

KAJIAN METODE TITRASI FORMOL DALAM PENGUKURAN PROTEIN SUSU SEGAR MELALUI VALIDASI METODE ANALISIS (VMA)

STUDY OF FORMOL TITRATION METHOD ON PROTEIN QUANTIFICATION OF FRESH MILK BY ANALITICAL METHOD VALIDATION

Hermawan Setyo Widodo*, Jodi Susanto, Yusuf Subagyo, Afduha Nurussyamsi dan Merryafinola Ifani

Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto

Email korespondensi: hsw@unsoed.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.20884/1.angon.2022.4.3.p303-309>

ABSTRAK

Latar Belakang. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kelayakan metode titrasi formol dalam pengukuran kadar protein pada susu segar. **Materi dan metode.** Materi yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel berupa susu sapi segar. Susu standar dibuat dengan menambahkan kasein hidrolisat sehingga diperoleh kadar protein 10%, 8%, 6%, 4%, dan 2%. Setiap standar diuji tripplikasi untuk diperoleh perhitungan LOD, LOQ, akurasi dan presisi. Data yang diperoleh selanjutnya disajikan secara deskriptif. **Hasil.** Hasil yang diperoleh menunjukkan metode titrasi formol mencapai nilai LOD 2,12%, LOQ 6,41%, tingkat akurasi 145,56% dan presisi pada kadar 2;4;6;8;10% yakni 3,58;4,40;3,12;3,58;2,58%. Kurva linier yang dihasilkan memiliki persamaan regresi $Y=2,0228X - 2,785$ dengan nilai R^2 sebesar 0,957. **Simpulan.** Dapat disimpulkan jika pengukuran protein susu menggunakan metode titrasi formol cukup baik, namun kurang akurat karena cenderung berlebih.

Kata Kunci : susu segar, kadar protein, titrasi formol, validasi metode analisis

ABSTRACT

Background. This research was conducted to determine the feasibility of the formol titration method in measuring protein content in fresh milk. **Material and method.** The material used in this study was a sample of fresh cow's milk. Standard milk was prepared by adding hydrolyzed casein to obtain protein content of 10%, 8%, 6%, 4% and 2%. Each standard was triplicate tested to obtain LOD, LOQ, accuracy and precision calculations. The data obtained is then presented descriptively. **Results.** The results obtained show that the formol titration method achieves an LOD value of 2.12%, LOQ of 6.41%, an accuracy rate of 145.56% and a precision of 2;4;6;8;10% are 3.58;4.40;3.12;3.58;2.58%. The resulting linear curve has a regression equation $Y=2.0228X - 2.785$ with an R^2 value of 0.957. **Conclusion.** It can be concluded that the measurement of milk protein using the formol titration method is quite good, but less accurate because it tends to be overquantify.

Keywords: fresh milk, protein quantity, formol titration, analytical method validation

PENDAHULUAN

Susu adalah sumber protein hewani yang sangat baik dan memiliki banyak nutrisi yang dibutuhkan oleh tubuh. Susu dapat dikonsumsi dalam bentuk susu segar maupun dalam bentuk olahan. Susu yang banyak tersedia di masyarakat umumnya berbentuk cair, bubuk, dan dadih. Susu segar adalah cairan yang didapat dari ambing sapi yang sehat dan bersih, diproduksi dengan metode pemerahan yang tepat, belum terdapat pengurangan atau penambahan pada kandungannya dan tidak mengalami proses apapun selain pendinginan (SNI, 2011).

Susu segar yang baik adalah susu yang memenuhi syarat Aman, Sehat, Utuh, dan Halal (ASUH). Syarat pangan ASUH yaitu (1) Tidak mengandung atau tidak bersentuhan dengan barang atau zat terlarang; (2) Bebas patogen seperti mikroorganisme penyebab penyakit hewan dan bebas residu zat yang membahayakan; (3) Tidak ada yang dikurangi dan ditambah sesuatu apapun; (4) terdapat nutrisi yang cukup. Keamanan susu ditentukan oleh beberapa faktor, antara lain selama pemerahan dan pengolahan susu menjadi suatu produk bahan pangan (Anindita dan Soyi, 2017).

Susu mengandung berbagai macam nutrisi yang utuh dan seimbang seperti protein, lemak, karbohidrat, mineral dan vitamin (Miarsono et al., 2021). 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, sehingga berdampak pada rendahnya harga jual susu di tingkat koperasi maupun industri pengolahan susu (Utami et al., 2018).

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 didalam susu terdiri dari kasein dan whey protein. Kasein terfraksinasi menjadi α_1 , α_2 , β , dan κ kasein, sementara whey protein terdiri dari α -laktalbumin, β -laktoglobulin, bovine serum albumin (BSA) dan imunoglobulin (Ig) (Widodo et al., 2021). Protein susu memiliki beberapa fungsi yaitu untuk metabolisme tubuh, menjaga kesehatan konsumen dengan menghasilkan peptida bioaktif (Widodo et al., 2019). Banyaknya kandungan protein yang terkandung di dalam susu dapat mempengaruhi harga jual susu. SNI (2011) mewajibkan susu memiliki kandungan protein minimal 2,8%.

Komposisi merupakan indikator kualitas susu segar. Bahan-bahan yang terkandung di dalam susu memiliki komposisi yang berbeda-beda pada setiap hewan. Pemeriksaan kualitas susu dapat dilakukan secara fisik, kimia dan mikrobiologi. Pengujian secara fisik dapat dilakukan dengan pengujian warna, rasa dan aroma, sedangkan pengujian kualitas susu secara kimia dapat dilakukan dengan menggunakan bahan kimia atau reaksi tertentu (Anindita dan Soyi, 2017).

Analisis kadar protein dalam susu dapat dilakukan dengan beberapa metode diantaranya yaitu Bradford, Kjeldahl, titrasi formol, ultrasonik dan lowry. Titrasi formol dapat menghitung protein terlarut dalam cairan berdasarkan kesetimbangan asam basa. Menggunakan metode titrasi formol dinilai cukup baik dalam mengukur kadar protein susu (Ling, 1963). Kelemahan metode tersebut yaitu dapat terjadi

variasi warna serta kurang tepat dalam menentukan jenis protein tertentu. adapun kelebihan dari titrasi formol yaitu mudah, cepat dan tidak memerlukan keahlian khusus.

Kajian dalam menentukan kelayakan metode tersebut perlu dilakukan. Hal ini menjadi penting karena tinggi rendahnya kandungan protein di dalam susu dapat mempengaruhi harga jual susu (Anindita dan Soyi, 2017). Kelayakan metode tersebut dapat dilakukan dengan pendekatan Validasi Metode Analisis (VMA) yang kan memperoleh nilai LOD, LOQ, akurasi dan presisi. Kajian mengenai hal ini belum banyak dilakukan khususnya di Indonesia, sehingga penelitian ini diharapkan mampu menjawab permasalahan di atas.

METODE PENELITIAN

Materi yang digunakan adalah gelas ukur 100 ml, erlenmeyer 100 ml, beaker glass 250 ml, buret, pipet tetes, labu ukur, tabung reaksi, rak tabung reaksi. Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah sampel berupa susu sapi segar dari peternakan sapi perah di Banyumas, aquades, larutan NaOH 0,1 N, larutan formalin 40%, indikator Phenolphthalein 1% dan kalium oksalat jenuh.

Pembuatan larutan susu standar

Tahap pelaksanaan penelitian dilakukan dengan mengambil susu segar sebanyak 500 ml. Sampel susu tersebut selanjutnya digunakan sebagai bahan dasar susu standar dengan terlebih dahulu dihitung kadar proteinnya dengan metode Kjeldahl. Susu yang telah diketahui kadar proteinnya selanjutnya ditambahkan kasein hidrolisat hingga diperoleh kadar protein 10% di dalam susu. Susu tersebut selanjutnya diencerkan menjadi kadar protein 8%, 6%, 4% dan 2%.

Pengukuran kadar protein susu dengan metode titrasi formol.

Pengukuran dengan metode ini mengikuti referensi dari Pyne (1932) yang telah dimodifikasi dan disadur oleh Ling (1963). Secara garis besar dilakukan dengan : Sampel susu 10 ml dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Tambahkan 20 ml aquades dan 0,4 ml kalium oksalat jenuh dan 1 tetes PP 1% kemudian diamkan selama 2 menit. sampel dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai mencapai merah muda. Setelah titik akhir titrasi tercapai, ditambahkan 2 tetes formalin 40% dan titrasi kembali dengan larutan NaOH 0,1 N sampai berubah warna menjadi merah muda. Pembuatan larutan blangko 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 titrasi 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. Setiap kadar sampel dilakukan uji secara triplikasi.

Validasi Metode Analisis

Kajian dengan metode ini memerlukan beberapa parameter ukur yang dapat dilakukan berdasarkan pengujian susu standar. Parameter tersebut yakni :

1. Limit of Detection (LOD)

Nilai ini merupakan kuantitas minimum suatu sampel uji dapat diidentifikasi oleh metode yang digunakan. Nilai ini dapat dihitung menggunakan persamaan :

$$LOD = \frac{3,3 \times SD}{Slope}$$

2. Limit of Quantity (LOQ)

Nilai ini merupakan kuantitas sampel uji terendah yang dapat dihitung oleh metode pengukuran. Nilai ini dapat dihitung menggunakan persamaan :

$$LOQ = \frac{10 \times SD}{Slope}$$

3. Presisi

Presisi merupakan pengukuran derajat kedekatan antara hasil uji individual atau tiap kadar. Nilai ini dapat diperoleh dengan menghitung koefisien variasi dari hasil pengukuran tiap kadar dengan pengulangannya.

4. Akurasi

Akurasi merupakan pengukuran derajat kedekatan antara hasil analisis dengan kadar sebenarnya. Nilai akurasi dapat diperkirakan dengan menghitung nilai recovery atas pengukuran kadar standar.

5. Linieritas

Linieritas merupakan nilai korelasi antara beberapa pengukuran atas kadar standar suatu sampel. Linieritas dapat dihitung menggunakan analisis regresi dan korelasi.

Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini selanjutnya disajikan secara deskriptif dengan membandingkan pada referensi.

Hasil dan pembahasan

Akurasi

Hasil dari pengukuran akurasi metode titrasi formol dalam mengukur kadar protein susu disajikan dalam Tabel 1. Nilai akurasi dari metode pengukuran kadar protein susu menggunakan titrasi formol diperoleh nilai 145,56% dengan SD 1,29 dan KV 0,89%. Hasil ini menunjukkan angka yang terlalu tinggi dari standar pengukuran sebuah metode. Menurut Harmita (2004) nilai akurasi yang dapat diterima pada pengukuran sebuah sampel yakni 95-105%. Metode titrasi formol memberikan nilai akurasi yang berada jauh di atas nilai standar. Hal ini terjadi karena menghasilkan nilai pengukuran di atas kadar sebenarnya, sehingga dapat memberikan implikasi berupa metode ini akan memberikan data yang terlalu tinggi (over calculation) pada pengukuran kadar protein susu.

Presisi

Hasil pengukuran nilai presisi metode titrasi formol dalam pengukuran kadar protein susu disajikan pada Tabel 2. Hasil perhitungan nilai presisi pengukuran kadar protein susu dengan metode titrasi formol memperoleh hasil yang bervariasi. Walaupun

demikian hasil tersebut dinilai kurang baik karena berada di atas 2%. Nilai presisi yang baik yakni memiliki koefisien variasi kurang dari 2% (Harmita, 2004). Hasil tersebut menunjukkan tingkat presisi metode titrasi formol yang kurang baik dalam mengukur kadar protein susu.

Tabel 1. Perhitungan nilai akurasi metode titrasi formol

Kadar Standar (g/dl)	Hasil Pengukuran (g/dl)	Recovery (%)	Rata-rata per kadar (%)	Rata-rata recovery (%)	Standar Deviasi (%)	Koefisien Variasi (%)
2	2,65	132,50				
2	2,75	137,50	132,67			
2	2,56	128,00				
4	4,47	111,75				
4	4,87	121,75	117,50			
4	4,76	119,00				
6	7,41	123,50				
6	7,87	131,17	126,78	145,56	1,29	0,89
6	7,54	125,67				
8	12,63	157,88				
8	13,56	169,50	164,21			
8	13,22	165,25				
10	19,21	192,10				
10	18,30	183,00	186,63			
10	18,48	184,80				

Tabel 2. Hasil perhitungan nilai presisi pengukuran kadar protein susu

Kadar Standar (g/dl)	Hasil Pengukuran (g/dl)	Rata-rata pengukuran (g/dl)	Simpangan Deviasi	Koefisien Variasi (%)
2	2,65			
2	2,75	2,65	0,10	3,58
2	2,56			
4	4,47			
4	4,87	4,70	0,21	4,40
4	4,76			
6	7,41			
6	7,87	7,61	0,24	3,12
6	7,54			
8	12,63			
8	13,56	13,14	0,47	3,58
8	13,22			
10	19,21			
10	18,30	18,66	0,48	2,58
10	18,48			

LOD dan LOQ

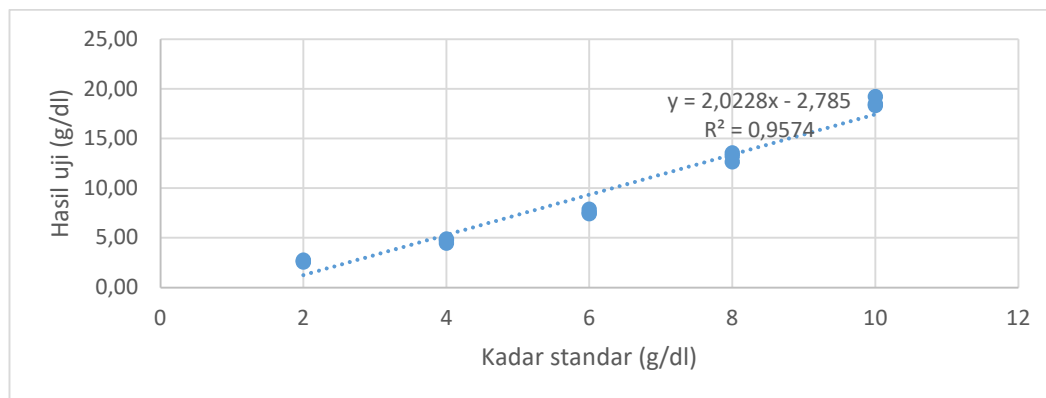
Nilai LOD dan LOQ dari pengukuran protein susu menggunakan metode titrasi formol disajikan pada Tabel 3. Hasil dari perhitungan nilai LOD dan LOQ menunjukkan nilai yang cukup besar. Metode titrasi formol hanya dapat mendeteksi kadar protein setidaknya pada 2,12g/dl. Metode ini juga baru dapat menghitung kadar protein dengan baik pada 6,41g/dl. Hal tersebut menunjukkan adanya kekuranglayaknya metode dalam mengukur kadar protein susu. Metode pengukuran yang layak memerlukan rentang kemampuan pengukuran yang sesuai dengan kadar sampel (Fatimah et al., 2018). Pendapat tersebut diberikan karena kadar protein susu secara

normal yakni 3,5% (Oka et al., 2018), sehingga kemampuan metode tersebut pada penelitian ini kurang baik.

Tabel 3. Nilai LOD dan LOQ pengukuran kadar protein susu

Metode	LOD (g/dl)	LOQ (g/dl)
Titrasi formol	2,12	6,41

Linieritas



Ilustrasi 1. Kurva linier, regresi dan korelasi yang dihasilkan dari pengukuran standar.

Hasil dari analisis nilai linieritas menunjukkan adanya korelasi sebesar 0,957 dari kadar hasil pengukuran dan kadar standar. Nilai tersebut dinilai kurang baik karena cukup kecil dibandingkan referensi. Nilai korelasi linier pada larutan standar sebanyak 5 level yakni 0,991; pada 6 level yakni 0,974; pada 7 level yakni 0,951 (Lawson, 1996). Hasil tersebut lebih kecil daripada referensi yang dirujuk. Linieritas pada pengukuran kadar protein susu menggunakan metode titrasi formol disajikan pada Ilustrasi 1.

SIMPULAN

Dari hasil tersebut dapat disimpulkan jika pengukuran kadar protein susu dengan metode titrasi formol dinilai kurang layak. Simpulan tersebut muncul dengan mempertimbangkan hasil yang kurang baik pada semua parameter pengukuran. Walaupun demikian, diperlukan kajian lebih lanjut untuk memberikan hasil penelitian yang lebih komprehensif mengenai penggunaan metode tersebut.

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 Case Study: Animal Food Quality Control Through Moving Cow Milk Quality Testing In Yogyakarta. *Jurnal Peternakan Indonesia*, 19(2):96-105.
- Fatimah, S.F., V. Aisyah dan L.H. Nurani. 2018. Validasi metode analisis b-karoten dalam ekstrak etanol 96% Spirulina maxima dengan spektrofotometri visibel. *Media Farmasi*, 15(1):1-13.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1(3):117- 135.

-
- Lawson, L. 1996. Evaluation of Calibration Curve Linearity. Guidance Memo. No. 96-007 pp:1-9.
- Ling, E. R. 1963. A text Book of Dairy Chemistry Vol. 2. 3rd Ed., Chapman and Hall, London UK.
- Miarsono, S., W.R. Putri, dan J.W.A.P. 2021. Perbandingan Kadar Lemak, Protein dan Bahan Kering Tanpa Lemak (BKTL) pada Susu Sapi Segar di Kota Kediri dan Kabupaten Kediri. *Jurnal Ilmiah Fillia Cendekia*, 6(1):33-35.
- Oka, B., M. Wijaya dan K. Kadirman. 2018. Karakterisasi Kimia Susu Sapi Perah di Kabupaten Sinjai. *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian*, 3(2):195.
- Pyne, G.T. 1932. The formol titration of milk. *Biochem. J*, 26:1005, 27: 915.
- Standar Nasional Indonesia (SNI). 2011. SNI No.3141.1:2011 mengenai susu segar. Badan Standarisasi Nasional, Jakarta.
- Utami, K.B., L.E. Radiati dan P. Surjowardojo. 2018. Kajian Kualitas Susu Sapi Perah PFH (Studi Kasus pada Anggota Kope-Rasi Agro Niaga di Kecamatan Jabung Kabupaten Malang). *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 24(2):58-66.
- Widodo, H.S., T.Y. Astuti, P. Soediartha dan A.N. Syamsi. 2021. Identification of Goats' and Cows' Milk Protein Profile in Banyumas Regency by Sodium Dodecyl Sulphate Gel Electrophoresis (Sds-Page). *Animal Production*, 23(32):27-33.
- Widodo, H.S., T.W. Murti, A. Agus dan W. Widodo. 2019. Mengidentifikasi Peptida Bioaktif Angiotensin Converting Enzyme-Inhibitor (Acei) dari Kasein B Susu Kambing dengan Polimorfismenya melalui Teknik In Silico. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 7(4):180-185.