

## Pengaruh Konsentrasi Amonium Sulfat Terhadap Rendemen Isolat Protein Defatted Dedak Padi Pada Ekstraksi Menggunakan Air

Shafira Hafizhah Putri Suharno<sup>1</sup>, Tri Wahyuni Wasyilah<sup>1</sup>, Ratri Ariatmi Nugrahani<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Teknik Kimia, Universitas Muhammadiyah Jakarta, Jakarta, Jl. Cempaka Putih Tengah 27, 10510

\*Corresponding Author : ratri.ariatmi@ftumj.ac.id

### Abstrak

Defatted dedak padi adalah dedak yang telah diekstrak kandungan minyaknya. Di dalam defatted dedak padi masih terkandung protein. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi Amonium Sulfat terhadap persen *recovery* protein dedak padi pada proses isolasi protein dedak padi dengan metode ekstraksi ultrasonik. Penambahan Amonium sulfat pada ekstrak protein dilakukan untuk mengendapkan protein, sehingga terbentuk isolate. Metode penelitian ini terdiri dari Tahap pembuatan defatted dedak padi yaitu dedak padi ditimbang sebanyak 200 gram, tambahkan dengan heksana dengan rasio 1:7 (w/v), dimaserasi 3 jam dan diekstraksi dengan ultrasonik selama 10 menit; tahap ekstraksi protein defatted dedak padi dengan pelarut air sebanyak 1:5 (w/v) menggunakan ultrasonik selama 20 menit; Tahap Isolasi protein dari ekstrak protein dedak padi yaitu pada ekstrak protein yang sudah diperoleh kemudian ditambahkan Amonium sulfat dengan variasi konsentarsi 0%,10%, 30%, 40%, 45% (w/v). Penambahan Amonium sulfat sebanyak 78 gr atau konsentrasi 30% menghasilkan isolat protein terbanyak yaitu 10,49 gr yaitu rendemen 26,22%. Hal ini menunjukkan terdapat korelasi antara Penambahan Amonium sulfat terhadap rendemen isolat protein.

**Kata kunci:** *amonium sulfat, deffated dedak padi, ekstraksi, isolat, protein*

### Abstract

*Defatted rice bran is rice bran in which fat content has been extracted. However, defatted rice bran still contains proteins. This study aimed to determine the effects of Ammonium Sulfate concentrations on the percent protein recovery from protein isolated from rice bran using ultrasonic extraction method. The addition of Ammonium Sulfate is added to protein extract to induce protein precipitation that leads to an isolate formation. This method consisted of defatted rice bran phase by dissolving 200 grams of rice bran in n-hexane with the ratio of 1:7 (w/v), maceration for three hours, and ultrasonic extraction for ten minutes. The protein isolation phase comprised of addition of Ammonium Sulfate to the extracted proteins at different concentrations of 0%,10%, 30%, 40%, and 45% (w/v). The addition of 78 grams of Ammonium Sulfate, or 30%, produced the highest amount of isolate at 10.49 grams or 26.22% yield. There was a significant correlation between concentrations of Ammonium Sulfate addition and yields of protein isolate.*

**Keywords :** *Ammonium sulphate, defatted rice bran, extraction, isolate, protein*

### PENDAHULUAN

Produksi dedak padi di Indonesia cukup banyak. Sedangkan karena adanya kandungan minyak dalam dedak padi, maka bisa mengakibatkan terjadinya ketengikan karena aktifitas enzim. Oleh karena itu perlu dipertimbangkan pengolahan dan alternatif

pemanfaatan dedak padi. Selama ini dedak padi digunakan sebagai pakan ternak karena belum banyak masyarakat yang mengetahui manfaatnya bagi kesehatan.

Menurut (Fabian & Ju, 2011) protein yang terkandung di dalam dedak padi berkualitas tinggi, dapat diaplikasikan pada

produk-produk pangan dan farmasi, serta mengandung Protein hipoalergenik, yaitu senyawa yang dapat mencegah terjadinya alergi. Penelitian Nugrahani, *et al.*, 2019 menyatakan bahwa di dalam dedak padi dan defatted dedak padi terkandung protein yang bisa dimanfaatkan sebagai suplemen pangan.

Konsentrat protein dedak padi hasil ekstraksi alkali dapat meningkatkan kualitas produk pangan (Jiamyangyuen *et al.*, 2005). Pada tahap pembuatan ekstrak protein menggunakan pelarut air, seperti yang dilakukan oleh Kusumawaty, *et al.*, 2016 Ekstraksi dilakukan dengan *Ultrasonic-assisted extraction* selama 20 menit, keuntungannya adalah efisiensi ekstraksi lebih besar, waktu lebih singkat, dan laju perpindahan massa lebih cepat dibandingkan dengan ekstraksi konvensional *soxhlet* (Garcia dan Castro, 2004). Setelah itu di centrifuge untuk memisahkan ekstrak dedak padi. Pada penelitian Patsangan, *et al.*, 2014, isolate protein diperoleh dengan melalui tahap ekstraksi protein dari dedak padi yang telah distabilisasi menggunakan pelarut dengan rasio 1 : 10 (b/v) dan bantuan Ultrasonik. Larutan Amonium sulfat ditambahkan sebagai garam untuk mengendapkan protein, karena mempunyai keunggulan dalam fraksinasi protein yaitu mampu mempertahankan kestabilan protein dan mengendapkan protein (Wingfield, 2016).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan Amonium sulfat terhadap perolehan Isolat protein.

## METODE

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: beaker glass, erlenmeyer, batang pengaduk, gelas ukur, timbangan digital, sentrifuge, *vacuum filter*, *heater*, *vortex*, *orbital shaker*, inkubator, *stopwatch*, ultrasonik,

Untuk bahan yang digunakan adalah: dedak padi,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , hexane, *t*-butanol, NaOH,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , metil merah.

Prosedur penelitian dilakukan dalam 3 tahap, yaitu :

1. Tahap pembuatan deffated dedak padi yaitu dedak padi ditimbang sebanyak 200 gram, tambahkan dengan heksana dengan rasio 1:7 (w/v), dimaserasi 3 jam dan diekstraksi dengan ultrasonik selama 10 menit,

pemisahan hasil ekstrak dan pelarut dengan dedak padi dengan menggunakan penyaring vakum, setelah divakum maka didapatkan ampas dedak / Defatted dioven  $70^\circ\text{C}$  sampai dengan berat konstan.

2. Tahap ekstraksi protein defatted dedak padi dengan pelarut air sebanyak 1: 5 (w/v) menggunakan *Ultrasonic-assisted extraction* selama 20 menit, selanjutnya disentrifuge untuk memisahkan ekstrak dedak padi selama 10 menit. Supernatant yang dipisahkan disebut dengan ekstrak protein dedak padi.
3. Tahap Isolasi protein dari ekstrak protein dedak padi. Pada ekstrak protein yang sudah diperoleh kemudian ditambahkan  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  sebanyak (w/v) 0%, 10%, 30%, 40%, 45%, selanjutnya campuran tersebut diaduk menggunakan vortex sampai selama 10 menit, kemudian ditambahkan *t*-butanol dengan rasio 1:0.5 (v/v), aduk lagi sampai 10 menit, selanjutnya diinkubasi pada  $45^\circ\text{C}$  dan diaduk menggunakan *orbital shaker* dengan kecepatan 90 rpm selama 1 jam, campuran disentrifuge selama 10 menit, lalu akan terbentuk tiga fase dimana bagian interfase merupakan endapan protein. Langkah selanjutnya yaitu menentukan rendemen isolat protein dengan menggunakan persamaan 1).

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{A}{B} \times 100\% \dots\dots\dots 1)$$

Keterangan :

A : Isolat protein, gr

B : Defatted dedak padi, gr

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Berikut adalah gambar dari isolat protein.



Gambar 1. Isolat Protein

Berikut ini tabel 1 menunjukkan banyaknya isolat Protein yang diperoleh pada penambahan Amonium sulfat (gr) terhadap 100 ml ekstrak protein.

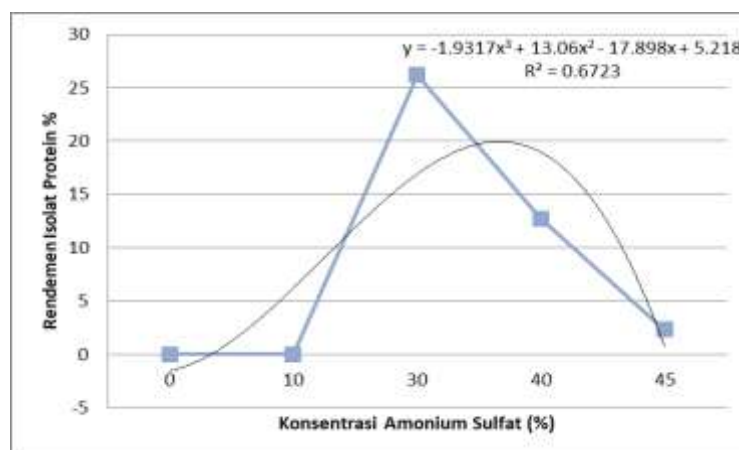
Tabel 1. Penambahan Amonium sulfat terhadap banyaknya Isolat Protein yang mengendap dari 100 ml ekstrak protein dedak padi

Ammonium Sulfat (gr)	Isolat Protein (gr)
0	0
26.2	0
78	10.49
101.6	5.10
119.25	0.93

Pada Tabel 1 menunjukkan bahwa pada penambahan Amonium sulfat sebanyak 26.2 gr terhadap 100 ml ekstrak protein dedak padi tidak menghasilkan endapan isolate protein. Selanjutnya pada penambahan 78 gr dan seterusnya mulai terbentuk endapan isolate protein. Hal ini terjadi karena penambahan Amonium sulfat dapat menyebabkan protein mengalami *salt out* atau protein dapat mengendap pada konsentrasi tertentu (Satwika, 2010). Presipitasi dengan menggunakan garam amonium sulfat umumnya bersifat lebih baik jika dibandingkan dengan pelarut organik

lainnya, sehingga menyebabkan interaksi hidrophobik antar molekul protein dimana kelarutan protein menjadi rendah dan akan menggumpal sehingga lebih mudah untuk dipisahkan. Penggunaan amonium sulfat karena mempunyai sifat kelarutan yang tinggi serta tidak merusak struktur protein (Awaliyah, 2016).

Selanjutnya untuk melihat korelasi antara Konsentrasi penambahan Amonium sulfat (%) terhadap rendemen Isolat protein (%) dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva korelasi antara Konsentrasi Amonium sulfat (%) dengan Rendemen isolat protein

Gambar 2 menunjukkan pengaruh penambahan Amonium sulfat terhadap rendemen isolat protein. Pada saat amonium sulfat ditambahkan kedalam ekstrak protein terdapat butiran-butiran kecil seperti garam, oleh karena itu larutan dihomogenkan dengan cara di vortex agar protein dapat mengalami proses pengendapan. Nilai tertinggi diperoleh pada penambahan Amonium sulfat 30% sebanyak 26.22%, hal ini disebabkan karena protein yang ada didalam kandungan tersebut mengalami pengendapan, dan rendemen terendah diperoleh pada konsentrasi amonium sulfat 0% karena tidak ada penambahan amonium sulfat sehingga protein tidak dapat mengendap dan pada konsentrasi 10% belum ada protein yang mengendap dikarenakan proses pengendapan belum sempurna dengan penambahan amonium sulfat pada konsentrasi 10%. Zat-zat penggaraman pada amonium sulfat dapat memperbaiki hasil ekstraksi dan pengaruh penambahan garam terhadap kelarutan protein berbeda-beda, tergantung pada konsentrasi dan jumlah muatan ionnya dalam larutan (Sary, 2014).

#### SIMPULAN DAN SARAN

1. Pengaruh penambahan Amonium sulfat terhadap rendemen isolat protein, nilai tertinggi diperoleh pada penambahan Amonium sulfat 30% sebanyak 26.22% dan nilai terendah diperoleh pada penambahan amonium sulfat 0% dan 10%.
2. Pada pengaruh penambahan konsentrasi ammonium sulfat (x) 0%,10%, 30%, 40%, dan 45% mempengaruhi nilai rendemen (y) yang tertinggi pada konsentrasi 30% yakni sebesar 26.22%. Dengan persamaan  $y = -1.9317x^3 + 13.06x^2 - 17.898x + 5.218$  dengan nilai  $R^2 = 0.6723$ .
3. Amonium sulfat dapat menyebabkan protein mengalami *salt out* atau protein dapat mengendap pada konsentrasi tertentu.
4. Presipitasi dengan menggunakan garam amonium sulfat bersifat lebih baik jika dibandingkan dengan pelarut organik lainnya.
5. Amonium sulfat menyebabkan interaksi hidrofobik antar molekul protein dimana kelarutan protein menjadi rendah dan akan menggumpal sehingga lebih mudah untuk dipisahkan.
6. Penggunaan amonium sulfat karena mempunyai sifat kelarutan yang tinggi serta tidak merusak struktur protein.

#### UCAPAN TERIMAKASIH

Kami mengucapkan terimakasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi atas Hibah Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi, sesuai dengan Kontrak Penelitian Tahun Anggaran 2019, Nomor: 20/AKM/PNT/2019.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Awaliyah, K., Anastasya, A., Nursan., Risnawati. 2016. *Isolasi Protein dan Western Blot*. Kediri.
- Fabian C. and Ju, Y.H. 2011. A review on rice bran protein: its properties and extraction methods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51:816-827
- Garcia J.L.L., Castro M.D.L., 2004. *Ultrasound-Assisted Soxhlet Extraction: an Expeditive Approach For Solid Sample Treatment, Application To The Extraction Of Total Fat From Oleaginous Seeds*, *Journal of Chromatography A*, Ed 1034, pp. 237-242.
- Jiamyangyuen,S.V., SrijesdarukS.V., and Harper. V.J. 2005. Extraction of rice bran protein concentrate and its application in bread. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 27:
- Nugrahani, R.A., Fithriyah, N.H., Nelfiyanti, 2019. Defatted Rice Bran a Byproduct of Oil Extraction with Ultrasonic Method for Protein Supplement in Cassava-Flour Biscuits *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* 543, 012020.
- Nurhayati., Mappiratu., Musafira. 2018. *Pembuatan Konsentrat Protein dari Biji Daun Kelor (Moringa Oleifera L.) dan Analisis Profil Asam Amino*. Kovalen. 4(1):24-32.
- Patsanguan, S., Hisaranusorn, N., Phongthai,S., and Raw,S. 2014. Rice Bran Protein Isolates: Preparation and their Physico-Chemical and Functional Properties. *Food and Applied Bioscience Journal*, 2 (3): 169-182

- Purwanto, Agus, dkk. (2014, Januari). *Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Rendemen dan Aktivitas Antioksidan dalam Ekstrak Minyak Bekatul Padi (Rice Bran Oil)*. Ekuilibrium. Vol 13. No 1.
- Sary. (2014). *Isolasi Lektin Buah Jatropha Multifida L dan Uji Aktivitas Terhadap Proliferasi Sel Limfosit Mencit Serta Implementasinya Pada Pembelajaran Kelompok Sains Dengan Menggunakan Modul*. Bengkulu.
- Satwika, Respatiphala R. 2010. *Kombinasi Metode Sonikasi, Pemanasan dan Fraksinasi Amonium Sulfat untuk Ekstraksi Enzim Fosfolipase-A<sub>2</sub> dari Acanthaster Planci*. Skripsi. Depok
- Widodo, C.A., Endarwati, F., Zullaikah, S., Rachimoellah, M. (2013). *Isolasi Protein dan Asam Amino dari Dedak Padi Menggunakan Air dan Metanol Subkritis*. Jurnal Teknik Pomits. Vol 2. No 1.
- Wingfield, P.T., 2016. Protein Precipitation Using Ammonium Sulfate. Curr Protoc Protein Sci.