



PENETAPAN KADAR PROTEIN PRODUK SUSU BUBUK DENGAN METODE KJELDAHL DETERMINATION OF PROTEIN CONTENT OF POWDERED MILK PRODUCTS USING THE KJELDAHL METHOD

Ahmad Fauzi^{*}, Andi Suhendi¹, Anisa Fadila¹, Putri Sulistiawati¹, Yuliansyah¹, Rosa Sayentina¹

ARTICLE INFO

Submitted: 09-09-2023

Revised: 30-10-2023

Accepted: 30-11-2023

¹Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

^{*}Corresponding author (Ahmad Fauzi)
Email: af585@ums.ac.id

ABSTRAK

Protein adalah molekul organik kompleks yang merupakan sumber nutrisi optimal untuk mendukung pertumbuhan. Susu adalah salah satu hasil ternak yang dikenal sebagai bahan makanan bernilai gizi tinggi dan sering dikonsumsi untuk memenuhi kebutuhan protein tubuh salah satunya ialah protein. Metode Kjeldahl digunakan untuk mengukur kandungan protein kasar dalam bahan makanan melalui pendekatan tidak langsung, seperti pada asam amino, protein, dan senyawa lain yang mengandung nitrogen. Analisis dilakukan dengan mengukur kandungan nitrogen sebagai representasi kadar protein. Analisis Kualitatif yang telah dilakukan pada sampel susu bubuk merek X didapatkan hasil positif mengandung protein dengan timbul-nya warna ungu atau biru violet akibat pereaksi biuret yang bereaksi dengan gugus amida asam bersama gugus lainnya. Analisis kualitatif dilakukan menggunakan metode metode Kjeldahl, dapat disimpulkan bahwa sampel mengandung protein 4,56 % + 0,1% mendekati klaim produk 5%.

Kata Kunci: Protein, Kjeldahl, Susu Bubuk

ABSTRACT

Protein is a multifaceted chemical substance and serves as an optimal nutrient source for promoting growth. Milk is regarded as a livestock-derived product that possesses a substantial nutritional profile, making it a popular choice for individuals seeking to fulfill their protein requirements. The Kjeldahl method is employed as an indirect means of analyzing the crude protein content in foodstuffs, encompassing amino acids, proteins, and other nitrogen-containing components. This approach is utilized due to its ability to measure the nitrogen content of the sample. Upon subjecting the samples of X powdered milk to qualitative analysis, the results yielded positive outcomes. The observed color change in the samples can be attributed to the reaction between the biuret reagent and the acid amide group, as well as other functional groups present. The Kjeldahl method was employed to conduct a qualitative analysis, revealing that the sample contains around 4.56% protein with a standard deviation of 0.1. This finding indicates that the protein content of the sample is in close proximity to the product claim of 5%.

Keywords: Protein, Kjeldahl, Powdered Milk

1. PENDAHULUAN

Protein adalah zat kimia rumit yang memiliki berat molekul besar dan terdiri dari monomer asam amino yang dihubungkan satu sama lain melalui ikatan peptida. Protein sangat penting bagi semua makhluk hidup. Enzim, hormon, dan antibodi hanyalah contoh dari beragam peran protein dalam tubuh (Sawitri, Sumaryada, & Ambarsari, 2014). Protein diurai mikroba menjadi metabolit, seperti asam amino, peptide dan senyawa dengan berat molekul yang lebih kecil (Cruz-Casas et al., 2021). Jika asam amino, peptida, dan molekul organik dengan berat molekul rendah habis, mikroba akan memproduksi enzim proteolitik. Enzim-enzim tersebut mampu memecah protein

dengan berat molekul tinggi menjadi oligopeptida dan asam amino bebas, yang keduanya dapat digunakan sebagai sumber energi oleh mikroorganisme (Kieliszek, Pobiega, Piwowarek, & Kot, 2021). Air akan diproduksi sebagai produk sampingan dari mekanisme reaksi ini, dan konsentrasi protein akan turun secara alami (Purnama, Retnaningsih, & Aprianti, 2019).

Protein merupakan salah satu makrokonstituen dari produk susu (3-5%) bersama dengan air, lipid dan karbohidrat. Pada susu sapi terdapat dua keluarga protein utama yaitu kasein dan Whey protein. Kasein adalah protein khusus susu yang ada sebagai agregat koloid yang tersebar dalam serum susu. Sistem protein susu sapi bersifat dominan kasein, yang memungkinkan kalsium dalam jumlah besar (Patel, Sharma, & Kratika, 2020). Fungsi alami susu adalah untuk memenuhi kebutuhan nutrisi lengkap. Protein susu menyediakan asam amino esensial dan gugus amino untuk biosintesis asam amino nonesensial dan juga memasok energi. Protein ini juga menyediakan banyak fungsi fisiologis susu, yang dilakukan oleh imunoglobulin, enzim, penghambat enzim, faktor pertumbuhan, hormon, dan agen antibakteri (Goulding, Fox, & O'Mahony, 2019). Perkembangan teknik fraksinasi dan pemrosesan yang canggih telah menghasilkan banyak bahan turunan susu yang memiliki sifat fungsional dan aplikasi berbeda salah satunya adalah susu bubuk (Kalyankar et al., 2015).

Metode Kjeldahl adalah pendekatan yang simpel digunakan untuk menentukan kandungan protein kasar dalam bahan makanan secara tidak langsung, seperti pada asam amino, protein, dan senyawa lain yang mengandung nitrogen. Analisis dilakukan dengan mengukur kadar nitrogen, dan hasilnya dapat diubah menjadi kadar protein dengan mengalikannya dengan faktor konversi 6,25 (Sáez-Plaza, Navas, Wybraniec, Michałowski, & Asuero, 2013). Metode kjeldahl merupakan penetapan kadar protein total dengan menghitung unsur nitrogen (N%) dalam sampel (Ageng Luhur Pakerti & Candra Purnama, 2022). Dengan demikian metode ini dipilih untuk penetapan kadar susu bubuk.

2. METODE

Alat

Penelitian ini menggunakan alat sebagai berikut labu kjeldahl, buret 50 ml, labu destilasi dan kondensor, pH meter, erlenmeyer (100 ml dan 250 ml), timbangan, beaker glass (100 ml dan 250 ml), tabung reaksi, pipet tetes, *electric stove*, statif dan klem.

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain sampel Susu Bubuk Merk X, NaOH 50%, NaOH encer, CuSO₄ anhidrat, Kalium biftalat, indikator fenolftalein 1%, NaOH 0,1 N, HNO₃, HCL 0,1 N, Aquadest.

Prosedur Penelitian

Analisis Kualitatif

Larutan sampel dibuat alkalis dengan NaOH encer kemudian ditambahkan larutan CuSO₄ anhidrat. Uji Biuret digunakan untuk membuktikan adanya senyawa-senyawa yang mengandung gugus amida asam yang berada bersama gugus lainnya. Uji ini memberikan hasil positif yaitu ditandai dengan timbul warna ungu atau biru violet tahap ini dilakukan 3 kali replikasi.

Analisis Kuantitatif

1. Standardisasi larutan NaOH 0,1 N

Sebanyak 100 mg kalium biftalat diukur dan larut dalam 25 ml aquadest yang terbebas dari CO₂. Setelah itu, ditambahkan indikator fenolftalein 1%, kemudian dilakukan titrasi dengan larutan standar NaOH 0,1 N hingga mencapai warna merah muda. Proses ini diulang sebanyak 3 kali replikasi.

2. Penetapan kadar protein Tahap destruksi

Ditimbang 500 mg sampel dimasukkan kedalam labu kjeldahl kemudian ditambahkan HNO₃ pekat kemudian digojog hingga homogen. Dipanaskan dalam lemari asam dengan *electric stove* pada suhu 100°C, dan dilakukan penambahan H₂O₂ bertahap sampai sampel yang awalnya tidak jernih menjadi jernih. Dalam penelitian kali ini sampel dapat terdestruksi menjadi jernih dalam waktu 30 menit.

3. Tahap destilasi

Hasil destruksi didinginkan, kemudian ditambahkan 150 mL aquadest dan ditambahkan sedikit demi sedikit larutan NaOH 50% dilakukan pengecekan menggunakan Ph meter sampai cairan bersifat basa. Pasang labu kjeldahl yang sudah terisi campuran larutan sebelumnya pada alat destilasi kemudian dipanaskan sampai amonia menguap sempurna. Destilat ditampung dalam erlenmeyer yang telah diisi HCL 0,1 N dan indikator fenoltalein 1%. Destilat diakhiri setelah destilat tidak bereaksi basa atau sampai destilat berwarna jernih.

4. Tahap titrasi

Larutan hasil destilasi dititrasi dengan larutan baku NaOH 0,1 N, dan titik akhir titrasi dicapai ketika perubahan warna menjadi merah muda stabil. Setelah itu, dilakukan penetapan blanko dengan perlakuan yang serupa terhadap sampel.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebelum menentukan kadar protein pada susu bubuk X, dilakukan uji kualitatif untuk mendeteksi keberadaan ikatan peptida dalam proteinnya. Analisis kualitatif protein dalam susu bubuk X menggunakan metode biuret. Prinsip dari metode ini adalah terbentuknya warna ungu atau biru violet karena reaksi pereaksi biuret dengan gugus amida asam yang bersamaan dengan gugus lainnya. Setelah uji identifikasi kualitatif dengan metode biuret, terungkap bahwa susu bubuk X menghasilkan warna ungu setelah penambahan larutan biuret (CuSO_4 dan NaOH), menunjukkan keberadaan protein dalam susu bubuk tersebut seperti pada [Gambar 1](#).



Gambar 1. Hasil Uji Kualitatif

Penetapan kandungan protein total dalam susu bubuk X menggunakan metode Kjeldahl melibatkan tiga kali pengulangan pada sampel. Pengulangan ini dilakukan dengan tujuan untuk memastikan akurasi analisis sehingga perbedaan yang sangat kecil antarhasil dapat terdeteksi. Metode Kjeldahl untuk menentukan kandungan protein secara kuantitatif berfokus pada nitrogen yang terdapat dalam bahan. Proses analisis ini dapat dibagi menjadi tiga tahap: destruksi, destilasi, dan titrasi.

Tahap destruksi melibatkan pemecahan senyawa organik dalam sampel menjadi senyawa anorganik. Pada tahap ini, sampel dipanaskan dalam asam sulfat pekat untuk mengurai unsur-unsurnya, seperti karbon, hidrogen, oksigen dan nitrogen. Unsur nitrogen dari protein digunakan untuk menentukan kandungan protein dalam bahan. Penambahan H_2O_2 sebagai katalisator bertujuan untuk meningkatkan titik didih HNO_3 , mempercepat proses destruksi. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl, diikuti penambahan HNO_3 pekat untuk memisahkan nitrogen dari unsur lainnya, memungkinkan pelepasan dari ikatan senyawa. Penggojokan dilakukan untuk memastikan semua bahan dalam labu Kjeldahl tercampur dengan baik.

Labu Kjeldahl dipanaskan menggunakan kompor elektrik pada suhu $100\text{ }^\circ\text{C}$, dan penambahan H_2O_2 dilakukan secara bertahap hingga sampel yang awalnya keruh menjadi jernih. Dalam penelitian ini, sampel berhasil terdestruksi dan mencapai kejernihan dalam waktu 30 menit. Setiap pengujian diperlukan titrasi blanko dengan perlakuan yang sama. Setelah tahap destruksi selesai, cairan berwarna kuning yang jernih diperoleh, kemudian dilanjutkan dengan penambahan 150 ml aquadest untuk mengencerkan hasil destruksi. Tahap selanjutnya adalah destilasi seperti pada [Gambar 2](#), yang bertujuan untuk memisahkan zat berdasarkan titik didih. Destilasi melibatkan pemecahan ammonium sulfat menjadi ammonia (NH_3) dengan menambahkan NaOH sampai alkalis, dan kemudian

dipanaskan. Penambahan NaOH bertujuan memberikan suasana basa, karena reaksi tidak dapat berlangsung dalam keadaan asam. Ammonia (NH₃) yang dibebaskan akan ditangkap oleh larutan penampungnya (HCl 0,1 N). Untuk memastikan penangkapan amonia secara maksimal, ujung alat destilasi harus benar-benar menempel di tabung Kjeldahl agar amonia yang terbentuk tidak menguap. Proses destilasi berakhir ketika tidak ada lagi reaksi basa terhadap fenolftalein atau ketika destilat berwarna jernih.



Gambar 2. Proses Destilasi Kjeldahl

Pada tahap titrasi, kelebihan HCl 0,1 N yang tidak bereaksi dengan amonia dititrasi menggunakan larutan standar NaOH 0,1 N dengan menggunakan indikator fenolftalein 1%. Titrasi dilakukan hingga tercapai titik akhir yang ditandai oleh perubahan warna larutan menjadi merah muda konstan. Hasil titrasi kemudian dihitung menggunakan rumus berikut (Lynch & Barbano, 1999; Mæhre, Dalheim, Edvinsen, Elvevoll, & Jensen, 2018) :

$$\%N = \frac{mL \text{ Titran (sampel - blanko)} \times N \text{ Titran} \times 14.007}{mg \text{ sampel}} \times 100\%$$

$$\%Protein = \%N \times \text{Faktor Konversi (6,25)}$$

Hasil penelitian analisis susu bubuk merek Susu Bubuk X menunjukkan bahwa kadar protein rata-rata pada sampel secara berturut-turut pada replikasi adalah 4,49%, 4,52%, dan 4,67% dengan simpangan baku 0,1%. Hal ini mengindikasikan bahwa kandungan protein yang terdapat pada kemasan hampir sama dengan klaim pada kemasan, yaitu protein sebesar 5%.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis yang telah dilakukan pada sampel susu bubuk merek X, didapatkan hasil kualitatif positif mengundung protein dengan timbulnya warna ungu atau biru violet akibat pereaksi biuret yang bereaksi dengan gugus amida asam bersama gugus lainnya. Analisis kuantitatif dilakukan menggunakan metode metode Kjeldahl, dapat disimpulkan bahwa sampel mengandung protein 4,56 % + 0,1 mendekati klaim produk 5%.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Ageng Luhur Pakerti, & Candra Purnama, R. (2022). Analysis Of Protein Levels In Corn (*Zea Mays L.*) Purchased With Brand L In The Market Region Of Semuli Jaya Lampung Utara With Using The Kjeldahl Method. *Jurnal Analisis Farmasi*, 7(2), 119–129.
- Cruz-Casas, D. E., Aguilar, C. N., Ascacio-Valdés, J. A., Rodríguez-Herrera, R., Chávez-González, M. L., & Flores-Gallegos, A. C. (2021). Enzymatic hydrolysis and microbial fermentation: The most favorable biotechnological methods for the release of bioactive peptides. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 3, 100047. <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2021.100047>
- Goulding, D. A., Fox, P. F., & O'Mahony, J. A. (2019). Milk proteins: An overview. In *Milk Proteins: From Expression to Food*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815251-5.00002-5>
- Kalyankar, S. D., Deshmukh, M. A., Chopde, S. S., Khedkar, C. D., Lule, V. K., & Deosarkar, S. S. (2015). Milk Powder. *Encyclopedia of Food and Health*, 724–728. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00465-7>
- Kieliszek, M., Pobiega, K., Piwowarek, K., & Kot, A. M. (2021). Characteristics of the proteolytic enzymes produced by

lactic acid bacteria. *Molecules*, 26(7). <https://doi.org/10.3390/molecules26071858>

- Lynch, J. M., & Barbano, D. M. (1999). Kjeldahl nitrogen analysis as a reference method for protein determination in dairy products. *Journal of AOAC International*, 82(6), 1389–1392. <https://doi.org/10.1093/jaoac/82.6.1389>
- Mæhre, H. K., Dalheim, L., Edvinsen, G. K., Elvevoll, E. O., & Jensen, I. J. (2018). Protein Determination—Method Matters. *Foods*, 7(1). <https://doi.org/10.3390/FOODS7010005>
- Patel, A. H., Sharma, H. P., & Kratika, K. (2020). Milk proteins. *Food Agris Spectrum*, (May), 21–98. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815251-5.00002-5>
- Purnama, R. C., Retnaningsih, A., & Aprianti, I. (2019). Perbandingan Kadar Protein Susu Cair Uht Full Cream Pada Penyimpanan Suhu Kamar dan Suhu Lemari Pendingin Dngan Variasi Lama Penyimpanan Dengan Metode Kjeldhal. *Jurnal Analis Farmasi*, 4(1), 50–58.
- Sáez-Plaza, P., Navas, M. J., Wybraniec, S., Michałowski, T., & Asuero, A. G. (2013). An Overview of the Kjeldahl Method of Nitrogen Determination. Part II. Sample Preparation, Working Scale, Instrumental Finish, and Quality Control. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 43(4), 224–272. <https://doi.org/10.1080/10408347.2012.751787>
- Sawitri, K. N., Sumaryada, T., & Ambarsari, L. (2014). Analisa Pasangan Jembatan Garam Residu Glu15-Lys4 Pada Kestabilan Termal Protein 1Gb1. *Jurnal Biofisika*, 10(1), 68–74. Retrieved from www.rscb.org