

Analysis of Calcium Levels from Maman and Maman Fermentation (*Cleome gynandra L*) Using an Atomic Absorption Spectrophotometer

Analisis Kadar Kalsium dari Maman dan Fermentasi Maman (Cleome gynandra L) Menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom

Fathul Jannah*, Syafrisar Meri Agritubella, Ira Oktaviani RZ, Rahimatul Uthia
Poltekkes Kemenkes Riau

ABSTRACT

Calcium is an important micronutrient that helps prevent stunting. It plays a crucial role in bone growth. Maman (*Cleome gynandra L.*) is a local plant that grows in the Riau province and is used by local people as a fermented food. To utilize this local plant, it is necessary to analyze its nutrients, including calcium levels. Calcium analysis was carried out using a quantitative descriptive method with an atomic absorption spectrophotometer. Validation of the atomic absorption spectrophotometry method yielded a correlation coefficient (r) of 0.9997, with calcium levels in mamen leaves and fermented mamen being 313.23 mg/g and 197.63 mg/g, respectively.

Keywords: Calcium, *Cleome gynandra L*, fermented mamen

ABSTRAK

Kalsium merupakan salah satu asupan mikronutrien yang penting untuk mencegah terjadinya kejadian stunting. Kalsium berperan dalam pertumbuhan tulang. Maman (*Cleome gynandra L*) merupakan tanaman lokal yang tumbuh di provinsi Riau dan digunakan oleh masyarakat setempat sebagai makanan lokal yang difermentasikan. Untuk memanfaatkan tanaman lokal ini perlu dianalisis zat gizi yang dimilikinya, antara lain kadar kalsium. Analisis kalsium dilakukan dengan metode deskriptif kuantitatif menggunakan instrumen spektrofotometer serapan atom. Validasi metode spektrofotometri serapan atom diperoleh nilai koefisien korelasi (r) 0,9997 dengan kadar kalsium dalam daun mamen dan fermentasi mamen adalah 313,23 mg/g dan 197,63 mg/g

Kata kunci: Kalsium, *Cleome gynandra L*, fermentasi mamen

*Corresponding Author: **Fathul Jannah**
Poltekkes Kemenkes Riau
Email: fathuljannah.uul@gmail.com

Pendahuluan

Stunting merupakan masalah gizi dapat berdampak pada kehidupan sosial dan ekonomi dalam masyarakat. Selain itu stunting dapat mempengaruhi balita dalam kondisi jangka panjang, seperti mengganggu kesehatan, produktivitas, dan pendidikan. Pada umumnya anak balita stunting akan sulit mencapai potensi pertumbuhan dan perkembangan yang optimal baik secara fisik maupun psikomotorik. Kejadian stunting merupakan kejadian multifaktor. Penyebab terjadinya kondisi stunting bisa dikarenakan pemberian makan yang tidak tepat, penyakit infeksi yang berulang, tidak diterapkannya perilaku hidup bersih dan sehat (termasuk penggunaan air bersih dan lingkungan yang bersih) serta ketidakmampuan keluarga dalam akses terhadap pangan. Kondisi stunting juga dapat disebabkan oleh rendahnya asupan zat gizi baik asupan makronutrien maupun mikronutrien (Trihono, 2015)

Masalah gizi yang dapat terjadi pada anak adalah tidak seimbangnya antara jumlah asupan makan atau zat gizi yang diperoleh dari makanan dengan kebutuhan gizi yang dianjurkan pada anak dari pola pemberian makan yang diberikan ibu. Gizi pada makanan sangat berperan penting dalam proses pertumbuhan balita. Apabila terkena defisiensi gizi makan kemungkinan besar anak akan terkena infeksi dan gizi ini sangat berpengaruh terhadap nafsu makan. Dari hasil penelitian diketahui adanya hubungan pola asuh pemberian makan dengan kejadian Stunting yang terjadi di Wilayah Kerja UPT Puskesmas Babirik (Muti'ah, Istiqamah and Darsono, 2023).

Selama proses pertumbuhan, kebutuhan akan mineralisasi tulang sangat tinggi. Asupan kalsium yang rendah dapat mengakibatkan mineralisasi yang tidak optimal pada matriks tulang baru dan mempengaruhi kinerja osteoblas. Kekurangan kalsium dapat mengganggu pertumbuhan tulang, menyebabkan rakitis pada anak-anak, dan dalam kasus kekurangan yang parah, dapat menyebabkan stunting (Chairunnisa, Kusumastuti and Panunggal, 2018).

Kalsium adalah mineral utama yang diperlukan untuk pembentukan tulang. Sebanyak 99% kalsium dalam tubuh tersimpan dalam tulang, sementara 1% sisanya terdapat dalam darah, cairan ekstraseluler, dan di dalam sel-sel tubuh. Keseimbangan kalsium antara tulang dan darah diatur terutama oleh sistem hormonal, yang melibatkan hormon paratiroid (PTH), vitamin D, glukokortikoid, hormon tiroid, hormon estrogen, dan progesteron. Kalsium dapat ditemukan dalam makanan sehari-hari, dengan produk susu dan olahannya sebagai sumber kalsium tinggi. Selain itu, sayuran hijau, ikan, makanan laut, dan kacang kedelai juga merupakan sumber kalsium yang baik (Mahan LK, 2012)

Asupan kalsium yang memadai diperlukan untuk menjaga berbagai fungsi fisiologis tubuh, terutama dalam pertumbuhan dan perkembangan tulang. Hal ini sangat penting bagi anak-anak yang sedang tumbuh, karena akan mempengaruhi pertumbuhan dan kondisi kesehatan mereka saat dewasa. Kekurangan kalsium dapat menyebabkan gangguan pada tulang dan pertumbuhan. Pada bayi, kekurangan kalsium dalam tulang dapat menyebabkan rakitis, sedangkan pada anak-anak, kekurangan kalsium dapat menghambat pertumbuhan mereka (Burckhardt P, 2012)

Tumbuhan hijau yang memiliki kandungan kalsium baik adalah maman (*Cleome gynandra* L). Tumbuhan ini merupakan tumbuhan asal Afrika Selatan dan dapat tumbuh di daerah tropis dan subtropis (Mishra, Moharana and Dash, 2011). Daun maman memiliki rasa pahit, sehingga masyarakat biasanya mengkonsumsi dalam bentuk fermentasi maman. Penduduk menyebut produk fermentasi maman dengan nama joruk maman, makanan ini biasa dikonsumsi masyarakat terutama oleh seluruh kalangan dan dapat dikonsumsi dengan atau tanpa nasi. Kandungan gizi lainnya dari tumbuhan maman antara lain karbohidrat, protein, lemak, dan serat (Restusari *et al.*, 2023).

Melihat potensi tumbuhan maman yang ada di Provinsi Riau perlu adanya pemeriksaan kandungan nutrisi, salah satunya adalah pemeriksaan kandungan kalsium. Hal ini dimaksudkan untuk dapat lebih memanfaatkan maman sebagai alternatif makanan lokal yang kaya akan kalsium.

Bahan dan Metode

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah Spektrofotometer Serapan Atom lengkap (Thermo scientific) dengan lampu katoda Ca, alat gelas (pyrex), neraca analitik (Ohaus), lemari asam, mikropipet, kertas saring Whatman No. 42. Bahan-bahan yang digunakan adalah tumbuhan maman (*Cleome gynandra* L) yang berasal dari Kabupaten Rokan Hilir Provinsi Riau, Kalsium standar (merck), HNO₃ 65% b/v (Merck), etanol p.a (Merck), reagen mureksid (Merck), garam dapur, nasi putih.

Metode

Pembuatan Fermentasi Maman

Tumbuhan maman diambil bagian daunnya sebanyak 100 g. Daun dicuci dan ditiriskan. Daun maman yang telah bersih akan dicampur dengan nasi putih berjumlah 10%, garam dapur berjumlah 5% dan air matang hangat dengan jumlah 400 g. Garam dapur dilarutkan dalam air matang. Daun maman direndam dalam larutan garam dan ditaburi dengan nasi putih yang sudah disiapkan. Fermentasi dilakukan di dalam toples kaca steril tertutup selama 1 hari pada suhu kamar (Restusari *et al.*, 2023)

Dekstruksi Basah

Sampel daun dan fermentasi maman yang telah dihaluskan ditimbang masing-masing 30 g, selanjutnya ditambahkan asam nitrat pekat sebanyak 30 ml. Lalu didiamkan selama satu malam (24 jam) dengan tujuan agar dapat mempercepat proses destruksi yang dilakukan. Setelah itu didestruksi pada hot plate selama ± 1 jam hingga sampel berwarna kuning muda jernih. Pindahkan dalam labu ukur 100 ml dan

ditepatkan sampai garis tanda dengan akuabides. Kemudian disaring dengan kertas saring whatman no.42 dengan membuang 1 ml larutan pertama hasil penyaringan. Larutan hasil dekstruksi ini digunakan untuk uji kualitatif dan uji kuantitatif sebagai larutan sampel

Uji Kualitatif

Uji kualitatif dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometer uv-vis. Larutan sampel dibaca pada Panjang gelombang dari senyawa kompleks antara kalsium yang ada pada sampel dengan larutan reagen mureksid dalam suasana basa (Rahayu, Utami and Kurniawati, 2011).

Validasi Metode Analisis

Linieritas Larutan Kalsium

Dibuat larutan kerja kalsium dari larutan baku kalsium 1000 µg/mL menjadi larutan dengan konsentrasi 0,5, 1, 2, 3, 4, dan 5 µg/mL. Diukur masing – masing absorbansi larutan seri dengan Spektrofotometer Serapan Atom pada panjang gelombang (λ)= 422,7 nm. Hasil plot kurva kalibrasi dihitung untuk menentukan faktor kelinieran garis yaitu r dan r² (Harmita, 2006).

Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ)

Batas deteksi (LOD dan batas Kuantitasi (LOQ) diperoleh dari perhitungan persamaan kurva kalibrasi secara statistik. Rumus untuk mencari LOD dan LOQ adalah sebagai berikut:

$$\text{LOD} = (3,3 \times S_y)/b$$

$$\text{LOQ} = (10 \times S_y)/b$$

Akurasi dan Presisi

Untuk akurasi kalsium, sampel hasil dekstruksi ditimbang sebanyak \pm 30 gram, kemudian ditambahkan 30 ml asam nitrat pekat yang dibuat menjadi 3 kelompok dengan penambahan larutan standar kalsium konsentrasi 1000 µg/mL dengan jumlah larutan masing-masing 0,05; 0,2; dan 0,5 mL. Lalu didiamkan selama satu malam (24 jam) dengan tujuan agar dapat mempercepat proses destruksi yang dilakukan. Setelah itu didestruksi pada hote plate selama \pm 1 jam hingga sampel berwarna kuning muda jernih. Pindahkan dalam labu ukur 100 ml dan ditepatkan sampai garis tanda dengan akuades. Kemudian disaring dengan kertas saring whatman no.42 dengan membuang 1 ml larutan pertama hasil penyaringan.

Diperoleh konsentrasi akhir 0,5 µg/mL; 2 µg/mL dan 5 µg/mL dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Serapan yang diperoleh dicatat, kemudian dihitung konsentrasi masing- masing bagian dan dihitung persen peroleh kembali nya. Untuk uji presisi sampel yang telah ditambahkan larutan standar pada konsentrasi tertentu lalu dilakukan replikasi 6 kali. Dibaca serapan yang diperoleh dicari nilai koefisien variasi (CV) atau standar deviasi relatif (RSD) nya.

Penentuan Kadar Kalsium

Larutan sampel hasil dekstruksi diukur absorbansi nya pada panjang gelombang 422,7 nm. Hasil absorbansi yang diperoleh dimasukkan ke dalam persamaan kurva kalibrasi (linieritas) untuk diketahui kadar kalsium.

Analisis Data

Kadar kalsium yang telah diperoleh dilakukan uji statistik, dengan uji beda 2 mean (independent t test).

Hasil dan Pembahasan

Daun maman dan fermentasi maman yang telah didekstruksi menggunakan asam pekat dilakukan uji kualitatif. Uji kualitatif dilakukan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Uji kualitatif bertujuan untuk melihat adanya kalsium pada sampel. Untuk kualitatif kalsium, terlebih dahulu diukur panjang gelombang maksimum kalsium, diperoleh panjang gelombang adalah 530 nm. Hasil dekstruksi lalu dilakukan pengukuran dan diperoleh absorbansi dari kedua sampel, yang dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 1. Uji kualitatif kalsium

No	Larutan Uji	Absorbansi
1	Daun maman	0,1899
2	Fermentasi maman	0,1278

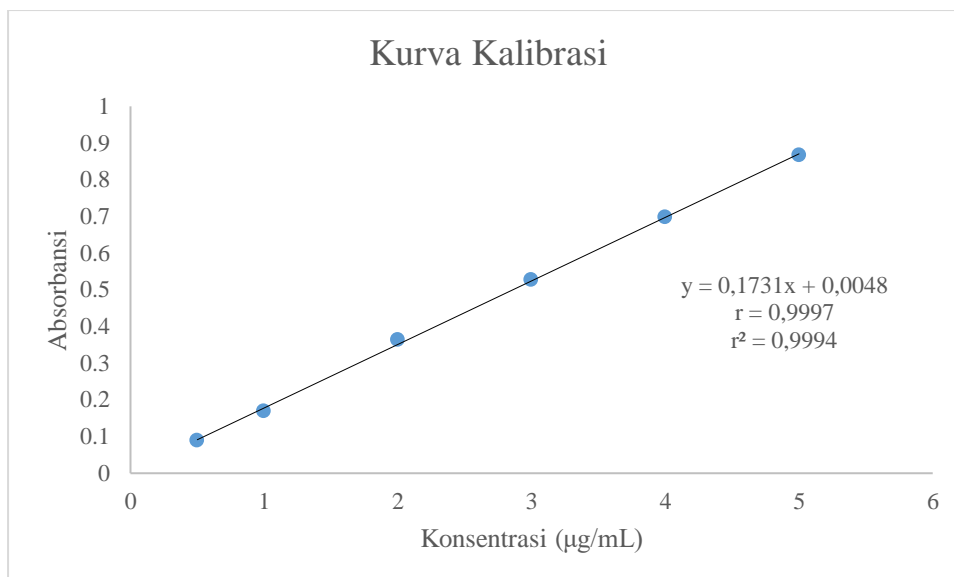
Uji kualitatif menggunakan metode spektrofotometri ultraviolet-visible (uv-vis). Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu metode analisis yang digunakan untuk mengukur serapan cahaya di daerah ultraviolet (200 –400 nm) dan sinar tampak (400 – 800 nm) oleh suatu senyawa. Hal ini terjadi karena adanya interaksi antara radiasi elektromagnetik dengan sampel (Gandjar & Rohman, 2012). Penyerapan radiasi terjadi melalui eksitasi electron dalam suatu molekul ke level energi yang lebih tinggi. Pengukuran kalsium menggunakan spektrofotometri UV-Vis memerlukan *reagen* tambahan yang mengandung gugus kromofor. Pada penelitian ini reagen yang digunakan adalah mureksid. Mureksid memiliki ikatan C=C dan C=O yang akan membentuk senyawa kompleks dengan kalsium dalam suasana basa (Hanifah, 2019). Senyawa kompleks yang terbentuk akan menghasilkan warna ungu. Panjang gelombang untuk warna kompleks ungu adalah 500 – 560nm. Untuk mengetahui keberadaan kalsium menggunakan spektrofotometri UV-Vis perlu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum. Hasil panjang gelombang maksimum yang diperoleh menggunakan larutan standar kalsium adalah 530nm. Larutan sampel dari daun maman dan fermentasi maman lalu diukur pada panjang gelombang tersebut. Hasil pembacaan terdapat absorbansi dari larutan sampel. Hal ini menunjukkan bahwa di dalam larutan sampel mengandung kalsium.

Hasil kualitatif menunjukkan bahwa sampel mengandung kalsium, maka dilakukan pengukuran kadar kalsium secara kuantitatif menggunakan instrumen Spktrofotometer Serapan Atom. Sebelum dilakukan pengukuran kadar, terlebih dahulu dilakukan optimasi pada metode yang digunakan dan dilanjutkan dengan validasi metode analisis. Kondisi optimum pada metode dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 2. Parameter instrumen

Parameter	Hasil
Panjang gelombang (nm)	422,7
Bandpass (nm)	0,5
Flame Type	N ₂ O-C ₂ H ₂
Lamp Current	100%
Fuel flow (L/min)	4,2
Burner Height (mm)	11

Selanjutnya dilakukan validasi metode analisis untuk memperoleh data sesuai dengan tujuannya (*fit for purpose*) dan memperoleh data yang valid. Validasi metode diawali dengan mengukur linieritas. Penentuan linieritas adalah dengan membuat satu seri kurva baku atau kurva kalibrasi. Linieritas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan respon (y) dengan konsentrasi (x), sehingga hasil pengukuran yang diperoleh proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan. Dari hasil linieritas pada konsentrasi larutan baku dengan konsentrasi 0,5; 1; 2; 3; 4; 5 µg/mL diperoleh kurva kalibrasi sebagai berikut:



Gambar 1. Kurva Kalibrasi Kalsium

Pada kurva kalibrasi diperoleh persamaan garis regresi adalah $y = 0,1731x + 0,0048$, dengan nilai koefisien korelasi (r) 0,9997 dan r^2 0,9994. Persamaan regresi ini digunakan untuk menentukan konsentrasi kalsium dalam larutan sampel.

Setelah penentuan linieritas dilanjutkan dengan penentuan LOD dan LOQ. *Limit of detection* (LOD) didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dari analit yang masih dapat dideteksi. Menggunakan persamaan kurva baku $y = bx + a$ yang dipersiapkan dengan konsentrasi mendekati nilai LOD, maka selanjutnya secara matematis dapat dihitung nilai LOD. Nilai a dari persamaan kurva baku digunakan sebagai taksiran y_B (respons blanko). *Limit of Quantitation* (LOQ) adalah konsentrasi terendah analit yang dapat diukur secara kuantitatif dengan akurasi dan presisi yang dapat diterima. Dari persamaan regresi $y = 0,1731x + 0,0048$, maka didapatkan nilai LOD sebesar 0,11 µg/mL dan LOQ sebesar 0,38 µg/mL. Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Batas kuantitasi merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Harmita, 2004).

Validasi metode analisis dilanjutkan dengan akurasi. Akurasi dinyatakan dalam bentuk uji perolehan kembali. Pada penelitian ini didapatkan rata-rata % perolehan kembali berturut-turut dari konsentrasi rendah – tinggi adalah $107,44 \pm 4,54$; $98,70 \pm 2,69$; dan $102,24 \pm 1,39$. Hasil ini memenuhi kriteria persen perolehan kembali yang diterima sesuai dengan konsentrasi analit yang ditambahkan, yaitu untuk area konsentrasi 1 ppm, kisaran % perolehan kembali adalah 80-110 (Gonzalez, et al., 2010). Hasil ini menunjukkan bahwa metode yang digunakan memiliki akurasi yang baik.

Setelah dilakukan akurasi dilanjutkan dengan pengukuran presisi, pada penelitian ini menggunakan salah satu konsentrasi standar kalsium dalam sampel dan dilakukan replikasi. Hasil presisi dapat dilihat pada tabel berikut

Tabel 3. Presisi kalsium

Replikasi	Absorbansi
1	0,5251
2	0,5444
3	0,4811
4	0,5033
5	0,5325
6	0,5158

Rata-rata	0,5200
SD	0,0225
RSD	4,35

Presisi merupakan ukuran keterulangan metode analitik dalam memberikan hasil analisis yang reproduksibel yang dikerjakan oleh analis yang sama pada kondisi yang sama dan periode yang singkat. Keterulangan dari metode dilihat dari nilai simpangan baku relatif (RSD). Nilai RSD juga sering disebut dengan koefisien variasi dari sejumlah pengukuran sampel. Presisi dilakukan dengan membuat 6 replikasi dekstruksi daun mangan dengan penambahan larutan standar kalsium dengan konsentrasi 2 µg/mL, lalu dilakukan pengukuran pada spektrofotometer serapan atom pada kondisi optimum dan dihitung nilai RSD dari absorbansi yang diperoleh. Dari hasil penelitian ini diperoleh nilai RSD adalah 4,35%. Nilai RSD yang diperbolehkan menurut AOAC untuk konsentrasi analit di kisaran 1 ppm adalah 11% (Gandjar & Rohman, 2012).

Setelah diperoleh hasil validasi memenuhi seluruh persyaratan, maka dilakukan penentuan kadar kalsium dalam daun mangan dan fermentasi mangan. Larutan sampel hasil dekstruksi daun mangan dan fermentasi mangan lalu diukur menggunakan spektrofotometer serapan atom. Berikut kadar kalsium yang diperoleh dari hasil penelitian

Tabel 4. Pengukuran kadar kalsium

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Kadar (mg/g)*
Daun mangan	0,8821	293,59
	1,0063	334,85
	0,9370	312,25
	0,9687	322,65
	0,9087	302,81
Rata-rata	0,9406	313,23
Fermentasi mangan	1,2004	199,42
	1,1386	188,69
	1,2159	202,58
	1,1709	194,51
	1,2217	202,96
Rata-rata	1,1895	197,63

Didapatkan hasil rata-rata kadar kalsium dalam daun mangan sebesar 313,233 mg/g dan rata-rata kadar kalsium dalam fermentasi mangan sebesar 197,631 mg/g. Dari hasil diatas dilakukan uji statistik untuk melihat apakah ada perbedaan yang signifikan dari kadar kalsium pada sampel daun mangan maupun fermentasi mangan. Hasil uji statistik dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 5. Perbedaan kadar kalsium dalam dua sampel

Sampel	Rata-rata kadar (mg/g)	p-value
Daun Mangan	313,23	3,97x10 ⁻⁷
Fermentasi Mangan	197,63	

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa tidak terdapat perbedaan kadar kalsium dari sampel daun mangan dan fermentasi mangan. Kadar kalsium yang diperoleh pada penelitian ini lebih tinggi daripada kadar kalsium yang analisis pada sampel mangan yang berasal dari Zimbabwe yaitu ± 18000 µg/g (Moyo *et al.*, 2018). Dari penelitian lainnya diketahui kandungan kalsium pada tumbuhan mangan di daerah Burkina Faso daerah Afrika Barat diperoleh 440 mg/100 g, pada penelitian ini kandungan kalsium lebih tinggi dari kandungan mineral penting lain seperti kalium, natrium, magnesium, mangan, zinc, fosfor, dan zat besi (Igor W. K. Ouédraogo, Carole Tranchant and Yvonne L. Bonzi-Coulibaly, 2013). Kandungan kalsium

yang diperoleh dari penelitian ini juga lebih tinggi dari kadar kalsium yang diperoleh dari tumbuhan mangan yang berasal dari Provinsi Riau yang ditentukan menggunakan instrumen yang berbeda yaitu spektrofotometer UV-Vis, dimana kadar kalsium yang diperoleh dari penelitian tersebut adalah 172 ± 4.91 mg/g (Jannah *et al.*, 2022). Kadar kalsium yang diperoleh lebih tinggi pada sampel daun dibandingkan dengan fermentasi mangan. Terjadinya penurunan kadar kalsium ataupun mineral lainnya dari proses fermentasi disebabkan oleh adanya leaching mineral larut air selama fermentasi atau akibat aktivitas metabolik mikroorganisme (Simwaka *et al.*, 2017). Semakin tinggi pertumbuhan mikroorganisme pada proses fermentasi maka semakin tinggi kebutuhan mineral untuk pertumbuhan mikroorganisme tersebut sehingga akan semakin berkurang mineral yang ada pada substrat. Untuk pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme membutuhkan mineral yang harus tersedia dalam media tumbuhnya, mineral yang harus ada dalam media seperti magnesium, kalium, fosfor, kalsium, dan klorin (Stanbury, *et al.*, 2003).

Kesimpulan

Kadar kalsium pada penelitian ini diperoleh menggunakan instrumen spektrofotometer serapan atom, dengan kadar kalsium yang diperoleh dari sampel daun mangan yaitu 313,23 mg/g dan kadar kalsium dari fermentasi daun mangan yaitu 197,63 mg/g.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Poltekkes Kemenkes Riau yang telah mendanai penelitian ini dan Badan Balai Standardisasi dan Pelayanan Jasa Industri Pekanbaru yang telah memfasilitasi penelitian ini

Referensi

- Burckhardt P, D.-H. B. W. C., 2012. *Nutritional Influences on Bone Health*. New York: Springer.
- Chairunnisa, E., Kusumastuti, A. C. and Panunggal, B. 2018. Asupan Vitamin D, Kalsium Dan Fosfor Pada Anak Stunting Dan Tidak Stunting Usia 12-24 Bulan Di Kota Semarang, *Journal of Nutrition College*, 7(1), p. 39. doi: 10.14710/jnc.v7i1.20780.
- Gandjar, I. & Rohman, A., 2012. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gonzalez, A. G. & Herrador, M. A., 2007. A Practical Guide to Analytical Method Validation Including Measurement Uncertainty and Accuracy Profiles. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, pp. 227-238.
- Gonzalez, A. G., Herrador, M. A. & Asuero, A. G., 2010. Intra-laboratory assessment of method accuracy (trueness and precision) by using validation standards. *Talanta*.
- Hanifah, A., 2019. *Analisis Kadar Kalsium (Ca) Pada Susu Sapi Segar Yang Beredar Di Area Madiun Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis*, Madiun: Stikes Bakti Husada Mulia.
- Harmita, 2006. *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Depok: FMIPA Universitas Indonesia.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, I(3), pp. 117–135.
- Igor W. K. Ouédraogo, Carole Tranchant and Yvonne L. Bonzi-Coulibaly. 2013. Evaluation of mineral contents in Cleome gynandra leaves and stalks from Burkina Faso, *Journal of the Cameroon Academy of Sciences*, 11(1).

- Jannah, F. Agritubella, S.M, Oktaviani. I, and Restusari, L. 2022. Validation of UV-VIS spectrophotometric method for the determination of Calcium in Maman (cleome gynandra l), *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1041(1). doi: 10.1088/1755-1315/1041/1/012060.
- Mahan LK, S. E. R. J., 2012. *Krause's Food and Nutrition Therapy*. Canada: Saunders Elsevier
- Mishra, S. S., Moharana, S. K. and Dash, M. R. 2011. Review on cleome gynandra', *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*, 1(3), pp. 681–689.
- Moyo, M. *et al.* 2018. Determination of mineral constituents, phytochemicals and antioxidant qualities of cleome gynandra, compared to brassica oleracea and beta vulgaris, *Frontiers in Chemistry*, 5(January), pp. 1–9. doi: 10.3389/fchem.2017.00128.
- Muti'ah, Istiqamah, I. and Darsono, P. V. 2023. Pola Pemberian Makan Dengan Kejadian Stunting Pada Bayi (6-24) Bulan Di Puskesmas Babirik', *Al-Tamimi Kesmas: Jurnal Ilmu Kesehatan Masyarakat (Journal of Public Health Sciences)*, 12(2), pp. 150–155. doi: 10.35328/kesmas.v12i2.2495.
- Rahayu, W. S., Utami, P. . and Kurniawati, A. 2011. Validitas Penetapan Kadar Kalsium Dalam Sediaan Tablet Multivitamin Secara Spektrofotometri Serapan Atom. *Pharmacy*. 08(02). 34-41
- Restusari, L. Mulyani, S. Arsil, Y, and Jannah, F. 2023. Nutritional Content Analysis of Maman Plant (Cleome Gynandra L) and Joruk Maman. *JOPS : Journal of Pharmacy and Science*, 7(1), pp. 36–45.
- Saida, E., 2014. *Identifikasi Bakteri Patogen pada Produk Fermentasi Cleome gynandra*, Pekanbaru: Poltekkes Kemenkes Riau.
- Stanbury, F. P., Whitaker, A. & Hall, S. J., 2003. *Principles of Fermentation Technology*. s.l.:Butterworth Heinemann.
- Simwaka, J. . *et al.* .2017. Effect of fermentation on physicochemical and antinutritional factors of complementary foods from millet, sorghum, pumpkin and amaranth seed flours', *International Food Research Journal*. 24(October), pp. 1869–1879.
- Trihono, dkk. 2015. *Pendek (Stunting) di Indonesia, Masalah dan Solusinya*. Jakarta. Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan