



**MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI MUHAMMADIYAH**  
**UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA**

Jl. Limau II, Kebayoran Baru, Jakarta 12130 Telp. (021) 7208177, 7222886, Fax. (021) 7261226, 7256620  
Website : [www.uhamka.ac.id](http://www.uhamka.ac.id); E-mail : [info@uhamka.ac.id](mailto:info@uhamka.ac.id), [uhamka1997@yahoo.co.id](mailto:uhamka1997@yahoo.co.id)

**KEPUTUSAN REKTOR**  
**UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA**

Nomor: 1399 /R/KM/2024

**Tentang**  
**PENGANGKATAN PANITIA DAN PESERTA SIDANG TESIS**  
**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU FARMASI**  
**SEKOLAH PASCASARJANA UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA**  
**SEMESTER GASAL TAHUN AKADEMIK 2024/2025**

*Bismillahirrahmanirrahim,*

REKTOR UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA:

- Menimbang** :
- Bahwa mahasiswa Program Studi Magister Ilmu Farmasi Sekolah Pascasarjana UHAMKA yang telah menyelesaikan ujian semua mata kuliah dan penyusunan tesisnya yang berbobot 4 (empat) sks, dipandang perlu untuk dilaksanakan Sidang Tesis .
  - Bahwa untuk kelancaran sidang tesis sebagaimana dimaksud konsideran a, maka dipandang perlu mengangkat Panitia Sidang Tesis dengan Surat Keputusan Rektor.

- Mengingat** :
- Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 20 Tahun 2003 tanggal 8 Juli 2003, tentang Sistem Pendidikan Nasional;
  - Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2012 tanggal 10 Agustus 2010, tentang Pendidikan Tinggi;
  - Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 14 Tahun 2005 tanggal 30 Desember 2005, tentang Guru dan Dosen;
  - Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 4 Tahun 2014 tanggal 30 Januari 2014, tentang Penyelenggaraan Pendidikan Tinggi dan Pengelolaan Perguruan Tinggi;
  - Peraturan Presiden Republik Indonesia Nomor 8 Tahun 2012 tanggal 17 Januari 2012, tentang Kerangka Kualifikasi Nasional Indonesia;
  - Peraturan Menteri Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Nomor 44 Tahun 2015 tanggal 21 Desember 2015, tentang Standar Nasional Pendidikan Tinggi (Berita Negara Republik Indonesia Tahun 2015 Nomor 1952);
  - Keputusan Direktur Jenderal Pendidikan Tinggi Depdikbud Republik Indonesia Nomor 138/DIKTI/Kep/1997 tanggal 30 Mei 1997, tentang Perubahan Bentuk Institut Keguruan dan Ilmu Pendidikan (IKIP) Muhammadiyah Jakarta menjadi Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA;
  - Keputusan Direktur Jenderal Pendidikan Tinggi Depdikbud Republik Indonesia Nomor 889/E/O/2022 tanggal 15 Desember 2022, tentang Izin Pembukaan Program Magister studi Ilmu Farmasi Program Magister Pada Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA di Jakarta yang diselenggarakan oleh Persyarikatan Muhammadiyah;
  - Ketentuan Majelis Pendidikan Tinggi Pimpinan Pusat Muhammadiyah Nomor 178/KET/I.3/D/2012 tentang Penjabaran Pedoman Pimpinan Pusat Muhammadiyah Nomor 02/PED/I.O/B/2012 tentang Perguruan Tinggi Muhammadiyah;
  - Peraturan Pimpinan Pusat Muhammadiyah Nomor 01/PRN/I.O/B/2012 tanggal 16 April 2012, tentang Majelis Pendidikan Tinggi

**TERAKREDITASI BAN-PT DENGAN PERINGKAT UNGGUL**

Visi : Menjadi prophetic teaching university yang mencerdaskan secara spiritual, intelektual, emosional, dan social untuk mewujudkan peradaban berkemajuan



11. Keputusan Pimpinan Pusat Muhammadiyah Nomor 66/KEP/I.O/D/2023 tanggal 24 Januari 2023, tentang Penetapan Rektor Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA Masa Jabatan 2023-2027;
12. Statuta Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA Tahun 2023;
13. Keputusan Rektor Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA Nomor 530/A.31.01/2012, tentang Pengubahan Nama Program Pascasarjana menjadi Sekolah Pascasarjana Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA;
14. Keputusan Rektor Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA Nomor 515/A.01.01/2023 tanggal 30 Mei 2023, tentang Pengangkatan Direktur Sekolah Pascasarjana Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA Masa Jabatan 2023-2027;

**Memperhatikan :** Kurikulum Operasional Program Studi Magister Ilmu Farmasi Sekolah Pascasarjana UHAMKA;

### **MEMUTUSKAN**

- Menetapkan Pertama :** Mengangkat Panitia dan Peserta Sidang Tesis Magister Ilmu Farmasi Sekolah Pascasarjana Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA Semester Gasal Tahun Akademik 2024/2025 sebagaimana tercantum dalam lampiran 1 keputusan ini.
- Kedua :** Apabila salah seorang di antara Panitia Penguji tidak dapat melaksanakan tugas karena sakit atau karena hal lainnya, maka ditunjuk penguji pengganti oleh Direktur.
- Ketiga :** Menetapkan peserta Ujian Sidang Tesis Program Studi Ilmu Farmasi sebagaimana tercantum pada lampiran 2 lajur 4, dengan judul tesis sebagaimana tersebut pada lajur 5 keputusan ini.
- Keempat :** Ujian Sidang Tesis dilaksanakan oleh penguji pada hari dan tanggal sebagaimana tercantum dalam lampiran surat keputusan ini.
- Kelima :** Pelaksanaan Sidang Tesis diketuai oleh Direktur, diuji oleh dua orang penguji dan dua orang pembimbing sebagai anggota tim penguji tesis dari masing-masing mahasiswa yang mengikuti sidang tesis.
- Keenam :** Peserta Ujian Sidang Tesis harus memperhatikan dan mematuhi pelaksanaan teknis Ujian Sidang Tesis yang telah diinformasikan sebagaimana tercantum dalam tata tertib ujian.
- Ketujuh :** Semua biaya yang berkaitan dengan sidang tesis ini dibebankan kepada anggaran Sekolah Pascasarjana UHAMKA yang diatur khusus untuk kepentingan tersebut.
- Kedelapan :** Pengumuman lulus atau tidak lulus disampaikan oleh Direktur kepada peserta ujian tesis berdasarkan hasil rapat Panitia Sidang Tesis pada hari pelaksanaan ujian, setelah keseluruhan peserta selesai mengikuti Sidang Tesis .
- Kesembilan :** Keputusan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan sampai dengan berakhirnya pelaksanaan Sidang Tesis
- Kese sepuluh :** Surat Keputusan ini disampaikan kepada pihak-pihak yang terkait untuk dilaksanakan sebagaimana mestinya.
- Kesebelas :** Apabila dalam keputusan ini terdapat kekeliruan, maka akan diperbaiki sebagaimana mestinya.

Ditetapkan di : Jakarta  
Pada tanggal : 27 Jumadil Awal 1446 H  
29 November 2024 M

Rektor,



**Prof. Dr. H. Gunawan Suryoputro, M.Hum.**

**Tembusan:**

- Yth. 1. Direktur SPs  
2. Para Kepala Biro  
3. Kaprodi Magister Ilmu Farmasi SPs  
4. Mahasiswa yang bersangkutan  
UHAMKA



Lampiran 1 Keputusan Rektor UHAMKA

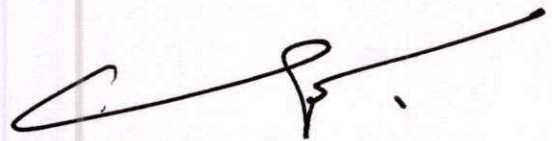
Nomor : 1395/R/KM/2024

Tanggal : 27 Jumadil Awal 1446 H/29 November 2024 M

**PANITIA SIDANG TESIS  
PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU FARMASI  
SEKOLAH PASCASARJANA UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA  
SEMESTER GENAP TAHUN AKADEMIK 2023/2024**

- Penanggung Jawab : Rektor,  
Prof. Dr. H. Gunawan Suryoputro, M.Hum.
- Ketua : Direktur Sekolah Pascasarjana  
Prof. Dr. H. Ade Hikmat, M.Pd.
- Sekretaris : Ketua Program Studi Magister Ilmu Farmasi  
Dr. apt. Hariyanti, M.Si.
- Anggota Penguji :  
1. Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si.  
1. Dr. apt. Fith Khaira Nursal, M.Si.  
2. Dr. apt. Supandi, M.Si.  
3. Dr. apt. Hariyanti, M.Si.  
4. Dr. apt. Numlil Khaira Rusdi, M.Si.  
5. Dr. Apt. Kori Yati, M.Farm.  
6. Dr. apt. Tommy Julianto Bustami Effendi, M.Sc..  
7. Dr. apt. Priyanto, M.BioMed.
- Pelaksana Teknis :  
1. Sekretaris Bidang I SPs, Prof. Dr. H. Abd Rahman A. Ghani, M.Pd.  
2. Sekretaris Bidang II SPs, Dr. Hj. Ihsana El Khuluqo, M.Pd.  
3. Kepala Tata Usaha, Deni Indra Nofendar, S.E.  
4. Kasubag. Akademik, Nurlaelah, SKM.  
5. Kasubag. Keuangan, Nur Nurlaela, S.Kom.  
6. Kasubag. Umum, Agus Purlianto, A.Md.  
7. Staf Sekolah Pascasarjana

Rektor,



**Prof. Dr. H. Gunawan Suryoputro, M.Hum.**



Lampiran 2 Keputusan Rektor UHAMKA  
Nomor : 1335 /R/KM/2024  
Tanggal : 27 Jumadil Awal 1446 H  
29 November 2024 M

**DAFTAR NAMA PESERTA, PEMBIMBING DAN PENGUJI SIDANG TESIS**  
**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU FARMASI**  
**SEKOLAH PASCASARJANA UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA**  
**SEMESTER GASAL TAHUN AKADEMIK 2024/2025**

**Hari, Tanggal : Selasa, 03 Desember 2024**  
**Tempat : Kampus SPs UHAMKA**  
**Jl. Warung Buncit Raya No.17 Jakarta Selatan**

NO	WAKTU	NIM	NAMA	JUDUL TESIS	PEMBIMBING / PENGUJI	PENGUJI
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
08.00 – 08.30						
PEMBUKAAN DAN PENGARAHAN SIDANG TESIS						
1.	08.30-09.15	2209117003	GULYANIRAZ QADHI ZAKKA	Potensi Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Pada Hidrolisat Protein Kedelai Yang Dihasilkan Dari Limbah Ampas Kedelai	1. Dr. apt. Hariyanti, M.Si. 2. apt. Etin Diah Permanasari, Ph.D.	1. Dr. apt. Supandi, M.Si. 2. Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si.
2.	09.15-10.00	2209117014	TIGO RAMANSYAH PRAWIRA NEGARA	Adaptasi Dan Validasi Instrument Kidney Knowledge Survey (KIKS) Versi Bahasa Indonesia Dalam Menilai Tingkat Pengetahuan Pada Pasien Penyakit Ginjal Kronik Yang Telah Diberikan Edukasi Kesehatan	1. Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si. 2. Dr. apt. Siti fauziyah, M.Farm.	1. Dr. apt. Numlil Khaira Rusdi, M.Si. 2. Dr. apt. Priyanto, M.BioMed.
3.	10.00-10.45	2209117008	RETNO LIA SARI	Validasi Penetapan Kadar Ketokonazol Pada Sediaan Gel Viosom Menggunakan Ultra High Performance Liquid Chromatography (UHPLC)	1. Dr. apt. Fith Khaira Nursal, M.Si. 2. Dr. apt. Supandi, M.Si.	1. Dr. apt. Tommy Julianto Bustami Effendi, M.Sc. 2. Dr. apt. Hariyanti, M.Si.

NO	WAKTU	NIM	NAMA	JUDUL TESIS	PEMBIMBING / PENGUJI	PENGUJI
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
4.	10.45-11.15	2209117013	SEPTIANA TRI PAMUNGKAS	Pengembangan Ketokonazol : Optimasi Dan Uji Stabilitas Fisik                      System                      Niosom	1. Dr. apt. Fith Khaira Nursal 2. Dr. apt. Kori Yati, M.Farm.	1. Dr. apt. Tommy Julianto Bustami Effendi, M.Sc. 2. Dr. apt. Supandi, M.Si.

Rektor,



Prof. Dr. H. Gunawan Suryoputro, M.Hum.



Berdasarkan Surat Keputusan Direktur Sekolah Pascasarjana Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA No: /SPs/KM/2024 tanggal 29 November 2024 dinyatakan bahwa pada hari ini Selasa, 03 Desember 2024. telah dilaksanakan Sidang Tesis, kepada:





Nama : **Gulsyaniraz Qadhi Zakka**

NIM : **2209117003**

Program Studi : **Ilmu Farmasi**

Judul Tesis : **Potensi Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri pada Hidrolisat Protein Kedelai yang dihasilkan dari Limbah Ampas Kedelai (Glycine max(L.) Merr.)**

Dihadapan Tim Penguji Sidang Tesis, yang terdiri dari:

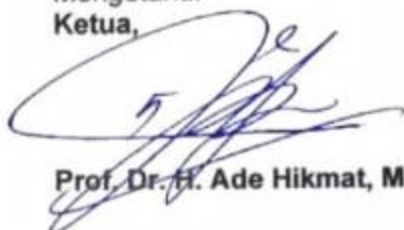
NO	NAMA dan TANDA TANGAN	NILAI	NO	NAMA dan TANDA TANGAN	NILAI
1.	 Dr. apt. Hariyanti, M.Si	85	1.	 Dr. apt. Supandi, M.Si	80,3
2.	 apt. Etin Diah Permanasari, PhD	82	2.	 Dr.apt. Hadi Sunaryo, M.Si.	78
JUMLAH →		83,5			79,15
NILAI AKHIR →		81,33			

Dinyatakan **LULUS/TIDAK LULUS \*)**

Demikian Berita Acara ini dibuat dengan sebenar-benarnya.

Jakarta, 03 Desember 2024

Mengetahui  
Ketua,

  
Prof. Dr. H. Ade Hikmat, M.Pd.

Sekretaris,

  
Dr. apt. Hariyanti, M.Si.

**POTENSI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI  
PADA HIDROLISAT PROTEIN KEDELAI YANG  
DIHASILKAN DARI LIMBAH AMPAS KEDELAI  
(*Glycine max (L.) Merr.*)**

**TESIS**

Diajukan untuk Melengkapi dan Memenuhi  
persyaratan memperoleh gelar Magister Ilmu Farmasi



**GULSYANIRAZ QADHI ZAKKA  
2209117003**

**PROGRAM STUDI ILMU FARMASI  
SEKOLAH PASCASARJANA  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA  
2024**



**POTENSI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI  
PADA HIDROLISAT PROTEIN KEDELAI YANG  
DIHASILKAN DARI LIMBAH AMPAS KEDELAI  
(*Glycine max (L.) Merr.*)**

**TESIS**

Diajukan kepada  
Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA  
Untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam menyelesaikan program Magister  
Ilmu Farmasi

**GULSYANIRAZ QADHI ZAKKA**

**2209117003**

**PROGRAM STUDI ILMU FARMASI  
SEKOLAH PASCASARJANA  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA  
2024**

LEMBAR PERSETUJUAN

POTENSI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI PADA  
HIDROLISAT PROTEIN KEDELAI YANG DIHASILKAN DARI LIMBAH  
AMPAS KEDELAI (*Glycine max (L.) Merr.*)

TESIS

Oleh

GULSYANIRAZ QADHI ZAKKA

2209117003

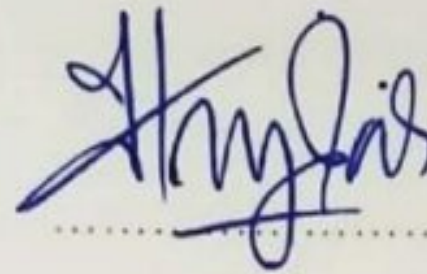
Disetujui untuk diseminarkan:

Nama Pembimbing

Tanda Tangan

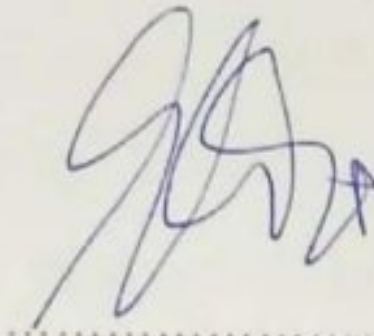
Tanggal

Dr. apt. Hariyanti, M.Si  
Pembimbing I



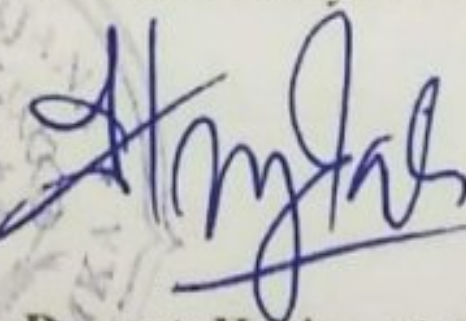
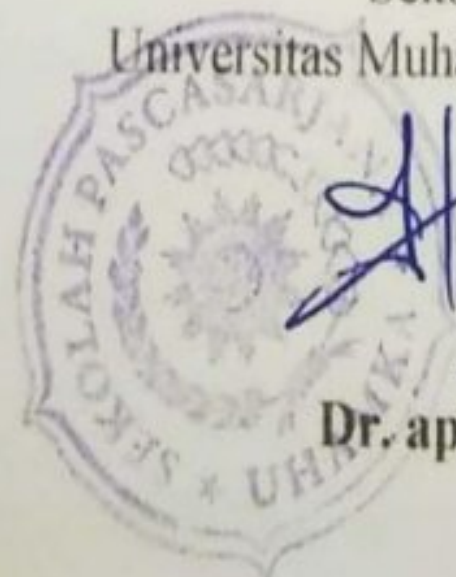
22 November 2024

apt. Etin Diah P., Ph.D.  
Pembimbing II



23/Nov - 2024

Mengetahui  
Ketua Program Studi Magister Ilmu Farmasi  
Sekolah Pascasarjana  
Universitas Muhammadiyah Prof. DR. Hamka



Dr. apt. Hariyanti, M.Si



## KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji dan Syukur kehadiran Allah SWT atas segala karunia dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Proposal Tesis yang berjudul **“Potensi Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Pada Hidrolisat Protein Kedelai yang Dihasilkan Dari Limbah Ampas Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.)”** dengan baik dan tepat pada waktunya. Proposal Tesis ini diajukan untuk memenuhi syarat agar memperoleh gelar Magister Farmasi di Sekolah Pascasarjana Universitas Muhammadiyah Prof. DR. Hamka. Tidak menutup kemungkinan bahwa butuh usaha yang sangat keras dalam penyelesaian pengerjaan skripsi ini. Namun berkat kehendak-Nya lah sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan proposal ini. Oleh karena itu dengan penuh kerendahan hati, pada kesempatan kali ini izinkan saya untuk mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. Gunawan Suryoputro, M.Hum Rektor Universitas Muhammadiyah Prof DR. Hamka.
2. Prof. Dr. Ade Hikmat, M.Pd, Direktur Sekolah Pascasarjana, Universitas Muhammadiyah Prof DR. Hamka.
3. Dr. apt. Hariyanti, M,Si., selaku Pembimbing I yang telah meluangkan waktu atas bimbingan, saran dan motivasi yang diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal tesis ini
4. apt. Etin Diah Permanasari, Ph.D., selaku Pembimbing II yang telah meluangkan waktu kepada penulis untuk menyelesaikan proposal tesis ini
5. Seluruh dosen dan staff atas ilmu pengetahuan yang diberikan kepada penulis selama menempuh pendidikan Magister Farmasi di Sekolah Pascasarjana Universitas Muhammadiyah Prof. DR. Hamka
6. Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi (Kemdikbudristek RI) atas dana hibah BIMA



7. Ibu tercinta tercinta Sri Mistiatun dan Bapak tercinta Abu Hasan yang selalu mendukung, memotivasi dan juga do'a yang selalu dipanjatkan agar penulis bisa mengerjakan proposal tesis ini dengan baik
1. Kakak tersayang Zahra Mustavavi, Adik tersayang Avnizia Fazzahra Zakka, Tante Habibah M. Daud, Tante Sri Wahyuningsih, dan Tante Sri Rejeki yang selalu memberikan dukungan selama pengerjaan proposal tesis dan terasa lebih ringan.
2. Teman – teman Magister Farmasi angkatan I Sekolah Pascasarjana Universitas Muhammadiyah Prof. DR. Hamka.
3. Pabrik Tahu Mbah Ran, Pasar Minggu yang telah mau memberikan limbah ampas kedelai.
4. Teman-teman Analis Fakultas Farmasi Universitas Pancasila Kak Astri Utami Maulida, Kak Miranti Widya Carissa, Kak Arnis Junita, Kak Rispa Andriyani, Kak Yuliana, Kak Nisa Edha, Kak Liya Kusumawati, Kak Selviana, Kak Sela Zuhtratul Aini, Kak SuciSeptianti, Bunqa Hermina Asvsvura, Kak Chotty Isnania, Mas Mohammad Soleh, Rusli, Mas Dwi Heru Yulianto, Mas Supriyatna, dan Mas Somad.
5. Teman-teman pengajar Bimbel Brilliant Hope, Kak Putri Umairoh, Ummu Zakiyah, dan Arani Eka Sapta Anastika.

Teriring do'a yang tulus semoga amal kebaikan dari berbagai pihak tersebut mendapat pahala dari Allah SWT, semoga Proposal Tesis ini bermanfaat bagi siapa saja yang membacanya. Amin.

Jakarta, 29 November 2024

**Gulsyaniraz Qadhi Zakka**



## DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL .....	i
HALAMAN JUDUL .....	ii
LEMBAR PERSETUJUAN .....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
DAFTAR ISI .....	vi
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR DIAGRAM .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Permasalahan Penelitian .....	2
1. Fokus Penelitian .....	2
2. Ruang Lingkup Penelitian .....	3
3. Perumusan Masalah .....	3
C. Tujuan Penelitian .....	3
D. Hipotesis Penelitian .....	4
E. Manfaat Penelitian .....	4
F. Keterbaruan Penelitian .....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	6
A. Kajian Teori .....	6
1. Kedelai .....	6
2. Hidrolisat Protein .....	7
3. Enzim Protease .....	9
4. <i>Response Surface Methodology</i> .....	10
5. Aktivitas Antioksidan .....	13
6. Aktivitas Antibakteri .....	16
B. Penelitian Baru yang Relevan .....	18
C. Kerangka Berpikir .....	19
BAB III METODOLOGI PENELITIAN .....	22
A. Tempat dan Waktu Penelitian .....	22



B. Desain Penelitian .....	22
C. Alat dan Bahan .....	22
D. Prosedur Penelitian .....	23
1. Pembuatan Tepung Ampas Kedelai .....	23
2. Pembuatan Isolat Protein Kedelai .....	25
3. Optimasi Hidrolisat Protein Kedelai .....	25
4. Pengujian Rendemen .....	27
5. Pengujian Proksimat Isolat Protein Kedelai .....	27
6. Analisis FTIR .....	30
7. Analisis Asam Amino .....	30
8. Pengujian Aktivitas Antioksidan Metode ABTS .....	30
9. Pengujian Aktivitas Antioksidan Metode FRAP .....	33
10. Pengujian Aktivitas Antibakteri .....	35
E. Analisis Data .....	37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	39
A. Hasil Penelitian .....	39
1. Analisis Determinasi .....	39
2. Analisis Organoleptik .....	39
3. Analisis Rendemen .....	40
4. Analisis Proksimat pada Isolat Protein Kedelai .....	40
5. Optimasi Hidrolisat Protein Kedelai .....	41
6. Analisis Protein Hidrolisat Protein Kedelai .....	44
7. Analisis FTIR .....	44
8. Analisis Asam Amino .....	45
9. Aktivitas Antioksidan Metode ABTS .....	47
10. Aktivitas Antioksidan Metode FRAP .....	49
11. Aktivitas Antibakteri Metode Mikrodilusi .....	51
B. Pembahasan .....	57
1. Analisis Determinasi .....	57
2. Analisis Organoleptik .....	57
3. Analisis Rendemen .....	58
4. Analisis Proksimat pada Isolat Protein Kedelai .....	59



5. Optimasi Hidrolisat Protein Kedelai .....	61
6. Analisis Protein Hidrolisat Protein Kedelai .....	65
7. Analisis FTIR .....	66
8. Analisis Asam Amino .....	68
9. Aktivitas Antioksidan Metode ABTS .....	70
10. Aktivitas Antioksidan Metode FRAP .....	73
11. Aktivitas Antibakteri Metode Mikrodilusi .....	75
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	78
A. Kesimpulan .....	78
B. Saran .....	79
DAFTAR PUSTAKA .....	80

## DAFTAR TABEL

Tabel 1 Sifat antioksidan dan Antibakteri Berdasarkan Nilai IC 50 .....	14
Tabel 2 Kode dan Tak Kode Kombinasi RSM .....	33
Tabel 3 Desain Penelitian BBD .....	38
Tabel 4 Hasil Analisis Organoleptik .....	38
Tabel 5 Hasil Analisis Rendemen .....	40
Tabel 6 Hasil Analisis Proksimat .....	41
Tabel 7 Formulasi yang diperoleh dari proses optimasi .....	42
Tabel 8 Nilai Derajat Hidrolisis pada Hidrolisat Protein Kedelai Terpilih .....	42
Tabel 9 Konfirmasi menggunakan uji two side dan Uji T .....	43
Tabel 10 Kadar Protein Hidrolisat Protein Kedelai .....	44
Tabel 11 Posisi Puncak FTIR Hidrolisat Protein kedelai dan Isolat Protein Kedelai .....	45
Tabel 12 Hasil Analisis Asam Amino .....	46
Tabel 13 Nilai Y dan R <sup>2</sup> Aktivitas Antioksidan ABTS pada Trolox .....	47
Tabel 14 Aktivitas Antioksidan ABTS pada Trolox .....	47
Tabel 15 Nilai Y dan R <sup>2</sup> Aktivitas Antioksidan ABTS pada Hidrolisat Protein Kedelai .....	48
Tabel 16 Aktivitas antioksidan ABTS pada hidrolisat Protein Kedelai .....	48
Tabel 17 Nilai Y dan R <sup>2</sup> Aktivitas Antioksidan ABTS pada Isolat Protein Kedelai .....	49
Tabel 18 Aktivitas Antioksidan ABTS pada Isolat Protein Kedelai .....	49
Tabel 19 Absorbansi larutan deret standar Ammonium Ferrous Sulfat .....	50
Tabel 20 Hasil Analisis Antioksidan Hidrolisat Protein Kedelai Metode FRAP .....	51
Tabel 21 Perhitungan IC 50 Gentamisin Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	52
Tabel 22 Hasil Regresi Linear IC 50 Gentamisin Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	52



Tabel 23 Perhitungan IC 50 Hidrolisat Protein Kedelai Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	52
Tabel 24 Hasil Regresi Linear IC 50 Hidrolisat Protein Kedelai Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	53
Tabel 25 Perhitungan IC 50 Isolat Protein Kedelai Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	53
Tabel 26 Hasil Regresi Linear IC 50 Isolat Protein Kedelai Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	54
Tabel 27 Perhitungan IC 50 Gentamisin Terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	54
Tabel 28 Hasil Regresi Linear IC 50 Gentamisin Terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	55
Tabel 29 Perhitungan IC 50 Hidrolisat Protein Kedelai Terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	55
Tabel 30 Hasil Regresi Linear IC 50 Hidrolisat Protein Kedelai Terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	55
Tabel 31 Perhitungan IC 50 Isolat Protein Kedelai Terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	56
Tabel 32 Hasil Regresi Linear IC 50 Isolat Protein Kedelai Terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	56
Tabel 33 Hasil Analisis Kadar Air .....	90
Tabel 34 Konsentrasi Deret Standar dan Absorbansi yang Diperoleh .....	90
Tabel 35 Konsentrasi Isolat Protei Kedelai .....	93
Tabel 36 Rendemen Hidrolisat Protein Kedelai dari 15 Percobaan Desain BBD .....	93
Tabel 37 Kondisi Optimum untuk Derajat Hidrolisis pada Berbagai Konsentrasi Enzim, Suhu, dan Waktu .....	94
Tabel 38 Hasil Pengujian Ketidaksesuaian Menggunakan Perangkat Lunak Design Expert 13.0® .....	95
Tabel 39 Model Ringkasan Statistik .....	95
Tabel 40 Model Anova Hidrolisat Protein Kedelai .....	95

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Kedelai dan Ampas Kedelai .....	7
Gambar 2 Grafik Permukaan Respons untuk Tingkat Hidrolisis .....	41
Gambar 3 Optimasi Solusi Terpilih oleh Design Expert .....	42
Gambar 4 Bilangan Gelombang Hidrolisat Protein Kedelai Dan Isolat Protein Kedelai .....	45
Gambar 5 Grafik fungsi linier aktivitas antioksidan metode FRAP .....	50
Gambar 6 Kurva Larutan Standar BSA .....	90



## DAFTAR DIAGRAM

Daigram 1	Skema Kerangka Berpikir Penelitian .....	21
Diagram 2	Skema Prosedur Penelitian .....	24
Diagram 3	Hasil Analisis Rendemen .....	58
Diagram 4	Hasil Analisis Proksimat Isolat Protein Kedelai .....	60
Diagram 5	Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan Metode ABTS .....	72
Diagram 6	Hasil analisis aktivitas antioksidan Metode FRAP .....	73
Diagram 7	Aktivitas antibakteri Mikrodilusi IC 50 .....	76

## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
Lampiran 1 Uji Determinasi Tanaman Kacang Kedelai .....	87
Lampiran 2 Prosedur Deret Standar Analisis Protein	
Metode Bradford .....	89
Lampiran 3 Analisis Proksimat Isolat Protein .....	90
Lampiran 4 Derajat Hidrolisis yang Diperoleh Pada Kondisi Optimasi yang Terpilih .....	93
Lampiran 5 Model Desain Ekspert .....	95
Lampiran 6 Perhitungan Kadar Protein Hidrolisat Protein Kedelai .....	96
Lampiran 7 Organoleptis Tepung, Isolat, dan Hidrolisat Protein Kedelai ...	97
Lampiran 8 Perhitungan Hasil Rendemen .....	98
Lampiran 9 Hasil Perhitungan Derajat Hidrolisis Hidrolisat Protein Kedelai dari 15 Perlakuan .....	101
Lampiran 10 Lampiran Perhitungan Hasil Aktivitas Antioksidan Metode ABTS .....	102
Lampiran 11 Lampiran Perhitungan Hasil Aktivitas Antioksidan Metode FRAP .....	105
Lampiran 12 Dokumentasi Analisis Aktivitas Antioksidan Metode ABTS .....	106
Lampiran 13 Dokumentasi Analisis Aktivitas Antioksidan Metode Frap .....	109
Lampiran 14 Dokumentasi Pengujian Aktivitas Antibakteri Mikrodilusi IC 50 .....	111
Lampiran 15 COA TPTZ .....	113
Lampiran 16 Standar Mac Farland 0,5 .....	114
Lampiran 17 COA Trolox .....	115
Lampiran 18 COA ABTS .....	116
Lampiran 19 COA Besi (III) Klorida Heksahidrat .....	117
Lampiran 20 COA Coomassie Brilliant Blue.....	118



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Ampas Kedelai merupakan hasil limbah yang berasal dari industri pembuatan tahu. Konsumsi tahu per kapita di Indonesia sebesar 0,15185 kg per pekan pada 2023. Angka tersebut naik 3,75% dibanding tahun sebelumnya yang sebesar 0,148314 kg setiap minggu (BPS. 2023). Kebutuhan konsumsi tahu yang meningkat mengakibatkan industri tahu terus-menerus menghasilkan limbah ampas kedelai. Biasanya, ampas kedelai yang dijadikan pakan ternak ikan dihargai Rp. 4.500 per kg (Anshar, K. 2022). Namun, ampas kedelai mengandung protein yang cukup tinggi yakni 23,40% (Pujilestari, S., *et al.*, 2021). Ampas kedelai yang dapat diolah menjadi hidrolisat protein dengan nilai ekonomis tinggi dan dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku hidrolisat protein (Kamble, D. B. & Rani, S., 2020).

Hidrolisat protein adalah hasil pemecahan protein menjadi peptida dan asam amino dengan menggunakan enzim (Hariyanti, H., *et al.*, 2024). Aktivitas antioksidan hidrolisat protein ampas kedelai berasal dari peptida yang mengandung asam amino tirosin 202,77 mg/kg, dan histidine 188,39 mg/kg yang mampu menetralkan radikal bebas. Sementara aktivitas antibakterinya berasal dari asam amino fenilalanin 242,61 mg/kg dengan merusak membran sel bakteri (Deng, Y., *et al.*, 2024 dan Ratnayani, K., *et al.*, 2022).

Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan Ratnayani, K., *et al.*, (2022) yaitu pembuatan hidrolisat protein dari ampas tahu (Okara) yang diolah menjadi isolat dan dihidrolisis menggunakan enzim papain dengan variasi konsentrasi 3%, 4%,



5%, 6%, 7% dan aktivitas antioksidan terbaik pada konsentrasi 4% sebesar 98,86% menggunakan metode ABTS dan 0,5  $\mu\text{mol}$  AAE/g menggunakan metode FRAP.

Metode optimasi dipakai pada penelitian ini adalah *Response Surface Methodology* (RSM) model BBD (*Box-Behnken Design*) pada variasi waktu hidrolisis 2 jam, 3 jam, 4 jam yang dihidrolisis dengan enzim protease (0,5%, 1,25% dan 1,5%) pada pH 8 dengan variasi suhu 55, 60, 65 °C terhadap respon derajat hidrolisis. Penelitian ini diharapkan dapat menentukan konsentrasi enzim protease, waktu, dan suhu hidrolisis yang optimum dalam hidrolisat protein ampas kedelai terhadap respon derajat hidrolisis yang menghasilkan aktivitas antioksidan dan aktivitas antibakteri terbaik.

Pemanfaatan hidrolisat protein kedelai dari ampas kedelai produksi tahu belum banyak dikembangkan kearah produk yang lebih tinggi manfaatnya yang dapat meningkatkan nilai tambah ampas kedelai sebagai produk etnofarmaka yang dapat mengembangkan produk obat tradisional, suplemen makanan, dan kosmetik yang aman dan berbahan alam (Mehmet, H., *et al.*, 2021).

## **B. Permasalahan Penelitian**

### **1. Fokus Penelitian**

Fokus penelitian ini adalah mengidentifikasi jenis kacang kedelai yang dipakai, melakukan optimasi (konsentrasi enzim, suhu, dan waktu hidrolisis) hidrolisis protein ampas kedelai dalam menentukan derajat hidrolisis untuk mendapatkan aktivitas antioksidan dan antibakteri.



## **2. Ruang Lingkup Penelitian**

Ruang lingkup penelitian ini adalah hidrolisis protein Limbah ampas kedelai (*Glycine max*) yang dihidrolisis oleh enzim protease. Penelitian ini melakukan penentuan konsentrasi enzim protease yang terbaik untuk hidrolisis limbah ampas kedelai untuk menghasilkan aktivitas antioksidan dan antibakteri terbaik berdasarkan derajat hidrolisis. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) dan metode ABTS (*2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl*). Adapun pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode dilusi cair.

## **3. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang dikemukakan di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu “Berapakah konsentrasi enzim, waktu, dan suhu hidrolisis pada hidrolisat protein ampas kedelai yang optimum untuk mendapatkan derajat hidrolisis terbaik yang menghasilkan aktivitas antioksidan dan atibakteri?”

## **C. Tujuan Penelitian**

Berdasarkan latar belakang yang dikemukakan di atas, maka tujuan dari penelitian ini adalah menentukan kondisi optimum proses hidrolisis protein limbah ampas kedelai dengan enzim protease berdasarkan variasi konsentrasi enzim, waktu dan suhu hidrolisis dengan metode RSM (*Response Surface Methodology*) berdasarkan derajat hidrolisis dan aktivitas antioksidan agar menghasilkan hidrolisis protein terbaik.



#### **D. Hipotesis Penelitian**

Adapun hipotesis penelitian ini yaitu diduga hidrolisat protein dari limbah ampas kedelai dengan proses optimasi menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) memiliki potensi aktivitas antioksidan dan antibakteri.

#### **E. Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian yang dilakukan yaitu penelitian ini diharapkan mampu mengeksplorasi potensi limbah ampas kedelai yang diharapkan menjadi produk hidrolisis protein yang bermanfaat untuk masyarakat dibidang farmasi dan makanan.

#### **F. Keterbaruan Penelitian**

Adapun penelitian sebelumnya Ratnayani, K., *et al.*, (2022) berfokus pada aktivitas antioksidan yang hanya berdasarkan nilai persentase inhibisi dan asam amino total. Kebaruan penelitian ini terletak pada metode perlakuan pengeringan ampas kedelai dengan metode freeze dry, pembuatan isolat protein dari tepung ampas kedelai, dan enzim yang dipakai sebagai hidrolisis yaitu enzim protease dari bakteri *Bacillus licheniformi*.

Penelitian ini menggunakan metode RSM model BBD dengan variabel independent Konsentrasi enzim, suhu, dan waktu dengan respon derajat hidrolisis. Derajat hidrolisis terbaik dari hasil optimasi RSM metode BBD akan dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode Frap dan ABTS berdasarkan nilai persentase inhibisi dan IC50. Metode ABTS lebih efektif dan efisien dalam mengukur aktivitas antioksidan karena dapat mengukur kemampuan senyawa antioksidan dalam



menghambat reaksi oksidasi radikal bebas secara cepat dan akurat. Metode FRAP, sebaliknya, lebih spesifik dalam mengukur kemampuan senyawa antioksidan dalam mereduksi ion besi, yang penting dalam menghambat proses oksidasi

Hidrolisat protein berdasarkan derajat hidrolisis terbaik juga dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan metode dilusi cair. Adapun pengujian lain yang dilakukan yaitu analisis asam amino dan analisis total fenolik. Hal ini membuka peluang baru untuk pengembangan produk bernilai tinggi dari ampas kedelai dan memperkaya pengetahuan tentang hidrolisat protein kedelai.

Pada penelitian ini, pembuatan hidrolisat protein ampas kedelai memakai Enzim protease dari bakteri *Bacillus licheniformis* yang diharapkan berpotensi sebagai kandidat hidrolisat protein halal karena enzim protease yang digunakan berasal dari bakteri yang berasal sumber bakteri yang halal, media pertumbuhan bakteri untuk produksi enzim terbuat dari bahan halal dan pemurnian enzim protease dilakukan dengan cara yang higienis dan terhindar dari kontaminasi bahan yang tidak halal. Adapun keunggulan enzim protease dari bakteri *Bacillus Licheniformis* yaitu memiliki stabilitas yang tinggi terhadap suhu dan pH, sehingga cocok untuk digunakan dalam berbagai kondisi produksi (Daris, U. S., *et al.*, 2024).



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Kajian Teori

##### 1. Kedelai

Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-3922-1995, kacang kedelai adalah hasil budidaya tanaman kedelai berupa biji yang telah lepas dari kulit polong dan dibersihkan. Adapun klasifikasi kacang kedelai menurut Adisarwanto (2005) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Ordo	: <i>Fabales</i>
Famili	: <i>Fabaceae</i>
Genus	: <i>Glycine</i>
Spesies	: <i>Glycine max</i>

Umumnya, kadar protein pada kedelai rata-rata mengandung 35%. Hal ini diperkuat pada buku (Almatsier S, 2003) yang mengatakan bahwa kandungan kacang kedelai yaitu Kadar Protein 34,9%, Kadar Karbohidrat 34,8%, nilai lemak 19,79%, dan Vitamin B1 0,093%. Adapun kandungan asam amino esensial pada kacang kedelai mengandung isoleusin 284 mg/g N, Leusin 486 mg/g N, Lisin 399 mg/g N, Methionin 162 mg/g N, Fenilalanin 309 mg/g N, Treonin 241 mg/g N, Triptophan 50 mg/g N, Valin 300 mg/g N (Sugiyo, *et al.*, 2010).

Ampas kedelai yang berasal dari limbah padat hasil yang umumnya diperoleh dari limbah-limbah industri tahu. Ampas kedelai memiliki rendemen sebesar 1,5-2



kali berat bahan baku kedelai kering. Ampas kedelai juga mengandung protein kasar 18,67%, serat kasar 24,43%, lemak kasar 9,43%, abu 3,42%. Ampas kedelai juga mengandung unsur-unsur mineral mikro maupun makro yaitu Fe 200-500 ppm, Mn 30-100 ppm, Cu 5-15 ppm, Co kurang dari 1 ppm, Zn lebih dari 50 ppm (Yustina, 2011). Ampas kedelai dalam keadaan segar memiliki kadar air sekitar 84,5 % dari bobotnya. (Hernaman, 2005; Noor, 2012).

Kacang kedelai juga memiliki aktivitas antioksidan Vitamin C yaitu 0,006%. Kacang kedelai juga mengandung antioksidan vitamin E sebanyak 0,056-0,16% (Sugiyo, *et al.*, 2010). Kandungan antioksidan pada kacang kedelai juga menunjukkan ampas kedelai juga berpotensi memiliki aktivitas antioksidan. Kacang kedelai dan ampas kedelai dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1 Kedelai dan ampas kedelai

## 2. Hidrolisat Protein

Hidrolisis merupakan proses pemecahan molekul yang berukuran besar menjadi molekul yang lebih kecil. Secara kimiawi atau enzimatis senyawa protein dapat dihidrolisis. Oligopeptida, peptida atau asam amino merupakan beberapa



senyawa turunan protein hasil dari hidrolisis. Hidrolisis protein menjadi peptida digunakan untuk meningkatkan fungsional maupun nutrisi protein tersebut (Awwaly, 2017).

Enzim proteolitik menghidrolisis protein pada suhu dan pH optimum dan biasanya memutus ikatan peptida tertentu, menghasilkan hasil pemotongan yang terdiri dari asam amino dan peptida dengan ukuran yang bervariasi. Enzim yang berasal dari sumber hewani memiliki situs pemotongan lebih spesifik pada tempat kerjanya dibandingkan dengan enzim tumbuhan, yang lebih spesifik dalam aksinya. Misalnya, enzim pepsin akan memutus ikatan peptida pada residu fenilalanin atau leusin.

Metode hidrolisis dengan enzimatis merupakan cara yang banyak disukai karena bahan kimia yang bersifat toksik di dalam produk dapat dihindari (Awwaly, 2017). Enzim lebih efektif penggunaannya dalam hidrolisis dan dapat menghasilkan produk hidrolisis protein tanpa kehilangan banyak asam amino esensial (Witono, *et al.*, 2007). Pemutusan ikatan peptida pada protein dengan penambahan enzim protease sebagai katalis merupakan contoh dari hidrolisis protein secara enzimatis. Hasil dari pemutusannya adalah peptida-peptida dengan berat molekul yang kecil atau asam amino bebas. Hasil hidrolisis dapat dievaluasi berdasarkan derajat hidrolisis (DH) yaitu (%) ikatan peptida yang terhidrolisis terhadap total ikatan peptida dalam suatu bahan pangan (Awwaly, 2017).

Peptida bioaktif adalah prekursor protein yang melalui proses proteolisis secara kimiawi atau hidrolisis enzimatis secara *in vitro* di dalam saluran pencernaan selama proses pengolahan dan fermentasi mikroba. Fungsi dari peptida bioaktif sama halnya dengan aktivitas hormon atau obat yang memiliki fungsi modulasi



melalui interaksi ikatan reseptor khusus pada target sel yang dapat menghasilkan respon fisiologis (Susanto, 2019). Berbagai macam fungsi biologis dari peptida bioaktif dengan aktivitas seperti hipokolesterolemik, antihipertensi, aktivitas antioksidan, atau imunomodulator (Awwaly, 2017).

### 3. Enzim Protease

Enzim protease Enzim protease adalah kelompok enzim yang mengkatalisis hidrolisis protein menjadi peptida dan asam amino. Protease dapat diperoleh dari sumber mikroorganisme, tumbuhan, dan hewan. Enzim Protease yang bersumber dari hewan berasal dari kelenjar pencernaan mamalia, contohnya yaitu pepsin dari lambung dan tripsin dari pancreas. Enzim protease yang bersumber dari tumbuhan berasal dari biji-bijian, kacang-kacangan, dan buah-buahan, contohnya yaitu protease papain (pepaya) dan protease bromelain (nanas). Enzim protease yang bersumber dari mikroorganisme berasal dari bakteri, jamur, aktinomiset, contohnya yaitu protease *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis* dan protease *Aspergillus oryzae* (Naveed, M., *et al.*, 2021).

Protease dalam Hidrolisis Protein dapat memecah protein menjadi peptida dan asam amino, menghasilkan peptida dan asam amino yang lebih mudah diserap dan dimetabolisme oleh tubuh. Hidrolisat protein yang dihidrolisis oleh enzim protease memiliki nilai gizi yang lebih tinggi dibandingkan protein utuh karena lebih mudah dicerna dan diserap. Selain itu Hidrolisat protein yang dihidrolisis dengan enzim protease dapat digunakan untuk membuat produk pangan fungsional dengan berbagai manfaat kesehatan, seperti antioksidan, antibakteri, dan antihipertensi (De Oliveira Filho, J. G., *et al.*, 2021).



Suhu optimal untuk hidrolisis protein bervariasi tergantung pada jenis enzim protease yang digunakan. Suhu optimal umumnya berkisar antara 40-60°C. Waktu hidrolisis protein bervariasi tergantung pada konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, dan suhu. Waktu hidrolisis umumnya berkisar antara 30 menit hingga beberapa jam. Konsentrasi enzim optimal untuk hidrolisis protein bervariasi tergantung pada jenis protease yang digunakan dan konsentrasi substrat. Konsentrasi enzim umumnya berkisar antara 0.1-1 mg/ml. Adapun pH optimal untuk hidrolisis protein bervariasi tergantung pada jenis protease yang digunakan. pH optimal umumnya berkisar antara 5-8 (Lindberg, D., *et al.*, 2021).

Jenis protease yang digunakan akan menentukan spesifisitasnya terhadap ikatan peptida tertentu dan parameter optimal hidrolisis. Konsentrasi enzim yang lebih tinggi akan meningkatkan laju hidrolisis. Suhu yang lebih tinggi umumnya meningkatkan laju hidrolisis, tetapi suhu yang terlalu tinggi dapat denaturisasi enzim. pH yang optimal akan meningkatkan aktivitas enzim dan laju hidrolisis (Chen, D., & Campanella, O. H, 2022).

#### **4. *Response Surface Methodology***

Pada *Response Surface Methodology* (RSM) *Design Expert*, *Central Composite Design* (CCD) dan *Box-Behnken Design* (BBD) adalah dua desain eksperimental yang dipakai untuk mencocokkan permukaan respon. CCD (*Central Composite Design*) dipakai untuk mengetahui perkiraan arah optimal dan lokasi optimal yang tidak diketahui. CCD memiliki rotatability yang lebih baik, yang berarti bahwa titik uji yang berada pada jarak yang sama memiliki nilai respon yang sama. Hal ini memudahkan analisis data dan memperoleh model yang lebih akurat. CCD dapat dipakai untuk model yang kompleks, termasuk model linier, kuadratik,



dan kubik. Namun, pada CCD Jumlah Run yang lebih banyak, CCD memerlukan jumlah run yang lebih banyak dibandingkan dengan BBD, sehingga dapat lebih mahal dan memerlukan waktu yang lebih lama untuk dilakukan (Hidayat, I. R., *et al.*, 2021).

Berbeda dengan CCD, BBD (*Box-Behnken Design*) dipakai untuk optimasi dengan tiga variabel independen. BBD dipakai untuk mencapai daerah optimal dengan analisis yang lebih detail. BBD dipakai untuk menentukan titik optimum dengan menggunakan model matematika yang sesuai dan nilai *desirability* yang tinggi. BBD memerlukan jumlah run yang lebih sedikit dibandingkan dengan CCD, sehingga dapat lebih hemat biaya dan waktu. BBD lebih efisien karena dapat memprediksi nilai optimum baik linier maupun kuadratik dengan baik, walaupun jumlah run yang lebih sedikit. Namun, BBD tidak memiliki rotatability yang sebagus CCD, sehingga analisis data dapat lebih kompleks dan memerlukan teknik analisis yang lebih spesifik. BBD kurang fleksibel dibandingkan CCD, karena hanya dapat dipakai untuk model yang relatif sederhana (Akbar, N. D., *et al.*, 2022).

Pada produk sintesis, CCD dipakai untuk mengetahui perkiraan arah optimal, sedangkan BBD dipakai untuk mencapai daerah optimal dengan analisis yang lebih detail. Kedua desain ini dipakai untuk mengoptimalkan respon dengan menggunakan model matematika yang sesuai dan nilai *desirability* yang tinggi. Dalam sintesis, CCD lebih cocok dipakai ketika model yang kompleks diperlukan dan biaya tidak menjadi masalah. Sebaliknya, BBD lebih efisien dan cocok dipakai ketika biaya dan waktu dipertimbangkan (Dbik, A., *et al.*, 2022).



Pemilihan jumlah run yang tepat dalam penggunaan aplikasi Design Expert untuk model RSM Box-Behnken (BBD) dapat dilakukan dengan menganalisis kriteria yang sesuai dengan tujuan penelitian. Kriteria ini meliputi jumlah variabel independen yang dipakai dalam penelitian. Semakin banyak variabel independen, semakin banyak titik eksperimen yang dibutuhkan. Jika terdapat interaksi antara variabel independen, maka jumlah run yang dibutuhkan akan lebih banyak. Jumlah run yang tepat juga dipengaruhi oleh tujuan optimasi. Jika tujuan optimasi adalah mencapai titik optimum yang akurat, maka jumlah run yang dibutuhkan akan lebih banyak. Jumlah run yang dibutuhkan juga dipengaruhi oleh keterbatasan sumber daya, seperti biaya, waktu, dan sumber daya lainnya (Akram, W., & Garud, N., 2021).

Pada eksperimen Design Expert RSM (Response Surface Methodology) metode BBD (Box-Behnken Design), dasar penetapan sampling dilakukan pada variabel independen yang digunakan dalam RSM dan BBD harus ditentukan berdasarkan studi literatur dan penelitian sejenis. Variabel ini harus memiliki batas minimum dan maksimum yang jelas untuk memungkinkan analisis data yang lebih akurat. Batas minimum dan maksimum nilai masing-masing level faktor harus ditentukan berdasarkan penelitian sejenis dan literatur. Batas ini digunakan untuk menentukan kisaran nilai yang akan diuji dalam eksperimen (Abubakar, A., *et al.*, 2022).

Jumlah *run* (percobaan) dalam RSM BBD ditentukan oleh aplikasi Design Expert. Aplikasi ini menggunakan algoritma untuk menentukan jumlah run yang optimal berdasarkan kriteria seperti tingkat kesalahan, akurasi, dan kompleksitas model. Desain eksperimen RSM dan BBD dilakukan dengan menggunakan



perangkat lunak Design Expert. Desain ini meliputi pengaturan variabel independen, jumlah run, dan kriteria evaluasi. Desain ini digunakan untuk menentukan kondisi ekstraksi yang optimal dan memprediksi hasil eksperimen. Data hasil eksperimen dianalisis masih menggunakan perangkat lunak Design Expert yang meliputi model matematika yang sesuai, analisis variasi, dan analisis desirability untuk menentukan kondisi optimum. Dengan demikian, dasar penetapan sampling pada eksperimen Design Expert RSM BBD melibatkan pengaturan variabel independen, pemilihan jumlah run (percobaan), batas minimum dan maksimum, desain eksperimen, dan analisis data yang akurat (Akram, W., & Garud, N., 2021)..

## **5. Aktivitas antioksidan**

Sifat suatu senyawa yang dapat menangkap radikal bebas adalah aktivitas antioksidan. Uji aktivitas antioksidan merupakan suatu uji untuk mendeteksi senyawa aktivitas antioksidan pada suatu sampel. Metode pengujian aktivitas antioksidan diantaranya yaitu metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) dan metode ABTS. Uji aktivitas antioksidan metode ABTS (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) merupakan salah satu metode yang umum digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan sampel. Metode ini berdasarkan pada kemampuan sampel untuk mereduksi radikal bebas ABTS yang berwarna ungu menjadi senyawa berwarna kuning. Penurunan absorbansi ABTS pada panjang gelombang 517 nm menunjukkan aktivitas antioksidan sampel (Hasan, H., *et al.*, 2022, h. 69).

Radikal bebas ABTS bersifat stabil dan memiliki absorbansi tinggi pada panjang gelombang 517 nm (Sari, I. P., *et al.*, 2022). Senyawa antioksidan dapat



mereduksi radikal bebas ABTS menjadi senyawa yang tidak berwarna. Penurunan absorbansi ABTS pada panjang gelombang 517 nm menunjukkan aktivitas antioksidan sampel. Hitung nilai IC<sub>50</sub> (konsentrasi sampel yang menghambat 50% ABTS) dengan kurva standar. Sampel dengan nilai %I yang lebih tinggi menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih kuat. Sampel dengan nilai IC<sub>50</sub> yang lebih rendah menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih kuat (Handayani, T. H., *et al.*, 2022, h. 234). Sampel yang telah dianalisis menggunakan nilai IC 50 baik aktivitas antioksidan dan antibakteri dapat dikategorikan sifatnya pada tabel 1 (Molyneux, 2004 pada Yumni G. G., *et al.*, 2022).

Tabel 1. Sifat Antioksidan dan Antibakteri Berdasarkan Nilai IC 50

Nilai IC 50 (ppm)	Sifat
<50	Sangat Kuat
50-100	Kuat
100-250	Sedang
250-500	Lemah
>500	Tidak Aktif

Pada metode FRAP yang disampaikan oleh Munteanu, I. G., & Apetrei, C, (2021, h. 14) pengujian aktivitas antioksidan bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan total sehingga kapasitas aktivitas antioksidan suatu senyawa sama dengan kapasitas reduksi suatu senyawa. Pada metode FRAP menggunakan kemampuan senyawa aktivitas antioksidan untuk mereduksi ion Fe<sup>3+</sup> kuning (kalium heksasinoferat) menjadi Fe<sup>2+</sup> hijau kebiruan untuk menentukan aktivitas antioksidan total suatu bahan dan apabila menggunakan TPTZ pada metode FRAP maka Fe<sup>3+</sup> (warna biru pucat) menjadi Fe<sup>2+</sup> (warna biru muda dan biru tua).

ABTS (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dan FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) merupakan dua metode yang digunakan untuk mengukur kemampuan suatu



senyawa untuk menghambat reaksi oksidasi, tetapi mereka memiliki prinsip kerja yang berbeda. Metode ABTS lebih efektif dan efisien dalam mengukur aktivitas antioksidan karena dapat mengukur kemampuan senyawa antioksidan dalam menghambat reaksi oksidasi radikal bebas secara cepat dan akurat. Metode FRAP, sebaliknya, lebih spesifik dalam mengukur kemampuan senyawa antioksidan dalam mereduksi ion besi, yang penting dalam menghambat proses oksidasi (Surya, A., *et al.*, 2023, h. 441).

Metode ABTS dan FRAP memiliki korelasi yang sangat tinggi ( $R > 0,98$ ), yang menunjukkan bahwa keduanya mengukur aktivitas antioksidan dengan cara yang relatif sama, tetapi dengan mekanisme yang berbeda. Menggunakan dua metode dapat memberikan gambaran yang lebih lengkap tentang aktivitas antioksidan suatu senyawa, karena keduanya mengukur aspek yang berbeda dari aktivitas antioksidan. Dengan demikian, hasil yang diperoleh dapat lebih akurat dan reliabel, serta dapat membantu dalam memahami mekanisme kerja antioksidan yang lebih baik (Sulistyani, M., *et al.*, 2024).

Metode ABTS memiliki keterbatasan dalam mengukur aktivitas antioksidan pada senyawa yang tidak memiliki struktur polihidroksi atau polifenol, sedangkan metode FRAP memiliki keterbatasan dalam mengukur aktivitas antioksidan pada senyawa yang tidak memiliki kemampuan reduksi. Dalam sintesis, menggunakan dua metode ABTS dan FRAP dalam pengujian aktivitas antioksidan dapat memberikan gambaran yang lebih lengkap dan akurat tentang aktivitas antioksidan suatu senyawa, serta membantu dalam memahami mekanisme kerja antioksidan yang lebih baik (Irianti, T. T., & Nuranto, S., 2021).



## 6. Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri adalah kemampuan suatu zat atau senyawa untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri (WHO, 2014). Aktivitas ini dapat terjadi melalui berbagai mekanisme, seperti mengganggu struktur membran sel bakteri, membran sel bakteri merupakan barrier penting yang melindungi sel dari lingkungan luar. zat antibakteri dapat merusak membran sel bakteri, sehingga menyebabkan kebocoran dan kematian sel. Aktivitas antibakteri dapat menghambat sintesis protein bakteri, protein merupakan komponen penting untuk pertumbuhan dan reproduksi bakteri. zat antibakteri dapat menghambat sintesis protein bakteri, sehingga menghambat pertumbuhan dan reproduksi bakteri. Zat antibakteri dapat mengaktifkan sistem kekebalan tubuh untuk melawan bakteri.

Hidrolisat protein adalah protein yang telah dipecah menjadi peptida dan asam amino yang lebih kecil. Hidrolisat protein dapat menunjukkan aktivitas antibakteri melalui beberapa mekanisme, seperti mengikat ion logam, mengganggu *quorum sensing*, meningkatkan aktivitas antioksidan. Ion logam penting untuk pertumbuhan bakteri, hidrolisat protein dapat mengikat ion logam, sehingga bakteri tidak dapat menggunakannya untuk pertumbuhan. *Quorum sensing* adalah proses komunikasi antar bakteri. Hidrolisat protein dapat mengganggu *quorum sensing*, sehingga bakteri tidak dapat berkoordinasi dan menyerang tubuh (Thompson, T. P., *et al.*, 2023).

Hidrolisat protein juga dapat meningkatkan aktivitas antioksidan tubuh, sehingga membantu tubuh melawan radikal bebas yang dihasilkan oleh bakteri (Tu, A., *et al.*, 2020). Pemilihan metode pengujian aktivitas antibakteri tergantung pada beberapa factor yaitu jenis sampel (Sampel padat, cair, atau gas), Jenis bakteri



(Gram positif, gram negatif, atau anaerob), dan tujuan pengujian (Skrining awal atau penelitian lebih lanjut). Aktivitas antibakteri pada hidrolisat protein tergantung pada beberapa faktor, seperti jenis protein yang digunakan untuk membuat hidrolisat protein dapat mempengaruhi aktivitas antibakterinya, metode hidrolisis protein dapat mempengaruhi aktivitas antibakterinya, dan semakin tinggi konsentrasi hidrolisat protein, maka semakin besar aktivitas antibakterinya.

Hidrolisat protein memiliki aktivitas antibakteri karena memiliki asam amino esensial yaitu lisin, arginin, fenilalanin yang dapat membunuh bakteri (Akbarian, M., *et al.*, 2022). Adapun beberapa metode yang dapat digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri, antara lain metode difusi cakram, metode dilusi cair, metode mikrodilusi, metode turbidimetri, dan Metode ATP Bioluminescence.

Metode Difusi Cakram (*Kirby-Bauer*) merupakan metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri. Pada metode ini, cakram kertas yang mengandung sampel uji ditempatkan pada permukaan agar yang telah ditanami bakteri. Sampel uji akan berdifusi ke dalam agar dan menghambat pertumbuhan bakteri di sekitar cakram. Diameter zona hambat yang terbentuk menunjukkan aktivitas antibakteri sampel uji (Permanasari, E. D., *et al.*, 2024).

Uji aktivitas antibakteri metode dilusi IC<sub>50</sub> dengan microplate 96-well yang dianalisis dengan ELISA reader adalah metode yang digunakan untuk mengukur seberapa efektif suatu zat, dalam hal ini hidrolisat dan isolat protein kedelai, dalam menghambat pertumbuhan bakteri. IC<sub>50</sub> adalah konsentrasi suatu zat yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan bakteri sebesar 50%. Metode ini menggunakan lempeng mikro dengan 96 sumur (well) untuk menguji berbagai konsentrasi sampel secara simultan. Pertumbuhan bakteri kemudian diukur



menggunakan ELISA reader, alat yang mengukur absorbansi cahaya yang dapat mengindikasikan jumlah bakteri yang ada. Meskipun hidrolisat dan isolat protein kedelai memiliki aktivitas antioksidan yang rendah, uji antibakteri dilusi IC50 tetap relevan karena metode dilusi IC50 sangat sensitif, sehingga mampu mendeteksi aktivitas antibakteri yang sangat rendah sekalipun (Maulana, I., *et al.*, 2020). Sampel yang telah dianalisis menggunakan metode IC 50 baik aktivitas antioksidan dan antibakteri dapat dikategorikan sifatnya pada tabel 1.

## **B. Penelitian Terdahulu yang Relevan**

Adapun penelitian-penelitian relevan yang mendukung penelitian ini dalam optimasi hidrolisis protein dari limbah ampas kedelai yaitu penelitian sebelumnya yang telah dilakukan Ratnayani, K., *et al.*, (2022) yaitu pembuatan hidrolisat protein dari ampas tofu (Okara) yang diolah menjadi isolat dan dihidrolisis menggunakan enzim papain dengan variasi konsentrasi 3%, 4%, 5%, 6%, 7% dan aktivitas antioksidan terbaik pada konsentrasi 4% sebesar 98,86% menggunakan metode ABTS dan 0,5  $\mu\text{mol}$  AAE/g menggunakan metode FRAP.

Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Prandi, B., *et al.* (2024), bahan baku (Komposit tulang & kulit Unggas dan Komposit residu daging Unggas yang dipisahkan) yang telah ditimbang sebelumnya ditempatkan dalam keadaan beku dalam wadah khusus. Kemudian Bahan baku yang akan dihidrolisis dicampurkan dengan air pada rasio bahan dan air = 1 : 1 (misalnya 500 gram bahan mentah per 500 ml air untuk dihidrolisis). Suspensi yang dihasilkan ditambahkan enzim protease (*B. licheniformis*) dengan konsentrasi 0,5% (% berat dari bahan baku) dihidrolisis selama 2 jam pada suhu 65°C. Tidak diperlukan penyesuaian pH selama 2 jam ini. Pada akhir hidrolisis, seluruh campuran dipanaskan hingga 90°C selama



20 menit untuk menonaktifkan enzim. Penelitian tersebut menghasilkan derajat hidrolisis yang cukup besar (27-30%).

Pada penelitian yang dilakukan Edwards, J. S., *et al.* (2020) kedelai diolah menjadi bentuk tepung, tepung yang telah diolah dibuat dalam bentuk isolat protein kedelai yang diekstraksi dengan metode air. Isolat protein kedelai lalu dihidrolisis dengan enzim protease (pepsin) 0,5% dengan waktu hidrolisis 3 jam, pH 2, dan suhu 37 °C.

Dari penelitian diatas, terdapat kesamaan dengan penelitian yang akan dilakukan yaitu limbah ampas kedelai akan dibuat terlebih dahulu menjadi produk isolat protein sebelum dilakukan proses hidrolisat protein. Isolat protein akan dihidrolisis oleh enzim protease dengan variasi konsentrasi enzim 0,5%, 1,25%, 1,5% pada variasi suhu 55, 60, 65 °C dan variasi waktu hidrolisis 2, 3, 4 jam.

### **C. Kerangka Berpikir**

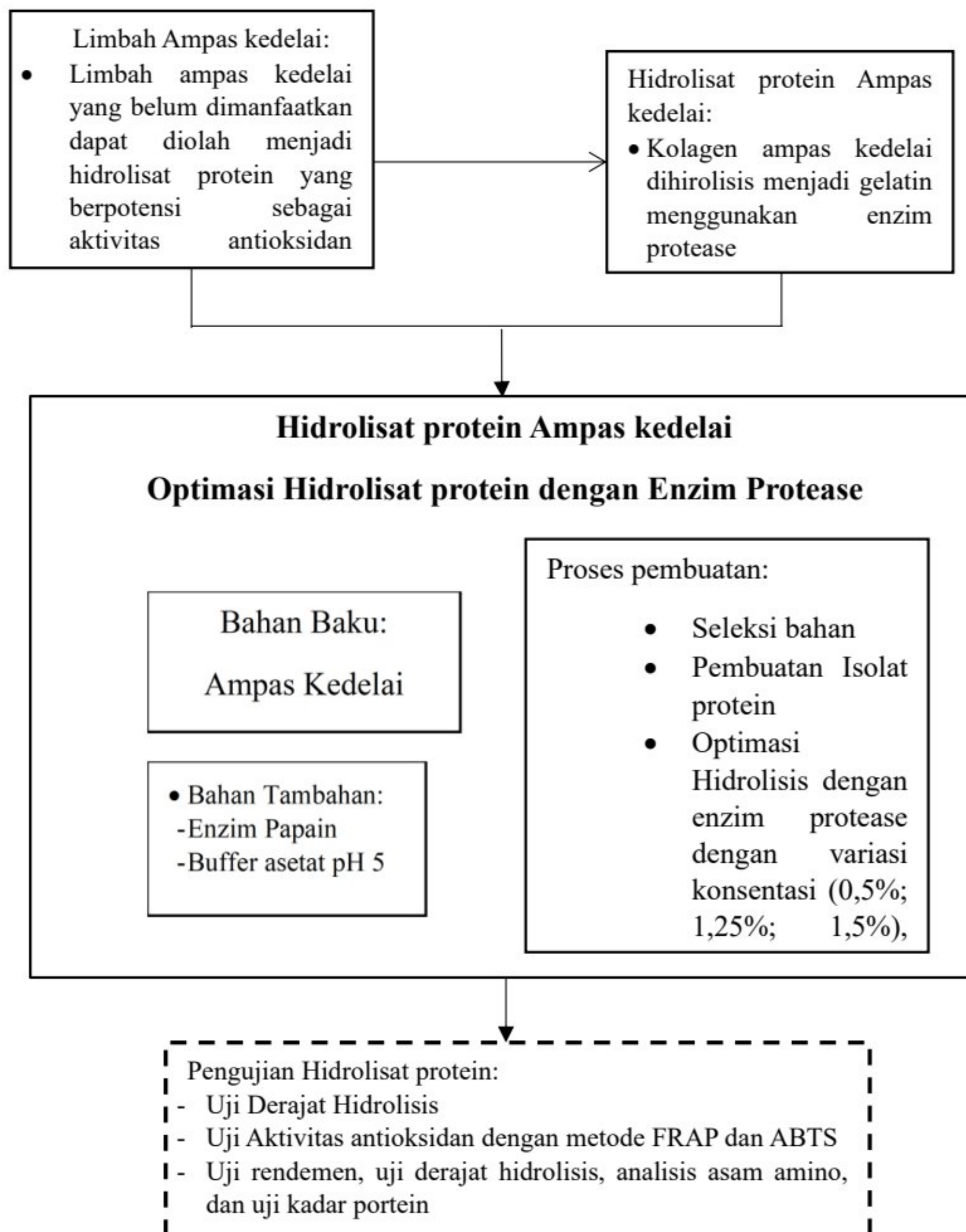
Penggunaan limbah ampas kedelai bertujuan untuk memanfaatkan limbah organik yang belum dimanfaatkan sebagai pembuatan hidrolisat protein. Pemanfaatan limbah ampas kedelai dimasyarakat biasanya dipakai sebagai pakan ternak saja, padahal ampas kedelai dapat diolah menjadi produk hidrolisat protein. Adapun limbah ampas kedelai dalam pembuatan hidrolisat protein diharapkan sebagai langkah yang tepat agar dapat memaksimalkan pemanfaatan limbah ampas kedelai. Selain itu, hidrolisat protein ampas kedelai diharapkan memiliki derajat hidrolisis yang tinggi dan aktivitas antioksidan yang tinggi guna dapat dimanfaatkan sebagai penangkal radikal bebas.



Dalam penelitian ini akan dilakukan pembuatan Hidrolisat protein dengan penentuan kondisi optimum menggunakan metode RSM pada variasi waktu hidrolisis 2 jam, 3 jam, 4 jam yang dihidrolisis dengan enzim protease (0,5%, 1,25% dan 1,5%) dengan variasi suhu 55, 60, 65 °C terhadap respon derajat hidrolisis. Derajat hidrolisis terbaik akan dilakukan pengujian aktivitas antioksidan metode FRAP & ABTS, uji aktivitas antibakteri, dan pengujian lain yang meliputi uji rendemen, analisis asam amino, dan uji kadar protein. Kerangka berpikir dapat dilihat pada Diagram 1.



Diagram 1 Skema kerangka berpikir penelitian





### **BAB III**

## **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **A. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Pancasila dan Pengujian antibakteri dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Pancasila.

#### **B. Desain Penelitian**

Desain penelitian yang dipakai pada penelitian ini adalah penelitian eksperimen. Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini dipilih secara sengaja dengan beberapa kriteria tertentu. Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah ampas kedelai dari industri tahu di Pasar Minggu. Metode pengambilan sampel limbah ampas kedelai pada penelitian ini yaitu sampling random yang di mana Teknik pengambilan sampel dilakukan secara acak dengan memiliki peluang yang sama untuk terpilih dan telah mewakili populasi.

Pada tahap pertama penelitian ini adalah dilakukan pembuatan isolat protein ampas kedelai. Tahap kedua melakukan optimasi terhadap suhu agar menghasilkan hidrolisat protein. Tahap ketiga melakukan pengujian derajat hidrolisis. Tahap keempat melakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) dan ABTS, Uji aktivitas antibakteri, dan pengujian lain, meliputi uji rendemen, analisis asam amino, dan uji kadar protein.

#### **C. Alat dan Bahan**

Alat-alat yang akan digunakan pada penelitian ini terdiri dari pH meter, alat-alat gelas (Pyrex), spektrofotometri UV-Vis, vortex (Four's Scientific), shaker incubator, Karl Fischer Titrator, mikro pipet, pipet tip eppendorf (Onemed), tanur,



desikator. Bahan-bahan yang digunakan yaitu limbah ampas kedelai dari podusen tempe, Enzim Protease Sigma Aldrich P5380-100MG (Protease from *Bacillus licheniformis*, Type VIII, lyophilized powder, 7-15 units/mg solid, 100 MG), larutan buffer asetat, aquadet, dan asam askorbat.

#### **D. Prosedur Penelitian**

##### **1. Pembuatan Tepung Ampas Kedelai**

Penelitian ini membuat hidrolisat protein dari ampas kedelai. Ampas kedelai diubah dalam bentuk tepung ampas kedelai. Tepung ampas kedelai diolah menjadi isolat protein, lalu dilakukan pembuatan hidrolisat protein dengan penentuan kondisi optimum menggunakan metode RSM pada variasi waktu hidrolisis 2 jam, 3 jam, 4 jam yang dihidrolisis dengan enzim protease (0,5%, 1,25% dan 1,5%) dan penambahan Buffer Asetat 0,1 M hingga pH 5 dengan variasi suhu 55, 60, 65 °C terhadap respon derajat hidrolisis. Derajat hidrolisis terbaik dari kondisi optimum akan dilakukan aktivitas antioksidan dan antibakteri. Selain itu, derajat hidrolisis terbaik akan dilakukan pengujian karakteristik meliputi analisis asam amino dan analisis total fenolik. Skema prosedur penelitian dapat dilihat pada Diagram 2.

Tahap pertama yaitu pengeringan ampas kedelai hingga menjadi tepung. Pengeringan ampas kedelai menggunakan *freeze dryer* berdasarkan penelitian Dong, Y., *et al.* (2022) yang telah dimodifikasi. *Freeze dryer* dengan menghilangkan kandungan air suatu bahan yang telah beku (es) tanpa melalui fase cair terlebih dahulu yang dilakukan pada suhu -103 °C selama 8 jam dan menggunakan pompa vakum dengan tekanan 0.0004 mbar. Sebelum dikeringkan pada *freezer dryer*, sampel dibekukan pada suhu -18°C selama 3 jam.



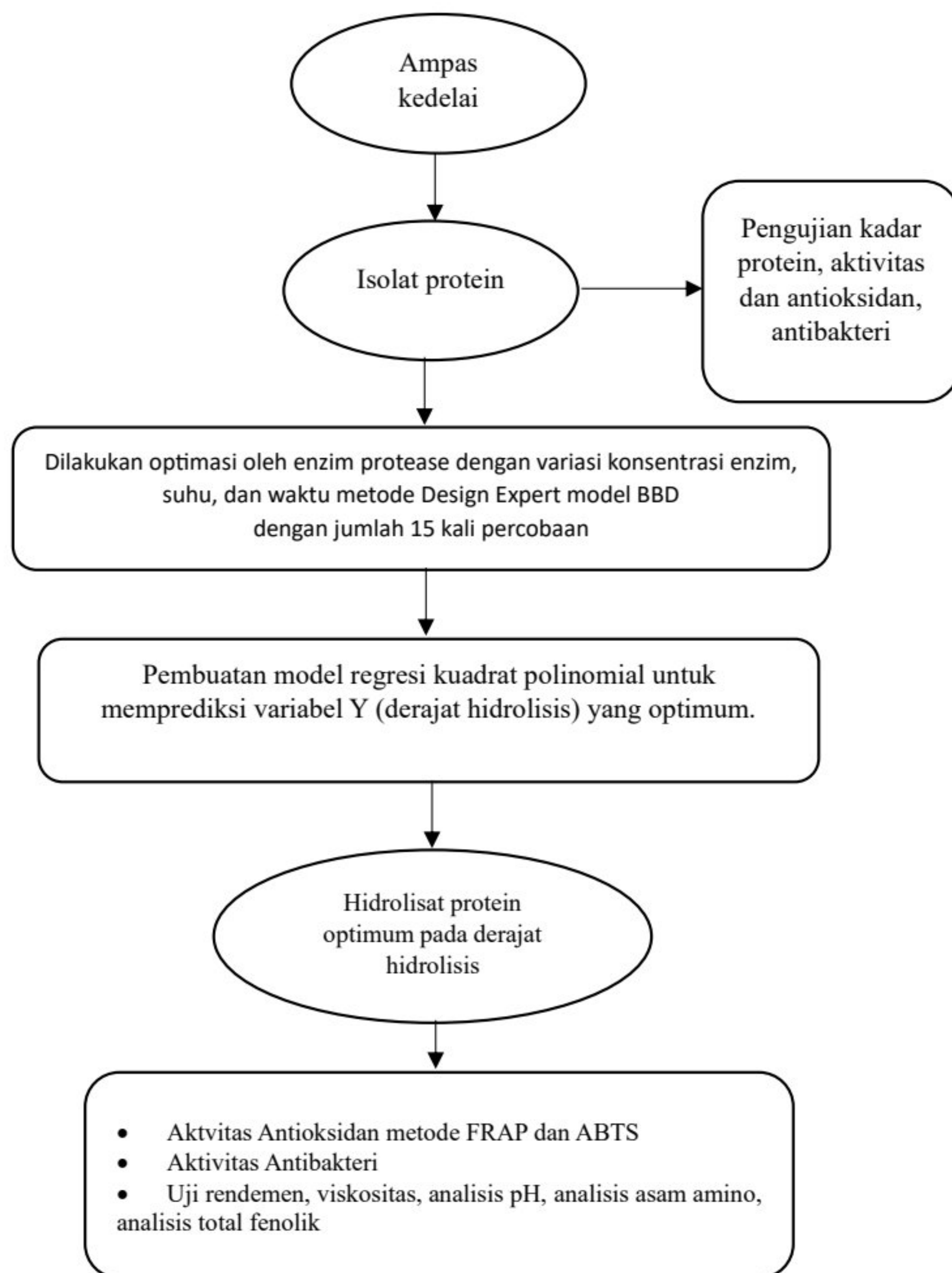


Diagram 2 Skema Prosedur Penelitian



## 2. Pembuatan Isolat Protein Kedelai

Setelah pembuatan tepung ampas kedelai, maka tepung ampas kedelai diolah menjadi isolat Protein. Isolat protein yang dibuat telah dimodifikasi oleh penelitian Edwards, J. S., (2020) *et al.* dan Prastika, H. H., *et al.* (2019). Adapun langkah-langkah dalam pembuatan isolat protein yaitu sejumlah 20 gram tepung ampas kedelai dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 500 ml dan ditambahkan 200 mL NaOH 0,2%, kemudian diaduk dan diukur pHnya hingga pH 12. Campuran tersebut diaduk menggunakan orbital *shaker* selama 60 menit. Selanjutnya campuran dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge 15 ml dan disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit pada 4 °C untuk melarutkan protein dalam tepung. Supernatan yang telah ditampung dari tiga kali pengulangan hasil sentrifugasi kemudian ditambahkan HCl 2 N hingga pH 4,5 dan *disentrifuge* kembali. Lalu, pelet yang diperoleh dicuci dengan penambahan air suling (100 mL) kemudian pH diatur menjadi 4,5 dan *disentrifuge* kembali. Pelet hasil dari ekstraksi dikeringkan menggunakan *Freeze Dryer* pada suhu -103°C selama 8 jam. kemudian hasil pengeringan isolat protein kedelai ditimbang menggunakan neraca analitik dan dicatat bobotnya. Hasil isolasi protein ini berupa fraksi protein (isolat ampas kedelai).

## 3. Optimasi Hidrolisat Protein Kedelai

Optimasi Hidrolisat Protein dilakukan berdasarkan program Response Surface Method (RSM) design expert 13. Metode BBD dengan tiga faktor dan satu respon terdiri dari 15 percobaan acak. Berdasarkan hasil eksperimen dari setiap percobaan, setiap model dipasang untuk menghitung setiap nilai respon.

Hidrolisat ampas kedelai dibuat dengan cara menghidrolisis isolat protein



menggunakan enzim protease. Isolat protein ampas kedelai 4 gram ditambah aquades hingga 100 mL sambil diaduk. Selanjutnya, ditambah enzim protease dengan variasi enzim 0,5%, 1,25%, 1,5% (% berat dari isolat protein ampas kedelai). Campuran tersebut diaduk hingga homogen dan pH diatur hingga mencapai pH 8 dengan buffer asetat sebagai pengatur suasana asam dan NaOH sebagai pengatur suasana basa. Campuran kemudian dihidrolisis dengan cara diinkubasi dalam inkubator shaker pada suhu (45 °C, 50 °C, 55 °C) dan waktu (2 jam, 3 jam, 4 jam), selama proses hidrolisis sampel diaduk setiap 60 menit. Hasil hidrolisis dimasukkan dalam waterbath pada suhu 90° C selama 20 menit untuk menonaktifkan enzim. Hasil kemudian disaring untuk mendapatkan filtrat. Filtrat kemudian disentrifugasi menggunakan sentrifuse dingin pada 3.500 rpm selama 15 menit. Hidrolisat protein ampas kedelai yang dihasilkan kemudian dianalisis.

Setelah didapatkan produk hidrolisat protein pada 15 kali perlakuan ditentukan nilai derajat hidrolisis. Derajat hidrolisis (DH) dihitung menurut persen metode rasio asam trikloro asetat (TCA). Setelah hidrolisis, 10 mL hidrolisat dicampur dengan 10 mL TCA 20%. Campuran diaduk selama 1 menit dan kemudian disentrifugasi pada 10.000 x g selama 15 menit (Prastyo, *et al.*, 2020). Supernatan yang diperoleh digunakan untuk analisis kadar protein terlarut mengikuti metode Bradford. Pengukuran kadar dilakukan dengan metode Bradford, dengan kurva standar menggunakan Bovine Serum Albumin (BSA). Derajat hidrolisis protein dihitung berdasarkan rumus :

$$DHP = \frac{P_t}{P_0} \times 100 \% \quad (1)$$

Keterangan : DHP = Derajat hidrolisis protein

P<sub>0</sub> = Kadar protein terlarut sebelum hidrolisis

P<sub>t</sub> = Kadar protein terlarut TCA 20% setelah hidrolisis



dalam jangka waktu t

Kadar protein terlarut isolat protein kedelai kering (sebelum hidrolisis) (P0) dilakukan dengan metode Bradford, Isolat protein kering dicampurkan dengan aquadest pada rasio 1:1. Pipet 2 ml dari suspensi yang dihasilkan dan tambahkan 8 ml reagen Bradford (Walker, J. M. (Ed.), 1996). Adapun pada Hidrolisat Protein Kedelai untuk mendapatkan kadar protein terlarut TCA 20% (Pt), Sebanyak 2 mL hidrolisat yang telah dicampurkan TCA 20% dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 8 mL reagen Bradford (Bradford, 1976). Kemudian larutan dihomogenisasi dan diinkubasi pada suhu ruang selama 35 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 595 nm. Melalui pembuatan kurva standar akan dihasilkan persamaan regresi  $Y=ax+b$  yang digunakan untuk menentukan kadar protein terlarut (Yang, M., 2021).

Uji RSM dilakukan kembali untuk membandingkan % Derajat Hidrolisis (DH) yang didapatkan dengan rancangan hasil RSM sebelumnya untuk mendapatkan kondisi optimum (konsentrasi enzim, suhu dan waktu optimasi terbaik) dan dilakukan pembuatan hidrolisat protein atau dengan kondisi optimum hasil RSM.

#### **4. Pengujian Rendemen**

Pengujian rendemen merupakan pengujian yang membandingkan nilai bobot kering produk yang dihasilkan dengan berat bahan baku, semakin tinggi suatu rendemen maka semakin tinggi pula kandungan zat yang tertarik pada suatu bahan baku (Hasmita *et al.*, 2024).

#### **5. Pengujian Proksimat Isolat Protein Kedelai**

Pengujian proksimat merupakan analisis kimia yang dilakukan untuk menentukan kandungan nutrisi dalam bahan pangan meliputi analisis kadar air,



analisis kadar protein, analisis kadar lemak, analisis kadar abu, analisis kadar karbohidrat, dan analisis Serat kasar. Analisis proksimat penting untuk menilai kualitas bahan makanan dan memahami nilai gizinya. Informasi yang didapat dari analisis proksimat dapat digunakan untuk mengembangkan produk pangan yang lebih baik.

Analisis kadar air dilakukan menggunakan *moisture balance* dengan menimbang serbuk sebanyak 2,0 gram, kemudian diukur kelembabannya dengan menggunakan alat *moisture balance* selama 30 menit dan ditunggu sampai alat menunjukkan hasil kadar dengan satuan persen (Widianingrum, M., & Herdwian, W., 2012).

Pada analisis kadar protein dilakukan berdasarkan metode Bradford (*The protein protocols handbook*, 1996). Timbang sampel 50 mg dilarutkan dengan aquadest 60 °C ad 50 ml pada labu ukur dan di homogenisasikan. Dilakukan pengenceran dengan mengambil 1 ml dan ditambahkan aquadest ad 5 ml pada vial. Lalu, dilakukan pengenceran memipet 0,5 ml dan ditambahkan aquadest ad 5 ml menggunakan vial. Sampel diambil 120 µL dan dicampurkan dengan 6 mL reagen Bradford. Campuran di-vortex dan diinkubasikan pada suhu 20°C selama 5-55 menit. Absorbansi diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 595 nm.

Analisis kadar abu dilakukan dengan menyiapkan cawan porselen untuk melakukan pengabuan kemudian cawan porselen dikeringkan dalam oven selama 15 menit lalu didinginkan dalam desikator dan ditimbang hingga berat konstan. Sampel ditimbang sebanyak  $\pm 3$  gram di dalam cawan yang telah dikeringkan



kemudian dibakar dalam ruang asap hingga tidak mengeluarkan asap lagi. Selanjutnya dilakukan pengabuan menggunakan tanur listrik pada suhu 400-600 °C selama 4-6 jam hingga terbentuk abu berwarna putih atau memiliki berat konstan. Abu yang terbentuk di dalam cawan didinginkan dalam desikator lalu ditimbang (AOAC, 2005).

Analisis kadar lemak dilakukan dengan menimbang sampel sebanyak 5 gram sampel dengan wadah kertas saring kemudian sampel ditutup dengan kapas dan kertas saring dilipat. Sampel yang telah disiapkan dimasukkan ke dalam alat soxhlet yang dilengkapi alat kondensor. Pelarut yang digunakan adalah hexana, dituangkan ke dalam labu soxhlet secukupnya. Kemudian direfluks selama minimum 5 jam sampai pelarut yang turun kembali ke labu lemak berwarna jernih. Pelarut yang tersisa dalam labu lemak didestilasi kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 105 °C untuk menguapkan sisa pelarut yang mungkin masih tertinggal. Setelah itu dikeringkan hingga berat konstan dan didinginkan dalam desikator, labu beserta lemaknya (AOAC, 2005).

Pengukuran kadar karbohidrat menggunakan metode by difference dilakukan dengan cara mengurangkan 100% dengan nilai total dari kadar air, kadar abu, kadar protein, dan kadar lemak (AOAC, 2005).

Analisis kadar serat dilakukan dengan menimbang sampel sebanyak 2 g dan diekstrak lemaknya menggunakan soxhlet. Sampel yang sudah bebas lemak kemudian dipindahkan kedalam Erlenmeyer 600 ml, ditambahkan 0,5 g asbes yang telah dipijarkan dan 2 tetes anti buih. Kemudian ditambahkan 200 ml larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> mendidih, lalu sampel dididihkan selama 30 menit. Setelah selesai suspensi disaring



menggunakan kertas saring. Residu yang tertinggal kemudian dicuci menggunakan air mendidih hingga air cucian tidak bersifat asam lagi. Selanjutnya residu dipindahkan kembali ke Erlenmeyer, sisanya dicuci dengan 200 ml larutan NaOH mendidih. Kemudian sampel dididihkan 30 menit, dan saring kembali menggunakan kertas saring dan dicuci dengan K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%. Residu kemudian dicuci dengan air mendidih, kemudian dengan alkohol 95%. Kertas saring kemudian dikeringkan dalam oven 110°C sampai berat konstan. Kemudian ditimbang dan didinginkan dalam desikator, diulang terus hingga berat konstan (AOAC, 2005).

## **6. Analisis FTIR**

Pada pengujian analisis FTIR dilakukan dengan rentang bilangan gelombang yaitu 4000cm<sup>-1</sup> sampai 600cm<sup>-1</sup> dengan hasil yang diperoleh berbentuk puncak serapan pada bilangan gelombang masing-masing gugus fungsi yang dipindai dan umum dimiliki oleh protein yaitu Hidrogen (H), gugus Hidroksil (O-H), Karbon (C), Karboksil (C=O) dan gugus Amina (N-H) (Alarape *et al.*, 2024).

## **7. Analisis Asam Amino**

Pada pengujian analisis asam amino dilakukan dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) yang menggunakan derivatisasi prakolom dan pascakolom dapat memisahkan 17 macam campuran asam amino yaitu aspartic acid, glutamic acid, serine, histidine HCl monohydrate, glycine, threonine, arginine, alanine, tyrosine, valine, methionine, phenylalanine, isoleucine, lysine HCl, proline, dan cystine (Siahaya, R.A., 2020).

## **8. Pengujian Aktivitas Antioksidan Metode ABTS**

Pembuatan Reagen ABTS 7 mM terdiri dari ABTS, etanol 70% dan larutan kalium persulfat 2,45mM. Pembuatan Larutan Kalium Persulfat 2,45 mM dengan



menimbang  $K_2S_2O_8$  sebanyak 0,0331 g dilarutkan dalam labu ukur 50 mL dengan etanol 70% hingga tanda batas. Larutan ABTS dibuat dengan menimbang ABTS sebanyak 38 mg kemudian dilarutkan dalam labu ukur 10 mL dengan etanol 70% hingga tanda batas. Larutan abts sebanyak 10 mL ditambahkan dengan larutan kalium persulfat 2,45 mM sebanyak 10 mL, lalu dimasukkan ke dalam botol coklat dan diinkubasi selama 12-16 jam di ruang gelap dalam suhu kamar.

Pembuatan kontrol negatif dan penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan memipet 2 ml Larutan ABTS 7 mM kemudian dimasukkan ke dalam vial dan ditambahkan 1 mL etanol 70%, lalu diukur absorbansi pada rentang panjang gelombang 400-800 nm. Operating time dilakukan dengan memipet 1 ml Larutan trolox 15 ppm kemudian ditambahkan 2 mL larutan ABTS 7 mM. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum 742 nm selama 60 menit.

Pembuatan larutan pembanding Trolox 1000 ppm, dibuat dengan menimbang 5 mg trolox kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL, dilarutkan dengan etanol 70% hingga tanda batas. Larutan trolox dibuat pengenceran menjadi 15 ppm dengan memipet 75  $\mu$ L dari larutan induk trolox 1000 ppm dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL lalu ditambahkan etanol 70% hingga tanda batas. Kemudian dilakukan perhitungan  $C_{min}$  dan  $C_{max}$  hingga didapatkan konsentrasi yang berbeda yaitu 9, 11, 13, 15 dan 17 ppm. Setiap konsentrasi larutan Trolox diambil 1 mL dan dimasukkan ke dalam mikrotube, lalu ditambahkan 2 mL reagen ABTS dan diinkubasi dalam keadaan gelap selama 31 menit pada suhu ruang. Ukur absorbansi pada panjang gelombang 742 nm.

Pengujian Sampel Isolat protein kedelai dengan menimbang sebanyak 5 mg kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL, lalu dilarutkan dengan etanol



70% hingga tanda batas (Larutan sampel 1000 ppm), kemudian dibuat variasi konsentrasi yang berbeda yaitu 60, 80, 100, 120, dan 140 ppm dengan labu ukur 5 mL, dilarutkan dengan etanol 70% hingga tanda batas. Setiap konsentrasi larutan sampel diambil 1 mL dan ditambahkan 2 mL reagen ABTS lalu diinkubasi dalam keadaan gelap selama 31 menit pada suhu ruang. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 742 nm.

Pengujian Sampel hidrolisat protein kedelai dengan menimbang sebanyak 5 mg kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL, lalu dilarutkan dengan etanol 70% hingga tanda batas (Larutan sampel 1000 ppm), kemudian dibuat variasi konsentrasi yang berbeda yaitu 40, 45, 50, 55, dan 60 ppm dengan labu ukur 5 mL, dilarutkan dengan etanol 70% hingga tanda batas. Setiap konsentrasi larutan sampel diambil 1 mL dan ditambahkan 2 mL reagen ABTS lalu diinkubasi dalam keadaan gelap selama 31 menit pada suhu ruang. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 742 nm. Pengukuran presentase aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100 \quad (2)$$

Nilai IC<sub>50</sub> dihitung pada saat nilai % peredaman sebesar 50% dengan menggunakan persamaan  $y = ax + b$ , sehingga:

$$IC\ 50 = \frac{50 - b}{a} \quad (3)$$

Keterangan:

y = Absorbansi sampel(50)

a = Titik potong kurva pada sumbu y (Intercep)

b = Kemiringan kurva (Slope)

x = Konsentrasi sampel (IC<sub>50</sub>)



Perhitungan nilai IC<sub>50</sub> (Inhibitory Concentration 50%) menunjukkan besarnya konsentrasi senyawa larutan uji yang mampu meredam proses oksidasi sebesar 50%, melalui persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi larutan uji (x) dengan % inhibisi (y). Nilai IC<sub>50</sub> diperoleh dengan mensubstitusikan y sebagai % inhibisi sebesar 50% dan x sebagai IC<sub>50</sub>.

## **9. Pengujian Aktivitas Antioksidan Metode FRAP**

Pembuatan Dapar Asetat pH 3,6 dengan menimbang sebanyak 0,775 g Natrium asetat trihidrat ditambahkan 4 mL asam asetat pekat kemudian dilarutkan dengan aquadest di labu ukur 250 mL hingga tanda batas. Pembuatan HCl 40 mM dengan dilakukan pemipetan 0.986 mL Larutan asam klorida pekat 37% yang dilarutkan dengan aquadest hingga 250 mL. Pembuatan TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine) 10 mM dibuat dengan menimbang TPTZ sebanyak 0,31 g yang dilarutkan di labu ukur 100 mL dengan HCl 40 mM hingga tanda batas. Pembuatan FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O 20 mM dibuat dengan menimbang besi(III) klorida heksahidrat sebanyak 0,54 g dan dilarutkan dalam labu ukur 100 mL dengan aquadest hingga tanda batas. Pembuatan Reagent FRAP dibuat dalam beaker glass dengan melarutkan 10 mL dapar asetat pH 3,6 yang ditambahkan 1 mL TPTZ 10 mM dan 1 mL FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O 20 mM, setelah itu dimasukkan ke dalam botol coklat yang dilapisi aluminium foil.

Pembuatan larutan kontrol dibuat dengan memipet 30 µL larutan methanol pa dan ditambahkan reagen FRAP sebanyak 270 µL vortex ± 1 menit, diinkubasi selama 60 menit pada tempat gelap. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum yaitu 622 nm.



Pembuatan Larutan Induk Ammonium Ferrous Sulfat (AFS) 1,2 mM dibuat dengan menimbang sebanyak 47,06 mg, dilarutkan dalam labu ukur 100 mL dengan aquadest hingga tanda batas. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum FRAP dilakukan dengan memipet 30  $\mu$ L Larutan AFS 1,2 mM dan ditambahkan 270  $\mu$ L reagen FRAP, lalu serapan dibaca pada panjang gelombang dalam kisaran 400-800 nm. Kurva kalibrasi ammonium ferrous sulfat dibuat dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 200, 400, 600, 800, 1000, dan 1200  $\mu$ M , dipipet dari larutan induk AFS dan dilarutkan dalam labu ukur 5 mL dengan aquadest hingga tanda batas. Kemudian masing-masing konsentrasi dipipet 30  $\mu$ L dan ditambahkan dengan reagen FRAP 270  $\mu$ L. Lalu divortex dan diinkubasi selama 60 menit ditempat gelap. Setelah itu, diukur absorbansi pada panjang gelombang 622 nm.

Pembuatan Larutan sampel dibuat dengan menimbang 5 mg serbuk, dilarutkan dengan aquadest hangat secukupnya. Kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL dan dicukupkan dengan methanol p.a sampai tanda batas (jadi induk 1000 ppm). Lalu larutan diencerkan menjadi konsentrasi 500 ppm dengan memipet larutan induk 2,5 mL dan dilarutkan dengan methanol p.a menggunakan labu ukur 5 mL sampai tanda batas. Larutan sampel lalu dipipet 30  $\mu$ L dan ditambahkan 270  $\mu$ L reagen FRAP setelah itu divortex dan diinkubasi selama 60 menit ditempat gelap lalu diukur absorbansi pada panjang gelombang 622 nm menggunakan spektrofotometer visibel. Aktivitas antioksidan dapat dihitung dari data yang diperoleh dengan rumus berikut :

$$\text{FeEAC} = \frac{\Delta A}{\text{GRAD}} \times \frac{AV}{\text{SPV}} \times D \times \frac{1}{C_{\text{ext}}} \times 10^5 \quad (4)$$



Keterangan:

FeEAC = Kesetaraan antara aktivitas antioksidan ( $\mu\text{mol/g}$ ) dengan ion ferri

$\Delta A$  = Abs sampel sesudah pengurangan dengan larutan kontrol

$GRAD$  = Gradien grafik kurva kalibrasi AFS

$Av$  = Total volume pengujian

$Spv$  = Total volume sampel pada pengujian

$D$  = Faktor pengenceran sampel

$C_{ext}$  = Konsentrasi stok sampel ( $\text{g/L}$ )

## 10. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode dilusi IC 50. Uji aktivitas antibakteri ini, berdasarkan penelitian Maulana, I., *et al.* (2020). yang telah dimodifikasi. Pada penelitian ini menggunakan media CAMHB dengan kontrol negatif media adalah media CAMHB yang telah diberikan bakteri uji dan Kontrol positif adalah gentamisin.

Untuk mengaktifkan *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* dibiakkan dalam media MHA yang telah diinkubasikan pada  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam, sebanyak 2-3 koloni *Pseudomonas aeruginosa* hasil peremajaan disuspensikan (Mc Farland 0,5) dalam media CAMHB.

Pembuatan media Media MHA dibuat dengan menimbang sebanyak 1,6 gram MHA dilarutkan dalam 80 mL akuades demineralisasi. Pembuatan Mc Farland 0,5 yaitu larutan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  9,95 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1% dicampurkan dengan 0,05 ml  $\text{BaCl}_2$  1,175%.

Adapun pembuatan Media Cation-Adjusted Mueller Hinton Broth (CAMHB) untuk Uji Aktivitas secara Mikrodilusi yaitu 1,05 gram media MHB yang dilarutkan ke dalam 50 mL aqua demineralisata dalam erlenmeyer. Dilakukan sterilisasi media dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$ . Setelah steril, ditambahkan



MgCl<sub>2</sub> dan CaCl<sub>2</sub> (Mg<sup>2+</sup> = 10-12,5 mg/L dan Ca<sup>2+</sup> = 20-25 mg/L) ke dalam media. Larutan induk MgCl<sub>2</sub> dibuat dengan melarutkan 0,8354 gram MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O ke dalam 10 mL aqua demineralisata hingga didapatkan konsentrasi 10 mg/mL. Sementara, larutan induk CaCl<sub>2</sub> dibuat dengan melarutkan 0,3668 gram CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O ke dalam 10 mL aqua demineralisata hingga didapatkan konsentrasi 10 mg/mL. Larutan induk MgCl<sub>2</sub> dan CaCl<sub>2</sub> dipipet masing-masing 225 µL dan 450 µL lalu ditambahkan ke dalam media MHB steril 200 ml sehingga diperoleh konsentrasi Mg<sup>2+</sup> sebanyak 11,25 mg/L dan Ca<sup>2+</sup> sebanyak 22,5 mg/L.

Pembuatan larutan Gentamisin dan sampel yaitu gentamisin 40 mg/mL diencerkan dengan media CAMHB hingga didapatkan seri konsentrasi 4, 2, 1, dan 0,5 µg/mL sebagai kontrol positif. Larutan sampel senggugu 2048 µg/mL diencerkan dengan media CAMHB hingga didapatkan seri konsentrasi 1024, 512, 256, 128, dan 64 µg/mL. Adapun pengerjaan uji aktivitas antibakteri pada hidrolisat protein dilakukan sebagai berikut:

1. Sebanyak 50 µL suspensi bakteri ditambahkan dengan 50 µL DMSO 1%, 50 µL gentamisin, atau 50 µL larutan ekstrak dan fraksi senggugu di dalam microplate-96-well.
2. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 20 jam, kemudian diukur absorbansinya pada 625 nm. Data nilai absorbansi dimasukkan ke dalam rumus untuk mencari % penghambatan yang diolah dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100 \quad (5)$$

Nilai IC<sub>50</sub> dihitung pada saat nilai % peredaman sebesar 50% dengan menggunakan persamaan  $y = ax + b$ , sehingga:



$$IC\ 50 = \frac{50-b}{a} \quad (6)$$

Keterangan:

y = Absorbansi sampel(50)

a = Titik potong kurva pada sumbu y (Intercep)

b = Kemiringan kurva (Slope)

x = Konsentrasi sampel (IC50)

$$\text{Potensi relatif sampel} = \frac{\text{Nilai IC 50 gentamisin}}{\text{Nilai IC 50 sampel}} \quad (7)$$

## E. Analisis Data

*Response Surface Methodology* (RSM) adalah suatu metode statistik untuk perancangan percobaan, pemodelan matematik, optimasi dan analisis statistik dalam penelitian. Eksperimen tahap ini didesain setelah wilayah rentang optimum tahap sebelumnya diketahui dengan hasil respon tertinggi. Model permukaan respon tahap ini digunakan rancangan *Box-Behnken Design* (BBD).

Setiap level variabel bebas pada BBD dibuat kode yaitu titik sudut yaitu (-1) dan (+1), titik pusat (0), dan titik aksial ( $-\alpha$ ) dan ( $+\alpha$ ). Tahap ini dipengaruhi tiga variabel bebas dan satu respon yaitu  $X_1$  = konsentrasi enzim,  $X_2$  = suhu, dan  $X_3$  = waktu hidrolisis, Y = derajat hidrolisis. Adapun Kode dan Tak Kode Kombinasi RSM dapat dilihat tabel 2.

Dasar penentuan titik sudut variabel bebas berdasarkan penelitian sebelumnya (Prandi, B., *et al.*, 2024) yang telah melakukan hidrolisis protein menggunakan enzim protease *Bacillus licheniformis* yakni batas titik sudut bawah variabel konsentrasi enzim yaitu 0,5% dan batas titik sudut atas konsentrasi enzim yaitu 1,5%. Batas titik sudut bawah variabel suhu yaitu 55 °C dan batas titik sudut atas konsentrasi enzim yaitu 65 °C. Batas titik sudut bawah variabel waktu yaitu 2 jam dan batas titik sudut atas konsentrasi enzim yaitu 4 jam.



Tabel 2. Kode dan Tak Kode Kombinasi RSM

Faktor	Kode		
	-1	0	1
	Tak Kode		
X1	0,50%	1,25%	1,50%
X2	55 °C	60 °C	65 °C
X3	2 Jam	3 Jam	4 Jam

Pengolahan data menggunakan Design Expert 13 sehingga didapatkan kondisi optimum hidrolisat protein. Kondisi optimum tersebut digunakan sebagai keadaan hidrolisat protein kedelai dari ampas kedelai untuk mendapatkan hidrolisat protein kedelai pada keadaan derajat hidrolisis optimum, aktivitas antioksidan optimum, dan aktivitas antibakteri optimum. Hidrolisat protein kedelai tersebut kemudian dilakukan pengujian aktivitas antioksidan metode FRAP & ABTS, ujiaktivitas antibakteri, dan pengujian lain yang meliputi Uji rendemen. Tabel 3 Desain penelitian BBD.

Tabel 3. Desain penelitian BBD

Run	Konsentrasi Enzim (%)	Suhu (°C)	Waktu (Jam)
1	1.5	60	4
2	1.5	65	3
3	1	60	3
4	1	65	4
5	0.5	65	3
6	0.5	60	4
7	1	55	4
8	0.5	60	2
9	1	55	2
10	1	65	2
11	1	60	3
12	1	60	3
13	0.5	55	3
14	1.5	60	2
15	1.5	55	3



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian

##### 1. Analisis Determinasi

Ampas kedelai yang diperoleh dari Pasar Minggu, Jakarta Selatan yang dilakukan analisis determinasi dengan tujuan untuk memastikan keakuratan spesies kedelai yang dipakai. Analisis determinasi pada penelitian ini diuji di Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia. Hasil determinasi kedelai dapat dilihat pada Lampiran 1 yang menunjukkan bahwa kedelai memiliki nama latin *Glycine max L.*

##### 2. Analisis Organoleptik

Analisis organoleptik adalah suatu metode pengujian yang menggunakan indra manusia untuk mengevaluasi sifat-sifat sensoris suatu produk, termasuk dalam produk tepung, isolate protein kedelai, dan hidrolisat protein kedelai (Djonu, A., 2022). Uji ini melibatkan penilaian berdasarkan penampilan produk (bentuk), bau, warna, dan rasa. Hasil analisis organoleptik dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Analisis Organoleptik

Tepung	
Bentuk	serbuk kasar
Bau	khas kedelai
Warna	putih gading
Rasa	khas kedelai
Isolat Protein	
Bentuk	serbuk kasar
Bau	khas kedelai
Warna	putih
Rasa	Tidak berasa



Hidrolisat Protein	
Bentuk	lembaran halus
Bau	khas glutamate
Warna	putih tulang
Rasa	Umami

### 3. Analisis Rendemen

Analisis rendemen pada tepung kedelai, isolat protein kedelai, dan hidrolisat protein kedelai adalah metode untuk mengukur efisiensi ekstraksi dan pengolahan dari masing-masing produk tersebut (Prasetyo, *et al.*, 2020). Analisis rendemen memberikan wawasan penting mengenai efisiensi dan kualitas produk yang dihasilkan dari pengolahan kedelai. Hasil analisis rendemen dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil Analisis Rendemen

Nama sampel	Bobot awal (g)	Bobot akhir (g)	Rendemen (%)
Tepung	523,8	346,2	66,09
Isolat protein	346,2	117,9116	34,0588
Hidrolisat protein	0,26	2,5301	10,3871

### 4. Analisis Proksimat pada Isolat Protein Kedelai

Analisis proksimat isolat protein kedelai bertujuan untuk menentukan komposisi kimia dari produk tersebut, yang mencakup kadar protein, lemak, karbohidrat, air, dan abu. Analisis proksimat memberikan informasi penting mengenai nilai gizi dan potensi isolat protein kedelai yang digunakan dalam penelitian ini. Dalam penelitian ini mengacu berdasarkan persyaratan Codex standard 175-1989 mengenai produk protein kedelai (Kristiningrum, E., *et al.*, 2021). Hasil analisis proksimat isolat protein kedelai dapat dilihat pada tabel 6.

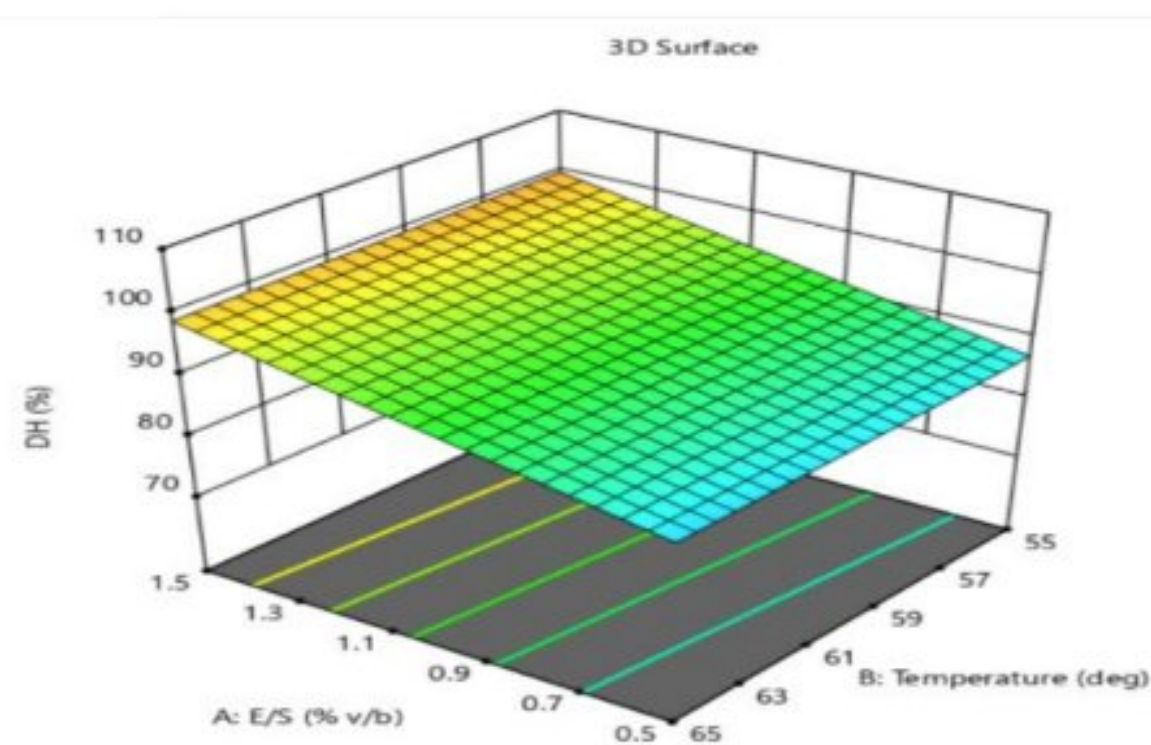


Tabel 6. Hasil Analisis Proksimat

No	Parameter uji	Replikasi	Nilai kadar (%)	Rata - rata (%)	Standar Deviasi
1.	kadar air	I	6,29	6,235	0,0777
		II	6,18		
2.	Kadar protein	I	84,2291	83,75054	0,7406
		II	83,1817		
3.	Kadar lemak	I	5,36	5,35	0,0141
		II	5,34		
4.	Kadar abu	I	4,51	4,56	0,0919
		II	4,64		
5.	Kadar karbohidrat (by difference)			0,1346	
6.	Serat kasar	I	14,36	14,835	0,6717
		II	15,31		
		II	15,31		

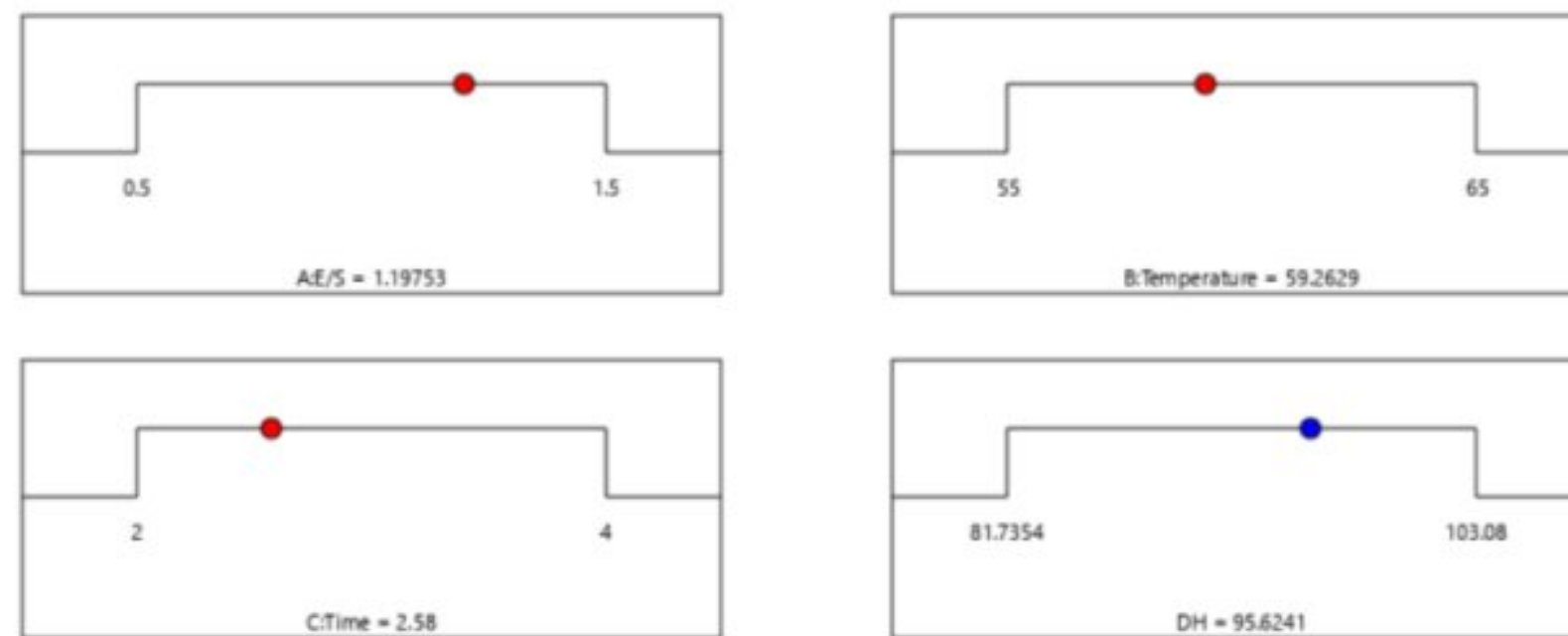
## 5. Optimasi Hidrolisat Protein Kedelai

Optimasi hidrolisis protein kedelai bertujuan untuk menghasilkan produk dengan kualitas dan fungsionalitas yang sesuai dengan kebutuhan, sehingga dapat memberikan manfaat. Optimasi dilakukan menggunakan aplikasi *Design Expert* 13 dengan metode Response Surface Methodology (RSM) dan dengan design yaitu *Box Behnken Design* (BBD). Adapun Grafik permukaan respons untuk tingkat hidrolisis pada penelitian ini dapat dilihat pada gambar 2 dan Optimasi solusi terpilih oleh *design expert* pada gambar 3.



Gambar 2. Grafik Permukaan Respons Untuk Tingkat Hidrolisis





Gambar 3. Optimasi Solusi Terpilih oleh Design Expert

Proses optimasi pada hidrolisat protein kedelai bertujuan untuk menemukan kondisi reaksi yang menghasilkan nilai Derajat Hidrolisis (DH) terbaik. DH merupakan indikator seberapa banyak ikatan peptida dalam protein telah terhidrolisis menjadi peptida yang lebih kecil atau asam amino. Dengan mengoptimalkan kondisi seperti jenis enzim, konsentrasi enzim, waktu inkubasi, dan suhu dapat mengontrol tingkat hidrolisis dan menghasilkan hidrolisat dengan sifat fungsional yang diinginkan. Formulasi yang diperoleh dari proses optimasi dapat dilihat pada tabel 7 dan tabel 8 Nilai derajat hidrolisis yang terpilih.

Tabel 7. Formulasi yang diperoleh dari proses optimasi

Type	E/S (% v/b)	Temperature (°C)	Time (Hour)	DH (%)
Predicted	1.19753	59.2629	2.58	95.6241
Experimental	1.2	59	2.6	92.9319

Tabel 8. Nilai Derajat Hidrolisis pada Hidrolisat Protein Kedelai Terpilih

Nilai ABS	ABS bersih	Konsentrasi	Derajat Hidrolisis (%)
0,6658	0,4526	14,74336283	93,7007874



Konfirmasi uji two-side yang dilakukan setelah optimasi menggunakan aplikasi Design-Expert dengan metode RSM dan desain BBD, kemudian dikonfirmasi ulang dengan uji T, merupakan langkah penting untuk memvalidasi hasil optimasi. Setelah mendapatkan kondisi optimal dari percobaan RSM, uji two-side digunakan untuk menguji apakah nilai respon pada kondisi optimal tersebut secara signifikan berbeda dari nilai respon pada kondisi lain. Uji T kemudian dilakukan sebagai konfirmasi lebih lanjut, terutama untuk membandingkan nilai respon pada kondisi optimal yang telah diperoleh dengan nilai respon rata-rata atau nilai respon pada kondisi kontrol. Tujuan akhir dari rangkaian uji ini adalah untuk memastikan bahwa kondisi optimal yang diperoleh benar-benar memberikan hasil yang lebih baik secara statistik dan dapat diandalkan. Adapun hasil konfirmasi menggunakan uji *two side* dan Uji T dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. konfirmasi menggunakan uji *two side* dan Uji T

Uji Two Side		Uji T	
Analysis	DH	Mean	-2,69203
Predicted Mean	95,6241	Std. deviation	1,09575
Predicted Median	95,6241	Std. error mean	0,63263
Std Dev	546.755	Lower (95% interval)	- 5,41403
N	1	Upper (95%interval)	0,02969
SE Pred	5,77236	T	-4,255
95% PI Low	82,9192	Df	2
Dara Mean	929.319	Sig (2-tailed)	0,051
95% PI High	108,329		



## 6. Analisis protein Hidrolisat Protein Kedelai

Pada penelitian ini, dilakukan analisis kadar protein hidrolisat protein kedelai dengan menggunakan metode bradford untuk mengukur konsentrasi total protein dalam suatu larutan. Analisis kadar protein pada hidrolisat protein kedelai sangat diperlukan untuk mengetahui seberapa banyak kadar protein utuh yang berkurang selama proses hidrolisis dari isolat protein kedelai. Hasil analisis kadar protein pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 10 dan perhitungan kadar protein pada hidrolisat protein kedelai dapat dilihat pada lampiran 5.

Tabel 10. Kadar Protein Hidrolisat Protein Kedelai

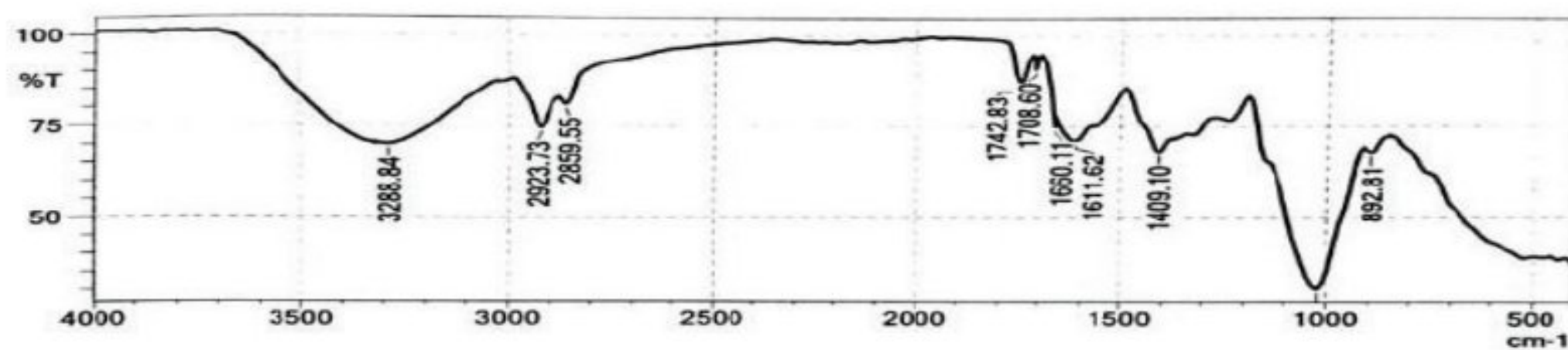
Analisis Protein	Kadar (%)
Hidrolosat Protein I	57,9888
Hidrolisat Protein II	58,1436
Rata-rata	58,0662

## 7. Analisis FTIR

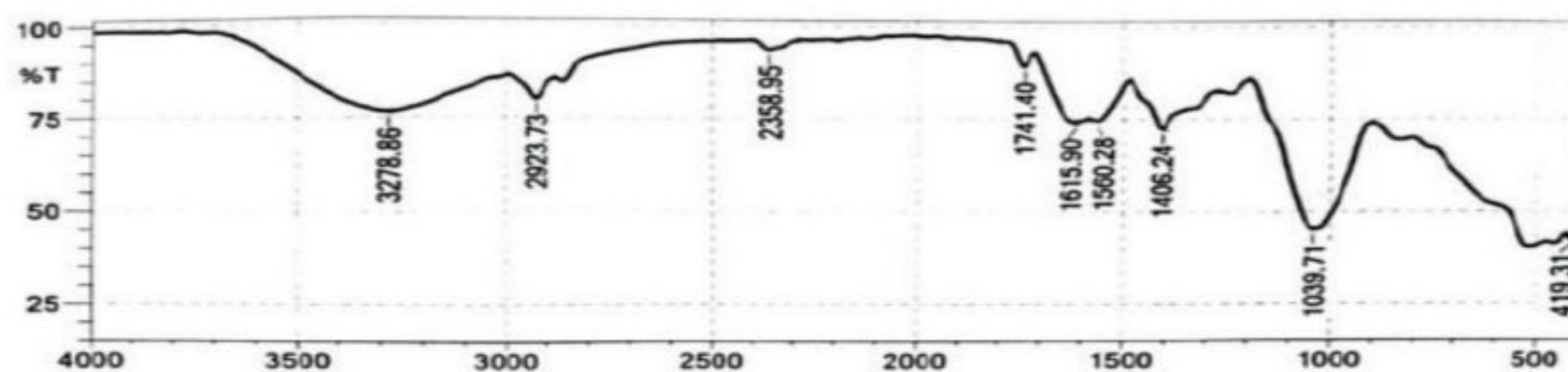
Pada penelitian ini analisis kualitatif FTIR diperlukan pada hidrolisat protein kedelai dan isolat protein kedelai dengan mengukur interaksi antara radiasi inframerah dengan molekul sampel. Setiap jenis ikatan kimia dalam molekul akan menyerap radiasi inframerah pada frekuensi tertentu dan dapat mengidentifikasi gugus fungsi yang ada dalam sampel dan mendapatkan informasi mengenai struktur molekulnya (Alarape *et al.*, 2024). Bilangan gelombang hidrolisat protein kedelai dan isolat protein kedelai dapat dilihat pada gambar 4 dan posisi puncak FTIR hidrolisat protein kedelai dan isolat protein kedelai pada tabel 11.



#### Soy Protein Hydrolysate



#### Isolate Soy Protein



Gambar 4. Bilangan Gelombang Hidrolisat Protein Kedelai Dan Isolat Protein Kedelai

Tabel 11. Posisi Puncak FTIR Hidrolisat Protein kedelai dan Isolat protein kedelai

Gugus fungsi		Bilangan gelombang teori (cm-1)	Bilangan Gelombang Teori (cm-1)	
			IPK	HPK
Amida A	N-H Streching	3600-3000	3288,84	3278,86
Amida B	Asimetrical Stretch of CH <sub>2</sub>	2935-2915	2923,73	2923,73
Amida I	C=O Stretching	1900-1600	1742,83	1741,40
Amida II	N-H Bending	1650-1500	1611,12	1615,90

## 8. Analisis Asam Amino

Pada penelitian ini, analisis asam amino diperlukan pada hidrolisat protein kedelai dan isolat protein kedelai untuk mengetahui nilai asam amino esensial dan juga untuk mengetahui seberapa banyak kualitas asam amino yang diperoleh dari



protein utuh. Analisis asam amino memungkinkan untuk mengetahui apakah hidrolisat protein kedelai menyediakan semua asam amino esensial yang dibutuhkan tubuh dalam jumlah yang cukup, analisis ini membantu untuk mengevaluasi apakah rasio antara berbagai jenis asam amino dalam hidrolisat sudah optimal. Pada analisis ini juga bertujuan untuk membandingkan profil asam amino sebelum dan sesudah dihidrolisis untuk melihat perubahan yang terjadi. Selain itu, analisis ini dilakukan untuk mengevaluasi ketersediaan hayati asam amino pada hidrolisat protein kedelai dari limbah ampas kedelai. Hasil analisis asam amino dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 12. Hasil Analisis Asam Amino

		<i>Quantity (mg/kg)</i>		
		<i>Hydrolysate Soy Protein</i>	<i>Reference Protein**</i>	<i>Isolate Soy Protein</i>
<i>Essential amino acids</i>		<u>57968</u>	-	67917
<i>Histidine</i>		<i>Not Detected</i>	16000	<i>Not Detected</i>
<i>Isoleucine</i>		114.58	13000	120.31
<i>Leucine</i>		27.25	19000	56.27
<i>Lysine</i>		1171.51	16000	1532.92
<i>Methionine</i>		361.70	17000	349.30
<i>Phenylalanine</i>		36.03	-	42.26
<i>Threonine</i>		18.71	9000	12.71
<i>Valine</i>		<i>Not Detected</i>	13000	<i>Not Detected</i>
		<i>Quantity (mg/kg)</i>		
		<i>Hydrolysate Soy Protein</i>	<i>Isolate Soy Protein</i>	
<i>Nonessential amino acids</i>		944226	932082,99	
<i>Aspartic acid</i>		100.13	112.13	
<i>Glutamic Acid</i>		36.98	33.42	
<i>Serine</i>		26.40	18.69	
<i>Glycine</i>		33.15	26.23	
<i>Proline</i>		<i>Not Detected</i>	<i>Not Detected</i>	
<i>Cysteine</i>		<i>Not Detected</i>	<i>Not Detected</i>	
<i>Alanine</i>		103.27	97.70	
<i>Tyrosine</i>		28984.16	28720.81	
<i>Arginine</i>		<i>Not Detected</i>	<i>Not Detected</i>	



## 9. Aktivitas Antioksidan Metode ABTS

Pada penelitian ini, dilakukan analisis antioksidan metode ABTS yang menggunakan baku pembanding Trolox. Trolox adalah bentuk yang larut dalam air dari vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol). Yang relatif stabil dalam larutan dan tidak mudah teroksidasi. Stabilitas ini memungkinkan pembuatan kurva standar yang akurat dan reproduibel. Hasil analisis aktivitas antioksidan metode ABTS pada baku pembanding Trolox dapat dilihat pada tabel 13 dan 14.

Tabel 13. Nilai Y dan  $R^2$  Aktivitas Antioksidan ABTS pada Trolox

Replikasi	Y	$R^2$
I	3,687x-20,211	0,9909
II	3,8585x-20,087	0,9906
III	3,8572x-20,046	0,9904

Tabel 14. Aktivitas Antioksidan ABTS pada Trolox

Konsentrasi (PPM)	Replikasi	Abs	% Inhibisi	IC50	Rata-rata IC 50	SD IC 50
Blanko		0,7858				
9	I	0,6815	13,2731			
11	I	0,601	23,5174			
13	I	0,5393	31,3693	18,1485		
15	I	0,4946	37,0577			
17	I	0,4307	45,1896			
9	II	0,6814	13,28582			
11	II	0,6006	23,56834			
13	II	0,5395	31,34385	18,1643	18,15743	0,0081
15	II	0,4948	37,03232			
17	II	0,4311	45,13871			
9	III	0,6813	13,29855			
11	III	0,6001	23,63197			
13	III	0,5394	31,35658	18,1595		
15	III	0,4947	37,04505			
17	III	0,4309	45,16416			



Metode ABTS dapat memberikan gambaran umum tentang kemampuan senyawa dalam menetralkan radikal bebas. Pada penelitian ini, dilakukan analisis antioksidan metode ABTS agar dapat mengetahui aktivitas antioksidan hidrolisat protein kedelai dalam menangkap radikal bebas pada ABTS. Hasil analisis aktivitas Antioksidan metode ABTS pada hidrolisat Protein Kedelai dapat dilihat pada tabel 15 dan 16.

Tabel 15. Nilai Y dan R<sup>2</sup> Aktivitas Antioksidan ABTS pada hidrolisat Protein Kedelai

Replikasi	Y	R <sup>2</sup>
I	1,0827x-34,464	0,998
II	1,0835x-34,464	0,998
III	1,0822x-34,37	0,9977

Tabel 16. Aktivitas antioksidan pada hidrolisat protein kedelai

Konsentrasi (PPM)	Replikasi	Abs	% Inhibisi	IC50	Rata-rata IC 50	SD IC 50
Blanko		0,7858				
40	I	0,7189	8,513617			
45	I	0,6689	14,87656			
50	I	0,6324	19,52151	78		
55	I	0,5905	24,85365			
60	I	0,5454	30,59303			
40	II	0,7187	8,539068			
45	II	0,6686	14,91474			
50	II	0,632	19,57241	77,9547	77,9721	0,024429
55	II	0,5903	24,8791			
60	II	0,545	30,64393			
40	III	0,7185	8,56452			
45	III	0,668	14,99109			
50	III	0,6319	19,58514			
55	III	0,5902	24,89183			
60	III	0,5448	30,66938	77,9615		

Pada penelitian ini juga dilakukan analisis antioksidan pada isolat protein kedelai agar dapat membandingkan hasil tersebut dengan aktivitas antioksidan



hidrolisat protein kedelai. Dengan membandingkan aktivitas antioksidan isolat protein kedelai dan hidrolisat protein kedelai, maka dapat mengetahui apakah proses hidrolisis meningkatkan atau menurunkan kapasitas antioksidan. Hasil analisis aktivitas Antioksidan metode ABTS pada Isolat Protein Kedelai dapat dilihat pada tabel 17 dan 18.

Tabel 17. Nilai Y dan R<sup>2</sup> Aktivitas Antioksidan ABTS pada Isolat Protein Kedelai

Replikasi	Y	R <sup>2</sup>
I	0,0601x+17,637	0,9991
II	0,0606x+17,568	0,9991
III	0,0615x+17,548	0,9982

Tabel 18. Aktivitas antioksidan ABTS pada isolat protein kedelai

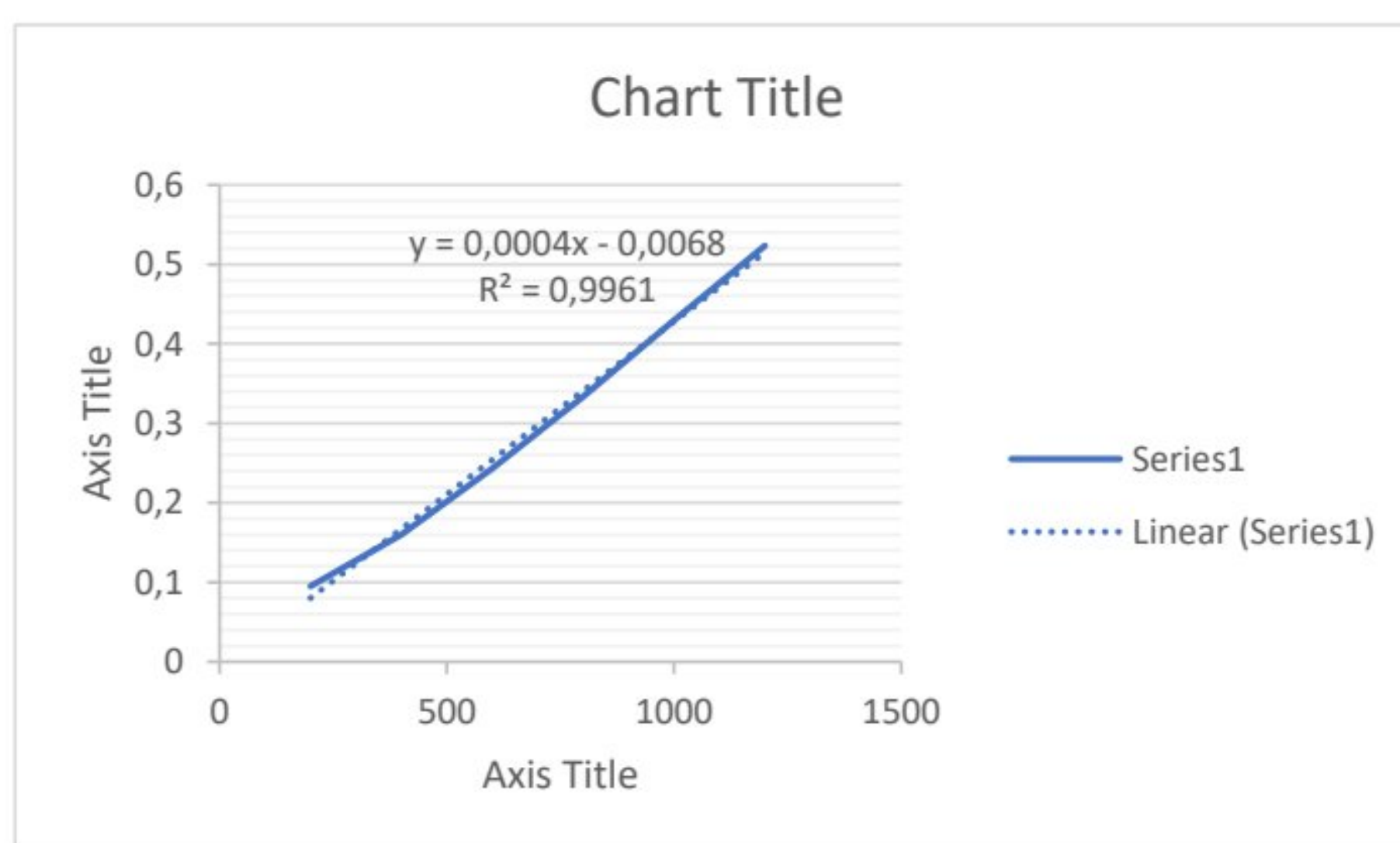
Konsentrasi (PPM)	Replikasi	Abs	% Inhibisi	IC50	Rata-rata IC 50	SD IC 50
Blanko		0,7858				
60	I	0,6183	21,31586			
80	I	0,61	22,3721			
100	I	0,6002	23,61924	538,4858		
120	I	0,5905	24,85365			
140	I	0,5808	26,08806			
60	II	0,6186	21,27768			
80	II	0,6102	22,34665			
100	II	0,6004	23,59379	538,2059	534,7795	6,17775
120	II	0,5905	24,85365			
140	II	0,5808	26,08806			
60	III	0,6181	21,34131			
80	III	0,6099	22,38483			
100	III	0,6001	23,63197			
120	III	0,59	24,91728			
140	III	0,5797	26,22805	527,6749		

## 10. Aktivitas Antioksidan Metode FRAP

Metode FRAP didasarkan pada kemampuan antioksidan untuk mereduksi ion feri (Fe<sup>3+</sup>) menjadi ion ferro (Fe<sup>2+</sup>). Analisis antioksidan metode FRAP pada hdirolisat protein kedelai dan isolat protein kedelai menggunakan deret standar baku



pembanding ammonium ferrous sulfat. Baku pembanding yang ideal harus memiliki struktur kimia yang mirip dengan senyawa yang akan dianalisis. Ammonium ferrous sulfat mewakili bentuk tereduksi dari ion feri, yang merupakan produk akhir dari reaksi dalam metode FRAP (Munteanu, I. G., & Apetrei, C, 2021). Grafik fungsi linier aktivitas antioksidan metode FRAP dapat dilihat pada gambar 5 dan nilai absorbansi larutan deret standar Ammonium Ferrous Sulfat dapat dilihat pada tabel 19.



Gambar 5. Grafik fungsi linier aktivitas antioksidan metode FRAP

Tabel 19. Absorbansi larutan deret standar Ammonium Ferrous Sulfat

Konsentrasi	Replikasi	Absorbansi	ABS Rata-rata	Absorbansi bersih
Kontrol	I	0,1056	0,1056	-
	II	0,1056		
200 $\mu\text{m}$	I	0,2005	0,2006	0,095
	II	0,2007		
400 $\mu\text{m}$	I	0,2652	0,2654	0,1598
	II	0,2656		
600 $\mu\text{m}$	I	0,3488	0,3489	0,2433
	II	0,349		
800 $\mu\text{m}$	I	0,4395	0,4396	0,334
	II	0,4397		
1000 $\mu\text{m}$	I	0,5352	0,5354	0,4298
	II	0,5356		
1200 $\mu\text{m}$	I	0,6286	0,6291	0,5235
	II	0,6296		



FeEAC atau *Ferric Iron Equivalent Antioxidant Capacity* merupakan satuan yang digunakan untuk menyatakan hasil pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). FeEAC menunjukkan seberapa banyak jumlah besi tiga (dalam bentuk mol) yang dapat direduksi oleh antioksidan dalam sampel, dinyatakan dalam satuan mol Fe<sup>2+</sup>/gram sampel (Munteanu, I. G., & Apetrei, C, 2021). Hasil analisis antioksidan hidrolisat protein kedelai dan isolat protein kedelai metode FRAP dapat dilihat pada tabel 20.

$$\text{FeEAC} = \frac{\Delta A}{\text{GRAD}} \times \frac{AV}{\text{SPV}} \times D \times \frac{1}{C_{\text{ext}}} \times 10^5$$

$$\text{FeEAC} = \frac{\Delta A}{0,0004} \times \frac{300}{30} \times 2 \times \frac{1}{1} \times 10^5$$

$$\text{FeEAC} = \Delta A \times 5 \times 10^9$$

Tabel 20. Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan Metode FRAP

Sampel	Replikasi	Abs	Abs bersih	Mol/g	Rata-Rata	SD
BHT	I	0,731	0,477	2385,5	2395	10
	II	0,735	0,481	2405		
	III	0,733	0,479	2395		
Isolat	I	0,2467	0,1411	705,5	705,33333	0,288675
	II	0,2467	0,1411	705,5		
	III	0,2466	0,141	705		
Hidrolisat	I	0,2677	0,1621	810,5	811,5	1
	II	0,2679	0,1623	811,5		
	III	0,2681	0,1625	812,5		

## 11. Antibakteri Metode Mikrodilusi IC 50

Dalam penelitian ini, analisis antibakteri metode mikrodilusi ic 50 menggunakan kontrol positif yaitu gentamisin. Gentamisin merupakan sebuah antibiotik spektrum luas, digunakan sebagai kontrol positif. Gentamisin merupakan antibiotik digunakan untuk mengobati infeksi kulit yang salah satunya disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* yang bekerja dengan cara membunuh bakteri penyebab infeksi kulit, sehingga mempercepat proses penyembuhan luka dan mencegah penyebaran infeksi (Hemmati, F., et al., 2020). Adapun aktivitas



gentamisin sebagai kontrol positif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada tabel 21 dan tabel 22.

Tabel 21. perhitungan IC 50 gentamisin terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Penghambatan (%)	IC 50 ( $\mu\text{g/ml}$ )
8	92,3500	2,29
4	69,0200	
2	50,9400	
1	48,1600	
0,5	36,7600	
0,05	17,4700	

Tabel 22. hasil regresi linear IC 50 gentamisin terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

A	B	R	x (IC50)
31,2	8,1993	0,9002	2,29

Hidrolisat protein kedelai pada penelitian ini diharapkan sebagai *drug delivery system* untuk mengatasi infeksi kulit dengan dilakukan analisis antibakteri metode mikrodilusi ic 50 menggunakan kontrol positif gentamisin dan bakteri yang menginfeksi kulit yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomona aeruginosa*. Adapun aktivitas antibakteri hidrolisat protein kedelai terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode mikrodilusi IC0 dapat dilihat pada tabel 23 dan tabel 24.

Tabel 23. perhitungan IC 50 hidrolisat protein kedelai terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Penghambatan (%)	IC 50 ( $\mu\text{g/ml}$ )
2048	81,41	557,31
1024	58,84	
512	50,26	
256	47,5	
128	44,34	
64	32,33	



Tabel 24. hasil regresi linear IC 50 hidrolisat protein kedelai terhadap Bakteri

*Staphylococcus aureus*

A	B	R	x (IC50)
38,185	0,0212	0,9408	557,31

$$\text{Potensi relatif hidrolisat protein kedelai} = \frac{2,29}{557,31} = 0,0041$$

Metode mikrodilusi IC50 menggunakan alat instrument ELISA reader merupakan teknik yang sensitif untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (MIC) dari suatu senyawa. Uji mikrodilusi IC50 bertujuan untuk menentukan konsentrasi terendah suatu senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri sebesar 50%. Dengan mengetahui nilai IC50 pada penelitian ini, maka dapat mengevaluasi potensi suatu senyawa sebagai agen antibakteri dan membandingkannya dengan kontrol positif. Metode ini sangat berguna dalam pengembangan obat-obatan baru, termasuk pada produk hidrolisat protein kedelai dan isolat protein kedelai (Gentili, V., *et al*, 2024). Adapun hasil analisis aktivitas antibakteri isolat protein kedelai pada bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada tabel 25 dan 26.

Tabel 25. perhitungan IC 50 isolat protein kedelai terhadap Bakteri

*Staphylococcus aureus*

Konsentrasi (µg/ml)	Penghambatan (%)	IC 50 (µg/ml)
4096	65,21	797,02
2048	55,83	
1024	51,13	
512	49,35	
256	48,78	
128	46,35	
64	45,07	



Tabel 26. hasil regresi linear IC 50 isolat protein kedelai terhadap Bakteri

*Staphylococcus aureus*

A	B	R	x (IC50)
46,254	0,0047	0,9834	797,02

$$\text{Potensi relatif isolat protein kedelai} = \frac{2,29}{797,02} = 0,00287$$

Gentamisin merupakan sebuah antibiotik aminoglikosida yang dipilih sebagai kontrol positif dalam penelitian ini yang melibatkan infeksi kulit yang menyebabkan folikulitis yaitu *Staphylococcus aureus*. Gentamisin sebagai kontrol positif yang sangat efektif dalam melawan infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Gentamisin bekerja dengan menghambat sintesis protein bakteri, sehingga bakteri tidak dapat bereproduksi dan mati (Hemmati, F., *et al.*, 2020). Adapun hasil analisis aktivitas antibakteri pada gentamisin terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat dilihat pada tabel 27 dan tabel 28.

Tabel 27. perhitungan IC 50 gentamisin terhadap Bakteri *Pseudomonas*

*aeruginosa*

Konsentrasi (µg/ml)	Penghambatan (%)	IC 50 (µg/ml)
15	99,35	
8	84,32	
4	54,36	
2	46,7	3,74
1	34,11	
0,5	31,41	
0,05	21,92	



Tabel 28. Hasil regresi linear IC 50 gentamisin terhadap Bakteri *Pseudomonas*

*aeruginosa*

a	B	R	x (IC50)
30,909	5,1	0,9279	3,74

Metode mikrodilusi IC50 sangat sensitif dalam mendeteksi aktivitas antibakteri yang dimiliki oleh komponen-komponen bioaktif dalam hidrolisat protein kedelai, bahkan pada konsentrasi yang sangat rendah (Gentili, V., *et al.*, 2024). Adapun aktivitas antibakteri hidrolisat protein kedelai terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat dilihat pada tabel 29 dan tabel 30.

Tabel 29. Perhitungan IC 50 hidrolisat protein kedelai terhadap Bakteri

*Pseudomonas aeruginosa*

Konsentrasi (µg/ml)	Penghambatan (%)	IC 50 (µg/ml)
2048	97,87	742,21
1024	84,05	
512	36,89	
256	22,59	
128	20,91	
64	19,23	

$$\text{Potensi relatif hidrolisat protein} = \frac{3,74}{742,21} = 0,0050$$

Tabel 30. Hasil regresi linear IC 50 hidrolisat protein kedelai terhadap Bakteri

*Pseudomonas aeruginosa*

A	B	R	x (IC50)
17,565	0,00437	0,9001	742,21



Metode mikrodilusi IC50 sangat sensitif dalam mendeteksi aktivitas antibakteri yang dimiliki oleh komponen-komponen bioaktif dalam hidrolisat protein kedelai, bahkan pada konsentrasi yang sangat rendah (Gentili, V., *et al.*, 2024). Adapun aktivitas antibakteri isolat protein kedelai terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat dilihat pada tabel 31 dan tabel 32.

Tabel 31. perhitungan IC 50 isolat protein kedelai terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Konsentrasi (µg/ml)	Penghambatan (%)	IC 50 (µg/ml)
10000	88,79	5264,53
8192	75,15	
4096	24,96	
2048	22,15	
1024	21,768	
512	21,4251	
256	16,61	
128	12,39	
64	7,81	

Tabel 32. Hasil regresi linear IC 50 isolat protein kedelai terhadap Bakteri

*Pseudomonas aeruginosa*

A	B	r	x (IC50)
10,516	0,0075	0,9413	5264,53

$$\text{Potensi relatif isolat protein kedelai} = \frac{3,74}{5264,53} = 0,00071$$

## B. Pembahasan

### 1. Analisis Determinasi

Hasil uji determinasi dapat memberikan informasi penting mengenai karakteristik fisik dan kimia biji kedelai, seperti ukuran, kadar air, dan kandungan minyak. Informasi ini berguna untuk menentukan metode ekstraksi protein yang paling efisien dan efektif. Pada penelitian Rahate *et al.* (2021) dikatakan bahwa uji



determinasi juga dapat membantu mengidentifikasi adanya kontaminan atau senyawa anti-nutrisi yang perlu dihilangkan selama proses produksi.

Uji determinasi juga dapat membantu mengidentifikasi varietas dengan karakteristik unik yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi produk baru. Seperti pada penelitian Ashaolu, T. J. (2020) dikatakan bahwa varietas kedelai dengan kandungan asam amino esensial yang tinggi dapat digunakan untuk menghasilkan hidrolisat protein kedelai sebagai suplemen nutrisi. Uji determinasi kedelai merupakan langkah awal yang sangat penting dalam penelitian farmasi yang berkaitan dengan pengembangan hidrolisat protein kedelai.

## **2. Analisis Organoleptik**

Pada Tepung ampas kedelai merupakan hasil sampingan pembuatan tahu yang masih mengandung serat, lemak, dan karbohidrat selain protein. Rasa tepung ampas kedelai cenderung lebih netral atau sedikit berserat. Aroma yang dihasilkan cenderung khas kedelai (Fadillah, I., *et al.*, 2023).

Pada isolat protein kedelai dihasilkan melalui proses ekstraksi dan pemurnian protein dari ampas kedelai. Oleh karena itu, isolat protein kedelai memiliki kandungan protein yang sangat tinggi dan relatif sedikit mengandung komponen lain seperti lemak dan karbohidrat. Rasanya cenderung lebih netral dibandingkan tepung ampas kedelai, namun bisa sedikit pahit atau astringent jika proses isolasi tidak dilakukan dengan baik (Yan, G., *et al.*, 2022).

Pada hidrolisat protein kedelai dihasilkan melalui proses hidrolisis protein kedelai menggunakan enzim. Proses hidrolisis ini memecah protein menjadi peptida dan asam amino yang lebih pendek, sehingga menghasilkan rasa yang unik dan khas, yaitu umami. Rasa umami ini berasal dari asam amino bebas seperti



glutamat, aspartat, dan inosinat yang dihasilkan selama proses hidrolisis. Aroma hidrolisat protein kedelai juga cenderung lebih wangi dan khas karena adanya senyawa volatil yang terbentuk selama proses hidrolisis (Wang, Y. M., *et al.*, 2024).

Rasa umami pada hidrolisat protein kedelai terutama disebabkan oleh keberadaan asam amino bebas, khususnya glutamat. Asam glutamat merupakan salah satu dari lima rasa dasar manusia selain manis, asam, asin, dan pahit. Glutamat memberikan rasa gurih yang khas dan sering dikaitkan dengan rasa daging. Selain glutamat, asam amino bebas lainnya seperti aspartat dan inosinat juga berkontribusi pada intensifikasi rasa umami (Vilgis, T. A., 2023).

Semakin tinggi derajat hidrolisis, semakin banyak asam amino bebas yang terbentuk, sehingga rasa umami yang dihasilkan akan semakin kuat. Selain itu, kondisi proses hidrolisis seperti suhu, pH, dan waktu inkubasi juga dapat mempengaruhi jenis dan jumlah asam amino bebas yang terbentuk, serta intensitas rasa umami yang dihasilkan (An, J., *et al.*, 2024).

### **3. Analisis Rendemen**

Uji rendemen merupakan salah satu parameter penting yang harus diperhatikan dalam setiap proses produksi, termasuk dalam pembuatan tepung kedelai, isolat protein kedelai, dan hidrolisat protein kedelai dari ampas kedelai. Rendemen mengacu pada efisiensi suatu proses, yaitu perbandingan antara jumlah produk yang dihasilkan dengan jumlah bahan baku yang digunakan (Engel, D. C. H., *et al.*, 2024). Hasil analisis rendemen pada penelitian ini dapat dilihat pada diagram 3.



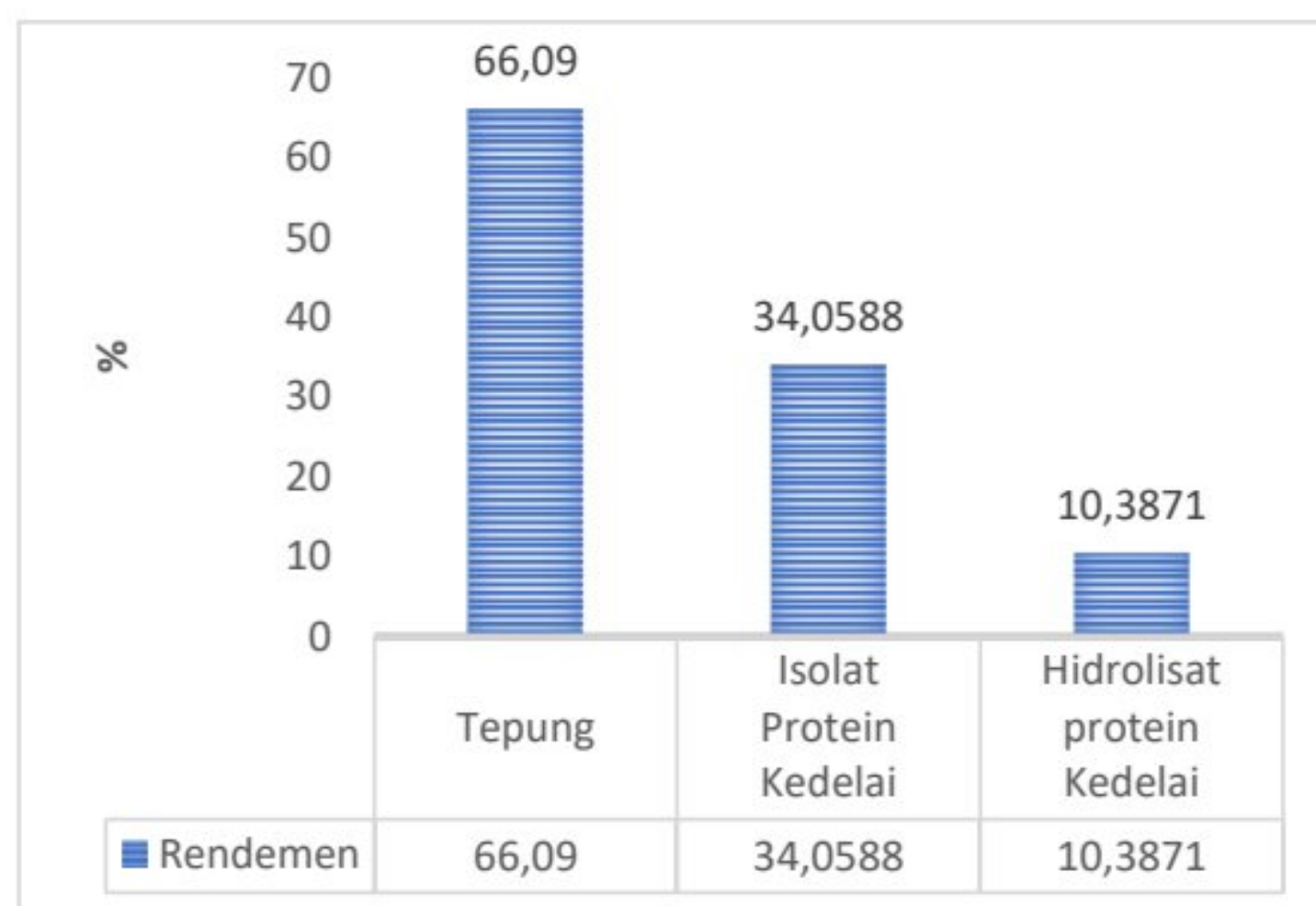


Diagram 3. Hasil Analisis Rendemen

Uji rendemen dipakai untuk mengevaluasi seberapa efisien suatu proses pengolahan. Dengan mengetahui rendemen yang diperoleh, maka dapat melakukan identifikasi langkah-langkah dalam proses yang mungkin kurang efisien dan perlu ditingkatkan. Pada penelitian ini rendemen tertinggi yaitu tepung yaitu 66,09 %, rendemen isolate protein kedelai yaitu 34,0588 %, dan rendemen terendah pada hidrolisat protein kedelai yaitu 10,3781 %. Pada peneltian Senduk, T. W., *et al*, (2020) menjelaskan bahwa semakin tinggi suatu rendemen ekstrak maka menunjukkan kandungan zat tertarik semakin tinggi pula pada suatu bahan baku.

#### 4. Analisis Proksimat pada Isolat Protein Kedelai

Uji proksimat merupakan serangkaian analisis yang bertujuan untuk menentukan komposisi kimia dasar suatu bahan pangan. Dalam konteks isolat protein kedelai, uji proksimat memberikan informasi penting mengenai kandungan nutrisi utama seperti protein, lemak, karbohidrat, abu, dan kadar air. Informasi ini sangat krusial dalam berbagai tahap produksi, mulai dari evaluasi bahan baku hingga pengembangan produk akhir.



Uji proksimat memungkinkan untuk mengevaluasi kualitas isolat protein kedelai yang dihasilkan. Kandungan protein yang tinggi merupakan indikator kualitas isolat protein yang baik. Sebaliknya, kadar lemak, karbohidrat, dan abu yang tinggi dapat mengindikasikan adanya kontaminan atau proses isolasi yang kurang sempurna (Patil, N. D., *et al*, 2024). Hasil penelitian uji proksimat isolat protein kedelai dapat dilihat pada diagram 4.

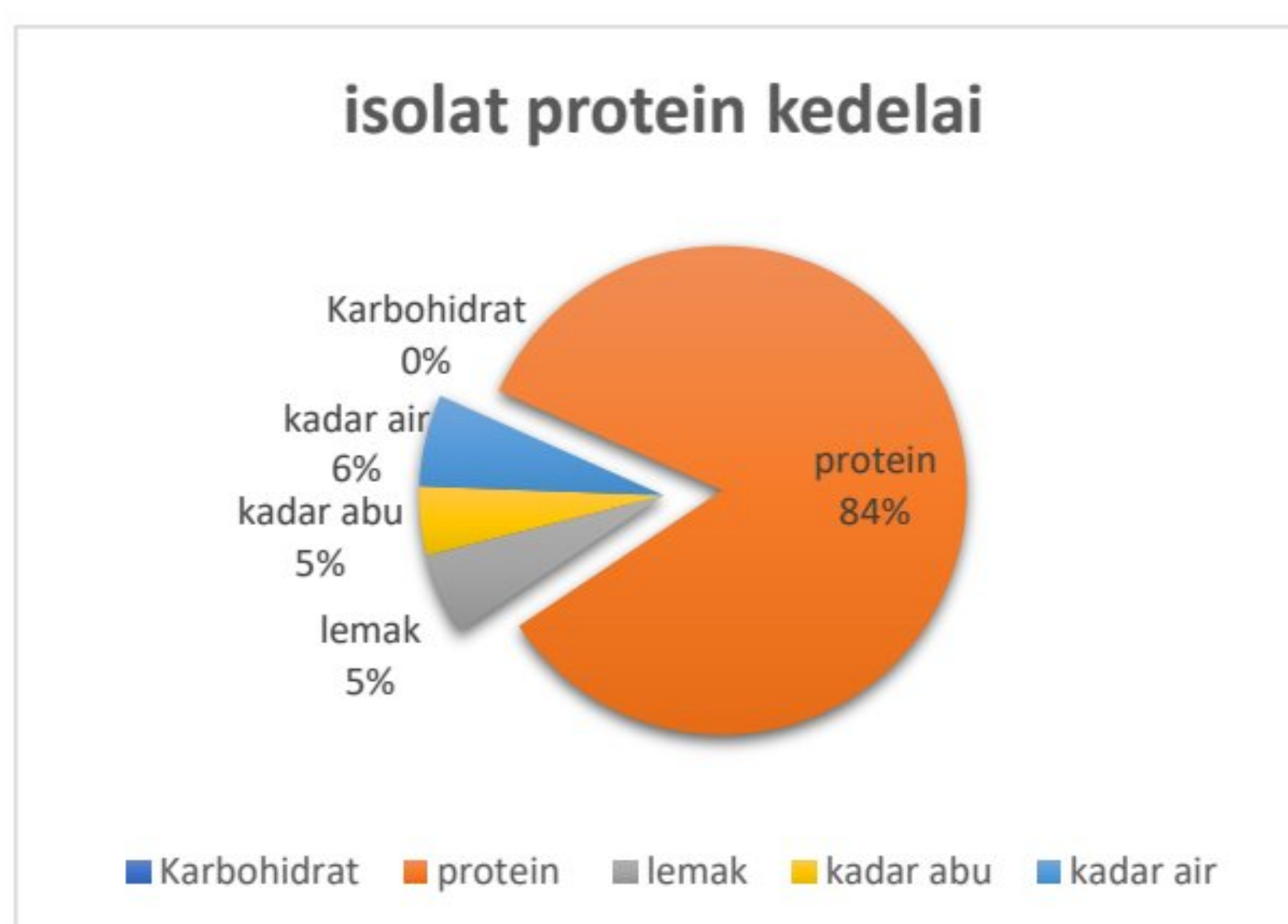


Diagram 4. Hasil Analisis Proksimat Isolat Protein Kedelai

Kadar lemak dan karbohidrat yang rendah yaitu 5,35% dan 0,13% mengurangi terjadinya reaksi samping selama proses hidrolisis. Kadar abu yaitu 4,56% memberikan gambaran tentang kandungan mineral dalam isolat protein kedelai, yang dapat mempengaruhi sifat fungsional hidrolisat yang dihasilkan. Kadar abu memberikan gambaran umum tentang kandungan mineral dalam suatu sampel. Dalam penelitian ini kadar abu, lemak, dan karbohidrat yang diperoleh memenuhi syarat berdasarkan persyaratan Codex standard 175-1989 mengenai produk protein kedelai (Kristiningrum, E., *et al.*, 2021)



## 5. Optimasi Hidrolisat Protein Kedelai

Hidrolisis protein kedelai merupakan proses pemecahan molekul protein yang kompleks menjadi rantai peptida yang lebih pendek atau bahkan asam amino bebas. Proses ini umumnya dilakukan dengan menggunakan enzim protease (Wang, Y. M., *et al.*, 2024)

Proses hidrolisis pada penelitian ini berlangsung secara bertahap. Pada tahap awal, enzim protease (dari bakteri *Bacillus licheniformis*) akan memecah protein menjadi fragmen-fragmen peptida yang lebih besar. Seiring berjalannya waktu, fragmen-fragmen peptida ini akan dipecah lebih lanjut menjadi peptida yang lebih pendek dan akhirnya menjadi asam amino bebas. Tingkat hidrolisis dapat diatur dengan mengendalikan beberapa faktor seperti jenis enzim, konsentrasi enzim, suhu, pH, dan waktu inkubasi (An, J., *et al.*, 2024).

Semakin lama waktu inkubasi dan semakin tinggi konsentrasi enzim, maka derajat hidrolisis akan semakin tinggi pula. Hasil akhir dari proses hidrolisis adalah hidrolisat protein kedelai yang memiliki karakteristik fungsional dan sensori yang unik, tergantung pada derajat hidrolisis yang dicapai. Pada penelitian ini kondisi variabel yang optimum (E/S 1,2%, 59°C, 2,6 jam) berdasarkan metode RSM dengan desain BBD menunjukkan nilai derajat hidrolisis yaitu 92.9319%.

Pada penelitian sebelumnya (Prandi, B., *et al.*, 2024) hidrolisat protein yang dihidrolisis dengan enzim protease (*B. licheniformis*) dengan konsentrasi 0,5% (% berat dari bahan baku) dihidrolisis selama 2 jam pada suhu 65°C. Tidak diperlukan penyesuaian pH selama 2 jam ini. Pada akhir hidrolisis, seluruh campuran dipanaskan hingga 90°C selama 20 menit untuk menonaktifkan enzim. Penelitian tersebut menghasilkan derajat hidrolisis yang cukup besar (27-30%). Dari



penelitian sebelumnya didapatkan nilai batas atas dan batas bawah pada konsentrasi enzim (0,5% - 1,5%, suhu (55 °C - 65 °C) dan waktu (2 – 4 jam).

Hidrolisat protein kedelai memakai desain RSM Box Behnken Design dengan 15 percobaan karena sudah ada penelitian sebelumnya yang telah melakukan, maka tidak perlu melakukan banyak titik percobaan. Penggunaan desain RSM Box- Behnken dengan 15 percobaan pada penelitian hidrolisat protein kedelai merupakan langkah yang tepat, terutama jika sudah ada penelitian sebelumnya yang mendukung jumlah percobaan tersebut. Hal ini memungkinkan peneliti untuk menghemat waktu dan biaya penelitian. Seperti pada penelitian yang dilakukan Hariyanti, H., *et al.* (2024) design response surface methodology yang dipakai menggunakan BBD dengan 15 percobaan.

Berdasarkan 15 perlakuan, diperoleh derajat hidrolisis masing-masing perlakuan seperti pada Tabel 37. BBD memiliki model matematika yang dapat memperoleh desain terbaik. Pemilihan model dengan menggunakan Model Jumlah Kuadrat Berurutan berdasarkan jumlah kuadrat dan urutan, dimana model terbaik adalah varian dengan nilai probabilitas <5%. Model kuadrat merupakan kandidat terbaik karena nilai probabilitas <5% (nilai p: 0,0021).

Uji ketidaksesuaian dengan Design Expert 13.0® merekomendasikan model kuadrat, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 39. Kurangnya pengujian yang sesuai didasarkan pada ketidaksesuaian model, dan parameter yang diterapkan untuk menggambarkan ketidaksesuaian model adalah nilai p. Nilai ketidaksesuaian yang tidak signifikan harus dipenuhi untuk model yang baik yang menunjukkan kesesuaian respons DH dengan model (Heck, M. A., *et al.*, 2022). Uji kuadrat memilih model terbaik menurut nilai yang mendekati 1. Uji R<sup>2</sup> yang disesuaikan



merekomendasikan model kuadrat sebagai hasil terbaik, seperti yang ditunjukkan pada tabel 40, model regresi terdefinisi dengan baik ketika  $R^2 > 0,80$ .  $R^2$  yang kecil menunjukkan relevansi variabel dependen yang buruk dalam model. Selain itu, model dapat menyamai data aktual ketika  $R^2$  mendekati satu (Cao, J., *et al.*, 2022).

Interaksi antara jawaban dan factor proses hidrolisis diperiksa menggunakan ANOVA. Signifikansi suatu factor ditentukan oleh kemungkinan bahwa nilai-p seharusnya  $<5\%$ . Persamaan ini memiliki 3 suku linear, 1 suku interaksi factor, dan 1 efek kuadrat, yaitu A, B, C, AC, dan B<sup>2</sup> (Tabel 6). Nilai ketidaksesuaian disebabkan oleh gangguan karena ketidaksesuaian tidak sepenting potensi galat murni. Persamaan model yang disarankan ANOVA adalah:  $DH = 92.84 + 6.32A - 0.4406B - 0.5108C$ , A, B, and C are E / S concentration, temperature, and time.

Permukaan respons 3 dimensi yang dibangun pada model linier sederhana dapat digunakan untuk memvisualisasikan dampak variabel independen terhadap Derajat Hidrolisis (DH) dapat dilihat pada gambar 2. Pada Gambar 2 menunjukkan plot kontur yang mewakili fungsi 2 faktor: suhu dan konsentrasi enzim. Peningkatan konsentrasi enzim akan meningkatkan jumlah tumbukan antara enzim dan substrat, sehingga laju reaksi hidrolisis meningkat dan DH juga meningkat (Chiodza, K., & Goosen, N. J., 2023). Namun, peningkatan konsentrasi enzim secara terus-menerus tidak selalu menghasilkan peningkatan DH yang linear, karena terdapat faktor suhu dan juga waktu yang berkontribusi dalam peningkatan nilai derajat Pada penelitian ini berada pada titik 1,19%.

Peningkatan suhu umumnya akan meningkatkan laju reaksi hidrolisis karena energi kinetik molekul meningkat. Namun, suhu yang terlalu tinggi dapat



menyebabkan denaturasi enzim, sehingga aktivitasnya menurun dan DH tidak terus meningkat. Suhu yang terlalu rendah akan memperlambat laju reaksi hidrolisis (Magalhães, I. S., *et al.*, 2022). Semakin lama waktu hidrolisis, semakin banyak ikatan peptida yang terputus, sehingga DH cenderung meningkat. Namun, jika waktu terlalu lama, enzim dapat mengalami denaturasi dan aktivitasnya menurun. Waktu hidrolisis yang terlalu singkat akan menghasilkan DH yang rendah karena reaksi hidrolisis belum berlangsung secara optimal (Hariyanti, H., *et al.*, 2024).

DH pada titik dengan parameter suhu 56,84°C, waktu 31,03 menit, dan enzim 1,5% diharapkan memiliki DH sebesar 95.6241% berdasarkan hasil optimasi (Gambar 3). Nilai desirability yang diperoleh adalah 1.000, yang menunjukkan seberapa ideal kondisi kesehatan. Nilai desirability 1 menunjukkan hasil yang sangat baik, sedangkan 0 menunjukkan reaksi yang tidak memuaskan (Prabudi *et al.*, 2018). Tingkat keberhasilan untuk nilai desirability 1 respon adalah 100,0%.

Derajat hidrolisis pada hidrolisat protein kedelai merupakan indikator seberapa jauh proses pemecahan protein menjadi peptida atau asam amino telah terjadi. Dengan mengetahui derajat hidrolisis dapat mengontrol kualitas produk akhir. Derajat hidrolisis yang optimal akan menghasilkan hidrolisat dengan sifat fungsional yang diinginkan, seperti kelarutan, viskositas, dan aktivitas biologis. Hal ini untuk mereproduksi proses hidrolisis dengan hasil yang konsisten. Dengan mengetahui derajat hidrolisis yang optimal pada suatu kondisi tertentu, maka dapat mengulang proses tersebut untuk menghasilkan produk dengan kualitas yang sama. Bahkan dalam penelitian Hou, Y., *et al.*, (2022) dikatakan derajat hidrolisis seringkali berkorelasi dengan aktivitas biologis dari hidrolisat, seperti aktivitas



antioksidan, imikroba, atau imunomodulator. Dengan mengoptimalkan derajat hidrolisis, maka dapat meningkatkan aktivitas biologis yang diinginkan.

Pada tabel 9 menunjukkan dilakukan uji two side dengan daerah penerimaan  $H_0$  (confidence interval = 95%) yaitu  $82.9192 \leq t \leq 108.329$  dengan interval confidence dua sisi 95%. Derajat hidrolisis yang diperoleh yaitu 92.9319 yang Dimana nilai tersebut masih berada di rentang penerimaan  $H_0$ , maka  $H_0$  diterima dan  $H_a$  ditolak. hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara nilai derajat hidrolisis yang diperoleh dengan nilai derajat hidrolisis yang diprediksikan.

Penelitian ini juga dilaukan Uji T bertujuan untuk memastikan apakah ada perbedaan secara signifikan antara nilai rata-rata derajat hidrolisis yang diperoleh dengan nilai derajat hidrolisis hidrolisat yang dikerjakan. Dilihat dari Tabel 9 menunjukkan hidrolisat protein kedelai yang diprediksikan yaitu 95. 6241% dengan desirability 1.000, sementara nilai rata-rata derajat hidrolisis yang diperoleh pada penelitian ini yaitu 92.9319%.

Pada tabel 9, menunjukkan hasil uji T dengan hasil nilai signifikansi yang diperoleh yaitu 0,051. Jika nilai signifikansi uji  $t > 0.05$  maka  $H_0$  diterima dan  $H_a$  ditolak, maka nilai derajat hidrolisis yang diperoleh pada penelitian ini dengan nilai derajat hidrolisis desirability 1.000 adalah tidak berbeda secara signifikan.

## **6. Analisis Protein Hidrolisat Protein Kedelai**

Metode untuk analisis protein pada penelitian ini yaitu Bradford yang didasarkan pada interaksi antara protein dengan pewarna Coomassie Brilliant Blue G-250, reaksi pada metode ini terjadi ketika pewarna ini berikatan dengan protein



dalam kondisi asam, akan terjadi perubahan spektrum serapan dari merah ke biru. Perubahan warna ini sebanding dengan jumlah protein yang ada dalam sampel.

Kadar protein yang diperoleh pada hidrolisat protein kedelai dari ampas kedelai yaitu 58,06%, sementara kadar protein pada isolat protein yaitu 83,75%. Hidrolisat protein kedelai memiliki protein lebih kecil dibandingkan dengan isolat protein kedelai disebabkan oleh proses hidrolisis yang melibatkan suhu tinggi dan waktu yang lama, yang berkontribusi pada denaturasi dan pemecahan struktur protein (Acharya, V. V., & Chaudhuri, P., 2021).

Meskipun hidrolisat protein kedelai memiliki nilai protein yang rendah dibanding isolat protein kedelai, proses hidrolisis menghasilkan peptida dengan rantai yang lebih pendek. Peptida yang lebih pendek ini umumnya lebih mudah dicerna dan diserap oleh tubuh dibandingkan protein dengan struktur yang lebih kompleks. Asam amino bebas yang dihasilkan dari hidrolisis lebih mudah diserap langsung oleh usus tanpa memerlukan proses pencernaan lebih lanjut (Ashaolu, T. J., 2020). Selain itu pada penelitian Wang, J., *et al.*, (2023) menunjukkan bahwa hidrolisis protein dapat mengurangi potensi alergenik dari protein kedelai. Hal ini karena struktur protein yang kompleks dan berpotensi menyebabkan alergi dipecah menjadi fragmen yang lebih kecil.

## **7. Analisis FTIR**

Pada penelitian ini, hidrolisat protein kedelai dan isolat protein kedelai dilakukan pengujian FTIR untuk mengidentifikasi senyawa dan mendeteksi gugus fungsi yang dimiliki. Hal ini dapat dilihat dari bilangan gelombang kedua senyawa tersebut apakah sesuai dengan bilangan gelombang teori masing-masing gugus fungsi.



Pada tabel 11 dan gambar 4 spektrum FTIR hidrolisat protein kedelai dan isolat protein kedelai menunjukkan penurunan bilangan gelombang pada gugus amida A yaitu pada isolat protein kedelai dan hidrolisat protein kedelai, hal ini dikarenakan setelah dihidrolisis, kelompok senyawa N-H lebih banyak berikatan dengan ikatan hidrogen dibanding saat masih berbentuk isolat protein kedelai (Yang, J., *et al.*, 2023). Daerah serapan Amida B memiliki rentang panjang gelombang bilangan yaitu 2935-2915. Pada isolat protein kedelai dan hidrolisat protein kedelai memiliki gelombang bilangan yaitu 2923,73. Amida B menunjukkan adanya vibrasi regangan simetris dari gugus CH<sub>2</sub> (Mberato, S. P., *et al.*, 2020).

Daerah serapan amida I pada isolat protein kedelai diperoleh pada bilangan gelombang 1742,83 cm<sup>-1</sup> dan bilangan gelombang hidrolisat protein kedelai yaitu 1741,40 cm<sup>-1</sup>, ini diakibatkan oleh besarnya porsi nonheliks pada telopeptida sehingga menurunnya ikatan intramolekuler hidrogen antara C=O pada peptida dan keterkaitan donor hydrogen (Carolina, D. N., *et al.*, 2024). Adapun pada puncak serapan amida II pada isolat protein kedelai yaitu 1611,12 cm<sup>-1</sup> dan hidrolisat protein kedelai yaitu 1615,90 cm<sup>-1</sup> yang diketahui berhubungan langsung dengan ikatan C-N stretching dan N-H bending (Hunnes, L. M. G., 2020).

Perubahan pada spektrum FTIR, seperti pergeseran puncak atau perubahan intensitas, maka dapat mengindikasikan perubahan pada struktur protein yang disebabkan oleh faktor-faktor seperti pH, suhu, atau adanya interaksi dengan molekul lain. Perubahan pada posisi dan intensitas puncak-puncak tersebut dapat mengindikasikan adanya denaturasi protein (hilangnya struktur sekunder dan tersier protein), agregasi protein (pembentukan ikatan kovalen atau non-kovalen antar



molekul protein), dan hidrolisis protein (Pemecahan ikatan peptida menjadi peptida yang lebih pendek atau asam amino bebas).

Gugus khas yang dapat ditemukan pada spektrum FTIR isolat protein kedelai dan hidrolisatnya adalah Gugus Amida A yang terletak pada bilangan gelombang sekitar  $3288,84\text{ cm}^{-1}$  (isolat protein kedelai) dan  $3278,86\text{ cm}^{-1}$  (hidrolisat protein kedelai), memberikan informasi tentang ikatan hidrogen yang melibatkan atom nitrogen amida. Gugus Amida I yang terletak pada bilangan gelombang sekitar  $172,83\text{ cm}^{-1}$  (isolat protein kedelai) dan  $2923,73\text{ cm}^{-1}$  (hidrolisat protein kedelai), sensitif terhadap struktur sekunder protein ( $\alpha$ -helix,  $\beta$ -sheet, random coil). Gugus Amida II yang terletak pada bilangan gelombang sekitar  $1550\text{ cm}^{-1}$ , juga sensitif terhadap struktur sekunder protein dan melibatkan vibrasi C-N dan N-H bending. Gugus C-H yang terletak pada bilangan gelombang sekitar  $2900\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ , memberikan informasi tentang rantai samping asam amino yang non-polar.

## 8. Analisis Asam Amino

Analisis asam amino pada isolat protein kedelai dan hidrolisat protein kedelai diperlukan untuk memberikan informasi mengenai kualitas dan potensi bioaktivitas. Dengan mengetahui komposisi asam amino secara lengkap, maka dapat mengetahui kualitas protein, yaitu seberapa lengkap profil asam amino esensialnya. Selain itu, analisis asam amino juga dapat digunakan untuk membandingkan kualitas protein dari berbagai sumber, mengidentifikasi adanya perubahan pada profil asam amino akibat proses produksi, serta mengevaluasi potensi alergenik suatu produk (Islam, M., *et al.*, 2022).

Ashaolu, T. J. (2020) mengatakan bahwa uji asam amino pada hidrolisat protein kedelai bertujuan untuk mengetahui komposisi asam amino yang



terkandung di dalamnya. Dengan mengetahui komposisi asam amino, maka dapat menilai kualitas produk hidrolisat protein kedelai. Analisis Asam amino (AA) pada hidrolisat protein kedelai menunjukkan proporsi AA yang terkandung dalam AA esensial dan nonesensial. Tabel 12 menunjukkan adanya 17 jenis dari 23 AA. AA dengan konsentrasi tertinggi adalah lisin (1171.51 mg/kg), sedangkan AA dengan konsentrasi terendah adalah threonine (18.71mg/kg) (Tabel 10). Pada tabel 12, Asam amino pada hidrolisat protein kedelai dari ampas kedelai pada penelitian ini memiliki nilai yang tidak jauh berbeda dengan nilai isolat protein kedelai.

Nilai asam amino yang rendah dikarenakan sumber ampas kedelai yang dipakai merupakan limbah tahu yang telah mengalami proses pemanasan dalam pembuatan tahu. Berbeda dengan penelitian Islam, M., *et al.* (2022) hidrolisat protein kedelai dari bahan baku utama kedelai (bukan limbah ampas kedelai) yang dihidrolisis dengan enzim alkalase, AA tertinggi yang diperoleh yaitu lysine (40199,99 mg/kg) dan terendah yaitu histidine (9400 mg/k) . Hidrolisat protein kedelai pada penelitian ini memiliki flavor umami yang khas. Flavor umami yang khas ini diperoleh dari aspartic acid (100.13 mg/kg) dan glutamic acid (36.98 mg/kg). seperti dikatakan Shangguan, L., *et al.* (2024) dalam penelitiannya peran asam amino yaitu asam glutamic dan asam aspartic berkontribusi memberikan flavor umami yang khas.

Protein terdiri dari 20 jenis asam amino, termasuk asam amino esensial yang tidak dapat diproduksi tubuh manusia dan harus diperoleh dari makanan. Kadar protein yang tinggi menunjukkan banyaknya jumlah protein dalam suatu makanan, namun tidak menjamin bahwa semua jenis asam amino, terutama asam amino



esensial, tersedia dalam jumlah yang cukup. Kualitas protein ditentukan oleh seberapa lengkap profil asam amino esensialnya (Machado, *et al.* 2020).

Jumlah asam amino total yang tinggi tidak selalu menjamin kualitas protein yang baik, karena yang lebih penting adalah keseimbangan antara berbagai jenis asam amino esensial. Analisis asam amino memberikan informasi yang lebih akurat tentang kualitas protein. Protein dengan profil asam amino lengkap mengandung semua asam amino esensial dalam proporsi yang seimbang. Sumber protein yang berbeda memiliki profil asam amino yang berbeda pula. Misalnya, protein hewani cenderung memiliki profil asam amino yang lebih lengkap dibandingkan protein nabati yang banyak mengandung protein, namun seringkali kekurangan satu atau dua asam amino esensial tertentu, seperti metionin. Faktor-faktor yang Perlu dipertimbangkan yaitu kondisi Penyimpanan (dengan memerhatikan suhu, cahaya, dan kelembaban), metode analisis yang tepat digunakan untuk menentukan profil asam amino, dan teknik penyimpanan agar menghindari degradasi akibat faktor lingkungan (seperti suhu, cahaya, dan oksigen) (Arakawa, *et al.*, 2001 dan Cappelaere, L., *et al.*, 2021).

## **9. Aktivitas Antioksidan Metode ABTS**

Pada penelitian ini menggunakan metode ABTS untuk pengujian aktivitas antibakteri karena reagen ABTS memiliki Stabilitas yang lebih baik. Hal ini disebabkan oleh struktur molekul yang lebih stabil, metode pembentukan radikal yang lebih homogen, dan kondisi penyimpanan yang lebih mudah dikontrol. Radikal kation ABTS memiliki resonansi yang lebih luas, sehingga distribusi elektron yang tidak berpasangan lebih tersebar dan mengurangi reaktivitasnya



(Capanaglu, E., *et al.*, 2020). Akibatnya, larutan stok ABTS cenderung lebih stabil dan dapat disimpan lebih lama dibandingkan dengan larutan stok DPPH.

Radikal kation ABTS biasanya dihasilkan melalui reaksi oksidasi dengan persulfat kalium, sedangkan radikal DPPH seringkali terbentuk secara spontan melalui reaksi dengan oksigen (Gulcin, İ., & Alwasel, S. H., 2023). Proses pembentukan radikal DPPH yang lebih kompleks ini dapat menghasilkan campuran radikal yang kurang homogen dan lebih mudah terdegradasi. Perbedaan stabilitas ini sangat penting dalam pengujian aktivitas antioksidan, karena stabilitas reagen akan mempengaruhi hasil pengukuran dan reproduktibilitas data. Adapun hasil analisis aktivitas antioksidan metode ABTS dapat dilihat pada diagram 5.

Ketika sampel yang mengandung antioksidan ditambahkan ke larutan ABTS<sup>+</sup>, antioksidan akan mendonorkan elektron atau atom hidrogen kepada radikal ABTS<sup>+</sup> (Gulcin, İ. 2020). Hal ini menyebabkan radikal ABTS<sup>+</sup> menjadi netral dan warna biru-hijau akan memudar. Pengurangan intensitas warna biru-hijau diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang tertentu (biasanya sekitar 734 nm). Semakin besar penurunan absorbansi, semakin tinggi aktivitas antioksidan sampel.

Hidrolisat protein kedelai memiliki nilai aktivitas IC<sub>50</sub> antioksidan tinggi (77,9721) dibandingkan isolat protein kedelai (534,7795) karena proses hidrolisis pada hidrolisat protein menghasilkan campuran peptida kecil yang bervariasi dengan kemampuan antioksidan yang optimal. Dibandingkan pada penelitian sebelumnya yang dilakukan Ratnayani, K., *et al.*, (2022), hidrolisat protein dari ampas tahu yang dihidrolisis dengan enzim papain dengan konsentrasi 4% memiliki aktivitas antioksidan sebesar 98,86%.



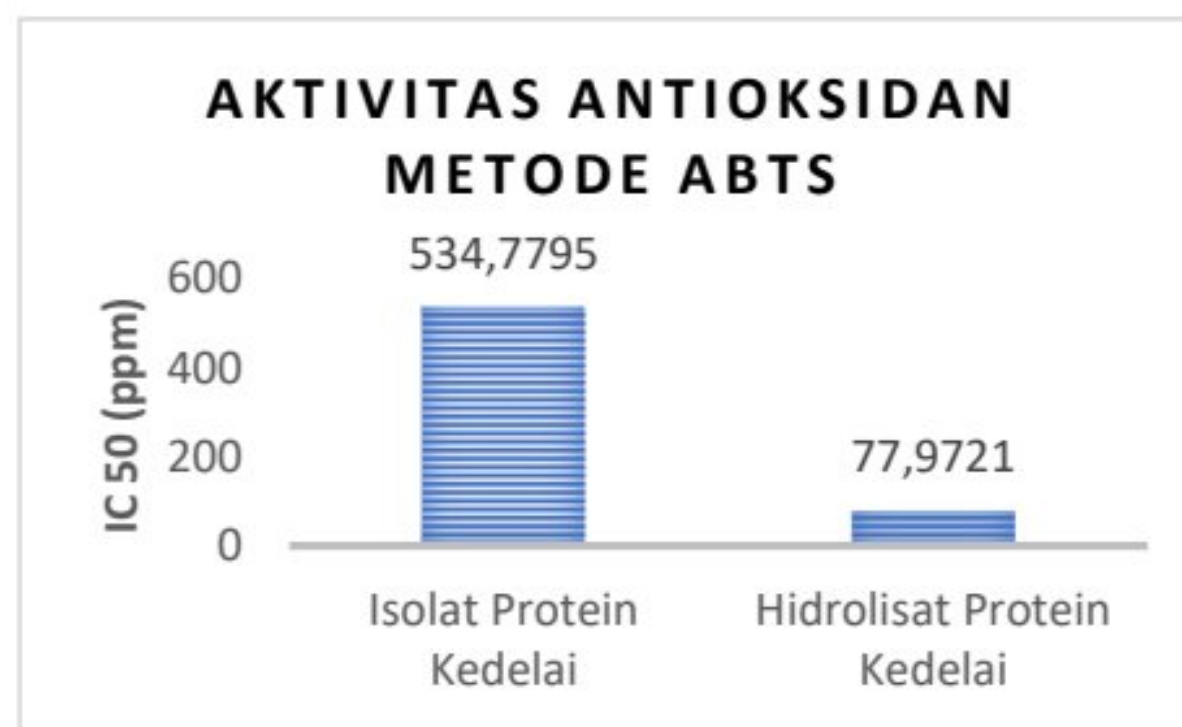


Diagram 5. Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan Metode ABTS

Metode ABTS lebih efektif untuk menganalisis aktivitas antioksidan pada hidrolisat protein kedelai dan isolat protein kedelai karena sensitif terhadap berbagai mekanisme antioksidan, termasuk donasi elektron, pengkelat logam, dan kemampuan untuk memutus rantai radikal. Pada penelitian ini, hidrolisat protein menunjukkan nilai antioksidan yang baik dengan metode ABTS karena peptida bioaktif yang dihasilkan selama hidrolisis dapat berinteraksi dengan radikal bebas ABTS secara efektif (Munteanu, I. G., & Apetrei, C., 2021).

Metode ABTS dan FRAP, keduanya memiliki prinsip kerja yang berbeda, metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) mengukur kemampuan senyawa untuk mereduksi ion logam ( $\text{Fe}^{3+}$  menjadi  $\text{Fe}^{2+}$ ) yang menunjukkan potensi reduktif secara keseluruhan, sedangkan prinsip pada metode ABTS yaitu mengukur kemampuan antioksidan dalam menetralkan radikal bebas, yang ditunjukkan oleh perubahan warna. Radikal kation ABTS awalnya berwarna biru kehijauan, namun akan direduksi oleh antioksidan sehingga berubah menjadi bentuk non-radikal yang tidak berwarna. (Theafelicia & Narsito Wulan, 2023). Kedua metode ini berfokus pada proses mereduksi untuk melawan oksidasi. Namun, kedua metode tersebut mengukur aspek yang berbeda dari aktivitas antioksidan.



## 10. Aktivitas Antioksidan Metode FRAP

Kompleks  $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ relatif lebih stabil terhadap cahaya dan suhu dibandingkan dengan radikal DPPH yang sangat reaktif. Reagen FRAP biasanya disiapkan dalam kondisi asam yang dapat membantu menjaga stabilitas kompleks  $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ. Sebaliknya, radikal DPPH sangat sensitif terhadap cahaya, suhu, dan pH, sehingga mudah terdegradasi (Munteanu, I. G., dan Apetrei, C., 2021). Stabilitas reagen FRAP yang lebih tinggi ini memungkinkan penyimpanan yang lebih lama dan reproduktibilitas hasil yang lebih baik dalam pengujian aktivitas antioksidan.

Pada metode Frap, Hidrolisat protein kedelai memiliki aktivitas antioksidan (811,5 Mol/gram) lebih besar dibanding isolat protein kedelai (705,33 Mol/gram) pada metode karena hidrolisat protein mengandung campuran senyawa yang lebih kompleks dan beragam hasil dari proses hidrolisis, sehingga campuran tersebut mencakup senyawa-senyawa dengan kemampuan yang cukup baik untuk mereduksi ion besi ( $\text{Fe}^{3+}$ ). Perbedaan hasil ini disebabkan oleh mekanisme aksi yang berbeda, sampel yang tidak homogen dan pengujian dari hari ke hari serta faktor-faktor seperti konsentrasi senyawa, cahaya, pH, suhu, waktu inkubasi dan interaksi senyawa dalam sampel (Theafelicia & Narsito Wulan, 2023). Hasil analisis aktivitas antioksidan metode FRAP pada penelitian ini dapat dilihat pada diagram 6.



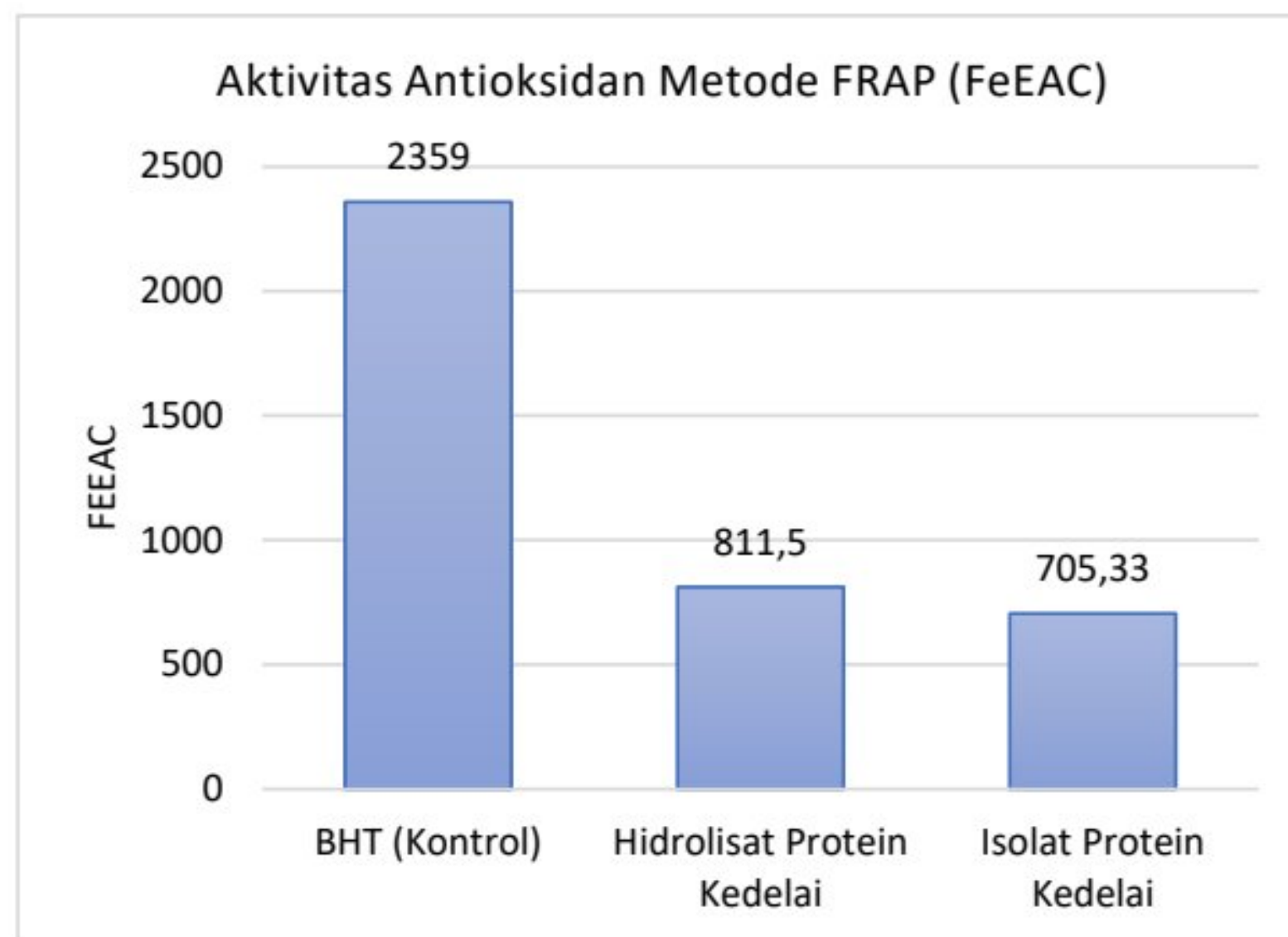


Diagram 6. Hasil analisis aktivitas antioksidan Metode FRAP

Metode FRAP lebih spesifik mengukur kemampuan antioksidan dalam mereduksi ion feri, sehingga membentuk kompleks berwarna biru. Metode FRAP memiliki keterbatasan dalam mengukur aktivitas antioksidan dari senyawa yang kurang mereduksi langsung terhadap ion besi. Pada diagram 6, nilai BHT pada metode FRAP yaitu 2359 FeEAC yang membantu memvalidasi metode FRAP yang digunakan. Pada diagram 6, isolat protein kedelai nilai antioksidan yang diperoleh yaitu 705,33 FeEAC. Nilai tersebut lebih rendah apabila dibandingkan dengan Hidrolisat protein kedelai. Hidrolisat protein kedelai pada penelitian ini menunjukkan nilai cukup baik yaitu 811,5 FeEAC yang mengindikasikan bahwa efisien dalam proses reduksi  $\text{Fe}^{3+}$ , penelitian sebelumnya dilakukan Ratnayani, K., *et al.*, (2022) menunjukkan hidrolisat protein ampas tofu yang dhidrolisis dengan enzim papain konsentrasi 4% memiliki aktivitas antioksidan sebesar 0,5  $\mu\text{mol}$  AAE/g menggunakan metode FRAP.

Pada metode ABTS digunakan parameter  $\text{IC}_{50}$  dalam mengukur konsentrasi senyawa yang diperlukan untuk menetralkan 50% radikal bebas secara langsung,



sedangkan pada metode FRAP digunakan parameter FeEaC untuk mengukur seberapa baik senyawa dapat mengubah ion logam teroksidasi menjadi bentuk tereduksi, yang tidak langsung berkaitan dengan radikal bebas tetapi memberikan indikasi tentang potensi reduktif senyawa (Prastiwi et al., 2020). Perbedaan hasil antara kedua metode (Frap dan ABTS) menunjukkan bahwa meskipun hidrolisat protein memiliki potensi sebagai antioksidan, efisiensi mereka dalam mereduksi ion logam seperti  $\text{Fe}^{3+}$  mungkin terbatas dibandingkan dengan kemampuan untuk menangkap radikal bebas menggunakan metode ABTS.

## **11. Aktivitas Antibakteri**

Metode dilusi  $\text{IC}_{50}$  dipilih untuk pengujian aktivitas antibakteri pada penelitian ini karena hidrolisat protein kedelai dan isolat protein kedelai memiliki jumlah sampel yang terbatas. Selain itu, pengujian antibakteri metode dilusi  $\text{IC}_{50}$  memiliki ketelitian yang dapat mengukur aktivitas antibakteri yang lemah sehingga dapat mendeteksi perbedaan kecil dalam aktivitas antibakteri antar sampel. Metode ini untuk menentukan konsentrasi hambat minimum ( $\text{IC}_{50}$ ) suatu senyawa atau ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri secara akurat (Maulana, I., *et al.*, 2020). Dengan melakukan pengenceran secara seri, metode ini dapat mengidentifikasi konsentrasi terendah dari sampel yang masih mampu menghambat pertumbuhan bakteri secara signifikan.

Pada penelitian ini, hidrolisat protein kedelai dan isolat protein kedelai memiliki aktivitas antioksidan, namun aktivitas antibakterinya dikategorikan tidak aktif berdasarkan tabel 1, dikarenakan pada penelitian ini nilai  $\text{IC}_{50}$  aktivitas antibakteri di atas nilai 500 ppm. Aktivitas antioksidan dan antibakteri memiliki mekanisme kerja yang berbeda. Nilai  $\text{IC}_{50}$  500 ppm menunjukkan bahwa



konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan bakteri sangat tinggi. Ini mengindikasikan bahwa peptida yang dihasilkan tidak cukup kuat atau spesifik untuk menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi yang relevan (Apridamayanti, P., *et al*, 2021).

Aktivitas antibakteri seringkali bergantung pada struktur molekul yang sangat spesifik. Peptida atau protein dalam hidrolisat dan isolat protein kedelai tidak memiliki struktur yang tepat untuk berinteraksi dengan target molekul pada bakteri seperti membran sel atau enzim esensial. Ukuran molekul peptida dalam hidrolisat protein dapat mempengaruhi kemampuannya untuk menembus dinding sel bakteri (Tkaczewska, J., 2020). Peptida yang terlalu besar akan sulit masuk ke dalam sel bakteri (Chen, N., & Jiang, C., 2023). Adapun hasil analisis aktivitas antibakteri metode mikrodilusi Ic 50 dapat dilihat pada diagram 7.

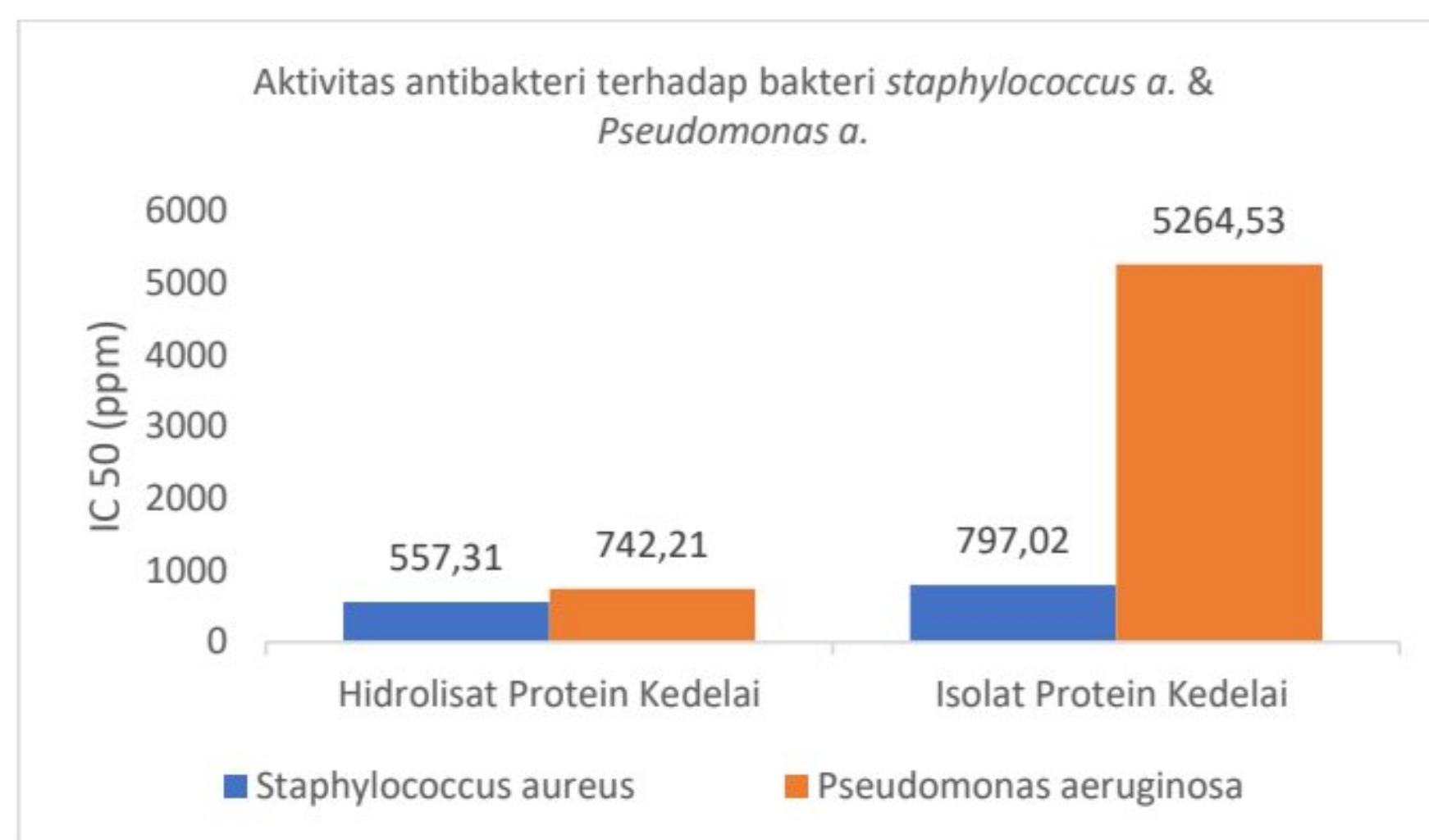


Diagram 7. Aktivitas antibakteri Mikrodilusi IC 50

Isolat protein kedelai pada penelitian ini memiliki aktivitas antioksidan yang lebih lemah dibandingkan hidrolisat protein karena struktur protein yang lebih utuh



dibandingkan hidrolisat protein kedelai yang telah dihidrolisis oleh enzim protease dari *Bacillus licheniformis*. Aktivitas antioksidan yang lemah pada isolat protein kedelai mengakibatkan ketidakmampuan untuk menunjukkan efek antibakteri (Zhou, X., *et al.*, 2021). Hal ini dapat dilihat pada penelitian ini, dimana aktivitas antibakteri IC 50 hidrolisat protein yaitu 557,31 ppm pada *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* yaitu 742,21 ppm, sementara isolat protein yaitu 797,02 ppm pada *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* yaitu 5264,53 ppm, ini menunjukkan isolat protein memiliki nilai yang lebih rendah dibandingkan hidrolisat protein kedelai.

Meskipun hidrolisat protein kedelai dan isolat protein kedelai memiliki aktivitas antioksidan, aktivitas tersebut tidak berkontribusi langsung terhadap efektivitas antibakteri. Ada banyak mekanisme antibakteri yang berbeda, seperti merusak membran sel, menghambat sintesis protein, atau menghambat metabolisme energi. Isolat protein kedelai dan peptida dalam hidrolisat protein kedelai pada penelitian ini menunjukkan tidak memiliki mekanisme aksi yang efektif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.



## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Hidrolisat protein dari ampas kedelai (*Glycine max (L.) Merr.*) telah dibuat melalui proses hidrolisis enzimatis menggunakan enzim protease dari bakteri *Bacillus Licheniformis*. Nilai derajat hidrolisis yang diperoleh yaitu 92.9319%.
2. Berdasarkan analisis spektrum FTIR, produk HSP mengandung amida A, amida I, dan amida II.
3. Kandungan Asam amino yang diperoleh pada hidrolisat protein yang dianalisis menggunakan MU-03/66 (HPLC) method yaitu tyrosine (28984 mg/kg), lysine HCl (1172.51 mg/kg), methionine (361.70 mg/kg), isoleusin (114.58 mg/kg), alanine (103.27 mg/kg), aspartic acid (100.13 mg/kg), phenylalanin (36.03 mg/kg), leucine (27.25 mg/kg), threonine (18.71 mg/kg).
4. Hasil aktivitas antibakteri metode pada hidrolisat protein kedelai terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu 557,31 ppm dan *Pseudomonas aeruginosa* yaitu 741,21 ppm. Aktivitas antibakteri pada isolate protein kedelai terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu 797,02 ppm dan *Pseudomonas aeruginosa* yaitu 5264,52 ppm.
5. Aktivitas antioksidan metode frap pada hidrolisat protein kedelai yaitu 811,5 FeEAC dan Isolat protein kedelai yaitu 705,33 FeEAC.
6. Aktivitas antioksidan pada hidrolisat protein kedelai dan isolate protein kedelai dengan metode ABTS yaitu 77,9721 ppm (Sifat antioksidan kuat) dan 534,7795 ppm (sifat antioksidan lemah). Penelitian ini menunjukkan potensi pemanfaatan ampas kedelai untuk produksi HSP melalui hidrolisis enzimatis



menggunakan enzim protease dari bakteri *Bacillus Licheniformis* dengan hasil tinggi.

## **B. Saran**

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai pembuatan suplemen protein dari hidrolisat protein ampas kedelai. Selain itu diperlukan penelitian lebih lanjut pembuatan peptida 10, 30, 50 KDa dari hidrolisat protein ampas kedelai.



## DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, A., Manogaran, M., Yakasai, H. M., Yasid, N. A., & Shukor, M. Y. 2022. Response surface method for the optimization of *E. cloacae* strain UPM2021 a growth on acrylamide as a nitrogen source. *Bioremediation Science and Technology Research* 10(2): 29-39.
- Akbarian, M., Khani, A., Eghbalpour, S., & Uversky, V. N. 2022. Bioactive peptides: Synthesis, sources, applications, and proposed mechanisms of action. *International journal of molecular sciences* 23 (3): 1445.
- Akbar, N. D., Nugroho, A. K., & Martono, S. 2022. Artikel Review: Optimasi Formulasi Snedds Dengan Simplex Lattice Design Dan Box Behnken Design. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari* 13(1): 90-100.
- Akram, W., & Garud, N. 2021. Design expert as a statistical tool for optimization of 5-ASA-loaded biopolymer-based nanoparticles using Box Behnken factorial design. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences* 7: 1-17.
- Alarape, K., Adeniyi, A., Ayodele, T., Bello, I., Sarker, N. C., & Hammed, A. 2024. Soybean Meal Protein Extraction and Comparative Analysis with Soy Protein Isolate.
- Almatsier S. 2003. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. PT Gramedia Pustaka Utama: Jakarta.
- An, J., Wicaksana, F., Liu, C., Tian, J., & Yao, Y. 2024. Current Food Processing Methods for Obtaining Umami Peptides from Protein-Rich Foods: A Review. *Trends in Food Science & Technology* :104704.
- Anshar, K. 2022. Pemanfaatan Limbah Industri Tahu sebagai Pakan Alternatif untuk Meningkatkan Produktivitas Peternak Lele. *Aptekmas Jurnal Pengabdian pada Masyarakat* 5(1): 69-74.
- Apridamayanti, P., Sari, R., Rachmaningtyas, A., & Aranthi, V. 2021. Antioxidant, antibacterial activity and FICI (Fractional Inhibitory Concentration Index) of ethanolic extract of *Melastoma malabathricum* leaves with amoxicillin against pathogenic bacteria. *Nusantara Bioscience* 13(2).
- Ashaolu, T. J. 2020. Health applications of soy protein hydrolysates. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics* 26(4): 2333-2343.
- Awwaly, K. U. 2017. *Protein Pangan Hasil Ternak dan Aplikasinya*. Malang: UB Press.
- AOAC, 2005. *Official Methods of The Association Analytical Chemistry, Inc.* Washington D.C.
- Badan Pusat Statistik Indonesia. (8 September 2014). Rata-Rata Konsumsi per Kapita Seminggu Beberapa Macam Bahan Makanan Penting, 2007-2023. Diakses pada 20 Maret 2024, dari <https://www.bps.go.id/id/statistics-table/1/OTUwIzE%3D/rata-ratakonsumsi-per-kapita-seminggu-beberapa-macam-bahan-makanan-penting--2007-2023.html>
- Bradford MM. 1976. A rapid dan sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry* 72(1-2): 248-254.
- Brookfield, J. 2002. *The Grip Master's Manual*. Grass Valley: IronMind Enterprises.



- Cao, J., Xiong, N., Zhang, Y., Dai, Y., Wang, Y., Lu, L., & Jiang, L. 2022. Using RSM for optimum of optimum production of peptides from edible bird's nest by-product and characterization of its antioxidant's properties. *Foods* 11(6): 859.
- Carolina, D. N., Satari, M. H., Priosoeryanto, B. P., Susanto, A., Sukotjo, C., & Kartasasmita, R. E. (2024). Exploring carp isiks (*Cyprinus carpio* L.) as a novel source of collagen for dental use: Extraction and characterization. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 14 (4): 204-209.
- Chen, D., & Campanella, O. H. 2022. Limited enzymatic hydrolysis induced pea protein gelation at low protein concentration with less heat requirement. *Food Hydrocolloids* 128:107547.
- Chen, N., & Jiang, C. 2023. Antimicrobial peptides: Structure, mechanism, and modification. *European Journal of Medicinal Chemistry* 255: 115377.
- Chiodza, K., & Goosen, N. J. 2023. Influence of mixing speed, solids concentration and enzyme dosage on dry solids yield and protein recovery during enzymatic hydrolysis of sardine (*Sardina pilchardus*) processing by-products using Alcalase 2.4 L: a multivariable optimisation approach. *Biomass Conversion and Biorefinery* : 1-23.
- Capanoglu, E., Kamiloglu, S., Demirci Cekic, S., Sozgen Baskan, K., Avan, A. N., Uzunboy, S., & Apak, R. 2020. Antioxidant activity and capacity measurement. *Plant antioxidants and health* : 1-66.
- Daris, U. S., Rahmatika, U. H., & Fitri, A. K. 2024. The potential of plant protease enzymes as rennet alternatives for developing halal cheese product: A review. *Journal of Halal Science and Research* 5(1): 60-70.
- Dbik, A., El Messaoudi, N., Bentahar, S., El Khomri, M., Lacherai, A., & Faska, N. 2022. Optimization of methylene blue adsorption on agricultural solid waste using box-behnken design (BBD) combined with response surface methodology (RSM) modeling. *Biointerface Res. Appl. Chem* 12(4): 4567-4583.
- Deng, Y., Hu, M., Huang, S., & Fu, N. 2024. Molecular mechanism and therapeutic significance of essential amino acids in metabolically associated fatty liver disease. *The Journal of Nutritional Biochemistry* : 109581.
- De Oliveira Filho, J. G., Rodrigues, J. M., Valadares, A. C. F., De Almeida, A. B., Valencia-Mejia, E., Fernandes, K. F., ... & Dyszy, F. H. 2021. Bioactive properties of protein hydrolysate of cottonseed byproduct: antioxidant, antimicrobial, and angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory activities. *Waste and Biomass Valorization* 12: 1395-1404.
- Dong, Y., Yan, W., & Zhang, Y. Q. 2022. Effects of spray drying and freeze drying on physicochemical properties, antioxidant and ACE inhibitory activities of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) skin hydrolysates. *Foods* 11(14): 2083.
- Djonu, A. 2022. Karakteristik Organoleptik Kamaboko Ikan Lele (*Clarias gariepinus*) Dengan Penambahan Isolat Protein Kedelai (ISP). *Jurnal Bahari Papadak* 3(2): 154-157.
- Edwards, J. S., Hettiarachchy, N. S., Kumar, T. K. S., Carbonero, F., Martin, E. M., & Benamara, M. 2020. Physicochemical properties of soy protein hydrolysate and its formulation and stability with encapsulated probiotic



- under in vitro gastrointestinal environment. *Journal of food science* 85 (10): 3543–3551.
- EFSA Panel on Nutrition, Novel Foods and Food Allergens (NDA), Bohn, T., Castenmiller, J., *et al.* 2023. Nutritional safety and suitability of a specific protein hydrolysate derived from a whey protein concentrate and used in an infant formula and follow-on formula manufactured from hydrolysed protein by FrieslandCampina Nederland B.V. *EFSA journal. European Food Safety Authority* 21(7): e08063.
- Engel, D. C. H., Feltrim, D., Rodrigues, M., Baptistella, J. L. C., & Mazzafera, P. 2024. Application of protein hydrolysate improved the productivity of soybean under greenhouse cultivation. *Agriculture*, 14(8): 1205.
- Fadillah, I., Fadiati, A., & Singamurni, I. G. A. N. 2023. Substitution Influence Of Yellow Soybean Dregs Flour (Glycine Max L. Merrill) On Sensory Quality Of Butter Cookies. *Asian Journal of Engineering, Social and Health*, 2(2): 136-145.
- Gentili, V., Strazzabosco, G., Spena, R., Rizzo, S., Beltrami, S., Schiuma, G., ... & Rizzo, R. 2024. Comparison between Moxifloxacin and Chloramphenicol for the Treatment of Bacterial Eye Infections. *Current Therapeutic Research* 100 : 100740.
- Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. 2023. DPPH radical scavenging assay. *Processes* 11(8): 2248.
- Handayani, T. H., Budiman, M., Amalia, R. L., Pribadi, A., & Rabeca, R. 2022. Aktivitas antioksidan, total fenolik, dan total flavonoid madu Apis mellifera dari hutan akasia (*Accacia crassicarpa*) Riau, Indonesia dengan beberapa perlakuan pengeringan. *Jurnal Biologi Indonesia* 18(2): 231-243.
- Hasan, H., Thomas, N. A., Hiola, F., Ramadhani, F. N., & Ibrahim, A. S. 2022. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan kulit batang matoa (*Pometia pinnata*) dengan metode 1, 1-diphenyl-2 picrylhydrazyl (ABTS). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education* 2(1): 67-73.
- Hasmita, I., Mistar, E. M., & Mauliza, N. P. 2024. Pembuatan Pulp and Paper Berbahan Dasar Serat Kulit Pinang (*Areca Catechu L.*) dengan Penambahan Kitosan Sebagai Zat Aditif Antibakteri. *Jurnal Serambi Engineering* 9(1): 7698-7709.
- Hariyanti, H., Nafi'ah, K., Azizah, N., & Gantini, S. N. 2024. Pengaruh Suhu Ekstraksi Terhadap Karakteristik Gelatin dari Sisik Ikan Lates calcarifer dan *Oreochromis niloticus*. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan* 18 (2): 95-104.
- Hariyanti, H., Gantini, S.N., Rusdi, N.K., Laeli, N. R. A., Athiyah, S.N., and Afrizal, F. 2024. Rensponse surface optimization in determining hydrolysis reaction on Barramundu scales gelatin pusing the box behnken design. *Food Research* 8 (3): 318-324.
- Heck, M. A., Melková, I., Posten, C., Decker, E. L., & Reski, R. 2021. Medium optimization for biomass production of three peat moss (*Sphagnum L.*) species using fractional factorial design and response surface methodology. *Bioresource Technology Reports* 15: 100729



- Hemmati, F., Salehi, R., Ghotaslou, R., Kafil, H. S., Hasani, A., Gholizadeh, P., & Rezaee, M. A. 2020. The assessment of antibiofilm activity of chitosan-zinc oxide-gentamicin nanocomposite on *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Biological Macromolecules* 163: 2248-2258.
- Hidayat, I. R., Zuhrotun, A., & Sopyan, I. 2021. Design-expert software sebagai alat optimasi formulasi sediaan farmasi. *Majalah Farmasetika* 6(1): 99-120.
- Hou, Y., Wu, Z., Dai, Z., Wang, G., & Wu, G. 2022. Protein hydrolysates in animal nutrition: Industrial production, bioactive peptides, and functional significance. *Bioactive Peptides from Food* : 209-232.
- Hunnes, L. M. G. 2020. *Classical biotechnological and analytical techniques in combination with FTIR spectroscopy: A study of protein hydrolysates from poultry residual raw materials* (Master's thesis)
- Irianti, T. T., & Nuranto, S. 2021. *Antioksidan dan kesehatan*. Sleman: Ugm Press.
- Kamble, D. B., & Rani, S. 2020. Bioactive components, in vitro digestibility, microstructure and application of soybean residue (okara): A review. *Legume Science* 2 (1): e32.
- Kristiningrum, E., Setyoko, A. T., & Isharyadi, F. 2021. Improving soy milk quality with development of technical standard parameters. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 828 (1): 012054
- Lindberg, D., Kristoffersen, K. A., Wubshet, S. G., Hunnes, L. M. G., Dalsnes, M., Dankel, K. R., ... & Afseth, N. K. 2021. Exploring effects of protease choice and protease combinations in enzymatic protein hydrolysis of poultry by-products. *Molecules* 26 (17): 5280.
- Machado, M., Machado, S., Pimentel, F. B., Freitas, V., Alves, R. C., & Oliveira, M. B. P. 2020. Amino acid profile and protein quality assessment of macroalgae produced in an integrated multi-trophic aquaculture system. *Foods* 9(10): 1382.
- Magalhães, I. S., Guimarães, A. D. B., Tribst, A. A. L., de Oliveira, E. B., & Júnior, B. R. D. C. L. 2022. Ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis of goat milk casein: Effects on hydrolysis kinetics and on the solubility and antioxidant activity of hydrolysates. *Food Research International* 157: 111310.
- Maulana, I., Triatmoko, B., & Nugraha, A. 2020. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Tanaman Senggugu (*Rotheca serrata* (L.) Steane & Mabb.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research (5) 1.
- Mberato, S. P., Rumengan, I. F., Warouw, V., Wulur, S., Rumampuk, N. D., Undap, S. L., ... & Luntungan, A. H. 2020. Penentuan Struktur Molekul Kolagen Sisik Ikan Kakatua (*Scarus Sp*) berdasarkan Serapan Molekul Terhadap Gelombang FTIR (Fourier-Transform Infrared Spectroscopy Analysis). *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis* 8(1): 7-14.
- Mehmet, H., Benli Büşra, İşçiopmen, E. M., & Kaya Aslı. 2021. Antioxidant and antihypertensive protein hydrolysates from rice bran: Optimization of microwave assisted extraction. *Journal of Food Measurement & Characterization* 15(3): 2904- 2914.



- Mohtar, N.F., C. Perera & S.Y. Quek. 2010. Optimisation of gelatine extraction from hoki (*Macruronus novaezelandiae*) skins and measurement of gel strength and SDS-PAGE. *Food Chem.* 122: 307-313.
- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. 2021. Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International journal of molecular sciences* 22(7): 3380.
- Naveed, M., Nadeem, F., Mehmood, T., Bilal, M., Anwar, Z., & Amjad, F. 2021. Protease—a versatile and ecofriendly biocatalyst with multi-industrial applications: an updated review. *Catalysis Letters* 151: 307-323.
- Patil, N. D., Bains, A., Sridhar, K., Bhaswant, M., Kaur, S., Tripathi, M., ... & Sharma, M. 2024. Extraction, Modification, Biofunctionality, and Food Applications of Chickpea (*Cicer arietinum*) Protein: An Up-to-Date Review. *Foods* 13(9): 1398.
- Permanasari, E. D., Ibadurrohman, m., Susilo, S. 2024. Molecular identification of endophytic bacterium DBA2 isolated from the leaf of binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) and its antagonistic activity against bacteria associated with dental caries. *AsPac J. Mol. Biol. Biotechno* 132(1):85-92.
- Prandi, B., Samaei, S., Beninati, F., Nardi, A., Tedeschi, T., & Sforza, S. 2024. Exploitation of bones-rich poultry by-products to produce protein hydrolysates: optimization of hydrolysis parameters and chemical characterization. *Poultry Science* 100 (1): 1-24.
- Prastika, H. H., Ratnayani, K., Puspawati, N. M., & Laksmiwati, A. A. I. A. M. 2019. Penggunaan enzim pepsin untuk produksi hidrolisat protein kacang gude (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) yang aktif antioksidan. *Cakra Kimia* 7(2):180188.
- Prastiwi, R., Dewanti, E., Fadliani, I. N., Aqilla, N., Salsabila, S., & Ladeska, V. 2020. The nephroprotective and antioxidant activity of *sterculia rubiginosa* zoll. ex miq. leaves. *Pharmacognosy Journal* 12(4).
- Prastyo, Tri,D., dan Trilaksani, W. 2020. Aktivitas antioksidan hidrolisat kolagen kulit ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 23 (3): 423-433.
- Pratami, T., Sitanggang, A. B., & Wijaya, C. H. 2022. Produksi Hidrolisat Protein Kacang Koro Benguk dengan Aktivitas Penghambat Kerja Enzim Pengkonversi Angiotensin melalui Kombinasi Fermentasi dan Hidrolisis Enzimatik. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 33(2): 157-168.
- Pujilestari, S., Makosim, S., & Asih, I. 2021. Pemanfaatan Tepung Ampas Kedelai Pada Pembuatan Kue Tradisional Kembang Goyang: Utilization Of Soybean Waste Flour In Making Of The Traditional Snack Of Kembang Goyang. *Pro Food* 7(2): 1-11.
- Purnamasari, I., Rohama, R., & Noval, N. 2024. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pepaya Jepang (*Cnidoscolus acanitifolius*) dengan Metode Frap: Antioxidant Activity Test Of Japanese Papaya Leaf Extract (*Cnidoscolus aconitifolius*) Using FRAP Method. *Jurnal Surya Medika (JSM)* 10(1): 244-252.
- Rahate, K. A., Madhumita, M., & Prabhakar, P. K. 2021. Nutritional composition, anti-nutritional factors, pretreatments-cum-processing impact and food



- formulation potential of faba bean (*Vicia faba* L.): A comprehensive review. *Lwt* 138: 110796.
- Ratnayani, K., Ratnayani, O., & Pane, I. A. 2022. Antioxidant Activity and Amino Acid Composition of Okara Protein Hydrolysate. *KnE Life Sciences* 352-357.
- Saadi, S., Saari, N., Ghazali, H. M., & Abdulkarim, M. S. 2022. Mitigation of antinutritional factors and protease inhibitors of defatted winged bean-seed proteins using thermal and hydrothermal treatments: Denaturation/unfolding coupled hydrolysis mechanism. *Current Research in Food Science* 5: 207-221.
- Sari, E. M., & Fadhilah, T. M. 2021. Penentuan Kadar Protein Albumin dalam Sampel Brownies yang Diberikan Kepada Penderita Tuberkulosis. *Chimica et Natura Acta* 9(2): 45-49.
- Sari, I. P., Hariyanti, H., Yanuar, A., & Hayun, H. 2022. New decahydroacridine-1, 8- diones derived from 3-aminocyclohex-2-en-1-one: synthesis, characterization, antioxidant, in-vitro, and in-silico anti-inflammatory activity. *Rasayan Journal of Chemistry* 15(2): 1241-48.
- Senduk, T. W., Montolalu, L. A., & Dotulong, V. 2020. The rendement of boiled water extract of mature leaves of mangrove *Sonneratia alba*. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis* 11(1): 9-15.
- Shangguan, L., Liu, Z., Zhang, H., Yang, Q., Zhang, X., Yao, L., ... & Dai, J. 2024. Improved umami taste of the enzymatic hydrolysate of soybean protein isolate by *Corynebacterium glutamicum* P-45 fermentation. *Food Bioscience* 58: 103565.
- Siahaya, R. A. 2020. Profil asam amino dan asam lemak ikan julung (*Hemiramphus* sp.) kering di Desa Keffing Kabupaten Seram Bagian Timur. *Journal of Science and Technology* 1(1): 75-93.
- Suarantika, F., Patricia, V. M., & Rahma, H. 2023. Optimasi Proses Ekstraksi Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) yang Memiliki Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Penggunaan secara Empiris. *Jurnal Ilmiah Medicamento* 9(1): 16-21.
- Sulistiyani, M., Mahatmanti, F. W., Huda, N., & Prasetyo, R. 2024. Optimization of Microplate Type Uv-vis Spectrophotometer Performance as an Antioxidant Activity Testing Instrument. *Indonesian Journal of Chemical Science* 13(1).
- Surya, A., Fissilmi, A. R., & Marliza, H. 2023. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak 2 Propanol Daun Sirih Cina (*Peperomia Pellucida*) Dengan Metode ABTS. *Jurnal Katalisator* 8 (2): 236-242.
- Theafelicia, Z., & Wulan, S. N. 2023. Perbandingan Berbagai Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan (Dpph, Abts Dan Frap) Pada Teh Hitam (*Camellia sinensis*). *Jurnal Teknologi Pertanian* 24(1): 35-44.
- Thompson, T. P., Buseti, A., & Gilmore, B. F. 2023. Quorum Sensing in *Halorubrum saccharovororum* Facilitates Cross-Domain Signaling between Archaea and Bacteria. *Microorganisms* 11 (5): 1271.
- Tkaczewska, J. 2020. Peptides and protein hydrolysates as food preservatives and bioactive components of edible films and coatings-A review. *Trends in Food Science & Technology* 106: 298-311.
- Tu, A., Zhao, X., Shan, Y., & Lü, X. 2020. Potential role of ovomucin and its peptides in modulation of intestinal health: A review. *International journal of biological macromolecules* 162: 385-393.



- Vilgis, T. A. 2023. Molecules Determine Our Food. In *Nutrition Biophysics: An Introduction for Students, Professionals and Career Changers* (pp. 177-272). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Walker, J. M. (Ed.). 1996. *The protein protocols handbook* (Vol. 1996). Springer Science & Business Media.
- Wang, Y. M., Zhang, Z., Sheng, Y., Chi, C. F., & Wang, B. 2024. A systematic review on marine umami peptides: Biological sources, preparation methods, structure-umami relationship, mechanism of action and biological activities. *Food Bioscience* 103637.
- Widianingrum, M., & Herdwian, W. 2012. Uji efek tonikum infusa batang pasak bumi dan campuran batang pasak bumi, rimpang jahe merah dan buah cabe jawa terhadap mencit putih jantan. *Jurnal Farmasi Indonesia* 9(1): 37-43.
- World Health Organization, & United Nations University. 2007. Protein and amino acid requirements in human nutrition (Vol. 935). World Health Organization.
- Yan, G., Cui, Y., Lia, D., Ding, Y., Han, J., Wang, S., ... & Zheng, H. 2022. The characteristics of soybean protein isolate obtained by synergistic modification of high hydrostatic pressure and phospholipids as a promising replacement of milk in ice cream. *LWT* 160: 113223.
- Yang, J., Zhu, B., Dou, J., Li, X., Tian, T., Tong, X., ... & Jiang, L. 2023. Structural characterization of soy protein hydrolysates and their transglutaminase-induced gelation properties. *Lwt* 179: 114668.
- Yang, M., Shi, D., Wang, Y., Ebadi, A. G., & Toughani, M. 2021. Study on interaction of coomassie brilliant blue g-250 with bovine serum albumin by multispectroscopic. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics* 27: 421-431.
- Zhou, X., Dai, Q., Huang, X., & Qin, Z. 2021. Preparation and characterizations of antibacterial–antioxidant film from soy protein isolate incorporated with mangosteen peel extract. *e-Polymers* 21(1): 575-589.



## Lampiran 1 Uji Determinasi Tanaman Kacang Kedelai



UNIVERSITAS INDONESIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN  
ILMU PENGETAHUAN ALAM

DEPARTEMEN BIOLOGI  
Gedung E Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Kampus UI Depok 16424  
Telp. +62-21 727 0163, +62-21 7884 9009, Fax. +62-21 7884 9010  
www.biologi.ui.ac.id

Depok, 4 Maret 2024

Nomor : 192/UN2.F3.11/PDP.02.00/2024  
Lampiran : 1 halaman (Daftar Referensi dan Catatan Identifikator)  
Perihal : Hasil identifikasi tumbuhan

Kepada  
Gulsyairaz Qadhi Zakka  
Fakultas Farmasi dan Sains  
Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA  
Duren Sawit, Jakarta Timur,  
DKI Jakarta 13460

Dengan hormat,  
bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke Herbarium  
Depokensis (UIDEP), Ruang Koleksi Biota Universitas Indonesia, pada tanggal 22 Februari  
2024, adalah sebagai berikut dengan acuan yang tertera pada lampiran.

No.	Dugaan dan Kode Spesimen	Hasil Identifikasi	
		Spesies	Famili
1.	Kacang kedelai ( <i>Glycine max</i> L.) [J124-P-80]	<i>Glycine max</i> (L.) Merr. *	Fabaceae

\*lihat catatan identifikator

Departemen Biologi FMIPA UI dan Herbarium Depokensis (UIDEP), Ruang Koleksi Biota  
Universitas Indonesia tidak bertanggung jawab terhadap tindakan penyalahgunaan hasil  
identifikasi. Demikian surat ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya oleh  
pihak yang bersangkutan.

Ketua Departemen Biologi FMIPA UI  
  
Prof. Anom Bowolaksono, Ph.D  
NIP. 197406011998021001





#### Daftar Referensi

No.	Referensi
1.	Backer, C. A. & R. C. Bakhuizen Van Den Brink Jr. 1963. <i>Flora of Java Vol. I</i> . N. V. P. Noordhoff, Belanda: p625. Plants of the World online. 2024. <i>Glycine max</i> (L.) Merr.. 1 hlm. <a href="https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:60450240-2">https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:60450240-2</a> , diakses pada tanggal 28 Februari 2024, pkl. 08.23 WIB.

#### Catatan Identifikator

No.	Catatan
1.	Nama <i>author</i> pada dugaan nama ilmiah oleh peminta jasa yaitu <i>Glycine max</i> L., <b>TIDAK VALID</b> . Selain itu, tata penulisan nama <i>author</i> juga <b>TIDAK TEPAT</b> .  Nama <i>author</i> yang valid adalah sesuai dengan yang tertera pada kolom hasil identifikasi. Selain itu, tata penulisan nama <i>author</i> yang tepat seharusnya diketik tegak. Identifikator merekomendasikan tata penulisan nama <i>author</i> yang valid, khususnya untuk keperluan publikasi ilmiah.



## **Lampiran 2 Prosedur Deret Standar Analisis Protein Metode Bradford**

Uji kadar protein terlarut dengan metode Bradford. Adapun pembuatan Kurva standar Larutan BSA:

1. BSA sebanyak 5 mg dilarutkan dalam 5 mL H<sub>2</sub>O steril dan ditepatkan 10 mL dalam labu ukur 10 mL untuk menghasilkan larutan BSA dengan konsentrasi 1000 ppm.
2. Larutan BSA standar dibuat dengan cara mengencerkan larutan standar BSA 1000 ppm ke dalam variasi konsentrasi 0, 100, 200, 400, 600, dan 800 ppm. Dipipet 2 ml dari Masing-masing larutan baku seri yang telah dibuat dan tambahkan 8 ml reagen Bradford (Sari, E. M., & Fadhilah, T. M., 2021).
3. Homogenisasikan menggunakan vortex dan diinkubasi selama 35 menit. Larutan Standar diukur menggunakan spektrofotometer pada Panjang gelombang 595 nm (Yang, M., 2021).

### **Pembuatan Reagen Bradford**

Pembuatan reagen Bradford yaitu Coomassie Brilliant Blue ditimbang sebanyak 500 mg dan 25 mL etanol 95%, kemudian penambahan 50 mL larutan asam fosfat 85% dan akuades hingga 500 mL. Lalu disaring menggunakan kertas whatman nomor 1. Larutan 500 mL tersebut merupakan stok pekat Bradford yang dapat disimpan pada suhu 4 °C dan apabila akan dipakai maka dilakukan 5 kali pengenceran. Pembuatan reagen Bradford dengan 5 kali pengenceran yaitu sebanyak 20 mL stok larutan bradford diambil dan ditambahkan aquadest hingga volume akhir 100 mL (Bradford, 1976).



### Lampiran 3 Analisis Proksimat Isolat Protein

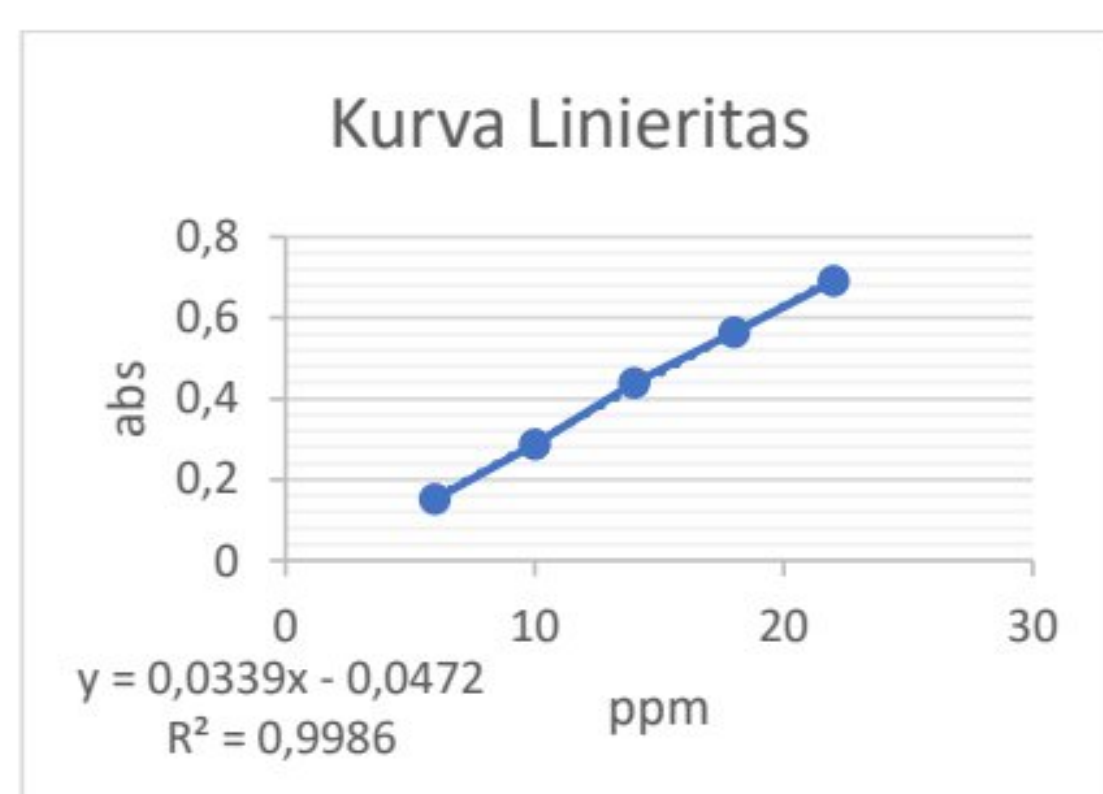
Tabel 33. Hasil Analisis Kadar Air

Bobot Penimbangan	Kadar Air
2,0480 gram	6,29 %
1,998 gram	6,18 %

$$\% \text{ Rata-rata Kadar Air} = \frac{6,29\% + 6,18\%}{2} = 6,235\%$$

### Analisis Kadar Protein Isolat Protein Kedelai Metode Bradford

Gambar 6 Kurva Larutan Standar BSA



Tabel 34. Konsentrasi Deret Standar dan Absorbansi yang Diperoleh

Baku	ABS
6	0,1519
10	0,2876
14	0,4395
18	0,565
22	0,6905



Kadar protein dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Kadar Protein (mg)} = X \cdot F_p \left( 50 \text{ mL} \times \frac{5 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times \frac{5 \text{ mL}}{0,5 \text{ mL}} \right)$$

$$\% \text{ kadar protein} = \frac{\text{Bobot kadar Protein}}{\text{Bobot gelatin yang digunakan}} \times 100\%$$

$$y = 0,0339x - 0,0472$$

1. Abs = 0,6217

a. Perhitungan Konsentrasi

$$y = bx \pm a$$

$$0,6217 = -0,0472 + 0,0339x$$

$$X = 16,9469 \mu\text{g/mL}$$

b. Perhitungan Kadar Protein

$$\text{Kadar Protein} = X \cdot F_p$$

$$= 16,9469 \mu\text{g/mL} \times \left( 50 \text{ mL} \times \frac{5 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times \frac{5 \text{ mL}}{0,5 \text{ mL}} \right)$$

$$\text{Kadar Protein} = 42367,26 \mu\text{g} = 42,36726 \text{ mg}$$

c. Perhitungan % Kadar Protein

$$\% \text{ Kadar protein} = \frac{\text{Bobot kadar Protein}}{\text{Bobot gelatin yang digunakan}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar protein} = \frac{42,3676 \text{ mg}}{50,3 \text{ mg}} \times 100\% = 84,22914\%$$

2. Abs = 0,6123

d. Perhitungan Konsentrasi

$$y = bx \pm a$$

$$0,6123 = -0,0472 + 0,0339x$$

$$X = 16,66962 \mu\text{g/mL}$$

e. Perhitungan Kadar Protein

$$\text{Kadar Protein} = X \cdot F_p$$

$$= 16,66962 \mu\text{g/mL} \times \left( 50 \text{ mL} \times \frac{5 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times \frac{5 \text{ mL}}{0,5 \text{ mL}} \right)$$

$$\text{Kadar Protein} = 41674,04 \mu\text{g} = 41,67404 \text{ mg}$$

f. Perhitungan % Kadar Protein

$$\% \text{ Kadar protein} = \frac{\text{Bobot kadar Protein}}{\text{Bobot gelatin yang digunakan}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar protein} = \frac{41,67404 \text{ mg}}{50,1 \text{ mg}} \times 100\% = 83,18172\%$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Protein rata - rata} &= \frac{84,2291 \% + 83,1817 \%}{2} \\ &= 83,7054\% \end{aligned}$$



### **Analisis kadar Lemak Metode Soxhlet**

$$\% \text{ kadar lemak rata-rata} = \frac{5,36\% + 5,34\%}{2} = 5,35\%$$

### **Analisis kadar Abu Metode Dry Ash**

$$\% \text{ kadar abu rata-rata} = \frac{4,51\% + 4,61\%}{2} = 4,56\%$$

### **Karbohidrat By Difference**

Kadar karbohidrat (%bk) = 100% - (kadar air + abu + lemak + protein)

$$\begin{aligned} \text{Kadar karbohidrat (\%)} &= 100\% - (\text{kadar air} + \text{kadar abu} + \text{lemak} + \text{protein}) \\ &= 100\% - (6.235\% + 4.575\% + 5.35\% + 83.7054\%) \\ &= 100\% - 99,86544\% \\ &= 0,1346\% \end{aligned}$$

### **Analisis Kadar Serat Kadar**

$$\% \text{ kadar serat kasar rata-rata} = \frac{14,36\% + 15,31\%}{2} = 14,835\%$$



## Lampiran 4 Derajat Hidrolisis yang Diperoleh Pada Kondisi optimasi yang Terpilih

Tabel 35. Konsentrasi Isolat Protei Kedelai

ABS IPK	ABS Blanko	Abs bersih	Konsentrasi
0,6994	0,2132	0,4862	15,73451327

$$y = 0,0339x - 0,0472$$

Tabel 36. Rendemen Hidrolisat Protein Kedelai dari 15 Percobaan Desain BBD

E/S (% v/b)	T (deg)	Time (Hour)	Isolat Protein(g)	Hidrolisat Protein (g)	Rendemen (%)
1,5	60	4	0,5093	0,0771	15,13842529
1,5	65	3	0,5094	0,0881	17,29485669
1	60	3	0,5091	0,04872	9,56982911
1	65	4	0,5099	0,0586	11,4924495
0,5	65	3	0,5097	0,0305	5,983912105
0,5	60	4	0,5098	0,0311	6,100431542
1	55	4	0,5098	0,0575	11,27893291
0,5	60	2	0,5096	0,0417	8,18288854
1	55	2	0,5095	0,04707	9,238469087
1	65	2	0,5092	0,0523	10,27101335
1	60	3	0,5099	0,0522	10,23730143
1	60	3	0,5089	0,0557	10,94517587
0,5	55	3	0,5096	0,0368	7,221350078
1,5	60	2	0,5093	0,0891	17,49460043
1,5	55	2	0,5097	0,0786	15,42083579



Tabel 37. Kondisi Optimum untuk Derajat Hidrolisis pada Berbagai Konsentrasi Enzim, Suhu, dan Waktu

E/S						Derajat
(% v/b)	Temperature (deg)	Time (H)	Nilai ABS	ABS bersih	konsentrasi	Hidrolisis (%)
1,5	60	4	0,7153	0,485	15,69911504	103,0796049
1,5	65	3	0,6528	0,4225	13,85545723	90,97423978
1	60	3	0,6757	0,4454	14,53097345	95,40964555
1	65	4	0,6956	0,4653	15,1179941	99,2639938
0,5	65	3	0,6051	0,3748	12,44837758	81,73542514
0,5	60	4	0,611	0,3807	12,62241888	82,87817161
1	55	4	0,628	0,3977	13,12389381	86,17083091
0,5	60	2	0,6224	0,3921	12,95870206	85,0861902
1	55	2	0,6795	0,4492	14,64306785	96,14565175
1	65	2	0,6934	0,4631	15,05309735	98,83788495
1	60	3	0,685	0,4547	14,80530973	97,21092388
1	60	3	0,6401	0,4098	13,48082596	88,5144296
0,5	55	3	0,651	0,4207	13,80235988	90,62560527
1,5	60	2	0,6757	0,4454	14,53097345	95,40964555
1,5	55	2	0,7066	0,4763	15,44247788	101,3945381



## Lampiran 5 Model Desain Expert

Tabel 38. Hasil Pengujian Ketidaksesuaian Menggunakan Perangkat Lunak

Design Expert 13.0®

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-value	p-value	
Linear	287.78	9	31.98	1.52	0.4593	Suggested
2FI	235.76	6	39.29	1.86	0.3894	
Quadratic	195.96	3	65.32	3.10	0.2534	
Cubic	0.0000	0				Aliased
Pure Error	42.14	2	21.07			

Tabel 39. Model Ringkasan Statistik

Source	Sequential p-value	Lack of Fit p-value	Adjusted R <sup>2</sup>	Predicted R <sup>2</sup>	
Linear	0.0500	0.4593	0.3567	-0.0149	Suggested
2FI	0.6931	0.3894	0.2550	-0.9832	
Quadratic	0.8391	0.2534	-0.0213	-3.9484	
Cubic	0.2534		0.5481		Aliased

Tabel 40. Model ANOVA Hidrolisat Protei kedelai

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	322.83	3	107.61	3.59	0.0500	Significant
A-E/S	319.19	1	319.19	10.64	0.0076	
B-Suhu Hidrolisis	1.55	1	1.55	0.0518	0.8242	
C-Time	2.09	1	2.09	0.0696	0.7968	
Residual	329.92	11	29.99			
Lack of Fit	287.78	9	31.98	1.52	0.4593	not significant
Pure Error	42.14	2	21.07			
Cor Total	652.75	14				



## Lampiran 6 Perhitungan Kadar Protein Hidrolisat Protein Kedelai

1. Abs bersih = 0,4406

a. Perhitungan Konsentrasi

$$y = bx \pm a$$

$$0,4406 = -0,0472 + 0,0339x$$

$$X = 11,6047 \mu\text{g/ml}$$

b. Perhitungan Kadar Protein

$$\text{Kadar Protein} = X \cdot F_p$$

$$= 11,6047 \mu\text{g/mL} \times (50 \text{ mL} \times \frac{5 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times \frac{5 \text{ mL}}{0,5 \text{ mL}})$$

$$\text{Kadar Protein} = 29011,8 \mu\text{g} = 29,0118 \text{ mg}$$

c. Perhitungan % Kadar Protein

$$\% \text{ Kadar protein} = \frac{\text{Bobot kadar Protein}}{\text{Bobot gelatin yang digunakan}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar protein} = \frac{29,0118 \text{ mg}}{50,03 \text{ mg}} \times 100\% = 57,9888\%$$

2. Abs bersih = 0,4437

a. Perhitungan Konsentrasi

$$y = bx \pm a$$

$$0,4437 = -0,0472 + 0,0339x$$

$$X = 11,6962 \mu\text{g/ml}$$

b. Perhitungan Kadar Protein

$$\text{Kadar Protein} = X \cdot F_p$$

$$= 11,6962 \mu\text{g/mL} \times (50 \text{ mL} \times \frac{5 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times \frac{5 \text{ mL}}{0,5 \text{ mL}})$$

$$\text{Kadar Protein} = 29240,4 \mu\text{g} = 29,2404 \text{ mg}$$

c. Perhitungan % Kadar Protein




$$\% \text{ Kadar protein} = \frac{\text{Bobot kadar Protein}}{\text{Bobot gelatin yang digunakan}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar protein} = \frac{29,2404 \text{ mg}}{50,29 \text{ mg}} \times 100\% = 58,1436\%$$

$$\% \text{ Kadar Protein Rata-rata} = \frac{57,9888\% + 58,1436\%}{2} = 58,0662 \%$$



### Lampiran 7 Organoleptis Tepung, Isolat, dan Hidrolisat Protein Kedelai

Tepung ampas kedelai	
Isolat Protein Kedelai	
Hidrolisat Protein Kedelai	



## Lampiran 8 Perhitungan Hasil Rendemen

### 1. Rendemen Tepung ampas kedelai

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{bobot kering (g)}}{\text{bobot basah (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{346,2 \text{ gram}}{528,8 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 66,09\%\end{aligned}$$

### 2. Rendemen Isolat protein Kedelai

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{bobot isolat (g)}}{\text{bobot tepung (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{117,9116 \text{ g}}{346,2 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 34.0588 \%\end{aligned}$$

### 3. Rendemen Hidrolisat protein Kedelai Optimasi Terpilih

$$\begin{aligned}\% \text{Rendemen} &= \frac{\text{Bobot Kering hidrolisat}}{\text{Bobot isolat}} \times 100\% \\ &= \frac{0,26 \text{ gram}}{2,5031 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 10,3781\%\end{aligned}$$

Perhitungan Rendemen Hidrolisat Protein Kedelai dari 15 perlakuan

Keterangan perlakuan: Enzim per substrat (%) / suhu inkubasi (C) / Waktu inkubasi (Jam)

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot hidrolisat protein kedelai (g)}}{\text{bobot isolat protein kedelai (g)}} \times 100\%$$

#### 1. 1,5/60/4

$$\begin{aligned}\% \text{ rendemen} &= \frac{0,0771}{0,5093} \times 100\% \\ &= 15,1384 \%\end{aligned}$$

#### 2. 1,5/65/3

$$\begin{aligned}\% \text{ rendemen} &= \frac{0,0881}{0,5094} \times 100\% \\ &= 17,2948 \%\end{aligned}$$



3. 1/60/3

$$\begin{aligned}\% \text{rendemen} &= \frac{0,0487}{0,5091} \times 100\% \\ &= 9,5698 \%\end{aligned}$$

4. 1/65/4

$$\begin{aligned}\% \text{rendemen} &= \frac{0,0586}{0,5099} \times 100\% \\ &= 11,4924\%\end{aligned}$$

5. 0,5/65/3

$$\begin{aligned}\% \text{rendemen} &= \frac{0,0305}{0,5097} \times 100\% \\ &= 5,9839\%\end{aligned}$$

6. 0,5/60/4

$$\begin{aligned}\% \text{rendemen} &= \frac{0,0311}{0,5098} \times 100\% \\ &= 6,1 \%\end{aligned}$$

7. 1/55/4

$$\begin{aligned}\% \text{rendemen} &= \frac{0,0575}{0,5098} \times 100\% \\ &= 11,2789 \%\end{aligned}$$

8. 0,5/60/2

$$\begin{aligned}\% \text{rendemen} &= \frac{0,0417}{0,5096} \times 100\% \\ &= 8,1828 \%\end{aligned}$$

9. 1/55/2

$$\begin{aligned}\% \text{rendemen} &= \frac{0,0470}{0,5095} \times 100\% \\ &= 9,2322 \%\end{aligned}$$

10. 1/65/2

$$\begin{aligned}\% \text{rendemen} &= \frac{0,0523}{0,5092} \times 100\% \\ &= 10,2710 \%\end{aligned}$$

11. 1/60/3



$$\% \text{ rendemen} = \frac{0,0522}{0,5099} \times 100\% \\ = 11,2373 \%$$

12. 1/60/3

$$\% \text{ rendemen} = \frac{0,0557}{0,5089} \times 100\% \\ = 10,9451 \%$$

13. 0,5/55/3

$$\% \text{ rendemen} = \frac{0,0368}{0,5096} \times 100\% \\ = 7,2213 \%$$

14. 1,5/60/2

$$\% \text{ rendemen} = \frac{0,0891}{0,5093} \times 100\% \\ = 17,4946 \%$$

15. 1,5/55/2

$$\% \text{ rendemen} = \frac{0,0786}{0,5097} \times 100\% \\ = 15,4208 \%$$



## Lampiran 9 Hasil Perhitungan Derajat Hidrolisis Hidrolisat dari 15 Perlakuan

Keterangan perlakuan: Enzim per substrat (%) / suhu inkubasi (C) / Waktu inkubasi (Jam)

$$\% \text{ Derajat Hidrolisis} = \frac{x \text{ Hidrolisat Protein TCA } 10\% \text{ (ug)}}{x \text{ Isolat Protein TCA } 10\% \text{ (ug)}} \times 100\%$$

Kadar konsentrasi protein terlarut TCA dari isolate protein kedelai = 15,2300885

1. 1,5/60/4

$$\begin{aligned} \text{Kadar Derajat Hidrolisis} &= \frac{15,6991}{15,2300} \times 100\% \\ &= 103,0796 \% \end{aligned}$$

2. 1,5/65/3

$$\begin{aligned} \text{Kadar Derajat Hidrolisis} &= \frac{13,8554}{15,2300} \times 100\% \\ &= 90,9742 \% \end{aligned}$$

3. 1/60/3

$$\begin{aligned} \text{Kadar Derajat Hidrolisis} &= \frac{14,5309}{15,2300} \times 100\% \\ &= 95,4096 \% \end{aligned}$$

4. 1/65/4

$$\begin{aligned} \text{Kadar Derajat Hidrolisis} &= \frac{15,1179}{15,2300} \times 100\% \\ &= 99,2639 \% \end{aligned}$$

5. 0,5/65/3

$$\begin{aligned} \text{Kadar Derajat Hidrolisis} &= \frac{12,4483}{15,2300} \times 100\% \\ &= 81,7354 \% \end{aligned}$$

6. 0,5/60/4

$$\begin{aligned} \text{Kadar Derajat Hidrolisis} &= \frac{12,6224}{15,2300} \times 100\% \\ &= 82,8781 \% \end{aligned}$$

7. 1/55/4

$$\begin{aligned} \text{Kadar Derajat Hidrolisis} &= \frac{13,1238}{15,2300} \times 100\% \\ &= 86,1708 \% \end{aligned}$$

8. 0,5/60/2

$$\begin{aligned} \text{Kadar Derajat Hidrolisis} &= \frac{12,9587}{15,2300} \times 100\% \\ &= 85,0861 \% \end{aligned}$$

9. 1/55/2

$$\begin{aligned} \text{Kadar Derajat Hidrolisis} &= \frac{14,6430}{15,2300} \times 100\% \\ &= 96,1454 \% \end{aligned}$$



10. 1/65/2

$$\begin{aligned}\text{Kadar Derajat Hidrolisis} &= \frac{15,0530}{15,2300} \times 100\% \\ &= 98,8378 \%\end{aligned}$$

11. 1/60/3

$$\begin{aligned}\text{Kadar Derajat Hidrolisis} &= \frac{14,8053}{15,2300} \times 100\% \\ &= 97,2109 \%\end{aligned}$$

12. 1/60/3

$$\begin{aligned}\text{Kadar Derajat Hidrolisis} &= \frac{13,4808}{15,2300} \times 100\% \\ &= 88,5144 \%\end{aligned}$$

13. 0,5/55/3

$$\begin{aligned}\text{Kadar Derajat Hidrolisis} &= \frac{13,8023}{15,2300} \times 100\% \\ &= 90,6256 \%\end{aligned}$$

14. 1,5/60/2

$$\begin{aligned}\text{Kadar Derajat Hidrolisis} &= \frac{14,5309}{15,2300} \times 100\% \\ &= 95,4096 \%\end{aligned}$$

15. 1,5/55/2

$$\begin{aligned}\text{Kadar Derajat Hidrolisis} &= \frac{15,4424}{15,2300} \times 100\% \\ &= 101,3945 \%\end{aligned}$$



**Lampiran 10 Lampiran Perhitungan Hasil Aktivitas Antioksidan  
Metode ABTS**

1. Hasil Aktivitas Antioksidan Metode ABTS pada Trolox

Abs blanko= 0,7858

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{abs uji}}{\text{Abs blanko}} \times 100\%$$

9 PPM		
Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,6815}{0,7858} \times 100\%$ $= 13,2731 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,6814}{0,7858} \times 100\%$ $= 13,2858 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,6813}{0,7858} \times 100\%$ $= 13,2985 \%$
11 PPM		
Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,601}{0,7858} \times 100\%$ $= 23,5174 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,6006}{0,7858} \times 100\%$ $= 23,5683 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,6001}{0,7858} \times 100\%$ $= 23,6319 \%$
13 PPM		
Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,5393}{0,7858} \times 100\%$ $= 31,3693 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,5395}{0,7858} \times 100\%$ $= 31,3438 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,5394}{0,7858} \times 100\%$ $= 31,3565 \%$
15 PPM		
Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,5905}{0,7858} \times 100\%$ $= 37,0577 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,5903}{0,7858} \times 100\%$ $= 37,03232 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,5902}{0,7858} \times 100\%$ $= 37,04505 \%$
17 PPM		
Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,5454}{0,7858} \times 100\%$ $= 45,1896 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,545}{0,7858} \times 100\%$ $= 45,1387 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,5488}{0,7858} \times 100\%$ $= 45,1641 \%$



## 2. Hasil Aktivitas Antioksidan Metode ABTS pada Isolat Protein Kedelai

Abs blanko= 0,7858

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{abs uji}}{\text{Abs blanko}} \times 100\%$$

60 PPM		
Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,6183}{0,7858} \times 100\%$ $= 21,3159\%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,6186}{0,7858} \times 100\%$ $= 21,2777\%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,6181}{0,7858} \times 100\%$ $= 21,3413\%$
80 PPM		
Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,61}{0,7858} \times 100\%$ $= 22,3721 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,6186}{0,7858} \times 100\%$ $= 22,3466\%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,6181}{0,7858} \times 100\%$ $= 22,38283$
100 PPM		
Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,6002}{0,7858} \times 100\%$ $= 23,6192 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,6004}{0,7858} \times 100\%$ $= 23,5938 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,6001}{0,7858} \times 100\%$ $= 23,63197 \%$
120 PPM		
Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,5905}{0,7858} \times 100\%$ $= 24,85365 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,5905}{0,7858} \times 100\%$ $= 24,8536 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,5900}{0,7858} \times 100\%$ $= 24,91728 \%$
140 PPM		
Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,5808}{0,7858} \times 100\%$ $= 26,0881 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,5808}{0,7858} \times 100\%$ $= 26,0881 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,5797}{0,7858} \times 100\%$ $= 26,228 \%$



### 3. Hasil Aktivitas Antioksidan Metode ABTS pada Hidrolisat Protein Kedelai

Abs blanko= 0,7858

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{abs uji}}{\text{Abs blanko}} \times 100\%$$

40 PPM		
Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,7189}{0,7858} \times 100\%$ $= 8,51367 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,7187}{0,7858} \times 100\%$ $= 8,5391 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,7185}{0,7858} \times 100\%$ $= 8,5645 \%$
45 PPM		
Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,6689}{0,7858} \times 100\%$ $= 14,8765 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,6686}{0,7858} \times 100\%$ $= 14,91474 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,668}{0,7858} \times 100\%$ $= 14,9911 \%$
50 PPM		
Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,63242}{0,7858} \times 100\%$ $= 19,5215 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,632}{0,7858} \times 100\%$ $= 19,5724 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,6319}{0,7858} \times 100\%$ $= 19,58514 \%$
55 PPM		
Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,5905}{0,7858} \times 100\%$ $= 24,85365 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,5903}{0,7858} \times 100\%$ $= 24,8791\%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,5902}{0,7858} \times 100\%$ $= 24,89183 \%$
60 PPM		
Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,5454}{0,7858} \times 100\%$ $= 30,5930 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,545}{0,7858} \times 100\%$ $= 30,6439 \%$	$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,7858 - 0,5488}{0,7858} \times 100\%$ $= 30,66938 \%$



**Lampiran 11 Lampiran Perhitungan Hasil Aktivitas Antioksidan**  
**Metode FRAP**

Hidrolisat Protein Kedelai		
Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
FeEAC= $\Delta A \times 5 \times 10^9$	FeEAC= $\Delta A \times 5 \times 10^9$	FeEAC= $\Delta A \times 5 \times 10^9$
FeEAC= $0,1621 \times 5 \times 10^9$	FeEAC= $0,1623 \times 5 \times 10^9$	FeEAC= $0,1625 \times 5 \times 10^9$
FeEAC= 810500000 $\mu\text{Mol/g}$	FeEAC= 811500000 $\mu\text{Mol/g}$	FeEAC= 812500000 $\mu\text{Mol/g}$
FeEAC= 810,5 Mol/g	FeEAC= 811,5 Mol/g	FeEAC= 812,5 Mol/g

Isolat Protein Kedelai		
Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
FeEAC= $\Delta A \times 5 \times 10^9$	FeEAC= $\Delta A \times 5 \times 10^9$	FeEAC= $\Delta A \times 5 \times 10^9$
FeEAC= $0,1411 \times 5 \times 10^9$	FeEAC= $0,1411 \times 5 \times 10^9$	FeEAC= $0,1410 \times 5 \times 10^9$
FeEAC= 705500000 $\mu\text{Mol/g}$	FeEAC= 705500000 $\mu\text{Mol/g}$	FeEAC= 705000000 $\mu\text{Mol/g}$
FeEAC= 705,5 Mol/g	FeEAC= 705,5 Mol/g	FeEAC= 705 Mol/g

Butylated Hidroxytoluene (BHT)		
Replikasi I	Replikasi II	Replikasi II
FeEAC= $\Delta A \times 5 \times 10^9$	FeEAC= $\Delta A \times 5 \times 10^9$	FeEAC= $\Delta A \times 5 \times 10^9$
FeEAC= $0,477 \times 5 \times 10^9$	FeEAC= $0,481 \times 5 \times 10^9$	FeEAC= $0,479 \times 5 \times 10^9$
FeEAC= 2385 Mol/g	FeEAC= 2405 Mol/g	FeEAC= 2395 Mol/g



## Lampiran 12 Dokumentasi Analisis Aktivitas Antioksidan Metode ABTS

Pembuatan larutan deret standar baku pembanding dan preparasi sampel



Hasila absorbansi penelitian



No.	Sample Name	Abs	S + Abs
001	BLANK	0.7867	0.7867
002	SAMPLE2	0.7856	0.7856
003	SAMPLE3	0.7853	0.7853
004	SAMPLE4	0.7852	0.7852
005	SAMPLE5	0.7853	0.7853
006	SAMPLE6	0.7858	0.7858



No.	Sample Name	Abs	S + Abs
001	9 PPM T	0.6815	0.6815
002	SAMPLE2	0.6816	0.6816
003	SAMPLE3	0.6815	0.6815
004	SAMPLE4	0.6814	0.6814
005	SAMPLE5	0.6815	0.6815
006	SAMPLE6	0.6813	0.6813



No.	Sample Name	Abs	S + Abs
001	11 PPM T	0.6012	0.6012
002	SAMPLE2	0.6010	0.6010
003	SAMPLE3	0.6008	0.6008
004	SAMPLE4	0.6006	0.6006
005	SAMPLE5	0.6001	0.6001
006	SAMPLE6	0.6004	0.6004



Photometric Ready

Parameters Attachments Photo Table

K Factor [ 1.0000 ] 724.0 m

No.	Sample Name	Abs	K * Abs	100/10
001	11 PPM 1	0.6012	0.6012	
002	SAMPLE2	0.6010	0.6010	
003	SAMPLE3	0.6008	0.6008	
004	SAMPLE4	0.6006	0.6006	
005	SAMPLE5	0.6001	0.6001	
006	SAMPLE6	0.6004	0.6004	

Print Auto Zero Start

SHIMADZU

Photometric Ready

Parameters Attachments Photo Table

K Factor [ 1.0000 ] 742.0 m

No.	Sample Name	Abs	K * Abs	100/10
011	SAMPLE11	0.6100	0.6100	
012	SAMPLE12	0.6099	0.6099	
013	BO 1	0.6183	0.6183	
014	SAMPLE14	0.6186	0.6186	
015	SAMPLE15	0.6183	0.6183	
016	SAMPLE16	0.6181	0.6181	
017	SAMPLE17	0.6182	0.6182	
018	SAMPLE18	0.6182	0.6182	

Print Auto Zero Start

Photometric Ready

Parameters Attachments Photo Table

K Factor [ 1.0000 ] 742.0 m

No.	Sample Name	Abs	K * Abs	127/12
005	SAMPLE5	0.6003	0.6003	
006	SAMPLE6	0.6001	0.6001	
007	BO 1	0.6103	0.6103	
008	SAMPLE8	0.6100	0.6100	
009	SAMPLE9	0.6102	0.6102	
010	SAMPLE10	0.6099	0.6099	
011	SAMPLE11	0.6100	0.6100	
012	SAMPLE12	0.6099	0.6099	

Print Auto Zero Start

SHIMADZU

Photometric Ready

Parameters Attachments Photo Table

K Factor [ 1.0000 ] 742.0 m

No.	Sample Name	Abs	K * Abs	116
001	100 1	0.6004	0.6004	
002	SAMPLE2	0.6002	0.6002	
003	SAMPLE3	0.6002	0.6002	
004	SAMPLE4	0.6002	0.6002	
005	SAMPLE5	0.6003	0.6003	
006	SAMPLE6	0.6001	0.6001	

Print Auto Zero Start

Photometric Ready


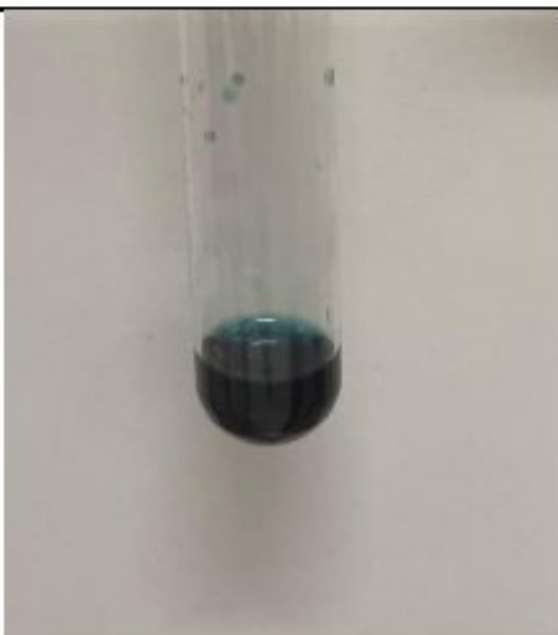
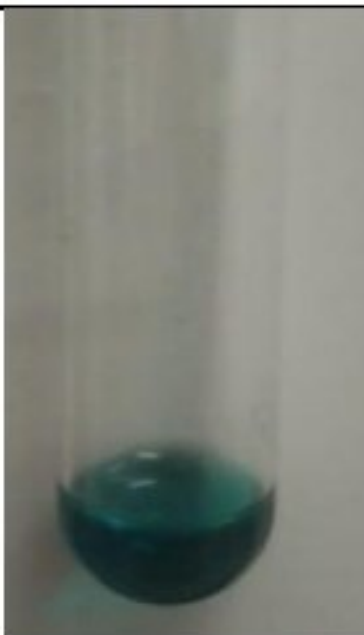
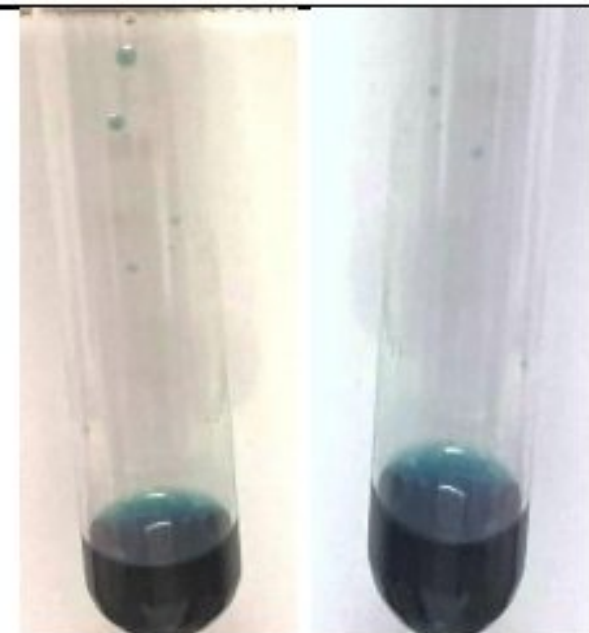
Parameters Attachments Photo Table

K Factor [ 1.0000 ] 160/16

No.	Sample Name	Abs	K * Abs
009	SAMPLE9	0.5902	0.5902
010	SAMPLE10	0.5903	0.5903
011	SAMPLE11	0.5906	0.5906
012	SAMPLE12	0.5906	0.5906
013	SAMPLE13	0.6324	0.6324
014	SAMPLE14	0.6319	0.6319
015	SAMPLE15	0.6320	0.6320
016	SAMPLE16	0.6323	0.6323







Print Auto Zero Start




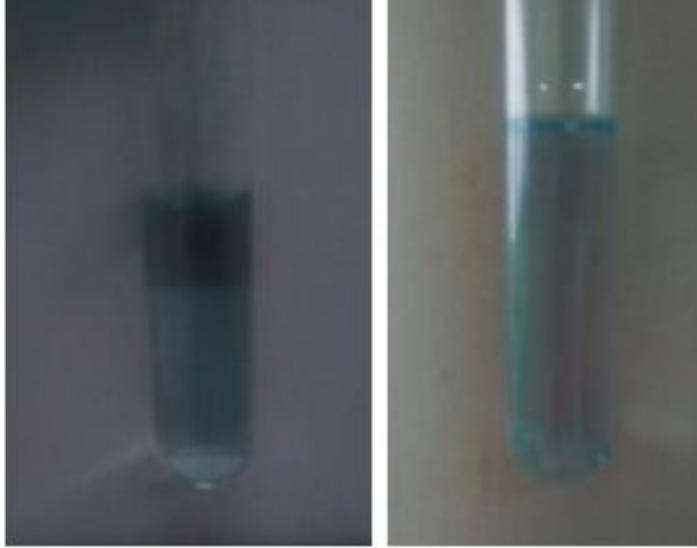
	 <table><tr><th>Sample Name</th><th>Abs</th><th>A x Abs</th></tr><tr><td>001 45.8</td><td>0.6687</td><td>0.6687</td></tr><tr><td>002 SAMPLE5</td><td>0.6689</td><td>0.6689</td></tr><tr><td>003 SAMPLE6</td><td>0.6686</td><td>0.6686</td></tr><tr><td>004 SAMPLE7</td><td>0.6679</td><td>0.6679</td></tr><tr><td>005 SAMPLE8</td><td>0.6680</td><td>0.6680</td></tr><tr><td>006 SAMPLE9</td><td>0.6679</td><td>0.6679</td></tr></table>	Sample Name	Abs	A x Abs	001 45.8	0.6687	0.6687	002 SAMPLE5	0.6689	0.6689	003 SAMPLE6	0.6686	0.6686	004 SAMPLE7	0.6679	0.6679	005 SAMPLE8	0.6680	0.6680	006 SAMPLE9	0.6679	0.6679
Sample Name	Abs	A x Abs																				
001 45.8	0.6687	0.6687																				
002 SAMPLE5	0.6689	0.6689																				
003 SAMPLE6	0.6686	0.6686																				
004 SAMPLE7	0.6679	0.6679																				
005 SAMPLE8	0.6680	0.6680																				
006 SAMPLE9	0.6679	0.6679																				
Radikal ABTS																						
BHT bereaksi dengan reagen ABTS																						
Sampel bereaksi dengan reagen ABTS																						



## Lampiran 13 Dokumentasi Analisis Aktivitas Antioksidan Metode Frap

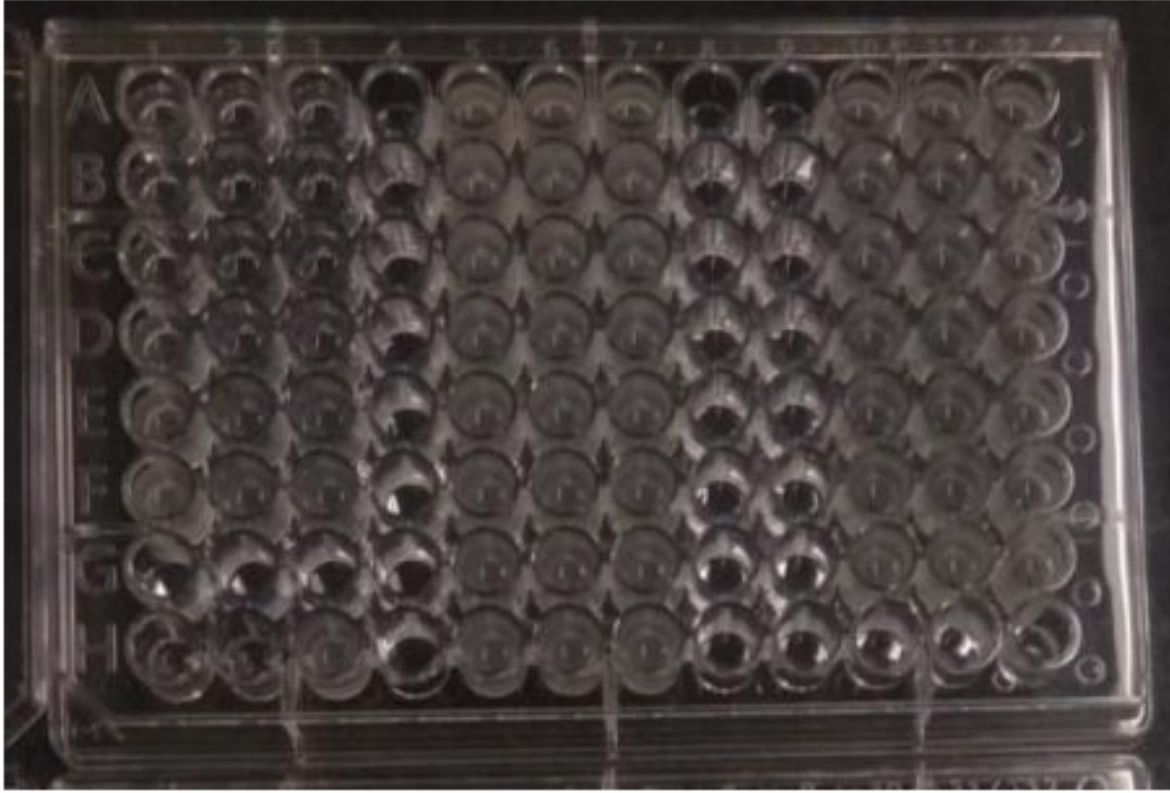
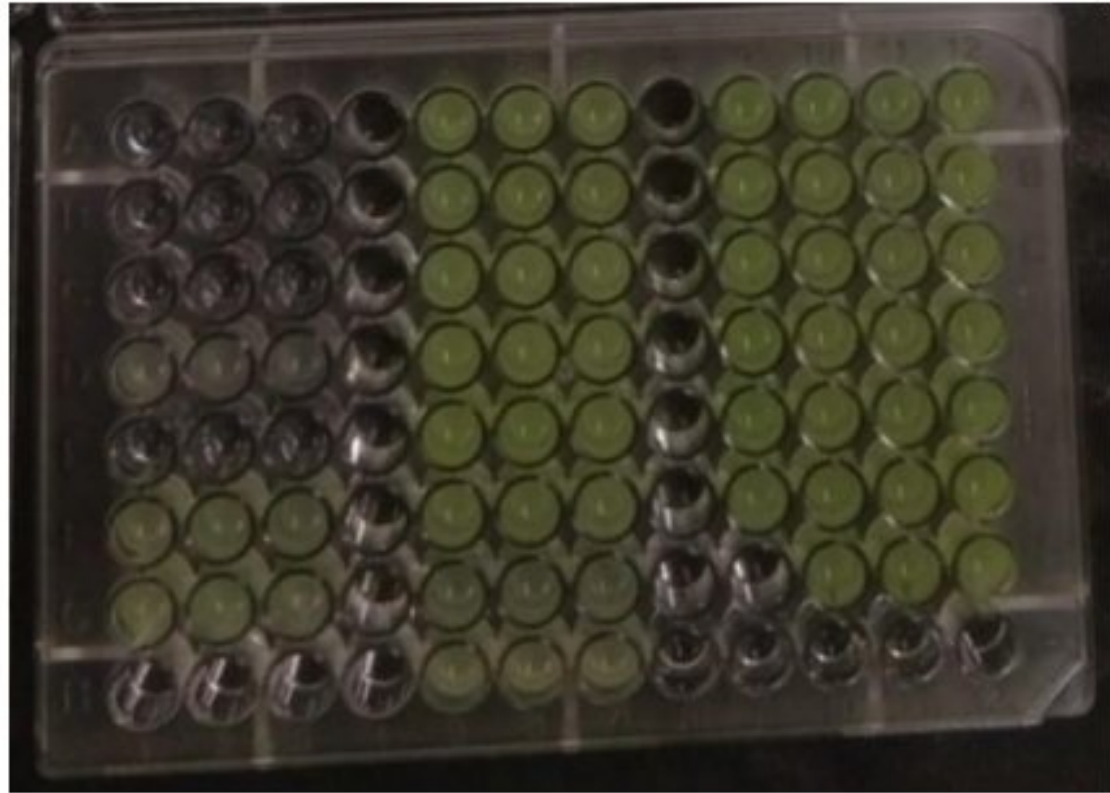
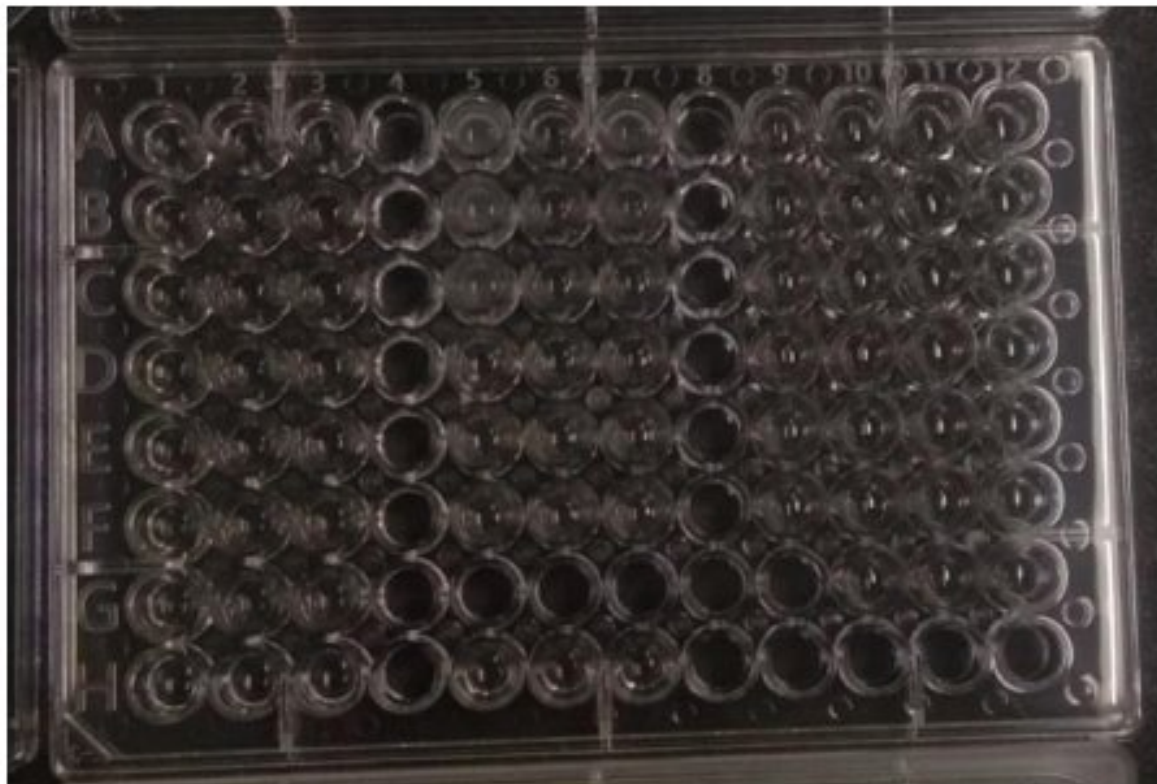
Pembuatan larutan deret standar baku pembanding dan preparasi sampel																																																																																																
Hasila absorbansi penelitian	<div><table><thead><tr><th>No.</th><th>Sample Name</th><th>Abs</th><th>E × Abs</th><th>1/3</th></tr></thead><tbody><tr><td>001</td><td>HSP</td><td>0.2677</td><td>0.2677</td><td>-</td></tr><tr><td>002</td><td>HSP</td><td>0.2679</td><td>0.2679</td><td>-</td></tr><tr><td>003</td><td>HSP</td><td>0.2681</td><td>0.2681</td><td>-</td></tr></tbody></table></div> <div><table><thead><tr><th>No.</th><th>Sample Name</th><th>Abs</th><th>E × Abs</th><th>1/3</th></tr></thead><tbody><tr><td>001</td><td>IPK</td><td>0.2467</td><td>0.2467</td><td>-</td></tr><tr><td>002</td><td>SAMPLE2</td><td>0.2467</td><td>0.2467</td><td>-</td></tr></tbody></table></div> <div><table><thead><tr><th>No.</th><th>Sample Name</th><th>Abs</th><th>E × Abs</th><th>1/3</th></tr></thead><tbody><tr><td>001</td><td>SAMPLE1</td><td>0.3291</td><td>0.3291</td><td>-</td></tr><tr><td>002</td><td>SAMPLE2</td><td>0.3288</td><td>0.3288</td><td>-</td></tr><tr><td>003</td><td>SAMPLE3</td><td>0.3288</td><td>0.3288</td><td>-</td></tr><tr><td>004</td><td>SAMPLE4</td><td>0.3286</td><td>0.3286</td><td>-</td></tr><tr><td>005</td><td>SAMPLE5</td><td>0.3285</td><td>0.3285</td><td>-</td></tr><tr><td>006</td><td>SAMPLE6</td><td>0.3284</td><td>0.3284</td><td>-</td></tr><tr><td>007</td><td>SAMPLE7</td><td>0.3276</td><td>0.3276</td><td>-</td></tr></tbody></table></div> <div><table><thead><tr><th>No.</th><th>Sample Name</th><th>Abs</th><th>E × Abs</th><th>1/3</th></tr></thead><tbody><tr><td>001</td><td>BLANK</td><td>0.1056</td><td>0.1056</td><td>-</td></tr><tr><td>002</td><td>SAMPLE2</td><td>0.1056</td><td>0.1056</td><td>-</td></tr><tr><td>003</td><td>SAMPLE3</td><td>0.1056</td><td>0.1056</td><td>-</td></tr></tbody></table></div>	No.	Sample Name	Abs	E × Abs	1/3	001	HSP	0.2677	0.2677	-	002	HSP	0.2679	0.2679	-	003	HSP	0.2681	0.2681	-	No.	Sample Name	Abs	E × Abs	1/3	001	IPK	0.2467	0.2467	-	002	SAMPLE2	0.2467	0.2467	-	No.	Sample Name	Abs	E × Abs	1/3	001	SAMPLE1	0.3291	0.3291	-	002	SAMPLE2	0.3288	0.3288	-	003	SAMPLE3	0.3288	0.3288	-	004	SAMPLE4	0.3286	0.3286	-	005	SAMPLE5	0.3285	0.3285	-	006	SAMPLE6	0.3284	0.3284	-	007	SAMPLE7	0.3276	0.3276	-	No.	Sample Name	Abs	E × Abs	1/3	001	BLANK	0.1056	0.1056	-	002	SAMPLE2	0.1056	0.1056	-	003	SAMPLE3	0.1056	0.1056	-
No.	Sample Name	Abs	E × Abs	1/3																																																																																												
001	HSP	0.2677	0.2677	-																																																																																												
002	HSP	0.2679	0.2679	-																																																																																												
003	HSP	0.2681	0.2681	-																																																																																												
No.	Sample Name	Abs	E × Abs	1/3																																																																																												
001	IPK	0.2467	0.2467	-																																																																																												
002	SAMPLE2	0.2467	0.2467	-																																																																																												
No.	Sample Name	Abs	E × Abs	1/3																																																																																												
001	SAMPLE1	0.3291	0.3291	-																																																																																												
002	SAMPLE2	0.3288	0.3288	-																																																																																												
003	SAMPLE3	0.3288	0.3288	-																																																																																												
004	SAMPLE4	0.3286	0.3286	-																																																																																												
005	SAMPLE5	0.3285	0.3285	-																																																																																												
006	SAMPLE6	0.3284	0.3284	-																																																																																												
007	SAMPLE7	0.3276	0.3276	-																																																																																												
No.	Sample Name	Abs	E × Abs	1/3																																																																																												
001	BLANK	0.1056	0.1056	-																																																																																												
002	SAMPLE2	0.1056	0.1056	-																																																																																												
003	SAMPLE3	0.1056	0.1056	-																																																																																												
Reagen Frap																																																																																																



Trolox bereaksi dengan reagen FRAP	
Sampel bereaksi dengan reagen FRAP	



# **Lampiran 14 Dokumentasi Pengujian Aktivitas Antibakteri Mikrodilusi IC 50**

<p>Uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i></p>	
<p>Uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i></p>	
<p>Kontrol Uji</p>	



## Lampiran 15 COA TPTZ



[www.sigmaaldrich.com](http://www.sigmaaldrich.com)

### Certificate of Analysis

<b>Product Name:</b>	2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine for spectrophotometric det. of Fe, >= 98 %	
<b>Product Number:</b>	T1253	
<b>Batch Number:</b>	BCCH3026	
<b>CAS Number:</b>	3682-35-7	
<b>Formula:</b>	$C_{18}H_{12}N_6$	
<b>Formula Weight:</b>	312.33	
<b>Quality Release Date:</b>	22 MAR 2022	

TEST	SPECIFICATION	RESULT
APPEARANCE (COLOR)	WHITE TO LIGHT YELLOW TO LIGHT BEIGE	FAINT BEIGE
APPEARANCE (FORM)	POWDER	POWDER
PURITY (HPLC AREA %)	≥ 98.0 %	99.9 %
SOLUBILITY (COLOR)	GREEN-YELLOW TO VERY DARK GREEN-VERY DARK BROWN-YELLOW -YELLOW TO VERY DARK BROWN	
SOLUBILITY (TURBIDITY)	CLEAR TO SLIGHTLY HAZY	SLIGHTLY HAZY
SOLUBILITY (METHOD)	100MG/ML METHANOL	100MG/ML METHANOL
INFRARED SPECTRUM	CONFORMS TO STRUCTURE	CONFORMS

  
Dr. Reinhold Schwenninger  
Quality Assurance  
Buchs, Switzerland

Sigma-Aldrich warrants that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current specification sheet may be available at [Sigma-Aldrich.com](http://Sigma-Aldrich.com). For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

The vibrant M and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates.  
Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.  
© 2018 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All Rights Reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the US and Canada.



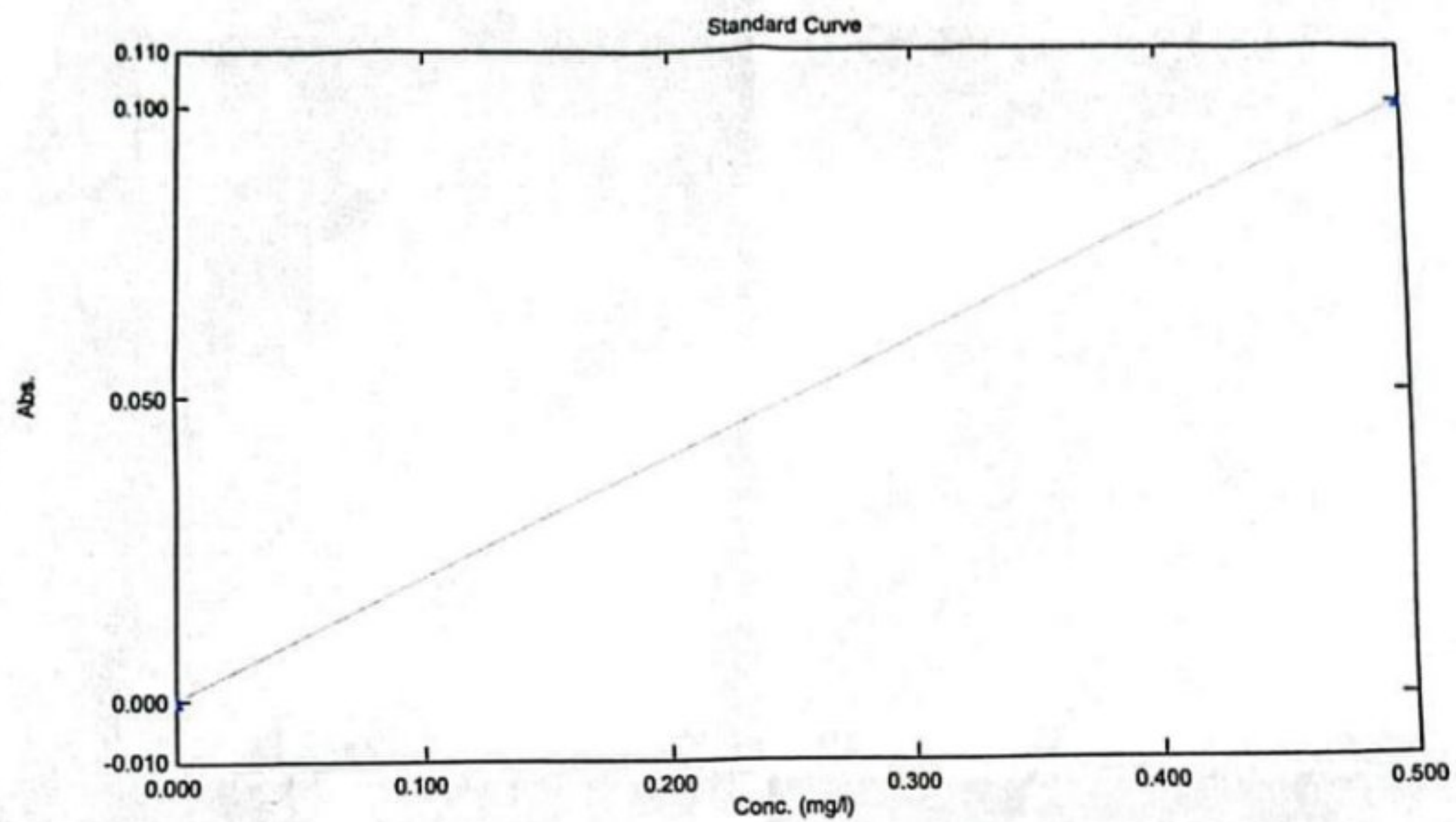
Page 1 of 1



## Lampiran 16 Standar Mac Farland 0,5

### Standard Table Report

File Name: By Laboratory McFarland 0,5.



Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL625.0	WgtFactor	Comments
1	Blanko	Standard		0.000	0.000	1.000	
2	McFarland	Standard		0.500	0.100	1.000	
3							



## Lampiran 17 COA Trolox

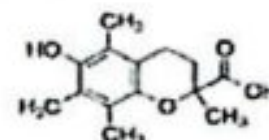
Sigma-Aldrich

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA  
Website: [www.sigmaaldrich.com](http://www.sigmaaldrich.com)  
Email USA: [techserv@sial.com](mailto:techserv@sial.com)  
Outside USA: [eurtechserv@sial.com](mailto:eurtechserv@sial.com)

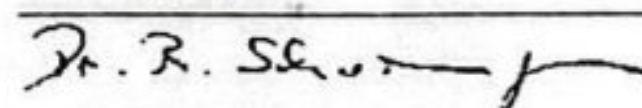
### Certificate of Analysis

Product Name:  
(±)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid - 97%

Product Number: 238813  
Batch Number: BCKK5928  
Brand: ALDRICH  
CAS Number: 53188-07-1  
Formula: C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>O<sub>4</sub>  
Formula Weight: 250.29 g/mol  
Storage Temperature: Store at 2 - 8 °C  
Quality Release Date: 21 JUN 2023



Test	Specification	Result
Appearance (Color)	White to Light Beige	Faint Beige
Appearance (Form)	Powder or Chunks	Powder
Titration with NaOH	98.5 - 103.5 %	99.2 %
Infrared Spectrum	Conforms to Structure	Conforms



Dr. Reinhold Schwenninger  
Quality Assurance  
Buchs, Switzerland CH

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at [Sigma-Aldrich.com](http://Sigma-Aldrich.com). For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.



Version Number: 1

Page 1 of 1



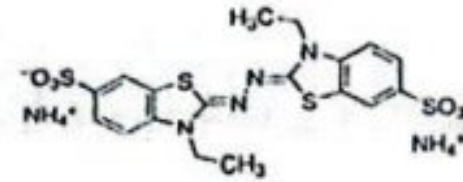
## Lampiran 18 COA ABTS

**Sigma-Aldrich**

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA  
Website: [www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)  
Email USA: [techserv@sial.com](mailto:techserv@sial.com)  
Outside USA: [eurtechserv@sial.com](mailto:eurtechserv@sial.com)

### Certificate of Analysis

Product Name : 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt ≥98% (HPLC)  
Product Number : A1889-VAR  
Batch Number : 0000347275  
Source Batch : 0000336700  
CAS Number : 30931-67-0  
Storage Temperature : +2°C to +8°C  
Molecular Formula :  $C_{18}H_{18}N_4O_6S_4$   
Formula Weight : 548.68 g/mol  
Recommended Retest Date : May 2028  
Quality Release Date : 21 May 2024



Test	Specification	Result
Appearance (Color)	Faint Green to Green and Light Green-Yellow to Dark Green-Yellow	Faint Green
Appearance (Form)	Powder	Powder
Solubility (Color)	Very Faint Green to Green to Green-Yellow	Faint Green
Solubility (Turbidity)	Clear to Slightly Hazy	Clear
10 mg/mL, H <sub>2</sub> O		
Water (by Karl Fischer)	≤ 2 %	1 %
Suitability	Suitable	Suitable
Suitable as a reagent for peroxidase		
Purity (HPLC)	≥ 98 %	100 %
<sup>13</sup> C NMR Identity	Conforms to Structure	Conforms
Proton NMR Spectrum	Conforms to Structure	Conforms

*J. Yasomanee*

Jagodige Yasomanee, Supervisor  
Quality Assurance  
St. Louis, Missouri  
US

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at [Sigma-Aldrich.com](http://Sigma-Aldrich.com). For further inquiries, please contact Technical Service. Purchase must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of website or packing slip for additional terms and conditions of sale.

Version Number: 01 Doc: 1160672

Page 1 of 1





Lampiran 19 COA Besi (III) Klorida Heksahidrat



Specification

1.03943.9025 Iron(III) chloride hexahydrate for analysis EMSURE® ACS,Reag. Ph Eur

Specification		
Assay (iodometric, FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O)	99.0 - 102.0	%
Identity	passes test	
Insoluble matter	≤ 0.01	%
Free chlorine	passes test	
Acidic substances	passes test	
Nitrate (NO <sub>3</sub> )	≤ 0.01	%
Sulfate (SO <sub>4</sub> )	≤ 0.01	%
Total nitrogen (N)	≤ 0.001	%
Total phosphorus (as PO <sub>4</sub> )	≤ 0.01	%
Heavy metals (as Pb)	≤ 0.005	%
Ca (Calcium)	≤ 0.01	%
Cu (Copper)	≤ 0.003	%
Fe II (Iron II)*	≤ 0.002	%
K (Potassium)	≤ 0.005	%
Mg (Magnesium)	≤ 0.005	%
Na (Sodium)	≤ 0.05	%
Zn (Zinc)	≤ 0.003	%


\* The Fe(II)-content increases if the recommended storage conditions (+15 to +25 °C) are not observed.

Dr. Dimitrij Ryvlin  
Responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature.



## Lampiran 20 COA Coomassie Brilliant Blue



### Certificate of Analysis


1.15444.0000 Coomassie® Brilliant blue G 250 (C.I. 42655) for electrophoresis  
Batch K52655944

	Spec. Values		Batch Values	
Identity (UV/VIS-Spectrum)	passes test		passes test	
Absorption maximum $\lambda_{max}$ (buffer pH 7.0)	577 - 584	nm	577 - 584	nm
Spec. Absorptivity A 1%/1cm ( $\lambda_{max}$ : 0.01 g/l; buffer pH 7.0; calc. on dried substance)	450 - 570		451	
TLC-Test	passes test		passes test	
Loss on drying (110 °C)	≤ 8	%	5	%
Suitability for electrophoresis	passes test		passes test	

Minimum shelf life (DD.MM.YYYY) 31.08.2025

Dr. Michael Memmel  
Responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature.



Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt (Germany); +49 6151 72-0  
EMD Millipore Corporation - a subsidiary of Merck KGaA, Darmstadt, Germany  
400 Summit Drive, Burlington, MA 01803, USA, Phone +1 (781) 533-6000  
SALSA Version 983775 /990000799252// Date: 03.08.2020

Page 1 of 1



## **Riwayat Hidup**



Gulsyaniraz Qadhi Zakka, lahir di Bandar Lampung, 21 Oktober 1997. Pendidikan dasar diselesaikan di SD Negeri 5 Penengahan di Bandar Lampung pada tahun 2009, kemudian SMP Negeri 10 Bandar Lampung pada tahun 2012 dan SMA YP UNILA pada tahun 2015. Menyelesaikan pendidikan tinggi di Poltekkes Jakarta II Prodi DIII Analisis Farmasi dan Makanan pada tahun 2018 dan menyelesaikan pendidikan Prodi S1 Teknologi Pangan Universitas Sahid pada tahun 2021.

Karir sebagai Analis Laboratorium di Fakultas Farmasi Universitas Pancasila tahun 2020 sampai dengan sekarang dan Pendamping Proses Produk Halal di LPPPH EWI tahun 2023 sampai dengan sekarang. Selain itu, penulis juga mengajar sebagai tutor kimia SMA di Brilliant Hope (BRIHO) Bimbel pada tahun 2018 sampai sekarang.