



**PURIFIKASI ENZIM PROTEASE  
DARI TANAMAN BIDURI (*Calotropis gigantea*)**

**KARYA ILMIAH TERTULIS  
(SKRIPSI)**

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

Oleh :  
**M. Ibnul Mundzirin**  
**001710101135**

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

## 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)
  
- Sesungguhnya Allah tidaklah akan merubah apa yang ada pada suatu kaum, sebelum mereka merubah apa yang ada pada diri mereka.  
(Q.S. Ar Ra'd :11)
  
- Dan Allah SWT mengeluarkan kamu dari perut ibumu dalam keadaan belum mengetahui sesuatupun, dan Dia memberi kamu pendengaran, penglihatan dan hati agar kamu bersyukur.  
(Q.S. An Nahl :78)
  
- Dan seandainya pohon-pohon di bumi menjadi pena dan laut (menjadi tinta), ditambahkan kepadanya tujuh laut (lagi) sesudah keringnya. Niscaya tidak akan habis-habisnya (dituliskan) kalimat Allah (ilmu-Nya dan hikmat-Nya). Sesungguhnya Allah maha perkasa lagi maha bijaksana.  
(Q.S. Lukman :27)
  
- Berpikir satu jam lebih baik daripada beribadah satu tahun.  
(HR. Abu Hurairah)
  
- Kegagalan biasanya akan menghadang seseorang yang hampir berhasil meraih keuntungan. Oleh karena itu teruslah bertahan betapapun kesulitan akan dialami.  
(Aristoteles)

# PERSEMBAHAN

Karya ilmiah ini kupersembahkan untuk:

- Allah SWT, atas limpahan rahmat serta hidayahnya.
- Nabi Muhammad SAW, atas penunjuk jalan yang lurus (Islam) dan suri tauladan hidup yang baik bagiku dan seluruh umat islam di dunia.
- Abah Thohir dan Mama Siti Hannah tercinta yang selalu mencurahkan kasih sayang yang tiada batas, membimbing dan mendidikku, serta senantiasa mendo'akan dalam setiap langkahku untuk meraih cita-cita "Aku akan berusaha menjadi yang terbaik dan selalu menyenangkan hati kalian"
- Kakak-kakakku tersayang, Mbak Izah dan Mas Basmal, Cak Hasib dan Mbak Retno, Mbak Ika, Mas Rudi dan Mbak Yuyun, Cak Yim, Mbak Zun. Terima kasih atas kasih sayang yang diberikan dan dorongan motovasinya. Aku tidak akan melupakan kalian dan akan berusaha menjadi kebanggaan kalian.
- Adik-adikku sayang, Siya, Ina dan Imaroh, kalian adalah segalanya bagiku.
- Keponakan-keponakanku yang sangat kusayangi, Didin, Ami, Naurah, Sauqi.
- Dosen pembimbingku yang kuhormati, terima kasih atas bimbingannya, nasehat dan bantuan yang telah diberikan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi.
- Almamater yang kucintai dan kubanggakan.

## Special Thank's to:

- ♣ Kelurga di Balung Kab. Jember: Cak Takil dan Mbak Titik Serta adik Nuha.
- ♣ Pipin, Marzuki, Iksan, Wiwid, Faisal, Yudo, Lukman. Kalian adalah Sahabat setiaku selama kuliah di Jember. Mari bersama mengejar Matahari.
- ♣ Team biduri: Heri (Suwun tumpangan'e), Zawawi, sofi dan Nur Anisah.
- ♣ Teman penelitianku di Lab. Dalmut yang telah dulu meninggalkanku: Nani, Nikmah, Yuli, Pipit, Elya-Yani (team Anti oksidan), Ika-Ami (team Seasoning), Safita, Inggrit, Toko-Ida (team Soygurt) Thanks atas bantuan kalian semua.
- ♣ Adik-adik penelitianku di Lab. Dalmut: Sinta-fitri, Vivi, Ade, Uci, Anis, Sari, Baguskoro, Doni, Bayu. Semoga cepat selesai.
- ♣ Subhan dan Reni (Pasangan lengket di TP).
- ♣ Momon, Tina-Lusi (bakul kaset), Desi (Tahan Emosinya), Wardiyanti (dumegridu).
- ♣ Anisah Sholeh (Suwun teh angetnya)
- ♣ Apung (Suwun bisa nonton Sepak Bola dirumahmu)
- ♣ Yudi, thank's ngeprint'e yo. Jangan putus asa kejar terus gadis Mayang mu Yud.
- ♣ Temen-temen kos Riau (Hafid, Doli, Nedi, Bang Iwan, Kluwer, mas Vendra', mas agam, Pras, mas Firman)
- ♣ Eri, Tiax, fiece. Yang rajin Kuliahnya, biar cepet Lulus.

*Dosen Pembimbing:*

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

*Ir. Achmad Subagio, M.Agr., Ph.D. (DPA I)*

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

Diterima Oleh :

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER**  
SEBAGAI KARYA ILMIAH TERTULIS (SKRIPSI)

---

---

**Dipertahankan pada:**

Hari, Tanggal : Sabtu, 8 Januari 2005  
Jam : 13.00 WIB  
Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian  
Universitas Jember

**Tim Penguji:**

**Ketua**

**Yuli Witono, S.TP., MP.  
NIP. 132 206 028**

**Anggota I**

**Anggota II**

**Ir. Achmad Subagio, M.Agr., Ph.D.  
NIP. 131 975 306**

**Ir. Hj. Siti Hartanti, MS.  
NIP. 130 350 763**

**Mengesahkan  
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian  
Universitas jember**

**Ir. Hj. Siti Hartanti, MS.  
NIP. 130 350 763**

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya, sehingga penulisan Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi) dengan judul **“Purifikasi Enzim Protease Dari Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea*)”** dapat terselesaikan dengan baik.

Penulisan karya ilmiah ini dimaksudkan untuk memenuhi persyaratan akademik dalam rangka menyelesaikan program kesarjanaan (strata satu) pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Dalam proses penyelesaian karya tulis ini penulis banyak mendapat bantuan dan fasilitas dari berbagai pihak. Oleh karena itu dalam kesempatan ini dengan penuh rasa hormat penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ir. Hj. Siti Hartanti, MS., selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
2. Ir.Susijahadi, MS., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
3. Ir. Wiwik Siti Windrati, MP., selaku Dosen Wali yang telah memberikan dorongan dan bimbingan kepada penulis selama kuliah dan penelitian.
4. Yuli Witono, S.TP., MP., selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU) yang telah bersedia membimbing dalam penyelesaian karya tulis ini.
5. Ir. Achmad Subagio, M. Agr., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Anggota (DPA) yang telah memberikan masukan dan saran demi kesempurnaan karya tulis ini.
6. Segenap Dosen Fakultas Teknologi Pertanian yang telah memberikan tambahan ilmu pengetahuan kepada penulis.
7. Segenap Teknisi laboratorium di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian , Mas Tazor, Mas Dian, Mas Mistar, Mbak Sari, Mbak Ketut, Mbak Wim, Mbak Widi yang telah banyak membantu dan mendampingi penulis selama penelitian.
8. Segenap Tim Biduri 2004 yang telah bekerja keras dalam penelitian ini.

9. Segenap staf dan karyawan di Fakultas Teknologi Pertanian yang telah banyak membantu penulis selama studi.
10. Segenap pihak yang turut serta membantu dalam pelaksanaan penelitian hingga dapat terselesaikannya penulisan ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan naskah ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan tulisan ini. Semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan masyarakat pada umumnya.

Jember, Januari 2005

Penulis



## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>MOTTO</b> .....	ii
<b>PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>DOSEN PEMBIMBING</b> .....	v
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vi
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ix
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xv
<b>RINGKASAN</b> .....	xvi
<b>I. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Biduri .....	4
2.2 Enzim Protease .....	5
2.3 Sumber-sumber Enzim Protease .....	7
2.4 Manfaat Enzim Protease .....	7
2.5 Ekstraksi Enzim Protease .....	8
2.6 Ekstraksi Enzim Protease Tanaman Biduri .....	10
2.7 Purifikasi Enzim Protease .....	10
2.7.1 Purifikasi dengan Gel Filtrasi .....	10
2.7.2 Purifikasi dengan Penukar Ion .....	12
2.8 Elektroforesis .....	14
2.9 Aktivitas Enzim Protease .....	15

### III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat Penelitian .....	17
3.2.1 Bahan Penelitian.....	17
3.2.2 Alat Penelitian.....	17
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	17
3.3 Rancangan Penelitian .....	17
3.4 Pelaksanaan Penelitian .....	18
3.4.1 Ekstraksi Enzim Protease Biduri.....	18
3.4.2 Purifikasi Enzim Protease Biduri .....	19
a. Purifikasi Enzim Protease Biduri dengan Kromatografi Gel Filtrasi Sephadex G-25 .....	19
b. Purifikasi Enzim Protease Biduri dengan Kromatografi Gel Filtrasi Sephadex G-25 Yang Dilanjutkan Dengan Gel Filtrasi Sephadex G-100.....	19
c. Purifikasi Enzim Protease dengan Kromatografi Gel Filtrasi Sephadex G-25 yang Dilanjutkan dengan Kromatografi Penukar Ion Negatif DEAE Cellulose.....	20
d. Purifikasi Enzim Protease dengan Kromatografi Gel Filtrasi Sephadex G-25 yang Dilanjutkan dengan Kromatografi Penukar Ion Positif Carboxymethyl Sephadex C-50 .....	20
3.5 Parameter Pengamatan .....	21
3.6 Prosedur Pengamatan Parameter.....	27
3.6.1 Pengamatan Kadar Protein Ekstrak Enzim Protease .....	27
3.6.2 Pengujian Aktivitas Protease.....	27
3.6.3 Elektroforesis .....	28

### IV. PEMBAHASAN

4.1 Purifikasi Enzim Protease Biduri.....	30
4.1.1 Purifikasi Enzim Protease Biduri dengan Kromatografi Gel Filtrasi Sephadex G-25 .....	30
4.1.2 Purifikasi Enzim Protease Biduri dengan Kromatografi Gel Filtrasi Sephadex G-25 yang Dilanjutkan dengan Gel Filtrasi Sephadex G-100.....	33
4.1.3 Purifikasi Enzim Protease Biduri dengan Kromatografi Gel Filtrasi Sephadex G-25 yang Dilanjutkan dengan Kromatografi	

Penukar Ion Negatif DEAE Cellulose .....	35
4.1.4 Purifikasi Enzim Protease Biduri dengan Kromatografi Gel Filtrasi Sephadex G-25 yang Dilanjutkan dengan Kromatografi Penukar Ion Positif CM Sephadex C-50	38
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1 Kesimpulan .....	42
5.2 Saran .....	42
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	43
<b>LAMPIRAN</b> .....	46

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Sifat Jendalan Sephadex .....	11
2 .Nilai Berat Molekul dan Mobilitas Relatif (Rf) dari Kit Penciri Protein BM Rendah.....	40
3. Hasil Perhitungan Tiap Tahap Purifikasi.....	41

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Tanaman Biduri ( <i>C. gigantea</i> ).....	4
2. Reaksi Katalisa Protease dalam Menghidrolisa Ikatan Peptida Protein.....	6
3. Prinsip-prinsip Kerja Gel Filtrasi dalam Purifikasi Enzim .....	12
4. Pengikatan Protein yang Bermuatan Negatif oleh DEAE cellulose yang Bermuatan Positif .....	13
5. Diagram Alir Ekstraksi Enzim Protease Biduri.....	22
6. Diagram Alir Purifikasi Enzim Protease dengan Kromatografi Gel Filtrasi Sephadex G-25.....	23
7. Diagram Alir Purifikasi Enzim Protease dengan Kromatografi Gel Filtrasi Sephadex G-100.....	24
8. Diagram Alir Purifikasi Enzim Protease dengan Kromatografi Gel Penukar Ion Negatif DEAE Cellulose .....	25
9. Diagram Alir Purifikasi Enzim protease dengan Kromatografi Gel penukar Ion Positif Carboxymethyl Sephadex C-50.....	26
10. Profil Elusi Enzim Protease Biduri Pada Purifikasi dengan Kromatografi Gel Filtrasi Sephadex G-25 .....	30
11. SDS-PAGE Enzim Protease Hasil Purifikasi dengan Gel Filtrasi Sephadex G-25 .....	32
12. Profil Elusi Enzim Protease Biduri Pada Purifikasi dengan Kromatografi Gel Filtrasi Sephadex G-100 .....	33
13. SDS-PAGE Enzim Protease Hasil Purifikasi dengan Gel Filtrasi Sephadex G-100.....	34
14. Profil Elusi Enzim Protease Biduri Pada Purifikasi dengan Kromatografi Penukar Ion Negatif DEAE Cellulose .....	35
15. SDS-PAGE Enzim Protease Hasil Purifikasi dengan Gel Filtrasi Sephadex G-25 yang Dilanjutkan dengan Kromatografi Penukar Ion Negatif DEAE Cellulose.....	37
16. Profil Elusi Enzim Protease Biduri Pada Purifikasi dengan Kromatografi Penukar Ion Positif Carboxymethyl Sephadex C-50 .....	38

17. SDS-PAGE Enzim Protease Hasil Purifikasi dengan Gel Filtrasi Sephadex G-25 yang Dilanjutkan dengan Kromatografi Penukar Ion Positif Carboxy Methyl Sephadex C-50.....	39
---	----

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1. Pembuatan Reagensia.....	46
2. Data dan Kurva BSA Standar .....	50
3. Data dan Kurva Tirosin Standar .....	51
4. Data dan Kurva Elektroforesis Standar .....	52
5. Data Hasil Perhitungan Tiap Fraksi Pada Kolom Gel filtrasi sephadex G-25 .....	53
6. Data Hasil Perhitungan Tiap Fraksi Pada Kolom Gel Filtrasi Sephadex G-100 .....	54
7. Data Hasil Perhitungan Tiap Fraksi Pada Kolom Penukar Ion Negatif DEAE Cellulose .....	55
8. Data Hasil perhitungan Tiap Fraksi Pada Kolom Penukar Ion Positif Carboxymethyl Sephadex C-50 .....	56
9. Data Hasil Perhitungan Enzim Kering Tiap Tahapan Purifikasi .....	58

**M. Ibnu Mundzirin** (001710101135) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember, **“Purifikasi Enzim Protease Dari Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea*)“**, di bimbing oleh **Yuli Witono, S.TP., MP.** dan **Ir. Achmad Subagio, M.Agr., Ph.D.**

## **RINGKASAN**

Protease merupakan enzim penghidrolisa 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, penjernih bir, pengempuk daging, pembuatan roti dan sebagainya. Ketersediaan enzim protease belum mencukupi kebutuhan sementara pemakaian protease bagi industri pangan cenderung meningkat. Oleh karena itu perlu dicari sumber protease baru, salah satunya adalah biduri (*Calotropis gigantea*) yang merupakan tanaman lahan kering yang memiliki aktivitas proteolitik pada getahnya.

Enzim hasil ekstraksi protease dari tanaman biduri merupakan isolat dengan kadar yang masih rendah, maka perlu dilakukan purifikasi enzim protease biduri. Purifikasi adalah proses pemurnian atau pemisahan enzim dari komponen-komponen selain enzim. Purifikasi perlu dilakukan untuk karakterisasi protease biduri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui metode purifikasi yang sesuai untuk enzim protease dari tanaman biduri, sehingga didapatkan enzim protease yang relatif murni dengan aktivitas spesifik yang tinggi. Parameter yang diamati adalah total protein, kadar protein, total aktivitas dan aktivitas spesifik enzim protease biduri. Serta dilakukan elektroforesis untuk mengetahui kemurnian enzim protease biduri dan berat molekulnya. Hasil pengamatan dianalisa secara deskriptif untuk mengetahui metode yang sesuai untuk purifikasi enzim protease biduri.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode yang sesuai untuk purifikasi enzim protease dari tanaman biduri adalah kromatografi dengan gel filtrasi sephadex G-25, yang dilanjutkan dengan kromatografi penukar ion positif carboxymethyl sephadex C-50. Dengan total protein 1,355 mg, kadar protein 1,641%, total aktivitas 0,081 unit, aktivitas spesifik 0,059 unit/mg. Berat molekul enzim protease biduri adalah sebesar 25,18 kD.

**Kata Kunci:** Protease, Ekstraksi, Purifikasi, Aktivitas