



**ISOLASI EKSTRAK KASAR ENZIM BROMELIN DARI EMPULUR
NANAS (*Ananas comosus*, L) MENTAH SERTA APLIKASINYA
TERHADAP PROTEIN IKAN LEMURU (*Sardinella sp.*)**

S K R I P S I

**Diajukan Untuk Memenuhi Persyaratan Penyelesaian Program Sarjana Sains
Jurusan Kimia Pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Jember**



Angka :
Mata Pelajaran :
Materi :
No. Induk :
: Hadiah
Pembelian
: Tgl, 12 SEP 2003
S
Klass
574.19
YUN
i

Oleh :

Lutfi Yuniasari

971810301086

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2003**

MOTTO

" Tuntutlah ilmu, karena jika kamu seorang kaya maka ilmu itu memperindah anda dan jika anda miskin maka ilmu itu memelihara anda"

(Ali bin Abi Thalib ra.)

" Allah meninggikan orang-orang yang beriman diantara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan dengan beberapa derajat"

(Q. S. Mujaadalah : 11)

PERSEMBAHAN

Skripsi ini kupersembahkan untuk

1. Allah Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang.
2. Ayah dan Ibu yang selalu berdoa, memberikan dorongan semangat dan dukungan dalam setiap langkahku.
3. Kakakku yang selalu memberikan dukungan semangat dalam setiap usahaku dan adikku yang selalu menyayangiku.
4. Teman-teman tim Protease (Yuni, Dian, Yulia, dan Prima) untuk kerjasama dan dukungannya.
5. Teman-teman angkatan '97 atas kebersamaannya dalam suka maupun duka.
6. Almamater tercinta.

DEKLARASI

Skripsi ini berisi hasil kerja atau penelitian mulai bulan Nopember 2002 sampai bulan Pebruari 2003 di laboratorium biomolekuler dan laboratorium biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember. Bersama ini, saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri kecuali jika disebutkan sumbernya dan skripsi ini belum pernah diajukan pada institusi lain.

Jember, Juli 2003

Lutfi Yuniasari



ABSTRAK

“Isolasi Ekstrak Kasar Enzim Bromelin dari Empulur Nanas (*Ananas comosus*, L) Mentah serta Aplikasinya terhadap Protein Ikan Lemuru (*Sardinella sp.*)”, Lutfi Yuniasari, 971810301086, Skripsi, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan, Universitas Jember.

Isolasi ekstrak kasar enzim bromelin dari empulur nanas (*Ananas comosus*, L) mentah serta aplikasinya terhadap protein ikan lemuru (*Sardinella sp*) telah dilakukan. Tujuan penelitian ini adalah mempelajari ekstraksi dan uji aktivitas enzim bromelin kasar dari empulur nanas serta hasil hidrolisisnya terhadap protein ikan lemuru. Enzim bromelin kasar diekstrak, dan dilanjutkan dengan fraksinasi kemudian diuji aktivitasnya. Fraksi dengan aktivitas tertinggi diinkubasikan pada ikan lemuru. Hasil hidrolisis protein diuji dengan metode formol untuk mengetahui prosentase protein terlarut dan metode elektroforesis untuk mengetahui pemotongan pita-pita protein ikan lemuru hasil hidrolisis. Hasil penelitian diperoleh rendemen tertinggi pada fraksi 40-80% sebesar 0,020 gr/mL. Aktifitas tertinggi pada fraksi 40-80% sebesar 0,115 unit. Prosentase protein terlarut maksimal terjadi pada waktu inkubasi 5 hari sebesar 7,06%. Hal ini juga dijelaskan dengan pemotongan pita-pita protein hasil elektroforegram. Hasil elektroforegram dijelaskan bahwa semakin lama waktu inkubasi, hidrolisis ikan lemuru semakin meningkat, terlihat pada potongan pita-pita protein semakin lama jarak pita-pita proteinnya semakin bertambah.

Kata kunci : enzim bromelin kasar, hidrolisis protein, elektroforesis

PENGESAHAN

Telah dipertahankan di depan tim penguji dan diterima oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam pada

Hari : **RABU**

Tanggal : **09 SEP 2003**

Tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam


Tim Penguji

Ketua



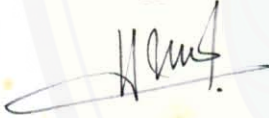
A. A. Istri Ratnadewi, S. Si, M. Si
NIP. 132 162 523

Sekretaris



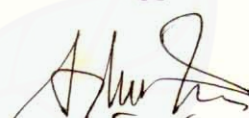
drh. Wuryanti Handayani, M. Si
NIP. 131 459 744

Anggota



Asnawati, S.Si, M.Si
NIP. 132 240 146

Anggota




I. Nyoman Adi Winata, S.Si, M.Si
NIP. 132 206 030

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Jember




Ir. Sumadi, M. S
NIP. 130 368 784

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini. Skripsi yang berjudul "Isolasi Ekstrak Kasar Enzim Bromelin dari Empulur Nanas Mentah (*Ananas comosus*, L) serta Aplikasinya terhadap Protein Ikan Lemuru (*Sardinella sp*)" ini diajukan guna memenuhi salah satu syarat kelulusan di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Dalam penyusunan skripsi ini penulis banyak mendapat bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Bapak Ir. Sumadi, M.S selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.
2. Ibu drh. Wuryanti Handayani, M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.
3. Ibu Anak Agung Istri Ratnadewi, S.Si, M.Si dan Ibu drh. Wuryanti Handayani, M.Si., selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan bantuan dan pengarahan sejak penelitian berlangsung hingga tersusunnya skripsi ini.
4. Ibu Asnawati, S.Si, M. Si dan Bapak I. Nyoman Adi Winata, S.Si, M.Si selaku Dosen Penguji yang telah memberikan petunjuk dan saran.
5. Bapak Ir. Neran, M. Kes selaku Kepala Laboratorium Biokimia dan Bapak Bambang Sugiharto, Ph. D selaku Kepala Laboratorium Biologi Molekuler beserta staf atas bantuan yang diberikan selama melakukan penelitian.
6. Semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah membantu pelaksanaan dan penyusunan skripsi ini.

Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat bagi semua pihak yang memerlukannya.

Jember, Juli 2003

Penulis

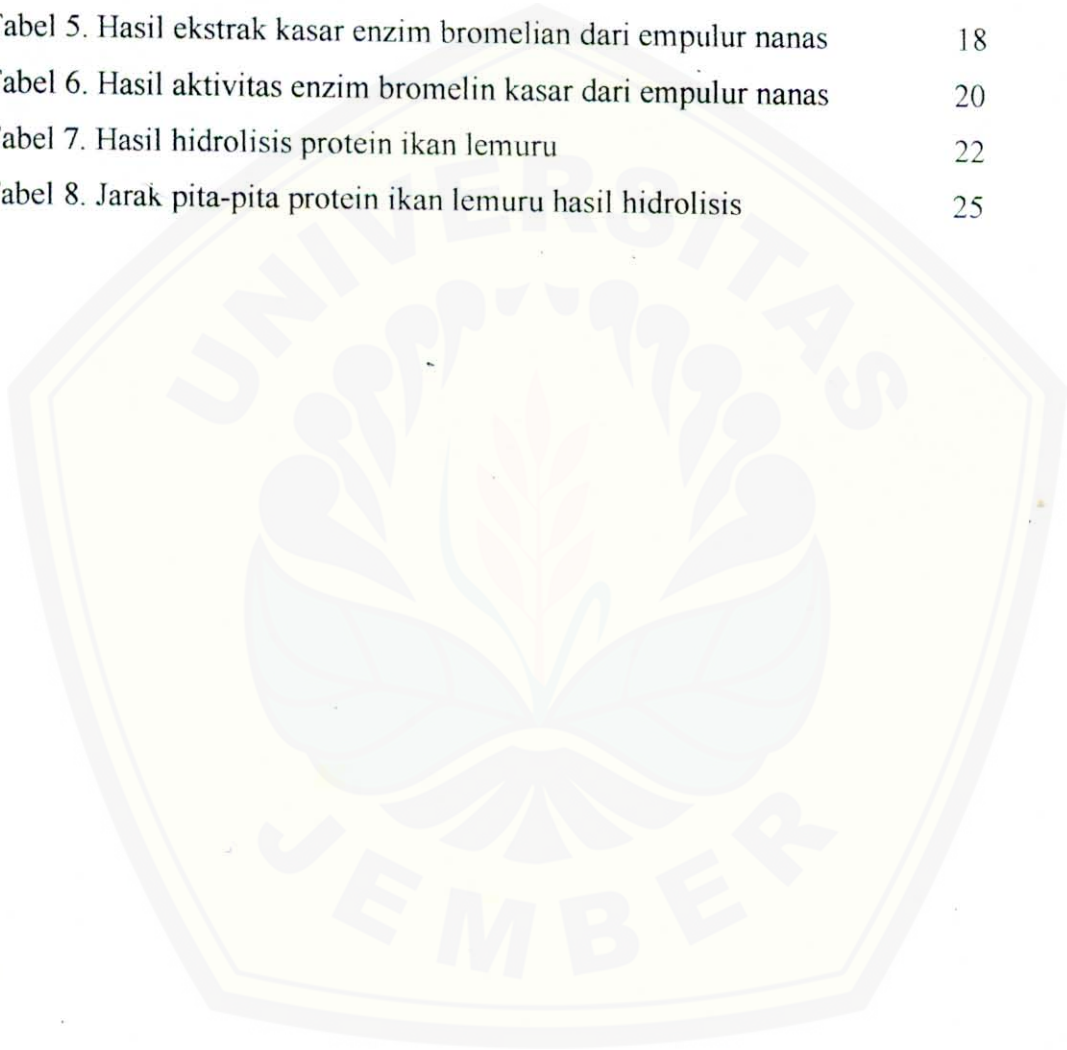
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN MOTTO	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN DEKLARASI	iv
HALAMAN ABSTRAK	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
HALAMAN KATA PENGANTAR	vii
HALAMAN DAFTAR ISI	viii
HALAMAN DAFTAR TABEL	x
HALAMAN DAFTAR GAMBAR	xi
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	1
1.3 Batasan Masalah	2
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Taksonomi Tanaman Nanas	4
2.2 Enzim Bromelin	5
2.3 Aktivitas Enzim Bromelin	6
2.4 Ikan Lemuru	7
2.5 Protein	8
2.6 Elektroforesis	9
2.7 Titrasi Formol	10

III. METODOLOGI	11
3.1 Tempat penelitian.....	11
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	11
3.2.1 Alat.....	11
3.2.1 Bahan.....	11
3.3 Metode Penelitian.....	11
3.3.1 Ekstraksi dan Fraksinasi Enzim Bromelin Kasar dari Empulur Nanas.....	13
3.3.2 Penentuan Aktivitas Enzim Bromelin terhadap substrat kasein.....	14
3.3.3 Penentuan Pengaruh Enzim Bromelin pada Proses Hidrolisis Ikan Lemuru	15
a. Hidrolisis Protein Terlarut Ikan Lemuru	15
b. Elektroforesis	16
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	18
4.1 Ekstrak Enzim Bromelin Kasar dari Empulur Nanas	18
4.2 Aktivitas Enzim Bromelin Kasar	19
4.3 Pengaruh Enzim Bromelin pada Proses Hidrolisis Ikan Lemuru	21
4.3.1 Hidrolisis Protein Terlarut Ikan Lemuru (Metode Formol).....	22
4.3.2 Elektroforegram Pita-pita Protein Ikan Lemuru Hasil Hidrolisis.....	23
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	27
5.1 Kesimpulan	27
5.2 Saran.....	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN-LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

	Hal.
Tabel 1. Kandungan gizi buah nanas segar tiap 100 gram buah	5
Tabel 2. Kandungan Bromelin pada tanaman nanas	6
Tabel 3. Komposisi kimia ikan lemuru tiap 100 gram ikan	7
Tabel 4. Komposisi penentuan aktivitas enzim	14
Tabel 5. Hasil ekstrak kasar enzim bromelian dari empulur nanas	18
Tabel 6. Hasil aktivitas enzim bromelin kasar dari empulur nanas	20
Tabel 7. Hasil hidrolisis protein ikan lemuru	22
Tabel 8. Jarak pita-pita protein ikan lemuru hasil hidrolisis	25



DAFTAR GAMBAR

	Hal.
Gambar 1. Struktur molekul asam amino	8
Gambar 2. Ikatan peptida antar asam amino	9
Gambar 3. Persamaan reaksi formaldehid	10
Gambar 4. Diagram alir penelitian	12
Gambar 5. Kurva hubungan lama inkubasi dengan kadar protein terlarut ikan lemuru	23
Gambar 6. Potongan reduksi merkaptioetanol	24
Gambar 7. Elektroforegram protein ikan lemuru yang terhidrolisis	25



1.1 Latar Belakang

Nanas (*Ananas comosus*, L) merupakan tanaman asli berasal dari Brazilia, Argentina dan Paraguay. Nanas tergolong famili Bromeliaceae yang bersifat terestial (tumbuh di tanah dengan menggunakan akarnya). Sekitar 850 spesies dari famili Bromeliaceae hidup secara epifit. Diantara spesies tersebut hanya nanas yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Buah nanas dapat dikonsumsi dalam keadaan segar atau dijadikan produk olahan, misalnya buah kalengan, manisan, jam jelly, sari buah dan beberapa produk lain (Sukatiningsih, 1997).

Menurut Lisdiana dan Widyaningsih, buah nanas dibagi menjadi tiga bagian, yaitu kulit buah, daging buah dan hati buah. Jumlah bagian yang dapat dimakan sekitar 53% dan jumlah kalori dari buah nanas adalah 52 kalori/100 gram bagian dapat dimakan (Sukatiningsih, 1997).

Buah nanas mengandung enzim bromelin. Enzim bromelin merupakan enzim proteolitik yakni enzim yang mampu menghidrolisa molekul protein besar menjadi molekul lebih kecil dan sederhana. Bromelin ini terdapat pada kulit, daging buah dan empulur (Hardani, 1991).

Ikan lemuru merupakan salah satu produk perikanan terbesar di Jawa Timur dibandingkan ikan lainnya, yaitu $\pm 38653,9$ ton per hari. Berdasarkan hasil penelitian, ternyata daging ikan mempunyai komposisi kimia yang terdiri dari air (60% – 84%), protein (18% - 30%), lemak (0,1% - 22%), karbohidrat (0% - 0,1%), dan sisanya vitamin dan mineral (Hestiningrum, 1999). Kandungan proteinnya sekitar 20 gram dalam 100 gram ikan (Unus, 1992). Walaupun produksinya tinggi, namun ikan lemuru ini mudah busuk dan rusak jika disimpan dalam waktu yang lama. Kerusakan ini berkaitan erat dengan penanganan yang kurang baik dan kurangnya industri perikanan yang dapat memanfaatkan produksi yang melimpah (Suprihno, 2002).

Salah satu cara yang telah dilakukan untuk mengatasi penanganan ikan lemuru adalah pengolahan menjadi kecap ikan. Salah satu cara pengolahan kecap

ikan secara enzimatis. Pengolahan ikan secara enzimatis lebih praktis, karena tidak memerlukan waktu yang lebih lama. Enzim yang digunakan dalam pengolahannya digunakan enzim proteolitik (Suprihno, 2002).

Dilain pihak empulur nanas pemanfaatannya sangat kurang, umumnya dibuang sebagai limbah. Limbah nanas berkisar 6,48 persen dari berat buah nanas dan perlu pengolahan yang bermanfaat. Empulur nanas merupakan salah satu sumber enzim bromelin (Indrawati, 1983). Enzim ini dapat digunakan untuk menghidrolisis ikan lemuru. Dan hasil hidrolisis ikan nantinya digunakan sebagai bahan pembuat kecap ikan. Dari hal diatas berarti dua kelemahan yaitu limbah empulur nanas dan limbah produk ikan lemuru dapat diatasi (Praptiningsih, 1989).

Berdasarkan uraian tersebut di atas, maka pada penelitian ini akan dilakukan isolasi ekstrak kasar enzim bromelin yang bersumber dari empulur nanas mentah, selanjutnya dilakukan pemisahan protein untuk mendapatkan fraksi-fraksi protein. Fraksi-fraksi protein tersebut kemudian diukur aktivitasnya, dan menentukan bagaimana pengaruh ekstrak kasar enzim bromelin terhadap proses hidrolisis protein ikan lemuru.

1.2 Rumusan Masalah

Yang menjadi masalah dari penelitian ini adalah :

1. Berapakah hasil ekstraksi enzim bromelin kasar dari empulur nanas ?
2. Berapakah aktivitas enzim bromelin hasil fraksinasi ?
3. Berapakah kadar protein terlarut hasil hidrolisis protein ikan lemuru oleh ekstrak enzim bromelin kasar ?
4. Bagaimanakah hasil hidrolisis protein ikan lemuru oleh ekstrak enzim bromelin kasar dengan menggunakan elektroforesis Gel Poliakrilamid Sodium Dodesil Sulfat (SDS-PAGE) ?

1.3 Batasan Masalah

1. Enzim protease yang digunakan adalah ekstrak kasar enzim bromelin dari empulur nanas mentah.
2. Ikan yang digunakan adalah ikan lemuru segar.

1.4 Tujuan Penelitian

1. Menentukan ekstraksi enzim bromelin kasar dari empulur nanas.
2. Menentukan besar aktivitas enzim bromelin hasil fraksinasi.
3. Menentukan kadar protein terlarut hasil hidrolisis protein ikan lemuru oleh ekstrak enzim bromelin kasar.
4. Menentukan sub unit protein hasil hidrolisis protein ikan lemuru oleh ekstrak enzim bromelin kasar dengan menggunakan elektroforesis Gel Poliakrilamid Sodium Dodesil Sulfat (SDS-PAGE).

1.5 Manfaat Penelitian

Dari penelitian yang dilakukan, diharapkan peneliti dapat mengetahui bagaimana ekstraksi enzim bromelin kasar dari empulur nanas. Selain itu memberikan informasi kepada masyarakat bahwa ikan lemuru yang dihidrolisis dengan enzim bromelin kasar dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan kecap ikan.

2.1 Taksonomi Tanaman Nanas

Dalam tatanama atau sistematika (taksonomi) tumbuhan, nanas diklasifikasikan sebagai berikut :

- Kingdom : Plantae (tumbuh-tumbuhan)
Divisi : Spermatophyta (tumbuhan berbiji)
Kelas : Angiospermae (berbiji tertutup)
Ordo : Farinosae (Bromeliales)
Famili : Bromeliaceae
Genus : *Ananas*
Spesies : *Ananas comosus* (L.)

Kerabat dekat spesies nanas cukup banyak, terutama nanas liar yang biasanya dijadikan tanaman hias, misalnya *A. bracteatus* (Lindl.) Schultes, *A. fritzmuelleri*, *A. erectifolius* L.B. Smith, dan *A. ananassoides* (Bak.) L.B. Smith (Rukmana, 1996).

Tanaman nanas berbentuk semak dan hidupnya bersifat tahunan. Susunan tubuh tanaman nanas terdiri dari bagian utama meliputi : akar, batang, daun, bunga, buah dan tunas-tunas (Rukmana, 1996).

Nanas merupakan buah majemuk yang terbentuk dari gabungan 100 – 200 bunga. Buah majemuk umumnya membentuk sebuah “gadu” besar, bulat panjang atau bulat telur. Bekas putik bunga menjadi “mata” buah nanas seperti yang dikenal selama ini ukuran, bentuk, rasa dan warna buah sangat beragam tergantung varietasnya. Buah dapat dipanen sekitar 5 – 6 bulan setelah berbunga. Di bagian atas terdapat mahkota yang dapat digunakan untuk memperbanyak tanaman (Sukatiningih, 1997).

Rasa buah nanas adalah manis sampai agak masam menyegarkan, sehingga disukai oleh masyarakat luas. Disamping itu, buah nanas mengandung gizi yang cukup tinggi, seperti yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan gizi buah nanas segar tiap 100 gram buah

Kandungan Gizi (nutrisi)	Jumlah
Kalori	52,00 Kal.
Protein	0,40 gram
Lemak	0,20 gram
Karbohidrat	16,00 gram
Fosfor	11,00 mgram
Zat besi	0,30 mgram
Vitamin A	130,00 S.I
Vitamin B1	0,08 mgram
Vitamin C	24,00 mgram
Air	85,30 gram
Bagian dapat dimakan (Bdd)	53,00 %

Sumber : Rukmana, 1996

2.2 Enzim Bromelin

Buah nanas mengandung enzim bromelin, yaitu suatu enzim protease yang dapat menghidrolisa protein, proteosa atau peptida, sehingga dapat digunakan untuk melunakkan daging (Rukmana, 1996). Menurut Tanti Indrawati (1983), bromelin merupakan enzim proteolitik yang berasal dari buah nanas (*Ananas comosus*, L). Sebagai enzim proteolitik, bromelin mampu memecah molekul-molekul protein menjadi bentuk asam amino. Enzim bromelin dapat diekstraksi dari batang nanas yang disebut *stem bromelin* atau dapat pula diekstraksi dari buah nanas dan disebut *fruit bromelin* (Hardani, 1993).

Varietas *Ananas comosus*, merupakan sumber enzim proteolitik. Protease yang diisolasi dari famili Bromeliaceae disebut bromelin. Hampir semua bagian tanaman famili Bromeliaceae mengandung enzim proteolitik pada batang, buah, dan daun. Konsentrasi enzim dipengaruhi oleh umur dan bagian buah (Meggy, 1992).

Menurut Winarno (1983), bromelin empulur termasuk golongan glikoprotein yaitu mengandung satu bagian oligosakarida pada tiap molekul yang berikatan secara kovalen dengan rantai polipeptida enzim tersebut. Enzim bromelin pada empulur ini mempunyai keaktifan terhadap gugus sulfhidril (SH) dan gugus ini merupakan tempat aktifitas hidrolisa katalitiknya (Hardani, 1993).

Tabel 2. Kandungan bromelin pada tanaman nanas

Bagian tanaman	Prosentase (%)
Buah utuh masak	0,06 – 0,08
Daging buah masak	0,08 – 0,125
Kulit buah	0,05 – 0,075
Tangkai	0,04 – 0,06
Batang	0,10 – 0,60
Buah utuh mentah	0,04 – 0,06
Daging buah mentah	0,05 – 0,07

Sumber : Maggy, 1992

2.3 Aktivitas Enzim Bromelin

Aktivitas enzim bromelin dipengaruhi oleh beberapa hal diantaranya adalah : tingkat kematangan buah, bagian buah, konsentrasi dan waktu. Semakin matang buah maka enzim bromelin dalam buah tersebut makin kurang aktif. Hal ini disebabkan pada proses pematangan buah terjadi pembentukan senyawa tertentu. Disamping itu buah masak menyebabkan enzim terdenaturasi atau mengalami perubahan konformasi struktur akibatnya keaktifan enzimnya berkurang (Hardani, 1993).

Aktifitas enzim bromelin optimum pada pH 6,5 dimana enzim mempunyai konformasi yang mantap dan juga mempunyai aktivitas yang maksimum. Apabila pH yang digunakan terlalu tinggi atau terlalu rendah akan terjadi beberapa perubahan yaitu denaturasi protein yang kecepatan katalisnya menurun. Pada pH rendah enzim yang bermuatan negatif (E^-) akan terprotonasi dan muatan negatif hilang. Reaksi yang terjadi adalah :



sedangkan pada pH tinggi SH^+ (sulfhidril) pada enzim bromelin akan terionisasi dan muatan positifnya hilang :



2.4 Ikan Lemuru (*Sardinella sp*)

Ikan lemuru mempunyai kandungan protein 15% - 20% dan kadar lemak sebesar 1% - 24%. Kadar lemak ikan lemuru sangat bervariasi sebagai akibat dari perbedaan sifat biologis ikan, seperti ukuran, jenis makanan, musim serta zat pengotor perairan dimana ikan itu hidup (Moeljanto, 1992)

Kandungan protein produk ikan satu setengah kali lebih tinggi daripada hewan pemakan daging. Ada dua keunggulan dari protein ikan yaitu mengandung jaringan ikat yang sedikit dan komposisi asam amino yang lengkap (Syarif dan Irawati, 1988).

Tabel 3. Komposisi kimia ikan lemuru tiap 100 gram ikan

Komponen	Jumlah (gram)
Air	76
Protein	20
Lemak	3
Kalsium (Ca)	100 m
Fosfor (P)	1 m
Vitamin B ₁	0,05 m
Vitamin A	100 SI*
Besi	1 m

Sumber : Anonymus (1981)

* : Satuan Internasional

Komposisi ikan sangat bervariasi, hal ini merupakan refleksi dari perbedaan kandungan lemaknya, yaitu antara 1% - 25%. Ikan yang mengandung lemak lebih

dari 5% biasanya dagingnya lebih banyak mengandung pigmen, sedangkan ikan dengan kadar lemak rendah dagingnya berwarna putih (Winarno, 1994).

2.5 Protein

Protein adalah suatu zat makanan yang sangat penting bagi tubuh manusia yaitu sebagai zat pembangun, bahan bakar, dan zat pengatur. Sebagai bahan pembangun, protein merupakan bahan pembentuk jaringan-jaringan baru yang terjadi di dalam tubuh, terutama pada masa pertumbuhan. Protein juga mengatur berbagai proses di dalam tubuh, baik langsung maupun tidak langsung, misalnya enzim, hormon, antibodi dan lain-lain (Poedjiadi, 1994). Protein merupakan suatu polipeptida yang mempunyai berat molekul yang sangat bervariasi, berkisar antara 5000 bagi protein kecil sampai jutaan atau lebih, pada protein dengan rantai polipeptida yang panjang (Lehninger, 1995).

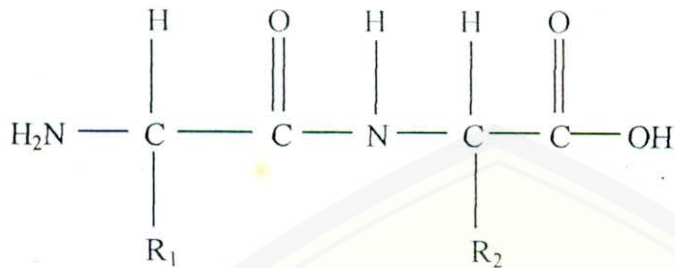
Bila suatu protein dihidrolisa dengan asam alkali atau enzim akan dihasilkan campuran asam-asam amino. Sebuah molekul asam amino terdiri dari sebuah gugus amino, gugus karboksil, atom hidrogen dan gugus R yang terikat pada sebuah atom C yang dikenal sebagai α (Winarno, 1992). Struktur molekul asam amino dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Struktur molekul asam amino (Winarno, 1992).

Molekul protein tersusun dari sejumlah asam amino yang saling berikatan satu sama lain. Ikatan antara asam amino yang satu dengan gugus karboksil dari asam amino yang lain dengan mengeluarkan satu molekul air, ikatan ini sering disebut ikatan peptida (Arbianto, 1996). Gugus karboksil suatu asam amino

berkaitan dengan gugus amino dari molekul asam amino lain akan menghasilkan dipeptida. Kemudian gugus asam amino dan karboksil bebas dari peptida tersebut dapat bereaksi lagi dengan asam-asam amino lainnya membentuk polipeptida. Ikatan peptida tersebut dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Ikatan peptida antar asam amino (Page, 1997).

2.6 Elektroforesis

Elektroforesis digunakan untuk memisahkan protein berdasarkan tanda dan jumlah muatan listrik pada gugus R dan gugus terminal amino serta terminal karboksil yang bermuatan. Pada setiap pH tertentu, suatu campuran protein akan mengandung beberapa gugus yang bermuatan total negatif, beberapa yang bermuatan total positif dan beberapa yang tidak bermuatan. Jika campuran ini ditempatkan di dalam medan listrik, maka protein bermuatan positif akan bergerak menuju elektrode bermuatan negatif, dan protein bermuatan total negatif akan bergerak menuju elektrode bermuatan positif, serta protein yang tidak bermuatan tidak akan bergerak. Molekul protein dengan densitas muatan yang relatif tinggi akan bergerak menuju elektrode secara lebih cepat dibandingkan dengan protein yang memiliki densitas muatan lebih rendah (Whitaker, 1994). Selain itu, metode elektroforesis juga dapat digunakan untuk menentukan berat molekul (Copeland, 1993).

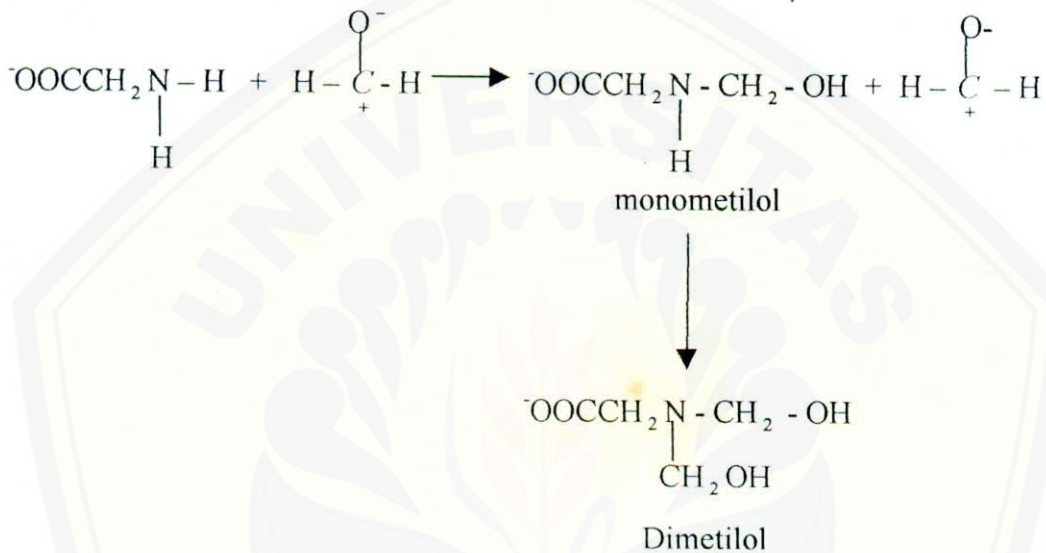
Metode elektroforesis yang sering digunakan adalah SDS-PAGE, dimana sampel protein mengalami denaturasi sehingga akan terpecah menjadi sub unit-unitnya. SDS-PAGE memanfaatkan pembentukan gel sebagai medium pemisah, yang terbuat dari polimerisasi akrilamid dan bis-akrilamid berbagai konsentrasi.

2.7 Titrasi Formol

Prinsip dasar dari titrasi formol adalah reaksi kesetimbangan asam-basa dan menghasilkan mono/dimetil-ol. Titrasi formol digunakan untuk menentukan kadar protein terlarut dalam sampel.



Pada saat basa positif ion yang terprotonasi sempurna diubah menjadi ion dipolar netral, jika ditambahkan formaldehid maka reaksi yang terjadi seperti yang ditunjukkan pada gambar 3.



Gambar 3. Persamaan reaksi formaldehid (Fessenden, 1986)



III. METODOLOGI

3.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biomolekuler dan Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember, sejak bulan Nopember 2002 sampai Pebruari 2003.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

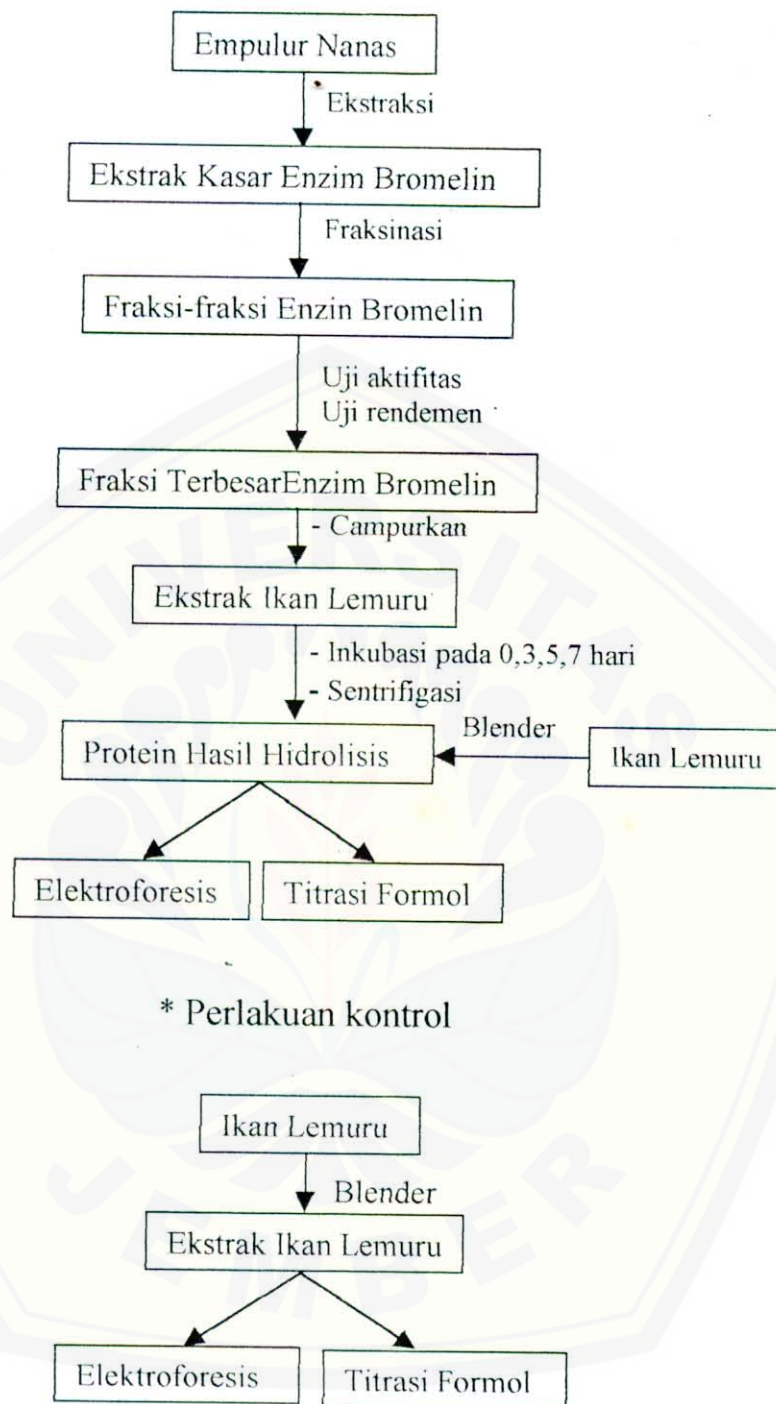
Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: labu erlemeyer, labu ukur, neraca analitik, pipet volume, pipet tetes, tabung reaksi, gelas kimia, pipet *Mohr*, pipet mikro, vortex, blender, kertas saring, kain kasa, stopwatch, pH meter, spektrofotometer VIS, shaker water bath, oven, sentrifugasi dingin, elektroforesis gel poliakrilamid sodium dodesil sulfat, freezer.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan lemuru (*Sardinella sp*) yang diperoleh dari tempat pelelangan ikan, empulur nanas mentah berumur 6 bulan, dan bahan-bahan kimia yaitu $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, TCA, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, Kasein, Tirosin, Folin, NH_4Cl , CaCl_2 , NaOH , serta bahan-bahan kimia yang digunakan dalam elektroforesis adalah ammonium persulfat (APS), tetraetilmetilendiamina (TEMED), gliserol, *bromophenol blue* (BPB) metil alkohol 70%, *coomassie brilliant blue* (CBB), Tris HCL, glisin, 2-merkaptoetanol, akrilamida, N',N'-bis-metilene akrilamid dan akuades.

3.3 Metode Penelitian

Langkah-langkah dalam penelitian ini secara keseluruhan tergambar dalam diagram alir gambar 4.



Gambar 4. Diagram Alir Penelitian

Secara lebih terperinci langkah-langkah penelitian tersebut dapat diuraikan sebagai berikut :

3.3.1 Ekstraksi dan Fraksinasi Enzim Bromelin Kasar dari Empulur Nanas

Metoda ekstraksi dilakukan berdasarkan metode Praptiningsih (1989). Sebanyak 100 gram empulur nanas dipotong kecil-kecil dan ditambahkan 100mL larutan buffer fosfat pH 7, kemudian diblender dan disaring. Setelah itu filtratnya disentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm pada suhu 4⁰C selama ± 15 menit sampai terbentuk dua lapisan (supernatan dan endapan). Supernatan yang dihasilkan disebut ekstrak kasar enzim bromelin yang selanjutnya difraksinasi.

Tahap fraksinasi adalah : berdasarkan volume supernatan yang dihasilkan saat ekstraksi dapat ditentukan jumlah ammonium sulfat yang digunakan untuk mengendapkan protein. Untuk fraksi 0 – 40% ditambahkan ammonium sulfat sebanyak 226 g/L larutan, fraksi 40 – 80% ditambahkan 258 g/L larutan, dan fraksi 80 – 100% ditambahkan 139 g/L larutan. Pada saat penambahan ammonium sulfat, supernatan dimasukkan dalam gelas kimia yang diletakkan dalam tabung yang diberi es batu (supaya suhu tetap dingin). Kemudian ammonium sulfat ditambahkan sedikit demi sedikit dengan menggunakan pengaduk magnetik. Hasil yang diperoleh disentrifugasi pada suhu 4⁰C selama ± 15 menit dengan kecepatan 7500 rpm sehingga menghasilkan supernatan dan sedimen. Sedimennya kemudian ditimbang dan ditambahkan 50 mL buffer fosfat (pH 7) yang disebut dengan fraksi 0 – 40%. Sedangkan supernatannya diperlakukan sama untuk menghasilkan fraksi 40 – 80% dan 80 – 100%. Hasil pengamatan ekstrak kasar enzim bromelin digunakan untuk tahap berikutnya.

Pengukuran Rendemen terhadap volume larutan menggunakan rumus :

$$R = \frac{\text{berat} \cdot \text{endapan}}{\text{vol. pelarut}}$$

3.3.2 Penentuan Aktivitas Enzim Bromelin terhadap substrat kasein

Penentuan aktivitas ini berdasarkan metode Bergmeyer (Hasnan, 1991), untuk menentukan besarnya aktivitas enzim hasil fraksinasi, maka yang perlu dilakukan adalah seperti yang tertera dalam tabel 4.

Tabel 4. Komposisi Penentuan Aktivitas Enzim

	Blanko (mL)	Standar (mL)	Sampel (mL)
Buffer fosfat (pH 7)	1,0	1,0	1,0
Substrat kasein (0,5%)	1,0	1,0	1,0
Enzim dalam CaCl ₂ (2 mM)	-	-	0,2
Tirosin standar	-	0,2	-
Akuades	0,2	-	-
Inkubasi pada suhu 37 ⁰ C selama 10 menit			
TCA (0,1M)	2,0	2,0	2,0
CaCl ₂ (2 mM)	-	-	0,2
Enzim dalam CaCl ₂ (2 mM)	0,2	0,2	-
Inkubasi pada suhu 37 ⁰ C selama 10 menit dan sentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit			
Filtrat (setelah disentrifugasi)	1,5	1,5	1,5
Na ₂ CO ₃ (0,4 M)	5,0	5,0	5,0
Pereaksi folin (1: 2)	1,0	1,0	1,0
Inkubasi pada suhu 37 ⁰ C selama 20 menit dan kemudian ukur absorbannya pada 578nm			

Pengukuran unit aktivitas ekstrak kasar enzim bromelin menggunakan rumus :

$$\text{Unit aktivitas} = \frac{\text{Abs.spl} - \text{Abs.blk}}{\text{Abs.std} - \text{Abs.blk}} \times \text{faktor pengenceran (fp)} \times \frac{1}{\text{waktu}}$$

3.3.3 Pengaruh Enzim Bromelin pada Proses Hidrolisis Ikan Lemuru

Menentukan pengaruh ekstrak kasar enzim bromelin pada proses hidrolisis ikan lemuru dengan variasi lama inkubasi ini berdasarkan metode enzimatik (Suprihno, 2002).

Sebanyak 100 gram daging ikan lemuru ditambahkan 200 mL akuades dan diblender. Kemudian 10 gram ikan lemuru halus dan tambahkan ekstrak kasar enzim bromelin (sesuai uji aktivitas terbesar hasil fraksinasi) dengan perbandingan 1 : 2 terhadap berat ikan lemuru. Untuk kontrol, 10 gram ikan lemuru halus tidak ditambahkan ekstrak kasar enzim bromelin. Kemudian ditambahkan NaCl 20% dari berat ikan untuk menghambat pertumbuhan bakteri /mikroorganisme, dan diinkubasi pada suhu 37⁰C (kecuali kontrol) dengan lama inkubasi 0, 3, 5 dan 7 hari. Selesai inkubasi, sampel dipanaskan selama 3 menit untuk menghentikan reaksi enzimatik dan kemudian disentrifugasi selama 20 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Selanjutnya filtrat hasil hidrolisis tersebut ditentukan kadar protein terlarutnya dengan metode titrasi formol dan menentukan sub unit proteinnya dengan metode elektroforesis SDS-PAGE.

a. Hidrolisis Protein Terlarut Ikan Lemuru

Penelitian tahap ini dilakukan berdasarkan metode titrasi Formol dalam Sudarmadji (1984), digunakan untuk mengetahui kadar protein terlarut.

Untuk membuat blanko terdiri dari 1 mL akuades; 0,02 mL K-oksalat jenuh (K-oksalat : air = 1 : 3); 0,05 mL Phenolptalein 1%; dan 0,1 mL formaldehid 4%, kemudian dititrasi dengan NaOH 0,1 N (V1) sampai berwarna merah jambu.

Pengujian sampel terdiri dari 0,5 mL sampel (hasil hidrolisis ikan lemuru); 1mL akuades; 0,02 mL K-oksalat jenuh (K-oksalat : air = 1 : 3); dan 0,05 mL Phenolptalein 1%, kemudian dititrasi dengan NaOH 0,1 N (V2) sampai berwarna merah jambu dan ditambahkan 0,1 mL formaldehid 40%, kemudian dititrasi kembali dengan NaOH 0,1 N (V3) sampai tidak terjadi perubahan warna.

Kadar protein terlarut dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Nitrogen terlarut} = \frac{V1.N1 - V3.N3}{\text{beratsampel}} \times 14,008 \times 100\%$$

$$\% \text{ Protein terlarut} = \% \text{ N} \times \text{faktor konversi} (6,25)$$

b. Elektroforesis

Pada tahap ini dilakukan menggunakan elektroforesis Gel Poliakrilamid Sodium Dodesil Sulfat (SDS-PAGE) untuk mengetahui pita-pita protein hasil hidrolisis ikan lemuru dengan metode elektroforesis. Elektroforesis gel poliakrilamid sodium dodesil sulfat dilakukan dengan metode Sambrook yang dimodifikasi (Ratnadewi, 2001).

1. Penyiapan Gel Elektroforesis SDS-PAGE

Untuk gel atas (*stacking gel*) 4% pH 6,8 dengan mencampurkan 0,665 mL akrilamid 30%; Akuades steril 3,05 mL; 2,5 mL Tris-HCl 0,5 M pH 6,8; 50 μ L 10% (w/v) Natrium Dodesil Sulfat; 25 μ L Ammonium persulfat dan 2 μ L Tetraetilmetilendiamine (TEMED). Bahan diaduk dan dimasukkan ke dalam *Glass plate*. Untuk gel bawah (*separating gel*) 12,5% pH 8,8 dengan mencampurkan 4,0 mL akrilamid 30%; 2,5 Tris-HCl 0,5 M pH8,8; 100 μ L 10% (w/v) Natrium Dodesil Sulfat; 3,35 mL akuades steril; 50 μ L 10% Ammonium persulfat dan 5 μ L TEMED, aduk dan masukkan dalam *Glass plate*. Pembuatan gel dilakukan dengan menuangkan gel bawah ke dalam *Glass plate* yang telah dirangkai sebelumnya. Setelah gel bawah memadat, gel atas dituang di atas gel bawah dan dipasang "sisir" untuk cetakan sumur tempat sampel.

2. Preparasi Sampel

Sebelum sampel protein ditempatkan dalam sumur gel, terlebih dahulu didenaturasi dengan mendidihkannya dengan buffer sampel (lampiran 1) yang telah dipersiapkan terlebih dahulu selama 3 menit dan selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 3 menit

3. Perlakuan Sampel

Sebanyak 20 μ L sampel protein diinjeksikan ke dalam sumur-sumur gel elektroforesis. Elektroforesis dilakukan pada tegangan 15 Volt sampai warna biru *bromophenol blue* telah mencapai 0,5 cm dari bawah *separating gel*.

4. Pengecatan Protein

Setelah elektroforesis selesai, gel dimasukkan ke dalam larutan *staining* yang telah dipersiapkan terlebih dahulu (lampiran 1). Setelah 24 jam dalam larutan *staining*, gel dipindahkan ke dalam larutan *destaining* dan dilakukan berulang kali sampai warna biru pita protein pada gel terlihat jelas.





5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dari penelitian ini, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Metode ekstraksi enzim bromelin kasar dengan cara fraksinasi berdasarkan variasi konsentrasi ammonium sulfat dan menghasilkan rendemen untuk fraksi 0 - 40% sebesar 0,012 gr/mL, fraksi 40 - 80% sebesar 0,020 gr/mL (rendemen tertinggi) dan fraksi 80 - 100% sebesar 0,005 gr/mL.
2. Penentuan aktivitas ekstrak kasar enzim bromelin berdasarkan pengukuran absorbansi dan diperoleh aktivitas ekstrak kasar enzim bromelin untuk fraksi 0 - 40% sebesar 0,103 unit; fraksi 40 - 80% sebesar 0,115 unit (merupakan aktivitas tertinggi) dan fraksi 80 - 100% sebesar 0,063 unit.
3. Adanya perbedaan waktu inkubasi (0, 3, 5 dan 7 hari) dapat mempengaruhi prosentase protein terlarut. Prosentase protein terlarut tertinggi diperoleh pada waktu inkubasi 5 hari sebesar 0,706%; dengan asumsi selama inkubasi tidak terjadi kerusakan protein.
4. Waktu inkubasi dapat mempengaruhi jarak pita-pita protein hasil hidrolisis protein pada gel elektroforesis, semakin lama waktu inkubasi maka jarak pita-pita protein semakin bertambah sebab molekul proteinnya telah pecah menjadi molekul yang lebih sederhana.

5.2 Saran

Untuk penelitian lebih lanjut perlu dilakukan langkah-langkah sebagai berikut :

1. Pemurnian lanjutan untuk menghasilkan enzim bromelin murni.
2. Penentuan kondisi optimum enzim bromelin untuk perlakuan suhu, konsentrasi dan pH.
3. Penentuan aktivitas spesifik dari enzim bromelin.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1983. *Buku Petunjuk Teknis Pengalengan Ikan*. Jakarta : Direktur Jendral Perikanan
- Anwar, C. dkk. 1994. *Pengantar Praktikum Kimia Organik*. Yogyakarta : Depdikbud Universitas Gajah Mada.
- Arbianto, P. 1996. *Biokimia Konsep-konsep Dasar*. Bandung: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Proyek Pendidikan Tenaga Guru.
- Boyer, R. 1993. *Modern Experimental Biochemistry*. Second edition. California : The Benjamin/Cumming Publishing Company Inc.
- Clark Jr, J. M. 1964. *Experimental Biochemistry*. San Fransisco : W. H. Freeman and Company
- Copeland, R.A. 1993. *Methods for Protein Analysis*. Wilmington : Chapman & Hall.
- Fessenden, R. dan Fessenden, J. 1986. *Kimia Organik*. Terjemahan Aloysius dari *Organic Chemistry*. Jakarta : Erlangga.
- Hasnan, M. 1991. *Pengaruh Penggunaan Enzim Papain Selama Proses Hidrolisis Kecap Ikan*. Bogor : Skripsi Jurusan TPG FATETA Institut Pertanian Bogor.
- Hardani, D, P. 1991. *Laporan Penelitian : Pengaruh Perbandingan Berat Ikan Lemuru dengan Berat Bonggol Nanas dalam Pembuatan Kecap secara Non Fermentasi*. Jember : Fakultas Pertanian Universitas Jember.
- _____. 1993. *Laporan Penelitian : Pengaruh Lama Inkubasi dan Tingkat Kematangan Buah Nanas (*Ananas comusus, L*) sebagai Sumber Enzim Bromelin terhadap Rendemen dan Kualitas Minyak Kelapa yang Diolah secara Enzimatis*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan RI. Universitas Jember : Lembaga Penelitian Jember. 11 - 13
- Hestiningrum. 1999. *Studi Pengaruh Konsentrasi Antioksidan terhadap sifat Fisikokimia Tepung Ikan Lemuru (*Sardinella sp*) Selama Penyimpanan*. Jember : Fakultas Pertanian Universitas Jember.

- Indrawati. 1983. *Pembuatan KecapKeong Sawah dengan Menggunakan Enzim Bromelin*. Jakarta : Balai Pustaka.
- Lehninger, L.A. 1995. *Dasar-dasar Biokomia*. Jilid 1. Alih Bahasa Dr. Ir. Maggy Thenawidjaja. Jakarta : Penerbit Erlangga. 143
- Martoharsono dan Rahayu. 1992. *Enzymologi*. Yogyakarta : Yayasan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gajah Mada.
- Maggy, T. S. 1992. *Protease*. Bandung : Depdikbud Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor. 52
- Moeljanto. 1992. *Pengalengan Ikan, Penanganan Ikan Segar, Pengawetan dan Pengolahan Hasil Perikanan*. Jakarta : Penerbit Penebar Swadaya.
- Matthew, H. 1998. *Biochemistry*. America : The Benjamin/ Cumming Publising Company, Inc.
- Praptiningsih, Y. 1989. *Laporan Penelitian : Isolasi dan Pemurnian Enzim Bromelin dari Bonggol Nanas*. Jember : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. 4
- Poedjadi, A. 1994. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta : Universitas Indonesia Press.
- Page, S. D. 1997. *Prinsip-prinsip Biokimia*. Terjemahan Drs. R. Soendoro. Edisi Kedua. Jakarta : Erlangga.
- Rukmana, R. 1996. *Nanas, Budidaya dan Pascapanen*. Yogyakarta : Penerbit Kanisius. 17
- Ratnadewi, A. A. I. 2001. *Studi Ekspresi Mutan^{sup} 45 Hipersensitif Paromonisin dan Sensitif Temperatur Saccharomyces Cerevisiae dalam Tesis*. Bandung : Bidang Khusus Biokimia Jurusan Pascasarjana Institut Teknologi Bandung.
- Syarif, R. dan A. Irawati. 1986. *Pengetahuan Bahan untuk Industri Pertanian*. Jakarta : Mediyatama Sarana Perkasa.
- Sudarmadji, S. dkk. 1996. *Prosedur-Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Edisi ketiga. Yogyakarta : Penerbit Liberty.

- Sukatiningsih, M. S. 1997. *Pembuatan Sari Nanas Instan Menggunakan Pengering Beku (freeze Dryer) dengan Variasi Jenis dan Jumlah Bahan Pengisi*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan RI Universitas Jember Lembaga Penelitian : Jember. 7
- Santoso, A. 1997. *Pengaruh Konsentrasi Enzim Papain, Pengaruh Perdagangan terhadap Rendemen Minyak Ikan Lemuru (Sardinella longiceps) pada Isolasi secara Enzimatis*. Malang : Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.
- Suprihno. 2002. *Pengaruh Berat Buah Nanas [Ananas comusus Var. dulcis] dan Lama Inkubasi terhadap Kualitas Kecap Ikan yang Dibuat secara Enzimatis*. Jember : Program Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember. 2
- Unus, 1992. *Usaha Memperpanjang Daya Tahan Pindang Ikan Lemuru*. Jember : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- White, F. D. dan Delory, G. E. 1952. *A Course In Practical Biochemistry For Students of Medicine (Cameron And White)*. London : J & A. Churchill LTD.
- Whitaker, J. R. 1994. *Principles of Enzymologi For The Food Sciences*. New York : Marcell Dekker Inc.
- Winarno, F. G. 1992. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta : Gramedia.
- _____ 1994. *Sterilisasi Komersial Produk Pangan*. Jakarta : PT. Gramedia Pustaka Utama.
- _____ 1995. *Enzim Pangan*. Jakarta : PT. Gramedia Pustaka Utama.

Lampiran 1. Preparasi Larutan

Buffer fosfat 0,2 M pH 7

Sebanyak 6,9 gram $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ($M_r=137,99$) dilarutkan dengan akuades sampai 250 mL.

Sebanyak 8,9 gram $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ($M_r=177,99$) dilarutkan dengan akuades sampai 250 mL. Untuk membuat buffer fosfat 0,2 M pH 7 maka larutan $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ditambahkan pada larutan $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sampai pH mencapai pH 7 pada pH meter.

Kasein 20 mg/mL pH 7

Sebanyak 0,2 gram kasein *Hammerstin* ditambahkan 5 mL larutan NaOH 0,1 N dan diletakkan pada penangas sambil diaduk dengan pengaduk magnetik sampai kasein larut. Kemudian didinginkan dan ditambahkan larutan buffer fosfat 0,2 M pH 7 sampai 10 mL.

Larutan CaCl_2 2 mM

Sebanyak 0,011 gram CaCl_2 ($M_r=111$) dilarutkan dengan akuades sampai 50 mL.

Larutan Trikloro asetat 0,1 M

Sebanyak 0,818 gram Trikloro asetat ($M_r=163,5$) dilarutkan dengan akuades sampai 50 mL.

Larutan Na_2CO_3 0,4 M

Sebanyak 2,12 gram Na_2CO_3 ($M_r=106$) dilarutkan dengan akuades sampai 50 mL.

Larutan Folin (folin : akuades = 1:2)

Sebanyak 6 mL larutan folin cioulteau ditambahkan 2 mL akuades.

Larutan tirosin 5 mmol/L

Sebanyak 0,023 gram tirosin ($M_r=181$) ditambahkan dengan 12,5 mL larutan NaOH 0,1 N dan diletakkan pada penangas sambil diaduk dengan pengaduk magnetik sampai larut. Kemudian didinginkan dan ditambahkan akuades sampai 25 mL.

Larutan enzim bromelin kasar dalam CaCl_2 (1:2)

Sebanyak 0,4 mL enzim bromelin kasar ditambahkan 0,2 mL CaCl_2 2 mM

Larutan Kalium oksalat jenuh (1:3)

Sebanyak 1 mL larutan kalium oksalat jenuh ditambahkan 3 mL akuades

Larutan indikator phenolptalein 1% w/v

Sebanyak 0,5 gram phenolptalein dilarutkan dengan alkohol (etil alkohol) 70% sampai 50 mL

Larutan formaldehide 40 % v/v

Sebanyak 20 mL larutan formaldehide dilarutkan dengan akuades sampai 50 mL

Akrylamida/bis (30% w/v)

Sebanyak 29,2 gram akrylamida ditambahkan 0,8 gram N'N'-bis-methylene akrylamida dan dilarutkan dengan penambahan akuades steril sampai volume 100 mL

Tris HCL 1,5 M pH 8,8

Sebanyak 15 gram basa Tris ($M_r=122$) dilarutkan akuades steril sampai 50 mL. Kemudian ditambahkan 6 N HCL sedikit demi sedikit sampai pH 8,8 dengan menggunakan alat pH meter.

Tris HCL 0,5 M pH 6,8

Sebanyak 3 gram basa Tris dilarutkan akuades steril sampai volume 50 mL. Kemudian ditambahkan 6 N HCL sedikit demi sedikit sampai pH 6,8 dengan menggunakan alat pH meter.

Natrium Dodesil Sulfat 10% w/v

Sebanyak 2,5 gram Natrium Dodesil Sulfat dilarutkan akuades steril sampai volume 25 mL.

Buffer sampel

Sebanyak 1,9 mL akuades steril ditambahkan 0,5 mL *Tris HCl* pH 6,8; 0,4 mL glycerol; 0,8 mL 10% (w/v) Natrium Dodesil Sulfat; 0,2 mL 2-merkaptotanol; 0,2 mL 1% (w/v) *bromofenol blue*. Sampel dilarutkan dengan perbandingan 1 : 4 kemudian dipanaskan 95 °C selama 4 menit.

Buffer elektrode

Sebanyak 1,5 gram Basa Tris ditambahkan 7,2 gram glisin; 0,5 gram Natrium Dodesil Sulfat dan akuades steril sampai 100 mL. Disimpan pada 4°C. Untuk satu elektroforesis run melarutkan 10 mL 5X stock dengan 40 mL akuades steril.

Larutan *staining*

Sebanyak 20 mL metanol 40 % v/v ditambahkan 7,5 mL larutan asam asetat 15 % v/v dan 0,05 gram *coomasie brilliant blue* 0,1 % w/v.

Larutan *destaining*

Sebanyak 5 ml metanol 10 % v/v ditambahkan 3,72 mL larutan asam asetat 7,5 % v/v.

Lampiran 2. Tabel Konsentrasi Amonium Sulfat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

Fraksi (%)	% Fraksi Amonium Sulfat																
	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
0	106	134	164	194	226	258	291	326	361	398	436	476	516	559	603	650	697
5	79	108	137	166	197	229	262	296	331	368	405	444	484	526	570	615	662
10	53	81	109	139	169	200	233	266	301	337	374	412	452	493	536	581	627
15	26	54	82	111	141	172	204	237	271	306	343	381	420	460	503	547	592
20	0	27	55	83	113	143	175	207	241	276	312	349	387	427	469	512	557
25	0	0	27	56	84	115	146	179	211	245	280	317	355	395	436	478	522
30	0	0	28	56	86	117	148	181	214	249	285	323	362	402	445	488	533
35	0	0	28	57	87	118	151	184	218	254	291	329	369	410	453	496	541
40	0	0	29	58	89	120	153	187	222	258	296	335	376	418	461	504	548
45	0	0	29	58	89	120	153	187	222	258	296	335	376	418	461	504	548
50	0	0	29	58	89	120	153	187	222	258	296	335	376	418	461	504	548
55	0	0	29	58	89	120	153	187	222	258	296	335	376	418	461	504	548
60	0	0	29	58	89	120	153	187	222	258	296	335	376	418	461	504	548
65	0	0	29	58	89	120	153	187	222	258	296	335	376	418	461	504	548
70	0	0	29	58	89	120	153	187	222	258	296	335	376	418	461	504	548
75	0	0	29	58	89	120	153	187	222	258	296	335	376	418	461	504	548
80	0	0	29	58	89	120	153	187	222	258	296	335	376	418	461	504	548
85	0	0	29	58	89	120	153	187	222	258	296	335	376	418	461	504	548
90	0	0	29	58	89	120	153	187	222	258	296	335	376	418	461	504	548
95	0	0	29	58	89	120	153	187	222	258	296	335	376	418	461	504	548
100	0	0	29	58	89	120	153	187	222	258	296	335	376	418	461	504	548

Lampiran 3. Perhitungan Penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

Fraksi 0 – 40 %

$$B = \left(\frac{V}{1000} \times \% \right)$$

$$= \left(\frac{50}{1000} \times 226 \right)$$

$$= 11,3 \text{ g}$$

Fraksi 40 – 80 %

$$B = \left(\frac{V}{1000} \times \% \right)$$

$$= \left(\frac{50}{1000} \times 258 \right)$$

$$= 12,9 \text{ g}$$

Fraksi 80 – 100 %

$$B = \left(\frac{V}{1000} \times \% \right)$$

$$= \left(\frac{50}{1000} \times 139 \right)$$

$$= 6,95 \text{ g}$$

Lampiran 4. Data Absorbansi Dan Analisis Absorbansi

Data Absorbansi

Fraksi	Absorbansi		Absorbansi Sampel			Rerata Absorbansi			Rerata Absorbansi Sampel		
	Blanko	Standar	U 1	U 2	U 3	Blanko	Standar	U 1	U 2	U 3	
Bromelin kasar	0,724	1,145	0,958	0,952	0,956	0,712	1,140	0,959	0,957	0,956	
	0,718	1,140	0,960	0,857	0,958						
	0,722	1,135	0,958	0,961	0,955						
0 - 40 %	0,041	0,415	0,045	0,043	0,044	0,041	0,415	0,044	0,043	0,043	
	0,014	0,414	0,044	0,044	0,044						
	0,041	0,415	0,043	0,043	0,042						
40 - 80 %	0,050	0,482	0,051	0,050	0,054	0,050	0,481	0,055	0,051	0,053	
	0,050	0,477	0,056	0,052	0,053						
	0,050	0,483	0,058	0,051	0,052						
80 - 100 %	0,045	0,397	0,049	0,047	0,048	0,046	0,398	0,048	0,047	0,047	
	0,046	0,397	0,048	0,047	0,046						
	0,047	0,401	0,047	0,046	0,047						

Analisis Absorbansi

Fraksi	Astd-Abk	(Asmp-Abk) Sampel			Aktivitas Sampel			Rerata Aktivitas
		U 1	U 2	U 3	U 1	U 2	U 3	
Bromelin kasar	0,419	0,238	0,236	0,235	9,372	9,293	9,254	9,306
	0,374	0,003	0,002	0,002	0,132	0,088	0,088	0,103
	0,431	0,005	0,001	0,003	0,191	0,038	0,115	0,115
	0,352	0,002	0,001	0,001	0,094	0,047	0,047	0,063

Lampiran 5. Perhitungan Aktivitas Enzim Bromelin Kasar

Enzim Bromelin Kasar

$$a. \text{ Blanko} = \frac{0,724 + 0,718 + 0,722}{3} = 0,712$$

$$b. \text{ Standar} = \frac{1,145 + 1,140 + 1,135}{3} = 1,140$$

$$c. \text{ Sampel 1} = \frac{0,958 + 0,960 + 0,958}{3} = 0,959$$

$$\text{Sampel 2} = \frac{0,952 + 0,857 + 0,965}{3} = 0,957$$

$$\text{Sampel 3} = \frac{0,956 + 0,958 + 0,955}{3} = 0,956$$

$$d. \text{ Standar} - \text{Blanko} = 1,140 - 0,712 = 0,419$$

$$e. \text{ Sampel 1} - \text{Blanko} = 0,959 - 0,712 = 0,238$$

$$\text{Sampel 2} - \text{Blanko} = 0,957 - 0,712 = 0,236$$

$$\text{Sampel 3} - \text{Blanko} = 0,956 - 0,712 = 0,235$$

$$U_1 = \left(\frac{0,238}{0,419} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = 9,372$$

$$U_2 = \left(\frac{0,236}{0,419} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = 9,293$$

$$U_3 = \left(\frac{0,235}{0,419} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = 9,254$$

$$f. \text{ Jadi hasil akhir rata-rata} = \left(\frac{U_1 + U_2 + U_3}{3} \right)$$

$$= \frac{(9,372) + (9,293) + (9,254)}{3}$$

$$= 9,306$$

Fraksi 0 - 40%

$$a. \text{ Blanko} = \frac{0,041 + 0,042 + 0,041}{3} = 0,041$$

$$b. \text{ Standar} = \frac{0,415 + 0,414 + 0,415}{3} = 0,415$$

$$c. \text{ Sampel 1} = \frac{0,045 + 0,044 + 0,043}{3} = 0,044$$

$$\text{Sampel 2} = \frac{0,043 + 0,044 + 0,043}{3} = 0,043$$

$$\text{Sampel 3} = \frac{0,044 + 0,044 + 0,042}{3} = 0,043$$

$$d. \text{ Standar} - \text{Blanko} = 0,415 - 0,041 = 0,374$$

$$e. \text{ Sampel 1} - \text{Blanko} = 0,044 - 0,041 = 0,003$$

$$\text{Sampel 2} - \text{Blanko} = 0,043 - 0,041 = 0,002$$

$$\text{Sampel 3} - \text{Blanko} = 0,043 - 0,041 = 0,002$$

$$U_1 = \left(\frac{0,003}{0,374} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = 0,132$$

$$U_2 = \left(\frac{0,002}{0,374} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = 0,088$$

$$U_3 = \left(\frac{0,002}{0,374} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = 0,088$$

$$f. \text{ Jadi hasil akhir rata-rata} = \frac{U_1 + U_2 + U_3}{3}$$

$$= \frac{(0,132) + (0,088) + (0,088)}{3}$$

$$= 0,103$$

Fraksi 40 - 80 %

$$a. \text{ Blanko} = \frac{0,050 + 0,050 + 0,050}{3} = 0,050$$

$$b. \text{ Standar} = \frac{0,482 + 0,477 + 0,483}{3} = 0,481$$

$$c. \text{ Sampel 1} = \frac{0,051 + 0,056 + 0,058}{3} = 0,055$$

$$\text{Sampel 2} = \frac{0,050 + 0,052 + 0,051}{3} = 0,051$$

$$\text{Sampel 3} = \frac{0,054 + 0,053 + 0,052}{3} = 0,053$$

$$d. \text{ Standar - Blanko} = 0,481 - 0,050 = 0,431$$

$$e. \text{ Sampel 1 - Blanko} = 0,055 - 0,050 = 0,005$$

$$\text{Sampel 2 - Blanko} = 0,051 - 0,050 = 0,001$$

$$\text{Sampel 3 - Blanko} = 0,053 - 0,050 = 0,003$$

$$U_1 = \left(\frac{0,005}{0,431} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = 0,191$$

$$U_2 = \left(\frac{0,001}{0,431} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = 0,038$$

$$U_3 = \left(\frac{0,003}{0,431} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = 0,115$$

$$\text{Jadi hasil akhir rata-rata} = \frac{U_1 + U_2 + U_3}{3}$$

$$= \frac{(0,191) + (0,038) + (0,115)}{3}$$

$$= 0,115$$

Fraksi 80 -- 100 %

$$a. \text{ Blanko} = \frac{0,045 + 0,046 + 0,047}{3} = 0,048$$

$$b. \text{ Standar} = \frac{0,397 + 0,3974 + 0,401}{3} = 0,398$$

c. Sampel 1 = $\frac{0,049 + 0,048 + 0,047}{3} = 0,048$

Sampel 2 = $\frac{0,047 + 0,047 + 0,046}{3} = 0,047$

Sampel 3 = $\frac{0,048 + 0,046 + 0,047}{3} = 0,047$

d. Standar – Blanko = $0,398 - 0,046 = 0,352$

e. Sampel 1 – Blanko = $0,048 - 0,046 = 0,002$

Sampel 2 – Blanko = $0,047 - 0,046 = 0,001$

Sampel 3 – Blanko = $0,046 - 0,046 = 0,001$

$U_1 = \left(\frac{0,002}{0,352} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = 0,094$

$U_2 = \left(\frac{0,001}{0,352} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = 0,047$

$U_3 = \left(\frac{0,001}{0,352} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = 0,047$

f. Jadi hasil akhir rata-rata = $\frac{U_1 + U_2 + U_3}{3}$

= $\frac{(0,094) + (0,047) + (0,047)}{3}$

= 0,063

Lampiran 6. Data Standar Deviasi

Data Standar Deviasi

Fraksi	Sampel			Re-rata Sampel			Sampel - Re-rata			$(X_n - X_n)^2$			Standar Deviasi		
	X ₁	X ₂	X ₃	X	X	X	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁	X ₂	X ₃
Enzim Bromelin	0,958	0,952	0,956	0,959	0,957	0,956	-0,001	-0,005	0	0,1x10 ⁻⁵	2,5 x10 ⁻⁵	0	0,001	0,003	0
Kasar	0,960	0,857	0,958	0,959	0,957	0,956	0,001	-0,100	0,002	0,1x10 ⁻⁵	0,1x10 ⁻²	0,4 x10 ⁻⁵	0,001	0,001	0,001
	0,958	0,961	0,955	0,959	0,957	0,956	-0,001	0,004	-0,001	0,1x10 ⁻⁵	1,6 x10 ⁻⁵	0,1 x10 ⁻⁵	0,001	0,002	0,001
0 - 40 %	0,045	0,043	0,044	0,044	0,043	0,043	0,001	0	0,001	0,1 x10 ⁻⁵	0	0,1x10 ⁻⁵	0,001	0	0,001
	0,044	0,044	0,044	0,044	0,043	0,043	0	0,001	0,001	0	0,1x10 ⁻⁵	0,1x10 ⁻⁵	0	0,001	0,001
	0,043	0,043	0,042	0,044	0,043	0,043	-0,001	0	-0,001	0,1x10 ⁻⁵	0	0,1x10 ⁻⁵	0,001	0	0,001
40 - 80 %	0,051	0,050	0,054	0,055	0,051	0,053	0,001	0	0,001	0,1x10 ⁻⁵	0	0,1x10 ⁻⁵	0,001	0	0,001
	0,056	0,052	0,053	0,055	0,051	0,053	0	0,001	0,001	0	0,1x10 ⁻⁵	0,1x10 ⁻⁵	0	0,001	0,001
	0,058	0,051	0,052	0,055	0,051	0,053	-0,001	0	0,001	0,1x10 ⁻⁵	0	0,1x10 ⁻⁵	0,001	0	0,001
80-100%	0,049	0,047	0,048	0,048	0,047	0,047	0,001	0	0,001	0,1x10 ⁻⁵	0	0,1x10 ⁻⁵	0,001	0	0,001
	0,048	0,047	0,046	0,048	0,047	0,047	0	0	-0,001	0	0	0,1x10 ⁻⁵	0	0	0,001
	0,047	0,046	0,047	0,048	0,047	0,047	-0,001	-0,001	0	0,1x10 ⁻⁵	0,1x10 ⁻⁵	0	0,001	0,001	0

Lampiran 7. Perhitungan Standar Deviasi

Berdasarkan persamaan rumus standar deviasi

$$SD = \sqrt{\frac{\left(X_n - \bar{X}_n \right)^2}{n - 1}}$$

Enzim Bromelin Kasar

Untuk X₁ :

$$U_1 = \sqrt{\frac{(0,1 \times 10^{-5})^2}{2}} \quad U_2 = \sqrt{\frac{(0,1 \times 10^{-5})^2}{2}} \quad U_3 = \sqrt{\frac{(0,1 \times 10^{-5})^2}{2}}$$

$$= 0,001 \quad = 0,001 \quad = 0,001$$

Untuk X₂ :

$$U_1 = \sqrt{\frac{(2,5 \times 10^{-5})^2}{2}} \quad U_2 = \sqrt{\frac{(0,1 \times 10^{-5})^2}{2}} \quad U_3 = \sqrt{\frac{(1,6 \times 10^{-5})^2}{2}}$$

$$= 0,003 \quad = 0,001 \quad = 0,002$$

Untuk X₃ :

$$U_1 = \sqrt{\frac{(0)^2}{2}} \quad U_2 = \sqrt{\frac{(0,4 \times 10^{-5})^2}{2}} \quad U_3 = \sqrt{\frac{(0,1 \times 10^{-5})^2}{2}}$$

$$= 0 \quad = 0,001 \quad = 0,001$$

Fraksi 0 – 40 %

Untuk X₁ :

$$U_1 = \sqrt{\frac{(0,1 \times 10^{-5})^2}{2}} \quad U_2 = \sqrt{\frac{(0)^2}{2}} \quad U_3 = \sqrt{\frac{(0,1 \times 10^{-5})^2}{2}}$$

$$= 0,001 \quad = 0 \quad = 0,001$$

Untuk X₂ :

$$U_1 = \sqrt{\frac{(0)^2}{2}} \quad U_2 = \sqrt{\frac{(0,1 \times 10^{-5})^2}{2}} \quad U_3 = \sqrt{\frac{(0)^2}{2}}$$

$$= 0 \quad = 0,001 \quad = 0$$

Untuk X₃:

$$U_1 = \sqrt{\frac{(0,1 \times 10^{-5})^2}{2}} = 0,001$$

$$U_2 = \sqrt{\frac{(0,1 \times 10^{-5})^2}{2}} = 0,001$$

$$U_3 = \sqrt{\frac{(0,1 \times 10^{-5})^2}{2}} = 0,001$$

Fraksi 40 - 80 %

Untuk X₁:

$$U_1 = \sqrt{\frac{(0,1 \times 10^{-5})^2}{2}} = 0,001$$

$$U_2 = \sqrt{\frac{(0)^2}{2}} = 0$$

$$U_3 = \sqrt{\frac{(0,1 \times 10^{-5})^2}{2}} = 0,001$$

Untuk X₂:

$$U_1 = \sqrt{\frac{(0)^2}{2}} = 0$$

$$U_2 = \sqrt{\frac{(0,1 \times 10^{-5})^2}{2}} = 0,001$$

$$U_3 = \sqrt{\frac{(0)^2}{2}} = 0$$

Untuk X₃:

$$U_1 = \sqrt{\frac{(0,1 \times 10^{-5})^2}{2}} = 0,001$$

$$U_2 = \sqrt{\frac{(0,1 \times 10^{-5})^2}{2}} = 0,001$$

$$U_3 = \sqrt{\frac{(0,1 \times 10^{-5})^2}{2}} = 0,001$$

Fraksi 80 - 100 %

Untuk X₁:

$$U_1 = \sqrt{\frac{(0,1 \times 10^{-5})^2}{2}} = 0,001$$

$$U_2 = \sqrt{\frac{(0)^2}{2}} = 0$$

$$U_3 = \sqrt{\frac{(0,1 \times 10^{-5})^2}{2}} = 0,001$$

Untuk X₂:

$$U_1 = \sqrt{\frac{(0)^2}{2}} = 0$$

$$U_2 = \sqrt{\frac{(0)^2}{2}} = 0$$

$$U_3 = \sqrt{\frac{(0,1 \times 10^{-5})^2}{2}} = 0,001$$

Untuk X_3 :

$$U_1 = \sqrt{\frac{(0,1 \times 10^{-5})^2}{2}}$$

$$= 0,001$$

$$U_2 = \sqrt{\frac{(0,1 \times 10^{-5})^2}{2}}$$

$$= 0,001$$

$$U_3 = \sqrt{\frac{(0)^2}{2}}$$

$$= 0$$



Sampel 0 hari

$$\begin{aligned} \text{a. } V_2N_2 - V_3N_3 &= (82,4 \times 0,1) - (6,0 \times 0,1) \\ &= 8,24 - 0,6 \\ &= 7,6 \text{ mmol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{b. } \text{gr} &= 7,6 \text{ mmol} \times 14,008 \\ &= 107,2 \text{ mg} \\ &= 0,107 \text{ gr} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{c. } \%N &= \frac{0,107}{10} \times 100\% \\ &= 1,07 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{d. } \%P &= 1,07 \times 6,25 \\ &= 6,69 \% \end{aligned}$$

Sampel 3 hari

$$\begin{aligned} \text{a. } V_2N_2 - V_3N_3 &= (82,4 \times 0,1) - (4,0 \times 0,1) \\ &= 8,24 - 0,4 \\ &= 7,83 \text{ mmol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{b. } \text{gr} &= 7,83 \text{ mmol} \times 14,008 \\ &= 109,3 \text{ mg} \\ &= 0,109 \text{ gr} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{c. } \%N &= \frac{0,109}{10} \times 100\% \\ &= 1,09 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{d. } \%P &= 1,09 \times 6,25 \\ &= 6,81 \% \end{aligned}$$

Sampel 5 hari

$$\begin{aligned} \text{a. } V_2N_2 - V_3N_3 &= (82,4 \times 0,1) - (1,4 \times 0,1) \\ &= 8,24 - 0,14 \\ &= 8,09 \text{ mmol} \end{aligned}$$

Lampiran 8. Data Titrasi Protein Terlarut dan Analisis Titrasi Protein Terlarut

Data Titrasi Protein Terlarut

Nama	U_1	U_2	U_3	U
Blanko	82	82,2	83	82,4
Kontrol	6,3	6,7	8,0	7,0
Sampel 0 hari	5,4	6,1	6,6	6,0
Sampel 3 hari	3,8	4,0	4,0	4,0
Sampel 5 hari	1,0	1,3	2,0	1,4
Sampel 7 hari	5,1	4,0	6,6	5,2

Analisis Titrasi Protein Terlarut

Nama	% Nitr.	% Prot.
Kontrol	1,06	6,57
Sampel 0 hari	1,07	6,69
Sampel 3 hari	1,09	5,81
Sampel 5 hari	1,13	7,06
Sampel 7 hari	1,08	6,75

Lampiran 9. Perhitungan Protein Terlarut

Kontrol

$$a. \text{ Blanko} = \frac{82 + 82,2 + 83}{3} = 82,4$$

$$b. \text{ Kontrol} = \frac{6,3 + 6,7 + 8}{3} = 7$$

$$c. \text{ Sampel } 0' = \frac{5,4 + 6,1 + 4,3}{3} = 6,0$$

$$\text{Sampel } 3' = \frac{3,8 + 4,0 + 4,3}{3} = 4,0$$

$$\text{Sampel } 5' = \frac{1,0 + 1,3 + 2,0}{3} = 1,4$$

$$\text{Sampel } 7' = \frac{5,2 + 4 + 4,3}{3} = 4,5$$

$$d. \begin{aligned} V_2N_2 - V_3N_3 &= (82,4 \times 0,1) - (7,0 \times 0,1) \\ &= 8,24 - 0,7 \\ &= 7,540 \text{ mmol} \end{aligned}$$

$$e. \begin{aligned} \text{gr} &= \text{mol} \times \text{BM} (N=14,008) \\ &= 7,540 \times 14,008 \\ &= 105,62 \text{ mg} \\ &= 0,105 \text{ g} \end{aligned}$$

$$a. \begin{aligned} \% N &= \left(\frac{\text{gr}}{\text{gr ikan}} \times 100\% \right) \\ &= \frac{0,105}{10} \times 100\% \\ &= 1,051 \% \end{aligned}$$

$$b. \begin{aligned} \text{Faktor konversi} &= 6,25 \\ \% \text{ Protein} &= \% \text{ Nitrogen} \times 6,25 \\ &= 1,051 \times 6,25 \\ &= 6,571 \% \end{aligned}$$

b. $gr = 8,09 \text{ mmol} \times 14,008$
 $= 113,1 \text{ mg}$
 $= 0,113 \text{ gr}$

c. $\% N = \frac{0,113}{10} \times 100\%$
 $= 1,13 \%$

d. $\% P = 1,13 \% \times 6,25$
 $= 7,06 \%$

Sampel 7 hari

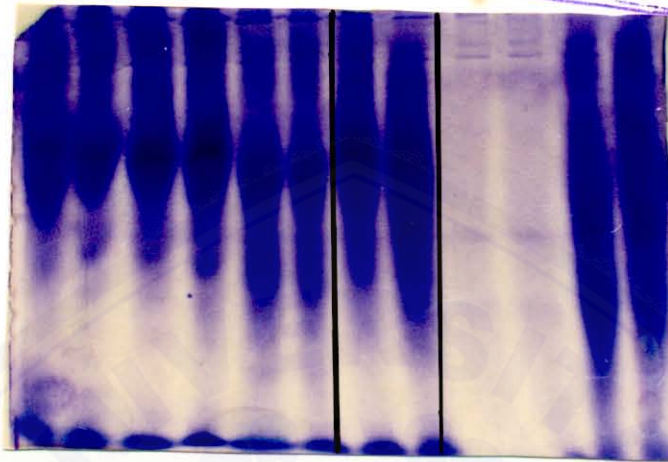
a. $V_2N_2 - V_3N_3 = (82,4 \times 0,1) - (5,2 \times 0,1)$
 $= 8,24 - 0,52$
 $= 7,72 \text{ mmol}$

b. $gr = 7,72 \text{ mmol} \times 14,008$
 $= 108,1 \text{ mg}$
 $= 0,108 \text{ gr}$

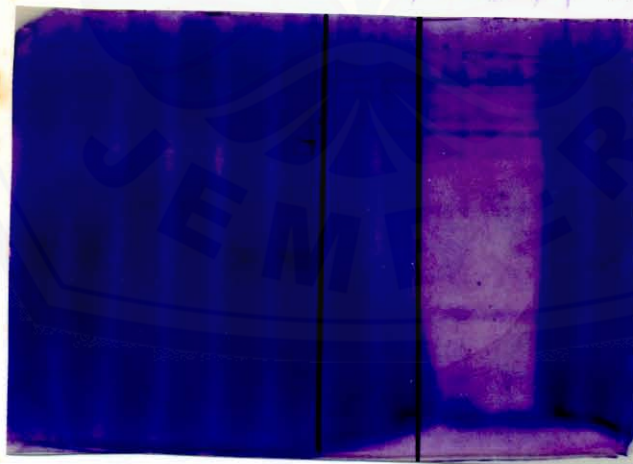
c. $\% N = \frac{0,108}{10} \times 100\%$
 $= 1,08 \%$

d. $\% P = 1,08 \times 6,25$
 $= 6,75 \%$

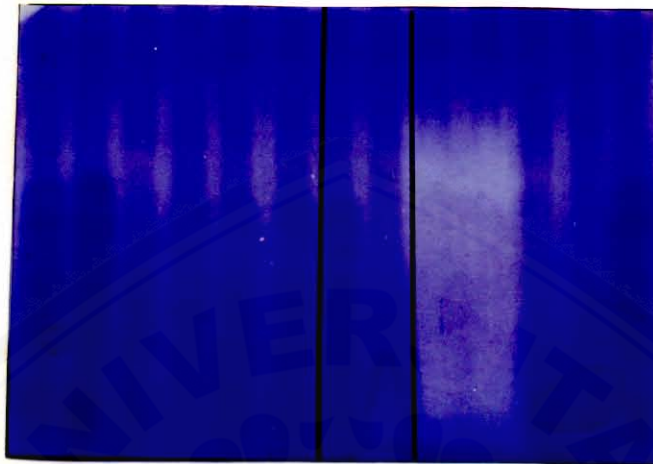
Lampiran 10. Elektroforegram



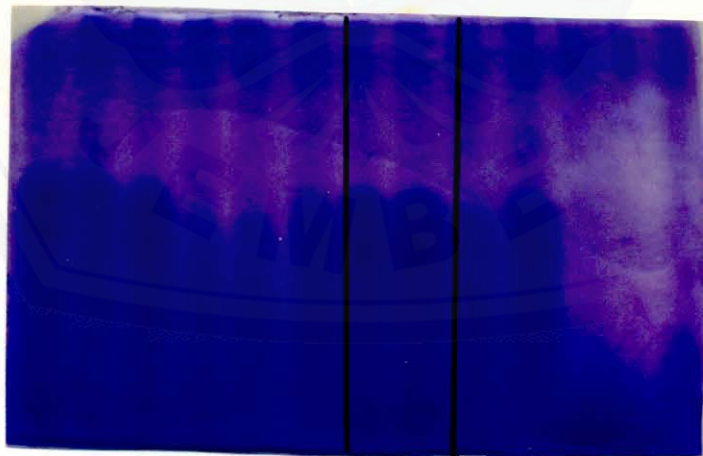
Gambar 1. Elektroforegram Protein Ikan Lemuru Terhidrolisis Enzim Bromelin Kasar pada Inkubasi 0 Hari



Gambar 2. Elektroforegram Protein Ikan Lemuru Terhidrolisis Enzim Bromelin Kasar pada Inkubasi 3 Hari



Gambar 3. Elektroforegram Protein Ikan Lemuru Terhidrolisis Enzim Bromelin Kasar pada Inkubasi 5 Hari



Gambar 4. Elektroforegram Protein Ikan Lemuru Terhidrolisis Enzim Bromelin Kasar pada Inkubasi 7 Hari