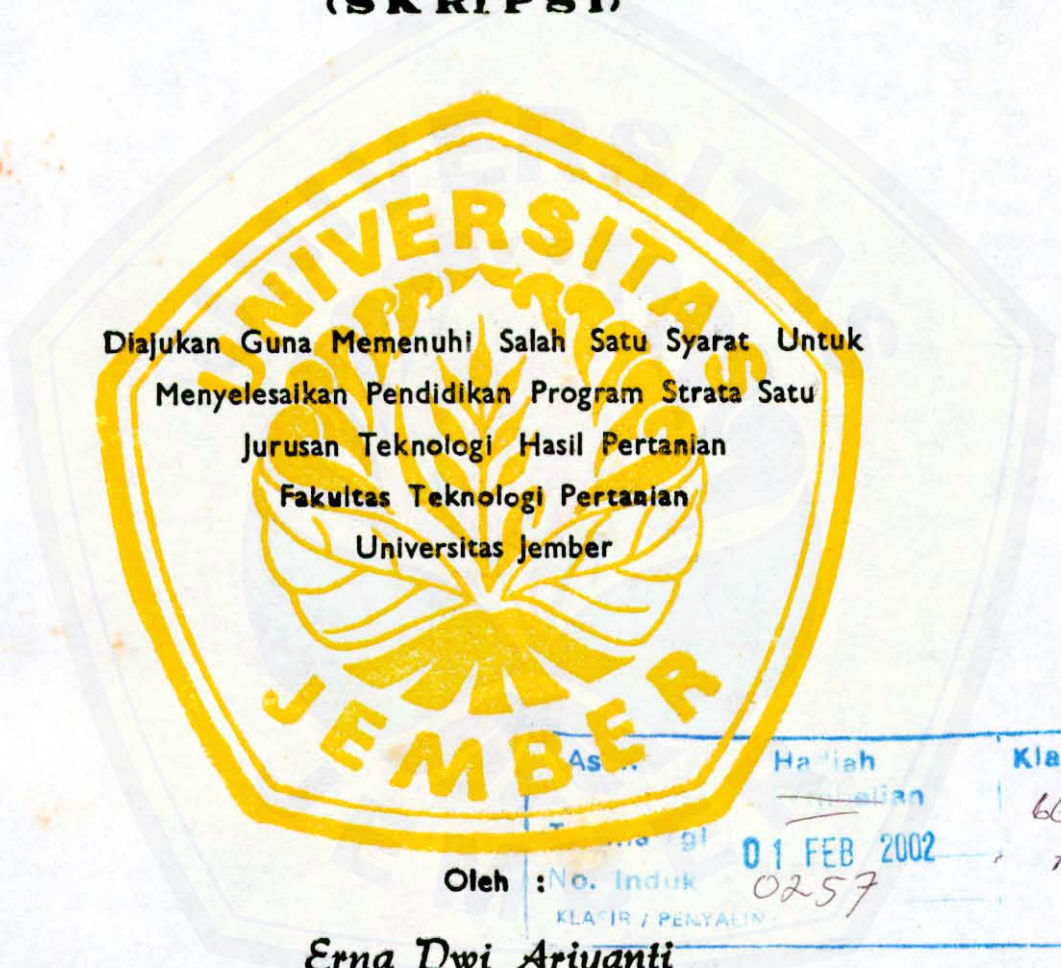




**PEMANFAATAN ENZIM PROTEASE BIDURI  
(*Calotropis gigantea*) UNTUK PENGEMPUKAN DAGING**

**KARYA ILMIAH TERTULIS  
(SKRIPSI)**

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



Oleh : Erna Dwi Ariyanti

NIM. 971710101034

Aspek	Hal-hal	Klass
	01 FEB 2002	664.92
	0257	ARI
		P

C.18

**FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER**

JANUARI, 2002

Diterima Oleh :

**FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER**

Sebagai Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi)

---

Dipertahankan pada :

Hari : Rabu

Tanggal : 16 Januari 2002

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian  
Universitas Jember

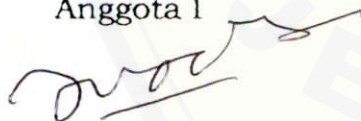
Tim Penguji

Ketua



Ir. Wiwik Siti Windrati, MP.  
NIP. 130 787 732

Anggota I



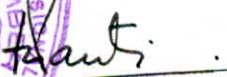
Dr. Ir. Achmad Subagio, M. Agr.  
NIP. 131 975 306

Anggota II



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

Mengesahkan  
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian



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

MOTTO

*Aku tinggalkan untuk kalian dua perkara, Kalian tidak akan sesat selama berpegang teguh dengannya, yaitu Kitabulloh dan Sunnah Rosululloh SAW.  
(HR. Muslim)*

*Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan  
(QS. Alam Nasyrah : 6)*

*... sesungguhnya orang yang paling mulia diantara kamu disisi Allah ialah orang yang paling bertaqwa diantara kamu...  
(QS. Al Hujurat : 13)*

*... jadikanlah sabar dan sholat sebagai penolongmu, sesungguhnya Allah beserta orang-orang yang sabar...  
(QS. Al Baqarah : 153)*

*"Lihatlah dari dunia ini apa yang baik untuk jiwamu, lalu ambillah. Meskipun orang di sekitarmu menganggapnya jelek. Dan lihatlah dari dunia ini apa yang buruk bagi jiwamu, lalu tinggalkanlah. Kendatipun orang di sekitarmu menganggapnya baik"  
(Salamah bin Dinar)*

*"Segala sesuatu yang kita tanam, pastilah akan menuainya  
Segala sesuatu yang kita perbuat, pastilah ada imbasnya/balasannya"  
(my self)*

## PERSEMBAHAN

*Alhamdulillah, puji syukur kehadiran-Mu Ya Allah atas terselesaikannya Karya Ilmiah Tertulis (skripsi) ini, yang kupersembahkan untuk :*

- ♥ *Islam, the way of my life, pemberi nafas kehidupanku dalam rangka memperoleh keridhoan-Mu.*
- ♥ *Ibunda tercinta "Kusmijati" atas curahan kasih sayang, perhatian dan do'a yang tiada pernah henti "Engkau Pelita Hatiku".*
- ♥ *Ayahanda tersayang "Suparlan" atas bimbingan, arahan dan nasehat agar menjadi yang terbaik dan berguna "Engkau Motivasi dalam Langkahku".*
- ♥ *Kakakku terkasih "Ririn Eko Andriani, SE" atas pengalaman dan pengamalan hidup, tempat berbagi suka dan dukaku "Engkau Shobat dan Saudaraku".*
- ♥ *"Dikau" pelurus tulangku yang bengkok.*
- ♥ *Almamaterku, tempat berproses diri dan pembelajaran dalam meraih masa depan.*
- ♥ *Bangsa dan Negaraku, dinama nantinya aku berkarya dan mengaplikasikan ilmuku.*

**TAK LUPA UCAPAN TERIMA KASIH PENULIS HATURKAN  
UNTUK :**

- **IBU SUKMAWATI, ST DAN IBU MARYANTO** atas kajian jum'at siangnya, semoga bekal yang beliau berikan menjadi ilmu yang bermanfaat (Amin).
- **BAPAK YULI WITONO, STP. MP** beserta ibu atas kebaikan dan ketulusannya ('tuk dik Irdan "Berfikir yang logis dan jangan bersikap yang anarkis dong...!").
- Ustadah-ustadahku "**UHTI FATIMAH, UHTI NABILA, UHTI MUFIDA**" dan yang lainnya atas ilmu yang kalian berikan, semoga menjadi bekal dalam kehidupanku di dunia maupun di akherat (Amin).
- **AA' FADHOLI** atas kasih sayang dan perhatiannya, semoga "**DIKAU**" menjadi pelurus tulangku yang bengkok.
- Shobat-shobat terbaikku "**RURI, NURHAYATI DAN IMA**" akhirnya aku bisa menyusul kalian untuk mengantongi Degree from Agriculture Technology Faculty "**STP**".
- Patner penelitianku **NAFI, TRIYANTO, LUCI 'N DANUNYA, MUFLIK 'N UDINNYA** (By the way, if you married, call me please, OK...!)
- Teman-teman terbaikku "**ANTO, ELYA, EVA 'N KELUARGA BESAR CEBOX (2B OK!!!) Q-RUN, SUNDUK, NJEPUK, MEGA, CUS-HENGKI, ZUNUK, SULIS, VITA, NINA**" atas kebersamaan kalian selama ini.
- The big family of TP '97, THP and TEP serta adik-adikku angkatan '98, '99, '00 and '01 must be united.
- Teman-teman di Kosinusteta yang tak dapat kusebut satu per satu (teruskan langkah jihadmu di jalan Alloh SWT).
- The big family of Kalimantan IV/74 "**RIRIS** (teman 'n saudara terbaik, jangan terputus tali silaturahmi ini), **MIMIN, DIANA, QOMAR, MBA' UDAH, MBA' IMAS, ALLIDA, AZIZ, DEWI, IKA, TRI, NUNGIN, NADIA, ZAZA, MBA' HARTINI KRISNA 'N LUTFI** (canda tawa kalian menghibur dukaku) tak terkecuali **OM YANTO AND MBA' WIWIN** (terima kasih atas segalanya)
- Teman-teman KKN kel. 4 Gel. I Pebruari - Maret 2001 Suko Jember, Jelbuk, Jember (**SUGIK, TATIK, EVI, WIWIK, MBA' HERMIN, SUPRI, BAGIO 'N EMON**)
- Warkshop "**KABIRA**" dan "**ECHO**" Rental Crew, atas fasilitas pengetikan skripsi ini.

**Dosen Pembimbing :**

**Ir. Wiwik Siti Windrati, MP.  
(Dosen Pembimbing Utama)**

**Dr. Ir. Achmad Subagio, M. Agr.  
(Dosen Pembimbing Anggota I)**

**Yuli Witono, S.TP. MP.  
(Dosen Pembimbing Anggota II)**

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah rabbil 'alamin, puji syukur kehadiran Alloh SWT yang senantiasa memberikan rahmat, taufik dan hidayah-Nya sehingga penulisan skripsi yang berjudul "**Pemanfaatan Enzim Protease Biduri (*Calotropis gigantea*) untuk Pengempukan Daging**" dapat terselesaikan dengan baik.

Penulisan skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat menyelesaikan pendidikan program Strata Satu (S-1) pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Oleh karena itu dengan terselesaikannya skripsi ini penulis menghaturkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada ibu, bapak, kakak dan saudara yang telah memberikan do'a, motivasi dan kasih sayang. Tak lupa pula penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ibu Ir. Hj. Siti Hartanti, MS., selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
2. Bapak Ir. Susijahadi, MS., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
3. Ibu Ir. Wiwik Siti Windrati, MP., selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah membimbing dan mengarahkan selama penelitian dan penulisan skripsi.
4. Bapak Dr. Ir. Achmad Subagio, M. Agr. dan Bapak Yuli Witono, S.TP. MP., selaku Dosen Pembimbing Anggota I dan II yang telah menyempurnakan penulisan skripsi.
5. Bapak Ir. Setyo Hari, MS. dan Bapak Ir. Muharyo, selaku Dosen Wali yang telah memberikan arahan selama studi.

6. Bapak-bapak dan ibu-ibu dosen yang telah memberikan tambahan ilmu pengetahuan kepada penulis.
7. Segenap karyawan Fakultas Teknologi Pertanian yang telah memberikan pelayanan dengan baik.
8. Due Projek Universitas Jember atas bantuan dana yang diberikan dalam penelitian ini.
9. Teknisi Laboratorium Mba' Sari, Mba' Ketut (yang sabar aza ya...), Mba' Wim, Mas Mistar dan Mba' Widi.
10. Semua pihak yang telah berperan dalam penulisan skripsi ini.

Tiada suatu karya manusia yang sempurna, kecuali kepunyaan Allah SWT. Oleh karena itu segala kritik dan saran atas perbaikan skripsi ini, penulis akan menerimanya dengan senang hati bagi kesempurnaan penulisan karya-karya selanjutnya. Semoga karya ilmiah tertulis ini dapat menambah wawasan dan bermanfaat bagi kemaslahatan hidup manusia. Amin ya robbal 'alamin.

Jember, Januari 2002

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
MOTTO .....	iii
PERSEMBAHAN .....	iv
DOSEN PEMBIMBING .....	vi
KATA PENGANTAR .....	vii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiv
RINGKASAN .....	xv
I. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	2
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA .....	4
2.1 Biduri ( <i>Calotropis gigantea</i> ) .....	4
2.2 Enzim Protease .....	4
2.3 Manfaat Enzim Protease .....	7
2.4 Klasifikasi Enzim Protease .....	7
2.4 Enzim Protease Biduri .....	11
2.6 Daging .....	12
2.6.1 Komposisi Daging .....	13
2.6.2 Struktur Otot Daging .....	15

2.7	Kualitas Daging .....	18
2.8	Keempukan Daging.....	19
2.9	Mekanisme Enzim Pengempuk Daging.....	19
<b>III. METODOLOGI PENELITIAN.....</b>		<b>21</b>
3.1	Tempat dan Waktu Penelitian.....	21
3.2	Bahan dan Alat Penelitian.....	21
3.2.1	Bahan .....	21
3.2.2	Alat .....	21
3.3	Metode Penelitian.....	22
3.3.1	Rancangan Penelitian dan Analisa Data .....	22
3.3.2	Parameter Pengamatan .....	23
3.3.3	Prosedur Kerja.....	23
3.3.4	Prosedur Pengamatan Parameter.....	25
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>		<b>28</b>
4.1	Tekstur.....	28
4.2	Warna .....	30
4.3	Kadar Protein Terlarut.....	32
4.4	Kadar Air .....	34
4.5	Sifat Organoleptik.....	35
4.5.1	Tekstur.....	35
4.5.2	Warna .....	36
4.5.3	Kekuatan Tarikan dengan Gigi.....	37
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>		<b>39</b>
5.1	Kesimpulan.....	39
5.2	Saran .....	39

**DAFTAR PUSTAKA ..... 40**  
**LAMPIRAN-LAMPIRAN ..... 44**



**DAFTAR TABEL**

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Komposisi Kimiawi Relatif Otot Skeletal Mamalia (persen berat daging segar) .....	14



**DAFTAR GAMBAR**

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Reaksi Katalisa Protease dalam Menghidrolisa Ikatan Peptida Protein.....	6
2. Struktur Jaringan Otot Daging .....	17
3. Skema Proses Pengempukan Daging .....	24
4. Grafik Tekstur Daging pada Berbagai Konsentrasi dan Lama Inkubasinya .....	28
5. Grafik Warna (L) Daging pada Berbagai Konsentrasi dan Lama Inkubasinya .....	30
6. Grafik Warna (C) Daging pada Berbagai Konsentrasi dan Lama Inkubasinya .....	31
7. Grafik Warna (H) Daging pada Berbagai Konsentrasi dan Lama Inkubasinya .....	31
8. Grafik Kadar Protein Terlarut Daging pada Berbagai Konsentrasi dan Lama Inkubasinya .....	33
9. Grafik Kadar Air Daging pada Berbagai Konsentrasi dan Lama Inkubasinya .....	34
10. Grafik Organoleptik Tekstur Daging pada Berbagai Konsentrasi dan Lama Inkubasinya .....	36
11. Grafik Organoleptik Warna Daging pada Berbagai Konsentrasi dan Lama Inkubasinya .....	37
12. Grafik Kekuatan Tarikan Daging dengan Gigi pada Berbagai Konsentrasi dan Lama Inkubasinya .....	38
13. Grafik Kurva Standar Analisa Kadar Protein dengan Metode Lowry .....	44
14. Perbedaan Warna Daging Pasca Inkubasi pada Larutan Enzim Protease Biduri ( <i>Calotropis gigantea</i> ) .....	50
15. Perbedaan Warna Larutan Enzim Protease Biduri ( <i>Calotropis gigantea</i> ) Pasca Inkubasi .....	50

**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1. Data Kurva Standar .....	44
2. Data Pengamatan Tekstur.....	45
3. Data Pengamatan Warna L.....	45
4. Data Pengamatan Warna C .....	46
5. Data Pengamatan Warna H .....	46
6. Data Pengamatan Kadar Protein Terlarut.....	47
7. Data Pengamatan Kadar Air .....	47
8. Data Pengamatan Organoleptik Tekstur .....	48
9. Data Pengamatan Organoleptik Warna.....	48
10. Data Pengamatan Kekuatan Tarikan dengan Gigi .....	49
11. Foto-foto Penelitian .....	50

Erna Dwi Ariyanti, NIM 971710101034, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember, "**Pemanfaatan Enzim Protease Biduri (*Calotropis gigantea*) untuk Pengempukan Daging**". Dibimbing oleh **Ir. Wiwik Siti Windrati, MP** selaku Dosen Pembimbing Utama, **Dr. Ir. Achmad Subagio, M. Agr.** dan **Yuli Witono, S.TP. MP**, selaku Dosen Pembimbing Anggota I dan II.

## RINGKASAN

Enzim protease merupakan enzim yang dapat mengkatalis hidrolisa protein dimana kemampuan katalitiknya telah banyak dimanfaatkan untuk kepentingan-kepentingan industri. Salah satu penggunaan enzim protease yang cukup dikenal ialah untuk pengempukan daging. Tingkat keempukan daging merupakan salah satu penentu kualitas daging, selain warna dan aroma. Mengingat kurangnya stok dan kendala produksi enzim dari jaringan tanaman tersebut, maka penelitian-penelitian untuk mencari sumber-sumber enzim asal tanaman terus dilakukan, salah satunya adalah tanaman biduri (*Calotropis gigantea*).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengaplikasikan enzim protease biduri (*Calotropis gigantea*) untuk pengempukan daging dan mengetahui pengaruh konsentrasi enzim dan lama inkubasinya terhadap tingkat keempukan dan sifat-sifat daging. Penelitian menggunakan faktor konsentrasi enzim (0,05%; 0,10% dan 0,15%) dan lama inkubasi (30 menit, 45 menit dan 60 menit). Analisa hasil penelitian menggunakan metode statistik deskriptif dengan cara memasukkan nilai rata-rata pada tabel dan memplotkannya dalam grafik.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa enzim protease biduri (*Calotropis gigantea*) dapat diaplikasikan untuk pengempukan daging, dimana dengan penambahan konsentrasi enzim dan lama inkubasinya memberikan pengaruh terhadap parameter yang diamati, yaitu tekstur daging yang semakin empuk, warna yang semakin coklat keputihan, kadar protein terlarut yang semakin tinggi dan kadar air (water holding capacity) yang semakin menurun. Begitu juga sifat organoleptiknya yang meliputi tekstur, warna dan kekuatan tarikan dengan gigi. Kombinasi perlakuan terbaik pada penelitian ini yaitu konsentrasi enzim 0,15% dengan lama inkubasi 60 menit, dengan parameter tekstur 303,45; warna 74,12; kadar protein 7,75%; dan kadar air 58,14%.



## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Enzim protease merupakan enzim yang dapat mengkatalis hidrolisa protein, dimana kemampuan katalisnya telah banyak dimanfaatkan untuk kepentingan-kepentingan industri. Enzim ini juga memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi di antara enzim-enzim industrial. Bahkan menurut Suhartono, Lestariono dan Tanoyo (1995), penjualan enzim protease tahun 1995 mencapai 60% dari total pemakaian enzim dunia yang bernilai lebih dari 2 milyar dollar AS.

Salah satu penggunaan enzim protease yang cukup dikenal ialah untuk pengempukan daging. Mengingat tingkat keempukan merupakan salah satu faktor penentu kualitas di samping warna dan flavor, maka penggunaan enzim protease sebagai suatu hal yang essensial, apalagi menurut Buckle *et al.* (1987), kebanyakan konsumsi daging di negara-negara berkembang termasuk Indonesia berasal dari ternak kerja yang sudah tua. Pada ternak kerja yang sudah tua mengandung banyak ikatan silang yang akan menurunkan tingkat keempukannya. Enzim protease yang telah digunakan untuk pengempukan daging umumnya berasal dari tanaman terutama papain dari pepaya, bromelin dari nenas dan fisin dari tanaman ficus.

Mengingat kurangnya stok dan kendala produksi enzim dari jaringan tanaman tersebut, maka penelitian-penelitian untuk mencari sumber-sumber enzim asal tanaman terus dilakukan (Suhartono, 1992). Salah satunya adalah tanaman biduri (*Calotropis gigantea*) yang merupakan jenis tumbuhan semak liar daerah tropis termasuk Indonesia yang sampai saat ini belum banyak dimanfaatkan. Hasil penelitian terhadap sejenis biduri



yaitu *Calotropis procera* dapat digunakan sebagai sumber protease (Eskin, 1990). Penelitian terhadap getah tanaman biduri menunjukkan adanya aktifitas enzim protease (Witono, 2000), yang selanjutnya enzim protease hasil ekstraksi dari tanaman biduri ini perlu diaplikasikan untuk proses pengempukan daging sebagaimana enzim protease yang diekstrak dari jaringan tanaman yang lain.

### 1.2 Perumusan Masalah

Penggunaan senyawa pengempuk daging sudah banyak dilakukan seperti halnya pada papain, bromelin dan fisin. Adanya sumber enzim protease lain yang menunjukkan kemampuan dalam pengempukan daging terus dikembangkan. Oleh karena itu penelitian ini ingin mengetahui apakah tanaman biduri (*Calotropis gigantea*) dapat digunakan sebagai sumber enzim protease dalam pengempukan daging dan sejauh mana konsentrasi enzim protease biduri dan lama inkubasinya berpengaruh terhadap tingkat keempukan dan siat-difat daging.

### 1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengaplikasikan enzim protease biduri untuk pengempukan daging.
2. Mempelajari pengaruh konsentrasi ekstrak enzim protease biduri (*Calotropis gigantea*) dan lama inkubasinya terhadap tingkat keempukan dan sifat-sifat daging.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi mengenai :

1. Metode pengempukan daging dengan menggunakan ekstrak enzim protease dari tanaman biduri.
2. Pendayagunaan lebih lanjut tanaman biduri yang selama ini masih di anggap sebagai gulma.





## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Biduri (*Calotropis gigantea*)

Biduri (*Calotropis gigantea*) merupakan tanaman lahan kering dengan ketinggian 0,5 – 3,0 m yang banyak ditemukan pada lahan-lahan kosong dengan periode kering yang lama. Biduri sampai saat ini belum banyak dimanfaatkan, bahkan pada beberapa daerah dianggap sebagai gulma (Stenis, 1992).

Sistematika biduri (*Calotropis gigantea*) dalam khasanah botani menurut Tjitrosoepomo (1994) adalah sebagai berikut :

Devisio	: Spermatophyta
Klas	: Dicotyledoneae
Sub Klas	: Monochlamydae
Ordo	: Euphorbiales
Famili	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Calotropis</i>
Species	: <i>Calotropis gigantea</i>

Tanaman biduri merupakan tanaman bergetah, sedangkan getahnya memungkinkan untuk dimanfaatkan. Dari seluruh tanaman biduri akan mengalir getah pada tempat yang dilukai atau dipotong. Getahnya berwarna putih, kelat tetapi tidak tajam. Beberapa tetes getah biduri dapat mengentalkan susu sapi. Dalam ilmu kedokteran, cairan getah ini mempunyai kegunaan, seperti menstimulir pematangan bisul, untuk menanggalkan gigi geraham, bahkan di beberapa daerah telah digunakan untuk menyembuhkan luka. Getah dari sejenis tanaman biduri yakni *Calotropis procera* telah berhasil digunakan untuk pembuatan keju (Eskin, 1990).

## 2.2 Enzim Protease

Enzim protease dapat diproduksi dari jaringan-jaringan hidup meliputi mikroorganisme, hewan dan tanaman. Enzim-enzim yang diproduksi dari jaringan hewan relatif mahal dan ketersediaanya tergantung pada permintaan hewan-hewan sumber enzim tersebut di pasaran, mengingat enzim diekstrak dari hewan-hewan yang sudah mati. Dalam beberapa hal enzim protease yang diproduksi dari mikroorganisme lebih menguntungkan (Loffler, 1986).

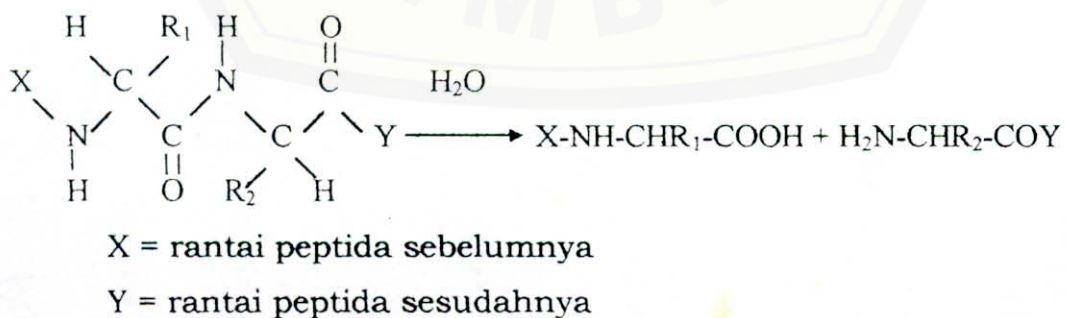
Meskipun mikroba dikenal luas sebagai sumber enzim protease, namun untuk tujuan-tujuan khusus misalnya pengempuk daging, enzim protease dari tanaman masih mempunyai peranan yang sangat besar yang belum sepenuhnya dapat digantikan oleh enzim mikroba. Enzim protease dari tanaman yang paling utama adalah papain dari pepaya, bromelin dari nanas dan fisin dari tanaman ficus. Beberapa tanaman lain juga sudah diketahui sebagai sumber enzim protease, yaitu famili kacang-kacangan (*Arachis hypogaea* L.) memproduksi protease pada bijinya. Labu (*Curcubita pepo*) memproduksi protease pada bagian bunganya. Buah semangka (*Cucurmis melo*) dilaporkan mengandung protease serta jahe (Suhartono, 1992, Thompson, Wolf, and Allem, 1973).

Penelitian-penelitian untuk mencari sumber-sumber enzim asal tanaman terus dilakukan. Chinas and Canales (1986) mengisolasi enzim protease dari daun *chaya* yang mempunyai pH optimal netral. Noda, Koyanagi and Kamiya (1994) mengisolasi enzim protease dari buah melon, aktivitas proteolisisnya sangat tinggi dan mungkin mempunyai potensi baik di bidang pangan, karena protease ini termasuk jenis serin yang berbeda dengan enzim asal tanaman lainnya yang umumnya adalah protease

sulfidril. Abe *et al.* (1997) juga berhasil mengisolasi protease asal tanaman yaitu *oryzasin* yang diekstrak dari biji padi. Witono (2000) mengisolasi enzim protease dari getah biduri (*Calotropis gigantea*).

Ketersediaan enzim protease renin dari anak sapi yang semakin mahal dan terbatas, mendorong para peneliti untuk mencari enzim pengganti renin dari tanaman. *Benincasa cerifera*, *Calotropis procera* merupakan tanaman yang dapat menggantikan fungsi protease renin, walaupun belum dapat menghasilkan keju yang sempurna (Eskin, 1990). Daun *Cyanara cardonculus* juga telah dilaporkan populer digunakan sebagai sumber enzim penggumpal susu. Penggunaan protease dari tanaman ini menghasilkan komposisi yang tidak berbeda, dibandingkan dengan keju yang dihasilkan dari enzim renin komersial (Sousa and Malcata, 1997).

Reaksi katalisa protease secara umum adalah menghidrolisa ikatan peptida protein seperti pada Gambar 1. Namun demikian berbagai jenis enzim protease mempunyai spesifitas hidrolisa yang berbeda-beda. Beberapa enzim protease mempunyai syarat khusus untuk aktivitas proteasenya. Semakin spesifik suatu enzim, semakin sedikit jumlah ikatan peptida yang mampu dihidrolisa (Whitaker, 1994).



Gambar 1. Reaksi katalisa protease dalam menghidrolisa ikatan peptida protein.

### 2.3 Manfaat Enzim Protease

Enzim protease merupakan enzim yang memiliki peranan besar dan mempunyai nilai ekonomi yang tinggi, di antara sejumlah enzim industri saat ini. Penggunaan protease renin dan protease *Mucor* dalam pengolahan keju dan protease dari *Aspergillus oryzae* dalam pembuatan roti, menguasai pasaran enzim protease. Penjualan enzim protease secara total mencapai 40% dari total penjualan enzim (Word, 1983).

Nobuzo (1988) menambahkan bahwa enzim protease mempunyai peran yang penting dalam industri pangan. 60% dari total produksi enzim yang digunakan untuk pengolahan pangan, enzim protease merupakan salah satu enzim terbesar penggunaannya selain amilase, glikoamilase dan glukosidase.

Peranan enzim protease di bidang industri pangan yang telah banyak dikenal antara lain untuk pembuatan roti, pembuatan keju, industri bir dan sebagai pengempuk daging. Pemanfaatan dalam industri roti disebabkan enzim protease dapat mengubah sifat viskoelastis adonan dengan menghidrolisa ikatan peptida pada protein gluten. Enzim protease juga menghidrolisa protein adonan roti yang membebaskan asam-asam amino yang bereaksi dengan gula selama pemanggangan roti sehingga menimbulkan aroma dan warna yang diinginkan (Eskin, 1990; Collar, Mascaros and De Barber, 1992).

### 2.4 Klasifikasi Enzim Protease

Enzim protease pada mulanya digolongkan berdasarkan sumbernya, misalnya dari dunia tumbuh-tumbuhan dikenal getah pepaya penghasil papain dan buah nanas sebagai penghasil bromelin. Bagian hewan yang digunakan sebagai penghasil protease komersial adalah saluran pencernaan (lambung, perut,

usus) yang dikenal dengan bagian abomasum anak sapi penghasil renin. Liver atau hepatopankreas dari ikan adalah sumber cathepsin (Kolodziejska *et al.*, 1994; Choudury and Gogoi, 1996).

Kemudian perkembangan selanjutnya enzim protease dibagi menjadi dua golongan besar, yaitu ekstraselluler dan intraselluler. Enzim protease yang bersifat ekstraselluler adalah enzim yang menghidrolisa substrat polimer protein berukuran besar menjadi kecil sehingga dapat dimanfaatkan oleh sel yang menghasilkan (Kaneda *et al.*, 1997). Sedang jenis protease intraselluler berperan penting dalam proses pembentukan dan germinasi spora, aktivitas sifat patogenik beberapa virus, proses pematangan protein, proses fertilisasi pada mamalia, proses koagulasi darah, fibrinolisis, pengontrolan tekanan darah, proses modifikasi serta sekresi berbagai enzim (Loffler, 1986).

Berdasarkan letak pemecahan enzim protease digolongkan menjadi eksopeptidase dan endopeptidase (Kaneda *et al.*, 1997). Istilah eksopeptidase digunakan untuk enzim yang memecah asam amino terminal dari salah satu ujung protein dengan cara menghidrolisis ikatan peptidanya. Enzim eksopeptidase masih dibagi lagi menjadi dua tipe, yaitu karboksipeptidase yang dalam reaksinya memecah ujung protein yang mempunyai gugus karboksil bebas, dan aminopeptidase yang memulai reaksi dari ujung yang lain dan dikenal pula dengan istilah eksoprotease (Loffler, 1986; Kaneda *et al.*, 1997).

Enzim endopeptidase menurut Loffler (1986) adalah enzim yang menyerang ikatan peptida yang terdapat pada protein bagian dalam. Spesifitas golongan endopeptidase adalah lebih kompleks. Protease jenis tripsin menghidrolisa ikatan peptida pada asam amino lisin dan arginin, sedangkan khimotripsin memecah ikatan peptida pada sisi asam amino hidrofobik. Dengan spesifitas yang

demikian sempit, beberapa jenis protease dapat dimanfaatkan dalam teknik penderetan asam amino (Ferdinand, 1978).

Menurut Suhartono *et al.* (1995), berdasarkan sifat-sifat kimia sisi aktifnya, enzim protease lebih lanjut dibedakan menjadi empat golongan, yaitu protease serin, protease sulfidril, protease logam dan protease asam.

Protease serin adalah protease yang mempunyai residu serin pada sisi aktifnya. Enzim ini dapat dihambat dengan DFP (diisopropil fluoro fosfat), namun tidak dapat dihambat oleh EDTA (etilen diamintetra ecetic acid), IAA (iodoasetamid), PCMB (parakloromercuribenzoat), dan oleh diazoasetil norleusin. Seluruh jenis protease serin adalah endopeptidase yang mempunyai sifat aktif pada pH basa 8,5-12 dan memiliki berat molekul sekitar 21.500. Protease serin pada umumnya dihasilkan oleh bakteri ataupun fungi, dan pembentukan enzim ini bisa pada fase eksponensial atau stasioner. Tripsin, chemotripsin, elastase dan substilin termasuk dalam group ini (Suhartono *et al.*, 1995).

Protease sulfidril adalah protease yang aktivitasnya tergantung dari adanya gugus sulfidril pada sisi aktifnya, serta sensitifitasnya menunjukkan pemotongan pada sisi karboksil residu asam amino basa. Protease jenis ini dibagi menjadi dua bagian yaitu *klostripain* dan *streptococcal*. Klostripain adalah protease yang dihasilkan oleh *Clostridium histolyticum* yang mempunyai BM sekitar 50.000. Sedang protease streptococcal adalah protease yang dihasilkan oleh *streptococci* grup A dengan BM sekitar 32.000 (Rahayu, 1988). Bahan yang bersifat mengoksidasi, mengalkilasi dan semua ion-ion metal dapat menghambat sebagian besar enzim ini, namun untuk menunjukkan keaktifannya diperlukan reagen HCN atau sistein. Protease yang berasal dari tanaman dan beberapa mikroorganisme



termasuk golongan protease sulfidril (Suhartono *et al.*, 1995; Ferdinand, 1978).

Enzim protease logam adalah enzim yang aktivitasnya tergantung adanya metal yang terkait pada molekul proteinnya, misalnya : Mg, Zn, Fe, Cad, Ni, dan Cu. Kadang-kadang metal ini terikat kuat pada sisi aktif ensim sehingga agak sukar untuk melakukan penghambatan meskipun dilakukan penambahan dengan EDTA. Namun kebanyakan enzim ini dapat dihambat dengan sianida atau racun metal yang lain. Enzim protease logam mempunyai aktivitas maksimal pada pH sekitar netral dan basa. Protease 1 mixobacter aminopeptidase serta protease dari bakteri (misalnya *Cl histolyticum*, *streptococcus*) termasuk golongan ini (Sanogo, Paquet and Linden, 1990; Koohmaraie, 1990). Menurut Suhartono *et al.* (1995), protease ini aktif pada rentang pH 7-8, memiliki BM 45.000 dan aktivitasnya dapat ditingkatkan dengan penambahan ion  $Zn^{2+}$   $10^{-6}$  M,  $Mn^{2+}$   $5.10^{-4}$  M dan  $Mg^{2+}$  sebanyak  $10^{-3}$  M.

Protease asam adalah enzim yang mempunyai pH optimal di antara 2-4. Enzim ini dapat dihambat dengan p-bromofenacilbromid atau pereaksi diasasetilnorleusin metil ester, namun tidak dapat dihambat oleh reagen IAA, EDTA., PCMB dan DFP. Pepsin, resin dan protease dari fungi yang aktif pada pH rendah termasuk dalam group ini. (Ferdinand, 1978).

Berdasarkan lingkungan pH dan daya kerjanya, protease dibedakan menjadi protease asam, protease netral dan protease alkalis. Renin dan sejumlah protease kapang termasuk dalam protease asam yang bekerja optimal pada pH asam. Sebagian protease bakteri, bromelin dan papain adalah termasuk protease netral, sedang sejumlah protease bakteri bekerja pada lingkungan alkalis (Loffler, 1986).

## 2.5 Enzim Protease Biduri

Witono (2000) menyatakan bahwa enzim protease biduri termasuk dalam jenis protease sulfhidril sebagaimana enzim protease dari kebanyakan tanaman seperti papain dari pepaya, bromelin dari nenas dan fisin dari tanaman ficus. Sifat-sifat yang mendukung penentuan enzim protease biduri yang digolongkan sebagai protease sulfhidril adalah pH, suhu dan termostabilitas.

Pengujian terhadap enzim protease biduri menunjukkan bahwa aktifitas enzim protease optimal terletak pada pH antara 6,5 – 7,0, dimana pada pH 6,5 aktifitasnya sebesar  $71,23 \times 10^{-2} \mu\text{mol tir. mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$  dan pada pH 7,0 aktifitasnya sebesar  $73,75 \times 10^{-2} \mu\text{mol tir. mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$ . Hal ini sesuai dengan aktifitas enzim protease pada kebanyakan jaringan tanaman yang berkisar pada pH netral. Basha and Cherry (1978) melaporkan bahwa enzim protease dari biji kacang tanah mempunyai pH optimal 7,2. Untuk pengempukan daging dengan enzim protease dari getah pepaya diinkubasikan pada pH 6,6 – 7,0 (Kang and Warner, 1974).

Penggunaan suhu yang berbeda akan berpengaruh pada aktifitas enzim. Suhu optimal aktifitas enzim protease biduri terdapat pada kisaran 45 – 50°C dengan aktifitas sebesar  $81,18 \times 10^{-2} \mu\text{mol tir. mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$  pada suhu 45°C dan  $81,33 \times 10^{-2} \mu\text{mol tir. mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$  pada suhu 50°C. Semakin tinggi suhu yang digunakan maka semakin tinggi aktifitas enzim sampai pada suatu batas tertentu (suhu optimal), peningkatan suhu di atas suhu optimal akan menurunkan aktifitasnya. Chinas and Canales (1986) melaporkan bahwa enzim protease yang diekstrak dari daun *Cnidoculus chayamansa* adalah pada suhu 40°C, sedangkan suhu optimal dari enzim protease biji padi adalah 50°C (Abe *et all*, 1997).

Suhu pemanasan berpengaruh terhadap stabilitas enzim protease biduri. Sampai suhu 60°C aktifitas enzim protease biduri masih menunjukkan aktifitas yang stabil terhadap panas. Menurut Suhartono (1992), enzim protease termasuk enzim yang cukup stabil, karena tahan terhadap keadaan lingkungan seperti suhu yang agak ekstrim. Belitz and Grosch (1987) menambahkan bahwa enzim yang mempunyai termostabilitas diatas suhu 40°C tergolong enzim yang mempunyai termostabilitas tinggi.

Hal lain yang berkaitan dengan enzim protease biduri dijelaskan oleh Witono (2000) bahwa metode ekstraksi berpengaruh terhadap rendemen dan aktifitas enzim protease biduri. Ekstraksi enzim protease biduri yang menggunakan amonium sulfat 50% lebih baik dari pada ekstraksi menggunakan etanol (1:1), (1:2) dan aseton (1:1). Ekstraksi menggunakan amonium sulfat 50% menghasilkan enzim dengan rendemen terbanyak sebesar 0,89% dan aktifitas tertinggi sebesar 80,55  $\mu\text{mol tir. mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$  dengan total aktifitas enzim sebesar 717,03  $\mu\text{mol tir. mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$ .

## 2.6 Daging

Daging adalah bagian badan ternak yang dimanfaatkan untuk konsumsi manusia. Daging merupakan otot ternak yang telah disembelih sehingga menyebabkan fungsi fisiologisnya terhenti (Winarno, 1993). Daging yang dikonsumsi dapat berasal dari sapi, kerbau, babi, kuda, domba, kambing, unggas, ikan, organisme yang hidup di air maupun di darat, daging dari hewan-hewan liar dan aneka ternak. Di Indonesia, daging yang banyak dikonsumsi adalah daging sapi, daging domba muda, dewasa atau tua, daging babi dan daging kerbau (Soeparno, 1994).

### 2.6.1 Komposisi Daging

Komposisi daging relatif mirip satu dengan yang lain, terutama kandungan proteinnya yaitu sebesar 15-20% dan kadar protein tersebut terutama yang menentukan tingginya mutu daging dari segi gizi. Protein yang terkandung dalam daging, seperti halnya juga yang terkandung dalam telur dan susu, sangat tinggi mutunya (Winarno, 1993). Nilai nutrisi daging yang tinggi disebabkan karena daging mengandung asam-asam amino esensial yang lengkap dan seimbang (Forrest *et. al.*, 1975; Frankel, 1983). Selain protein, daging juga mengandung air, lemak, karbohidrat dan komponen anorganik.

Kadar lemak daging, yang berkisar dari 5 sampai 40%, bergantung pada jenis ternak dan spesiesnya, serta makanan dan umur ternak. Sedangkan jumlah energi (kalori) yang dapat diberikan oleh daging sangat bergantung pada kandungan lemaknya. Sebagian besar kalsium dalam badan ternak terdapat dalam tulangnya, karena itu bagian daging yang dapat dikonsumsi rendah kandungan mineralnya. Meskipun demikian, daging tanpa lemak merupakan sumber yang bagus bagi fosfor dan besi (Winarno, 1993). Komposisi kimiawi relatif otot skeletal mamalia selengkapnya disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimiawi relatif otot skeletal mamalia (persen berat daging segar)

Komponen	Persen (%)
1. Air (65-80%)	75,0
2. Protein (16-22%)	18,5
a. Protein miofibrilar	11,5
i. Protein kontakil miosin	5,5
aktin	2,5
ii. Protein pengatur tropomiosin troponin : C, I, T	0,4
$\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ dan eu-protein	0,5
iii. Protein sitoskeletal	6,0
b. Protein sarkoplasmik enzim-enzim yang larut dalam sarkoplasmik dan mitokondrial	5,5
Mioglobin	0,3
Hemoglobin	0,1
Sitokrom dan flavoprotein	0,1
c. Protein stromal (jaringan ikat dan organela)	3,0
Kolagen dan retukulin	1,5
Elastin	0,1
Protein tidak larut lain	1,4
3. Lipid (1,5 – 13%)	3,0
Lipid netral (0,5 – 1,5%)	1,0
Fosfolipid	1,0
Serebrosid	0,5
Kolesterol	0,5
4. Substansi non protein nitrogen	1,5
Kreatin dan kreatin fosfat	0,5
Nukleotida (ATP dan ADP)	0,3
Peptida-peptida anserin dan karnosin	0,3
Substansi-substansi non protein lain (IMP, NAP, NADP)	0,1
5. Karbohidrat dan substansi non nitrogen lain (0,5 – 1,5%)	1,0
Glikogen (0,5 – 1,3%)	0,8
Glukosa	0,1
Intermediet dan produk-produk metabolisme sel	0,1
6. Konstituen anorganik	1,0
Potasium	0,3
Total fosforus (fosforus fosfat dan fosforus anorganik)	0,2
Sulfur (termasuk sulfat)	0,2
Klorin	0,1
Sodium	0,1
Lain-lain (Mg, Ca, Fe, Co, Cu, Zn, Ni, Mn)	0,1
7. Vitamin-vitamin yang larut dalam air, lemak dalam jumlah sangat sedikit	

Sumber : Forrest *et. al.* (1975): Lawrie (1979): Judge *et. al.* (1989)

### 2.6.2 Struktur Otot Daging

Daging terdiri dari otot yang merupakan komponen utamanya. Otot merupakan jaringan yang mempunyai struktur dan fungsi utama sebagai penggerak pada organisme hidup. Otot-otot yang berasosiasi dengan tulang disebut sebagai skeletal. Otot skeletal merupakan sumber utama dari jaringan otot daging. Selain itu daging juga tersusun dari jaringan ikat, epitelial, jaringan-jaringan syaraf, pembuluh darah dan lemak.

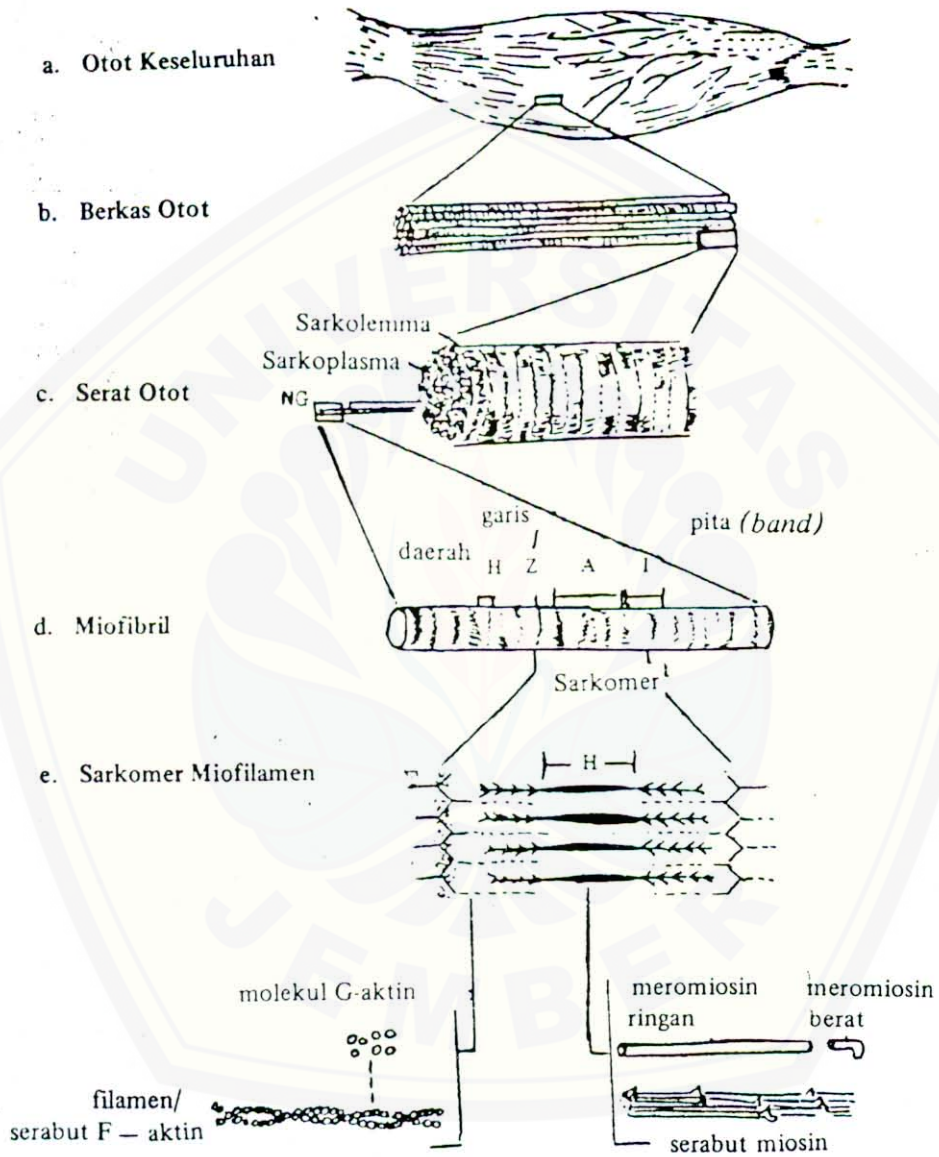
Otot tersusun dari banyak ikatan serabut otot yang lazim disebut fasikuli. Fasikuli ini terdiri dari serabut-serabut otot, sedangkan serabut otot tersusun dari banyak fibril yang disebut miofibril. Miofibril tersusun dari banyak filamen yang disebut miofilamen. Jadi berdasarkan urutan ukuran (dari ukuran terbesar sampai dengan ukuran terkecil), otot tersusun dari fasikuli, serabut otot, miofibril dan miofilamen (Soeparno, 1994).

Menurut Winarno (1993) serabut otot merupakan struktur yang lurus dan panjang, yang dibungkus oleh membran halus transparan yang disebut sarkolema. Sarkolema terdiri sarkoplasma yang berbentuk gel, atau sel yang lengket. Serabut otot bentuknya mikroskopis, kecil sekali dengan garis tengah 10 – 100 mikron. Zat-zat seperti mineral, vitamin, enzim, mioglobin dan sebagian protein terdapat di dalam sarkoplasma di dalam serabut otot.

Di dalam serabut otot terdapat serabut yang lebih halus disebut miofibril, dengan garis tengah 1 sampai 3 mikron. Adanya penampakan strip-strip pada serabut otot, yang terlihat di bawah mikroskop, biasanya disebabkan adanya miofibril tersebut.

Miofibril terdiri atas bagian yang lebih kecil lagi yang disebut miofilamen. Miofilamen tersebut ada yang tebal (100 °A) dan ada pula yang tipis (10 °A), yang letaknya saling bergantian sepanjang miofibril. Miofilamen yang tebal mengandung miosin dan yang tipis mengandung aktin. Baik miosin maupun aktin adalah molekul-molekul protein yang tidak simetris. Aktin sendiri terdapat dalam dua jenis, yaitu yang globular (monomernya) dan yang fibriler, yaitu bentuk polimer dari monomer tersebut.

Bila otot berkontraksi atau setelah ternak dipotong, aktin globuler polimerisasi membentuk aktin fibriler dan membentuk ikatan kompleks dengan miosin yang terdapat pada daging, dalam bentuk aktomiasin, di samping itu jenis protein ketiga yang disebut tropomiosin juga terdapat pada bagian yang berkontraksi dalam daging. Pada Gambar 2 ditunjukkan struktur jaringan otot daging.



Sumber : Bukcle (1987)

Gambar 2. Struktur Jaringan Otot Daging



## 2.7 Kualitas Daging

Kualitas karkas dan daging dipengaruhi oleh faktor sebelum dan setelah pemotongan. Faktor sebelum pemotongan yang dapat mempengaruhi kualitas daging antara lain adalah genetik, species, bangsa, tipe ternak, jenis kelamin, umur, pakan termasuk bahan aditif (hormon, antibiotik dan mineral), dan stress. Faktor setelah pemotongan yang mempengaruhi kualitas daging antara lain meliputi pelayuan, stimulasi listrik, metode pemasakan, pH karkas dan daging, bahan tambahan termasuk enzim pengempuk daging, lemak intramuskuler atau marbling, metode penyimpanan dan preservasi, macam otot daging dan lokasi pada suatu otot daging (Soeparno, 1994).

Menurut Winarno (1993) menyatakan pemasakan atau pemanasan dapat menyebabkan terjadinya perubahan dalam kandungan dan struktur lemak, protein dan komponen lain seperti gula sehingga dapat menimbulkan cita rasa yang dikehendaki. Panas akan mematikan mikroba yang telah mengkontaminasi permukaan daging, dengan demikian menjadi lebih baik dan cita rasanya menjadi nikmat.

Soeparno (1994) menyatakan bahwa pelayuan adalah penanganan karkas atau daging segar postmortem yang secara relatif belum mengalami kerusakan mikrobial dengan cara penggantungan atau penyimpanan selama waktu dan temperatur tertentu diatas titik beku karkas atau daging. Selama pelayuan terjadi peningkatan keempukan dan flavor daging. Menurut Winarno (1995) selama pelayuan/pemeraman terjadi berbagai proses hidrolisis yang dilakukan oleh enzim, terutama enzim katepsin yang baik sekali keaktifannya pada suhu dingin.

## 2.8 Keempukan Daging

Keempukan daging merupakan salah satu kriteria kualitas daging yang menentukan tingkat penerimaan konsumen. Tingkat keempukan daging dapat dihubungkan dengan dua kategori protein otot, yaitu protein miofibril dan protein jaringan ikat. Hidrolisa dari protein-protein daging ini akan menurunkan integritas dari protein penyusun, sehingga menyebabkan daging menjadi empuk (Fogle *et. al.*, 1982).

Kesan keempukan daging secara keseluruhan meliputi tekstur dan melibatkan tiga aspek. Pertama, kemudahan awal penetrasi gigi kedalam daging, kedua, mudahnya daging dikunyah menjadi fragmen/potongan-potongan yang lebih kecil dan ketiga, jumlah residu yang tertinggal setelah pengunyahan. Pada dasarnya keempukan daging dapat ditentukan secara subyektif dengan uji panel cita rasa (Bennion, 1980).

Pada umumnya keempukan daging menurun dengan meningkatnya umur ternak, karena pada ternak tua jaringan ikat mengandung ikatan-ikatan silang yang lebih banyak (Varman and Sutherland, 1995). Penurunan tingkat keempukan daging dari ternak yang sudah tua juga sudah dilaporkan oleh Shortose and Harrios (1990) bahwa penurunan keempukan terjadi karena semakin kuatnya jaringan ikat. Keempukan ini juga dipengaruhi oleh asal otot daging dalam jaringan ternak.

## 2.9 Mekanisme Kerja Enzim dalam Pengempukan Daging

Enzim-enzim protease tanaman yang telah banyak digunakan untuk meningkatkan keempukan daging termasuk papain dari tanaman pepaya (Caygill, 1979). Enzim pengempuk daging ini menjadi aktif pada temperatur 50 - 70°C selama proses pemasakan daging.

Penggunaan enzim dikakukan dengan cara menaburkan bubuk enzim pada permukaan daging mentah, dengan merendam dalam larutan enzim, atau dengan menyemprotkan (spraying) larutan enzim. Dapat juga dengan sistem aerosol atau penyuntikan larutan enzim pada beberapa tempat pada karkas atau daging segar, atau bahkan penyuntikan pada ternak hidup.

Penggunaan papain dalam bentuk tepung yang ditaburkan atau dioleskan pada permukaan daging menghasilkan daging yang mempunyai keempukan yang tidak merata, bagian luar lebih empuk daripada bagian dalam. Demikian juga bila daging direndam dalam larutan enzim. Untuk mendapatkan penyebaran enzim lebih merata, dilakukan beberapa usaha diantaranya dengan menusuk-nusuk daging dengan garpu sebelum diberi papain dan dengan penyuntikan larutan enzim kedalam berbagai tempat dalam daging (Winarno, 1995). Enzim-enzim pengempuk daging dapat diinjeksikan kedalam sistem vaskuler ternak sesaat sebelum pemotongan (1 - 30 menit sebelum pemotongan). Dengan metode ini, distribusi ke seluruh organ dan jaringan termasuk perototan akan lebih efektif dan merata.

Menurut Fogle *et al.* (1986) proses hidrolisa protein jaringan ikat terjadi pada protein kolagen, sedangkan hidrolisa miofibril terjadi pada filamen-filamennya. Selanjutnya Soeparno (1994) menambahkan bahwa protease menyerang miosin yang merupakan bagian dari filamen pada bagian leher, menjadi meremiosin ringan dengan berat molekul 140.000 dan meremiosin berat dengan berat molekul 340.000, enzim protease selanjutnya dapat mendegradasi meremiosin berat menjadi fragmen-fragmen yang lebih kecil.



### III. METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian pendahuluan dan utama dilaksanakan di laboratoriu Pengendalian Mutu Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Waktu Penelitian dilaksanakan 2 tahap, yaitu :

Tahap I : Penelitian Pendahuluan dilaksanakan pada bulan Juni 2001

Tahap II: Penelitian Utama dilaksanakan pada bulan Juli sampai September 2001

#### 3.1 Bahan dan alat Penelitian

##### 3.1.1 Bahan :

Bahan dasar yang digunakan dalam penelitian ini adalah daging sapi segar dan ekstrak enzim protease getah biduri. Sedangkan bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquades, NaOH 2N, reagen mix, reagen folin (Damstadt, Germany).

##### 3. 1.2 Alat :

Adapun alat yang digunakan meliputi beaker glass, botol semprot, spatula stainless steel, gelas ukur, botol timbang, eksikator, timbangan (Precision Advaced), oven (Memmert), erlenmeyer, rheotex (Ogawa Seiki CO LTD Tokyo Japan), colour reader (Minolta), pemanas, vortex (Janke and Kunkel), Spektronik 21 (Milton Roy) dan alat lain yang terkait.

### 3.3 Metode Penelitian

#### 3.3.1 Rancangan Penelitian dan Analisa Data

Penelitian menggunakan 2 faktor, faktor pertama adalah konsentrasi enzim yang terdiri dari 3 level (0,05%, 0,10%, 0,15%) sebagai faktor A, sedangkan faktor kedua adalah lama inkubasi yang terdiri dari 3 level (30 Menit, 45 menit, 60 menit) sebagai faktor B, masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

Macam dan kombinasi perlakuan adalah :

a. Konsentrasi enzim sebagai faktor pertama (A)

A1 = Konsentrasi enzim 0,05%

A2 = Konsentrasi enzim 0,10%

A3 = Konsentrasi enzim 0,15%

b. Lama inkubasi sebagai faktor kedua (B)

B1 = Lama inkubasi 30 menit

B2 = Lama inkubasi 45 menit

B3 = Lama inkubasi 60 menit

c. Kombinasi Perlakuannya adalah :

AoBo (kontrol) = tanpa perlakuan

A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>      A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>      A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>

A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>      A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>      A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>

A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>      A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>      A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>

Analisa hasil penelitian menggunakan metode statistik deskriptif dengan cara memasukkan nilai rata-rata pada tabel dan memplotkannya dalam grafik.

### 3.3.2 Parameter Pengamatan

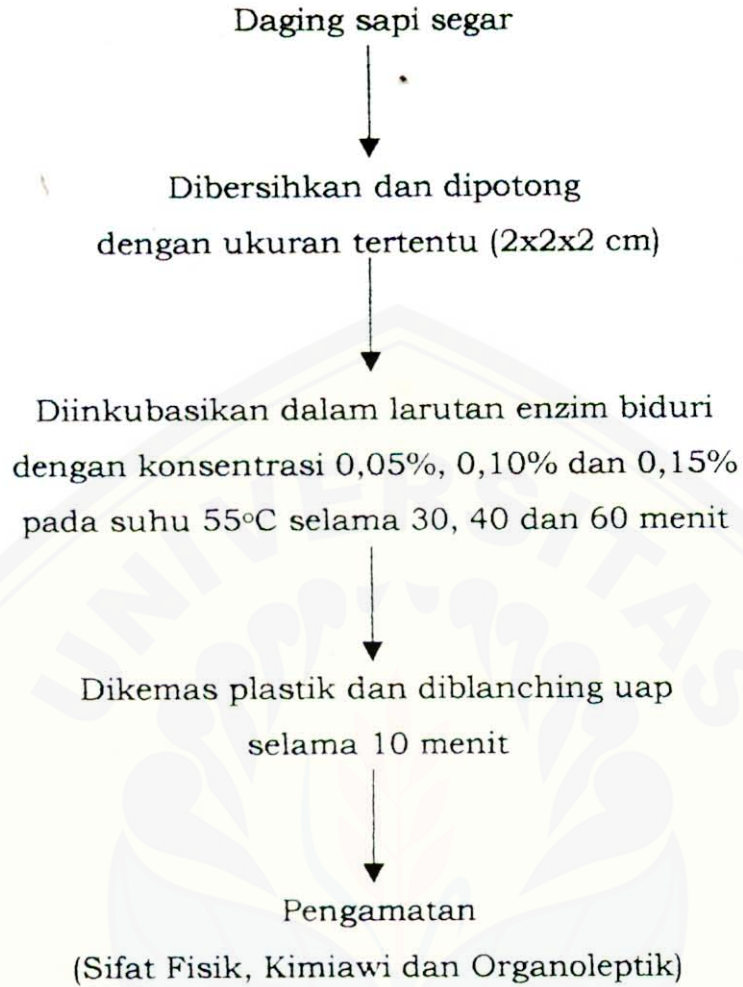
Parameter yang diamati dalam penelitian ini meliputi :

- a. Sifat fisik daging :
  - Tekstur dengan menggunakan metode reotex
  - Warna dengan menggunakan metode colour reader
- b. Sifat kimia daging :
  - Kadar protein terlarut dengan menggunakan metode lowry
  - Kadar air dengan menggunakan metode oven
- c. Sifat organoleptik daging (metode deskriptif) :
  - Tekstur
  - Warna
  - Kekuatan tarikan dengan gigitan

### 3.3.3 Prosedur Kerja

Daging sapi segar dibersihkan dan dipotong dengan ukuran 2x2x2 cm, sebanyak 10 sampel beserta kontrol. Membuat larutan enzim protease sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan yaitu 0,05%, 0,10%, 0,15%, kemudian sampel dimasukkan dalam larutan enzim sesuai dengan lama inkubasi yang diperlakukan yaitu 30 menit, 45 menit dan 60 menit. Setelah inkubasi selesai, sampel daging dibungkus plastik dan dipanaskan dengan blanching uap selama 10 menit.

Selanjutnya diamati tingkat keempukan dan sifat-sifat daging berdasarkan parameter pengamatan yang ada.



Gambar 3. Skema Proses Pengempukan Daging

### 3.3.4 Prosedur Pengamatan Parameter

Adapun prosedur pengamatan parameternya adalah sebagai berikut :

#### **1. Kadar Air Metode Oven (Sudarmadji, dkk, 1997):**

Menimbang botol sampel yang telah dikeringkan selama 15 menit dan didinginkan dalam eksikator hingga konstan (A). Ditimbang sampel dalam botol timbang (B). Mengoven sampel pada suhu  $\pm 100^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam, kemudian dimasukkan ke dalam eksikator dan ditimbang hingga tercapai berat konstan (C). Kadar air dari bahan dapat ditentukan dengan menggunakan rumus berikut :

$$\text{Kadar Air} = \frac{B - C}{B - A} \times 100\%$$

#### **2. Protein Terlarut Metode Lowry (Whitaker, 1994) :**

Menimbang 0,1 gr sampel (ekstrak kering) dan memasukkannya kedalam tabung sentrifuse, kemudian di tambah 0,1 ml NaOH 2N dan dipanaskan pada suhu  $100^{\circ}\text{C}$  selama 10 menit. Didinginkan pada suhu kamar, kemudian ditambah 1 ml reagen mix dan divortex, dibiarkan selama 10 menit pada suhu kamar. Kemudian ditambahkan 0,1 ml reagen folin dan divortex, dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar. Setelah itu ditambahkan aquades sampai volumenya menjadi 5 ml dan di vortex. Ditera absorbannya pada panjang gelombang 750 nm dan diplotkan pada standar yang sudah ada (lampiran 1), dengan rumus :

$$Y = 17,105 X - 2,373$$



### 3. *Tekstur Metode Reotex*

Power dinyalakan, jarum penekan dipasang diatas tempat test. Kemudian menekan tombol distance dengan besaran 5 gr dan ditekan juga tombol hold. Kemudian meletakkan daging yang telah ditiriskan tepat dibawah jarum reotex, kemudian menempatkan ujung jarum sampai menyentuh lapisan permukaan daging. Kemudian menekan tombol start beberapa detik sampai terdengar bunyi tanda selesai, yang dilanjutkan dengan membaca angka yang ditunjukkan oleh jarum reotex dengan satuan (gr)

### 4. *Warna Metode Colour Reader*

Uji warna dilakukan dengan alat Colour Reader dengan cara melapisi permukaan daging yang telah dibersihkan dan ditiriskan dengan selembar plastik transparan. Kemudian menempelkan alat tersebut dan menekan tombolnya. Dari alat akan didapatkan nilai dL, da dan db. Kemudian nilai warna dapat ditentukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$W = 100 - \left( (100 - L^*)^2 + (a^{*2} + b^{*2}) \right)^{0.5}$$

Nilai dari  $L^*$  menunjukkan kecerahan dan jarak dari gelap = 0 sampai terang = 100. Nilai  $a^* = 0$  dan  $b^* = 0$  menunjukkan warna abu-abu. Pada sumbu horisontal (+)  $a^*$  menunjukkan warna merah keunguan dan (-)  $a^*$  menunjukkan warna hijau kebiruan. Pada sumbu vertikal (+)  $b^*$  menunjukkan warna kuning dan (-)  $b^*$  menunjukkan warna biru. Kemudian nilai dari sudut warna,  $H = \tan^{-1} b^*/a^*$  menunjukkan warna sampel dimana sudut warna  $0^\circ$  tepat untuk warna merah,  $90^\circ$  warna kuning,  $180^\circ$  warna hijau dan  $270^\circ$  warna biru. Kemudian  $C^*$  adalah untuk metrik warna dimana  $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$  dan menunjukkan nilai intensitas warna. Nilai  $W = 100\%$  diasumsikan warna putih sempurna. Sebelum

digunakan alat ini dikalibrasi dengan menggunakan standar Barium nitrit yang mempunyai nilai  $L^* = 100$ ,  $a^* = 0$  dan  $b^* = 0$ .

#### 4. Pengujian Organoleptik (Metode Deskriptif)

Pengujian organoleptik menggunakan metode deskriptif dengan menggunakan skala garis (line scoring), yang selanjutnya panelis akan memberikan tanda silang pada garis yang sesuai dengan penilaian. Disajikan jumlah sampel sesuai dengan perlakuan yaitu sampel yang telah diberi kode 3 angka pada masing-masing sampel secara acak

##### a. Tekstur

Uji tekstur daging dimulai dari sangat keras sampai sangat lunak dengan range angka mulai dari 1 - 6

1	2	3	4	5	6
Sangat keras			Sangat lunak		

##### b. Warna

Uji warna daging dimulai dari sangat coklat sampai sangat pucat dengan range angka mulai dari 1 - 6

1	2	3	4	5	6
Sangat coklat			Sangat pucat		

##### c. Kekuatan Tarikan dengan Gigitan

Uji kekuatan tarik dengan gigitan pada daging dimulai dari sangat alot sampai sangat mudah patah dengan range angka mulai dari 1 - 6

1	2	3	4	5	6
Sangat alot			Sangat mudah patah		

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut :

1. Enzim protease biduri dapat diaplikasikan untuk pengempukan daging.
2. Pengempukan daging dengan perlakuan konsentrasi enzim protease biduri dan lama inkubasinya berpengaruh terhadap tekstur yang semakin empuk, warna yang semakin coklat keputihan, kadar protein terlarut yang semakin tinggi dan kadar air (water holding capacity) yang semakin menurun serta sifat organoleptik yang meliputi tekstur yang semakin empuk, warna yang semakin coklat keputihan dan kekuatan tarikan dengan gigi yang semakin mudah patah.
3. Kombinasi perlakuan konsentrasi 0,15% dengan lama inkubasi 60 menit merupakan perlakuan yang terbaik, karena diperoleh daging dengan teksturnya yang paling empuk sebesar 303,42; kadar protein terlarut yang paling tinggi sebesar 10,68%; warna L sebesar 74,12; C sebesar 3,27 dan H sebesar 2,27 serta kadar air sebesar 58,34%.

### 5.2 Saran

Perlu dikaji lebih lanjut sifat-sifat daging dengan berbagai metode pemasakan pasca inkubasi dalam larutan enzim protease biduri dengan konsentrasi 0,15% dan lama inkubasi 60 menit.

DAFTAR PUSTAKA

- Abe, H. T., Asakura, H. Watanabe and S. Arai, 1997, Oryzazsin as on Aspartic Proteinase Occuring in Rice Seeds : Purification, Characterizaation and Application to Milk Cloting, **J. Aric Food. Chem.** 45 (4) 1070-1075.
- Basha, S. M. and Cherry, 1978, Proteolytic Enzyme Activity and Storage Protein Deradation in Cotyledons of Germinating Peanut (*Arachis nypoeae L*) Seeds, **J. Agric. Food. Chem.** 26 (1) 229- 233.
- Belitz H. D. and W. Grosch, 1987, **Food Chemestry**, Springer Verlag, New York.
- Bennion, M., 1980, **The Science of Food**. Jonh Willey and Sons. New York.
- Buckle, K. A., Edwards, R. A., Fleet, G.H. dan Wootton, M., 1987, **Ilmu Pangan**. Terjemahan Purnomo, H. dan Adiono dari Food Science. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Caygill, J.C., 1979, **Enzyme Microbial Technology**, 1, 233.
- Chinas F. A. I and A. L. M. Canales, 1986, Proteolytic Enzyme from *Cnidocolus chayamansa* "chaya", **J. Food. Sci.** 61 (1) 142-144.
- Choudury, G.S. and B.K. gogoi, 1996, Protease Inactivation in Fish Muscle by High Moisture Twin Screw extrusion, **J. Food Sci.**, 61 (6) 1219-1222.
- Collar, C., A. F. Mascaros and C. B. De Barbe, 1992, Amino Acid Metabolism by Yeast and Lactic Bacteria During Beard Dough Fermentation, **J. Food Sci.** 57 (6), 1423-1427.
- Eskin, N.A.M., 1990, **Biochemestry of Food**, Second Edition, Academic Press Inc. New York.
- Ferdinand, W., 1978, **The Enzyme Molecule**, John Willey and sons. New York.

- ✓ Ferdinand, M. M., D. S. Clark and H. W. Blanch, 1991, Papain Kinetics in The Presence of a Water Miscible Organic Solvent, **J. Biotech. Bioeng.** 37 (100) 967-972.
- Fogle, D.R., Plimton, R.F., Ockerman, R.o., Back, L.J. and Pearsson, T., 1982, Tenderization of Beef Effect of Enzyme Level and Cooking Method. **J. Food. Sci.**, 47 (6), 1113-1117.
- Forrest, J.C., Aberle, E.D., Hedrick, H.B., Judge, M.D. dan Merkel, R.A., 1975. **Principles of Meat Science**, W.H. Freeman and Co. San Fransisco. CA.
- Frankel, J. C., 1983, **Recent Advances in The Chemistry of Rancidity of Fats**. Northern Regional Research Center, Agric. Res. Service Dept. Agric. Illinois.
- Judge, M.D., E. D. Aberle, J. C. Forrest, H. B. Hedrick and R. A. Merkel, 1989 **Principle of Meat Science**. 2<sup>nd</sup> ed. Kendall/Hunt. Publishing Co. Dubugue. Iowa.
- ✓ Kaneda, Makato, yanezawa and Hirio, 1997, Purification and some Properties of Protease from he sarcocarp of Musk Melon Fruit, **J. Biosci. Biotech. Biochem.** 61 (12) 2100-2102.
- Kang, C. K. dan W. D. Warner, 1974, Tenderization of Meat with Papaya Latex Protease, **J. Food. Sci.**, 39.
- ~ Kolodziejska, Szie, Magdalena and S. Sikorski, 1994, Proteolytic Activity of Crude Enzyme Extracts of Squid *Illex Argentinus* Liver, **J. Food Biochem.**, 18, 43-53
- Koohmaraie, M., 1990, Quantification of Ca<sup>2+</sup> Depend Protease Activites by Hydrophobic and Ion Exchange Chromatoraphy. **J. Animal Sci.**, 68, 659-665.
- Kusuma, R.W., 1989, Penggunaan Getah Pepaya Dan Lama Inkubasi Pada Proses Pengempukan Daging, Skripsi Sarjana, FTP, Universitas Jember, Jember.
- Lawrie, R.A., 1979, **Meat Science**, 3<sup>rd</sup> ed. Pergamon Press. Oxford.
- Loffler, A., 1986, Proteolytic Enzymes: Sources and Aplications, **Food Technol.** 40 (10), 63-70.
- Nobuso, T., 1988, Recent Topics on Enzyme utilisation for Food in Japan, **Proc. Food Science and Tecnology in Industrial Development**. Vol. I. (Ed. Manepon). Pp. 126-137. Thailand.

Noda k. M., Koyanay and C. Kamiya, 1994, Purification and Characterization of an Endoprotease from Melon Fruit, **J. Food. Sci.** 59 (3) 285-587.

Page D. S., 1989, **Prinsip-prinsip Biokimia**, Edisi Kedua, Terjemahan Soendoro, R. dari Principles of Biological Chemistry, UNAIR, Surabaya.

- Rahayu K., 1988, **Isolasi dan Penujiaan Aktifitas Enzim**, PAU Pangan dan Gizi UGM, Yogyakarta.

Sanogo, T. D., Paquet and G. linden, 1998, Proteolysis of  $\alpha_{s1}$ -Casein by Papain in a Complex Enviroment Influence of Ionic Strength on The Reaction Product, **J. Food Sci.** 55 (30) 796-800.

Shorthose, W.R. and Harris, P.V., 1990, Effect of Animal Age The Tenderness of Selected Beef Muscles, **J. Food Sci.** 55 (1), 1-3.

Soeparno, 1994, **Ilmu dan Teknologi Daging**, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

Sousa, M.S. and F. X. Malcata, 1997, Comparison of Plant and Animal Rennet in Therm of Microbiological, Chemical and Proteolysis Characteristic of Ovine Cheese. **J. Agric. Food Chem.** 45 (1), 74-81.

Suhartono, M.T., 1992, **Protease**, Pusat Antar Universitas IPB, Bogor.

Suhartono, M.T., L. N. Lestariono dan T. Tanoyo, 1995, Study on Protease from *Aspergollus oryzae* Isolated from Soy Souce Processing in Indonesia, **J. Indonesian Trop. Agric.** 6 (2), 21-25.

Sudarmadji, S., Haryono, B. dan Suhardi, 1997, **Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian**, Liberty, Yogyakarta.

Stenis, T., 1992, **Flora**, Pradnya Paramita, Jakarta.

Tauber, H., 1949, **The Chemistry and Technology of Enzym**, John Willey and Sons Inc. New York.

Thompson, E. H., I. D. Wolf and C. E. Allem, 1973, iner Rhizome a New Source of Proteolytic Enzyme, **J. Food. Sci.** 38, 625-655.

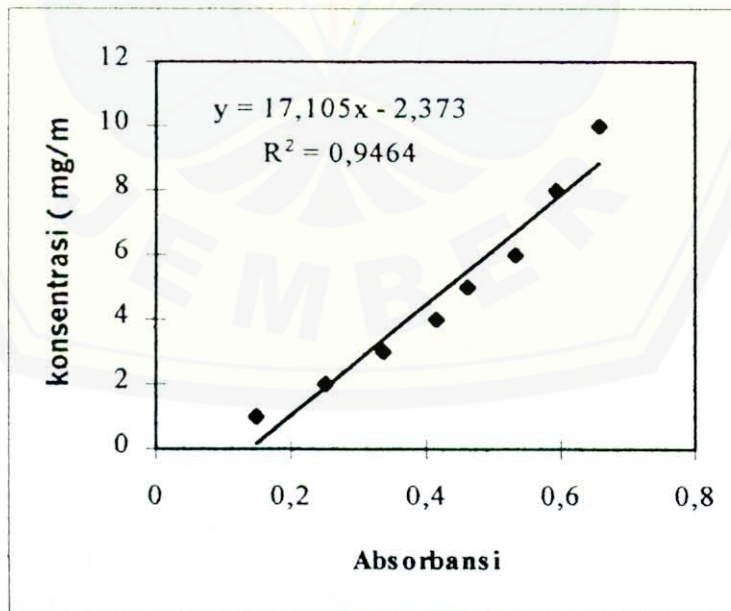
- Tjitrosoepomo, G., 1994, **Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta**, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Varnam, A.H. and L. P. Sutherland, 1995, **Meat and Meat Product**, Chapman and Hall, New York.
- Whitaker, J. R., 1994, **Principle of Enzymology for The food Science**, Second Edition, Marcel Decker, New York.
- Winarno, F. G., 1993, **Pangan, Gizi, Teknologi dan Konsumen**, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Winarno, F. G., 1995, **Enzim Pangan**, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Witono, Y, 2000, **Isolasi dan Karakterisasi Enzim Protease dari Getah Biduri (*Calotropis gigantea* Dryand)**, Thesis Program Pasca Sarjana Universitas Brawijaya, Malang.
- Word, O. P., 1983, **Properties of Microbial Proteinase In Microbial Enzyme and Biotechnology** (Ed. Forgety) Appl. Publ. London pp. 56-102

Lampiran 1. Kurva Standard Analisa Kadar Protein dengan Metode Lowry

Data absorbansi larutan standar analisa kadar protein terlarut dengan metode lowry adalah sebagai berikut:

Blanko = 0,025		
Konsentrasi (Y)	Absorbansi (X)	(X-0,025)
1	0,173	0,148
2	0,275	0,25
3	0,361	0,336
4	0,44	0,415
5	0,485	0,46
6	0,556	0,531
8	0,618	0,593
10	0,682	0,657

10 mg/ml



Gambar 13. Grafik Kurva Standar Analisa Kadar Protein dengan Metode Lowry



## Lampiran 2. Data Pengamatan Tekstur Daging

Perlakuan		Ulangan			Rata-Rata
Konsentrasi Enzim (%)	Lama Inkubasi (menit)	1	2	3	
0	0	413.05	387.94	405.33	402.11
	30	393.28	421.39	444.00	419.56
0,05	45	407.56	361.83	nd	384.70
	60	333.22	316.44	325.42	325.03
0,10	30	423.00	419.67	372.75	405.14
	45	380.89	370.06	399.41	383.45
	60	353.78	334.33	365.83	351.31
0,15	30	450.83	419.78	291.75	387.45
	45	375.56	360.00	329.08	354.88
	60	324.22	327.28	258.75	402.11

## Lampiran 3. Data Pengamatan Warna L

Perlakuan		Ulangan			Rata-Rata
Konsentrasi Enzim (%)	Lama Inkubasi (menit)	1	2	3	
0	0	73.58	73.08	69.14	71.53
	30	75.22	72.22	69.14	72.19
0,05	45	75.22	73.08	68.64	72.31
	60	76.20	73.92	72.52	74.21
0,10	30	75.48	74.68	70.00	73.39
	45	75.02	73.98	71.59	73.53
	60	74.86	74.46	72.56	73.96
0,15	30	73.60	73.34	71.94	72.96
	45	77.54	73.10	69.78	73.47
	60	76.26	75.52	70.58	74.12

Lampiran 4. Data Pengamatan Warna C

Perlakuan		Ulangan			Rata-Rata
Konsentrasi Enzim (%)	Lama Inkubasi (menit)	1	2	3	
0	0	2.91	2.87	3.45	3.08
	30	3.11	2.72	4.27	3.37
	45	3.03	2.65	3.87	3.18
0,05	60	2.76	2.50	4.39	3.22
	30	3.37	3.28	4.37	3.67
	45	3.03	2.81	4.06	3.30
0,10	60	2.93	2.68	4.33	3.31
	30	2.62	2.32	4.11	3.02
	45	3.45	2.53	3.94	3.31
0,15	60	2.80	2.79	4.23	3.27

Lampiran 5. Data Pengamatan Warna H

Perlakuan		Ulangan			Rata-Rata
Konsentrasi Enzim (%)	Lama Inkubasi (menit)	1	2	3	
0	0	18.96	19.37	9.00	15.78
	30	20.32	24.95	9.60	18.29
	45	29.65	18.83	17.12	21.87
0,05	60	15.37	9.59	34.59	19.85
	30	25.75	27.93	19.60	24.43
	45	19.57	28.34	29.10	25.67
0,10	60	35.44	33.80	28.61	32.62
	30	31.81	13.94	39.16	28.30
	45	32.52	19.44	23.90	25.29
0,15	60	28.59	31.08	29.77	29.81

Lampiran 6. Data Pengamatan Kadar Protein Terlarut

Perlakuan		Ulangan			Rata-Rata
Konsentrasi Enzim (%)	Lama Inkubasi (menit)	1	2	3	
0	0	5.36	9.03	1.61	5.33
	30	2.26	8.00	1.88	4.05
0,05	45	1.17	6.91	7.56	5.21
	60	7.82	8.55	2.36	6.24
0,10	30	2.86	6.83	3.52	4.40
	45	2.99	8.62	5.46	5.69
	60	4.41	9.53	6.25	6.73
0,15	30	1.48	7.61	4.32	4.47
	45	3.63	8.50	6.08	6.07
	60	9.77	6.5	6.98	7.75

Lampiran 7 Data Pengamatan Kadar Air

Perlakuan		Ulangan			Rata-Rata
Konsentrasi Enzim (%)	Lama Inkubasi (menit)	1	2	3	
0	0	60.58	57.66	61.03	59.76
	30	56.42	58.56	59.52	58.17
0,05	45	54.57	56.69	59.85	57.04
	60	55.92	59.82	57.82	57.85
0,10	30	57.69	57.29	60.27	58.42
	45	60.34	54.81	59.26	58.14
	60	56.71	56.50	57.11	56.77
0,15	30	61.83	57.80	60.26	59.96
	45	56.68	61.72	58.65	59.02
	60	59.1	57.58	58.33	58.34

Lampiran 8. Data Pengamatan Tekstur Organoleptik

Perlakuan		Ulangan			Rata-Rata
Konsentrasi Enzim (%)	Lama Inkubasi (menit)	1	2	3	
0	0	2	2	2.4	2.13
0,05	30	3.11	2.33	2.20	2.55
	45	3.11	2.67	3.00	2.93
	60	3.44	3.00	4.20	3.55
0,10	30	4.00	2.50	3.00	3.17
	45	3.56	3.00	3.20	3.25
	60	3.22	3.83	4.20	3.75
0,15	30	3.22	3.33	4.00	3.52
	45	3.44	3.50	4.60	3.85
	60	3.67	4.17	4.40	4.08

Lampiran 9. Data Pengamatan Warna Organoleptik

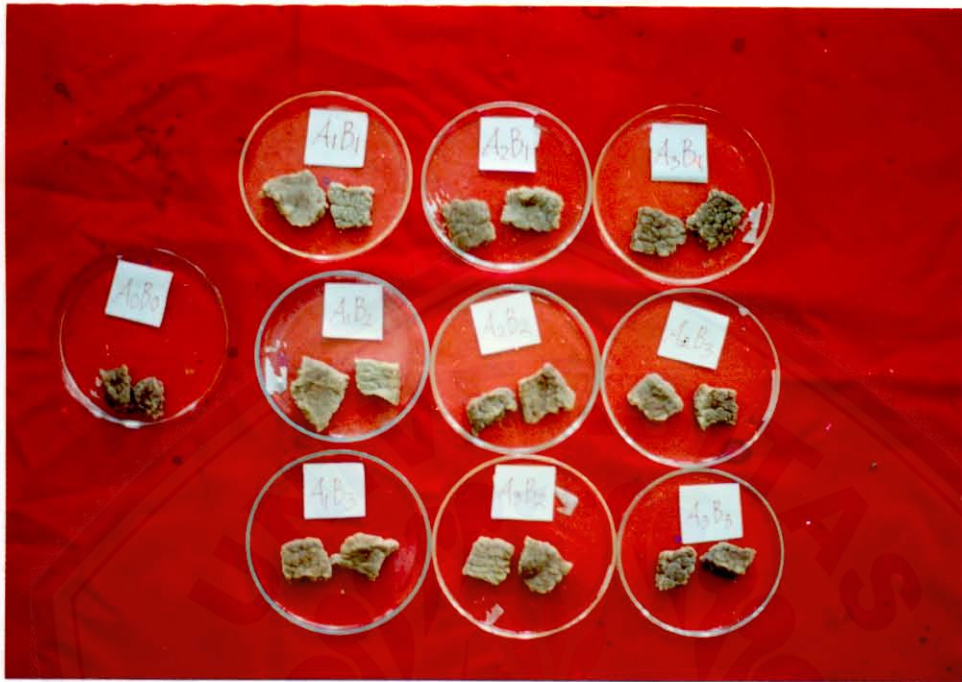
Perlakuan		Ulangan			Rata-Rata
Konsentrasi Enzim (%)	Lama Inkubasi (menit)	1	2	3	
0	0	2	1.5	1.4	1.63
0,05	30	3.78	2.33	2.40	2.84
	45	3.33	2.83	2.80	2.99
	60	3.67	3.83	3.20	3.57
0,10	30	4.33	3.17	3.40	3.63
	45	3.82	3.83	3.80	3.82
	60	4.22	3.67	4.00	3.96
0,15	30	4.00	3.33	3.60	3.64
	45	3.67	3.50	4.20	3.79
	60	3.78	3.83	4.2	3.94

Lampiran 10. Data Pengamatan Kekuatan Tarikan dengan Gigi

Perlakuan		Ulangan			Rata-Rata
Konsentrasi Enzim (%)	Lama Inkubasi (menit)	1	2	3	
0	0	2.22	2.67	2.2	2.36
	30	2.44	2.33	2.20	2.32
	45	2.22	2.33	2.80	2.45
0,05	60	2.67	2.83	3.80	3.10
	30	3.56	3.33	3.20	3.36
	45	3.67	3.67	3.20	3.51
0,10	60	3.56	3.67	3.80	3.68
	30	2.67	3.50	3.20	3.12
	45	2.78	3.50	3.60	3.29
0,15	60	3.11	4.17	4.2	3.83



Lampiran 11. Foto-foto Penelitian



Gambar 14. Perbedaan Warna Daging Pasca Inkubasi pada Larutan Enzim Protease Biduri (*Calotropis gigantea*)



Gambar 15. Perbedaan Warna Larutan Enzim Protezse Biduri (*Calotropis gigantea*) Pasca Inkubasi