

Peran Metode Fraksinasi dalam Pemurnian Protein dan Enzim

Nita Magfirah Ilyas

Program Studi Kimia, Universitas Negeri Makassar, Indonesia¹

nita.magfirah@unm.ac.id

Corresponding Author: Nita Magfirah Ilyas, E-mail: nita.magfirah@unm.ac.id

ABSTRACT

Fractionation is a method for separating proteins and enzymes widely used in biochemistry. Enzyme precipitation can be performed using either organic solvents or salts. This method is useful for separating protein components in crude enzyme extracts from non-protein components. The most commonly used salt is ammonium sulfate because it has high solubility, is relatively stable, and can precipitate proteins without causing denaturation. Commonly used organic solvents are n-hexane, ethyl acetate, water, ethanol, and methanol. However, comprehensive information comparing the effectiveness of salt and solvent fractionation methods in protein and enzyme purification is still limited. This literature review aims to analyze the application of fractionation methods with salts and solvents in protein and enzyme purification based on reviewed articles. The method used is a literature review by examining research results from several articles related to extraction, fractionation, compound content analysis, and specific activity tests. The review results show that salt fractionation is effective in increasing the purity and concentration of proteins or enzymes. Several studies have shown that ammonium sulfate saturations of 20–40%, 50%, and 60% often produce the highest enzyme specific activity or protein content. The review results show that the ethyl acetate solvent fraction often provides the highest specific activity due to its ability to attract semipolar compounds such as flavonoids, phenols, certain alkaloids, and other active secondary metabolites. However, precipitation using salt is superior and advantageous compared to organic solvents. Therefore, salt fractionation is a simple, inexpensive, and effective method for the initial stage of protein and enzyme purification before proceeding with dialysis, chromatography, or further characterization.

KEYWORDS

Salt fractionation, Solvent fractionation, Protein, Enzymes, Purification

ARTICLE DOI:

<https://doi.org/10.53696/venn.v5i4.494>

A. Pendahuluan

Protein dan enzim merupakan biomolekul penting yang memiliki fungsi luas dalam bidang pangan, farmasi, kesehatan, dan industri. Protein dapat berperan sebagai komponen struktural, cadangan nutrisi, emulsifier, pembentuk busa, serta bahan baku pangan fungsional. Enzim merupakan protein yang berfungsi sebagai biokatalis untuk mempercepat reaksi kimia, seperti amilase yang menghidrolisis pati dan protease yang menghidrolisis protein. Untuk memanfaatkan protein dan enzim secara optimal, diperlukan proses isolasi dan pemurnian agar protein target dapat dipisahkan dari komponen lain dalam ekstrak kasar ([Chandran et al. 2023](#)).

Salah satu metode pemurnian awal yang umum digunakan adalah fraksinasi garam. Fraksinasi garam dilakukan dengan menambahkan garam pada tingkat kejenuhan tertentu sehingga protein mengalami pengendapan. Prinsip utama metode ini adalah salting out, yaitu ketika konsentrasi garam meningkat, molekul air lebih banyak berinteraksi dengan ion garam sehingga ketersediaan air untuk melarutkan protein berkurang. Akibatnya, protein kehilangan lapisan hidrasi dan mengalami agregasi atau pengendapan. Amonium sulfat banyak digunakan karena daya larutnya tinggi dan efektif untuk mengendapkan protein pada berbagai tingkat kejenuhan ([Nurhayati, 2020](#)).

Protein menunjukkan variasi kelarutan yang bergantung pada konsentrasi dari garam yang ditambahkan kedalam larutan. Ion garam yang ditambahkan dapat mempengaruhi kelarutan protein. Pengendapan menggunakan garam netral seperti amonium sulfat dapat dilakukan tanpa kehilangan

aktivitas enzim. Metode ini relatif umum untuk pemisahan dan pemurnian protein dari ekstrak enzim kasar. Ion garam akan berkompetisi dengan molekul protein untuk berikatan dengan molekul air, sehingga garam akan menarik air dari koloid protein ([Nurhaeni, et al. 2022](#)).

Penerapan fraksinasi garam dapat ditemukan pada berbagai penelitian. Pada isolasi amilase dari biji nangka, enzim difraksinasi menggunakan amonium sulfat dan aktivitas spesifik tertinggi diperoleh pada kejenuhan 50%, yaitu 2,12 U/mg ([Tazkiah et al., 2017](#)). Pada penelitian amilase mikroba amilolitik, fraksinasi amonium sulfat dilakukan pada rentang 0–20%, 20–40%, 40–60%, 60–80%, dan 80–100%, dengan aktivitas spesifik tertinggi pada fraksi 20–40% sebesar 6,0 U/mg ([Wirajana et al., 2021](#)). Penelitian isolasi dan karakterisasi bromelain dari bonggol nanas (*Ananas comosus*) melalui metode fraksinasi menggunakan garam ammonium sulfat. Aktivitas spesifik tertinggi terdapat pada fraksi ammonium sulfat 50–80% (fraksi 3) baik untuk sampel bagian bonggol maupun bagian daging buah nanas, masing-masing adalah sebesar 0,30 U/mg dan 0,21 U/mg. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat kejenuhan garam sangat menentukan keberhasilan pemurnian protein atau enzim ([Ilyas et al, 2020](#)).

Fraksinasi pelarut merupakan proses pemisahan ekstrak kasar menggunakan beberapa pelarut dengan tingkat kepolaran berbeda. Prinsip dasar metode ini adalah “like dissolves like”, yaitu senyawa akan larut lebih baik dalam pelarut yang memiliki sifat kepolaran yang sama. Oleh karena itu, senyawa nonpolar akan lebih mudah larut dalam pelarutn-heksan, senyawa semipolar lebih banyak tertarik ke dalam etil asetat, sedangkan senyawa polar lebih mudah larut dalam air, akuades, etanol, atau metanol secara bertahap, sistematis, dan juga terukur ([Qolbi & Al Azzahra, 2026](#)).

Pentingnya fraksinasi pelarut terlihat pada berbagai penelitian bahan alam. Pada penelitian daun jambu biji, fraksinasi menggunakan n-heksan, etil asetat, dan air menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas penghambatan enzim α -amilase paling kuat dengan nilai IC_{50} 25,89 ppm, dibandingkan ekstrak etanol, fraksi n- heksan, dan fraksi air ([Nafis et al., 2024](#)). Hal ini menunjukkan bahwa pemisahan berdasarkan polaritas mampu membantu menentukan fraksi yang paling aktif secara biologis. Selain itu, penelitian biji trembesi menunjukkan bahwa pelarut dengan kepolaran berbeda dapat memengaruhi kadar senyawa yang diperoleh. Fraksi etil asetat menghasilkan kadar alkaloid tertinggi sebesar 77,34 mgCE/g fraksi, dibandingkan fraksi n-heksan dan akuades ([Qolbi & Al Azzahra, 2026](#)). Temuan ini memperkuat bahwa pemilihan pelarut sangat menentukan jenis dan jumlah senyawa aktif yang berhasil dipisahkan.

Penelitian lain pada paku gajah menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antitumor tertinggi dibandingkan pelarut lain, yang menunjukkan bahwa senyawa semipolar berpotensi memberikan aktivitas biologis yang lebih kuat dan lebih efektif secara farmakologis ([Rasyid et al., 2024](#)). Selain pelarut konvensional, perkembangan teknologi ekstraksi juga mulai mengarah pada penggunaan pelarut ramah lingkungan seperti deep eutectic solvents (DES). Pelarut ini dinilai mampu mempertahankan stabilitas protein dan enzim serta meningkatkan efisiensi ekstraksi secara lebih optimal dan ramah lingkungan ([Wong et al., 2025](#)).

B. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode literature review dengan mengumpulkan dan menganalisis artikel ilmiah yang membahas penggunaan metode fraksinasi garam dan pelarut dalam proses pemurnian protein serta enzim. Literatur diperoleh dari berbagai jurnal nasional dan internasional yang relevan dengan topik penelitian. Artikel yang dipilih merupakan artikel penelitian maupun artikel review yang dipublikasikan pada rentang tahun 2020–2026 dan memuat informasi mengenai metode fraksinasi, jenis pelarut atau garam yang digunakan, serta hasil pemurnian yang diperoleh. Artikel yang tidak

berkaitan langsung dengan pemurnian protein atau enzim dan tidak menyajikan data penelitian secara lengkap tidak diikutsertakan dalam kajian.

Setelah proses seleksi, diperoleh sepuluh artikel mengenai fraksinasi pelarut dan sepuluh artikel mengenai fraksinasi garam yang digunakan sebagai bahan kajian. Data dari setiap artikel dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan jenis bahan, metode fraksinasi, jenis pelarut atau garam yang digunakan, serta parameter hasil pemurnian seperti kadar protein, aktivitas spesifik, rendemen, dan tingkat kemurnian. Hasil analisis kemudian disajikan dalam bentuk tabel dan dibahas untuk mengevaluasi efektivitas masing-masing metode dalam pemurnian protein dan enzim.

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Berdasarkan hasil penelusuran literatur yang telah dilakukan, diperoleh sejumlah artikel penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan relevan dengan topik kajian. Seluruh artikel terpilih kemudian dianalisis secara sistematis berdasarkan aspek judul penelitian, tujuan penelitian, metode ekstraksi atau fraksinasi yang digunakan, jenis pelarut organik maupun garam yang diaplikasikan, serta hasil utama yang dilaporkan. Analisis tersebut bertujuan untuk mengidentifikasi efektivitas dan karakteristik masing-masing metode fraksinasi dalam pemisahan, pemurnian, maupun pemekatan protein. Hasil kajian menunjukkan adanya variasi penggunaan pelarut organik dan garam yang memengaruhi rendemen, kemurnian, serta aktivitas biologis protein yang diperoleh. Ringkasan karakteristik dan temuan utama penelitian yang menggunakan metode fraksinasi dengan pelarut organik disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Analisis Data dengan Metode Fraksinasi Pelarut Organik

No	Penulis/ Tahun	Judul Artikel	Metode/Pelarut	Hasil Utama
1	Nofita et al., 2026	Penetapan Flavonoid Total dan Potensi Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Pucuk Merah secara DPPH	Maserasi etanol 70%, metode AlCl ₃ , DPPH	Ekstrak etanol 70% menghasilkan rendemen 32,02%, kadar flavonoid total 11,57 mg QE/g, dan aktivitas antioksidan lemah dengan IC ₅₀ 277,106 ppm.
2	Tarigan et al., 2026	Formulasi dan Uji Aktivitas Gel Fraksi Aktif Biji Kopi Robusta terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	Maserasi etanol 96%, fraksinasi n-heksan, etil asetat, air, difusi cakram	Fraksi air dan sediaan gel biji kopi robusta menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> , dengan aktivitas terbesar pada konsentrasi 50%.
3	Fadriyanti et al., 2026	Pengaruh Berbagai Fraksi Ekstrak Daun Sungkai sebagai Antijamur terhadap Kekuatan Transversal Resin Akrilik	Fraksi etanol, etil asetat, n-heksan	Fraksi daun sungkai 1% tidak menurunkan kekuatan transversal resin akrilik dan berpotensi sebagai desinfektan alami.
4	Perangin-Angin et al., 2026	Uji Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Fraksi Aktif Biji Kopi Robusta	Maserasi etanol 96%, fraksinasi n-heksan, etil asetat, air, DPPH	Ekstrak memiliki rendemen 14,33%; semua fraksi menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat. Fraksi etil asetat memiliki aktivitas tertinggi, sedangkan flavonoid total tertinggi terdapat pada fraksi n-heksan.
5	Qolbi & Al Azzahra, 2026	Analisis Kadar Alkaloid Ekstrak dan Fraksi Biji Trembesi Berdasarkan Kepolaran Pelarut	Ultrasound Assisted Extraction, fraksi n-heksan, etil asetat, akuades, UV-Vis	Ekstrak biji trembesi mengandung alkaloid 142,58 mgCE/g. Fraksi etil asetat memiliki kadar alkaloid tertinggi (77,34 mgCE/g), dibandingkan fraksi n-heksan (45,7 mgCE/g) dan akuades (24,65 mgCE/g).

No	Penulis/ Tahun	Judul Artikel	Metode/Pelarut	Hasil Utama
6	Wong et al., 2025	Deep Eutectic Solvents for Protein Extraction: Mechanisms, Performance, and Green Metrics	Systematic review DES, UAE, EAE, MAE, SFE	DES dapat menyamai atau melebihi pelarut konvensional dalam ekstraksi protein apabila hidrasi, viskositas, dan komposisi pelarut dikontrol.
7	Nafis et al., 2024	Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak dan Fraksi Daun Jambu Biji secara In Vitro Menggunakan Metode Inhibisi Enzim α -Amilase	Ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air	Fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas paling kuat dengan IC ₅₀ 25,89 ppm, diikuti n-heksan 42,41 ppm, ekstrak etanol 65,16 ppm, dan fraksi air 106,70 ppm.
8	Rasyid et al., 2024	The Potential of Paku Gajah as Antitumor Through In Vitro and In Silico Studies	Maserasi bertingkat n-heksan, etil asetat, metanol, LC-MS, docking	Ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antitumor tertinggi dengan IC ₅₀ 240,94 μ g/mL dan mengandung violanthin serta angiopetroside.
9	Bowen et al., 2022	Application of Deep Eutectic Solvents in Protein Extraction and Purification	Review penggunaan deep eutectic solvents sebagai pelarut hijau	DES dapat digunakan untuk ekstraksi dan pemurnian protein, serta mampu mempertahankan aktivitas dan stabilitas protein dibandingkan pelarut tradisional.
10	Almeida et al., 2021	From Solvent Extraction to the Concurrent Extraction of Lipids and Proteins from Green Coffee	Ekstraksi kopi hijau menggunakan air, enzim, dan sistem countercurrent	Penggunaan alkaline protease menghasilkan ekstraktabilitas protein 62,2% dan minyak 47,7%. Sistem countercurrent meningkatkan ekstraksi protein menjadi 72% dan minyak 58%, serta mengurangi penggunaan air sebesar 60%.

Berdasarkan hasil review literatur, fraksinasi pelarut merupakan metode penting dalam pemisahan senyawa bioaktif karena mampu memisahkan komponen berdasarkan perbedaan kepolaran. Proses ini memungkinkan senyawa dalam ekstrak kasar dipisahkan menjadi fraksi yang lebih sederhana sehingga aktivitas biologis tiap fraksi dapat dianalisis secara lebih spesifik, sekaligus membantu mengidentifikasi fraksi yang paling berpotensi sebagai kandidat senyawa aktif secara signifikan dan akurat ([Almeida et al., 2021](#)). Selain itu, perkembangan metode ekstraksi modern menunjukkan bahwa efisiensi pemisahan tidak hanya bergantung pada jenis pelarut, tetapi juga pada teknik ekstraksi yang digunakan, seperti sistem countercurrent maupun pendekatan ramah lingkungan yang mampu meningkatkan hasil ekstraksi secara signifikan ([Bowen et al., 2022](#)).

Secara umum, pemilihan pelarut dalam fraksinasi sangat ditentukan oleh tingkat kepolaran senyawa target. Pelarut nonpolar seperti n-heksan digunakan untuk mengekstrak senyawa lipid, minyak, steroid, dan terpenoid, sedangkan pelarut semipolar seperti etil asetat lebih efektif dalam melarutkan flavonoid, fenol, dan sebagian alkaloid. Sementara itu, pelarut polar seperti air, etanol, dan metanol digunakan untuk menarik senyawa hidrofilik seperti tanin, saponin, dan glikosida. Perbedaan ini menyebabkan setiap fraksi memiliki profil fitokimia dan aktivitas biologis berbeda ([Qolbi & Al Azzahra, 2026](#)).

Penelitian Nofita et al. (2026) menunjukkan bahwa ekstraksi menggunakan etanol 70% pada daun pucuk merah menghasilkan flavonoid total dan aktivitas antioksidan, namun aktivitas yang diperoleh masih tergolong lemah. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak kasar masih mengandung campuran senyawa yang belum terpisah secara optimal, sehingga diperlukan tahap fraksinasi untuk memperoleh senyawa aktif yang lebih spesifik dan potensial.

Pada penelitian daun jambu biji, fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas antidiabetes paling kuat melalui mekanisme inhibisi enzim α -amilase dengan nilai IC₅₀ 25,89 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa aktif yang berperan kemungkinan besar bersifat semipolar dan lebih

mudah terlarut dalam pelarut etil asetat dibandingkan pelarut lainnya (Nafis et al., 2024). Pola serupa juga terlihat pada penelitian biji trembesi, di mana fraksi etil asetat menghasilkan kadar alkaloid tertinggi dibandingkan fraksi n-heksan dan air, yang menunjukkan bahwa alkaloid cenderung lebih dominan berada pada fraksi semipolar (Qolbi & Al Azzahra, 2026).

Penelitian pada paku gajah memperkuat temuan tersebut, di mana ekstrak etil asetat menunjukkan aktivitas antitumor paling tinggi dibandingkan fraksi lainnya dengan nilai IC₅₀ 240,94 µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi semipolar berpotensi mengandung metabolit sekunder aktif yang lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan sel kanker, seperti senyawa flavonoid dan glikosida tertentu (Rasyid et al., 2024).

Pada penelitian biji kopi robusta, seluruh fraksi menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat, namun fraksi etil asetat tetap menjadi yang paling aktif. Menariknya, kadar flavonoid total tertinggi justru ditemukan pada fraksi n-heksan, sehingga menunjukkan aktivitas antioksidan tidak selalu berbanding lurus dengan kadar flavonoid, melainkan dipengaruhi struktur senyawa, jenis metabolit lain, serta kemungkinan adanya efek sinergis antar senyawa bioaktif (Perangin-Angin et al., 2026).

Selain itu, fraksi air juga menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan berpotensi diformulasikan menjadi sediaan gel untuk terapi luka infeksi yang lebih efektif, yang menunjukkan bahwa senyawa polar juga memiliki kontribusi bioaktivitas yang penting secara signifikan (Tarigan et al., 2026).

Penelitian Fadriyanti et al. (2026) menunjukkan bahwa fraksi etanol, etil asetat, dan n-heksan dari daun sungkai tidak memberikan pengaruh negatif terhadap kekuatan transversal resin akrilik. Hal ini mengindikasikan bahwa fraksinasi tidak hanya berperan dalam menentukan aktivitas biologis, tetapi juga penting dalam evaluasi keamanan bahan alam, terutama untuk aplikasi di bidang kesehatan gigi dan material biomedis.

Di sisi lain, perkembangan teknologi ekstraksi modern menunjukkan pergeseran menuju penggunaan pelarut ramah lingkungan seperti deep eutectic solvents (DES). DES memiliki keunggulan karena lebih ramah lingkungan, mudah disintesis, serta mampu mempertahankan stabilitas senyawa bioaktif seperti protein selama proses ekstraksi (Bowen et al., 2022). Bahkan, penelitian lain menunjukkan bahwa DES dapat melebihi efisiensi pelarut konvensional apabila parameter seperti viskositas, hidrasi, dan komposisi pelarut dikontrol dengan tepat secara sistematis sehingga memberikan hasil yang lebih optimal dalam proses ekstraksi bioaktif (Wong et al., 2025).

Secara keseluruhan, hasil dari sepuluh jurnal yang direview menunjukkan bahwa fraksinasi pelarut sangat efektif dalam meningkatkan selektivitas pemisahan senyawa bioaktif berdasarkan kepolaran. Dengan demikian, pemilihan pelarut yang tepat serta pengembangan metode ekstraksi modern menjadi faktor kunci dalam optimalisasi pemanfaatan senyawa bioaktif dari bahan alam. Hasil kajian menunjukkan adanya variasi penggunaan pelarut organik dan garam yang memengaruhi rendemen, kemurnian, serta aktivitas biologis protein yang diperoleh. Ringkasan karakteristik dan temuan utama penelitian yang menggunakan metode fraksinasi dengan pelarut organik disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Analisis Data dengan Metode Fraksinasi Garam

No	Penulis/ Tahun	Judul Artikel	Metode Fraksinasi/Pemurnian	Hasil Utama
1	Edward et al., 2023	Cricket Protein Isolate Extraction: Effect of Ammonium Sulfate Physicochemical and	Ekstraksi alkali, presipitasi asam, dan penambahan amonium sulfat	Penambahan amonium sulfat 60% menghasilkan cricket protein isolate dengan kadar protein tertinggi sekitar 94%.

No	Penulis/ Tahun	Judul Artikel	Metode Fraksinasi/Pemurnian	Hasil Utama
		Functional Properties of Proteins		
2	Marcet et al., 2023	New Processes to Extract and Purify Phosvitin by Using Aqueous Salt Solutions, Precipitation and Ultrafiltration Techniques	Ekstraksi phosvitin menggunakan larutan NaCl, pengaturan pH, presipitasi, dan ultrafiltrasi	NaCl dan HCl digunakan untuk memperoleh supernatan kaya phosvitin; pemurnian menghasilkan phosvitin dengan rasio N/P 2,5 ± 0,1.
3	Hasdinda et al., 2023	Produksi Konsentrat Protein dari Ampas Kelapa Menggunakan NaOH dan ((NH ₄) ₂ SO ₄)	Ekstraksi NaOH dan salting out menggunakan amonium sulfat 55%, 60%, dan 65%	Perlakuan terbaik adalah NaOH 0,2 M dan amonium sulfat 60%, menghasilkan protein kasar 75,63% dan rendemen 33,83%.
4	Ningtyas et al., 2023	Penapisan dan Karakterisasi Amilase dari Bakteri Asal Ekoenzim	Presipitasi amonium sulfat, uji aktivitas amilase, dan metode Bradford	Amilase dari isolat PKL2 mengalami peningkatan kemurnian 1,82 kali setelah presipitasi amonium sulfat 60%.
5	Djenar & Suryadi, 2022	Isolasi dan Pemurnian Protein dari Lembaga Jagung Menggunakan Presipitasi dan Dialisis	Presipitasi ((NH ₄) ₂ SO ₄) 25%, 50%, 70% dilanjutkan dialisis	Dialisis menghasilkan protein murni 4,161%; analisis FTIR menunjukkan pita amida A, I, II, dan III yang sesuai dengan karakteristik protein jagung.
6	Laksanawati et al., 2022	Pemurnian dan Uji Aktivitas Protease Sulfhidril Batang Kamboja	Presipitasi amonium sulfat 20–80% dan uji aktivitas protease	Aktivitas protease sulfhidril tertinggi diperoleh pada pengendapan amonium sulfat 60% dengan yield 40,9790%.
7	Aminin et al., 2022	Isolasi dan Karakterisasi Amilase Termotabil dari Geobacillus dYTae-14	Pemurnian parsial, dialisis, dan fraksinasi amonium sulfat	Aktivitas spesifik tertinggi diperoleh pada fraksi kejenuhan amonium sulfat 20–40%, yaitu 934,356 unit/mg protein; pH optimum 8 dan suhu optimum 85°C.
8	Ratnaningsih & Songsermpong, 2021	Protein Isolate Precipitation Using Acid and Salt on a By-Product of Mung Bean Starch Extraction	Presipitasi protein menggunakan MgSO ₄ , CaCl ₂ , MgSO ₄ 10 g/L ((NH ₄) ₂ SO ₄), asam sitrat, dan HCl	HCl pada pH 4,5 meningkatkan bobot isolat protein, sedangkan MgSO ₄ 10 g/L menghasilkan kadar protein hingga 78,61% dengan sifat fungsional yang baik.
9	Wirajana et al., 2021	Pemurnian Amilase Mikroba Amilolitik dengan Fraksinasi Amonium Sulfat dan Amobilisasi pada Agar-Agar Komersial	Fraksinasi amonium sulfat 0–20%, 20–40%, 40–60%, 60–80%, 80–100%, dilanjutkan dialisis	Aktivitas spesifik tertinggi diperoleh pada fraksi 20–40% sebesar 6,0 U/mg, sedangkan aktivitas amilase tertinggi terdapat pada fraksi 40–60%.
10	Ilyas et al., 2020	Isolasi dan Karakterisasi Enzim Bromelain dari Bonggol dan Daging Buah Nanas (Ananas comosus)	Ekstraksi dan fraksinasi amonium sulfat pada berbagai tingkat kejenuhan (0-20%, 20-50%, 50-80%), dan dialisis	Aktivitas spesifik tertinggi terdapat pada fraksi ammonium sulfat 50-80% baik untuk sampel bagian bonggol maupun bagian daging buah nanas, masing-masing adalah sebesar 0,30 U/mg dan 0,21 U/mg.

Berdasarkan hasil review, fraksinasi garam terbukti menjadi metode penting dalam isolasi dan pemurnian protein maupun enzim. Metode ini banyak digunakan karena sederhana, murah, tidak memerlukan alat yang rumit, dan mampu meningkatkan konsentrasi protein target dari ekstrak kasar. Amonium sulfat menjadi garam yang paling sering digunakan karena kelarutannya tinggi dan mampu mengendapkan protein pada berbagai tingkat kejenuhan tanpa merusak struktur protein secara berlebihan.

Pada penelitian isolat protein kacang hijau, garam digunakan sebagai agen presipitasi untuk memperoleh protein dari limbah cair hasil ekstraksi pati. Penelitian tersebut membandingkan beberapa jenis garam seperti MgSO_4 , CaCl_2 , dan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ serta asam sitrat dan HCl. Hasilnya menunjukkan bahwa HCl pada pH 4,5 menghasilkan bobot isolat protein lebih tinggi, sedangkan MgSO_4 10 g/L mampu menghasilkan isolat protein dengan kadar hingga 78,61% dan sifat fungsional yang baik ([Ratnaningsih & Songsermping, 2021](#)). Hal ini menunjukkan bahwa pemilihan jenis garam dan kondisi pH sangat menentukan kualitas isolat protein yang diperoleh.

Pada pemurnian phosvitin dari kuning telur, larutan NaCl digunakan untuk membantu ekstraksi protein dari granula kuning telur. Phosvitin merupakan protein yang sangat terfosforilasi dan memiliki kemampuan mengikat kation serta aktivitas antioksidan. Penelitian Marcet et al. (2023) menunjukkan bahwa penggunaan NaCl dan pengaturan pH mampu menghasilkan supernatan kaya phosvitin, kemudian proses pemurnian dilanjutkan dengan presipitasi atau ultrafiltrasi. Hasil pemurnian menghasilkan phosvitin dengan rasio N/P rendah, yaitu $2,5 \pm 0,1$, yang menunjukkan tingkat kemurnian tinggi.

Pada isolasi protein jangkrik, fraksinasi garam dilakukan dengan menambahkan amonium sulfat ke dalam proses ekstraksi alkali dan presipitasi asam. Penambahan 60% amonium sulfat menghasilkan kadar protein tertinggi sekitar 94%. Selain meningkatkan kadar protein, amonium sulfat juga memengaruhi struktur sekunder protein, menurunkan kandungan α -helix, meningkatkan hidrofobisitas permukaan, serta memperbaiki sifat fungsional seperti pembentukan busa dan kapasitas menahan minyak ([Edward et al., 2023](#)). Hal ini menunjukkan bahwa fraksinasi garam tidak hanya memengaruhi jumlah protein, tetapi juga dapat mengubah sifat fisikokimia dan fungsional protein.

Penelitian konsentrat protein dari ampas kelapa menunjukkan bahwa kombinasi ekstraksi menggunakan NaOH dan salting out menggunakan amonium sulfat mampu menghasilkan protein kasar tinggi. Perlakuan terbaik diperoleh pada NaOH 0,2 M dan amonium sulfat 60%, dengan kadar protein kasar 75,63% dan rendemen 33,83% ([Hasdinda et al., 2023](#)). Hasil ini memperlihatkan bahwa konsentrasi garam yang tepat dapat mengendapkan protein secara optimal sehingga cocok digunakan untuk memanfaatkan limbah pangan sebagai sumber protein.

Pada penelitian amilase dari bakteri asal ekoenzim, ekstrak enzim dipekatkan menggunakan presipitasi amonium sulfat. Hasilnya menunjukkan bahwa amilase dari isolat meningkat kemurniannya 1,82 kali setelah pengendapan amonium sulfat pada konsentrasi jenuh 60%. Enzim tersebut memiliki pH optimum 7,0 dan suhu optimum 50°C ([Ningtyas et al., 2023](#)). Hal ini menunjukkan bahwa fraksinasi garam dapat digunakan sebagai salah satu tahapan pemurnian awal untuk meningkatkan kemurnian enzim mikroba.

Hasil serupa juga ditemukan pada pemurnian amilase mikroba amilolitik. Fraksinasi dilakukan pada rentang kejenuhan 0–20%, 20–40%, 40–60%, 60–80%, dan 80–100%. Aktivitas spesifik tertinggi diperoleh pada fraksi 20–40%, yaitu 6,0 U/mg, sedangkan aktivitas amilase tertinggi diperoleh pada fraksi 40–60% ([Wirajana et al., 2021](#)). Perbedaan antara aktivitas total dan aktivitas spesifik ini menunjukkan bahwa fraksi dengan jumlah enzim terbesar belum tentu merupakan fraksi dengan kemurnian tertinggi.

Pada amilase termostabil dari *Geobacillus dYTae-14*, fraksinasi amonium sulfat juga menghasilkan aktivitas spesifik tertinggi pada fraksi kejenuhan 20–40%, yaitu 934,356 unit/mg protein. Setelah karakterisasi, enzim menunjukkan suhu optimum 85°C dan pH optimum 8 ([Aminin et al., 2022](#)). Enzim termostabil seperti ini sangat potensial untuk industri karena mampu bekerja pada suhu tinggi, mempercepat reaksi, dan mengurangi risiko kontaminasi.

Fraksinasi garam juga digunakan dalam pemurnian protease sulfhidril dari batang kamboja. Pengendapan dilakukan menggunakan amonium sulfat 20–80%, dan aktivitas tertinggi diperoleh pada konsentrasi 60%. Pada fraksi tersebut diperoleh aktivitas total 0,4389 U/mL, purification factor 1,0066, dan yield 40,9790% ([Laksanawati et al., 2022](#)). Hasil ini membuktikan bahwa fraksinasi garam tidak hanya efektif untuk amilase, tetapi juga untuk enzim protease.

Penelitian isolasi dan karakterisasi bromelain dari bonggol nanas (*Ananas comosus*) melalui metode fraksinasi menggunakan garam ammonium sulfat. Aktivitas spesifik tertinggi terdapat pada fraksi ammonium sulfat 50-80% (fraksi 3) baik untuk sampel bagian bonggol maupun bagian daging buah nanas, masing-masing adalah sebesar 0,30 U/mg dan 0,21 U/mg. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat kejenuhan garam sangat menentukan keberhasilan pemurnian protein atau enzim ([Ilyas et al., 2020](#)).

Secara umum, artikel-artikel yang direview menunjukkan bahwa tingkat kejenuhan amonium sulfat yang optimal berbeda-beda tergantung jenis protein, sumber bahan, pH, suhu, dan komposisi ekstrak kasar. Pada beberapa penelitian, kejenuhan 20–40% menghasilkan aktivitas spesifik tertinggi, sedangkan penelitian lain menunjukkan hasil terbaik pada 50–80%. Oleh karena itu, optimasi tingkat kejenuhan garam sangat penting dalam proses pemurnian protein dan enzim.

D. Kesimpulan

Berdasarkan hasil literature review, metode fraksinasi memiliki peran penting dalam proses pemisahan dan pemurnian protein maupun enzim. Fraksinasi pelarut bekerja berdasarkan perbedaan kepolaran senyawa sehingga mampu meningkatkan selektivitas pemisahan komponen bioaktif. Dari berbagai penelitian yang dikaji, fraksi etil asetat umumnya menunjukkan aktivitas biologis tertinggi, seperti aktivitas antioksidan, antidiabetes, dan antitumor, karena kemampuannya melarutkan senyawa semipolar seperti flavonoid, fenol, dan alkaloid. Selain itu, perkembangan penggunaan pelarut ramah lingkungan seperti *deep eutectic solvents* (DES) menunjukkan potensi yang baik dalam meningkatkan efisiensi ekstraksi sekaligus menjaga stabilitas protein dan senyawa bioaktif.

Fraksinasi garam, khususnya menggunakan amonium sulfat, terbukti menjadi metode yang sederhana, ekonomis, dan efektif untuk pemurnian awal protein dan enzim. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa tingkat kejenuhan amonium sulfat pada kisaran 20–40%, 50-80% sering menghasilkan aktivitas spesifik atau kadar protein tertinggi, meskipun kondisi optimum berbeda pada setiap jenis protein dan enzim. Secara keseluruhan, fraksinasi garam lebih unggul untuk pemurnian awal protein atau enzim dibandingkan fraksinasi pelarut organik. Oleh karena itu, metode ini sangat sesuai digunakan sebagai tahap awal pemurnian sebelum dilanjutkan dengan proses pemurnian lanjutan seperti dialisis, kromatografi, dan karakterisasi protein atau enzim.

Penelitian selanjutnya perlu mengkaji lebih lanjut kombinasi metode fraksinasi garam dan teknologi pemurnian lanjutan untuk memperoleh protein atau enzim dengan tingkat kemurnian yang lebih tinggi. Selain itu, penggunaan pelarut ramah lingkungan seperti *deep eutectic solvents* (DES) perlu terus dikembangkan sebagai alternatif yang lebih berkelanjutan dan efisien dalam proses ekstraksi serta pemurnian protein dan enzim dari berbagai sumber hayati.

Daftar Pustaka

- Almeida, F. S., Dias, F. F. G., Sato, A. C. K., & de Moura Bell, J. M. L. N. (2021). From solvent extraction to the concurrent extraction of lipids and proteins from green coffee: An eco-friendly approach to improve process feasibility. *Food and Bioproducts Processing*, 129, 144–156.
- Aminin, A. L. N., Milarsih, Y., & Mulyani, N. S. (2022). Isolasi dan karakterisasi amilase termotabil dari *Geobacillus dYTae-14*. *Greensphere: Journal of Environmental Chemistry*, 2(2), 1–6.
- Bowen, H., Durrani, R., Delavault, A., Durand, E., Chenyu, J., Yiyang, L., Lili, S., Jian, S., Weiwei, H., & Fei, G. (2022). Application of deep eutectic solvents in protein extraction and purification. *Frontiers in Chemistry*, 10, 912411.
- Chandran, A. S., Suri, S., & Choudhary, P. (2023). Sustainable plant protein: An up-to-date overview of sources, extraction techniques and utilization. *Sustainable Food Technology*, 1(4), 466–483. <https://doi.org/10.1039/D3FB00003F>.
- Djenar, N. S., & Suryadi, J. (2022). Isolasi dan pemurnian protein dari lembaga jagung (corn germ) menggunakan metode presipitasi dan dialisis. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 8(1), 60–66.
- Edward, Wongprasert, T., Bunyakanchana, T., Siripitakpong, P., Supabowornsathit, K., Vilaivan, T., & Suppavorasatit, I. (2023). Cricket protein isolate extraction: Effect of ammonium sulfate on physicochemical and functional properties of proteins. *Foods*, 12, 4032.
- Fadriyanti, O., Ningrum, V., & Citra, F.H. (2026). Pengaruh berbagai fraksi ekstrak daun sungkai sebagai antijamur terhadap kekuatan transversal resin akrilik polimerisasi panas. *Sinnun Maxillofacial Journal*, 8(1), 23–31.
- Hasdinda, Satrimafitrah, P., Bahri, S., Razak, A. R., Puspitasari, D. J., Indriani, & Amar, A. A. (2023). Produksi konsentrat protein dari ampas kelapa (*Cocos nucifera* L.) menggunakan NaOH dan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 9(1), 63–69.
- Ilyas, N. M., Setiasih, S., & Hudiyono, S. (2020). Isolasi dan karakterisasi enzim bromelain dari bonggol dan daging buah nanas (*Ananas comosus*). *Jurnal Chemica*, 21(2), 133–141.
- Laksanawati, T. A., Khirzin, M. H., & Shinta, K. M. (2022). Pemurnian dan uji aktivitas protease sulfhidril batang kamboja (*Plumeria obtusa*). *AGRIBIOS: Jurnal Ilmiah*, 20(2), 235–240.
- Marcet, I., Ridella, F., Díaz, M., & Rendueles, M. (2023). New processes to extract and purify phosvitin by using aqueous salt solutions, precipitation and ultra-filtration techniques. *Separations*, 10, 407.
- Nafis, M. J. A., Septiarini, A. D., & Permatasari, D. A. I. (2024). Uji aktivitas antidiabetes ekstrak dan fraksi daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) secara in vitro menggunakan metode inhibisi enzim α -amilase. *Jurnal Kesehatan Poltekkes Kemenkes RI Pangkalpinang*, 12(1), 8–18.

- Ningtyas, N., Mubarik, N. R., & Rahayuningsih, M. (2023). Penapisan dan karakterisasi amilase dari bakteri asal ekoenzim. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 28(3), 441–448.
- Nurhaeni, N., Kencana, F. S., Ajeng, A. T., Khairuddin, K., Prismawiryanti, P., Syamsuddin, S., Puspitasari, D. J., Indriani, I., & Rahim, E. A. (2022). *Pembuatan Konsentrat Protein Ampas Tahu Menggunakan Garam Ammonium Sulfat*. KOVALEN: Jurnal Riset Kimia, 8(1). <https://doi.org/10.22487/kovalen.2022.v8.i1.15844>.
- Nurhayati, T., Nugraha, R., & Lihuana, D. N. (2020). *Karakterisasi fraksi amonium sulfat tripsin yang diisolasi dari usus ikan tongkol (Euthynnus affinis)*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(2), 372–382. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v23i2.32221>.
- Nofita, D., Arifka, M., Khairi, M., & Putri, A. S. (2026). Penetapan flavonoid total dan potensi antioksidan ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) secara DPPH. *Jurnal Pharma Saintika*, 9(2), 74–83.
- Perangin-Angin, E. B., Sembiring, N. B., & Kaban, V. E. (2026). Test of total flavonoids and antioxidant activity of active fraction of robusta coffee beans (*Coffea canephora* L.) for diabetic ulcers. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 9(1), 624–634.
- Qolbi, R. A., & Al Azzahra, Y. (2026). Analisis kadar alkaloid ekstrak dan fraksi biji trembesi (*Samanea saman* Merr.) berdasarkan kepolaran pelarut menggunakan spektrofotometri UV-Vis. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 9(1), 494–503.
- Ratnaningsih, R., & Songsermpong, S. (2021). Protein isolate precipitation using acid and salt on a by-product of mung bean starch extraction. *Agriculture and Natural Resources*, 55, 882–892.
- Rasyid, H., Asmirah, Firdausiah, S., Bahrin, Arief, I., & Soekamto, N.H. (2024). The potential of paku gajah (*Angiopteris evecta*) as antitumor through in vitro and in silico studies. *Molekul*, 19(2), 296–308.
- Tazkiah, N. P., Rosahdi, T. D., & Supriadin, A. (2017). Isolasi dan karakterisasi enzim amilase dari biji nangka (*Artocarpus heterophyllus*). *al-Kimiya*, 4(1), 17–22.
- Tarigan, P. D. B., Sembiring, N. B., & Yunus, M. (2026). Formulation and activity test of active fraction gel from robusta coffee beans (*Coffea canephora* L.) against *Staphylococcus aureus* as a treatment for diabetic ulcers. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 9(1), 664–676.
- Wirajana, I. N., Sirait, R. R., & Suarya, P. (2021). Pemurnian amilase mikroba amilolitik dengan fraksinasi amonium sulfat dan amobilisasi pada agar-agar komersial. *Jurnal Kimia*, 15(1), 41–49.
- Wong, J. C. J., Khoiroh, I., Gan, S., & Croft, A. K. (2025). Deep eutectic solvents for protein extraction: mechanisms, performance, and green metrics. *Journal of Molecular Liquids*, 438, 128636.