

**PENENTUAN KADAR ASAM AMINO BEBAS DAN KADAR PROTEIN TERLARUT
DARI EKSTRAK KECAMBAH KACANG MERAH (*Phaseolus vulgaris* L.)
DENGAN VARIASI WAKTU PERKECAMBAHAN**

A. A. I. A. M. Laksmiwati⁸, E. Sahara, dan N. K. Ariati

*Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Pengeahuan Alam, Universitas Udayana, Badung,
Bali, Indonesia*

Email: mayunlaksmiwati@unud.ac.id

ABSTRAK

Paper ini membahas pengaruh waktu perkecambahan kacang merah terhadap kadar asam amino bebas dan protein terlarut yang terkandung dalam kecambahnya. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar asam amino bebas dan kadar protein terlarut dalam ekstrak kecambah kacang merah yang dihasilkan dari berbagai waktu perkecambahan, yaitu 0, 24, 48, 72, 96 dan 120 jam. Penelitian ini meliputi serangkaian tahap percobaan yaitu diawali dengan proses perkecambahan kacang merah dengan perlakuan variasi waktu perkecambahan, selanjutnya masing-masing sampel kecambah memasuki tahap penepungan, ekstraksi, dan deproteinasi. Terhadap sampel tepung kacang merah dilakukan uji kadar air dan terhadap hasil deproteinisasi dilakukan uji kualitatif dan uji kuantitatif dengan spektrofotometer UV-Vis pada $\lambda = 54\text{nm}$ dan $\lambda = 570\text{ nm}$. Hasilnya menunjukkan bahwa kadar air tepung kacang merah sebesar 9,28 %, nilai ini memenuhi standar baku mutu Standar Nasional Indonesia (SNI) yaitu tidak melebihi dari 10%. Uji kualitatif adanya asam amino dengan metode Ninhydrin dan uji protein dengan metode biuret terhadap hasil ekstraksi kecambah kacang merah dengan variasi waktu perkecambahan 0, 24, 48, 72, 96 dan 120 jam menunjukkan hasil yang positif. Kadar total asam amino bebas pada variasi waktu perkecambahan tersebut berturut-turut sebesar 41,87; 69,20; 85,94; 96,31; 102,94 dan 80,62 mg/100g kecambah kacang merah. Kadar protein terlarut dalam ekstrak kecambah kacang merah dengan variasi waktu yang sama, berturut-turut diperoleh sebesar 2,34; 1,87; 1,67; 1,92; 1,37; dan 1,15 % (b/b). Dari hasil penelitian ini, jelas terlihat bahwa kadar asam amino tertinggi diperoleh pada waktu perkecambahan selama 96 jam, sedangkan kadar protein terlarut tertinggi diperoleh pada waktu perkecambahan selama 72 jam. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa lama perkecambahan mempengaruhi kadar total asam amino bebas dan kadar protein terlarut dalam kecambah kacang merah.

Kata kunci: asam amino bebas, kacang merah, perkecambahan, protein terlarut

ABSTRACT

This paper discusses the effect of red bean germination time on the levels of free amino acids and dissolved protein contained in the sprouts. This study aimed to determine the values of free amino acids and dissolved protein levels in red bean sprout extracts produced at various germination times, namely 0, 24, 48, 72, 96, and 120 hours. This study included a series of experimental stages, initiated with the red bean germination process with variations in germination time, and the next stage was each sample of sprouts entered the stages of flouring, extraction, and deproteinization. Samples of red bean flour were tested for their water content, and the results of deproteinization were tested qualitatively and quantitatively using a UV-Vis spectrophotometer at $\lambda = 540\text{ nm}$ and $\lambda = 570\text{ nm}$, respectively. The results showed that the water content of red bean flour was 9.28%, which met the Indonesian National Standard (SNI), which did not exceed 10%. Qualitative tests for the presence of amino acids using the Ninhydrin method and the total protein content tests using the Biuret method on the extract of red bean sprouts with germination times of 0, 24, 48, 72, 96, and 120 hours showed positive results. The total free amino acid levels in the red bean extracts obtained from various germination times were 41.87, 69.20, 85.94, 96.31, 102.94, and 80.62 % (w/w), respectively, while the values of soluble protein were 2.34, 1.87, 1.67, 1.92, 1.37, and 1.15 % (w/w), respectively. It can be seen clearly that the highest level of amino acids was obtained at the germination time of 96 hours, while the highest soluble protein level at the germination time of 72 hours.

Keywords: free amino acids, germination, red beans, soluble protein

PENDAHULUAN

Protein merupakan suatu makromolekul yang terbentuk dari asam amino yang tersusun dari atom nitrogen, karbon, dan oksigen yang dihubungkan oleh ikatan peptida (Stollar and Smith, 2020). Protein merupakan bagian dari semua sel hidup dan merupakan bagian terbesar di dalam tubuh manusia. Sumber protein dapat berasal dari kacang-kacangan, atau yang biasa kita kenal sebagai protein nabati. Salah satu jenis kacang-kacangan yang bisa digunakan sebagai sumber protein nabati adalah kacang merah (Pinuel, *et al.*, 2020). Kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L) merupakan salah satu komoditas kacang-kacangan yang mudah ditemukan dan memiliki kandungan protein sebesar 22,1 g/100 g kacang yang hampir setara dengan kacang hijau yaitu mencapai 24 g/100 g sampel (TKPI, 2019). Semakin tinggi kandungan protein, maka semakin banyak asam amino bebas yang akan dihasilkan. Asam amino merupakan komponen utama penyusun protein yang memiliki fungsi metabolisme dalam tubuh (Mandila dan Hidajati, 2013). Supaya protein dapat diserap oleh tubuh, maka protein harus dipecah terlebih dahulu menjadi asam-asam amino bebas oleh enzim. Asam amino bebas dapat lebih mudah diserap oleh tubuh. Keberadaan asam amino bebas juga dapat mempercepat stimulasi sekresi, hal ini sangat dibutuhkan oleh penderita diabetes (Kanetro, 2017).

Salah satu upaya untuk meningkatkan kandungan asam amino bebas pada kacang-kacangan adalah melalui proses perkecambahan. Perkecambahan merupakan tahap awal dari proses terbentuknya individu baru pada tumbuhan berbiji (Setiawan *et al.*, 2021). Selama proses perkecambahan terjadi aktivitas degradasi protein cadangan dalam biji oleh protease endogen dan melepaskan peptida pendek maupun asam amino bebas untuk pertumbuhan, yang berakibat terjadinya peningkatan kadar peptida dan asam amino bebas yang mencapai puncaknya pada fase tertentu dalam proses perkecambahan. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Aragao (2015) yang menyatakan bahwa pada perkecambahan biji dari tanaman aras (*Cedrela fissilis*), menunjukkan peningkatan yang signifikan pada kadar total asam amino bebas pada hari ke-2 imbibisi (fase I) dan berlanjut hingga penonjolan radikula (fase II) pada hari ke-10 imbibisi, dan terjadi penurunan yang signifikan selama pengembangan bibit *Cedrela fissilis* pada hari

ke 17 imbibisi. Dirga dan Djayanti (2016) telah melakukan upaya perkecambahan kacang hijau dalam berbagai larutan perendam, Mardiyanto dan Sudarwati (2015) melakukan penelitian mengenai perkecambahan kacang kedelai, dan penelitian mengenai perkecambahan kacang merah selama 48 jam terhadap kadar gizi, serat dan antosianin oleh Riska *et al.* (2020), yang umumnya dikerjakan dengan waktu perkecambahan tertentu saja. Upaya untuk mengetahui hubungan antara waktu perkecambahan terhadap kadar total dan komposisi asam amino bebas belum pernah dilakukan sebelumnya. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh variasi waktu perkecambahan terhadap kadar total asam amino bebas dan jenis asam amino dari ekstrak kecambah kacang merah

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan penelitian yang digunakan adalah kacang merah yang diperoleh dari pasar tradisional Desa Tamblang-Buleleng. Bahan kimia yang digunakan meliputi: aquades, aquabides, natrium hipoklorit, HCl pekat, NaOH, reagen ninhidrin, etanol, kasein, leusin, CuSO₄.

Peralatan

Alat yang digunakan meliputi seperangkat peralatan gelas, blender, alat sentrifugasi, indikator pH, vortex, lemari pendingin, botol vial, inkubator-shaker, waterbath dan spektrofotometer UV-Vis.

Cara Kerja

Perkecambahan kacang merah

Sebanyak 3 kg kacang merah yang telah disortir direndam selama 30 menit dengan natrium hipoklorit 0,07% sampai terendam seluruhnya, kemudian dibilas sebanyak tiga kali dengan air mengalir. Selanjutnya dilakukan proses imbibisi dengan cara kacang hasil rendaman ditambah air hangat suhu 50°C hingga kacang terendam seluruhnya. Kacang dibiarkan terendam pada suhu kamar selama 5 jam. Setelah proses imbibisi, kacang ditiriskan dan ditempatkan dalam 15 cawan yang dilapisi dengan kertas saring basah dan diisi dengan kacang merah sebanyak 200 g. Kacang merah kemudian dikecambahkan dalam germinator

pada suhu 25°C dengan kelembaban 99% dan disemprot dengan aquades setiap 12 jam untuk menjaga kelembabanya. Sampel hasil perkecambahan diambil secara berkala mulai 0, 24, 48, 72, 96, sampai 108 jam. Kecambah yang dihasilkan disimpan pada suhu 20°C selama 24 jam untuk menghentikan proses perkecambahan.

Pembuatan tepung kecambah kacang merah

Kacang merah yang telah mengalami perkecambahan dimasing-masing cawan kecil berdasarkan waktu perkecambahannya disortir/dipilah kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C sampai massa konstan. Kecambah kacang merah kering, dikupas kulitnya, diblender dan diayak menggunakan ayakan ukuran 60 mesh sehingga diperoleh tepung kecambah kacang merah.

Ekstraksi asam amino bebas dari tepung kecambah kacang merah.

Sebanyak 5 g tepung kecambah kacang merah dicampur aquades dengan rasio 1:10 kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* dan *heater* pada suhu 40°C selama 15 menit. Campuran disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh sesudah sentrifugasi merupakan ekstrak yang mengandung asam amino bebas dan makromolekul protein. Makromolekul protein ini dipisahkan dengan metode presipitasi isoelektrik pada pH 4,5 sampai timbul endapan. Selanjutnya disentrifugasi untuk memisahkan endapan proteinnya. Supernatan yang diperoleh adalah ekstrak kecambah kacang merah. Selanjutnya ekstrak kecambah kacang merah dianalisis kadar protein terlarutnya secara spektrofotometri dengan metode Biuret untuk mengetahui keberadaan peptida maupun sisa protein yang tidak berhasil diendapkan dengan metode presipitasi isoelektrik.

Penentuan kadar asam amino bebas total

Penentuan kadar total asam amino bebas menggunakan pereaksi ninhidrin kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-VIS (Wang, 2006). Pereaksi ninhidrin dibuat dari 0,35 g ninhidrin yang dilarutkan dalam 100 mL etanol 95 %. Larutan standar asam amino dibuat dengan menimbang 0,125 g leusin yang kemudian dilarutkan dengan 25 mL aquades, sehingga diperoleh larutan stok leusin dengan konsentrasi 5 mg/mL. Larutan stok dipipet 0;

0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1,0 mL kemudian ditambahkan aquades hingga volumenya 10 mL, sehingga diperoleh larutan standar dengan variasi konsentrasi 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 dan 0,5 mg/mL. Masing-masing larutan standar asam amino diambil 5,0 mL dan ditambahkan 1,0 mL pereaksi ninhidrin. Sebanyak 1,0 mL reagen ninhidrin juga ditambahkan ke dalam 5,0 mL sampel ekstrak kecambah kacang merah yang akan diuji, dan ke dalam 5,0 mL larutan blanko. Tabung ditutup rapat dengan parafilm, lalu dipanaskan pada suhu 80- 100°C selama 4-7 menit sampai terbentuk warna ungu. Kadar asam amino bebas diketahui dengan mengukur absorbansinya pada panjang gelombang 570 nm dengan alat spektrofotometer. Kurva kalibrasi diperoleh dengan cara memplot nilai absorbansi terhadap konsentrasi standar leusin.

Penentuan kadar protein terlarut yang tersisa dalam ekstrak kecambah kacang merah setelah pengendapan protein.

Sebanyak 1 g kasein dimasukkan dalam gelas kimia, kemudian ditambahkan 25 mL aquades dan beberapa tetes NaOH 3 % kemudian diaduk hingga larut lalu diencerkan hingga 100 ml dengan menambahkan Aquades hingga tanda batas. Sehingga diperoleh konsentrasi kasein sebesar 10 mg/mL. Larutan standar protein kasein kemudian dibuat dengan berbagai konsentrasi yaitu 0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 dan 5,0 mg/mL. Ditambahkan 4 ml larutan biuret kedalam 2 ml larutan standar protein kasein, juga kedalam larutan sampel dalam sebuah tabung reaksi. Kemudian dikocok dan didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar. Setelah itu dibaca serapannya dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perkecambahan

Pada waktu perkecambahan 0-24 jam belum terjadi perubahan pada biji kacang merah. Setelah 24 jam terlihat munculnya radikula. Pada perkecambahan 48 jam, radikula sebagai bakal calon akar mulai muncul dan beberapa biji mengalami pemanjangan. Pada perkecambahan memasuki 72 jam bagian kulit biji mulai terbuka dan bagian daging biji terlihat. Pada perkecambahan selama 96 jam terjadipertumbuhan akar semakin memanjang dan terjadi pelepasan kulit pada beberapa biji kacang merah. Perkecambahan 120 jam pada beberapa biji

kacang merah ada yang mengalami pembusukan dan ada juga yang tumbuh.

Kadar Air Tepung Kecambah Kacang Merah

Penentuan kadar air pada tepung kecambah kacang merah hanya dilakukan pada waktu perkecambahan yang paling lama yaitu 120 jam dengan asumsi bahwa semakin lama waktu inkubasi dalam perkecambahan kandungan air kecambah semakin meningkat karena setiap 12 jam sekali dilakukan proses penyiraman/semprotan pada kecambah yang diinkubasikan sehingga terjadi penyerapan air oleh kacang merah selama proses perkecambahan. Terjadinya penyerapan air ini akan menyebabkan kandungan air kecambah kacang merah akan meningkat. Kacang merah dengan waktu perkecambahan selama 120 jam memiliki kadar air sebesar 9,28%. Nilai kadar air ini memenuhi standar baku mutu Standar Nasional Indonesia (SNI) dimana syarat maksimal kadar air dari tepung yang berasal dari biji-bijian adalah 10 %. Kadar air dalam suatu produk sangat mempengaruhi kekuatan daya tahan selama penyimpanan. Tingginya kadar air akan cepat merusak produk karena dapat digunakan sebagai media yang baik untuk pertumbuhan bakteri, serangga dan jamur selama penyimpanan (Causgrove, 2004).

Uji Kualitatif Asam Amino Bebas dan Protein Terlarut

Pereaksi ninhydrin dapat digunakan untuk mendeteksi semua jenis asam amino atau peptide rantai pendek yang mengandung asam

α – amino bebas dengan mendeteksi gugus amina dalam molekul asam amino. Uji positif atau uji kualitatif ditandai dengan terbentuknya warna ungu. Warna yang dihasilkan disebabkan oleh molekul ninhydrin dan hidrasin yang bereaksi dengan NH_3 setelah asam amino tersebut dioksidasi. Tabel 1 menyajikan hasil uji kualitatif asam amino bebas dan protein terlarut. Dari data dalam table dapat diketahui bahwa pada uji ninhydrin dari perkecambahan 0 jam sampai 120 jam menghasilkan perubahan warna yang mula-mula kecoklatan menjadi warna ungu, perubahan warnanya semakin pekat dengan bertambahnya waktu perkecambahan yang berarti pada proses perkecambahan terjadi pemecahan atau pemutusan protein menjadi molekul pendek atau asam amino yang diperlukan untuk pertumbuhannya.

Uji Biuret terhadap ekstrak kecambah kacang merah pada waktu perkecambahan dari 0 sampai 120 jam menghasilkan warna dari ungu sampai ungu kebiruan. Perubahan warna dari ungu ke biru ini menandakan bahwa terjadi penurunan kandungan protein dengan lama waktu perkecambahan, hal ini disebabkan karena pada proses perkecambahan protein telah terurai menjadi asam amino yang diperlukan untuk kelangsungan proses perkecambahannya.

Kadar Total Asam Amino Bebas

Kadar total asam-amino bebas pada ekstrak kecambah kacang merah ditentukan dengan teknik spektrofotometri UV-VIS secara kurva kalibrasi, yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Hasil Uji Kualitatif Asam Amino Bebas dan Protein Terlarut

No.	Waktu perkecambahan (jam)	Uji Ninhidrin	Uji Biuret
1.	0	+	+++
2.	24	++	+++
3.	48	++	++
4.	72	+++	++
5.	92	++++	+
6.	120	+++++	+

Keterangan;

Tanda + : Sedikit

Tanda ++, +++ : Sedang

Tanda +++++ : Banyak

Tabel 2. Kadar Total Asam-amino Bebas pada Ekstrak Kecambah Kacang Merah

No.	Variasi Waktu (Jam)	Kadar Total Asam amino bebas (mg/100 g) \pm SD
1	0	41,87 \pm 0,98
2	24	69,20 \pm 0,15
3	48	85,94 \pm 0,45
4	72	96,31 \pm 1,26
5	96	102,94 \pm 1,06
6	120	80,62 \pm 0,10

Pada Tabel 2 dapat dilihat kadar total asam amino bebas pada ekstrak kecambah kacang merah mengalami kenaikan dari 0 sampai 96 jam perkecambahan dan terjadi penurunan pada jam ke-120. Hal ini disebabkan karena pada awal perkecambahan terjadi perombakan simpanan protein menjadi monomernya yang berupa asam amino bebas. Dari awal perkecambahan terjadi kenaikan kadar asam amino dan mengalami penurunan setelah mencapai 120 jam. Semakin lama waktu perkecambahan semakin banyak terjadi penguraian protein sehingga semakin banyak pula asam amino bebas yang terbentuk. Pada jam ke-120 terjadi penurunan kadar asam amino sebesar 21,68%. Asam amino yang terbentuk digunakan sebagai nutrient pada proses perkecambahan untuk membentuk protein kembali saat pertumbuhannya. Cadangan makanan pada biji berupa protein sebagai molekul besar tidak bisa didarkan ke daerah-daerah tempat pertumbuhan sehingga perlu diuraikan menjadi molekul yang lebih sederhana berupa asam amino (Asropah, *et al.*, 2019).

Kadar Protein Terlarut yang Tersisa dalam Ekstrak Kecambah Kacang Merah.

Kadar protein terlarut yang masih tersisa dalam ekstrak kecambah kacang merah ditentukan dengan menggunakan metode Biuret. Metode ini digunakan untuk mengetahui adanya protein atau asam amino yang masih berikatan sebagai peptide pendek yang tersisa pada ekstrak. Adanya protein pada kecambah kacang merah ditandai dengan perubahan warna menjadi warna ungu karena dalam suasana basa ion Cu^{2+} dari pereaksi Biuret akan bereaksi dengan

gugus C=O dan N-H dari polipeptida atau karena ikatan-ikatan peptide yang menyusun protein membentuk senyawa kompleks berwarna ungu (Sapan and Lundlad, 2015). Kadar protein terlarut yang masih tersisa pada ekstrak kecambah kacang merah dengan variasi waktu perkecambahan dapat dilihat dari Tabel 3.

Pada proses perkecambahan yang dilakukan selama 120 jam, terjadi penurunan kadar protein terlarut dari mulai terjadi perkecambahan sampai pada jam ke-48. Pada jam ke-72 terjadi kenaikan kadar protein terlarut kemudian terjadi penurunan lagi sampai ke jam 120. Penurunan kadar protein pada kacang merah selama perkecambahan disebabkan karena terjadi penguraian protein menjadi protein dengan rantai pendek dan menjadi monomernya berupa asam amino yang digunakan selama proses perkecambahan. Saat pertumbuhan kecambah, nitrogen yang berasal dari protein digunakan untuk pembentukan struktur yang baru sehingga semakin lama umur perkecambahan maka semakin banyak kandungan proteinnya yang mengalami penguraian (Pertiwi, 2013). Disamping itu selama proses perkecambahan juga terjadi berbagai perubahan biologis berupa perubahan senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana yang akan digunakan oleh embrio untuk pertumbuhan selanjutnya. Protein terlarut yang terdapat dalam ekstrak kecambah kacang merah yang dianalisis kemungkinan masih berupa asam-asam amino yang masih berikatan dengan membentuk peptide pendek atau bisa juga dalam bentuk protein dengan berat molekul besar, memiliki ikatan peptide yang agak panjang.

Tabel 3. Kadar Protein Terlarut yang Masih Tersisa pada Ekstrak Kecambah Kacang Merah

No.	Variasi Waktu	Kadar Protein Terlarut (%) \pm SD
-----	---------------	-------------------------------------

	(Jam)	
1	0	$2,34 \pm 0,01$
2	24	$1,87 \pm 0,04$
3	48	$1,67 \pm 0,02$
4	72	$1,92 \pm 0,04$
5	96	$1,37 \pm 0,03$
6	120	$1,15 \pm 0,02$

SIMPULAN

Kadar air pada perkecambahan kacang merah selama 120 jam sebesar 9,28 %, telah memenuhi standar Nasional Indonesia yaitu tidak lebih dari 10 %. Kadar total asam amino bebas pada perkecambahan kacang selama 0, 24, 48, 72 sampai 96 jam menunjukkan kenaikan, berturut-turut sebesar 41,87; 69,20; 85,94; 96,31 dan 102,94 mg/100 g kemudian terjadi penurunan pada jam ke- 120 menjadi 80,62 mg/100 g. Kadar protein terlarut yang tersisa pada ekstrak kecambah kacang merah menunjukkan penurunan dari awal perkecambahannya dari 0; 24; dan 48 jam yaitu berturut-turut 2,34; 1,87 dan 1,67 %. Perkecambahan pada jam ke-72 mengalami kenaikan menjadi 1,92 % kemudian terjadi penurunan lagi pada jam ke-96 dan 120 jam perkecambahan yaitu 1,37 dan 1,16 %.

DAFTAR PUSTAKA

- Aragao, V. P. M., Bruno, V.N., Lucas, Z.P., Amanda, F.M., Eny, I.S.F., Vanildo, S., Claudete S.C. 2015. Free Amino Acids, Polyamines, Soluble Sugars and Proteins During Seed Germination and Early Seedling Growth of *Cedrela fissilis* Vellozo (Meliaceae), An Endangered Hardwood Species from The Atlantic Forest in Brazil. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 124(27):157–169.
- Asropah, S., Nurrahman, N., dan Hersoelityorin, W. 2019. Pengaruh Lama Perkecambahan Terhadap Rendemen, Kadar Antosianin, Vitamin E dan Aktivitas Antioksidan Kecambah Kedelai Hitam. *Jurnal Pangan dan Gizi*. 9(1): 39-52.
- Causgrove, P. 2004. *Wheat and Flour Testing Methods. A Guide to Understanding Wheat and Flour Quality*. Wheat Marketing Center, Inc. USA
- Dahal, P. 2023. Biuret Test for Protein- Principle, Procedure, Results, Uses. diakses dari <https://microbenotes.com/biuret-test-for-protein/>. pada 22 Mei 2023.
- Dirga, N. A., dan Djayanti, A. D, 2016. Analisis Protein pada Tepung Kecambah Kacang Hijau (*Phaseolus aureus* L.) yang Dikecambahkan Menggunakan Air, Air Cucian Beras dan Air Kelapa. *Journal Science and Applicative Technology*. 2(1):27-33.
- Kanetro, B. 2017. Teknologi Pengolahan dan Pangan Fungsional Kacang-kacangan. Plantaxia. Yogyakarta.
- Kementrian Kesehatan, RI. 2019. Tabel Komposisi Pangan Indonesia (TKPI), Kementrian Kesehatan, RI. 2018. Tabel Komposisi Pangan Indonesia. Direktorat Jenderal Kesehatan Masyarakat
- Mandila, S.P, dan N. Hidajati. 2013. Identifikasi Asam Amino pada Cacing Sutra (*Tubifex* sp.) yang Diekstrak dengan Pelarut Asam Asetat dan Asam Laktat. *UNESA J. of Chemistry*, 2(1):103-109.
- Mardiyanto, T. C., dan Sudarwati, S, 2015, Studi Nilai Cerna Protein Susu Kecambah Kedelai Varietas Lokal Secara In Vitro, *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiv Indonesia*, Bogor.
- Pertiwi, S. F., Aminah, S. dan Nurhidajah. 2013. Aktivitas Antioksidan Karakteristik Kimia, dan Sifat Organoleptik Susu Kecambah Kedelai Hitam (*Glycine Soja*) Berdasarkan Variasi Waktu Perkecambahan. *Jurnal Pangan dan Gizi* . 4(8): 1-8
- Piñuel, L., Vilcacundo, E., Boeri, P., Barrio, D. A., Morales, D., Pinto, A., Moran, R., Samaniego, I., and Carrillo, W. 2020. Extraction of protein concentrate from red bean (*Phaseolus vulgaris* L.): antioxidant activity and inhibition of lipid peroxidation. *Journal of Applied*

Penentuan Kadar Asam Amino Bebas dan Kadar Protein Terlarut dari Ekstrak Kecambah Kacang Merah
(*Phaseolus Vulgaris* L.) dengan Variasi Waktu Perkecambahan
(A. A. I. A. M. Laksmiwati, E. Sahara, dan N. K. Ariati)

- Pharmaceutical Science*. Vol. 9(09), pp 045-058
- Stollar, E. J. and Smith, D. P. (2020). Uncovering protein structure. *Essays in Biochemistry*, 64 (4):649-680.
- Sari, N. M. R. E., Wisaniyasa, N. W. dan Wiadnyani, A. A. I. S. 2020. Studi kadar Gizi, Serat dan Antosianin Tepung Kacang Merah dan Teping Kecambah Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.). *Jurnal Itepa*. 9 (3): 282-290.
- Setiawan R. B., Indarwati, Fajarfika, R., Asril, M., Jumawati, R., Purwaningsih, Joeniarti, E., Ramdan, E. P. dan Arsi. 2021. *Teknologi Produksi Benih*. Yayasan Kita Menulis. Cetakan I.