

**POLA PROTEIN, KANDUNGAN KARBOHIDRAT  
DAN PROTEIN TERLARUT PADA BEBERAPA  
GENOTIPE KEDELAI (*Glycine max (L.) Merrill*)**

**KARYA ILMIAH TERTULIS  
(SKRIPSI)**

MILIK PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS JEMBER

Diajukan guna memenuhi salah satu syarat untuk  
Menyelesaikan Pendidikan Program Strata Satu  
Jurusan Agronomi Fakultas Pertanian  
Universitas Jember



Oleh :

**HAMIDAH DARYANTI**

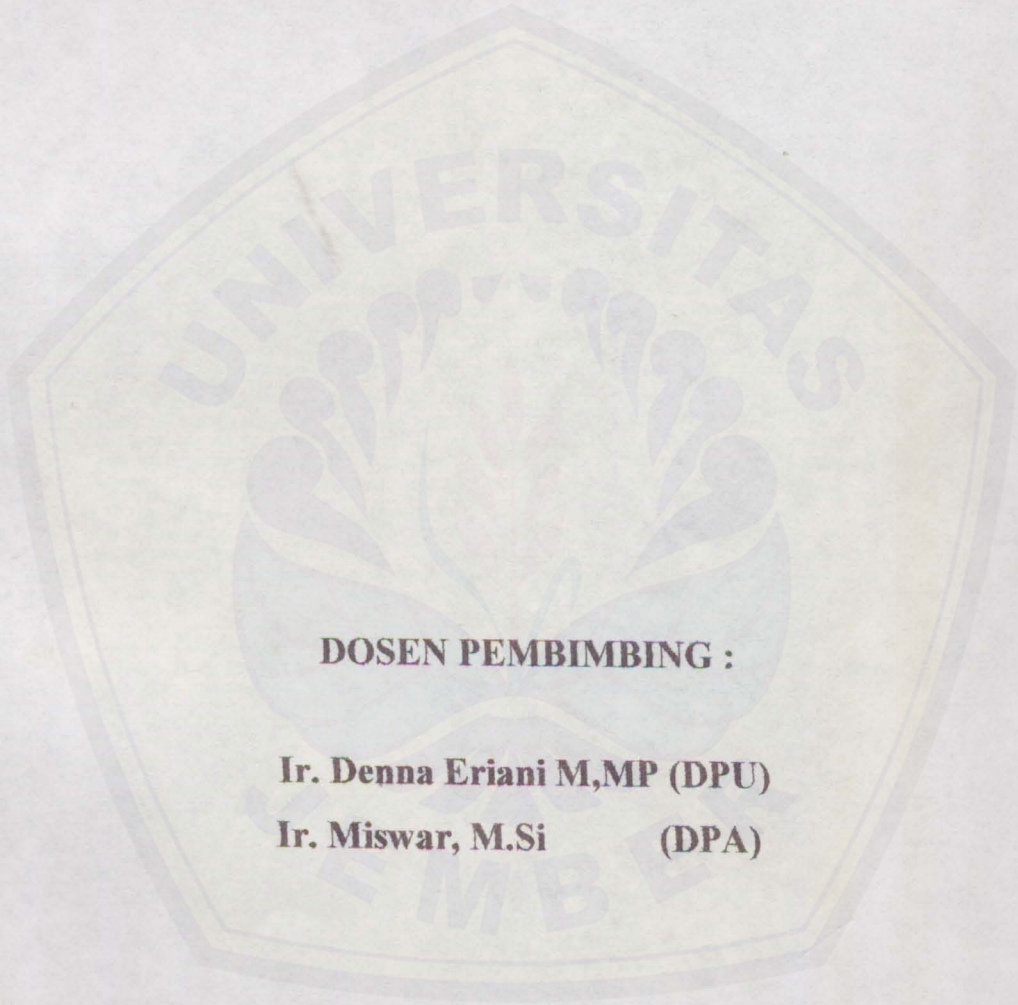
**F1B195088**

KEPERHAI

S

Asal	: Hadiah	Klass
	Pembelian	633.3
Terima Tgl:	12 JUN 2000	DAR
No. Induk :	PT'2000-10.262	P 1/10 e.1

**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2000**



**DOSEN PEMBIMBING :**

**Ir. Denna Eriani M,MP (DPU)**

**Ir. Miswar, M.Si (DPA)**

## MOTTO

Hidup adalah lingkaran belajar,  
setiap pengalaman mestilah dimasukkan ke dalam kehidupan,  
guna memperkaya kehidupan itu.

Karena tiada kata akhir untuk belajar,  
seperti juga tiada kata akhir untuk kehidupan.

(Annemarie Schimmel)

## PERSEMBAHAN

*Naskah Skripsi ini kami persembahkan kepada:*

Ayahhanda Ahmadi Supardjo dan Ibu Murtini (Almarhumah) tercinta, ini adalah skripsi ke-6 dari anak-anakmu (from your last daughter), buat kakak-kakakku Amar, Karim, Rini, Tutik, Syamsu, dan Armin yang telah banyak memberi bantuan moril dan materiil.

Buat keponakan-keponakanku Ani, Yayak, Rama, Rahman, Rani, Gayuh, Taufik, Rahmat, Naning dan Gulam, semoga kalian menjadi yang lebih baik dari aku.

Untuk semua teman-teman, mulai dari TK, SD, SMP, SMA dan Perguruan Tinggi yang tidak dapat disebut satu -persatu

( I love you all)

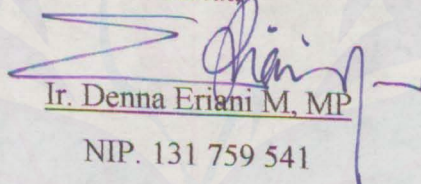
LEMBAR PENGESAHAN

Diterima Oleh :  
Fakultas Pertanian Universitas Jember  
Sebagai Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi)

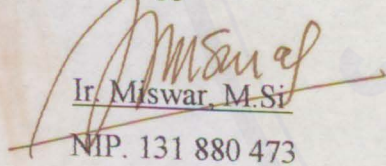
Dipertahankan Pada :  
Hari : Kamis  
Tanggal : 27 April 2000  
Tempat : Fakultas Pertanian  
Universitas Jember

Tim Penguji

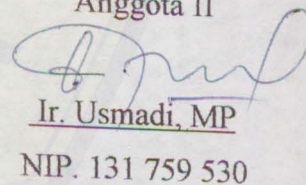
Ketua

  
Ir. Denna Eriani M, MP  
NIP. 131 759 541

Anggota I

  
Ir. Miswar, M.Si  
NIP. 131 880 473

Anggota II

  
Ir. Usmadi, MP  
NIP. 131 759 530

Mengesahkan

Dekan

  
  
Ir. Hj. Siti Hartanti, MS  
NIP. 130 350 763

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan Hidayah-Nya sehingga Karya Ilmiah Tertulis (KIT) yang berjudul “Pola Protein, Kandungan Karbohidrat dan Protein Terlarut pada Beberapa Genotipe Kedelai [*Glycine max* (L.) Merrill]” ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan program strata satu pada Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Dalam penyusunan Karya Ilmiah tertulis ini, penulis menyampaikan penghargaan dan ucapan terima kasih atas bantuan dan dorongan semangat yang telah diberikan kepada penulis, kepada :

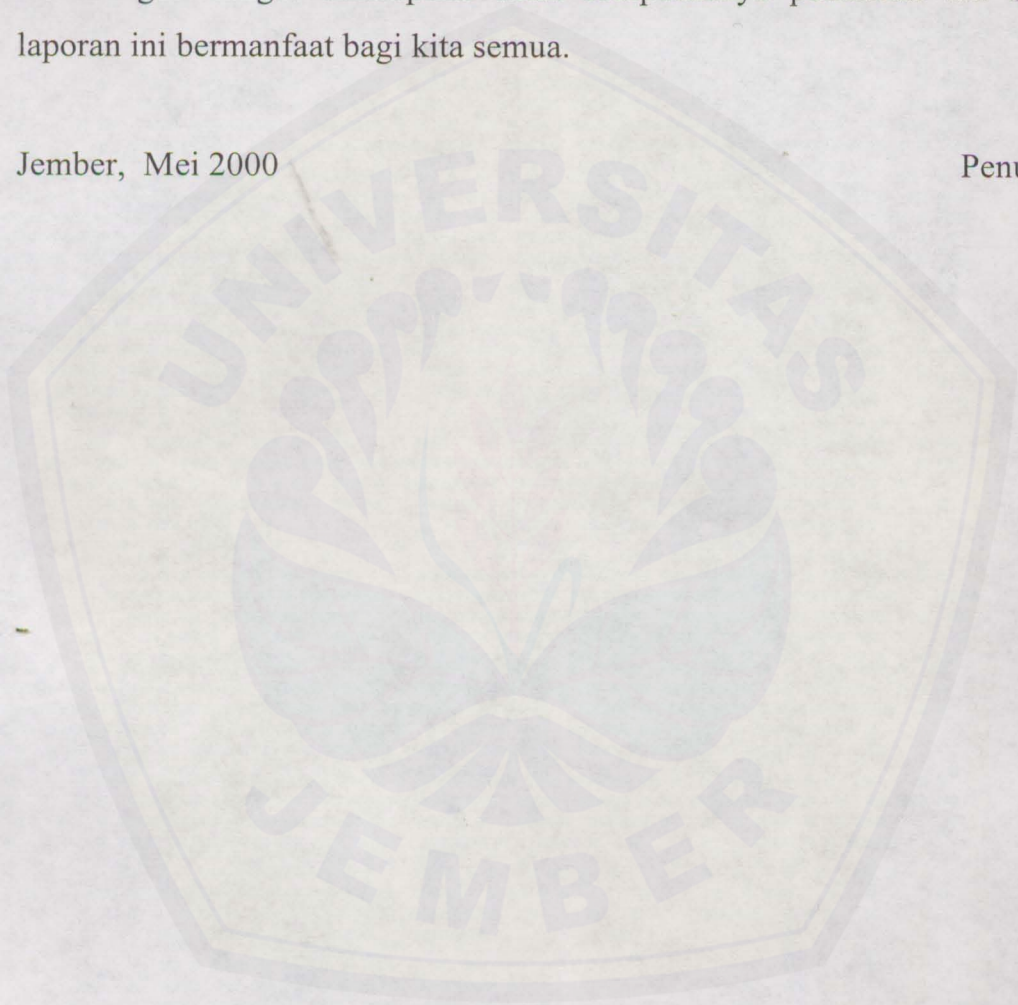
1. Ibu Ir. Hj. Siti Hartanti, MS, selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember.
2. Bapak Ir. Dr. M. Setyo Poerwoko, MS, selaku Ketua Jurusan Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember.
3. Ibu Ir. Denna Eriani Munandar, MP, selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU), Bapak Ir. Miswar, M.Si, selaku Dosen Pembimbing Anggota I (DPA I), dan bapak Ir. Usyadi, MP selaku Dosen Pembimbing Anggota II (DPA II) yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam penulisan Karya Ilmiah Tertulis ini.
4. Bapak Kepala Perpustakaan Fakultas Pertanian Universitas Jember beserta staf, yang telah banyak membantu.
5. Ayah, ibu, dan kakak penulis, yang telah memberikan dukungan baik material maupun spiritual.
6. Sahabat-sahabatku Ita, Ari, Susy, Hikmah, Anis serta Didin, terimakasih atas segala dukungannya.

7. Rekan-rekan Jurusan Agronomi angkatan 1995 yang telah membantu kelancaran pelaksanaan penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan Karya Ilmiah Tertulis ini masih banyak hal yang kurang sempurna. Oleh karena itu, saran, kritik yang membangun sangat diharapkan demi sempurnanya penulisan ini. Semoga laporan ini bermanfaat bagi kita semua.

Jember, Mei 2000

Penulis



## DAFTAR ISI

Judul	Halaman
<b>DOSEN PEMBIMBING</b> .....	<b>i</b>
<b>MOTTO</b> .....	<b>ii</b>
<b>PERSEMBAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>v</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>ix</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>x</b>
<b>I. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang Permasalahan .....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	3
1.3 Manfaat Penelitian .....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Protein dan Karbohidrat pada Biji.....	4
2.2 Rasio 11S/7S Menentukan Nilai Nutrisi Kedelai.....	5
2.3 Pola Protein Biji .....	6
2.4 Hipotesis.....	7
<b>III. METODOLOGI PENELITIAN</b>	
3.1 Tempat dan Waktu .....	8
3.2 Bahan dan Alat Penelitian .....	8
3.2.1 Bahan Penelitian.....	8
3.2.2 Alat Penelitian.....	8
3.3 Ekstraksi protein Terlarut.....	8
3.4 Penentuan Kandungan Protein Terlarut .....	9
3.5 Fraksinasi Globulin 7S dan 11S.....	9
3.6 Penentuan Kandungan Karbohidrat Terlarut .....	10
3.7 Analisa Protein .....	11
3.7.1 Pembuatan Gel .....	11



3.7.1.1 Separating Gel (8%).....	11
3.7.1.2 Stacking Gel (4,5%).....	11
3.7.2 Elektroforesis .....	12

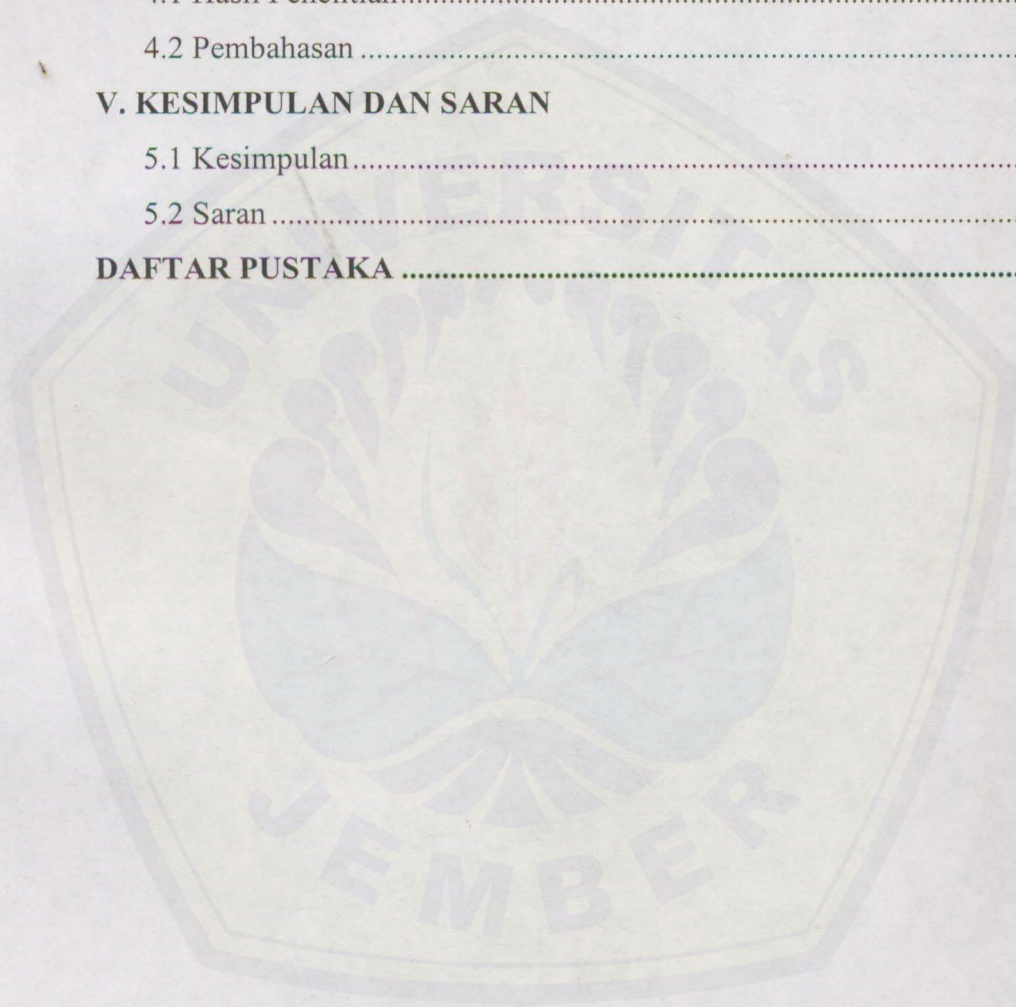
#### **IV. HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1 Hasil Penelitian.....	13
4.2 Pembahasan .....	16

#### **V. KESIMPULAN DAN SARAN**

5.1 Kesimpulan.....	20
5.2 Saran .....	20

<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>21</b>
-----------------------------	-----------



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Kandungan Karbohidrat Terlarut Pada Genotipe-genotipe yang Diuji yaitu KKS-10, Wilis, Krakatau, ZKJB 1-7, dan ZKJ 1-5-2.....	13
Gambar 2. Kandungan Protein Terlarut Pada Genotipe-genotipe yang Diuji yaitu KKS-10, Wilis, Krakatau, ZKJB 1-7, dan ZKJ 1-5-2.....	13
Gambar 3. Kandungan 11S Pada Genotipe-genotipe yang Diuji yaitu KKS-10, Wilis, Krakatau, ZKJB 1-7, dan ZKJ 1-5-2.....	14
Gambar 4. Kandungan 7S Pada Genotipe-genotipe yang Diuji yaitu KKS-10, Wilis, Krakatau, ZKJB 1-7, dan ZKJ 1-5-2.....	14
Gambar 5. Rasio 11S/7S Pada Genotipe-genotipe yang Diuji yaitu KKS-10, Wilis, Krakatau, ZKJB 1-7, dan ZKJ 1-5-2.....	15
Gambar 6. Pola protein dengan gel 8%, tanpa urea. Sampel yang <i>diload</i> ing adalah setara dengan 25µg protein. Kolom (1) adalah Wilis 7S, (2) Krakatau 7S, (3) ZKJB 1-7 7S, (4) ZKJ 1-5-2 7S, (5) KKS 10 7S, (6) Wilis 11S, (7) Krakatau 11S, (8) ZKJB 1-7 11S, (9) ZKJ 1-5-2 11S, (10) KKS 10 7S.....	15
Gambar 7. Pola protein dengan gel 8%, tanpa urea. Sampel yang <i>diload</i> ing adalah protein terlarut setara dengan 100µg protein. Kolom (1) adalah Wilis, (2) Krakatau, (3) ZKJB 1-7, (4) ZKJ 1-5-2, (5) KKS 10 .....	16

RINGKASAN

**Hamidah Daryanti, FIBI95088, Jurusan Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember, Pola Protein, Kandungan Karbohidrat dan Protein Terlarut pada Beberapa Genotipe Kedelai [*Glycine max* (L.) Merrill], dibawah bimbingan Ir Denna Eriani M, MP(DPU) dan Ir.Miswar, M.Si (DPA) .**

Kedelai [*Glycine max* (L.) Merrill] merupakan tanaman pertanian yang penting karena mengandung banyak protein, karbohidrat dan minyak. Kedelai yang digunakan adalah 5 genotipe kedelai yaitu KKS-10, Wilis, Krakatau ZKJB 1-7 dan ZKJ 1-5-2. Kandungan karbohidrat terlarut pada genotipe-genotipe yang diuji berkisar antara 1,4 – 2,9 g/kg, sedangkan kandungan protein terlarut berkisar antara 553,2 – 638,4 g/kg. KKS-10 memiliki kandungan karbohidrat terlarut tertinggi yaitu 2,7 g/kg, sedangkan KKS-10 dan Krakatau memiliki kandungan protein terlarut tertinggi yaitu 638,4 k/kg.

Nilai nutrisi kedelai dibatasi oleh jumlah asam amino yang mengandung S, yaitu metionin dan sistein. Kurang lebih 70% protein kedelai dalam bentuk globulin 11S dan 7S. Kandungan 11S terlarut pada genotipe-genotipe yang diuji berkisar antara 42,27-55,05 g/kg, sedangkan 7S terlarut berkisar antara 48,66-57,45 g/kg. ZKJB 1-7 memiliki kandungan 11S terlarut tertinggi yaitu 55,05 g/kg, sedangkan ZKJ 1-5-2 memiliki kandungan 7S terlarut tertinggi yaitu 55,45 g/kg.

Rasio 11S/7S protein biji digunakan sebagai indikator kualitas protein. Semakin tinggi rasionya maka kualitas proteinnya semakin tinggi pula. Rasio 11S/7S pada genotipe-genotipe yang diuji berkisar antara 0,85-1,08. Wilis memiliki rasio tertinggi yaitu 1,08 dibandingkan dengan yang lain. Pola protein menggunakan SDS-PAGE satu dimensi menunjukkan pola protein yang berbeda-beda pada genotipe yang diuji.

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang Masalah

Kedelai [*Glycine max* (L.)Merrill.] merupakan tanaman pertanian yang penting karena mengandung banyak protein, karbohidrat dan minyak. Kedelai merupakan salah satu sumber protein nabati yang penting dengan kandungan proteinnya  $\pm 39\%$ . Selain itu 2% dari seluruh rakyat Indonesia memperoleh sumber kalori dari kedelai, dan telah menjadi bagian makanan sehari-hari sebagian bangsa Indonesia selama lebih dari 200 tahun. Dalam pengolahannya dengan memakai teknik yang baik, kedelai diakui bernilai gizi tinggi oleh dunia Internasional (Lamina, 1989). Hasil olahan kedelai pada umumnya merupakan makanan bernilai gizi baik dan tidak mahal sehingga dapat dikatakan bahwa kacang kedelai berperan besar dalam peningkatan kesehatan gizi masyarakat (Somaatmadja dkk, 1993).

Selain dikonsumsi oleh manusia, kedelai juga digunakan sebagai sumber makanan ternak non ruminan dan bahan baku industri yang dapat diolah menjadi minyak makan, susu kedelai dan lain-lain. Kedelai sebagai makanan ternak, dapat diberikan dalam berbagai bentuk hijauan maupun polongnya (Lamina, 1989). Sebagai bahan makanan ternak, kedelai perlu diperhatikan kualitas proteinnya. Kualitas protein suatu bahan pakan dilihat dari ada tidaknya asam-asam amino esensial dalam protein tersebut dan jumlahnya dapat memenuhi kebutuhan ternak. Tidak seperti tanaman, manusia dan hewan tidak mampu mensintesa asam amino tertentu (sehingga disebut asam amino esensial) dan harus dicukupi melalui makanannya. Asam amino esensial tersebut antara lain : arginin, histidin, isoleusin, leusin, lisin, metionin, fenilalanin, treonin, triptofan dan valin. Sistin dapat menggantikan 16% dari kebutuhan metionin (Tillman dkk, 1983). Nilai nutrisi biji kedelai sebagai

sumber makanan nonruminan dibatasi oleh kandungan asam amino Snya , metionin dan sistein (Sexton *et al.*, 1998). Menurut Burton *et al.* (1982) konsentrasi metionin seharusnya dapat ditingkatkan dari 16 sampai 30 g/kg dari total protein, nilai ini sesuai dengan rekomendasi dari FAO (Food and Agriculture Organization).

Gel elektroforesis telah banyak dilakukan dalam analisa protein . Pola protein didapat dengan menggunakan metode SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Elektroforesis*). Pada pola tersebut dapat dilihat subunit-subunit penyusun suatu protein. SDS-PAGE satu dimensi dengan terlebih dahulu dengan mendenaturasi protein pada kondisi yang keras akan diperoleh subunit-subunit penyusun protein berdasarkan bobot molekulnya, sedangkan SDS-PAGE non-denaturasi selain protein dipisahkan berdasarkan bobot molekulnya tetapi juga muatannya(Copeland, 1994). Diduga genotipe yang berbeda pada biji kedelai mempunyai pola protein yang berbeda pula. Penelitian tentang pola protein biji kedelai ini belum banyak dilakukan di Indonesia, padahal kedelai telah banyak dibudidayakan di Indonesia sebagai tanaman pangan dan varietasnya pun juga banyak sekali ragamnya. Penelitian tentang kualitas kedelai dari segi budidaya (umur genjah, tahan hama dan penyakit, produksi tinggi dan lainnya) telah banyak dilakukan. Sebaliknya penelitian tentang nilai nutrisi kedelai yang berkaitan dengan kandungan glisinin dan  $\beta$ -konglisinin belum banyak diteliti, tetapi di luar negeri telah banyak dilakukan. Demikian pula penelitian tentang kandungan protein dan karbohidrat pada masing-masing genotipe kedelai belum banyak dilakukan. Untuk itu perlu dilakukan pengkajian tentang kandungan nutrisi pada kedelai Indonesia, sehingga diperoleh data tentang kandungan tersebut. Dengan demikian akan memudahkan peneliti lain untuk menemukan bahkan membuat varietas unggul kedelai yang memperhatikan kandungan protein dalam biji.

## 1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian yang di lakukan adalah :

1. Mengetahui pola protein pada beberapa genotipe kedelai.
2. Mengetahui kandungan karbohidrat terlarut pada beberapa genotipe kedelai.
3. Mengetahui kandungan protein terlarut pada beberapa genotipe kedelai.

## 1.3 Manfaat Penelitian

Penelitian tentang pola protein, kandungan karbohidrat dan protein terlarut pada beberapa genotipe kedelai [*Glycine max* (L) Merrill.] ini diharapkan akan dapat diperoleh informasi baru sebagai acuan untuk mengadakan penelitian selanjutnya ke arah penciptaan varietas kedelai unggul yang mempunyai nilai nutrisi yang tinggi.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Protein dan Karbohidrat pada Biji

Protein (berasal dari kata Yunani, *protos* yang berarti pertama) adalah salah satu unsur terpenting pada makhluk hidup. Semua sistem kehidupan mengandung sejumlah besar protein yang berbeda. Perbedaannya mungkin terdapat pada susunan asam amino, urutan asam amino, kandungan non-asam amino, bobot molekul dan pada faktor yang menentukan konfirmasi protein (Robinson, 1995).

Protein dan peptida merupakan senyawa makro molekul yang disusun oleh asam-asam amino. Di alam terdapat 20 macam asam amino penyusun protein. Dua atau lebih asam amino dapat berikatan secara kovalen melalui suatu proses membentuk ikatan amida dan disebut ikatan peptida. Beberapa asam amino berikatan dengan cara tersebut, polimer yang dihasilkan disebut polipeptida, dan masing-masing asam amino pada rantai polimer disebut residu (Copeland, 1994).

Protein tumbuhan dikelompokkan berdasarkan sumbernya, yaitu protein biji dan protein daun, sedangkan protein biji dibagi menjadi protein embrio dan endosperm (Robinson, 1995).

Berdasarkan kelarutannya, protein endosperm diklasifikasikan menjadi 4 kelompok (Shotwell dan Larkins, 1989; Robinson, 1995) yaitu:

- a) Albumin, protein yang larut dalam air dan dalam larutan garam encer serta dapat terkoagulasi jika dipanaskan.
- b) Prolamin, protein yang tidak larut dalam air tetapi larut dalam etanol 70-80%.
- c) Glutelin, protein yang tidak larut dalam semua pelarut yang netral tetapi larut dalam basa dan asam yang sangat encer.

d) Globulin, protein yang tidak larut dalam air tetapi larut dalam larutan garam encer. Globulin ini adalah komponen utama pada jaringan simpan kacang-kacangan (Melo *et al.*, 1994).

Karbohidrat berasal dari bahasa Perancis "*hydrate de carbone*" dan digunakan mula-mula untuk menamakan senyawa yang mengandung karbon, hidrogen dan oksigen, yang termasuk karbohidrat adalah gula, pati, selulose, gummi dan senyawa sebangsanya (Tillman dkk, 1983). Karbohidrat adalah zat yang penting bagi mahluk hidup sebagai sumber energi. Sebagai produk awal fotosintesis, karbohidrat merupakan senyawa kunci dalam biokimia tumbuhan hijau (Robinson, 1995). Karbohidrat dibagi menjadi dua bagian pokok yaitu gula dan non-gula, yang termasuk gula adalah monosakarida (triose, tentrose, pentose dan heksose), disakarida, dan polisakarida. Glukosa dan fruktosa termasuk monosakarida dari golongan heksose, sedangkan sukrose termasuk disakarida. Karbohidrat non gula antara lain homopolisakarida dan heteropolisakarida. Homopolisakarida terdiri atas pentosan (araban dan xilan) dan heksosan (glukan, dekstrin, glikogen, selulose, fruktan, inulin, levan). Heteropolisakarida terdiri dari hemiselulose, gummi, musilage dan zat peptik (Tillman dkk, 1983), sedangkan yang termasuk karbohidrat terlarut adalah gula-gula sederhana (glukosa, fruktosa dan sukrosa). Karbohidrat terlarut ini mempunyai arti penting karena monosakarida dan disakarida memiliki sifat mudah diserap tubuh, sedangkan pati masih harus melalui penguraian menjadi monosakarida untuk dapat diserap.

## 2.2 Rasio 11S/7S Menentukan Nilai Nutrisi Kedelai

Nilai nutrisi kedelai ditentukan dengan banyak/sedikitnya konsentrasi dari asam amino yang mengandung S terutama sistein dan metionin (Serretti *et al.*,



1994), semakin banyak konsentrasinya, maka nilai nutrisinya semakin tinggi. Menurut Meinke *et al.* (1981) kurang lebih 70% dari protein kedelai dalam bentuk cadangan protein globulin 11S (glisinin) dan globulin 7S ( $\beta$ -konglisinin). Sayangnya globulin 7S ( $\beta$ -konglisinin) sangat kurang kandungan asam amino S-nya (Fukushima, 1991), diperkirakan kurang dari 1% (Harada *et al.*, 1989; Sebastiani *et al.*, 1990).  $\beta$ -konglisinin disusun oleh 3 subunit yaitu  $\alpha$  (72 kDa),  $\alpha'$  (76 kDa) dan  $\beta$  (53 kDa).  $\beta$  subunit dari  $\beta$ -konglisinin berisi 1 residu sistein dan tanpa metionin diantara 470 asam amino, sehingga  $\beta$  subunit merupakan unit  $\beta$ -konglisinin yang sangat miskin asam amino S-nya. Glisinin disusun atas 5 subunit, dimana konsentrasi asam amino S-nya antara 3 – 4,5% (Nielsen *et al.*, 1989 ; Fukushima, 1991). Rasio protein 11S/7S merupakan indikator kualitas protein, semakin besar rasionya maka semakin besar pula konsentrasi metionin dan sistein per unit protein (Sexton *et al.*, 1998).

### 2.3 Pola Protein Biji

Metode elektroforesis banyak digunakan pada penelitian-penelitian tentang protein untuk menentukan kemurnian sampel, bobot molekul, dan titik isoelektrik. Teknik yang banyak digunakan adalah *Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Elektroforesis* (SDS-PAGE). Dasar dari metode ini adalah molekul bermuatan akan bermigrasi pada medan listrik dimana kecepatannya tergantung pada ukuran dan muatannya. Polyacrylamide digunakan sebagai penghalang pergerakan molekul. Sebelum masuk dalam medan listrik, protein didenaturasi pada kondisi yang keras ( panas, detergen pendenaturasi, agen pereduksi disulfida) dan protein diselubungi oleh anionic detergent yaitu SDS. Dalam keadaan terdenaturasi, biasanya protein mengikat SDS pada rasio berat yang konstan, sehingga pada akhirnya protein-protein tersebut memiliki kerapatan muatan yang sama. Pada kondisi ini, laju migrasi protein pada

medan listrik hanya ditentukan oleh ukuran molekul, sehingga semakin besar protein, migrasi pada polymeric gel akan lebih dihambat daripada protein dengan ukuran yang lebih kecil (Copeland, 1994).

Penelitian mengenai pola protein pada umumnya dilakukan dengan menggunakan elektroforesis. Informasi yang diperoleh dari elektroforesis ini adalah berat molekul dan komposisi sub unit pada suatu kompleks protein (Albert *et al.*, 1994). Gel elektroforesis secara ekstensif telah banyak digunakan dalam identifikasi kultivar-kultivar pada beberapa tanaman pangan yang penting. Bentuk-bentuk koenzim dan profil protein biji digunakan untuk mengidentifikasi kultivar pada sereal (Krishnan dan Sleper, 1997). Elektroforesis cara dua dimensi elektroforesis telah memungkinkan pemisahan zona protein yang berasal dari sedikit jaringan tumbuhan. Elektroforesis zona kapiler digabung dengan spektrofotometri massa telah dipakai untuk pencirian pada skala femtomol. Aktifitas enzim pada zona yang terpisah dapat ditentukan juga. Elektroforesis gel memakai natrium dedosil sulfat tidak berguna untuk peptida kecil yang kurang dari 150 residu (Robinson, 1995).

## 2.4 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah :

1. Ada perbedaan pola protein diantara genotipe kedelai.
2. Ada perbedaan kandungan karbohidrat terlarut dan protein diantara genotipe kedelai.
3. Ada genotipe kedelai yang memiliki kandungan protein terlarut yang tertinggi.



## III. METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biomolekuler Fakultas Pertanian Universitas Jember. Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan September 1999 sampai dengan Nopember 1999.

### 3.2 Bahan dan Alat Penelitian

#### 3.2.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan adalah 2 (dua) varietas kedelai, yaitu Krakatau, dan Wilis, dan 3 (tiga) galur kedelai yaitu KKS-10, ZKJB 1-7, dan ZKJ 1-5-2. Acrilamide, Urea, TEMED, APS, n-hexana,  $\text{CaCO}_3$ , Coomassie Brilliant Blue R-250, antrone, glukosa, Bovine Serum Albumin (BSA), kertas grafik, dll.

#### 3.2.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan antara lain mikro pipet, *syringe*, *glass plates*, vortex, stirer, penggojog, sentrifuge, tabung reaksi, beaker glass, tabung sentrifuge, spektrofotometer, neraca, vaccum, dll.

### 3.3 Ekstraksi Protein Terlarut

10 g kedelai digiling menjadi tepung. Tepung kedelai dibebaskan dari lemak dengan menggunakan 30 ml n hexana, kemudian digojog selama 24 jam dan disaring menggunakan kertas saring. Endapan yang didapat adalah tepung kedelai bebas lemak.

0,5 g tepung kedelai bebas lemak diekstrak dengan 10 ml buffer ekstraksi (mengandung 0,03 M Tris-HCl, pH 8,0; 0,2% SDS; 0,01M  $\beta$ - mercaptoetanol, dan 5M urea). Larutan dihancurkan dengan *Homogenazer* agar partikel tepung kedelai menjadi lebih halus. Larutan disentrifuge dengan kecepatan

10.000 rpm, 20°C, selama 15 menit. Supernatan yang didapat mengandung protein biji.

### 3.4 Penentuan Kandungan Protein Terlarut

Kandungan protein hasil ekstraksi ditentukan dengan menggunakan metode Bradford (1976). Bovine Serum Albumin (BSA) digunakan sebagai protein standar. Larutan Bradford terdiri dari 100 mg *Brilliant Blue R* ditambah dengan 50 ml etanol 95%, larutan distirer agar tercampur rata, ditambahkan 100 ml phosphoric acid 85%, ditambahkan aquadest sampai 1000 ml, distirer, saring, dan disimpan pada suhu 4°C.

Membuat BSA (Bovine Serum Albumin) standart. Masukkan 0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 12,5; 15,0; 17,5; dan 20,0 µg BSA (dari 0,25 µg/µl BSA) ditambah H<sub>2</sub>O sampai 100 µl, ditambah larutan Bradford sebanyak 1ml, divortex agar larutan menjadi homogen, absorban dibaca pada panjang gelombang 595 nm. Hasil pembacaan dibuat grafik dan digunakan sebagai pembandingan sampel.

Masing-masing sampel diencerkan 100x. Sampel yang telah diencerkan diambil 50 µl. Tambahkan 50 µl aquadest. Tambahkan 1 ml larutan Bradford. Absorban pada panjang gelombang 595 nm. Hasil pembacaan dibandingkan dengan BSA standar untuk mengetahui kandungan protein terlarut.

### 3.5 Fraksinasi Globulin 7S dan 11S (Tanh dan Shibasaki, 1976)

2,25 g tepung kedelai bebas lemak diekstraksi dengan 0,03 M bufer Tris.HCl (pH 8,0) yang mengandung 0,01 M merkaptoetanol pada suhu ruang selama 1 jam. Suspensi disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 20°C. Ekstrak bufer diatur pHnya dengan HCl 0,5 N sampai 6,4 dan didiamkan semalam dalam lemari pendingin dan disentrifugasi pada suhu 2-5°C. Endapan yang diperoleh adalah fraksi globulin 11S, sedangkan

supernatan yang berisi fraksi globulin 7S dan whey diatur pHnya sampai 4,8 dan disentrifugasi pada suhu 2-5°C. Endapan yang diperoleh dilarutkan dalam 0,03 M Tris.HCl dan pH diatur dengan NaOH 0,5 N sampai pH 7,6 lalu ditambah HCl 0,5 N sampai pH 6,2. Suspensi disentrifugasi kembali pada suhu 2-5°C. Endapan yang diperoleh merupakan bentuk polimerisasi protein sedang supernatannya adalah fraksi globulin 7S. Supernatan yang diperoleh diatur pHnya sampai dengan 4,8 dan disentrifugasi pada suhu 2-5°C. Endapan yang diperoleh adalah fraksi globulin 7S. Fraksi 11S ditambah 1,5 ml buffer fosfat (yang mengandung 2,6 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 32,5 mM K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0,4 M NaCl dan 10 mM 2β- mercaptoetanol), divortex, di sentrifuge, diambil 10μl, encerkan 100x, ukur total protein terlarut seperti penentuan kandungan protein. Fraksi 7S dilarutkan dengan 1,5 ml 0,03M Tris-HCl;pH 8,0, divortex, disentrifuge, supernatan diambil 50μl, encerkan 100x, diukur total protein terlarutnya.

$$\text{Rasio globulin 11S/7S} = \frac{\text{Kandungan globulin 11S}}{\text{Kandungan globulin 7S}}$$

### 3.6 Penentuan Kandungan Karbohidrat Terlarut

Kandungan karbohidrat ditentukan dengan menggunakan metode *Antrone* (Apriyantono dkk, 1989). Membuat glukosa standart dengan konsentrasi 0,2 mg/ml. Membuat larutan *antrone* 0,1 % ( 0,1 g anthrone dalam 100 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat). Glukosa standart dimasukkan kedalam tabung masing-masing 0, 8,16,24,32,40μg, kemudian ditambahkan aquadest hingga larutan menjadi 200μl dan tambahkan 1 ml larutan *antrone*, lalu divortex. Absorban dibaca pada panjang gelombang 630 nm. Hasilnya dibuat grafik glukosa standart sebagai pembanding.

0,5 g tepung kedelai bebas lemak ditambah 20 ml etanol 80%, kemudian disaring dengan kertas saring. Residu dicuci menggunakan 5 ml etanol 80%, disaring dan residu dibuang. pH larutan diukur, bila terlalu asam ditambahkan  $\text{CaCO}_3$  sampai basa. Larutan direbus selama 30 menit, lalu disaring. Larutan direbus lagi pada suhu  $85^\circ\text{C}$ , bila akan kering tambahkan air secukupnya. Larutan disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm, selama 10 menit. Supernatannya mengandung karbohidrat dan simpan pada suhu  $4^\circ\text{C}$ . Ambil  $50\mu\text{l}$  sampel, ditambah  $150\mu\text{l}$  aquadest, ditambah 1 ml larutan *antrone*, dan divortex. Absorbannya dibaca pada panjang gelombang 630 nm. Hasilnya dibandingkan dengan glukosa standar.

### 3.7 Analisa Protein

#### 3.7.1 Pembuatan Gel

##### 3.7.1.1 Separating Gel (8%)

5,3ml akrilamida (mengandung 30% acrylamide / 0,8% bisakrilamide) dimasukkan ke dalam beaker glass, kemudian ditambah 5 ml 4x *Lower Gel Buffer* (mengandung 1,5 M Tris-HCl, pH8,0;0,4% SDS). Larutan tersebut ditambah aquadest sampai 20 ml, distirer, larutan dihilangkan gasnya dengan menggunakan vacuum, ditambah  $10\mu\text{l}$  TEMED dan  $100\mu\text{l}$  ammonium persulphate 10%, kemudian distirer. Larutan segera dimasukkan dalam *glass plate* sebelum terbentuk polimer, di atasnya tambahkan aquadest, setelah polimer terbentuk maka terlihat jelas batas antara gel dan aquadest.

##### 3.7.1.2 Stacking Gel (4,5%)

1,8ml akrilamida (mengandung 30% acrylamide/0,8% bisakrilamide) dimasukkan ke dalam beaker glass, ditambah 3 ml 4x *Upper Gel Buffer* (mengandung 0,5M Tris-HCl, pH 6.8;0,4% SDS). Larutan ditambahkan aquadest sampai 7 ml, distirer, kemudian larutan dihilangkan gasnya dengan menggunakan vacuum. Tambahkan  $5\mu\text{l}$  TEMED dan  $50\mu\text{l}$  ammonium

## Digital Repository Universitas Jember

persulphate 10%, kemudian distirer. Buang aquadest dalam *glass plate*. Larutan dimasukkan segera dalam *glass plate*, kemudian sisir dimasukkan. Setelah polimer terbentuk, sisir dilepas.

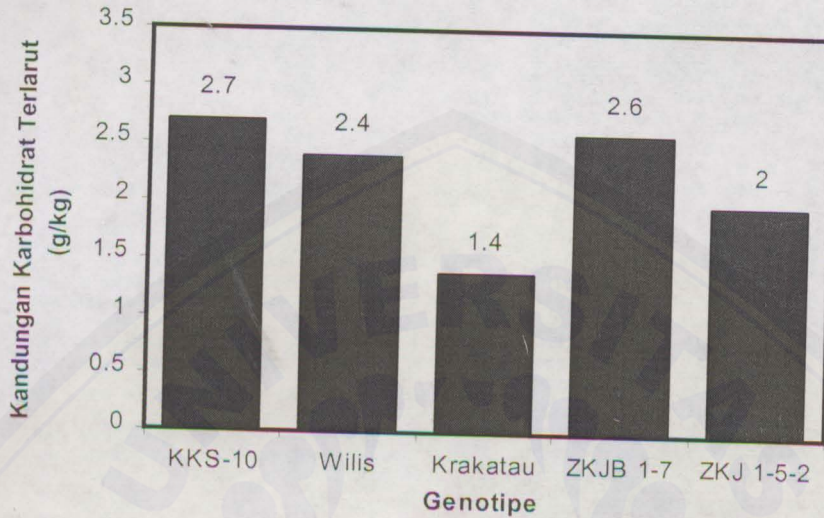
### 3.7.2 Elektroforesis

Sampel pertama dari 7S dan 11S (sampel tersebut adalah sama seperti penghitungan 11S dan 7S terlarut) diambil setara dengan 25  $\mu\text{g}$  protein, sedangkan sampel kedua adalah dari protein terlarut, diambil setara dengan 100 $\mu\text{g}$  protein, kemudian ditambahkan aquadest sampai 25  $\mu\text{l}$ , dan 25 $\mu\text{l}$  buffer loading, divortex. Masukkan running buffer (0,25 Tris-HCl, 1,92 M Glycine, 1% (w/v) SDS, pH 8,3) kedalam upper dan lower reservoir. *Glass plate* dipasang pada alat elektroforesis. Sampel diload dengan menggunakan *micro-liter syringe* atau mikropipet. Alat disambungkan pada power supply. Anodanya (+) adalah lower elektrode dan katodanya (-) adalah upper elektrode. Sampel di running pada 50  $\mu\text{A}$ . Setelah selesai di running maka gel direndam dalam larutan staining (0,1% coomassie brilliant blue R-250, 40% metanol, 10% asam acetat) dan digojog, kemudian larutan staining diganti dengan larutan destaining (40% metanol, 10% asam acetat) dan digojog.

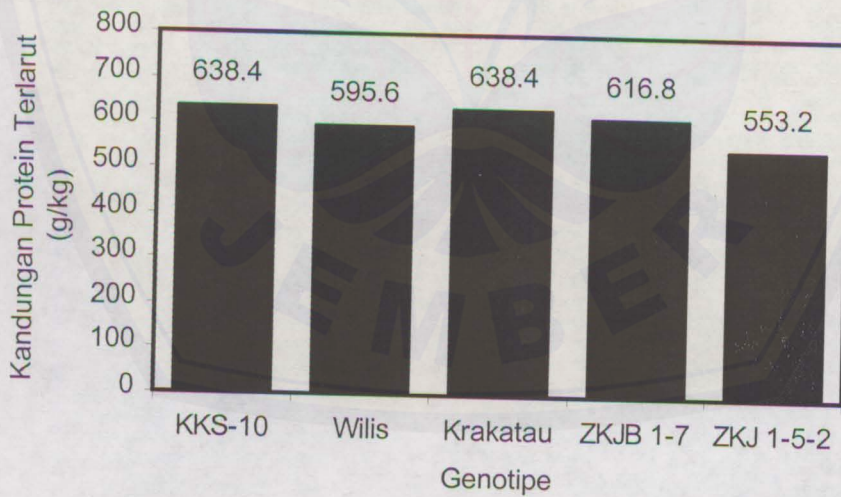
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Data yang diperoleh dari penelitian ini adalah :

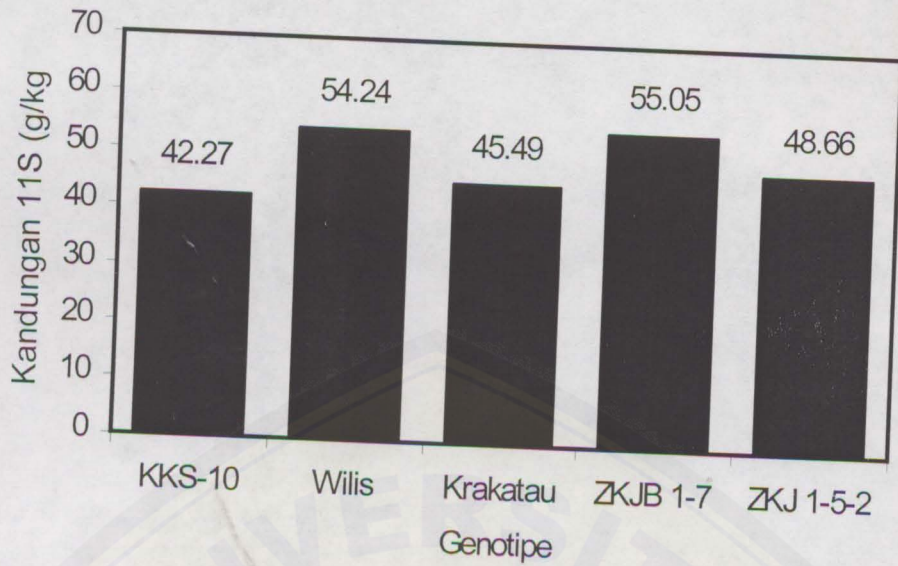


Gambar 1. Kandungan karbohidrat terlarut pada genotipe-genotipe yang diuji, yaitu KKS-10, Wilis, Krakatau, ZKJB 1-7, ZKJ 1-5-2.

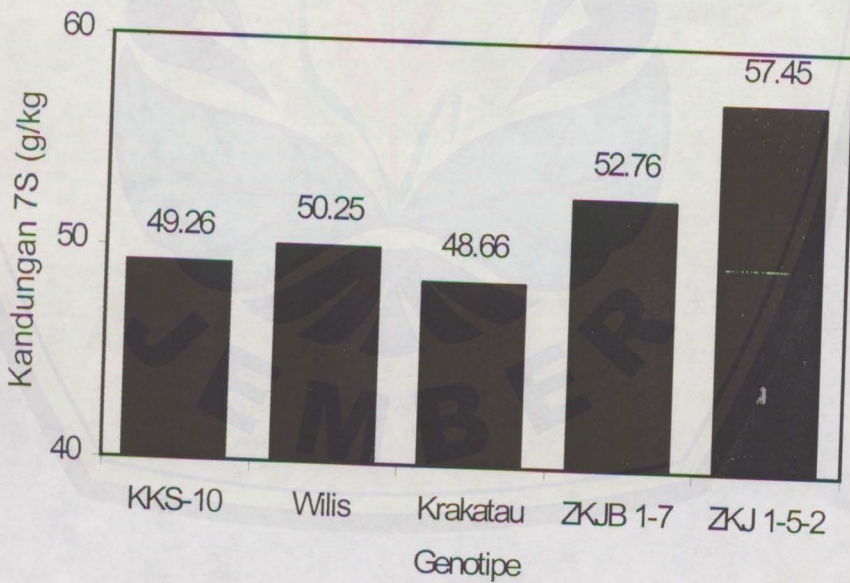


Gambar 2. Kandungan protein terlarut pada genotipe-genotipe yang diuji, yaitu KKS-10, Wilis, Krakatau, ZKJB 1-7, ZKJB 1-5-2.

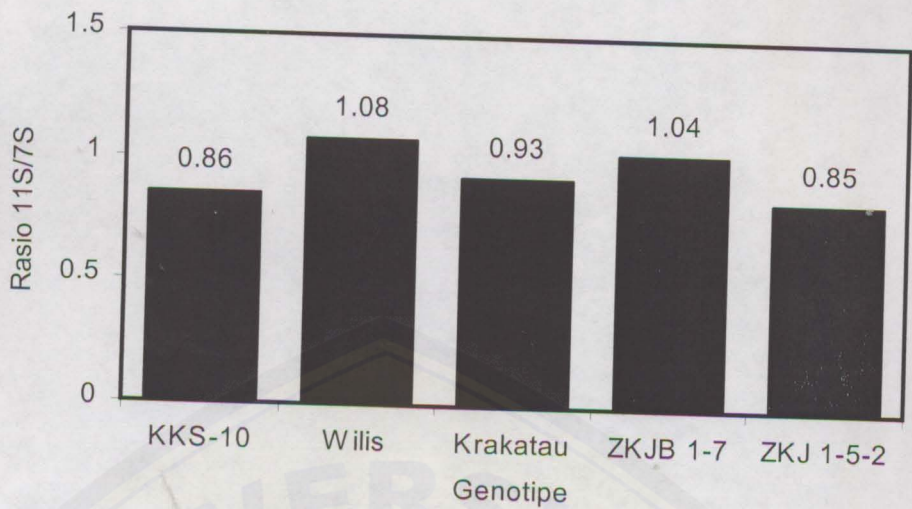




Gambar 3. Kandungan 11S pada genotipe-genotipe yang diuji, yaitu KKS-10, Wilis, Krakatau, ZKJB 1-7 dan ZKJ 1-5-2.



Gambar 4. Kandungan 7S pada genotipe-genotipe yang diuji, yaitu KKS-10, Wilis, Krakatau, ZKJB 1-7 dan ZKJ 1-5-2.

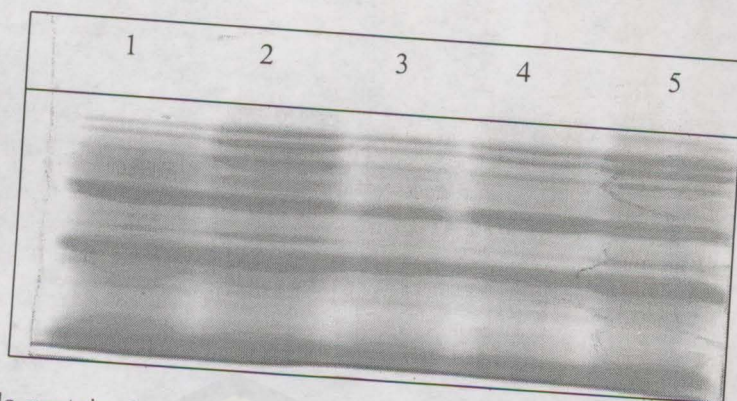


Gambar 5. Rasio 11S/7S pada genotipe-genotipe yang diuji, yaitu KKS-10, Wilis, Krakatau, ZKJB 1-7, dan ZKJ 1-5-2.

Pola protein yang dilakukan dengan elektroforesis adalah :



Gambar 6. Pola protein dengan gel 8%, tanpa urea. Sampel yang *diload* adalah setara dengan 25 $\mu$ g protein. Kolom (1) adalah Wilis 7S, (2) Krakatau 7S, (3) ZKJB 1-7 7S, (4) ZKJ 1-5-2 7S, (5) KKS 10 7S, (6) Wilis 11S, (7) Krakatau 11S, (8) ZKJB 1-7 11S, (9) ZKJ 1-5-2 11S, (10) KKS 10 7S.



Gambar 7. Pola protein dengan gel 8%, tanpa urea. Sampel yang *diload* adalah protein terlarut dan setara dengan 100µg protein. Kolom (1) adalah Wilis , (2) Krakatau , (3) ZKJB 1-7 , (4) ZKJ 1-5-2 , (5) KKS 10 .

#### 4.2 Pembahasan

Karbohidrat adalah zat penting bagi makhluk hidup sebagai sumber energi, sehingga penelitian tentang karbohidrat khususnya pada tanaman pangan telah banyak dilakukan. Pada penelitian ini karbohidrat yang diteliti adalah kandungan karbohidrat terlarut terutama gula-gula sederhana. Gula-gula sederhana tersebut antara lain glukosa, fruktosa dan sukrosa. Kandungan karbohidrat terlarut pada kedelai –kedelai yang diuji berkisar antara 1,4-2,7 g/kg. KKS-10 memiliki kandungan karbohidrat terlarut tertinggi (bila dibandingkan dengan genotipe yang lain) yaitu 2,7 g/kg, sedangkan Krakatau kandungan karbohidrat terlarutnya terendah yaitu 1,4 g/kg. Data tentang kandungan karbohidrat terlarut ini disajikan pada Gambar 1.

Protein adalah komponen utama pada tanaman legum selain karbohidrat, minyak, serat, dan abu(*ash*). Kandungan protein biji kedelai yang diteliti pada penelitian ini adalah protein terlarut. Dari genotipe-genotipe yang diuji, kandungan protein terlarut pada masing-masing genotipe adalah berbeda-beda, berkisar antara 553,2 – 638,4 g/kg. KKS-10 dan Krakatau memiliki kandungan protein terlarut tertinggi yaitu 638,4 g/kg, sedangkan ZKJ 1-5-2

terendah yaitu 553,2 g/kg. Gambar 2 menyajikan data tentang kandungan protein terlarut pada genotipe-genotipe yang diuji.

Penyusun utama globulin adalah globulin 11S (glisinin) dan 7S ( $\beta$ -konglisinin). Keberadaan kedua globulin tersebut sangat penting, karena terkait dengan kandungan asam-amino yang mengandung S antara lain sistein dan metionin, sehingga nilai nutrisi kedelai sangat tergantung pada kandungan 11S dan 7S. Kandungan 11S pada kedelai yang diuji bervariasi antara 42,27-55,05 g/kg. ZKJB 1-7 memiliki kandungan 11S tertinggi yaitu 55,05 g/kg, sedangkan KKS-10 terendah yaitu 42,27 g/kg. Dengan data tersebut maka dapat diduga bahwa ZKJB 1-7 memiliki kandungan metionin yang lebih banyak dari pada yang lain (karena kandungan asam amino yang mengandung S pada 11S adalah 3-4,5%). Gambar 3 menyajikan data tentang kandungan 11S pada genotipe kedelai yang diuji. Kandungan 7S pada genotipe-genotipe yang diuji juga berbeda-beda, antara 48,66-57,45 g/kg. Krakatau memiliki kandungan 7S terendah yaitu 48,66 g/kg, sedangkan ZKJ 1-5-2 memiliki kandungan 7S tertinggi yaitu 57,45 g/kg. Nilai 7S ini sangat mempengaruhi rasio 11S/7S. Bila nilai 7S tinggi maka akan memperkecil nilai rasio 11S/7S. Globulin 7S kandungan asam amino yang mengandung S adalah kurang dari 1%. Data tentang kandungan 7S dari genotipe kedelai yang diuji dapat dilihat pada Gambar 4.

Nilai nutrisi kedelai ditentukan oleh rasio 11S/7S, semakin tinggi rasionya maka nilai nilai nutrisinya makin baik. Gambar 5 menyajikan data tentang rasio 11S/7S dari genotipe yang diuji. Rasio 11S/7S bervariasi antara 0,85 – 1,08. Rasio tertinggi adalah kedelai genotipe Wilis yaitu 1,08 dan terendah adalah kedelai genotipe ZKJ 1-5-2, yaitu 0,85. Dari data tersebut dapat diketahui bahwa kedelai yang memiliki nilai nutrisi yang lebih baik adalah wilis dan ZKJB 1-7 karena rasio 11S/7Snya diatas 1. Semakin tinggi rasio

protein 11S/7S semakin baik pula kualitas proteinnya, karena mengandung protein dengan asam amino yang mengandung S lebih tinggi.

Hasil penelitian diatas dapat menjelaskan bahwa tingginya total protein terlarut pada suatu genotipe kedelai tidak mengakibatkan rasio 11S/7Snya tinggi pula. Hal ini dapat dilihat pada kedelai KKS-10 dan Krakatau yang protein terlarutnya tinggi, namun rasio 11S/7Snya kurang dari 1, sehingga kandungan sistein dan metionin dalam kedelai tersebut tidak cukup banyak. Lain halnya dengan kedelai Wilis dan ZKJB 1-7 meskipun kandungan protein terlarutnya sedang (bila dibandingkan dengan genotipe yang lain) namun rasio 11S/7Snya lebih dari satu, sehingga kandungan sistein dan metionin cukup tinggi. Kedua kedelai ini dapat direkomendasikan untuk dikonsumsi dalam mencukupi kebutuhan kedua asam amino tersebut, baik bagi hewan maupun manusia. Bila dibandingkan antara kedelai-kedelai yang diuji maka nilai nutrisi yang baik adalah Wilis dan ZKJB 1-7 dimana kandungan karbohidrat dan protein terlarutnya cukup tinggi dan rasio 11S/7Snya diatas 1. Sebaliknya nilai nutrisi terendah terdapat pada ZKJ 1-5-2 dimana kandungan karbohidrat dan protein terlarutnya rendah serta rasio 11S/7Snya adalah terendah (kurang dari 1).

Elektroforesis yang dilakukan adalah untuk mengetahui bentuk pola protein biji pada kedelai-kedelai yang diteliti. Pola protein tersebut adalah pemisahan dari protein-protein yang ada dalam kedelai berdasarkan bobot molekulnya(sub-unit), yang ditunjukkan dalam bentuk pita-pita protein. Dari pita-pita tersebut dapat diketahui banyak/ sedikitnya protein yang ada (sesuai dengan bobot molekul masing-masing). Protein dengan bobot molekul besar, akan terhambat migrasinya (dibandingkan dengan protein dengan bobot molekul kecil) sehingga akan berada diposisi atas, sedangkan protein dengan bobot molekul kecil akan berada dibawah. Gambar 6 menunjukkan perbandingan bentuk pola protein dari glisinin (11S) dan  $\beta$ -konglisinin (7S)

dari masing-masing sampel. Pola protein tersebut terlihat jelas perbedaan pita-pita yang muncul antara 7S dan 11S. Pada globulin 7S protein yang muncul adalah protein dengan bobot molekul yang besar (baris bagian atas), sedangkan globulin 11S adalah dengan protein berbobot molekul kecil (baris bagian bawah). Pita-pita protein 7S pada gel tersebut (kolom 1-5) terdiri atas subunit-subunit  $\alpha'$  (76 kD) ,  $\alpha$ (72 kD), dan  $\beta$ (53 kD) . Susunan subunit-subunit tersebut adalah berurutan dari atas kebawah berdasarkan bobot molekulnya, namun posisi sebenarnya dalam gel tersebut tidak dapat ditentukan dengan pasti karena tidak adanya marker pada gel. Pada kolom 6-10 adalah subunit-subunit penyusun globulin 11S, yang disusun oleh 5 subunit diantaranya acidic dan basic. Pada pita terbawah terlihat jelas perbedaan kandungannya, Wilis dan ZKJB 1-7 memiliki protein tersebut dalam jumlah yang banyak bila dibandingkan dengan yang lain.

Gambar 7 menunjukkan pola protein pada genotipe yang diuji berdasarkan subunit-subunitnya dari protein terlarut. Pita-pita yang muncul berbeda-beda jumlahnya (dilihat dari ketebalannya) bila dibandingkan satu sama yang lain, walaupun jumlah protein yang *diloading* adalah sama (100 $\mu$ g). Pada baris tertentu, Krakatau, KKS-10 dan Wilis terlihat lebih tebal dibandingkan dengan yang lain, dengan demikian genotipe yang berbeda memberikan pola protein yang berbeda pula.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

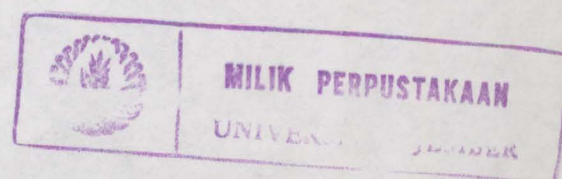
### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil dan pembahasan diatas maka dapat disimpulkan :

1. Pada genotipe yang berbeda memiliki pola protein yang berbeda pula, hal ini ditunjukkan dengan perbedaan tebal tipisnya pita-pita protein.
2. Kedelai genotipe KKS-10 memiliki kandungan karbohidrat terlarut (gula-gula sederhana) tertinggi yaitu 2,7 g/kg.
3. Kedelai genotipe KKS-10 dan Krakatau memiliki kandungan protein terlarut tertinggi yaitu 638,4 g/kg. Wilis dan ZKJB 1-7 memiliki rasio 11S/7S yang besar yaitu 1,08 dan 1,04.

### 5.2 Saran

Penelitian tentang kandungan nutrisi kedelai ini perlu diperbanyak dari segi varietas ataupun jenis yang diteliti sehingga Indonesia sebagai negara yang memiliki banyak varietas kedelai mempunyai data yang akurat dan lengkap mengenai nilai nutrisi kedelai di Indonesia.



DAFTAR PUSTAKA

- Albert, B., Dennis, B., Julian, L., Martin, R., Keith, R., James, D.W., *Biologi Molekuler Sel*. Terjemahan Alex Tri Kantjono dari *Molekuler Molecular Biology of The Cell*, (1994) Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Apriyantono, A., D. Fardiaz, N.L. Puspitasari, Sedarnawati, S. Budiyo (1989) *Analisis Pangan*, Institut Pertanian Bogor Press, Bogor.
- Bradford, M.M (1976) A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein Dye Binding, *Anal. Biochem.* 72, 248-254.
- Burton, J.W., A.E Purcell, W.M. Walter Jr. (1982) Methionine Concentration in Soybean Protein from Populations Selected for Increased Percent Protein. *Crop Sci* 22, 430 - 432.
- Copeland, R.A (1994) *Method for Protein Analysis*, Chapman and Hal, Delawere.
- Fukushima, D., (1991) Recent Progress of Soybean Protein Foods ; Chemistry, Tecnology and Nutrition. *Food. Rev. Int.* 7 , 323 - 351.
- Harada, J.J., S.J. Barker, and R.B. Goldberg, (1989) Soybean  $\beta$ -conglycinin Genes are Clustered in Several DNA Regions and are Regulated by Transcriptional and Posttranscriptional Processes. *Plant Cell* 1, 415-425.
- Krishnan, H.B dan D.A. Sleper (1997) Identification of Tall Fescue Cultivar by Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Elektrophoresis of Seed Protein, *Crop Sci*, 37: 215-219.
- Lamina (1989) *Kedelai dan Pengembangannya*, Sipex, Jakarta.
- Meinke D.W., J.Chen, and R.N. Beachy (1981) Expression of Storage Protein Genes During Soybean Seed Development. *Planta* 153, 130-139.
- Melo T.S, R.B Ferreira, A.N Teixeira (1994) The Seed Storage Protein from *Lupinus Albus*, *Phytochemistry* 37, 641-648.



- Nielsen N.C., C.D Dickinson, T.J. Cho , V.H.Thanh , B.J. Seallon , R.L Fischer ,T.L. Sims ,G.N Drews , R.B Goldberg , (1989) Characterization of The Glycinin Family in Soybean. *Plant Cell* 1, 313 – 328.
- Robinson,T. (1995) *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*,ITB, Bandung.
- Sebastiani F.L.,L.B. Forrell ,M.A. Schuler , R.N. Beachy , (1990) Compleet Sequence of a cDNA of Subunit of  $\beta$ -conglycinin. *Plant Mol.Biol.* 15, 197 –201.
- Serretti C., W.T. Schapaugh ,R.C Leffel , (1994) Amino Acid Profile of High Seed Protein Soybean.*Crop Sci* 34,207 – 209.
- Sexton P.J, N.C Paek, R.M Shibles (1998) Effects of Nitrogen Source and Timing of Sulfur Deficiency on Seed Yield and Expression of 11S and 7S Seed Storage Protein of Soybean, *Field Crops Reseach* 59,1-8.
- Shotwell, M,A., and B.A Larkins (1989) The Molecular Biology and Biochemichemistry of Seed Storage Proteins, *The Bio Chemistry of Plants* 15 : 297 – 345.
- Soemaatmadja S., M. Lismunadji, Sumarno, M. Syam, S.O Manurung, Yuswadi (1993) *Kedelai*, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Tanaman Pangan, Bogor.
- Tanh,V.H and K.J. Shibasaki, (1976) A New Electrophoresis Method and Its Aplication for Revealing the Heterogenity of Chromatographically Homogeneous Fractions of Soybean, *J.Agric.Food Chem*, 24,1117.
- Tillman A.D, H.Hartadi, S. Reksohadiprodjo, S. Prawirokusumo, S. Lebdoesoekojo (1983) *Ilmu Makanan Ternak Dasar*, Gajah Mada University Press, Yogyakarta.