

Determination of Protein Levels of Several Types of Beans (Fresh Red Beans, Green Beans, Soybeans) For Handling Stunting Using the Kjeldahl Method and Visible Spectrophotometry

Penentuan Kadar Protein Beberapa Jenis Kacang (Kacang Merah, Hijau, Kedelai Segar) Untuk Penanganan Stunting Dengan Metode Kjeldahl Dan Spektrofotometri Visible

Fatin Fairuz Pasaribu ^a, Anny Sartika Daulay ^{a*}, Ridwanto ^a, Muhammad Amin Nasution ^a

^a Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah, Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

*Corresponding Authors: annysartika@umnu.ac.id

Abstract

Protein helps the body to grow and maintain tissue and replace damaged cells. If the intake of protein in toddlers is insufficient during their growth period, the growth and development of toddlers can be delayed and nutritional problems related to stunting can arise. And the level of protein adequacy affects the occurrence of stunting. One of the highly nutritious and easily accessible local foods that can be used as additional food is green beans, soybeans have the best source of vegetable protein, red beans have a protein content of between 16% and 20%, and are also a source of minerals and vitamins. The objective of the research was to determine the protein content in several types of beans (red beans, green beans, fresh soybeans) for handling stunting using the kjeldahl method and visible spectrophotometry. The method used in this research used the kjeldahl method, a simple way to determine total nitrogen in samples of several types of beans. This research also used a spectrophotometric method that can determine specific protein levels, had high accuracy and could measure small substances. The protein content obtained in the samples using the Kjeldahl method is Fresh Soybeans 35,19 gram, Green Beans 33,7 gram and Red Beans 28,6 gram divided by 100 grams of sample. The spectrophotometric method is Fresh Soybeans 29,09 gram, Green Beans 17,82gram and Red Beans 13,63 gram divided by 100 grams of sample. The protein content in the samples, namely fresh soybeans, green beans and red beans can be used in handling stunting because the levels obtained in the three samples can meet daily protein.

Keywords: Protein Content, Beans, Visible Spectrophotometry, Kjeldahl Method.

Abstrak

Protein membantu tubuh untuk proses pertumbuhan dan mempertahankan jaringan serta menggantikan sel-sel yang rusak. Jika asupan protein balita tidak cukup selama masa pertumbuhannya, tumbuh kembang balita dapat terlambat dan masalah gizi terkait stunting dapat muncul. Dan tingkat kecukupan gizi protein berpengaruh terjadinya stunting. Salah satu bahan pangan lokal yang bergizi tinggi dan mudah diakses yang dapat digunakan sebagai makanan tambahan adalah kacang hijau, kacang kedelai memiliki sumber protein nabati terbaik, kacang merah kandungan protein antara 16% dan 20%, dan juga merupakan sumber mineral dan vitamin. Penelitian ini bertujuan dalam menentukan kadar protein pada beberapa jenis kacang (kacang merah, hijau, kedelai segar) untuk penanganan stunting dengan metode kjeldahl dan spektrofotometri visible. Metode yang digunakan pada penelitian ini menggunakan metode kjeldahl cara sederhana untuk menetapkan nitrogen total pada sampel beberapa jenis kacang. Penelitian ini juga menggunakan metode spektrofotometri yang dapat menentukan kadar protein yang spesifik, mempunyai ketelitian tinggi dan dapat mengukur zat yang kecil. Kadar protein yang didapat pada sampel pada metode kjeldahl yaitu kacang kedelai segar 35,19 gram, kacang hijau 33,7 gram dan kacang merah 28,68 gram per 100 gram sampel. Metode

spektrofotometri yaitu kacang kedelai segar 29,09 gram, kacang hijau 17,82 gram dan kacang merah 13,61 gram per 100 gram sampel. Kadar protein pada sampel yaitu kacang kedelai segar, kacang hijau dan kacang merah dapat digunakan dalam penanganan stunting karena kadar yang didapat pada ketiga sampel tersebut dapat mencukupi protein sehari-hari.

Kata Kunci: Kadar Protein, Kacang-kacangan, Spektrofotometri Visible, Metode Kjeldahl.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Article History:

Received: 23/08/2025,
Revised: 21/12/2025
Accepted: 22/12/2025
Available Online: 22/12/2025

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v8i4.1085>

Pendahuluan

Makanan sehat memerlukan nutrisi untuk tubuh dan harus memenuhi kriteria yaitu higienis, bergizi dan mencukupi, tetapi tidak harus mahal. Karbohidrat, lemak, protein dan vitamin adalah nutrisi yang dapat memenuhi kebutuhan tubuh. Sementara itu, makanan yang memenuhi sesuai dengan umur dan keadaan tubuh seseorang menandakan bahwa seseorang mengonsumsi makanan yang cukup [1]. Pola hidup sehat yaitu dengan cara diet dan olahraga yang seimbang, nutrisi yang sudah terpenuhi disesuaikan dengan kebutuhan tubuh melalui mengonsumsi makanan sehari-hari. Sumber gizi yang seimbang dalam bahan makanan dikelompokkan menjadi tiga, yaitu sumber energi, sumber zat pembangun, dan sumber zat pengatur [2].

Suplemen memiliki kandungan atau beberapa bahan seperti vitamin, mineral dan protein (asam amino) atau bahan yang berasal dari tumbuhan maupun hewani yang memiliki kandungan gizi serta efek fisiologis dalam jumlah yang terkonsentrasi [3]. Konsumsi makanan dan penggunaan zat-zat gizi tubuh dapat memengaruhi status gizi. Tubuh mencapai status gizi ideal seperti pertumbuhan fisik, perkembangan otak, kemampuan kerja dan kesehatan pada tingkat yang tinggi jika zat-zat gizi diperoleh cukup dan digunakan secara efisien. Kurang gizi dapat menyebabkan pertumbuhan badan yang lambat, terutama perkembangan otak, dan dapat juga menyebabkan penurunan atau rendahnya daya tahan tubuh terhadap penyakit infeksi [4]. Stunting adalah masalah yang disebabkan oleh gizi kronis karena kurangnya asupan gizi selama waktu yang sangat lama. Pada pola makan, masalah stunting dipengaruhi oleh kurangnya kesadaran orang tua tentang mendapatkan pengetahuan terhadap makanan yang jumlah dan kualitas nutrisi, serta kurang beragam [5].

Ada dua jenis senyawa yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder pada tumbuhan. Kandungan yang digunakan oleh tumbuhan sebagai penghasil energi seperti karbohidrat, lemak dan protein disebut sebagai senyawa metabolit primer, sedangkan senyawa kimia yang melindungi tumbuhan dari gangguan penyakit dan serangan hama disebut sebagai metabolit sekunder. Senyawa ini digolongkan dalam senyawa yaitu terpenoid, steroid, flavonoid dan alkaloid [6]. Protein terbagi menjadi dua kategori yaitu, protein hewani dan protein nabati. Protein hewani seperti daging, ikan, telur, ayam dan lain-lain. Protein nabati seperti kacang-kacangan, tempe, tahu dan lain-lain [7].

Kebutuhan protein Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 75 Tahun 2013 Tentang Angka Kecukupan Gizi. Kebutuhan protein untuk perorang perhari digolongkan oleh umur, pada bayi dan anak dari umur 0 – 5 bulan, umur 6-11 bulan, umur 1-3 tahun dan umur 4-6 tahun protein yang dianjurkan 9 g, 15 g, 20 g dan 25 g [8]. Protein membantu tubuh untuk proses pertumbuhan dan mempertahankan jaringan serta menggantikan sel-sel yang rusak. Jika asupan protein balita tidak cukup

selama masa pertumbuhannya, tumbuh kembang balita dapat terlambat dan masalah gizi terkait stunting dapat muncul. Dan tingkat kecukupan gizi protein berpengaruh terjadinya stunting [9].

Stunting yaitu gagal nya pertumbuhan yang dialami oleh anak di bawah lima tahun yang disebabkan oleh kekurangan gizi saat janin di dalam kandungan hingga bayi lahir. Kondisi seperti ini terlihat ketika anak berusia dua tahun, anak stunting cenderung memiliki panjang atau tinggi badan yang lebih pendek daripada orang yang seusianya. Gangguan pada pertumbuhan anak stunting yang dipengaruhi oleh faktor langsung seperti asupan gizi makanan dan status kesehatan, seperti kekurangan protein dan asupan energi [10]. Kacang-kacangan mempunyai keunggulan pada bidang ilmu gizi dan banyak dimanfaatkan dalam kehidupan manusia, antara lain sebagai sumber protein nabati dan asam-asam amino esensial, sumber minyak kedelai, serat dan mineral. Dibandingkan sereal, kacang-kacangan mengandung protein dua kali lebih besar dan setengah dari protein daging. Kadar protein pada kacang-kacangan berada kisaran dari 18-32%, sedangkan kadar minyak mencapai 40-50% [11]. Salah satu bahan pangan lokal yang bergizi tinggi dan mudah diakses yang dapat digunakan sebagai makanan tambahan adalah kacang hijau [12]. Selain kacang hijau, kacang kedelai memiliki sumber protein nabati terbaik. Kandungan protein nya sekitar 40% dan susunan asam amino proteinnya hampir mendekati protein hewan. Dan ada juga kacang merah yang memiliki kandungan protein antara 16% dan 20%, dan juga merupakan sumber mineral dan vitamin [13].

Ada banyak metode yang dapat digunakan untuk melakukan metode penentuan kadar protein, seperti metode dumas yang termodifikasi, metode kjeldahl, dan metode spektrofotometri Uv-Vis [14]. Metode Kjeldahl adalah cara sederhana untuk menetapkan nitrogen total pada asam amino, protein, dan senyawa lain yang mengandung nitrogen [15]. Kelebihan metode kjeldahl menggunakan metode yang sederhana, menggunakan sampel dan pereaksi yang sedikit, kemudian memerlukan waktu analisa yang singkat [16]. Spektrofotometri adalah suatu teknik analisis yang didasarkan pada pengukuran serapan sinar monokromatis oleh lajur larutan berwarna pada panjang gelombang tertentu [17]. Kelebihan Spektrofotometer UV-Vis dapat menganalisis zat yang spesifik terhadap apa yg diukur, ketelitian tinggi dan mengukur zat yang paling kecil [18].

Berdasarkan uraian diatas, maka peneliti tertarik akan melakukan penelitian tentang penentuan kadar protein pada beberapa jenis kacang (kacang merah, hijau, kedelai segar) untuk penanganan stunting dengan metode kjeldahl dan spektrofotometri visible.

Metode Penelitian

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer UV-Vis, timbangan analitik, seperangkat alat destruksi, seperangkat alat destilasi, seperangkat alat titrasi, dan alat-alat gelas kimia lainnya.

Bahan yang digunakan adalah kacang merah, kacang hijau, kacang kedelai segar. Bovine Serum Albumin (BSA), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, kalium natrium tartrat, KI, NaOH, HCl pekat, kalium sulfat (K_2SO_4), H_3BO_3 , H_2SO_4 pekat, indikator metilen red + bromatimol blue, SeO_3 dan aquadest.

Persiapan Reagen

Persiapan reagen dalam penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahapan. Katalis campuran dibuat dengan mencampurkan 17,37 g K_2SO_4 , 0,27 g CuSO_4 , dan 0,36 g SeO_3 hingga diperoleh campuran yang homogen [19]. Larutan HCl 0,02 N disiapkan dengan memipet 1,6583 mL HCl pekat, kemudian diencerkan menggunakan akuades hingga mencapai volume akhir 1000 mL. Larutan H_3BO_3 2% dibuat dengan menimbang 2 g asam borat dan melarutkannya dalam akuades secukupnya hingga volume 100 mL. Larutan NaOH 30% disiapkan dengan menimbang 30 g NaOH, kemudian melarutkannya dalam akuades bebas CO_2 hingga volume 100 mL. Selanjutnya, larutan NaOH 0,2 N dibuat dengan menimbang 8 g NaOH dan melarutkannya dalam akuades bebas CO_2 hingga volume akhir 1000 mL. Indikator merah metil disiapkan dengan memanaskan 25 mg merah metil P bersama 0,95 mL larutan natrium hidroksida 0,05 N dan 5 mL etanol 95% P hingga larut sempurna, kemudian ditambahkan etanol 50% P secukupnya hingga mencapai volume 250 mL [20].

Pengumpulan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kacang merah, kacang hijau, dan kacang kedelai segar. Kacang-kacangan yang diperoleh dari beberapa kabupaten di Sumatera Utara. Kacang kedelai segar dan kacang hijau diperoleh dari Kabupaten Deli Serdang dan kacang merah diperoleh dari Kabupaten Karo.

Cara pengambilan sampel dilakukan secara *purposive sampling* tanpa membandingkan dengan tumbuhan yang sama dari daerah lain, dengan alasan bahwa tumbuhan yang termasuk kedalam satu species adalah seragam karena memiliki sifat genetik yang sama, sehingga kandungan kimianya pun sama.

Pengolahan Sampel

Kacang yang diperoleh dibersihkan dan dicuci kemudian kacang direbus lalu dihaluskan.

Uji Kuantitatif Menggunakan Metode Kjeldahl

Tahap Destruksi

Sampel diambil kemudian dihaluskan secara seksama, lalu ditimbang sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl, untuk mempermudah destruksi sampel ditambahkan 2 gram katalis campuran dan 25 ml H₂SO₄ pekat sambil diaduk perlahan hingga larutan homogen. Kemudian larutan tersebut dipanaskan hingga mendidih dan terjadi perubahan warna menjadi hijau jernih [19].

Tahap destilasi

Larutan hasil destruksi yang telah dingin diencerkan dengan 100 ml aquades di dalam labu ukur 100 ml dan dipipet 5 ml ke labu destilasi. Untuk mempermudah pemisahan amoniak dari larutan sampel maka ditambahkan NaOH 30% hingga larutan basa. Ditambahkan beberapa batu didih. Larutan didestilasi dan destilat ditampung dengan erlenmeyer yang berisi 10 ml larutan asam borat 2% dan beberapa tetes indikator campuran (*metilen red + bromotimol blue*). Destilasi selama kurang lebih 5-10 menit [19].

Tahap titrasi

Hasil destilat dititrasi dengan larutan baku asam klorida 0,02 N, titik titrasi tercapai jika terjadinya perubahan warna biru menjadi jingga. Blanko dibuat seperti perlakuan pada sampel [19].

Perhitungan Kadar

Dilakukan untuk penentuan kadar pada sampel kacang merah, kacang hijau, dan kacang kedelai segar yang kemudian diberi kode secara berurutan yaitu KM, KH dan KD. Hasil yang didapat dari volume titrasi dilanjutkan dengan perhitungan menggunakan rumus:

$$(\%)N = \frac{(V1 - V2) \times N \text{ HCl} \times 0.014 \text{ fk} \times \text{fp} \times 100}{\text{Sampel}}$$

Keterangan :

V1 : Volume HCl Sampel

V2 : Volume HCl blanko

fk : Faktor Konversi Protein

fp : Faktor Pengenceran (20)

Gunakan konversi pada tabel 3.1 untuk menentukan kadar protein dari sampel. Apabila sampel yang dianalisis tidak tercakup dalam tabel, gunakan faktor konversi 6.25 [21].

Tabel 1 Faktor Konversi Untuk Mengkonversi Persen Nitrogen Menjadi Protein

Jenis Pangan	X (% N dalam Protein)	Faktor Konversi F (100/X)
Campuran	16.00	6.25
Daging	16.00	6.25
Maizena	16.00	6.25
Roti,gandum,macaroni,bakmi	16.00	6.25
Susu dan produk susu	15.66	6.38
Tepung	17.54	5.70
Telur	14.97	6.68
Gelatin	18.02	5.55
Kedelai	17.51	5.71
Beras	16.81	5.95
Kacang tanah	18.32	5.46

Uji Kuantitatif Menggunakan Metode Spektrofotometri

Pembuatan larutan pereaksi Biuret

Larutkan 3 gram CuSO₄.5H₂O dan 9 gram Na.K.Tartarat dalam 50 ml larutan NaOH 0.2 N. Tambahkan 5 gram KI kemudian encerkan sampai 100 ml dengan menggunakan larutan NaOH 0.2 N [21].

Penentuan panjang gelombang maksimum

Dilakukan menggunakan larutan BSA dengan konsentrasi 2000 ppm [21].

Pembuatan kurva baku standar

Dibuat larutan Bovine Serum Albumin dalam aquadest dengan konsentrasi 20.000 ppm. Masukkan ke dalam labu tentukur 0 (blanko), 0,6, 0,8, 1, 1,2 dan 1,4 ml larutan standar. Dengan konsentrasi 1200 ppm sampai 2800 ppm. Kemudian Larutkan dengan aquadest kurang dari 4 ml. Tambahkan 6 ml pereaksi Biuret ke dalam masing-masing ke labu tentukur. Tambahkan aquadest sampai 10 ml. Kemudian pindahkan ke tabung reaksi. Vortek (pengaduk khusus) masing-masing tabung reaksi. Simpan tabung reaksi pada suhu 37°C selama 10 menit atau pada suhu kamar (30°C) selama 30 menit sampai terbentuk warna ungu sempurna. Ukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum [21].

Penentuan Kadar Protein dalam Sampel

Sampel ditimbang 5 g kemudian dihancurkan dengan menggunakan waring blender dengan penambahan aquadest secukupnya. Hancuran yang diperoleh kemudian disentrifuse. Hasil didekantasi, kemudian diambil supernatan masukkan ke labu tentukur. Tambahkan aquadest sampai 50 ml. Pipet dengan tepat 0,1 s.d 1,0 ml sampel dimasukkan ke dalam labu tentukur. Larutkan dengan aquadest kurang dari 4 ml. Tambahkan 6 ml pereaksi Biuret ke dalam masing-masing labu tentukur. Tambahkan aquadest sampai 10 ml. Kemudian pindahkan ke tabung reaksi. Vortek (pengaduk khusus) masing-masing tabung reaksi. Simpan tabung reaksi pada suhu 37°C selama 10 menit atau pada suhu kamar (30°C) selama 30 menit sampai terbentuk warna ungu sempurna. Ukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum [21].

Perhitungan Kadar Protein Dengan Spektrofotometri

Dilakukan untuk penetapan kadar pada sampel kacang merah, kacang hijau, dan kacang kedelai segar yang kemudian diberi kode secara berurutan yaitu A, B, dan C. Serapan sampel disubstitusikan pada persamaan regresi yang diperoleh dari kurva kalibrasi sehingga diperoleh konsentrasi protein. Kemudian dilanjutkan perhitungan kadar yang menggunakan rumus.

$$\text{kadar} = \frac{(\text{konsentrasi} \times \text{vol labu} \times \text{FP})}{\text{Berat Sampel}}$$

Analisa Data Secara Statistik

Menurut Sudjana untuk menghitung Standar Deviasi (SD) digunakan rumus sebagai berikut:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Keterangan:

SD : Standar Deviasi
 $\bar{x}$: Kandungan rata-rata sampel
 x : Kandungan sampel
 n : Jumlah sampel

Kandungan dapat dihitung dengan persamaan garis regresi dan untuk menentukan data diterima atau ditolak digunakan rumus:

$$t_{\text{hitung}} = \frac{|x - \bar{x}|}{|SD/\sqrt{n}|}$$

Dengan dasar penolakan apabila $t_{\text{hitung}} \geq t_{\text{tabel}}$ dan untuk mencari kandungan sebenarnya dengan taraf kepercayaan 99% ($\alpha=0,01$) dengan derajat kebebasan $dk = n-1$ digunakan rumus:

$$\mu = \bar{x} \pm (t_{\text{tabel}} \times \frac{sd}{\sqrt{n}})$$

Metode Pengolahan data

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk deskriptif serta dan hasilnya disajikan dalam bentuk tabel.

Hasil Dan Pembahasan

Hasil identifikasi sampel

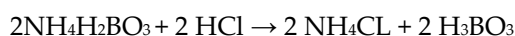
Penelitian Identifikasi tanaman telah dilakukan di Laboratorium Herbarium Medanese (MEDA) Universitas Sumatera Utara. Hasil identifikasi tanaman menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.), kacang kedelai segar (*Glycine max* L. Merr.) dan kacang hijau (*Phaseolus radiatus* Roxb. Non L). Tanaman yang digunakan pada penelitian ini termasuk kedalam famili *Fabaceae*.

Hasil Pengolahan Sampel

Pada penelitian kacang diperoleh dari beberapa daerah yaitu Kacang-kacangan yang diperoleh dari beberapa kabupaten di Sumatera Utara. Kacang kedelai segar dan kacang hijau diperoleh dari Kabupaten Deli Serdang dan kacang merah diperoleh dari Kabupaten Karo. Pada metode spektrofotometri visible setiap kacang yang diperoleh dibersihkan dan dicuci kemudian kacang direbus lalu ditimbang sebanyak 5 g dan dihaluskan. Pada metode kjeldahl setiap kacang yang diperoleh dibersihkan dan dicuci kemudian kacang ditimbang sebanyak 1g lalu dihaluskan.

Penentuan Kadar Protein Pada Sampel Kacang merah, Kacang kedelai Dan Kacang hijau Metode Kjeldahl

Pada penelitian ini menggunakan metode kjeldahl. Metode kjeldahl menggunakan 3 tahap yaitu destruksi, destilasi, dan titrasi. Pada destruksi, ditimbang sampel sebanyak 1 g kemudian dimasukkan ke dalam labu kjeldahl lalu tambahkan 2 gram katalis campuran dan 25 ml H₂SO₄ pekat. Fungsi H₂SO₄ untuk mengikat unsur nitrogen dan juga penguraian pada unsur-unsur yang lain [19]. Penambahan H₂SO₄ dan katalisator campuran bertujuan untuk menaikkan titik didih asam dan mempercepat destruksi. Larutan diaduk secara perlahan hingga homogen. Kemudian larutan tersebut dipanaskan hingga mendidih dan terjadi perubahan warna menjadi hijau jernih. Pada saat destruksi, akan terjadi kerusakan pada protein dan nitrogen yang terlepas dikonversi menjadi amonium sulfat [21]. Hasil destruksi yang telah dingin diencerkan di dalam labu ukur 100 ml. Setelah itu dilakukan proses destilasi dengan cara dipipet 5 ml ke labu destilasi. Untuk mempermudah pemisahan amoniak dari larutan sampel maka ditambahkan NaOH 30% hingga larutan basa. Ditambahkan beberapa batu didih yang berfungsi untuk meratakan panas didalam labu destilasi. Tujuan dari proses destilasi untuk pemisahan zat yang dianalisis dengan amonium sulfat dipecah menjadi amonia (NH₃) dengan menggunakan NaOH 30% disaat destilasi amonia menguap dan ditangkap oleh asam borat (H₃BO₃) kemudian membentuk reaksi NH₄H₂BO₃ [21]. Hasil destilat yang ditampung dalam erlemeyer berisi 10 ml asam borat 2% yang sudah ditambahkan beberapa indikator campuran yaitu *metilen red* dan *bromotimol blue*. Selanjutnya dilakukan proses titrasi, di mana senyawa NH₄H₂BO₃ dititrasi menggunakan larutan HCl 0,02 N sehingga asam borat (H₃BO₃) terbentuk kembali, disertai dengan pembentukan senyawa amonium klorida (NH₄Cl). Adapun reaksi nya:



Titrasi ditandai dengan terjadinya perubahan warna hijau muda jernih menjadi warna jingga. Kemudian tahap titrasi harus diperhatikan titik akhir titrasi karena jika berlebihan akan memengaruhi perhitungan total kadar pada protein [22]. Titrasi dilakukan sebanyak 6 kali pengulangan. Hasil dari volume HCl 0.02 N yang digunakan untuk penentuan kadar protein dalam sampel Kacang merah (KM), Kacang kedelai segar (KD) dan Kacang hijau (KH) dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil volume titrasi yang diperoleh dilakukan perhitungan dengan metode uji t. Uji t menggunakan pengujian untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan dari sampel. Uji t dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu menentukan tingkat kepercayaan 99% yang ada pada t tabel. Lalu menentukan daerah kritis ($dk = n-1$), selanjutnya menentukan nilai t hitung. Sebelum nilai t hitung dilakukan maka terlebih dahulu menentukan nilai Standar Deviasi (SD). Nilai standar deviasi (SD) yaitu nilai statistik bermanfaat untuk menentukan sebaran data sampel, apabila nilai (SD) semakin kecil dan mendekati nol menandakan bahwa nilai yang digunakan semakin baik [23]. Hasil perhitungan kadar protein pada sampel dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 1 Volume Titrasi Pada Sampel Metode Kjeldahl

No	Pengulangan	KD	KH	KM
1	1	14.1	12.4	10.7
2	2	14.1	12.4	10.6
3	3	14.2	12.4	10.6
4	4	14.2	12.5	10.6
5	5	14.1	12.5	10.7
6	6	14.1	12.5	10.6

Tabel 2. Hasil Perhitungan kadar protein pada sampel

No	Sampel	Kadar rata-rata (mg/g)	Rentang Kadar (mg/g)
1.	KD	351,9	351,9 ± 2,2132
2.	KH	337,7	337,7 ± 2,5244
3.	KM	286,8	286,8 ± ± 2,5244

Berdasarkan dari tabel diatas bahwa hasil perhitungan kadar protein yang tertinggi ada pada sampel KD (kacang kedelai segar), KH (kacang hijau) lalu KM (kacang merah). Menurut Judiono dan Yuliati (2019), Kacang kedelai mempunyai kandungan tertinggi daripada kacang hijau, yang akan memenuhi kebutuhan sehari-hari. Kacang hijau mempunyai kadar protein yang terbanyak kedua setelah kacang kedelai. Kacang hijau juga digunakan sebagai sumber protein karena dibutuhkan untuk setiap anak pada masa pertumbuhan [11].

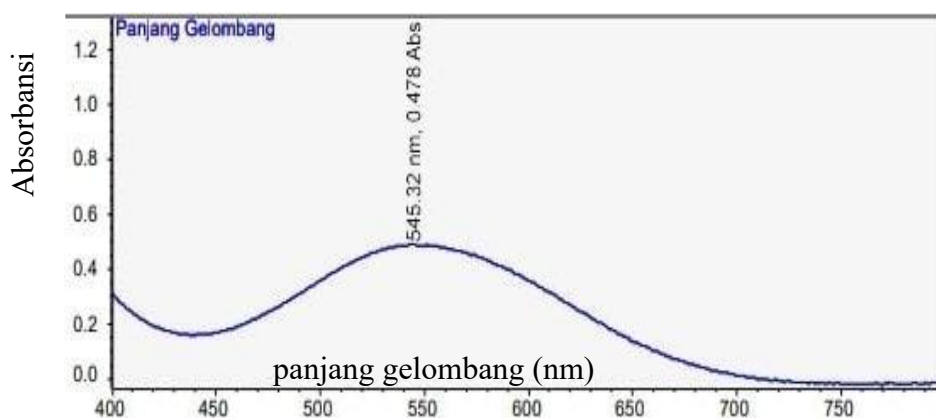
Penentuan Kadar Protein Dalam Sampel Kacang merah, Kacang kedelai Dan Kacang hijau Metode Spektrofotometri Visible

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Bovine Serum Albumin

Penentuan kadar protein pada sampel perlu mengukur panjang gelombang maksimum terlebih dahulu dengan menggunakan baku pembanding yaitu bovine serum albumin (BSA). Kemudian menentukan panjang gelombang maksimum pada rentang 400-800 nm. Dan konsentrasi yang memberikan kesalahan paling sedikit dengan serapan $\{\pm 0,4343\}$ adalah 2000 mcg/ml. Untuk dapat konsentrasi tersebut larutan dibuat berdasarkan penelitian terlebih dahulu tentang penetapan kadar nenas dan keripik nenas pada 1000 ppm-5000 ppm dengan melakukan orientasi larutan [19]. Sehingga konsentrasi yang diperoleh 2000 ppm dengan absorbansi 0,478 dapat dilihat pada tabel 3 dan gambar 1.

Tabel 3 Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum

Nm	absorbansi
545.32	0,478

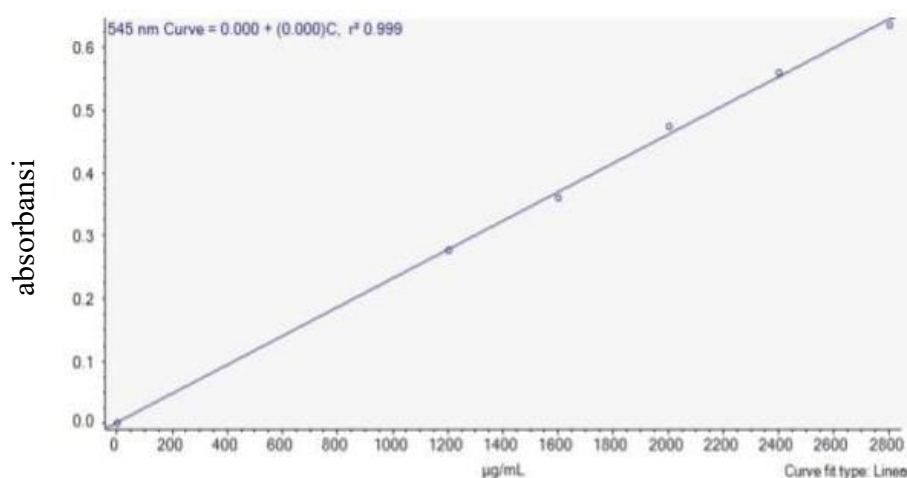
**Gambar 2.** Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan Kurva Kalibrasi Bovine Serum Albumin

Penentuan kurva kalibrasi didapat konsentrasi 1200-2800 ppm dan kurva kalibrasi pada penelitian ini yaitu 1200 ppm, 1600 ppm, 2000 ppm, 2400 ppm dan 2800 ppm. Kemudian absorbansi yang didapat 0,276, 0,359, 0,474, 0,588 dan 0,635. Dapat dilihat pada Tabel 4 Gambar 2.

Tabel 4. Hasil Pengukuran Absorbansi Pada Penentuan Kurva Kalibrasi

No	Konsentrasi	Abs 545
0	0	0,000
1	1200	0,276
2	1600	0,359
3	2000	0,474
4	2400	0,558
5	2800	0,635



Gambar 2. Hasil pengukuran kurva kalibrasi bovine serum albumin

Berdasarkan Tabel 4 gambar 2 bahwa antara konsentrasi dan absorbansi memiliki hubungan yang linear. Persamaan regresi yang didapat pada kurva kalibrasi yaitu $Y=0,0002 X + 0,0005$ dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,999 yang menunjukkan bahwa adanya korelasi hubungan linier yang baik diantara x dan y . koefisien korelasi mendekati 1 dan memenuhi penerimaan koefisien korelasi yaitu $> 0,997$ [24]. Koefisien korelasi(r) yang diperoleh adalah 0,999 maka kurva yang didapat yaitu sangat baik [25].

Penentuan Kadar Protein dalam Sampel Kacang merah, Kacang kedelai Dan Kacang hijau Metode Spektrofotometri Visible

Tabel 5. Data serapan sampel Kacang merah, Kacang kedelai dan Kacang hijau

No	Pengulangan	KD	KH	KM
1	1	0,582	0,357	0,136
2	2	0,582	0,356	0,137
3	3	0,582	0,356	0,137
4	4	0,582	0,357	0,138
5	5	0,583	0,358	0,137
6	6	0,583	0,358	0,136

Sampel ditimbang 5,0 gram lalu direbus kemudian tambahkan aquadest secukupnya kedalam blender lalu hancurkan dengan menggunakan waring blender. Setelah halus kemudian sentrifuse selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm lalu hasil supernatannya disatukan kemudian disentrifuse kembali dengan waktu yang sama yaitu 10 menit dan kecepatan yang sama yaitu 3000 rpm. Hasil dari supernatan disatukan dan dicukupkan sampai 10 ml labu ukur. Sampel kacang merah (KM) dipipet sebanyak 0,1ml. kacang hijau (KH)

dan kacang kedelai segar (KD) dipipet sebanyak 0,2 ml lalu masukkan sampel kedalam labu ukur 10 ml tambahkan aquadest sedikit dan 6 ml pereaksi biuret dan cukupkan dengan aquadest hingga 10 ml. Hasil larutan dihomogenkan dengan menggunakan vortex lalu diinkubasi selama 30 menit kemudian sampel diukur adsorbansi pada panjang gelombang maksimum dan dilakukan 6 kali pengulangan. Hasil serapan kadar protein pada sampel dilihat pada Tabel 5.

Tabel 6. Hasil Perhitungan Kadar Protein Sampel

No	Sampel	Kadar rata-rata (mg/g)	Rentang kadar (mg/g)
1	KD	290,91	290,91 ± 0,4265 mg/g
2	KH	178,25	178,25 ± 0,7358 mg/g
3	KM	136,1	136,1 ± 1,0082 mg/g

Berdasarkan pada tabel diatas dapat dilihat bahwa kadar protein yang tinggi ada pada sampel KD, KH dan KM. Kemudian kadar protein yang diperoleh per gram pada metode kjeldahl dilakukan perhitungan berdasarkan berat per 100 gram, pada sampel kacang kedelai segar kadar protein 351,9 mg/g dikali berat per 100 gram sehingga diperoleh kadar protein per 100 gram 35,19 g. Kadar protein pada sampel kacang hijau per 100 gram pada sampel kacang hijau kadar protein 337,7 mg/g dikali berat per 100 gram sehingga diperoleh kadar protein per 100 gram 33,77 g. Kadar protein pada sampel kacang merah per 100 gram pada sampel kacang merah kadar protein 286,8 mg/g dikali berat per 100 gram sehingga diperoleh kadar protein per 100 gram 28,68 g. Kemudian berdasarkan kadar protein yang diperoleh per gram pada spektrofotometri visible dilakukan perhitungan berdasarkan berat per 100 gram, pada sampel kacang kedelai segar 290,91 mg/g dikali berat per 100 gram sehingga diperoleh kadar 29,09 g. Kadar protein pada sampel kacang hijau per 100 gram pada sampel kacang hijau kadar protein 178,25mg/g dikali berat per 100 gram sehingga diperoleh kadar protein per 100 gram 17,82 g. Kadar protein pada sampel kacang merah per 100 gram pada sampel kacang merah kadar protein 136,1 mg/g dikali berat per 100 gram sehingga diperoleh kadar protein per 100 gram 13,61 g.

Tabel 7. Kadar Protein Sampel berat per 100 gram

No	Sampel	Metode Kjeldahl (g)	Metode spektrofotometri Visible (g)
1.	KD	35,19	29,09
2.	KH	33,77	17,82
3.	KM	28,68	13,61

Berdasarkan hasil dari tabel diatas kadar protein yang diperoleh metode kjeldahl lebih tinggi dibandingkan metode spektrofotometri visible. Dikarenakan metode kjeldahl menganalisis kadar nitrogen yang ada didalam makanan oleh karena itu menentukan protein dari jumlah N total [19]. Proses dari penyusunan senyawa nitrogen dari tanaman yang menyerap unsur hara didalam tanah dalam bentuk kation dan anion [17]. Spektrofotometri visible mendapatkan hasil lebih rendah dikarenakan metode spektrofotometri visible spesifik hanya mengukur protein. Spektrofotometer UV-Vis dapat menganalisis zat yang spesifik terhadap apa yg diukur [26].

Tabel 8. Kadar Protein Sampel Memenuhi AKG sesuai umur pada bayi dan balita

No	Sampel	Kandungan protein Berat/100 g		Kebutuhan Kacang yang harus dikonsumsi sesuai umur (g/100g)							
		Metode kjeldahl	Metode Spektrofotometri visible	Metode kjeldahl				Metode Spektrofotometri visible			
				0-5 bln	6-11 bln	1-3 thn	4-6 thn	0-5 bln	6-11 bln	1-3 thn	4-6 thn
1	KD	35,19	29,09	25,5	42,6	56,8	71	30,9	51,5	68,7	85,9
2	KH	33,77	17,82	26,6	44,4	59,2	74	50,5	84,1	112,2	104,2
3	KM	28,68	13,61	31,3	52,3	69,7	87,1	66,1	110,2	146,9	183,6

Berdasarkan hasil dari tabel 8 bahwa kadar protein sesuai umur pada bayi dan balita memenuhi AKG (Angka Kecukupan Gizi) . Jika mengonsumsi kacang-kacangan dengan protein lainnya. Dari hasil penelitian

ini diperoleh kadar protein metode spektrofotometri visible pada kacang kedelai segar 29,09 gram, kacang hijau 17,82 gram dan kacang merah 13,61 gram per 100 gram sampel, dan kadar protein metode kjeldahl pada kacang kedelai segar 35,19 gram, kacang hijau 33,7 gram dan kacang merah 28,68 gram per 100 gram sampel. Di dalam PERMENKES 2019 dikatakan protein yang dibutuhkan bayi dari balita sesuai dengan umur 0 – 5 bulan, umur 6-11 bulan, umur 1-3 tahun dan umur 4-6 tahun protein yang dianjurkan 9 g, 15 g, 20 g dan 25 g. Terdapat pada tabel 8 bahwa kebutuhan kadar kacang yang harus dikonsumsi memenuhi anjuran dari PERMENKES 2019.

Pada tabel 2 dan pada tabel 6 bahwa kadar protein sangat mencukupi untuk sehari-hari. Hasil sesuai dengan kadar protein yang terkandung pada kacang kedelai segar 30,2 gram, kacang merah 22,1 gram dan kacang hijau 22,9 gram per 100 gram sampel [27]. Kadar protein terpenuhi maka stunting sudah bisa dicegah karena protein merupakan zat mikro yang sangat penting dalam mencegah stunting. Protein bekerja dalam proses pertumbuhan dan memelihara jaringan tubuh serta sel-sel yang rusak diganti, apabila protein tidak tercukupi maka terjadinya stunting karena protein berpengaruh terhadap terjadinya stunting. Dan jika kadar protein berkurang juga bisa terjadi stunting [28].

Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengukuran kadar protein menggunakan metode spektrofotometri visible dan Kjeldahl, didapatkan kadar protein pada tiga jenis kacang yang berbeda. Pada metode spektrofotometri visible, kacang kedelai segar mengandung 29,09 gram protein, kacang hijau 17,82 gram, dan kacang merah 13,61 gram per 100 gram sampel. Sedangkan pada metode Kjeldahl, kadar protein kacang kedelai segar mencapai 35,19 gram, kacang hijau 33,7 gram, dan kacang merah 28,68 gram per 100 gram sampel. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kacang kedelai segar memiliki kadar protein tertinggi, diikuti oleh kacang hijau dan kacang merah.

Kadar protein pada ketiga sampel tersebut cukup signifikan dan dapat dimanfaatkan dalam penanganan stunting, karena kandungan protein yang ada pada kacang kedelai segar, kacang hijau, dan kacang merah dapat mencukupi kebutuhan protein harian. Dengan demikian, ketiga jenis kacang ini dapat menjadi alternatif sumber protein yang baik untuk mendukung pemenuhan angka kecukupan gizi, khususnya untuk kelompok yang rentan terhadap masalah gizi, seperti anak-anak yang mengalami stunting.

Conflict of Interest

Penelitian ini dilakukan secara independen dan objektif, tanpa adanya konflik kepentingan atau intervensi eksternal yang dapat memengaruhi validitas dan integritas hasil. Jika sampel yang digunakan dalam penelitian diperoleh dari produk komersial, maka identitas merek telah dianonimkan untuk menjaga kerahasiaan dan menghindari bias. Seluruh prosedur analisis pangan dalam penelitian ini mengikuti pedoman yang ditetapkan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Republik Indonesia dan/atau standar yang setara dari *Food and Drug Administration* (FDA), guna memastikan kepatuhan terhadap standar etika dan regulasi yang berlaku.

Acknowledgment

Keberhasilan penelitian ini tidak terlepas dari dukungan berbagai pihak. Kami menyampaikan rasa terima kasih yang mendalam, khususnya kepada Universitas Muslim Nusantara, atas bantuan dan fasilitasi yang sangat berarti dalam mendukung kelancaran pelaksanaan penelitian ini.

Referensi

- [1] Nurhayati, Batubara AP, Hasibuan AN, Sari DP, Sari DA, Ritonga F, et al. Peningkatan Pengetahuan Siswa / I Mda Nahara Desa Rantau Panjang Kecamatan Pantai Labu Terhadap Makanan Bergizi. *Journal Of Social Science Research* 2023;3:1103–12.
- [2] Damara Utami H, Siregar A, Studi Gizi P, Kesehatan Kemenkes Bengkulu P. Hubungan Pola Makan, Tingkat Kecukupan Energi, dan Protein dengan Status Gizi pada Remaja Relationship between Eating

Pattern, Energy and Protein Adequacy Level with Nutritional Status in Adolescent. Jurnal Kesehatan 2020;11:279–86.

- [3] Kurnia I, Effendi H, Muchlis AF, Dinata WW. Review of Knowledge About Supplements on Member d'max Fitnes Center Padang n.d.
- [4] Septiawati D, Indriani Y, Zuraida R. Tingkat Konsumsi Energi dan Protein dengan Status Gizi Balita. Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada 2021;10:598–604. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v10i2.660>.
- [5] Rahmanindar N, Zulfiana E, Harnawati RA. Pembentukan Kelompok Ibu Siaga Stunting Dalam 2020;03:372–7.
- [6] Arel A, Ningsih W. Isolasi Senyawa Ekstrak Etil Asetat Daun Tumbuhan Berenuk (*Crescentia cujete* L.). Forte Journal 2022;2:67–73. <https://doi.org/10.51771/fj.v2i1.250>.
- [7] Budi SH, Nurhayati W, Djohan H. Perbedaan Kadar Protein Daging Sapi Dengan Perendaman Sari Buah Nanas (*Ananas Comocus* I) Dan Sari Jahe (*Zingiber Officinale* Rosc.) Metode Kjeldahl. Jurnal Laboratorium Khatulistiwa 2021;2:26–9.
- [8] Kementrian kesehatan RI. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2019 Tentang Angka Kecukupan Gizi Yang Dianjurkan Untuk Masyarakat Indonesia. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2019 Tentang Angka Kecukupan Gizi Yang Dianjurkan Untuk Masyarakat Indonesia 2019.
- [9] Amalia, Riza, ade lia ramadani lailatul muniroh. Kecukupan Protein Dengan Kejadian Stunting 2022;17:310–9.
- [10] Jamila F, Fitria F, Nugraheni F, Khoir TF. Pengaruh Substitusi Tepung Kacang Hijau Terhadap Daya Terima Dan Kadar Protein Pada Kastengel Sebagai Salah Satu Kudapan Alternatif Stunting. Jurnal Ilmiah Global Education 2023;4:1079–83. <https://doi.org/10.55681/jige.v4i2.937>.
- [11] Judiono & Widiastuti Y. Ilmu pangan: Aspek gizi pangan Indonesia. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC 2019.
- [12] Erti Suksesty C. Efektifitas Program Pemberian Makanan Tambahan Menggunakan Kombinasi Jus Kacang Hijau Dan Telur Ayam Rebus Terhadap Perubahan Status Gizi Stunting Di Kabupaten Pandeglang. Jurnal IMJ: Indonesia Midwifery Journal 2020;3:35–41.
- [13] Sari MW, Aminah S. Fingerbites Berbasis Kecambah Kedelai sebagai Alternatif MP-ASI Pencegah Stunting pada Baduta usia 6-24 Bulan. Prosiding Seminar Nasional Unimus 2022:1211–5.
- [14] Tri Juli Fendri S, Ifmaily I, Rakmah Syarti S. Analisis Protein Pada Rinuak, Pensi dan Langkitang dengan Spektrofotometri UV-Vis. Jurnal Katalisator 2019;4:119. <https://doi.org/10.22216/jk.v4i2.4425>.
- [15] Diana S, Vira A, Ode RA La. Analisis kandungan Protein Yang terdapat Dalam Daun Jambu Biji (*psidium guajava* L.) Menggunakan metode Kjeldahl & Spektrofotometri uv-vis. Jurnal Farmagazine 2021;VIII:64–72.
- [16] Muyassaroh, Dewi KR, Minah FN. Penentuan Kadar Protein Pada *Spirulina Platensis* Menggunakan Metode Lowry Dan Kjeldahl Estimation of Protein Content in *Spirulina Platensis* Under Lowry ' S and Kjeldahl ' S Method. Jurnal Teknik Kimia 2020;15:40–6.
- [17] Diana S, Vira A, Ode RA La. Analisis kandungan Protein Yang terdapat Dalam Daun Jambu Biji (*psidium guajava* L.) Menggunakan metode Kjeldahl & Spektrofotometri uv-vis. Jurnal Farmagazine 2021;VIII:64–72.
- [18] Rohmah SAA, Muadifah A, Martha RD. Validasi Metode Penetapan Kadar Pengawet Natrium Benzoat pada Sari Kedelai di Beberapa Kecamatan di Kabupaten Tulungagung Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. Jurnal Sains Dan Kesehatan 2021;3:120–7. <https://doi.org/10.25026/jsk.v3i2.265>.
- [19] Nasution AY, Novita E, Nadela O, Arsila SP. Penetapan Kadar Protein Pada Nanas Segar Dan Keripik Nanas Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis Dan Kjedahl. JOPS (Journal Of Pharmacy and Science) 2020;4:6–11. <https://doi.org/10.36341/jops.v4i2.1349>.
- [20] depkes R. Farmakope Indonesia Edisi Ketiga 1979:33.
- [21] Yenrina R. Metode analisis bahan pangan dan komponen bioaktif. Persepsi Masyarakat Terhadap Perawatan Ortodontik Yang Dilakukan Oleh Pihak Non Profesional 2015;1.
- [22] Nisah K, Afkar M, Sa'diah H. Analisis Kadar Protein Pada Tepung Jagung, Tepung Ubi Kayu Dan Tepung Labu Kuning Dengan Metode Kjedhal. Amina 2021;1:108–13. <https://doi.org/10.22373/amina.v1i3.46>.
- [23] Chandra Astiti S. Penerapan Metode Least Square Dalam Perhitungan Proyeksi Jumlah Penduduk. Sepren 2023;4:147–54. <https://doi.org/10.36655/sepren.v4i02.1131>.

- [24] Handoyo Sahumena M, Ruslin R, Asriyanti A, Nurrohinta Djuwarno E. Identifikasi Jamu Yang Beredar Di Kota Kendari Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. Journal Syifa Sciences and Clinical Research 2020;2:65–72. <https://doi.org/10.37311/jsscr.v2i2.6977>.
- [25] Anggraini DI, Fitria D. Jurnal Farmasi Sains dan Praktis Uji Potensi Sari Buah Nanas (Ananas comosus L .) Terhadap Penurunan Kadar Logam Tembaga (Cu) Dengan Metode Spektrofotometri Serapan Atom (Ssa) Test The Potential Of Pineapple (Ananas comosus L .) Juice to Reduce Con 2021;7:7–14.
- [26] Rohmah SAA, Muadifah A, Martha RD. Validasi Metode Penetapan Kadar Pengawet Natrium Benzoat pada Sari Kedelai di Beberapa Kecamatan di Kabupaten Tulungagung Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. Jurnal Sains Dan Kesehatan 2021;3:120–7. <https://doi.org/10.25026/jsk.v3i2.265>.
- [27] Aninditia AA, Setyaji DY, Pujiastuti VI. Pengaruh Penambahan Tepung Kacang Kedelai (Glycine max) Terhadap Kadar Protein Dan Mutu Organoleptik Cilok. Journal of Nutrition College 2023;12:260–7. <https://doi.org/10.14710/jnc.v12i4.37505>.
- [28] Amalia, Riza, ade lia ramadani lailatul muniroh. Kecukupan Protein Dengan Kejadian Stunting 2022;17:310–9.