

Isolasi Protein Jewawut (*Setaria Italica L*) Dengan Metode Kjeldahl

Sumanto Pasally^{1*}, Grace Sriati Mengga², Sylvia Indriani³, Krayani Kristiani⁴

^{1*}Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Kristen Indonesia Toraja Makale 91811
Sulawesi Selatan, Indonesia

³Program Studi Agribisnis Fakultas Pertanian Universitas Tomaka Mamuju 91511 Sulawesi Barat,
Indonesia

⁴Dinas Kesehatan Kabupaten Polewali Mandar 91314 Sulawesi Barat, Indonesia
Email : ^{1*}grstias@gmail.com

Abstract

Consumption of staple foods of the community at this time depends on rice. Barley belongs to the cereal group which contains carbohydrates and protein which is not inferior to white rice or brown rice so that it has the potential to be applied to the food industry. Isolation of protein with pH variation to precipitate protein at its isoelectric point and observe the effect of pH on protein solubility. The Kjeldahl method is used to indirectly analyze crude protein levels in foodstuffs. Knowing the yield of protein isolate, N total protein before isolation and after isolation and crude fiber of barley seeds found in the Lambanan area, Balanipa District, Polman Regency, West Sulawesi. The research was carried out at the Makassar Health Center Laboratory and Post-Harvest Laboratories, Faculty of Agriculture, Indonesian Christian University, Toraja January – February 2022, the data obtained were presented in a quantitative descriptive manner by doing three replications. The highest protein isolate yield was at pH 12, which was 64.06%, the highest protein isolate content was at pH 11, which was 20.72%, and the crude fiber content of barley seeds was 1.51%.

Keywords : Millet, Balanipa, Protein

Abstrak

Konsumsi makanan pokok masyarakat pada saat ini tergantung pada beras. Jewawut termasuk golongan sereal yang mengandung karbohidrat dan protein yang tidak kalah dengan beras putih maupun beras merah sehingga berpotensi diaplikasikan pada industri makanan. Isolasi protein dengan variasi pH untuk mengendapkan protein pada titik isoelektirknya dan mengamati pengaruh pH terhadap kelarutan protein. Metode kjeldahl dilakukan untuk menganalisis kadar protein kasar secara tidak langsung dalam bahan makanan. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui rendemen isolat protein, N Total protein sebelum isolasi dan setelah isolasi serta serat kasar biji jewawut yang terdapat di daerah Lambanan Kecamatan Balanipa Kabupaten Polman Sulbar. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Balai Besar Kesehatan Makassar dan Laboratorium Pasca Panen Fakultas Pertanian Universitas Kristen Indonesia Toraja Januari – Februari 2022, data yang diperoleh disajikan secara dekriptif kuantitatif dengan melakukan tiga kali ulangan. Rendemen isolat protein tertinggi pada pH 12 yaitu 64,06 %, kadar protein isolat tertinggi pada pH 11 yaitu 20,72 %, kadar serat kasar biji jewawut yaitu 1,51 %.

Kata Kunci : Jewawut, Balanipa, Protein

1. PENDAHULUAN

Jewawut (*Setaria Italica L*) adalah sejenis sereal berbiju kecil yang memiliki nilai kandungan gizi yang mirip dengan tanaman pangan lainnya seperti padi, jagung, gandum, dan tanaman biji-bijian yang lain (Hildayanti, 2012). Di kabupaten Biak Numfor, Papua menyebutnya dengan gandum Papua atau *Pokem*. Di Pulau Buru, Maluku menyebutnya dengan nama *Buru Hotong*. Di Pulau Lombok kecamatan Pringgabaya, Nusa Tenggara Barat dikenal dengan *Jawe* atau *Batem*. Di Enrekang dan Tana Toraja, Sulawesi Selatan tanaman ini dikenal dengan nama *Ba'tan*, di Kecamatan Balanipa, kabupaten Polewali Mandar, Sulawesi Barat dikenal dengan nama *Tarreang*.

Tanaman jewawut memiliki potensi sebagai sumber karbohidrat, antioksidan, senyawa bioaktif dan serat yang penting bagi kesehatan. Selain itu, tanaman ini dapat pula dijadikan sebagai bahan pangan substitusi beras dan sumber protein. Salah satu jenis tanaman jewawut yang kerap kali diteliti adalah tanaman jewawut jenis *pearl millet* yang sekaligus paling banyak dibudidayakan di Indonesia dibandingkan jenis tanaman jewawut lainnya. Kandungan karbohidratnya yaitu 81,62 %, protein kasar 12,1 %, serat kasar 5,65 %, kadar air 7,61 % (Yanuar W, 2009).

Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui kadar protein dan serat kasar biji jewawut yang ada di desa Lambanan kecamatan Balanipa Polman Sulbar. Analisis protein dapat dilakukan dengan metode Kjeldahl, Lowry, Biuret, Bradford, Turbidimetri dan Titrasi formol. Keuntungan menggunakan metode Kjeldahl yaitu sifatnya yang universal, presisi tinggi dan reproduktibilitas baik, banyak digunakan secara luas di seluruh dunia dan masih merupakan standar dibandingkan metode lain serta menganalisis kadar protein kasar dalam bahan makanan secara tidak langsung, karena yang dianalisis dengan cara ini adalah kadar nitrogennya. Serat kasar merupakan residu dari bahan makanan setelah diperlakukan dengan asam atau alkali mendidih, dan terdiri dari selulosa, dengan sedikit lignin dan pentosan.

2. METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Tahapan Penelitian

Isolasi Protein

Menimbang sampel sebanyak 50 gram, mencampur dengan 125 mL aquades beku kemudian memblender selama 15 menit. Mengatur pH pada campuran homogen menjadi 10, 11, dan 12 menggunakan NaOH 2 N. Setelah pH sesuai, mendiamkan pada lemari es selama 30 menit masing – masing campuran. Kemudian sentrifuse pada 1200 rpm 4°C selama 20 menit. Setelah proses sentrifugasi akan terbentuk lapisan : lapisan atas lemak, lapisan tengah protein yang larut dalam air, dan lapisan bawah endapan. Lapisan tengah yang merupakan supernatant protein kemudian memisahkan dari kedua lapisan secara hati – hati menggunakan pipet Pasteur. Supernatan protein yang diperoleh kemudian diatur pH nya menjadi 5,2 menggunakan HCl 2 N. Selanjutnya melakukan pengendapan protein dengan sentrifugasi 1200 rpm, 4°C selama 20 menit. Mencampur endapan protein dengan 87,5 g aquadest beku kemudian memblender selama 7 menit dan mengatur pHnya pada 6,2 kemudian melanjutkan proses sentrifugasi pada 1200

rpm, 4°C selama 20 menit. Menyimpan Isolat protein yang diperoleh dalam *freezer*. Melakukan Langkah – langkah diatas dengan pengulangan triplo.

Analisis kadar protein metode Kjeldahl

Menimbang sampel sebanyak 0,5 gram, kemudian menambahkan 0,1 gram Selenium Reagen Mixture. Kemudian menambahkan 20 ml H₂SO₄ sampai larutan berwarna bening. Kemudian disimpan di lemari asam selama 3 hari. Selanjutnya menambahkan aquadest sebanyak 250 ml pada ekstrak sampel, kemudian mendinginkan sampel menggunakan pendingin. Kemudian menambahkan indikator PP 0,1 % sebanyak 1 ml sampai tidak berwarna. Kemudian menambahkan NaOH sampai berubah warna merah, pelan-pelan sambil mendinginkan sampel di pendingin. Selanjutnya meletakkan di labu destilasi dan menyiapkan penampung destilat . Selanjutnya menambahkan Asam borat 1% sebanyak 20 ml dengan menggunakan labu Erlenmeyer . Selanjutnya destilasi hingga volume total destilat mencapai 100 ml. selanjutnya menambahkan Indikator BCG sebanyak 1 tetes, larutan akan berwarna hijau. Selanjutnya mentitrasi dengan HCl 0,1 N sampai berubah warna menjadi merah anggur.

Perhitungan % N :

$$\% N = \frac{(V.\text{titrasi sampel} - V.\text{titrasi blanko}) \times N \text{ HCl} \times \text{BA Nitrogen}}{\text{Berat sampel (mg)}} \times 100 \%$$

Perhitungan % Protein :

$$\% \text{ Protein kasar} = \% N \times \text{Faktor Konversi}$$

Analisis Kadar Serat Kasar

Menghaluskan bahan dan menimbang 2 gram, kemudian memindahkan ke dalam Erlenmeyer 600 ml, menambahkan 200 ml larutan H₂SO₄ mendidih (1.25 g H₂SO₄pekat/100 ml = 0.25 N H) kemudian ekstraksi lemaknya dengan Soxhlet selama 60 menit dan kadangkala digoyang-goyangkan. Disaring suspensi melalui kertas saring dan residu yang tertinggal dalam *erlenmeyer* dicuci dengan aquades mendidih. Mencuci residu dalam kertas saring sampai air cucian tidak berasam lagi. Memindahkan secara kuantitatif residu dari kertas saring kedalam *erlenmeyer* kembali dengan spatula, mencuci sisanya dengan larutan NaOH mendidih (1.25 g NaOH/100 ml = 0.31 N NaOH) sebanyak 200 ml sampai semua residu masuk kedalam *erlenmeyer*. Mendidihkan dengan pendingin balik sambil kadangkala digoyang-goyangkan selama 30 menit. Menyaring melalui kertas saring yang diketahui beratnya yang telah dipijarkan, sambil cuci dengan larutan K₂SO 10%. Mencuci residu dengan aquades mendidih kemudian dengan ±15 ml alkohol 95%. mengeringkan kertas saring dengan isinya pada oven dengan suhu 110°C sampai berat konstan (1-2) jam, mendinginkan dalam desikator dan menimbang.

$$\text{Berat residu} = \text{berat kasar}$$

2. 2 Perlakuan Penelitian

Perlakuan yang digunakan pada penelitian ini adalah perlakuan pada isolasi protein dengan variasi pH : A1 : Isolasi protein dengan pH 10 ; A2 : Isolasi protein dengan pH 11 ; A3 : Isolasi protein dengan pH 12

2.3 Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan pada praktikum jewawut ini yaitu analisis kadar protein jewawut, analisis kadar protein setelah isolasi dengan variasi pH dan analisa kadar serat kasar.

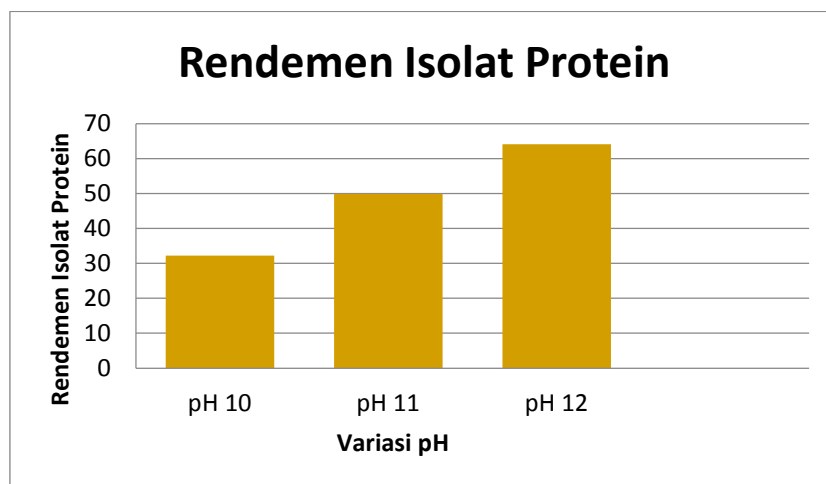
2.4 Pengolahan Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini disajikan secara deskriptif kuantitatif berdasarkan data hasil pengamatan terhadap parameter pengujian dengan melakukan tiga kali ulangan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Isolat Protein

Pada penelitian ini, isolasi protein dilakukan berdasarkan kelarutannya dalam pH basa yaitu pada variasi pH 10, 11 dan 12. Perbedaan jenis protein dapat mempengaruhi kelarutannya sehingga perlu dilakukan optimasi pH untuk isolasi protein. Parameter pH dikatakan sesuai untuk isolasi protein adalah pH yang menghasilkan rendemen isolat dan kadar protein tertinggi. Rendemen isolat merupakan kuantitasi banyaknya isolat yang diperoleh dari proses isolasi protein dalam sejumlah sampel tertentu. Presentasi rendemen tertinggi dihasilkan pada pH 12 yaitu 64,06236 %. Isolat protein pada pH 11 dan 10 menghasilkan rendemen sebanyak 49,90164 % dan 32,22028 %. Presentasi rendemen dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1 : Presentasi rendemen isolat protein pada variasi pH

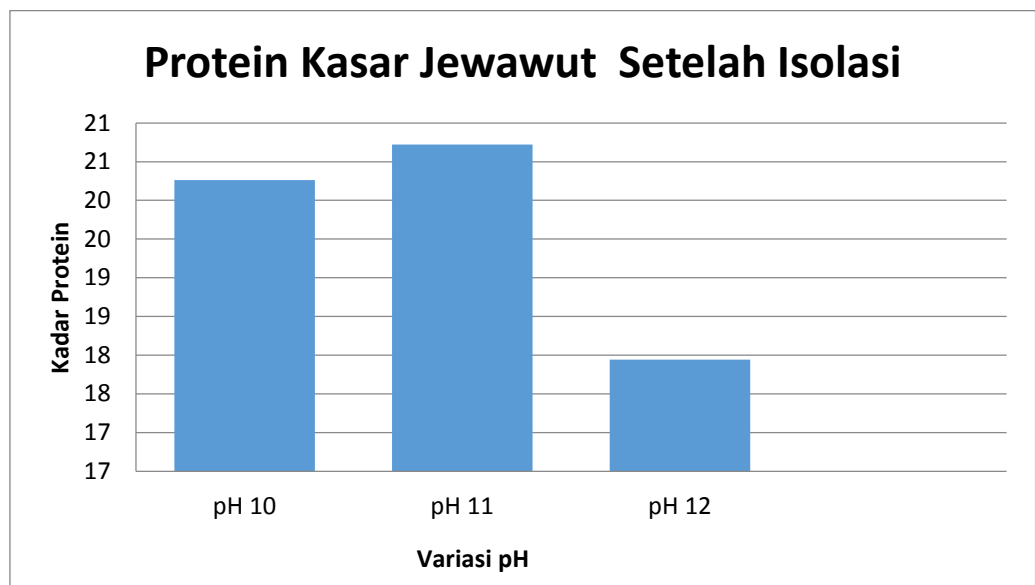
Analisa kadar protein

Kadar protein kasar diukur menggunakan metode Kjeldahl. Pada metode Kjeldahl, protein diukur berdasarkan jumlah nitrogen total yang ada di dalam sampel, sehingga ada kemungkinan molekul-molekul lain yang bukan protein tetapi mengandung nitrogen ikut terukur sebagai nitrogen total. Semakin banyak jumlah nitrogen yang terukur, maka semakin besar kadar protein yang terkandung dalam sampel tersebut.

Pada metode Kjeldahl, bahan organik mengalami reaksi oksidasi dengan adanya asam sulfat. Ion amonium yang terbebas dari bahan organik tersebut, berikatan dengan ion sulfat membentuk amonium sulfat. Amonium sulfat terionisasi dalam air menjadi kation amonium dan anion sulfat. Penambahan NaOH menyebabkan ion amonium melepaskan satu atom hidrogennya dan membentuk amonia bebas. Amonia bebas sifatnya mudah menguap, oleh karena itu perlu ditampung dalam larutan penjerat asam borat. Satu atom hidrogen dalam asam borat diberikan kepada amonia sehingga membentuk ion amonium, ion amonium yang terbentuk dititrasi dengan HCl standar untuk mengetahui jumlahnya dalam larutan. Dalam hal ini, jumlah HCl yang dibutuhkan pada saat titrasi sebanding dengan jumlah ion amonium karena keduanya memiliki perbandingan mol yang sama.

Hasil perhitungan kadar protein pada jewawut pada ulangan pertama dan kedua adalah 10,48401 % dan 10,64076 %. Kadar protein sebelum isolasi sangat berbeda jauh dengan kadar protein kasar setelah dilakukan isolasi dengan variasi pH.

Hasil perhitungan kadar protein kasar pada rendemen isolat menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh pada pH 11 memiliki kadar protein tertinggi yaitu 20,722631. Selanjutnya diikuti pada pH 10 yaitu 20,26123, sedangkan pada pH 12 memiliki kadar protein terendah yaitu 17,9433. Ini berarti, titik isoelektik dari sebagian jewawut adalah pada pH 11. Jumlah isolat protein sangat tergantung dari pH presipitasi yang dipilih adalah pH 11. Pada pH ini rendemen isolat protein adalah yang paling tinggi. Presentasi hasil perhitungan kadar protein kasar dapat dilihat pada gambar 2



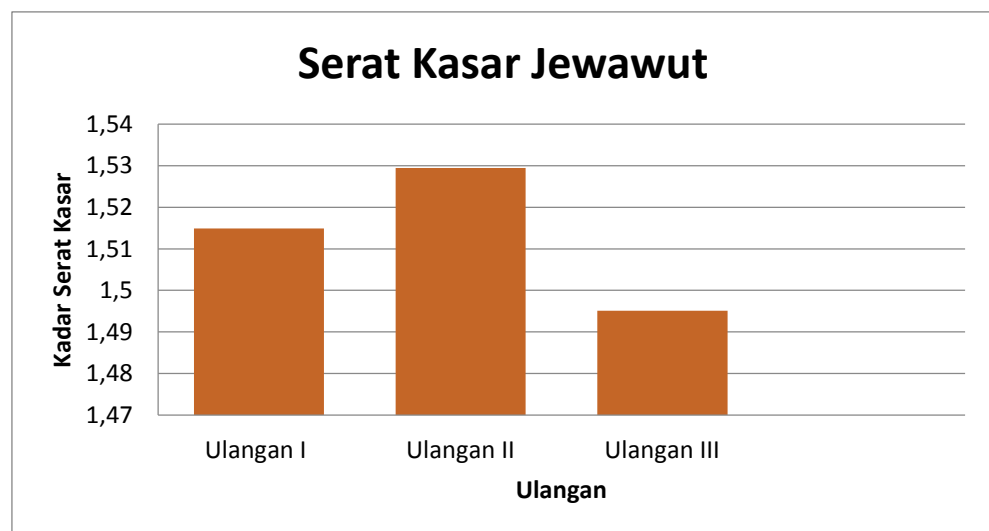
Gambar 2 : Kadar protein kasar setelah isolasi dengan variasi pH

Protein merupakan makromolekul yang terdiri dari satu atau lebih polipeptida. Setiap polipeptida terdiri dari rantai asam amino dimana satu sama lain dihubungkan oleh ikatan peptida (Walsh, 2002). Menurut Widyaningsih dan Mutholib (1999), komponen terbesar kedua dari jewawut adalah protein. Biji jewawut relatif lebih memiliki kandungan protein yang tinggi, oleh karena itu jewawut juga memiliki keseimbangan asam amino yang baik. Selain itu jewawut juga memiliki kandungan sistin, lisin dan mitonin yang tinggi (Hildayanti, 2012).

Menurut Juhaeti et al (2019), biji jewawut memiliki kandungan protein yang lebih unggul dibandingkan beras merah (4,95 %) maupun beras putih varietas ciherang (5,54%). Kandungan gizi jewawut tiga sampai lima kali lebih baik dari beras dan gandum (Upadhyaya et al, 2011).

Analisa Kadar Serat Kasar

Rerata kadar serat kasar pada jewawut adalah 1,51313. Seperti yang terlihat pada gambar 4.3 menunjukkan presentasi kadar serat kasar pada jewawut dengan tiga kali pengulangan. Pada ulangan pertama sampai ketiga menunjukkan hasil yang tidak jauh berbeda.



Gambar 3 : Kadar serat kasar jewawut

Serat kasar merupakan komponen dari bahan pangan yang tidak dapat dihidrolisis oleh enzim-enzim pencernaan manusia, namun masih dapat dihidrolisis dengan asam atau basa (Muchtadi, 2001). Serat kasar untuk jenis Foxtail millet yaitu 1,07 %. Penelitian yang dilakukan oleh Balitsereal (2004) untuk ketiga jenis jewawut (foxtail, pearl, proso millet) diperoleh serat kasarnya yaitu 1,4 ; 1,7 ; 0,9.

Sereal jewawut dikenal sebagai pangan fungsional mempunyai karakteristik kesehatan yang dikaitkan dengan polifenol dan isi serat makanan (larut dan tidak larut). Bergizi karena mengandung kalsium tinggi (0,38 %), serat makanan (18%) jadi sebagai sumber antioksidan dan senyawa fenolik (0,03 – 3 %) sehingga mempunyai fungsi sebagai anti diabetes dan obesitas, anti tumorigenic, efek atherosclerogenic,

antioksidan, anti mikroba juga mempunyai potensi sebagai prebiotik dan probiotik (Mathanghi et al ; Thapliyal et al)

4. KESIMPULAN

Presentasi rendemen isolat protein pada biji jewawut adalah pH 12 yaitu 64,06236 %, pH 11 yaitu 49,90164 % dan pH 10 yaitu 32,22028 %. N total kadar protein pada ulangan pertama dan kedua adalah 10,48401 % dan 10,64076 %. Kadar protein sebelum isolasi sangat berbeda jauh dengan kadar protein kasar setelah dilakukan isolasi dengan variasi pH. Hasil perhitungan kadar protein kasar pada rendemen isolat menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh pada pH 11 memiliki kadar protein tertinggi yaitu 20.722631. Selanjutnya diikuti pada pH 10 yaitu 20,26123, sedangkan pada pH 12 memiliki kadar protein terendah yaitu 17,9433. Rerata kadar serat kasar pada jewawut yang terdapat di daerah Polman adalah 1,51313.

Jewawut dapat digunakan sebagai pangan fungsional pengganti beras karena kandungan protein lebih tinggi dibandingkan dengan beras putih dan beras merah. jewawut tidak mengandung zat anti nutrisi sehingga sumber mineral yang terkandung di dalam biji jewawut dapat diserap oleh tubuh.

REFERENCES

- Balitseral. 2004. Laporan akhir : Penelitian koleksi, karakterisasi dan konservasi plasma nutfah serelia. Litbang Pertanian
- Dias-Martins, A. M., Pessanha, K. L. F., Pacheco, S., Rodrigues, J. A. S., & Carvalho, C. W. P. 2018. Potential use of pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) in Brazil: Food security, processing, health benefits and nutritional products. *Food Research International*, 109, 175-186
- Dhivya, AB., S. Subashini, R. Chandrababu & J. Ramalingam. 2015. Establishment of MilletDB: TNAU Released Millet Varieties with their Morphological Traits. *International Journal of Computer Applications*. 111 (14) : 24-26
- Fuller, S., Beck, E., Salman, H., & Tapsell, L. 2016. New horizons for the study of dietary fiber and health: a review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 71: 1-12
- Juhaeti, T, Adisyahputra, S Rianti. 2019. Foxtail Millet {*Setaria Italica* (L.) P. Beauv} Characteristic Under Different Light Intensities and Fertilizations. Makalah disampaikan pada The 3rd International Conference on Biosciences (ICoBio) 2019. Bogor. 8 Agustus
- Juhaeti, T. 2019. Foxtail millet (*Setaria italica* (L.) P. Beauv) cultivated on difference of nitrogen source fertilization and population. AIP Conference Proceedings 2120, 030019 (2019). <https://doi.org/10.1063/1.5115623>. 2019
- Léder, I.. 2004. Sorghum and Millets. Cultivated Plants, Primarily As Food Sources. Department of Technology, Central Food Research Institute, Hungary. ©Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS).
- Mathanghi, SK. & Sudha, K. 2012. Functional and phytochemical properties of finger millet (*Eleusine coracana*) for health. *International Journal of Pharmaceutical Chemical and Biological Sciences* 2(4): 431-438
- Thapliyal, V. & K. Singh. 2015. Finger Millet: Potential Millet for Food Security and power House of Nutrients. *International Journal of Research in Agriculture and Forestry* 2(2): 22-33.
- Upadhyaya, HD., CR. Ravishankar, Y. Narasimhudu, NDRK. Sarma, SK. Singh, SK. Varshney, VG. Reddy, S. Singh, HK. Parzies, SL. Dwivedi, HL. Nadaf, KL. Sahrawat & CLL. Gowda. 2011. Identification of Trait-Specific Germplasm and Developing a Mini Core Collection for Efficient

- Use of Foxtail Millet Genetic Resources in Crop Improvement. *Field Crops Research* 124: 459 – 467
- Yang, X., Z. Wan, L. Perry, H. Lu, Q. Wang, C. Hao, J. Li, F. Xie, J. Yu, T. Cui, T. Wang, M. Li & QH. Ge. 2012. Early millet use in northern China. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109(10): 3726-3730.
- Yanuar W. 2009. Aktivitas antioksidan dan imunomodulator serelia non – beras (tesis). Sekolah Pasca Sarjana Ilmu Pangan, Institut Pertanian Bogor.