

Kajian Asam Amino Pada Berbagai Sumber Protein Sebagai Sumber Pembelajaran Biokimia Kontekstual Berbasis Praktikum

Siti Suryaningsih^{1*}, Ade Sofie Fauziyah², Dea Amelia Qaramitha³, Lussie Septiawati⁴,
Syakina Shalsabila Dwiwani⁵

^{1,2,3,4,5}Tadris Kimia, Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, Tangerang Selatan, Banten

*Penulis Korespondensi : siti.suryaningsih@uinjkt.ac.id

Abstrak

Asam amino merupakan bagian penting penyusun protein yang berperan dalam menentukan kualitas gizi suatu pangan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi asam amino spesifik pada berbagai sumber protein serta mengaitkannya dengan pembelajaran biokimia yang kontekstual melalui kegiatan praktikum. Penelitian dilakukan dengan desain eksperimen laboratorium menggunakan pendekatan deskriptif kualitatif melalui uji Hopkins–Cole, Millon, dan ninhidrin. Sampel yang dianalisis meliputi gelatin, albumin, kasein, glisin, serta bahan pangan seperti telur, susu, tempe, dan kacang tanah. Data dikumpulkan melalui pengamatan perubahan visual, seperti terbentuknya cincin, perubahan warna, endapan, dan tingkat kekeruhan, kemudian dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa albumin dan kasein memberikan respons yang paling jelas, yang menandakan adanya triptofan, tirosin, dan gugus amina bebas. Perbedaan respons antar sampel menunjukkan bahwa struktur kimia dan ketersediaan asam amino memengaruhi reaksi terhadap reagen. Selain itu, kegiatan praktikum ini berpotensi membantu mengaitkan konsep struktur dan fungsi protein dengan kondisi nyata pada bahan pangan. Dengan demikian, uji biokimia kualitatif dapat dimanfaatkan sebagai langkah awal dalam identifikasi asam amino sekaligus sebagai media pembelajaran biokimia yang kontekstual. Namun, penelitian ini masih terbatas pada analisis kualitatif, sehingga penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan analisis kuantitatif serta mengembangkan modul praktikum yang lebih inovatif.

Kata kunci: asam amino, Hopkins–Cole, Millon, Ninhidrin, sumber protein pangan, uji biokimia

1. Pendahuluan

Asam amino merupakan unit dasar penyusun protein yang berperan penting dalam menunjang pertumbuhan, perbaikan jaringan, serta berbagai proses metabolisme tubuh (Akmaliyah, 2025). Mutu protein tidak hanya ditentukan oleh jumlahnya, tetapi juga oleh jenis dan ketersediaan asam amino esensial yang terkandung di dalamnya. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa protein hewani, seperti telur dan susu, umumnya memiliki komposisi asam amino yang lebih lengkap serta tingkat pencernaan yang lebih baik dibandingkan protein

nabati, sehingga memberikan nilai gizi yang lebih tinggi (Randabunga', 2024) . Oleh karena itu, kajian tentang asam amino dalam bahan pangan menjadi penting, tidak hanya dalam bidang ilmu pangan dan gizi, tetapi juga sebagai landasan dalam memahami konsep biokimia terkait struktur dan fungsi protein.

Penelitian tentang protein pada pangan selama ini lebih banyak menitikberatkan pada analisis kuantitatif kandungan dan profil asam amino, menggunakan metode seperti HPLC atau spektrofotometri. Fokus utamanya adalah menilai kualitas protein berdasarkan komposisi asam amino esensial, nilai biologis, dan daya cerna (Laeliocattleya et al., 2025)(Miftahuddin et al., 2026). Selain itu, protein susu seperti kasein dan whey juga banyak dikaji karena memiliki ketersediaan hayati asam amino yang tinggi (Syahfitri et al., 2025) . Namun, kajian tersebut umumnya masih berfokus pada aspek kimia dan gizi, dan belum banyak dikaitkan dengan proses pembelajaran. Di sisi lain, pembelajaran berbasis praktikum dan pendekatan kontekstual terbukti dapat membantu mahasiswa memahami konsep dengan lebih baik serta meningkatkan keterampilan berpikir kritis (Baruno et al., 2025). Meskipun demikian, pendekatan ini belum secara khusus mengintegrasikan analisis asam amino dalam kegiatan praktikum biokimia. Oleh karena itu, masih terdapat kesenjangan penelitian, yaitu dominasi pendekatan kuantitatif, belum terpadunya kajian asam amino dengan pembelajaran kontekstual, serta terbatasnya penelitian yang membandingkan berbagai sumber protein hewani dalam satu rangkaian sebagai media belajar. Penelitian ini menjembatani kesenjangan tersebut dengan mengintegrasikan uji biokimia kualitatif ke dalam pembelajaran kontekstual yang lebih aplikatif dan bermakna.

Penelitian ini penting dilakukan karena mutu protein tidak hanya ditentukan oleh jumlahnya, tetapi juga oleh komposisi serta ketersediaan asam amino esensial yang berperan penting dalam pertumbuhan dan proses metabolisme tubuh. Kajian terbaru menunjukkan bahwa protein hewani umumnya memiliki bioavailabilitas yang lebih baik dan profil asam amino yang lebih lengkap, sehingga perlu dikaji lebih mendalam melalui analisis yang tepat (Baihaqi, 2026). Di sisi lain, dalam pembelajaran, kesulitan konseptual tinggi, siswa sulit memahami konsep abstrak kimia (Susanti et al., 2025) Penelitian terkini menunjukkan bahwa pembelajaran berbasis praktikum dan pendekatan kontekstual mampu membantu mahasiswa memahami konsep dengan lebih baik, sekaligus meningkatkan keterampilan proses sains dan keterkaitan ilmu dengan kehidupan sehari-hari (Rahman et al., 2025) (Tukan et al., 2025) . Oleh karena itu, penelitian ini menjadi penting karena tidak hanya memberikan gambaran ilmiah

mengenai karakteristik asam amino pada berbagai sumber protein hewani dan nabati, tetapi juga pendekatan pembelajaran yang lebih efektif, aplikatif, dan relevan bagi mahasiswa.

Kebaruan penelitian ini terletak pada integrasi identifikasi asam amino melalui uji biokimia kualitatif menggunakan berbagai sumber protein hewani dan nabati sebagai objek praktikum yang dikaitkan dengan pembelajaran biokimia kontekstual. Melalui pendekatan ini, hasil identifikasi asam amino tidak hanya digunakan untuk mengenali karakteristik protein, tetapi juga untuk membantu memvisualisasikan hubungan antara struktur asam amino, sifat protein, dan bahan pangan yang ditemui dalam kehidupan sehari-hari.(Priatni et al., 2020) Berbeda dengan penelitian sebelumnya yang umumnya berfokus pada analisis kandungan protein atau asam amino secara kuantitatif, penelitian ini menekankan pemanfaatan hasil praktikum sederhana untuk membantu visualisasi hubungan antara struktur asam amino, karakteristik protein, dan bahan pangan yang dijumpai dalam kehidupan sehari-hari.

Penelitian ini bertujuan untuk memahami keberadaan asam amino spesifik pada berbagai bahan pangan sumber protein hewani dan nabati melalui uji biokimia kualitatif, yaitu Hopkins–Cole, Millon, dan ninhidrin. Selain itu, penelitian ini juga berupaya mengaitkan hasil identifikasi tersebut dengan konsep dasar struktur dan fungsi protein dalam biokimia. Penelitian ini turut mengkaji perbedaan respons antar sampel sebagai gambaran karakteristik dan mutu protein pada bahan pangan sumber protein. Lebih lanjut, hasil praktikum diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai sumber pembelajaran biokimia yang kontekstual, sehingga mahasiswa mampu menghubungkan konsep teori dengan fenomena nyata dalam kehidupan sehari-hari. Penelitian ini menunjukkan bahwa praktikum biokimia sederhana dengan memanfaatkan bahan pangan nyata dapat membantu menghubungkan konsep kimia yang bersifat abstrak dengan pengalaman sehari-hari. Dengan cara ini, proses pembelajaran berpotensi menjadi lebih kontekstual, relevan dengan kehidupan sehari-hari, dan mendukung visualisasi konsep biokimia yang bersifat abstrak.

2. Metode

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia, Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam percobaan ini terdiri atas, 1 buah rak tabung reaksi, 10 buah tabung reaksi 100 ml, 4 buah pipet tetes, 1 buah kaki tiga, 1 buah kaleng, 2 buah pembakar spiritus, 1 buah termometer, 1 buah statif, 1 buah ring, 1 buah bosshead, 6 buah penjepit tabung reaksi. Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam percobaan ini terdiri atas, Gelatin PA 2%, Albumin (Putih Telur), Albumin PA 2%, Casein PA 2%, Casein (Susu Steril), Glisin PA 2%, Glisin (Kacang Tanah), (Tirosin Tempe), Milon, Hopkins-Cole, Ninhidrin, H₂SO₄ Pekat, Buffer pH.

Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimen laboratorium dengan pendekatan deskriptif kualitatif untuk mengkaji keberadaan asam amino spesifik pada berbagai sampel pangan sumber protein hewani dan nabati. Sampel yang digunakan meliputi gelatin PA, albumin PA, albumin putih telur, kasein PA, kasein susu, glisin PA, glisin kacang tanah, dan tirosin tempe. Pengujian dilakukan melalui uji Hopkins–Cole untuk mendeteksi triptofan, uji Millon untuk tirosin, serta uji ninhidrin untuk mengidentifikasi gugus amina bebas.

Setiap pengujian dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan (triplo) untuk meningkatkan keandalan hasil pengamatan. Albumin PA 2% digunakan sebagai kontrol positif pada uji Hopkins–Cole dan Millon, sedangkan glisin PA 2% digunakan sebagai kontrol positif pada uji ninhidrin. Akuades digunakan sebagai kontrol negatif pada seluruh pengujian untuk memastikan bahwa perubahan warna yang muncul berasal dari reaksi antara sampel dan reagen, bukan dari faktor lain di luar sistem pengujian. Hasil pengujian ditentukan berdasarkan perubahan visual yang diamati. Pada uji Hopkins–Cole, hasil positif ditandai dengan terbentuknya cincin ungu pada batas lapisan larutan. Pada uji Millon, hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna merah atau endapan merah setelah pemanasan. Pada uji ninhidrin, hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna ungu kebiruan (Ruhemann's purple), sedangkan tidak terbentuknya perubahan warna khas menunjukkan hasil negatif.

Interpretasi hasil dilakukan dengan membandingkan perubahan warna sampel terhadap kontrol positif dan kontrol negatif. Dokumentasi visual dilakukan pada setiap pengujian untuk meminimalkan subjektivitas pengamatan, seperti terbentuknya cincin, perubahan warna, munculnya endapan, dan tingkat kekeruhan larutan, kemudian dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan respons antar sampel. Desain penelitian ini tidak hanya berfokus pada identifikasi asam amino, tetapi juga menghubungkan hasil praktikum dengan konsep struktur

dan fungsi protein, sehingga dapat mendukung pembelajaran biokimia yang lebih kontekstual dan dekat dengan kehidupan sehari-hari.

Tabel 1. Skala Interpretasi Intensitas Warna

Simbol	Intensitas	Interpretasi
-	Tidak ada warna khas	Negatif
+	Warna lemah	Positif lemah
++	Warna sedang	Positif sedang
+++	Warna kuat	Positif kuat

Pengamatan visual dilakukan berdasarkan skala intensitas warna untuk meminimalkan subjektivitas interpretasi hasil. (Suryaningsih, 2014)

Tahapan Penelitian (Suryaningsih, 2014)

Tahapan pengujian diadaptasi dari modul praktikum Biokimia yang disusun oleh Suryaningsih (2014). Modifikasi yang dilakukan pada penelitian ini terletak pada penggunaan sampel penelitian yang meliputi protein standar (gelatin PA, albumin PA, kasein PA, dan glisin PA) serta bahan pangan (telur, susu, tempe, dan kacang tanah), sedangkan prosedur pengujian, volume reagen, dan kondisi reaksi tetap mengacu pada metode asli.

1. Uji Hokins-Cole

- Masukkan 1 mL sampel + 1 mL reagen Hopkins-Cole + 1 mL H₂SO₄ pekat.
- Amati perubahan warna putih dan cincin ungu

2. Uji Milon

- Masukkan 1 mL sampel + 2 tetes reagen Milon
- Panaskan 5 menit
- Amati perubahan warna merah.

3. Uji Ninhidrin

- Masukkan 1 mL sampel + 10 tetes buffer pH + 10 tetes reagen Ninhidrin.
- Panaskan 5 menit
- Amati perubahan warna biru

3. Hasil dan Pembahasan

Identifikasi asam amino dilakukan terhadap delapan sampel menggunakan tiga uji kualitatif, yaitu uji Hopkins–Cole, uji Millon, dan uji Ninhidrin. Ketiga uji tersebut bertujuan

untuk mendeteksi keberadaan asam amino tertentu berdasarkan gugus fungsi khas yang dimilikinya.

Tabel dibuat dengan lebar garis 1 pt dan *tables caption* (keterangan tabel) diletakkan di atas tabel. Keterangan tabel yang terdiri lebih dari 2 baris ditulis menggunakan spasi 1. Garis-garis tabel diutamakan **garis horizontal** saja sedangkan garis vertikal dihilangkan.

Tabel 2. Hasil Uji Kualitatif Asam Amino pada Berbagai Sampel Protein

No	Sampel	Uji Hopkins Cole	Uji Millon	Uji Ninhidrin
1.	Gelatin PA	-	-	+
2.	Albumin PA	++	+++	++
3.	Albumin Putih Telur	+	+	-
4.	Casein PA	-	+	+
5.	Casein Susu	+	+	+
6.	Glisin PA	-	-	+++
7.	Glisin Kacang	-	-	-
8.	Tirosin Tempe	-	-	-

Keterangan: (-) negatif; (+) positif lemah; (++) positif sedang; (+++) positif kuat.

(Suryaningsih, 2014)


Perbedaan respons antar sampel pada uji Hopkins–Cole, Millon, dan ninhidrin menunjukkan bahwa setiap sampel memiliki komposisi serta ketersediaan asam amino yang berbeda. Uji Hopkins–Cole mendeteksi keberadaan triptofan melalui reaksi gugus indol dengan asam glioksilat dalam suasana asam kuat, sedangkan uji Millon mendeteksi tirosin berdasarkan reaktivitas gugus fenol terhadap ion merkuri dalam reagen Millon. Sementara itu, uji ninhidrin mengidentifikasi gugus amina bebas yang menghasilkan kompleks berwarna ungu kebiruan (Ruhemann’s purple). Oleh karena itu, hasil positif atau negatif yang diperoleh tidak hanya dipengaruhi oleh keberadaan protein dalam sampel, tetapi juga oleh struktur kimia asam amino penyusunnya, ketersediaan gugus fungsi yang dapat bereaksi, serta kondisi pengujian yang digunakan. Temuan ini sejalan dengan (Stauß et al., 2024) dan (Harizi et al., 2023) yang menunjukkan bahwa kualitas protein dipengaruhi oleh komposisi asam amino penyusunnya serta ketersediaannya untuk dimanfaatkan oleh tubuh. Protein hewani seperti telur dan susu umumnya memiliki profil asam amino yang lebih lengkap dan daya cerna yang tinggi, sehingga cenderung memberikan hasil positif lebih dominan pada uji kualitatif dibandingkan sampel lainnya (Stauß et al., 2024).

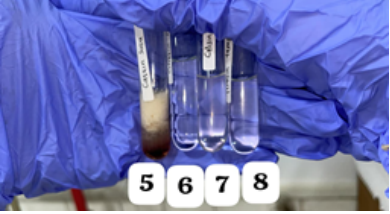
Hasil positif pada albumin PA dan albumin putih telur menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung asam amino yang dapat bereaksi dengan pereaksi yang digunakan, sehingga menghasilkan perubahan warna yang lebih jelas dibandingkan beberapa sampel lainnya. Hal yang sama juga terlihat pada kasein susu, yang menunjukkan respons positif pada ketiga uji. Hasil tersebut mengindikasikan adanya asam amino yang mampu bereaksi dengan masing-masing pereaksi sehingga menghasilkan perubahan warna yang dapat diamati selama praktikum. Secara keseluruhan, data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa protein hewani, terutama albumin dan kasein, cenderung memberikan respons yang lebih jelas pada uji kualitatif asam amino dibandingkan sampel lainnya. Temuan ini memperkuat bahwa uji biokimia sederhana dapat dimanfaatkan sebagai langkah awal untuk mengenali karakteristik protein berdasarkan gugus fungsi asam amino. Namun demikian, hasil negatif tidak selalu berarti tidak adanya asam amino, melainkan dapat disebabkan oleh bentuk asam amino yang masih terikat, konsentrasi yang rendah, atau kondisi reaksi yang belum optimal selama praktikum.

Uji Hopkins- Cole

Hasil uji Hopkins–Cole disajikan untuk mengidentifikasi keberadaan asam amino triptofan pada setiap sampel. Uji ini ditandai dengan terbentuknya cincin ungu pada batas lapisan sebagai indikator positif.

Tabel 3. Uji Hopkins- Cole

Uji	Hasil Pengamatan	Interpretasi
Hopkins- Cole		<p>1. Gelatin PA: Larutan terlihat agak keruh dan ada partikel halus yang melayang.</p> <p>2. Albumin PA: Larutan jadi putih dan muncul cincin bening di bagian tengah sampai bawah tabung.</p> <p>3. Albumin Putih Telur: Larutan berwarna putih dengan cincin ungu yang terlihat jelas di batas lapisan.</p> <p>4. Casein PA: Larutan tampak keruh dan ada endapan putih di bagian atas.</p>

Uji	Hasil Pengamatan	Interpretasi
Hopkins-Cole		<p>5. Casein Susu: Larutan putih agak keruh, bagian bawahnya berwarna coklat dan di tengah terbentuk cincin ungu.</p> <p>6. Glisin PA: Larutan tetap bening dan muncul gelembung kecil, tapi tidak ada perubahan warna.</p> <p>7. Glisin Kacang: Larutan bening dengan sedikit gelembung, tanpa perubahan warna yang berarti.</p> <p>8. Tirosin Tempe: Larutan bening dan muncul beberapa gelembung kecil, tidak ada cincin atau perubahan warna.</p>

Tabel 3 menyajikan hasil uji Hopkins–Cole pada delapan sampel, di mana indikator positif ditandai dengan terbentuknya cincin ungu pada batas lapisan sebagai tanda adanya triptofan. Pada reaksi Hopkins–Cole, gugus indol pada triptofan bereaksi dengan asam glioksilat yang terdapat dalam reagen Hopkins–Cole dalam suasana sangat asam akibat penambahan H_2SO_4 pekat. Reaksi kondensasi tersebut menghasilkan kompleks berwarna ungu yang muncul sebagai cincin pada batas dua lapisan larutan. Intensitas warna yang terbentuk dipengaruhi oleh konsentrasi triptofan, homogenitas pencampuran reagen, serta ketepatan penambahan asam sulfat. Oleh karena itu, sampel yang mengandung triptofan dalam jumlah lebih tinggi cenderung menghasilkan cincin ungu yang lebih jelas dibandingkan sampel dengan kandungan triptofan rendah.

Albumin putih telur menunjukkan respons yang lebih kuat dibandingkan beberapa sampel lainnya, yang ditandai dengan terbentuknya cincin ungu yang lebih jelas pada batas lapisan larutan. Hasil ini mengindikasikan adanya triptofan yang dapat bereaksi dengan reagen Hopkins–Cole. Temuan tersebut sejalan dengan karakteristik protein telur yang dikenal memiliki kualitas gizi tinggi dan mengandung asam amino esensial yang lengkap (Priatni et al., 2020). Penelitian terbaru juga menunjukkan bahwa protein putih telur mengandung asam amino esensial yang lengkap dan sesuai dengan kebutuhan tubuh. Oleh karena itu, munculnya cincin

ungu pada sampel ini semakin menguatkan bahwa protein telur mengandung asam amino aromatik, khususnya triptofan, yang dapat terdeteksi melalui reaksi Hopkins–Cole. Pada sampel kasein susu, munculnya cincin ungu menunjukkan adanya asam amino aromatik, khususnya triptofan, yang mampu bereaksi pada uji Hopkins–Cole. Hal ini sejalan dengan kajian terbaru yang menyebutkan bahwa protein susu, terutama kasein dan whey, berperan penting sebagai sumber asam amino esensial dengan karakteristik pencernaan dan ketersediaan biologis yang berbeda dalam tubuh (Harizi et al., 2023).

Pada uji Hopkins–Cole, terbentuknya cincin ungu pada sampel albumin dan kasein hal ini diprediksi adanya asam amino triptofan yang mengandung gugus indol. Reaksi ini terjadi akibat interaksi gugus indol dengan asam glioksilat dalam suasana asam kuat. Sampel glisin dan protein nabati tidak menunjukkan hasil positif karena tidak memiliki gugus indol. Hasil ini sesuai dengan jurnal (Fearon, 1920) yang menyatakan bahwa uji Hopkins–Cole bersifat sangat spesifik terhadap triptofan. Pernyataan ini juga diperkuat oleh Amri et al. (2006) yang melaporkan bahwa protein pangan tanpa triptofan tidak akan memberikan perubahan warna pada uji ini.

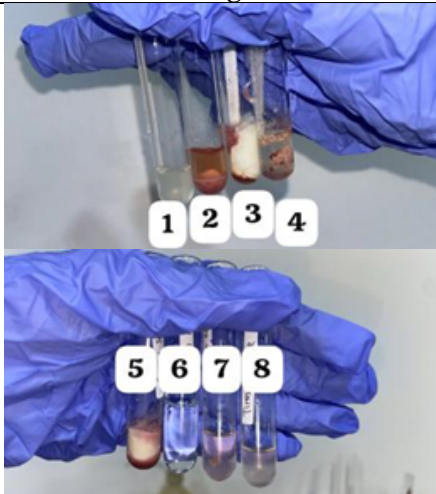
Sebaliknya, gelatin PA menunjukkan hasil negatif pada uji ini. Hal tersebut dapat dipahami karena gelatin merupakan hasil hidrolisis kolagen yang umumnya memiliki keterbatasan pada beberapa asam amino esensial, termasuk triptofan. Oleh karena itu, tidak terbentuknya cincin ungu mengindikasikan bahwa kandungan triptofan pada gelatin sangat rendah atau tidak terdeteksi dalam kondisi pengujian. Sementara itu, glisin PA juga tidak menunjukkan reaksi karena merupakan asam amino sederhana yang tidak memiliki gugus indol, sehingga tidak dapat memberikan hasil positif pada uji Hopkins–Cole.

Dengan demikian uji Hopkins–Cole efektif dalam membedakan sampel yang mengandung gugus indol triptofan dengan yang tidak. Albumin putih telur dan kasein susu menjadi sampel yang paling jelas memberikan hasil positif. Dari sisi pembelajaran, hasil ini penting karena menunjukkan bahwa struktur kimia asam amino sangat menentukan hasil reaksi. Dengan demikian, praktikum ini tidak hanya mengidentifikasi keberadaan asam amino, tetapi juga membantu mahasiswa memahami keterkaitan antara struktur protein dan analisis pangan secara kontekstual.

Uji Millon

Uji Millon digunakan untuk mengidentifikasi asam amino tirosin yang memiliki gugus fenol, dengan ciri positif berupa perubahan warna merah atau terbentuknya endapan merah kecokelatan setelah pemanasan.

Tabel 4. Uji Millon

Uji	Hasil Pengamatan	Interpretasi
Uji Millon		<ol style="list-style-type: none"> 1. Gelatin PA: Larutan tetap putih keruh tanpa perubahan warna. 2. Albumin PA: Larutan berubah menjadi merah dan terdapat endapan merah kecokelatan. 3. Albumin Putih Telur: Larutan lewat jenuh, berwarna putih dengan sedikit merah muda. 4. Casein PA: Terbentuk endapan merah kecokelatan, sementara bagian atas larutan tampak bening. 5. Casein Susu: Larutan lewat jenuh, bagian atas putih dan bagian bawah merah. 6. Glisin PA: Larutan tetap bening tanpa perubahan warna. 7. Glisin Kacang: Larutan sedikit keruh tanpa perubahan warna berarti. 8. Tirosin Tempe: Larutan keruh, tidak menunjukkan perubahan warna mencolok.

Reaksi positif pada uji Millon terjadi karena gugus fenol pada tirosin mengalami proses nitration dan membentuk kompleks dengan ion merkuri yang terdapat dalam reagen Millon. Setelah pemanasan, kompleks tersebut menghasilkan warna merah hingga merah kecokelatan yang menjadi indikator keberadaan tirosin. Oleh karena itu, protein yang mengandung residu tirosin, seperti albumin dan kasein, cenderung memberikan respons positif. Sebaliknya, glisin tidak memiliki gugus fenol sehingga tidak dapat bereaksi dengan reagen Millon. Intensitas warna yang terbentuk juga dapat dipengaruhi oleh konsentrasi tirosin, kondisi pemanasan, serta kestabilan reagen selama pengujian. Secara biokimia, reaksi Millon berlangsung melalui nitration gugus fenol pada residu tirosin yang kemudian membentuk kompleks berwarna merah dengan ion merkuri dalam pereaksi Millon. Oleh karena itu, intensitas warna yang terbentuk tidak

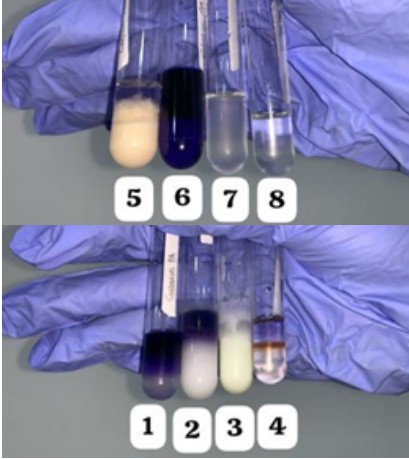
hanya dipengaruhi oleh keberadaan tirosin, tetapi juga oleh jumlah residu tirosin yang tersedia dan dapat berinteraksi dengan pereaksi. Pada protein yang memiliki struktur tersier yang lebih kompleks, sebagian residu tirosin dapat berada pada bagian yang kurang terekspos sehingga mengurangi intensitas reaksi yang diamati. Albumin dan kasein menunjukkan warna merah yang lebih jelas dibandingkan sampel lainnya, mengindikasikan keberadaan residu tirosin yang mampu bereaksi dengan reagen Millon. Intensitas warna yang terbentuk menunjukkan bahwa gugus fenol pada tirosin tersedia dan dapat berinteraksi dengan pereaksi. Temuan ini sejalan dengan penelitian yang menyatakan bahwa protein telur dan susu memiliki komposisi asam amino yang lengkap, termasuk tirosin sebagai salah satu asam amino aromatik penting (Tomczak et al., 2024)

Sebaliknya, hasil negatif pada gelatin dan glisin dapat dipahami karena komposisi asam aminonya tidak mengandung atau sangat sedikit tirosin. Gelatin didominasi oleh glisin, prolin, dan hidrosiprolin, sedangkan glisin sendiri tidak memiliki gugus fenol, sehingga tidak memberikan reaksi positif. Oleh karena itu, hasil negatif bukan berarti tidak mengandung protein, melainkan menunjukkan bahwa gugus fenolik tirosin tidak terdeteksi dalam kondisi pengujian. Jika dibandingkan dengan penelitian terdahulu yang umumnya menggunakan metode kuantitatif untuk menilai kualitas protein, penelitian ini menggunakan pendekatan kualitatif sederhana yang lebih mudah diterapkan dalam pembelajaran. Temuan utama menunjukkan bahwa albumin dan kasein merupakan sampel yang paling responsif terhadap uji Millon, sehingga menegaskan bahwa struktur asam amino, khususnya gugus fenol tirosin, sangat menentukan hasil reaksi. Dari sisi pembelajaran, uji ini membantu mahasiswa memahami hubungan antara struktur dan fungsi protein secara lebih kontekstual.

Uji Ninhidrin

Uji ninhidrin digunakan untuk mengidentifikasi asam amino bebas melalui reaksi dengan gugus amina primer yang menghasilkan warna ungu kebiruan (*Ruhemann's purple*).

Tabel 5. Uji Ninhidrin

Uji	Hasil Pengamatan	Interpretasi
Uji Ninhidrin		<ol style="list-style-type: none"> 1. Gelatin PA: Terbentuk dua lapisan warna ungu pekat dan bening di bawahnya. 2. Albumin PA: Larutan memperlihatkan dua lapisan, ungu pekat dan putih. 3. Albumin Putih Telur: Terlihat endapan putih di bagian bawah dan gelembung di atas permukaan larutan. 4. Casein PA: Larutan tampak bening dengan cincin coklat di tengah tabung. 5. Casein Susu: Larutan berwarna biru bening dengan endapan putih di dasar tabung. 6. Glisin PA: Larutan berubah menjadi ungu pekat, menunjukkan hasil positif kuat. 7. Glisin Kacang: Larutan tetap keruh tanpa perubahan warna yang jelas. 8. Tirosin Tempe: Larutan bening, tidak menunjukkan perubahan warna.

Tabel 5. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa glisin PA memberikan respons paling kuat dengan warna ungu pekat, sedangkan gelatin PA dan albumin PA juga menunjukkan warna ungu namun dengan intensitas lebih rendah. Sebaliknya, glisin kacang dan tirosin tempe tidak memperlihatkan perubahan warna yang berarti.

Reaksi ninhidrin terjadi ketika gugus amina bebas pada asam amino bereaksi dengan reagen ninhidrin sehingga menghasilkan senyawa berwarna ungu kebiruan yang dikenal sebagai Ruhemann's Purple. Warna ini terbentuk melalui proses deaminasi dan dekarboksilasi oksidatif asam amino, sehingga intensitas warna yang muncul mencerminkan jumlah gugus amina bebas yang tersedia untuk bereaksi. Oleh karena itu, glisin sebagai asam amino bebas menghasilkan warna ungu yang lebih kuat dibandingkan protein kompleks yang sebagian besar gugus aminanya masih terikat dalam ikatan peptida. (Dwiningrum et al., 2023) menjelaskan bahwa keberhasilan pembentukan warna juga dipengaruhi oleh ketersediaan gugus amina bebas, kondisi pemanasan, dan kestabilan reagen selama pengujian. Selain itu (Stauß et al., 2024) menjelaskan bahwa pembentukan Ruhemann's Purple merupakan dasar utama identifikasi asam amino bebas menggunakan uji ninhidrin. Glisin PA menghasilkan warna

ungu yang paling intens dibandingkan sampel lainnya, menunjukkan tingginya ketersediaan gugus amina bebas yang dapat bereaksi dengan ninhidrin. Sebaliknya, protein kompleks seperti albumin dan kasein memberikan respons yang lebih lemah karena sebagian besar gugus aminanya masih terikat dalam struktur peptida.

Temuan ini menunjukkan bahwa uji ninhidrin sangat peka terhadap keberadaan asam amino bebas. Respons kuat pada glisin PA karena strukturnya yang sederhana dan memiliki gugus amina primer yang mudah bereaksi. Hal ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa ninhidrin lebih efektif mendeteksi asam amino bebas dibandingkan protein kompleks (Stauß et al., 2024). Pada protein kompleks seperti albumin dan kasein, warna yang dihasilkan cenderung lebih lemah karena sebagian besar asam amino masih terikat dalam struktur protein, sehingga tidak semua gugus amina dapat bereaksi (Ajomiwe et al., 2024). Sementara itu, tidak munculnya warna pada glisin kacang dan tirosin tempe kemungkinan disebabkan oleh rendahnya kadar asam amino bebas atau adanya matriks bahan pangan yang lebih kompleks. Intensitas warna mencerminkan jumlah asam amino bebas dalam sampel. Hasil ini sesuai dengan jurnal (Hadinoto & Kolanus, 2017) (Febriana et al., 2024) yang menyatakan bahwa uji ninhidrin merupakan metode paling sensitif untuk mendeteksi asam amino bebas. Hasil penelitian (Dwiningrum et al., 2023) menyatakan bahwa kondisi reaksi sangat memengaruhi keberhasilan uji kualitatif biokimia. Selanjutnya, (Stauß et al., 2024) menunjukkan bahwa pembentukan warna pada reaksi ninhidrin dipengaruhi oleh pH buffer, suhu reaksi, waktu inkubasi, jenis pelarut, dan konsentrasi reagen sehingga kondisi pengujian sangat menentukan sensitivitas dan intensitas warna yang terbentuk.

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menegaskan bahwa glisin sebagai asam amino bebas memberikan respons paling kuat, sedangkan protein kompleks menunjukkan respons yang lebih lemah. Hal ini memperlihatkan bahwa struktur dan ketersediaan gugus amina bebas sangat memengaruhi hasil reaksi, sekaligus membantu mahasiswa memahami hubungan antara struktur dan fungsi protein secara lebih kontekstual.

Implikasi terhadap Pembelajaran Biokimia Kontekstual

Hasil identifikasi asam amino pada berbagai sumber protein menunjukkan bahwa konsep struktur dan fungsi protein dapat diamati secara langsung melalui praktikum sederhana. Penggunaan bahan pangan yang dekat dengan kehidupan sehari-hari memungkinkan mahasiswa menghubungkan konsep biokimia yang bersifat abstrak dengan fenomena nyata

yang dapat diamati selama praktikum. Dengan demikian, kegiatan praktikum ini berpotensi menjadi alternatif sumber belajar yang mendukung pembelajaran biokimia kontekstual, khususnya dalam memahami hubungan antara struktur asam amino, sifat protein, dan respons terhadap reagen kimia.

4. Simpulan

Penelitian ini menunjukkan bahwa uji biokimia kualitatif seperti Hopkins–Cole, Millon, dan ninhidrin dapat digunakan secara efektif untuk mengidentifikasi asam amino spesifik pada berbagai sumber protein hewani dan nabati. Sampel albumin dan kasein cenderung memberikan respons positif yang lebih dominan dibandingkan sampel lainnya., yang menandakan adanya triptofan, tirosin, dan gugus amina bebas yang berkaitan dengan kualitas protein. Perbedaan hasil antar sampel juga menunjukkan bahwa struktur kimia dan ketersediaan asam amino sangat memengaruhi reaksi yang terjadi. Selain itu, kegiatan praktikum ini berpotensi dimanfaatkan sebagai konteks pembelajaran biokimia yang mengaitkan konsep struktur dan sifat asam amino dengan pengamatan langsung di laboratorium. Namun, penelitian ini masih terbatas pada analisis kualitatif berbasis pengamatan visual, sehingga belum memberikan data kuantitatif dan masih berpotensi subjektif. Oleh karena itu, penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan analisis kuantitatif, mengkaji pengaruh proses pengolahan pangan terhadap asam amino, serta mengembangkan modul.

Daftar Pustaka

- Ajomiwe, N., Boland, M., Phongthai, S., Bagiyal, M., Singh, J., & Kaur, L. (2024). Protein Nutrition: Understanding Structure, Digestibility, and Bioavailability for Optimal Health. *Foodborne Parasites in the Food Supply Web: Occurrence and Control*, 13(11), 1–15.
- Akmaliyah, U. (2025). Protein Molekul Esensial Untuk Metabolisme Dan Imunitas. *BIOLOGIKA: Jurnal Ilmiah Biologi*, Vol. 1(1), 27–33. <https://media.noran.co.id/index.php/jurnalmediateknologi/index>
- Baihaqi, U. H. O. (2026). Evaluasi Kualitas Protein Biskuit Asin Substitusi Tepung Ayam Berdasarkan Profil Asam Amino dan Analisis Proksimat. *Journal Mesada*, 03, 138–146.
- Baruno, Y. H. E., Padama, Y., & Siregar, H. S. I. R. (2025). Pengaruh Pembelajaran Kontekstual Terhadap Motivasi dan Berfikir Kritis Siswa. *Yayasan Ahsani Taqwin*, 2(1), 306–312.
- Dwiningrum, R., Pisacha, I. M., & Nursoleha, E. (2023). Review : Analisis Kualitatif Dan Kuantitatif kandungan Protein pada Olahan Bahan Pangan. *Journal Farmasi*, 2(2), 60–67.
- Fearon, W. R. (1920). A Study of some Biochemical Tests. No. 2: The Adamkiewicz Protein

- Reaction. The Mechanism of the Hopkins-Cole Test for Tryptophan. A New Colour Test for Glyoxylic Acid. *Biochemical Journal*, 14(5), 548–564. <https://doi.org/10.1042/bj0140548>
- Febriana, R. A., Ginting, W. M., Sipahutar, D. M., & Sipayung, A. R. (2024). Identifikasi Asam Amino Dan Protein Pada Bahan Makanan Dengan Menggunakan Uji Ninhidrin Dan Uji Biuret Rizka. *Jurnal Ilmiah Nusantara*, 1(5), 2023.
- Hadinoto, S., & Kolanus, J. P. M. (2017). Evaluasi Nilai Gizi dan Mutu Ikan Layang (Decapterus sp) Presto dengan Penambahan Asap Cair dan Ragi. *Majalah BIAM*, 13(01), 22–30. <https://media.neliti.com/media/publications/452450-none-3c4cc0ad.pdf>
- Harizi, N., Zouari, A., Rokbeni, N., Ben Zid, M., M'hiri, N., Salem, A., Ayadi, M. A., & Boudhrioua, N. (2023). Amino acids and protein profiles of defatted camel and cow milk fractions: correlation with their in vitro antioxidant and antidiabetic activities. *Frontiers in Nutrition*, 10(January), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1295878>
- Laeliocattleya, R. A., Nur, M., & Septiana, S. (2025). *Kromatografi dalam analisis pangan*. Azzia Karya Bersama.
- Miftahuddin, Paradiman, A. Z., Mangguali, M., Sultan, R. A., Kurniawan, A. W., & Al VARqani, N. (2026). Profil Komposisi Kimia Dan Senyawa Bioaktif Nira Aren (Arenga pinnata) Serta Turunannya : Tinjauan Dekade Terakhir (Chemical Composition and Bioactive Compounds of Palm (Arenga Pinnata) Sap And Its Derivatives : A Review Of The Last Decade). *AgriTechno*, 19(1).
- Priatni, H. L., Kurniasari, N., & Wiryani, A. S. (2020). Sains Indonesiana: Jurnal Ilmiah Nusantara. *Sains Indonesiana: Jurnal Ilmiah Nusantara*, 1(5), 2023.
- Rahman, N. A., Hayatun, S. N. A., & Mauraji, I. S. W. (2025). Keterampilan proses sains dalam konteks project praktikum sederhana berbasis etnokimia: Sebuah telaah literatur. *ARFAK Chemistry Education Journal*, 8(1), 725–736.
- Randabunga', A. E. L. (2024). Gambaran asupan protein hewani dan nabati, keragaman pangan, serta status gizi (pb/u) pada anak usia 6-23 bulan di wilayah kerja puskesmas maros baru, kabupaten maros. *Skripsi*, 1–137.
- Stauß, A. C., Fuchs, C., Jansen, P., Repert, S., Alcock, K., Ludewig, S., & Rozhon, W. (2024). The Ninhydrin Reaction Revisited: Optimisation and Application for Quantification of Free Amino Acids. *Molecules*, 29(14). <https://doi.org/10.3390/molecules29143262>
- Suryaningsih, S. (2014). *Petunjuk Praktikum Biokimia*.
- Susanti, S., Dongoran Rianto, F., Sibuea Aprilia, P., & Aulia, S. (2025). Tingkat Kesulitan Konseptual dan Praktis dalam Pembelajaran Kimia: Tudi di SMA Negeri 6 Medan. *Cendekia Pendidikan*, 12(6). <https://doi.org/10.9644/sindoro.v3i9.252>
- Syahfitri, A., Sartika Daulay, A., Ridwanto, & Yuniarti, R. (2025). Journal of Pharmaceutical and Sciences Analysis of Protein Content of Some Types of Milk High in Protein Using the Kjeldahl and Visible Spectrophotometry Method Analisis Kadar Protein Pada Beberapa Jenis Susu Tinggi Protein Dengan Metode Kjeldahl dan Spek. *JPS*, 2025(2), 847–858. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com>

- Tomczak, A., Zielińska-Dawidziak, M., Klimowicz, P., Hejdysz, M., Kaczmarek, S., Siger, A., & Cieślak, A. (2024). Modification of the Protein Amino Acid Content in Hen Eggs as a Consequence of Different Concentrations of Lupine and Soy in Feed. *Molecules*, 29(16). <https://doi.org/10.3390/molecules29163727>
- Tukan, M. B., Komisia, F., Aloisia, M., Leba, U., Jenő, M. I., & Samara, C. D. T. (2025). Pelatihan Praktikum Kimia Berbasis Kontekstual di SMAN Kupang Timur. *Jurnal Visi Pengabdian Kepada Masyarakat*, 06(01), 95–104.