

**AKTIVITAS DAN KARAKTERISTIK pH, WAKTU DAN SUHU
OPTIMUM ENZIM PROTEASE DARI KERANG BAMBU
(*Solen spp*)**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Sarjana (S1) pada Program Studi
Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Al Ghifari

Oleh :

MAHARANI ANAWULA

D1A210104



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS AL GHIFARI
BANDUNG
2023**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Maharani Anawula

Nim : D1A210104

Tanggal : 24 juli 2023

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya sendiri, dan semua sumber buku yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.



Maharani Anawula

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Universitas Al Ghifari, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Maharani Anawula
Nim : D1A210104
Program Studi : S1 Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Al Ghifari Bebas Royalti Non-eksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

**“AKTIVITAS DAN KARAKTERISTIK pH, WAKTU DAN SUHU
OPTIMUM ENZIM PROTEASE DARI KERANG BAMBU (*Solen spp*)”**

Beserta perangkat yang ada. Dengan Hak Bebas Royalti Non-eksklusif ini Universitas Al Ghifari berhak menyimpan, mengambil alih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Bandung

Pada tanggal : 24 juli 2023

Yang menyatakan



Maharani Anawula

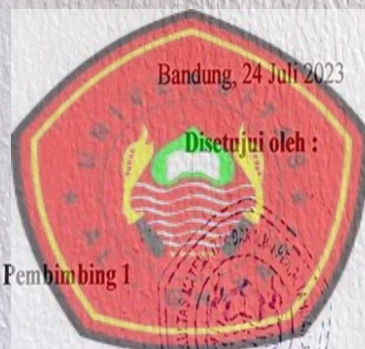
LEMBAR PENGESAHAN

JUDUL : AKTIVITAS DAN KARAKTERISTIK pH, WAKTU
DAN SUHU OPTIMUM ENZIM PROTEASE DARI
KERANG BAMBU (*Solen spp*)

PENYUSUN : MAHARANI ANAWULA

NIM : D1A210104

Setelah membaca skripsi ini dengan seksama, menurut pertimbangan kami
telah memenuhi syarat ilmiah sebagai suatu skripsi



Pembimbing 1

Pembimbing 2



Dr. Baiq Vera El Viera, M.Si

NIDN : 0430037706



apt. Silvianita Isna Septila, S.Farm., M.Farm

NIDN : 033400922



VISI DAN MISI UNIVERSITAS AL GHIFARI

VISI

Menjadi Universitas yang unggul, bertaraf internasional, berbasis nilai-nilai islam, budaya sunda dan entrepreneur pada tahun 2045.

MISI

1. Meningkatkan kualitas tridarma perguruan tinggi
2. Mengembangkan dan menyebarkan akses pendidikan dan ajaran islam.
3. Meningkatkan kolaborasi, kemitraan, kerjasama dan inovasi yang berdampak pada kesejahteraan masyarakat, dan
4. Meningkatkan tata kelola perguruan tinggi menjadi *Good University Governance*.

TUJUAN

1. Terwujudnya Unfari sebagai perguruan tinggi yang unggul, bertaraf internasional, berbasis nilai-nilai islam, budaya sunda dan entrepreneur
2. Terwujudnya kualitas tridarma Perguruan Tinggi
3. Terwujudnya kolaborasi, kemitraan, kerjasama dan inovasi yang berdampak pada kesejahteraan masyarakat.
4. Terwujudnya tata kelola perguruan tinggi menjadi *Good University Governance*, dan
5. Terwujudnya lulusan yang unggul bertaraf internasional berbasis nilai-nilai islam budaya sunda dan entrepreneur.



VISI DAN MISI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM

VISI

Menjadi fakultas yang unggul, berdasarkan nilai-nilai islam, budaya sunda, bercirikan wirausaha dan bertaraf internasional di tahun 2045.

MISI

1. Meningkatkan kualitas pendidikan, penelitian, pengabdian kepada masyarakat yang berpihak kepada kemaslahatan umat menuju universitas berkualifikasi internasional (*World Class University*).
2. Mengembangkan dan menyebarkan akses pendidikan dan ajaran islam serta melestarikan budaya sunda.
3. Mengembangkan kewirausahaan.
4. Mengembangkan manajemen universitas yang akuntabel dengan pencitraan publik dan tata kelola yang baik (*Good University Governance*).



VISI DAN MISI
PROGRAM STUDI FARMASI FAKULTAS MIPA
UNIVERSITAS AL GHIFARI

VISI

Menjadi program studi farmasi yang unggul dalam bidang kewirausahaan dan bahan alam, berdasarkan nilai-nilai Islami dan bertaraf internasional pada tahun 2045.



MISI

1. Menjalankan Tri Dharma perguruan tinggi untuk menghasilkan sarjana farmasi yang unggul, berwawasan global dan islami serta melestarikan budaya sunda.
2. Mengembangkan ilmu dan teknologi farmasi untuk sediaan bahan alam sehingga sarjana farmasi yang dihasilkan siap memanfaatkan bahan obat asli Indonesia yang diakui oleh dunia internasional.
3. Mengembangkan ilmu kefarmasian dalam bidang farmasi klinik dan komunitas.
4. Membekali mahasiswa dengan wawasan Islam agar menjadi sarjana farmasi yang berakhlakul karimah dan dapat memenuhi tuntutan zaman dengan tetap berlandaskan ideologi islam.

KATA PENGANTAR



Assalamualaikum warahmatullahi wabarakatuh

Alhamdulillah rabbi'l'amin. Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, berkat limpahan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan keseluruhan proses tugas akhir skripsi yang berjudul **“AKTIVITAS DAN KARAKTERISTIK pH, WAKTU DAN SUHU OPTIMUM ENZIM PROTEASE DARI KERANG BAMBU (*Solen spp*)”**. Laporan hasil skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik tidak lepas berkat dorongan dari semua pihak yang telah memberikan bantuan berupa tenaga, pikiran serta bimbingan kepada penulis. Oleh karena itu, dengan penuh rasa syukur pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Prof Dr. H. Didin Muhafidin S.I.P., M.Si selaku Rektor Universitas Al Ghifari
2. Ibu Dr. Baiq Vera El Viera, M.Si selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Al Ghifari, sekaligus selaku pembimbing I yang telah memberikan waktu dan kesempatan selama proses bimbingan, sebagai penasihat yang dengan sabar telah memberikan bimbingan, memberi dukungan, petunjuk dan motivasi dalam penyusunan skripsi.
3. Ibu Silvianita Isna Septila, S.Farm.,M.Farm selaku pembimbing II yang telah memberikan waktu dan kesempatan selama proses bimbingan, sebagai penasihat yang dengan sabar telah memberikan bimbingan, memberi dukungan, petunjuk dan motivasi dalam penyusunan skripsi.
4. Bapak apt. Indra Permana S.Si., M.Farm selaku Ketua Program studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Al Ghifari.

5. Ibu apt. Ginayanti Hadisoebroto, M.Si selaku Dosen Wali yang selalu memberikan arahan dan motivasi yang bermanfaat bagi penulis.
6. Bapak dan Ibu Dosen di lingkungan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Al Ghifari, khususnya Dosen Jurusan Farmasi yang telah memberikan pengajaran dan pemahaman yang tulus sehingga menambah wawasan dan pengetahuan penulis.
7. Kepada kedua orang tua tercinta Bapak Sukwan, S.Tp dan Ibu Hasdiani Daud, SE yang senantiasa sabar dan penuh kasih sayang membesarkan, menjaga, menuntun, dan mendidik penulis dan semoga penulis dapat menjadi anak yang dibanggakan kelak.
8. Keluarga, adik tercinta Nadya anawai dan Oscar anando, dan juga nenek tercinta almarhuma Hj. Hasni yang sudah memberikan motivasi dan dukungan kepada penulis.
9. Teman-teman yang sudah setia menemani dalam proses Pendidikan dari Diploma III Farmasi sampai saat ini.
10. Teman-teman Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Al-Ghifari khususnya Konversi Reguler Pagi 2021. Terima kasih untuk kebersamaan, keceriaan, kekompakan, kenangan, motivasi, dan semangat selama ini
11. Serta semua pihak yang telah membantu penulis selama penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu.

Penulis berdoa semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan semua pihak kepada penulis. Dalam menyusun skripsi ini penulis menyadari masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati diharapkan masukan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun dari pembaca. Penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat untuk semua.

Wassalamualaikum warahmatullahi wabarakatuh.

Bandung, 24 juli 2023



Maharani Anawula



ABSTRAK

Kerang bambu (*Solen spp*) merupakan salah satu jenis mollusca dari family Solenidae mempunyai nilai yang ekonomis. Kandungan zat gizi yang menonjol pada kerang bambu adalah asam lemak. Selain itu kerang bambu juga merupakan sumber protein hewani dengan kategori protein yang komplit, karena kandungan asam amino esensialnya lengkap dan berperan sebagai antioksidan serta taurin sehingga dapat dikembangkan baik dalam bidang pangan maupun farmasi. Enzim dapat bekerja secara maksimal pada pH, waktu dan suhu optimum. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis aktivitas dan mengarakteristik pH, waktu dan suhu optimum yang dibutuhkan enzim protease dari kerang bambu serta menentukan nilai aktivitas enzim protease pada pH, waktu dan suhu optimum. Penentuan nilai aktivitas enzim diukur menggunakan Spektrofotometri UV/Vis pada panjang gelombang 578 nm menggunakan pereaksi Follin Ciocalteu's. Hasil penelitian ini menunjukkan aktivitas enzim protease kerang bambu (*Solen spp*) tertinggi yaitu pada kondisi optimum pH 9, waktu 5 menit dan pada suhu 60°C dengan nilai aktivitas enzim protease sebesar 1,833 U/mL.

Kata Kunci : *Solen spp*, enzim protease, pH Optimum, waktu Optimum dan suhu Optimum, Spektrofotometri UV/Vis.



ABSTRACT

Bamboo clams (Solen spp) are one type of mollusca from the Solenidae family that has economic value. The prominent nutrient content in bamboo clams is fatty acids. In addition, bamboo clams are also a source of animal protein with a complete protein category, because they contain complete essential amino acids and play a role as antioxidants and taurine so that they can be developed both in the food and pharmaceutical fields. Enzymes can work optimally at optimum pH, time and temperature. The purpose of this study was to analyze the activity and characterize the optimum pH, time and temperature required by protease enzymes from bamboo clams and determine the value of protease enzyme activity at the optimum pH, time and temperature. Determination of enzyme activity value was measured using UV/Vis spectrophotometry at a wavelength of 578 nm using Follin Ciocalteu's reagent. The results of this study showed that the highest protease enzyme activity of bamboo clams (Solen spp) was at the optimum conditions of pH 9, time 5 minutes and at a temperature of 60°C with a protease enzyme activity value of 1.833 U/mL.

Keywords: *Solen spp, protease enzyme, optimum pH, optimum time and optimum temperature, UV/Vis spectrophotometry.*



DAFTAR ISI

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS	
AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
VISI DAN MISI.....	v
VISI DAN MISI.....	vi
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM	vi
VISI DAN MISI.....	vii
PROGRAM STUDI FARMASI FAKULTAS MIPA UNIVERSITAS AL	
GHIFARI	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
ABSTRAK	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Deskripsi Kerang Bambu (<i>Solen spp</i>).....	5
2.2 Enzim	7
2.3 Faktor yang Mempengaruhi Kerja Enzim.....	10
2.4 Ekstrak Enzim	15
2.5 Pengujian Aktivitas Protease	16
2.6 Metode Spektrofotometer UV-Vis.....	18
2.7 Hukum Lambert-Beer	19
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	21
3.1 Alat dan Bahan.....	21
3.2 Pengumpulan Sampel.....	21
3.3 Pembuatan Ekstrak.....	22
3.4 Pembuatan Larutan Buffer	22
3.5 Uji Aktivitas Protease	23
3.6 Karakterisasi Suhu, Waktu dan pH Optimum.....	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	26

4.1	Penyiapan Bahan.....	26
4.2	Hasil Ekstraksi	26
4.3	Uji Aktivitas Protease	27
4.4	Penentuan pH Optimum Enzim	28
4.5	Penentuan Waktu Optimum Enzim	31
4.6	Penentuan Suhu Optimum Enzim.....	34
BAB V	PENUTUP	37
5.1	Kesimpulan	37
5.2	Saran	37
DAFTAR PUSTAKA		38
LAMPIRAN		41



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Hasil Pengukuran Absorbansi Pada Penentuan pH Optimum	29
Tabel 4.2	Aktivitas Enzim Protease Pada Penentuan pH Optimum.....	30
Tabel 4.3	Hasil Pengukuran Absorbansi Pada Penentuan Waktu Optimum.....	32
Tabel 4.4	Aktivitas Enzim Protease Pada Penentuan Waktu Optimum	33
Tabel 4.5	Hasil Pengukuran Absorbansi Pada Penentuan Suhu Optimum	35
Tabel 4.6	Aktivitas Enzim Protease Pada Penentuan Suhu Optimum	35



DAFTAR GAMBAR

Tabel 2.1	Kerang Bambu.....	5
Tabel 2.2	Struktur Enzim	7
Tabel 2.3	Hubungan Suhu dan Kecepatan Reaksi	9
Tabel 2.4	Hubungan pH dan Aktivitas Enzim.....	11
Tabel 2.5	Pengaruh Konsentrasi Substrat.....	12
Tabel 2.6	Struktur Kasein.....	16
Tabel 2.7	Skema Alat Spektrofotometer UV-Vis Single Beam.....	18
Tabel 4.1	Kerang Bambu Bersih	26
Tabel 4.1	Hasil Ekstraksi Kerang Bambu	27
Tabel 4.2	Aktivitas Enzim Protease pada pH Optimum.....	30
Tabel 4.3	Aktivitas Enzim Protease pada Waktu Optimum.....	33
Tabel 4.4	Aktivitas Enzim Protease pada Suhu Optimum	35



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran I	Desain Penelitian.....	41
Lampiran II	Proses Ekstraksi Kerang Bambu	42
Lampiran III	Penentuan pH Optimum.....	43
Lampiran IV	Penentuan Waktu Optimum	44
Lampiran V	Penentuan Suhu Optimum	45
Lampiran VI	Perhitungan Nilai Aktivitas Protease pada pH Optimum	46
Lampiran VII	Perhitungan Nilai Aktivitas Protease pada Waktu Optimum.....	47
Lampiran VIII	Perhitungan Nilai Aktivitas Protease pada Suhu Optimum	48



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kerang bambu (*Solen spp*) merupakan salah satu jenis mollusca dari family Solenidae mempunyai nilai yang ekonomis. Kerang bambu (*Solen spp*) mempunyai bentuk pipih panjang mirip bambu sebesar jari tangan orang dewasa, (Baron *et al.*, 2004). Habitat Kerang bambu (*Solen spp*) terdapat pada daerah pesisir pantai dengan substrat dasar berupa pasir yang sedikit berlumpur (Ramadhan *et al.*,2017).

Kandungan zat gizi yang menonjol pada kerang bambu adalah asam lemak. Selain itu kerang bambu juga merupakan sumber protein hewani dengan kategori protein yang komplit, karena kandungan asam amino esensialnya lengkap dan berperan sebagai antioksidan serta taurin yang diketahui memiliki potensi untuk menurunkan kadar kolestrol sehingga dapat dikembangkan baik dalam bidang pangan maupun farmasi (Kartika dan Yanuwidi, 2015; Trisyani dan Yusan, 2020). Produk alami dari kerang dan gastropoda telah digunakan sebagai antioksidan, anti bakteri, anti jamur, sitotoksik, antikanker, dan inhibitor enzim (Tadesse *et al.*, 2008; Defer *et al.*, 2009; Zhou *et al.*, 2011).

Beberapa hewan laut diketahui mengandung senyawa protein aktif. Senyawa ini dikenal sebagai hemolisin, yang merupakan salah satu produk metabolit sekunder (Russell, 1965; Hashimoto, 1979; Shiomi *et al.*, 1986; Kamiya *et al.*, 1991). Demikian pula, hemolisin pada kerang bambu dapat dikembangkan potensinya sebagai sitolisin, kandidat obat antitumor ataupun bahan untuk bidang kajian biomedik sebagai penelitian lanjutan (Remy dan Fitje, 2013).

Enzim merupakan sekelompok protein yang mengatur dan menjalankan perubahan-perubahan kimia dalam sistem biologi. Enzim dihasilkan oleh organ-organ pada tanaman, hewan dan mikroorganisme yang secara katalitik menjalankan berbagai reaksi, seperti hidrolisis, oksidasi, reduksi, isomerasi, adisi, transfer radikal, pemutusan rantai karbon (Sumardjo, 2009).

Enzim protease merupakan salah satu enzim yang diperlukan oleh semua makhluk hidup karena bersifat esensial dalam metabolisme protein. Enzim protease merupakan salah satu enzim proteolitik, selain enzim papain dan bromelin (Soepandi dan Wardah, 2014). Protease adalah enzim golongan hidrolase yang akan memecah protein menjadi molekul yang lebih sederhana, seperti menjadi oligopeptida pendek atau asam amino, dengan reaksi hidrolisis pada ikatan peptida (Poliana, 2007). Protease juga dimanfaatkan dalam bidang pangan, kulit, farmasi, dan industri kimia lainnya (Li *et al.*, 2013).

Produksi protease banyak dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti pH, suhu dan masa inkubasi (Beg *et al.*, 2003). Setiap enzim memiliki pH optimum di mana pada kondisi pH tersebut struktur tiga dimensinya paling efektif dalam mengikat substrat. Apabila konsentrasi ion hidrogen berubah dari konsentrasi optimalnya, maka strukturnya akan mengalami kerusakan dan aktivitas enzim akan hilang pada akhirnya enzim menjadi tidak fungsional (Lehninger, 1998). Suhu berperan penting dalam aktivasi dan inaktivasi enzim. Setiap enzim memiliki suhu optimal untuk aktivitas enzim maksimum (Sayem *et al.*, 2006). Ketika suhu dinaikkan akan menyebabkan aktivitas enzim meningkat. Hal ini disebabkan oleh suhu yang semakin tinggi akan meningkatkan energi kinetik, sehingga akan menambah

intensitas tumbukan antara substrat dan enzim. Tumbukan yang sering terjadi akan mempermudah pembentukan kompleks enzim-substrat, sehingga produk yang terbentuk semakin banyak (Adrio dan Demain, 2014). Masa inkubasi yang sesuai akan menghasilkan produksi protease yang maksimum ditandai dengan tingginya aktivitas enzim yang dihasilkan (Yuniati *et al.*, 2015).

Berdasarkan latar belakang diatas dan minimnya penelitian mengenai aktivitas enzim protease dari kerang bambu (*Solen spp*) sehingga penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “AKTIVITAS DAN KARAKTERISTIK pH, WAKTU DAN SUHU OPTIMUM ENZIM PROTEASE DARI KERANG BAMBU (*Solen spp*)”.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas maka identifikasi masalah sebagai berikut:

1. Berapa pH, waktu dan suhu optimum yang dibutuhkan untuk aktivitas enzim protease dari kerang bambu?
2. Berapa nilai aktivitas enzim protease pada kondisi pH, waktu dan suhu optimum?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Untuk menganalisis pengaruh pH, waktu dan suhu optimum yang dibutuhkan enzim protease pada kerang bambu.
2. Untuk nentukan nilai aktivitas enzim protease pada pH, waktu dan suhu optimum.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai aktivitas enzim protease kerang bambu pada suhu, waktu dan pH optimum serta diharapkan juga dapat dimanfaatkan untuk pengembangan penelitian berikutnya.

1.5 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-Mei 2023 di Laboratorium Farmasi Bahan Alam dan Laboratorium Instrumentasi, Program studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Al-Ghifari Bandung.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

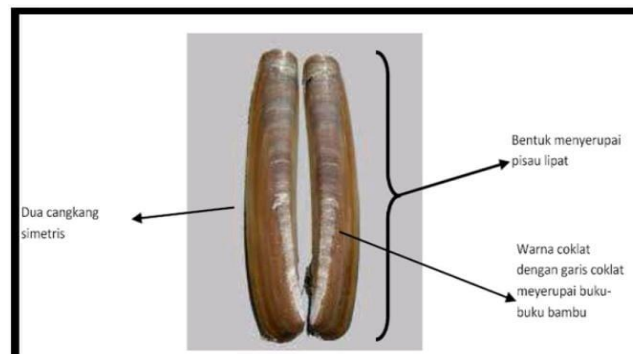
2.1 Deskripsi Kerang Bambu (*Solen spp*)

2.1.1 Klasifikasi

Kerang bambu (*Solen spp*) merupakan salah satu jenis moluska yang termasuk biota perairan non ikan dengan nilai ekonomis tinggi, kerang ini biasanya ditemukan di perairan Sumenep, Pamekasan, Bangkalan, Surabaya, Cirebon dan Jambi dengan ukuran yang berbeda karena dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan teknik penangkapan (Trisyani, 2018). Kerang bambu merupakan salah satu jenis kerang yang memiliki kandungan asam amino esensial yang berperan sebagai antioksidan serta taurin yang diketahui memiliki potensi menurunkan kadar kolesterol sehingga dapat dikembangkan baik dalam bidang pangan maupun farmasi (Kartika dkk, 2020). Klasifikasi kerang bambu (*Solen spp*) menurut Tuaycharoen dan Matsukuma (2001) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Mollusca
Sub filum	: Conchifera
Kelas	: Bivalvia
Ordo	: Heterodonta
Sub ordo	: Veneroida
Famili	: Solenidae
Genus	: Solen
Spesies	: <i>Solen spp.</i>

2.1.2 Morfologi Kerang Bambu (*Solen spp*)



Gambar 2.1. Kerang Bambu (*Solen spp*)

(Nurjanah, 2013).

Habitat kerang pisau berupa pasir berlumpur dengan arus air laut yang lemah. Seperti halnya razor clams yang lain, kelompok kecil ini bersembunyi atau menggali secara vertikal pada substrat berpasir dan sedikit keluar pada saat pasang surut. Kerang bambu banyak ditemukan di sepanjang perairan pantai selatan Pamekasan, Madura dengan ciri pantai yang landai dan datar sehingga jika air laut surut jarak air dengan garis pantai dapat mencapai 200-300 m (Nurjanah dkk, 2013).

Ukuran spesies kerang bambu (*Solen spp*) atau yang disebut juga kerang pisau, mempunyai panjang hanya 2 atau 3 inchi (5-7,5 cm) pada pertumbuhan maksimal. Kerang bambu atau kerang pisau berbentuk tipis, memanjang, dan tutupnya terbuka satu sama lain. Permukaannya halus dan agak mengkilap, berwarna coklat tua dengan kerutan konsentris sangat redup. Kerang bambu mempunyai cangkang yang berwarna kecoklatan. Bagian cangkang agak putih dilengkapi dengan garis-garis coklat, membuat biota ini sekilas mirip dengan bilah bambu. Morfologi Kerang Bambu dapat dilihat pada Gambar 2.1, (Nurjanah, 2013).

2.1.3 Kandungan

Kerang-kerangan merupakan makanan laut sumber protein hewani dengan kategori protein komplit, karena kadar asam amino esensialnya tinggi dan sekitar 85%-95% mudah dicerna tubuh. Selain itu, kerang-kerangan adalah makanan sumber vitamin larut lemak dan air. Kerang-kerangan juga merupakan sumber utama mineral yang dibutuhkan tubuh seperti iodium, besi, seng, selenium, kalsium, fosfor, kalium, dan fluor (Andamari R 1991 dan Rusyadi 2006).

Kandungan zat gizi yang menonjol pada kerang bambu adalah asam lemak. Komoditas perikanan umumnya merupakan sumber asal lemak omega 3. Kerang pisau juga mempunyai kandungan kolesterol. Kolesterol mempunyai peran penting dalam tubuh, apabila berlebihan dapat menyebabkan penyumbatan pembuluh arteri. Kerang juga terkenal dengan kandungan mineral (Nurjanah, 2013).



2.2 Enzim

2.2.1 Pengertian Enzim

Enzim adalah suatu senyawa kimia atau protein khusus yang berperan sebagai katalisator suatu reaksi kimia di dalam tubuh makhluk hidup (Fitri, 2020). Enzim berfungsi sebagai biokatalisator, yaitu mempercepat laju suatu reaksi kimia tanpa ikut terlibat dalam reaksi tersebut. Maksudnya, enzim tidak ikut berubah menjadi produk tetapi akan kembali ke bentuk asalnya setelah reaksi kimia selesai. Enzim mengubah molekul substrat menjadi hasil reaksi (produk) yang molekulnya berbeda dari substrat. Enzim merupakan katalisator (protein katalitik) untuk reaksi-reaksi kimia di dalam sistem biologi. Sebagai katalis, enzim memiliki ciri khas, yaitu bersifat tidak diubah oleh reaksi yang dikatalisnya, enzim

tidak mengubah kedudukan normal dari kesetimbangan kimia, meskipun enzim mempercepat reaksi (Susanti, 2017).

2.2.2 Struktur Enzim (Fitri, 2020)

Keseluruhan bagian enzim disebut holoenzim. Enzim disusun oleh dua komponen utama yaitu :

1. Gugus protein (Apoenzim), yaitu bagian dari enzim yang tersusun dari molekul protein.
2. Gugus non protein, yaitu bagian dari enzim yang tersusun dari senyawa non protein.



Gambar 2.2. Struktur Enzim

(Sumber : Fitri, 2020)

Enzim memiliki sisi aktif, yakni bagian atau tempat pada enzim yang berfungsi sebagai tempat menempelnya substrat. Kerja enzim sangat spesifik karena sisi aktif dari enzim sangat selektif terhadap bentuk kimia dari substrat yang akan dikatalisis. Ikatan yang terbentuk antara enzim dengan substrat bersifat lemah sehingga reaksi dapat berlangsung bolak-balik. Substrat menempel pada sisi aktif enzim dan akan menghasilkan produk baru. Komponen non protein atau gugus prostetik memiliki sifat stabil pada suhu yang relatif tinggi dan tidak

berubah pada akhir reaksi. Gugus prostetik dibedakan menjadi kofaktor dan koenzim. Kofaktor tersusun dari zat anorganik yang umumnya logam misalnya Cu, Fe, Mn, Zn, Ca, K dan Co. Koenzim tersusun dari senyawa organik non protein yang tidak melekat erat pada bagian protein enzim, misalnya vitamin, Nikotinamid Adenin Dinukleotida (NAD), Nikotinamid Adenin Dinukleotida Fosfat (NADP) dan Koenzim A.

2.2.3 Enzim Protease

Menurut Abirami *et al* (2011), protease adalah enzim yang melakukan proteolisis yaitu katabolisme protein secara hidrolisis dari ikatan peptida yang mengandung asam amino. Asam bersama-sama dengan rantai polipeptida membentuk protein. Peran protease dalam tubuh antara lain membantu pencernaan protein dalam makanan, menggunakan kembali protein-protein intraseluler, koagulasi sel darah, dan aktivasi berbagai jenis protein, enzim, hormon, serta neurotransmitter (Baehaki, 2011).

Protease merupakan enzim yang sangat kompleks, mempunyai sifat fisikokimia dan sifat-sifat katalitik yang sangat bervariasi. Enzim ini dihasilkan secara ekstraseluler oleh mikroorganisme, serta mempunyai peranan yang penting dalam metabolisme sel dan keteraturan proses dalam sel (Akhdiya, 2003)

Enzim protease dapat dihasilkan oleh tanaman, hewan dan mikroorganisme. Enzim protease yang digunakan dalam bidang industri umumnya dihasilkan oleh mikroorganisme. Penggunaan tumbuhan sebagai sumber protease dibatasi oleh tersedianya tanah untuk penanaman dan kondisi yang cocok untuk pertumbuhan. Disamping itu proses produksi protease dari tumbuhan sangat memakan waktu.

Protease tumbuhan yang dikenal antara lain papain, bromelin, keratinase. Protease hewan yang paling dikenal adalah tripsin, kimotripsin, pespsin dan renin. Enzim-enzim ini dapat diperoleh dalam keadaan murni dalam jumlah besar (Susanti, 2002).

Enzim yang bekerja sebagai katalis dalam reaksi hidrolisis protein disebut enzim proteolitik atau protease. Oleh karena yang dipecah adalah ikatan pada rantai peptida, maka disebut juga peptidase (Poedjaji, 1994).

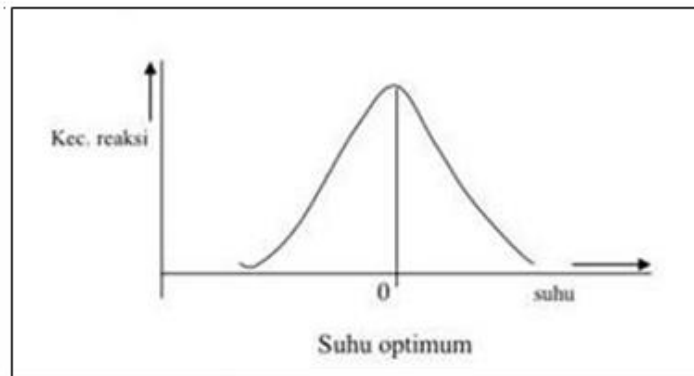
2.3 Faktor yang Memengaruhi Kerja Enzim

1. Temperatur

Pada suhu rendah reaksi kimia berlangsung lambat, sedangkan pada suhu yang lebih tinggi reaksi berlangsung lebih cepat. Karena enzim adalah protein, maka kenaikan suhu dapat menyebabkan terjadinya proses denaturasi apabila melebihi suhu optimumnya, maka bagian aktif enzim akan terganggu dan dengan demikian konsentrasi efektif enzim menjadi berkurang dan kecepatan reaksinya pun akan menurun (Ischak dkk, 2017).

Suhu memainkan peranan penting dalam reaksi enzimatik. Ketika suhu bertambah sampai mencapai suhu optimum, kecepatan reaksi enzimatik naik karena energi kinetik bertambah. Bertambahnya energi kinetik akan mempercepat gerak baik enzim maupun substrat. Hal ini akan memperbesar peluang enzim dan substrat untuk bereaksi. Peningkatan suhu melebihi suhu optimumnya menyebabkan lemahnya ikatan di dalam enzim secara struktural (Pratiwi, 2008). Pada suhu maksimum enzim akan terdenaturasi karena struktur protein terbuka dan gugus non polar yang berada didalam molekul menjadi terbuka keluar,

kelarutan protein di dalam air yang polar menjadi turun, sehingga aktivitas enzim juga akan turun (Lehninger, 1997).



Gambar 2.3 Hubungan Suhu dan Kecepatan Reaksi
(Sumber : Ischak dkk, 2017)

Titik 0 menunjukkan suhu optimum, yaitu suhu yang menyebabkan terjadinya reaksi kimia dengan kecepatan paling besar. Tiap enzim memiliki suhu optimum tertentu (Ischak dkk, 2017).

2. pH

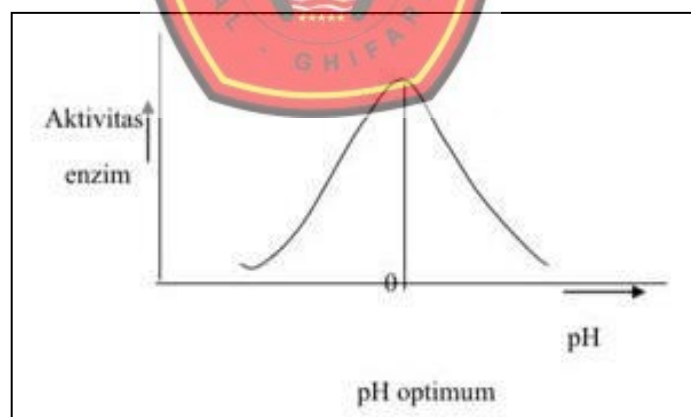
Seperti protein pada umumnya, struktur ion enzim tergantung pada pH lingkungannya. Enzim dapat berbentuk ion positif, ion negatif atau ion bermuatan ganda (zwitter ion). Dengan demikian perubahan pH lingkungan akan berpengaruh terhadap efektifitas bagian aktif enzim dalam membentuk kompleks enzim substrat (Ischak dkk, 2017).

Perubahan pH akan mempengaruhi kondisi ion-ion enzim selain kondisi ion-ion substrat. Pada umumnya, aktivitas enzim akan optimum pada kisaran pH 5,0-9,0. Penjelasan bahwa pH sangat memengaruhi aktivitas dapat dijelaskan sebagai berikut :

- 1) Pada pH yang sangat tinggi atau sangat rendah, enzim yang merupakan protein akan mengalami denaturasi.

- 2) pH yang sangat tinggi atau sangat rendah akan mempengaruhi perubahan muatan dari asam amino penyusun molekul protein enzim.
- 3) Bila pH lingkungan berubah, maka dapat menyebabkan perubahan enzim di daerah situs pengikatan substrat. Hal ini mengakibatkan adanya perubahan struktur tiga dimensi enzim sehingga akan menghalangi pengikatan antara substrat dan enzim (Puspitaningrum, 2016).

pH rendah atau pH tinggi dapat pula menyebabkan terjadinya proses denaturasi dan hal ini akan menyebabkan menurunnya aktivitas enzim. Gambar 2.4. menunjukkan hubungan antara aktivitas enzim dengan pH. Dari bentuk kurva pada gambar tersebut, ada suatu pH tertentu atau daerah pH yang dapat menyebabkan kecepatan reaksi paling tinggi yang dinamakan pH optimum (Ischak dkk, 2017).



Gambar 2.4. Hubungan pH dan Aktivitas Enzim
(Sumber : Ischak dkk, 2017)

3. Waktu Inkubasi (Volk dan Wheeler, 1988)

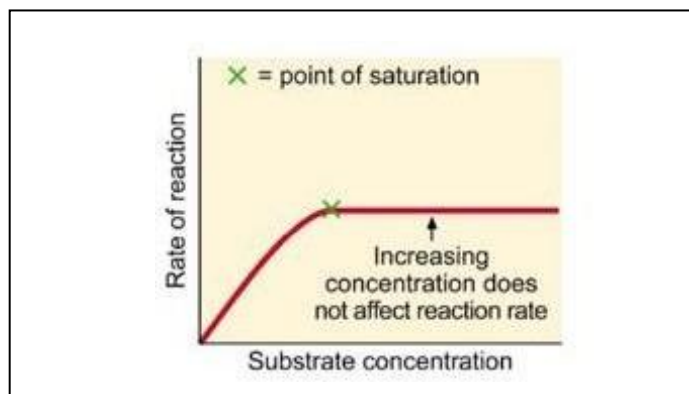
Salah satu yang dapat berpengaruh terhadap aktivitas enzim adalah waktu inkubasi. Waktu inkubasi adalah waktu yang diperlukan oleh enzim untuk berikatan dengan substrat yang telah tersedia. Waktu inkubasi yang dibutuhkan

enzim untuk bereaksi dengan substrat secara optimum adalah berbeda-beda, ada beberapa enzim membutuhkan waktu inkubasi yang lama untuk bereaksi dengan substrat. Laju aktivitas enzim akan meningkat dengan meningkatnya substrat sampai suatu titik, semakin lama waktu inkubasi, maka semakin efektif aktivitas dari enzim tersebut, namun enzim akan berhenti bekerja apabila telah mencapai masa jenuhnya (Volk dan Wheeler, 1988).

4. Konsentrasi Substrat (Ischak dkk, 2017)

Hasil eksperimen menunjukkan bahwa dengan konsentrasi enzim yang tetap, maka penambahan konsentrasi substrat akan menaikkan kecepatan reaksi. Akan tetapi pada batas konsentrasi tertentu, tidak terjadi kenaikan kecepatan reaksi walaupun konsentrasi substrat diperbesar.

Pada konsentrasi substrat rendah, bagian aktif enzim ini hanya menampung substrat sedikit. Bila konsentrasi substrat diperbesar, makin banyak substrat yang dapat berhubungan dengan enzim pada bagian aktif tersebut. Dengan demikian konsentrasi kompleks enzim substrat makin besar dan hal ini menyebabkan makin besarnya kecepatan reaksi. Pada suatu batas konsentrasi substrat tertentu, semua bagian aktif telah dipenuhi oleh substrat atau telah jenuh dengan substrat. Dalam keadaan ini, bertambah besarnya konsentrasi substrat, tidak menyebabkan bertambah besarnya konsentrasi kompleks substrat, sehingga jumlah hasil reaksinya pun tidak bertambah besar.



Gambar 2.5. Pengaruh Konsentrasi Substrat
(Sumber : Ischak dkk, 2017)

5. Pengaruh Inhibitor (Ischak dkk, 2017)

Mekanisme enzim dalam suatu reaksi ialah melalui pembentukan kompleks enzim-substrat (ES). Oleh karena itu hambatan atau inhibisi pada suatu reaksi yang menggunakan enzim sebagai katalis dapat terjadi apabila penggabungan substrat pada bagian enzim mengalami hambatan. Molekul atau ion yang dapat menghambat reaksi tersebut dinamakan inhibitor. Hambatan terhadap aktivitas enzim dalam suatu reaksi kimia ini mempunyai arti penting, karena hambatan tersebut juga merupakan mekanisme kerja enzim. Secara umum tipe hambatan yang dilakukan oleh inhibitor dapat berupa hambatan reversibel dan hambatan tidak reversibel. Hambatan tidak reversibel pada umumnya disebabkan oleh terjadinya proses destruksi atau modifikasi sebuah gugus fungsi atau lebih yang terdapat pada molekul enzim. Adapun hambatan reversibel mengikatnya molekul inhibitor tidak menyebabkan perubahan konformasi enzim.

2.4 Ekstraksi Enzim

Metode ekstraksi merupakan salah satu faktor penting yang perlu diperhatikan dalam memproduksi enzim. Penentuan metode ekstraksi enzim biasanya bergantung pada sumbernya. Enzim yang bersumber dari biji-bijian

dapat diekstraksi dengan menghaluskannya menjadi tepung, lalu mencampurkannya dengan media cair, enzim yang berasal dari bagian tanaman yang lunak dapat diekstraksi dengan dipotong-potong kecil, dihaluskan kemudian disaring dengan kain atau kertas saring (Li *et al*, 2006). Metode ekstraksi enzim juga seringkali menggunakan buffer yang berfungsi mempertahankan pH. Terdapat beberapa jenis buffer yang biasa digunakan, diantaranya yaitu buffer tris-hidroksimetil amino metan, buffer glisin dan buffer fosfat (Paul *et al*, 1985)

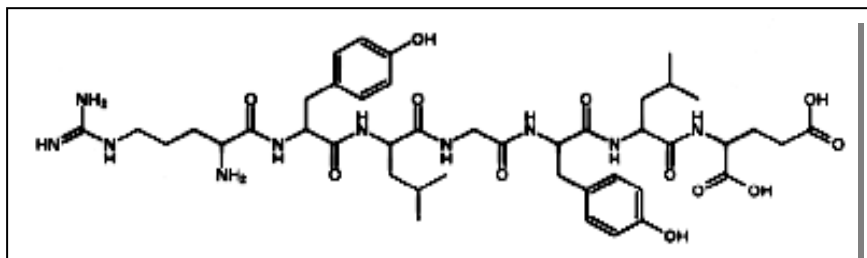
Bahan awal berupa sel hewan atau tanaman perlu dilakukan homogenisasi melalui penghancuran sel dan melepaskan enzim ke dalam larutan dengan kuat ion yang mirip secara fisiologis dan tekanan osmotik yang lebih rendah (Budiman, 2011). Isolasi enzim merupakan proses yang melibatkan beberapa tahap yaitu ekstraksi, pengendapan protein, sentrifugasi. Pada tahap ekstraksi, dinding dan membran sel dipecahkan sehingga enzim (protein) keluar ke dalam medium. Pengendapan protein didasarkan atas perbedaan kelarutan, sedangkan untuk memisahkan cairan dari endapan protein, dilakukan dengan sentrifugasi (Djarkasi, 2017).

2.5 Pengujian Aktivitas Protease

Aktivitas enzim protease dapat diukur dengan menggunakan metode Bregmeyer dan Grassal (1983). Dalam metode ini substrat yang digunakan yaitu kasein. Kasein dapat dihidrolisis oleh protease dengan bantuan air yang akan diubah menjadi peptida dan asam amino.

Kasein merupakan suatu protein yang terdapat dalam susu yang memiliki susunan asam amino yang terdiri dari Arginin (Arg) – Tirosin (Try) – Leusin

(Leu) – Glisin (Gly) – Tirosin (Try) – Leusin (Leu) – Asam Glutamat (Glu)
(Panic, 2017).



Gambar 2.6.
Struktur Kasein
(Sumber : Panic, 2017)

Aktivitas protease ditentukan dengan mengukur kadar asam amino sebagai produk hidrolisis protein dalam susu skim oleh enzim protease (Soeka dan sulistyani, 2014).

Prinsip kerja dari metode Bregmayer dan Grassi (1983) yaitu pengukuran asam amino tirosin yang telah terhidrolisis dan dipisahkan dari substratnya. Pada mulanya enzim mampu memecah substrat kasein menggunakan bantuan air sehingga menjadi asam amino dan peptida, kemudian laju pembentukan peptida akan menjadi tolak ukur terhadap aktivitas katalisis protease. Selanjutnya, kasein yang telah terhidrolisis menghasilkan asam amino, selanjutnya ditambahkan TCA (*Trichloroaceticacid*). Penambahan TCA berfungsi untuk menginaktifkan protease pada saat waktu inkubasi protease. Kemudian dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan asam amino dan peptida yang mengendap dengan substrat tertentu selama waktu inkubasi berlangsung. Setelah itu ditambahkan larutan tirosin yang larut dalam filtrat akan bereaksi dengan reagen Folin Ciocalteu dan menghasilkan warna biru. Untuk mendapatkan pH sekitar 11,5 maka ditambahkan

Na_2CO_3 berfungsi untuk merubah pH menjadi optimum sehingga menghasilkan intensitas warna biru kemudian dapat diukur serapannya dengan menggunakan panjang gelombang 578 nm. Besarnya serapan ini berbanding lurus dengan konsentrasi protein yang terhidrolisis. Satuan aktivitas protease adalah unit. Poedjiadi (2012) menjelaskan bahwa Satuan unit protease (U) didefinisikan sebagai banyaknya mL enzim yang dibutuhkan untuk menghasilkan 1 mol tirosin tiap menit. Tirosin merupakan molekul asam amino yang mempunyai gugus fenol dan bersifat asam lemah. Tirosin digunakan sebagai larutan standar untuk menguji aktivitas protease dan untuk mengukur aktivitas protease dalam memecah protein menjadi asam amino (Sulastri, 2008).

Prinsip kerja metode Bregmayer dan Grassi (1983) yaitu kasein yang berfungsi sebagai substrat akan dihidrolisis oleh protease dengan bantuan air menjadi peptida dan asam amino dengan rumus reaksi seperti dibawah ini:



Aktivitas protease dihitung dalam satuan UA (Unit Aktivitas Protease) per mL ekstrak enzim.

$$\text{UA} = \frac{\text{Asp} - \text{Abl}}{\text{Ast} - \text{Abl}} \times \text{FP} \times \frac{1}{T}$$

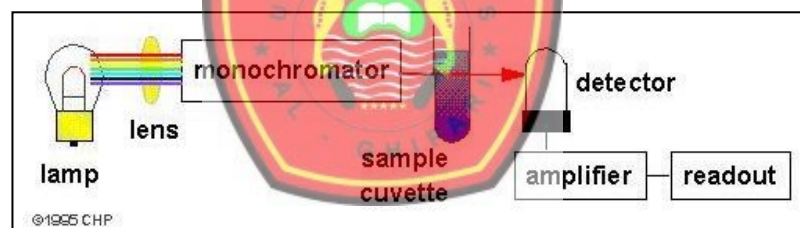
Keterangan :

- UA : Unit Aktivitas Protease (U/mL)
- Asp : Nilai Absorbansi Sampel
- Ast : Nilai Absorbansi Standar
- Abl : Nilai Asorbansi Blangko
- FP : Faktor Pengenceran
- T : Waktu Inkubasi Enzim (menit)

2.6 Metode Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Sinar ultraviolet dan cahaya tampak memiliki energi yang cukup untuk mempromosikan elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Sinar ultraviolet berada pada panjang gelombang 200-400 nm sedangkan sinar tampak berada pada panjang gelombang 400-800 nm (Dachriyanus, 2004). Prinsip kerja Spektrofotometri UV-Vis yaitu apabila cahaya monokromatik melalui suatu media (larutan), maka sebagian cahaya tersebut diserap (I), sebagian dipantulkan (I_r), dan sebagian lagi dipancarkan (I_t) (Yanlinastuti, 2016).

Berikut merupakan bagian-bagian dari Spektrofotometer UV-Vis :



Gambar 2.7.

Skema Alat Spektrofotometer UV-Vis single beam

(Sumber : Dachriyanus, 2004)

- a. Sumber radiasi berfungsi untuk memberikan energi radiasi pada daerah yang tepat dalam pengukuran dan menjaga intensitas cahaya yang konstan dalam pengukuran. Lampu filament dan lampu hidrogen merupakan sumber radiasi dalam spektrofotometer UV-Vis (Warono dan Syamsudin, 2013).
- b. Monokromator berfungsi menghasilkan radiasi monokromatis yang diperoleh, dilewatkan melalui kuvet yang berisi sampel dan blanko yang diteruskan secara bersamaan melalui putaran cermin (Warono dan Syamsudin, 2013).

- c. Kuvet berfungsi sebagai tempat untuk blanko dan sampel yang akan diukur absorbansinya (Warono dan Syamsudin, 2013).
- d. Detektor berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik (Suhartati, 2017).
- e. Display berfungsi mengubah sinyal listrik dari detektor menjadi pembacaan berupa angka sesuai hasil analisis (Warono dan Syamsudin, 2013).

2.7 Hukum Lambert-Beer

Hukum Lambert-Beer menyatakan bahwa hubungan linear antara absorbansi dengan konsentrasi larutan sampel. Konsentrasi dari sampel di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer.

$$A = \epsilon \cdot b \cdot C$$

Keterangan :

A = Absorban

E = Koefisien ekstingsi molar ($M^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

b = Tebal kuvet (cm)

C = Konsentrasi (M)

Hukum Lambert-Beer menjadi dasar aspek kuantitatif spektrofotometri dimana konsentrasi dapat dihitung berdasarkan rumus di atas. Absorbtivitas merupakan konstanta yang tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel (Day and Underwood, 1986).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah batang pengaduk, cawan porselin, corong buchner, kertas saring, labu ukur, mikropipet, mortir dan stemper, orbital shaker, pipet tetes, pipet mikro, rotary vacuum evaporator, sentrifugasi, seperangkat alat gelas, spektrofotometer, tabung reaksi, timbangan, wadah maserasi, waterbath.

3.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel kerang bambu (*Solen spp*), ammonium sulfat, aquadest, asam borat P, asam klorida 0,05 M, asam trikloroasetat (TCA), buffer borat alkalis, buffer fosfat, buffer ftalat, dinatrium karbonat 0,4 M, kalium biftalat, kalium fosfat monobasa, larutan 2% kasein, Na₂CO₃, natrium hidroksida, pereaksi Folin Ciocalteu's, tyrosin

3.2 Pengumpulan Sampel

Pengumpulan Kerang Bambu (*Solen spp*) diperoleh dari daerah pantai berlumpur di perairan Pantai Cirebon.

3.3 Pembuatan Ekstrak

3.3.1 Pembuatan Buffer Fosfat (PBS) pH 6,8

Dimasukkan kalium fosfat monobasa 0,2 M sebanyak 50 mL ke dalam labu ukur 200 mL, lalu ditambahkan natrium hidroksida 0,2 M sebanyak 22,4 mL, lalu dilarutkan dengan aquades sampai tanda batas (Kemenkes RI, 2014).

3.3.2 Ekstraksi Protease

Bahan utama pada penelitian ini adalah Kerang Bambu (*Solen spp*). Ditimbang 500 gram Kerang Bambu segar lalu dibersihkan di bawah air mengalir dari kotoran fisik. Ekstraksi dilakukan dengan cara menghaluskan 200 gram kerang bambu yang sudah dibersihkan, kemudian ditambahkan dengan 400 mL, pelarut buffer fosfat (PBS) pH 6,8 lalu direndam dalam suhu 4°C selama 24 jam. Ekstraksi enzim dilakukan dengan melakukan sentrifugasi dengan kecepatan 1000 rpm selama 15 menit. Selanjutnya filtrat yang telah memisah diambil. Filtrat ini merupakan ekstrak kasar. Ekstrak kasar yang diperoleh diukur aktivitas enzim proteasenya.

3.4 Pembuatan Larutan Buffer

3.4.1 Pembuatan Buffer Ftalat Netral pH 5

Dimasukkan 50 mL kalium biftalat 0,2 M ke dalam labu ukur 200 mL, ditambahkan natrium hidroksida 0,2 M sebanyak 22,6 mL lalu dilarutkan dengan aquades sampai tanda batas (Kemenkes RI, 2014).

3.4.2 Pembuatan Buffer Fosfat pH 6

Dimasukkan 50 mL kalium fosfat monobasa 0,2 M ke dalam labu ukur 200 mL, ditambahkan natrium hidroksida 0,2 M sebanyak 5,6 mL lalu dilarutkan dengan aquades sampai tanda batas (Kemenkes RI, 2014).

3.4.3 Pembuatan Buffer Fosfat pH 7

Dimasukkan 50 mL kalium fosfat monobasa 0,2 M ke dalam labu ukur 200 mL, ditambahkan natrium hidroksida 0,2 M sebanyak 29,1 mL lalu dilarutkan dengan aquades sampai tanda batas (Kemenkes RI, 2014).

3.4.4 Pembuatan Buffer Borat Alkalis pH 8

Dimasukkan 50 mL asam borat P dan kalium klorida 0,2 M kedalam labu ukur 200 mL, ditambahkan natrium hidroksida 0,2 M sebanyak 3,9 mL lalu dilarutkan dengan aquades sampai tanda batas (Kemenkes RI, 2014).

3.5 Aktivitas Protease

Pengukuran aktivitas protease dilakukan dengan metode Bregmeyer (1983). Disediakan 3 tabung masing-masing untuk blanko, standar dan sampel. Dimasukkan 1 mL larutan buffer pada pH yang akan diuji dan 1 mL kasein 2% ke dalam masing-masing tabung. Pada tabung sampel ditambahkan ekstrak enzim Kerang Bambu (*Solen spp*) sebanyak 0,2 mL, pada tabung standar ditambahkan tyrosin (5mM) sebanyak 0,2 mL, sedangkan pada tabung blanko ditambahkan aquades sebanyak 0,2 mL. Kemudian 3 tabung tersebut diinkubasi selama waktu dan suhu yang akan diuji. Selanjutnya ditambahkan 2 mL asam trikloroasetat (TCA) 0,1 M pada masing-masing tabung. Setelah itu diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C dan dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 1000 rpm selama 25 menit. Bagian filtrat dari masing-masing tabung diambil sebanyak 1,5 mL, kemudian ditambahkan 5 mL Na₂CO₃ (0,4 M) dan pereaksi Folin Ciocalteu's sebanyak 1 mL. Reaksi didiamkan selama 10 menit pada suhu 37°C kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 578 nm. Satu unit internasional

enzim setara dengan 1 mikromol tirosin yang dihasilkan per menit (Prastika, 2018).

Uji Aktivitas protease dihitung dalam satuan U (unit) per mL ekstrak enzim. Satu unit aktivitas protease didefinisikan sebagai jumlah enzim yang menghidrolisis kasein untuk menghasilkan 1 mikromol tirosin tiap menit (Guangrong, Teijin, Po, & Jiaying, 2006). Perhitungan aktivitas enzim protease dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$UA = \frac{Asp - Abl}{Ast - Abl} \times FP \times \frac{1}{T}$$

Keterangan :

- UA : Unit Aktivitas Protease (U/mL)
- Asp : Nilai Absorbansi Sampel
- Ast : Nilai Absorbansi Standar
- Abl : Nilai Absorbansi Blangko
- FP : Faktor Pengenceran
- T : Waktu Inkubasi Enzim (menit)



3.6 Karakteristik Suhu Optimum dan pH Optimum

3.6.1 Penentuan pH Optimum Enzim

Penentuan pH optimum enzim dilakukan sesuai dengan uji aktivitas enzim protease pada suhu 50°C dengan menggunakan lima variasi pH yaitu pH 5, 6, 7, 8, dan 9. Untuk pH 5 menggunakan larutan buffer ftalat netral, untuk pH 6 dan pH 7 menggunakan larutan buffer fosfat sedangkan untuk pH 8 dan pH 9 menggunakan larutan buffer borat alkalis.

3.6.2 Penentuan Waktu Optimum Enzim

Penentuan waktu optimum enzim dilakukan sesuai dengan uji aktivitas enzim protease pada lima variasi waktu inkubasi yaitu 5, 10, 15, 20, dan 25 menit.

3.6.3 Penentuan Suhu Optimum Enzim

Penentuan suhu optimum enzim dilakukan sesuai dengan uji aktivitas enzim protease pada pH optimum yang didapatkan dengan menggunakan lima variasi suhu inkubasi reaksi enzimatik yaitu suhu 20°C, 30°C, 40°C, 50°C, dan 60°C.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penyiapan Bahan

Kerang Bambu (*Solen spp*) diperoleh dari daerah pantai berlumpur di perairan Pantai Cirebon. Bagian yang digunakan adalah daging kerang bambu segar sebanyak 500 gram, kemudian dibersihkan dibawah air mengalir agar terpisah dari kotoran fisik. Sampel kerang bambu yang telah bersih dari dapat dilihat pada **Gambar 4.1**.



Gambar 4.1.
Kerang bambu bersih
(Sumber : Dokumentasi pribadi, 2023)

4.2 Hasil Ekstraksi

Pada penelitian ini, sebanyak 200 g kerang bambu dihaluskan dan direndam dengan 400 mL pelarut buffer fosfat (PBS) pH 6,8, penggunaan pelarut ini dikarenakan memiliki komposisi yang hampir sama dengan komposisi cairan yang terdapat dalam makhluk hidup. Perendaman tersebut dilakukan pada suhu 4°C yang tujuannya agar protein yang terkandung dalam kerang bambu tidak rusak atau terdenaturasi. Selain itu, pada suhu ini laju pertumbuhan mikroorganisme lambat sehingga kontaminan pada larutan enzim dapat dicegah. Perendaman dilakukan selama 24 jam. Menurut Mihara *et al* (1991), tujuannya

untuk menghilangkan sisa pakan dan feses kerang bambu yang sudah dihaluskan, juga untuk menarik komponen kimia yang akan diteliti. Proses ekstraksi dilakukan dengan melakukan sentrifugasi dengan kecepatan 1000 rpm selama 15 menit. Dalam proses ini terjadi pemisahan filtrat yang disebabkan oleh perbedaan massa jenis. Molekul dengan massa jenis besar akan fokus pada bagian dinding tabung, sedangkan untuk molekul dengan massa jenis yang kecil akan berada ditengahnya, molekul yang berada pada dinding tabung (massa jenis besar) akan tertarik oleh gravitasi sehingga berkumpul dibagian dasar tabung, maka molekul dengan massa jenis kecil akan berada di atasnya. Filtrat yang diambil adalah filtrat yang berada di atas yang disebut dengan ekstrak kasar. Diperoleh ekstrak kasar sebanyak 348 mL.



Gambar 4.2.

Hasil Ekstraksi Kerang Bambu

(Sumber : Dokumentasi Pribadi April 2023)

4.3 Uji Aktivitas Protease

Uji aktivitas protease diukur berdasarkan metode Bergmeyer & Grassl. Dalam metode ini, kasein yang memiliki fungsi sebagai substrat akan dihidrolisis oleh protease menjadi peptida dan asam amino. Kemudian reaksi tersebut dihentikan dengan penambahan TCA, penambahan TCA juga menyebabkan

terjadinya pemisahan asam amino dari substrat yang tidak terhidrolisis. Produk yang mengandung peptida dan asam amino akan larut dalam TCA dan protein yang tidak terhidrolisis akan mengendap. Lalu dilanjutkan dengan penambahan reagen Follin Ciocalteu's. Reagen Follin Ciocalteu's dapat mendeteksi residu tirosin (dalam protein) karena kandungan fenolik pada residu tersebut mampu mereduksi fosfotungstat dan fosfomolibdat yang merupakan senyawa penyusun reagen Follin Ciocalteu's menjadi tungsten dan molibdenum yang berwarna biru (Sari, 2019). Sehingga setelah ditambahkan reagen Follin Ciocalteu's larutan menjadi berwarna biru. Setelah itu ditambahkan Na_2CO_3 agar tetap berada dalam kondisi pH optimum untuk intensitas dan stabilitas warna. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 578 nm.

1.4 Penentuan pH Optimum Enzim

Enzim Pada penelitian ini, dilakukan terlebih dahulu penentuan pH optimum enzim protease pada kerang bambu *Solen spp*, pH berpengaruh pada kecepatan aktivitas enzim dalam mengkatalis suatu reaksi karena konsentrasi ion hidrogen mempengaruhi struktur dimensi enzim dan aktivitasnya. Pada pH optimum, struktur enzim paling kondusif dalam mengikat substrat (Faizah, 2017). Pada penelitian ini, dilakukan pengujian 5 variasi pH yaitu pada pH 5, 6, 7, 8, dan 9. Digunakan 5 variasi pH karena menurut Makkapan 2019, pH optimum enzim protease adalah pH 7, sehingga diambil variasi pH dibawah 7 yaitu 5 dan 6, juga pH diatas 7 yaitu 8 dan 9.

Pada penentuan uji pH optimum dilakukan pada waktu inkubasi 10 menit dan suhu 50°C yang merupakan waktu dan suhu optimum enzim protease. Hasil pengukuran absorbansi dapat dilihat pada **Tabel 4.1**.

Tabel 4.1
Hasil pengukuran absorbansi pada penentuan pH optimum

pH	Absorbansi Sampel (Asp)			Absorbansi Standar (Ast)	Absorbansi Blanko (Abl)
	Ulangan				
	1	2	3		
5	1,876	1,847	1,861	1,596	0,371
6	1,908	1,906	1,906	1,364	0,312
7	1,893	1,893	1,915	1,542	0,482
8	1,820	1,842	1,912	1,371	0,324
9	1,933	1,922	1,956	1,276	0,424

Dari hasil absorbansi yang diperoleh, selanjutnya dilakukan perhitungan aktivitas enzim protease dari kerang bambu *Solen spp*. Perhitungan dilakukan dengan menggunakan rumus :

$$UA = \frac{Asp - Abl}{Ast - Abl} \times FP \times \frac{1}{T}$$

Keterangan :

UA : Unit aktivitas protease (U/mL)

Asp : Nilai absorbansi sampel

Abl : Nilai absorbansi blanko

Ast : Nilai absorbansi standar

FP : Faktor pengenceran

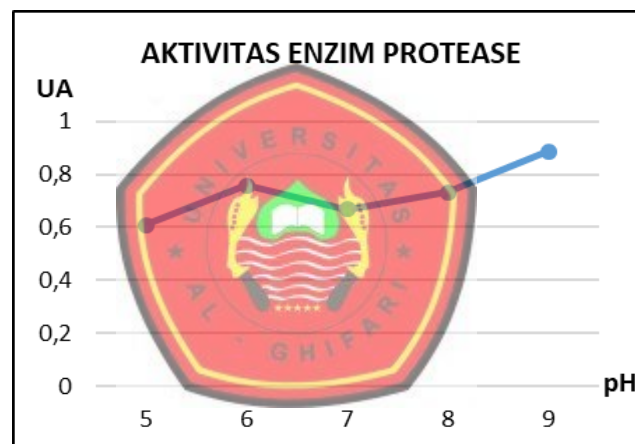
T : Waktu inkubasi Enzim (menit)

Aktivitas protease dihitung dalam satuan U (unit) per mL ekstrak enzim. Satu unit protease (U) didefinisikan sebagai banyaknya 1 mL enzim yang dibutuhkan untuk menghasilkan 1 μ mol tirosin tiap menit dengan kasein sebagai

substrat (Baehaki, 2011). Nilai aktivitas enzim protease kerang bambu *Solen spp* dapat dilihat pada **Tabel 4.2** dan **Gambar 4.3**.

Tabel 4.2
Aktivitas enzim protease pada penentuan pH optimum

pH	Aktivitas Enzim (U/mL)
5	0,608
6	0,757
7	0,668
8	0,732
9	0,887



Gambar 4.3
Aktivitas enzim protease pada pH optimum

Dari data di atas menunjukkan bahwa aktivitas protease tertinggi dari kerang bambu *Solen spp* ada pada pH 9 dengan nilai 0,887 U/mL dan aktivitas protease terendah ada pada pH 5 dengan nilai 0,608 U/mL. Hal ini sesuai dengan literatur dimana rentang pH optimum dari enzim ini adalah pH 7,4 – 9. Berdasarkan pH optimumnya, protease diklasifikasikan pada protease asam, netral dan alkalin. Rentang pH 8-12 dapat diklasifikasikan sebagai protease alkalin. Maka dari itu, enzim protease yang dihasilkan kerang bambu *Solen spp* termasuk

kedalam protease alkalin yang optimum pada pH basa (Faizah, 2017). Aktivitas enzim protease berkurang dalam lingkungan asam, rendahnya aktivitas protease pada pH 8 dapat diakibatkan karena berubahnya struktur tiga dimensi protease, sehingga protein tidak dapat berikatan dengan sisi aktif protease. Menurut Rabelo *et al* (2011), perubahan pH mengakibatkan perubahan aktivitas enzim, hal ini disebabkan oleh adanya perubahan konformasi enzim dalam larutan. Dari hasil percobaan terlihat nilai aktivitas enzim pada pH 6 lebih besar dari pH 7, kemudian mengalami peningkatan kembali pada pH 8, hal ini terjadi karena pada dasarnya belum terbentuk kestabilan enzim, sehingga nilai aktivitas enzim mengalami peningkatan dan penurunan.

1.5 Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Enzim

Selanjutnya, dilakukan penentuan waktu inkubasi optimum enzim protease yang dihasilkan kerang bambu *Solen spp*. Selain pH, aktivitas enzim juga dipengaruhi oleh waktu inkubasi. Waktu inkubasi memiliki pengaruh yang signifikan terhadap aktivitas enzim protease dan pada umumnya aktivitas enzim protease meningkat seiring dengan peningkatan waktu inkubasi. Hal ini disebabkan enzim protease membutuhkan waktu yang cukup untuk berinteraksi dengan substrat protein dan memecahnya menjadi asam amino. Namun terdapat titik optimum di mana peningkatan waktu inkubasi tidak lagi meningkatkan aktivitas enzim, bahkan dapat menyebabkan penurunan aktivitas disebabkan oleh faktor-faktor seperti denaturasi enzim atau degradasi substrat (Sulastri, 2008). Optimasi waktu produksi enzim protease dilakukan dengan mengukur aktivitas enzim protease tersebut pada selang waktu tertentu, Selang waktu yang digunakan

yaitu dengan menggunakan 5 variasi waktu inkubasi diantaranya pada waktu 5, 10, 15, 20, dan 25 menit. Karena berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Prastika, 2018 waktu inkubasi optimum adalah diwaktu 10 menit sehingga diambil variasi waktu dibawah 10 menit yaitu 5 menit juga diambil variasi waktu inkubasi di atas 15 menit yaitu 15, 20 dan 25 menit.

Penentuan uji waktu inkubasi optimum dilakukan pada pH 9. Dikarenakan pada pengujian pH optimum aktivitas tertinggi ditunjukkan pH 9, maka pengujian penetapan waktu inkubasi optimum dilakukan pada pH 9 dan suhu 50°C yang merupakan suhu optimum enzim protease. Hasil pengukuran absorbansi dapat dilihat pada **Tabel 4.3**.

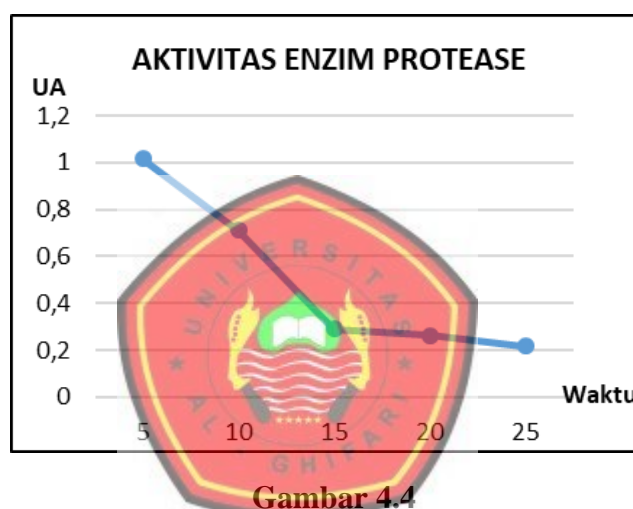
Tabel 4.3
Hasil pengukuran absorbansi pada penentuan waktu optimum

waktu	Absorbansi Sampel (Asp)			Absorbansi Standar (Ast)	Absorbansi Blanko (Abl)
	Ulangan				
	1	2	3		
5	1,262	1,227	1,265	1,241	0,672
10	1,344	1,299	1,328	1,149	0,738
15	1,262	1,281	1,276	1,293	0,686
20	1,229	1,303	1,360	1,272	0,827
25	1,297	1,308	1,281	1,257	0,825

Dari hasil absorbansi yang diperoleh, selanjutnya dilakukan perhitungan aktivitas enzim protease dari kerang bambu *Solen spp* Nilai aktivitas enzim protease kerang bambu *Solen spp* dapat dilihat pada **Tabel 4.4** dan **Gambar 4.3**.

Tabel 4.4
Aktivitas enzim protease pada penentuan waktu optimum

Waktu (menit)	Aktivitas Enzim (U/mL)
5	1,017
10	0,712
15	0,290
20	0,263
25	0,217



Gambar 4.4
Aktivitas enzim protease pada waktu optimum

Dari data di atas menunjukkan bahwa aktivitas protease tertinggi dari kerang bambu *Solen Spp* ada pada waktu inkubasi 5 menit dengan nilai 1,017 U/mL. Waktu tersebut menunjukkan tingginya aktivitas yang diperoleh, berbeda halnya dengan aktivitas protease pada waktu 10-25 menit mengalami penurunan dan aktivitas protease terendah ada pada waktu inkubasi 25 menit dengan nilai 0,217 U/mL. Menurut Agustine (2005), hal ini disebabkan waktu inkubasi yang terlalu lama dapat membuat aktivitas enzim akan menurun. Efek optimal enzim protease bergantung pada faktor waktu inkubasi, dengan waktu inkubasi yang berbeda dapat memberikan hasil yang berbeda juga.

1.6 Penentuan Suhu Optimum Enzim

Kemudian dilakukan penentuan suhu optimum enzim protease yang dihasilkan kerang bambu *Solen spp*, selain pH dan waktu inkubasi, aktivitas enzim juga dipengaruhi oleh suhu. Setiap enzim akan bekerja maksimal pada suhu tertentu. Peningkatan suhu pada reaksi enzim mempunyai dua pengaruh yaitu dapat meningkatkan laju reaksi atau dapat meningkatkan laju inaktivasi enzim. Semua enzim bekerja dalam rentang suhu tertentu pada tiap jenis organisme (Poedjiati dan Supriyanti, 2006). Umumnya, peningkatan suhu sebesar 10°C diatas suhu minimum akan meningkatkan aktivitas enzim sebanyak 2x lipat hingga mencapai optimum, namun laju inaktivasi akan meningkat 64x lipat (Bintang, 2010).

Pada penelitian ini, dilakukan pengujian pada 5 variasi suhu inkubasi reaksi enzimatik yaitu suhu 20, 30, 40, 50, 60°C. Digunakan 5 variasi suhu karena menurut Makkapan, 2019, suhu optimum enzim protease adalah 50°C sehingga diambil variasi suhu dibawah 50°C yaitu 20, 30, dan 40°C, juga suhu diatas 50°C yaitu 60°C. Dikarenakan pada pengujian pH dan waktu inkubasi optimum aktivitas tertinggi ditunjukkan pada pH 9, dan waktu inkubasi 5 menit, maka penetapan suhu optimum dilakukan pada pH 9 dan waktu inkubasi selama 5 menit. Hasil pengukuran absorbansi dapat dilihat pada **Tabel 4.5**.

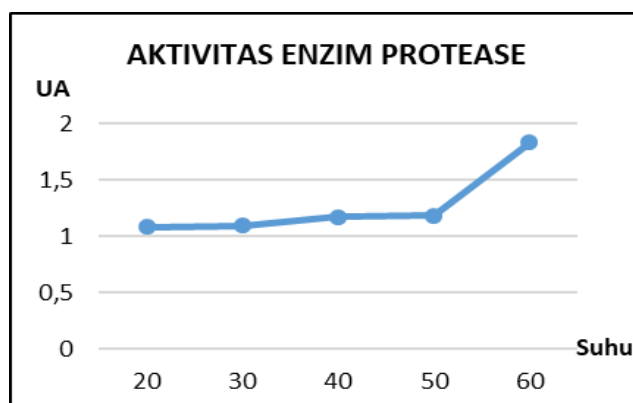
Tabel 4.5
Hasil pengukuran absorbansi pada penentuan suhu optimum

Suhu	Absorbansi Sampel (Asp)			Absorbansi Standar (Ast)	Absorbansi Blanko (Abl)
	Ulangan				
	1	2	3		
20	1,237	1,261	1,251	1,209	0,713
30	1,340	1,316	1,348	1,282	0,718
40	1,344	1,235	1,268	1,202	0,731
50	1,498	1,487	1,438	1,369	0,805
60	1,514	1,458	1,406	1,161	0,803

Dari hasil absorbansi yang diperoleh, selanjutnya dilakukan perhitungan aktivitas enzim protease dari kerang bambu *Solen spp.* Nilai aktivitas enzim protease kerang bambu *Solen spp* dapat dilihat pada **Tabel 4.6** dan **Gambar 4.5**.

Tabel 4.6
Aktivitas enzim protease pada penentuan suhu optimum

Suhu (°C)	Aktivitas Enzim (U/mL)
20	1,081
30	1,093
40	1,170
50	1,186
60	1,833



Gambar 4.5
Aktivitas Enzim Protease pada Suhu Optimum

Dari data di atas menunjukkan bahwa aktivitas protease tertinggi dari kerang bambu *Solen spp* ada pada suhu 60°C dengan nilai 1,833 U/mL dan aktivitas protease terendah ada pada suhu 20°C dengan nilai 1,081 U/mL. Menurut Kosim (2010), hal ini disebabkan karena adanya peningkatan energi kinetik akibat suhu yang semakin tinggi, sehingga menambah intensitas tumbukan antara substrat dan enzim. Pada suhu yang lebih rendah dari suhu optimum, aktivitas enzim juga rendah. Hal ini disebabkan rendahnya energi aktivasi yang tersedia yang dibutuhkan untuk menciptakan kondisi tingkat kompleks aktif, baik dari molekul enzim maupun dari molekul substrat (Baehaki, 2011). Kecepatan reaksi kimia akan meningkat dengan meningkatnya suhu karena akan mempercepat gerak termal molekul yang memiliki energi dalam jumlah yang cukup untuk memasuki keadaan transisi. Namun pada suhu 70-80°C enzim akan mengalami kerusakan yang mengakibatkan hilangnya aktivitas enzim. Pada peningkatan suhu hingga mencapai suhu optimal akan meningkatkan aktivitas enzim pula, setelah melebihi suhu optimal, enzim akan mengalami denaturasi termal dan mengubah struktur enzim sehingga aktivitas enzim akan menurun. Sehingga rentang waktu yang di uji pada penelitian ini dilakukan sampai suhu 60°C.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

1. Kerang bambu (*Solen spp*) mengandung enzim protease dengan pH optimum yaitu pH 9 yang menandakan bahwa enzim protease yang terkandung dalam kerang *Solen spp* adalah protease alkalin, sedangkan waktu inkubasi optimumnya 5 menit serta suhu optimumnya adalah 60°C.
2. Nilai rata-rata aktivitas enzim protease tertinggi pada variasi pH 9, waktu inkubasi 5 menit dan suhu 60°C yaitu sebesar 1,833 U/mL.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini adalah diharapkan penelitian ini dapat dilanjutkan dengan melakukan pemurnian lebih lanjut pada ekstrak kasar enzim protease dari kerang bambu (*Solen spp*).



DAFTAR PUSTAKA

- Abirami VS *et al.* 2011. *Partial Purification and Characterization of an Extracellular Protease from Penicillium janthinellum and neurosporacrassa*. *European Journal of Experimental Biology*. 1(3) : 114- 123.
- Adriyani R dan Mahmudiono T. (2012). **Kadar Logam Berat Cadmium, Protein dan Organoleptik pada Daging Bivalvia dan Efektivitas Perendaman Larutan Asam Cuka**. Surabaya: Universitas Airlangga
- Akhdiya A. 2003. **Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease Alkalin Termotabil**. *Buletin Plasma Nutfah*. 9 : 98-102
- Al-Sayed Al-Tanboly, 2003, *Production of Plant Proteinase from Jack Fruit (Artocarpus integrifolis) as a Source of Dairy Enzyme I. Isolation, Partial Purification and Some Properties*, *J. Bio. Sci.*, 6(16): 1435-1441.
- A. Baron, R., & Byrne, D. (2004). **Psikologi Sosial**. Jakarta: Erlangga.
- Bintang. M. 2010. **Biokimia Teknik Penelitian**. Jakarta : Erlangga.
- Baehaki, A., dkk. 2005. **Karakterisasi Protease dari Bakteri Patogen Ikan Aeromonas hydrophilla**. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*. 8 (2) : 60-72
- Bergmeyer, H.V., Grassl. 1983. *Method Of Enzymatic Analysis Vol. 2*. Florida: Weinheim Deefield.
- Budiman A. 2011. **Isolasi Enzim α -Glukosidase dari Gabah**. Universitas Indonesia. Depok.
- Darusman, L.K, Sajuti, D., Komar, & Pamungkas. 1995. **Ekstraksi komponen bioaktif sebagai obat dari kerang-kerangan, bunga karang dan ganggang laut di Perairan Pulau Pari Kepulauan Seribu**. *Buletin Kimia*,.2: 41-60.
- Dachriyanus., 2004., **Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi**., Sumatera Barat: Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LPTIK) Universitas Andalas

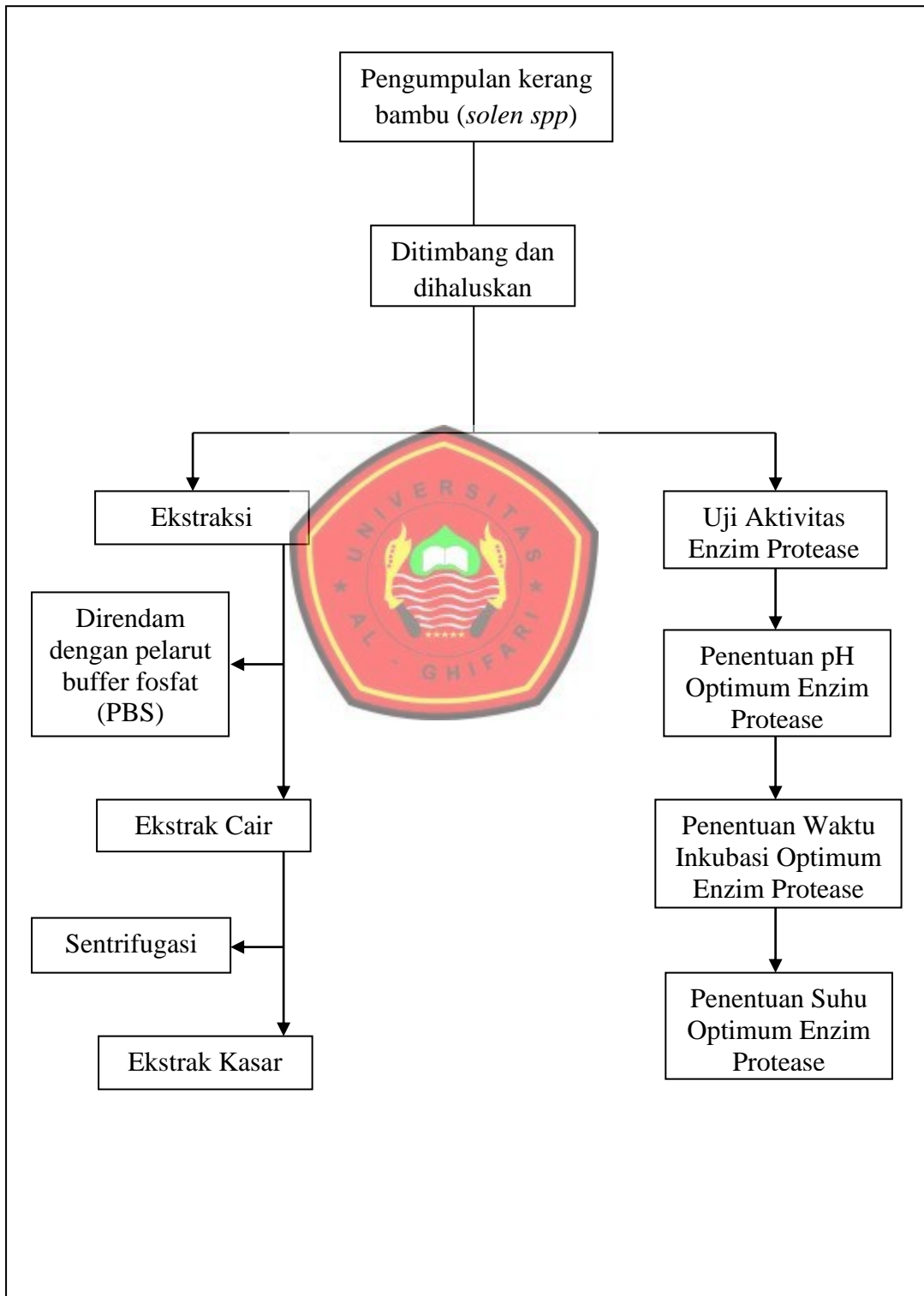
- Djarkasi GSS, dkk. 2017. **Isolasi dan Aktivitas Spesifik Enzim Lipase Indigenous Biji Kenari**. Jurnal Teknologi Pertanian. 8 (1) : 28-35.
- Efer, D., N. Bourgoignon, & Y. Fleury. 2009. *Screening for antibacterial and antiviral activities in three bivalve and two gastropod marine molluscs*. J. Aquaculture, 293: 1-7.
- El-Sayed, S.T., 2001, **Purification and Characterization of Rhapsanin, A Neutral Protease**, from Raphanus sativus Leaves, J. Bio. Sci., 4(5): 564-568.
- Faizah M. 2017. **Pengaruh Suhu dan pH terhadap Aktivitas Enzim Protease Bacillus subtilis dari Daun Kenikir (Cosmos sulphureus) yang ditumbuhkan dalam Media Campuran Limbah Cair Tahu dan Dedak**. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Fitri SF. 2020. **BIOLOGI**. SMAN 1 Sidomulyo. Lampung Selatan.
- Fitriyani E. 2003. **Aktivitas Enzim Karboksimetil Selulase Bacillus pumilus galur 55 pada berbagai Suhu Inkubasi**. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Guangrong, H., Tiejing, Y., Po, H., & Jiaying, J. (2006). *Purification and characterization of a protease from Thermophilic bacillus strain HSO8*. African journal of Biotechnology, 5(24), 2433-2438.
- Ischak NI, dkk. 2017. **Biokimia Dasar**. Gorontalo : UNG Press.
- Kamiya, H., K. Muramoto & R. Goto. 1991. *Naturally Occuring Hemolysin in the Marine Snail Tugali gigas*. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 57 (11) : p. 2109-2113.
- Kartika, Dewi, S.S., Yanuwadi, B. 2015. **Eksplorasi Potensi Ekowisata di Kawasan Api Tak Kunjung Padam Kabupaten Pamekasan**. J-PAL. 6(1), 1-8
- Kemenkes RI. 2014. **Farmakope Indonesia Edisi V**. Jakarta : Kementrian Kesehatan NovigRepublik Indonesia.
- Kosim MS, Putra R. 2010. **Pengaruh Suhu pada Protease dari Bacillus subtilis**. Prosiding Skripsi Semester Genap 2009- 2010. Jurusan Kimia FMIPA. ITS Surabaya.

- Li BB, Smith B, Hossain MM. 2006. Separation and Purification in the Food Industry Extraction of Phenolics from Citrus Peels. *Enzyme assisted extraction method*. Separation and Purification Technology 48 : 189-196.
- Li, *et al.*, (2013). *Adsorption of C.I. Reactive Red 228 dye from aqueous solution by modified cellulose* from flax shive: Kinetics, equilibrium, and thermodynamics. Industrial Crops and Products 42 (2013) 153–158
- Makkapan W, Narkthewan. 2019. *Characterization of Protease Activity from Hepatopancreas of Blue Crab*. Earth and Environmental Science.
- Mihara et al. 1991. *A Novel Fibrinolytic Enzyme Extracted from the Earthworm Lumbricus rubellus*. Japan Journal of Physiology. 41 : 461-472.
- Nurjanah, L. Izzati & A. Abdullah. 2011. **Aktifitas Antioksidan dan komponen biokatif Kerang Pisau (*Solen* sp)**. Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia. XVI(3):119-124.
- Poedjiadi, A dan Supriyanti, T.F.M. 2006. **Dasar-Dasar Biokimia**. Jakarta: UI Press.
- Poedjiadi, A dan T, Supriyanti, 1994. **Dasar-Dasar Biokimia**. Jakarta: UI Press.
- Poedjaji A. 1994. **Dasar-Dasar Biokimia**. Jakarta :UI-Press
- Poliana, J. and Mac Cabe AP. 2007. *Industrial Enzymes; Structure, Function, and Applications*. Springer, Dordrecht.
- Prastika EZ. 2018. **Pengaruh Konsentrasi Substrat dan Lama Waktu Inkubasi terhadap Aktivitas Enzim Protease yang Diproduksi oleh Bacillus subtilis**. Malang : Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Puspitaningrum R, dkk. 2016. **Enzim dan Pemanfaatannya**. Bogor : Ghalia Indonesia.
- Qian, H., & V. Nihorimbere. 2004. *Antioxidant power of phytochemicals* from Psidium guajava leaf. J. Zhejiang Univ. Sci., 5(6): 676-683.

- Rabelo, MC., Fontes, CML., dan Rodrigues, S. 2011. *Stability Study of Crude Dextranucrase* from *Leuconostoc citreum* NRRL B-742. *Indian J Microbiol.* 51 (2) : 164-170.
- Rahayu, M., & Susanti, E. (2017). **Optimasi jenis dan kadar sumber nitrogen serta pH medium untuk produksi protease dari isolate HTcUM_{6.2.2} dari tauco Surabaya.** *Journal Kimia Riset*, 2(2), 98-107. <https://doi.org/10.20473/jkr.v2i2.6307>.
- Russell, F.E. 1965. *Marine Toxins and Venomous and Poisonous Marine Animals*. *Adv. Mar. Bio.* Vol. 3. p. 255-384.
- Sari, IR. 2019. **Penentuan Kadar Protein dengan Metode Lowry.** Yogyakarta : Universitas Negeri Yogyakarta.
- Sari, RF. 2010. **Optimasi Aktivitas Selulase Ekstraseluler dari Isolat Bakteri RF-10.** Bogor : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Shiomi, K., M. Takamiya, H. Yamanaka & T. Kikuchi, 1986. *Physicochemical Properties of a Lethal Hemolysin Isolated from Sea Anemon Anthopleura japonica.* *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 52 (3) : p. 539-543.
- Soeka, Yati Sudaryati., dan Sulistiani. 2014. **Karakterisasi Protease *Bacillus Subtilis* A1 Inacc B398 yang Diisolasi dari Terasi Samarinda.** *Berita Biologi* 13 (2): 203-212.
- Sopandi, T. dan Wardah. 2014. **Mikrobiologi Pangan.** Andi Publisher. Yogyakarta.
- Suhartati T. 2017. **Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrometri Massa untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik.** Bandar Lampung : CV. Anugerah Utama Raharja.
- Sulastrri, E. (2008). **Aktivitas protease pada enzim papain dengan substrat albumin bovin serum (BSA) dengan metode caseinolytic.** *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 18(2), 109-113.
- Tadesse, M., B. Gulliksen, M.B. Strim, O.B. Styrvold, & T. Haug. 2008. *Screening for antibacterial and antifungal activities in marine benthic invertebrates from northern Norway.* *J. Invertebrate Pathology*, 99: 286-293.

- Trisyani, N. (2019). **Kandungan gizi Kerang Bambu (*Solen regularis*) dari Perairan Tanjung Solok Jambi**. Hak Cipta Laporan Penelitian No EC00201980707, 8 November 2019.
- Tuaycharoen, S., & Matsukuma, A. (2001). **Razor Clams (*Bivalvia: Solenidae*) the from the east and west coast of Thailand**. Phuket Marine Biological Centre Special Publication, 25(3), 377–386.
- Underwood A, Day RA. 1986. **Analisa Kimia Kuantitatif**. Jakarta : Erlangga.
- Volk, W.A. dan M.F. Wheeler. 1988. **Mikrobiologi Dasar**. Edisi kelima. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Warono D, Syamsudin. 2013. **Unjuk Kerja Spektrofotometer untuk Analisa Zat Aktif Ketoprofen**. Jurnal Konversi. 2 (2) : 57-65.
- Yanlinastuti, Syamsul F. 2016. **Pengaruh Konsentrasi Pelarut untuk Menentukan Kadar Zirkonium dalam Paduan U-Zr dengan menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis**. Pusat Teknologi Bahan Bakar Nuklir. 17 : 1979-2409.
- Yuniati, R., T. Nugroho T, dan Puspita, F. 2015. **Uji aktivitas enzim protease dari isolat *Bacillus sp galur lokal Riau***. JOM FMIPA, 1, 116-121.
- Zhou, D.Y., B.W. Zhu, L. Qiao, H.T. Wu, D.M. Li, J.F. Yang, & Y. Murata. 2011. **In vitro antioxidant activity of enzymatic hydrolysates prepared from abalone (*Haliotis discus hannai* Ino) viscera**. Food and Bioproducts Processing, in press.






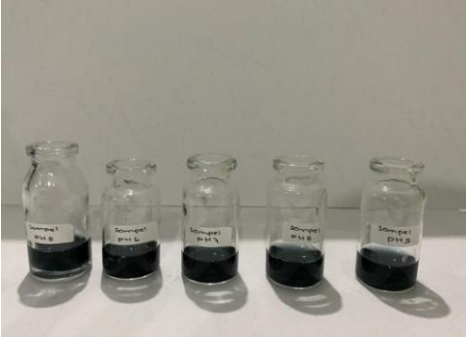
LAMPIRAN I
DESAIN PENELITIAN



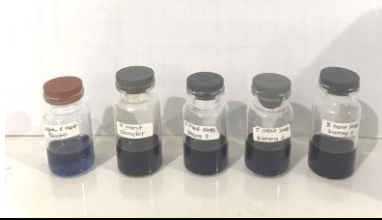
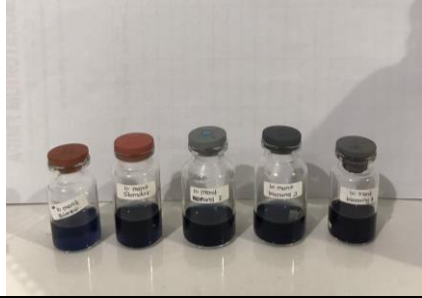
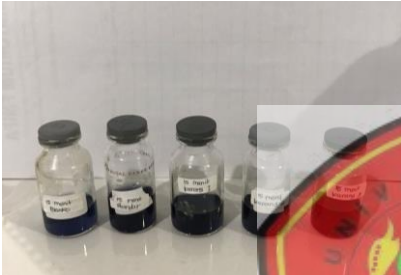
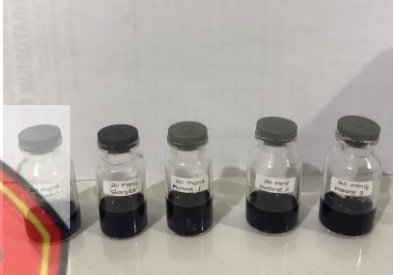

LAMPIRAN II
PROSES EKSTRAKSI KERANG BAMBU (*Solen spp*)

	
<p style="text-align: center;">Sampel kerang bambu (<i>solen spp</i>)</p>	<p style="text-align: center;">Proses pemisahan cangkang dan jeroan</p>
	
<p style="text-align: center;">Kerang bambu halus</p>	<p style="text-align: center;">pH 6,8</p>
	
<p style="text-align: center;">Kerang bambu di rendam dengan larutan bufer fosfat (PBS) 6,8</p>	<p style="text-align: center;">Setelah di ekstraksi 24 jam</p>
	
<p style="text-align: center;">Proses sentrifugasi</p>	<p style="text-align: center;">Ektrak kasar</p>



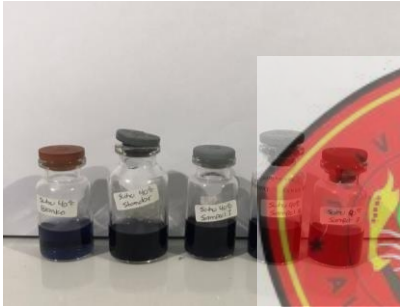
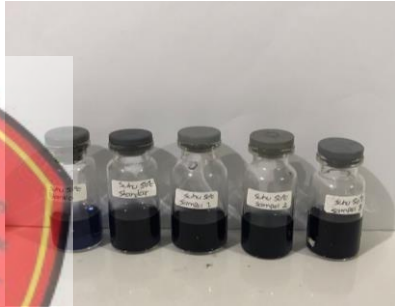
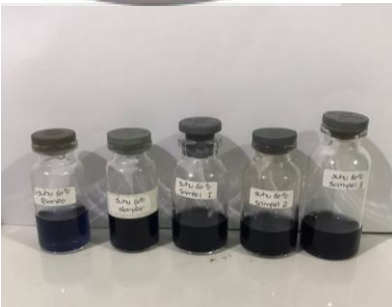
LAMPIRAN III
PENENTUAN pH OPTIMUM

	
pH 5	pH 6
	
pH 7	pH 8
	
pH 9	Sampel Penentuan pH Optimum

LAMPIRAN IV
PEMBUATAN WAKTU INKUBASI OPTIMUM

	
<p style="text-align: center;">Sampel Penentuan waktu 5 menit</p>	<p style="text-align: center;">Sampel Penentuan waktu 10 menit</p>
	
<p style="text-align: center;">Sampel Penentuan waktu 15 menit</p>	<p style="text-align: center;">Sampel Penentuan waktu 20 menit</p>
	
<p style="text-align: center;">Sampel Penentuan waktu 25 menit</p>	

LAMPIRAN V
PENENTUAN SUHU OPTIMUM

	
Sampel Penentuan Suhu 20 °C	Sampel Penentuan Suhu 30 °C
	
Sampel Penentuan Suhu 40 °C	Sampel Penentuan Suhu 50 °C
	
Sampel Penentuan Suhu 60 °C	

LAMPIRAN VI

PERHITUNGAN NILAI AKTIVITAS PROTEASE PADA pH OPTIMUM

1. UA (pH 5)

- Ulangan 1 : $UA = \frac{1,876 - 0,371}{1,596 - 0,371} \times 5 \times \frac{1}{10} = 0,614$

- Ulangan 2 : $UA = \frac{1,847 - 0,371}{1,596 - 0,371} \times 5 \times \frac{1}{10} = 0,602$

- Ulangan 3 : $UA = \frac{1,861 - 0,371}{1,596 - 0,371} \times 5 \times \frac{1}{10} = 0,608$

2. UA (pH 6)

- Ulangan 1 : $UA = \frac{1,908 - 0,312}{1,364 - 0,312} \times 5 \times \frac{1}{10} = 0,758$

- Ulangan 2 : $UA = \frac{1,906 - 0,312}{1,364 - 0,312} \times 5 \times \frac{1}{10} = 0,757$

- Ulangan 3 : $UA = \frac{1,906 - 0,312}{1,364 - 0,312} \times 5 \times \frac{1}{10} = 0,757$

3. UA (pH 7)

- Ulangan 1 : $UA = \frac{1,893 - 0,482}{1,542 - 0,482} \times 5 \times \frac{1}{10} = 0,665$

- Ulangan 2 : $UA = \frac{1,893 - 0,482}{1,542 - 0,482} \times 5 \times \frac{1}{10} = 0,665$

- Ulangan 3 : $UA = \frac{1,915 - 0,482}{1,542 - 0,482} \times 5 \times \frac{1}{10} = 0,675$

4. UA (pH 8)

- Ulangan 1 : $UA = \frac{1,820 - 0,324}{1,371 - 0,324} \times 5 \times \frac{1}{10} = 0,714$

- Ulangan 2 : $UA = \frac{1,842 - 0,324}{1,371 - 0,324} \times 5 \times \frac{1}{10} = 0,724$

- Ulangan 3 : $UA = \frac{1,912 - 0,324}{1,371 - 0,324} \times 5 \times \frac{1}{10} = 0,758$

5. UA (pH 9)

- Ulangan 1 : $UA = \frac{1,933 - 0,424}{1,276 - 0,424} \times 5 \times \frac{1}{10} = 0,885$

- Ulangan 2 : $UA = \frac{1,922 - 0,424}{1,276 - 0,424} \times 5 \times \frac{1}{10} = 0,879$

- Ulangan 3 : $UA = \frac{1,956 - 0,424}{1,276 - 0,424} \times 5 \times \frac{1}{10} = 0,889$

LAMPIRAN VII
PERHITUNGAN NILAI AKTIVITAS PROTEASE PADA WAKTU
OPTIMUM

1. Waktu 5 menit

- Ulangan 1 : $UA = \frac{1,262 - 0,672}{1,241 - 0,672} \times 5 \times \frac{1}{5} = 1,036$

- Ulangan 2 : $UA = \frac{1,227 - 0,672}{1,241 - 0,672} \times 5 \times \frac{1}{5} = 0,975$

- Ulangan 3 : $UA = \frac{1,265 - 0,672}{1,241 - 0,672} \times 5 \times \frac{1}{5} = 1,042$

2. Waktu 10 menit

- Ulangan 1 : $UA = \frac{1,344 - 0,738}{1,149 - 0,738} \times 5 \times \frac{1}{10} = 0,737$

- Ulangan 2 : $UA = \frac{1,299 - 0,738}{1,149 - 0,738} \times 5 \times \frac{1}{10} = 0,682$

- Ulangan 3 : $UA = \frac{1,328 - 0,738}{1,149 - 0,738} \times 5 \times \frac{1}{10} = 0,717$

3. Waktu 15 menit

- Ulangan 1 : $UA = \frac{1,262 - 0,686}{1,293 - 0,686} \times 5 \times \frac{1}{10} = 0,284$

- Ulangan 2 : $UA = \frac{1,281 - 0,686}{1,293 - 0,686} \times 5 \times \frac{1}{10} = 0,294$

- Ulangan 3 : $UA = \frac{1,276 - 0,686}{1,293 - 0,686} \times 5 \times \frac{1}{10} = 0,291$

4. Waktu 20 menit

- Ulangan 1 : $UA = \frac{1,229 - 0,827}{1,272 - 0,827} \times 5 \times \frac{1}{20} = 0,225$

- Ulangan 2 : $UA = \frac{1,303 - 0,827}{1,272 - 0,827} \times 5 \times \frac{1}{20} = 0,267$

- Ulangan 3 : $UA = \frac{1,360 - 0,827}{1,272 - 0,827} \times 5 \times \frac{1}{20} = 0,299$

5. Waktu 25 menit

- Ulangan 1 : $UA = \frac{1,297 - 0,825}{1,257 - 0,825} \times 5 \times \frac{1}{10} = 0,218$

- Ulangan 2 : $UA = \frac{1,308 - 0,825}{1,257 - 0,825} \times 5 \times \frac{1}{10} = 0,223$

- Ulangan 3 : $UA = \frac{1,281 - 0,825}{1,257 - 0,825} \times 5 \times \frac{1}{10} = 0,211$

LAMPIRAN VIII
PERHITUNGAN NILAI AKTIVITAS PROTEASE PADA SUHU
OPTIMUM

1. Suhu 20°C

- Ulangan 1 : $UA = \frac{1,237 - 0,713}{1,209 - 0,713} \times 5 \times \frac{1}{5} = 1,056$

- Ulangan 2 : $UA = \frac{1,261 - 0,713}{1,209 - 0,713} \times 5 \times \frac{1}{5} = 1,104$

- Ulangan 3 : $UA = \frac{1,251 - 0,713}{1,209 - 0,713} \times 5 \times \frac{1}{5} = 1,084$

2. Suhu 30°C

- Ulangan 1 : $UA = \frac{1,340 - 0,718}{1,282 - 0,718} \times 5 \times \frac{1}{5} = 1,102$

- Ulangan 2 : $UA = \frac{1,316 - 0,718}{1,282 - 0,718} \times 5 \times \frac{1}{5} = 1,060$

- Ulangan 3 : $UA = \frac{1,348 - 0,718}{1,282 - 0,718} \times 5 \times \frac{1}{5} = 1,117$

3. Suhu 40°C

- Ulangan 1 : $UA = \frac{1,344 - 0,731}{1,202 - 0,731} \times 5 \times \frac{1}{5} = 1,301$

- Ulangan 2 : $UA = \frac{1,235 - 0,731}{1,202 - 0,731} \times 5 \times \frac{1}{5} = 1,070$

- Ulangan 3 : $UA = \frac{1,268 - 0,731}{1,202 - 0,731} \times 5 \times \frac{1}{5} = 1,140$

4. Suhu 50°C

- Ulangan 1 : $UA = \frac{1,498 - 0,805}{1,369 - 0,805} \times 5 \times \frac{1}{5} = 1,228$

- Ulangan 2 : $UA = \frac{1,487 - 0,805}{1,369 - 0,805} \times 5 \times \frac{1}{5} = 1,209$

- Ulangan 3 : $UA = \frac{1,438 - 0,805}{1,369 - 0,805} \times 5 \times \frac{1}{5} = 1,122$

5. Suhu 60°C

- Ulangan 1 : $UA = \frac{1,514 - 0,803}{1,161 - 0,803} \times 5 \times \frac{1}{5} = 1,986$

- Ulangan 2 : $UA = \frac{1,458 - 0,803}{1,161 - 0,803} \times 5 \times \frac{1}{5} = 1,829$

- Ulangan 3 : $UA = \frac{1,406 - 0,803}{1,161 - 0,803} \times 5 \times \frac{1}{5} = 1,684$