



Karakterisasi Asam Amino Dan Gugus Fungsi Pada Tepung Dan Ekstrak Belalang

Dodi Darmakusuma^{1*}, Yohanita Dwi Pascalia Parada¹, Bibiana Dho Tawa¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknik, Universitas Nusa Cendana, Kupang

*Corresponding author, email: dodi_darmakusuma@gmail.com

ABSTRACT

This study aims to characterize amino acids and functional groups in grasshopper flour and extract through protein, amino acid, and functional group analyses. The research stages included the preparation of grasshopper flour and extract, the extraction process, amino acid analysis using High Performance Liquid Chromatography (HPLC), protein content determination using a UV-Vis spectrophotometer, and functional group identification using Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy. The results showed that grasshopper flour contained 12.6% protein, while grasshopper extract contained 10.1% protein. HPLC analysis identified the presence of cystine as one of the main components. FTIR spectra showed characteristic absorption bands of O-H, N-H, and C=O functional groups, indicating the presence of protein and amino acid compounds. These findings provide an overview of the chemical composition and biological potential of grasshopper flour and extract as food and feed sources with promising potential for further development.

Keywords: Grasshopper, grasshopper flour, grasshopper extract, protein, amino acids, HPLC, FTIR, alternative protein source

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi asam amino dan gugus fungsi pada tepung dan ekstrak belalang dilakukan melalui analisis protein, asam amino, dan gugus fungsi. Tahapan penelitian meliputi pembuatan tepung dan ekstrak belalang, proses ekstraksi, analisis asam amino menggunakan High Performance Liquid Chromatography (HPLC), penentuan kadar protein menggunakan spektrofotometer UV-Vis, serta identifikasi gugus fungsi menggunakan Fourier Transform Infrared (FTIR). Hasil analisis menunjukkan bahwa tepung belalang mengandung protein sebesar 12,6%, sedangkan ekstrak belalang mengandung protein sebesar 10,1%. Analisis HPLC mengidentifikasi keberadaan asam amino sistin sebagai salah satu komponen utama. Spektrum FTIR menunjukkan adanya serapan khas gugus O-H, N-H, dan C=O yang mengindikasikan keberadaan senyawa protein dan asam amino. Temuan ini memberikan gambaran mengenai komposisi kimia serta potensi biologis tepung dan ekstrak belalang sebagai sumber pangan dan pakan yang berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut.

Kata kunci : Belalang, tepung belalang, ekstrak belalang, protein, asam amino, HPLC, FTIR, sumber protein alternatif.

PENDAHULUAN

Perkembangan industri pangan berkelanjutan terus didorong oleh kebutuhan untuk mencari sumber protein alternatif yang ramah lingkungan, efisien, dan memiliki nilai gizi tinggi. Salah satu inovasi yang sedang dikembangkan di Indonesia adalah pemanfaatan serangga, khususnya belalang, sebagai sumber bahan pangan dan pakan ternak.⁴ Serangga memiliki keunggulan dalam pengonversian pakan, kebutuhan lahan yang lebih efisien, serta kandungan nutrisi yang cukup lengkap, termasuk protein dan asam amino esensial.²² Belalang kering mengandung protein sekitar 40%, sedangkan belalang segar mengandung protein sekitar 20%.⁵

Penelitian oleh H. Wijaya (2019) menjelaskan bahwa kandungan protein pada belalang basis basah sekitar 17 hingga 23,18%.²⁰ Selain itu, nilai protein terlarut pada belalang mentah mencapai 7222 mg/L, dan penelitian oleh Hasnan *et al.*, (2023) juga menjelaskan bahwa pada belalang kering kandungan protein bisa mencapai 35-48%, yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan daging ayam, sapi, dan ikan yang secara umum kandungan proteinnya berada dalam kisaran 17-20 %.⁷ Perbandingan ini menunjukkan bahwa meski daging ayam, sapi, dan ikan adalah sumber protein hewani yang baik dan umum dikonsumsi, tetapi belalang sebagai sumber protein alternatif memiliki kandungan protein yang lebih tinggi secara signifikan dan juga mengandung lemak sehat. Hal ini menjadikan belalang sebagai sumber protein berkualitas tinggi yang murah, mudah didapatkan, dan ramah lingkungan.

Protein memiliki peranan yang sangat penting dalam menjaga fungsi tubuh karena terdiri dari asam amino yang membantu membangun serta memperbaiki jaringan seperti otot, kulit, tulang, dan organ, terutama saat terjadi pertumbuhan dan pemulihan cedera.²¹ Selain fungsinya dalam pembentukan jaringan, protein juga dapat menjadi sumber energi cadangan ketika tubuh kekurangan karbohidrat dan lemak. Protein juga berperan dalam pembentukan antibodi yang melawan infeksi serta mendukung produksi enzim dan hormon yang mengatur metabolisme tubuh.¹³

Asam amino yang merupakan komponen penyusun protein memiliki peran besar dalam membentuk dan memperbaiki jaringan, produksi enzim, hormon, dan antibodi.² Selain itu, asam amino dapat digunakan sebagai sumber energi alternatif dan berkontribusi dalam menjaga keseimbangan hormon, meningkatkan stamina, daya ingat, serta mendukung fungsi otak termasuk pengaturan mood dan konsentrasi.²¹ Oleh karena itu, pemenuhan kebutuhan protein dan asam amino secara cukup sangat diperlukan untuk menjaga kesehatan dan kinerja tubuh secara optimal. Kebutuhan protein harian bervariasi antara 10-35% dari total kalori, disesuaikan dengan usia dan tingkat aktivitas. Pemenuhan kebutuhan ini penting untuk menghindari gangguan seperti kelemahan otot dan penurunan fungsi sistem kekebalan.¹⁰ Dengan meningkatnya permintaan global terhadap pemenuhan protein dan isu keberlanjutan mendorong pengembangan sumber protein alternatif sebagai yang menjanjikan. Salah satu sumber protein alternatif yang potensial adalah tepung dan ekstrak protein yang berasal dari belalang. Produk dari belalang ini memiliki keunggulan untuk dikembangkan sebagai bahan pangan dan pakan ternak bernilai tinggi, sehingga dapat mendukung pemenuhan kebutuhan protein secara berkelanjutan dan efisien. Pengelolaan belalang menjadi tepung memberikan berbagai manfaat penting, salah satunya memperpanjang masa simpan produk karena penurunan kadar air yang signifikan dan meningkatkan konsentrasi protein. Misalnya, kandungan protein dalam belalang segar sekitar 20%, tetapi setelah dikeringkan, kadar air yang hilang membuat protein tersebut menjadi sekitar 40% dari berat keringnya.⁵

Ini menjadikan tepung belalang sumber protein yang sangat bernilai dalam berbagai produk makanan olahan. Penelitian oleh Kusmaryani (2005) menegaskan bahwa tepung belalang memiliki kadar protein yang lebih tinggi, yaitu sekitar 17,9%, dibandingkan tepung udang windu yang hanya sekitar 9,8%.¹¹ Kandungan protein ini juga memenuhi standar SNI (Standar Nasional Indonesia) yang menetapkan bahwa produk olahan dengan tepung belalang minimal harus mengandung 12% protein, standar yang sama dengan produk seperti nugget atau tepung ikan.¹⁸ Dengan demikian, tepung belalang tidak hanya meningkatkan nilai gizi produk, tapi juga aman dan sesuai standar nasional sebagai bahan pangan yang berkualitas tinggi. Selain itu, kandungan senyawa kitin dan kitosan pada belalang memiliki

aktivitas antimikroba yang melindungi makanan dari serangan jamur dan bakteri, sehingga ketahanan pangan meningkat dan dapat digunakan lebih lama baik untuk pakan ternak maupun konsumsi manusia.¹⁹

Sedangkan pengelolaan belalang menjadi ekstrak yang mengandung protein dan asam amino berkualitas sangat baik untuk digunakan sebagai pangan dan pakan hewan. Hal ini disebabkan karena kandungan gizinya yang tinggi, termasuk protein yang merupakan komponen vital untuk pertumbuhan dan perbaikan jaringan, serta asam amino esensial yang mudah diserap oleh tubuh. Selain itu, penggunaan ekstrak belalang sebagai sumber protein juga ramah lingkungan karena produksi belalang memerlukan sumber daya yang lebih sedikit dibandingkan dengan sumber protein hewani konvensional seperti daging sapi atau ayam. Oleh karena itu, ekstrak belalang sangat potensial sebagai bahan pangan alternatif yang berkelanjutan dan mendukung keberlanjutan ekosistem.²⁰ Namun demikian, meskipun telah ada beberapa studi yang meneliti kandungan protein pada belalang secara umum, khususnya pada tepung belalang, namun belum terdapat penelitian yang secara spesifik dan mendalam menjelaskan kadar protein yang terdapat dalam bentuk ekstrak belalang. Berdasarkan kondisi dan potensi yang ada peneliti terdorong untuk melakukan penelitian tentang “ Karakterisasi asam amino pdan gugus fungsi pada tepung dan ekstrak belalang”

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Tepung dan Ekstrak Belalang

Tepung belalang

Tepung belalang dihaluskan dengan menggunakan blender. Penghalusan ini bertujuan untuk memperluas permukaan sampel sehingga partikel-partikel belalang yang telah kering menjadi lebih kecil dan seragam ukurannya. Ukuran partikel yang homogen sangat penting untuk meningkatkan luas permukaan sampel, sehingga mempercepat dan mempermudah kontak antara zat dalam tepung dengan pelarut selama proses ekstraksi. Peningkatan luas permukaan ini meningkatkan efektivitas ekstraksi dan penyerapan nutrisi, serta menghasilkan produk akhir tepung belalang dengan tekstur yang konsisten dan kualitas yang terjaga. Gambar 1 menunjukkan bahwa tepung belalang memiliki warna coklat dan bertekstur halus.



Gambar 1. Tepung Belalang

Ekstrak Belalang

Pembuatan ekstrak belalang dengan metode maserasi menggunakan larutan NaCl 0,05 N dilakukan melalui beberapa tahapan sistematis yang saling berkaitan untuk memperoleh ekstrak murni dengan kandungan senyawa bioaktif optimal. Langkah awal adalah pemanasan larutan selama satu jam pada suhu 60°C di atas stirrer. Pemanasan ini bertujuan meningkatkan efisiensi pelarutan senyawa aktif dari belalang ke dalam larutan garam tersebut dengan suhu optimal yang tidak dapat merusak senyawa ekstrak belalang tersebut. Suhu 60°C dianggap efektif untuk mempercepat proses ekstraksi tanpa merusak komponen kimia aktif dalam bahan biologis.

Setelah pemanasan, larutan didiamkan selama satu hari untuk proses maserasi lanjut yang memungkinkan pelepasan maksimal senyawa aktif dari jaringan padat belalang ke dalam pelarut. Waktu inkubasi ini penting agar kontak pelarut dengan bahan lebih lama serta memperbaiki hasil ekstraksi.¹⁷ Selanjutnya, larutan ekstrak disaring menggunakan metode filtrasi untuk memisahkan padatan ampas sehingga diperoleh filtrat bersih yang siap diolah.³

Filtrat yang diperoleh kemudian dikeringkan di oven dengan suhu 60°C untuk menghilangkan kadar air yang ada pada sampel sehingga mendapatkan ekstrak dalam bentuk gel yang lebih stabil dan murni (Gambar 2). Pemilihan suhu oven yang sama dengan suhu pemanasan larutan juga digunakan agar senyawa aktif tidak rusak dan menjaga kualitas ekstrak sehingga cocok untuk analisis lebih lanjut.¹²

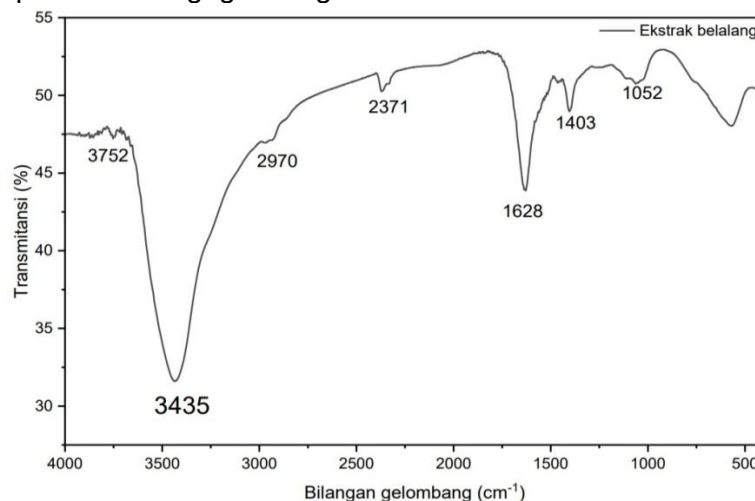


Gambar 2. Ekstrak belalang

Karakterisasi Produk

Penentuan gugus fungsi ekstrak belalang

Penentuan gugus fungsi pada ekstrak belalang menggunakan spektrofotometer FTIR. Analisis spektrofotometer FTIR digunakan untuk mengetahui gugus-gugus yang terbentuk dari sampel yang dihasilkan dan juga memprediksikan reaksi polimerisasi yang terjadi. Analisis ini didasarkan pada analisis dari panjang gelombang puncak-puncak karakteristik dari suatu sampel. Panjang gelombang puncak-puncak tersebut menunjukkan adanya gugus fungsi tertentu yang ada pada sampel, karena masing-masing gugus fungsi memiliki puncak karakteristik yang spesifik untuk gugus fungsi tertentu.



Gambar 3. Spektra FTIR ekstrak belalang

Spektrum FTIR ekstrak belalang Gambar 3 menunjukkan keberadaan protein, asam amino, serta polisakarida struktural kitin dan kitosan. Pada puncak 3752 cm^{-1} muncul gugus O-H bebas akibat vibrasi ulur. Muncul puncak lebar pada 3435 cm^{-1} berasal dari vibrasi ulur gugus -NH . Gugus ini umum dijumpai pada asam amino bebas maupun residu asam amino dalam struktur protein, karena semua asam amino memiliki gugus amina (-NH_2) dan sebagian memiliki gugus hidroksil (misalnya serin, treonin, dan tirosin). Serapan pada daerah ini juga merupakan ciri rantai polisakarida seperti kitin, tetapi keberadaan -NH menunjukkan kontribusi dari komponen protein, sebagaimana dilaporkan oleh Kaczmarek *et al.*, (2019).⁹

Puncak pada serapan 2970 cm^{-1} akibat rentangan Csp³-H gugus yang sangat melimpah pada rantai samping asam amino. Keberadaan puncak ini menandakan bahwa sampel masih mengandung fraksi protein atau asam amino yang tidak sepenuhnya hilang selama proses ekstraksi, sejalan dengan temuan Bayarri *et al.*, (2021) pada ekstraksi protein dari bahan biopolimer. Puncak 1628 cm^{-1} , merupakan avibrasi dari C=O, merupakan indikator utama keberadaan protein karena sepenuhnya berasal dari ikatan peptida (-CONH-) pada struktur protein. Munculnya puncak kuat pada daerah ini menegaskan bahwa sampel masih memiliki kandungan protein atau polipeptida, seperti yang dilaporkan pada penelitian sebelumnya tentang protein serangga dan kitin. Puncak pada 1403 cm^{-1} merupakan area sidik jari menunjukan adanya vibrasi dari ikatan C-H, yang juga merupakan ciri khas struktur protein dan asam amino dalam rantai polipeptida. Kehadiran amide III memperkuat indikasi bahwa struktur peptida masih ada dalam sampel, sesuai dengan penelitian Hasan *et al* (2023) pada analisis FTIR protein dan polisakarida. Selain itu, puncak 1052 cm^{-1} , merupakan vibrasi ulur

dari C-O menandakan keberadaan gugus eter polisakarida (kitin/kitosan). Puncak ini juga sering tumpang tindih dengan gugus C-O dari asam amino polar seperti serin atau treonin, sehingga menegaskan kontribusi simultan dari polisakarida dan residu protein dalam sampel.

Penentuan kadar protein

Proses penentuan kadar protein metode biuret meliputi uji kualitatif dengan melihat perubahan warna setelah sampel ditambahkan reagen biuret, kemudian intensitas warna diukur menggunakan spektrofotometer Uv-Vis untuk mengetahui absorbansi pada panjang gelombang 520 nm. Persiapan sampel belalang dibuat dalam bentuk ekstrak dan tepung dengan tujuan utama untuk mempermudah proses analisis serta memperoleh hasil yang representatif dan akurat. Sampel dilarutkan akuades kemudian disaring. Dalam analisis kadar protein, tahap filtrasi merupakan langkah penting untuk memisahkan komponen padat atau partikel yang tidak larut dari supernatan sampel tepung belalang. Proses ini bertujuan menghilangkan partikel-partikel pengganggu seperti serat, lemak, dan pati yang dapat menyebabkan kekeruhan serta mengganggu pembacaan absorbansi pada spektrofotometer, sehingga memberikan hasil pengukuran kadar protein yang lebih valid dan reliabel.

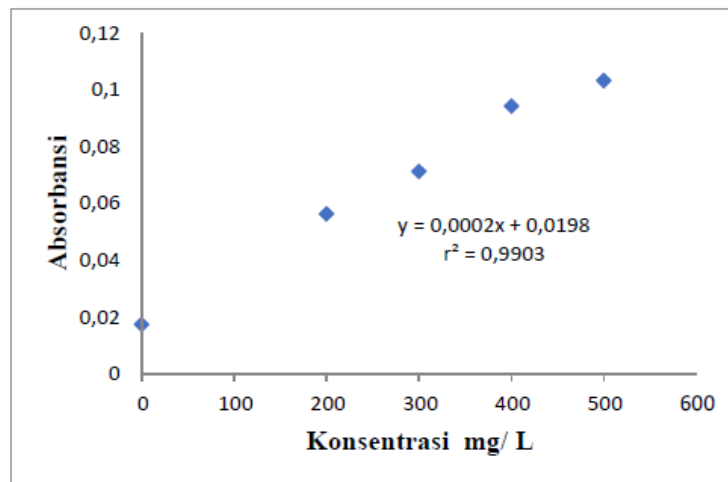
Hasil uji kualitatif terhadap kandungan protein dalam tepung dan ekstrak belalang menunjukkan tidak terjadi perubahan warna ungu yang jelas atau signifikan setelah penambahan reagen biuret, yang mengindikasikan kadar protein terlarut dalam sampel relatif rendah. Dalam analisis kuantitatif protein, bahan makanan yang mengandung protein akan menunjukkan perubahan warna menjadi ungu setelah dicampurkan dengan pereaksi biuret. Reaksi ini terjadi karena keberadaan gugus amino pada protein yang akan bereaksi dengan ion Cu^{2+} yang terkandung dalam reagen biuret, membentuk senyawa kompleks berwarna ungu. Reagen biuret sendiri terdiri dari larutan CuSO_4 yang berfungsi sebagai sumber ion Cu^{2+} , serta bahan lain seperti NaOH yang menciptakan kondisi basa kuat yang diperlukan untuk reaksi.¹⁴ Proses ini didasarkan pada mekanisme dimana ion Cu^{2+} menghasilkan ikatan koordinasi dengan gugus nitrogen dari ikatan peptida pada molekul protein. Semakin banyak ikatan peptida yang terbentuk, biasanya menunjukkan tingkat keberadaan protein yang lebih tinggi, dan hal ini akan tercermin dari intensitas warna ungu yang dihasilkan. Warna ungu ini biasanya menunjukkan keberadaan ikatan peptida yang cukup panjang dan banyak, sehingga semakin pekat warna ungu yang terbentuk, semakin tinggi pula konsentrasi protein dalam sampel.

Dalam penelitian ini, BSA digunakan sebagai larutan untuk membuat kurva standar untuk penetapan konsentrasi protein karena merupakan protein alami yang stabil dan tidak reaktif dengan kemurnian tinggi dan ketersediaan yang luas. Larutan standar BSA dibuat dari larutan stok BSA 5 mg/mL, volume larutan standar yang digunakan adalah 0 mL; 0,4 mL; 0,6 mL; 0,8 mL; dan 1 mL, yang kemudian diencerkan menggunakan akuades hingga volume total 4 mL dan ditambahkan pereaksi biuret. Pengukuran intensitas warna pada larutan standar BSA dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk memperoleh absorbansi larutan pada panjang gelombang 520 nm. Hasil pengukuran kurva baku disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai absorbansi deret standar BSA

No	Konsentrasi (mg/mL)	Absorbansi
1	0	0,018
2	200	0,057
3	300	0,072
4	400	0,095
5	500	0,104

Data yang diperoleh digunakan untuk menyusun persamaan regresi linier. Persamaan ini digunakan sebagai dasar penetapan kadar protein dalam sampel tepung dan ekstrak belalang, yang diperoleh melalui kurva standar BSA. Kurva standar tersebut disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Kurva standar BSA.

Berdasarkan hasil yang diperoleh semakin tinggi konsentrasi, maka nilai absorbansi juga semakin besar, sehingga kurva yang terbentuk linear. Persamaan regresi $y = 0,0002x + 0,0198$ dengan nilai koefisien relasi (r^2) = 0,9903. Hasil nilai regresi dari kurva kalibrasi digunakan untuk menghitung konsentrasi larutan sampel. Sehingga hasil perhitungan konsentrasi larutan sampel tepung yaitu 126 mg/L dan sampel ekstrak 101 mg/L. Hasil pengukuran kadar protein menunjukkan bahwa tepung belalang memiliki kandungan protein sebesar 12,6%, sementara ekstrak belalang mengandung protein sebanyak 10,1%. Kandungan protein pada tepung belalang ini sudah memenuhi standar mutu yang telah ditetapkan secara nasional. Menurut standar mutu pakan yang berlaku, kadar protein minimal yang direkomendasikan untuk tepung pakan serangga seperti tepung belalang adalah sekitar 12% atau lebih. Standar nasional Indonesia untuk produk nugget yang menggunakan tepung belalang mensyaratkan kadar protein minimal sebesar 12%.¹⁷ Oleh karena itu, tepung belalang dengan kadar protein 12,6% sudah memenuhi persyaratan ini dan layak digunakan sebagai bahan pakan. Sebaliknya, ekstrak belalang dengan kadar protein 10,1% belum cukup tinggi untuk dijadikan bahan pakan utama secara mandiri. Namun, ekstrak ini masih dapat dimanfaatkan jika dikombinasikan dengan sumber protein lain untuk mencapai kebutuhan protein yang optimal dalam pakan. Dengan kualitas protein tersebut, tepung belalang siap pakai sudah cukup baik untuk memenuhi kebutuhan protein dalam formulasi pakan hewan atau manusia.

Analisis asam amino

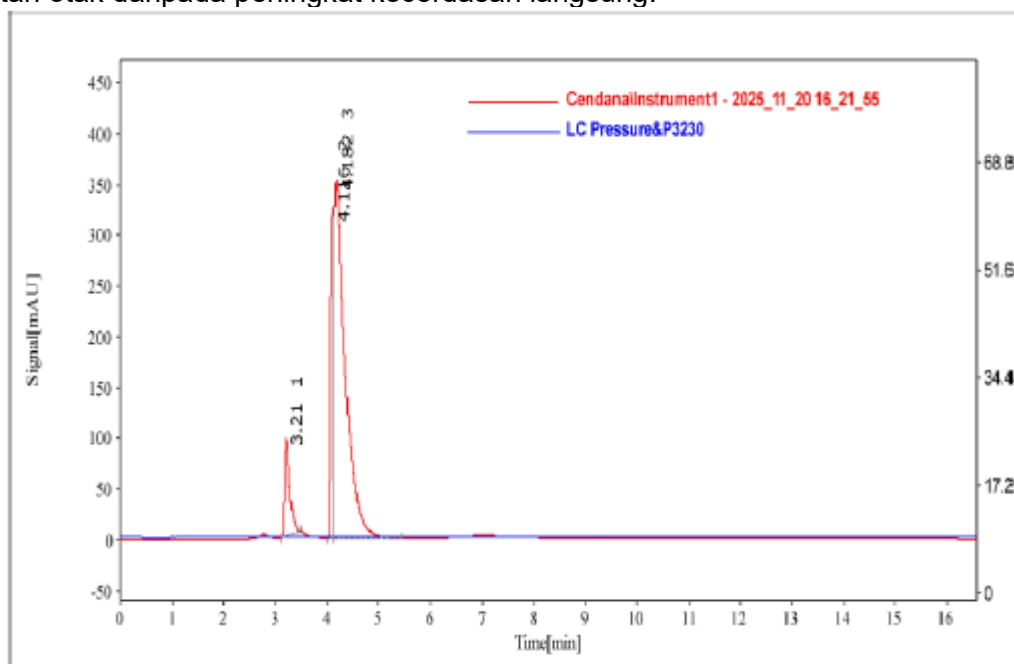
Analisis asam amino menggunakan metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC) pada tepung dan ekstrak belalang adalah metode ilmiah yang digunakan untuk mengukur dan mengenali berbagai jenis asam amino yang terkandung dalam bahan tersebut. Asam amino adalah molekul dasar penyusun protein, yang sangat penting bagi tubuh karena berperan dalam membangun dan memperbaiki jaringan, menghasilkan enzim serta hormon, dan menjadi sumber energi saat diperlukan.

Proses analisis asam amino menggunakan HPLC dimulai dari persiapan sampel belalang yang dilarutkan dalam akuades HPLC. Tujuan penggunaan akuades adalah untuk melarutkan sampel secara homogen dan memastikan sampel dalam bentuk larutan yang sesuai untuk injeksi ke dalam sistem HPLC. Setelah itu, ditambahkan metanol HPLC yang berfungsi sebagai pelarut organik untuk membantu melarutkan senyawa dalam sampel serta meningkatkan efisiensi pemisahan asam amino di dalam kolom kromatografi, karena metanol dapat mengubah polaritas fase gerak sehingga mempengaruhi interaksi asam amino dengan fase diam. Sampel selanjutnya menjalani proses sonikasi, yang bertujuan untuk membantu melarutkan partikel padat atau menghilangkan gelembung udara dalam larutan sehingga mendukung homogenitas sampel dan mencegah gangguan pada sistem HPLC. Setelah disonikasi, sampel kemudian disentrifugasi, yaitu proses pemisahan partikel padat yang tersuspensi dari larutan melalui percepatan sentrifugal. Hal ini bertujuan untuk memperoleh larutan jernih bebas partikel padat, sehingga tidak menyumbat kolom HPLC dan memastikan hasil analisis yang akurat serta konsisten.

Setelah preparasi, larutan sampel yang telah siap kemudian diinjeksi ke dalam sistem HPLC. Pada tahap injeksi ini, sampel dialirkan melalui kolom kromatografi yang berfungsi memisahkan asam amino berdasarkan waktu retensinya. Setiap asam amino yang terpisah akan menghasilkan puncak pada kromatogram. Puncak-puncak ini kemudian diinterpretasikan untuk mengidentifikasi jenis asam amino berdasarkan waktu retensi, dan mengukur kadar atau konsentrasi berdasarkan tinggi serta luas puncak. Dengan demikian, seluruh rangkaian proses mulai dari pelarutan hingga injeksi sangat penting untuk menghasilkan data kuantitatif dan kualitatif yang valid mengenai kandungan asam amino dalam tepung maupun ekstrak belalang.

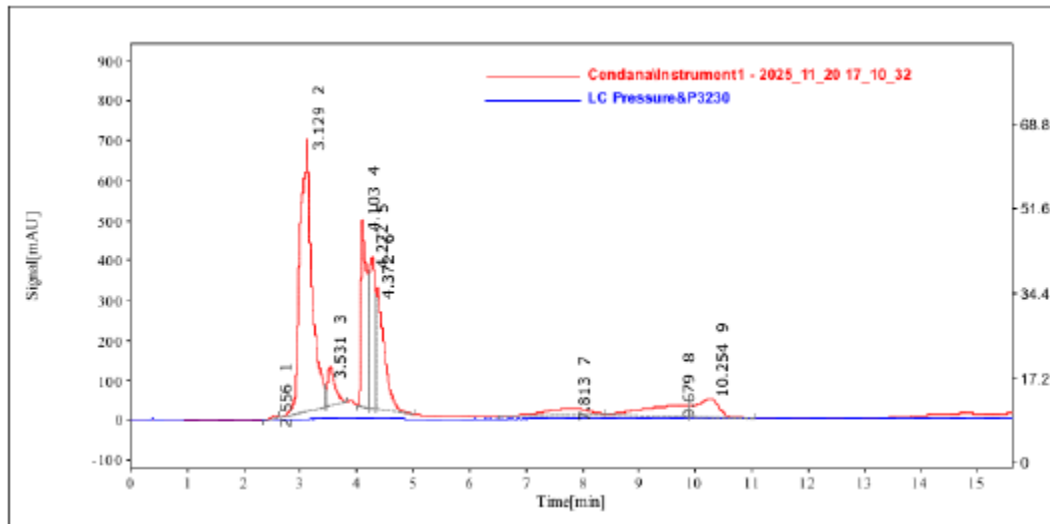
Penelitian ini menggunakan sistin sebagai standar dalam analisis asam amino pada tepung dan ekstrak belalang. Sistin sebagai standar analisis asam amino memiliki relevansi penting tidak hanya dalam teknik analisis HPLC, tetapi juga dari segi fungsi biologis, khususnya terkait fungsi otak dan aktivitas antioksidan. Sistin adalah asam amino yang mengandung unsur sulfur dan berperan penting dalam pembentukan ikatan disulfida yang menjaga kestabilan struktur protein. Selain itu, sistin merupakan prekursor langsung dalam sintesis glutathione, antioksidan utama di dalam sel yang melindungi jaringan otak dari kerusakan oksidatif akibat radikal bebas.

Penelitian oleh Foyer dan Noctor (2011) menjelaskan bahwa glutathione yang disintesis dari sistin sangat penting untuk menjaga keseimbangan redoks di otak, melindungi neuron dari stres oksidatif yang berkaitan dengan gangguan neurodegeneratif seperti Alzheimer dan Parkinson. Glutathione berperan dalam mempertahankan fungsi kognitif dan kesehatan otak secara keseluruhan. Selain itu, sistin juga berperan dalam modulasi neurotransmitter dan perlindungan terhadap kerusakan sel saraf, sehingga lebih berfungsi sebagai pelindung kesehatan otak daripada peningkatan kecerdasan langsung.⁶

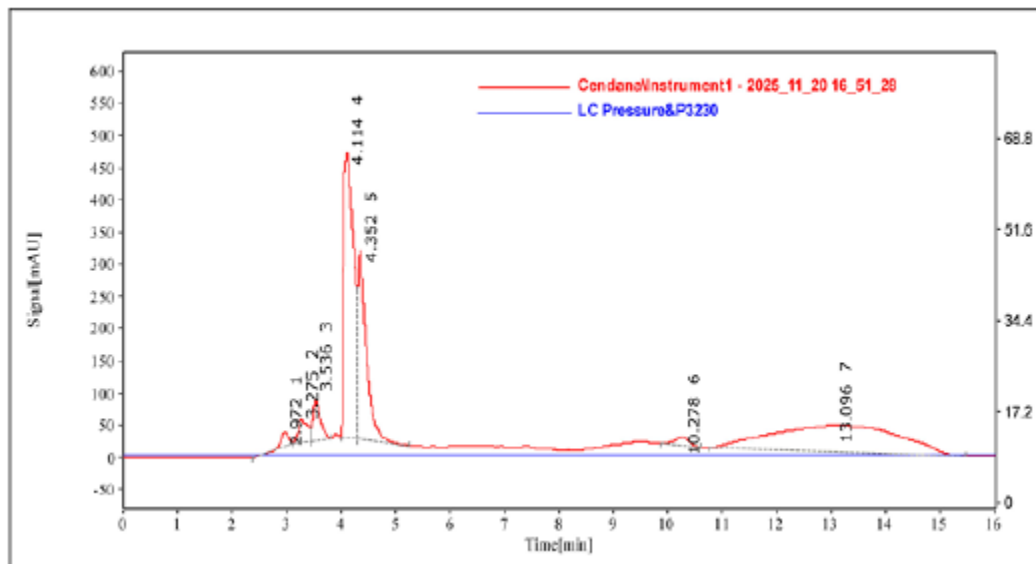


Gambar 5. Kromatogram asam amino standar sistin

Pada Gambar 5, hasil kromatogram HPLC standar asam amino, puncak utama pada waktu retensi (RT) 4,116 menit diidentifikasi sebagai asam amino sistin. Identifikasi ini dilakukan berdasarkan kesesuaiannya dengan waktu retensi sistin standar yang umum digunakan dalam analisis asam amino pada bahan pangan berprotein tinggi, termasuk tepung dan ekstrak serangga. Senyawa ini cenderung terelusi pada rentang 4,111 menit, sebagaimana dijelaskan dalam berbagai metode *reversed-phase* HPLC untuk analisis asam amino.



Gambar 6. Kromatogram asam amino ekstrak belalang.



Gambar 7. Kromatogram asam amino tepung belalang.

Gambar 6 menunjukkan kromatogram ekstrak belalang. Sistin terdeteksi pada puncak kromatogram dengan waktu retensi 4,103 menit. Gambar 7 menunjukkan kromatogram tepung belalang. Sistin terdeteksi pada puncak kromatogram dengan waktu retensi 4,114 menit. Waktu retensi sistin 4,103 dan 4,114 menit pada kromatogram belalang diperkuat oleh Rumpold et al (2013) yang melaporkan rentang elusi sistin 4,111-4,501 menit pada HPLC *ortho-phthalaldehyde* (OPA) atau *fluorenylmethyloxycarbonyl* (Fmoc) dengan kolom C18 dan gradien asetonitril-fosfat. Adanya perbedaan kecil sebesar 0,013 menit ini terjadi karena variasi matriks sampel ekstrak mengandung senyawa larut lebih kompleks yang dapat memengaruhi viskositas fase gerak atau interaksi minor dengan fase diam kolom reversed-phase, sedangkan tepung memiliki komposisi padat yang lebih homogen tetapi keduanya tetap konsisten dalam rentang umum 3,80-4,50 menit, yaitu rentang sesuai dengan yang dilaporkan untuk asam amino sistin pada metode HPLC dengan derivatisasi OPA dan Fmoc. Karakteristik puncak yang tajam, simetris, dan berintensitas tinggi semakin menguatkan bahwa senyawa ini adalah sistin, karena asam amino sulfur ini dikenal menghasilkan puncak yang stabil dan terpisah baik pada kolom *reversed-phase*. Identifikasi ini juga sejalan dengan pola elusi sistin pada metode HPLC pangan sebagaimana dilaporkan dalam studi analisis asam amino.⁸ Santa (2023) menjelaskan bahwa serangga, termasuk belalang, yang memiliki kandungan asam amino sulfur (Sistin) yang relatif tinggi.¹⁶ Rumpold dan Schlüter (2013) menyatakan bahwa asam amino sulfur pada serangga berperan penting dalam pembentukan struktur protein eksoskeleton, yang membutuhkan kestabilan mekanik melalui ikatan

disulfida.¹⁵ Penelitian Yang et al (2019) juga mendukung hal ini dengan melaporkan bahwa protein belalang kaya akan residu sistin yang membentuk ikatan disulfida (S-S) sehingga meningkatkan kekuatan kutikula.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa: Kandungan protein pada tepung belalang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak belalang. Dimana pada tepung belalang kandungan protein sebesar 12,6% sedangkan pada ekstrak belalang kandungan protein 10,1%. Terdapat kandungan asam amino pada tepung dan ekstrak belalang pada retensi waktu, tepung belalang 4,103 menit dan ekstrak belalang 4,114 menit yang menunjukan adanya jenis asam amino sistin pada tepung dan ekstrak belalang. Hal ini sesuai dengan retensi waktu pada standar sistin. Ekstrak belalang mengandung gugus fungsi kimia utama, yaitu gugus amino dengan rumus $-NH_2$, gugus karboksil $-COOH$, gugus hidroksil $-OH$, serta gugus karbonil $C=O$, CH , CH_3 , dan NH . Gugus-gugus ini dikonfirmasi melalui analisis spektroskopi FTIR pada ekstrak belalang, yang menunjukkan keberadaan komponen protein, lipid, dan karbohidrat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Badan Standarisasi Nasional (BSN). 2022. SNI 7949:2022 tentang Kitosan – Syarat Mutu dan Pengolahan. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional. Badan Standardisasi Nasional (BSN). 2015. *SNI 8173:2015 - Pakan Alternatif Berbasis Serangga*. Jakarta: BSN.
2. Chandra, W., Ilhami, M., Ariwibowo, S., Riche, R., & Napitupulu, S. (2024). *Studi Pengalaman Pengguna pada Aplikasi Telemedicine Halodoc: Temuan dan Rekomendasi*. *SATESI: Jurnal Sains Teknologi dan Sistem Informasi*, 4(2), 193–199.
3. Fadel, O. E., Kenkare, A., and Zhang, J. 2023. Steroid responsive idiopathic calcitriol induced hypercalcemia : *Journal BMC Nephrology*, 24(1), Article 159.
4. Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. 2025. Faperta UGM dampingi petani memanfaatkan belalang kembara sebagai pakan alternatif di Nusa Tenggara Timur. <https://web.faperta.ugm.ac.id/faperta-ugm-dampingi-petani-manfaatkan-belalang-kembara-sebagai-pakan-alternatif-di-nusa-tenggara-timur/> Diakses dari september 2025.
5. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor. 2012. Jangan sepelekan kandungangizi belalang. <https://bandung.kompas.com/read/2012/11/06/06393161/jangan-sepelekan-kandungan-gizi-belalang>. Diakses dari september 2026.
6. Foyer, C. H., and Noctor, G. (2011). *Ascorbate and Glutathione The heart of the redox*. *Plant Physiology*, 155(1), 2-18.
7. Hasnan, F. F. B., Feng, Y., Sun, T., Parraga, K., Schwarz, M., dan Zarei, M. 2023. *Insects as Valuable Sources of Protein and Peptides: Production, Functional Properties, and Challenges*. *Foods*, 12(23), 4243.
8. Henderson, M.E. 2010. *Evaluation of Peak Characteristics in Reversed-Phase HPLC Amino Acid Analysis*. *Food Analytical Methods*, 3(3), 234-240.
9. Kaczmarek, S. A., Kubis, M., Lewko, L., Nowaczewski, S., Hejdysz, M., and Rutkowski, A. 2019. The effect of enzyme and protein source on laying hens performance, eggshell and bone traits. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 31(5), 353–360.
10. Khuriyah, K. 2025. Potensi Senyawa Xanthone dalam Ekstrak Kulit Manggis. *Jurnal Sehat Mandiri*, 20(2).
11. Kusmaryani. 2005. *Prospek Tepung Belalang Kayu (Melanoplus cinereus) Sebagai Alternatif Sumber Protein Hewani Bagi Kesehatan Masyarakat*. Skripsi. Universitas Negeri Semarang.
12. Nurhasnawati, H., Sukarmi, S., dan Handayani, F. 2017. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu bol (*Syzygium malaccense* L.). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 3(1), 91–95.
13. Purwaningsih, E. 2013. Disfungsi telomer pada penyakit autoimun. *Jurnal Kedokteran YARSI*, Vol. 21 No. 1, hal. 041–049.
14. Rita, R. S. 2024. *Analisis Kadar Protein. Analisis Zat Gizi Pangan Teori Dan Praktik*, 74.

15. Rumpold, B. A. and O. K. Schlüter. 2013. *Nutritional composition and safety aspects of edible insects*. Molecular Nutrition and Food Research, 57(5), 802–823.
16. Santa escolastica, C., de Pril, I., van de Voorde, I., dan Fraeye, I. 2023. *Fatty Acid and Amino Acid Profiles of Seven Edible Insects: Focus on Lipid Class Composition and Protein Conversion Factors*. Foods, 12(22), 4090.
17. Savitri, I., Suhendra, L., dan Wartini, N. M. 2017. Pengaruh jenis pelarut pada metode maserasi terhadap karakteristik ekstrak *Sargassum polycystum*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 5(3), 93–101.
18. Usfinit, M. G., Kolo, Y., dan Beyleto, V. Y. 2023. Pengaruh Proporsi Daging Ayam dan Tepung Belalang Kembara. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, Vol. 11 No. 2, halaman. 79–88.
19. Waru, M. F. Y. 2024. "Uji Efektivitas Kitosan Dari Belalang Kembara (*Locusta migratoria* L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*." Skripsi, Fakultas Pertanian, Universitas Nusa Cendana, Kupang.
20. Wijaya, H. 2019. Pengaruh Proses Pengolahan terhadap Karakteristik Protein Alergen Belalang Sawah (*Oxya chinensis*). *International Journal of Renewable Energy Development*.
21. Yang, J., Zhou, S., Kuang, H., Tang, S., and Song, J. (2024). *Edible Insects as Ingredients in Food Products: Nutrition, Functional Properties, Allergenicity of Insect Proteins, and Processing Modifications*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 64(17), 10361–10383.
22. Zhang, J., Li, H., Wang, X., Chen, Y., dan Liu, Q. 2022. Extraction and Application of Chitosan from Locust Biomass. *Journal of Biopolymer Science*, 28(3), 123–135.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah belalang segar, aquades, NaCl 0,05 M, NaOH 0,2 N, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dan natrium-kalium tartarat, kalium iodida, larutan standar bovine serum albumin (BSA), metanol HPLC dan air HPLC.

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat penghancur (blender), botol vial, spektrofotometer UV-Vis, erlenmeyer, gelas kimia, pipet tetes, batang pengaduk, corong, penyangga corong, aluminium foil, tisu, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas kimia 600 ml, *Handphone Samsung Galaxy J5* kamera 13 mega pixel, mikropipet dan hot plate.

Prosedur Kerja

Pembuatan tepung belalang

Pengumpulan belalang di wilayah Sumba NTT, yang kemudian dibersihkan, serta dikeringkan di bawah sinar matahari atau oven pengering pada suhu rendah (50–60°C) hingga kering. selanjutnya, belalang kering kemudian diblender hingga halus.

Pembuatan ekstrak belalang

Tepung belalang yang dihasilkan ditimbang kemudian diekstrak menggunakan pelarut NaCl 0,05 M menggunakan metode maserasi, setelah itu disaring untuk memisahkan ekstrak cair dari tepung belalang. Selanjutnya, pelarut diuapkan menggunakan oven hingga diperoleh ekstrak belalang.

Karakterisasi Produk

Penentuan Kadar Protein Tepung dan Ekstrak Belalang

Penentuan kadar protein pada tepung belalang dan ekstrak belalang dilakukan menggunakan metode Biuret. Pereaksi Biuret dibuat dengan melarutkan 0,3 gram $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dan 0,9 gram Na-K tartarat dalam 50 mL NaOH 0,2 M, kemudian ditambahkan 0,5 gram KI dan diencerkan hingga volume 100 mL menggunakan NaOH 0,2 M. Larutan standar protein disiapkan dengan melarutkan 0,05 gram Bovine Serum Albumin (BSA) dalam akuades hingga volume 10 mL dan dihomogenkan. Sampel tepung belalang disiapkan dengan menimbang 0,1 gram tepung, menambahkan 10 mL akuades, kemudian disaring dan disentrifugasi pada kecepatan

3000 rpm selama 10 menit, selanjutnya supernatan didekantasi. Perlakuan yang sama dilakukan pada sampel ekstrak belalang, yaitu 0,1 gram ekstrak ditambahkan 10 mL akuades, disentrifugasi pada 3000 rpm selama 10 menit, dan supernatannya didekantasi. Kurva standar dibuat dengan memasukkan larutan standar protein sebanyak 0 (blanko), 0,4; 0,6; 0,8; dan 1 mL ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan akuades hingga volume total masing-masing 4 mL, selanjutnya ditambahkan 6 mL pereaksi Biuret, divorteks, dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit sebelum diukur absorbansinya pada panjang gelombang 520 nm. Penetapan kadar protein sampel dilakukan dengan memipet 1 mL sampel, menambahkan akuades hingga volume total 4 mL, kemudian ditambahkan 6 mL pereaksi Biuret, divorteks, diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar, dan diukur absorbansinya pada 520 nm. Data absorbansi yang diperoleh selanjutnya diolah menggunakan kurva standar untuk menentukan kadar protein dalam sampel. Pengolahan data dilakukan berdasarkan hasil pengukuran larutan standar yang digunakan untuk membuat kurva kalibrasi. Konsentrasi sampel dapat dihitung berdasarkan kurva kalibrasi yang diperoleh dari pengukuran larutan standar. Dengan demikian, kadar protein dalam sampel dapat ditentukan dengan menggunakan rumus:

$$Cs = \frac{C \times V \times Fp}{W} \times 100\%$$

Keterangan

C = Konsentrasi Larutan Sampel

V = Volume total larutan sampel (mL)

Fp = Faktor pengenceran

W = Berat sampel

Analisis asam amino

Uji jenis asam amino pada tepung dan ekstrak belalang dilakukan menggunakan metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Penentuan standar asam amino dilakukan dengan menyiapkan larutan standar berkonsentrasi 10 mg/mL yang dimasukkan ke dalam tabung eppendorf, kemudian ditambahkan air HPLC hingga larut dan dilanjutkan dengan penambahan metanol HPLC. Sampel selanjutnya didesikator untuk menguapkan pelarut, kemudian disentrifugasi guna memisahkan pelarut dan endapan. Larutan yang diperoleh kemudian diinjeksi ke dalam kolom HPLC dengan panjang gelombang deteksi pada detektor UV-Vis sebesar 200 nm. Pengujian asam amino pada sampel tepung dan ekstrak belalang dilakukan dengan prosedur yang sama, yaitu menyiapkan masing-masing sampel dengan konsentrasi 2 mg/mL, dimasukkan ke dalam eppendorf, ditambahkan air HPLC hingga larut, kemudian ditambahkan metanol HPLC. Sampel selanjutnya didesikator dan disentrifugasi untuk memisahkan pelarut dan endapan, kemudian larutan hasil pemisahan diinjeksi ke dalam kolom HPLC dan dianalisis pada panjang gelombang 200 nm untuk mengidentifikasi jenis asam amino berdasarkan waktu retensi dan respons detektornya.



DOI : <https://doi.org/10.35508/cn.v8i1.27133>