Volume 4 Nomor 1, Juli Tahun 2023
JURNAL KIMIA DAN REKAYASA

Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Konsentrasi Pelarut pada Pembuatan Konsentrat Protein dari Daun Bayam dengan Pelarut KOH

The Influence of Extraction Time and Solvent Concentration on the Production of Spinach Leaf Protein Concentrate with KOH Solvent

Ani Purwanti[1*], Mukasi Wahyu Kurniawati[2], Siswandi Waluyo[3]
[1,2,3]Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Sains dan Teknologi AKPRIND Yogyakarta.
Jl. Kalisahak No.28, Kompleks Balapan, Yogyakarta-55222, Telp. 0274-563029
**Corresponding Author*: ani4wanti@akprind.ac.id

ABSTRAK : Penelitian ini bertujuan untuk membuat konsentrat protein dari daun bayam dengan pelarut KOH untuk mendapatkan hasil maksimal dengan variabel suhu ekstraksi dan konsentrasi pelarut yang digunakan. Daun bayam terlebih dahulu dibersihkan, tulang daunnya dibuang, kemudian dipotong kecil-kecil dan ditimbang sebanyak 50 gram. Proses awal yang dilakukan adalah proses ekstraksi pada suhu ekstraksi 70^0C dengan variasi konsentrasi pelarut KOH antara 0,1 N – 0,5 N dengan interval 0,1 N dan waktu ekstraksi yaitu antara 30 – 150 menit. Hasil yang diambil berupa filtrat. Selanjutnya dilakukan proses penggumpalan protein dengan penambahan larutan HCI 10 N pada suhu 75^0C, waktu 10 menit dan pH penggumpalan 4. Kemudian larutan didiamkan sampai terbentuk endapan konsentrat, disaring, dan dikeringkan dalam oven dengan suhu 40^0C sampai berat konstan. Hasil analisa daun bayam segar adalah sebagai berikut: kadar air 78,68%, kadar abu 1,442%, dan kadar protein 6,46%. Dari penelitian diperoleh kondisi optimum yaitu proses dengan waktu ekstraksi 90 menit dengan berat konsentrat protein maksimal 6,326% dengan kesalahan rata-rata sebesar 6,99 % dan proses dengan konsentrasi pelarut KOH 0,4 N. dengan berat konsentrat protein maksimal sebanyak 5,956 % dengan kesalahan rata-rata 10,33 %.

Kata kunci : ekstraksi; bayam; protein

ABSTRACT: This research generated several qualitative data indicating the effects of temperature extraction and pH precipitation on spinach protein concentrates. The results shows that higher extraction temperature tend to increase protein yield. At an extraction temperature of 60°C, the spinach protein yield was 23%, while at 80°C, the protein yield increased to 28%. However, extraction temperatures above 80°C led to a decrease in protein yield due to significant protein denaturation. pH precipitation was observed to have significant influence on the quality of spinach protein. Precipitation at pH 4.5 resulted in a protein concentrate with higher brightness compared to precipitation at pH 5.5 and pH 6.5. This result indicates that acidic pH is more effective in spinach protein precipitation. Qualitative data indicated that spinach protein concentrate had good physicochemical characteristics. The protein concentrate had a greenish-yellow color and a distinctive aroma of spinach leaves. It had a neutral taste and a smooth texture. spinach protein concentrate consistency can be adjusted depends on user needs through the drying process. The results of this study demonstrated potential use of spinach protein concentrate in various food products. Spinach protein concentrate can be used as a manufacturing ingredient for a variety of food products such as pasta, cakes, and other processed products. Overall, this research provides evidence that protein extraction from spinach leaves with modified temperature extraction and pH precipitation can yield high-quality spinach protein concentrate. The results of this research will serve as a basis for the development of healthy and highly nutritious vegetable protein

foods, and can contribute to the improvement of public health through the intake of highly nutritious foods.

Keywords: extraction; protein; spinach

1. PENDAHULUAN

Bayam menjadi salah satu sayuran yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat dan di budidayakan secara luas oleh petani di seluruh wilayah Indonesia. Bayam dengan nama ilmiah *Amaranthus sp.* termasuk famili *Amarantaceae* (Bandini dan Azis, 2004). Bentuk tanaman bayam berupa perdu vertikal, batangnya berserat tebal dan berdaging, serta beberapa spesies berduri. Daun berwarna hijau, dan memiliki bunga yang berbentuk cambuk dan muncul di bagian atas tanaman atau di ketiak daun. Bayam mempunyai biji sangat kecil, mengkilat, dan berwarna coklat kehitaman.

Hanya dua jenis bayam budidaya yang dikenal di Indonesia, yaitu *Amaranthus tricolor* dan *Amaranthus hybridus*. *Amaranthus tricolor* dengan dua variatas yaitu bayam hijau dan bayam merah, jenis ini kebanyakan ditanam sebagai bayam yang dicabut. *Amaranthus hybridus* dikenal sebagai bayam raja.

Daun bayam banyak digunakan sebagai sayuran hijau dan dapat diolah untuk menghasilkan berbagai masakan. Di beberapa negara tropis seperti Amerika Latin, semua bagian tanaman bayam sudah dimanfaatkan, termasuk bijinya.

Dari segi gizi, bayam merupakan sayuran hijau yang memiliki banyak manfaat bagi kesehatan dan pertumbuhan tubuh, terutama bagi ibu hamil dan anak. Daun bayam banyak mengandung protein, mineral kalsium, zat besi dan vitamin A, B1 dan Q (Handayani, 2017).

Bayam dapat memberikan manfaat yang besar apabila dikonsumsi dalam jumlah yang cukup. Kandungan vitamin A daun bayam membantu meningkatkan daya tahan tubuh terhadap penyakit mata dan pernafasan, serta kulit. Zat hijau daunnya mengandung karoten, yaitu provitamin A yang nantinya akan diproses di dalam tubuh menjadi vitamin A. Kebutuhan harian vitamin A adalah 65 gram, 57 gram, dan 39 gram, masing-masing untuk laki-laki dewasa, wanita dewasa, dan anak-anak.

Dengan demikian dapatlah disimpulkan bahwa dengan mengkonsurnsi bayam secara cukup dapat menjaga kesehatan dan membantu pertumbuhan badan secara baik.

Penelitian ini bertujuan membuat konsentrat protein dari daun bayam dengan pelarut KOH untuk mendapatkan hasil maksimal dengan variabel suhu ekstraksi dan konsentrasi pelarut yang digunakan.

Pada tumbuh-tumbuhan protein banyak terdapat di bagian reproduksi dan

bagian yang tumbuh aktif yaitu pada biji dan daun. Dalam zat daun kering terdapat jumlah protein yang sama banyak dengan protein kacang-kacangan. Hanya saja zat protein dalam daun ini terbungkus dalam selulosa dan serba cair, sehingga seluruhnya mengambil banyak tempat.

Zat-zat gizi dalam daun bayam per 100 gram bahan mengandung kalori sebesar 36 gram, karbohidrat sebanyak 6,5 gram, protein sekitar 3,5 gram, 0,5 gram lemak, kalsium sebanyak 0,267 gram, 0,0039 gram besi dan bahan-bahan lain (Rohmatika dan Umarianti, 2017).

Secara umum, protein terdiri dari unit asam amino yang panjang. Molekul asam amino memiliki gugus yang bersifat basa yaitu gugus amino (NH2) dan gugus karboksil (-COOH) yang mempunyai bersifat asam. Oleh karena itu, protein bersifat amfoter dan memiliki banyak muatan (polielektrolit), sehingga asam amino dapat bereaksi dengan asam dan basa, serta reaktan yang lain (Simamora, 2015). Ikatan peptida (-CONH-) merupakan gugus penghubung yang menyebabkan asam amino dapat berikatan dengan asam amino yang lain. Gugus karboksil asam amino dapat berikatan dengan gugus asam amino lain melepaskan molekul air dan menjadi dipeptida (Poedjiadi dan Supriyantini, 2009).

Pada titik isoelektrik yaitu berada pada suatu pH tertentu, akan terjadi suatu penetralan antara muatan gugus amino dan karboksil bebas sehingga menyebabkan molekul menjadi bermuatan nol. Proses pengendapan berada pada posisi yang optimum jika dilakukan pada titik isoelektrik ini. Tiap- tiap jenis protein mempunyai titik isolistrik yang spesifik (Winarno, 2007).

Untuk memperbesar hasil perolehan konsentrat protein, ada beberapa faktor yang mempengaruhi proses, baik pada proses pelarutan maupun proses pengendapan (Kirk and Othmer, 1951). Adapun faktor-faktor tersebut adalah suhu, pengadukan, pH, waktu, dan konsentrasi.

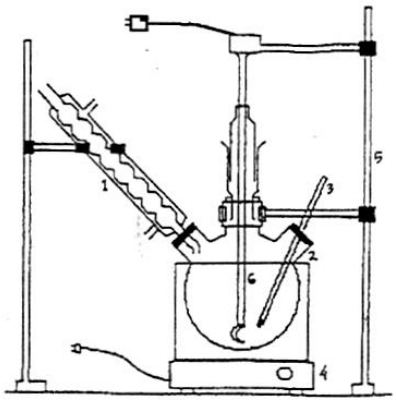
2. METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bayam segar. Daun bayam yang digunakan diperoleh dari pasar Demangan Yogyakarta. Daun bayam tersebut dianalisa kadar air, kadar abu dan kadar protein. Sedangkan bahan penunjang yang digunakan adalah aquadest, larutan H_2SO_4 pekat, asam borax 5% (H_2BO_4), indikator BCG – MR, katalisator Na_2SO_4 – HgO, pelarut KOH, Larutan HCl, larutan NaOH - $Na_2S_2O_3$. Bahan penunjang ini diperoleh dari Fakultas Teknologi Pertanian, UGM, Yogyakarta.

Peralatan laboratorium yang digunakan dalam penelitian ini adalah pH meter digital, beker glass, erlenmeyer, termometer, kertas saring, gelas ukur, kompor listrik. Sedangkan rangkaian alat

ekstraksi yang digunakan dalam percobaan ini terlihat pada Gambar 1.



Keterangan:

1. Pendingin gelas
2. Labu gelas leher tiga
3. Termometer raksa
4. *Water bath*
5. Statif, klem
6. Gelas pengaduk

Gambar 1. Alat Ekstraksi Protein (Proses Pelarutan Protein)

2.2 Prosedur

Daun bayam yang telah dipisahkan dari rantingnya, dicuci bersih, dipotong kecil-kecil dan dibersihkan dari kotoran, dan ditiriskan sampai kering. Bayam dianalisis kuantitatif protein, air dan kadar abu. Bahan baku (bayam) dan pelarut KOH diproses dalam labu leher tiga dengan komposisi 1: 9 (b/v).

Proses ekstraksi dilakukan pada suhu 70°C dan proses koagulasi pada pH 4. Sedang waktu ekstraksi antara 30 menit sampai dengan 150 menit dan konsentrasi pelarut antara 0,1 N sampai 0,5 N. Proses ekstraksi dihentikan apabila ekstraksi telah mencapai suhu yang diinginkan. Hasil ekstraksi kemudian dibiarkan beberapa saat kemudian disaring dalam corong Buchner dalam keadaan hangat. Ekstrak yang diperoleh kemudian dianalisis kandungan protein secara kualitatif.

Filtrat dari proses ekstraksi direaksikan dengan HCl 10N pada pH konstan sebesar 4 dan dipanaskan selama 10 menit pada suhu 75°C. Sampel didinginkan dan disaring menggunakan corong Buchner. Endapan diuap sisa pelarutnya di atas penangas air dan kemudian dikeringkan pada suhu 40^0C dalam oven sampai diperoleh berat konstan. Kemudian sampel dianalisis secara kuantitatif dan kualitatif terhadap kandungan air dan protein. (Legowo, dkk., 2005).

2.2.1. Analisa Kadar Air

Analisa kadar air mengikuti prosedur sebagai berikut (Sudarmadji, 2010):

1. Bahan seberat 1 gram, dihancurkan dan kemudian dikeringkan selama 30 menit di dalam oven menggunakan suhu 100°C -105°C. Setelah itu bahan didinginkan dalam eksikator dan ditimbang. Proses ini dilakukan secara berulang sampai diperoleh berat bahan yang konstan (selisih penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,2 mg).
2. Pengurangan berat merupakan banyaknya air dalam bahan.

$$\text{Kadar Air} = \frac{\text{Berat Air}}{\text{Berat Bahan A}wal} \text{ x } 100\ \%$$

2.2.2. Analisas Kadar abu

Analisa kadar abu mengikuti prosedur sebagai berikut (Sudarmadji, 2010):

1. Sampel sebanyak 2 gram dimasukkan ke dalam dalam krus porselen (yang telah kering dan telah diketahui beratnya).
2. Krus porselen dimasukkan dalam *muffle furnace* dan dipanaskan menggunakan suhu 600°C sampai menjadi abu keputih-putihan. Lalu krus porselen dimasukkan dalam eksikator dan ditimbang beratnya.

$$\text{Kadar Abu} = \frac{\text{Berat Abu}}{\text{Berat Bahan A}wal} \text{ x } 100\ \%$$

2.2.3. Analisa Kadar Protein

Analisa kadar protein mengikuti prosedur sebagai berikut (Sudarmadji, dkk., 2010):

1. Secara kualitatif

Analisa kualitatif merupakan salah satu analisa kimia yang hasilnya ditentukan dengan melihat atau diketahui dengan mencermati salah satu atau ketiga perubahan di bawah ini:

a) Endapan yang terjadi.
b) Gas yang terbentuk.
c) Perubahan warna larutan (Uji Biuret).

2. Secara kuantitatif (Semi - Mikro Kjeldahl)

Analisa kadar protein meliputi tiga tahapan proses : tahap destruksi, tahap distilasi dan tahap titrasi.

i. Tahap dekstruksi
   a. Konsentrat protein ditimbang, kemudian dimasukan dalam labu Kjeldahl 50 ml dan ditambahkan sebanyak 2 ml H_2SO_4 (98% bebas kandungan N)
   b. Ke dalam labu ditambahkan 0,7 gram Na_2SO_4 - HgO (20 : 1), sebagai katalisator.
   c. Labu Kjeldahl kemudian dididihkan sampai larutan berubah menjadi jernih, kemudian didinginkan sebentar. Setelah dingin, ke dalam labu dimasukkan aquadest sebanyak 105 mL yang berfungsi untuk mencuci dinding labu Kjeldahl.

ii. Tahap distilasi
   a. Dipasang Erlenmeyer penampung hasil yang berisi asam boraks 5% sebanyak 5 ml dan beberapa tetes indikator BCG - MR.
   b. Setelah itu dimasukan larutan hasil destruksi dan 15 ml NaOH – $Na_2S_2O_3$ ke dalam alat destilasi semi - Mikro kjeldahl kemudian dilakukan proses distilasi.
   c. Distilasi dihentikan setelah distilat yang keluar sudah netral, yaitu mendekati pH 7.

iii. Tahap titrasi
   a. Distilat yang diperoleh dari tahap sebelumnya kemudian dititrasi menggunakan HCl 0,02 N. Titrasi dihentikan setelah terjadi perubahan warna larutan menjadi merah muda.

b. Kemudian dilakukan analisis kadar protein, dengan mengalikan faktor koreksi untuk daun-daunan sebesar 6,25.

$$\text{Kadar Protein} = \frac{\text{Vol HCl x N HCl x } 14{,}008 \text{ x } 6{,}25}{\text{Berat Bahan Kering}} \text{ x } 100\ \%$$

2.3 Analisis Data

Penelitian dilakukan dengan melakukan percobaan menggunakan beberapa variasi percobaan, yaitu:

1. Variasi waktu ekstraksi
2. Variasi konsentrasi pelarut (KOH)

Dari hasil percobaan untuk kedua variasi tersebut, dapat dianalisa dan diambil kondisi operasi yang optimum dengan hasil konsentrat protein yang terbanyak.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

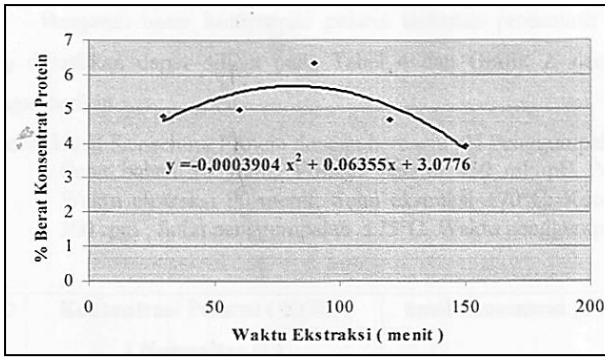
Berdasarkan hasil analisis, kadar air bahan baku yang digunakan adalah 78,68%, kadar abu 1,442%, dan kadar protein sebesar 6,46%. Hasil analisis protein kualitatif dengan metode uji Biuret menunjukkan semua sampel yang diekstraksi dari bayam yang disiapkan dalam penelitian ini terbukti mengandung ikatan peptida positif, karena warna larutan sampel yang diuji berubah menjadi ungu. Biuret berubah warna menjadi ungu jika direaksikan dengan larutan basa kuat, antara lain dengan penambahan CuSO4. Senyawa CuSO4 bereaksi dengan senyawa yang mengandung dua atau tiga ikatan peptida dalam kondisi basa. Perubahan warna menjadi ungu ini menunjukkan bahwa pada proses ini telah terbentuk senyawa kompleks dalam larutan. Ikatan ini terbentuk antara Cu2+ dengan gugus C=O dan N-H pada rantai peptida (Putra, 2013).

Pengaruh waktu ekstraksi terhadap prosentase konsentrat protein yang dihasilkan dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 2. Variabel tetap yang digunakan dalam percobaan pada tahap ini adalah sebagai berikut: berat bahan 50 gram; volume pelarut 450 ml; konsentrasi pelarut 0,4 N; suhu ekstraksi 70°C; kecepatan pengadukan 500 rpm, pH penggumpalan 4; suhu penggumpalan 75°C, waktu penggumpalan 10 menit.

Tabel 1. Hasil Konsentrat Protein pada berbagai Waktu Ekstraksi

Waktu Ekstraksi (menit)	Hasil Konsentrat Protein (% berat)
30	4,784
60	4,982
90	6,336
120	4,682
150	3,924

Berdasarkan data yang di peroleh dari hasil penelitian maka dapat digambarkan hubungan antara waktu ekstraksi dengan hasil konsentrasi protein daun bayam per 50 gram. Seperti pada Gambar 2 di bawah ini.



Gambar 2. Hubungan Antara Waktu Ekstraksi dengan % Berat Konsentrat Protein daun Bayam per 50 gram

Makin lama waktu reaksi, makin banyak hasil yang akan diperoleh, karena makin lama kesempatan untuk saling bertumbukan antara molekul-molekul zat pereaksi, tetapi jika keadaan telah seimbang, penambahan waktu ekstraksi kurang menguntungkan karena zat yang bereaksi pada saat itu telah habis sehingga dengan penambahan waktu tidak efektif sebab molekul-molekul telah melewati fase setimbang. Ini dapat dilihat dari Tabel 1 dan Gambar 2 di atas yang menunjukan kondisi optimum tercapai pada waktu 90 menit dengan hasil konsentrat protein terbanyak. Pada waktu proses selama 120 dan 150 menit memperlihatkan bahwa protein yang dihasilkan cenderung menurun. Hal ini dimungkinkan karena ada protein yang rusak akibat proses ekstraksi yang terlalu lama.

Dari hasil percobaan, diperoleh hubungan antara waktu ekstraksi dengan konsentrat protein yang dihasilkan dapat dinyatakan dengan persamaan:

$Y = -0.0003904\ X^2 + 0.06355\ X + 3.0776$

Dengan :

Y: konsentrat protein yang dihasilkan (%)

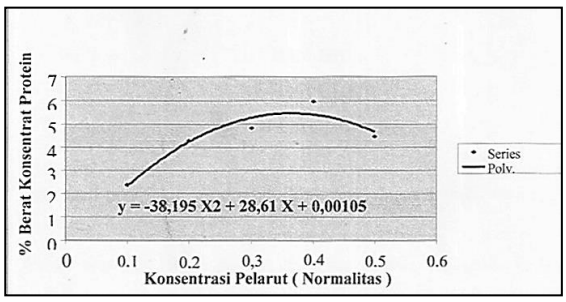
X: waktu ekstraksi (menit)

Sedangkan pengaruh besar konsentrasi pelarut terhadap prosentase konsentrat protein yang dihasilkan dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 3. Pada percobaan ini menggunakan variabel tetap sebagai berikut: berat bahan 50 gram, volume pelarut 450 ml; pH penggumpalan 4 N; waktu ekstraksi 90 menit; suhu ekstraksi ±70°C; kecepatan pengadukan 500 rpm; suhu penggumpalan ±75°C, waktu penggumpalan 10 menit.

Tabel 2. Hasil Konsentrat Protein dengan berbagai Konsentrasi KOH

Konsentrasi Pelarut (KOH) (N)	Hasil Konsentrat Protein (% berat)
0,1	2,379
0,2	4,296
0,3	4,816
0,4	5,956
0,5	4,446

Berdasarkan data yang diperoleh dari hasil penelitian maka dapat digambarkan hubungan antara waktu ekstraksi dengan hasil konsentrasi protein daun bayam per 50 gram. Seperti pada Gambar 3 di bawah ini.



Gambar 3. Hubungan Antara Konsentrasi Pelarut (KOH) dengan

Berat Konsentrat Protein (tiap 50 gram Daun Bayam)

Kecepatan reaksi sebanding dengan konsentrasi reaktan, maka agar diperoleh hasil yang banyak, konsentrasi reaktan diperbesar. Pada keadaan setimbang, apabila konsentrasi reaktan dinaikkan hasil reaksinya tetap akan menurun. (Winarno, 2007). Berdasarkan hasil yang diperoleh dari Tabel 2 dan Gambar 3, menunjukkan hasil bahwa semakin besar konsentrasi pelarut maka protein yang dihasilkan semakin besar, ini dikarenakan kecepatan reaksi sebanding dengan konsentrasi reaktan sampai pada konsentrasi 0,4 N protein yang dihasilkan sangat besar tapi pada saat konsentrasi diperbesar mencapai 0,5 N ternyata protein yang dihasilkan turun. Hal ini kemungkinan karena sudah tercapainya kesetimbangan padat cair pada proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut 0,4 N. Hal ini sejalan dengan yang diungkapan oleh Teresa, dkk. (2016). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Teresa, dkk (2016), menyebutkan bahwa semakin banyak jumlah pelarut yang digunakan akan menyebabkan rendemen (hasil ekstraki yang diperoleh) akan menurun. Hal ini dimungkinkan karena pada kondisi tersebut keadaan kesetimbangan antara padat cair telah tercapai.

Hubungan antara Konsentrasi Pelarut dengan konsentrat protein yang dihasilkan, dapat dinyatakan dengan persamaan:

$Y = -38{,}195\ x^2 + 28{,}6100\ x + 0{,}00105$

Dengan :

Y: konsentrat protein yang dihasilkan (%)

X: konsentrasi Pelarut KOH (N)

Persamaan di atas berlaku pada harga X 0,1 sampai dengan 0,5 dengan kesalahan rata-rata sebesar 10,3343

KESIMPULAN

Dari percobaan yang dilakukan dalam penelitian ini, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Waktu ekstraksi yang optimum untuk proses ekstraksi pada 70^0C adalah 90 menit. Pada kondisi ini diperoleh konsentrat protein (kadar air 11,01%) sebanyak 6,34 % yang dinyatakan dalam persamaan:

   $Y = -0.0003904\ X^2 + 0.06355\ X + 3.0776$

   Persamaan ini berlaku untuk X sebesar 30 menit sampai dengan 150 menit, dengan kesalahan rata- rata 6,99 %.
2. Konsentrasi pelarut protein yang optimum adalah 0,4 N pada kondisi ini diperoleh konsentrat protein (kadar air 9,61%) sebanyak 5,956 %, dinyatakan dalam persamaan:

   $Y = -38{,}195\ X^2 + 28{,}6100\ X + 0{,}00105$

   Persamaan ini berlaku untuk X sebesar 0,1 N sampai dengan 0,5 N dengan kesalahan rata-rata 10,33 %.
3. Analisa bahan baku yang diperoleh adalah kadar air 78,68 % kemudian kadar abu 1,442 % dan kadar protein 6,46 %.

DAFTAR PUSTAKA

Bandini. Y. dan Azis. N. (2004), *Bayam*. Jakarta: PT. Penebar Swadaya.

Handayani. 2017. Formulasi mikroemulsi ekstrak terpurifikasi daun bayam merah (amaranthus tricolor l.) Sebagai suplemen antioksidan: microemulsion formulations of purified extract of red leaves spinach (amaranthus tricolor l.) As antioxidant supplements. *Jurnal farmasi galenika (galenika journal of pharmacy) (e-journal)*, 3(1), 1–9.

Kirk, R. E. and Othmer, D. F., 1951, *Encyclopedia of Chemical Technology*, Vol 14, p. 395, New York: The Interscience Encyclopedia Inc.

Legowo. A. M., Nurwantoro, dan Sutaryo. (2005). *Analisis Pangan*. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro.

Poedjiadi, A. dan Supriyantini. T. (2009). *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: UI-Press.

Putra, A.R. (2013). Uji Aktivitas Hemaglutinasi Lektin Biji Jatropha Multifida L pada Penderita Kanker, Malaria, dan Demam Berdarah serta Implementasinya pada Pembelajaran Menggunakan Video. Bengkulu: Universitas Bengkulu.

Rohmatika, D. & Umarianti, T. 2017. Efektifitas Pemberian Ekstrak Bayam Terhadap Peningkatan Kadar Hemoglobin Pada Ibu Hamil Dengan Anemia Ringan. *Jurnal Kebidanan*, 165-174.

Simamora. A. (2015). *Asam Amino, Peptida, Protein*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Ukrida.

Sudarmadji. S. Haryono. B. dan Suhardi. (2010). *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian*, edisi 4. Yogyakarta: Liberty.

Winarno, F. G. (2007). *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama Jakarta.