



**KARAKTERISASI ENZIM PROTEASE DARI GETAH
TANAMAN BIDURI (*Calotropis gigantea*) HASIL
EKSTRAKSI MENGGUNAKAN AMONIUM SULFAT**

**KARYA ILMIAH TERTULIS
(S K R I P S I)**

**Diajukan Sebagai Syarat Untuk Menyelesaikan
Program Pendidikan Strata Satu Pada
Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember**

**Oleh :
Soffahmi Prathama Susanti
011710101080**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2005**

Dosen Pembimbing :

Yuli Witono, S.TP., MP. (DPU)

Ir. Wiwik Siti Windrati, MP. (DPA I)

Ir. Hj. Siti Hartanti, MS. (DPA II)

MOTTO:

✽ *Jadikanlah sabar dan sholat sebagai penolongmu, sesungguhnya Allah bersama orang-orang yang sabar.*

(Q.S. Al Baqarah :153)

✽ *Sesungguhnya disamping kesukaran ada kemudahan, maka apabila engkau telah selesai dari suatu urusan segera kerjakanlah urusan yang lain dengan sungguh-sungguh dan hanya kepada Allah kamu berharap.*

(Q.S. Al Insyirah :6-8)

Soffahmi Prathama Susanti (011710101080) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember, "Karakterisasi Enzim Protease dari getah Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea*) hasil ekstraksi menggunakan Amonium sulfat", dibimbing oleh Yuli Witono, S. TP., MP dan Ir. Wiwik Siti Windarti, MP.

RINGKASAN

Enzim protease merupakan enzim penghidrolisis protein, yaitu enzim yang memutus ikatan peptida pada rantai protein sehingga dihasilkan asam amino atau peptida berantai pendek. Enzim protease memiliki peranan penting dalam industri pangan, seperti pembuatan keju, penjernihan bir, pengempuk daging, pembuatan roti dan sebagainya. Setiap tahunnya kebutuhan enzim protease terus meningkat sehingga diperlukan sumber penghasil protease baru dari jaringan hidup seperti : mikroorganisme, hewan maupun tanaman. Biduri (*Calotropis gigantea*) merupakan jenis tumbuhan dataran pantai yang memiliki aktivitas proteolitik pada getahnya, selain tanaman pepaya, nanas dan *ficus sp.* Tanaman biduri dapat diharapkan sebagai alternatif sumber protease baru.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan sifat atau karakter enzim protease biduri, sehingga hasil yang diperoleh dapat dijadikan sebagai acuan untuk produksi dan aplikasi enzim protease dalam industri. Karakter yang diamati meliputi suhu optimum enzim, pH optimum enzim, daya tahan enzim terhadap panas (termostabilitas enzim), laju reaksi enzim dan perbandingan konsentrasi substrat terhadap enzim, serta penentuan nilai derajat hidrolisis (DH) substrat oleh enzim protease biduri. Hasil pengamatan dianalisa secara deskriptif untuk menentukan hasil terbaik pada aktivitas enzim serta aktivitas spesifik tertinggi. Analisa aktivitas enzim dilakukan dengan metode lowry dengan substrat kasein, sedangkan pada penentuan derajat hidrolisis (DH) digunakan metode Tri Nitro Benzen Sulfonat (TNBS).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu optimum enzim protease biduri adalah 55°C dengan aktivitas enzim sebesar 0.077 unit aktivitas/mg protein enzim. pH optimum enzim adalah pH 7 dengan aktivitas sebesar 0.091 unit aktivitas/mg protein enzim, sedangkan daya tahan enzim terhadap panas dapat bertahan pada suhu 60°C dan di atas suhu 80°C enzim mengalami inaktivasi. Kecepatan maksimum enzim protease biduri sebesar 18.867 mg/ml/min dengan perbandingan enzim : substrat sebesar 1235.795 : 1. Nilai derajat hidrolisis pada berbagai substrat sebesar 12.72, 2.94, 3.297, 3.187 masing-masing untuk substrat kasein, isolat koro pedang, daging sapi dan ikan segar.

DAFTAR ISI

| | |
|--|----------|
| HALAMAN JUDUL..... | i |
| MOTTO..... | ii |
| PERSEMBAHAN..... | iii |
| DOSEN PEMBIMBING..... | vi |
| HALAMAN PENGESAHAN..... | vii |
| KATA PENGANTAR..... | viii |
| DAFTAR ISI..... | x |
| DAFTAR TABEL..... | xiii |
| DAFTAR GAMBAR..... | xiv |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xv |
| RINGKASAN..... | xvi |
| | |
| I. PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1 Latar Belakang..... | 1 |
| 1.2 Perumusan Masalah..... | 3 |
| 1.3 Tujuan Penelitian..... | 3 |
| 1.4 Manfaat Penelitian..... | 3 |
| | |
| II. TINJAUAN PUSTAKA..... | 4 |
| 2.1 Biduri..... | 4 |
| 2.2 Enzim..... | 5 |
| 2.3 Enzim Protease..... | 8 |
| 2.4 Sumber-sumber Enzim Protease..... | 10 |
| 2.5 Manfaat Enzim Protease..... | 12 |
| 2.6 Ekstraksi Enzim Protease..... | 13 |
| 2.7 Ekstraksi Enzim Protease Tanaman Biduri..... | 14 |

| | |
|--|-----------|
| 2.8 Purifikasi Enzim Protease | 15 |
| 2.9 Purifikasi Enzim Protease Tanaman Biduri | 16 |
| 2.10 Karakterisasi Enzim dan Faktor-faktor Yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim | 16 |
| 2.10.1 Karakterisasi Enzim | 16 |
| 2.10.2 Faktor-faktor Yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim.... | 17 |
| 2.10.2.1 Pengaruh Suhu | 17 |
| 2.10.2.2 Pengaruh pH..... | 18 |
| 2.10.2.3 Konsentrasi Enzim dan Substrat..... | 19 |
| 2.10.2.4 Termostabilitas (daya tahan enzim terhadap panas)..... | 19 |
| 2.11 Kinetika Enzim | 20 |
| 2.12 Derajat Hidrolisis | 24 |
| 2.13 Aktivitas Enzim Protease | 25 |
| | |
| III. METODOLOGI PENELITIAN | 27 |
| 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian..... | 27 |
| 3.2 Bahan dan Alat Penelitian..... | 27 |
| 3.2.1 Bahan Penelitian..... | 27 |
| 3.2.2 Alat Penelitian | 27 |
| 3.3 Rancangan Penelitian | 28 |
| 3.4 Pelaksanaan Penelitian..... | 29 |
| 3.4.1 Ekstraksi Enzim Protease Biduri..... | 29 |
| 3.4.2 Purifikasi Enzim Protease Biduri..... | 29 |
| 3.4.3 Karakterisasi Enzim Protease Biduri..... | 30 |
| a. Penentuan Suhu Optimum Enzim Protease Biduri..... | 30 |
| b. Penentuan pH Optimum Enzim Protease Biduri..... | 31 |
| c. Pengujian Termostabilitas Enzim Protease Biduri | 31 |
| d. Penentuan Laju Reaksi Enzim Protease Biduri | 32 |

| | |
|--|-----------|
| e. Penentuan Derajat Hidrolisis Enzim Protease Biduri.. | 32 |
| 3.5 Parameter Pengamatan | 33 |
| 3.6 Prosedur Pengamatan Parameter | 36 |
| 3.6.1 Pengamatan Kadar Protein Ekstrak Enzim Protease | 36 |
| 3.6.2 Pengujian Aktivitas Protease..... | 36 |
| 3.6.3 Pengujian Laju Reaksi Enzim Protease | 38 |
| 3.6.4 Pengujian Derajat Hidrolisis Enzim Protease dengan Metode Trinitro Benzen Sulfonat..... | 39 |
| IV. HASIL DAN PEMBAHASAN | 40 |
| 4.1 Suhu Optimum Enzim Protease Biduri | 40 |
| 4.2 pH Optimum Enzim Protease BiduriSephadex G-100 | 42 |
| 4.3 Termostabilitas Enzim Protease Biduri Terhadap Suhu Tinggi | 44 |
| 4.4 Laju Reaksi Enzim Protease Biduri..... | 45 |
| 4.5 Derajat Hidrolisis Berbagai Substrat Oleh Enzim Protease Biduri..... | 50 |
| V. KESIMPULAN DAN SARAN | 54 |
| 5.1 Kesimpulan | 54 |
| 5.2 Saran..... | 54 |
| DAFTAR PUSTAKA | 55 |
| LAMPIRAN..... | 59 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|--|----------------|
| 1. Perbandingan Enzim dan Substrat Pada Reaksi Enzimatis Oleh Enzim Protamex | 49 |
| 2. Derajat Hidrolisis Berbagai Jenis Substrat Yang dihidrolisis Oleh Enzim Protease Biduri | 51 |
| 3. Nilai Derajat Hidrolisis (DH) Enzim Protamex™ dan Enzim Papain | 53 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|--|---------|
| 1. Reaksi Katalisa Protease dalam Menghidrolisa Ikatan Peptida Protein..... | 10 |
| 2. Kurva Michaelis Menten..... | 23 |
| 3. Kurva Lineweaver-Burk Untuk Menentukan K_m dan V_{max} | 23 |
| 4. Reaksi TNBS Dengan Golongan Asam Amino..... | 25 |
| 5. Diagram Alir Ekstraksi Enzim Protease Biduri | 34 |
| 6. Diagram Alir Purifikasi Enzim Protease Biduri dengan Kromatografi Gel Filtrasi Sephadex G-25..... | 35 |
| 7. Kurva Suhu Optimum Enzim Protease Biduri | 40 |
| 8. Kurva pH Opimum Enzim Protease Biduri | 42 |
| 9. Kurva Termostabilitas Enzim Protease Biduri..... | 44 |
| 10. Pengaruh Konsentrasi Substrat Kasein Terhadap kecepatan Awal Hidrolisis Enzimatis Protease Biduri..... | 47 |
| 11. Plot Dari Data Tentang Konsentrasi Substrat Dan Kecepatan Awal Reaksi Dengan Menggunakan Metode Lineweaver - Burk..... | 48 |
| 12. Derajat Hidrolisis (DH) Berbagai Substrat Oleh Enzim Protease Biduri..... | 50 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|---|---------|
| 1. Pembuatan Reagensia..... | 59 |
| 2. Nilai Konstanta α , β , dan H total Pada Berbagai Bahan Pangan Berprotein..... | 63 |
| 3. Data dan Kurva BSA Standar..... | 64 |
| 4. Data dan Kurva Tirosin Standar..... | 65 |
| 5. Data dan Kurva H Total Glycine Standar..... | 66 |
| 6. Data dan Kurva H Glycine Standar..... | 67 |
| 7. Data Hasil Perhitungan Penentuan Suhu Optimum Enzim Protease Biduri..... | 68 |
| 8. Data Hasil Perhitungan Penentuan pH Optimum Enzim Protease Biduri..... | 70 |
| 9. Data Hasil Perhitungan Pengujian Termostabilitas Enzim Protease Biduri..... | 72 |
| 10. Data Hasil Perhitungan Penentuan Laju Reaksi Enzim Protease Biduri..... | 74 |
| 11. Data Hasil Perhitungan Penentuan Derajat Hidrolisis Berbagai Substrat Oleh Enzim Protease Biduri..... | 77 |
| 12. Tanaman Biduri (<i>Calotropis gigantea</i>)..... | 78 |