



## Uji Kadar Protein pada Pakan Ikan Patin Menggunakan Metode Kjeldahl

Tiara<sup>1\*</sup>, Desy Kurniawati<sup>2</sup>

<sup>1-2</sup> Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,  
Universitas Negeri Padang, Indonesia

Jln Prof. Dr. Hamka Air Tawar, Padang, Indonesia

Korespondensi penulis: [tiarakhusuma@gmail.com](mailto:tiarakhusuma@gmail.com)

**Abstract.** Feed is a key component in catfish (*Pangasius hypophthalmus*) cultivation because it directly affects the growth rate, health, and productivity of the fish. Among the various nutrients contained in feed, protein plays a crucial role, particularly in the formation and repair of fish body tissues. Adequate protein content supports optimal growth, while protein deficiency can reduce productivity. Therefore, analyzing protein levels in feed is essential to ensure its quality. This study aimed to analyze protein levels in catfish feed using the Kjeldahl method. The analysis was conducted at the Pekanbaru Center for Standardization and Industrial Services (BSPJI). The Kjeldahl method was chosen because it is known to have a high level of accuracy and reliability. The procedure involves three main stages: destruction, distillation, and titration. The working principle of this method is to convert organic nitrogen in the sample into ammonia, which is then captured and measured to determine nitrogen levels, which are then converted to protein levels. In this study, five feed samples with codes U-139 to U-142 were used. The test results showed that the protein content of the samples ranged from 20.44% to 23.09%. Furthermore, a Relative Percent Difference (RPD) value of 0.0013% was obtained, indicating a very high level of measurement precision. The analysis results were then compared with the fish feed quality standards based on SNI 2534:2006, and it was found that all samples met the minimum protein content requirements. Thus, this study confirms the effective and accurate use of the Kjeldahl method in analyzing protein content in catfish feed. These results also provide important information for farmers and feed producers in ensuring the quality of feed used to support catfish farming productivity.

**Keywords:** Catfish Feed, Fish Cultivation, Kjeldahl, Nitrogen Content, Protein Analysis,

**Abstrak.** Pakan merupakan salah satu komponen utama dalam kegiatan budidaya ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) karena secara langsung berpengaruh terhadap laju pertumbuhan, kesehatan, dan produktivitas ikan. Di antara berbagai nutrisi yang terkandung dalam pakan, protein memegang peranan yang sangat penting, terutama dalam proses pembentukan dan perbaikan jaringan tubuh ikan. Kandungan protein yang sesuai akan mendukung pertumbuhan optimal, sementara kekurangan protein dapat menurunkan produktivitas. Oleh karena itu, analisis kadar protein dalam pakan menjadi hal yang esensial untuk memastikan kualitasnya. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kadar protein pada pakan ikan patin dengan menggunakan metode Kjeldahl. Analisis dilakukan di Balai Standardisasi dan Pelayanan Jasa Industri (BSPJI) Pekanbaru. Metode Kjeldahl dipilih karena dikenal memiliki tingkat akurasi dan keandalan yang tinggi. Prosedurnya meliputi tiga tahap utama, yaitu destruksi, destilasi, dan titrasi. Prinsip kerja metode ini adalah mengubah nitrogen organik dalam sampel menjadi amonia, kemudian amonia tersebut ditangkap dan diukur untuk menentukan kadar nitrogen, yang selanjutnya dikonversi menjadi kadar protein. Dalam penelitian ini digunakan lima sampel pakan dengan kode U-139 hingga U-142. Hasil pengujian menunjukkan bahwa kadar protein pada sampel berkisar antara 20,44% hingga 23,09%. Selain itu, nilai Relative Percent Difference (RPD) sebesar 0,0013% diperoleh, yang menunjukkan tingkat presisi pengukuran yang sangat tinggi. Hasil analisis tersebut kemudian dibandingkan dengan standar kualitas pakan ikan berdasarkan SNI 2534:2006, dan diketahui bahwa seluruh sampel memenuhi persyaratan minimal kadar protein sesuai ketentuan. Dengan demikian, penelitian ini menegaskan bahwa metode Kjeldahl dapat digunakan secara efektif dan akurat dalam analisis kadar protein pada pakan ikan patin. Hasil ini juga memberikan informasi penting bagi pembudidaya dan produsen pakan dalam menjamin mutu pakan yang digunakan untuk menunjang produktivitas budidaya ikan patin.

**Kata Kunci:** Analisis Protein, Budidaya Ikan, Kandungan Nitrogen, Kjeldahl, Pakan Patin

### 1. LATAR BELAKANG

Pertumbuhan sektor perikanan budidaya di Indonesia, terutama dalam budidaya ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*), mendorong kebutuhan akan pakan berkualitas tinggi yang

mampu mendukung pertumbuhan ikan secara optimal. Salah satu elemen terpenting dalam formulasi pakan adalah protein, karena berfungsi sebagai sumber utama dalam pembentukan jaringan dan aktivitas metabolik ikan. Oleh karena itu, evaluasi kandungan protein dalam pakan menjadi hal yang krusial.

Metode Kjeldahl dikenal luas sebagai metode standar dalam menentukan kadar nitrogen dalam suatu sampel, yang kemudian dikonversikan menjadi kadar protein kasar. Keunggulan metode ini terletak pada ketepatannya dan kemampuannya diterapkan pada berbagai jenis bahan organik, termasuk pakan ikan. Analisis dilakukan melalui tahapan destruksi, destilasi, dan titrasi, di mana nitrogen organik diubah menjadi amonia untuk kemudian dihitung.

## **2. KAJIAN TEORITIS**

### **Pakan Ikan Patin**

Ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang banyak dibudidayakan dan menjadi komoditas unggulan di sektor perikanan. Berdasarkan data Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP) tahun 2013, produksi ikan patin di Indonesia mengalami peningkatan signifikan selama periode 2009–2013. Ikan patin memiliki ciri khas berupa warna tubuh putih keabu-abuan, rasa daging yang lezat, serta kandungan protein yang tinggi, yaitu sebesar 16,58%. Selain itu, ikan ini dianggap lebih sehat dikonsumsi karena memiliki kadar kolesterol yang lebih rendah dibandingkan daging hewan ternak. Ikan patin tergolong dalam kelompok catfish, tidak bersisik, dan memiliki duri tajam pada bagian siripnya (Dewi, 2014).

Untuk mendukung peningkatan produksi ikan patin, salah satu aspek penting adalah penyediaan pakan berkualitas, terutama pada fase benih. Benih ikan patin memerlukan pakan buatan yang mengandung protein tinggi, minimal 30%. Menurut Kordi (2011), pakan dengan kandungan protein sebesar 35% memberikan hasil pertumbuhan terbaik bagi benih ikan patin. Pakan buatan ini dapat dibuat dari berbagai bahan yang diformulasikan dan diolah sedemikian rupa untuk memenuhi kebutuhan nutrisi ikan (Mudjiman, 2001). Komposisi dan bentuk pakan dirancang sebagai adaptasi dari pakan alami yang disesuaikan dengan spesies, fase pertumbuhan, dan perkembangan ikan. Nutrisi esensial dalam pakan meliputi lima kelompok utama, yaitu protein, lemak, karbohidrat, vitamin, dan mineral (Agustono dkk., 2007).

Pakan berperan sebagai komponen utama dalam biaya operasional budidaya karena harus disediakan secara rutin setiap hari. Oleh karena itu, perhatian terhadap kandungan nutrisinya menjadi sangat penting, khususnya kandungan proteinnya. Protein, terutama asam amino esensial, tidak dapat disintesis sendiri oleh tubuh ikan dan harus diperoleh dari pakan.

Formulasi pakan yang baik harus mempertimbangkan kelengkapan dan keseimbangan asam amino, karena asam amino berfungsi dalam proses sintesis sel otot yang berpengaruh langsung terhadap peningkatan bobot tubuh serta produksi hasil ternak seperti susu dan telur (Varianti dkk., 2017).

### Protein

Protein merupakan makromolekul yang tersusun atas ratusan hingga ribuan satuan penyusun kecil yang dikenal sebagai asam amino. Terdapat 20 jenis asam amino yang saling terhubung melalui ikatan peptida untuk membentuk rantai polipeptida yang kemudian melipat membentuk struktur tiga dimensi khas. Urutan asam amino dalam rantai ini akan menentukan struktur spasial dan fungsi biologis spesifik dari setiap protein, misalnya dalam mempercepat reaksi biokimia melalui peran sebagai enzim.

Asam amino sendiri merupakan senyawa organik esensial yang memiliki dua gugus fungsi utama, yaitu gugus amina ( $-NH_2$ ) dan gugus karboksilat ( $-COOH$ ), serta gugus samping atau side chain (gugus R) yang unik bagi masing-masing asam amino. Dua puluh asam amino umum yang ditemukan dalam protein pada umumnya termasuk dalam kelompok asam amino alfa ( $\alpha$ ), dengan pengecualian pada prolin yang memiliki struktur siklik yang khas. Dalam struktur  $\alpha$ -amino, gugus amina dan karboksil terikat pada atom karbon pusat (karbon  $\alpha$ ). Perbedaan sifat kimia dan fisik dari masing-masing asam amino ditentukan oleh variasi pada gugus R-nya.

Gugus R ini menentukan sifat asam amino, yang dapat bersifat polar, nonpolar (alifatik), hidrofilik, hidrofobik, bermuatan asam, basa, ataupun mengandung struktur aromatik. Karena kerangka utama dari asam amino pada dasarnya serupa, maka peran dan karakteristik masing-masing asam amino dalam struktur protein sangat dipengaruhi oleh jenis rantai sampingnya.. Asam amino ini telah disingkat menggunakan kata tiga huruf atau kata satu huruf.

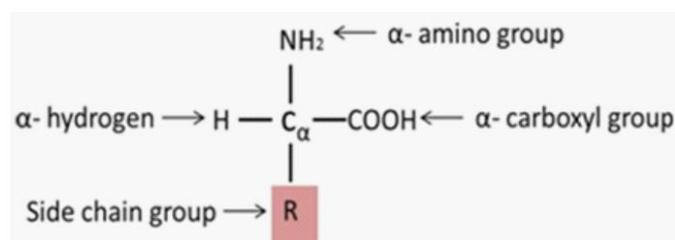


Figure 1. Figure 2Struktur Asam Amino

Amino acid	Three -letter abbreviation	One letter symbol
Alanine	Ala	A
Arginine	Arg	R
Asparagine	Asn	N
Aspartic acid	Asp	D
Asparagine or aspartic acid	Asx	B
Cysteine	Cys	C
Glutamine	Gln	Q
Glutamic acid	Glu	E
Glutamine or Glutamic acid	Glx	Z
Glycine	Gly	G
Histidine	His	H
Isoleucine	Ile	I
Leucine	Leu	L
Lysine	Lys	K
Methionine	Met	M
Phenylalanine	Phe	F
Proline	Pro	P
Serine	Ser	S
Threonine	Thr	T
Tryptophan	Trp	W
Tyrosine	Tyr	Y
Valine	Val	V

Figure 2. Daftar Asam Amino

Secara umum, protein dapat dibedakan menjadi dua jenis, yaitu protein sederhana dan protein terkonjugasi. Protein sederhana tersusun murni dari rantai asam amino tanpa adanya komponen tambahan lainnya. Sementara itu, protein terkonjugasi merupakan jenis protein yang selain mengandung rantai asam amino, juga memiliki komponen non-protein yang dikenal sebagai gugus prostetik. Gugus prostetik ini merupakan bagian non-asam amino yang melekat secara kovalen atau kuat pada struktur protein dan memainkan peranan penting dalam aktivitas biologisnya. Klasifikasi protein terkonjugasi dilakukan berdasarkan sifat kimia dari gugus prostetik yang dimilikinya. Contohnya, protein yang memiliki komponen karbohidrat disebut glikoprotein, sedangkan yang mengandung lipid dikenal sebagai lipoprotein, dan protein yang mengandung ion logam tertentu disebut metaloprotein.

Dalam beberapa kasus, satu jenis protein terkonjugasi dapat memiliki lebih dari satu jenis gugus prostetik. Peran gugus prostetik sangat penting karena sering kali menentukan atau mendukung fungsi biologis spesifik dari protein tersebut, baik sebagai enzim, molekul pengangkut, maupun sebagai bagian dari struktur seluler (Rizwan, 2017).

### Metode Kjeldahl

Dalam kimia analitik, metode Kjeldahl merupakan salah satu teknik yang digunakan untuk analisis kuantitatif unsur nitrogen, baik yang berasal dari senyawa organik maupun anorganik seperti amonia ( $\text{NH}_3$ ) dan ion amonium ( $\text{NH}_4^+$ ). Nitrogen sendiri merupakan unsur esensial yang secara umum terdapat dalam bahan organik, terutama sebagai penyusun utama molekul protein. Metode ini pertama kali diperkenalkan oleh ahli kimia asal Denmark, Johan

Kjeldahl, pada tahun 1883, untuk memperkirakan kadar protein dalam berbagai sampel biologis. Seiring waktu, metode ini mengalami penyempurnaan dan diaplikasikan lebih luas untuk mengukur kandungan nitrogen dalam campuran senyawa, termasuk nitrat, garam amonium, serta berbagai senyawa organik lainnya. Hingga kini, metode Kjeldahl masih digunakan secara global sebagai metode standar untuk menentukan kadar protein kasar dari beragam bahan, seperti bahan pangan hewani dan manusia, pupuk, limbah cair, serta bahan bakar fosil (Kamya et al., 2022).

Prinsip dasar dari metode Kjeldahl melibatkan proses oksidasi terhadap senyawa organik menggunakan asam sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) pekat sebagai agen pengoksidasi kuat. Dalam tahapan ini, karbon dalam senyawa organik terkonversi menjadi karbon dioksida ( $\text{CO}_2$ ), sedangkan hidrogen menjadi air ( $\text{H}_2\text{O}$ ). Sementara itu, nitrogen yang terdapat dalam gugus amina, yang umumnya terikat dalam struktur rantai polipeptida, akan teroksidasi menjadi ion amonium ( $\text{NH}_4^+$ ). Ion amonium ini kemudian larut dalam larutan asam dan pada tahapan selanjutnya akan diubah menjadi gas amonia ( $\text{NH}_3$ ) melalui pemanasan.

Keunikan struktur protein dibandingkan dengan senyawa organik lain seperti karbohidrat dan lemak terletak pada kandungan nitrogen di dalamnya. Oleh sebab itu, kandungan nitrogen dalam suatu bahan sering digunakan sebagai indikator untuk menentukan kadar protein kasar, terutama dalam analisis bahan pakan (Afkar dkk., 2020). Prinsip kerja analisis ini melibatkan pemisahan nitrogen dalam bentuk gas amonia yang kemudian ditangkap dan diukur kuantitasnya.

Penentuan protein secara kuantitatif dengan metode Kjeldahl terdiri atas tiga tahapan utama, yaitu destruksi, destilasi, dan titrasi. Pada tahap destruksi, sampel dipecah menggunakan asam sulfat pekat dengan bantuan katalis untuk mempercepat reaksi. Hasil destruksi yang mengandung ion amonium kemudian dinetralkan dengan basa kuat (biasanya  $\text{NaOH}$ ) dan dilakukan destilasi, yaitu proses pemisahan berdasarkan perbedaan titik didih. Selama destilasi, amonia diuapkan, didinginkan, dan dikondensasi menjadi cair kembali. Efektivitas proses destilasi sangat bergantung pada perbedaan titik didih antar komponen, di mana semakin besar selisih titik didih, semakin murni destilat yang dihasilkan (Rassem dkk., 2016).

Dalam tahap destilasi pada analisis protein pakan, gas amonia yang terbentuk akan ditangkap oleh larutan asam borat. Interaksi ini ditandai dengan perubahan warna larutan dari merah muda menjadi hijau, yang menunjukkan bahwa larutan telah bersifat basa. Proses ini dianggap selesai ketika seluruh amonia telah bereaksi sepenuhnya. Durasi destilasi bisa bervariasi tergantung pada kandungan protein kasar dalam sampel. Jika proses dilakukan

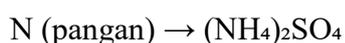
menggunakan alat destilasi manual, maka waktu yang dibutuhkan tidak dapat ditentukan secara pasti, sehingga menyebabkan analisis menjadi kurang efisien dan kurang praktis (Amalia dan Fajri, 2020). Adapun tahapan-tahapan dalam pengujian ini yaitu:

#### Digestion/Destruksi

Prosedur analisis dengan metode Kjeldahl diawali dengan penimbangan sampel makanan sesuai dengan jumlah yang dibutuhkan, lalu dimasukkan ke dalam labu destruksi. Selanjutnya, sampel dipanaskan dengan penambahan reagen tertentu untuk membentuk senyawa pengoksidasi yang berperan dalam proses pencernaan (digesti) bahan organik. Agar proses destruksi berlangsung lebih efisien dan cepat mencapai titik didih, ditambahkan natrium sulfat anhidrat ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) sebagai zat pengerek titik didih (boiling point elevator). Selain itu, ditambahkan juga katalis logam seperti tembaga (Cu), selenium (Se), titanium (Ti), atau merkuri (Hg) yang berfungsi untuk mempercepat laju reaksi kimia selama proses pencernaan.

Seluruh proses destruksi bertujuan untuk mengubah unsur nitrogen organik yang terdapat dalam sampel makanan menjadi bentuk ion amonium ( $\text{NH}_4^+$ ). Sementara itu, senyawa organik lain yang tidak mengandung nitrogen akan teroksidasi menjadi karbon dioksida ( $\text{CO}_2$ ) dan air ( $\text{H}_2\text{O}$ ). Jika nitrogen dalam bahan makanan berasal dari bentuk lain seperti nitrat atau nitrit, senyawa tersebut juga akan dikonversi menjadi amonia.

Dalam larutan asam, gas amonia ( $\text{NH}_3$ ) yang terbentuk selama proses tidak akan menguap karena terprotonasi menjadi ion amonium ( $\text{NH}_4^+$ ) yang kemudian berikatan dengan ion sulfat ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), sehingga tetap berada dalam larutan dalam bentuk ammonium sulfat:

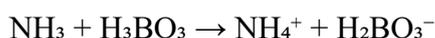


#### Netralisasi

Setelah tahap destruksi selesai, labu destruksi dihubungkan dengan labu penampung (penerima) menggunakan rangkaian tabung kaca untuk melanjutkan proses netralisasi dan distilasi. Pada tahap ini, larutan dalam labu destruksi dinetralkan dan diubah menjadi kondisi basa dengan menambahkan larutan natrium hidroksida (NaOH). Penambahan basa kuat ini bertujuan untuk mengubah ion amonium ( $\text{NH}_4^+$ ) yang semula terikat dalam bentuk ammonium sulfat ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) menjadi gas amonia ( $\text{NH}_3$ ) sesuai dengan reaksi berikut:



Gas amonia yang terbentuk kemudian diupkan dan dialirkan melalui tabung kaca menuju labu penerima yang berisi larutan asam borat ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ). Dalam larutan ini, gas amonia ditangkap dan mengalami reaksi netralisasi, membentuk ion amonium ( $\text{NH}_4^+$ ) dan ion borat ( $\text{H}_2\text{BO}_3^-$ ). Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut:



Proses ini penting karena memastikan bahwa seluruh gas amonia yang terbentuk selama distilasi dapat ditangkap secara kuantitatif oleh larutan penampung, yang kemudian akan dianalisis lebih lanjut melalui proses titrasi, untuk menghitung jumlah nitrogen total yang terkandung dalam sampel.

#### Titration

Untuk menghitung kandungan nitrogen dalam sampel, tahap akhir dari metode Kjeldahl dilakukan melalui proses titrasi. Titrasi ini dilakukan terhadap larutan hasil destilasi yang mengandung ion amonium ( $\text{NH}_4^+$ ) yang telah bereaksi dengan asam borat, menghasilkan ion borat ( $\text{H}_2\text{BO}_3^-$ ). Proses titrasi dilakukan menggunakan larutan asam standar, seperti asam sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) atau asam klorida ( $\text{HCl}$ ) dengan konsentrasi tertentu, yang ditambahkan secara bertahap hingga mencapai titik akhir reaksi, yang ditunjukkan dengan perubahan warna indikator.

Reaksi yang terjadi selama titrasi adalah sebagai berikut:



Perubahan ini menandakan bahwa ion borat telah sepenuhnya terprotonasi kembali menjadi asam borat. Volume larutan asam yang dibutuhkan untuk mencapai titik akhir reaksi berbanding lurus dengan jumlah ion amonium, dan secara tidak langsung merepresentasikan kandungan nitrogen total dalam sampel makanan.

Untuk menentukan konsentrasi nitrogen dalam sampel, persamaan berikut digunakan, yang memuat berat ( $w$  dalam gram) dengan menggunakan larutan  $x\text{M}$  HCL untuk proses titrasi:

$$\text{Kadar Protein}\% = \frac{(V_A - V_B) \times N_{\text{HCl}} \times 14,007 \times 6,25 \times 100\% \times fp}{w \times 1000}$$

Dimana:

$V_A$  = ml HCl yang digunakan untuk titrasi sample

$V_B$  = ml HCl yang digunakan untuk titrasi blanko

$N$  = Normalitas HCl standar yang digunakan

$F_p$  = faktor pengenceran

14,007 = Berat atom nitrogen

6,25 = Faktor konversi protein untuk ikan

$W$  = berat sample (Kamya, et al:2022).

### 3. METODE PENELITIAN

#### Sampel Penelitian

Sampel yang dianalisis merupakan sampel pakan ikan patin yang tersedia di Laboratorium Balai Standardisasi dan Pelayanan Jasa Industri Pekanbaru dengan kode sampel U139/07/2024-U42/07/2024. Sampel ini akan di uji kadar protein yang merujuk pada SNI 2534:2006.

#### Alat dan Bahan

Alat	Bahan
Alan Destilasi Kjeldhal K-350	Larutan asam sulfat (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )
Alan Destruksi Kjeldhal K-439	Aquadest
Chiller F-308	Katalis ECO (K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + CuSO <sub>4</sub> .5HO)
Neraca analitik	Indikator BCG (bromocresol green)
Klem Dan Statif	Indikator methyl red
Buret 10 ml	Larutan asam borat (H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> ) 30%
Labu Kjeldhal	Asam klorida (HCl) 0,2N
Spatula	
Kertas saring	
Cawan	
Erlenmeyr	
Gelas ukur 50 dan 250ml	
Corong	
Labu ukur 100ml	
Gelas kimia 1000ml	
Gelas kimia 100mL	
Gelas kimia 250ml	
Batang pengaduk	
Hot plate	
Pipet volume 25ml	
Pipet volume 5ml	
Pipet ukur 10ml	
Pipet ukur 5ml	
Pipet tetes	

## **Prosedur Kerja**

### **Destruksi**

- Sampel homogen diambil sebanyak  $\pm 2$  gram dan ditimbang secara cermat menggunakan kertas timbang. Setelah itu, kertas timbang dilipat rapi dan dimasukkan ke dalam labu destruksi.
- Ke dalam labu destruksi, tambahkan dua tablet katalis (biasanya mengandung campuran logam seperti selenium atau tembaga) serta beberapa butir batu didih untuk mencegah terjadinya bumping selama pemanasan.
- Tambahkan secara perlahan 15 mL asam sulfat pekat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  95%–97%), kemudian tambahkan 3 mL hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) secara bertahap. Diamkan campuran selama  $\pm 10$  menit di dalam lemari asam agar reaksi awal berlangsung secara aman.
- Lakukan proses destruksi dengan memanaskan labu pada suhu  $\pm 410^\circ\text{C}$  selama sekitar 2 jam, atau hingga larutan menjadi jernih yang menandakan proses oksidasi senyawa organik telah selesai. Setelah pendinginan hingga mencapai suhu ruang, tambahkan 50–75 mL aquades ke dalam labu untuk mengencerkan larutan hasil destruksi.

### **Destilasi**

- Siapkan erlenmeyer sebagai wadah penampung destilat yang telah diisi dengan 25 mL larutan asam borat ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) 4% yang mengandung indikator campuran (biasanya indikator merah metil dan biru bromtimol) untuk mendeteksi perubahan pH selama proses destilasi.
- Rangkaian alat destilasi uap dipasang, lalu labu destruksi yang telah berisi hasil pencernaan (digesti) dihubungkan ke sistem destilasi sebagai sumber penghasil uap amonia.
- Tambahkan 50–75 mL larutan natrium hidroksida-thiosulfat ke dalam labu destruksi untuk mengalkalisasi larutan dan membebaskan ion amonium menjadi gas amonia ( $\text{NH}_3$ ).
- Lakukan proses destilasi uap, dan arahkan uap amonia ke dalam erlenmeyer berisi larutan  $\text{H}_3\text{BO}_3$  hingga volume total destilat mencapai  $\pm 150$  mL. Reaksi antara gas amonia dan asam borat akan menghasilkan perubahan warna larutan menjadi kuning, menandakan terbentuknya kompleks ion borat dari reaksi ammonia.

### **Titration**

- Lakukan titrasi terhadap larutan hasil destilasi menggunakan larutan asam klorida ( $\text{HCl}$ ) 0,2 N yang telah dibakukan sebelumnya. Titrasi dilakukan hingga terjadi perubahan warna larutan dari hijau menjadi abu-abu netral (natural gray), yang menandakan titik akhir reaksi telah tercapai.

- Sebagai kontrol kualitas data, lakukan titrasi blanko dengan mengikuti tahapan yang sama seperti pada sampel, namun tanpa penambahan sampel bahan uji. Tujuan blanko ini adalah untuk mengoreksi hasil perhitungan dari adanya kemungkinan kontaminasi atau reaksi samping dari bahan pereaksi.
- Untuk memastikan keakuratan dan reproduibilitas hasil, analisis sampel sebaiknya dilakukan minimal secara duplo (dua kali ulangan) atau lebih sesuai kebutuhan.

#### 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

##### Tabel Pengamatan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka didapatkan hasil sebagai berikut

Kode Sampel	Massa Sampel (gr)	Volume HCl Titrasi (ml)
Blangko	0	0,05
U-139 (1)	2,0034	4,7
U-139 (2)	2,0014	4,7
U-140	2,0028	4,65
U-141	2,0025	4,8
U-142	2,0004	4,25

##### Perhitungan

$$\text{Kadar Protein}\% = \frac{(V_A - V_B) \times N_{HCl} \times 14,007 \times 6,25 \times 100\% \times fp}{w \times 100}$$

Dimana:

$V_A$  = ml HCl yang digunakan untuk titrasi sample

$V_B$  = ml HCl yang digunakan untuk titrasi blanko

$N$  = Normalitas HCl standar yang digunakan

$F_p$  = Faktor pengenceran

14,007 = Berat atom nitrogen

6,25 = Faktor konversi protein untuk ikan

$W$  = berat sample

- Faktor pengenceran =  $\frac{V_2}{V_1}$

Diketahui:  $V_2 = 100\text{ml}$

$V_1 = 18\text{ml}$

Fktor pengenceran =  $\frac{100\text{ml}}{18\text{ml}} = 5,56$

- Kadar protein sampel U-139(1)

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar Protein\%} &= \frac{(V_A - V_B) \text{Hcl} \times N \text{HCl} \times 14,007 \times 6,25 \times 100\% \times fp}{w \times 1000} \\
 &= \frac{(4,7 - 0,05) \times 0,2 \times 14,007 \times 6,25 \times 100\% \times 5,56}{2,0034 \times 1000} \\
 &= \frac{45.267,1\%}{2.003,4} \\
 &= 22,59\%
 \end{aligned}$$

- Kadar protein sampel U-139(2)

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar Protein\%} &= \frac{(V_A - V_B) \text{Hcl} \times N \text{HCl} \times 14,007 \times 6,25 \times 100\% \times fp}{w \times 1000} \\
 &= \frac{(4,7 - 0,05) \times 0,2 \times 14,007 \times 6,25 \times 100\% \times 5,56}{2,0014 \times 1000} \\
 &= \frac{45.267,1\%}{2.001,4} \\
 &= 22,62\%
 \end{aligned}$$

- Kadar protein sampel U-140

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar Protein\%} &= \frac{(V_A - V_B) \text{Hcl} \times N \text{HCl} \times 14,007 \times 6,25 \times 100\% \times fp}{w \times 100} \\
 &= \frac{(4,65 - 0,05) \times 0,2 \times 14,007 \times 6,25 \times 100\% \times 5,56}{2,0028 \times 100} \\
 &= \frac{44.780\%}{2.002} \\
 &= 22,37\%
 \end{aligned}$$

- Kadar protein sampel U-141

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar Protein\%} &= \frac{(V_A - V_B) \text{Hcl} \times N \text{HCl} \times 14,007 \times 6,25 \times 100\% \times fp}{w \times 100} \\
 &= \frac{(4,8 - 0,05) \times 0,2 \times 14,007 \times 6,25 \times 100\%}{2,0025 \times 100} \\
 &= \frac{46.240\%}{2.002,5} \\
 &= 23,09\%
 \end{aligned}$$

- Kadar protein sampel U-142

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar Protein\%} &= \frac{(V_A - V_B) \text{Hcl} \times N \text{HCl} \times 14,007 \times 6,25 \times 100\% \times fp}{w \times 100} \\
 &= \frac{(4,25 - 0,05) \times 0,2 \times 14,007 \times 6,25 \times 100\%}{2,0004 \times 100} \\
 &= \frac{40,886\%}{2.004} \\
 &= 20,44\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ RPD (Relative Percent Difference)} &= \frac{\text{Data ke dua U-139} - \text{data ke satu U-139}}{\text{rata-rata data U-139}} \\
 &= \frac{22,62\% - 22,59\%}{22,605\%} \\
 &= 0,0013\%
 \end{aligned}$$

## **Pembahasan**

Pada penelitian ini, penulis melakukan pengujian kadar protein pada sample pakan ikan patin dengan menggunakan metode kjeldahl yang dilakukan di Laboratorium Balai Standarisasi dan Pelayanan Jasa Industri Pekanbaru sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI 2354-2006). Sesuai dengan SNI, maka kadar protein yang ada didalam pakan ikan harus  $\leq 10\%$ , apabila kadar yang diperoleh lebih besar dibanding  $10\%$  maka pakan tersebut tidak memenuhi persyaratan.

Metode Kjeldahl merupakan teknik analisis klasik yang masih banyak digunakan untuk menentukan kadar protein kasar dalam suatu sampel. Prinsip metode ini mengasumsikan bahwa seluruh nitrogen dalam sampel berasal dari protein, meskipun dalam kenyataannya nitrogen juga bisa berasal dari senyawa non-protein lainnya (AOAC, 2000; Helrich, 1990). Oleh karena itu, hasil yang diperoleh disebut sebagai kadar protein kasar (Bradstreet, 1965).

Secara umum, metode ini terdiri dari tiga tahapan utama, yaitu destruksi, destilasi, dan titrasi. Pada tahap destruksi, sebanyak 2 gram sampel ditimbang dan dimasukkan ke dalam tabung destruksi, kemudian ditambahkan dua butir katalis ECO untuk mempercepat reaksi. Selanjutnya, 15 mL asam sulfat pekat ditambahkan untuk menguraikan senyawa organik menjadi unsur-unsur penyusunnya, seperti karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen, sulfur, dan fosfor. Nitrogen dari protein inilah yang akan dihitung sebagai indikator kadar protein (Sahato et al., 2021). Sebelum dilanjutkan ke tahap destruksi, sample yang telah ditambah katalis ECO dan asam sulfat, ditambahkan  $H_2O_2$  sebanyak 3ml, adapun tujuan penambahan  $H_2O_2$  adalah untuk melarutkan bahan organik didalam sample agar sample larut sempurna sehingga kadar nitrogen lebih akurat, selain itu  $H_2O_2$  juga mempermudah destruksi sampel yang sulit di destruksi, seperti tulang. Setelah penambahan  $H_2O_2$  terjadi reaksi didalam tabung destruksi yang dimana muncul banyak gas dan gelembung, hal ini dikarenakan  $H_2SO_4$  merupakan asam kuat dan  $H_2O_2$  merupakan oksidan yang kuat, yang dimana ketika bereaksi akan menghasilkan asam peroksida sulfat ( $H_2SO_5$ ) yang dimana reaksi ini bersifat eksotermik yaitu pelepasan panas, panas yang dilepaskan menyebabkan terjadinya penguapan  $H_2O_2$  dan  $H_2SO_4$  sehingga timbulah gas/asap didalam tabung destruksi.  $H_2O_2$  juga dapat menghasilkan panas dan gas dikarenakan terdekomposisi menjadi air ( $H_2O$ ) dan oksigen ( $O_2$ ), selain dikarenakan bereaksi dengan  $H_2SO_4$  dan terdekomposisi, senyawa  $H_2O_2$  juga dapat bereaksi dengan bahan organik (dalam hal ini pakan ikan patin) dan menghasilkan senyawa yang mudah menguap. Oleh karena itu setelah menambahkan  $H_2O_2$ , labu destruksi dibiarkan didalam lemari asam selama 10 menit hingga reaksinya berakhir.

Setelah 10 menit, labu destruksi dimasukkan kedalam alat destruksi dengan memilih method yang sesuai dengan sampel, lamanya proses destruksi berbeda untuk sampel yang berbeda, dalam hal ini proses destruksi dilakuka selama 2-3 jam, hasil yang diperoleh adalah larutan berwarna putih keruh, hasil destruksi ini kemudian didiamkan terlebih dahulu agar suhunya turun.

Sebelum ke tahap destilasi, hasil destruksi di encerkan terlebih dahulu dalam labu ukur 100ml, adapun tujuan pengenceran adalah agar pada saat destilasi sampel tidak terlalu bersifat asam (dalam hal ini dikarenakan sample bereaksi dengan asam sulfat pekat) yang dimana dapat merusak alat destilasi setelah diencerkan hingga 100ml, sebanyak 18ml dari pengenceran dimasukkan kedalam labu destruksi untuk di destilasi.

Proses destilasi bertujuan untuk memisahkan zat yang diinginkan, dalam hal ini ammonium sulfat dipecah menjadi ammonia dengan menggunakan NaOH hingga tepat basa. Pada tahap destilasi, amonium sulfat yang terbentuk selama destruksi diubah menjadi gas amonia ( $\text{NH}_3$ ) dengan penambahan larutan natrium hidroksida (NaOH) hingga suasana basa tercapai. Amonia kemudian ditangkap oleh larutan asam borat ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) yang berfungsi sebagai penampung gas. Adanya perubahan warna dari merah ke hijau menunjukkan keberadaan amonia dalam sampel, sementara pada blanko tidak terjadi perubahan warna karena tidak mengandung  $\text{NH}_3$  (Rendleman, 2000).

Setelah proses destilasi selesai, dilanjutkan dengan proses titrasi. Dalam hal ini titrasi asam-basa dilakukan untuk menguji kadar protein dalam sampel. Dikarenakan hasil dari destilasi adalah  $\text{NH}_3$  yang berupa basa lemah, maka digunakan HCl 0,2 N untuk titrasi asam borat yang telah mengikat ammonia tersebut, adapun titik ekuivalen dari titrasi ini adalah warna ke abu-abuan dan titik akhirnya berwarna merah muda, sedangkan untuk blanko tidak akan mengalami perubahan warna.

Dalam pengujian ini dilakukan untuk 4 sampel yaitu dengan kode U-139 hingga U-142, sampel dengan kode U-139 dilakukan sebanyak dua kali atau duplo untuk memperoleh nilai RPD/jaminan mutu dari proses pengujian.

Dan dari hasil pengujian didapatkan % protein untuk sampel U-139(1) sebesar 22,59%, U-139(2) sebesar 22,62%, U-140 sebesar 22,37%, U-141 sebesar 23,09%, dan untuk sampel dengan kode U-142 sebesar 20,44%, dari hasil duplo U-139 diperoleh nilai RPD sebesar 0,0013% yang dimana hal ini telah sesuai dengan ketentuan yaitu  $\leq 10\%$  sehingga dikatakan memenuhi syarat keterimaan untuk presisi.

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengujian yang telah dilakukan di laboratorium Balai Standardisasi dan Pelayanan Jasa Industri Pekanbaru, dapat disimpulkan:

- Kadar protein untuk masing-masing sampel adalah 22,59%, 22,62%, 22,37%, 23,09%, dan 20,44%.
- %RPD dari pengujian ini sebesar 0,0013% yang dimana menunjukkan proses pengerjaan telah presisi karena telah  $\leq 10\%$

### Saran

Penulis berharap pada pengujian kadar protein selanjutnya, pengerjaan dan perhitungan dapat dilakukan dengan lebih teliti dan lebih baik lagi.

## DAFTAR REFERENSI

- Afkar, M., Nisah, K., & Sa'dlah, H. (2020). Analisis kadar protein pada tepung jagung, tepung ubi kayu dan tepung labu kuning dengan metode Kjeldahl. *AMINA*, 1(3), 108–113. <https://doi.org/10.22373/amina.v1i3.46>
- Agustono, Lokapirnasari, W. P., Setyono, H., & Nurhajati, T. (2007). *Pengantar teknologi pakan ikan* (pp. 29–37). Universitas Airlangga.
- Amalia, D., & Fajri, R. (2020). Analisis kadar nitrogen dalam pupuk urea prill dan granule menggunakan metode Kjeldahl di PT Pupuk Iskandar Muda. *Jurnal Kimia Sains dan Terapan*, 2(1), 28–32. <https://doi.org/10.33059/jq.v2i1.2639>
- AOAC. (2000). *Official methods of analysis of AOAC International* (17th ed.). AOAC International.
- Bradstreet, R. B. (1965). *The Kjeldahl method for organic nitrogen*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4832-3298-0.50005-9>
- Dewi, S. (2013). *Jurus tepat budidaya ikan patin*. Pustaka Baru Press.
- Goyal, K., & et al. (2022). Kjeldahl method. In *Advanced techniques of analytical chemistry* (Vol. 1, pp. 105–112). Bentham Science. <https://doi.org/10.2174/9789815050233122010011>
- Helrich, K. (1990). *Official methods of analysis of the AOAC* (15th ed.). AOAC.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. (2013). *Data statistik tahunan produksi perikanan budidaya*. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya.
- Khan, R. H., Siddiqi, M. K., & Salahuddin, P. (2017). *Protein structure and function*. Austin Publishing Group.
- Kordi, M. G. H. (2011). *Marikultur: Prinsip dan praktik budi daya laut*. PT Andi Publisher.
- Mudjiman, A. (2001). *Makanan ikan* (Cetakan ke-15). Penebar Swadaya.

- Rassem, H. H. A., Nour, A. H., & Yunus, R. M. (2016). Techniques for extraction of essential oils from plants: A review. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 10(16), 117–127.
- Rendleman, J. A. (2000). Ammonia determination in Kjeldahl digest using boric acid indicator. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2459–2463.
- Sahato, G. A., Masduki, A., & Supriyanto, G. (2021). Analisis penetapan kadar protein dengan metode Kjeldahl. *Jurnal Ilmiah Sains Terapan*, 15(2), 95–101.
- Varianti, N. I., Atmomarsono, U., & Mahfudz, L. D. (2017). Pengaruh pemberian pakan dengan sumber protein berbeda terhadap efisiensi penggunaan protein ayam lokal persilangan. *Agripet*, 17(1), 53–59. <https://doi.org/10.17969/agripet.v17i1.7257>