasil panjang gelombang maksimal ini sedikit berbeda dengan hasil penelitian sebelumnya yaitu 741 nm dengan absorbansi 0,580 [10].

### Penentuan *Operating Time* (OT)

*Operating time* dilakukan untuk mengetahui waktu kestabilan senyawa yang diperoleh saat pengukuran absorbansi [14]. OT diukur selama 60 menit dengan interval 1 menit. Hasil absorbansi pengukuran OT stabil pada menit ke 21 hingga menit ke 23 dengan nilai absorbansi 0,821. Kestabilan absorbansi ini menandakan bahwa reaksi yang terjadi antara ion  $\text{Cu}^{2+}$  dengan ikatan peptide pada protein sudah optimal sehingga OT yang digunakan yaitu pada menit ke-21 hingga ke-23.



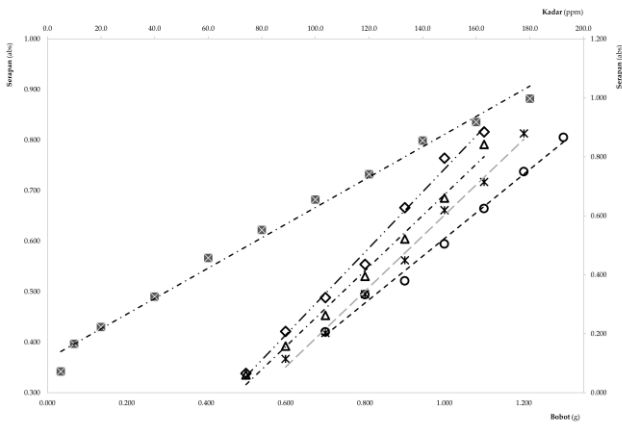
**Gambar 1.** Serapan di setiap menit *operating time* (OT) reaksi metode Lowry dalam penentuan kadar protein BSA.

### Penentuan Kurva Baku

Penentuan kurva baku dilakukan dengan memplotkan antara konsentrasi larutan standar (sumbu x) dengan absorbansi (sumbu y). Hasil penetapan kurva baku standar BSA 0,1% adalah persamaan regresi linear ( $y = bx + a$ ) dan koefisien korelasi ( $r$ ). Pengujian dari sebelas titik konsentrasi kadar didapatkan persamaan regresi linear  $y = 0,0051x + 0,1139$  dengan nilai  $r = 0,9951$ . Hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi dapat dilihat pada Gambar 2.

### Penentuan Parameter Linieritas

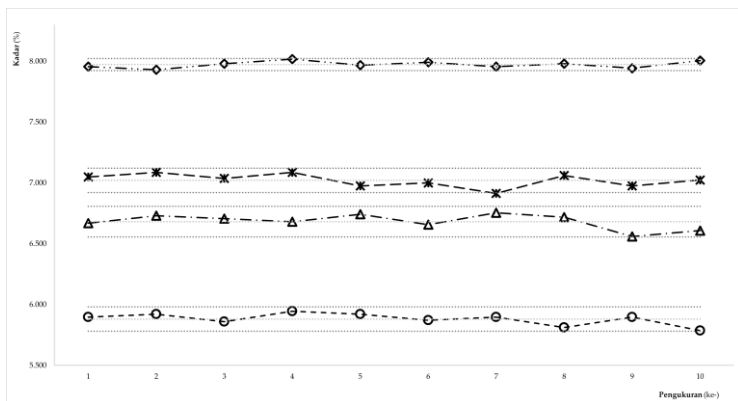
Parameter linieritas dilakukan dengan memplotkan antara berat sampel (sumbu x) dengan nilai absorbansi (sumbu y). Hasil penetapan parameter linieritas berupa persamaan regresi linier ( $y = bx + a$ ) dan koefisien korelasi ( $r$ ). Hasil uji linieritas pada masing-masing sampel dapat dilihat pada Gambar 2. Nilai koefisien korelasi pada masing-masing sampel telah memenuhi syarat keberterimaan karena  $r > 0,980$  [15].



**Gambar 2.** Kurva regresi linier dari seri baku (ppm,  $\boxtimes$ ) dan keempat sampel, kedelai mentah (g,  $\diamond$ ), tempe dengan kemasan plastik (g,  $\circ$ ), daun pisang (g,  $\times$ ), dan daun jati (g,  $\Delta$ ).

**Penentuan Parameter Keberulangan**

Parameter keberulangan dilakukan dengan 10 kali replikasi. Keberterimaan parameter keberulangan dinyatakan dengan nilai RSD <2% [16]. Hasil uji parameter keberulangan masing-masing sampel dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 3.



**Gambar 3.** Sebaran kadar (%) uji keberulangan (rerata, SD) sampel, kedelai mentah (7,972%; 0,002;  $\diamond$ ), tempe dengan kemasan plastik (5,880%; 0,004;  $\circ$ ), daun pisang (6,681%; 0,005;  $\times$ ), dan daun jati (7,020%; 0,004;  $\Delta$ ).

**Penentuan Parameter Akurasi**

Parameter akurasi menunjukkan kedekatan nilai kadar analisis dengan kadar yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan dengan nilai perolehan kembali (%recovery) dengan nilai keberterimaan 80-120% [17]. Hasil penetapan parameter akurasi semua sampel telah memenuhi nilai keberterimaan karena masuk ke dalam rentang 80-120%. Hasil penetapan parameter akurasi dapat dilihat pada Tabel 1 di bawah ini. Nilai LOD digunakan untuk menentukan batas terendah analit sampel yang masih dapat terdeteksi, sedangkan nilai LOQ untuk menentukan batas terendah analit sampel secara kuantitatif [18]. Rekapitulasi validasi metode semua sampel dapat dilihat pada Tabel 2.

**Presisi Antara**

Uji presisi merupakan suatu parameter yang dapat menunjukkan kedekatan antara hasil perlakuan uji yang sama [19]. Presisi antara merupakan parameter pengujian kedekatan hasil analisis yang dihasilkan oleh variasi laboratorium yang berbeda seperti analis, hari, instrumen, reagen, dan sebagainya. Nilai keberterimaan presisi yaitu %RSD <2% [20]. Presisi antara pada penelitian ini dilakukan di hari yang berbeda (hari ke-11 dan ke-35) namun dengan kondisi, peralatan, dan perlakuan yang sama. Hasil %RSD untuk masing-masing sampel dinyatakan presisi dimana telah memenuhi persyaratan. Hasil penetapan presisi antara pada Tabel 3.

**Tabel 1.** Hasil penetapan parameter akurasi sampel

| Sampel | Kadar yang ditambahkan (ppm) | Kadar yang diperoleh (ppm) | Perolehan Kembali (%) | Rerata Perolehan Kembali (%) | SD   | RSD (%) |
|--------|------------------------------|----------------------------|-----------------------|------------------------------|------|---------|
| KM     | 40                           | 40,26                      | 100,65                | 101,12                       | 4,12 | 4,07    |
|        | 50                           | 48,63                      | 97,26                 |                              |      |         |
|        | 60                           | 63,27                      | 105,45                |                              |      |         |
| PL     | 40                           | 38,63                      | 96,57                 | 98,77                        | 5,69 | 5,76    |
|        | 50                           | 47,26                      | 94,51                 |                              |      |         |
|        | 60                           | 63,14                      | 105,23                |                              |      |         |
| DP     | 40                           | 39,67                      | 99,18                 | 100,22                       | 6,29 | 6,28    |
|        | 50                           | 47,26                      | 94,51                 |                              |      |         |
|        | 60                           | 64,18                      | 106,97                |                              |      |         |
| DJ     | 40                           | 39,15                      | 97,88                 | 100,40                       | 7,59 | 7,56    |
|        | 50                           | 47,19                      | 94,38                 |                              |      |         |
|        | 60                           | 65,36                      | 108,93                |                              |      |         |

Keterangan: KM = Kedelai Mentah; PL = Plastik; DP = Daun Pisang; DJ = Daun Jati

**Tabel 2.** Rekapitulasi hasil validasi metode sampel

| Parameter             | KM                   | PL                   | DP                   | DJ                  | Nilai Diterima |
|-----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|---------------------|----------------|
| Nilai r <sup>2</sup>  | 0,9965               | 0,9958               | 0,9972               | 0,9954              | > 0,980        |
| Persamaan regresi     | y = 0,8207x - 0,0784 | y = 0,6371x - 0,0321 | y = 0,7507x - 0,0995 | y = 0,7518x - 0,060 |                |
| RSD keberulangan (%)  | 0,291                | 0,688                | 0,768                | 0,651               | < 2%           |
| Perolehan kembali (%) | 101,12               | 98,77                | 100,22               | 100,40              | 80-120%        |
| LoD (mg/mL)           | 0,101                | 0,108                | 0,100                | 0,123               |                |
| LoQ (mg/mL)           | 0,338                | 0,361                | 0,333                | 0,409               |                |

Keterangan: KM = Kedelai Mentah; PL = Plastik; DP = Daun Pisang; DJ = Daun Jati; LoD = Limit of Detection; LOQ = Limit of Quantification

**Tabel 3.** Presisi Antara beda hari (n total =20)

| Perlakuan Beda Hari     | Rerata (%) ± SD | RSD (%) | Rerata (%) ± SD | RSD (%) |
|-------------------------|-----------------|---------|-----------------|---------|
|                         | KM              |         | PL              |         |
| Pertama (n = 10)        | 7,987 ± 0,029   | 0,363   | 5,529 ± 0,033   | 0,605   |
| Kedua (n = 10)          | 7,972 ± 0,027   | 0,342   | 5,880 ± 0,050   | 0,849   |
| Presisi Antara (n = 20) | 7,979 ± 0,028   | 0,352   | 5,705 ± 0,041   | 0,727   |
| Perlakuan Beda Hari     | Rerata (%) ± SD | RSD (%) | Rerata (%) ± SD | RSD (%) |
|                         | DP              |         | DJ              |         |
| Pertama (n = 10)        | 6,636 ± 0,026   | 0,392   | 7,136 ± 0,024   | 0,331   |
| Kedua (n = 10)          | 6,682 ± 0,062   | 0,927   | 7,020 ± 0,055   | 0,783   |
| Presisi Antara (n = 20) | 6,659 ± 0,044   | 0,659   | 7,078 ± 0,039   | 0,557   |

### Penetapan Kadar Protein

Penetapan kadar protein menggunakan metode Lowry karena lebih sensitif terhadap konsentrasi protein yang rendah sehingga memerlukan sampel protein yang lebih sedikit [21]. Keuntungan metode Lowry yaitu lebih tepat, akurat, dan selisih nilai absorbansi yang diukur lebih kecil [22]. Hasil penetapan kadar protein semua sampel dapat dilihat pada tabel 4.

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada tabel 3 menunjukkan rata-rata kadar protein kedelai mentah lebih tinggi pada hari ke-11 maupun hari ke-35 dibandingkan dengan produk olahan tempe kedelai. Kandungan rata-rata protein tempe kedelai pada hari ke-11 hampir sama dengan hari ke-35. Hasil pengukuran kadar protein pada masing-masing sampel belum memenuhi syarat minimal protein pada tempe kedelai yaitu 15%. Rendahnya kadar protein tempe kedelai yang belum memenuhi syarat minimal protein dapat ditingkatkan dengan menambahkan ekstrak kulit dan bonggol nanas dalam proses pembuatan tempe kedelai, dimana semakin banyak ekstrak yang ditambahkan maka kadar protein semakin tinggi [23]. Tempe kedelai yang dikemas dengan plastik memiliki protein terlarut yang lebih tinggi dibandingkan dengan daun pisang dan daun jati. Tempe kedelai yang dikemas plastik memiliki lubang yang lebih besar dibandingkan daun hanya memiliki rongga kecil yang rapat. Lubang pada tempe kedelai kemasan plastik dapat menimbulkan pengaruh antara mikroorganisme dengan tempe kedelai sehingga menyebabkan protein pada tempe kedelai berkurang [24]. Trikoma yang dimiliki daun pisang dan daun jati sedikit berbeda menyebabkan tekstur kasar pada permukaan daun.



Semakin rapat trikoma pada daun maka spora jamur yang melekat pada trikoma akan semakin banyak dan akan menghasilkan enzim protease yang lebih banyak untuk memecah protein menjadi asam amino [25]. Daun jati mengandung senyawa saponin, tanin, alkaloids, fenolik, flavonoid dan protein sebesar 11,37%, sedangkan daun pisang juga mengandung salah satu senyawa tanin dan memiliki kandungan protein sebesar 8-11% [26, 27]. Tanin ini dapat memproteksi protein dari degradasi enzim selama fermentasi dengan membentuk ikatan tanin-protein kedelai sehingga membentuk senyawa yang kompleks yang resisten terhadap enzim protease [28]. Oleh karena itu, kadar protein tempe kedelai yang dikemas dengan bahan alami lebih tinggi dibandingkan dengan kemasan plastik.

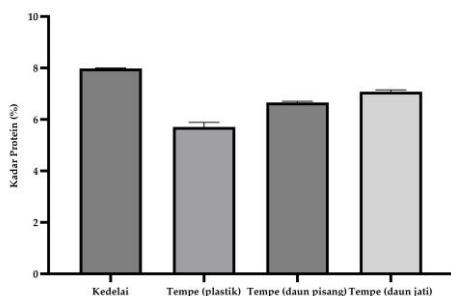
**Tabel 4.** Hasil penetapan kadar protein sampel pada beda hari (n=5) pada kondisi penyimpanan yang sama.

| Sampel | Hari ke-11                   |         | Hari ke-35                   |         |
|--------|------------------------------|---------|------------------------------|---------|
|        | Rata-rata kadar (%) $\pm$ SD | RSD (%) | Rata-rata kadar (%) $\pm$ SD | RSD (%) |
| KM     | 7,967 $\pm$ 0,027            | 0,339   | 7,972 $\pm$ 0,023            | 0,289   |
| PL     | 5,531 $\pm$ 0,029            | 0,524   | 5,881 $\pm$ 0,034            | 0,578   |
| DP     | 6,643 $\pm$ 0,019            | 0,286   | 6,680 $\pm$ 0,051            | 0,763   |
| DJ     | 7,134 $\pm$ 0,019            | 0,266   | 7,016 $\pm$ 0,047            | 0,670   |

Keterangan: KM = Kedelai Mentah; PL = Plastik; DP = Daun Pisang; DJ = Daun Jati

### Analisis Uji Statistik

Uji statistik menggunakan uji *One-Way ANOVA* dengan menggunakan data kadar protein parameter keberulangan untuk melihat ada tidaknya perbedaan antar kelompok perlakuan. Hasil uji *One-Way ANOVA* didapatkan nilai p sebesar 0,000 ( $p < 0,05$ ), lalu dilanjutkan uji *Tukey's multiple comparisons* dengan nilai p 0,000 ( $p < 0,05$ ) sehingga dapat dikatakan adanya perbedaan yang signifikan antara tempe kedelai yang berbeda bahan pengemas primer.



**Gambar 4.** Histogram kadar protein kedelai mentah, tempe dengan kemasan plastik, daun pisang, dan daun jati.

### Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, rata-rata kadar protein pada kedelai mentah, tempe kedelai plastik, tempe kedelai daun pisang, dan tempe kedelai daun jati pada hari ke-11 sebesar 5,531%-7,967% sedangkan pada hari ke-35 sebesar 5,881%-7,972%. Hasil uji statistik *One-Way ANOVA* dengan hasil nilai p 0,000 dimana nilai  $p < 0,05$  sehingga terdapat perbedaan yang signifikan antara protein pada tempe kedelai yang berbeda bahan pengemas primer. Kadar protein pada tempe kedelai daun jati tertinggi dibandingkan bahan pengemas primer lain dengan nilai sekitar 92% dari protein kedelai mentah.

### Conflict of Interest

Penelitian ini telah dilakukan secara independen tanpa pengaruh pihak lain dan bebas dari konflik kepentingan.

### Acknowledgment

Terima kasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta yang mengizinkan untuk penggunaan hasil uji *One-Way ANOVA* menggunakan aplikasi *GraphPad Prism*, lisensi atas nama Fakultas Farmasi UMS dan narasumber selaku pemilik usaha tempe kedelai yang berada di Kabupaten Sragen.

## Supplementary Materials

## Referensi

- [1] Margarisa D, Rezaldi F, Pruschia ID, Andry M, Fadillah MF, Muhardiyanti M, et al. Fermentation of telang flower kombucha (*Clitoria ternatea* L) as a simple biotechnology product in providing pharmacodynamic reactions of mice (*Mus musculus* L) exposed to cigarette smoke and ovary morphometry. *J Pharmacol Sci.* 2023;6(4):12–26.
- [2] Fulop T, Larbi A, Hirokawa K, Cohen AA, Witkowski JM. Immunosenescence is both functional/adaptive and dysfunctional/maladaptive. *Semin Immunopathol.* 2020;42(5):521–36.
- [3] Alfauzi RA, Hidayah N. Fakta dan Budaya Ayam Kedu Sebagai Potensi Lokal dan Sumber Protein Hewani : Review. *Semin Nas dalam Rangka Dies Natalis ke-44 UNS Tahun 2020.* 2020;4(1):395–403.
- [4] Langyan S, Yadava P, Khan FN, Dar ZA, Singh R, Kumar A. Sustaining Protein Nutrition Through Plant-Based Foods. *Front Nutr.* 2022;8(January).
- [5] Dalimunthe K, Hasibuan NS, Zaimah U. Bahan Baku Tempe Dari Berbagai Kacang. *Pros Sixth Postgrad Bio Expo 2021.* 2021;276–85.
- [6] Perdana LPR, Djowasito G, Musyarofatunnisa E, Sandra S. Pengaruh Jenis Kemasan Dan Frekuensi Penggetaran Terhadap Kerusakan Mekanis Buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris*). *J Ilm Rekayasa Pertan dan Biosist.* 2019;7(1):8–16.
- [7] Hutapea AN, Fallo YM. Analisis Kelayakan Finansial Industri Tempe di Kelurahan Oelami, Kecamatan Bikomi Selatan. *Agrimor.* 2017;2(01):15–6.
- [8] Kurniawan ND. Kadar Lemak , Kadar Air , Kadar Protein , Dan Antioksidan Tempe Edamame (*Glycine max* (L) Merrill) Dengan Jenis Pengemas Yang Berbeda. *J Teknol Pangan.* 2019;3(2):1–4.
- [9] Putri FL, Kartikawati D. Optimasi Konsentrasi Ragi dan Jenis Pembungkus dalam Pembuatan Tempe Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) Optimization of Yeast Concentration and Types of Wrappers in the Production of Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) Tempeh. *J Agrifoodtech.* 2023;1(2):103–18.
- [10] Rejeki DS, Cahyanta AN, Musiyam SA. Pengaruh Metode Pengemasan terhadap Kadar Protein pada Tempe The Effect of Packaging Method on Protein Content in Tempeh. *J Farm Indones.* 2023;1(2):10–7.
- [11] Bidaya F, Asnurita, Wellyalina. Karakterisasi rendang tempe pada berbagai suhu penyimpanan yang berbeda. *Unes J Mahasiwa Pertan.* 2018;2(2):152–63.
- [12] Shen C-H. Quantification and Analysis of Proteins. *Diagnostic Mol Biol.* 2019;187–214.
- [13] Martina V, Vojtech K. A comparison of Biuret, Lowry and Bradford methods for measuring the egg's proteins. *Mendel Net.* 2015;2015(1):394–8.
- [14] Sarita R, Fitriana A, Prabandari R. Perbandingan Kadar Protein pada Kacang Hijau dan Sari Kacang Hijau yang Diperjualbelikan dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Semin Nas Penelit dan Pengabd Kpd Masy.* 2021;238–45.
- [15] Harmono HD. Validasi Metode Analisis Logam Merkuri (Hg) Terlarutn pada Air Permukaan dengan Automatic Mercury Analyzer. *Indones J Lab.* 2020;2(3):11.
- [16] Yunarto N, Reswandaru UN, Sulistyowati I, Prameswari IO, Pinanditi QL, Patadungan TM. Validation Of Spectrophotometry Method For Determination of (+)-CATECHIN IN ETHYL Acetate Fraction Of Gambir Extract (*Uncaria gambir* Roxb.). *J Tumbuh Obat Indones.* 2021;14(2):127–36.
- [17] Asra R, Rivai H, Riani VLS. Pengembangan Dan Validasi Metode Analisis Tablet Furosemid Dengan Metode Absorbansi Dan Luas Daerah Di Bawah Kurva Secara Spektrofotometri Ultraviolet. *J Farm Higea.* 2016;8(2):110–21.
- [18] Idam R, Trida P, Safithri A. ORIGINAL ARTICLE Method Validation of Curcumin Content Determination in Curcuma Rhizome Extract Tablets ( Curcuma xanthorrhiza Roxb . ) by HPLC Validasi Metode Penetapan Kadar Kurkumin pada Tablet Ekstrak Rimpang Temulawak ( Curcuma xanthorrhiza Roxb . ) dengan KCKT Abstrak Pendahuluan. 2024;571–9.
- [19] Dwiyantri SP, Irawan DAH, Abbas ZA, Utami MR, Nurfadhila L. Validasi Metode Analisis Senyawa Obat Dalam Sampel Biologis (Urine). *J Pharm Sci.* 2023;6(2):885–91.
- [20] Fauziah N, Husni P, Kurniati B. Artikel Review: Pengembangan Dan Validasi Metode Analisis Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Kckt) Untuk Penetapan Kadar Simvastatin Dalam Sediaan Tablet Neneng. *Farmaka.* 2023;16(1):310–21.
- [21] Rahmawati, Taurina W, Andrie M. Pengaruh Minyak Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Terhadap Stabilitas Protein Sediaan Salep Fase Air Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*) Dengan Penetapan Kadar Protein Menggunakan Metode Lowry. *J Farm.* 2016;1–23.
- [22] Pavel C-I, Marghitas La, Bonta V, Mihai CM, Tomos LI. Determination of Total Protein Content in Royal Jelly: A Comparison of the Kjeldahl, the Bradford and the Lowry Methods. *Sci Pap - Anim Husb Ser [Internet].*

- 2013;59(1):209–11. Available from: [http://www.uaiasi.ro/zootehnie/Pdf/Pdf\\_Vol\\_59/Crenguta\\_Pavel.pdf](http://www.uaiasi.ro/zootehnie/Pdf/Pdf_Vol_59/Crenguta_Pavel.pdf)
- [23] Liputo SA, Une S, Maspeke PN, Bait Y. Tempe Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) dengan Menggunakan Ekstrak Bonggol Nanas Serta Pengaruhnya Terhadap Kandungan Gizi dan Tingkat Kesukaan. *JITIPARI (Jurnal Ilm Teknol dan Ind Pangan UNISRI)*. 2022;7(1):78–88.
- [24] Furqon, Achmad Furqon A, Maflahah I, Rahman A. Pengaruh Jenis Pengemas Dan Lama Penyimpanan Terhadap Mutu Produk Nugget Gembus. *Agrointek*. 2016;10(2):71.
- [25] Ellent SSC, Dewi L, Tapilouw MC. Karakteristik Mutu Tempe Kedelai (*Glycine max* L.) yang Dikemas dengan Klobot. *AGRITEKNO J Teknol Pertan*. 2022;11(1):32–40.
- [26] Handayani R, Marshall N. Pembuatan Telur Pindang Dengan Penambahan Daun JatI (*Tectona grandis* L. f.) Dan Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). 2018;2(2):34–42.
- [27] Yang J, Tan H, Zhai H, Wang Q, Zhao N, Cai Y, et al. Research on chemical composition and ensiling characteristics of banana stems and leaves. *Adv Mater Res*. 2012;347–353:1647–51.
- [28] Rochman AN, Surono, Subrata A. Pemanfaatan Tanin Ampas Teh Dalam Proteksi Protein Bungkil Biji Jarak Terhadap Konsentrasi Amonia, Undegraded Dietary Protein Dan Protein Total Secara In Vitro. 2016;1(1):1–23.
- [29] Badan Standarisasi Nasional. Tempe: Makanan Sehat Indonesia untuk Dunia. [Tempe: Makanan Sehat Indonesia untuk Dunia - BSN - Badan Standardisasi Nasional - National Standardization Agency of Indonesia - Setting the Standard in Indonesia ISO SNI WTO](#) (Diakses pada tanggal 10 Oktober 2024).
- [30] Pujiastuti, Nurkholifah. Produksi Tempe Rumahan, Hasil wawancara pribadi, 2024: 11 Juli, Dedegan, Sragen, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- [31] One-Way ANOVA dan uji Tukey's multiple comparisons dilakukan menggunakan GraphPad Prism versi 10.0.0 untuk Windows, GraphPad Software, Boston, Massachusetts USA, [www.graphpad.com](http://www.graphpad.com) (Diakses pada tanggal 25 Desember 2024).