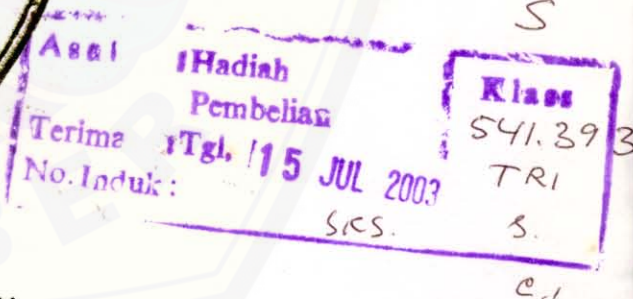




**STUDI AKTIVITAS EKSTRAK ENZIM BROMELIN
KASAR DARI DAGING BUAH NENAS (*Ananas
comosus*, L) TERHADAP HIDROLISIS
PROTEIN IKAN LEMURU
(*Sardinella* sp)**

S K R I P S I

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



Oleh :

Tri Wahyuni M.

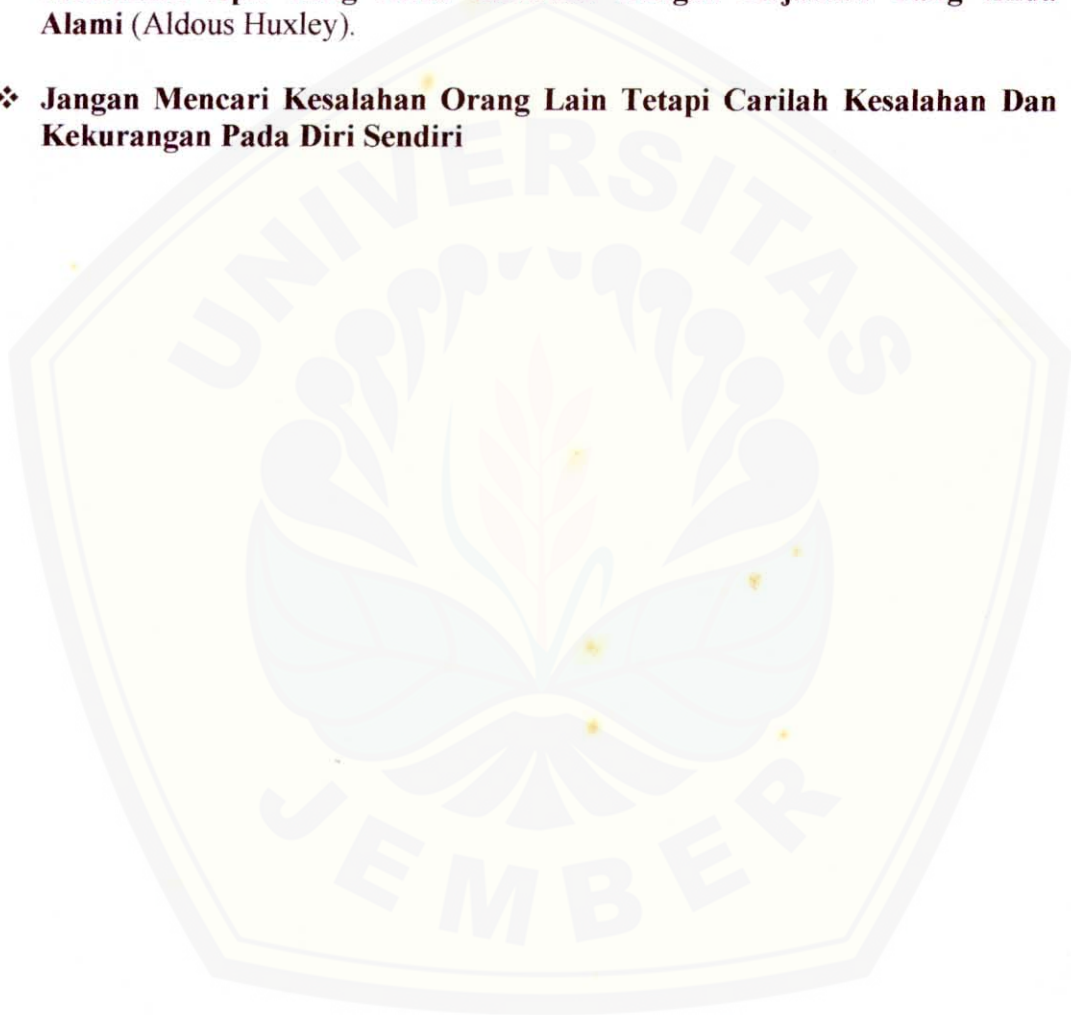
971810301111

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

JUNI 2003

MOTTO :

- ❖ **Manunggalna Estining Rasa Pikiran Ati Tumuju Ing Pengeran Udinen Tataran Ingkang Hinggil** (Saring Hadi Poernomo).
- ❖ **Tuntutlah Ilmu, Karena Jika Anda Seorang Kaya Maka Ilmu Itu Memperindah Anda Dan Jika Anda Miskin Maka Ilmu Itu Memelihara Anda** (Ali Bin Abi Thalibra).
- ❖ **Pengalaman Bukan Apa Saja Yang Telah Terjadi Pada Diri Anda, Melainkan Apa Yang Anda Lakukan Dengan Kejadian Yang Anda Alami** (Aldous Huxley).
- ❖ **Jangan Mencari Kesalahan Orang Lain Tetapi Carilah Kesalahan Dan Kekurangan Pada Diri Sendiri**



Skripsi Ini Saya Persembahkan Untuk :

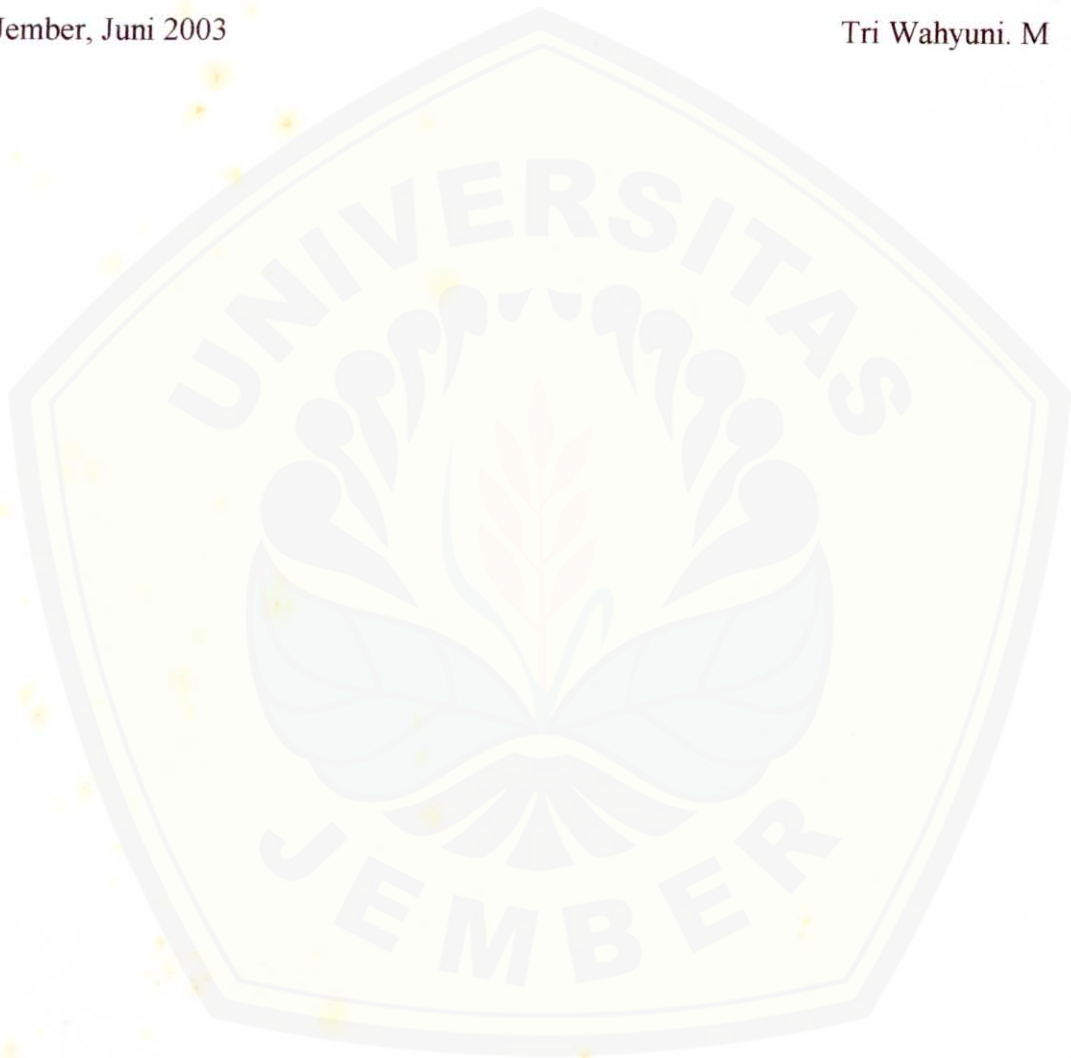
- ✧ **Tuhan Yang Maha Esa.**
- ✧ **Ayahanda Ir.Moeladi dan Ibunda Tercinta Sri Danarti yang Telah Mendidik dan Membesarkanku dengan Penuh Kasih Sayang dan Kesabaran.**
- ✧ **Saudara – saudaraku Mas Heri Supangkat Agus.P. S.E, Mas Budi Cahyana. S.P dan adikku Mulya Dharmawa serta Kartika Wijayatmi yang Memberi Semangat, dorongan dan Doa.**
- ✧ **Keluarga besar di KEDIRI yang selalu Memberi Semangat, Dorongan, dan Doanya.**
- ✧ **Mas Agung Febianto Wahyu.H. S.Sos Senantiasa Penuh Kasih Sayang dan Kesabaran, Baik dalam Suka Maupun Duka serta Doanya disetiap Langkahku.**
- ✧ **Adikku di Ekonomi (Muhroji dan ILHAM) yang selalu menghibur dan memberi semangat.**
- ✧ **Sahabatku Mahasiswa Kimia'97 (Elni, Lutfi, Naqib, Sugeng, Udin, Agus dkk) Terima Kasih atas Kebersamaannya.**
- ✧ **Teman – Teman Seperjuangan dalam Penelitian (Prima, Dian, dan Ulik) Terima Kasih atas Kebersamaan Dan Kerjasamanya.**
- ✧ **Serta Almamaterku**

DEKLARASI

Skripsi ini berisi hasil kerja/penelitian, mulai bulan Nopember 2002 sampai dengan bulan Februari 2003 di Laboratorium Biokimia dan Biomolukuler Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember. Bersama ini saya menyatakan bahwa isi skripsi ini adalah pekerjaan saya sendiri kecuali jika disebutkan sumbernya dan skripsi ini belum pernah diajukan pada instansi lain.

Jember, Juni 2003

Tri Wahyuni. M



ABSTRAK

Studi Aktivitas Ekstrak Enzim Bromelin Kasar Dari Daging Buah Nenas (*Ananas comosus, L*) Terhadap Hidrolisis Ikan Lemuru (*Sardinella sp*). Tri Wahyuini.M (971810301111) penelitian Februari 2003. Jurusan Kimia Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam

Studi aktivitas ekstrak enzim bromelin kasar dari daging buah nenas (*Ananas comosus, L*) terhadap hidrolisis ikan lemuru (*Sardinella sp*) telah dilaksanakan. Tujuan penelitian tersebut adalah ekstraksi enzim bromelin kasar dari daging buah nenas yang diaplikasikan untuk hidrolisis protein daging ikan lemuru. Enzim bromelin kasar hasil ekstrak awalnya difraksinasi. Fraksi selanjutnya diuji aktivitasnya. Fraksi dengan aktivitas tertinggi diinkubasi pada daging ikan lemuru supaya terhidrolisis. Hasil hidrolisis proteinnya diuji dengan metode formol (untuk mengetahui hidrolisis protein terlarut) dan gel elektroforesis (untuk mengetahui potongan sub unit protein akibat hidrolisis). Rendemen ekstrak enzim bromelin kasar tertinggi diperoleh dari fraksi 0 – 40 % sebesar $0,136 \times 10^{-1} \text{g}$ dan uji aktivitas tertinggi pada fraksi 80 – 100 % sebesar $2,831 \times 10^{-1}$ Unit. Kemudian waktu inkubasi hidrolisis protein terbesar dan maksimum terjadi pada hari ke 5. Pada hari tersebut diperoleh protein terlarut sebesar 6,993 % dan jarak sub unit protein dari gel atas semakin besar (letak potongan protein pada gel semakin turun)

Kata kunci : : Enzim bromelin, elektroforesis,

PENGESAHAN

Skripsi ini diterima oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Jember pada :

Hari :

Tanggal :

Tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

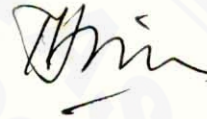
Tim Penguji

Ketua



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

Sekretaris



(Drs. Busroni, M.Si)
NIP. 131 945 805

Anggota 1



(Drs. Zulfikar, Ph.D)
NIP. 131 660 785

Anggota 2



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

Mengesahkan,
Dekan FMIPA UNEJ



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

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan taufik dan hidayah-NYA sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi dengan judul **Studi Aktivitas Ekstrak Bromelin Kasar dari Daging Buah Nenas Terhadap Hidrolisis Ikan Lemuru (*Sardinella sp.*)**.

Skripsi ini ditulis untuk melengkapi salah satu syarat untuk mencapai derajat Kesarjanaan pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Pada kesempatan ini dengan setulus hati penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada :

1. Bapak Ir. Sumadi, MS selaku Dekan Fakultas MIPA Universitas Jember.
2. Ibu drh. Wuryanti Handayani, M.Si selaku dosen Pembimbing Utama dan bapak Drs. Busroni, M.Si selaku dosen Pembimbing Anggota atas bantuan dan bimbingan selama penelitian dan penulisan skripsi ini.
3. Bapak Drs. Zulfikar, Ph.D dan ibu A.A.I. Ratnadewi, S.Si., M.Si selaku dosen penguji atas saran dan bimbingannya dalam penulisan skripsi ini.
4. Pimpinan dan Staf Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam Universitas Jember atas bantuan fasilitas dan kesempatan yang diberikan selama penelitian.
5. Teman – teman angkatan`97 di jurusan kimia dan pihak lain yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Teman – teman MP yang membantu penulis baik secara langsung atau tidak langsung dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari skripsi ini jauh dari sempurna, sehingga kritik dan saran sangat penulis harapkan. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberi manfaat dan sumbangan bagi Ilmu Pengetahuan

Jember, Juni 2003

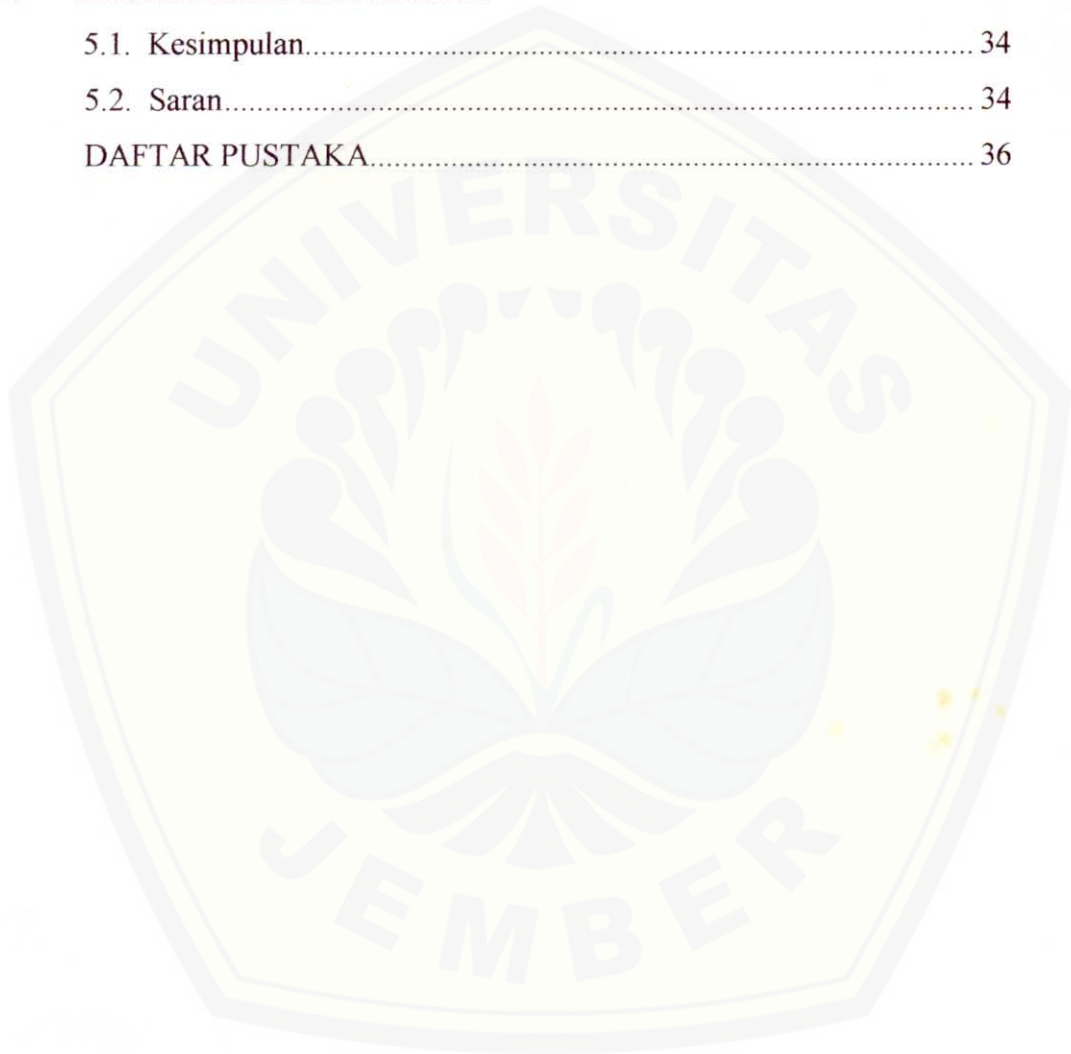
Penulis

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	ix
HALAMAN DAFTAR GAMBAR	x
HALAMAN DAFTAR GRAFIK	xi
HALAMAN DAFTAR LAMPIRAN	xii
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Enzim	3
2.1.1 Pengertian Enzim.....	3
2.1.2 Kelompok Enzim	3
2.1.3 Aktivitas Enzim	3
2.2 Protein	4
2.2.1 Pengertian Protein	4
2.2.2 Struktur Protein	5
2.2.3 Denaturasi Protein.....	5
2.2.4.Hidrolisis Protein.....	7
2.3 Ikan Lemuru	7
2.4 Enzim Bromelin	9

2.4.1 Enzim Bromelin Diperoleh dari Buah Nenas.....	9
2.4.2 Cara Bekerja Enzim Bromelin	9
2.5. Metode Formol.....	10
2.6. Elektroforesis	11
III. METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	14
3.1.1 Waktu Penelitian.....	14
3.1.2 Tempat Penelitian.....	14
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	14
3.2.1. Alat.....	14
3.2.2. Bahan	14
3.3. Metode Penelitian.....	15
3.3.1. Ekstraksi Enzim Bromelin Kasar dari Daging Buah Nenas	16
3.3.2. Penentuan Aktivitas Ekstrak Bromelin Kasar dari Daging Buah Nenas	16
3.3.3. Inkubasi Enzim Bromelin Kasar Terhadap Ikan Lemuru	17
3.3.4. Penentuan Hasil Hidrolisis Protein Ikan Lemuru.....	18
3.3.4.1 Penentuan Hasil Hidrolisis Ikan Lemuru dengan Titrasi Formol.....	18
3.3.4.2 Penentuan Hasil Hidrolisis Ikan Lemuru Dengan Elektroforesis Gel	18
3.3.4.2 a) Preparasi Gel dan Buffer Sampel Protein	19
3.3.4.2 b) Separasi	19
3.3.4.2.c) Identifikasi Protein (<i>Staining</i>).....	19
3.4 Metode Analisis.....	20
3.4.1 Penentuan Penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	20
3.4.2. Penentuan Aktivitas Enzim Bromelin Kasar.....	20
3.4.3 Penentuan Hidrolisis Terhadap Ikan Lemuru.....	20
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Ekstrak Enzim Bromelin Kasar Dari Daging Buah Nenas.....	22
4.2. Aktifitas Enzim Bromelin Kasar Dari Daging Buah Nenas.....	23

4.3. Hasil Hidrolisis Ikan Lemuru Menggunakan Enzim Bromelin	
Kasar.....	25
4.3.1 Protein Terlarut Hasil Hidrolisis Ikan Lemuru	25
4.3.2 Hasil Hidrolisis Protein Dengan Metode Formol.....	28
4.3.3 Potongan Protein Ikan Lemuru Menggunakan Enzim Bromelin	
Kasar.....	31
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Kesimpulan.....	34
5.2. Saran.....	34
DAFTAR PUSTAKA.....	36

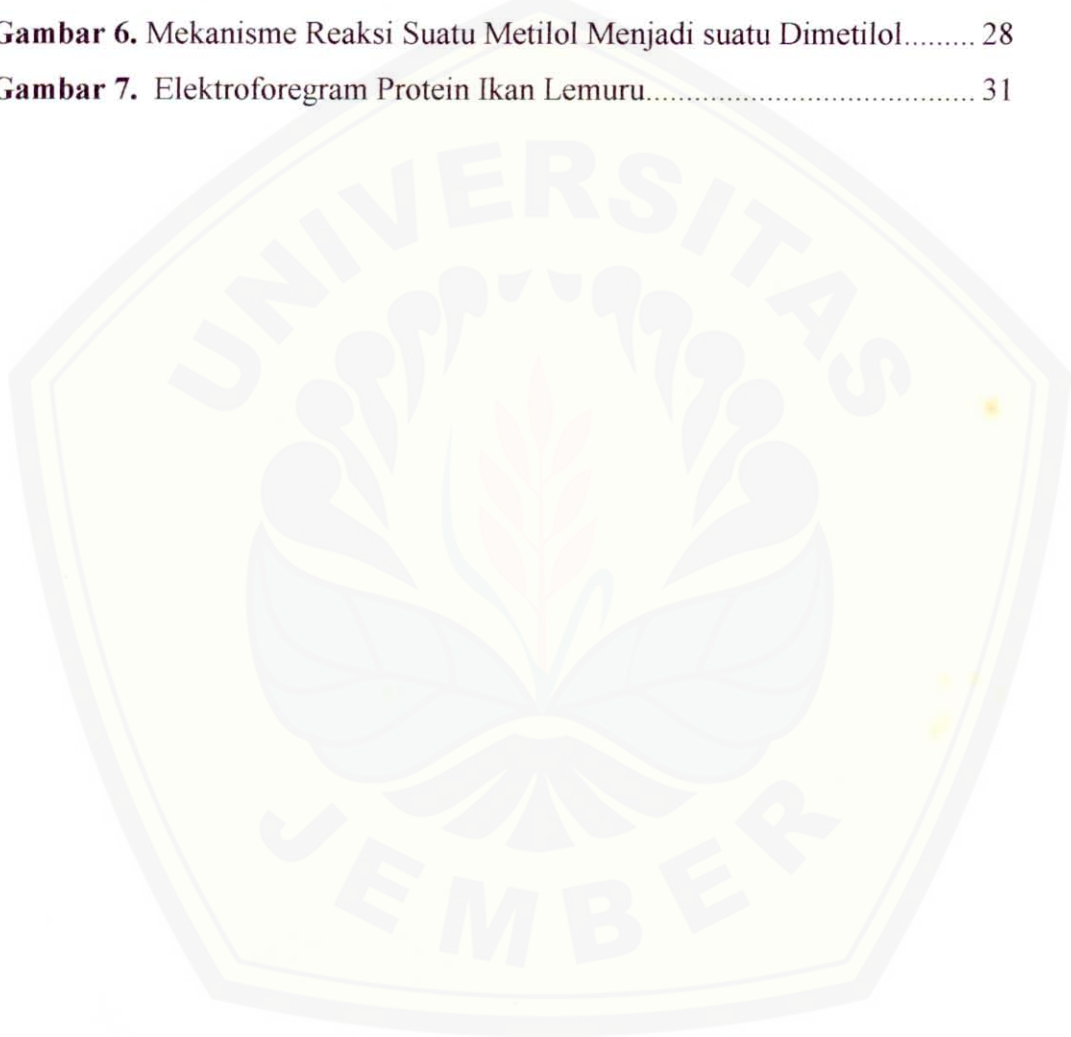


DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Komposisi Kimia Ikan laut dan Lemuru.....	8
Tabel 2. Komposisi Asam Amino dari Protein Ikan	9
Tabel 3. Kandungan Enzim Bromelin pada Tanaman Nenas	10
Tabel 4. Penentuan Besar Aktivitas Enzim Bromelin Kasar.....	17
Tabel 5. Hasil Enzim Bromelin Kasar dari Daging dalam 50 mL	22
Tabel 6. Hasil Analisis Aktivitas Enzim Bromelin Kasar Daging Buah Nenas dalam 50 mL.....	23
Tabel 7. Hasil Analisis Hidrolisis dalam 10 gr Ikan Lemuru Dengan Variasi Lama Masa Inkubasi	25
Tabel 8. Elektroforegram Pita - Pita Protein Hasil Hidrolisis Protein oleh Enzim Bromelin Kasar dari Daging Buah Nenas.....	32

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Ikatan Peptida dalam Rangkaian Residu Protein.....	4
Gambar 2. Struktur Kutub Ganda Asam Amino dalam Air	7
Gambar 3. Pembentukan Gel Poliakrilamid.....	12
Gambar 4. Struktur Molekul Sodium Dodesil Sulfat.....	13
Gambar 5. Diagram Alir Pelaksanaan Penelitian	15
Gambar 6. Mekanisme Reaksi Suatu Metilol Menjadi suatu Dimetilol.....	28
Gambar 7. Elektroforegram Protein Ikan Lemuru.....	31



DAFTAR GRAFIK

	Halaman
Grafik. 1 Masa Inkubasi Ikan Lemuru Terhadap Protein Terlarut (%).....	26



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Preparasi Larutan	39
Lampiran 2. Tabel Konsentrasi Amonium Sulfat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	42
Lampiran 3. Perhitungan Penambahan Konsentrasi Amonium Sulfat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	43
Lampiran 4. Data Absorbansi dan Analisis Absorbansi	44
Lampiran 5. Perhitungan Aktivitas Enzim Bromelin Kasar	45
Lampiran 6. Data Standart Deviasi	49
Lampiran 7. Perhitungan Standart Deviasi	50
Lampiran 8. Data Titration Protein Terlarut dan Analisis Titration Protein Terlarut	53
Lampiran 9. Perhitungan Protein Terlarut	54
Lampiran 10. Alat Elektroforesis	57
Lampiran 11. Elektroforegram Protein Ikan Lemuru dengan Enzim Bromelin Kasar	58
Lampiran 12. Alat Sentrifuse Dingin	60



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan merupakan sumber protein hewani paling tinggi sehingga dapat memberikan kontribusi penyediaan protein hewani paling besar. Protein ikan mengandung asam amino yang dibutuhkan tubuh dalam jumlah dan keseimbangan yang baik. Ikan memiliki kandungan protein sekitar 20 % lemak 0,2 – 24 %, dan mineral 2 % (Samaatmaja, 1983).

Hasil produksi ikan di Indonesia selama ini sebenarnya mampu memenuhi kebutuhan masyarakat. Akan tetapi kendala utama yang sering muncul adalah daya tahan ikan yang sangat singkat. Ikan segar mudah sekali mengalami pembusukan atau kerusakan, yaitu sekitar 5 – 8 jam setelah penangkapan. Kerusakan ini terutama berkaitan dengan penanganan yang kurang baik, adanya distribusi dan fasilitas yang kurang memadai dan kurangnya industri perikanan yang dapat memanfaatkan seluruh produksinya secara melimpah (Astawan, 1989).

Ikan yang mudah rusak supaya tahan lama disajikan dalam bentuk pengalengan, pengasapan, pengeringan, dan pengasinan. Dengan semakin majunya teknologi pangan, ikan dapat dibuat kecap. Pembuatan kecap secara fermentasi memakan waktu lama, sehingga dicari alternatif lain yakni pembuatan kecap ikan secara enzimatik (Suhartono, 1992).

Enzim yang sering digunakan adalah enzim yang bersifat proteolitik. Enzim proteolitik adalah enzim yang mampu menghidrolisis molekul protein besar menjadi molekul lebih kecil dan sederhana (Indrawati, 1991). Enzim ini dapat ditemukan dalam nenas pada buah, tangkai, kulit, daun, dan batang (hati/empulur) (Winarno, 1983).

Berdasarkan alasan tersebut, peneliti ingin mengetahui sejauh mana aktivitas enzim kasar dari daging nenas tersebut dapat menghidrolisis protein ikan Lemuru. Untuk itu peneliti memilih judul “ Studi Aktivitas Ekstrak Bromelin Kasar dari Daging Buah Nenas (*Ananas comosus*, L) Terhadap Hidrolisis Protein Ikan Lemuru (*Sardinella sp*) ”

1.2 Rumusan Masalah

Masalah dalam penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut :

1. bagaimanakah hasil ekstraksi enzim bromelin kasar dari daging buah nenas?
2. bagaimanakah aktivitas enzim bromelin kasar tersebut untuk berbagai tingkat fraksinasi?
3. berapa waktu terbaik yang diperlukan enzim bromelin kasar untuk menghidrolisis protein ikan Lemuru?
4. bagaimana hasil hidrolisis enzim bromelin kasar terhadap protein ikan ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian dapat dikemukakan sebagai berikut :

1. mengetahui hasil ekstraksi enzim bromelin kasar dari daging buah nenas.
2. mengetahui besarnya aktivitas ekstrak enzim bromelin kasar dari daging buah nenas pada berbagai tingkat fraksinasi.
3. mengetahui waktu terbaik yang diperlukan enzim untuk menghidrolisis ikan Lemuru.
4. mengetahui hasil hidrolisis enzim bromelin kasar terhadap protein ikan lemuru.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah diperoleh informasi tentang manfaat lain dari daging buah nenas dalam kaitannya untuk hidrolisis ikan lemuru.

II. TINJAUAN PUSTAKA



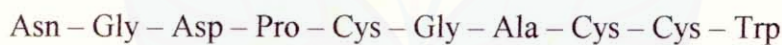
2.1 Enzim

2.1.1 Pengertian Enzim

Enzim adalah biokatalisator yang seperti katalisator lainnya bekerja mempercepat kecepatan reaksi tanpa mengubah keseimbangannya (Suhartono, 1992). Enzim merupakan suatu protein yang mempunyai struktur tiga dimensi tertentu dan mampu mengkatalis reaksi biologis (aktivitas biokatalitik). Enzim dapat menaikkan laju reaksi, sehingga dengan adanya enzim maka reaksi yang terjadi akan mempunyai energi aktivasi lebih rendah dari reaksi biasanya (Arbianto, 1996).

2.1.2 Kelompok Enzim Bromelin

Enzim Bromelin termasuk golongan glikoprotein yaitu protein yang mengandung satu bagian oligosakarida pada tiap molekul, yang terikat secara kovalen dengan rantai polipeptida enzim tersebut. Adapun deretan asam amino disekitar lokasi aktifnya dapat ditunjukkan sebagai berikut:



Sistein (Cys) menunjukkan tempat lokasi aktifnya (Tookong, 1979).

Mekanisme pemecahan protein menjadi asam amino penyusunannya dengan memanfaatkan aktifitas enzim dapat dijelaskan dengan teori Emil Fisher. Untuk dapat bereaksi substrat harus mempunyai bentuk yang komplementer dengan bagian aktif enzim (Winarno, 1983).

2.1.3 Aktivitas Enzim

Pengukuran kadar enzim berdasarkan aktivitasnya, yaitu kecepatan reaksi dibanding dengan kecepatan reaksi enzimatik yang dikatalisis oleh enzim murni yang telah diketahui kadarnya (Martini, 2002).

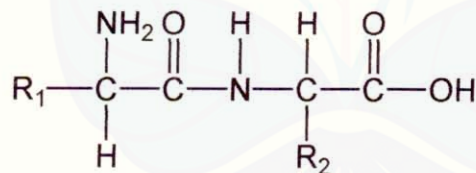
Aktivitas suatu enzim dinyatakan sebagai kemampuan enzim tersebut dalam mengubah substrat menjadi suatu produk. Aktivitas katalitik suatu enzim pada prinsipnya adalah proses katalitik pemindahan elektron atom atau gugus fungsinya (Arbianto, 1996).

2.2 Protein

2.2.1 Pengertian Protein

Protein disusun dari karbon, hidrogen, dan nitrogen serta mengandung unsur lain seperti fosfor, sulfur, atau besi. Peran utama protein dari makanan adalah menyajikan asam amino yang dibutuhkan oleh tubuh dalam jumlah dan waktu yang tepat, supaya secara efisien dapat dibentuk menjadi protein tubuh dan senyawa lain.

Biasanya protein mengandung 100 – 1000 molekul asam amino dan mempunyai berat molekul 16.000 – 1.000.0000. k.Da. Masing – masing asam amino di hubungkan dengan ikatan peptida, yaitu ikatan antara gugus amino (- NH₂) dengan gugus karboksil (- COOH). Tiap – tiap ikatan peptida selalu mengandung gugus karboksil bebas di ujung yang satu dan dengan yang lain.



Gambar 1. Ikatan Peptida dalam Rangkaian Residu Protein (Winarno, 1990b)

Dari sekitar 10 asam amino protein esensial dan 10 asam amino protein non esensial yang terdapat di alam, ada beberapa asam amino yang tidak dapat disintesis oleh tubuh, sehingga harus disuplai dari makanan. asam amino tersebut adalah : Isoleusin, Leusin, Lisin, Fenilalanin, Metionin, Treanin, Triptofan, Valin, Arginin, dan Histidin (Anonim, 1983).

2.2.2. Struktur Protein

Protein berdasarkan struktur molekulnya digolongkan menjadi dua yaitu protein *fibriler/skeroprotein* adalah protein yang berbentuk serabut. Protein tidak larut dalam pelarut – pelarut encer, baik larutan garam, asam, basa, ataupun alkohol. Contoh protein *fibriler* adalah kolagen yang terdapat pada tulang rawan, miosin pada otot, keratin pada rambut, fibrin pada gumpalan darah. Protein jenis ke dua adalah protein *globuler/sferoprotein* yaitu protein yang berbentuk bola. Protein ini banyak terdapat pada bahan pangan seperti susu, telur, dan daging. Protein ini larut dalam larutan garam dan asam encer, juga lebih mudah berubah dibawah pengaruh suhu, konsentrasi garam, asam encer dan basa dibandingkan protein *fibriler*. Protein ini mudah terdenaturasi. Jika ikatan – ikatan yang membentuk konfigurasi molekul tersebut rusak, molekul akan mengembang. Kadang – kadang perubahan ini memang dikehendaki dalam pengolahan makanan, tetapi sering pula dianggap merugikan sehingga perlu dicegah (Winarno, 1995).

2.2.3 Denaturasi Protein

Setiap protein memiliki jumlah dan urutan asam amino tertentu yang khas untuk protein tersebut yang berbeda dengan protein lain. Adapun urutan asam amino tertentu inilah yang disebut sebagai struktur primer protein tersebut. Akan tetapi rantai peptida bila tidak berbentuk lurus atau spiral merupakan struktur sekunder protein yang dipertahankan oleh ikatan hidrogen dan ikatan disulfida. Helik alfa tersebut meliuk – liuk sehingga membentuk bulat, bentuk liukan dari helik alfa inilah disebut struktur tersier protein. Sedangkan sejumlah protein memiliki struktur kwarterner yaitu apabila protein tersebut terdiri lebih dari satu rantai polipeptida yang berikatan dengan ikatan bukan kovalen (Martini, 2002)

Denaturasi protein ada dua macam, yaitu pengembangan rantai peptida dan pemecahan protein menjadi unit yang lebih kecil tanpa disertai pengembangan molekul. Terjadinya keseimbangan dua jenis denaturasi ini tergantung pada keadaan molekul. Yang pertama terjadi pada rantai polipeptida,

sedangkan yang kedua terjadi pada bagian – bagian molekul yang tergabung dalam ikatan sekunder. Ikatan – ikatan yang terpengaruhi oleh proses denaturasi antara lain yaitu :

1. Ikatan hidrogen
2. Ikatan hidrofobik misalnya pada leusin, valin, fenilalanin, triptofan yang saling berlekatan membentuk suatu *micelle* dan tidak larut dalam air.
3. Ikatan ionik antara gugus bermuatan positif dan negatif.
4. Ikatan intramolekul seperti yang terdapat pada gugus disulfida dalam sistin.

Pemekaran atau pengembangan molekul protein yang terdenaturasi akan membuka gugus reaktif yang ada pada rantai polipeptida. Selanjutnya akan terjadi pengikatan kembali pada gugus reaktif yang sama atau yang berdekatan. Bila unit ikatan yang terbentuk cukup banyak sehingga protein tidak lagi terdispersi sebagai suatu koloid, maka protein tersebut mengalami koagulasi. Apabila ikatan – ikatan antara gugus – gugus reaktif protein tersebut menahan seluruh cairan, akan terbentuk gel. Sedangkan bila cairan terpisah dari protein yang terkoagulasi itu, protein akan mengendap (Winarno, 1995).

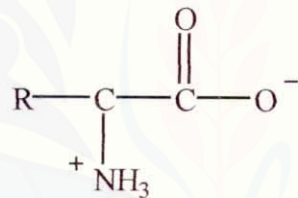
Protein yang terdenaturasi kelarutannya akan berkurang, karena molekul protein bagian dalam bersifat hidrofobik berbalik keluar dan bagian luar yang bersifat hidrofil terlipat ke dalam. Pelipatan terjadi khususnya bila larutan protein mendekati perusahaan isoelektrik, sehingga protein akan menggumpal dan mengendap. Enzim – enzim yang gugus prostetiknya terdiri dari protein akan kehilangan aktivitasnya sehingga tidak berfungsi sebagai enzim yang aktif. Denaturasi protein dapat dilakukan, karena adanya panas, perusahaan, bahan kimia, mekanik, dan sebagainya. Masing – masing cara tersebut memiliki pengaruh yang berbeda – beda terhadap denaturasi protein (Martoharsono, 1994)

Sedangkan kemampuan molekul protein untuk membentuk pemisahan dan penggabungan lapisan antara dua media yang tidak saling bercampur. Sebagai contoh adalah pembentukan emulsi, pembentukan busa dan pemisahan lemak. Sifat – sifat antara molekul berperan dalam mengadakan interaksi antara molekul – molekul protein dengan komponen lain. Asam amino mempunyai sifat – sifat

yang dapat larut dalam air, dapat membentuk kristal, harga konstanta dielektrikum yang tinggi, memiliki panas netralisasi seperti pada H^+ dan OH^- dan dalam medan listrik (misalnya elektroforesis) tak bergerak (dalam keadaan tertentu), maka asam amino dipercayai memiliki sifat amfoter atau dalam *zwitter ion* yang memiliki muatan (+) dan (-) yang seimbang (Sudarmadji dkk., 1996).

2.2.4 Hidrolisis Protein

Asam – asam amino yang letaknya berjauhan dapat terletak berdekatan dalam struktur protein, karena terbentuknya struktur sekunder, tersier, dan kuarterner (bila letaknya lebih dari satu rantai polipeptida). Pada contoh misalnya asam glutamat memiliki gugus katalitik $-COOH$, dan tirosin (mempunyai gugus katalitik fenol). Jadi gugus reaktif tersebut berdekatan karena terbentuknya struktur protein tersebut. Dalam air menampakkan struktur kutub ganda sebagai berikut:



Gambar 2. Struktur Kutub Ganda Asam Amino dalam Air (Martoharsono, 1994).

Hidrolisis terjadi pada saat adanya penambahan alkali pada protein sehingga dapat menyebabkan ikatan peptida pada polimer protein terhidrolisis. Sehingga menghasilkan monomer – monomer asam amino dan ada sebagian gugus amino yang berubah menjadi amonia. Akibat hidrolisis tersebut jumlah gugus amino berkurang (Achmad, 1994)

2.3 Ikan Lemuru

Protein merupakan suatu zat makanan yang amat penting bagi tubuh, karena zat ini disamping berfungsi sebagai bahan bakar dalam tubuh juga

berfungsi sebagai zat pembangun dan pengatur. Protein adalah sumber asam – asam amino yang mengandung unsur – unsur C, H, O, dan N. Protein juga menggantikan jaringan tubuh yang rusak dan yang perlu dirombak. Fungsi utama protein bagi tubuh ialah untuk membentuk jaringan baru dan mempertahankan jaringan yang ada (Winarno, 1990a).

Ikan merupakan sumber protein yang paling tinggi bagi kandungan proteinnya mencapai sekitar 16 – 22 %. Konsentrasi protein ikan lemuru merupakan hal penting untuk diungkapkan berkaitan dengan pemanfaatan ikan yang begitu besar. Adapun komposisi jumlah kimia ikan Lemuru tertera dalam tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Kimia Ikan Laut dan Ikan Lemuru (Sasangka, 1997)

Komponen	Ikan Laut	Ikan Lemuru
Air	68,6 – 81,8	76,0
Protein	16,4 – 20,0	20,0
Lemak	0,5 – 10	3,0
Abu	1,3 – 1,4	-

Menurut Winarno (1994) 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.

Selain itu ikan juga kaya akan kandungan mineral yaitu kalsium, fosfor, natrium, dan besi, serta tembaga. Demikian juga kandungan lemaknya, vitamin A dan D terdapat pada minyak hati dan jeroan ikan. Telur ikan merupakan sumber tiamin. Kandungan iodin dan flour pada ikan biasanya lebih tinggi dari pada makanan lain (Winarno, 1993).

Ikan juga merupakan sumber asam amino yang sangat diperlukan oleh tubuh untuk proses pertumbuhan. Komposisi asam amino ikan dapat di lihat pada tabel 2

Tabel 2. Komposisi Asam Amino dari Protein Ikan (Parakkasi, 1980)

Asam Amino	Jumlah dari total protein ikan %
Arginin	0,2
Histidin	2,5
Isoleusin	8,5
Lisin	9,0
Metionin	3,7
Sistein	1,0
Fenilalanin	4,7
Tirosin	5,9
Trionin	5,1
Triptofan	1,5
Valin	7,1

2.4 Enzim Bromelin

2.4.1 Enzim Bromelin Diperoleh Dari Buah Nenas

Tanaman nenas mengandung sejumlah enzim proteolitik yang tidak hanya terdapat pada jenis nenas yang dapat dimakan tetapi, terdapat juga pada jenis lain yang tidak dimakan dalam keluarga *Bromeliaceae*. Para ahli menyarankan nama enzim bromelin untuk enzim protease yang terdapat dalam tanaman keluarga *Bromeliaceae*.

Untuk mencegah timbulnya bermacam – macam nama enzim protease ini, dibuat suatu istilah khusus dengan memberi awalan binomial yang berupa nama tanaman dan bagian tempat enzim tersebut diperoleh. Jadi nama lengkap untuk enzim yang berasal dari batang nenas adalah *Ananas comosus* var *cayenestem bromelain*. Tetapi secara praktis cukup disebut dengan enzim bromelin batang (Arbianto, 1996).

2.4.2 Cara Bekerja Enzim Bromelin

Enzim bromelin yang berasal dari daging buah nenas (*Ananas comosus*, L) sebagai enzim proteolitik mampu memecah molekul – molekul protein menjadi bentuk asam amino. Kemampuan enzim bromelin hampir sama dengan papain.

Sebagian besar enzim bromelin digunakan untuk mempertahankan ketahanan daging pada suhu dingin dan untuk melunakkan daging (Soebowo, 1992).

Enzim bromelin dalam tanaman nenas terletak pada buah, tangkai, kulit, daun, dan batang (hati/empulur) dalam jumlah yang berbeda – beda pada setiap tempat sehingga kandungan enzim bromelin pada setiap bagian bermacam – macam. Adapun kandungan enzim bromelin yaitu dapat dilihat pada tabel 3

Tabel 3. Kandungan Enzim Bromelin pada Tanaman Nenas (Omar dkk,1978)

Bagian tanaman	Persen (%)
Buah utuh masak	0,060 – 0,080
Daging buah masak	0,080 – 0,125
Kulit buah	0,050 – 0,075
Tangkai	0,040 – 0,060
Batang	0,100 – 0,600
Buah utuh mentah	0,040 – 0,060
Daging buah mentah	0,050 – 0,070

Enzim bromelin merupakan enzim proteolitik, yaitu enzim yang dapat mengurai atau memecah protein. Berdasarkan sifat – sifat kimia dari lokasi aktif maka enzim bromelin termasuk dalam golongan enzim protease sulfidril, yang artinya mempunyai residu sulfidril pada lokasi aktif. Enzim ini dihambat oleh senyawa oksidator, alkilator dan logam berat. Penggunaan enzim bromelin hampir serupa dengan papain dan ficin (Winarno, 1983)

2.5 Metode Formol

Metode formol digunakan untuk penentuan kadar prosentase protein terlarut dengan titrasi formol. Adapun prinsip kerja dari metode formol adalah keseimbangan dalam larutan. Asam adalah zat yang menambah konsentrasi H^+ dalam larutan air. Basa adalah zat yang menambah konsentrasi OH^- dalam larutan air. Zat yang dapat bertindak sebagai asam maupun basa disebut amfiprotik. Banyak pelarut adalah amfiprotik jika suatu asam HA dilarutkan ke dalam suatu pelarut amfiprotik HL, hasil ionisasi reaksi asam-basa. Beberapa

elektrolit kuat seperti NaOH dalam bentuk kristal sudah terdiri dari ion (Achmad, 1990).

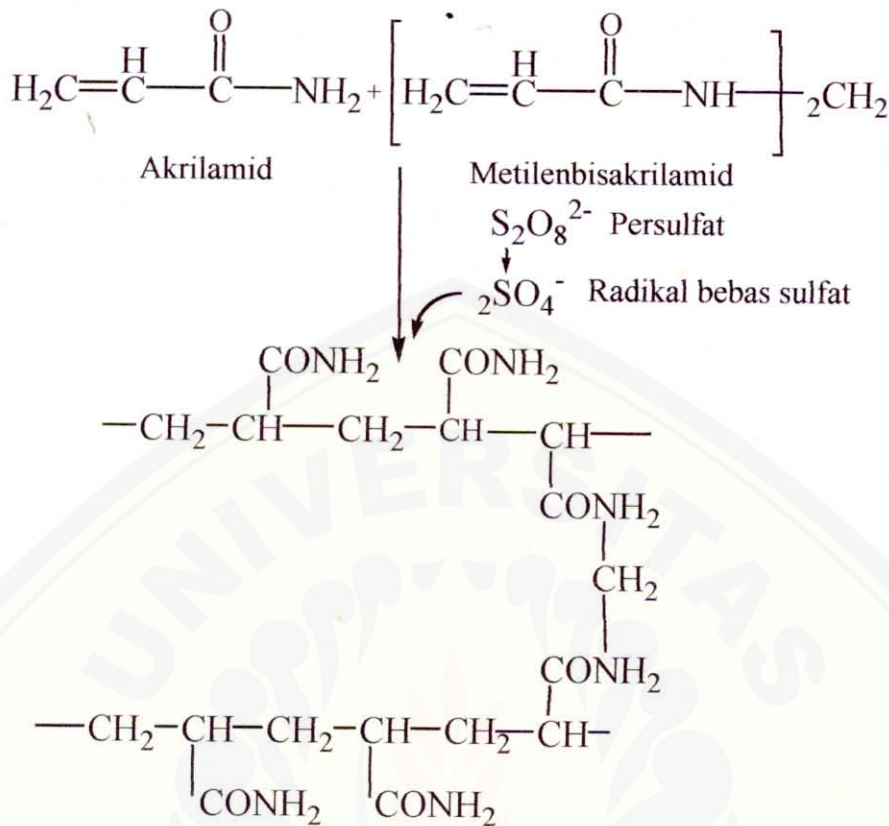
Protein dapat bersifat amfoter (dapat bereaksi dengan asam maupun basa). Hal ini disebabkan protein mempunyai muatan karena memiliki gugus amino dan karboksil pada ujung-ujung rantai molekul protein. Tiap molekul protein mempunyai daya reaksi dengan asam dan basa yang berbeda bergantung pada letak dan jumlah gugus amino dan karboksil dalam molekul protein tersebut (Winarno, 1992)

2.6 Elektroforesis

Elektroforesis digunakan untuk memisahkan protein berdasarkan tanda dan jumlah muatan listrik pada gugus rantai, gugus terminal amino, dan gugus terminal karboksil yang bermuatan. Pada setiap pH tertentu, suatu campuran protein akan mengandung beberapa gugus yang bermuatan total negatif, 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 relatif rendah.

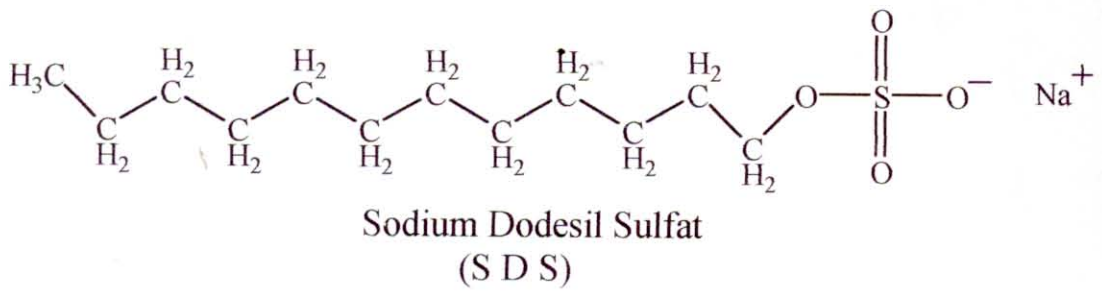
Pemisahan secara elektroforesis hampir selalu dilakukan dalam gel, tidak dalam larutan dengan dua alasan yaitu satu gel mengurangi arus listrik yang timbul akibat perbedaan suhu yang kecil, yang diperlukan agar pemisahan menjadi efektif, serta gel bertindak sebagai saringan molekul yang meningkatkan pemisahan.

Molekul yang lebih kecil di banding dengan pori-pori gel dapat bergerak dengan mudah di dalam gel, sedangkan molekul yang lebih besar hampir tidak bergerak. Molekul dengan ukuran sedang dapat bergerak di dalam gel sesuai ukurannya.

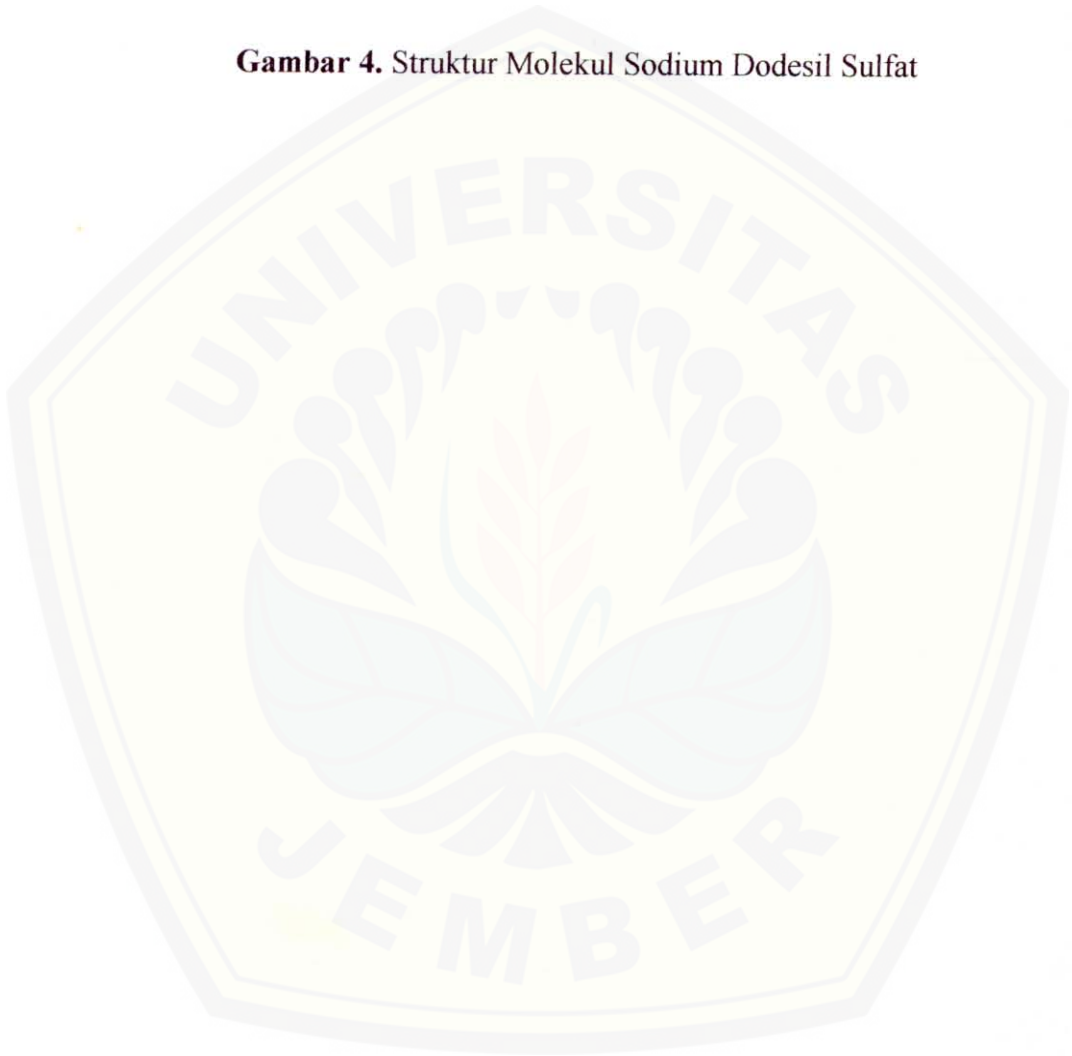


Gambar 3. Pembentukan gel poliakrilamid

Campuran protein mula-mula dilarutkan dalam larutan sodium dodesil sulfat (SDS), suatu detergen anionik yang akan memutus hampir semua interaksi kovalen dalam protein alami. Anion SDS untuk tiap dua residu asam amino menyebabkan terbentuknya kompleks SDS dengan protein terdenaturasi yang bermuatan negatif tinggi yang secara kasar sebanding dengan massa protein. Muatan negatif timbul akibat pengikatan SDS-protein terdenaturasi kemudian dilakukan elektroforesis pada gel poliakrilamida, dalam bentuk lempeng tipis tegak lurus. Arah elektroforesis dari atas kebawah.



Gambar 4. Struktur Molekul Sodium Dodesil Sulfat



III. METODE PENELITIAN



3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

3.1.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini berlangsung selama 5 bulan, mulai bulan Nopember 2002 hingga Maret 2003.

3.1.2 Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember dan Pusat Penelitian Biologi Molekuler Universitas Jember.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: gelas kimia, gelas ukur, erlemeyer, labu ukur, pipet volumetrik, pipet morh, pipet mikro, pipet tetes, tabung reaksi dan rak, buret dan statif, corong glass, vortex, stirrer magnetik, blender, pH meter, neraca analitik, lemari pendingin, sentrifugasi, spektrometer UV-VIS, shaker bath, seperangkat alat elektroforesis SDS-PAGE, thermos es, kain kassa, dan botol semprot.

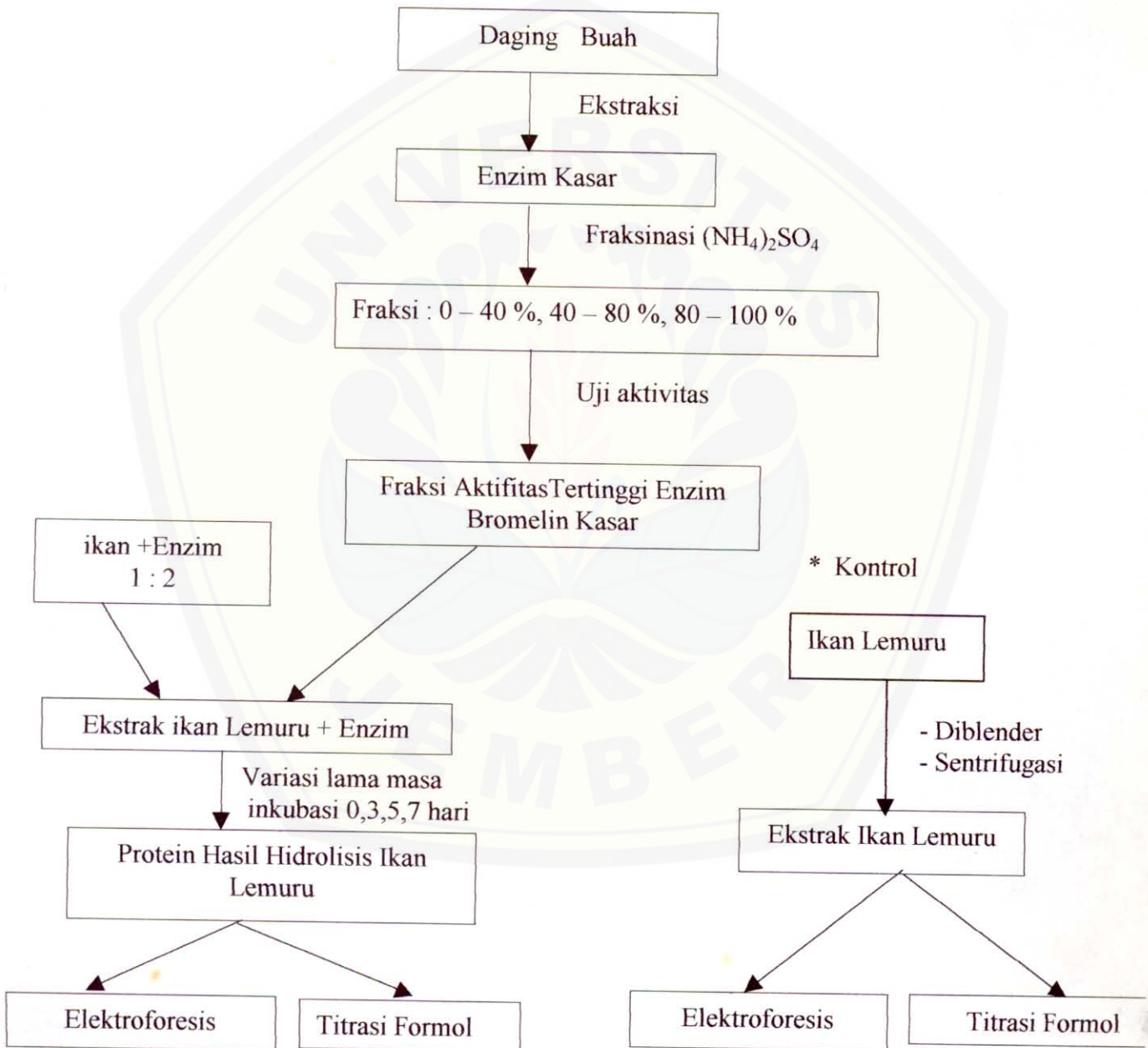
3.2.2 Bahan

Bahan-bahan non kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan Lemuru (*Sardinella sp*) dan daging buah nenas (*Ananas comusus,L*). Adapun bahan – bahan kimia yang digunakan yaitu $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, NaH_2PO_4 , NaOH , NH_4Cl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, CaCl_2 , Na_2CO_3 , Kasein (Hammerstin), Tirosin, Folin, dan bahan yang digunakan untuk elektroforesis yaitu metil alkohol, ammonium persulfat (APS), N,N, N',N'- tetraetilmetilendiamina (TEMED), bromophenol blue (BPB), buffer Tris HCL (Tris basa, asam klorida), asam asetat, metanol

N^o,N^o – bis – metilene akrilamid, Coomassie Brilliant Blue (CBB), gliserol, 2-merkptoetanol, sodium dodesil sulfat, akrilamida, glisin.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan dengan lima tahap. Adapun tahapan penelitian tercantum dalam diagram alir berikut :



Gambar 5. Diagram alir pelaksanaan penelitian

3.3.1 Ekstraksi Enzim Bromelin Kasar Dari Daging Buah Nenas

(Praptiningsih, 1989, Englard, 1990)

Sebanyak 100 g daging buah nenas dipotong kecil – kecil dan ditambahkan buffer fosfat 0,1 M pH 7 sebanyak 100 mL kemudian diblender dan disaring. Selanjutnya filtrat disentrifugasi selama \pm 15 menit dengan kecepatan 7.500 rpm pada temperatur 4°C sehingga menghasilkan dua lapisan yaitu supernatan dan sedimen.

Supernatannya diambil dan ditambah $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sebanyak 11,3 g kemudian disentrifugasi selama \pm 15 menit dengan kecepatan 7.500 rpm sehingga menghasilkan dua lapisan. Sedimennya ditimbang dan ditambah buffer fosfat sebanyak 50 mL selanjutnya disebut fraksi 0–40 %. Supernatan sisa dari fraksi 0 – 40 % diambil dan ditambah $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sebanyak 12,9 g kemudian disentrifugasi selama \pm 15 menit dengan kecepatan 7.500 rpm sehingga menghasilkan dua lapisan. Sedimennya ditimbang dan ditambah buffer fosfat sebanyak 50 mL selanjutnya disebut fraksi 40 - 80 %. Supernatan sisa dari fraksi 40 - 80 % diambil dan ditambah $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sebanyak 6,69 g kemudian disentrifugasi selama \pm 15 menit dengan kecepatan 7.500 rpm dan sehingga menghasilkan dua lapisan. Sedimennya ditimbang dan ditambah buffer fosfat sebanyak 50 mL selanjutnya disebut fraksi 80 - 100 %. Hasil fraksinasi (sedimen yang telah ditambah buffer) disimpan dalam lemari pendingin (*cooler*).

Ekstrak enzim bromelin kasar tersebut digunakan untuk penentuan aktivitas bromelin daging buah nenas..

3.3.2 Penentuan Aktivitas Enzim Bromelin Kasar Dari Daging Buah Nenas

Penentuan aktivitas enzim bromelin kasar dari daging buah nenas menggunakan substrat kasein, standar tirosin dan enzim bromelin kasar yang diperoleh dari metode 3.3.1. Metode yang digunakan adalah metoda Bergmeyer (Hasnan, 1991). Pengukuran aktivitas enzim bromelin kasar dalam metode ini pengukuran menggunakan spektrometer VIS pada panjang gelombang 578 nm, dimana panjang

gelombang tersebut merupakan daerah tampak Penentuan besarnya aktivitas enzim bromelin kasar dari daging buah nenas dengan metode Bergmeyer secara sistematis disajikan dalam tabel 4

Tabel 4. Penentuan Besar Aktivitas Enzim Bromelin Kasar

Bahan	Blanko (mL)	Standar (mL)	Sampel(mL)
Buffer fosfat 0,1 M (pH 7)	1,0	1,0	1,0
Substrat kasein (0,5%)	1,0	1,0	1,0
Enzim dalam CaCl ₂ (2mM)	-	-	0,2
Tirosin standar 5mmol	-	0,2	-
Aquades	0,2	-	-

Inkubasi pada temperatur 37⁰C selama 10 menit

Bahan	Blanko (mL)	Standar (mL)	Sampel(mL)
TCA (0,1M)	2,0	2,0	2,0
CaCl ₂ (2mM)	-	-	0,2
Enzim dalam CaCl ₂ (2mM)	0,2	0,2	-

Inkubasi pada temperatur 37⁰C selama 10 menit

Sentrifugasi dengan kecepatan 4000rpm selama 10 menit

Bahan	Blanko (mL)	Standar (mL)	Sampel(mL)
Filtrat (setelah disentrifugasi)	1,5	1,5	1,5
Na ₂ CO ₃ (0,4M)	5,0	5,0	5,0
Pereaksi folin (1:2)	1,0	1,0	1,0

Inkubasi pada temperatur 37⁰C selama 20 menit

Kemudian mengukur absorbannya pada panjang gelombang 578 nm

3.3.3 Inkubasi Enzim Bromelin Kasar Terhadap Ikan Lemuru (Anwar, 1994)

Inkubasi enzim bromelin kasar pada ikan lemuru dilakukan dengan berbagai lama variasi masa inkubasi yaitu 0, 3, 5, dan 7 hari.

Daging ikan lemuru yang sudah digiling, ditimbang sebanyak 10 g, ditempatkan pada gelas kimia A, B, C, D. Masing-masing ikan ditambahkan enzim bromelin kasar (yang mempunyai aktivitas terbesar hasil fraksinasi) dan ditambahkan NaCl 20% dari berat ikan untuk menghambat pertumbuhan bakteri atau mikroorganisme.

Campuran dalam gelas kimia A tidak diinkubasi (0 hari), sedangkan sampel B, C, dan D diinkubasi pada suhu 37°C dengan variasi lama inkubasi (sesuai yang ditentukan). Selesai inkubasi, sampel dipanaskan selama 3 menit untuk menghentikan reaksi enzimatik, kemudian di sentrifugasi selama 20 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Supernatannya diambil untuk dianalisa selanjutnya.

3.3.4 Penentuan Hasil Hidrolisis Protein Ikan

3.3.4.1 Penentuan Hidrolisis Ikan Lemuru Dengan Titrasi Formol

Blanko dibuat dengan cara memasukkan kalium oksalat 2 % sebanyak 0,02 mL, phenolphthalein 1 % sebanyak 0,05 mL, formaldehid sebanyak 0,1 mL, dan 1 mL aquades, kemudian dititrasi dengan natrium hidroksida (NaOH) 0,1 N sampai terjadi perubahan warna merah jambu.

Pembuatan sampel yaitu memasukkan supernatan ikan lemuru dari metode 3.3.3 sebanyak 0,5 mL, kalium oksalat 2 % sebanyak 0,02 mL, phenolptalein 1 % sebanyak 0,05 mL, dan 1 mL aquades, kemudian dititrasi dengan natrium hidroksida (NaOH) 0,1 N sampai terjadi perubahan warna merah muda. Titrasi dihentikan sebentar untuk penambahan formaldehid sebanyak 0,1 mL (tidak berwarna) kemudian dititrasi dengan NaOH 0,1 N berubah menjadi merah muda yang konstan.

3.3.4.2 Penentuan Hasil Hidrolisis Ikan Lemuru Dengan Elektroforesis Gel

Elektroforesis gel poliakrilamida – sodium dodesil sulfat (SDS – PAGE) protein dilakukan menurut metode Sambrook yang dimodifikasi (Ratnadewi,2000)

Bahan – bahan dan perangkat elektroforesis lebih jelasnya dapat dilihat pada lampiran 1 dan 4.

a) Preparasi Gel Dan Buffer Sampel Protein

Bahan pembuat gel bawah (lampiran 1) yang telah dicampurkan dituang ke dalam celah perangkat elektroforesis (pencetak gel) dan menyisakan tempat yang tersedia untuk membuat gel atas. Air ditambahkan untuk mempercepat polimerisasi. Penambahan air dihentikan apabila gel bawah telah menjendal dan kelebihan air dibuang. Bahan pembuat gel atas (lampiran 1) yang telah disiapkan dimasukkan pada sumur yang terbentuk oleh sisir pada gel atas (satu sampel, satu sumur). Campuran didiamkan agar gel dapat berpolimerisasi dan menjendal.

Sampel protein dari metode 3.3.3 disentrifugasi selama 5 menit kemudian didenaturasi dengan mendidihkannya dalam buffer sampel selama 10 menit. Sampel protein kemudian diinjeksikan dalam sumur gel.

b) Separasi

Komponen perangkat elektroforesis dirangkai sesuai petunjuk hingga tidak terdapat kebocoran pada tanki buffer atas. Tanki diisi dengan larutan buffer elektrode. Elektrode kemudian dihubungkan pada power supply dengan voltase 15 Volt. Elektroforesis dinyatakan selesai apabila warna biru bromophenol blue (BPB) telah mencapai 0,5 cm dari sisi gel bawah .

c) Identifikasi Protein (*Staining*)

Protein yang telah dipisahkan dengan elektroforesis divisualisasi menggunakan larutan pewarna coomassie brilliant blue (CBB) G-250 (*staining solution*). Gel diangkat dari lempeng kaca dan dimasukkan ke dalam larutan pewarna. Larutan dan gel digoyang perlahan selama 1 jam menggunakan shaker bath hingga warna (CBB) dapat diikat dengan protein.

3.4 Metode Analisis

3.4.1 Penentuan Penambahan (NH₄)₂SO₄

Berat (NH₄)₂SO₄ yang ditambahkan terhadap supernatan ditentukan dengan persamaan 3.1 (Englard, 1990)

$$B = \left(\frac{V}{1000} \times \% \right) \dots\dots\dots(3.1)$$

dimana :

- V = volume supernatan yang akan difraksinasi
- 1000 = dalam 1000 mL
- % = nilai yang ada dalam tabel pada lampiran 1

3.4.2 Penentuan Aktivitas Enzim Bromelin Kasar

Penentuan aktivitas bromelin kasar dari daging buah nenas ditentukan dengan persamaan 3.2 (Hasnan, 1991) :

$$\text{Aktivitas enzim} = \left(\frac{A_{\text{smp}} - A_{\text{blk}}}{A_{\text{std}} - A_{\text{blk}}} \right) \times \left(\frac{1}{t} \right) \times fp \dots\dots\dots(3.2)$$

dimana :

- A_{smp} = Absorbansi sampel
- A_{blk} = Absorbansi blanko
- A_{std} = Absorbansi standart
- $\left(\frac{1}{t} \right)$ = dibagi seperbagian waktu pada inkubasi (sebelum ditambah TCA)
- fp = faktor pengenceran

3.4.3 Penentuan Hidrolisis Terhadap Ikan Lemuru

Penentuan prosentase nitrogen dan prosentase protein dapat ditentukan pada persamaan 3.3 dan 3.4 (Sudarmaji, 1984)

$$\text{a) \% N} = \frac{V_2 N_2 - V_1 N_1}{\text{gr bahan}} \times N. \text{NaOH} \dots\dots\dots (3.3)$$

$$\text{b) \% Protein} = \% \text{ N} \times \text{fp} \dots\dots\dots (3.4)$$

dimana :

% N = Prosentase Nitrogen

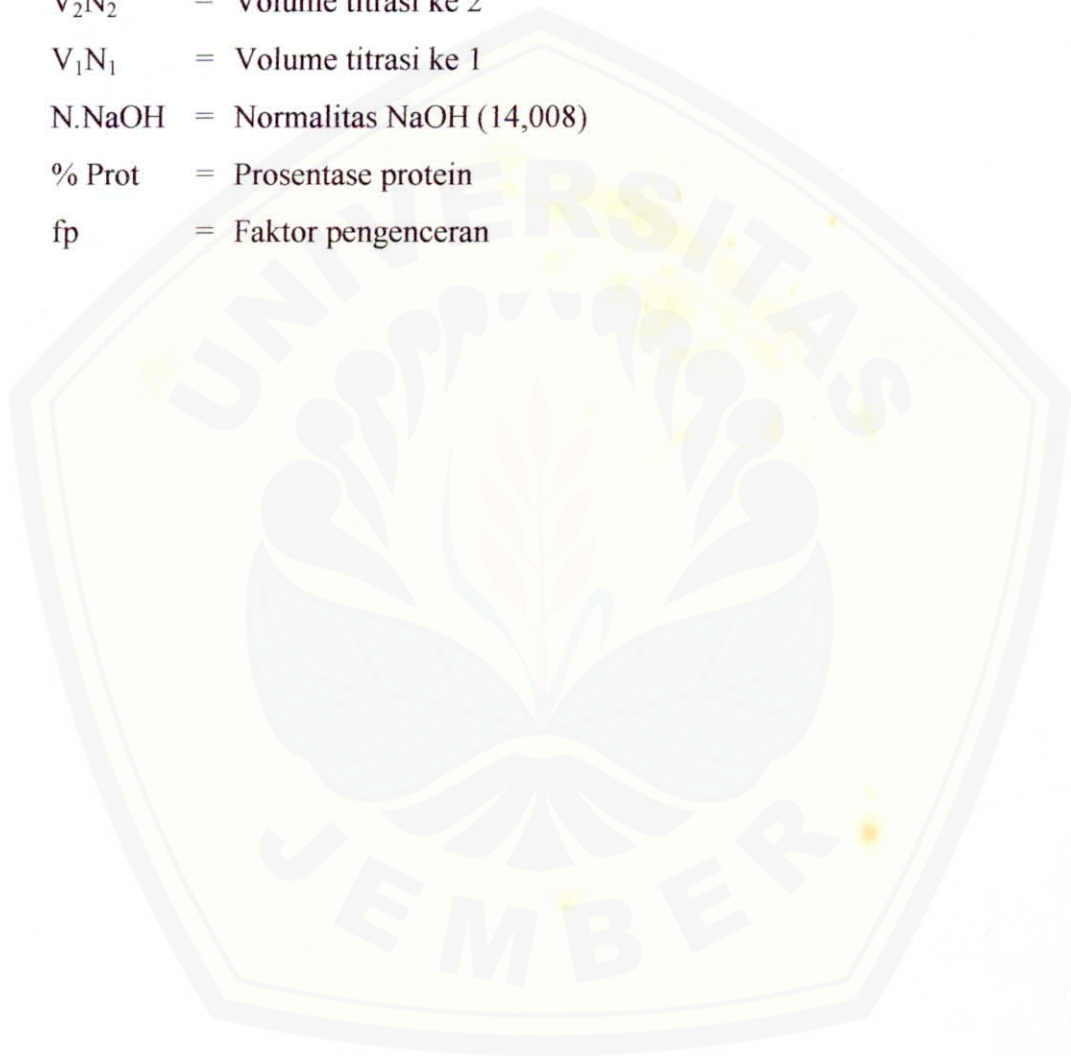
$V_2 N_2$ = Volume titrasi ke 2

$V_1 N_1$ = Volume titrasi ke 1

N.NaOH = Normalitas NaOH (14,008)

% Prot = Prosentase protein

fp = Faktor pengenceran



DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, H. 1994. *Kimia Larutan*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Ahern, H. 1992. *Intrudaction To Experimen Tal Cell Biology*. Dubuque Wm. C. Brown Publishers.
- Anonim.1983. *Buku Petunjuk Teknis Pengalengan Ikan*. Jakarta : Direktur Jendral Perikanan .
- Anwar, C. Purwanto, B. dkk. 1994. *Pengantar Praktikum Kimia Organik*. Yogyakarta : Universitas Gajah Mada.
- Arbianto, P. 1996. *Biokimia Konsep – Konsep Dasar*. Bandung : Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Proyek Pendidikan Tenaga Guru.
- Astawan, M dan M.W. Astawan 1989. *Teknologi Pengolahan Pangan Hewani Tepat Guna edisi pertama*. Jakarta : Akademika Pressindo.
- Buckle, K.A., Edward, R.A., Fleet, G.H., dkk. 1987. *Ilmu Pangan*. Penerjemah Hari Purnomo dan Adiono dari *Foor Science* (1985). Jakarta : Universitas Indonesia Press.
- Clark Jr, J.M., 1964. *Experimental Biochemistry*. San Frencisco : W.H.Freeman And Company.
- Englard, S., dan S. Seifter. 1990. *Precipitation Techniques*. dalam Deutscher, M.P (et) *Methods in Enzymology. Guide To Protein Purification* (vol. 182). San Diego Academic PRESS Inc. Haar Court Brace Jovaanovich Publishers.
- Hasnan, M. 1991. *Pengaruh Penggunaan Enzim Papain Selama Proses Hidrolisis Kecap Ikan*. FATETA. Bogor : Institut Pertanian Bogor
- Indrawati, T.1983. *Pembuatan Kecap Keong Sawah dengan Menggunakan Enzim Bromelin*. Jakarta : Balai Pustaka.
- Koolman, J., K. H. Rohm., dan J. Wirth. *Atlas Berwarna Dan Teks Biokimia*. Terjemahan Wanandi, S.I, dan M. Sadikin dari *Coloratlas Of Biochemistry* (1994). Jakarta: Hipokrates.
- Khopkar, S.M 1985. *Konsep Dasar Kimia Analitik*, Diterjemahkan oleh A. Saptoraharjo, Jakarta: UI-Press.

- Lehninger. 1995. *Dasar – Dasar Biokimia I*. Jakarta : Erlangga.
- Martini, T. 2002. *Enzim*. Jember: Universitas Jember
- Martoharsono, S. 1994. *Biokimia Jilid II*. Yogyakarta : Universitas Gajah Mada.
- dan Rahayu K. 1977. *Ezimologi*. Fakultas Teknologi Pertanian. Yogyakarta : Universitas Gajah Mada.
- Moeljanto. 1992. *Pengalengan Ikan Penanganan Ikan Segar Pengawetan dan Pengolahan Hasil Perikanan*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Nurchayani, E. 1990. *Pengaruh Lama Pemasakan dan Ekstraksi Terhadap Sifat Fisikokimia dan Organoleptik Tepung Ikan Sardin*. Jember : Karya Tulis Ilmiah . Fakultas Pertanian. Universitas Jember.
- Nur, M.A. dan M. Syachri. 1981. *Kimia Dasar II*. Bogor : Institut Pertanian Bogor .
- Omar, S.A, Idrus., O.A Razak. 1978. *Exration and activity of bromelin from pineapple*. *Mardi Res. Bull.*
- Parakkasi, A. 1980. *Ilmu Gizi dan Makanan Ternak*. Bogor : Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Pigot, G.M. dan B.W. Tucker. 1990. *Utility Fish Flesh Effectively While Maintaining Nutritional Qualities*. *Seafood Effects of Technology on Nutrition*. New York: Marcel Decker, Inc.
- Praptiningsih, Y. 1989. *Isolasi Dan Pemurnian Bromelin dari Bonggol Nanas*. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian , Universitas Jember.
- Ratnadewi, A.A.I. 2001. *Study Ekspresi Muatan sup 45 Hipersensitif Paromonisin dan Sensitif Temperatur Saccharomyces cerevisiae*. dalam tesis. Bandung : Bidang Khusus Biokimia jurusan kimia program Pascasarjana ITB.
- Roedjito D. 1989. *Kajian Penelitian Gizi*. Jakarta : masalah Press.
- Samaatmaja, D. 1983. *Industrii Pengolahan Ikan Sebagai Sumber Protein Hewani*. Bogor : Departemen Perindustrian, Badan Penelitian dan Pembangunan Industri Hasil Pertanian Bogor.

- Sasangka, V.A. F. 1997. *Hidrolisis Enzimatis Ikan Lemuru (Sardinella sp) dengan Variasi Konsentrasi Bahan dan Lama Hidrolisis*. Jember : Karya Tulis Ilmiah. Fakultas Pertanian. Universitas Jember.
- Sedioetomo, A. P. 1976. *Ilmu Gizi di Daerah Tropis*. Jakarta : Balai Pustaka.
- Soebowo. 1992. *Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi dalam Larutan Garam Terhadap Karakteristik Kecap Biji Kecapir*. Jember : Lembaga Penelitian Jember.
- Stryer, L. *Biokimia*. Terjemahan Sadikin. M dari Biochemistry (1995): Jakarta : Anggota IKAPI.
- Sudarmadji. S, Haryono. B, Suhardi. dkk. 1996. *Analisa Bahan Makanan dari Hasil Pertanian*. Yogyakarta.
- Suhartono, M.T. 1992. *Protease*. Bogor : Departemen P dan K Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB.
- Suprihno. 2002. *Pengaruh Berat Buah Nanas Dan Lama Inkubasi Terhadap Kualitas Kecap Ikan Yang Dibuak Secara Enzimatis*. Jember: Universitas Jember
- Syarif, R. dan A, Irawati.1986. *Pengetahuan Bahan Untuk Industri Pertanian*. Jakarta : Mediyatama Saranan Perkasa.
- Tookong, M.H. 1979. *Proses Pelarutan Protein Ikan Secara Enzimatis*. Bandung : Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Bandung.
- Whitaker, J.R. 1994. *Principles Of Enzymology For The Food Sciences*. New York : Marcell Dekker Inc.
- White, F.D., dan G.E, Delory. 1952. *A Course In Practical Biochemistry For Students Of Medicine (Cameron And White)* London : J & A. Churchill LTD.
- Winarno, F.G. dan B. S, Laksmi. 1983. *Kerusakan Bahan Pangan dan Cara Pencegahannya*. Jakarta : Gramedia.
- Winarno, F.G., dan S, Fardiaz. 1990 (a). *Biofermentasi dan Biosintesa protein*. Jakarta: Gramedia.

-----, dan S, Fardiaz. 1990 (b). *Pengantar Teknologi Pangan*. Jakarta : Gramedia.

-----, 1993. *Pangan, Gizi Teknologi dan Konsumen*. Jakarta : Gramedia.

-----, 1994. *Sterilisasi Komersial Produk Pangan*. Jakarta : Gramedia.

-----, 1995. *Enzim Pangan*. Jakarta : Gramedia.

Yunus, V.S. 1993 *Pengaruh Jenis dan Jumlah Pelarut serta lama Ekstraksi Terhadap Rendemen*. Jakarta.



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 aquades 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 aquades 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 2mM

Sebanyak 0.011 gram CaCl_2 ($M_r=111$) dilarutkan dengan aquades sampai 50 mL

Larutan Trikloro asetat 0.1 M

Sebanyak 0.818 gram Trikloro asetat ($M_r=163.5$) dilarutkan dengan aquades sampai 50 mL.

Larutan Na_2CO_3 0.4 M

Sebanyak 2.12 gram Na_2CO_3 ($M_r=106$) dilarutkan dengan aquades sampai 50 mL

Larutan Folin (1:2)

Sebanyak 6 mL larutan folin cioulteau ditambahkan 2 mL aquades.

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 aquades 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 mM

Larutan Kalium oksalat jenuh (1:3)

Sebanyak 1 mL larutan kalium oksalat jenuh ditambahkan 3 mL aquades

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 aquades sampai 50 mL

Akrylamida/bis (30% w/v)

Sebanyak 29.2 gram akrylamida ditambahkan 0.8 gram N^oN^o-bis-methylene akrylamida dan dilarutkan dengan penambahan aquades steril sampai volume 100 mL

Tris HCL 1.5 M pH 8.8

Sebanyak 15 gram basa Tris ($M_r=122$) dilarutkan aquades 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 aquades 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 aquades steril sampai volume 25 mL .

Buffer sampel

Sebanyak 1.9 mL aquades 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 aquades steril sampai 100 mL. Disimpan pada 4°C. Untuk satu elektroforesis run melarutkan 10 mL 5X stock dengan 40 mL aquades 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 3. Perhitungan Penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ **Fraksi 0 – 40 %**

$$\begin{aligned} B &= \left(\frac{V}{1000} \times \% \right) \\ &= \left(\frac{50}{1000} \times 226 \right) \\ &= 11,3 \text{ g} \end{aligned}$$

Fraksi 40 – 80 %

$$\begin{aligned} B &= \left(\frac{V}{1000} \times \% \right) \\ &= \left(\frac{50}{1000} \times 258 \right) \\ &= 12,9 \text{ g} \end{aligned}$$

Fraksi 80 – 100 %

$$\begin{aligned} B &= \left(\frac{V}{1000} \times \% \right) \\ &= \left(\frac{50}{1000} \times 139 \right) \\ &= 6,95 \text{ g} \end{aligned}$$

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	0,782	0,912	0,831	0,821	0,831	0,777	0,91	0,825	0,823	0,829	
	0,774	0,908	0,824	0,825	0,828						
	0,776	0,912	0,824	0,823	0,827						
0 – 40 %	0,038	0,452	0,039	0,037	0,039	0,036	0,045	0,039	0,037	0,039	
	0,036	0,451	0,038	0,038	0,037						
	0,036	0,451	0,039	0,038	0,039						
40 – 80 %	0,029	0,449	0,031	0,032	0,032	0,029	0,449	0,033	0,032	0,032	
	0,030	0,449	0,032	0,033	0,033						
	0,029	0,449	0,035	0,031	0,031						
80 – 100 %	0,026	0,431	0,031	0,029	0,030	0,026	0,433	0,035	0,033	0,031	
	0,023	0,434	0,035	0,034	0,031						
	0,028	0,436	0,037	0,035	0,031						

Analisis Absorbansi

Fraksi	Astd-Abilk	(Asmp-Abilk) Sampel						Rerata Akti vitas		
		U 1	U 2	U 3	U 1	U 2	U 3	U 1	U 2	U 3
Bromelin kasar	0,133	$4,8 \times 10^{-2}$	$4,6 \times 10^{-2}$	$5,2 \times 10^{-2}$	$59,55 \times 10^{-1}$	$57,07 \times 10^{-1}$	$64,51 \times 10^{-1}$	$60,38 \times 10^{-1}$		
	0,414	$2,0 \times 10^{-3}$	$1,0 \times 10^{-3}$	$2,0 \times 10^{-3}$	$7,971 \times 10^{-1}$	$3,985 \times 10^{-1}$	$7,971 \times 10^{-1}$	$6,642 \times 10^{-1}$		
	0,420	$3,4 \times 10^{-3}$	$3,0 \times 10^{-3}$	$2,7 \times 10^{-3}$	$1,336 \times 10^{-1}$	$1,179 \times 10^{-1}$	$1,061 \times 10^{-1}$	$1,192 \times 10^{-1}$		
	0,408	$9,0 \times 10^{-3}$	$7,0 \times 10^{-3}$	$5,0 \times 10^{-3}$	$3,639 \times 10^{-1}$	$2,831 \times 10^{-1}$	$2,022 \times 10^{-1}$	$2,831 \times 10^{-1}$		

Lampiran 5. Perhitungan Aktivitas Enzim Bromelin Kasar**Enzim Bromelin Kasar**

$$a. \text{ Blanko} = \frac{0,782 + 0,774 + 0,776}{3} = 0,777$$

$$b. \text{ Standar} = \frac{0,912 + 0,908 + 0,910}{3} = 0,910$$

$$c. \text{ Sampel 1} = \frac{0,831 + 0,824 + 0,820}{3} = 0,825$$

$$\text{Sampel 2} = \frac{0,821 + 0,825 + 0,823}{3} = 0,823$$

$$\text{Sampel 3} = \frac{0,831 + 0,828 + 0,827}{3} = 0,829$$

$$d. \text{ Standart} - \text{Blanko} = 0,910 - 0,777 = 0,133$$

$$e. \text{ Sampel 1} - \text{Blanko} = 0,825 - 0,777 = 4,8 \times 10^{-2}$$

$$\text{Sampel 2} - \text{Blanko} = 0,823 - 0,777 = 4,6 \times 10^{-2}$$

$$\text{Sampel 3} - \text{Blanko} = 0,829 - 0,777 = 5,2 \times 10^{-2}$$

$$U_1 = \left(\frac{0,825 - 0,777}{0,910 - 0,777} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = \left(\frac{0,048}{0,133} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = 59,55 \times 10^{-1}$$

$$U_2 = \left(\frac{0,823 - 0,777}{0,910 - 0,777} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = \left(\frac{0,046}{0,133} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = 57,07 \times 10^{-1}$$

$$U_3 = \left(\frac{0,829 - 0,777}{0,910 - 0,777} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = \left(\frac{0,829}{0,133} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = 64,51 \times 10^{-1}$$

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

$$= \frac{(59,55 \times 10^{-1}) + (57,07 \times 10^{-1}) + (64,51 \times 10^{-1})}{3}$$

$$= 60,38 \times 10^{-1}$$

Frakasi 0 - 40%

$$a. \text{ Blanko} = \frac{0,038 + 0,036 + 0,036}{3} = 0,037$$

$$b. \text{ Standar} = \frac{0,452 + 0,451 + 0,451}{3} = 0,451$$

$$c. \text{ Sampel 1} = \frac{0,039 + 0,038 + 0,039}{3} = 0,039$$

$$\text{Sampel 2} = \frac{0,037 + 0,038 + 0,038}{3} = 0,038$$

$$\text{Sampel 3} = \frac{0,039 + 0,039 + 0,038}{3} = 0,039$$

$$d. \text{ Standart} - \text{Blanko} = 0,451 - 0,037 = 0,414$$

$$e. \text{ Sampel 1} - \text{Blanko} = 0,038 - 0,037 = 2,0 \times 10^{-3}$$

$$\text{Sampel 2} - \text{Blanko} = 0,038 - 0,037 = 1,0 \times 10^{-3}$$

$$\text{Sampel 3} - \text{Blanko} = 0,039 - 0,037 = 2,0 \times 10^{-3}$$

$$U_1 = \left(\frac{0,039 - 0,037}{0,414 - 0,037} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = \left(\frac{2,0 \times 10^{-3}}{0,414} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = 7,971 \times 10^{-1}$$

$$U_2 = \left(\frac{0,0318 - 0,037}{0,414 - 0,037} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = \left(\frac{1,0 \times 10^{-3}}{0,414} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = 3,985 \times 10^{-1}$$

$$U_3 = \left(\frac{0,038 - 0,0367}{0,414 - 0,037} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = \left(\frac{2,0 \times 10^{-3}}{0,414} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = 7,971 \times 10^{-1}$$

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

$$= \frac{(7,971 \times 10^{-1}) + (3,985 \times 10^{-1}) + (7,971 \times 10^{-1})}{3}$$

$$= 6,642 \times 10^{-1}$$

Frakasi 40 – 80 %

$$\text{a. Blanko} = \frac{0,029 + 0,030 + 0,029}{3} = 0,029$$

$$\text{b. Standar} = \frac{0,449 + 0,449 + 0,449}{3} = 0,449$$

$$\text{c. Sampel 1} = \frac{0,031 + 0,032 + 0,035}{3} = 0,033$$

$$\text{Sampel 2} = \frac{0,032 + 0,033 + 0,031}{3} = 0,032$$

$$\text{Sampel 3} = \frac{0,032 + 0,033 + 0,031}{3} = 0,032$$

$$\text{d. Standart - Blanko} = 0,449 - 0,029 = 0,42$$

$$\text{e. Sampel 1 - Blanko} = 0,033 - 0,029 = 3,4 \times 10^{-3}$$

$$\text{Sampel 2 - Blanko} = 0,032 - 0,029 = 3,0 \times 10^{-3}$$

$$\text{Sampel 3 - Blanko} = 0,032 - 0,029 = 2,7 \times 10^{-3}$$

$$U_1 = \left(\frac{0,033 - 0,029}{0,449 - 0,029} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = \left(\frac{3,4 \times 10^{-3}}{0,42} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = 1,336 \times 10^{-1}$$

$$U_2 = \left(\frac{0,032 - 0,029}{0,449 - 0,029} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = \left(\frac{3,0 \times 10^{-3}}{0,42} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = 1,179 \times 10^{-1}$$

$$U_3 = \left(\frac{0,032 - 0,029}{0,449 - 0,029} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = \left(\frac{2,7 \times 10^{-3}}{0,42} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = 1,061 \times 10^{-1}$$

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

$$= \frac{(1,336 \times 10^{-1}) + (1,179 \times 10^{-1}) + (1,061 \times 10^{-1})}{3}$$

$$= 1,192 \times 10^{-1}$$

Fraksi 80 – 100 %

$$a. \text{ Blanko} = \frac{0,026 + 0,023 + 0,028}{3} = 0,026$$

$$b. \text{ Standar} = \frac{0,431 + 0,434 + 0,436}{3} = 0,433$$

$$c. \text{ Sampel 1} = \frac{0,031 + 0,035 + 0,37}{3} = 0,035$$

$$\text{Sampel 2} = \frac{0,029 + 0,034 + 0,035}{3} = 0,033$$

$$\text{Sampel 3} = \frac{0,030 + 0,031 + 0,031}{3} = 0,031$$

$$d. \text{ Standart} - \text{Blanko} = 0,433 - 0,026 = 0,408$$

$$e. \text{ Sampel 1} - \text{Blanko} = 0,035 - 0,026 = 9,0 \times 10^{-3}$$

$$\text{Sampel 2} - \text{Blanko} = 0,033 - 0,026 = 7,0 \times 10^{-3}$$

$$\text{Sampel 3} - \text{Blanko} = 0,031 - 0,026 = 5,0 \times 10^{-3}$$

$$U_1 = \left(\frac{0,035 - 0,026}{0,433 - 0,026} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = \left(\frac{9,0 \times 10^{-3}}{0,408} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = 3,693 \times 10^{-1}$$

$$U_2 = \left(\frac{0,033 - 0,026}{0,433 - 0,026} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = \left(\frac{7,0 \times 10^{-3}}{0,408} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = 2,831 \times 10^{-1}$$

$$U_3 = \left(\frac{0,031 - 0,026}{0,433 - 0,026} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = \left(\frac{5,0 \times 10^{-3}}{0,408} \right) \times \left(\frac{1}{10} \right) \times 165 = 2,022 \times 10^{-1}$$

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

$$= \frac{(3,639 \times 10^{-1}) + (2,831 \times 10^{-1}) + (2,022 \times 10^{-1})}{3}$$

$$= 2,831 \times 10^{-1}$$

Lampiran 6. Data Standart Deviasi
Data Standart Deviasi

Fraksi	Sampel			Re rata Sampel			Sampel - Re rata			$(X_n - X_0)^2$					
	X ₁	X ₂	X ₃	\bar{X}_1	\bar{X}_2	\bar{X}_3	$\bar{X}_1 X_1$	X ₂	X ₃	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁	X ₂	X ₃
Enzim Bromelin Kasar	0,831	0,821	0,831	0,825	0,823	0,829	0,006	-0,002	0,002	$3,6 \times 10^{-5}$	$0,4 \times 10^{-5}$	$0,4 \times 10^{-5}$	0,004	0,001	0,001
	0,824	0,825	0,828	0,825	0,823	0,829	-0,001	0,002	-0,001	$0,1 \times 10^{-5}$	$0,4 \times 10^{-5}$	$0,1 \times 10^{-5}$	0,001	0,001	0,001
	0,824	0,823	0,827	0,825	0,823	0,829	-0,005	-	-0,002	$2,5 \times 10^{-5}$	-	$0,4 \times 10^{-5}$	0,003	-	0,001
0 - 40 %	0,039	0,037	0,039	0,039	0,037	0,038	-	-	0,001	-	-	$0,1 \times 10^{-5}$	0,001	-	0,001
	0,038	0,038	0,037	0,039	0,037	0,038	-0,001	0,001	-0,001	$0,1 \times 10^{-5}$	$0,1 \times 10^{-5}$	$0,1 \times 10^{-5}$	0,001	0,001	0,001
	0,039	0,037	0,038	0,039	0,037	0,038	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40 - 80 %	0,031	0,032	0,032	0,033	0,032	0,032	-0,002	-	-	$0,4 \times 10^{-5}$	-	-	0,001	-	-
	0,032	0,033	0,033	0,033	0,032	0,032	0,001	0,001	0,001	$0,1 \times 10^{-5}$	$0,1 \times 10^{-5}$	$0,1 \times 10^{-5}$	0,001	0,001	0,001
	0,035	0,031	0,031	0,033	0,032	0,032	0,002	-0,001	-0,001	$0,4 \times 10^{-5}$	$0,1 \times 10^{-5}$	$0,1 \times 10^{-5}$	0,001	0,001	0,001
80-100%	0,031	0,029	0,030	0,035	0,033	0,031	-0,004	-0,004	-0,001	$1,6 \times 10^{-5}$	$1,6 \times 10^{-5}$	$0,1 \times 10^{-5}$	0,002	0,002	0,001
	0,035	0,034	0,031	0,035	0,033	0,031	-	0,001	-	-	$0,1 \times 10^{-5}$	-	-	0,001	-
	0,037	0,035	0,031	0,035	0,033	0,031	0,002	0,002	-	$0,4 \times 10^{-5}$	$0,4 \times 10^{-5}$	-	0,001	0,001	-

Lampiran7. Perhitungan Standart Deviasi

Berdasarkan persamaan rumus standart deviasi

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

Enzim Bromelin Kasar

Untuk X₁ :

$$U_1 = \sqrt{\frac{(3,6 \times 10^{-5})^2}{2}} \quad U_2 = \sqrt{\frac{(0,1 \times 10^{-5})^2}{2}} \quad U_3 = \sqrt{\frac{(2,5 \times 10^{-5})^2}{2}}$$

$$= 0,004 \quad = 0,001 \quad = 0,003$$

Untuk X₂ :

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

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

Untuk X₃ :

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

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

Fraksi 0 – 40 %

Untuk X₁ :

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

$$= 0,001$$

Untuk X₂ :

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

$$= 0,001$$

Untuk X₃:

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

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

Fraksi 40 - 80 %**Untuk X₁:**

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

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

Untuk X₂:

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

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

Untuk X₃:

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

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

Fraksi 80 - 100 %**Untuk X₁:**

$$U_1 = \sqrt{\frac{(1,6 \times 10^{-5})^2}{2}} \quad U_2 = - \quad U_3 = \sqrt{\frac{(0,4 \times 10^{-5})^2}{2}}$$

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

Untuk X₂:

$$U_1 = \sqrt{\frac{(1,6 \times 10^{-5})^2}{2}} \quad U_2 = \sqrt{\frac{(0,4 \times 10^{-5})^2}{2}} \quad U_3 = \sqrt{\frac{(0,4 \times 10^{-5})^2}{2}}$$

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

Untuk X_3 :

$$U_1 = \sqrt{\frac{(0,1 \times 10^{-5})^2}{2}} \quad U_2 = - \quad U_3 = -$$
$$= 0,001$$



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	7,0	6,8	6,7	6,8
Sampel 3 hari	6,3	6,7	6,0	6,3
Sampel 5 hari	3,5	3,0	2,8	3,1
Sampel 7 hari	5,2	4,0	4,3	4,5

Analisis Titrasi Protein Terlarut

Nama	% Nitr.	% Prot.
Kontrol	1,051	6,57
Sampel 0 hari	1,061	6,62
Sampel 3 hari	1,065	6,66
Sampel 5 hari	1,111	6,94
Sampel 7 hari	1,091	6,82

Lampiran 9. Perhitungan Protein Terlarut**Kontrol**

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

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

$$c. \text{ Sampel } 0' = \frac{7,0 + 6,8 + 6,7}{3} = 6,8$$

$$\text{Sampel } 3' = \frac{6,7 + 6,7 + 6}{3} = 6,333$$

$$\text{Sampel } 5' = \frac{3,5 + 3 + 2,8}{3} = 3,1$$

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

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

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

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

$$b. \text{ Faktor konversi} = 6,25$$

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

Sampel 0 hari

$$\begin{aligned} \text{a. } V_2N_2 - V_3N_3 &= (82,4 \times 0,1) - (6,8 \times 0,1) \\ &= 8,24 - 0,68 \\ &= 7,56 \text{ mmol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{b. } \text{gr} &= 7,56 \text{ mmol} \times 14,008 \\ &= 105,9 \text{ mg} \\ &= 0,106 \text{ gr} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{c. } \%N &= \frac{0,106}{10} \times 100\% \\ &= 1,061 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{d. } \%P &= 1,051 \times 6,25 \\ &= 6,631 \% \end{aligned}$$

Sampel 3 hari

$$\begin{aligned} \text{a. } V_2N_2 - V_3N_3 &= (82,4 \times 0,1) - (6,333 \times 0,1) \\ &= 8,24 - 0,6333 \\ &= 7,607 \text{ mmol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{b. } \text{gr} &= 7,607 \text{ mmol} \times 14,008 \\ &= 106,55 \text{ mg} \\ &= 0,106 \text{ gr} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{c. } \%N &= \frac{0,106}{10} \times 100\% \\ &= 1,065 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{d. } \%P &= 1,065 \times 6,25 \\ &= 6,625 \% \end{aligned}$$

Sampel 5 hari

$$\begin{aligned} \text{a. } V_2N_2 - V_3N_3 &= (82,4 \times 0,1) - (3,1 \times 0,1) \\ &= 8,24 - 0,31 \\ &= 7,93 \text{ mmol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{b. } \text{gr} &= 7,93 \text{ mmol} \times 14,008 \\ &= 111,083 \text{ mg} \\ &= 0,111 \text{ gr} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{c. } \% \text{N} &= \frac{0,111}{10} \times 100\% \\ &= 1,11 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{d. } \% \text{P} &= 1,11 \% \times 6,25 \\ &= 6,938 \% \end{aligned}$$

Sampel 7 hari

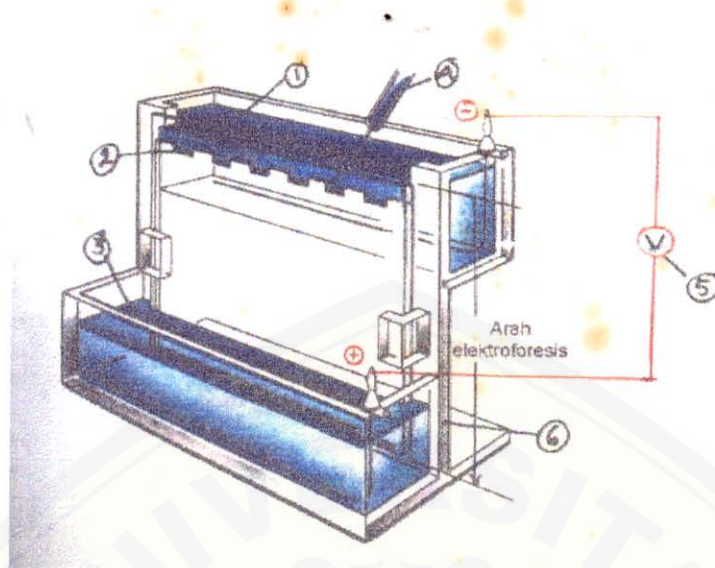
$$\begin{aligned} \text{a. } V_2\text{N}_2 - V_3\text{N}_3 &= (82,4 \times 0,1) - (4,5 \times 0,1) \\ &= 8,24 - 0,45 \\ &= 7,79 \text{ mmol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{b. } \text{gr} &= 7,79 \text{ mmol} \times 14,008 \\ &= 109122 \text{ mg} \\ &= 0,109 \text{ gr} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{c. } \% \text{N} &= \frac{0,109}{10} \times 100\% \\ &= 1,091 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{d. } \% \text{P} &= 1,091 \times 6,25 \\ &= 6,819 \% \end{aligned}$$

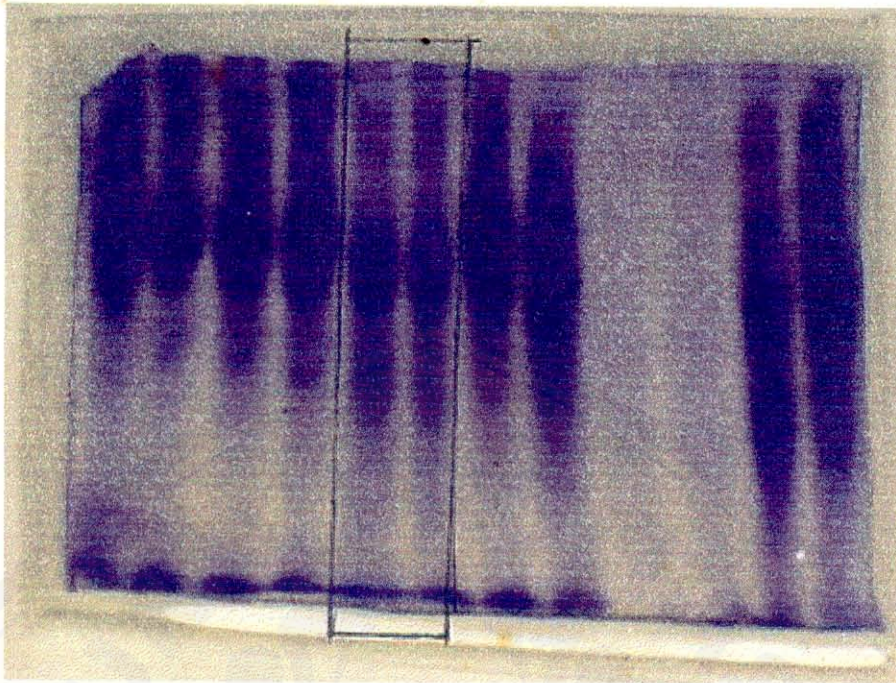
Lampiran 10. Alat Elektroforesis



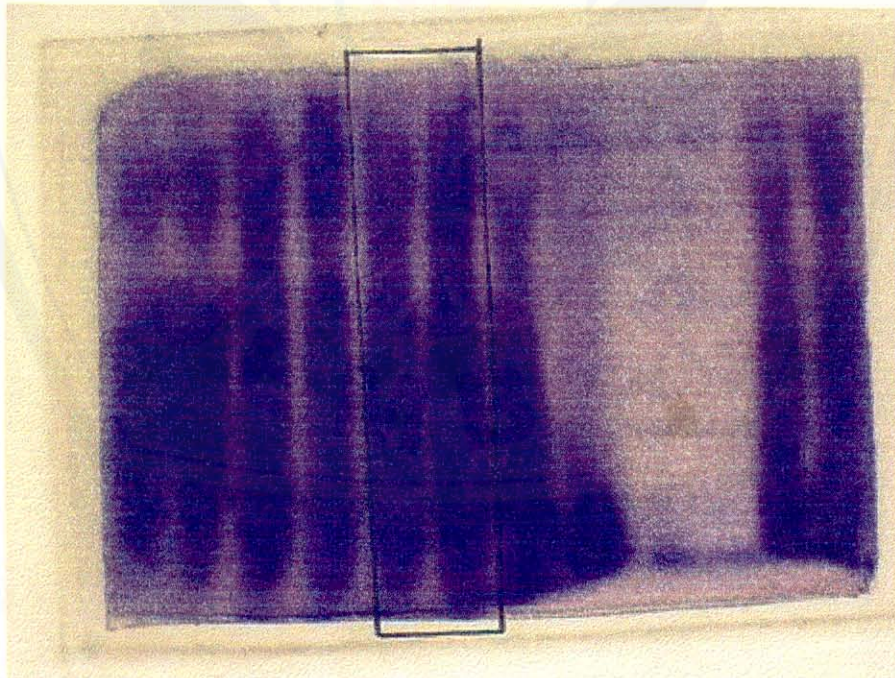
Gambar 1. Perangkat elektroforesis

- Ket. 1. Buffer running atas
2. Sumur sampel
3. Buffer running bawah
4. Semprit Microliter
5. Aliran listrik 15 volt
6. Kaca lempeng (pembuatan gel)

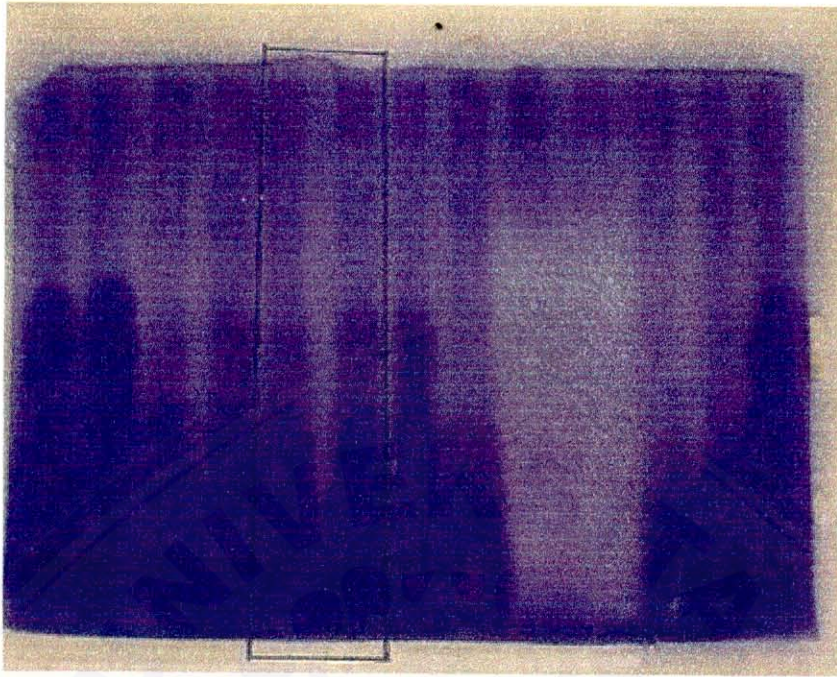
Lampiran 11. Elektroforegram Protein Ikan Lemuru Dengan Bromelin



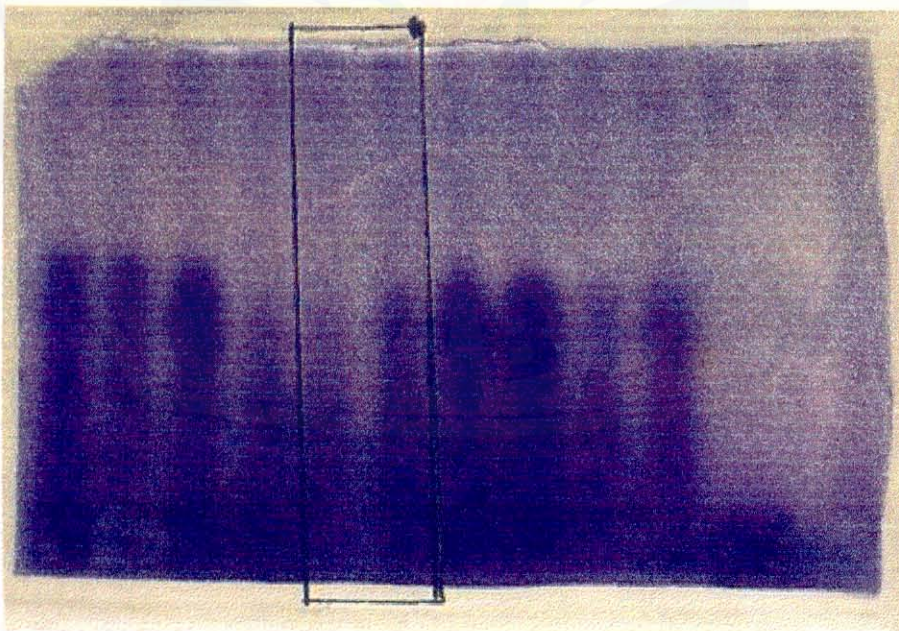
Gambar 1. Elektroforegram protein ikan lemuru yang terhidrolisis enzim bromelin kasar pada masa inkubasi 0 hari



Gambar 2. Elektroforegram protein ikan lemuru yang terhidrolisis enzim bromelin pada masa inkubasi 3 hari

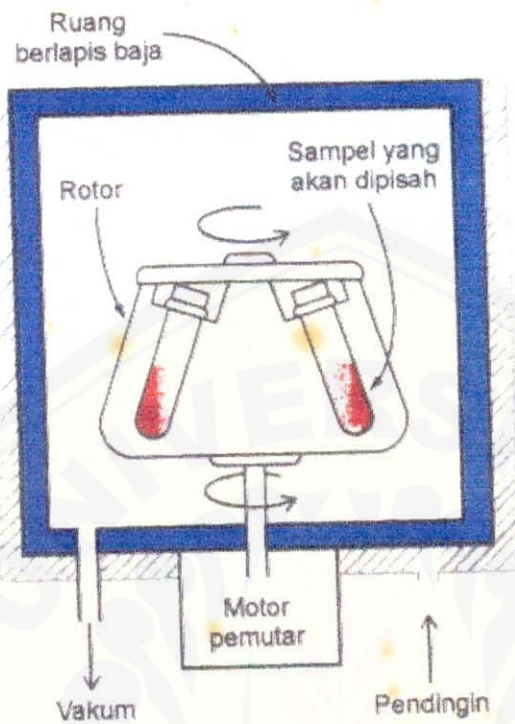


Gambar 3. Elektroforegram protein ikan lemuru yang terhidrolisis enzim bromelin pada masa inkubasi 5 hari



Gambar 4. Elektroforegram protein ikan lemuru yang terhidrolisis enzim bromelin pada masa inkubasi 7 hari

Lampiran 12. Alat Sentrifuse Dingin



Gambar . Setrifuse dingin

