

Nutrifikasi Protein (Bagian 1)

Prof. Dr. Ir. Deddy Muchtadi, M.S.



PENDAHULUAN

Protein merupakan senyawa yang terdapat dalam setiap sel hidup. Setengah dari berat kering dan 20% dari berat total tubuh manusia dewasa adalah protein. Hampir setengahnya terdapat di dalam otot (daging), seper limanya di dalam tulang dan kartilago, seper sepuluhnya dalam kulit dan sisanya dalam jaringan-jaringan lain serta cairan tubuh. Semua enzim yang terdapat di dalam tubuh adalah protein. Berbagai macam hormon merupakan protein atau turunannya. Asam nukleat di dalam sel, yang bertanggung jawab terhadap transmisi informasi genetika dalam reproduksi sel, sering terdapat dalam bentuk kombinasi dengan protein, yaitu nukleoprotein. Hanya urine dan cairan empedu yang dalam keadaan normal tidak mengandung protein.

Protein yang terkandung dalam makanan yang dikonsumsi akan mengalami proses pencernaan (pemecahan, hidrolisis) oleh enzim-enzim protease di dalam saluran pencernaan (lambung, usus halus) menjadi unit-unit penyusunnya, yaitu asam-asam amino. Asam-asam amino inilah yang selanjutnya diserap oleh usus halus, kemudian dialirkan ke hati dan didistribusikan ke seluruh jaringan tubuh. Dalam jaringan, asam-asam amino tersebut digunakan untuk sintesis protein untuk pembentukan jaringan baru atau mengganti jaringan yang rusak. Asam-asam amino yang berlebihan dapat digunakan sebagai sumber energi bagi tubuh, atau disimpan dalam bentuk lemak (jaringan adiposa) sebagai cadangan energi.

Protein merupakan zat gizi yang sangat penting bagi tubuh karena selain sebagai sumber energi, protein berfungsi sebagai zat pembangun tubuh (sintesis protein tubuh) dan zat pengatur di dalam tubuh (enzim dan hormon). Sebagai zat pembangun, fungsi utamanya bagi tubuh adalah untuk membentuk jaringan baru (misalnya membentuk janin pada masa kehamilan seorang ibu, atau jaringan baru pada proses pertumbuhan bayi/anak), di

samping untuk memelihara jaringan yang telah ada (mengganti bagian-bagian yang aus atau rusak).

Modul 1 ini terdiri dari tiga kegiatan belajar, yaitu sebagai berikut.

1. Pengertian Nilai Gizi Protein.
2. Penetapan Kadar Protein dan Analisis Asam Amino.
3. Penetapan Skor Kimia Protein.

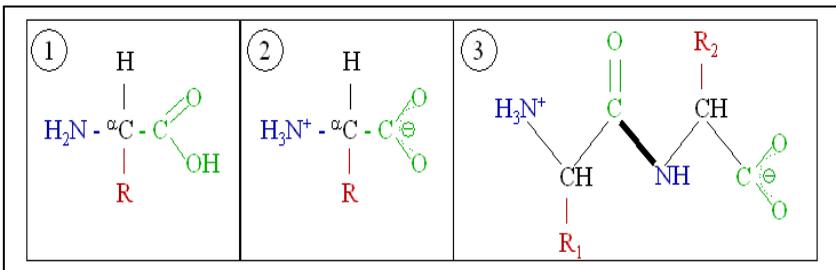
Setelah mempelajari Modul 1 ini Anda diharapkan akan dapat menjelaskan apa yang dimaksud dengan nilai gizi protein, bagaimana analisis asam amino dilakukan, dan bagaimana skor kimia suatu protein ditetapkan.

KEGIATAN BELAJAR 1

Pengertian Nilai Gizi Protein

Protein merupakan senyawa kompleks yang terdiri dari asam-asam amino yang diikat satu sama lain dengan ikatan peptida (lihat Gambar 1.1). Asam amino sendiri terdiri dari rantai karbon (R = rantai cabang), atom hidrogen, gugus karboksilat (COOH), kadang-kadang gugus hidroksil (OH), belerang (S), serta gugus amino (NH_2).

Atom nitrogen pada gugus amino suatu asam amino adalah karakteristik protein. Rata-rata terdapat sebanyak 16% nitrogen dalam suatu protein. Oleh karena itu, faktor konversi dari kadar nitrogen (hasil penetapan dengan metode Kjeldahl) menjadi protein adalah 6,25 (sebagai hasil bagi 100 dengan 16).



(1) asam amino, (2) struktur zwitter ion, (3) ikatan peptida antara dua asam amino

Gambar 1.1.

Struktur asam amino dan pembentukan ikatan peptida

Satu molekul protein dapat terdiri dari 12 sampai 20 macam asam amino; dan jumlah setiap macam asam amino tersebut dapat mencapai ratusan buah. Setiap macam asam amino dihubungkan dengan ikatan peptida membentuk peptida. Karena jumlah peptida tersebut sangat banyak maka protein sering kali disebut sebagai polipeptida. Macam, jumlah, dan susunan asam amino dalam suatu protein menentukan sifat-sifat protein tersebut.

Asam amino penyusun protein dapat dibagi ke dalam tiga kelompok berdasarkan dapat atau tidaknya disintesis oleh tubuh manusia (Tabel 1.1),

yaitu asam amino esensial (tidak dapat disintesis), semi-esensial dan non-esensial (dapat disintesis oleh tubuh). Agar sintesis protein di dalam tubuh berjalan lancar, misalnya untuk menjamin pertumbuhan pada anak-anak atau untuk mempertahankan keseimbangan nitrogen di dalam tubuh orang dewasa maka asam-asam amino esensial harus terdapat dalam makanan yang dikonsumsi karena tubuh tidak dapat mensintesisnya.

Tabel 1.1.
Klasifikasi asam amino berdasarkan dapat/tidaknya disintesis oleh tubuh

Karakteristik Molekul	Esensial (Tidak Dapat Disintesis)	Semi-Esensial	Non-Esensial (Dapat Disintesis)
Mono amino mono karboksilat (bersifat netral)	Valin Leusin Isoleusin	Glisin	Alanin
Di-amino mono karboksilat (bersifat basa)	Lisin	Arginin	-
Mono amino di-karboksilat (bersifat asam)	-	-	Asam Glutamat Asam Aspartat
Mengandung OH	Treonin	Serin	-
Mengandung S	Metionin	Sistin	Sistein
Aromatik	Fenilalanin	Tirosin	-
Heterosiklik	Triptofan	Histidin	Prolin Hidroksiprolin

Beberapa macam asam amino dapat menghemat penggunaan beberapa macam asam amino esensial, akan tetapi tidak dapat menggantikannya secara sempurna. Misalnya, sistin dapat menghemat penggunaan metionin, tirosin dapat menghemat penggunaan fenilalanin karena itu asam-asam amino tersebut disebut semi-esensial. Istilah semi-esensial dapat pula diartikan sebagai asam amino yang dapat menjamin proses kehidupan jaringan orang dewasa, tetapi tidak mencukupi untuk keperluan pertumbuhan anak-anak sehingga harus disuplai dari makanan, misalnya arginin dan histidin. Jika tidak terdapat dalam makanan, asam amino non-esensial dapat disintesis oleh tubuh sepanjang bahan dasarnya tersedia cukup, yaitu asam lemak dan senyawa bernitrogen.

A. KLASIFIKASI PROTEIN

Belum ada satu pun sistem klasifikasi protein yang secara umum dapat diterima dan memuaskan. Sampai sekarang masih digunakan beberapa sistem klasifikasi yang kadang-kadang bertentangan satu sama lain. Protein dapat digolongkan berdasarkan: (1) struktur molekulnya, (2) kelarutannya dalam pelarut, dan (3) nilai gizinya.

Berdasarkan struktur molekulnya, protein dapat dikelompokkan menjadi dua bentuk, yaitu protein fibrosa (*fibrous*, berserat, berserabut) dan protein globular (bulat seperti bola). Protein fibrosa tidak larut dalam pelarut encer, baik larutan garam, asam, basa maupun alkohol. Protein fibrosa terutama berguna untuk membentuk struktur jaringan, misalnya kolagen pada tulang rawan, myosin, yaitu protein kontraktile utama pada otot, keratin, yaitu protein utama rambut dan kulit, serta fibrin, yaitu protein pada darah yang membeku.

Protein globular larut dalam larutan garam dan asam encer, juga mudah berubah di bawah pengaruh konsentrasi garam, serta pelarut asam dan basa, dibandingkan dengan protein fibrosa. Selain itu, protein ini lebih mudah terdenaturasi, yaitu berubahnya susunan molekulnya yang diikuti dengan perubahan sifat fisik dan fisiologisnya.

Klasifikasi protein berdasarkan kelarutannya berkembang pada sekitar tahun 1907 – 1908, tetapi masih digunakan sampai sekarang walaupun garis batas antarkelasnya tidak jelas. Menurut kelarutannya, protein globular dapat digolongkan menjadi beberapa kelas, yaitu albumin, globulin, glutelin, prolamin, histon, dan protamin (Tabel 1.2.).

Protein susu (sapi) terdiri dari kasein (fosfoprotein) sebanyak kurang lebih 78% dari berat totalnya, serta protein serum susu (sekitar 17%) yang terdiri dari beta-lakto-globulin (8,5%), alfa-laktalbumin (5,1%), globulin imun (1,7%) dan serum albumin. Sekitar 5% merupakan senyawa yang mengandung nitrogen, tetapi bukan protein (non-protein nitrogen), seperti peptide dan asam amino.

Protein telur dibedakan atas putih dan kuning telur. Protein putih telur terdiri dari sedikitnya delapan macam protein yang berbeda dengan sifat khusus masing-masing (ovalbumin, kon-albumin, ovomukoid, lisozim, flavoprotein, apoprotein, ovo-inhibitor, dan avidin). Putih telur mengandung sekitar 10 - 11% protein berdasarkan berat basah (sekitar 83% berdasarkan berat kering). Jenis-jenis protein yang terdapat dalam kuning telur, yaitu livetin, fosvitin, dan lipoprotein. Protein kuning telur mengandung sejumlah

lipid (fosfolipid, misalnya lesitin) yang berikatan membentuk suatu lipoprotein. Karena adanya lesitin maka kuning telur dapat membentuk emulsi (campuran air dengan minyak), misalnya dalam pembuatan *mayonnaise*.

Tabel 1.2.
Klasifikasi protein berdasarkan kelarutannya

Kelas Protein	Sifat Kelarutan dan Sifat Fisik Lainnya	Contoh
Albumin	Larut dalam air dan larutan garam, terkoagulasi oleh panas	Albumin telur, Albumin serum, Laktalbumin (susu)
Globulin	Tidak larut dalam air, terkoagulasi oleh panas, larut dalam pelarut encer, mengendap dalam larutan garam konsentrasi tinggi (<i>salting out</i>)	Miosinogen (otot), ovalbumin (kuning telur), legumin (kacang-kacangan)
Glutelin	Tidak larut dalam pelarut netral, larut dalam asam, dan basa encer	Glutelin (gandum), orizenin (beras)
Prolamin (Gliadin)	Larut dalam alkohol 70-80 %, tidak larut dalam air, dan alkohol absolute	Gliadin (gandum), zein (jagung), hordain (barley)
Histon	Larut dalam air dan larutan garam, tidak larut dalam amonia encer; Histon yang terkoagulasi oleh panas bersifat larut dalam asam encer	Globin (hemoglobin)
Protamin	Larut dalam etanol 70-80 %, tidak larut dalam air dan etanol absolut, tidak terkoagulasi oleh panas, kaya akan arginin	Salmin (ikan Salmon), kluepin (ikan Herring), scrombin (ikan Mackerel)

Protein daging (sapi) terdiri dari protein struktural (sekitar 70%) dan protein larut air (sekitar 30%). Protein struktural (fibril) mengandung sekitar 32 - 38% miosin, 13 - 17% aktin, 7% tropomiosin dan sekitar 6% protein plasma. Protein ikan terdiri dari serat-serat pendek yang mengandung protein utama, yaitu miosin, aktin, aktomiosin dan tropomiosin. Miosin dan aktin merupakan protein struktural. Aktomiosin bersifat labil, mudah berubah selama proses pengolahan atau penyimpanan, misalnya menjadi tidak mudah larut.

B. METABOLISME PROTEIN

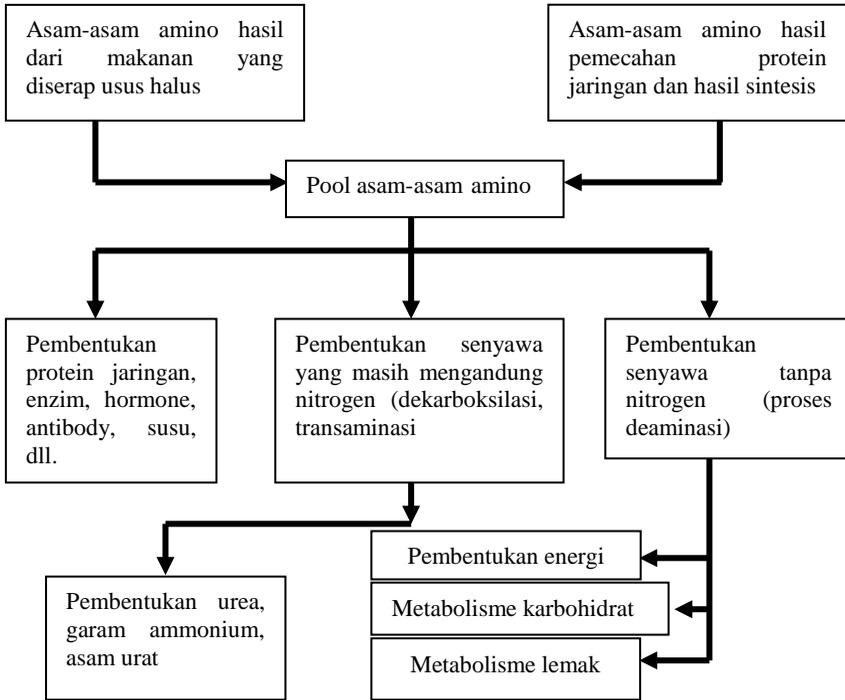
Protein makanan yang dikonsumsi, pertama-tama akan dicerna di dalam lambung (perut) oleh enzim pepsin. Pepsin gastrik (lambung) diproduksi di dalam *chief cells* lambung dalam bentuk zimogen inaktif, yaitu pepsinogen, kemudian diaktifkan oleh asam lambung (HCl) menjadi pepsin aktif, dan kemudian secara otokatalitik pepsin yang terbentuk tersebut dapat mengaktifkan pepsinogen lain. Enzim pepsin mengubah protein menjadi proteosa dan pepton, yang masih merupakan turunan protein dengan berat molekul besar.

Di dalam usus halus bermuara saluran pankreas yang akan mensuplai enzim-enzim pencernaan, misalnya tripsin, kimotripsin, karboksipeptidase, alfa-amilase, lipase, fosfolipase A, kolesterol ester hidrolase, ribonuklease, deoksiribonuklease, dan kolagenase.

Beberapa dari enzim-enzim tersebut disekresikan oleh pankreas dalam bentuk prekursor inaktif (zimogen), misalnya tripsinogen dan kimotripsinogen, yang segera diaktifkan apabila kontak dengan mukosa usus halus. Aktivasi tripsinogen dilaksanakan oleh enterokinase yang diproduksi oleh sel-sel mukosa usus halus. Kemudian tripsin yang aktif tersebut secara otokatalitik akan mengaktifkan tripsinogen lainnya dan kimo-tripsinogen (kimotripsinogen tidak diaktifkan oleh enterokinase).

Aksi proteolitik cairan pankreas dilaksanakan oleh enzim tripsin dan kimotripsin, yang menghidrolisis protein, proteosa, dan pepton yang berasal dari lambung menjadi polipeptida, kemudian dipecah lebih lanjut oleh karboksipeptidase. Sel-sel mukosa usus halus juga memproduksi aminopeptidase dan dipeptidase, yang akan memecah polipeptida dan dipeptida menjadi asam-asam amino.

Protein makanan diserap melalui dinding usus sebagai asam-asam amino dan dialirkan melalui saluran darah (vena porta) ke hati dan kemudian ke jaringan-jaringan lain (ekstrahepatik). Penggunaan asam-asam amino oleh tubuh tergantung dari kebutuhan tubuh, yaitu dapat digunakan untuk sintesis protein tubuh atau sebagai sumber energi bagi tubuh. Metabolisme asam-asam amino secara skematis diperlihatkan pada Gambar 1.1.



Gambar 1.1.
Skema metabolisme asam-asam amino dalam tubuh

Terdapat tiga proses utama yang mendahului deretan proses metabolisme asam-asam amino, yaitu sebagai berikut ini.

1. Dekarboksilasi, yaitu proses yang memisahkan gugus karboksil dari asam amino sehingga terbentuk senyawa antara (intermediet) yang masih mengandung nitrogen,
2. Transaminasi, yaitu proses pemindahan gugus amino (NH_2) dari suatu asam amino ke senyawa lain (biasanya asam keto) sehingga terbentuk asam amino lagi yang berbeda dari asam amino yang pertama.
3. Deaminasi, yaitu proses pemisahan gugus amino (NH_2) dari asam amino untuk disintesis menjadi urea, kemudian akan dikeluarkan dari tubuh.

Apabila bahan bakar (pati, gula atau lemak) tidak mencukupi kebutuhan tubuh akan energi maka asam-asam amino dari pool asam amino tersebut akan digunakan sebagai sumber energi. Pertama-tama asam amino mengalami proses deaminasi, kemudian asam lemak yang terbentuk mengalami oksidasi (oksidasi beta asam lemak) dan asetil-CoA yang terbentuk masuk ke dalam siklus Krebs dan seterusnya sehingga dihasilkan CO₂ dan H₂O serta energi (ATP). Oleh karena itu, pool asam amino disebut juga sebagai “cadangan asam amino”. Akan tetapi konsep “cadangan” ini agak berbeda dengan pengertian cadangan energi yang terdapat sebagai glikogen atau lemak. Pada cadangan asam amino, senyawanya berbentuk protein yang mempunyai fungsi aktif, sedangkan glikogen dan lemak bersifat pasif.

C. NILAI GIZI PROTEIN

Nilai gizi protein dapat diartikan sebagai kemampuan suatu protein untuk dapat dimanfaatkan oleh tubuh sebagai sumber nitrogen untuk sintesis protein tubuh. Terdapat dua faktor yang menentukan nilai gizi suatu protein, yaitu (1) daya cerna dan (2) kandungan asam amino esensial. Protein yang mudah dicerna (dihidrolisis) oleh enzim-enzim pencernaan, serta mengandung asam-asam amino esensial yang lengkap serta dalam jumlah yang seimbang merupakan protein yang bernilai gizi tinggi.

Umumnya protein hewani (daging, ikan, susu, telur) merupakan protein yang bernilai gizi tinggi, kecuali gelatin. Protein nabati umumnya daya cernanya lebih rendah dan kekurangan salah satu (sering juga kekurangan dua macam) asam amino esensial. Sebagai contoh, protein sereal (beras, terigu) kekurangan asam amino lisin, sedangkan protein kacang-kacangan (kedelai) kekurangan asam amino belerang (metionin).

Pada umumnya proses pemasakan di rumah tangga dapat meningkatkan daya cerna suatu protein, akibat terjadinya denaturasi protein dan inaktivasi senyawa-senyawa anti-nutrisi (anti-protease, hemagglutinin, dan sebagainya). Akan tetapi pengolahan bahan pangan di suatu industri, apabila tidak terkontrol dengan baik, kadang-kadang dapat menurunkan nilai gizi protein akibat terjadinya reaksi-reaksi kimia, misalnya reaksi pencoklatan non-enzimatis.

Terdapat bermacam-macam cara atau metode evaluasi nilai gizi protein, tetapi pada garis besarnya dapat digolongkan menjadi dua macam, yaitu

metode *in vitro* (secara kimia, enzimatis atau mikrobiologis) dan *in vivo* (secara biologis menggunakan hewan percobaan, termasuk manusia). Beberapa metode *in vitro* mengevaluasi komposisi asam amino esensial suatu protein (metode skor kimia), ketersediaan (bio-availabilitas) asam amino (metode lisin tersedia), daya cerna suatu protein (metode enzimatis), serta nilai PER yang dihitung berdasarkan nilai cerna dan komposisi asam amino suatu protein (PER hitung, C-PER, *calculated protein efficiency ratio*).

Metode biologis untuk evaluasi nilai gizi protein pada umumnya menggunakan tikus putih (*albino rat*) sebagai hewan percobaan, tetapi ada juga yang menggunakan mencit, ayam atau hewan lain (kera ekor panjang) dan bahkan manusia. Parameter yang ditetapkan dalam evaluasi nilai gizi suatu protein secara biologis, antara lain PER (*protein efficiency ratio*), nilai cerna atau daya cerna, nilai biologis, dan *net protein utilization* (NPU).

Protein efficiency ratio (PER) pada dasarnya menghitung efisiensi suatu protein makanan yang digunakan untuk sintesis protein di dalam tubuh. Apabila didefinisikan maka PER adalah perbandingan antara pertambahan berat badan dengan jumlah protein yang dikonsumsi. Nilai cerna atau daya cerna suatu protein adalah perbandingan antara jumlah asam-asam amino yang dapat diserap oleh usus halus dengan jumlah protein yang dikonsumsi. Nilai biologis adalah perbandingan antara jumlah asam-asam amino yang dapat ditahan (retensi) oleh tubuh (untuk sintesis protein tubuh) dengan jumlah asam-asam amino yang dapat diserap oleh usus halus. Sedangkan *net protein utilization* (NPU) adalah perbandingan antara jumlah asam-asam amino yang dapat ditahan oleh tubuh dengan jumlah protein yang dikonsumsi.

Jumlah protein yang dikonsumsi dapat dihitung berdasarkan pada jumlah makanan yang dikonsumsi dikalikan dengan kadar protein makanan tersebut. Jumlah asam-asam amino yang dapat diserap oleh usus halus dihitung berdasarkan pengurangan antara jumlah protein yang dikonsumsi dengan jumlah senyawa nitrogen yang terdapat dalam feses. Sedangkan jumlah asam-asam amino yang dapat ditahan oleh tubuh dihitung berdasarkan pengurangan antara jumlah asam-asam amino yang dapat diserap oleh usus halus dengan jumlah senyawa nitrogen (urea) yang terdapat dalam urine.

Kebutuhan tubuh akan protein dan asam-asam amino dapat diestimasi menggunakan tiga cara. Untuk bayi, jumlah protein dan pola asam-asam amino esensial yang terdapat dalam air susu ibu (ASI) dianggap sesuai untuk pertumbuhan bayi yang optimal. Untuk anak-anak, biasanya digunakan

metode faktorial, yang menyangkut estimasi jumlah semua nitrogen yang hilang melalui urine, feses, dan kulit, ditambah dengan kebutuhan untuk pertumbuhan.

Untuk orang dewasa digunakan metode keseimbangan nitrogen yang diukur pada berbagai tingkat konsumsi protein. Keseimbangan nitrogen dinilai dari perbandingan antara jumlah nitrogen (protein) yang dikonsumsi dengan nitrogen yang hilang melalui urine, feses, kulit (keringat) dan jalur metabolisme lainnya. Jika nitrogen yang dikonsumsi lebih besar dari nitrogen yang diekskresikan, keseimbangan nitrogen disebut positif dan disebut negatif untuk keadaan sebaliknya. Keseimbangan nitrogen akan tercapai bila nitrogen yang dikonsumsi sama besar dengan nitrogen yang diekskresikan. Kecukupan protein minimal bagi orang dewasa ditentukan berdasarkan hasil penelitian dengan keseimbangan nitrogen yang tidak negatif.

Nilai gizi protein akan menentukan jumlah yang harus dikonsumsi. Untuk memenuhi kebutuhan tubuh akan protein, protein dengan nilai gizi rendah harus dikonsumsi dalam jumlah lebih banyak dibandingkan dengan protein yang bernilai gizi tinggi.



LATIHAN

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

- 1) Terangkan mengapa kadar protein dihitung dengan mengalikan kadar nitrogen dengan faktor konversi (misalnya 6,25)!
- 2) Terangkan mengapa protein disebut sebagai polipeptida!
- 3) Terangkan apa yang dimaksud dengan asam amino esensial, non-esensial, dan semi-esensial! Berikan contoh masing-masing!
- 4) Berdasarkan struktur molekulnya, protein dibagi dalam dua golongan, yaitu protein fibrosa dan protein globular. Jelaskan sifat karakteristik masing-masing protein tersebut!
- 5) Terangkan klasifikasi protein globular menurut kelarutannya, dan jelaskan sifat karakteristik masing-masing, dan berikan contoh masing-masing!
- 6) Terangkan proses pencernaan protein makanan di dalam lambung dan usus halus, masing-masing!

- 7) Terangkan apa yang dimaksud dengan reaksi: dekarboksilasi, deaminasi, dan transaminasi, serta asam-asam amino!
- 8) Jelaskan apa yang dimaksud dengan “nilai gizi protein”! Terangkan juga apa yang dimaksud dengan suatu protein bernilai gizi tinggi dan protein lain bernilai gizi rendah!
- 9) Sebutkan beberapa metode *in vitro* untuk mengevaluasi nilai gizi suatu protein!
- 10) Sebutkan pula beberapa metode biologis untuk mengevaluasi nilai gizi suatu protein!

Petunjuk Jawaban Latihan

Untuk dapat menjawab soal-soal latihan di atas, Anda harus mempelajari kembali Kegiatan Belajar 1 tentang Pengertian Nilai Gizi Protein, yang meliputi komponen penyusun protein, klasifikasi protein, pengertian nilai gizi protein, serta metode-metode untuk mengevaluasi nilai gizi suatu protein.



RANGKUMAN

1. Protein merupakan senyawa kompleks yang terdiri dari asam-asam amino yang diikat satu sama lain dengan ikatan peptida. Asam amino sendiri terdiri dari rantai karbon (R = rantai cabang), atom hidrogen, gugus karboksilat (COOH), kadang-kadang gugus hidroksil (OH), belerang (S), serta gugus amino (NH₂).
2. Atom nitrogen pada gugus amino suatu asam amino adalah karakteristik protein. Rata-rata terdapat sebanyak 16 % nitrogen dalam suatu protein. Oleh karena itu, faktor konversi dari kadar nitrogen (hasil penetapan dengan metode Kjeldahl) menjadi protein adalah 6,25 (sebagai hasil bagi 100 dengan 16).
3. Satu molekul protein dapat terdiri dari 12 sampai 20 macam asam amino dan jumlah setiap macam asam amino tersebut dapat mencapai ratusan buah. Setiap macam asam amino dihubungkan dengan ikatan peptida membentuk peptide. Karena jumlah peptida tersebut sangat banyak maka protein sering kali disebut sebagai polipeptida. Macam, jumlah, dan susunan asam amino dalam suatu protein menentukan sifat-sifat protein tersebut.

4. Asam amino penyusun protein dapat dibagi ke dalam tiga kelompok berdasarkan dapat atau tidaknya disintesis oleh tubuh manusia, yaitu asam amino esensial (tidak dapat disintesis), semi esensial dan non-esensial (dapat disintesis oleh tubuh). Agar sintesis protein di dalam tubuh berjalan lancar, misalnya untuk menjamin pertumbuhan pada anak-anak atau untuk mempertahankan keseimbangan nitrogen di dalam tubuh orang dewasa maka asam-asam amino esensial harus terdapat dalam makanan yang dikonsumsi karena tubuh tidak dapat mensintesisnya.
5. Berdasarkan struktur molekulnya, protein dapat dikelompokkan menjadi dua bentuk, yaitu protein fibrosa (fibrous, berserat, berserabut) dan protein globular (bulat seperti bola).
6. Protein globular larut dalam larutan garam dan asam encer, juga mudah berubah di bawah pengaruh konsentrasi garam, serta pelarut asam dan basa, dibandingkan dengan protein fibrosa. Selain itu, protein ini lebih mudah terdenaturasi, yaitu berubahnya susunan molekulnya yang diikuti dengan perubahan sifat fisik dan fisiologisnya.
7. Menurut kelarutannya, protein globular dapat digolongkan menjadi beberapa kelas, yaitu albumin, globulin, glutelin, prolamin, histon, dan protamin.
8. Protein makanan yang dikonsumsi, pertama-tama akan dicerna di dalam lambung (perut) oleh enzim pepsin. Enzim pepsin mengubah protein menjadi proteosa dan pepton, yang masih merupakan turunan protein dengan berat molekul besar.
9. Aksi proteolitik cairan pankreas dilaksanakan oleh enzim tripsin dan kimotripsin, yang menghidrolisis protein, proteosa, dan pepton yang berasal dari lambung menjadi polipeptida, kemudian dipecah lebih lanjut oleh karboksipeptidase. Sel-sel mukosa usus halus juga memproduksi aminopeptidase dan dipeptidase, yang akan memecah polipeptida dan dipeptida menjadi asam-asam amino.
10. Protein makanan diserap melalui dinding usus sebagai asam-asam amino dan dialirkan melalui saluran darah (vena porta) ke hati dan kemudian ke jaringan-jaringan lain (ekstrahepatik).
11. Terdapat tiga proses utama yang mendahului deretan proses metabolisme asam-asam amino, yaitu dekarboksilasi, transaminasi, dan deaminasi.
12. Apabila bahan bakar (pati, gula atau lemak) tidak mencukupi kebutuhan tubuh akan energi maka asam-asam amino dari pool asam amino akan digunakan sebagai sumber energi.
13. Nilai gizi protein dapat diartikan sebagai kemampuan suatu protein untuk dapat dimanfaatkan oleh tubuh sebagai sumber nitrogen untuk

sintesis protein tubuh. Terdapat dua faktor yang menentukan nilai gizi suatu protein, yaitu daya cerna dan kandungan asam amino esensial. Protein yang mudah dicerna (dihidrolisis) oleh enzim-enzim pencernaan, serta mengandung asam-asam amino esensial yang lengkap serta dalam jumlah yang seimbang, merupakan protein yang bernilai gizi tinggi.

14. Terdapat bermacam-macam cara atau metode evaluasi nilai gizi protein, tetapi pada garis besarnya dapat digolongkan menjadi dua macam, yaitu metode *in vitro* (secara kimia, enzimatik atau mikrobiologis) dan *in vivo* (secara biologis menggunakan hewan percobaan, termasuk manusia).
15. Protein efficiency ratio (PER) pada dasarnya menghitung efisiensi suatu protein makanan untuk digunakan untuk sintesis protein di dalam tubuh. Apabila didefinisikan maka PER adalah perbandingan antara pertambahan berat badan dengan jumlah protein yang dikonsumsi.
16. Nilai cerna atau daya cerna suatu protein adalah perbandingan antara jumlah asam-asam amino yang dapat diserap oleh usus halus dengan jumlah protein yang dikonsumsi.
17. Nilai biologis adalah perbandingan antara jumlah asam-asam amino yang dapat ditahan (retensi) oleh tubuh (untuk sintesis protein tubuh) dengan jumlah asam-asam amino yang dapat diserap oleh usus halus.
18. Net protein utilization (NPU) adalah perbandingan antara jumlah asam-asam amino yang dapat ditahan oleh tubuh dengan jumlah protein yang dikonsumsi.
19. Nilai gizi protein akan menentukan jumlah yang harus dikonsumsi. Untuk memenuhi kebutuhan tubuh akan protein, protein dengan nilai gizi rendah harus dikonsumsi dalam jumlah lebih banyak dibandingkan dengan protein yang bernilai gizi tinggi.

**TES FORMATIF 1** _____

Pilihlah satu jawaban yang paling tepat!

- 1) Asam-asam amino di bawah ini tergolong esensial, *kecuali*
 - A. glutamin
 - B. lisin
 - C. metionin
 - D. triptofan

- 2) Asam-asam amino di bawah ini tergolong non-esensial, *kecuali*
 - A. asam aspartat
 - B. asam glutamat
 - C. fenilalanin
 - D. prolin

- 3) Asam-asam amino di bawah ini tergolong semi-esensial, *kecuali*
 - A. histidin
 - B. isoleusin
 - C. sistin
 - D. tirosin

- 4) Protein di bawah ini tergolong protein globular, *kecuali*
 - A. albumin
 - B. globulin
 - C. miosin
 - D. protamin

- 5) Di dalam lambung (perut), protein akan dicerna oleh
 - A. asam lambung (HCl)
 - B. pepsin
 - C. lipase gastrik
 - D. rennin

- 6) Protease yang tidak disekresikan oleh pankreas adalah
 - A. kimotripsin
 - B. tripsin
 - C. aminopeptidase
 - D. karboksipeptidase

- 7) Faktor-faktor di bawah ini menentukan nilai gizi protein, *kecuali*
- daya cerna (nilai cerna)
 - kadar protein
 - jenis protein (fibrosa atau globular)
 - jumlah dan komposisi asam amino esensial
- 8) Di bawah ini adalah contoh metode untuk penentuan nilai gizi protein secara *in vitro*, *kecuali*
- nilai Cerna
 - nilai C-PER
 - kadar lisin tersedia
 - nilai PER
- 9) Perbedaan antara nilai biologis dengan NPU terletak pada
- pembagi jumlah nitrogen yang diretensi
 - jumlah nitrogen (asam amino) yang diretensi
 - jumlah nitrogen (asam amino) yang diserap
 - jumlah nitrogen dalam feses dan urine
- 10) Nilai PER menunjukkan
- jumlah protein yang dikonsumsi
 - pertambahan berat badan
 - rasio pertambahan berat badan dan jumlah protein yang dikonsumsi
 - rasio jumlah protein yang dikonsumsi dan pertambahan berat badan

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 Belajar 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 Belajar 2. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi Kegiatan Belajar 1, terutama bagian yang belum dikuasai.

KEGIATAN BELAJAR 2

Penetapan Kadar Protein dan Analisis Asam Amino

A. KADAR PROTEIN

Dalam analisis protein yang terkandung dalam bahan pangan, umumnya perhatian lebih ditujukan pada kadar total protein daripada terhadap adanya protein spesifik dalam bahan pangan tersebut. Jumlah gram protein dalam bahan pangan biasanya dihitung sebagai hasil perkalian jumlah gram nitrogen dengan faktor 6,25. Seperti telah diutarakan pada Kegiatan Belajar 1, konstanta tersebut diperoleh dari asumsi bahwa protein mengandung 16% nitrogen, dan angka 6,25 adalah hasil pembagian 100 dengan 16. Sesungguhnya asumsi ini tidak benar karena tidak semua protein mengandung secara tepat 16% nitrogen. Oleh karena itu, kadar protein yang dihitung harus dilaporkan sebagai kadar protein kasar (*crude protein*).

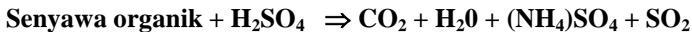
Nitrogen yang terdapat dalam bahan pangan sesungguhnya bukan hanya berasal dari asam-asam amino protein, melainkan juga dari senyawa-senyawa nitrogen lain yang dapat atau tidak dapat digunakan sebagai sumber nitrogen oleh tubuh. Kadar nitrogen dalam bahan pangan bervariasi antara 150 – 180 g/kg atau sekitar 15 – 18%, tergantung dari jumlah asam-asam amino protein yang dikandungnya, serta senyawa-senyawa nitrogen lain, seperti purin, pirimidin, asam amino bebas, vitamin, kreatin, kreatinin, dan gula-gula amino. Dalam daging (sapi), satu bagian nitrogen terdapat sebagai asam-asam amino bebas dan peptida; daging ikan juga mengandung senyawa-senyawa ini serta basa nitrogen volatil dan senyawa metil-amino. Setengah dari jumlah total nitrogen dalam umbi kentang tidak terdapat sebagai protein; bahkan Air Susu Ibu (ASI) juga mengandung sedikit urea. Kenyataan ini menunjukkan bahwa faktor 6,25 tidak selalu tepat digunakan untuk semua jenis protein. Pada Tabel 1.3 dapat dilihat faktor-faktor konversi yang digunakan untuk menghitung kadar protein beberapa macam bahan pangan.

Tabel 1.3.

Faktor yang digunakan untuk konversi kadar nitrogen menjadi kadar protein

Bahan Pangan	Faktor Konversi
Gandum (utuh)	5,83
Terigu	5,70
Makaroni, spaghetti	5,70
Beras (semua varietas)	5,95
Rye, barley, dan oats	5,83
Kacang tanah	5,46
Kacang kedelai	5,71
Kelapa	5,30
Wijen, biji bunga matahari	5,30
Susu (dari semua spesies) dan keju	6,38

Metode yang biasa digunakan untuk menetapkan kadar nitrogen dalam bahan pangan adalah metode Kjeldahl. Beberapa modifikasi telah dilakukan terhadap metode ini untuk meningkatkan ketelitian dan ketepatannya. Prinsip metode ini adalah oksidasi senyawa organik oleh asam sulfat untuk membentuk karbondioksida (CO_2) dan air (H_2O), serta pelepasan nitrogen dalam bentuk amonia. Amonia yang terdapat dalam asam sulfat berbentuk amonium-sulfat, sedangkan karbondioksida dan air akan terpisahkan oleh proses destilasi. Belerang dioksida adalah produk hasil reduksi dari asam sulfat yang juga bersifat volatil.



Destruksi sampel untuk membentuk amonium-sulfat merupakan bagian terpenting metode ini. Faktor-faktor yang dianggap paling mempengaruhi adalah jenis katalis yang digunakan dan waktu pemanasan, serta penambahan bahan pereduksi atau pengoksidasi.

Pengukuran amonia setelah terbentuk selama destruksi, dilakukan dengan menggunakan beberapa cara. Dalam salah satu cara, amonia didestilasi setelah penambahan sejumlah alkali (NaOH), kemudian diikat oleh larutan asam (HCl) yang diketahui volume dan konsentrasinya. Setelah itu, asam tersebut dititrasi untuk menentukan berapa banyak amonia yang didestilasi. Dengan cara ini akhirnya dapat dihitung berapa persentase nitrogen yang terkandung dalam bahan; dan selanjutnya kadar protein

dihitung dengan cara mengalikan kadar nitrogen tersebut dengan faktor konversi.

Untuk dapat lebih memahami metode penetapan kadar protein, Anda dianjurkan untuk mempelajari prosedur penetapan kadar protein (makro- dan mikro-Kjeldahl) dari AOAC (*Association of Official of Analytical Chemists*), yang diberikan pada mata ajaran Analisis Pangan.

B. ANALISIS ASAM AMINO

Analisis asam amino ditujukan bukan saja untuk mengetahui jenis asam-asam amino (terutama asam-asam amino esensial) yang terkandung dalam suatu protein bahan pangan (kualitatif), melainkan juga jumlah atau kadarnya (kuantitatif). Data yang diperoleh sangat berguna untuk memprediksi nilai gizi protein tersebut, yaitu melalui perhitungan skor kimia (*chemical score*) atau PER-hitung (C-PER).

Selain itu, data mengenai komposisi asam-asam amino (esensial) suatu protein bahan pangan sangat berguna untuk meningkatkan nilai gizinya, yaitu dengan cara menambahkan (suplementasi) asam amino esensial yang defisien, atau dengan cara mencampurkan protein tersebut dengan protein lain (komplementasi) sehingga akan diperoleh protein campuran dengan komposisi asam amino esensial yang lebih baik karena kekurangan masing-masing saling tertutupi.

Metode analisis asam amino memerlukan perlakuan pendahuluan terhadap sampel, yaitu untuk menghidrolisis protein menjadi asam-asam amino bebas. Masalah utama dalam analisis asam amino bahan pangan adalah kemungkinan terjadinya destruksi asam amino selama proses hidrolisis oleh asam. Masalah ini menjadi lebih besar karena destruksi tersebut dapat terjadi justru pada asam-asam amino esensial, yaitu metionin, sistin, lisin, treonin, dan triptofan.

Protein yang terkandung dalam suatu bahan pangan berbeda dalam hal komposisinya dengan bahan pangan lainnya sehingga suatu prosedur hidrolisis yang ideal adalah yang spesifik untuk tiap jenis bahan pangan. Oleh karena hal ini sulit untuk dilakukan maka diperlukan suatu kompromi antara yang ideal dengan prosedur yang praktis.

Asam-asam amino dilepaskan dari molekul protein dan didestruksi dengan kecepatan yang berbeda, tergantung pada komposisi asam amino dan karakteristik sampel protein. Daftar komposisi asam amino sebaiknya

diperoleh dari lima hidrolisis yang terpisah, yaitu tiga hidrolisis asam dengan waktu yang berbeda (biasanya 24, 48, dan 72 jam), satu hidrolisis asam setelah dilakukan oksidasi asam performat untuk asam sisteik dan metionin sulfon, serta satu hidrolisis alkali untuk penetapan triptofan.

Tiga waktu hidrolisis asam yang berbeda dimaksudkan untuk dapat memilih waktu yang paling tepat untuk beberapa asam amino, dan untuk membuat ekstrapolasi kepada waktu nol untuk asam-asam amino yang paling labil. Prosedur terpisah untuk asam amino belerang (metionin dan sistin) serta triptofan sebaiknya dilakukan, tetapi umumnya waktu hidrolisis selama 24 jam dapat memberikan data yang cukup baik untuk penetapan skor kimia suatu protein.

Sebagian besar prosedur analisis asam amino menggunakan teknik kromatografi. Teknik kromatografi kertas telah lama ditinggalkan dan diganti dengan teknik kolom meskipun kromatografi lapis tipis masih sering digunakan.

Penggunaan teknik kromatografi kolom dapat dibagi menjadi dua golongan utama, yaitu prosedur derivatisasi sebelum melewati kolom (*pre-column*) dan setelah melewati kolom (*post-column*). Kromatografi pertukaran ion menggunakan teknik derivatisasi *post column*, di mana asam-asam amino dipisah-pisahkan oleh pertukaran ion, kemudian derivatnya dibentuk setelah asam amino tersebut keluar dari kolom sehingga jumlahnya dapat ditentukan. Prosedur derivatisasi yang banyak dipakai adalah menggunakan ninhidrin, diikuti oleh penetapan densitas optik.

Sebaliknya, derivatisasi *pre-column*, seperti yang digunakan dalam kromatografi gas-cair (*gas-liquid chromatography*, GLC) dan kromatografi cair kinerja tinggi (*high performance liquid chromatography*, HPLC), menggunakan kolom untuk memisahkan derivat asam-asam amino. Selanjutnya derivat tersebut ditentukan jumlahnya dengan menggunakan detektor. Penetapan asam amino dengan menggunakan GLC dan HPLC umumnya lebih cepat dibandingkan dengan kromatografi pertukaran ion, akan tetapi keterbatasannya terletak pada pembuatan derivat-derivat asam-asam amino.

Dalam penggunaan HPLC, sering kali digunakan dansil klorida (5-dimetilamino-1-naftalen sulfonil klorida) untuk derivatisasi asam-asam amino, menghasilkan derivat dansil yang bersifat fluoresen, yang kemudian akan dipisahkan dengan prosedur kromatografi kolom fase dibalik (*reversed phase column chromatography*). Kolom ini menggunakan gel silika yang

akan mengikat grup fungsional hidrokarbon non-polar (contohnya gugus oktadesil) sebagai fase diam (stasioner) dan menggunakan elusi linier berulang (*multi-step non-linear elution*). Hasil yang diperoleh dideteksi dan diukur dengan suatu detektor fluoresen yang dapat mendeteksi sampai batas piko-gram.

Telah dibuktikan bahwa HPLC dengan menggunakan bermacam-macam fase stasioner non-polar, memberikan hasil yang lebih baik dalam hal pemisahan peptida dibandingkan dengan kromatografi pertukaran ion. Akan tetapi karena keterbatasannya dalam pemisahan asam-asam amino polar, penggunaannya masih lebih sedikit dibandingkan dengan kromatografi pertukaran ion. Salah satu keunggulan metode HPLC dibandingkan dengan metode-metode lain adalah kemampuannya untuk membedakan asam-asam amino bentuk D- dan bentuk L-.

Analisis asam amino menggunakan kromatografi gas-cair (GLC) memerlukan perubahan asam-asam amino menjadi derivat volatil secara kuantitatif. Derivat volatil tersebut dapat berupa ester asam hidroksi metil, ester trimetil-asil atau N-butil-N-trifluoroasetil. Sebelum diubah menjadi ester volatil, hidrolisat protein harus mengalami pemisahan fraksi asam-asam amino, untuk menghilangkan senyawa-senyawa yang dapat mempengaruhi analisis. Telah dilaporkan bahwa hasil analisis asam amino menggunakan kromatografi gas-cair tidak jauh berbeda dengan prosedur lainnya.



LATIHAN

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

- 1) Mengapa dalam penetapan kadar protein dengan metode Kjeldahl, hasilnya harus dilaporkan sebagai kadar protein kasar?
- 2) Disebutkan bahwa senyawa nitrogen dalam bahan pangan bukan hanya berasal dari protein. Sebutkan senyawa-senyawa lain dalam bahan pangan yang juga mengandung nitrogen!
- 3) Faktor konversi untuk menghitung kadar protein dalam kacang kedelai adalah 5,71, sedangkan untuk susu sapi adalah 6,38. Terangkan mengapa terdapat perbedaan angka konversi tersebut!
- 4) Terangkan prinsip penetapan kadar protein dengan metode Kjeldahl!

- 5) Terangkan fungsi bahan-bahan kimia tersebut ini dalam penetapan kadar protein dengan metode Kjeldahl, yaitu asam sulfat pekat, natrium hidroksida pekat dan asam klorida encer!
- 6) Apa tujuan dilakukan analisis asam amino suatu protein secara kualitatif dan kuantitatif, masing-masing?
- 7) Dalam analisis asam amino, mengapa hidrolisis protein dengan asam (HCl pekat) dilakukan tiga kali dengan waktu yang berbeda (24, 48 dan 72 jam)?
- 8) Untuk analisis asam amino apa dilakukan hidrolisis protein dengan alkali?
- 9) Jelaskan apa yang dimaksud dengan teknik derivatisasi *pre-column* dan *post-column* dalam kromatografi kolom! Berikan contoh masing-masing!
- 10) Terangkan mengapa untuk prosedur dengan GLC diperlukan perubahan asam-asam amino menjadi derivat yang volatil!

Petunjuk Jawaban Latihan

Untuk dapat menjawab soal-soal latihan di atas, Anda harus mempelajari kembali Kegiatan Belajar 2 tentang Penetapan Kadar Protein dan Analisis Asam Amino.



RANGKUMAN

1. Dalam analisis protein yang terkandung dalam bahan pangan, umumnya perhatian lebih ditujukan pada kadar total protein daripada terhadap adanya protein spesifik dalam bahan pangan tersebut. Jumlah gram protein dalam bahan pangan biasanya dihitung sebagai hasil perkalian jumlah gram nitrogen dengan faktor 6,25, dan kadar protein yang dihitung dilaporkan sebagai kadar protein kasar (crude protein).
2. Nitrogen yang terdapat dalam bahan pangan sesungguhnya bukan hanya berasal dari asam-asam amino protein, melainkan juga dari senyawa-senyawa nitrogen lain yang dapat atau tidak dapat digunakan sebagai sumber nitrogen oleh tubuh.
3. Kadar nitrogen dalam bahan pangan bervariasi antara 150 – 180 g/kg atau sekitar 15 – 18%, tergantung dari jumlah asam-asam

amino protein yang dikandungnya, serta senyawa-senyawa nitrogen lain, seperti purin, pirimidin, asam amino bebas, vitamin, kreatin, kreatinin, dan gula-gula amino.

4. Faktor-faktor konversi yang digunakan untuk menghitung kadar protein beberapa macam bahan pangan adalah sebagai berikut: gandum 5,83; terigu 5,70; makaroni dan spaghetti 5,70; beras 5,95; rye, barley, dan oats 5,83; kacang tanah 5,46; kacang kedelai 5,71; kelapa 5,30; wijen dan biji bunga matahari 5,30; dan susu 6,38.
5. Metode yang biasa digunakan untuk menetapkan kadar nitrogen dalam bahan pangan adalah metode Kjeldahl. Prinsip metode ini adalah oksidasi senyawa organik oleh asam sulfat untuk membentuk karbon-dioksida (CO_2) dan air (H_2O), serta pelepasan nitrogen dalam bentuk amonia.
6. Destruksi sampel untuk membentuk amonium-sulfat merupakan bagian terpenting metode ini. Faktor-faktor yang dianggap paling mempengaruhi adalah jenis katalis yang digunakan dan waktu pemanasan, serta penambahan bahan pereduksi atau pengoksidasi.
7. Pengukuran amonia setelah terbentuk selama destruksi, dilakukan dengan menggunakan beberapa cara. Dalam salah satu cara, amonia didestilasi setelah penambahan sejumlah alkali (NaOH), yang kemudian diikat oleh larutan asam (HCl) yang diketahui volume dan konsentrasinya. Setelah itu, asam tersebut dititrasi untuk menentukan berapa banyak amonia yang didestilasi.
8. Analisis asam amino ditujukan bukan saja untuk mengetahui jenis asam-asam amino (kualitatif), melainkan juga jumlah atau kadarnya (kuantitatif). Data yang diperoleh sangat berguna untuk memprediksi nilai gizi protein tersebut dan sangat berguna untuk meningkatkan nilai gizinya.
9. Metode analisis asam amino memerlukan perlakuan pendahuluan terhadap sampel, yaitu untuk menghidrolisis protein menjadi asam-asam amino bebas. Masalah utama dalam analisis asam amino bahan pangan adalah kemungkinan terjadinya destruksi asam amino selama proses hidrolisis oleh asam. Masalah ini menjadi lebih besar karena destruksi tersebut dapat terjadi justru pada asam-asam amino esensial, yaitu metionin, sistin, lisin, treonin, dan triptofan.
10. Idealnya komposisi asam amino suatu protein diperoleh dari lima hidrolisis yang terpisah, yaitu tiga hidrolisis asam dengan waktu yang berbeda (biasanya 24, 48, dan 72 jam), satu hidrolisis asam setelah dilakukan oksidasi asam performat untuk asam sisteik dan metionin sulfon, serta satu hidrolisis alkali untuk penetapan triptofan.

11. Sebagian besar prosedur analisis asam amino menggunakan teknik kromatografi. Teknik kromatografi kertas telah lama ditinggalkan dan diganti dengan teknik kolom, meskipun kromatografi lapis tipis masih sering digunakan.
12. Penggunaan teknik kromatografi kolom dapat dibagi menjadi dua golongan utama, yaitu prosedur derivatisasi sebelum melewati kolom (pre-column) dan setelah melewati kolom (post-column).
13. Kromatografi pertukaran ion menggunakan teknik derivatisasi post column, di mana asam-asam amino dipisah-pisahkan oleh pertukaran ion, kemudian derivatnya dibentuk setelah asam amino tersebut keluar dari kolom sehingga jumlahnya dapat ditentukan. Prosedur derivatisasi yang banyak dipakai adalah menggunakan ninhidrin, diikuti oleh penetapan densitas optik.
14. Sebaliknya, derivatisasi pre-column, seperti yang digunakan dalam kromatografi gas-cair (gas-liquid chromatography, GLC) dan kromatografi cair kinerja tinggi (high performance liquid chromatography, HPLC), menggunakan kolom untuk memisahkan derivat asam-asam amino. Selanjutnya derivat tersebut ditentukan jumlahnya dengan menggunakan detektor.
15. Dalam penggunaan HPLC, sering kali digunakan dansil klorida (5-dimetilamino-1-naftalen sulfonil klorida) untuk derivatisasi asam-asam amino, menghasilkan derivat dansil yang bersifat fluoresen, kemudian akan dipisahkan dengan prosedur kromatografi kolom fase dibalik (reversed phase chromatography). Hasil yang diperoleh dideteksi dan diukur dengan suatu detektor fluoresen.
16. Salah satu keunggulan metode HPLC dibandingkan dengan metode-metode lain adalah kemampuannya untuk membedakan asam-asam amino bentuk D- dan bentuk L-.
17. Analisis asam amino menggunakan kromatografi gas-cair (GLC) memerlukan perubahan asam-asam amino menjadi derivat volatil secara kuantitatif. Derivat volatil tersebut dapat berupa ester asam hidroksi metil, ester trimetil-asil atau N-butil-N-trifluoroasetil.



TES FORMATIF 2

Pilihlah satu jawaban yang paling tepat!

- 1) Senyawa nitrogen yang terkandung dalam bahan pangan selain asam amino protein juga senyawa-senyawa berikut ini, *kecuali*
 - A. gula
 - B. kreatin

- C. purin
 - D. pirimidin
- 2) Faktor konversi untuk menghitung kadar protein dari kadar nitrogen berbeda untuk tiap jenis bahan pangan. *Tentukan mana yang salah!*
- A. Beras: 5,95.
 - B. Kacang tanah: 5,46.
 - C. Kelapa: 5,71.
 - D. Wijen: 5,30.
- 3) Apabila suatu protein didestruksi dengan asam sulfat pekat, akan terbentuk senyawa berikut ini, *kecuali*
- A. air
 - B. amoniak
 - C. gas karbondioksida
 - D. amonium sulfat
- 4) Data hasil analisis asam amino (kualitatif dan kuantitatif) suatu protein berguna untuk, *kecuali*
- A. memprediksi nilai cernanya
 - B. memprediksi nilai gizi
 - C. fortifikasi asam amino
 - D. suplementasi protein
- 5) Masalah utama dalam hidrolisis protein oleh asam untuk keperluan analisis asam-asam amino yang dikandungnya adalah kemungkinan terjadinya destruksi terhadap asam-asam amino di bawah ini, *kecuali*
- A. fenilalanin
 - B. lisin
 - C. metionin
 - D. treonin
- 6) Analisis asam-asam amino suatu protein dewasa ini menggunakan teknik kromatografi tersebut di bawah ini, *kecuali*
- A. kromatografi kertas
 - B. kromatografi pertukaran ion
 - C. kromatografi cair kinerja tinggi
 - D. kromatografi gas-cair

- 7) Teknik derivatisasi asam-asam amino *post column* terdapat pada metode kromatografi
- kertas
 - pertukaran ion
 - cair kinerja tinggi
 - gas-cair
- 8) Teknik derivatisasi asam-asam amino *pre-column* terdapat pada metode kromatografi tersebut di bawah ini, *kecuali (pilih dua)*
- kromatografi lapis tipis
 - kromatografi pertukaran ion
 - kromatografi cair
 - kromatografi gas-cair
- 9) Keunggulan metode HPLC dibandingkan kromatografi lainnya adalah mampu
- mendeteksi asam amino terikat
 - membedakan asam amino D- dan L-
 - membedakan asam amino dan asam lemak
 - membedakan asam amino bebas dan asam amino terikat
- 10) Analisis asam amino menggunakan kromatografi gas-cair (GLC) memerlukan perubahan asam-asam amino menjadi derivat volatil secara kuantitatif. Derivat volatil tersebut dapat berupa senyawa di bawah ini, *kecuali*
- ester asam hidroksi metil
 - ester trimetil-amin
 - ester trimetil-asil
 - N-butil-N-trifluoro-asetil

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 Belajar 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 Kegiatan Belajar 3. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi Kegiatan Belajar 2, terutama bagian yang belum dikuasai.

KEGIATAN BELAJAR 3

Penetapan Skor Kimia Protein

A. SKOR KIMIA

Metode ini didasari oleh kenyataan bahwa nilai biologis suatu protein dibatasi oleh proporsi relatif asam-asam amino esensial yang terkandung di dalamnya. Dalam menilai mutu gizi suatu protein, Block dan Mitchell pada tahun 1946-1947, membandingkan masing-masing asam amino yang terkandung dalam protein tersebut dengan yang terkandung dalam protein telur sebagai standar. Selanjutnya nilai (skor) mutu gizi protein tersebut dinyatakan oleh asam amino esensial (AAE) yang paling defisien dibandingkan dengan standar.

Perhitungan untuk masing-masing asam amino esensial adalah sebagai berikut.

$$\frac{\text{Kadar AAE protein sampel} - \text{kadar AAE protein standar}}{\text{Kadar AAE protein standar}} \times 100$$

Selanjutnya nilai yang diperoleh untuk masing-masing asam amino esensial ditabulasikan, dan nilai yang tertinggi (negatif) menunjukkan asam amino esensial yang paling defisien (*limiting amino acid*).

Tabel 1.4. memperlihatkan nilai gizi relatif protein (darah) berdasarkan komposisi asam-asam amino esensialnya dibandingkan dengan telur utuh sebagai standar. Sedangkan pada Tabel 1.5. diperlihatkan hubungan antara skor kimia protein dengan nilai biologis dan daya cernanya.

Metode "skor kimia yang disederhanakan" didasarkan atas kenyataan bahwa asam amino pembatas (*limiting*) dalam sebagian besar bahan pangan adalah lisin, metionin (metionin dan sistin) dan kadang-kadang triptofan. Oleh karena itu, perhitungan skor kimia hanya dilakukan terhadap asam-asam amino tersebut.

Tabel 1.4.
 Nilai gizi relatif protein darah berdasarkan komposisi asam amino (AA) esensialnya

Asam amino (esensial)	Telur utuh (%)	% defisien terhadap telur utuh			
		Serum utuh	Albumin serum	Fibrin	Gama globulin
Arginin	6,4	-5	-6	+22	-25
Histidin	2,1	+48	+67	+29	+19
Lisin	7,2	+33	+44	+22	-7
Tirosin	4,5	+20	+18	+29	+51
Fenilalanin	6,3	-14	+22	-5	
Triptofan	1,5	+13	-80	+127	+93
Sistin	2,4	+54	+171	-21	+29
Metionin	4,1	-54	-68	-24	-73
Sist. + Met.	6,5	-14	+5	-23	-35
Treonin	4,9	+29	+4	+61	
Leusin	9,2	+96	+29	+52	-12
Isoleusin	8,0	-62	-75	-37	-59
Valin	7,3	-18	-4	-18	+38
Skor Kimia		62	80	37	73
AA pembatas (Limiting AA)		ILE	TRP	ILE	MET

Keterangan: Skor kimia merupakan angka persentase defisit tertinggi dibandingkan dengan protein telur.

Sumber : Block dan Mitchell (1946-47)

Tabel 1.5.
 Hubungan antara skor kimia protein dengan nilai biologis dan daya cernanya

Sumber protein	Asam amino pembatas	Skor Kimia	Nilai Biologis	Daya cerna
Daging sapi	Sist.+ Met.	29	76	100
Hati sapi	Isoleusin	30	77	97
Albumin telur	Lisin	31	82	100
Susu sapi	Sist.+ Met.	32	90	95
Laktalbumin	Metionin	34	84	98
Kasein	Sist.+ Met.	42	73	99
Biji bunga matahari	Lisin	47	65	94
Kedelai (telah mengalami pemanasan)	Metionin	51	75	96
Beras putih	Lisin	56	66	78
Biji gandum	Lisin	63	70	91
Tepung terigu	Lisin	72	52	100
Jagung	Lisin	72	60	94
Kacang tanah	Metionin	76	58	97

Keterangan: Skor kimia merupakan angka persentase defisit tertinggi dibandingkan dengan protein telur.

Sumber : Block dan Mitchell (1946-47)

Dalam metode ini skor masing-masing asam amino esensial dinyatakan sebagai persentase konsentrasi terhadap yang terdapat dalam telur utuh (sebagai protein standar, nilai 100), dengan perhitungan sebagai berikut.

$$\frac{\text{Kadar AAE protein sampel}}{\text{Kadar AAE protein standar}} \times 100$$

Skor kimia dinyatakan oleh angka skor asam amino yang terendah. Dalam hal ini, bila sistin merupakan asam amino esensial yang paling defisien maka kombinasi metionin dan sistin digunakan dalam perhitungan skor. Tetapi, bila metionin merupakan asam amino esensial yang paling defisien maka hanya kadar metionin saja yang digunakan dalam perhitungan skor.

Tabel 1.6.
Hubungan antara skor asam amino, skor kimia, dan nilai PER beberapa jenis bahan pangan

Sumber protein	Persentase dari telur				Skor kimia	Nilai PER
	Lisin	Metionin	Sistin	Met.+ Sist.		
Telur utuh	100	100	100	100	100	3,35
Tepung terigu:						
Utuh	31	38	82	56	31	1,17
Putih	26	46	74	57	26	0,59
Tepung gluten	23	-	-	-	23	0,52
Tepung ikan	160	116	41	86	86	3,04
Kasein	136	107	13	69	69	2,50
Keju Cheddar	133	95	27	68	68	2,32
Hamburger	114	89	32	66	66	2,68
Susu bubuk	116	89	29	65	65	2,56
Tepung kedelai	78	42	42	42	42	2,04

Sumber: McLaughlan et al. (1959)

Pada Tabel 1.6. diperlihatkan hubungan antara skor kimia protein beberapa bahan pangan yang ditetapkan dengan metode ini dengan nilai PER-nya masing-masing, yang ternyata kedua hasil tersebut mempunyai korelasi yang baik. Oleh karena itu, McLaughlan et al. (1959) menyimpulkan bahwa penetapan konsentrasi tiga asam amino, yaitu lisin, metionin, dan sistin, cukup untuk menetapkan nilai gizi suatu protein.

Tabel 1.7.
Komposisi asam amino esensial telur (ayam) yang digunakan sebagai referensi dalam penetapan skor kimia

Asam amino esensial	Block dan Mitchell (1946)	Oser (1959)	Mitchell (1954)
	(mg/g N)		
Isoleusin	500	415	481
Leusin	575	550	575
Lisin	450	400	437
Metionin + Sistin	406	342	400
Fenilalanin + Tirosin	675	630	675
Treonin	306	311	268
Triptofan	93	103	93
Valin	456	464	450
Histidin	131	150	150
Arginin	400	410	

Tabel 1.8.
Pola kebutuhan asam amino berdasarkan estimasi dan pola referensi asam amino yang direkomendasikan oleh FAO (1973)

Asam Amino Esensial	Pola Kebutuhan Asam Amino			Pola Referensi FAO (1973)
	Bayi (3-6 bln)	Anak-anak (10-12 th)	Dewasa (25-30 th)	
(mg/g protein)				
Histidin	14,0			
Isoleusin	35,0	37,0	18,0	40
Leusin	80,0	56,0	25,0	70
Lisin	52,0	75,0	22,0	55
Metionin + Sistin	29,0	34,0	24,0	35
Fenilalanin + Tirosin	63,0	34,0	25,0	60
Treonin	44,0	44,0	13,0	40
Triptofan	8,5	4,6	6,5	10
Valin	47,0	41,0	18,0	50

Oleh karena komposisi asam amino telur tidak selalu tetap (dipengaruhi oleh banyak faktor) seperti dapat dilihat pada Tabel 1.7 maka penetapan telur sebagai protein standar telah banyak mendapat kritikan dari para ahli gizi. Oleh karena itu, pada masa sekarang dalam perhitungan skor kimia suatu protein, orang menggunakan protein referensi FAO (1973) sebagai standar (Tabel 1.8.).

Skor untuk masing-masing asam amino esensial dinyatakan sebagai persentase konsentrasi yang terdapat dalam protein standar, menggunakan rumus:

$$\frac{\text{Konsentrasi AAE protein sampel}}{\text{Konsentrasi AAE protein standar}} \times 100$$

Dan skor kimia protein sampel dinyatakan oleh angka skor asam amino esensial yang terendah (Tabel 1.9.).

Tabel 1.9.
Contoh penetapan skor kimia suatu protein dengan menggunakan pola FAO (1973) sebagai standar

Asam amino esensial	Kadar dlm sampel	Referensi FAO (1973)	Skor Asam Amino *)	Skor Kimia
ILE	48	40	100	73
LEU	71	70	100	
LYS	40	55	73	
MET + CYS	40	35	100	
PHE + TYR	61	60	100	
THR	38	40	95	
TRP	10	10	100	
VAL	51	50	100	

*) Bila angka perhitungan > 100, ditulis 100.

Dari Tabel 1.9. tersebut dapat dilihat bahwa angka terendah ditunjukkan oleh asam amino lisin, yaitu 73, sedangkan kedua terendah ditunjukkan oleh treonin, yaitu 95. Ini berarti bahwa skor kimia sampel protein tersebut adalah 73 dengan asam amino pembatas yang utama adalah lisin dan asam amino pembatas yang kedua adalah treonin.

B. INDEKS ASAM AMINO ESENSIAL

Oser (1951) berpendapat bahwa nilai gizi suatu protein tidak hanya ditentukan oleh salah satu asam amino esensial yang paling defisien (seperti halnya dalam perhitungan skor kimia), tetapi oleh semua asam amino esensial karena masing-masing asam amino tersebut bersifat spesifik dan semuanya sama-sama esensial. Oleh karena itu, untuk memprediksi nilai gizi

suatu protein, ia mengembangkan suatu cara perhitungan dengan mengintegrasikan semua asam amino esensial. Metodenya tersebut diberi nama Indeks Asam Amino Esensial (*Essential Amino Acids Index, EAA-Index*), atau diterjemahkan menjadi Indeks AAE.

Dalam perhitungan tersebut, protein telur digunakan sebagai standar, akan tetapi dinyatakan oleh Oser (1951) bahwa protein standar lainnya dapat digunakan dalam perhitungan tersebut. Dalam hal ini arginin dan histidin, yang tidak esensial untuk orang dewasa, dapat juga dihilangkan dari perhitungan dengan hasil yang tidak berbeda. Indeks AAE dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{Indeks AAE} = \sqrt[10]{\frac{100a}{a_c} \times \frac{100b}{b_c} \times \frac{100c}{c_c} \times \dots \times \frac{100j}{j_c}}$$

Keterangan:

a, b, c dan seterusnya sampai j = konsentrasi asam amino esensial sampel.

a_c , b_c , c_c dan seterusnya sampai j_c = konsentrasi asam amino esensial standar.

$$\text{Log Indeks AAE} = \frac{1}{10} \left[\log \frac{100a}{a_c} + \log \frac{100b}{b_c} + \dots + \log \frac{100j}{j_c} \right]$$

Tabel 1.10. memperlihatkan hubungan antara Indeks AAE, nilai biologis, dan skor kimia beberapa macam protein nabati dan hewani.

Tabel 1.10.
Indeks AAE, nilai biologis, dan skor kimia beberapa macam bahan pangan sumber protein

Bahan Pangan	Nilai Biologis	Indeks AAE	Indeks AAE tanpa His & Arg	Skor Kimia	Asam Amino Pembatas
Telur utuh	100	(100)	(100)	(100)	-
Daging sapi	76	88	85	69	Met & Cys
Daging ikan	72	88	85	69	Met & Cys
Air susu ibu		93	97	65	Arg
Susu sapi	90	90	93	64	Arg
Kasein	73	89	92	61	Met & Cys
Terigu	52	60	57	27	Lys
Jagung	60	70	67	33	Lys
Beras	75	77	75	46	Lys
Kedelai	75	85	82	56	Met & Cys
Kc. Tanah	58	62	56	41	Met & Cys

Sumber : Oser (1951)

C. SKOR ASAM AMINO

Jansen dan Harper (1985) mengembangkan prosedur skor asam amino untuk digunakan dalam formulasi makanan bayi. Dalam prosedur ini perhitungan hanya dilakukan terhadap beberapa macam asam amino esensial yang sering kali menjadi pembatas (limiting amino acids) dalam bahan pangan, yaitu lisin, treonin, triptofan, dan asam amino belerang (metionin + sistin), sedangkan standar yang digunakan dalam pola referensi FAO/WHO/UNU (1983).

Prosedurnya adalah sebagai berikut.

1. Pada kertas kerja (lihat contoh Tabel 1.11.), catat nomor pustaka yang disitasi serta berat masing-masing komponen campuran.

Tabel 1.11.

Contoh kertas kerja dalam menghitung skor asam amino dan *net protein value* (NPV) suatu formula makanan bayi

Nomor Pustaka	Komponen	Berat (g)	N (g)	Protein (g)	LYS (mg)	THR (mg)	TRY (mg)	MET+CYS (mg)
9	Jagung	70	1,08	6,6	178	239	47	230
28	Tepung kedelai	20	1,34	8,4	538	328	118	176
83	Susu skim	10	0,57	3,6	260	151	51	126
Total		100	2,97	18,6	976	718	216	532
mg/g N dalam campuran					329	242	73	170
Pola FAO/WHO/UNU (1983), mg/g N					344	250	63	156
Skor Asam Amino (%)					96	97	116	115
Protein (%) : 18,6								
$\text{Net Protein Value (NPV)} = \frac{\text{Skor AA terkecil} \times \text{Protein}}{100} = 17,8$								

2. Catat kadar nitrogen (N), kadar protein ($N \times 6,25$), serta kadar lisin, treonin, triptofan dan asam amino belerang (Met + Cys) dengan cara mengalikan nilai-nilai yang tertera pada pustaka dengan berat komponen (gram) dibagi dengan 100.
3. Jumlahkan berat dan kadar nitrogen, lisin, treonin, triptofan, dan asam amino belerang dalam kolom Total (campuran).
4. Untuk mendapatkan nilai mg/g N, bagi kadar (mg) lisin, treonin, triptofan, dan asam amino belerang dengan kadar (g) N dalam campuran.
5. Untuk memperoleh nilai Skor Asam Amino, bagi mg/g N masing-masing asam amino dengan nilai yang tertera pada pola referensi FAO/WHO/UNU (1983), kemudian kalikan dengan 100.
6. Untuk menghitung persentase protein, g protein dalam campuran dibagi dengan berat campuran dan dikalikan dengan 100.
7. Untuk memperoleh nilai NPV, kalikan nilai skor asam amino terkecil dengan persentase protein, kemudian dibagi dengan 100.



LATIHAN

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

- 1) Apa perbedaan utama metode skor kimia yang diciptakan oleh Block dan Mitchehell pada tahun 1946-47 dengan metode skor kimia yang digunakan sekarang?
- 2) Mengapa protein telur tidak dapat digunakan sebagai protein standar?
- 3) Terangkan apa yang dimaksud dengan metode skor kimia yang disederhanakan!
- 4) Terangkan apa yang dimaksud dengan *limiting amino acid*, mengapa disebut sebagai asam amino “pembatas”?
- 5) Dibandingkan dengan metode lainnya, menurut Anda apa kelemahan metode skor kimia dalam memprediksi nilai gizi suatu protein?
- 6) Mengapa Oser (1951) menciptakan metode prediksi nilai gizi protein dengan cara mengintegrasikan semua asam amino esensial?
- 7) Terangkan metode indeks asam amino esensial yang diciptakan oleh Oser (1951) tersebut!
- 8) Untuk tujuan apa Jansen dan Harper menciptakan metode skor asam amino?
- 9) Terangkan metode skor asam amino yang diciptakan oleh Jansen dan Harper tersebut!

Petunjuk Jawaban Latihan

Untuk dapat menjawab soal-soal latihan di atas, Anda harus mempelajari kembali Kegiatan Belajar 3 tentang Penetapan Skor Kimia Protein.



RANGKUMAN

1. Metode Skor Kimia didasari oleh kenyataan bahwa nilai biologis suatu protein dibatasi oleh proporsi relatif asam-asam amino esensial yang terkandung di dalamnya. Dalam menilai mutu gizi suatu protein, Block dan Mitchell pada tahun 1946-1947,

membandingkan masing-masing asam amino yang terkandung dalam protein tersebut dengan yang terkandung dalam protein telur sebagai standar. Selanjutnya nilai (skor) mutu gizi protein tersebut dinyatakan oleh asam amino esensial yang paling efisien dibandingkan dengan standar. Nilai yang diperoleh untuk masing-masing asam amino esensial ditabulasikan, dan nilai yang tertinggi (negatif) menunjukkan asam amino esensial yang paling efisien (*limiting amino acid*).

2. Metode "skor kimia yang disederhanakan" didasarkan atas kenyataan bahwa asam amino pembatas (*limiting*) dalam sebagian besar bahan pangan adalah lisin, metionin (metionin dan sistin) dan kadang-kadang triptofan. Oleh karena itu, perhitungan skor kimia hanya dilakukan terhadap asam-asam amino tersebut.
3. Dalam metode skor kimia yang disederhanakan ini skor masing-masing asam amino esensial dinyatakan sebagai persentase konsentrasi terhadap yang terdapat dalam telur utuh (sebagai protein standar, nilai 100) dengan perhitungan kadar AAE protein sampel dibagi oleh kadar AAE protein telur dikalikan 100.
4. Skor kimia dalam metode skor kimia yang disederhanakan dinyatakan oleh angka skor asam amino yang terendah. Dalam hal ini, bila sistin merupakan asam amino esensial yang paling efisien maka kombinasi metionin dan sistin digunakan dalam perhitungan skor. Tetapi, bila metionin merupakan asam amino esensial yang paling efisien maka hanya kadar metionin saja yang digunakan dalam perhitungan skor.
5. Oleh karena komposisi asam amino telur tidak selalu tetap (dipengaruhi oleh banyak faktor) maka penetapan telur sebagai protein standar telah banyak mendapat kritikan dari para ahli gizi. Oleh karena itu, pada masa sekarang dalam perhitungan skor kimia suatu protein, orang menggunakan protein referensi FAO (1973) sebagai standar. Skor untuk masing-masing asam amino esensial dinyatakan sebagai persentase konsentrasi yang terdapat dalam protein standar. Dan skor kimia protein sampel dinyatakan oleh angka skor asam amino esensial yang terendah.
6. Oser (1951) berpendapat bahwa nilai gizi suatu protein tidak hanya ditentukan oleh salah satu asam amino esensial yang paling efisien (seperti halnya dalam perhitungan skor kimia), tetapi oleh semua asam amino esensial. Oleh karena itu, untuk memprediksi nilai gizi suatu protein, ia mengembangkan suatu cara perhitungan dengan mengintegrasikan semua asam amino esensial. Metode-nya tersebut diberi nama Indeks Asam Amino Esensial (*Essential Amino Acids Index, EAA-Index*).

7. Dalam perhitungan tersebut, protein telur digunakan sebagai standar, akan tetapi dinyatakan oleh Oser (1951) bahwa protein standar lainnya dapat digunakan dalam perhitungan tersebut. Dalam hal ini arginin dan histidin, yang tidak esensial untuk orang dewasa, dapat juga dihilangkan dari perhitungan dengan hasil yang tidak berbeda.
8. Jansen dan Harper (1985) mengembangkan prosedur skor asam amino untuk digunakan dalam formulasi makanan bayi. Dalam prosedur ini perhitungan hanya dilakukan terhadap beberapa macam asam amino esensial yang sering kali menjadi pembatas (*limiting amino acids*) dalam bahan pangan, yaitu lisin, treonin, triptofan, dan asam amino belerang (metionin + sistin), sedangkan standar yang digunakan dalam pola referensi FAO/WHO/UNU (1983).



TES FORMATIF 3

Pilihlah satu jawaban yang paling tepat!

- 1) *Limiting amino acid* = nilai tertinggi negatif, terdapat pada metode skor
 - A. kimia dengan pola FAO (1973) sebagai standar
 - B. kimia Block and Mitchell
 - C. kimia yang disederhanakan
 - D. asam amino
- 2) *Limiting amino acid* = nilai terendah, terdapat pada metode
 - A. indeks asam amino esensial
 - B. skor kimia Block and Mitchell
 - C. skor kimia yang disederhanakan
 - D. skor asam amino
- 3) Integrasi semua asam amino esensial, terdapat pada metode
 - A. skor kimia dengan pola FAO (1973) sebagai standar
 - B. skor kimia Block and Mitchell
 - C. indeks asam amino esensial
 - D. skor asam amino
- 4) Untuk prediksi nilai gizi protein formula makanan bayi, terdapat pada metode
 - A. skor kimia dengan pola FAO (1973) sebagai standar
 - B. skor kimia Block and Mitchell

- C. indeks asam amino esensial
 - D. skor asam amino
- 5) Protein telur sebagai standar, diterapkan dalam metode skor (*pilih dua*)
- A. kimia dengan pola FAO (1973) sebagai standar
 - B. kimia Block
 - C. kimia yang disederhanakan
 - D. asam amino
- 6) Hanya menggunakan beberapa asam amino esensial (limiting AA) untuk perhitungan, diterapkan pada metode skor
- A. kimia dengan pola FAO (1973) sebagai standar
 - B. kimia Block and Mitchell
 - C. kimia yang disederhanakan
 - D. asam amino
- 7) Menggunakan pola referensi FAO/WHO/UNU (1983) sebagai standar, diterapkan pada metode
- A. indeks asam amino esensial
 - B. skor kimia Block and Mitchell
 - C. skor kimia yang disederhanakan
 - D. skor asam amino

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes Formatif 3 yang terdapat di bagian akhir modul ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Kegiatan Belajar 3.

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

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 modul selanjutnya. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi Kegiatan Belajar 3, terutama bagian yang belum dikuasai.

Kunci Jawaban Tes Formatif

Tes Formatif 1

- 1) A
- 2) C
- 3) B
- 4) C
- 5) B
- 6) C
- 7) C
- 8) D
- 9) A
- 10) C

Tes Formatif 2

- 1) D
- 2) C
- 3) B
- 4) A
- 5) A
- 6) A
- 7) B
- 8) A
- 9) B
- 10) B

Tes Formatif 3

- 1) B
- 2) C
- 3) C
- 4) D
- 5) C
- 6) C
- 7) D

Daftar Pustaka

- Block, R.J. dan H.H. Mitchell. (1946-47). *The correlation of the amino acid composition of protein with the nutritive value*. Nutr. Abstr. Rev. 16:249.
- Muchtadi., D. (1993). *Teknik Evaluasi Nilai Gizi Protein*. Bogor: Program Studi Ilmu Pangan, Program Pascasarjana-IPB.
- deMan, J.M. (1979). *Principles of Food Chemistry*. 2nd ed. Westport, Connecticut: The AVI Publ. Co., Inc.
- FAO. (1973). *Energy and Protein Requirements*. Rome: Report of Joint FAO/WHO ad hoc Expert Committee.
- FAO/WHO/UNU. (1983). *Energy and Protein Requirements*. Geneva: Report of Joint FAO/WHO/UNU Experts Consultation.
- Jansen, G.R. dan J.M. Harper. (1985). *A simplified procedure for calculating amino acid score of blended foods or dietary pattern*. Food Nutr. Bull. 7(4):65-69.
- McLaughlan, J.M., C.G. Rogers, D.G. Chapman dan J.A. Campbell. (1959). *Evaluation of protein in food. IV. A simplified chemical score*. Can. J. Biochem. Physiol. 37:1235-1239.
- McLaughlan, J.M. (1976). *The relative nitrogen utilization method for evaluation of protein quality*. J.A.O.A.C., 59(1): 42-45.
- Oser, B.L. (1951). *Method for integrating essential amino acids content in the nutritional evaluation of protein*. J. Am. Diet. Assoc. 27:396-402.