

## **Efisiensi Penggunaan Reagen NaOH Terhadap Pengujian Kadar Protein pada Alat Buchi KjelFlex K-360**

**Soesilowati<sup>1</sup>**

Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UNESA

Email : soesilowati2021@gmail.com

### **Abstrak**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efisiensi dari penggunaan reagen NaOH dengan volume yang berbeda pada tahap destilasi metode Kjeldahl terhadap pengujian kadar protein menggunakan alat Buchi KjelFlex K-360. Pengujian kadar protein dilakukan menggunakan metode Kjeldahl dengan variasi volume NaOH pada tahap destilasi sebesar 20 mL, 30 mL, 40 mL, 50 mL, 60 mL, 70 mL, 80 mL, dan 90 mL. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar protein yang diperoleh dari masing-masing penggunaan reagen NaOH pada tahap destilasi dengan volume yang berbeda secara berurutan yaitu 6.66%; 6.81%; 6.88%; 6.79%; 6.68%; 6.81%; 6.70%; dan 6.73%. Berdasarkan hasil tersebut, pada volume yang berbeda, kandungan protein yang diperoleh menunjukkan nilai yang tidak jauh berbeda, sehingga penggunaan reagen NaOH dalam jumlah yang sedikit dapat meningkatkan efisiensi dari penggunaan reagen NaOH pada tahap destilasi metode Kjeldahl. Hal tersebut diharapkan dapat dijadikan sebagai alternatif dalam upaya mengurangi penggunaan biaya operasional serta mengurangi timbunan limbah yang dihasilkan dari proses analisis.

Kata kunci : Kjeldahl, Protein, NaOH, Destilasi

### **Abstract**

The purpose of this study was to determine the efficiency of the use of NaOH reagents with different volumes at the distillation stage of the Kjeldahl method for testing protein levels using the Buchi KjelFlex K-360. The protein content test was carried out using the Kjeldahl method with variations in the volume of NaOH at the distillation stage of 20 mL, 30 mL, 40 mL, 50 mL, 60 mL, 70 mL, 80 mL, and 90 mL. The results showed that the protein content obtained from each use of the NaOH reagent at the distillation stage with different volumes, respectively, was 6.66%; 6.81%; 6.88%; 6.79%; 6.68%; 6.81%; 6.70%; and 6.73%. Based on these results, at different volumes, the protein content obtained shows a value that is not much different, so the use of NaOH reagent in small amounts can increase the efficiency of the use of NaOH reagent in the distillation stage of the Kjeldahl method. It is hoped that this can be used as an alternative in an effort to reduce the use of operational costs and reduce waste accumulation resulting from the analysis process.

Key words : Kjeldahl, Protein, NaOH, Distillation

## I. Pendahuluan

Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA merupakan suatu laboratorium yang mempunyai peran untuk melayani mahasiswa dan dosen dalam pelaksanaan praktikum maupun penelitian. Salah satu contoh penelitian yang pernah dilakukan oleh mahasiswa dan dosen di laboratorium adalah pengujian kadar protein dengan metode Kjeldahl menggunakan alat Buchi KjelFlex K-360.

Buchi KjelFlex K-360 merupakan salah satu jenis alat yang dapat digunakan untuk menentukan jumlah nitrogen dengan metode Kjeldahl (TKN; Total Kjeldahl Nitrogen). Selain itu, alat ini juga dapat digunakan untuk menentukan analisis metode non-Kjeldahl seperti proses distilasi dari beberapa macam zat yang mudah menguap seperti alkohol,  $\text{SO}_2$ , dan asam-asam yang bersifat volatil (1). Buchi KjelFlex K-360 terdiri dari beberapa komponen diantaranya: [1] tabung sampel, [2] pelindung *splash*, [3] *protective door*, [4] generator uap, [5] kondensor, [6] saluran pengeluaran distilat, [7] bejana penerima, [8] panel operasi, dan [9] *service door* (1). Prinsip kerja dari alat ini dimulai dari dikenakannya uap pada larutan sampel (dalam tabung sampel) untuk mengeluarkan komponen yang mudah menguap (seperti amonia, alkohol, dll). Setelah itu terjadilah proses kondensasi (dalam kondenser) hingga menghasilkan destilat yang kemudian dikumpulkan dalam bejana penerima (1).

Metode Kjeldahl merupakan salah satu metode pengujian kadar protein sederhana berdasarkan pada penetapan jumlah nitrogen total yang ada pada sampel. Prinsip kerja dari metode ini yaitu penentuan protein berdasarkan oksidasi bahan-bahan berkarbon dan konversi nitrogen menjadi ammonia. Lalu, ammonia akan bereaksi dengan kelebihan asam dan diuapkan supaya dapat diserap. Kemudian, nitrogen yang terkandung dalam larutan dapat ditentukan jumlahnya dengan proses titrasi (2).

Metode ini terbagi menjadi 3 tahap yaitu: [1] tahap destruksi/penghancuran (*digestion*), [2] tahap destilasi, dan [3] tahap titrasi (3). Pada salah satu tahap tersebut, lebih tepatnya pada tahap destilasi, terdapat penggunaan reagen NaOH dengan konsentrasi yang cukup besar dan dalam jumlah yang banyak. Hal tersebut diduga dapat memberikan pengaruh terhadap efisiensi penggunaan reagen NaOH pada pengujian kadar protein.

Menurut penelitian sebelumnya, penggunaan reagen NaOH dengan konsentrasi 300 g/L – 600 g/L pada tahap destilasi terhadap kandungan nitrogen total (N) menggunakan metode Kjeldahl, tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap pengulangan hasil serta tidak ada pengaruh interaksi antara konsentrasi reagen NaOH dengan sampel pada kandungan N dalam bahan yang berbeda ( $p > 0,01$ ). Sehingga, jika mempertimbangkan aspek non-teknis, penggunaan reagen NaOH dengan konsentrasi 300 g/L lebih direkomendasikan karena biaya yang diperlukan lebih murah (4).

Selain itu, pengurangan jumlah reagen NaOH yang digunakan dalam tahap destilasi pada metode Kjeldahl juga dapat menekan estimasi biaya yang digunakan serta mengurangi limbah yang dihasilkan di laboratorium. Sebab saat ini sedang timbul kekhawatiran yang

kuat akibat jumlah limbah yang dihasilkan dalam proses analisis yang didasarkan pada peningkatan resiko lingkungan dan biayanya (5).

Oleh karena itu, berdasarkan uraian yang telah dijelaskan di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efisiensi dari penggunaan reagen NaOH dengan volume yang berbeda pada tahap destilasi metode Kjeldahl terhadap pengujian kadar protein menggunakan alat Buchi KjelFlex K-360. Dengan adanya penelitian ini, diharapkan dapat dijadikan sebagai alternatif dalam upaya mengurangi penggunaan biaya operasional serta timbunan limbah yang dihasilkan dari proses analisis.

## II. Metode Penelitian

### Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah *true-eksperiment* yang dilakukan dengan memanipulasi secara sistematis suatu kondisi dengan tujuan melihat pengaruh akibat kondisi tersebut terhadap sasaran penelitian. Pada penelitian ini, kondisi yang dimanipulasi adalah volume reagen NaOH 32% dengan rentang 20 mL – 90 mL.

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya pada bulan Juli 2021 – Agustus 2021.

### Alat dan Bahan

#### 1. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya yaitu Buchi KjelFlex K-360, labu kjeldahl, erlenmeyer, gelas ukur, buret, gelas kimia, pipet tetes, neraca analitik (*Denver Instrument*), kertas timbang, dan spatula.

#### 2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya yaitu cangkang rajungan, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 98% (Merck), NaOH 32% (Merck), H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 2% (Merck), HCl 0,125 N (Merck), katalis tablet, aquades, dan indikator *Bromcesol Green* (BCG) (Merck).

### Prosedur Penelitian

#### 1. Tahap Destruksi

Langkah pertama yang harus dilakukan adalah persiapan alat. Sambungkan selang alat *scrubber* dengan kran air. Lalu, kabel alat *scrubber* dan kabel untuk alat destruksi (*speed* digeser ke K-436) dihubungkan ke stop kontak. Kemudian, alat tabung Kjeldahl dipasang pada alat destruksi (*speed* digeser). Selanjutnya, selang penguapan dihubungkan pada tabung Kjeldahl dan dialiri dengan air yang mengalir dari selang alat *scrubber*.

Langkah kedua yang harus dilakukan adalah persiapan sampel. Sampel (cangkang rajungan) ditimbang sebanyak 1 gram. Lalu, ditambahkan 1 tablet katalis dan 10 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 98%. Kemudian, sampel dimasukkan ke dalam tabung Kjeldahl.

Langkah ketiga yang harus dilakukan adalah pengoperasian alat. Sebelum dioperasikan, suhu diatur terlebih dahulu pada 400 °C dengan durasi waktu 2 jam. Setelah semuanya terhubung, tekan tombol “ON” pada alat. Selama proses destruksi, sampel dibiarkan hingga tidak berasap dan telah mengalami perubahan warna menjadi hijau. Kemudian, suhu diturunkan dan alat dimatikan.

## 2. Tahap Destilasi

Setelah proses destruksi, pindahkan sampel yang ada pada tabung Kjeldahl ke dalam tabung destilasi yang ada pada KjelFlex. Lalu, sambungkan selang NaOH, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, dan air ke dalam alat. Kemudian, nyalakan alat serta lakukan *priming* dan *pre-heating* pada alat. Selanjutnya, atur volume NaOH yang akan digunakan dan masukkan sampel ke dalam alat destilasi. Hasil dari proses destilasi ditampung di dalam erlenmeyer yang sudah ditambahkan indikator BCG. Destilat akan mengalami perubahan warna dari merah menjadi hijau.

## 3. Tahap Titrasi

Setelah proses destilasi, destilat dititrasi menggunakan HCl 0,125 N hingga mengalami perubahan warna dari hijau menjadi merah muda. Lalu, kadar nitrogen dan protein dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\% N = \frac{(ml \text{ HCl sampel} - ml \text{ HCl blanko}) \times N \text{ HCl} \times 14,008}{berat \text{ bahan (g)} \times 1000} 100\%$$

$$\% \text{ protein} = \% N \times 6,25$$

## III. Hasil Dan Pembahasan

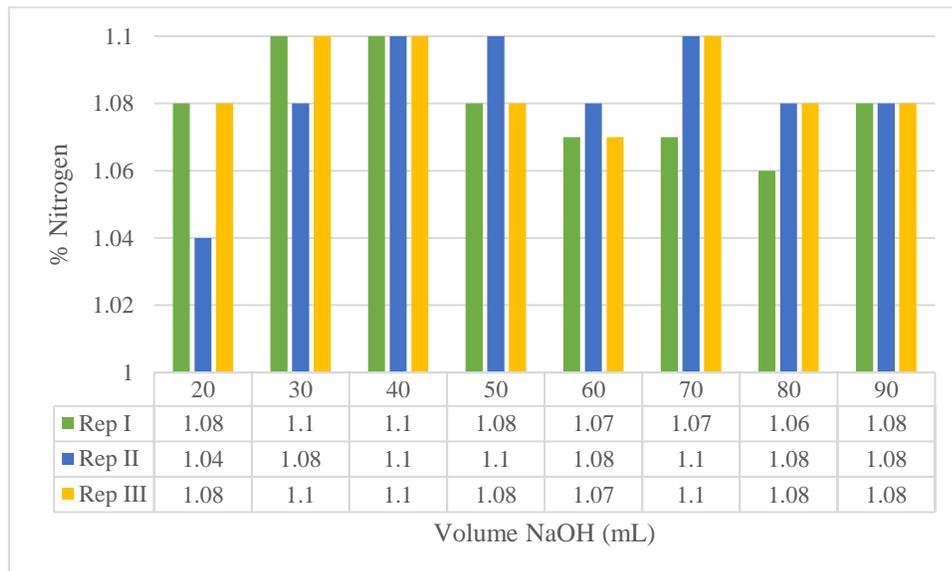
### Hasil Penelitian

Hasil dari penggunaan reagen NaOH dengan volume yang berbeda pada tahap destilasi metode Kjeldahl terhadap pengujian kadar protein cangkang rajungan menggunakan alat KjelFlex K-360 dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

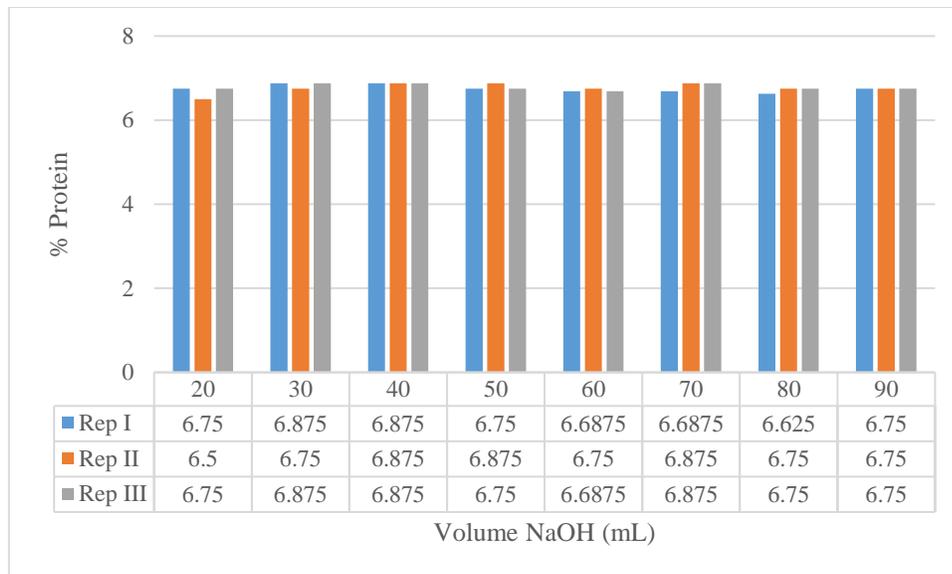
**Tabel 1.** Hasil Penggunaan Reagen NaOH dengan Volume yang Berbeda pada Pengujian Kadar Protein

Berat Sampel (gr)	Jumlah Tablet (gr)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 98% (ml)	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> 2% (ml)	NaOH 32% (ml)	Volume titrasi HCl 0,125 N (ml)	Kondisi Alat KjelFlex K-360	% N	% Protein
1,0008	1	10	60	20	6,4	Beroperasi normal	1,08	6,750
1,0006	1	10	60	20	6,2	Beroperasi normal	1,04	6,562
1,0008	1	10	60	20	6,4	Beroperasi normal	1,08	6,750
1,0018	1	10	60	30	6,5	Beroperasi normal	1,10	6,875

1,0016	1	10	60	30	6,4	Beroperasi normal	1,08	6,750
1,0014	1	10	60	30	6,5	Beroperasi normal	1,10	6,875
1,0030	1	10	60	40	6,5	Beroperasi normal	1,10	6,875
1,0032	1	10	60	40	6,5	Beroperasi normal	1,10	6,875
1,0031	1	10	60	40	6,5	Beroperasi normal	1,10	6,875
1,0006	1	10	60	50	6,4	Beroperasi normal	1,08	6,750
1,0004	1	10	60	50	6,5	Beroperasi normal	1,10	6,875
1,0006	1	10	60	50	6,4	Beroperasi normal	1,08	6,750
1,0007	1	10	60	60	6,3	Beroperasi normal	1,07	6,687
1,0006	1	10	60	60	6,4	Beroperasi normal	1,08	6,750
1,0007	1	10	60	60	6,5	Beroperasi normal	1,07	6,687
1,0003	1	10	60	70	6,3	Beroperasi normal	1,07	6,687
1,0007	1	10	60	70	6,5	Beroperasi normal	1,10	6,875
1,0006	1	10	60	70	6,5	Beroperasi normal	1,10	6,875
1,0031	1	10	60	80	6,3	Beroperasi normal	1,06	6,625
1,0032	1	10	60	80	6,4	Beroperasi normal	1,08	6,750
1,0030	1	10	60	80	6,4	Beroperasi normal	1,08	6,750
1,0076	1	10	60	90	6,4	Beroperasi normal	1,08	6,750
1,0073	1	10	60	90	6,4	Beroperasi normal	1,08	6,750
1,0073	1	10	60	90	6,4	Beroperasi normal	1,08	6,750
Blanko	1	10	60	100	0,2	Beroperasi normal		



**Gambar 1.** Grafik Penggunaan Reagen NaOH dengan Volume yang Berbeda pada Pengujian Kadar Nitrogen



**Gambar 2.** Grafik Penggunaan Reagen NaOH dengan Volume yang Berbeda pada Pengujian Kadar Protein

## Pembahasan

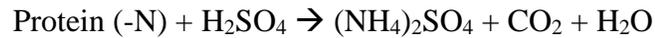
Pada penelitian ini telah dilakukan uji efisiensi dari penggunaan reagen NaOH terhadap pengujian kadar protein dengan menggunakan metode Kjeldahl. Metode Kjeldahl merupakan salah satu metode yang secara tidak langsung mengukur kandungan protein total pada makanan dengan cara mengkalikan jumlah nitrogen dengan faktor konversi (6). Metode Kjeldahl terdiri dari 3 tahap yang berbeda yaitu: [1] tahap destruksi, [2] tahap destilasi, dan [3] tahap titrasi (2).

### 1. Tahap Destruksi

Pada tahap destruksi ini, sampel dipanaskan dengan asam sulfat pekat pada suhu 350 °C – 410 °C dengan tujuan untuk memutuskan semua ikatan nitrogen dalam sampel dan mengubah semua nitrogen yang terikat secara organik menjadi ion amonium ( $\text{NH}_4^+$ ). Untuk mempercepat prosesnya, perlu ditambahkan beberapa jenis katalisator seperti  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{CuSO}_4$ , atau selenium. Kalium sulfat berfungsi untuk meningkatkan titik didih asam sulfat dan meningkatkan kecepatan serta efisiensi proses destruksi. Sedangkan tembaga sulfat berfungsi untuk meningkatkan pembentukan bentuk reaktif oksigen dan daya oksidasi larutan destruksi (7). Meskipun tembaga sulfat memiliki biaya yang lebih rendah serta risiko lingkungan dan kesehatan yang lebih rendah dibandingkan dengan katalis lain (misalnya merkuri dan selenium), namun pemanfaatannya yang berlebihan juga dapat menyebabkan akumulasi di lingkungan, termasuk pencemaran air dan tanah (8).

Proses destruksi akan dihentikan ketika cairan yang diperoleh berwarna merah lalu dibiarkan hingga dingin (mencapai suhu kamar). Cairan tersebut kemudian

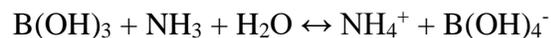
dipindahkan ke dalam unit destilasi untuk diproses menuju tahap selanjutnya (9). Reaksi yang terjadi pada tahap destruksi adalah sebagai berikut:



**Gambar 3.** Tahap Destruksi pada Pengujian Kadar Protein Menggunakan Alat Buchi Kjelflex K-360

## 2. Tahap Destilasi

Pada tahap destilasi ini, ion amonium ( $\text{NH}_4^+$ ) dari ammonium sulfat diubah menjadi amonia ( $\text{NH}_3$ ) dengan penambahan  $\text{NaOH}$  32%. Ammonia yang terbentuk lalu dialirkan melalui destilasi uap menuju bejana penerima yang sebelumnya telah diisi dengan larutan asam borat. Larutan tersebut berfungsi sebagai larutan penyerap yang dapat menangkap ammonia dan membentuknya menjadi ion ammonium terlarut (9). Selama proses ini, perlu ditambahkan beberapa buah batu didih atau lempeng  $\text{Zn}$  yang berfungsi untuk meratakan panas dan menghindari timbulnya gas yang terlalu besar. Proses ini akan diakhiri dengan diperolehnya tetesan destilat berwarna hijau yang menandakan bahwa reaksi antara ammonia dengan basa telah berhenti (10). Reaksi yang terjadi pada tahap ini adalah sebagai berikut:



**Gambar 4.** Tahap Destilasi pada Pengujian Kadar Protein Menggunakan Alat Buchi Kjelflex K-360

### 3. Tahap Titrasi

Pada tahap titrasi ini bertujuan untuk menentukan kadar nitrogen yang terkandung dalam sampel. Proses titrasi ini dapat dilakukan dengan menggunakan larutan standar asam sulfat atau asam klorida dan campuran indikator. Larutan standar dan campuran indikator yang digunakan adalah larutan HCl 0,125 N dan indikator *Bromcesol Green* (BCG).

Pada tahap ini, kelebihan asam borat yang tidak bereaksi dengan ammonia akan dititrasi dengan larutan standar HCl dengan menggunakan indikator BCG. Titik akhir titrasi ini akan dihentikan ketika telah terjadi perubahan warna merah muda yang konstan (9). Reaksi yang terjadi pada tahap ini adalah sebagai berikut:



Setelah proses titrasi selesai, kadar protein dapat dihitung dengan cara mengkalikan % kandungan nitrogen total dengan faktor konversi. Kadar protein yang diperoleh dari masing-masing penggunaan reagen NaOH pada tahap destilasi dengan volume yang berbeda yaitu: [1] 20 mL = 6,66%; [2] 30 mL = 6,81%; [3] 40 mL = 6,88%; [4] 50 mL = 6,79%; [5] 60 mL = 6,68%; [6] 70 mL = 6,81%; [7] 80 mL = 6,70%; dan [8] 90 mL = 6,73%.

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada Tabel 1, efektivitas unjuk kerja alat Buchi Kjelflex K-360 pada pengujian kadar protein dapat dilihat berdasarkan kondisi alatnya. Selama proses destilasi, penggunaan volume reagen NaOH yang berbeda-beda tidak memberikan dampak yang buruk terhadap kinerja alat sehingga alat tetap dapat beroperasi secara normal meskipun dalam prosedurnya terdapat sedikit perubahan.

Selain efektivitas unjuk kerja alat, juga terdapat efisiensi penggunaan reagen NaOH pada tahap destilasi metode Kjeldahl yang dapat dilihat berdasarkan kandungan nitrogen total dan kandungan protein yang diperoleh. Berdasarkan hasil uji statistik, data pada Tabel 1 tidak berdistribusi normal dan tidak homogen sehingga tidak dapat memenuhi syarat untuk melakukan uji *One Way ANOVA*, akan tetapi data tersebut dapat memenuhi syarat untuk melakukan uji *Kruskal Wallis*. Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan bahwa volume reagen NaOH tidak berpengaruh secara signifikan ( $p > 0,05$ ) terhadap kadar protein. Kemudian, untuk mengetahui adanya perbedaan pada setiap perlakuan maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Mann Whitney Test*. Hasil uji *Post Hoc Mann Whitney Test* menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan secara nyata ( $p > 0,05$ ) pada setiap perlakuan volume reagen NaOH.

Pada volume yang berbeda, kandungan nitrogen total dan kandungan protein yang diperoleh menunjukkan nilai yang sama. Sebagai contoh, penggunaan reagen NaOH pada volume 30 mL memberikan hasil kandungan nitrogen total yang sama persis dan kandungan protein yang tidak jauh berbeda dengan penggunaan reagen NaOH pada volume 90 mL. Sehingga penggunaan reagen NaOH dalam jumlah yang sedikit dapat meningkatkan efisiensi dari penggunaan reagen NaOH pada tahap destilasi metode Kjeldahl. Hal tersebut

juga dapat dilakukan sebagai alternatif dalam upaya mengurangi penggunaan biaya operasional analisis serta mengurangi timbunan limbah yang berpotensi berbahaya bagi lingkungan. Menurut metode INCT CA N-001/1, penggunaan larutan NaOH dengan konsentrasi yang rendah juga dapat memungkinkan penurunan dalam pembelian dan penggunaan larutan sebanyak 40% (4). Oleh karena itu, jika mempertimbangkan aspek non teknis (seperti biaya operasional), penggunaan reagen NaOH dengan volume 30 mL sangat disarankan sebab dapat memberikan tingkat efisiensi sebesar 67% dalam proses destilasi pada metode ini.

Metode yang digunakan dalam pengujian ini hanya terbatas pada sampel yang memiliki kandungan rendah protein, sehingga perlu dilakukan pengujian lebih lanjut pada beberapa jenis sampel yang memiliki kandungan protein tinggi seperti daging, susu, keju, telur, ikan, dan kacang-kacangan.

#### **IV. Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa penggunaan reagen NaOH dengan volume 30 mL dapat memberikan tingkat efisiensi sebesar 67% dalam tahap destilasi pada metode Kjeldahl.

#### **V. Saran**

Untuk penelitian selanjutnya diharapkan terdapat penambahan komponen titrasi secara otomatis pada alat Buchi Kjelflex K-360 supaya hasil yang diperoleh lebih akurat. Selain itu, tabung reaksi yang digunakan juga perlu dilakukan penambahan supaya dapat menghemat waktu dalam proses destruksi.

#### **VI. Ucapan Terima Kasih**

Segala puji dan syukur kehadirat Allah SWT atas berkah, rahmat, serta hidayah-Nya yang senantiasa dilimpahkan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian ini dengan baik. Penelitian ini tidak akan berhasil tanpa adanya bantuan dan kerjasama dari pihak lain. Maka dari itu, pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada para mahasiswa yang telah membantu dan mendukung terwujudnya penelitian ini.

**Daftar Pustaka**

- [1] Buchi. *Buku Pedoman Operasional KjellFlex K-360*. Switzerland : Buchi, 2016.
- [2] Yenrina, Rina. *Metode Analisis Bahan Pangan dan Komponen Bioaktif*. Padang : Andalas University Press, 2015.
- [3] Rohman, A. *Analisa Komponen Makanan*. Yogyakarta : Graha Ilmu, 2013.
- [4] *Sodium hydroxide concentrations in the distillation solution of the Kjeldahl method on the quantification of total nitrogen*. Rodrigues, A. N., Silva, T. E., Detmann, E. 2018, *Boletim de Indústria Animal* Vol. 75 No. 1, pp. 9-16.
- [5] *Evaluation of digestion procedures in Kjeldahl method to quantify total nitrogen in analyses applied to animal nutrition*. Silva, T.E., Detmann, E., Franco, M.O. 2016, *Acta Scientiarum Animal Sciences* Vol. 38, pp. 45-51.
- [6] *An Overview of the Kjeldahl Method of Nitrogen Determination. Part II. Sample Preparation, Working Scale, Instrumental Finish, and Quality Control*. Sáez-Plaza, Purificación., Navas, María José., Wybraniec, Sławomir., Michałowski, Tadeusz., Asuero, Agustín García. 2013, *Critical Reviews in Analytical Chemistry* Vol. 43 No. 4, pp. 224-272.
- [7] Silva, D. J. and Queiroz, A. C. *Food Analysis Chemical and Biological Methods 3rd ed*. Vicosa : UFV Publisher, 2002.
- [8] *Adsorption of heavy metals in luvisols and cambisols in the state of Paraíba*. Chaves, L. H. G., Souza, R. S., Chaves, I. B., & Tito, G. A. 2009, *Environmental Engineering: Research and Technology* Vol. 6 No.2 , pp. 150-162.
- [9] PanReac. *Nitrogen Determination by Kjeldahl Method*. Germany : PanReac AppliChem, 2017.
- [10] *Determination of Protein Content in Bean Sprouts with Kjeldahl Method*. Maryani, Tri. 2018, *Jurnal Analisis Farmasi* Vol. 3 No.4, pp. 266-272.