



SPESIFITAS KATALITIK PROTEASE BIDURI (*Calotropis gigantea*)

SKRIPSI

Diajukan Guna Memenuhi Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan Pendidikan
Program Strata Satu (S1) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember

Oleh :

DINAR SUKSMAYU SAPUTRI
NIM 031710101018

JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2007

PERSEMBAHAN

Alhamdulillah segala puji bagi Allah SWT Dzat yang Maha Sempurna atas terselesaikannya Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi) ini yang saya persembahkan setulusnya untuk:

1. Ibunda Nuniek Wahyuni Hastuti dan Ayahanda Heriadi, tanpa lelah mendoakan dan memberikan seluruh kasih sayang dan pengorbanan, serta menjadi pembimbing, penuntun, peyemangat. Maaf kalau belum bisa membuat Bapak dan Ibu bangga;
2. Mas Dimas, Uti dan seluruh keluarga besarku, yang selalu memberikan dukungan dan semangat;
3. Guru-guruku sejak TK sampai Perguruan Tinggi yang terhormat, yang telah memberikan ilmu dan membimbing dengan penuh kesabaran;
4. Almamater Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Special Thanks to:

- ♣ My company in crime, **KLIWON: Dahlia Indah Amareta, Nawang Wulan Kusuma W., Nurul Firdaus K.H.(Piping), Elly Istiqomah, 'n Siti Indah Purwaning Y.(Peyek)**, kalian membuat hidupku yang tadinya hitam putih jadi lebih berwarna. Kalau nanti kalian punya anak-cucu, kita bikin keluarga besar KLIWON. We're family, girls!
- ♣ Saudara seperjuanganku di TP: **Ika Setya Arifyani, Puspa Dewi Augustine, Anita Warianti**, terus berjuang, rek! Sorry kalau aku sering "nggandol", ngrepoti, gak perhatian, dll, Hope this friendship will last forever..
- ♣ Dulur-dulur KKN-ku di Blater: **Santi, Choir, Agung, Deni, Amel 'n Yudik**. Hidup itu SERU!!, SERU!! itu kalian. Kapan kita bisa main-main ke Blater lagi ya? Thanks for the memories, guys!
- ♣ **Mas Apip, Mas Bekti, 'n Mbak Aceen (Aestrin)**, makasih atas semua petunjuk dan bantuannya, 'n makasih juga sudah memperkenalkan biduri pada kami. Kalo gak ketemu kalian, pasti sekarang aku masih bingung mau skripsi apa.
- ♣ Para penghuni lab atas (koncoku nge-lab): **Anton, Sofyan, Andri, Noka, Ika Verda, Mbak Dyah, Mbak Sabarini, Minanu, Najmudin, Dewi', Illiyun, Glen, Sugma, Hera, Atma, Yudi '04, Aden '04, Febtu '04, Mas Fajar, Mbak Mardiana, Riris (Yeezz), Koko, Dian "cilik", Sulton & Irawan Brawijaya**, setahun terakhirku di TP harus ketemu wajah-wajah kalian, enegh sih..hehe..., tapi.. thanks buat semua bantuan 'n dukungannya. I'll miss you all!!! Semangat, rek!!
- ♣ Teknisi laboratorium: **Mbak Ketut, Mbak Sari, Mbak Wiem, Mas Mistar, Mas Tasor, Mas Dian, Mbak Neni**, terima kasih atas semua bantuannya selama ini.
- ♣ **Pasukan 2003 THP 'n TEP**, Fitri Hapsari (salut buat kamu yang selalu bisa 'n berhasil membuat keputusan dan perubahan besar dalam hidupmu), Umi B. (nongko-e abhott, Mi!!), Capri, Yofa, Fikri, Mbak Anis, Anis Pranata, Arga, Kartian, Dani, Kumaida, Atik, Shinta THP 'n TEP, Chandra (aku ajari bahasa tagalok yo, Can??), Nurman (wong ndeso!), Dedi, Prana dll yang gak bisa disebut satu-satu, kompak selalu rek!! Yuk kita reunion ke Bali??!!!
- ♣ **Charles Lukman '03, Arei '04, Rio '05, Shagita '06, Zekia '06**, makasih laporan AHP 'n KHP-ne rek!! Laporan kalian sangat berjasa dalam penyelesaian skripsi ini.
- ♣ **Adik-adik angkatanku '04, '05, '06, '07**, lanjutkan perjuangan kalian di kampus TP tercinta...
- ♣ Belahan hati yang telah tega meninggalkanku, **Coco 'n Cucu**, makasih kalian sudah menjadi teman saat sumpegh. Sekarang sudah ada **Jet Li**, kalian gak perlu khawatir aku kesepian lagi.
- ♣ **Penyemangatku, SEMANGAT!!**

MOTTO

**Hakuna Matata: Don't Worry For The Rest of Your Day
(Lion King, 1995)**

**God will make a way where there seems no way
(Anonim, 2007)**

**Lakukan perbuatan yang kamu ingin dilakukan orang lain padamu, tapi lakukan lebih
dulu dengan meyakinkan
(Big Fish, 2005)**

**Around here, however, we don't look backwards for very long.
We keep moving forward, opening up new doors and doing new things, because
we're curious. And curiosity keeps leading us down new paths
(Meet The Robinsons, 2007)**

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Dinar Suksmayu Saputri

NIM : 031710101018

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul : "Spesifitas Katalitik Protease Biduri (*Calotropis gigantea*)" adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada instansi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik bila ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 21 Oktober 2007

Yang menyatakan,

Dinar Suksmayu Saputri

NIM 031710101018

SKRIPSI

SPESIFITAS KATALITIK PROTEASE BIDURI (*Calotropis gigantea*)

Oleh

Dinar Suksmayu Saputri
NIM 031710101018

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Ir. Mukhammad Fauzi, M.Si.

Dosen Pembimbing Anggota I : Ir. Wiwik Siti Windrati, M.P.

Dosen Pembimbing Anggota II : Yuli Witono, S.TP., M.P.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Spesifitas Katalitik Protease Biduri (*Calotropis gigantea*)” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember pada:

Hari : Jum’at

Tanggal : 14 September 2007

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua,

**Ir. Mukhammad Fauzi, M.Si.
NIP 131 865 702**

Anggota I,

**Ir. Wiwik Siti Windrati, M.P.
NIP 132 304 475**

Anggota II,

**Yuli Witono, S.TP., M.P.
NIP 130 809 684**

**Mengesahkan,
Dekan,**

**Ir. Achmad Marzuki Moen’im, M.SIE.
NIP 130 531 986**

RINGKASAN

Spesifitas Katalitik Protease Biduri (*Calotropis gigantea*); Dinar Suksmayu Saputri, 031710101018; 2007: 75 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Enzim protease adalah enzim yang akhir-akhir ini paling banyak dibutuhkan oleh berbagai industri di dunia, seperti industri bir, keju, detergen, dan lain-lain. Pada tahun 2004, pasar enzim di dunia telah dikuasai oleh enzim protease. Telah ditemukan sumber enzim protease baru, yaitu pada tanaman biduri (*Calotropis gigantea*). Dari penemuan tersebut, lalu dilakukan eksplorasi lebih lanjut terhadap karakteristik dari enzim protease biduri. Beberapa diantaranya adalah penentuan derajat hidrolisis terhadap beberapa substrat, pengaruh aktivator dan inhibitor terhadap aktivitas enzim protease biduri dan jenis proteasennya, penentuan pengaruh detergen dan garam (NaCl) sebagai medium reaksi terhadap aktivitas enzim protease biduri, serta pola pemecahan substrat oleh protease biduri (eksoprotease atau endoprotease).

Penelitian ini dilakukan secara deskriptif. Parameter pengamatan meliputi derajat hidrolisis (metode TNBS), kadar protein terlarut (metode lowry), aktivitas enzim (metode spektrofotometer UV), dan fragmentasi enzim terhadap substrat (metode elektroforesis gel SDS-PAGE dan TLC).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa enzim protease biduri merupakan eksopeptidase (memotong ikatan peptida dari sisi luar). Selain itu enzim protease biduri juga dapat dipengaruhi aktivitasnya dengan penambahan beberapa aktivator dan inhibitor. Enzim ini dapat meningkat aktivitasnya dengan penambahan NaCl dan KCl pada berbagai konsentrasi, CaCl₂, MgCl₂, BaCl₂, dan PMSF pada konsentrasi 1mM, tetapi turun aktivitasnya pada 5 mM. Enzim ini juga turun aktivitasnya dengan

penambahan FeCl_3 , EDTA, dan β -merkaptotanol pada berbagai konsentrasi, sedangkan dengan penambahan sistein pada konsentrasi 1 mM dan 5mM, aktivitasnya meningkat. Karena itu enzim protease biduri digolongkan sebagai protease sulfhidril. Derajat hidrolisa pada substrat spesifik termasuk tertinggi didapatkan pada substrat miofibril ikan dan miofibril daging. Oleh karena enzim protease biduri stabil aktivitasnya dalam larutan garam dan detergen, maka enzim ini juga berpotensi sebagai bahan campuran produk detergen.



KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji Syukur bagi Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya serta kemudahan yang diberikan sehingga penulisan karya ilmiah tertulis yang berjudul “Spesifitas Katalitik Protease Biduri (*Calotropis gigantea*)” dapat terselesaikan dengan baik.

Karya Ilmiah Tertulis ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Dalam proses penyelesaian Karya Ilmiah Tertulis ini, penulis banyak mendapat bantuan dan fasilitas dari berbagai pihak, untuk itu dalam kesempatan ini dengan penuh rasa hormat dan rendah hati, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Ir. A. Marzuki M, M.SIE. selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
2. Bapak Dr. Ir. Maryanto, M.Eng. selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
3. Bapak Ir. Djoko Pontjo Hardani selaku Dosen Pembimbing Akademik yang selalu memberikan arahan dan nasehat demi kelancaran kuliah.
4. Bapak Ir. Mukhammad Fauzi, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU) yang telah memberikan nasehat, bimbingan dan arahan yang sangat berguna dalam penulisan Karya Ilmiah Tertulis ini,
5. Ibu Ir. Wiwik Siti Windrati, M.P. selaku Dosen Pembimbing Anggota I (DPA I) yang telah memberikan bimbingan dan koreksi untuk menyempurnakan Karya Ilmiah Tertulis ini,
6. Bapak Yuli Witono, S.TP., M.P. selaku Dosen Pembimbing Anggota II (DPA II)
7. Segenap Dosen Fakultas Teknologi Pertanian yang telah memberikan tambahan ilmu pengetahuan kepada penulis,

8. Para teknisi laboratorium, mbak Sari, mbak Ketut, mbak Wiem, mas Mistar, mbak Neni dan pak Min.
9. Seluruh staff karyawan dan pihak yang turut serta membantu dalam pelaksanaan penelitian hingga dapat terselesaikannya Karya Ilmiah Tertulis ini di Fakultas Teknologi Pertanian.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan Karya Ilmiah Tertulis ini masih jauh dari kesempurnaan, karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan penulisan yang akan datang. Penulis berharap semoga Karya Ilmiah Tertulis ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi para pembaca yang memerlukannya.

Jember, 25 Oktober 2007

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
KATA PENGANTAR	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Biduri	4
2.2 Enzim	5
2.3 Enzim Protease.....	7
2.4 Ekstraksi Enzim Protease	9

2.5 Spesifitas Enzim Protease	11
2.5.1 Jenis-jenis Enzim Protease.....	11
2.5.2 Inhibitor Enzim	12
2.5.3 Aktivator Enzim.....	14
2.5.4 Stabilitas Enzim	15
2.5.5 Derajat Hidrolisa terhadap Substrat	16
2.5.6 Aktivitas Enzim Protease	17
2.5.7 Elektroforesis Gel SDS-PAGE	18
2.5.8 TLC (<i>Thin Layer Chromatography</i>)	19
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	21
3.1 Bahan dan Alat Penelitian	21
3.1.1 Bahan Penelitian	21
3.1.2 Alat Penelitian	21
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	22
3.3 Metode Penelitian	22
3.4 Pelaksanaan Penelitian	22
3.4.1 Ekstraksi Enzim Protease Biduri	22
3.4.2 Karakterisasi Enzim Protease Biduri	23
3.5 Diagram Alir	25
3.6 Parameter Pengamatan	29
3.7 Prosedur Analisis	29
3.7.1 Pengujian Aktivitas Protease	29
3.7.2 Penentuan Total Protein	31
3.7.3 Pengujian Derajat Hidrolisis Enzim Protease dengan Metode Trinitro Benzen Sulfonat (TNBS)	31
3.7.4 Penentuan Fragmentasi Substrat yang Dihidrolisa oleh Enzim Protease Biduri	32

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1 Aktivator – Inhibitor dan Jenis Protease Biduri	35
4.2 Stabilitas Protease Biduri dalam Larutan Garam (NaCl) dan Detergen	38
4.3 Derajat Hidrolisa Protease Getah Biduri terhadap Substrat Substrat Spesifik	40
4.4 Fragmentasi Protease Getah Biduri dalam Menghidrolisa Substrat	42
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	45
5.1 Kesimpulan	45
5.2 Saran	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN	50

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Aplikasi Enzim Protease dalam Industri.....	8
3.1 Nilai α , β dan H total Substrat.....	32



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Skema Aksi Endopeptidase dan Eksopeptidase.....	12
2.2 Rumus bangun PMSF	14
3.1 Diagram Alir Ekstraksi Enzim Protease Biduri	25
3.2 Diagram Alir Pembuatan Miofibril Daging dan Miofibril Ikan.....	26
3.3 Diagram Alir Pembuatan Gelatin Ikan Kuniran	27
3.4 Diagram Alir Pembuatan Isolat Protein Koro Komak	28
4.1 Grafik Pengaruh Aktivator-Inhibitor terhadap Aktivitas Protease Biduri.....	35
4.2 Grafik Stabilitas Protease Biduri dalam Larutan Garam	38
4.3 Grafik Stabilitas Protease Biduri dalam Detergen	39
4.4 Grafik Aktivitas Spesifik Protease Biduri pada Berbagai Substrat Spesifik	41
4.5 Grafik Derajat Hidrolisis Protease Biduri terhadap Substrat Spesifik	41
4.6 Fragmentasi Substrat dengan Elektroforesis Gel dan TLC.....	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data Dan Kurva Standart BSA Pada Penentuan Protein Terlarut Metode Lowry	50
2. Data dan Kurva Standart Glysin Pada Penentuan Derajat Hidrolisis Metode TNBS	51
3. Data dan Kurva Standart Tirosin pada Penentuan Aktivitas per Unit Enzim Protease Biduri	52
4. Data Pengamatan dan Perhitungan Aktivitas Enzim dalam Aktivator dan Inhibitor	53
5. Data Pengamatan dan Perhitungan Stabilitas Protease Biduri dalam Detergen dan NaCl	55
6. Data Pengamatan dan Perhitungan Derajat Hidrolisa Protease Biduri Terhadap Substrat Spesifik	56
a. Derajat Hidrolisa Protease Biduri terhadap Substrat Spesifik	56
b. Aktivitas Protease Biduri Terhadap Substrat Spesifik	57
7. Perhitungan Rf (<i>Retention Factor</i>) Fragmentasi Enzim Terhadap Substrat Metode TLC	58