

Analysis of Protein Content of Some Types of Milk High in Protein Using the Kjeldahl and Visible Spectrophotometry Method

Analisis Kadar Protein Pada Beberapa Jenis Susu Tinggi Protein Dengan Metode Kjeldahl dan Spektrofotometri Visible

Adelya Syahfitri ^a, Anny Sartika Daulay ^{a*}, Ridwanto ^a, Rafita Yuniarti ^a

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

*Corresponding Authors: annysartika@umma.ac.id

Abstract

Introduction: Protein is an essential nutrient that serves as an energy source and plays a crucial role in tissue formation. Protein deficiency can lead to various health disorders, ranging from hair loss to serious conditions such as death. High-protein milk serves as an ideal protein source as it contains essential amino acids and complete nutrients, though its consumption should be adjusted to individual needs to avoid side effects. **Research Objectives:** This study aims to: (1) analyze protein content in high-protein milk (Whey, Casein, and Gainer) using the Kjeldahl and Visible Spectrophotometry methods, and (2) verify the consistency between analysis results and protein content claims on product packaging. **Research Methods:** Analysis was conducted using two methods: the Kjeldahl method as a high-precision standard method and Visible Spectrophotometry using Biuret reagent which is more sensitive. Each sample was analyzed with six repetitions to ensure data accuracy. Samples were selected purposively based on best-selling products. **Results:** The results showed the highest protein content in Whey (525.87 mg/g with Kjeldahl; 873.75 mg/g with Spectrophotometry), followed by Casein (316.87 mg/g; 720.83 mg/g), and the lowest in Gainer (227.5 mg/g; 570.5 mg/g). This consistent pattern indicates conformity with packaging claims, although there were value differences between the two methods. **Conclusion:** The findings emphasize the importance of verifying protein content in supplement products to ensure nutritional information accuracy for consumers. The differences between the two analysis methods are presumably due to their different analytical principles. This study contributes to developing accurate protein analysis methods for high-protein milk products.

Keywords: High-protein milk, protein content, Kjeldahl method, Visible Spectrophotometry method

Abstrak

Pendahuluan: Protein merupakan zat gizi esensial yang berperan sebagai sumber energi dan berfungsi dalam pembentukan jaringan tubuh. Defisiensi protein dapat menyebabkan berbagai gangguan kesehatan, mulai dari kerontokan rambut hingga masalah serius seperti kematian. Susu tinggi protein menjadi sumber protein ideal karena mengandung asam amino esensial dan nutrisi lengkap, namun konsumsinya harus sesuai kebutuhan untuk menghindari efek samping. **Tujuan Penelitian:** Penelitian ini bertujuan untuk: (1) menganalisis kadar protein pada susu tinggi protein (Whey, Casein, dan Gainer) menggunakan metode Kjeldahl dan Spektrofotometri Visible, serta (2) memverifikasi kesesuaian hasil analisis dengan klaim kadar protein pada kemasan produk. **Metode Penelitian:** Analisis dilakukan dengan dua metode yaitu metode Kjeldahl sebagai metode standar berpresisi tinggi dan Spektrofotometri Visible menggunakan pereaksi Biuret yang lebih sensitif. Setiap sampel dianalisis dengan enam kali pengulangan untuk memastikan keakuratan data. Pemilihan sampel dilakukan secara purposif berdasarkan produk dengan penjualan tertinggi. **Hasil Penelitian:** Hasil penelitian menunjukkan kadar protein tertinggi pada Whey (525,87 mg/g dengan Kjeldahl; 873,75 mg/g dengan Spektrofotometri), diikuti Casein (316,87 mg/g; 720,83 mg/g), dan terendah Gainer (227,5

mg/g; 570,5 mg/g). Pola hasil yang konsisten ini mengindikasikan kesesuaian dengan klaim kemasan, meskipun terdapat perbedaan nilai antara kedua metode. **Kesimpulan:** Temuan penelitian menegaskan pentingnya verifikasi kadar protein produk suplemen untuk menjamin akurasi informasi gizi bagi konsumen. Perbedaan hasil antara kedua metode analisis diduga berasal dari perbedaan prinsip analisis yang digunakan. Penelitian ini memberikan kontribusi dalam pengembangan metode analisis protein yang akurat untuk produk susu tinggi protein.

Kata Kunci: Susu tinggi protein, kadar protein, metode Kjeldahl, metode Spektrofotometri Visible.



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: 12/01/2025,
Revised: 13/05/2025
Accepted: 14/05/2025
Available Online: 14/05/2025

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v8i2.865>

Pendahuluan

Suplemen makanan berfungsi untuk melengkapi kebutuhan gizi dan dapat mengandung vitamin, mineral, asam amino, atau senyawa lainnya [1]. Suplemen makanan dapat berupa kapsul, kapsul lunak, tablet, bubuk maupun cairan yang dipergunakan untuk melengkapi zat gizi sehingga vitalitas tubuh terjaga [2].

Protein merupakan salah satu zat gizi yang paling penting bagi tubuh berguna sebagai sumber energi. Peranan utama protein untuk membentuk jaringan baru, memelihara jaringan yang sudah ada serta memperbaiki jaringan yang rusak [2]. Peranan lain protein dalam tubuh yaitu sintesis senyawa-senyawa seperti hormon, enzim, hemoglobin, pembentuk antibodi dan menetralkan bahan-bahan yang toksik, kemampuan ini sangat mempengaruhi daya tahan tubuh seseorang [3]. Kurangnya jumlah protein yang dikonsumsi dapat berakibat fatal misalnya kerontokan rambut bahkan dapat menyebabkan kematian [4]. Orang dewasa setidaknya harus mengkonsumsi protein 1 g/KbBB/hari. Protein dapat diperoleh dari kacang-kacangan, ikan, daging, telur, susu dan lain-lain [5]. Sedangkan olahragawan membutuhkan protein 1,2 - 1,7 g/KbBB/hari [6]. Sehingga olahragawan sangat dianjurkan untuk mengkonsumsi sumber protein hewani dan nabati dalam jumlah yang cukup untuk menunjang performa [7]. Konsumsi protein tambahan oleh olahragawan dipercaya dapat membantu meningkatkan performa juga meningkatkan masa otot dengan diimbangi latihan fisik yang terprogram [6]. Protein berguna untuk meningkatkan massa otot tubuh. Mengkonsumsi makanan yang mengandung protein saat latihan akan memaksimalkan pembakaran lemak dan menghambat penyerapan karbohidrat, sehingga asam amino yang akan menggantikan glukosa. Asam amino ini akan dimanfaatkan oleh otot untuk menambah massa otot [8]. Asam amino glutamin berperan dalam pembentukan massa otot. Glutamin dapat dihasilkan didalam tubuh, namun tambahan glutamin dari luar juga diperlukan karena produksi glutamin tubuh akan menurun seiring dilakukannya latihan terutama pada latihan beban. Oleh karena itu untuk menjaga kadar asam amino glutamin dapat dikonsumsi suplementasi protein atau asam amino [9]. Susu tinggi protein dapat dijadikan sumber protein tambahan terbaik karena memiliki kelengkapan asam amino dan kandungan gizi yang cukup untuk meningkatkan performa dan membentuk massa otot olahragawan [10].

Protein yang terdapat dalam susu tinggi protein adalah protein *kasein* dan protein *whey*. Dalam susu sapi kadar protein *kasein* dapat mencapai 80% sementara jumlah protein *whey* 20%. Adanya protein *whey* mempengaruhi kenaikan massa otot karena dapat memperbaiki metabolisme tubuh lalu dapat mengatur berat badan dan bentuk tubuh. Sehingga ketika mengonsumsi susu tinggi protein sangat bermanfaat dalam pembentukan massa otot dan indeks massa tubuh [11]. Susu tinggi protein merupakan salah satu sumber

protein terbaik yang memiliki kandungan tinggi protein dan kandungan nutrisi lain yang cukup membantu perkembangan massa otot [12].

Namun jumlah protein yang berlebihan juga tidak berguna bagi atlet bahkan dapat berisiko terjadinya gangguan hati dan ginjal, diare, kehilangan kalsium berlebihan dan gout [13]. Sehingga kemanfaatan suplemen makanan harus sesuai dengan jumlah dan komposisi bahan yang dikandungnya [1]. Informasi terkait bahan-bahan yang tercantum dalam label kemasan susu tinggi protein, manfaat dan dosis sangat penting untuk diketahui. Pengguna susu tinggi protein harus mengetahui berapa banyak kandungan protein yang diperoleh sehingga dapat menghindari penggunaan yang berlebihan dan tidak menimbulkan efek samping. Kandungan protein yang terdapat dalam susu tinggi protein harus sesuai dengan yang tercantum di kemasan, maka perlu dilakukan analisis kadar protein pada susu tinggi protein untuk menghindari resiko dari penggunaannya [2].

Analisis kadar protein dapat dilakukan dengan beberapa metode seperti Metode Kjeldahl, Metode Biuret, Metode Lowry, dan Analisis Asam Amino [14]. Penetapan kadar protein juga dapat dilakukan dengan metode Spektrofotometri Uv-Vis menggunakan pereaksi Biuret [15].

Dalam menentukan kadar protein digunakan metode Kjeldahl yang merupakan metode standar untuk penetapan kadar protein yang bersifat universal dengan presisi yang tinggi dan reproduibilitas yang baik sehingga banyak diterapkan untuk penetapan kadar protein, metode ini juga dianggap cukup teliti [3]. Metode yang lebih sederhana juga perlu dilakukan yaitu dengan Spektrofotometri Visible yang spesifik terhadap protein dan tidak mendeteksi nitrogen dari komponen yang bukan protein [16]. Metode Spektrofotometri Visible diterapkan karena mampu menentukan kuantitas dari zat yang sangat sedikit, hasil yang diperoleh akurat, angka yang terbaca secara otomatis tercatat serta tercetak dalam bentuk angka digital maupun grafik yang sudah diregresikan [17].

Penelitian ini penting dilakukan mengingat peran vital protein dalam menjaga dan meningkatkan fungsi tubuh, terutama bagi olahragawan yang membutuhkan asupan protein lebih tinggi untuk mendukung performa dan pembentukan massa otot. Susu tinggi protein menjadi salah satu sumber protein tambahan yang populer, namun konsumsi berlebihan tanpa mengetahui kadar protein yang sebenarnya dapat menimbulkan efek samping seperti gangguan hati, ginjal, dan kehilangan kalsium. Oleh karena itu, analisis kadar protein dalam produk susu tinggi protein perlu dilakukan untuk memastikan kesesuaian antara kandungan aktual dengan informasi pada label kemasan. Penggunaan metode Kjeldahl dan Spektrofotometri Visible dinilai relevan karena keduanya memiliki keakuratan dan keandalan tinggi dalam penetapan kadar protein, sehingga hasil analisis dapat menjadi dasar dalam penggunaan suplemen yang aman dan efektif.

Penelitian bertujuan untuk menganalisis kadar protein dari beberapa jenis susu tinggi protein dengan metode Kjeldahl dan Spektrofotometri Visibel

Metode Penelitian

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan variabel bebas berupa jenis susu tinggi protein (Whey, Casein, dan Gainer) dan variabel terikat berupa kadar protein. Sampel diperoleh dengan metode *purposive sampling*, berdasarkan data penjualan tertinggi di e-commerce, yaitu produk *Whey Protein* merek MF dengan pangsa pasar 23,2%. Penetapan kadar protein dilakukan menggunakan metode Kjeldahl melalui tahapan destruksi, destilasi, dan titrasi, serta metode Spektrofotometri Visible menggunakan pereaksi Biuret dan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang maksimum. Data dianalisis secara statistik menggunakan perhitungan rata-rata, standar deviasi, dan uji t, kemudian disajikan secara deskriptif dalam bentuk tabel.

Waktu Penelitian dan lokasi

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2023 sampai Mei 2024 di penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi Terpadu Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah Medan dan Laboratorium Nanomedicin Universitas Sumatera Utara.

Alat dan Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan meliputi *Bovine Serum Albumin* (BSA), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, kalium natrium tartrat, NaOH, H_2SO_4 pekat, H_3BO_3 , HCl pekat, indikator merah metil, indikator biru bromotimol, K_2SO_4 ,

SeO₃, serta aquades. Adapun alat-alat yang digunakan antara lain Labu Kjeldahl, destruktur, batu didih, neraca analitik, alat destilasi, buret, statif, kuvet, spektrofotometer UV-Vis, alat sentrifus, serta peralatan gelas seperti erlenmeyer, gelas beaker, pipet ukur, labu ukur, pipet tetes, gelas piala, dan corong.

Pembuatan Larutan Pereaksi

Pembuatan larutan pereaksi dilakukan dengan beberapa tahapan. Katalis campuran disiapkan dengan mencampurkan sebanyak 17,37 g K₂SO₄, 0,27 g CuSO₄, dan 0,36 g SeO₃ hingga homogen [15]. Larutan HCl 0,02 N dibuat dengan memipet 1,6583 ml HCl pekat, kemudian mengencerkannya menggunakan aquades hingga volume 1000 ml [18]. Larutan H₃BO₃ 2% disiapkan dengan menimbang 2 g H₃BO₃, lalu melarutkannya dalam aquades hingga mencapai volume 100 ml ml [18]. Untuk pembuatan larutan NaOH 30%, sebanyak 30 g NaOH ditimbang dan dilarutkan dalam aquades hingga volume 100 ml ml [18].

Selanjutnya, pembuatan indikator merah metil dilakukan dengan memanaskan 25 mg merah metil P bersama 0,95 ml natrium hidroksida 0,05 N dan 5 ml etanol 95% P. Setelah larut sempurna, larutan diencerkan dengan etanol 50% P hingga mencapai volume 250,0 ml [18]. Indikator biru bromtimol disiapkan dengan cara memanaskan 100 mg biru bromtimol P bersama 3,2 ml natrium hidroksida 0,05 N dan 5 ml etanol 90% P. Setelah larut sempurna, larutan diencerkan dengan etanol 20% P hingga volume 250,0 ml [18].

Pengumpulan dan Pengolahan Sampel

Pengumpulan sampel dalam penelitian ini dilakukan dengan metode purposive sampling, yakni pemilihan sampel yang disesuaikan dengan tujuan penelitian tanpa membandingkan dengan merek lain. Sampel yang dipilih merupakan sediaan bubuk susu tinggi protein dengan tingkat penjualan tertinggi pada platform e-commerce. Berdasarkan riset internal yang dilakukan oleh tim Compass pada tanggal 1–31 Mei melalui metode online crawling di official store Shopee, diperoleh data pangsa pasar (market share) produk-produk suplemen kebugaran dengan rincian sebagai berikut: produk "*whey protein* MF" (MF merupakan inisial merek yang disamarkan) memiliki persentase volume penjualan sebesar 23,2%, diikuti oleh Optimum Nutrition sebesar 12,6%, dan Puro sebesar 10,4%. Berdasarkan data tersebut, produk *whey protein* MF dipilih sebagai sampel dalam penelitian ini.

Pengolahan sampel dilakukan secara langsung karena sampel yang diperoleh sudah dalam bentuk sediaan bubuk, sehingga dapat langsung digunakan untuk prosedur analisis sesuai dengan metode yang telah ditetapkan.

Penetapan Kadar Protein 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 [15].

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 jernih [15].

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 [15].

Perhitungan Kadar Protein Metode Kjeldahl

Dilakukan untuk penetapan kadar protein pada sampel susu tinggi protein jenis Whey, Casein dan Gainer. Perolehan hasil volume titrasi kemudian dilanjutkan dengan perhitungan menggunakan rumus:

$$\% N = \frac{(V1-V2) \times N \text{ HCl} \times 0,014 \times f_k \times f_p \times 100}{\text{Sampel}}$$

Keterangan :

V1 = Volume HCl sampel

V2 = Volume HCl blanko
Fk = Faktor konversi protein
Fp = Faktor Pengenceran (20)

Gunakan faktor konversi pada Tabel 1 untuk menentukan kadar protein dari sampel. Bila sampel yang dianalisis tidak tercakup dalam tabel, gunakan faktor konversi 6.25 [14].

Tabel 1.d Faktor konversi 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

Penetapan Kadar Protein Metode Spektrofotometri Visible

Pembuatan Larutan Pereaksi Biuret

Dilakukan sebanyak 0,3 gram $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dan 0,9 gram Na K tartrat dalam 50 ml larutan NaOH 0,2N. Setelah larut ditambahkan 0,5 gram KI kemudian encerkan hingga 100 ml dengan NaOH 0,2N [14].

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Dilakukan menggunakan larutan *Bovine Serum Albumin* (BSA) dengan konsentrasi 2000 mcg/ml [14].

Pembuatan Kurva Baku Standar

Buat larutan induk baku I (LIB I) *Bovine Serum Albumin* (BSA) dengan konsentrasi 20.000 mcg/ml. Kemudian dibuat larutan seri BSA dengan konsentrasi 800 mcg/ml sampai 3200 mcg/ml sebanyak 10 ml [14].

Penentuan Kadar Protein Dalam Sampel

Sampel ditimbang 1 gram, larutkan hingga 10 ml dalam labu ukur kemudian disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Kumpulkan supernatan hasil sentrifuse kemudian disentrifuse lagi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Kumpulkan hasil supernatan lalu dicukupkan hingga 10 ml dalam labu ukur. Dipipet sampel dalam labu ukur, tambahkan aquades kurang dari 3 ml dan 6 ml pereaksi biuret kemudian cukupkan hingga 10 ml dengan aquades. Sampel kemudian di homogenkan dengan vorteks lalu diinkubasi selama 30 menit [14].

Perhitungan Kadar Protein Metode Spektrofotometri Visible

Dilakukan untuk penetapan kadar protein pada sampel susu tinggi protein jenis Whey, Casein dan Gainer yang kemudian diberi kode secara berurutan A, B dan C. Serapan sampel disubstitusikan pada persamaan regresi yang diperoleh dari kurva kalibrasi sehingga diperoleh kadar protein kemudian dilanjutkan perhitungan kadar yang menggunakan rumus:

$$\text{Kadar} = \frac{(\text{Konsentrasi} \times \text{volume labu} \times \text{FP})}{(\text{Berat sampel})}$$

Kadar protein dikonversi dalam satuan mg/100g [15].

Analisa Data Secara Statistik

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 Perlakuan [15].

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

$$T_{\text{Hitung}} = \frac{|x - \bar{X}|}{\frac{SD}{\sqrt{n}}}$$

Dengan dasar penolakan apabila t hitung $\geq$ tabel dan untuk mencari kandungan sebenarnya dengan taraf kepercayaan 99% ($\alpha = 0,01$) dengan derajat kebebasan dk = n-1 digunakan rumus: [15].

$$\mu = \bar{X} \pm (t_{\text{tabel}} \times SD/\sqrt{n})$$

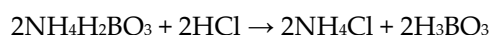
Metode Pengolahan Data

Data yang diperoleh dari hasil penetapan kadar protein disajikan dengan bentuk deskriptif serta data hasilnya disajikan dalam bentuk tabel.

Hasil Dan Pembahasan

Penentuan Kadar Protein dalam Sampel Whey, Casein dan Gainer Metode Kjeldahl

Metode Kjeldahl melalui tiga tahapan yaitu destruksi, destilasi dan titrasi. Tahapan destruksi dilakukan dengan menimbang sampel sebanyak 1 gram lalu dimasukkan dalam labu kjeldahl, ditambahkan 2 gram katalis campuran dan 25 ml asam sulfat pekat kemudian dihomogenkan. Destruksi ini dilakukan untuk melepaskan nitrogen dari sampel dan penambahan indikator campuran berguna untuk menaikkan titik didih sehingga proses destruksi dapat berlangsung cepat. Sampel kemudian dipanaskan hingga mendidih dan terjadi perubahan warna menjadi hijau jernih, pada saat ini terjadi pemecahan protein sehingga nitrogen yang terlepas akan dikonversi menjadi ammonium sulfat [14]. Hasil destruksi diencerkan hingga 100 ml dalam labu ukur. Kemudian dilanjutkan pada tahapan destilasi dengan memipet 5 ml hasil destruksi yang sudah diencerkan, tambahkan NaOH 30% hingga larutan menjadi basa dan didestilasi dengan penambahan batu didih untuk meratakan panas dalam labu destilasi. Proses destilasi akan memecah amonium sulfat menjadi gas amonia dengan menambahkan NaOH, kemudian gas amonia yang dihasilkan akan ditampung oleh larutan asam borat dan membentuk $\text{NH}_4\text{H}_2\text{BO}_3$ [3]. Destilat ditampung dalam erlenmeyer berisi 10 ml asam borat 2% dan beberapa tetes indikator campuran merah metilen dan biru bromotimol. Tahapan selanjutnya titrasi, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{BO}_3$ hasil dari destilasi dititrasi dengan HCl 0,02N, sehingga asam borat terlepas kembali dan terbentuk amonium klorida. Adapun reaksi yang terjadi sebagai berikut:



Jumlah asam klorida yang digunakan dalam titrasi setara dengan gas amoniak yang dibebaskan dalam proses destilasi, kelebihan satu tetes dalam titrasi memberikan perubahan warna menjadi jingga yang menandakan titik akhir titrasi [19]. Titrasi dilakukan sebanyak 6 (enam) kali ulangan. Hasil volume HCl 0,02N yang digunakan untuk penentuan kadar protein sampel whey, casein dan gainer dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan hasil volume titrasi diatas dilakukan perhitungan dengan metode uji t. Uji t adalah pengujian yang digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan dari sampel. Uji t dilakukan dengan dengan beberapa tahapan yaitu menentukan titik kepercayaan yang ada pada tabel t, kemudian menentukan daerah kritis (dk) yaitu $dk = n-1$, selanjutnya menentukan nilai t hitung. Sebelum nilai t hitung dilakukan maka ditentukan terlebih dahulu nilai standar deviasi (SD). Standar deviasi (SD) yaitu nilai yang menunjukkan tingkat variasi kelompok data yang telah dibakukan atau distandarisasikan. Setelah nilai t hitung diketahui dapat dilihat besarnya nilai t hitung dengan nilai t tabel sehingga dapat ditarik

kesimpulan apakah nilai t hitung diterima atau tidak [20].

Tabel 2. Volume Titration Sample Whey, Casein, and Gainer dengan Metode Kjeldahl

No	Pengulangan	Whey (ml)	Casein (ml)	Gainer (ml)
1	1	8,8	5,4	4
2	2	9,0	5,3	3,9
3	3	8,9	5,4	4
4	4	9,0	5,4	3,9
5	5	8,8	5,3	4
6	6	8,9	5,4	4

Tabel 3. Hasil Perhitungan Kadar Protein pada Sampel

No	Sampel	Kadar Rata-rata (mg/g)	Rentang Kadar (mg/g)
1	Whey	525,8667	525,8667 ± 5,3739
2	Casein	316,8667	316,8667 ± 5,4401
3	Gainer	227,5	227,5 ± 5,3554

Hasil perhitungan kadar protein pada sampel dapat dilihat bahwa kadar protein tertinggi ada pada sampel Whey, Casein kemudian Gainer. Hasil penentuan kadar ini sesuai dengan jumlah protein yang ada pada masing-masing kemasan sampel yang menunjukkan bahwa jumlah protein pada sampel Whey yang tertinggi, kemudian jumlah protein Casein Dan Gainer.

Hal ini sesuai dengan penggunaan masing-masing jenis susu pada pembentukan massa otot. Whey digunakan untuk memenuhi kebutuhan protein cocok untuk membentuk badan ideal sehingga jumlah protein per sajiannya lebih banyak dari jenis susu lain. Casein digunakan untuk menjaga kadar protein dalam tubuh yang diserap secara berkala digunakan sebelum tidur atau saat berpuasa sehingga kadar proteinnya tidak lebih banyak dari jenis Whey. Gainer digunakan untuk menambah massa otot dan berat badan dengan asupan karbohidrat kompleks, protein dan vitamin yang efektif untuk program *bulking* sehingga kadar karbohidrat yang lebih tinggi dibandingkan kadar proteinnya.

Penentuan Kadar Protein dalam Sampel Whey, Casein dan Gainer Metode Spektrofotometri.

Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Bovine Serum Albumin

Untuk menentukan kadar protein pada sampel maka perlu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum dengan menggunakan baku pembanding Bovine Serum Albumin. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan karena merupakan koneksi terhadap kondisi alat yang digunakan dan kemurnian bahan baku BPFI.

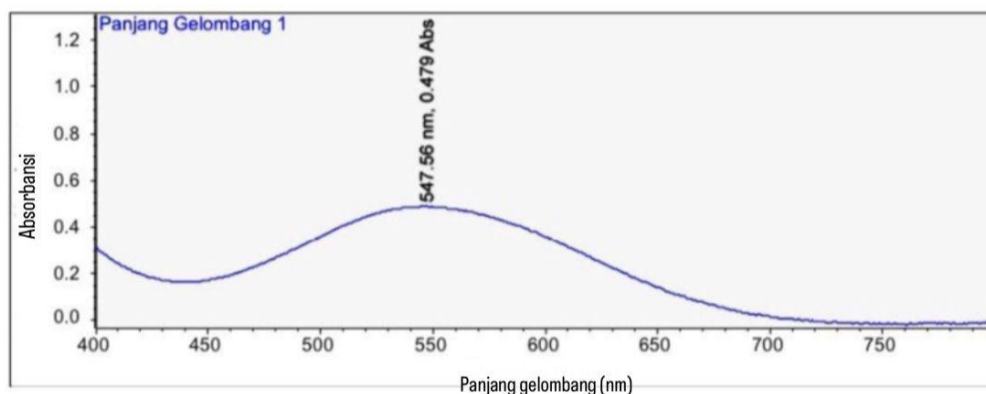
Panjang gelombang maksimum ditentukan pada rentang panjang gelombang 400-800 nm dan pada konsentrasi yang memberikan serapan dengan kesalahan fotometrik paling kecil ($\pm 0,4343$). Untuk mendapatkan konsentrasi tersebut maka dapat dilakukan dengan orientasi penentuan konsentrasi larutan berdasarkan penelitian penetapan kadar protein pada nanas segar dan kripik nanas yaitu 1000 ppm – 5000 mcg/ml [15]. Berdasarkan penelitian yang dilakukan dengan larutan konsentrasi 1000 – 5000 mcg/ml maka didapatkan larutan dengan konsentrasi 2000 mcg/ml serapan 0,479.

Panjang gelombang maksimum yang diperoleh sesuai dengan referensi yang menyatakan warna komplementer violet memiliki panjang gelombang (nm) 495-570 dengan warna yang diabsorpsi hijau [21]. Intensitas warna ungu larutan Bovine Serum Albumin diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm [19]. Penentuan panjang gelombang maksimum larutan baku Bovine Serum Albumin secara spektrofotometri visible yang diperoleh yaitu 543 nm [15].

Penentuan Kurva Kalibrasi Bovine Serum Albumin

Berdasarkan orientasi yang sudah dilakukan maka ditetapkan kurva kalibrasi dapat dilakukan pada konsentrasi 800 – 3200 mcg/ml. Pada penelitian ini kurva kalibrasi dilakukan pada konsentrasi 800 mcg/ml, 1400 mcg/ml, 2000 mcg/ml, 2600 mcg/ml dan 3200 mcg/ml sehingga didapatkan absorbansi 0,179, 0,314, 0,479,

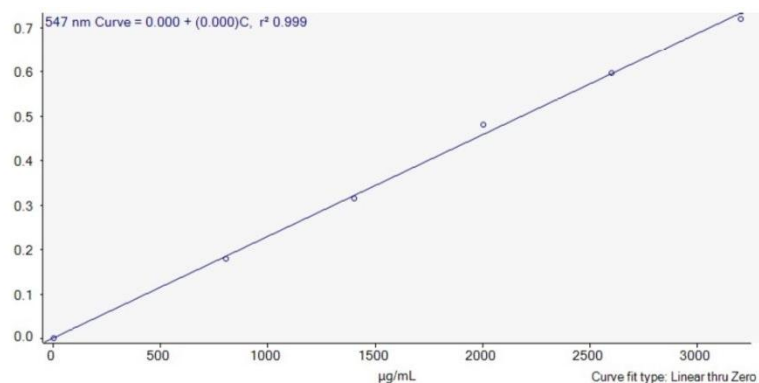
0,596 dan 0,720 yang menunjukkan adanya hubungan yang linear antara konsentrasi dan absorbansi, dapat dilihat pada Tabel 4.4 Gambar 4.2



Gambar 1 . Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum

Tabel 4. Hasil Pengukuran Absorbansi Pada Penentuan Kurva Kalibrasi

No	Konsentrasi (mcg/ml)	Abs 547
0	0	0,000
1	800	0,179
2	1400	0,314
3	2000	0,479
4	2600	0,596
5	3200	0,720



Gambar 2. Hasil Pengukuran Absorbansi Kurva Kalibrasi

Berdasarkan Tabel 4 Gambar 2 menunjukkan hubungan yang linear antara konsentrasi dan absorbansi. Persamaan garis regresi yang diperoleh pada kurva kalibrasi di atas adalah $Y = 0,0002X + 0,0005$ dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,999 yang menunjukkan adanya korelasi hubungan linier yang baik antara x dan y . Koefisien korelasi ini memenuhi syarat kriteria penerimaan yaitu nilai $r \geq 0,996$. Linieritas merupakan kemampuan suatu metode analisis untuk mendapatkan hasil yang proposional berbanding lurus terhadap konsentrasi analit dalam sampel dengan absorbansi. Linieritas memiliki fungsi sebagai kemampuan standar dalam mendeteksi suatu analit dalam sampel, linieritas menunjukkan ketelitian pengerjaan suatu metode yang dilakukan yang ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi atau nilai r [22]. Nilai koefisien korelasi (r) = 0,999 yang menunjukkan bahwa besaran sudah mendekati 1 yang menunjukkan adanya hubungan yang linier antara absorbansi dengan analit yang diukur [23].

Penentuan Kadar Protein dalam Sampel Whey, Casein dan Gainer Metode Spektrofotometri

Sebanyak 1,0 gram sampel dilarutkan dengan aquadest sampai 10 ml dalam labu ukur lalu dihomogenkan. Hasil yang sudah homogen kemudian disentrifuse selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm lalu hasil supernatannya dikumpulkan. Hasil supernatan disentrifuse lagi selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm kemudian hasil supernatannya dikumpulkan dan dicukupkan volumenya hingga 10 ml dalam labu tentu ukur. Dipipet sebanyak 0,2 ml supernatan sampel Whey, 0,4 ml sampel Casein dan 0,5 ml sampel Gainer masukkan dalam labu tentu 10 ml, kemudian tambahkan sedikit aquadest dan 6 ml pereaksi biuret lalu dicukupkan hingga 10 ml dengan aquadest. Homogenkan hasil larutan di vortex kemudian diinkubasi selama 30 menit. Diukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum dan dilakukan pengulangan sebanyak 6 kali. Hasil serapan kadar protein dalam sampel dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Serapan Sampel Whey, Casein dan Gainer.

No	Pengulangan	Serapan (A)		
		Whey	Casein	Gainer
1	1	0,350	0,576	0,571
2	2	0,349	0,577	0,571
3	3	0,350	0,577	0,571
4	4	0,351	0,578	0,571
5	5	0,350	0,578	0,572
6	6	0,350	0,577	0,571

Tabel 6. Hasil Perhitungan Kadar Protein pada Sampel

No	Sampel	Kadar Rata-rata (mg/g)	Rentang Kadar (mg/g)
1	Whey	873,75	873,75 ± 2,6027
2	Casein	720,83	720,83 ± 1,5489
3	Gainer	570,5	570,5 ± 0

Kadar protein tertinggi diperoleh pada sampel Whey, diikuti oleh Casein, dan paling rendah pada Gainer. Berdasarkan hasil analisis menggunakan metode Kjeldahl, dilakukan perhitungan kadar protein per sajian berdasarkan kadar protein per gram. Sampel Whey memiliki kadar protein sebesar 525,8667 mg/g, yang dikalikan dengan berat per sajian 40 gram menghasilkan kadar protein sebesar 21,0346 g/sajian. Adapun kadar protein pada sampel Casein adalah 11,0903 g/sajian, dan pada sampel Gainer sebesar 56,875 g/sajian. Selanjutnya, berdasarkan hasil metode Spektrofotometri Visible, dilakukan perhitungan serupa. Sampel Whey menunjukkan kadar protein sebesar 873,75 mg/g, sehingga dengan berat per sajian 40 gram diperoleh kadar protein sebesar 34,95 g/sajian. Kadar protein pada sampel Casein adalah 25,2290 g/sajian, sedangkan pada sampel Gainer mencapai 142,635 g/sajian. Seluruh hasil penghitungan dirangkum dalam Tabel 7.

Tabel 7. Kadar Protein Sampel Per Sajian

No	Sampel	Metode Kjeldahl (g/sajian)	Metode Spektrofotometri Visible (g/sajian)
1	Whey	21,0346	34,95
2	Casein	11,0903	25,2290
3	Gainer	56,875	142,635
Whey per sajian : 40 g			
Casein per sajian : 35 g			
Gainer per sajian : 250 g			

Berdasarkan hasil yang diperoleh kadar protein dengan metode Spektrofotometri lebih tinggi dibandingkan metode kjeldahl, karena metode spektrofotometri lebih teliti dan sangat spesifik terhadap protein, juga tidak mendeteksi nitrogen dari komponen nonprotein, sementara metode Kjeldahl tidak

memberikan pengukuran protein sesungguhnya, karena tidak semua nitrogen dalam makanan bersumber dari protein [16]. Penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Nasution dkk, penetapan kadar protein nanas dengan hasil protein nanas segar dengan metode spektrofotometri 0,84% dan metode kjeldahl 0,65%, dimana kadar protein nanas dengan metode spektrofotometri lebih tinggi dibandingkan dengan metode kjeldahl [15]. Pada penetapan kadar protein tempe kacang kedelai, rendahnya kadar protein yang dihasilkan pada metode Kjeldahl dapat dipengaruhi beberapa faktor antara lain suhu, pH yang digunakan, pemilihan pelarut, dan hasil penyimpanan (Koeswara et al., 2024). Pada metode Spektrofotometri dapat menghasilkan kadar yang lebih tinggi dibandingkan metode Kjeldahl karena metode Spektrofotometri selektif terhadap zat yang diidentifikasi, dapat digunakan untuk menetapkan kuantitas zat dengan jumlah sampel yang sangat kecil dan memiliki ketelitian yang tinggi dengan persentase relatif kesalahan yang sangat kecil [23].

Pada metode Spektrofotometri didapatkan kadar rata-rata sampel Whey 873,75 mg/g, sampel Casein 720,83 mg/g serta sampel Gainer 570,5 mg/g. Pada kemasaan sampel Whey tercantum penggunaan per sajian (1 sendok takar) seberat 40 g diperoleh protein sebanyak 24 g. Kemudian dilakukan penimbangan sendiri berat per sajian (1 sendok takar) sampel Whey diperoleh berat 40 g dan jika dihitung berdasarkan hasil analisis kadar protein dengan metode Spektrofotometri maka didapatkan kadar protein sebanyak 34,95 g per sajian. Pada kemasaan sampel Casein tercantum penggunaan per sajian (1 sendok takar) seberat 35 g diperoleh protein sebanyak 24 g. Kemudian dilakukan penimbangan sendiri berat per sajian (1 sendok takar) sampel Whey diperoleh berat 35 g dan jika dihitung berdasarkan hasil analisis kadar protein dengan metode Spektrofotometri maka didapatkan kadar protein sebanyak 25,23 g per sajian. Pada kemasaan sampel Gainer tercantum penggunaan per sajian (1,5 sendok takar) seberat 250 g diperoleh protein sebanyak 55 g. Kemudian dilakukan penimbangan sendiri berat 1 per sajian (1 sendok takar) sampel Gainer diperoleh berat 250 g dan jika dihitung berdasarkan hasil analisis kadar protein dengan metode Spektrofotometri maka didapatkan kadar protein sebanyak 142,6 g per sajian. Kadar protein ini cukup untuk memenuhi kebutuhan protein pada atlet yang direkomendasikan meminum suplemen protein *powder* untuk memenuhi kebutuhan proteinnya [13].

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan maka kadar protein susu tinggi protein yang didapatkan sudah sesuai dengan kadar protein yang ada pada kemasan. Sehingga penggunaan susu tinggi protein sudah benar dan tepat dengan tujuan masing-masing jenis susu tinggi protein.

Kesimpulan

Analisis kadar protein dengan metode Kjeldahl dilakukan melalui beberapa tahapan, yaitu destruksi, distilasi, dan titrasi. Sementara itu, analisis kadar protein menggunakan metode Spektrofotometri Visible dilakukan dengan menentukan panjang gelombang maksimum, menyusun kurva kalibrasi, kemudian dilanjutkan dengan pengukuran kadar protein pada sampel. Berdasarkan hasil penelitian, kadar protein pada sampel Whey, Casein, dan Gainer yang diperoleh dengan metode Kjeldahl berturut-turut sebesar 525,8667 mg/g, 316,8667 mg/g, dan 227,5 mg/g. Sedangkan dengan metode Spektrofotometri Visible, kadar protein yang diperoleh berturut-turut adalah 873,75 mg/g, 720,83 mg/g, dan 570,5 mg/g. Kadar protein yang diperoleh telah sesuai dengan kadar yang tercantum pada kemasan, dengan urutan kadar protein tertinggi pada sampel Whey, diikuti Casein, dan terendah Gainer. Susu tinggi protein tersebut juga dikonsumsi dalam jumlah sesuai dengan takaran saji yang tertera pada masing-masing kemasan, yaitu Whey sebanyak 40 g per sajian (1 sendok takar), Casein sebanyak 35 g per sajian (1 sendok takar), dan Gainer sebanyak 250 g per sajian (1,5 sendok takar).

Conflict of Interest

Penelitian ini dilakukan secara mandiri dengan menjunjung tinggi prinsip objektivitas, serta tanpa keterlibatan pihak eksternal yang dapat memengaruhi keabsahan dan integritas hasil penelitian.

Acknowledgment

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Muslim Nusantara atas dukungan dan fasilitasi yang diberikan dalam pelaksanaan penelitian ini.

Supplementary Materials

Referensi

- [1] BPOM RI. Keputusan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK.00.05.23.3644 tentang Ketentuan Pokok Pengawasan Suplemen Makanan 2004:26.
- [2] Dinata F, Muchlis AF. Tingkat Pengetahuan Member Fitness di Kota Solok Terhadap Penggunaan Suplemen Makanan pada Latihan Fisik Terhadap Kesehatan. *Jurnal Stamina* 2019;2:44–52.
- [3] Callista D, Amelia D, Winahyu DA, Dii P, Farmasi A, Malahayati U. Determination Of Protein Levels Of White Oyster Method Penetapan Kadar Protein Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*) dan Jamur Merang (*Volvariella volvaceae*) Dengan Metode Kjeldahl 2021;6:90–4.
- [4] Alaziz H, Tjahjaningsih E. Pengaruh Pengetahuan Produk, Gaya Hidup dan Kepercayaan terhadap Kepuasan Produk Susu L-Men 2022;5:271–9. <https://doi.org/10.37531/yume.vxix.4647>.
- [5] Wahyudiati D. BIOKIMIA. Leppim Mataram; 2017.
- [6] Mega Anggita G, Arif Ali M, Setyo Subiyono H, Marfuah Kurniawati D. Hubungan Rasio Perilaku Konsumsi Makro Nutrisi dengan Tingkat Kebugaran Jasmani pada Remaja. *Jurnal Pendidikan Kesehatan Rekreasi* 2021;7:130–40.
- [7] Erowati D, Siregar FR. Knowledge of Athlete Nutrition , Parents , and Macronutrients Intake of Karate Shindoka Athletes Pengetahuan Gizi Atlet , Orangtua Dan Asupan Gizi Makro Atlet Karate Shindoka. *Jurnal Proteksi Kesehatan* 2023;12:146–55.
- [8] Muradi K, Sugiarto S. Pengaruh Susu Kedelai Dan Latihan Fisik Terprogram Terhadap Daya Tahan Otot. *Riyadhoh : Jurnal Pendidikan Olahraga* 2021;4:27. <https://doi.org/10.31602/rjpo.v4i2.5449>.
- [9] Suprayitno E, Sulistiyati TD. METABOLISME PROTEIN. Malang: UB Press; 2017.
- [10] Antwo NR, Dehasen U. Penerapan Metode Vikor Dalam Rekomendasi Pemilihan Susu Gym Terbaik 2023;4307:789–95.
- [11] Siska MT, Zahtamal Z, Putri F. Pengaruh Kombinasi Latihan Beban dengan Metode Pyramid set dan Konsumsi Susu Tinggi Protein Terhadap Peningkatan Massa Otot. *Jurnal Ilmu Kedokteran* 2019;13:36. <https://doi.org/10.26891/jik.v13i2.2019.36-45>.
- [12] Eka AGA. Analisis Kadar Protein Produk Susu Cair Yang Diolah Melalui Proses Pemanasan Pada Suhu Yang Sangat Tinggi (Ultra High Temperature). *International Journal of Applied Chemistry Research* | 2020;2:8–13.
- [13] Panggabean MS. Peranan Gizi bagi Olahragawan. *Cdk-282* 2020;47:62–6.
- [14] Yenrina R. Metode analisis bahan pangan dan komponen bioaktif. Persepsi Masyarakat Terhadap Perawatan Ortodontik Yang Dilakukan Oleh Pihak Non Profesional 2015;1.
- [15] 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>.
- [16] 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>.
- [17] Putri Lestari A, Alawiyah T, Hidayah N. Pengaruh Paparan Linear Alkalybenzen Sulfonat (LAS) Terhadap Kadar Protein Total Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Medical Laboratory* 2022;1:38–48. <https://doi.org/10.57213/medlab.v1i2.128>.
- [18] Depkes RI. Farmakope Indonesia edisi VI. 2020.
- [19] Purwasih R, Fathurohman F. Analisis Pangan. Subang: 2022.
- [20] Rosalina L, Oktarina R, Rahmiati, Saputra I. Buku Ajar STATISTIKA. *FEBS Letters* 2023;185:4–8.

- [21] Bambang Yudono. Spektrometri. Palembang: Simetri; 2017.
- [22] Rohman A. Validasi Dan Penjamin Mutu Metode Analisis Kimia. Yogyakarta: 2014.
- [23] Kurniawan E, Nugraha F, Kurniawan H. Analysis of Hydroquinone Content in Whitening Cream by Spectrophotometry UV-Vis Method (Analisis Kandungan Hidrokuinon Pada Krim Pemutih dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis). Journal Syifa Sciences and Clinical Research (JSSCR) 2022;4:768–77.
- [24] Koeswara TT, Auli WN, Tursino T. Perbandingan Metode Preparasi Sampel pada Penetapan Kadar Protein Tempe Kacang Kedelai dengan Metode Biuret. Jurnal Ilmiah Medicamento 2024;10:10–21. <https://doi.org/10.36733/medicamento.v10i1.6902>.