



PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA

**RECOVERY DAN PEMURNIAN ENZIM PROTEASE
DARI JEROAN IKAN TUNA DENGAN TEKNOLOGI
ULTRAFILTRASI DAN REVERSE OSMOSIS**

**BIDANG KEGIATAN:
PKM ARTIKEL ILMIAH (PKM-AI)**

Diusulkan oleh:

Sofia Halimi	C34052160	(2005)
Firdaus Hamdani A	G14051680	(2005)
Fitriani Idham	C34053096	(2005)
Norita Afridiana	C34062189	(2006)

**INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2010**



PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA

**RECOVERY DAN PEMURNIAN ENZIM PROTEASE
DARI JEROAN IKAN TUNA DENGAN TEKNOLOGI
ULTRAFILTRASI DAN REVERSE OSMOSIS**

**BIDANG KEGIATAN:
PKM ARTIKEL ILMIAH (PKM-AI)**

Diusulkan oleh:

Sofia Halimi	C34052160	(2005)
Firdaus Hamdani A	G14051680	(2005)
Fitriani Idham	C34053096	(2005)
Norita Afridiana	C34062189	(2006)

**INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2010**

BIODATA KETUA SERTA ANGGOTA KELOMPOK

1. Ketua Kelompok

- a. Nama Lengkap : Sofia Halimi
- b. NIM : C34052160
- c. Fak/Program Studi : Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan/
Teknologi Hasil Perikanan
- d. Perguruan Tinggi : Institut Pertanian Bogor
- e. Alamat Rumah : Kp. Balio RT 04 RW 11 No. 14, Balumbang Jaya
Bogor Barat, Kota Bogor
Hp. 085288006385
- f. Alamat Email : sophie_enk@yahoo.com

2. Anggota Kelompok

- a. Nama Lengkap : Firdaus Hamdani Akbar
- b. NIM : G14051680
- c. Fak/Program Studi : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/
Statistika
- d. Perguruan Tinggi : Institut Pertanian Bogor
- e. Alamat Rumah : Babakan Lebak RT 03 RW 06 No. 15
Balumbang Jaya, Bogor Barat, Kota Bogor
Hp. 085210068445
- f. Alamat Email : statistikagakure_42@yahoo.co.id

3. Anggota Kelompok

- a. Nama Lengkap : Fitriani Idham
- b. NIM : C34053096
- c. Fak/Program Studi : Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan/
Teknologi Hasil Perikanan
- d. Perguruan Tinggi : Institut Pertanian Bogor

HALAMAN PENGESAHAN

1. Judul Kegiatan : *Recovery* dan Pemurnian Enzim Protease dari Jeroan Ikan Tuna dengan Teknologi Ultrafiltrasi dan *Reverse Osmosis*
2. Bidang Kegiatan : (√) PKM-AI () PKM-GT
(Pilih salah satu)
3. Bidang Ilmu : () Kesehatan (√) Pertanian
(Pilih salah satu) () MIPA () Teknologi dan Rekayasa
() Pendidikan () Humaniora
() Sosial Ekonomi
4. Ketua Pelaksana Kegiatan
 - a. Nama Lengkap : Sofia Halimi
 - b. NIM : C34052160
 - c. Departemen : Teknologi Hasil Perairan (THP) - FPIK
 - d. Universitas : Institut Pertanian Bogor

Bogor, 25 Maret 2010

Menyetujui
Ketua Departemen
Teknologi Hasil Perairan FPIK IPB

Ketua Pelaksana Kegiatan

Dr. Ir. Ruddy Suwandi, MS. M. Phil
NIP. 19580511 198503 1 002

Sofia Halimi
NIM. C34052160

Wakil Rektor
Bidang Akademik dan Kemahasiswaan

Dosen Pendamping

Prof. Dr. Ir. Yonny Koesmaryono, MS
NIP. 19581228 198503 1 003

Bambang Riyanto, S.Pi., M.Si
NIP. 19690603 199802 1 001

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Sofia Halimi
NRP : C3402160
Departemen : Teknologi Hasil Perairan
Fakultas : Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas : Institut Pertanian Bogor

menyatakan bahwa karya ilmiah yang berjudul “*Recovery* dan Pemurnian Enzim Protease dengan Teknologi Ultrafiltrasi dan *Reverse Osmosis*” yang diikutkan dalam kegiatan PKM Artikel Ilmiah mengacu pada hasil PKMP tahun 2009/ 2010 yang telah diselesaikan dalam waktu tiga bulan.

Bogor, 25 Maret 2010

Menyetujui
Ketua Departemen
Teknologi Hasil Perairan FPIK IPB

Ketua Pelaksana Kegiatan

(Dr. Ir. Ruddy Suwandi, MS. M. Phil)
NIP. 19580511 198503 1 002

(Sofia Halimi)
NRP. C34062363

RECOVERY DAN PEMURNIAN ENZIM PROTEASE DARI JEROAN IKAN TUNA DENGAN TEKNOLOGI ULTRAFILTRASI DAN REVERSE OSMOSIS

Sofia Halimi^a, Firdaus Hamdani Akbar^b, Fitriani Idham^a, Norita Afridiana^a

^aDepartemen Teknologi Hasil Perairan Institut Pertanian Bogor

^bDepartemen Statistika Institut Pertanian Bogor

ABSTRAK

Tuna viscera has high potential as a source of protease enzyme. A wide enzyme applications requires an economical and efficient enzyme purification techniques and can be applied on a large scale. The ultrafiltration (UF) process has these potential but is constrained an existence of fouling and concentration polarization. It is necessary to study on the operating trans-membrane pressure (TMP), the operating temperature, materials of the membrane and the molecular weight cut off (MWCO) of the membrane to reduce fouling and concentration polarization. Reverse osmosis (RO) process at the next step was used to increase the concentration of the protease enzyme. This study is divided into several stages of manufacture crude extract of the protease enzyme, pre-filtration, UF process, RO process and SDS-PAGE analysis. The tests include measurements of protein levels and activity of the protease enzyme. Optimum conditions for the purification of the UF polyakrilonitril MWCO 100 kDa was obtain on TMP 55 kPa and a temperature of 40 ° C, while at UF polysulfon MWCO 50 kDa was the TMP 59 kPa and a temperature of 30 ° C. Flux in both membrane is influenced by the TMP, temperature, the membrane material and MWCO. Rejection of protein and enzyme activity in both membrane is more influenced by the membrane material and MWCO of the membrane. Estimation of protein molecular weight after the RO from UF polyakrilonitril MWCO 100 kDa were 37.53; 27.77; 22.72 and 19.88 kDa, while the estimation of protein molecular weight after the RO from UF polysulfon MWCO of 50 kDa were 21.25 ; 19.88 and 16.82 kDa.

Keywords: Tuna viscera, Protease, Ultrafiltration, Fouling, Concentration polarization.

ABSTRAK

Jeroan ikan tuna memiliki potensi tinggi sebagai sumber enzim protease. Aplikasi enzim yang luas menuntut adanya teknik pemurnian enzim yang ekonomis, efisien dan dapat diterapkan dalam skala besar. Proses ultrafiltrasi (UF) memiliki potensi tersebut tetapi terkendala adanya fouling dan polarisasi konsentrasi. Perlu dilakukan kajian terhadap bahan penyusun membran, ukuran pori (MWCO) membran, tekanan transmembran (TMP) dan suhu operasi untuk mengurangi fouling dan polarisasi konsentrasi tersebut. Pemekatan menggunakan proses reverse osmosis (RO) dilakukan pada tahap berikutnya untuk meningkatkan kemurnian enzim protease. Penelitian ini dibagi ke dalam beberapa tahap yakni pembuatan ekstrak kasar enzim protease, prefiltrasi, proses UF, proses RO dan analisa SDS-PAGE. Pengujian yang dilakukan meliputi

pengukuran kadar protein dan aktivitas enzim protease. Kondisi optimum untuk pemurnian pada UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa adalah kondisi operasi pada TMP 55 kPa dan suhu 40 °C, sedangkan pada UF polisulfon MWCO 50 kDa adalah pada TMP 59 kPa dan suhu 30 °C. Nilai fluks pada kedua membran dipengaruhi oleh TMP, suhu, MWCO serta material membran. Nilai rejeksi protein dan aktivitas enzim protease pada kedua membran lebih dipengaruhi oleh MWCO dan material membran. Estimasi berat molekul protein setelah proses RO dari UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa sebesar 37,53; 27,77; 22,72; dan 19,88 kDa, sedangkan estimasi berat molekul protein setelah proses RO dari UF polisulfon MWCO 50 kDa sebesar 21,25; 19,88; dan 16,82 kDa.

Kata kunci: Jeroan ikan tuna, Protease, Ultrafiltrasi, Fouling, Polarisasi konsentrasi.

PENDAHULUAN

Industri pengolahan tuna menghasilkan limbah dalam jumlah besar, dimana sebanyak 25-30% merupakan limbah padat yang terdiri dari kepala, kulit dan jeroan, serta sebesar 30-35% merupakan limbah cair yang terdiri dari darah, konsentrat dan minyak ikan tuna (Prasertsan *et al.* 1988). Jeroan ikan tuna juga memiliki potensi yang besar sebagai sumber enzim protease (Gildberg 1992; Guerard *et al.* 2002; dan Klomklao *et al.* 2005). Protease merupakan kelompok enzim yang sangat penting dalam industri enzim dunia saat ini, dimana tercatat hampir sekitar 50 % dari total penjualan industri enzim diperoleh dari kelompok enzim ini (Rao *et al.* 1998). Aplikasi enzim yang luas menuntut adanya teknik pemurnian enzim yang ekonomis, efisien dan dapat diterapkan dalam skala besar.

Proses ultrafiltrasi (UF) merupakan salah satu proses pemisahan dan pemurnian protein serta berbagai bentuk makromolekul lainnya yang memiliki keunggulan retensi tinggi (Saxena *et al.* 2008). Li *et al.* (2006) berhasil memisahkan enzim protease dari ekstrak *spleen* tuna dengan teknologi membran UF ini, namun tercatat ada beberapa kekurangan yaitu timbulnya *fouling* dan konsentrasi polarisasi yang tinggi. *Fouling* dan konsentrasi polarisasi pada membran umumnya sangat dipengaruhi oleh karakteristik membran yaitu ukuran pori atau *molecular weight cut off* (MWCO) dan material (bahan penyusun) dari membran. Selain itu *fouling* dan konsentrasi polarisasi dapat juga dipengaruhi oleh karakteristik umpan dan kondisi operasi yang meliputi tekanan transmembran (TMP), suhu serta laju alir (Noordmand *et al.* 2002). Berdasarkan aspek tersebut maka pemilihan karakteristik membran dan pengoperasian parameter yang tepat pada proses UF diharapkan akan dapat meningkatkan kinerja proses membran dalam memisahkan dan memurnikan enzim protease dari jeroan ikan tuna.

TUJUAN

Tujuan dari penelitian ini adalah : (1) memurnikan ekstrak enzim protease dari jeroan ikan tuna dengan proses ultrafiltrasi (UF) dan *reverse osmosis* (RO), (2) mempelajari pengaruh MWCO, material membran serta kondisi operasi (TMP dan suhu) terhadap fluks dan rejeksi dari membran UF, (3) mengetahui pengaruh penggunaan RO sebagai diafiltrasi, (4) analisis tingkat kemurnian dari enzim

protease dan menentukan berat molekul protein yang terkandung dalam ekstrak enzim protease yang dihasilkan.

METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2010 sampai Maret 2010 di Laboratorium Mikrobiologi Hasil Perairan dan Laboratorium Teknologi Pengolahan Hasil Perairan Departemen Teknologi Hasil Perairan FPIK, Laboratorium Mikrobiologi 2 Departemen Biologi FMIPA, Laboratorium Biologi Hewan dan Laboratorium Bioteknologi Hewan PAU IPB.

Alat-alat yang digunakan terdiri dari peralatan penelitian yang meliputi UF poliakrilonitril dengan MWCO 100 kDa, membran UF polisulfon dengan MWCO 50 kDa, membran *reverse osmosis*, thermostat, nilon ukuran 225 mesh dan 375 mesh, timbangan digital, pH meter, pompa vakum, kertas saring, pengaduk magnetik dan pemanas listrik. Sedangkan peralatan untuk pengujian meliputi oven, tanur, desikator, labu Kjeldahl, pembakar (destruksi), destilator, soxhlet (kondensor dan labu lemak), vortex, sentrifuge, inkubator, neraca analitik, spektrofotometer, tabung reaksi dan peralatan gelas lainnya.

Bahan-bahan yang digunakan meliputi jeroan ikan tuna, es batu, buffer tris base, HCl, NaN_3 , CaCl_2 , akuades, dan NaOH. Sedangkan bahan untuk pengujian meliputi selenium, heksana, H_2SO_4 , NaOH 40%, H_3BO_3 2%, brom cresol green methyl red, HCl 0,1 N, bovine serum albumin (BSA), comassie brilliant blue G-250, etanol 95%, asam fosfat 85%, tirosin, TCA (0,1 M), kasein, buffer Tris-Cl (pH 8, 0,2 M), akuades steril, Na_2CO_3 , folin, akrilamid, bis-akrilamid, SDS, ammonium persulfat, glisin, gliserol, 2-mercaptoethanol, bromofenol blue, methanol, asam asetat, formalin, akuades bebas ion, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, AgNO_3 , N_2CO_3 , dan asam asetat glasial.

Penelitian ini dilaksanakan dalam beberapa tahapan yang meliputi preparasi dan analisis proksimat jeroan ikan tuna (AOAC 2007), pembuatan ekstrak enzim protease dari jeroan ikan tuna dengan penambahan buffer Tris-Cl (pH 8,0; 0,02 % NaN_3 ; 5 mM CaCl_2) yang mengacu pada penelitian Li *et al.* (2006) dan prefiltrasi dengan menggunakan nilon ukuran 225 mesh dan 375 mesh serta penyaringan vakum. Tahapan selanjutnya adalah melakukan karakterisasi membran berupa penentuan tingkat permeabilitas (Uju 2005). Tahapan ini kemudian dilanjutkan dengan melakukan proses filtrasi dengan membran ultrafiltrasi dan penentuan waktu tunak (*steady state*). Variabel bebas yang diteliti meliputi MWCO (membran UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa dan UF polisulfon MWCO 50 kDa), TMP (28 kPa-280 kPa) dan suhu (30 °C, 35 °C dan 40 °C), sedangkan variabel tak bebas yang diamati meliputi fluks dan rejeksi yang terdiri dari pengukuran kadar protein terlarut dan aktivitas enzim protease. Setelah itu dilakukan proses pemekatan dengan menggunakan membran *reverse osmosis* dan pengukuran kadar protein terlarut (Bradford 1976) serta aktivitas enzim protease (Walter 1988). Tahapan terakhir adalah berupa analisis kemurnian dan penentuan berat molekul protein menggunakan SDS-PAGE (Laemmli 1970). Data yang diperoleh diolah dan dimodelkan menggunakan *Microsoft excel 2007*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

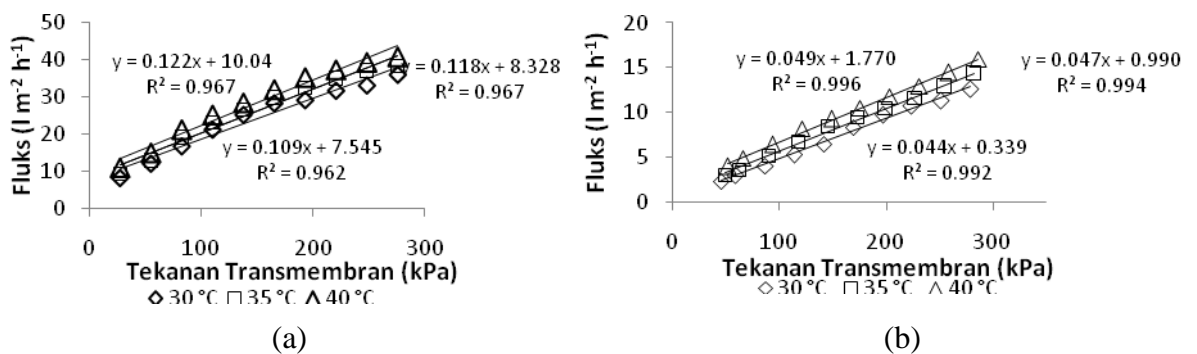
Komposisi Kimia Jeroan Tuna

Hasil analisis komposisi kimia terhadap bahan baku jeroan ikan tuna yang digunakan adalah kadar air $75,42 \pm 0,35\%$; kadar abu $1,44 \pm 0,06\%$; kadar protein $17,11 \pm 0,18\%$; dan kadar lemak $1,63 \pm 0,30\%$. Komposisi kimia jeroan ikan tuna tersebut memiliki komposisi kadar abu, protein dan lemak yang lebih rendah serta kadar air yang lebih tinggi dibandingkan dengan komposisi kimia jeroan ikan tuna dari hasil penelitian yang dilakukan Li *et al.* (2006), dimana komposisi kimia dari jeroan ikan tuna yang digunakan adalah kadar air 74,48%, kadar abu 1,64%, kadar protein 19,29%, dan kadar lemak 3,35%. Moeljanto (1992) menyatakan bahwa bentuk atau besar ikan, cara pembekuan dan kecepatan pembekuan yang berbeda dapat berpengaruh terhadap komposisi kimia suatu bahan.

Hasil dari proses ekstraksi jeroan ikan tuna dengan penambahan buffer Tris-Cl (pH 8,0; 0,02% NaN_3 ; 5 mM CaCl_2) memperlihatkan hasil ekstrak enzim protease yang masih keruh dan banyak bahan pengotor lainnya seperti remah daging dan lemak. Proses prefiltrasi dengan menggunakan nilon ukuran 225 mesh dan 375 mesh menghasilkan ekstrak enzim protease yang lebih bersih dari bahan pengotor tersebut sedangkan setelah dilakukan proses penyaringan vakum memperlihatkan bahwa ekstrak enzim protease yang dihasilkan makin terlihat lebih jernih.

Permeabilitas Membran

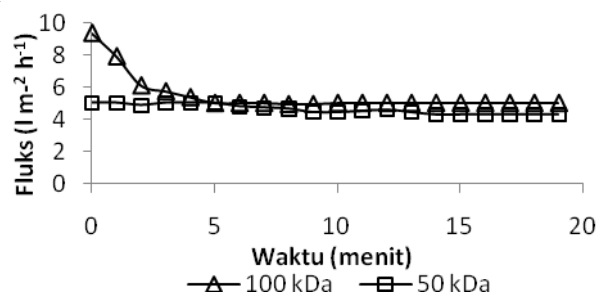
Karakteristik membran ditentukan dengan penentuan tingkat permeabilitas. Permeabilitas merupakan kemampuan membran mengalirkan air destilasi melalui pori yang terdapat didalamnya. Sifat permeabilitas membran dapat dilihat dengan mengukur nilai fluksnya. Berdasarkan hasil pengukuran diperoleh nilai fluks membran UF polisulfon MWCO 50 kDa dan UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa meningkat secara linier dengan meningkatnya nilai TMP dan suhu. Selain itu, dapat dilihat juga bahwa nilai permeabilitas membran poliakrilonitril MWCO 100 kDa lebih tinggi dibandingkan dengan membran polisulfon MWCO 50 kDa. Hasil selengkapnya pengaruh TMP dan suhu umpan air destilasi terhadap fluks membran pada membran UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa dan polisulfon MWCO 50 kDa dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pengaruh TMP dan suhu umpan air destilasi terhadap nilai fluks pada membran UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa (a) dan polisulfon MWCO 50 kDa (b)

Waktu Tunak (*Steady State*) Fluks

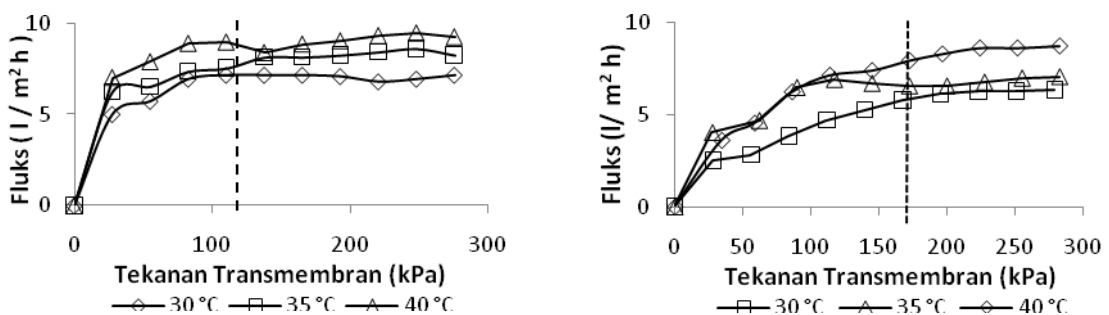
Hubungan antara fluks dengan waktu operasi pada membran UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa dan UF polisulfon MWCO 50 kDa menunjukkan nilai fluks pada proses UF dengan membran UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa pada awal proses filtrasi mengalami penurunan yang tajam namun setelah 5 menit fluks mendekati konstan. Sedangkan fluks pada membran UF polisulfon MWCO 50 kDa tidak memperlihatkan terjadinya penurunan yang tajam diawal proses dan cenderung terus konstan sepanjang proses. Penurunan fluks yang tajam pada beberapa menit pertama membran UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa diduga disebabkan oleh terjadinya konsentrasi polarisasi pada membran tersebut (Marshal 1993). Hasil selengkapnya hubungan antara fluks dengan waktu pada membran UF polisulfon MWCO 50 kDa dengan UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hubungan antara fluks dengan waktu pada membran membran pada membran UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa dan polisulfon MWCO 50 kDa pada suhu 30 °C

Pengaruh TMP dan Suhu terhadap Fluks

Fluks adalah jumlah volume permeat pada operasi membran per satuan waktu dan luas permukaan membran. Berdasarkan hasil pengukuran nilai fluks permeat akibat pengaruh TMP dan suhu memperlihatkan terjadinya peningkatan nilai fluks seiring dengan peningkatan nilai TMP dan suhu. Pola perubahan nilai fluks permeat pada membran UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa dan polisulfon MWCO 50 kDa menunjukkan bahwa TMP tidak berpengaruh terhadap nilai fluks ketika TMP secara berturut-turut lebih besar dari 110 dan 170 kPa. Hal ini menunjukkan bahwa pada kondisi tersebut diduga telah terjadi *fouling* (Ghosh dan Cui 2000). Nilai fluks permeat pada membran UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa dan polisulfon MWCO 50 kDa pada TMP dan suhu yang berbeda selengkapnya disajikan pada Gambar 3.



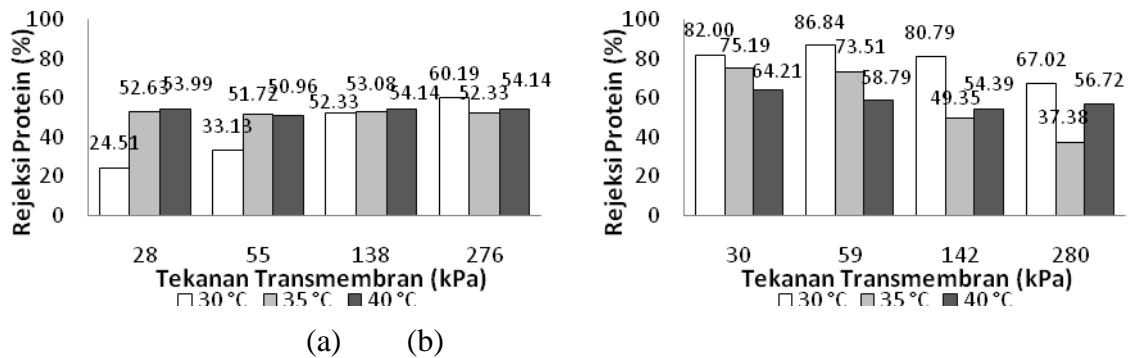
(a)

Gambar 3. Pola perubahan nilai fluks permeat yang disebabkan oleh perubahan TMP dan suhu pada membran UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa (a) dan polisulfon MWCO 50 kDa (b)

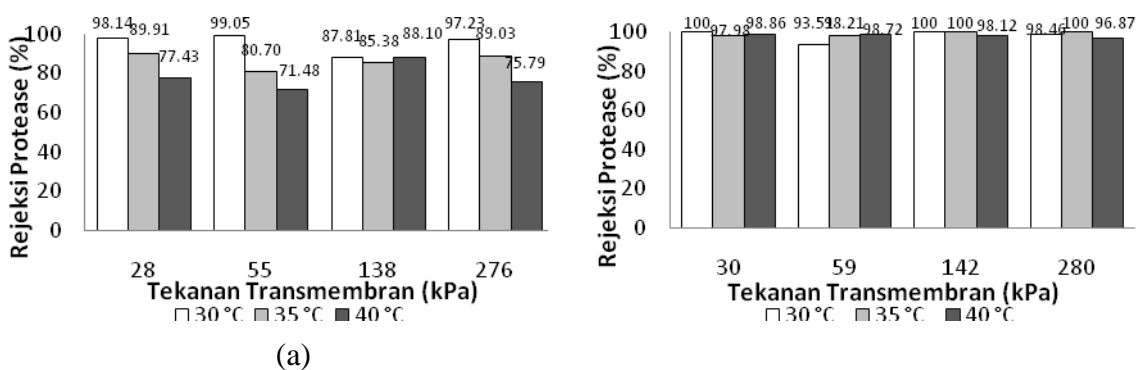
Pengaruh TMP dan Suhu terhadap Nilai Rejeksi

Rejeksi adalah kemampuan suatu membran untuk menahan partikel berukuran tertentu. Pola perubahan nilai rejeksi kadar protein terlarut dan aktivitas enzim protease pada membran UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa dan polisulfon MWCO 50 kDa terlihat cenderung berfluktuatif. Hal ini menunjukkan bahwa TMP dan suhu tidak berpengaruh terhadap besarnya nilai rejeksi kadar protein terlarut maupun aktivitas enzim protease. Kecenderungan ini dapat juga dipengaruhi oleh faktor-faktor lain, yang meliputi MWCO dan berat zat terlarut (Mulder 1996).

Selain itu, nilai rejeksi kadar protein terlarut dan aktivitas enzim protease pada membran UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa terlihat juga lebih rendah dibandingkan dengan membran UF polisulfon MWCO 50 kDa. Hal ini diduga jumlah protein maupun enzim protease yang ada lebih banyak mencemari pori membran, terutama pada membran berukuran pori lebih besar (Marshall *et al.* 1993). Menurut Cheryan (1998), material membran yang berbeda dengan MWCO yang sama akan dapat menghasilkan rejeksi yang berbeda. Hal ini diduga disebabkan adanya pengaruh interaksi antara larutan umpan dan membran. Pola perubahan nilai rejeksi kadar protein terlarut dan aktivitas enzim protease pada permeat yang disebabkan oleh perubahan TMP dan suhu pada membran UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa dan polisulfon MWCO 50 kDa selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 4 dan Gambar 5.



Gambar 4. Pola perubahan nilai rejeksi kadar protein terlarut pada permeat yang disebabkan oleh perubahan TMP dan suhu pada membran UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa (a) dan polisulfon MWCO 50 kDa (b)



Gambar 5. Pola perubahan nilai rejeksi aktivitas enzim protease pada permeat yang disebabkan oleh perubahan suhu operasi dan TMP pada membran UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa (a) dan polisulfon MWCO 50 kDa (b)

Penggunaan RO sebagai Diafiltrasi

Berdasarkan hasil pengukuran kadar protein terlarut dan aktivitas enzim protease dari penggunaan RO memperlihatkan bahwa kadar protein terlarut dan aktivitas enzim protease pada retentat membran RO dari permeat UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa mengalami penurunan. Sedangkan kadar protein terlarut dan aktivitas enzim protease pada retentat RO dari permeat UF polisulfon MWCO 50 kDa mengalami peningkatan. Hal ini menunjukkan bahwa pemekatan menggunakan RO lebih efektif pada permeat hasil dari UF polisulfon MWCO 50 kDa dalam menghasilkan enzim protease yang murni.

Tabel 1. Nilai kadar protein terlarut dan aktivitas protease pada ekstrak protease jeroan tuna

Sampel (Kode)	Kadar Protein Terlarut (mg/ ml)	Aktivitas Enzim Protease (unit/ ml)	Aktivitas Spesifik Enzim Protease (unit/ mg)
Ekstrak enzim protease kasar (A)	0,42	0,75	1,77
Ekstrak enzim protease hasil penyaringan nilon ukuran 225 mesh dan 375 mesh serta penyaringan vakum (B)	0,15	0,22	1,42
Permeat membran UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa (C)	0,14	0,18	1,29
Permeat membran UF polisulfon MWCO 50 kDa (D)	0,07	0,01	0,07
Permeat membran RO dari UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa (E1)	0,03	0,01	0,25
Retentat membran RO dari UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa (E2)	0,13	0,04	0,33
Permeat membran RO dari UF polisulfon MWCO 50 kDa (F1)	0,02	0,02	0,90
Retentat membran RO dari UF polisulfon MWCO 50 kDa (F2)	0,11	0,02	0,15

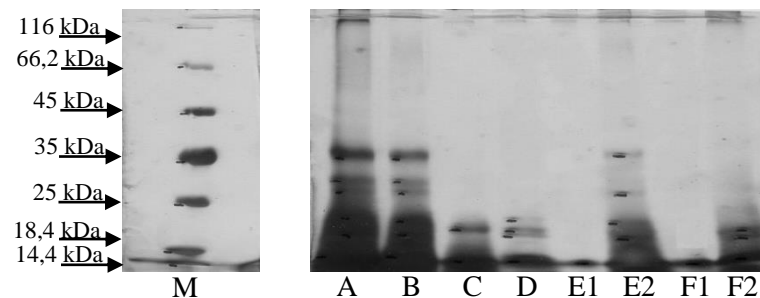
Analisis SDS-PAGE

Elektroforesis gel poliakrilamida sodium dodesil sulfat (SDS-PAGE) digunakan untuk mengetahui hasil dari kemurnian dan estimasi berat molekul protein dari enzim protease. Hasil analisis SDS-PAGE 10% menunjukkan profil profil pita protein enzim protease dari jeroan ikan tuna. Dapat dilihat bahwa penyaringan dengan kertas saring meloloskan protein sebesar 100% dan hanya memisahkan pengotor berupa remah daging dan lemak. Enzim protease murni berhasil dipisahkan dengan UF dan dipekatkan dengan RO. Akan tetapi RO tidak mampu merejeksi protein sebesar 100%, hal ini dibuktikan dengan permeat RO yang masih mengandung protein. Profil pita protein enzim protease dari jeroan ikan tuna hasil dari analisis SDS-PAGE 10% dapat dilihat pada Gambar 6. Sedangkan estimasi berat molekul protein enzim protease dari jeroan ikan tuna hasil SDS-PAGE 10% dapat dilihat pada Tabel 2.

Pemurnian dengan membran UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa kemudian dipekatkan dengan RO menghasilkan protease dengan bobot molekul 37,53; 27,77; 22,72; dan 19,88 kDa. Sedangkan pemurnian menggunakan membran UF polisulfon MWCO 50 kDa kemudian dipekatkan dengan RO menghasilkan protease dengan bobot molekul 21,25; 19,88; dan 16,82 kDa. Li *et al.* (2006) telah berhasil memurnikan protease dari *spleen* ikan tuna dengan teknik UF dan diafiltrasi UF 30 kDa. Ekstrak protease yang diperoleh memiliki bobot molekul 25, 80 kDa. Li *et al.* (2008) melaporkan bahwa estimasi berat molekul

dari tripsin dan kemotripsin dari *spleen* tuna yellowfin berturut-turut adalah 24 dan 27 kDa.

Enzim jeroan ikan tuna, secara umum terdiri dari pepsin (pada bagian *gastric mucosa*), dan tripsin serta kemotripsin (pada bagian pankreas, *pyloric caeca*, dan usus) (Simpson 2000). Protease yang dihasilkan dari jeroan ikan tuna memiliki sifat unik untuk berbagai aplikasi industri seperti *detergent* (Esposito *et al.* 2009 dan Li *et al.* 2010), makanan diantaranya digunakan untuk meningkatkan kualitas glutenin pada tepung dan coklat (Kara *et al.* 2005), meningkatkan volume spesifik dari *brown rice bread* (Renzetti dan Arendt 2009), *pharmaceutical*, kulit dan industri tekstil atau kain sutra (Haard 1992).



Gambar 6. Profil pita protein enzim protease dari jeroan ikan tuna hasil dari SDS-PAGE 10% pada (A) Ekstrak kasar enzim protease dari jeroan ikan tuna, (B) Ekstrak enzim protease hasil penyaringan nilon ukuran 225 mesh dan 375 mesh serta penyaringan vakum, (C) Permeat membran UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa, (D) Permeat membran UF polisulfon MWCO 50 kDa, (E1) Permeat membran RO dari UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa, (E2) Retentat membran RO dari UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa, (F1) Permeat membran RO dari UF polisulfon MWCO 50 kDa, (F2) Retentat membran RO dari UF polisulfon MWCO 50 kDa, (M) Marker Unstained

Tabel 2. Nilai estimasi berat molekul protein enzim protease dari jeroan ikan tuna hasil SDS-PAGE 10%

Kode sampel	M	A	B	C	D	E1	E2	F1	F2
Jumlah pita	7	6	6	3	4	1	4	1	3
Berat molekul	116	37,53	37,53	21,25	22,72	16,26	37,53	16,26	21,25
	66,2	30,70	30,70	16,26	21,25		27,77		19,88
	45	27,77	27,77		19,88		22,72		16,82
	35	22,72	22,72		16,26		19,88		
	25	19,88	19,88						
	18,4	16,82	16,82						
	14,4								

KESIMPULAN

Enzim protease dari jeroan ikan tuna dapat dimurnikan melalui proses filtrasi menggunakan membran UF dan RO, dengan kondisi optimum membran yang digunakan untuk UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa adalah kondisi operasi pada TMP 55 kPa dan suhu 40 °C, sedangkan pada membran UF polisulfon MWCO 50 kDa adalah pada TMP 59 kPa dan suhu 30 °C.

Peningkatan TMP dan suhu dapat meningkatkan nilai fluks pada membran UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa dan membran UF polisulfon MWCO 50 kDa. Fluks permeat pada membran UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa lebih besar dibandingkan UF polisulfon MWCO 50 kDa. Peningkatan TMP pada membran UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa dapat meningkatkan fluks permeat ketika TMP lebih rendah dari 110 kPa dan TMP menjadi tidak berpengaruh ketika TMP lebih besar dari 110 kPa. Hal serupa juga terjadi pada membran UF polisulfon MWCO 50 kDa, yakni pada saat nilai TMP 170 kPa. Nilai rejeksi protein terlarut dan aktivitas enzim protease pada kedua membran tidak dipengaruhi oleh TMP dan suhu, akan tetapi lebih dipengaruhi oleh MWCO dan material membran. Membran UF polisulfon MWCO 50 kDa merejeksi lebih besar dibandingkan dengan UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa. Proses pemekatan menggunakan RO terbukti efektif menghasilkan enzim protease murni untuk permeat UF polisulfon MWCO 50 kDa.

Pemurnian enzim protease dari jeroan ikan tuna dengan UF poliakrilonitril MWCO 100 kDa kemudian dipekatkan dengan RO menghasilkan enzim protease dengan estimasi berat molekul protein 37,53; 27,77; 22,72; dan 19,88 kDa, sedangkan pemurnian menggunakan UF polisulfon MWCO 50 kDa kemudian dipekatkan dengan RO menghasilkan enzim protease dengan estimasi berat molekul protein 21,25; 19,88; dan 16,82 kDa.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional yang telah mendanai penelitian ini, sehingga dapat dilaksanakan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- (1) Prasertsan P, Wuttijumnong P, Sophanodora P dan Choorit W. Seafood processing industries within Songkhla-Hat Yai region: the survey of basic data emphasis on wastes. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 1988; 10: 447-451.
- (2) Gildberg A. Recovery of proteinase and protein hydrolysate from fish viscera. *J. Bioresource Technology* 1992; 39: 271-276.
- (3) Guerard F, Guimas L dan Binet A. Production of tuna waste hydrolysates by a commercial neutral protease preparation. *J. Molecular Catalysis B: Enzymatic* 2002; 19-20: 489-498.
- (4) Klomklao S, Benjakul S, Visessanguan W, Simpson BK dan Kishimura H. Partitioning and recovery of proteinase from tuna spleen by aqueous two phase system. *J. Proc. Biochem.* 2005; 40: 3061-3067.
- (5) Rao MB, Tranksale AM, Ghatge MS dan Desphande VV. Molecular and biotechnological aspects of microbial protease. *J. Microbiology and Molecular Biology Review* 1998; 62: 597-635.
- (6) Saxena A, Tripathi BP, Kumar M dan Shahi VK. Membran-based techniques for the separation and purification of proteins: An overview. *J. Advances in Colloid and Interface Science* 2008; 145: 1-22.

- (7) Li ZY, Youravong W, dan H-Kittikun A. Separation of proteases from yellowfin tuna spleen by ultrafiltration. *J. Bioresour. Technol.* 2006; 97: 2364-2370.
- (8) Noordman TR, Ketelaar TH, Donkers F dan Wesselingh JA. Concentration and desalination of protein solutions by ultrafiltration. *J. Chem. Eng. Sci.* 2002; 57: 693-703.
- (9) [AOAC] Association of Official Analytical and Chemistry. Official Methods of Analysis. 18th Ed. Maylan: Association of Official Analytical and Chemists inc; 2007.
- (10) Uju. Kajian pemurnian dan pengkonsentrasian karaginan dengan membran mikrofiltrasi. [tesis]. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor; 2005.
- (11) Bradford. A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *J. Analytical Biochemistry* 1976; 56 (7): 248-254.
- (12) Walter HE. Methods with Haemoglobin, Casein and Azool as Substrate. Di dalam Bergmeter HU, Bergmeyer J and Garbi M. *Methods of Enzymatic Analysis*. 3rd Ed. Jerman: Weinheim; 1988.
- (13) Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970; 227: 680-685.
- (14) Moeljanto. *Pengawetan dan Pengolahan Hasil Perikanan*. Jakarta: Penebar Swadaya; 1992.
- (15) Marshall AD, Munro PA, Tragardh G. The effect of protein fouling in microfiltration and ultrafiltration on permeate flux, protein retention and selectivity: A literature review. *Desalination* 1993; 91: 65-108.
- (16) Ghosh R dan Cui ZF. Simulation study of the fractionation of proteins using ultrafiltration. *J. Membr. Sci.* 2000; 180: 29-36.
- (17) Mulder M. *Basic Principles of Membran Technology*. Nederland: Kluwer Academic Publisher; 1996.
- (18) Cheryan. *Ultrafiltration and Microfiltration Handbook*. Technomic Publ. New Holland Avenue; 1998.
- (19) Li ZY, Youravong W, dan H-Kittikun A. Separation of proteases from yellowfin tuna spleen extract by ultrafiltration: effect of hydrodynamics and gas sparging on flux enhancement and selectivity. *J. Membran Science* 2008; 311: 104-111.
- (20) Simpson BK. *Digestive proteinases from marine animals*. In: Haard NF, Simpson BK (Eds), *Seafood enzymes: utilization and influence on postharvest seafood quality*. New York: Marcel Dekker; 2000.
- (21) Esposito TS, Amaral IPG, Buarque DS, Oliveira GB, Carvalho LB, dan Bezerra RS. Fish processing waste as a source of alkaline proteases for laundry detergent. *Food Chemistry* 2009; 112: 125-130.
- (22) Li ZY, Youravong W, dan H-Kittikun A. Protein hydrolysis by protease isolated from tuna spleen by membrane filtration: a comparative study with commercial proteases. *J. Food Science and Technology* 2010; 43: 166-172.
- (23) Kara M, Sivri D, dan Koxsel H. Effects of high protease-activity flours and commercial proteases on cookie quality. *Food Research International* 2005; 38: 479-486.
- (24) Renzetti S, dan Arendt EK. Effect of protease treatment on the baking quality of brown rice bread: From textural and rheological properties to biochemistry and microstructure. *Journal of Cereal Science* 2009; 50 22-28.
- (25) Haard NF. A review of proteolytic enzymes from marine organisms and their application in the food industry. *J. Aquatic Food Products Technology* 1992; 1: 17-35.