

## SINTESIS GARAM GLUTAMAT DARI AMPAS TAHU SECARA ENZIMATIS

### *SYNTHESIS GLUTAMATE SALT FROM TOFU DREGS BY ENZYMATIC*

*Nova Setyawati dan Nuniek Herdyastuti\**

*Departement of Chemistry, Faculty of Matematics and Natural Sciences  
State University of Surabaya*

Jl. Ketintang Surabaya (60231), telp 031-8298761

\*Corresponding author, email : [nuniekherdyastuti@unesa.ac.id](mailto:nuniekherdyastuti@unesa.ac.id)

**Abstrak.** Proses produksi tahu menghasilkan hasil samping berupa limbah cair maupun limbah padat yang disebut dengan ampas tahu. Ampas tahu umumnya hanya dibuang begitu saja, sehingga menimbulkan pencemaran lingkungan di sekitarnya. Permasalahan tersebut mulai diatasi dengan memanfaatkan ampas tahu sebagai hidrolisat protein karena kandungan proteinnya yang cukup tinggi. Hidrolisat protein berguna pada berbagai industri pangan salah satunya sebagai garam glutamat. Asam glutamat yang terbentuk dari proses hidrolisis dengan menggunakan enzim bromelin direaksikan dengan NaOH untuk membentuk garam glutamat. Asam glutamat yang terbentuk memiliki kadar sebesar 522,94 ppm pada konsentrasi enzim 50% dan menunjukkan puncak yang sama dengan asam glutamat standar. Hasil identifikasi asam glutamat menunjukkan puncak yang sama pada panjang gelombang 570 nm dan KLT pada Rf 0,33. Sintesis garam glutamat diperoleh suatu serbuk berwarna putih dengan pH 9,1 dan titik leleh 285 °C.

**Kata Kunci :** Ampas tahu, enzim bromelin, KLT, garam glutamat

**Abstract.** The process production of tofu result waste in the form of liquid and solid called tofu dregs. Tofu dregs is generally just thrown away, so that cause pollution of the surrounding environment. These problems began to be overcome by use tofu dregs as a protein hydrolyzate because of its high protein content. Hydrolysate protein is useful in various food industries, one of which is glutamate salt. Glutamic acid formed from the hydrolysis process use the bromelin enzyme is reacted with NaOH to form glutamate salts. Glutamic acid formed has a concentration of 522.94 ppm at 50% enzyme concentration and shows the same peak as standard glutamic acid. The results of identification of glutamic acid showed the same peak at a wavelength of 570 nm and TLC at Rf 0.33. The synthesis of glutamate salt was obtained by a white powder with a pH of 9.1 and a melting point of 285 °C.

**Keywords :** Tofu dregs, bromelin enzymes, TLC, glutamate salt

## PENDAHULUAN

Tahu adalah makanan yang dibuat dari kacang kedelai yang difermentasikan dan diambil sarinya [1]. Produksi tahu oleh beberapa industri baik secara tradisional maupun modern akan menghasilkan hasil samping berupa limbah cair maupun limbah yang biasanya disebut sebagai ampas tahu [2]. Ampas tahu umumnya hanya dibuang begitu saja, sehingga menimbulkan pencemaran lingkungan di sekitarnya. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, ampas tahu masih mengandung protein kasar cukup tinggi yaitu 27,55% sehingga mulai dimanfaatkan sebagai pakan ternak, pembuatan tempe

gembus (menjes), diolah sebagai tepung, dan berpotensi untuk dijadikan sebagai hidrolisat protein [3]. Hidrolisat protein berguna pada industri pangan, antara lain untuk fortifikasi ke dalam formulasi pangan non alergenik untuk bayi dan suplemen makanan diet, serta sebagai bahan pengemulsi [4]. Hidrolisat protein kedelai juga dapat digunakan sebagai penyedap rasa seperti *Monosodium Glutamate* (MSG) yang sering digunakan dan dijual bebas dipasaran [5].

Penyedap rasa dapat disintesis melalui tiga tahap yakni hidrolisis, pemisahan asam glutamat dan pembentukan garam. Melalui

teknik hidrolisis, protein dari suatu bahan dapat diubah menjadi senyawa asam amino dan berbagai ragam peptida. Bahan-bahan tersebut dipakai untuk menimbulkan *umami* (rasa gurih) pada makanan [5]. Proses hidrolisis dapat dilakukan secara kimiawi maupun enzimatis. Proses hidrolisis kimiawi, yaitu dengan penambahan zat kimia yang dapat memperpendek waktu, mempermudah dan mengurangi biaya pembuatan. Kelemahan teknik ini, penyedap rasa yang dihasilkan kurang baik dan keamanan bagi kesehatan kurang terjamin [6]. Hidrolisis secara enzimatis merupakan pilihan metode paling aman. Hidrolisis secara enzimatis lebih menguntungkan dibandingkan secara kimiawi, karena dapat menghasilkan asam-asam amino bebas dan peptida dengan rantai pendek yang bervariasi. Hal ini akan lebih menguntungkan karena memungkinkan untuk memproduksi hidrolisat dengan cita rasa yang berbeda [5].

Tahap pemisahan asam glutamat dari hidrolisat dilakukan menggunakan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Asam glutamat hasil pemisahan kemudian direaksikan dengan natrium dari senyawa NaOH untuk menghasilkan garam glutamat. Garam glutamat dikarakterisasi untuk mengetahui kelayakan pangan ketika dikonsumsi oleh manusia. Indikator kelayakan pangan yang umum digunakan adalah warna, bentuk, pH dan titik leleh. Diharapkan garam glutamat dari ampas tahu dapat digunakan sebagai penyedap rasa untuk mengatasi limbah industri tahu menuju *zero waste*.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada meliputi *sentrifuge* dingin (*Eppendorf* 5810 R), pH meter digital (ATC), Spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu* UV-1800), dan *Fisher Johns Melting Point*. Bahan yang digunakan meliputi ampas tahu, asam glutamat p.a, batang nanas,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  p.a (*Merck*),  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  p.a (*Merck*), NaOH p.a (*Merck*), ninhidrin p.a (*Merck*), etanol 96% p.a (*Merck*), n-butanol p.a (*Merck*), asam asetat glasial p.a (*Merck*) dan plat KLT silika gel (*Merck*).

## PROSEDUR PENELITIAN

### 1. Hidrolisis

Preparasi bubur ampas tahu sama dengan yang dilakukan oleh Machin [7]. Isolasi enzim bromelin dengan cara ekstraksi menggunakan buffer fosfat yang mengacu pada penelitian Herdyastuti [8]. Filtrat yang berisi ekstrak kasar enzim bromelin diperoleh dengan cara *sentrifuge* pada kecepatan 3500 rpm pada temperatur 4°C. Proses hidrolisis bubur ampas tahu dilakukan dengan menambahkan bubur ampas tahu dengan enzim bromelin dan dihidrolisis selama 2 jam pada temperatur 55 °C [7]. Inaktivasi enzim dilakukan dengan cara pendidihan selama 10 menit dan filtrat diperoleh dengan cara penyaringan.

### 2. Pemisahan Asam Glutamat dengan KLT

Asam glutamat dipisahkan dengan KLT menggunakan eluen n-butanol:asam asetat glasial:air dengan perbandingan 4:1:1 selama 2 jam. Asam glutamat diidentifikasi dengan reagen ninhidrin dan diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 570 nm.

### 3. Sintesis dan Karakterisasi Garam Glutamat

Sintesis garam glutamat dilakukan dengan cara mereaksikan asam glutamat dengan NaOH mengacu pada Dove [9]. Identifikasi garam glutamat yang terbentuk meliputi warna, bentuk, pH dan titik leleh.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Tahap Hidrolisis

Bubur ampas tahu yang diperoleh dengan blender seperti pada Gambar 1, yang bertekstur lembut dan masih mengandung air. Pada proses pembuatan bubur, dilakukan pemanasan dengan cara mengukus, hal tersebut bertujuan untuk mendenaturasi protein (mengubah struktur sekunder, tersier dan kuaterner pada protein tanpa mengubah struktur primernya/tanpa memotong ikatan peptida) sehingga memudahkan kerja enzim pada proses hidrolisis, selain itu untuk membunuh mikroorganisme yang dapat menimbulkan kontaminan sehingga berbahaya ketika dikonsumsi oleh manusia. Proses pembuatan bubur juga dilakukan penambahan air yang bertujuan untuk melarutkan asam amino yang bersifat polar, selain itu penambahan air juga berperan penting dalam penguraian

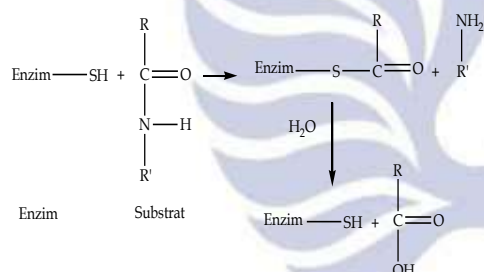
kompleks enzim-substrat pada tahap hidrolisis untuk menghasilkan produk (Gambar 2).



**Gambar 1.** Bubur ampas tahu

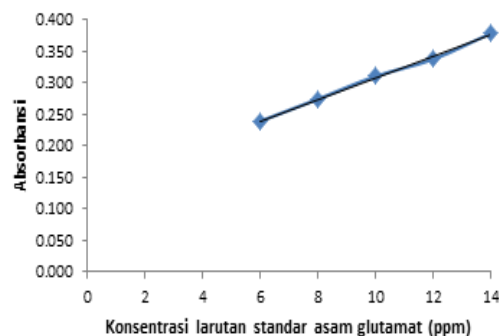
Hidrolisis dilakukan secara enzimatik menggunakan enzim bromelin yang telah diekstrak dari batang nanas (12-24 bulan). Ekstraksi enzim bromelin dari batang nanas dilakukan menggunakan metode homogenisasi. Metode ini memiliki beberapa kelebihan diantaranya mudah untuk dikerjakan dan prosesnya cepat.

Hasil ekstraksi ditambahkan ke dalam bubur ampas tahu dan diinkubasi selama 2 jam pada suhu 55 °C serta pH 7 agar terjadi proses hidrolisis (Gambar 2).



**Gambar 2.** Mekanisme enzimatik hidrolisis ikatan peptida [10]

Bubur ampas tahu yang dihidrolisis menggunakan enzim bromelin menghasilkan filtrat berwarna putih dan diduga mengandung asam-asam amino dan oligopeptida. Hasil hidrolisis yang mengandung asam glutamat diidentifikasi secara kuantitatif menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 570 nm. Penentuan konsentrasi asam glutamat dilakukan melalui kurva standar asam glutamat dengan konsentrasi 6, 8, 10, 12, dan 14 ppm seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3.



**Gambar 3.** Kurva standar asam glutamat

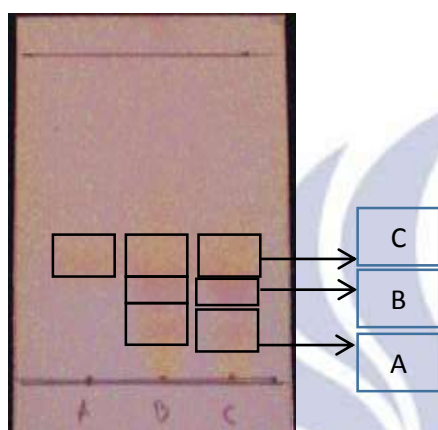
Grafik yang diperoleh antara konsentrasi asam glutamat dengan absorbansi menunjukkan garis linear dengan persamaan  $y = 0,0171x + 0,1371$ . Hasil penentuan pengaruh penambahan enzim bromelin terhadap konsentrasi asam glutamat yang dihasilkan seperti yang ditunjukkan pada Tabel . Berdasarkan Tabel 1, menunjukkan bahwa penambahan enzim bromelin 50% menghasilkan asam glutamat tertinggi yaitu 522,94 ppm. Konsentrasi asam glutamat terendah terletak pada perlakuan tanpa penambahan enzim yakni sebesar 205,79 ppm. Konsentrasi ini menghasilkan nilai konsentrasi asam glutamat yang paling rendah, karena tidak ada enzim yang bekerja memecah protein menjadi asam amino, sehingga konsentrasi yang muncul karena pengaruh hidrolisis oleh mikroorganisme yang juga memiliki enzim protease. Konsentrasi asam glutamat yang dihasilkan semakin meningkat seiring dengan penambahan enzim bromelin berkonsentrasi lebih tinggi, hal tersebut membuktikan bahwa semakin banyak konsentrasi enzim yang ditambahkan akan semakin banyak pula asam amino yang dihasilkan.

**Tabel 1.** Konsentrasi asam glutamat hasil hidrolisis

Konsentrasi enzim bromelin yang ditambahkan (%)	Konsentrasi asam glutamat (ppm)
Kontrol	205,79
16,67	335,81
33,33	366,41
50,00	522,94
66,67	375,38

## 2. Pemisahan Asam Glutamat Hasil Hidrolisis Ampas Tahu

Bubur ampas tahu hasil hidrolisis diduga masih mengandung asam-asam amino selain asam glutamat sehingga perlu dilakukan pemisahan. Salah satu cara pemisahan yaitu dengan menggunakan KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dengan eluen n-butanol:asam asetat:air. Pemilihan eluen tersebut didasarkan karena asam glutamat merupakan salah satu asam amino yang bersifat polar sehingga membutuhkan eluen yang bersifat sama yakni polar agar bisa dipisahkan.



**Gambar 4.** Hasil pemisahan asam glutamat

Berdasarkan noda yang dihasilkan pada plat KLT diduga terdapat 3 jenis asam amino yang berbeda yaitu lisin (A), asam aspartate (B) dan asam glutamat (C). Perbedaan asam amino tersebut disimpulkan berdasarkan nilai Rf dan warna ungu-kuning yang dihasilkan. Hasil identifikasi asam amino yang terpisah dengan KLT seperti pada Tabel 2.

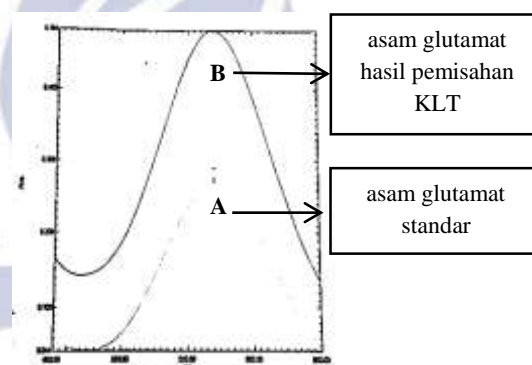
Proses pemisahan asam-asam amino menggunakan KLT didasarkan pada prinsip adsorpsi-partisi dimana sampel bergerak naik ke atas dengan jarak tertentu sesuai dengan tingkat kepolaran dan dipengaruhi oleh fasa gerak dan diam [11].

Asam glutamat yang telah dipisahkan menggunakan KLT selanjutnya diidentifikasi dengan mereaksikan asam glutamat dan ninhidrin sehingga dihasilkan warna ungu yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 570 nm. Hasil yang diperoleh ditunjukkan pada Gambar 5. Kurva A dan B menghasilkan pola yang sama tetapi berbeda

dalam hal nilai absorbansi, dimana nilai absorbansi kurva A lebih rendah dibandingkan kurva B. Hal ini menunjukkan jika konsentrasi asam glutamat hasil pemisahan dengan KLT lebih tinggi dibandingkan dengan asam glutamat yang digunakan (Tabel 3).

**Tabel 2.** Hasil identifikasi Rf asam amino

Kode Sampel	Nilai Rf	Asam Amino yang diduga
A (standar)	0,33	Asam glutamat
B (konsentrasi enzim 50,00%)	0,11	Lisin
	0,22	Asam aspartat
	0,33	Asam glutamat
C (konsentrasi enzim 16,67%)	0,11	Lisin
	0,22	Asam aspartat
	0,33	Asam glutamat



**Gambar 5.** Hasil identifikasi asam glutamat

**Tabel 3.** Panjang gelombang asam glutamat

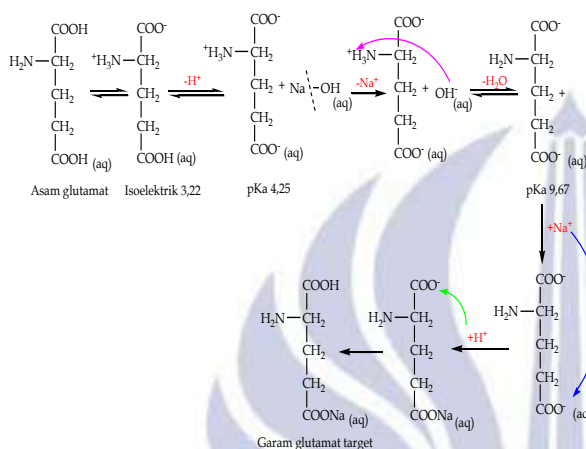
Nama Senyawa	$\lambda$ (nm)	Konsentrasi
Asam Glutamat Standar	570,00	10,00 ppm
Asam Glutamat Hasil Pemisahan KLT	570,00	19,53 ppm

## C. Sintesis dan Hasil Identifikasi Garam Glutamat

Asam glutamat yang telah berhasil dipisahkan dari asam-asam amino

direaksikan dengan NaOH untuk mendapatkan garam glutamat. Pembentukan garam glutamat didasarkan pada prinsip penetralan dimana ketika senyawa yang bersifat asam direaksikan dengan senyawa lain yang bersifat basa maka akan dihasilkan suatu garam [12].

Asam glutamat akan mengalami *zwitter ion* ketika dilarutkan di dalam air, sehingga dapat berperan sebagai suatu asam (donor proton) atau sebagai basa (akseptor proton) [13]. Berdasarkan sifat tersebut maka reaksi antara asam glutamat dengan NaOH dapat diduga seperti pada Gambar 6.



**Gambar 6.** Dugaan reaksi asam glutamat dengan NaOH untuk membentuk garam glutamat

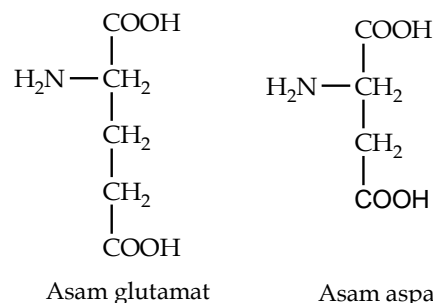
Larutan asam glutamat yang diperoleh dari hasil isolasi direaksikan dengan NaOH menghasilkan serbuk berwarna putih dengan pH 9,10 dan titik leleh 285 °C seperti yang ditunjukkan pada Gambar 7.



**Gambar 7.** Garam glutamat hasil sintesis

Sintesis belum murni karena terjadi perbedaan hasil titik leleh garam glutamat hasil sintesis dengan garam glutamat standar [14]. Hal ini diduga karena pengaruh asam amino yang lain seperti pada Tabel 2. Asam

aspartat diduga sebagai kontaminan terbesar dalam isolasi asam glutamat karena kemiripan struktur diantara keduanya seperti yang terlihat pada Gambar 8.



**Gambar 8.** Struktur asam glutamat dengan asam aspartat

### SIMPULAN

Berdasarkan data yang telah dihasilkan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Konsentrasi enzim bromelin terbaik untuk menghasilkan asam glutamat yakni 50,00%, dengan kadar sebesar 522,94 ppm.
2. Hasil pemisahan asam amino hasil hidrolisis dengan KLT diduga terdiri dari lisin, asam aspartat dan asam glutamat.
3. Hasil sintesis asam glutamat dengan NaOH diperoleh serbuk berwarna putih dengan pH 9,1 dan titik leleh 285 °C.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Rahmawati, F. 2013. *Teknologi Proses Pengolahan Tahu Dan Pemanfaatan Limbahnya*. Yogyakarta : Jurusan Pendidikan Teknik Boga dan Busana, Fakultas Teknik, Universitas Negeri Yogyakarta.
2. Coniwanti, P.; Herlanto, A.; dan Anggraini, I. 2009. Pembuatan Biogas dari Ampas Tahu. *Jurnal Teknik Kimia*, No. 1, Vol. 16.
3. Nuraini; Latif S. A. dan Sabrina. 2009. *Potensi Monascus purpureus untuk memproduksi pakan kaya monakolin dan aplikasinya untuk menghasilkan telur rendah kolesterol*. Padang : Laporan HB Strategis Nasional Lembaga Penelitian Universitas Andalas.
4. Nurhayati, T.; Salamah, E. dan Hidayat, T. 2007. Karakteristik Hidrolisat Protein Ikan Selar (*Caranx Leptolepis*) Yang Diproses Secara Enzimatis. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*, Vol X Nomor 1.

5. Witono, Y.; Aulanni'am; Subagio, A. dan Widjanarko, S. B. 2007. *Karakterisasi Hidrolisat Protein Kedelai Hasil Hidrolisis Menggunakan Protease Dari Tanaman Biduri (Calotropis Gigantean)*. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember, 13 : (7-13).
6. Anonim. 2000. *Hidrolisis Enzimatis Protein pada Pembuatan Flavor Hewani Alami*. Jember : Laporan Penelitian. FTP Unej dan PT Sentrafood Indonusa Corporation.
7. Machin, A. 2012. Potensi Hidrolisat Tempe sebagai Penyedap Rasa melalui Pemanfaatan Ekstrak Buah Nanas. *Biosantifika*, 4: 2.
8. Herdyastuti, N. 2006. Isolasi dan karakterisasi ekstrak kasar enzim bromelin dari batang Nanas (*Ananas comusus L.merr*). *Berkala Penelitian Hayati*, 12: 75–77.
9. Dove, W. F. 1948. *Flavor and Acceptability of Monosodium Glutamat*. Chicago : The Quartermaster Food and Container Institute.
10. Effendi, A. M., Winarni dan Sumarni, W. 2012. Optimalisasi Penggunaan Enzim Bromelin dari Sari Bonggol Nanas dalam Pembuatan Minyak Kelapa. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 1(1), 1-6.
11. Alen, Y.; Fitria, L. A. dan Yori, Y. 2017. Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Aktivitas Anti hiperurisemia Ekstrak Rebung *Schizostachyum brachycladum Kurz* (Kurz) pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, Vol. 03 No. 02.
12. Thadaka, Kalyan Chakravarthy. 2013. Acids-Bases Theory. *International Journal of Mathematics and Physical Sciences Research*. Vol. 1, Issue 1, pp: (18-24).
13. Lehninger, A. L. 1982. *Dasar-dasar Biokimia*. Alih bahasa, Maggi Thenawijaya. Erlangga : Jakarta.
14. Nimse, P. 2015. *Monosodium Glutamate in FOOD*. , India : Huntsman Corporation.

