

ANALISIS PERBANDINGAN KADAR PROTEIN DAN DUGAAN ASAM AMINO DALAM ASI, SUSU FORMULA DAN SUSU KEDELAI MENGGUNAKAN HPLC

Lisa Anggraeni¹, Muhammad Fauzi^{2*}, Aris Fadillah³

Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Islam Kalimantan Muhammad Arsyad Al-Banjari^{1,2,3}

*Corresponding Author : fauzi.ozil294@gmail.com

ABSTRAK

Saat awal pertumbuhan bayi memerlukan nutrisi untuk membantu proses tumbuh kembangnya. Sumber nutrisi utama didapatkan adalah dengan pemberian ASI yang dilakukan dari usia 0–6 bulan. Pada masa kini masih banyak ditemukan ibu yang tidak dapat memberikan ASInya, sehingga membuat ibu memberikan susu formula dan susu formula kedelai sebagai pengganti ASI. Tujuan dari penelitian ini untuk membandingkan kadar protein yang tertinggi dalam ASI, susu formula dan susu kedelai dengan standar SNI dan senyawa asam amino terduga menggunakan metode HPLC. Penelitian ini bersifat eskperimental dengan menggunakan metode kjeldahl untuk mengetahui kadar nitrogen total dan metode HPLC untuk mengetahui senyawa asam amino terduga. Diperoleh hasil kadar protein total ASI= 23,50% ; kadar protein total susu formula= 23,19% dan ; kadar protein total susu kedelai= 11,90% yang masing-masingnya telah memenuhi persyaratan SNI dan nilai kadar protein tertinggi diperoleh oleh ASI. ASI terdeteksi adanya senyawa terduga asam glutamat, serin, histidin, arginin sedangkan dalam susu formula serin, tirosin, valin dan pada susu kedelai tidak terdeteksi adanya senyawa asam amino.

Kata kunci : asam amino, ASI, HPLC, Kjeldahl, Susu formula

ABSTRACT

During the early stages of growth, babies need nutrients to help their growth and development.. The main source of nutrition is obtained through breastfeeding from 0-6 months of age. Nowadays, there are still many mothers who cannot provide breast milk, so they give formula milk and soy milk to replace breast milk. This study aims to compare the highest protein content in breast milk, formula milk and soy milk with SNI standards and the highest amino acid content by HPLC method. This experimental study used the kjeldahl method to determine the total nitrogen content and the HPLC method to determine the highest amino acid content. The total protein content of breast milk= 23.50%; total protein content of formula milk= 23.19% and; total protein content of soy milk= 11.90% each of which has met the SNI requirements and the highest protein content value is obtained by breast milk. Breast milk detected the presence of suspected compounds of glutamic acid, serine, histidine, arginine while in formula milk serine, tyrosine, valine and in soy milk no amino acid compounds were detected.

Keywords : amino acid, breast milk, formula milk, HPLC, Kjeldahl

PENDAHULUAN

Saat awal pertumbuhan bayi membutuhkan yang namanya nutrisi untuk proses tumbuh kembangnya. Pertumbuhan dan perkembangan adalah proses yang berlangsung dalam setiap tahapan usia anak. Tahap tumbuh kembang pada bayi usia 0-6 bulan dimulai dari masa parenteral (mulai masa embrio hingga 8 minggu), kemudian masa fetus (9 minggu hingga lahir), masa pascanatal (mulai dari neonates hingga 28 hari), dan masa bayi (29 hari hingga 1 tahun) (Wahyuni, 2018). Proses tumbuh kembang harus diimbangi dengan asupan nutrisi. Sumber nutrisi yang pertama kali didapatkan ialah pemberian air susu ibu (ASI) yang dilakukan dari usia 0–6 bulan yang dapat mendorong pertumbuhan dan perkembangan yang sehat pada bayi yang dilanjutkan dengan pemberian makanan pendamping diatas usia 6 bulan (Nisa dan Merben, 2023).

ASI memiliki komponen yang meliputi air 87%, lemak 3,8%, protein 1,0%, dan 7% laktosa. Masing-masing dari komponen makronutrien lemak dan laktosa tersedia 50% dan 40% pada total energi ASI (Hidayatunnikmah, 2019). Dilihat dari waktu produksinya ASI dapat dibedakan menjadi kolostrum yang keluar di hari pertama sampai hari keempat setelah melahirkan, kemudian air susu masa peralihan (*traditional milk*) yaitu ASI yang keluar setelah kolostrum sampai sebelum ASI matang yaitu sejak hari ke-4 sampai dengan hari ke-10, dan air susu matur yaitu ASI yang dihasilkan dari hari kesepuluh hingga seterusnya (Jahriah *et al.*, 2022). Bayi yang diberi ASI eksklusif menjadi lebih sehat dibanding dengan bayi yang hanya diberikan susu formula. Pemberian susu formula yang salah dapat menyebabkan risiko infeksi saluran kemih, saluran nafas, dan telinga pada bayi. Selain itu bayi yang tidak tahan terhadap susu formula dapat mengalami diare, alergi, diabetes, sakit perut (kolik), dan permasalahan saluran pencernaan (Salamah dan Prasetya, 2019).

Data Badan Pusat Statistik (2022) terbaru menunjukkan presentase pemberian ASI eksklusif dalam negeri mencapai 72,04% dari populasi bayi yang berusia 0 hingga 6 bulan tahun 2022. Provinsi Kalimantan Selatan masuk kedalam 10 provinsi dengan presentase pemberian ASI eksklusif terendah pada tahun 2022 yaitu 64,59%. Faktor-faktor yang menyebabkan ibu tidak dapat memberikan ASI eksklusif adalah pengetahuan ibu yang kurang, status pekerjaan, dukungan dari keluarga, keterpaparan susu formula, dan kurangnya peran tenaga kesehatan (Putra *et al.*, 2020). Penelitian lain juga menyebutkan kurangnya informasi pasca melahirkan, pemahaman yang salah dalam menyusui, dan ibu kembali bekerja setelah cuti pasca melahirkan (Rahma *et al.*, 2021).

Secara tidak langsung pemberian ASI tidak eksklusif dapat menyebabkan bayi tidak mendapat asupan gizi dari ASI. Perlu menjadi perhatian bahwasannya kekurangan gizi pada bayi dan balita dapat menghambat proses pertumbuhan dan perkembangan tubuh. Salah satunya adalah kurangnya energi protein. Protein merupakan zat gizi yang berperan dalam pembentukan antibodi, membantu dalam proses metabolisme dan sebagai sumber energi utama dalam tubuh (Syadita *et al.*, 2020). Fungsi utama protein pada masa pertumbuhan adalah untuk membentuk jaringan baru dan memperkuat jaringan yang sudah ada (Purnama *et al.*, 2019). Faktor dari mengkonsumsi zat nutrisi seperti protein yang kurang menyebabkan pertumbuhan organ dan jaringan tubuh menjadi terhambat dan menimbulkan lemahnya daya tahan tubuh bayi terhadap penyakit (Suhaimi *et al.*, 2022). Dewasa ini tidak jarang ditemui banyak ibu yang memberikan susu formula sebagai nutrisi tambahan selain ASI eksklusif karena dianggap memiliki nilai gizi yang tinggi. Banyak ragam modus yang ditawarkan dalam menjual produk susu formula terkhususnya susu formula untuk bayi baru lahir. Hal ini menyebabkan ibu ingin mencoba berbagai jenis susu formula yang bertujuan untuk menunjang nutrisi yang cukup bagi bayinya (Audihani *et al.*, 2020).

Tujuan dari penelitian ini untuk membandingkan kadar protein yang tertinggi dalam ASI, susu formula dan susu kedelai dengan standar SNI dan senyawa asam amino terduga menggunakan metode HPLC.

METODE

Sampel ASI didapatkan dari ibu yang memiliki bayi berusia 0-6 bulan di Kota Pelaihari. Sampel susu formula sapi dan susu formula kedelai didapatkan dari swalayan untuk bayi usia 0-6 bulan yaitu susu formula bermerk 'S' dan susu formula kedelai bermerk 'S'. Sampel ASI didapatkan dari ibu yang telah setuju memberikan ASInya yang dibuat kedalam *informed consent*. Ibu yang dipilih adalah ibu yang sehat, mengkonsumsi makanan dan nutrisi yang cukup, dan tidak merokok. *Informed consent* diperlukan sebagai persetujuan yang memuat ketersediaan ibu dalam memberikan ASInya untuk digunakan sebagai sampel. Kemudian ASI diambil dan dibuat kedalam wadah steril yang selanjutnya dibawa untuk dianalisis. Dalam

penelitian ini menggunakan rancangan metode yang umum digunakan yaitu metode Kjeldahl dimana metode ini digunakan dalam menentukan kadar nitrogen dalam setiap sampel dengan tiga tahapan analisis yaitu destruksi (pemisahan), destilasi (netralisasi) dan titrasi. Kemudian analisis senyawa terduga asam amino pada sampel menggunakan Thermo Vanquish HPLC. Pada penelitian ini analisa data dilakukan dengan melihat hasil kromatogram asam amino terduga dalam ASI, susu formula, dan susu kedelai. Kemudian hasil data yang didapatkan berupa tabel dan grafik yang dihasilkan dari perhitungan nitrogen total dengan metode kjeldahl dan analisis senyawa asam amino menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) pada sampel.

HASIL

Hasil Standarisasi NaOH 0,1 N dengan Asam Oksalat

Hasil standarisasi NaOH 0,1 N dengan asam oksalat dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Standarisasi Volume NaOH dengan Asam Oksalat

Volume Awal NaOH (mL)	Volume Akhir NaOH (mL)	N NaOH (mL)
50	9,3	0,537
50	9,6	0,520
50	9,0	0,555
Volume NaOH rata-rata (mL)		0,537

Dari data tabel 1 hasil volume NaOH rata-rata adalah 0,537 N.

Hasil Penetapan Kadar Protein ASI

Hasil penetapan kadar protein pada ASI dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Penetapan Kadar Protein ASI

Volume NaOH (ml)	Volume Blanko	Volume Susu (ml)	Kadar Protein (%)
0,00 – 22,0 ml	0,00 – 7,0 ml	15 ml	23,50%

Dari data tabel 2 hasil yang diperoleh memenuhi persyaratan SNI 3141. 1:2011 untuk susu segar yaitu 2,8%.

Hasil Penetapan Kadar Protein Susu Formula

Hasil penetapan kadar protein pada susu formula merk “S” dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Penetapan Kadar Protein Susu Formula

Volume NaOH (ml)	Volume Blanko	Berat Susu (g)	Kadar Protein (%)
0,00- 21,5 ml	0,00 – 7,0 ml	3 g	23,19%

Dari data tabel 3 hasil yang diperoleh memenuhi persyaratan SNI 01-2970-2006 untuk susu formula yaitu > 23,0%.

Hasil Penetapan Kadar Protein Susu Formula Kedelai

Hasil penetapan senyawa protein susu formula kedelai dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Penetapan Kadar Protein Susu Formula Kedelai

Volume NaOH (ml)	Volume Blanko	Berat Susu (g)	Kadar Protein (%)
0,00- 16,5 ml	0,00 – 7,0 ml	3 g	11,90%

Dari data tabel 4 hasil yang diperoleh sudah sesuai dengan persyaratan SNI 01-3830-1995 untuk susu kedelai yaitu > 2,0%.

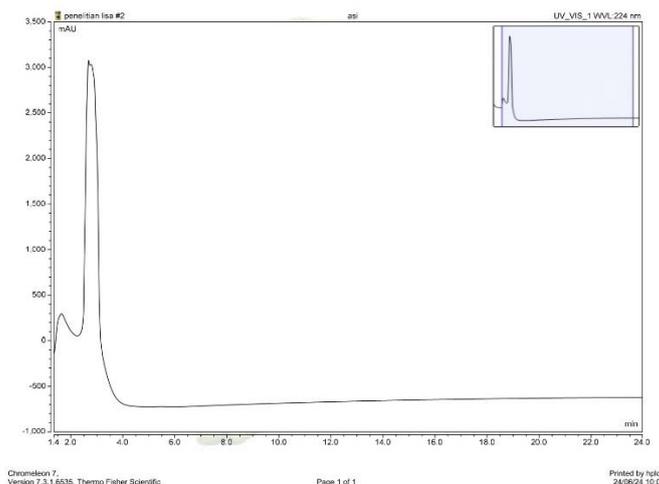
Hasil Penetapan Senyawa Asam Amino ASI

Hasil penetapan senyawa asam amino ASI dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 4. Hasil Penetapan Senyawa Asam Amino ASI

No	Asam Amino	RT
1.	Asam glutamat	2,600
2.	Serin	5,525
3.	Histidin	6,284
4.	Arginin	11,150

Dari data tabel 5 didapatkan dugaan senyawa asam amino dalam ASI yaitu asam glutamat, serin, histidin dan arginin. Hasil grafik penetapan senyawa asam amino dapat dilihat pada grafik 1.

**Gambar 1. Grafik Senyawa Asam Amino ASI**

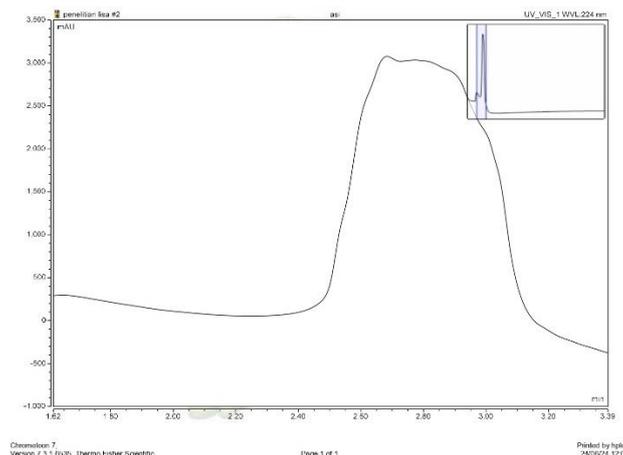
Hasil Penetapan Senyawa Asam Amino Susu Formula

Hasil penetapan senyawa asam amino susu formula merk “S” dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 5. Hasil Penetapan Senyawa Asam Amino Susu Formula

No	Asam Amino	RT
1.	Serin	5,550
2.	Tirosin	16,950
3.	Valin	20,571

Dari gambar 2 didapatkan dugaan senyawa asam amino dalam susu formula yaitu serin, tirosin dan valin.



Gambar 1. Grafik Senyawa Asam Amino Susu Formula

Hasil Penetapan Senyawa Asam Amino Susu Formula kedelai

Hasil penetapan senyawa asam amino susu kedelai tidak terdeteksi adanya dugaan senyawa asam amino.

PEMBAHASAN

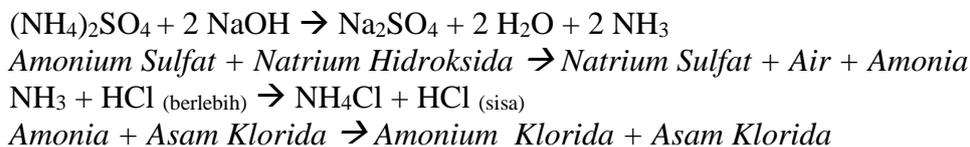
Analisis Semi-mikro Kjeldahl

Analisis kadar protein pada sampel ASI, susu formula dan susu formula kedelai bertujuan untuk melihat perbandingan nilai kadar nitrogen total. Acuan pada penelitian ini adalah SNI 3141. 1:2011 untuk ASI, SNI 01-2970-2006 untuk susu formula dan SNI 01-3830-1995 untuk susu kedelai. Analisis kadar protein dapat ditentukan dengan menggunakan metode kjeldahl. Metode kjeldahl merupakan metode semi-mikro yang didasarkan pada pengukuran kadar nitrogen total yang terdapat di dalam sampel. Metode kjeldahl digunakan untuk mengukur kadar protein kasar secara tidak langsung pada bahan pangan. Metode ini dipilih karena sampel tidak memerlukan proses ekstraksi dan hanya membutuhkan sedikit sampel dan pereaksi (Nisah *et al.*, 2021). Prinsip metode kjeldahl yaitu senyawa protein pada sampel didestruksi dengan menggunakan asam sulfat. Selanjutnya didestilasi pada suasana basa dan ditampung oleh asam klorida, kemudian destilat dititrasi dengan dengan NaOH hingga menghasilkan warna merah jambu. Metode kjeldahl terdiri atas tiga proses yaitu proses destruksi, destilasi dan titrasi. Sebelumnya dilakukan pembuatan larutan dan standarisasi larutan NaOH 0,1 N. Standarisasi dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali didapatkan hasil rata-ratanya sebesar 0,537 N. Tujuan dilakukan pengulangan agar meminimalisir terjadinya kesalahan.

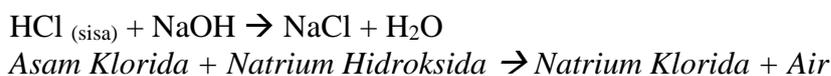
Analisis dimulai dari proses destruksi, pada proses ini sampel mengalami pemecahan senyawa organik menjadi nonorganik dengan H_2SO_4 . Penambahan H_2SO_4 bertujuan agar mengikat nitrogen dan menguraikan unsur-unsur C, H, N dan O (Nisah, Afkar, dan Sa'diah 2021). Unsur hidrogen dan karbon teroksidasi menjadi karbon dioksida dan air dan unsur nitrogen akan berubah menjadi amonium sulfat. Larutan kemudian ditambahkan selenium dan dipanaskan selama $\pm 3 - 4$ jam, pemanasan ini bertujuan agar sampel dapat larut dengan mudah dan senyawa-senyawa yang tidak dibutuhkan dapat dihilangkan hingga didapatkan hasil larutan berwarna jernih. Dalam proses destruksi reaksi yang terjadi sebagai berikut:



Tujuan ditambahkan selenium (katalisator) ialah untuk mempercepat titik didih dari asam sulfat dan digunakan selenium sebagai katalisator karena lebih reaktif dari kupri sulfat (katalis) (Fajarwati, Hermawati dan Widada, 2022). Proses kedua yaitu destilasi yang bertujuan untuk memecah amonium sulfat menjadi amonia (NH_3). Prinsip destilasi yaitu memisahkan cairan dengan perbedaan titik didih. Hasil destruksi diencerkan dengan menambahkan aquadest, kemudian ditambahkan larutan NaOH 40% dan serbuk Zn. Penambahan NaOH bertujuan untuk membuat suasana basa (Nisah, Afkar, dan Sa'diah, 2021). Serbuk Zn ditambahkan agar proses destilasi tidak menimbulkan gelembung yang besar dan percikan cairan saat proses pemanasan. Labu kemudian dipasang ke alat destilat yang telah dihubungkan dengan kondensor. Amonia (NH_3) bebas yang melalui proses pemanasan akan menguap melewati kondensor dalam bentuk cairan yang akan ditangkap oleh erlenmeyer penampung yang sebelumnya telah diisi HCl 0,1 N dan indikator MM. HCl berfungsi untuk memudahkan menarik amonia dengan maksimal. Proses destilasi berakhir dengan menghasilkan destilat yang tidak menunjukkan warna atau jernih karena tidak bereaksi lagi terhadap indikator MM. Reaksi yang terjadi sebagai berikut:



Proses terakhir yaitu titrasi bertujuan untuk menentukan banyaknya volume NaOH yang diperlukan untuk mengubah warna larutan menjadi merah jambu. HCl berlebih yang tidak bereaksi dengan amonia dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N kedalam hasil dari destilat yang sebelumnya telah ditambahkan dengan indikator PP. Sampel dititrasi hingga berubah warna merah jambu. Reaksi yang terjadi pada proses titrasi adalah sebagai berikut:



Volume titrasi masing-masing sampel dapat dilihat pada **tabel 1, 2 dan 3**. Untuk memperoleh kadar nitrogen dalam masing-masing sampel maka dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Nitrogen} =$$

$$\% \text{ Protein} = \% \text{ Kadar nitrogen} \times \text{faktor konversi}$$

Dengan faktor konversi ASI 6,25 dan susu formula 6,38 (Sinaga *et al.*, 2021).

Didapatkan hasil berturut turut yaitu kadar protein ASI = 23,50%, susu formula = 23,19%, dan susu formula kedelai = 13,11%. Kadar protein yang diperoleh dari masing-masing telah memenuhi dari masing-masing persyaratan SNI. Dari hasil tersebut menunjukkan ASI memiliki kadar protein lebih tinggi dibandingkan dengan susu formula bermerk "S" dan susu formula kedelai bermerk 'S'. Penelitian ini sesuai dengan hasil Audihani (2020) yang mengemukakan penelitian lain, disebutkan bahwa kandungan protein dalam ASI lebih tinggi dibandingkan susu formula. Protein pada ASI sebagian besar adalah protein whey, yaitu protein yang mengandung antibody, lisozim dan laktoferin yang berfungsi dalam melawan infeksi dan penyakit pada bayi sedangkan dalam susu formula adalah protein kasein (Audihani *et al.*, 2020). Terkandung sekitar 80% protein kasein didalam susu sapi yang berfungsi untuk pertumbuhan otot dan masa tulang, namun kandungan protein kasein yang terlalu tinggi dapat membentuk gumpalan di lambung bayi yang sulit dicerna oleh bayi. Dalam ASI mengandung zat gizi seperti vitamin, mineral dan protein yang tersedia dalam jumlah kecil dibandingkan dengan susu formula.

Walaupun demikian hal tersebut menjadikan nutrisi yang terkandung dalam ASI dapat terserap secara optimal dalam pencernaan bayi dan sebaliknya zat gizi yang terlalu banyak dapat membuat nutrisinya tidak terserap secara optimal (Wijaya, 2019). Kebutuhan protein pada bayi per hari adalah 10 g dan rata-rata bayi mengkonsumsi ASI per hari adalah sebanyak 780 ml. Dalam penelitian Mega (2013) kebutuhan protein bayi perhari adalah $\geq 1,17\%$ menurut *Nutrient Reference Values for Australia and New Zealand*.

Penelitian Sinaga *et al* (2021) menyebutkan bahwa ASI diproduksi benar-benar diperuntukkan hanya untuk bayi yang dapat menyesuaikan pertumbuhan serta perkembangan bayi. Hal tersebut berbeda dengan susu formula karena susu formula berasal dari hewan mamalia tertentu walaupun sempurna untuk keturunannya. Hasil tersebut sejalan dengan hasil penelitian ini yang menyatakan bahwa kadar protein ASI lebih tinggi dari susu formula dan susu kedelai. Hasil penelitian Mega (2013) menyebutkan bahwa perbandingan kadar protein pada sampel dengan daily intake menurut *Nutrient Reference Values for Australia and New Zealand (daily intake protein $\geq 1,17\%$)* berbeda signifikan dengan hasil penelitian. Hal tersebut sejalan dengan penelitian ini dimana hasil sampel ASI dan susu formula yang terdiri atas susu formula sapi dan susu formula kedelai berbeda signifikan dengan daily intake protein dan telah mencukupi kebutuhan protein pada bayi. Pemilihan ibu yang tepat menjadi faktor penting dalam penentuan hasil penelitian. Faktor lain seperti pengolahan pada saat akan dikonsumsi (contoh: penggunaan air panas yang terlalu banyak dan wadah atau air yang terkontaminasi dan lain-lain) dapat menyebabkan kandungan susu formula berubah atau rusak (Sinaga *et al.*, 2021).

Analisis Asam Amino dengan Metode HPLC

Terdapat dua jenis asam amino yang diperlukan sebagai komponen utama dalam penyusun protein yaitu asam amino esensial dan asam amino non esensial (Sari *et al.*, 2018). Asam amino yang tidak bisa diproduksi oleh tubuh sehingga perlu didapatkan dari makanan yang tinggi protein disebut asam amino esensial contohnya seperti lisin, metionin, valin, histidine, fenilamin, leusin, triptopan, isoleusin dan treonin sedangkan asam amino non-esensial merupakan asam amino yang dapat diproduksi oleh tubuh. Contohnya seperti alanin, prolin, serine, sistein, asparagin, asam aspartat, glisin dan glutamin (Minarni, 2022). Analisis asam amino ini bertujuan untuk menduga jenis asam amino yang ada dalam ASI, susu formula dan susu kedelai dengan menggunakan High Performance Liquid Chromatography (HPLC) dengan melakukan pemisahan secara prakolom yang diikuti oleh pemisahan dengan fase terbalik yang memakai detektor fluoresensi dan menghasilkan data analisa berbentuk kromatogram (Farida *et al.*, 2020).

Kromatografi fase terbalik merupakan kebalikan dari fase normal dimana dalam kromatografi fase terbalik fase gerak bersifat polar dan fase diamnya bersifat non polar. Pemisahan kromatografi ini berdasarkan hidrofobisnya dimana komponen sampel yang bersifat lebih hidrofobik (non polar) akan bertahan lebih lama untuk bisa melewati kolom karena berinteraksi dengan fase diam sedangkan komponen yang bersifat kurang hidrofobik (polar) tidak membutuhkan waktu lama untuk menuju detektor. Analisis dimulai dengan tahap hidrolisis sampel. Sampel dihidrolisis dengan larutan HCl 6 N dan dipanaskan di dalam tanur pada suhu 100° C selama 24 jam. Pemanasan ini bertujuan untuk memecah dan menguraikan ikatan peptida menjadi lebih sederhana (Farida *et al.*, 2020).

Tahap selanjutnya adalah membuat larutan pengering. Larutan tersebut dibuat dari campuran metanol, na tiosianat dan trietilamin dengan perbandingan 4:3:3. Larutan pengering diambil sebanyak 30 μ L dan ditambahkan kedalam sampel yang telah dihidrolisis. Tahap berikutnya adalah pembuatan larutan derivatisasi. Larutan tersebut terbuat dari metanol, na-asetat dan trietilamin dengan perbandingan 3:3:4. Tujuan penambahan larutan derivatisasi pada sampel bertujuan agar sampel dapat mudah terdeteksi oleh detektor (Azka *et al.*, 2015).

Digunakan fase gerak asetonitril dan air dengan perbandingan 1:1 (50 ml : 50 ml). Asetonitril merupakan pelarut polar yang umum digunakan sebagai fase gerak dalam kromatografi fase terbalik. Fase gerak difilter dengan menggunakan kertas milipore 0,45 yang bertujuan agar menghindari masuknya partikel-partikel kecil kedalam fase gerak. Kemudian diultrasonic selama 15 menit yang bertujuan agar menghilangkan gelembung dalam fase gerak (Suprianto, 2023).

Fase gerak berperan sebagai pembawa komponen menuju dektektor dan melewati fase diam, pada tahap ini komponen akan terpisah sesuai dengan tingkat kepolarannya. Sedangkan fase diam adalah partikel kecil yang berpori dan memiliki area surface tinggi. Fase gerak yang telah dibuat kedalam reservoir (botol kaca) akan dialirkan oleh pompa dengan laju alir yang telah ditentukan menggunakan program HPLC. Selanjutnya sampel diinjeksikan melalui injektor dan dibawa oleh fase gerak ke kolom. Fase gerak akan melewati fase diam sehingga komponen sampel (menurut kepolarannya) akan tertahan yang akan terus dialirkan hingga menuju ke detektor. Kemudian detektor mendeteksi adanya komponen asam amino dalam kolom (Angraini dan Desmaniar, 2020).

Fase gerak	Asetonitril dan air (1:1)
Fase diam	Kolom oktadesilsilan (C-18) (non polar)
Panjang gelombang	Terdeteksi pada panjang gelombang 224 nm - 570 nm
Waktu retensi	<10 menit (Rosydiati, 2019).
Waktu injeksi	20-25 menit
Suhu	40° C (Rahayu <i>et al.</i> , 2020).
Banyak sampel	40 µL
Laju alir	1 ml/menit, 0,8 ml/menit, 0,5 ml/menit

Hasil pengujian pada ASI menunjukkan adanya senyawa terduga asam amino yaitu asam glutamat, serin, histidin dan arginin yang dapat dilihat pada tabel 5. Hasil pengujian pada susu formula sapi menunjukkan adanya senyawa terduga asam amino yaitu serin, tirosin dan valin yang dapat dilihat pada tabel 6. Hasil analisis asam amino pada penelitian Agostoni *et al* (2000) menyebutkan bahwa asam amino taurin banyak terdapat di dalam ASI, namun berbeda halnya dalam susu formula yang mengandung asam amino taurin lebih rendah dan susu kedelai mengandung asam amino metionin.

ASI dan susu formula sapi terkandung asam amino yang masing-masing memiliki fungsi dan manfaat yang berbeda, seperti histidin berperan dalam memperkuat sel saraf mierin yang terdapat di otak yang kemudian dikirimkan ke seluruh tubuh, yang membuat bayi terhindar dari risiko gangguan jiwa (Nurfaidah *et al.*, 2024). Valin berfungsi dalam menjaga jaringan otot, memperbaiki jaringan yang rusak dan menjaga keseimbangan nitrogen (Nuryanto *et al.*, 2023). Arginin berfungsi dalam penyembuhan luka, kekebalan tubuh dan regenerasi kulit. Arginin berperan untuk pengembangan sel darah putih yang penting dalam respon imun. Asam glutamat berfungsi sebagai mediator dalam menyampaikan transmisi post sinaptik. Tirosin merupakan asam amino non-esensial yang tidak hanya diproduksi oleh tubuh melainkan dapat melalui makanan. Asam amino tirosin dapat membantu mengurangi stres dan dapat memicu pengeluaran prolactin (hormon yang memproduksi ASI) (Winatasari, Diah, Mufidaturrosida, 2020).

Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian Agostoni *et al* (2000) hal ini disebabkan karena keterbatasan alat dalam penelitian ini. Hasil pengujian pada susu formula kedelai menunjukkan tidak ada ditemukan jenis senyawa terduga asam amino. Hal ini dapat

disebabkan karena pada saat proses hidrolisis protein sampel terlalu lama didiamkan sehingga senyawa asam amino sulit terdeteksi oleh detektor (Lamp *et al.*, 2018). Hal ini juga disebabkan karena keterbatasan dari alat HPLC dalam membaca sampel sehingga kromatogram yang ditampilkan tidak sesuai dengan hasil kromatogram yang diinginkan, kemudian tidak adanya preparasi sampel sebelum sampel diinjeksikan. Pemilihan fase gerak dan komposisi fase gerak juga dapat mempengaruhi hasil analisis dan tidak adanya penambahan asam dan laju alir fase gerak. Hal ini sejalan dengan penelitian Rosydiati (2019) dimana pemilihan dan komposisi fase gerak serta penambahan asam akan sangat mempengaruhi hasil dan karakteristik kromatogram pada analisis HPLC. Semakin turun laju air maka akan semakin besar nilai resolusi yang didapatkan (Rosydiati, 2019).

KESIMPULAN

Kesimpulan pada penelitian ini : 1) Kadar protein pada susu formula dan susu formula kedelai telah memenuhi persyaratan SNI. 2) Diperoleh kadar protein ASI yaitu 23,50% ; kadar protein susu formula yaitu 23,19% dan ; kadar protein susu formula kedelai yaitu 11,90%. Nilai kadar protein tertinggi diperoleh oleh ASI. 3) Diperoleh senyawa asam amino terduga dalam ASI yaitu asam glutamat, serin, histidin, arginin. Dalam susu formula serin, tirosin dan valin sedangkan dalam susu formula kedelai tidak terdeteksi adanya senyawa asam amino terduga.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti menyampaikan terimakasih atas dukungan, inspirasi dan bantuan kepada semua pihak dalam membantu peneliti menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Agostoni, C., Riva, E., Carratù, B., Boniglia, C., & Sanzini, E. (2000). *Free Amino Acid Content in Standard Infant Formulas: Comparison with Human Milk*. *Journal of the American College of Nutrition*, 19(4), 434–438.
- Angraini, N., & Desmaniar, P. (2020). Optimasi penggunaan High Performance Liquid Chromatography (HPLC) untuk analisis asam askorbat guna menunjang kegiatan Praktikum Bioteknologi Kelautan. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(2), 69.
- Audihani, A. L., Astuti, A. P., Tri, E., & Maharani, W. (2020). *Perbedaan Kandungan Protein Dan Laktosa Pada Asi Dan Susu Formula (Usia 0-6 Bulan)*. 239–248.
- Azka, A., Nurjanah, N., & Jacob, A. M. (2015). Profile of Fatty Acids, Amino Acids, Carotenoid Total, and α -Tocopherol from Flying Fish Eggs. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 18(3).
- Fajarwati, F. I., Hermawati, A. T., & Widada, S. (2022). Analisis Kadar Nitrogen Total pada Pupuk Padat dengan Metode Kjeldahl di Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) Yogyakarta. *Indonesian Journal of Chemical Research*, 6(2), 80–91.
- Farida, T., Suhartono, & Kartika, I. R. (2020). Pengaruh Variasi Komposisi Susu Skim Terhadap Kadar Asam Amino pada Yogurt Sari Jagung Manis (*Zea mays L. saccharata*). *Jrskt*, 9(1), 33–44.
- Hidayatunnikmah, N. (2019). Pengaruh Pendapatan Ekonomi Ibu Menyusui Terhadap Kualitas Komponen Makronutrien Asi. *Journal Of Health Science (Jurnal Ilmu Kesehatan)*, 4(2), 1–7.
- Jahriah, N., Setiawati, E., & Maslani, N. (2022). *Hubungan Motivasi Ibu Dengan Pemberian Asi Eksklusif Di Wilayah Kerja Puskesmas Astambul 2020*. 2(9), 3039–3046.
- Lamp, A., Kaltschmitt, M., & Lüdtke, O. (2018). Improved HPLC-method for estimation and

- correction of amino acid losses during hydrolysis of unknown samples. *Analytical Biochemistry*, 543, 140–145.
- Mega, M. (2013). Perbandingan Kadar Protein dan Lemak dalam ASI “X”, Susu Sapi Formula “Y” dan Susu Kedelai Formula “Z.” *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 2(2), 1–13.
- Nisa, Z. H., & Merben, O. (2023). Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Ketidakberhasilan Dalam Pemberian Asi Eksklusif Pada Ibu Yang Memiliki Bayi Usia 0-6 Bulan Di Klinik Pratama Spn Polda Metro Jaya Periode 06 Juni 06 – 06 Juli 2022. *Jurnal Ilmiah Kesehatan BPI*, 7(1), 50–59.
- Nisah, K., Afkar, M., & Sa’diah, H. (2021). Analisis Kadar Protein Pada Tepung Jagung, Tepung Ubi Kayu Dan Tepung Labu Kuning Dengan Metode Kjeldhal. *Amina*, 1(3), 108–113.
- Nuryanto, N., Putri, A. R., Chasanah, E., Sulchan, M., Afifah, D. N., Martosuyono, P., & Asmak, N. (2023). Profil Asam Amino Makanan Pendamping Asi (Mp-Asi) Protein Hidrolisat Ikan Kuniran. *Journal of Nutrition College*, 12(3), 232–237.
- Purnama, R. C., Retnaningsih, A., & Aprianti, I. (2019). Perbandingan Kadar Protein Susu Cair Uht Full Cream Pada Penyimpanan Suhu Kamar Dan Suhu Lemari Pendingin Dengan Variasi Lama Penyimpanan Dengan Metode Kjeldhal. *Jurnal Analisis Farmasi*, 4(1), 50–58.
- Rahayu, W. S., Utami, P. I., & Haryadin, F. (2020). Analisis Asam Amino Dengan Metode KCKT Dan Agen Penderivat Ninhidrin. *SEMNAS LPPM Universitas Muhammadiyah Purwokerto*, 154–157.
- Rahma, Y., Maryana, S., & Nofika, B. (2021). Sistem Penentuan Kelayakan Pemberian Susu Formula Dengan Metode Simple Additive Weighting (Saw) Dan Electre. *JTIK (Jurnal Teknik)*, 5(1), 48–59.
- Rosydiati. (2019). Karakterisasi puncak kromatogram dalam High Performance Liquid Chromatography (HPLC) terhadap perbedaan fase gerak, laju alir, dan penambahan asam dalam analisis Indole Acetic Acid (IAA). *Kandaga*, 1(2), 65–73.
- Salamah, U., & Prasetya, P. H. (2019). Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Kegagalan Ibu Dalam Pemberian Asi Eksklusif. *Jurnal Kebidanan Malahayati*, 5(3), 199–204.
- Sari, E. M., Nurilmala, M., & Abdullah, A. (2018). Amino Acid Profile And Bioactive Compounds Of Seahorse Hippocampus comes. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 9(2), 605–617.
- Sinaga, E. M., Maimunah, S., & Sitompul, E. (2021). Determination Of Protein Levels in Baby Formula Milk And Breast Milk at Medan By Kjeldahl. *Farmanesia*, 6(1), 30–34.
- Suhaimi, A., Harianto, Y., & Alpisah. (2022). Tingkat Konsumsi Protein Hewani dan Kaitannya Kejadian Stunting pada Balita. *Jurnal Sains STIPER Amuntai*, 39(2), 95–102.
- Suprianto. (2023). *Parameter Optimasi dan Validasi Metode Ultra Fast Liquid Chromatography Suprianto*. 8–31.
- Syadita, L. R. A., Maharani, E. T. W., & Astuti, A. P. (2020). Uji Kadar Protein Air Susu Ibu (ASI) dan Susu Formula pada Bayi Usia 6-12 Bulan. *Seminar Nasional Edusaintek FMIPA UNIMUS 2020*, 364–369.
- Wahyuni, C. (2018). *Panduan Lengkap Tumbuh Kembang Anak Usia 0-5 Tahun*. Buku Ajar Tumbuh Kembang Isi.
- Wijaya, F. A. (2019). ASI Eksklusif: Nutrisi Ideal untuk Bayi 0-6 Bulan. *Cermin Dunia Kedokteran*, 46(4), 296–300.
- Winatasari, Diah, Mufidaturrosida, ana. (2020). Hubungan Pengetahuan Ibu Nifas Tentang Asupan Nutrisi. *Jurnal kebidanan*, XII(02), 202–216.