



REAKSI WARNA PROTEIN

Septiyana Dwi Cahyani¹, Sepya Hermaya Dewi², Oka Mahesa Haryanto³– Febrina Nugrahini⁴

¹²³Fakultas Kesehatan, Program Studi Farmasi, Universitas Aisyah Pringsewu, Lampung, Indonesia

Abstract

Protein color reactions are chemical methods used to identify the presence of proteins based on color changes resulting from interactions between proteins and specific reagents. Proteins are composed of amino acids that contain distinctive functional groups, enabling them to react with various chemical substances. Common protein color tests include the Biuret test, Xanthoproteic test, Millon's test, and Ninhydrin test. Each test produces a specific color indicating the presence of peptide bonds or certain amino acid groups in proteins. Protein color reactions are widely applied in biochemistry, health sciences, food analysis, and educational laboratories for qualitative protein analysis. By observing color changes, the protein content in a substance can be identified simply and quickly.

Keywords: *protein, color reaction, Biuret test, amino acids, qualitative analysis.*

Abstrak

Reaksi warna protein merupakan metode kimia yang digunakan untuk mengidentifikasi keberadaan protein berdasarkan perubahan warna akibat interaksi antara protein dan pereaksi tertentu. Protein tersusun atas asam amino yang memiliki gugus fungsi khas sehingga dapat bereaksi dengan berbagai zat kimia. Beberapa uji warna protein yang umum digunakan antara lain uji Biuret, uji Xantoprotein, uji Millon, dan uji Ninhidrin. Setiap uji memberikan warna spesifik yang menunjukkan adanya ikatan peptida atau gugus asam amino tertentu pada protein. Reaksi warna protein banyak dimanfaatkan dalam bidang biokimia, kesehatan, pangan, dan laboratorium pendidikan untuk analisis kualitatif protein. Melalui pengamatan perubahan warna, kandungan protein dalam suatu bahan dapat diketahui secara sederhana dan cepat.

Kata Kunci: protein, reaksi warna, uji Biuret, asam amino, analisis kualitatif.

(*) Corresponding Author: Febrina Nugrahini, email : fenanugra@gmail.com , Universitas Bina Bangsa , Jl. Bhayangkara No.1B Cipocok Jaya Serang - Banten

Pendahuluan

Protein merupakan senyawa makromolekul yang tersusun atas rantai asam amino yang dihubungkan oleh ikatan peptida. Protein memiliki peranan penting dalam tubuh, seperti sebagai enzim, hormon, antibodi, serta penyusun jaringan tubuh. Setiap protein mempunyai gugus fungsi

tertentu yang dapat bereaksi dengan pereaksi kimia sehingga menghasilkan perubahan warna khas. Reaksi tersebut dikenal sebagai reaksi warna protein dan digunakan dalam analisis kualitatif untuk mengidentifikasi keberadaan protein maupun asam amino tertentu (Nelson & Cox, 2021). Uji reaksi warna protein didasarkan pada kemampuan gugus fungsi dalam protein untuk bereaksi dengan pereaksi tertentu sehingga menghasilkan warna spesifik. Perubahan warna yang terjadi menunjukkan adanya ikatan peptida atau gugus asam amino aromatik tertentu di dalam sampel. Metode ini banyak digunakan dalam praktikum biokimia karena sederhana, cepat, dan mudah diamati secara visual (Rodwell et al., 2021).

Salah satu uji yang sering digunakan adalah uji Biuret. Uji ini bertujuan untuk mendeteksi adanya ikatan peptida pada protein. Dalam suasana basa, ion tembaga (Cu^{2+}) dari pereaksi Biuret akan berikatan

dengan nitrogen pada ikatan peptida sehingga menghasilkan warna ungu atau violet. Intensitas warna yang terbentuk sebanding dengan jumlah ikatan peptida yang terdapat dalam larutan protein (Berg et al., 2019).

Selain uji Biuret, terdapat uji Xantoprotein yang digunakan untuk mengidentifikasi asam amino aromatik seperti tirosin, triptofan, dan fenilalanin. Pada uji ini, protein direaksikan dengan asam nitrat pekat sehingga terjadi proses nitrasi pada cincin benzena asam amino aromatik dan menghasilkan warna kuning. Setelah ditambahkan larutan basa, warna berubah menjadi jingga yang menandakan hasil positif (Ferrier, 2022). Selanjutnya, uji Hopkins-Cole atau uji Ehrlich digunakan untuk mendeteksi asam amino triptofan. Pereaksi yang digunakan akan bereaksi dengan cincin indol pada triptofan dan menghasilkan cincin berwarna ungu pada batas larutan. Hasil positif menunjukkan adanya kandungan triptofan pada protein (Devlin, 2018). Reaksi warna protein sangat penting dalam analisis biokimia karena dapat membantu identifikasi jenis protein maupun kandungan asam amino tertentu dalam suatu bahan. Metode ini juga sering diterapkan dalam bidang farmasi, pangan, dan kesehatan untuk mengetahui kualitas

bahan yang mengandung protein (Wilson & Walker, 2020).

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen laboratorium dengan pendekatan deskriptif kualitatif. Metode eksperimen dilakukan melalui pengujian reaksi warna protein menggunakan beberapa pereaksi kimia untuk mengetahui adanya kandungan protein dan jenis asam amino tertentu dalam sampel. Pendekatan deskriptif digunakan untuk menggambarkan perubahan warna yang terjadi pada setiap perlakuan selama praktikum berlangsung. Penelitian dilakukan di Laboratorium kimia Program Studi Farmasi, fakultas ilmu Kesehatan, universitas bina bangsa yang memiliki fasilitas dan peralatan untuk pelaksanaan uji kualitatif protein. Penelitian dilaksanakan pada tanggal 22 April 2026 selama kegiatan praktikum Biokimia berlangsung.

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh bahan yang mengandung protein yang dapat digunakan sebagai sampel uji biokimia. Sampel yang digunakan yaitu larutan albumin atau bahan lain yang mengandung protein dan dipilih menggunakan teknik purposive sampling, yaitu pemilihan sampel berdasarkan tujuan penelitian.

Data diperoleh melalui observasi langsung terhadap perubahan warna yang terjadi pada sampel setelah ditambahkan pereaksi tertentu, seperti pereaksi Biuret, Xantoprotein, Millon, dan Ehrlich. Hasil pengamatan dicatat dalam bentuk warna, endapan, maupun perubahan lainnya yang menunjukkan reaksi positif atau negatif terhadap kandungan protein.

Data dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan hasil perubahan warna yang diperoleh pada setiap pengujian dengan teori reaksi warna protein. Hasil analisis digunakan untuk menentukan keberadaan protein maupun asam amino tertentu dalam sampel yang diuji.

Penelitian mengenai reaksi warna protein telah banyak dilakukan dalam praktikum biokimia untuk identifikasi protein secara kualitatif. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa uji Biuret efektif dalam mendeteksi ikatan peptida, sedangkan uji Xantoprotein, Millon, dan Ehrlich digunakan untuk mengidentifikasi asam amino aromatik tertentu dalam protein. Hasil penelitian tersebut menjadi dasar dalam pelaksanaan penelitian ini karena metode yang digunakan sederhana, mudah dilakukan, dan memberikan hasil pengamatan yang jelas.

Hasil dan Pembahasan

Protein adalah senyawa organik kompleks yang tersusun atas asam amino yang dihubungkan oleh ikatan peptida. Protein memiliki fungsi penting dalam tubuh, seperti sebagai enzim, hormon, antibodi, serta penyusun jaringan tubuh. Dalam analisis biokimia, protein dapat diidentifikasi secara kualitatif menggunakan reaksi warna protein. Reaksi ini terjadi karena adanya interaksi antara gugus fungsi pada protein dengan pereaksi kimia tertentu sehingga menghasilkan perubahan warna khas.

Reaksi warna protein digunakan untuk mendeteksi keberadaan ikatan peptida maupun asam amino tertentu dalam suatu sampel. Setiap pereaksi memberikan hasil warna yang berbeda tergantung pada gugus fungsi yang bereaksi. Metode ini banyak digunakan dalam praktikum biokimia karena sederhana, mudah dilakukan, dan dapat memberikan hasil pengamatan secara visual.

Uji Biuret merupakan salah satu uji protein yang paling umum digunakan. Pada uji ini, ion tembaga (Cu^{2+}) dalam suasana basa akan bereaksi dengan ikatan peptida pada protein sehingga membentuk kompleks berwarna ungu atau violet. Warna ungu yang terbentuk menunjukkan adanya protein

dalam sampel. Uji Xantoprotein digunakan untuk mendeteksi asam amino aromatik seperti tirosin, triptofan, dan fenilalanin. Reaksi terjadi ketika asam nitrat pekat menitrasi cincin benzena pada asam amino aromatik sehingga menghasilkan warna kuning. Setelah penambahan larutan basa, warna berubah menjadi jingga yang menandakan hasil positif.

Uji Ehrlich atau Hopkins-Cole digunakan untuk mendeteksi asam amino triptofan. Pereaksi akan bereaksi dengan gugus indol pada triptofan sehingga menghasilkan cincin berwarna ungu pada batas larutan. Hasil positif menunjukkan adanya kandungan triptofan dalam sampel protein. Reaksi warna protein sangat penting dalam bidang biokimia, farmasi, pangan, dan kesehatan karena dapat digunakan untuk identifikasi protein secara kualitatif. Selain itu, metode ini membantu mengetahui kandungan asam amino tertentu yang terdapat dalam suatu bahan.

1. Uji Reaksi Biuret

Dimasukkan 1 ml albumin encer + 1 ml NaOH, belum mengalami perubahan warna, namun setelah + CuSO_4 20 tetes, terjadi perubahan pemisahan 3 fase, dimana warna albumin dibawah, ungu ditengah, dan biru di atas. Setelah di kocok, mengalami perubahan warna ungu. Hasil menunjukkan (positif).

Pada Percobaan uji Biuret, larutan albumin yang awalnya tidak berwarna, tidak menunjukkan perubahan Sebelum Penambahan pereaksi. Setelah ditambahkan NaOH dan CuSO_4 , larutan berubah menjadi warna ungu yang menandakan hasil Positif. Perubahan warna ini terjadi Karena ion Cu^{2+} dari CuSO_4 bereaksi dengan ikatan Peptida dalam protein pada suasana basa. Reaksi tersebut membentuk kompleks berwarna ungu yang khas untuk Protein. Warna ungu muncul karena adanya interaksi antara ion logam dan gugus-NH dalam ikatan peptida. Jika tidak terbentuk warna ungu, maka reaksi dianggap negatif karena tidak terdapat cukup ikatan peptida. Pada awal pencampuran yang menunjukkan Pemisahan fase, hal ini disebabkan belum tercampurnya pereaksi secara sempurna. Setelah di kocok, reaksi berlangsung lebih merata sehingga warna ungu muncul. Uji Biuret ini Secara Spesifik mendeteksi keberadaan ikatan Peptida dalam Protein.



Gambar 1 Hasil Akhir Uji Biuret

2. Uji Reaksi Xantoprotein

Dimasukkan 1 ml albumin encer belum mengalami perubahan warna, namun setelah + HNO_3 pekat 20 tetes, terjadi pemisahan 2 fase yaitu dimana putih di atas, kuning di bawah. Lalu terdapat busa dan gumpalan. Hal ini menunjukkan kuning yang berarti (positif). Pada percobaan uji xantoprotein, albumin yang ditambahkan HNO_3 pekat menunjukkan perubahan warna menjadi kuning serta terbentuk busa dan gumpalan. Perubahan warna ini merupakan hasil reaksi nitrasi pada cincin aromatik asam amino seperti tirosin dan Triptofan. Asam nitrat pekat bereaksi dengan gugus aromatik sehingga menghasilkan senyawa nitro yang berwarna kuning. Warna kuning yang terbentuk merupakan indikator reaksi positif terhadap protein yang mengandung asam amino aromatik. Gumpala yang muncul menunjukkan bahwa protein mengalami denaturasi akibat kondisi asam kuat. Jika tidak terbentuk warna kuning, maka hasil dianggap negatif karena tidak terjadi reaksi nitrasi. Pemisahan fase yang terlihat juga disebabkan oleh perubahan struktur protein yang tidak lagi larut busa yang terbentuk, kemungkinan akibat reaksi kimia dan proses pencampuran



Gambar 2 Hasil Akhir Uji Xanthoprotein

3. Uji Reaksi Erlich

Dimasukkan 1 ml albumin encer belum mengalami perubahan warna, namun setelah + DAB Hcl 20 tetes, terjadi perubahan warna putih keruh, dan terdapat gelembung. Hal ini menandakan hasil (negatif), karena jika dikatakan positif menghasilkan warna kuning-jingga pada uji Erlich, albumin yang ditambahkan pereaksi tidak menunjukkan perubahan warna khas, melainkan hanya hasil putih keruh dan terdapat gelembung. Hal ini menunjukkan hasil negatif karena tidak terbentuk warna kuning atau jingga yang seharusnya muncul jika reaksi positif. Uji Erlich digunakan untuk mendeteksi gugus indol seperti pada asam amino triptofan. Tidak munculnya

warna menunjukkan bahwa reaksi antara pereaksi dan gugus indol tidak berlangsung optimal. Perubahan menjadi keruh kemungkinan disebabkan oleh perubahan kondisi asam dari pereaksi. Gelembung yang muncul dapat berasal dari proses pencampuran atau reaksi ringan

dengan komponen larutan. Tidak adanya warna khas menandakan bahwa tidak terbentuk kompleks berwarna. Faktor seperti konsentrasi pereaksi dapat mempengaruhi hasil. Dengan hal ini menunjukkan bahwa uji Erlich memberikan hasil (negatif)



Gambar 3 Hasil Akhir Uji Erlich

Kesimpulan

Kesimpulan dari praktikum reaksi warna protein adalah bahwa setiap uji memberikan hasil yang berbeda berdasarkan gugus spesifik yang terdapat dalam protein. Uji biuret menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya warna ungu yang menandakan adanya ikatan peptide dalam protein. Uji xanthoprotein juga memberikan hasil positif dengan penambahan warna kuning akibat adanya asam amino aromatik dalam struktur protein. Sementara itu, uji erlich menunjukkan hasil negatif karena tidak terbentuk warna khas yang mengindikasikan adanya gugus indol dari

triptofan tidak terdeteksi atau jumlahnya sangat sedikit.

Referensi

- Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Gatto, G. J., & Stryer, L. (2019). *Biochemistry* (9th ed.). New York: W.H. Freeman.
- Devlin, T. M. (2018). *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations* (8th ed.). New Jersey: Wiley.
- Ferrier, D. R. (2022). *Lippincott Illustrated Reviews: Biochemistry* (8th ed.). Philadelphia: Wolters Kluwer.
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2021). *Lehninger Principles of Biochemistry* (8th ed.). New York: W.H. Freeman.
- Rodwell, V. W., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennelly, P. J., & Weil, P. A. (2021). *Harper's Illustrated Biochemistry* (32nd ed.). New York: McGraw-Hill Education.
- Wilson, K., & Walker, J. (2020). *Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology* (8th ed.). Cambridge: Cambridge University Press.