PERBANDINGAN PENGUKURAN PROTEIN METODE BRADFORD DAN TITRASI FORMOL PADA SUSU SEGAR TERHADAP KADAR PROTEIN, LAMA ANALISIS, DAN BIAYA

Differences of Protein Testing Methods (Bradford And Formol Titration) In Fresh Milk on Protein Levels, Analysis Time And Cost

Jodi Susanto*, Triana Setyawardani, dan Hermawan Setyo Widodo

Fakultas Peternakan, Universitas Jenderal Soedirman.
Jl. Dr. Soeparno, Karawangkal, Purwokerto 53122
*Email: jodi.s@mhs.unsoed.ac.id

ABSTRACT

Milk quality inspection is essential for many reasons relating to public health, consumer satisfaction and the commercial success of dairy products. This study was conducted to determine the differences in protein testing methods (Bradford and Formol Titration) in fresh milk on protein content, length of analysis, and cost. The materials used in this study were fresh cow milk samples obtained from 30 dairy cows. The variables measured were protein content, length of analysis and cost required for each protein analysis method. Data were analyzed using descriptive analysis, and T test. The value of protein content obtained by Bradford method ranged from 1.81 - 2.74% and formol titration between 2.2 - 3.7%. The average protein content with the Bradford method was 2.23 ± 0.26% and formol titration was 2.96 ± 0.43%. The analysis time required in the Bradford method was 17 minutes and formol titration was 5.15 - 5.6 minutes. The average time with the Bradford method is 17 ± 0 minutes and formol titration is 5.37 ± 0.12 minutes while the cost required in the Bradford method is IDR2,000.00/sample and formol titration is IDR1,164.55-1,170.88/sample. The average cost required in the Bradford method is IDR2,000.00±0/sample and formol titration is IDR1,167.76 ± 1.82/sample. The results of the T test showed that testing protein levels using the Bradford method and formol titration was significantly different ($P < 0.05$) on protein content, length of analysis and cost. Measurement of protein levels with the formol titration method gives more sensitive results to fresh milk protein levels faster and cheaper analysis costs.

Keyword: Fresh Milk, Protein Level, Bradford and Formol Titration.

ABSTRAK

Pemeriksaan kualitas susu sangat penting karena berbagai alasan yang berkaitan dengan kesehatan masyarakat, kepuasan konsumen, dan keberhasilan komersial produk susu. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan metode pengujian protein (*Bradford* dan Titrasi formol) pada susu segar terhadap kadar protein, lama analisis, dan biaya. Materi yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel susu sapi segar yang diperoleh dari 30 ekor sapi perah. Variabel yang diukur yaitu kadar protein, lama analisis dan biaya yang dibutuhkan untuk setiap metode analisis protein. Data dianalisis menggunakan analisis deskriptif, dan uji T. Nilai kadar protein yang diperoleh dengan metode *Bradford* berkisar antara 1,81 - 2,74% dan Titrasi formol antara 2,2 - 3,7%. Rataan kadar protein dengan metode *Bradford* 2,23±0,26% dan titrasi formol 2,96±0,43%. Waktu analisis yang dibutuhkan pada metode *Bradford* 17 menit dan titrasi formol 5,15 – 5,6 menit. Rataan waktu dengan metode *Bradford* 17±0 menit dan titrasi formol 5,37±0,12 menit sedangkan biaya yang dibutuhkan pada metode *Bradford* Rp.2.000,00/sampel dan titrasi formol Rp.1.164,55-1.170,88/sampel. Rataan biaya yang di butuhkan pada metode *Bradford* Rp.2.000,00±0/sampel dan titrasi formol Rp.1.167,76±1,82 /sampel. Hasil Uji T menunjukkan bahwa pengujian kadar protein menggunakan metode ***Bradford*** dan titrasi formol berbeda nyata (P<0,05) terhadap kadar protein, lama analisis dan biaya. Pengukuran kadar protein dengan metode titrasi formol memberikan hasil yang lebih sensitif terhadap kadar protein susu segar lebih cepat dan biaya analisis lebih murah.

Kata Kunci : Susu segar, kadar protein, Bradford, dan Titrasi formol

PENDAHULUAN

Komposisi yang terkandung pada susu merupakan indikator dalam menilai kualitas susu segar. Bahan-bahan yang terkandung di dalam susu memiliki komposisi yang berbeda-beda pada setiap hewan. Pemeriksaan kualitas susu sangat penting karena berbagai alasan yang berkaitan dengan kesehatan masyarakat, kepuasan konsumen, dan keberhasilan komersial produk susu (Syamsi dkk., 2018). Pemeriksaan kualitas susu dapat dilakuan secara fisik, kimia dan mikrobiologi (Arifin dkk., 2016; Wulandari, dkk., 2020; Wahyuningsih dan Pazra, 2022). Pengujian secara fisik dapat dilakukan dengan pengujian warna, rasa dan aroma, sedangkan pengujian kualitas air susu secara kimia dapat dilakukan dengan menggunakan bahan kimia atau reaksi tertentu.

Susu mengandung berbagai macam nutrisi yang utuh dan seimbang seperti protein, lemak, karbohidrat, mineral dan vitamin. Susu yang layak dikonsumsi manusia harus memenuhi persyaratan dalam segala hal, termasuk yang berkaitan dengan kandungan gizi dan keamanan pangan. Kualitas susu dari peternak sapi perah lokal pada umumnya masih di bawah standar SNI, sehingga berdampak pada rendahnya harga jual susu di tingkat koperasi maupun industri pengolahan susu (Anindita dkk., 2017). Sumber nutrisi utama yang terkandung di dalam susu adalah protein. Protein susu merupakan komponen yang sama pentingnya seperti lemak dan karbohidrat. Protein utama yang terkandung di dalam susu terdiri dari kasein dan *whey* protein. Kasein terfraksinasi menjadi *a-*, *β-*, dan *k-kasein*, sementara *whey* protein terdiri dari *a- laktalbumin*, *β -laktoglobulin*, *bovine serum albumin* (BSA) dan *imunoglobulin* (Ig) (Widodo dkk., 2019). Banyaknya kandungan protein yang terkandung di dalam susu dapat mempengaruhi harga jual susu. SNI 3141-01 :2011 (2011) mengenai persyaratan mutu susu segar mewajibkan susu memiliki kandungan protein minimal 2,8%.

Analisis kadar protein dalam susu dapat dilakukan dengan beberapa metode diantaranya yaitu *Bradford*, Kjeldahl, Titrasi Formol, ultrasonik dan lowry. metode kjeldahl masih merupakan metode standar yang digunakan dan dianggap cukup teliti dalam penetapan kadar protein. Namun demikian metode tersebut memiliki kekurangan yaitu menyita waktu, rumit dan banyak reagen berbahaya yang digunakan, proses tersebut melibatkan 3 tahap diantaranya yaitu destruksi, destilasi dan titrasi (Apriantini, 2020).

Metode lain seperti *Bradford* dan Titrasi Formol dapat menjadi alternatif dalam analisis kadar protein dalam susu. Metode *Bradford* dapat digunakan untuk penentuan protein total dalam sampel susu segar dan susu skim (tanpa ekstraksi lipid) sebagai pengganti metode Kjeldahl (Kamizake et al., 2003). Prinsip penentuan kandungan protein menggunakan metode *Bradford* yaitu dengan menggunakan zat warna *Coomassie Brilliant Blue G-250* (CBB G-250) yang terdapat dalam reagen *Bradford* dengan protein yang mengandung residu asam amino dengan rantai samping tirosin, triptofan, fenilalanin, arginin, histidin, dan leusin membentuk komplek berwarna biru yang absorbansinya dapat diukur (Pour, 2015) sedangkan prinsip dari metode Titrasi Formol adalah menetralkan larutan dengan basa NaOH dengan penambahan formaldehid untuk membentuk dimetilol (Rohman, 2018).

Kajian mengenai perbandingan metode pengukuran kadar protein susu sudah dilakukan di beberapa negara, namun di Indonesia masih kurang, sehingga komparasi diantara kedua metode tersebut perlu dilakukan untuk menentukan metode yang akurat, cepat dan murah, yang kemudian dapat digunakan oleh koperasi dan industri susu sebagai alternatif dalam analisis kadar protein susu.

MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu gelas ukur 100 ml, erlenmeyer 100 ml, beaker glass 250 ml, buret, pipet tetes, labu ukur, tabung reaksi, rak tabung reaksi, micropatte, microplate dan spektrofotometer. Bahan yang digunakan susu sapi segar yang diperoleh dari 30 ekor sapi perah yang ada di Kecamatan Baturraden, purwokerto, aquades, larutan NaOH 0,1 N, larutan formalin 40%, indikator Phenopthalein 1%, kalium oksalat jenuh, protein standar, dan reagen *Bradford*.

Prosedur penelitian

Pengambilan sampel

Sampel susu segar diambil sebanyak masing-masing 500 ml dari 30 ekor sapi perah yang ada di Kecamatan Baturraden. Sampel yang telah didapat selanjutnya dibawa ke Laboratorium *Integrated Academic Buiding*

Universitas Jenderal Soedirman dengan menggunakan *ice box,* untuk diuji menggunakan metode *Bradford* dan Titrasi formol untuk mendapatkan data primer.

Penetapan kadar protein (Bradford)

Pengukuran dilakuan berdasarkan referensi (Bradford, 1976) dengan membuat larutan standar protein dibuat menggunakan larutan stok *Casein Enzymic Hydrolysate* dengan konsentrasi 100 µg/ml. Dari larutan tersebut dilakukan pengukuran terhadap standar protein terlarut dengan konsentrasi 0, 20, 40, 60, 80, 100 (µg/ml). Standar protein kemudian diukur dengan menambahkan 20 µl pereaksi *Bradford* ke dalam 2 µl larutan standar kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 10-15 menit. Larutan tersebut akan memberikan warna biru dan absorbansinya dapat dibaca dengan menggunakan spektrofotometer panjang gelombang 595 nm.

Pengukuran sampel (Bradford)

Sebanyak 200 µl pereaksi *Bradford* ditambahkan ke dalam 2 µl larutan sampel, selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 15 menit, absorbasinya dapat dibaca menggunakan spektrofotometer panjang gelombang 595 nm. jumlah konsentrasi protein yang dicari dapat dihitung dengan persamaan sebagai berikut 1

$$Y = ax + b \quad (1)$$

Keterangan :

y = absorbansi sampel
a = slope
b = intersep
X = konsentrasi protein pada sampel

Penetapan kadar protein (Titrasi formol)

Pengukuran dilakukan berdasarkan referensi (Pyne, 1932) yaitu Sampel susu segar sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Tambahkan 20 ml aquades dan 0,4 ml kalium oksalat jenuh dan 1 tetes PP 1% kemudian didiamkan selama 2 menit. sampel dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai warnanya menjadi merah muda. Setelah titik akhir titrasi tercapai, ditambahkan 2 tetes formalin 40% dan titrasi kembali dengan larutan NaOH 0,1 N sampai warna berubah menjadi merah muda. Pembuatan larutan blanko terdiri dari 20 ml aquades ke dalam erlenmeyer. Tambahkan 0,4 ml kalium oksalat jenuh dan 1 tetes PP 1% kemudian 2 tetes formalin, lalu dititrasi dengan NaOH 0,1 N hingga diperoleh warna merah muda. Titrasi yang terkoreksi yaitu titrasi kedua sampel dikurangi titrasi blanko, selisihnya merupakan Titrasi Formol. Untuk mengetahui persentase protein susu, dapat digunakan faktor koreksi 1,83.

Analisis data

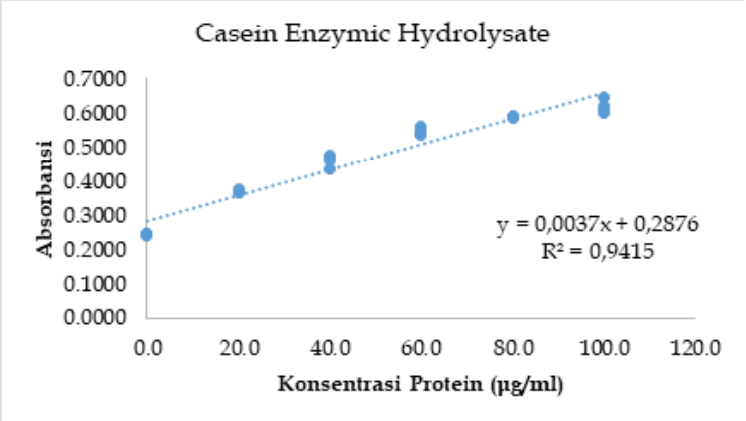
Analisis data menggunakan analisis deskriptif yang meliputi nilai rata-rata, median, dan standar deviasi. uji T untuk mengetahui perbedaan antara kadar protein susu segar dengan metode analasis *Bradford* dan Titrasi Formol.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penetapan standar protein

Penetapan kadar protein dengan metode *Bradford* menggunakan protein standar *Casein Enzymic Hydrolysate* dengan konsentrasi 100 µg/ml. Larutan tersebut digunakan pengukuran standar protein terlarut dengan konsentrasi 0, 20, 40, 60, 80, 100 (µg/ml). Standar protein kemudian diukur dengan menambahkan 200 µl pereaksi *Bradford* ke dalam 2 µl larutan standar dan absorbansinya dapat dibaca dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm. Nilai-nilai absorbansi yang sudah didapat selanjutnya digunakan untuk membuat kurva standar. Kurva standar protein yang didapat pada penelitian ini disajikan pada Gambar 1.

Berdasarkan kurva standar protein pada Gambar 1 diperoleh bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan protein maka nilai absorbansi semakin besar. Kurva standar yang dihasilkan membentuk linier dan nilai R^2 yang dihasilkan mendekati 1, artinya korelasi antara nilai absorbansi dengan kadar protein berbanding lurus (Hadinoto dkk., 2019). Data Kurva standar protein yang didapat memiliki persamaan garis yaitu y = 0,0037x + 0,2876 dan koefisien determinansi (R^2) sebesar = 0,9415. Hal ini menunjukkan bahwa kurva standar protein secara spektrofotometri dapat dijadikan sebagai kurva penentuan kadar protein pada susu segar karena telah memenuhi syarat korelasi yaitu $0,9<R^2<1$ (Azhar dkk., 2019). Perhitungan kadar protein (x) dilakukan dengan menghitung nilai absorbansi yang didapat dari protein sampel



Gambar 1. Kurva standar protein metode Bradford

ke dalam persamaan regresi sebagai Y dengan menggunakan rumus persamaan dari kurva standar.

Perbedaan metode *Bradford* dan Titrasi Formol

Kadar protein

Hasil uji statistik analisis deskriptif menunjukkan bahwa kadar protein susu segar dari 30 sampel yang di uji dengan metode *Bradford* mempunyai nilai minimum 1,81%, maksimum 2,74%, dan rata-rata 2,23 ± 0,26%, sedangkan hasil dari pengukuran kadar protein dengan sampel yang sama pada metode Titrasi Formol mempunyai nilai minimum 2,2%, maksimum 3,7%, dan rata-rata 2,96 ± 0,43%. Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan bahwa kadar protein yang diukur melalui dua metode memberikan hasil yang berbeda. Metode *Bradford* memberikan nilai rata-rata kadar protein yang lebih rendah dibandingkan metode Titrasi Formol.

Kadar protein susu segar yang di analis dengan metode Titrasi Formol menghasilkan nilai yang sudah memenuhi syarat minimum kadar protein yang ditetapkan oleh Badan Standarisasi Nasional nomor 3141-01 :2011 (2011) yaitu sebesar 2,8%. Jika dibandingkan dengan penelitian Soediarto dkk. (2018) kadar protein yang di uji dengan metode Titrasi Formol memberikan hasil yang sesuai, bahwa rataan kadar protein susu segar di Banyumas sebesar 2,9%.

Hasil Uji T menunjukan bahwa kadar protein susu segar yang di uji dengan menggunakan metode *Bradford* dan Titrasi Formol berbeda nyata (P< 0,05). Hal tersebut diduga disebabkan pada metode *Bradford* hanya sebagian asam amino yang terkandung di dalam susu yang dapat diserap oleh pewarna *Coomassie Brilliant Blue* (CBB). Pewarna *Coomassie Brilliant Blue* (CBB) hanya dapat mengikat protein asam amino dengan rantai samping tirosin, triptofan, fenilalanin, arginin, histidin, dan leusin (Santosa dkk., 2020). Cheng *et al*., (2016) juga menambahkan bahwa kekurangan dari metode *Bradford* yaitu pereaksi *Bradford* bersifat asam, sehingga sangat sedikit protein yang dapat diuji dengan reagen ini. *Coomassie Brilliant Blue* G-250 hanya dapat mengikat asam amino tertentu. Metode *Bradford* melibatkan pembentukan kompleks protein-pewarna yang dapat diukur secara kuantitatif untuk menentukan konsentrasi protein dalam sampel. Perubahan warna dan absorbansi cahaya menjadi dasar sensitivitas dan keakuratan metode *Bradford* dalam analisis protein (Bradford, 1976).

Lama analisis

Lama analisis merupakan waktu yang dibutuhkan pada metode *Bradford* dan Titrasi Formol dalam mengukur sampel. Pada penelitian ini waktu diukur dimulai dari memasukkan sampel larutan hingga hasil kadar protein susu segar didapat. Waktu diukur dengan menggunakan stopwatch, lalu dihitung rata-rata yang didapat dari banyaknya sampel yang di uji, Hasil pengukuran lama analisis disajikan pada Tabel 1. Hasil uji statistik analisis deskriptif menunjukkan bahwa waktu yang diperlukan untuk menganalisis setiap sampel yang diuji menggunakan metode *Bradford* membutuhkan waktu minimum 17 menit, maksimum 17 menit, dan rata-rata 17 menit ± 0, sedangkan pada metode Titrasi Formol membutuhkan waktu minimum 5,15 menit, maksimum 5,6 menit, dan rata-rata 5,37 menit ± 0,12. Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan bahwa waktu yang dibutuhkan

Tabel 1. Hasil penetapan kadar protein, lama analisis dan biaya dengan metode *Bradford* dan Titrasi Formol yang diperoleh dari 30 sampel susu segar

Parameter	Metode uji	
	Bradford	Titrasi formol
Kadar protein (%)	2,23 ± 0,26	2,96 ± 0,43
Lama analisis (menit)	17 ± 0	5,37 ± 0,12
Biaya analisis (Rp)	2.000 ± 0	1.167,76 ± 1,82

untuk menganalisis satu sampel kadar protein susu segar dengan dua metode tersebut memberikan hasil yang berbeda. Metode *Bradford* memberikan nilai rata-rata waktu yang lebih lama dibandingkan dengan metode Titrasi Formol. Hal ini dikarenakan pada pengujiannya, metode *Bradford* memerlukan waktu inkubasi untuk memastikan reaksi antara protein dan pewarna mencapai keseimbangan, yang dapat memakan waktu lebih lama (Cozma et al., 2011)

Kelebihan dari penetapan kadar protein dengan menggunakan metode Titrasi Formol yaitu mudah digunakan, tidak memerlukan waktu inkubasi. Metode tersebut telah banyak digunakan untuk analisis protein pada susu. Hasil yang didapat tidak membutuhkan waktu yang lama (cepat) dan sederhana, namun metode tersebut dirasa kurang efektif dalam menentukan kadar protein dalam jumlah sampel yang banyak (Atma, 2018). Metode *Bradford* lebih diunggulkan untuk menganalisis sampel dalam jumlah yang banyak, karena metode tersebut menggunakan *microplate* yang dapat mengukur absorbansi dari larutan standar, blangko dan larutan sampel secara bersamaan. Nilai absorbansi dapat diperoleh kurang lebih dua menit dengan menggunakan spektrofotometer (Nouroozi et al., 2015).

Biaya analisis

Biaya analisis dihitung berdasarkan pada biaya yang dikeluarkan untuk pembelian bahan yang digunakan dalam penentuan kadar protein susu segar. Bahan yang digunakan pada metode *Bradford* meliputi *reagen Bradford* dan *Casein Enzymic Hydrolysate* sebagai larutan standar, sedangkan untuk pengujian dengan metode Titrasi Formol terdiri dari aquades, larutan NaOH 0,1 N, formalim 40%, indikator PP1%, dan kalium oksalat jenuh (Subroto et al., 2020). Kedua metode tersebut memiliki keunggulan yaitu bahan-bahan yang digunakan mudah didapatkan dengan harga yang tidak terlalu mahal. Penggunaan reagen yang sedikit membuat biaya yang dikeluarkan untuk pengukuran kadar protein susu segar terbilang murah.

Hasil uji statistik analisis deskriptif menunjukkan bahwa biaya yang dibutuhkan untuk analisis tiap sampel yang di uji dengan metode *Bradford* membutuhkan biaya minimum Rp 2000/sampel., maksimum Rp 2000/sampel., dan rata-rata Rp 2000±0/sampel, sedangkan untuk metode Titrasi Formol mempunyai biaya minimum Rp 1.164,55/sampel., maksimum Rp 1.170,88/sampel, dan rata-rata Rp 1.167,76 ± 1,82. Hasil tersebut menunjukkan bahwa biaya analisis kadar protein menggunakan metode Titrasi Formol memberikan nilai rata-rata biaya yang lebih murah dibandingkan dengan metode *Bradford*. Hasil Uji T menunjukan bahwa biaya yang dibutuhkan untuk mengukur kadar protein susu dengan menggunakan metode *Bradford* dan Titrasi Formol berbeda nyata ($P < 0,05$), hal tersebut diduga karena adanya perbedaan harga reagen yang digunakan pada kedua metode tersebut. Jumlah sampel dan bahan kimia yang digunakan dalam pengujian kadar protein susu segar mempengaruhi biaya yang diperlukan untuk setiap unit sampel (Chutipongtanate et al., 2012).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Pengukuran kadar protein susu segar dengan metode Titrasi Formol memberikan hasil yang lebih sensitif dengan , cepat ,dan biaya analisis lebih murah. Rataan kadar protein dengan titrasi formol 2,96±0,43% dan metode *Bradford* 2,23±0,26%. Rataan waktu dengan titrasi formol 5,37±0,12 menit dan

metode *Bradford* 17±0 menit sedangkan rataan biaya yang di butuhkan pada metode Bradford 2.000,00±0 Rupiah/sampel dan Titrasi formol 1.167,76±1,82 Rupiah/sampel.

Saran

Kajian lebih lanjut diperlukan untuk memberikan hasil penelitian yang lebih komprehensif mengenai penggunaan kedua metode tersebut dalam analisis kadar protein susu.

DAFTAR PUSTAKA

Anindita, N. S., dan D. S. Soyi. 2017. Studi kasus: pengawasan kualitas pangan hewani melalui pengujian kualitas susu sapi yang beredar di kota Yogyakarta. Jurnal Peternakan Indonesia, 19: 96–105.

Apriantini, G. A. E. 2020. Analisis kadar protein produk susu cair yang diolah melalui proses pemanasan pada suhu yang sangat tinggi (ultra high temperature). Int. J. Appl. Chem. Res., 2:8. doi:10.23887/Ijacr. V2i1.28713.

Arifin, M., A. Y. Oktaviana, R. R. S. Wihansah, M. Yusuf, R. Rifkhan, J. K. Negara, dan A. K. Sio. 2016. Kualitas fisik, kimia dan mikrobiologi susu kambing pada waktu pemerahan yang berbeda di peternakan Cangkurawok, Balumbang Jaya, Bogor. J. Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan, 4: 291–295. doi:10.29244/ Jipthp.4.2.291-295.

Atma, Y. 2018. Prinsip Analisis Komponen Pangan. Deepublish, Yogyakarta.

Azhar, F. F., Elvinawati, dan Nurhamidah. 2019. Perbandingan sensitivitas nanopartikel perak dengan reduktor albumin dari telur ayam dan bebek untuk analisis merkuri. ALOTROP: Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia, 3: 213–224. doi:10.33369/atp. v3i2.10508.

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem., 72: 248–254. doi:10.1016/0003-2697(76)90527-3.

Cheng, Y., H. Wei, R. Sun, Z. Tian, and X. Zheng. 2016. Rapid method for protein quantitation by Bradford assay after elimination of the interference of Polysorbate 80. Anal. Biochem., 494: 37–39. doi: 10.1016/j. ab.2015.10.013.

Chutipongtanate, S., K. Watcharatanyatip, T. Homvises, K. Jaturongkakul, and V. Thongboonkerd. 2012. Systematic comparisons of various spectrophotometric and colorimetric methods to measure concentrations of protein, peptide, and amino acid: detectable limits, linear dynamic ranges, interferences, practicality, and unit costs. Talanta., 98: 123–129. doi:10.1016/J. Talanta.2012.06.058.

Cozma, A., S. Andrei, D. Miere, L. Filip, and F. Loghin. 2011. Protein profiles in milk from three species of ruminants. Notulae Scientia Biologicae., 3: 26–29. doi:10.15835/ nsb315608.

Hadinoto, S., dan I. Syukroni. 2019. Pengukuran protein terlarut air cucian gelembung renang dan kulit ikan tuna menggunakan measurement of proteins dissolled from swimbladder and tuna skin. Majalah Biam, 15: 15–20.

Kamizake, N. K. K., M. M. Gonçalves, C. T. B. V. Zaia, and D. A. M. Zaia. 2003. Determination of total proteins in cow milk powder samples: a comparative study between the Kjeldahl method and spectrophotometric methods. J. Food Compos., Anal. 16: 507–516. doi:10.1016/S0889-1575(03)00004-8.

Nouroozi, R. V., M. V. Nouroozi, and M. Ahmadizadeh. 2015. Determination of protein concentration using Bradford microplate protein quantification assay. Int. Electron. J. Med., 4:11–17. doi:10.31661/ Iejm158.

Pyne., G. T. 1932. The determination of milk-proteins by formaldehyde titration. Biochem. J., 26(4):1006.

Rohman, A. 2018. Analisis Makanan. UGM Press, Yogyakarta.

Santosa, U., S. Widiastuti, N. Andriati, dan A. Aulia. 2020. Analisis Pangan. UGM Press, Yogyakarta.

SNI. 2011. SNI 3141.1:2011 Susu Segar-Bagian 1: Sapi. Jakarta.

Soediarto, P., T. Y. Astuti, A. N. Syamsi, dan S. H. Widodo. 2018. Penerapan prosedur higiene pemerahan sebagai bagian dari good dairy farming practise di kelompok peternak sapi

perah Tirto Margo Utomo Limpakuwus. Pros. Semin. Nas. Unsoed., (81).

Subroto, E., E. Lembong, F. Filianty, R. Indiarto, G. Primalia, M. S. Putri, H. C. Theodora, Aad S. Junar. 2020. The analysis techniques of amino acid and protein in food and agricultural products. Int. J. Sci. Technol. Res., 9: 29–36.

Syamsi, A. N., T. Y. Astuti, dan H. S. Widodo. 2018. Kajian keamanan pangan dan tingkat prevalensi cemaran bakterisusu di sentra pengembangan sapi perah cilongok. J. Ilmu-Ilmu Peternakan, 28: 224. doi:10.21776/ub.Jiip.2018.028.03.05.

Wahyuningsih, W., dan D. F. Pazra. 2022. Kualitas fisik, kimia, mikrobiologi susu sapi pada peternakan sapi perah di kecamatan Caringin Kabupaten Bogor. J. Agroekoteknologi dan Agribisnis,. 6: 1–16. doi:10.51852/Jaa.V6i1.532.

Widodo, H. S., T. W. Murti, A. Agus, dan W. Widodo. 2019. Mengidentifikasi peptida bioaktif angiotensin converting enzyme-inhibitor (Acei) dari kasein β susu kambing dengan polimorfismenya melalui teknik in silico. J. Apl. Teknol. Pangan., 7: 180–185. doi:10.17728/Jatp.3008.

Wulansari, D. P., And D. Wijayanti. 2020. Physical, chemical, and microbiological characteristics of goat milk soap. J. Pangan dan Agroindustri., 8: 145–153.