



**HIDROLISIS PROTEIN IKAN LEMURU (*Sardinella sp.*)
MENGUNAKAN EKSTRAK KASAR PROTEASE
DARI ISI PERUT IKAN *SKIP JACK TUNA*
(*Katsuwonus pelamis*)**

SKRIPSI

Oleh
Agustian Fathor Rizal
NIM 031810301104

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2008**



**HIDROLISIS PROTEIN IKAN LEMURU (*Sardinella sp.*)
MENGUNAKAN EKSTRAK KASAR PROTEASE
DARI ISI PERUT IKAN *SKIPJACK* TUNA
(*Katsuwonus pelamis*)**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Kimia (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh

Agustian Fathor Rizal
NIM 031810301104

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2008**

PERSEMBAHAN

- Bapak dan Ibu yang telah memberikan kasih sayang dan pengorbanannya yang tak terhingga, yang selalu mendukungku untuk selalu menjadi yang terbaik, terima kasih atas doa-doa bapak dan ibu, karena berkat doa itulah, banyak impianku yang menjadi kenyataan. *Mom, I love you so much, no one else likes you. You are the best for me.*
- Untuk mas dan mbakku serta keponakan-keponakanku yang selalu mendukung aku, terima kasih untuk semuanya.
- Untuk semua guru-guru yang telah mengajar aku dari TK sampai Perguruan tinggi, terima kasih atas ilmu yang telah diberikan.
- Untuk partner kerja labku, Andy S dan Ribut A. P serta mas Egie T. J, terima kasih yang tak terhingga untuk semua kerjasama dan bantuannya.
- Untuk temen-temen 2003 Atik R, Bayu L. M, Vivi A, Mey L. W, Dian Y. I, Miftah A. H, Anastasia A. W, Yuzkil F. M, Vina I. P, Meta H. W, Dita J. C, W. D. Ayu, Riska O, Esti H, Laode M. D, Sumardiono, S. Intamaroh, Laras K, Lilik T dan semua temen-temen 2003 yang tidak bisa aku sebutin satu-persatu terima kasih atas semua kebersamaan, kebaikan dan keceriaan kalian selama ini. *You are the best friends for me.*
- Untuk mas Naqib, terima kasih atas bantuannya selama berada di lab.
- Untuk semua teman-teman angkatan 2004 (terutama Rara, Novi dan Irma), 2005, 2006, terima kasih atas semuanya.
- Untuk semua teman-teman kost Toba III/2, khususnya Jepri B. P, Tamam A. F, Bastian N dan Mahmud A. Y, terima kasih atas bantuan dan dukungan dalam penyelesaian skripsi ini.

MOTTO

"Sesungguhnya Allah SWT tidak akan mengubah nasib suatu kaum hingga mereka berusaha mengubahnya sendiri"

(Terjemahan Al-Qur'an surat Ar-Ra'd ayat 11)

"Seseorang dengan tujuan yang jelas akan membuat kemajuan walaupun melewati jalan yang sulit. Seseorang tanpa tujuan, tidak akan membuat kemajuan walaupun ia berada di jalan yang mulus"

(Thomas Carlyle)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Agustian Fathor Rizal

NIM : 031810301104

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul: *Hidrolisis Protein Ikan Lemuru (Sardinella Sp.) Menggunakan Ekstrak Kasar Protease dari Isi Perut Ikan Skipjack Tuna (Katsuwonus pelamis)* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab 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 jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 27 Juni 2008

Yang menyatakan,

Agustian Fathor Rizal
NIM 031810301104

SKRIPSI

**HIDROLISIS PROTEIN IKAN LEMURU (*Sardinella sp.*)
MENGUNAKAN EKSTRAK KASAR PROTEASE
DARI ISI PERUT IKAN *SKIPJACK* TUNA
(*Katsuwonus pelamis*)**

Oleh

Agustian Fathor Rizal
NIM 031810301104

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc, Ph.D
Dosen Pembimbing Anggota : Agung Budi Santoso, S.Si, M.Si

PENGESAHAN

Skripsi berjudul *Hidrolisis Protein Ikan Lemuru (Sardinella sp.) Menggunakan Ekstrak Kasar Protease dari Isi Perut Ikan Skipjack Tuna (Katsuwonus pelamis)* telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember Pada:

Hari :
Tanggal :
Tempat : Jurusan Kimia FMIPA Universitas Jember.

Tim Penguji

Ketua
(Dosen Pembimbing Utama)

Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc, Ph.D
NIP 131 592 358

Anggota I

A.A. Istri Ratnadewi, S.Si, M.Si
NIP 132 162 523

Sekretaris
(Dosen Pembimbing Anggota)

Agung Budi Santoso, S.Si, M.Si
NIP 132 207 812

Anggota II

drh. Wuryanti Handayani, M.Si
NIP 131 459 744

Mengesahkan
Dekan,

Prof. Drs. Kusno, D.E.A, Ph.D
NIP 131592357

RINGKASAN

Hidrolisis Protein Ikan Lemuru (*Sardinella Sp.*) Menggunakan Ekstrak Kasar Protease dari Isi Perut Ikan *Skipjack* Tuna (*Katsuwonus Pelamis*); Agustian Fathor Rizal, 031810301104; 2008: 59 halaman; Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Ikan lemuru merupakan produk perikanan terbesar di Jawa Timur dengan jumlah 153.985 ton (tahun 1998) yang terus meningkat setiap tahunnya. Dilain pihak, harga jual ikan lemuru semakin menurun. Pengolahan ikan secara enzimatik merupakan salah satu cara untuk meningkatkan nilai ekonomis dari ikan lemuru, yaitu dimanfaatkan sebagai hidrolisat protein ikan (HPI).

Isi perut ikan *skipjack* tuna merupakan sumber protease yang mudah dan murah untuk digunakan dalam industri HPI. Isi perut ikan tuna sangat potensial digunakan sebagai sumber protease dalam industri HPI, karena dalam perut ikan terdapat organ pencernaan tempat protein dihidrolisis yang mengandung banyak protease. Selain itu, isi perut ikan *skipjack* tuna merupakan limbah dari industri pengalengan ikan yang memiliki nilai ekonomis yang rendah.

Tahapan dalam penelitian ini meliputi isolasi protease dari ikan *skip jack* tuna, penentuan kadar protein ekstrak kasar protease, penentuan aktivitas total protease pada pH dan suhu optimum, hidrolisis ikan lemuru, penentuan derajat hidrolisis (%DH) dan elektroforesis HPI lemuru.

Protease dalam penelitian ini diperoleh dari isi perut ikan *skipjack* tuna pada bagian usus dan lambung. Protease dapat diperoleh melalui proses penghancuran jaringan sampel dengan blender dan proses pemisahan dengan sentrifuge.

Penentuan kadar protein dari ekstrak kasar protease diperlukan untuk mengetahui aktivitas spesifik dari ekstrak kasar protease. Kadar protein ekstrak kasar protease dapat diketahui dengan menentukan N-nya menggunakan metode Kjeldahl.

Kadar protein dalam ekstrak kasar protease dari isi perut ikan *skipjack* tuna sebesar 5.5 mg/mL.

Uji optimasi pH menggunakan variasi pH 1 hingga 12 pada suhu 50°C. Hasil optimasi pH didapatkan aktivitas spesifik optimum ekstrak kasar protease pada pH 2 yaitu sebesar 30,5 unit/mg dan pada pH 8 sebesar 24,1 unit/mg. Suhu optimum pada pH 2 diperoleh pada suhu 40°C dengan aktivitas spesifik sebesar 5,495 unit/mg. Sedangkan pada pH 8 juga diperoleh pada suhu 40°C dengan aktivitas spesifik sebesar 10,430 unit/mg.

Derajat Hidrolisis (%DH) merupakan persentase yang menyatakan tingkat pemotongan peptida dalam hidrolisis protein, baik oleh asam, basa ataupun enzim protease. DH protein ikan lemuru yang diinkubasi pada pH 2 dan pH 8 dengan suhu 40°C dengan variasi waktu inkubasi 5, 30, 60, 120 dan 180 menit didapatkan nilai %DH yang meningkat seiring dengan bertambahnya waktu inkubasi. Derajat hidrolisis pada pH 2 terjadi peningkatan secara perlahan dan pada pH 8 terjadi peningkatan secara drastis.

Dari elektroforegram hasil hidrolisis pada pH 2 dan pH 8 didapatkan perbedaan pita-pita protein pada masing-masing sampel dengan variasi waktu inkubasi. Hal ini mengindikasikan terjadinya pemotongan protein ikan lemuru. Namun, hasil SDS-PAGE ini belum bisa menggambarkan profil peptida yang sesuai dengan nilai %DH yang dilakukan berdasarkan metode formol.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT, yang telah melimpahkan nikmat, rahmat, taufiq dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul *Hidrolisis Protein Ikan Lemuru (Sardinella Sp.) Menggunakan Ekstrak Kasar Protease dari Isi Perut Ikan Skipjack Tuna (Katsuwonus pelamis)*. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada jurusan kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Prof. Drs. Kusno, D.E.A, Ph.D., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
2. Drs. Siswoyo, M.Si, Ph.D., selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
3. Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc, Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Utama, Agung Budi Santoso, S.Si, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota, A. A. Istri Ratnadewi, S.Si, M.Si., selaku Dosen Penguji I dan drh. Wuryanti Handayani, M.Si., selaku Dosen Penguji II, yang telah memberikan semangat, bimbingan, kritik, koreksi dan rekomendasi demi terselesainya penyusunan skripsi ini;
4. Suwardiyanto, S.Si, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan arahan selama kuliah;
5. Seluruh Dosen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam yang telah memberikan ilmunya selama ini;
6. Budi Hartono dan Sri Hartatik, selaku staf akademik dan staf keuangan jurusan kimia;
7. Setiadi Darma Putra, S.E., dan Dulkolim, selaku teknisi laboratorium Organik, laboratorium Biokimia dan laboratorium Instrumentasi;
8. Seluruh staf dan teknisi jurusan kimia.

Penulis menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis khususnya dan para pembaca umumnya.

Jember, Juni 2008

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Ikan Skipjack Tuna (<i>Katsuwonus pelamis</i>)	6
2.2 Ikan lemuru (<i>Sardinella sp.</i>)	7
2.3 Protein	9
2.3.1 Asam Amino	11
2.3.2 Karakteristik Protein Ikan	12
2.3.3 Hidrolisat Protein Ikan (HPI).....	14

2.3.4 Hidrolisis Protein	15
a. Hidrolisis Asam/Basa.....	15
b. Hidrolisis Enzimatis.....	16
2.4 Enzim	17
2.4.1 Mekanisme Katalisis Enzim	17
2.4.2 Aktivitas Enzim	18
2.5 Enzim Proteolitik (Protease).....	19
2.5.1 Protease serin	20
2.5.2 Protease Sulfhidril (Protease Thiol, Protease Sistein)	20
2.5.3 Protease Logam (Metalloprotease)	20
2.5.4 Protease Asam (Aspartil Protease, Karboksil Protease)	21
a. Pepsin	21
b. Tripsin.....	23
c. Kimotripsin	24
2.6 Derajat Hidrolisis.....	26
2.7 Elektroforesis.....	26

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan	28
3.2 Sampel Penelitian.....	28
3.3 Alat dan Bahan.....	28
3.4 Rancangan Penelitian	29
3.5 Prosedur Penelitian	
3.5.1 Isolasi Protease dari Ikan <i>Skipjack</i> Tuna (<i>Katsuwonus Pelamis</i>)	30
3.5.2 Penentuan Kadar Protein Ekstrak Kasar Protease	30
3.5.3 Penentuan Aktivitas Total Protease	30
3.5.4 Hidrolisis Ikan Lemuru	31
3.5.5 Penentuan Derajat Hidrolisis (%DH).....	32

a. Penentuan Ikatan Peptida Terhidrolisis, h	32
b. Penentuan Ikatan Peptida Total Protein, h_{tot}	32
3.5.6 Elektroforesis HPI Lemuru	33
3.6 Metode Analisis Data	34

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4. 1. Ekstrak Kasar Protease dari Isi Perut Ikan	
<i>Skipjack</i> Tuna.....	35
4.2 Kadar Protein Ekstrak Kasar Protease	37
4.3 Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Protease pada Variasi pH	38
4.4 Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Protease pada Variasi Suhu	41
4.5 Hidrolisis Protein Ikan Lemuru Menggunakan Ekstrak Kasar	
Protease	43
4.6 Derajat Hidrolisis HPI Lemuru.....	45
4.6.1 Derajat Hidrolisis HPI Lemuru, Hidrolisis Pada pH 2, 40°C	46
4.6.2 Derajat Hidrolisis HPI Lemuru, Hidrolisis Pada pH 8, 40°C	47
4.7 Elektrofogram Hasil Hidrolisis Protein Ikan Lemuru oleh	
Ekstrak Kasar Protease Ikan <i>Skipjack</i> Tuna	49

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan	54
5.2 Saran	54

DAFTAR PUSTAKA	55
Lampiran	60

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1. Komposisi Kimia Lemuru tiap 100 gram	9
2.2. Titik Pemotongan Peptida oleh Beberapa Protease	22
4.1. Nilai Rata-rata h dan %DH Protein Ikan Lemuru pada pH 2 dan Suhu 40 ⁰ C.....	46
4.2. Nilai Rata-rata h dan %DH Protein Ikan Lemuru pada pH 8 dan Suhu 40 ⁰ C.....	48

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1. Ikan <i>Skipjack</i> Tuna (<i>Katsuwonus pelamis</i>)	6
2.2. Ikan Lemuru (<i>Sardinella sp.</i>)	8
2.3. Ikatan Peptida dalam Polipeptida.....	10
2.4. Struktur Molekul Asam Amino	11
2.5. Dua Puluh Asam Amino yang Terdapat dalam Protein.....	12
2.6. Reaksi Hidrolisis Protein	15
2.7. Mekanisme Katalisis Pepsin.....	23
2.8. Mekanisme Katalisis Kimotripsin.....	25
4.1. Ikan <i>Skipjack</i> Tuna (<i>Katsuwonus pelamis</i>)	35
4.2. Ekstrak Kasar Protease dari Isi Perut Ikan <i>Skipjack</i> Tuna	37
4.3. Pengaruh pH terhadap Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Protease Ikan <i>Skipjack</i> Tuna (<i>Katsuwonus pelamis</i>).....	39
4.4. Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Protease Ikan <i>Skipjack</i> Tuna (<i>Katsuwonus pelamis</i>) pada pH 2	41
4.5. Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Protease Ikan <i>Skipjack</i> Tuna (<i>Katsuwonus pelamis</i>) pada pH 8	43
4.6. Hidrolisat Protein Ikan Lemuru Hasil Hidrolisis dengan Menggunakan Ekstrak Kasar Protease dari <i>Skipjack</i> Tuna pada pH 2 dan Suhu 40 ⁰ C.....	44
4.7. Hidrolisat Protein Ikan Lemuru Hasil Hidrolisis dengan Menggunakan Ekstrak Kasar Protease dari <i>Skipjack</i> Tuna pada pH 8 dan Suhu 40 ⁰ C.....	44
4.8. Reaksi Titrasi Formol	46
4.9. Derajat Hidrolisis Lemuru pada pH 2 dan Suhu 40 ⁰ C	47
4.10. Derajat Hidrolisis Lemuru pada pH 8 dan Suhu 40 ⁰ C	48
4.11. Elektroforegram Sampel Hasil Hidrolisis Asam (pH 2) dan Kontrol.....	50
4.12. Elektroforegram Sampel Hasil Hidrolisis Basa (pH 8) dan Kontrol	51

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Analisis Kadar Protein Ekstrak Kasar Protease Protease.....	60
B. Pengukuran Absorbansi Tirosin dan Kurva Standarnya	61
C. Data Pengukuran, Perhitungan Optimasi pH dan Temperatur Ekstrak Kasar Protease <i>Skipjack</i> Tuna	62
D. Analisis Kadar Protein Lemuru.....	67
E. Pengukuran dan Perhitungan Derajat Hidrolisis (%DH).....	69
F. Preparasi Elektroforesis	77