

**PROFIL PROTEIN ULAT SAGU (*Rhynchophorus ferrugeneis*)
YANG DIGORENG DAN DIPANGGANG MENGGUNAKAN METODE
SDS-PAGE**

Noverson Lidaya¹⁾, Stalis Norma Ethica²⁾, Ana Hidayati Mukaromah²⁾

¹Program Studi DIV Analisis Kesehatan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, Indonesia
email: noverlidaya@gmail.com

²Program Studi D3 Analisis Kesehatan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan (FIKKES), Universitas Muhammadiyah Semarang, Indonesia
email: norma@unimus.ac.id
email: ana_hidayati@unimus.ac.id

Abstract

Sago larvae is one of typical foods in papua, which rich of proteins containing various types of essential amino acids and having economic value. Papuan people use sago larvae as a source of income and for consumption. The heat processing on the worm could lead to protein denaturation. The objective of this research was to investigate the characteristic change of protein band pattern on sago larvae sample by SDS-PAGE method. Results of the study showed that the process of frying with time variations of 2, 4 and 6 minutes was proved to cause denaturation of sago larvae protein indicated by the missing of protein bands observation on electrophoregram. The highest level of sago larvae protein denaturation occurred on sample fried for 6 min. There were only 4 minor protein bands with molecular weight of 60 kDa, 42 kDa, 40 kDa, and 31 kDa. Observed on the roasting process, there was no significant change in protein profile of the sample roasted for 2 to 6 min, but sample roasted for 4-min appeared to begin losing protein band on gel. As conclusion based on the experiment performed, the best time for frying and roasting of sago larvae is 2 min.

Keywords: *Sago larvae, Frying, Roasting, Protein profile, SDS-PAGE.*

1. PENDAHULUAN

Ulat sago merupakan salah satu makanan khas di Papua yang kaya akan protein sehingga mengandung berbagai jenis asam amino esensial dan bernilai ekonomis. Masyarakat di Papua menggunakan sisa-sisa olahan batang tanaman sago untuk membudidayakan ulat sago (Purnamasari, 2010).

Masyarakat di Papua memanfaatkan ulat sago sebagai sumber pendapatan dan untuk dikonsumsi. Potensi untuk pengembangan ulat sago sebagai sumber protein sangat besar khususnya di Papua. Namun dalam mengolah ulat sago masyarakat pada umumnya belum memiliki pengetahuan tentang proses pengolahan yang baik agar protein yang ada di dalamnya tidak rusak, baik untuk dikonsumsi dan mudah dicerna (Widiastuti dan Kisan, 2014).

Ulat sago biasanya diolah dengan berbagai cara seperti digoreng dan dipanggang (Hastuty, 2016). Proses penggorengan dan pemanggangan pada ulat sago dapat menyebabkan perubahan pada penampilan, tekstur dan terutama nilai nutrisi dari ulat sago. Perubahan sifat fisik dan kimia yang terjadi selama proses pemanasan salah satunya adalah denaturasi protein. Protein akan terdenaturasi oleh panas pada suhu di atas 65°C (Mastuti, 2008).

Hasil penelitian tentang pengaruh penambahan belimbing wuluh dan perebusan terhadap profil protein udang putih berformalin yang dilakukan oleh Wikanta dkk., (2011), menunjukkan bahwa penambahan perasan buah belimbing wuluh dan perebusan menunjukkan keberadaan masing – masing pita protein. Pada penambahan belimbing wuluh mulai dari konsentrasi 40% - 80%, baik pada perebusan 30 maupun 45 menit menunjukkan perubahan pita yang mencolok. Hampir semua pita protein mengalami penipisan bahkan hilang.

Untuk mempelajari karakteristik protein dan DNA pada makhluk hidup digunakan metode analisis molekuler berdasarkan prinsip elektroforesis (Darmawati dkk., 2012; Ethica dkk., 2013; Feri dkk., 2017). Profil protein pada ulat sagu dapat diketahui dengan menggunakan elektroforesis, salah satunya dengan menggunakan metode SDS-PAGE. Metode *Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrilamide Gell Electrophoresis* (SDS-PAGE) adalah metode yang dapat memisahkan sub unit – sub unit protein berdasarkan berat molekul melalui matriks poliakrilamid yang dialiri medan listrik yang bermigrasi dari kutub negatif ke kutub positif (Darmawati dkk., 2012). Tujuan penelitian ini untuk melihat profil protein ulat sagu berdasarkan variasi waktu penggorengan dan pemanggangan.

2. KAJIAN LITERATUR

Ulat sagu dikembangbiakkan pada sisa-sisa potongan pohon sagu. Panen ulat sagu dapat dilakukan setelah 30 – 40 hari setelah pohon sagu ditebang. Kandungan protein kasar pada ulat sagu cukup tinggi, rata-rata 32,54%. Kandungan protein yang tinggi tersebut dalam ulat sagu nanti akan digunakan untuk membentuk protein struktural yang diperlukan dalam pembentukan jaringan tubuh larva. Berdasarkan hasil analisis kandungan asam amino menggunakan RP-HPLC dan spektrofotometer yang dilakukan oleh Purnamasari (2010), didapatkan 16 asam amino, 8 diantaranya adalah asam amino esensial yaitu isoleusin, leusin, lisin, metionin, fenilalanin, triptofan, threonin, dan valin.

Protein menyusun lebih dari separuh bagian dari sel. Protein juga terdiri dari rangkaian panjang dan kombinasi dari 20 asam amino yang terikat satu sama lain dalam ikatan peptida. Ketika tubuh akan membentuk jaringan baru, jaringan baru tersebut akan terbentuk jika asam amino esensial tersedia (Fatchiyah dkk., 2011). Protein akan mengalami perubahan struktur kimia akibat pemanasan atau denaturasi yaitu putusanya ikatan dalam molekul (Sumiati, 2008).

Protein dapat mengalami denaturasi pada suhu 50– 80°C. Terjadinya proses denaturasi pada protein ini dapat disebabkan oleh banyak faktor, seperti pengaruh pemanasan, pH, garam, atau pengadukan. Masing-masing cara mempunyai pengaruh yang berbeda-beda terhadap denaturasi protein (Triyono, 2010).

Pengolahan bahan pangan adalah setiap perlakuan yang diterima pangan sejak dipanen hingga dikonsumsi. Salah satu proses pengolahan bahan pangan yang sering dilakukan adalah perlakuan panas dengan cara pemasakan. Konsep dasar memasak yaitu menerapkan perambatan panas pada makanan dengan tujuan untuk memperoleh rasa, mengubah struktur bahan, aman untuk dimakan, mudah dicerna, serta dapat membunuh bakteri dan menginaktifkan enzim. Proses memasak terjadi ketika suhu mencapai 60°C, sebagian besar bakteri mati antara suhu 60 – 65°C (Hamidah, dan Komariah, 2013).

Penggunaan panas yang berlebihan terhadap komponen daging dapat menyebabkan perubahan fisik dan kimia. Pada suhu 100°C, protein akan terkoagulasi dan air dalam daging akan keluar. Keluarnya cairan dari daging disebabkan karena protein kehilangan daya ikat terhadap air. Semakin tinggi suhu yang digunakan, maka protein akan terhidrolisa dan terdenaturasi (Sumiati, 2008).

Profil protein ulat sagu dianalisa dengan metode SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis*). SDS-PAGE adalah teknik yang digunakan

untuk memisahkan rantai polipeptida pada protein berdasarkan kemampuan bergerak dalam arus listrik. Hasil yang diperoleh merupakan gambaran variasi dari panjang rantai polipeptida atau berat molekulnya (Saputra, 2014).

3. METODE

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif yang didukung oleh data hasil eksperimen laboratorium. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pengolahan ulat sagu dengan penggorengan dan pemanggangan selama 2, 4 dan 6 menit. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah profil protein ulat sagu yang telah diolah dengan cara digoreng dan dipanggang selama 2, 4 dan 6 menit. Objek penelitian adalah ulat sagu yang diberi 3 macam perlakuan, yaitu tanpa pengolahan, penggorengan selama 2, 4 dan 6 menit, serta pemanggangan selama 2, 4 dan 6 menit.

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *chamber* elektroforesis, sisiran, *glassplate*, spaser, mikropipet, tabung konikel, tabung *ependorf*, mikrotube, *power supply*, alat vortex, sarung tangan, masker, tempat buang cairan biologis, sentrifus, *waterbath*, *yellowtip*, *bluetip*, *whitetip*, *erlenmeyer*, rotator, alat penggerus, spektrofotometer, *beaker glass*, *deep fryer*, spatula, anyaman kawat, dan tungku. Bahan yang dibutuhkan adalah 13 ekor ulat sagu, *aquadest* steril, *polyacrylamid* 30%, 1,5 M tris (pH 6,8 dan 8,8), 10% SDS, 10% APS, TEMED, *bromophenol blue*, gliserin, *coomassie brilliant blue R-250*, metanol, asam asetat glasial, minyak goreng, dan arang.

Prosedur penelitian: Ulat sagu 13 ekor dicuci bersih dengan air, kemudian ditiriskan dalam wadah keranjang plastik. Enam ekor ulat sagu digoreng selama 2, 4 dan 6 menit, dan 6 ekor ulat sagu dipanggang selama 2, 4 dan 6 menit. Disisakan 1 ekor ulat sagu sebagai kontrol. Tahap selanjutnya dilakukan isolasi protein dengan cara dihaluskan pada alat penggerus, dan ditambahkan PBS 1x. Setelah itu dimasukkan kedalam tabung konikel dan dihomogenkan menggunakan vortex. Kemudian disentrifus dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C. Supernatannya dipindahkan kedalam tabung *ependorf*. Selanjutnya absorbansi sampel dibaca dengan menggunakan spektrofotometer untuk mendapatkan nilai konsentrasi protein sampel.

Selanjutnya dilakukan separasi protein sampel dengan menggunakan metode SDS-PAGE. Disiapkan *glassplate*, sisir dan spaser yang telah dibersihkan menggunakan deterjen dan alkohol 70% untuk pencetak gel. Setelah alat pencetak gel disiapkan, separating gel yang telah dibuat dimasukkan dalam alat pencetak gel, ditunggu hingga polimerisasi. Selanjutnya stacking gel dimasukkan diatas separating gel dengan cepat, sisir dimasukkan diatasnya. Ditunggu hingga terjadi polimerisasi, sisir diangkat dari atas stacking gel secara perlahan. Gel kemudian dimasukkan kedalam alat elektroforesis, running buffer dimasukkan ke dalamnya. Campuran tersebut dipanaskan selama 15 menit dengan aliran listrik dari alat SDS-PAGE. Kemudian 15 µl sampel yang telah ditambahkan sampel *buffer* dimasukkan dalam sumuran yang telah disediakan, dialirkan listrik dengan tegangan 100 volt. Aliran listrik dihentikan setelah *bromophenol blue* mencapai dasar stacking gel. Gel dikeluarkan dari alat pencetak secara perlahan, kemudian gel dimasukkan ke dalam larutan pewarna dengan 0,1% *Commasie Brilliant Blue R-250* selama 30 - 60 menit hingga pita protein terwarnai. Selanjutnya untuk menghilangkan warna pada gel yang tidak mengandung protein diberi larutan destaining, larutan destaining diganti 3 - 4 kali hingga gel tampak bersih. Untuk menentukan berat molekul protein yang diinginkan, dihitung menggunakan R_f dan diplotkan pada grafik logaritmik dari R_f marker protein yang berat molekulnya telah diketahui (Darmawati dkk., 2012).

4. HASIL

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 13 ekor ulat sagu yang dibeli di pasar sore kota merauke, yang dibagi menjadi 3 perlakuan. Perlakuan pertama sebagai kontrol, perlakuan kedua digoreng dengan variasi waktu 2, 4 dan 6 menit serta perlakuan ketiga dipanggang dengan variasi waktu 2, 4 dan 6 menit.

Tabel 1. Konsentrasi protein ulat sagu

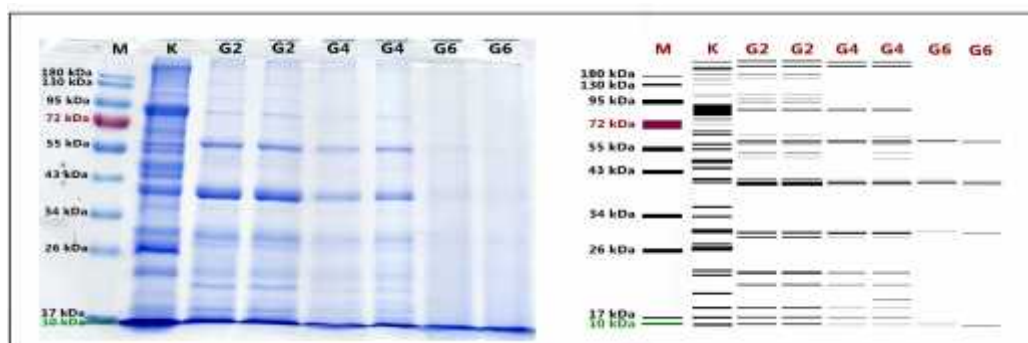
Perlakuan Sampel	Konsentrasi protein dalam $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
Kontrol	3,04
G2	1,75
G4	1,15
G6	0,45
P2	2,95
P4	2,13
P6	2,67

Keterangan :

- Kontrol = Sampel tanpa perlakuan
- G2 = Sampel penggorengan 2 menit
- G4 = Sampel penggorengan 4 menit
- G6 = Sampel penggorengan 6 menit
- P2 = Sampel pemanggangan 2 menit
- P4 = Sampel pemanggangan 4 menit
- P6 = Sampel pemanggangan 6 menit

Hasil spektrofotometer menunjukkan konsentrasi protein pada sampel kontrol lebih tinggi yaitu $3,04 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ dibandingkan sampel dengan perlakuan menggoreng dan memanggang. Konsentrasi terendah terdapat pada sampel dengan perlakuan menggoreng selama 6 menit yaitu $0,45 \mu\text{g}/\mu\text{l}$.

Analisis profil protein dengan menggunakan metode SDS-PAGE dan visualisasi pita protein terhadap sampel ulat sagu yang digoreng dan dipanggang dengan variasi waktu menunjukkan hasil seperti pada Gambar 1 dan 2.

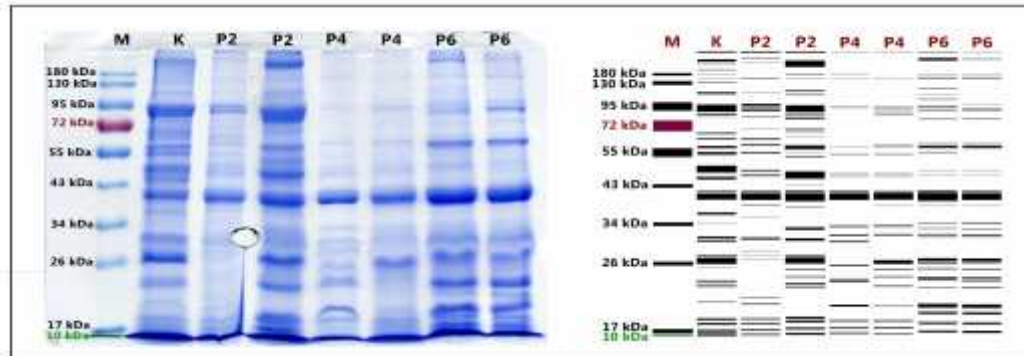


Gambar 1. SDS-PAGE gel 1 dan Visualisasi pita protein sampel ulat sagu yang digoreng

Keterangan gambar:

- M = Marker
- K = Sampel tanpa perlakuan (kontrol)
- G2 = Sampel penggorengan 2 menit I
- G2 = Sampel penggorengan 2 menit II
- G4 = Sampel penggorengan 4 menit I

G4 = Sampel penggorengan 4 menit II
G6 = Sampel penggorengan 6 menit I
G6 = Sampel penggorengan 6 menit II



Gambar 2. SDS-PAGE gel 2 dan Visualisasi pita protein sampel ulat sagu yang dipanggang

Keterangan gambar:

- M = Marker
- K = Sampel tanpa perlakuan (kontrol)
- P2 = Sampel pemanggangan 2 menit I
- P2 = Sampel pemanggangan 2 menit II
- P4 = Sampel pemanggangan 4 menit I
- P4 = Sampel pemanggangan 4 menit II
- P6 = Sampel pemanggangan 6 menit I
- P6 = Sampel pemanggangan 6 menit II

Berat molekul protein diukur dengan menggunakan protein standar (marker) yang telah diketahui berat molekulnya dengan cara membandingkan nilai *Retardation factor* (Rf) menggunakan rumus oleh oleh Fatchiyah dkk, (2011).

$$Rf = \frac{\text{Jarak pergerakan pita protein dari tempat awal}}{\text{Jarak pergerakan warna dari tempat awal}}$$

Tabel 2. Rf dan BM Marker Gel 1

Jarak Marker	Rf Marker	Berat molekul Marker (kDa)
0,6	0,10	180
0,8	0,14	130
1,2	0,20	95
1,6	0,27	72
2,2	0,37	55
Jarak Marker	Rf Marker	Berat molekul Marker (kDa)
2,8	0,47	43
3,6	0,61	34
4,3	0,73	26
5,7	0,97	17
5,8	0,98	10

Untuk menentukan berat molekul protein sampel pada gel 1, dihitung menggunakan R_f dan diplotkan pada grafik logaritmik dari R_f marker protein yang berat molekulnya telah diketahui (Darmawati dkk., 2012).

Tabel 3. R_f dan BM Marker Gel 2

Jarak Marker	R_f Marker	Berat molekul Marker (kDa)
0,7	0,12	180
0,9	0,15	130
1,3	0,22	95
1,8	0,30	72
2,3	0,38	55
2,9	0,48	43
3,8	0,63	34
4,5	0,75	26
5,8	0,97	17
5,9	0,98	10

Untuk menentukan berat molekul protein sampel pada gel 2, dihitung menggunakan R_f dan diplotkan pada grafik logaritmik dari R_f marker protein yang berat molekulnya telah diketahui.

Tabel 4. Hasil analisis dan Berat molekul sampel pada gel 1

Jenis Sampel	Pita Protein Sampel	Berat Molekul (kDa)
K	4 pita mayor	95, 49, 32, dan 27 kDa
	25 pita minor	180, 155, 130, 125, 89, 81, 78, 72, 68, 65, 60, 55, 49, 42, 40, 37, 35, 26, 25, 24, 23, 21, 18, 17, dan 10 kDa
G2	3 pita mayor	63, 40 dan 37 kDa
	18 pita minor	180, 125, 111, 100, 95, 65, 60, 55, 50, 42, 31, 29, 28, 26, 23, 21, 18, dan 10 kDa
G4	2 pita mayor	60 dan 40 kDa
	14 pita minor	89, 55, 50, 42, 37, 31, 28, 27, 24, 23, 21, 19, 18, dan 10 kDa
G6	5 pita minor	60, 42, 40, 31, dan 10 kDa

Tabel 5. Hasil analisis dan Berat molekul sampel pada gel 2

Jenis Sampel	Pita Protein Sampel	Berat Molekul (kDa)
K	4 pita mayor	95, 50, 38, dan 26 kDa
	21 pita minor	180, 165, 121, 93, 87, 81, 72, 68, 62, 57, 46, 42, 36, 33, 29, 28, 24, 23, 21, 19, dan 10 kDa
P2	4 pita mayor	93, 55, 42, dan 34 kDa
	23 pita minor	180, 121, 115, 87, 81, 78, 72, 68, 62, 52, 49, 44, 41, 39, 31, 28, 26, 25, 24, 23, 19, 17, dan 10 kDa
P4	1 pita mayor	41 kDa
	18 pita minor	180, 87, 66, 52, 49, 43, 40, 39, 35, 31, 27, 25, 24, 23, 20, 19, 17, dan 10 kDa
P6	1 pita mayor	40 kDa
	30 pita minor	180, 130, 121, 115, 106, 95, 93, 81, 68, 66, 62, 57, 55, 52, 50, 49, 42, 39, 36, 34, 31, 30, 28, 27, 25, 23, 20, 19, 18, dan 10 kDa

Perubahan karakteristik pola pita protein pada sampel ulat sagu dengan metode SDS-PAGE menunjukkan bahwa, perlakuan menggoreng dengan variasi waktu 2, 4 dan 6 menit menyebabkan denaturasi pada protein ulat sagu. Ditunjukkan oleh banyaknya pita protein yang hilang berdasarkan pengamatan pada elektroforegram. Denaturasi protein ulat sagu tertinggi terjadi pada sampel yang digoreng selama 6 menit, hanya terdapat 5 pita protein minor dengan berat molekul 60 kDa, 42 kDa, 40 kDa, 31 kDa, dan 10 kDa. Pada perlakuan pemanggangan, tidak terjadi perubahan profil protein yang signifikan pada sampel yang dipanggang selama 2 dan 6 menit, tetapi pada pemanggangan 4 menit banyak pita protein yang mengalami penipisan dan hilang.

5. SIMPULAN

Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa pengolahan ulat sagu dengan cara menggoreng dan memanggang dengan variasi waktu berpengaruh terhadap perubahan pita protein. Semakin tinggi temperatur yang digunakan dalam proses pemasakan ulat sagu maka semakin besar tingkat denaturasi protein yang ditandai dengan penipisan dan hilangnya pita-pita protein. Semakin lama waktu yang digunakan dalam proses pemasakan maka semakin banyak pita-pita protein yang menipis dan bahkan hilang. Pada proses pemanggangan, perlakuan dengan waktu selama 2 menit merupakan perlakuan terbaik karena pita-pita protein masih terlihat utuh. Pada proses penggorengan, perlakuan dengan waktu selama 2 menit merupakan perlakuan terbaik meskipun banyak pita-pita protein yang mengalami penipisan.

Pengolahan ulat sagu dengan cara dipanggang selama 2 menit disarankan karena menyebabkan denaturasi protein lebih sedikit pada perlakuan tersebut. Penelitian lebih lanjut dapat dilakukan mengenai pengaruh perlakuan penyimpanan sebelum atau setelah pengolahan terhadap profil protein ulat sagu. Kepada masyarakat untuk mengurangi lama waktu pada proses penggorengan karena selain bertujuan menghindari denaturasi protein yang berlebihan juga untuk menghindari terjadinya reaksi browning (pencoklatan) yang

berlebihan pada saat penggorengan karena dapat mengakibatkan munculnya senyawa-senyawa penyebab kanker.

6. REFERENSI

- Darmawati, S., Anwar, S, dan Haribi, R. 2012. *Analisis Molekuler Profil Protein Pili untuk Mengungkap Hubungan Similaritas 26 Strain Salmonella typhi Isolat Jawa*. Prosiding Seminar Hasil-Hasil Penelitian ISBN: 978-602-18809-0-6. LPPM Universitas Muhammadiyah Semarang
- Ethica, S N, Nataningtyas, D R, Lestari, P, Istini, I, Semiarti E, Widada, J, and Raharjo, T J. 2013. *Comparative Evaluation of Conventional Versus Rapid Methods for Amplifiable Genomic DNA Isolation of Cultured Azospirillum sp. JG3*. *Indonesian Journal of Chemistry*, 13(3), pp.248-253.
- Fatchiyah, Arumingtyas, E L, Widyarti, S, dan Rahayu, S. 2011. *Biologi Molekuler*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Feri, F., Ethica, S N, dan Mukaromah, A H., 2017, October. *Profil Protein Daging Ikan Bandeng (Chanos Chanos) Menggunakan SDS-PAGE Sebelum dan Sesudah Penggaraman*. In Prosiding Seminar Nasional & Internasional (Vol. 1, No. 1)
- Hamidah, S, dan Komariah, K. 2016. *Resep & Menu*. Ed.1, Yogyakarta: Deepublish
- Hastuty, S. 2016. *Pengolahan Ulut Sagu (Rhynchophorus Ferruginenes) di Kelurahan Bosso Kecamatan Walenrang Utara Kabupaten Luwu*, Volume 1. Universitas Cokroaminoto, Palopo.
- Mastuti, R. 2008. *Pengaruh Suhu dan Lama Waktu Menggoreng Terhadap Kualitas fisik dan Kimia Daging Kambing Restrukturisasi*, Volume 3. Fakultas Pertanian Universitas Samudra Langsa.
- Purnamasari, V. 2010. *Kualitas Protein Ulut Sagu (Rhynchophorus Bilineatus)*. Volume 2. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih Papua.
- Rahmiati, A., Darmawati, S, dan Mukaromah, A H. 2017, September. *Daya Hambat Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus dan Staphylococcus epidermidis Secara In Vitro*. In Prosiding Seminar Nasional & Internasional (Vol. 1, No. 1).
- Saputra, F.R. 2014. *Aplikasi Metode SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis) untuk Mengidentifikasi Sumber Gelatin pada Kapsul Keras*. Skripsi. Program Studi Farmasi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta
- Sumiati, T. 2008. *Pengaruh Pengolahan Terhadap Mutu Cerna Protein Ikan Mujair (Tilapia Mossambica)*. Skripsi. Program Studi Gizi Masyarakat dan Sumberdaya Keluarga Fakultas Pertanian IPB
- Triyono, A. 2010. *Mempelajari Pengaruh Penambahan Beberapa Asam pada Proses Isolasi Protein terhadap Tepung Protein Isolat Kacang Hijau (Phaseolus Radiatus L.)*. jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik UNDIP Semarang
- Wikanta, W, Abdurrajak, Y, Sumarno, dan Amin, M. (2011). *Pengaruh Penambahan Belimbing Wuluh (Averrhoa Bilimbi L.) dan Perebusan Terhadap Kadar Residu Formalin dan Profil Protein Udang Putih (Letapenaeus Vennemei) Berformalin serta Pemanfaatannya Sebagai Sumber Pendidikan Gizi dan Keamanan Pangan pada Masyarakat*, Volume 8. Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Sebelas Maret.
- Widiastuti, H, dan Kisan, C.M. 2014. *Analisis Kadar Protein pada Ulut Sagu (Rhynchophorus Ferrugineus) Asal Kabupaten Halmahera Timur Maluku Utara dengan Metode Kjeldahl*, Volume 6. Fakultas Farmasi UMI Makassar.