

## **Komposisi Asam Amino Dari Ekstrak Kecambah Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris L*) Setelah Tahap Deproteinasi**

### ***Amino Acid Composition From Red Bean (*Phaseolus vulgaris L*) Sprout Extract After Deproteinization Stage***

N. G. A. M. Dwi Adhi Suastuti<sup>1\*</sup>, Amanda Awalia Ramadhani<sup>1</sup>, A.A. I. A Mayun Laksmiwati<sup>1</sup>, Ketut Ratnayani<sup>1</sup>

Program Studi Kimia Fakultas MIPA Universitas Udayana  
Kampus Bukit Jimbaran, Badung-Bali

\*Penulis korespondensi: N. G. A. M. Dwi Adhi Suastuti, Email: [dwiadhisuastuti@unud.ac.id](mailto:dwiadhisuastuti@unud.ac.id)

#### **Abstract**

During the germination process, there is a degradation activity of reserve proteins in the seeds and releases short peptides and free amino acids. This study aimed to determine the amino acid composition of the red bean sprout extract after the deproteinization stage. The deproteinization stage is the stage of eliminating protein macromolecules that are dissolved in the extract so that short peptides and free amino acids are left in the extract. Red bean seeds were first germinated, made into flour, and extracted with distilled water, then deproteinized by the isoelectric precipitation method at pH 4.5. This protein macromolecular free extract (expected to contain free amino acids and short peptides) was then analyzed for its amino acid composition by the HPLC method. The results of the analysis of the composition of 15 types of amino acids in red bean sprout extract showed that the highest amino acid content was glutamic acid (1213,305 mg/kg), while the lowest amino acid content was tyrosine (118,245 mg/kg). The results also show phenylalanine as a type of essential amino acid with the highest levels compared to other essential amino acids. This shows that red bean sprout extract has the potential as a source of essential amino acids.

**Keywords:** free amino acids, germination, kidney beans.

#### **PENDAHULUAN**

Kacang merah (*Phaseolus vulgaris L*) merupakan salah satu komoditas kacang-kacangan yang mudah ditemukan dan memiliki kandungan protein yang hampir setara dengan kacang hijau yaitu mencapai 24 g/100 g sampel, serta memiliki susunan asam amino yang lengkap (Mahmud dan Nils, 2009). Apabila dibandingkan dengan kacang hijau, protein pada kacang merah memiliki kelebihan yaitu dapat meningkatkan kadar kolesterol HDL, sehingga aman dikonsumsi semua kalangan.

Untuk dapat diserap tubuh secara lebih maksimal, protein harus dipecah terlebih dahulu

menjadi asam amino. Salah satu upaya untuk memecah protein pada kacang-kacangan adalah melalui proses perkecambahan. Selama proses perkecambahan, protein cadangan dalam kacang-kacangan didegradasi sehingga melepaskan peptida pendek maupun asam amino bebas, sehingga kadar asam aminonya akan mencapai puncaknya pada fase tertentu (Kanetro dan Hastuti, 2006).

Asam-asam amino harus ada dalam jumlah yang cukup agar aktivitas metabolisme tubuh tetap terjaga secara optimal (Buckle *et al.* 1978). Terdapat sembilan jenis asam amino esensial yang secara umum berfungsi untuk membentuk dan

memperbaiki jaringan tubuh, memproduksi energi, menghasilkan antibodi untuk membentuk daya tahan tubuh, serta mendukung produksi hemoglobin dan sel darah merah. Selain kesembilan jenis asam amino esensial tersebut, terdapat juga sebelas jenis asam amino non esensial yang secara umum berfungsi untuk mempercepat penyembuhan luka, melancarkan peredaran darah, serta mencegah penuaan dini (Lopez, 2020). Kacang merah mempunyai susunan asam amino esensial yang lengkap, beberapa diantaranya melebihi kandungan asam amino pada susu sapi yaitu arginin dan alanin (Kay, 1979). Kacang merah juga mengandung asam amino yang mampu meningkatkan stimulasi sekresi insulin, seperti alanin, arginin, fenilalanin, isoleusin, leusin dan lisin (Kanetro dan Astuti, 2013).

Selama proses perkecambahan terjadi aktivitas degradasi protein cadangan dalam biji oleh enzim protease endogen dan membentuk peptida pendek maupun asam amino bebas yang dibutuhkan selama pertumbuhan, hal ini berakibat terjadinya peningkatan terhadap kadar peptida dan asam amino bebasnya (Ferdiawan dkk, 2019). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komposisi asam amino dari ekstrak kecambah kacang merah yang diharapkan mengandung peptida pendek dan asam amino bebas, sehingga harus dilakukan tahapan deproteinasi untuk mengendapkan makromolekul protein yang ikut terlarut ke dalam ekstrak. Tahap deproteinasi dilakukan dengan metode presipitasi isoelektrik dengan pengaturan pH ekstrak kasar menjadi 4,5. Ekstrak kecambah kacang merah bebas

makromolekul protein dianalisis komposisi asam aminonya menggunakan metode HPLC.

## METODE

### Bahan

Bahan penelitian yang digunakan adalah kacang merah. Bahan kimia yang digunakan adalah natrium hipoklorit, HCl pekat, NaOH, buffer asetat, asetonitril, dan standar asam amino.

### Alat

Alat-alat yang digunakan meliputi seperangkat peralatan gelas, blender, alat sentrifugasi, indikator pH, vortex, lemari pendingin, botol vial, *magnetic stirrer* dengan *heater*, oven, dan instrumen HPLC merk Water.

### Pelaksanaan Penelitian

#### Perkecambahan Kacang Merah

Perkecambahan yang dilakukan mengikuti metode yang dilakukan oleh Bamdad *et al.* (2009). Sebanyak 1 kg kacang merah yang telah disortir direndam selama 30 menit dengan natrium hipoklorit 0,07% sampai terendam seluruhnya. Setelah 30 menit, lalu dibilas sebanyak tiga kali dengan air mengalir. Tahap selanjutnya dilakukan proses imbibisi dengan cara kacang hasil rendaman ditambah air hangat suhu 50°C pada awalnya hingga kacang terendam seluruhnya. Biji kacang merah kemudian dibiarkan terendam pada suhu kamar selama 5 jam. Setelah proses imbibisi, kacang ditiriskan dan ditempatkan dalam cawan petri yang telah dilapisi dengan kertas saring basah dan diisi dengan kacang merah seberat 15 g. Kacang merah kemudian dikecambahkan dalam *germinator* pada suhu 25°C dengan kelembaban 99% dan disemprot dengan aquades setiap 12 jam

untuk menjaga kelembaban kecambah. Biji kacang merah dikecambahkan selama 36 jam, kemudian disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam untuk menghentikan proses perkecambahan.

#### **Pembuatan Tepung Kacambah Kacang Merah**

Kacang merah yang telah mengalami perkecambahan disortir/dipilah kemudian dikeringkan dalam oven bersuhu  $50^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Kecambah kacang merah kering dikupas kulitnya, diblender kemudian diayak menggunakan ayakan ukuran 60 mesh sehingga diperoleh tepung kecambah kacang merah.

#### **Ekstraksi Komponen Asam Amino Bebas dari Tepung Kecambah Kacang Merah**

Tepung kecambah kacang merah sebanyak 5 g dicampur aquades dengan rasio 1:10 kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* dan *heater* pada suhu  $40^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit. Campuran disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh sesudah sentrifugasi merupakan ekstrak kecambah yang mengandung asam amino bebas, peptida pendek dan makromolekul protein. Makromolekul protein melalui tahap deproteinasi dengan metode presipitasi isoelektrik pada pH 4,5 sampai timbul endapan. Selanjutnya disentrifugasi untuk memisahkan endapan protein dan supernatannya. Supernatan yang diperoleh adalah ekstrak kecambah kacang merah bebas makromolekul protein. Ekstrak kecambah kacang merah selanjutnya dianalisis komposisi asam aminonya dengan metode HPLC.

#### **Analisis Komposisi Asam Amino**

Analisis dilakukan terhadap komposisi 15 jenis asam amino menggunakan instrumen HPLC. Analisis asam amino dilakukan menggunakan Waters Kolom C18 (3,9 x 150 mm) dengan pelarut buffer natrium asetat dan asetonitril (200 ml air, 0,2 ml CaEDTA). Sebanyak 20  $\mu\text{L}$  sampel disuntikkan ke dalam kolom. Elusi asam amino dicapai dengan meningkatkan konsentrasi asetonitril dalam eluen, menyebabkan masing-masing asam amino untuk dielusi pada waktu tertentu. Uji kuantitatif diperoleh dengan mengukur absorbansi kolom pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 254 nm dan membandingkan absorbansi puncak masing-masing asam amino pada sampel dengan asam amino standar.

#### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Analisis asam amino dilakukan pada kacang merah yang telah dikecambahkan selama 36 jam, kemudian diekstrak menggunakan aquades hingga diperoleh ekstrak kecambah kacang merah. Analisis asam amino dilakukan pada sampel ekstrak kecambah kacang merah yang telah di deproteinasi. Deproteinasi bertujuan untuk memisahkan asam amino bebas dari protein maupun peptida-peptida pendek yang mungkin tersisa dalam ekstrak, sehingga diperoleh data asam amino total. Pada penelitian ini dilakukan analisis terhadap 15 jenis asam amino yang terkandung dalam ekstrak kecambah kacang merah, dengan hasil seperti yang terlampir pada Tabel 1 berikut ini:

**Tabel 1. Hasil Analisis Asam Amino dalam Ekstrak Kecambah Kacang Merah**

No	Parameter	Kadar rata-rata (mg/kg)
1.	L-Serin	367,86
2.	L-Asam Glutamat	1213,305
3.	L-Fenilalanin	376,565
4.	L-Isoleusin	215,755
5.	L-Valin	341,935
6.	L-Alanin	273,435
7.	L-Arginin	307,305
8.	Glisin	232,07
9.	L-Lisin	301,665
10.	L-Asam Aspartat	777,035
11.	L-Leusin	365,51
12.	L-Tirosin	118,245
13.	L-Prolin	273,25
14.	L-Threonin	345,42
15.	L-Histidin	176,145

Berdasarkan data yang terlampir pada Tabel 1, ekstrak kecambah kacang merah mengandung 7 asam amino esensial (histidin, lisin, leusin, isoleusin, valin, threonin, dan fenilalanin). Asam amino esensial tidak dapat disintesis di dalam tubuh dan dapat diperoleh dari makanan yang dikonsumsi. Asam amino esensial secara umum berfungsi untuk membentuk dan memperbaiki jaringan tubuh, memproduksi energi, menghasilkan antibodi untuk membentuk daya tahan tubuh, serta mendukung produksi hemoglobin dan sel darah merah (Lopez, 2020). Berdasarkan data pada Tabel 1, dari ke-9 jenis asam amino esensial yang terkandung dalam ekstrak kecambah kacang merah, fenilalanin merupakan asam amino esensial dengan kadar yang paling tinggi dibanding asam amino esensial yang lain. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pasien dengan ADHD (*Attention Deficit Hyperactivity Disorder*) memiliki kadar fenilalanin

yang lebih rendah, sehingga pemberian makanan atau suplemen yang disubstitusi dengan fenilalanin dapat mengobati ADHD (Arum *et al.*, 2017).

Asam-asam amino esensial seperti fenilalanin, isoleusin, leusin dan lisin mampu meningkatkan stimulasi sekresi insulin, bersama dengan beberapa asam amino non esensial (alanin dan arginin). Kanetro dan Astuti (2013) telah melakukan penelitian terhadap kandungan asam amino pensекреksi insulin pada ekstrak kecambah bebas makromolekul protein dari kacang-kacangan lokal (kecambah kecipir, kara benguk, tunggak, dan biji kedelai impor) dengan metode yang sama dengan penelitian ini. Apabila dibandingkan dengan hasil analisis komposisi asam amino ekstrak kecambah kacang merah pada penelitian ini, maka diperoleh hasil bahwa kadar asam amino alanin, fenilalanin, isoleusin, dan leusin pada ekstrak kecambah kacang merah lebih tinggi apabila dibandingkan dengan kecambah kacang-

kacangan lokal tersebut. Tingginya kadar asam amino pensекреksi insulin ini menunjukkan bahwa ekstrak kecambah kacang merah berpotensi sebagai suplemen bagi penderita diabetes.

Hasil analisis juga menunjukkan bahwa ekstrak kecambah kacang merah mengandung 9 jenis asam amino non esensial (alanin, arginin, asam aspartat, asam glutamat, glisin, serin, prolin, dan tirosin). Asam amino non-esensial memiliki fungsi yang hampir sama dengan asam amino esensial, namun tidak seperti asam amino esensial, asam amino non esensial dapat disintesis di dalam tubuh atau diturunkan dari asam amino esensial.

Berdasarkan data yang diperoleh, asam glutamat merupakan asam amino dengan kadar tertinggi dalam ekstrak kecambah kacang merah yang dianalisis. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Audu and Matthew (2011) pada *Phaseolus vulgaris L* yang di proses dan tidak diproses, dimana kadar asam amino tertingginya adalah asam glutamat. Kandungan asam glutamat dengan kandungan sesuai batas ambang rasa berperan sebagai neurotransmitter (pembawa sinyal antar sel saraf) pada otak (Singh dkk., 2016). Tingginya kandungan asam glutamat pada ekstrak tepung kecambah kacang merah membuat kecambah kacang merah memiliki rasa yang gurih (Fadilah dan Ardiansyah, 2017). Hal inilah yang menyebabkan ekstrak kecambah kacang merah dapat dijadikan sebagai alternatif untuk diolah menjadi bahan penyedap makanan.

## KESIMPULAN

Hasil analisis terhadap komposisi 15 jenis asam amino pada ekstrak kecambah kacang merah

(*Phaseolus vulgaris L*) bebas makromolekul protein menunjukkan bahwa kadar asam amino tertinggi adalah asam glutamat yaitu sebesar 1213,305 mg/kg, sedangkan kadar asam amino terendah adalah tirosin sebesar 118,245 mg/kg. Perlu dilakukan analisis lanjut terhadap 5 jenis asam amino lain yang belum dianalisis dalam penelitian ini seperti asparagin, sistein, glutamin, metionin, dan triptofan, untuk mengetahui kandungan asam amino dari ekstrak kecambah kacang merah secara lengkap.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aragao, V.P.M., Bruno, V.N., Lucas, Z.P., Amanda, F.M., Eny, I.S.F., Vanildo, S., Claudete S.C. 2015. Free Amino Acids, Polyamines, Soluble Sugars and Proteins During Seed Germination and Early Seedling Growth of *Cedrela Fissilis* Vellozo (Meliaceae), An Endangered Hardwood Species from The Atlantic Forest in Brazil. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 124(27):157–169.
- Arum, Puspito, Dahlia Indah Amareta, and Faridlotul Zannah. 2017. Phenylalanine and Tryptophan Intake of Hyperactive Children With Autism. *Journal of Biomedicine and Translational Research*. (2):34-36.
- Acid, Protein, and Oil to Phosphorus Starvation and CO<sub>2</sub> Enrichment. *Frontiers in Plant Science*. 17(5): 1-13
- Bamdad, F., Shahram Dokhani., J. Keramat., and Reza Zareie. 2009. The Impact of Germination and *In Vitro* Digestion on the Formation of Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Inhibitory Peptides from Lentil Proteins Compared to Whey Proteins. *International Journal of Biological and Life Sciences*. 5(2):52-62.
- Causgrove, P. 2004. *Wheat and Flour Testing Methods. A Guide to Understanding Wheat and Flour Quality*. Wheat Marketing Center, Inc. USA.
- Fadilah, Risqah, dan Ardiansyah. 20017. Cerdas dalam Mengonsumsi MSG. <<https://www.bakrie.ac.id/berita-itp/artikel-pangan/1810-cerdas-dalam-mengonsumsi-msg>>. Diakses tanggal 10 Juli 2021.

- Ferdiawan, N., Nurwantoro, dan Bambang, D. 2019. Pengaruh Lama Waktu Germinasi Terhadap Sifat Fisik dan Sifat Kimia Tepung Kacang Tolo (*Vigna unguiculata L.*). *Jurnal Teknologi Pangan*. 3(2):349–354.
- Kanetro, Bayu dan Astuti Setyowati. 2013. Profil Asam Amino Penstimulasi Sekresi Insulin dalam Ekstrak Sesudah Pemisahan Protein Kecambah Kacang-Kacangan Lokal. *AGRITECH*. 33(3):258-264.
- Kay, D.E. 1979. *Food Legumes*. 3<sup>rd</sup>. Tropical Products Institue. London.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2019. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2019 Tentang Angka Kecukupan Gizi Yang Dianjurkan Untuk Masyarakat Indonesia.  
<[http://hukor.kemkes.go.id/uploads/produk\\_hukum/PMK\\_No\\_28\\_Th\\_2019\\_ttg\\_Angka\\_Kecukupan\\_Gizi\\_Yang\\_Dianjurkan\\_Untuk\\_Masyarakat\\_Indonesia.pdf](http://hukor.kemkes.go.id/uploads/produk_hukum/PMK_No_28_Th_2019_ttg_Angka_Kecukupan_Gizi_Yang_Dianjurkan_Untuk_Masyarakat_Indonesia.pdf)> Akses tanggal 30 Maret 2020.
- Laila, Ila Nur. 2008. Pengaruh Kultivar dan Umur Perkecambahan Terhadap Umur Perkecambahan Terhadap Kandungan Protein dan Vitamin E pada Kecambah (*Glycine max L. Merrill*). *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UINM. Malang.
- Mahmud, K.M., dan Niels, A.Z. 2009. *Tabel Komposisi Pangan Indonesia (TKPI)*. Edisi ke-1. Kompas Gramedia. Jakarta.
- Meyers S. 2000. Use of neurotransmitter precursors for treatment of depression. *Altern Med Rev*. 5(1):64-71
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 5962, Lysine. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Lysine>. Accessed July 4, 2021.
- Pertiwi, S.F., Aminah, dan Nurhidajah. 2013. Aktivitas Antioksidan, Karakteristik Kimia, dan Sifat Organoleptik Susu Kecambah Kedelai Hitam (*Glycin soja*) Berdasarkan Variasi Waktu Perkecambahan. *Jurnal Pangan dan Gizi*. 4(8):1-8.
- Singh, Shardendu K., Jinyoung Y Barnaby, Vangimalla R. Reddy and Richard C. Sicher. 2016. Varying Response of The Concentration and Yield of Soybean Seed Mineral Elements, Carbohydrates, Organic Acids, Amino
- Salim, Reny., Intan Sri Rahayu. 2017. Analisis Kadar Protein Tempe Kemasan Plastik dan Daun Pisang. *Jurnal Akademi Farmasi Prayoga*, 2(1):19-25.
- Wang, N.S. 2006. Amino Acid Assay by Ninhidric Calorimetric Method.  
<<http://www.eng.umd.nsw/ench485/lab3a.htm>> Akses tanggal 5 April 2020.
- Yasmin, A., Zeb, A., Khalil, A., Paracha, G., and Khattak, A. 2008. Effect of Processing on Anti-Nutritional Factors of Red Kidney Bean (*Phaseolus vulgaris*) Grains. *Food and Bioprocess Technology*. 1(4):415-419.
- Yazid, E., Lisda N., Oktaviani H.S. 2006. *Penuntun Praktikum Biokimia untuk Mahasiswa Analis*. Edisi ke-1. ANDI. Yogyakarta.
- Zhao, J. R.W.H Verwer, D.J. Van Wemelem. X-R Qi. S.F. Gao, P.J. Lucassen, and D.F Swaab. 2016. *Journal of Psychiatric Research*. 2(82):8-15