

Perbandingan Pembacaan Absorbansi Menggunakan Spectronic 20 D+ dan Spectrophotometer UV-Vis T 60U Dalam Penentuan Kadar Protein dengan Larutan Standar BSA

Sri Harjanto^{a*}

a Pranata Laboratorium Pendidikan, Departemen Kimia FSM UNDIP, Jl. Prof. H. Soedarto, S.H, Tembalang, Semarang 50275

* Corresponding author: sri.harjanto69@gmail.com

Article Info

Keywords:

Protein, spectronic 20D +, UV-vis T60U spectrophotometer

Kata kunci:

Protein, spectronic 20D +, spectrophotometer UV-vis T60U

Abstract

Comparative test was performed on Absorbance reading of Protein Protein Determination using Spectronic 20 D + and spectrophotometer uv-vis T 60U at 600 nm wavelength. Determination of protein content by lowry method was done by making standard solution with various concentration level, then from each concentration was taken 1 mL and added solution of lowry B, then left for 10 minutes and then added lowry solution A to be left for 20 minutes ago measured its absorbance at 600 nm wavelength. The result of measurement of absorbance using spectronic 20D + shows the value of $R_2 = 0,9927$ while for Spectrophotometer uv-vis T 60U shows value $R_2 = 0,9971$. It can be concluded that the measurement of absorbance for both instruments did not differ significantly.

Abstrak

Telah dilakukan uji perbandingan pada pembacaan Absorbansi dari penentuan kadar Protein menggunakan Spectronic 20 D+ dan spectrophotometer uv-vis T 60U pada panjang gelombang 600 nm. Penentuan kadar protein menurut metode lowry dilakukan dengan cara membuat larutan standar dengan berbagai tingkat konsentrasi, kemudian dari masing-masing konsentrasi tersebut diambil 1 mL dan ditambahkan larutan lowry B, kemudian dibiarkan selama 10 menit dan kemudian ditambahkan larutan lowry A untuk dibiarkan selama 20 menit lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 600 nm. Hasil penelitian pengukuran absorbansi menggunakan spectronic 20D+ menunjukkan nilai $R_2 = 0,9927$ sedangkan untuk Spectrophotometer uv-vis T 60U menunjukkan nilai $R_2 = 0,9971$. Hal ini dapat disimpulkan bahwa pengukuran absorbansi untuk kedua instrumen tidak berbeda secara signifikan.

1. Pendahuluan

Protein merupakan senyawa organik kompleks yang mempunyai bobot molekul tinggi dan merupakan polimer dari monomer-monomer asam amino. Protein terdapat hampir disegala macam makanan seperti susu, telur, daging, biji-bijian. Protein berfungsi bagi tubuh antara lain sebagai penyedia bahan-bahan untuk pertumbuhan, pemeliharaan sel-sel jaringan tubuh.

Ada berbagai cara untuk melakukan pengujian terhadap protein baik secara kualitatif maupun

kuantitatif. Adapun untuk uji kuantitatif bisa menggunakan metode Lowry.

Kandungan protein dari suatu sampel dapat dianalisis dengan bantuan menggunakan instrument spectronic 20D+ dan spectrophotometer uv-vis T60U. Untuk memperoleh keseksamaan hasil dari kedua instrumen tersebut maka perlu diadakan uji banding harga r dengan persamaan $y=mx+c$

Pada Spectro sinar tampak seperti Spectronic 20D+ ini sumber cahaya biasanya menggunakan lampu tungsten atau lampu wolfram, jadi panjang gelombang yang digunakan biasanya tinggi, maka data yang

diperoleh biasanya makin akurat atau kesalahan yang muncul makin kecil. Berdasarkan hukum Lambert Beer: Absorbansi akan berbanding lurus dengan konsentrasi.

2. Metodologi penelitian

Alat: Dalam penelitian ini alat yang digunakan adalah Spectronic 20D+ merk Thermo scientific, Spectrophotometer uv-vis T60U merk PG Instrument Limited, Neraca analitik, inkubator, pH meter, almari pendingin dan seperangkat alat gelas. **Bahan:** Adapun untuk bahannya antara lain larutan standar BSA dengan berbagai konsentrasi, akuades, Larutan Lowry A, merupakan campuran larutan asam fosfo-tungstat-fosfo molibdat dengan akuades (1: 1). Larutan Lowry B, merupakan campuran 100 ml larutan Na₂CO₃ 2 % dalam larutan NaOH 0,1 N dengan 1 ml CuSO₄ 5 H₂O 1 % dan 1 ml K-Na Tartrat 2 %.

Eksperimen

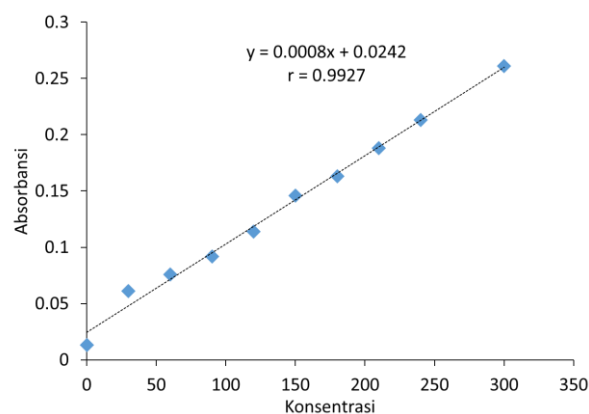
Metode Lowry, dengan cara membuat larutan standar protein, Bovine Serum Albumine (BSA) dengan berbagai tingkat konsentrasi dari 30-300 µg/ml, kemudian masing-masing diambil 1 ml .Masukan kedalam tabung reaksi . Tambahkan ke dalam masing-masing tabung 8 ml reagen Lowry B dan biarkan pada suhu kamar selama 10 menit. Kemudian tambahkan 1 ml reagen Lowry A, gojog dan biarkan selama 20 menit. Kemudian dibaca Absorbansi pada panjang gelombang 600 nm dengan menggunakan Spectronic 20D+ dan Spectrophotometer uv-vis T60U.

3. Hasil dan pembahasan

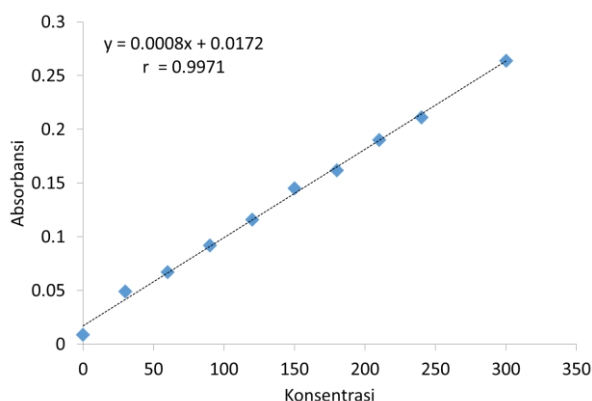
Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini persamaan $y = mx+c$ dengan harga $r = 0,9927$ untuk spectronic 20D+ dan harga $r = 0,9971$ untuk spectrophotometer uv-vis T60U. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pembacaan Absorbansi dengan menggunakan instrumen Spectronic 20 D+ dan Spectrophotometer uv-vis T60U mempunyai perbedaan harga r sebesar 0,0044. Harga ini sangat kecil

Tabel 1. Data pengamatan

No	Konsentrasi (µg/ml)	Pembacaan Absorbansi	
		Spectronic 20D+	Spectrophotometer UV-vis T60U
1	0	0,013	0,009
2	30	0,061	0,049
3	60	0,076	0,067
4	90	0,092	0,092
5	120	0,114	0,116
6	150	0,146	0,145
7	180	0,163	0,162
8	210	0,188	0,190
9	240	0,213	0,211
10	300	0,261	0,264
		$r = 0,9927$	$r = 0,9971$
		$Y = 0,0008 x + 0,0242$	$Y = 0,0008 x + 0,0172$



Gambar 1. Kurva standar dengan Spectronic 20D+



Gambar 2. Kurva standar dengan Spectrophotometer uv-vis T60U

Dalam uji protein dengan metode lowry yang perlu diperhatikan adalah penggunaan reagen lowry A dan lowry B harus dalam kondisi baru, karena mudah sekali rusak teroksidasi juga waktu penidiamannya harus tepat.

Demikian juga saat pembacaan Absorbansi dipilih dua buah kuvet yang mempunyai tingkat baca absorbansi yang sama atau hampir sama (untuk sampel dan blanko).

4. Kesimpulan

Dalam uji protein dengan menggunakan larutan standar BSA dan metode Lowry diperoleh hasil pembacaan dengan Spectronic D20+ harga $r = 0,9927$ sedangkan dengan Spectrophotometer uv-vis T60U diperoleh harga $r = 0,9971$. Terpautnya harga r sebesar 0,0044 sangat kecil, sehingga dapat disimpulkan bahwa dalam penelitian ini untuk pembacaan Absorbansi dari kedua instrumen tersebut tidak ada perbedaan secara signifikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad H., (1992), *Kimia Unsur dan Radiokimia*. PT Citra Aditya Bakti, Bandung, halaman 122 - 123.
- Scopes.K.Robert, 1982, *Protein Purification Principles and Practice*, Springer-Verlag New York and Heidelberg Berlin, 265.
- Sudarmadji S. dkk, 1989, *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*, Liberty, Yogyakarta, 145
- Mulyono HAM, (2005) *Membuat Reagen Kimia di Laboratorium*, PT Bumi Aksara, Jakarta, halaman 174.

Fri J. and Getrost H., (1975), *Organic Reagents for Trace Analysis*, E. Merck, Darmstadt. p 22 - 25.

Miller J.C. and Miller J.N., (1988), *Statistics for Analytical Chemistry*, 2nd edition, John Wiley & Sons, New York, p 55-58.