

**PEMISAHAN ENZIM SELULASE DARI SALURAN PENCERNAAN
UDANG PADA FRAKSI AMMONIUM SULFAT DENGAN METODE
KROMATOGRAFI FILTRASI GEL**

Skripsi

**Untuk melengkapi syarat-syarat guna memperoleh gelar
Sarjana Farmasi**



**Disusun Oleh:
Aulia Nabiilah
1404015049**





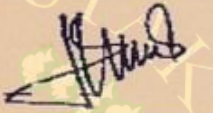
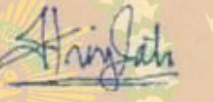


**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
JAKARTA
2020**

Skripsi dengan Judul

**PEMISAHAN ENZIM SELULASE DARI SALURAN PENCERNAAN
UDANG PADA FRAKSI AMMONIUM SULFAT DENGAN METODE
KROMATOGRAFI FILTRASI GEL**

Telah disusun dan dipertahankan di hadapan penguji oleh:

Aulia Nabiilah, NIM 1404015049

	Tanda Tangan	Tanggal
Ketua Wakil Dekan I Drs. apt. Inding Gusmayadi, M.Si.		<u>21/9/20</u>
Penguji I Dr. apt. Supandi, M.Si.		<u>23/9/2020</u>
Penguji II Rizky Arcinthy Rachmania, M.Si		<u>4/10/2020</u>
Pembimbing I apt. Hariyanti, M.Si.		<u>5/10/2020</u>
Pembimbing II Hanifah Rahmi, M.Biomed		<u>5/10/2020</u>
Mengetahui: Ketua Program Studi Farmasi apt. Kori Yati, M.Farm.		<u>19/10/2020</u>

Dinyatakan lulus pada Tanggal : 28 Agustus 2020

ABSTRAK

PEMISAHAN ENZIM SELULASE DARI SALURAN PENCERNAAN UDANG PADA FRAKSI AMMONIUM SULFAT DENGAN METODE KROMATOGRAFI FILTRASI GEL

Aulia Nabiilah
1404015049

Kepala Udang Vannamei mengandung enzim-enzim pencernaan salah satunya Selulase. Enzim ini banyak digunakan dalam bidang industri maupun bidang kesehatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui berapa besar nilai aktivitas nilai selulase dari saluran pencernaan Udang Vannamei fraksi ammonium sulfat 70% lalu dilakukan pemisahan dengan metode kromatografi filtrasi gel. Enzim pencernaan diperoleh dengan cara pemisahan menggunakan sentrifugasi, kemudian supernatan yang diperoleh ditambahkan ammonium sulfat 70%. Endapan hasil presipitasi ammonium sulfat 70% selanjutnya didialisis. Membran selofan yang digunakan adalah membrane yang berukuran 14 kDa. Larutan enzim hasil dialisis yang diperoleh dilakukan pemisahan dengan metode kromatografi filtrasi gel diukur dengan sephadex G-100. Hasil kromatografi filtrasi gel diukur nilai aktivitas enzimatisnya menggunakan spektrofotometer. Nilai aktivitas enzim selulase yang tertinggi yang diperoleh adalah sebesar 128,874 U/ml.

Kata kunci: Udang Vannamei, Enzim Selulase, Ammonium Sulfat, Kromatografi Filtrasi gel

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah, penulis memanjatkan puji dan syukur ke hadirat Allah SWT karena berkat rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi, dengan judul **“PEMISAHAN ENZIM SELULASE DARI SALURAN PENCERNAAN UDANG PADA FRAKSI AMMONIUM SULFAT DENGAN METODE KROMATOGRAFI FILTRASI GEL”**

Penulisan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi tugas akhir sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana farmasi pada Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA, Jakarta.

Pada kesempatan yang baik ini penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Drs. apt. Hadi Sunaryo, M.Si, selaku Dekan Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA.
2. Bapak Drs. apt. Inding Gusmayadi, M.Si, selaku Wakil Dekan I FFS UHAMKA.
3. Ibu apt. Kori Yati, M.Farm, selaku Ketua Program Studi Fakultas Farmasi Sains UHAMKA yang telah memberikan kemudahan dalam proses penyelesaian skripsi ini.
4. Ibu apt. Hariyanti, M.Si, selaku Pembimbing I yang senantiasa membantu penelitian dan penyusunan skripsi ini.
5. Ibu Hanifah Rahmi M.Biomed, selaku Pembimbing II yang telah membantu dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini.
6. Alm Ayah dan Ibunda tercinta, terima kasih untuk semangat, dukungan, doa dan cinta yang tak pernah terputus diberikan kepada penulis.
7. Erwin Hadi Kusuma, seluruh karyawan Watsons KJI & CPK, Cahya Prawesti, Siska Silvia dan Enis Ermala atas doa, perhatian dan nasehat.

Demikian kata pengantar dari penulis. Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat kekurangan. Untuk itu melalui kesempatan ini penulis mengharapkan kritik dan saran dari pembaca dalam melengkapi segala kekurangan yang ada dalam penulisan skripsi penulis ucapkan terimakasih.

Jakarta, 10 Maret 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Hlm
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Permasalahan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Landasan Teori	4
1. Udang Vannamei (<i>Litopenaeus Vannamei</i>)	4
2. Enzim Selulase	5
3. Presipitasi Enzim Pencernaan dengan Ammonium Sulfat	5
4. Dialisis	7
5. Kromatografi Filtrasi Gel	8
6. Metode Pengukuran Aktivitas Enzim Selulase	9
7. Penentuan Kadar Protein	9
8. Spektrofotometri UV-VIS	10
B. Kerangka Berpikir	11
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	12
A. Tempat dan Jadwal Penelitian	12
1. Tempat penelitian	12
2. Waktu penelitian	12
B. Alat dan Alat Penelitian	12
1. Bahan penelitian	12
2. Alat Penelitian	12
C. Prosedur Penelitian	12
1. Pengambilan Sampel Saluran Pencernaan Udang Vannamei	12
2. Determinasi Sampel LIPI	13
3. Ekstraksi Enzim Kasar dari Saluran Pencernaan Udang Vannamei	13
4. Presipitasi dengan Ammonium Sulfat 0%-70%	13
5. Dialisis	14
6. Pemisahan Enzim Selulase dengan Kromatografi Filtrasi Gel	15
7. Penentuan Kadar Protein	16
8. Uji Aktivitas Enzim Selulase	17
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	19

A. Hasil Determinasi Udang Vannamei	19
B. Pengambilan Sampel dan Ekstraksi Saluran Pencernaan Udang Vannamei	19
C. Dialisis	21
D. Kromatografi Filtrasi Gel	22
E. Penentuan Kadar Protein	23
F. Penentuan Uji Aktivitas Enzim Selulase	25
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	27
A. Simpulan	27
B. Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	30



DAFTAR TABEL

		Hlm
Tabel 1.	Hasil Ekstraksi Enzim Saluran Pencernaan Udang Vannmei	20
Tabel 2.	Hasil Kadar Protein Enzim Selulase Dari Saluran Pencernaan Udang Vannamei	25
Tabel 3.	Hasil Uji Aktivitas Enzim Dari Saluran Pencernaan Udang Vannamei	26



DAFTAR GAMBAR

	Hlm
Gambar 1. Morfologi Udang Vannamei	4
Gambar 2. Presipitasi Protein dengan Ammonium Sulfat	6
Gambar 3. Proses Dialisis	8
Gambar 4. Kromatografi Filtasi Gel	8
Gambar 5. Komponen Spektrofotometer UV-Vis	10
Gambar 6. Pencernaan Udang Vannamei	20
Gambar 7. Serapan Protein pada Panjang Gelombang 20 nm	23



DAFTAR LAMPIRAN

	Hlm
Lampiran 1. Prosedur Penelitian	30
Lampiran 2. Presipitasi Enzim Selulase dengan Ammonium Sulfat	31
Lampiran 3. Dialisis	32
Lampiran 4. Pengembangan Sephadex	33
Lampiran 5. Packing Gel	34
Lampiran 6. Pembuatan Blanko	35
Lampiran 7. Sampel (Dialisat)	36
Lampiran 8. Kromatografi Filtrasi Gel (Packing Sampel)	37
Lampiran 9. Pembacaan pada Spektrofotometer Uv-Vis	38
Lampiran 10. Pembuatan Panjang Gelombang Maksimum Glukosa	39
Lampiran 11. Pembuatan Kalibrasi (kurva standar Glukosa)	40
Lampiran 12. Uji Aktivitas Enzim Selulase	41
Lampiran 13. Pembuatan Panjang gelombang Maksimum BSA	42
Lampiran 14. Pembuatan Kurva Standar BSA	43
Lampiran 15. Uji Kadar Protein	44
Lampiran 16 Hasil Deteminasi	45
Lampiran 17. Tabel Penjenuhan Ammonium Sulfat	46
Lampiran 18. Perhitungan Pembuatan Reagen dan Larutan	47
Lampiran 19. Panjang Gelombang Maksimum Glukosa	49
Lampiran 20. Perhitungan Kurva Standar Glukosa	50
Lampiran 21. Kurva Standar Glukosa	51
Lampiran 22. Kurva Absorbansi Sampel	52
Lampiran 23. Perhitungan Uji Aktivitas	53
Lampiran 24. Panjang Gelombang Maksimum BSA	58
Lampiran 25. Perhitungan Kurva Standar BSA	59
Lampiran 26. Kurva Standar BSA	60
Lampiran 27. Kurva Uji Kadar Protein	61
Lampiran 28. Perhitungan Uji Kadar Protein	62
Lampiran 29. Sertifikat Ammonium Sulfat	63
Lampiran 30. Serifikat Analisis BSA	65
Lampiran 31. Dokumentasi	66

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Udang Vanamei (*Litopenaeus vannamei*) menjadi salah satu spesies andalan bagi pertambakan di Indonesia. Beberapa keunggulan Udang Vannamei yaitu: pertumbuhan cepat, hidup pada kolam perairan sehingga dapat ditebar dengan densitas tinggi, lebih resisten terhadap kondisi lingkungan dan penyakit, dan paling digemari di pasar internasional (Hapsari dkk., 2016). Saluran pencernaan Udang Vannamei dilaporkan bahwa ditemukan beberapa aktivitas enzim pencernaan yang belum dimanfaatkan lebih lanjut salah satunya enzim selulase (Hapsari dkk., 2016).

Enzim merupakan suatu biopolimer yang berperan penting dalam mengkatalis reaksi kimia yang berjalan dalam tubuh makhluk hidup, seperti saat memecah nutrisi untuk menghasilkan energi. Enzim bekerja sangat efektif dan merupakan katalis yang spesifik dalam seluruh proses metabolik, enzim tersebut bekerja untuk mempercepat suatu reaksi dengan substrat yang ada (Poedjiadi & Supriyanti, 2006). Enzim yang terdapat di dalam sistem pencernaan salah satunya yaitu enzim selulase. Enzim dapat mempercepat reaksi 10^8 sampai 10^{11} kali lebih cepat daripada tanpa menggunakan katalis (Poedjiadi & Supriyanti, 2006).

Enzim selulase merupakan enzim yang mampu menghidrolisis polisakarida (selulosa) menjadi gula sederhana dengan memutuskan ikatan glikosidik β -1,4 pada selulosa, selobiosa, dan turunan selulosa lainnya. Enzim selulase digunakan secara luas dalam industri tekstil, deterjen, pulpen dan kertas. Enzim selulase juga dimanfaatkan dalam proses fermentasi dari biomassa menjadi biofuel. Saat ini enzim selulase juga digunakan sebagai pengganti bahan kimia pada proses pembuatan alkohol dari bahan yang mengandung selulosa. Enzim selulase dalam bidang farmasetik dapat dijadikan salah satu eksipien sediaan tablet yaitu sebagai bahan pengisi tablet yang dianggap sebagai pengikat kering karena mampu meningkatkan kemampuan kekompakan tablet dari campuran kompresi. Selain itu juga mampu meningkatkan sifat alir masa cetak tablet. Berbagai manfaat diatas kemampuan enzim selulase dalam

mendegradasi selulosa menyebabkan enzim ini semakin dibutuhkan oleh industri (Sukumaran dkk, 2010) maka diperlukan pemurnian enzim dari saluran pencernaan Udang *Vannamei* untuk pemanfaatan enzim yang lebih optimal.

Pemurnian suatu enzim dapat dilakukan dengan cara kromatografi filtrasi gel. Kromatografi filtrasi gel merupakan teknik pemisahan protein dan makromolekul biologi lain berdasarkan ukuran molekul dengan prinsip pemisahan molekul berdasarkan perbedaan ukurannya. Pemurnian dilakukan dengan pengendapan dan kromatografi filtrasi gel. Pengendapan dilakukan dengan penambahan ammonium sulfat. Prinsip kromatografi filtrasi gel mengacu pada *sephadex*, *sephadex* adalah salah satu bahan yang dapat diperoleh secara mudah (Bintang, 2010).

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya aktivitas enzim dari penelitian (Kattakdad dkk. 2018) “enzim selulase yang terdapat dalam saluran Udang *Caridina Cantonensis* memiliki aktivitas 0,5-1,5 unit/mg protein pada pH 7”. Penentuan aktivitas enzim pada pemurnian enzim selulase dengan metode kromatografi filtrasi gel yang berasal dari saluran pencernaan Udang *Vannamei* (*Litopenaeus vannamei*) belum dilakukan pada penelitian sebelumnya (Kattakdad dkk. 2018). Penelitian yang akan dilakukan hanya sebatas melakukan penentuan adanya enzim selulase di dalam saluran pencernaan Udang *Vannamei* (*Litopenaeus vannamei*) dan melihat aktivitas tertinggi fraksi protein enzim selulase pada saluran pencernaan Udang *Vannamei* dengan penambahan ammonium sulfat.

Berdasarkan uraian diatas, maka akan dilakukan penelitian mengenai analisis enzim selulase dari saluran pencernaan Udang *Vannamei* (*Litopenaeus vannamei*) dengan metode kromatografi filtrasi gel lalu dilanjutkan dengan uji kadar protein dan uji aktivitas enzim selulase pada saluran pencernaan Udang *Vannamei*

B. Permasalahan Penelitian

Permasalahan penelitian ini adalah berapakah besar aktivitas enzim selulase tertinggi pada fraksi protein yang terdapat dalam saluran pencernaan udang *vannamei* (*Litopenaeus vannamei*)?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh fraksi protein saluran pencernaan Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) yang memiliki aktivitas enzim selulase tertinggi.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat dapat memisahkan enzim selulase dengan menggunakan fraksi ammonium sulfat dari hewan sebagai bahan baku enzim terapeutik khususnya pada bidang industri farmasi dan bioteknologi.



DAFTAR PUSTAKA

- Anhar DS. (2018). Analisis SDS-Page Enzim Pencernaan pada Fraksi Ammonium Sulfat 80% dari Saluran Pencernaan Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *Skripsi*. Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA, Jakarta. 44-47.
- Awwalurrizki N, Putra SR. (2008). Hidrolisis Sukrosa dengan Enzim Invertase untuk Produksi Etanol Menggunakan *Zymomonas mobilis*. *Jurnal Kimia*, 1(1), 2-4.
- Bintang M. (2010). *Biokimia Teknik Penelitian*. Erlangga. Jakarta. 97–100.
- Erlangga Erick. (2012). *Budi Daya Udang Vannamei secara Intensif*. Pustaka Argo Mandiri. Tangerang. 621-629
- Fatchiyah, A. E., Widyarti, S., & Rahayu, S. (2011). *Biologi Molekular Prinsip Dasar Analisis*. Erlangga. Jakarta. 34-55.
- Haliman RW, Adijaya D (2005). *Udang Vannamei*. Penebar Swadaya. Jakarta. 3-20
- Hapsari, T Wahyu T P, Aslamsjah, Pramono (2016). Aktivitas Enzimatis Bakteri Proteolitik Asal Gastrointestinal Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Marine and Coastal Science*, 7(1), 109-118.
- Hasanah NS (2015). Aktivitas Selulase Isolat Jamur dari Limbah Media Tanaman Jamur Merang. *Jurnal prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia* 1(5), 112.
- Hatimah H. (2017). *Isolasi dan Purifikasi Fitase dari Bakteri Endofit Asal Tanaman Jagung (Zea mays)*. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Alauddin Makassar. Makassar. 57-59
- Kattakdad, S., Jintasataporn, O., Worawattanamateekul, W., & Chumkam, S. (2018). pH Characterization of Digestive Enzyme and In vitro Digestibility of Red Bee Shrimp *Caridina cantonensis*. *Journal Of Aquaculture Research & Development*, 09(02). 3-5.
- Lertsutthiwong P, Chuen How N, Chandrakrachang S (2002). Effect of Chemical Treatment on the Characteristic of Shrimp Chitosan. *Journal of Metals Materials and Minerals* 3(1). 11-18.
- Mayangsari, M. (2016). Pemurnian Enzim Amilase Kasar dari Bakteri Amilolitik Endogenous Bekatul Secara Parsial Menggunakan Ammonium Sulfat *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri M Malik Ibrahim, Malang. 35-37.

- Nooralabettu, K. P. (2014). Optimisation of ammonium sulfate precipitation method to achieve high throughput concentration of crude alkaline phosphatase from Brown shrimp (*Metapenaeus monoceros*) hepatopancreas. *Journal of Marine Science and Technology* 2(1). 7-16.
- Poedjiadi, A., & Supriyanti, F. T. (2006). *Dasar-Dasar Biokimia*. UI-Press. Jakarta. 158-177
- Sarah, P. S., & Putro, H. S. (2009). Isolasi α -Amilase Termotabil dari Bakteri Termofilik *Bacillus stearothermophilus*. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya. 1-4
- Saryono.(2011). *Biokimia Enzim*. Mutia Medika. Yogyakarta. 4-5.
- Setiawan, A. S. R. (2013). Purifikasi L-Asparaginase Dari Bawang Bombay (*Allium cepa* L.) Menggunakan Kromatografi Filtrasi Gel Sephadex G-100. *Jurnal kimia* 3(1), 27-34.
- Sitorus, M. (2009). *Spektroskopi elusidasi struktur molekul organik*. Yogyakarta. Graha Ilmu. 52-60.
- Singhania, R., Sukumaran, R., Patel, A., Larroche, C. and Pandey, A (2010). Advancement and comparative profiles in the production technologies using solid-state and submerged fermentation for microbial cellulases. *Journal Enzyme and Microbial Technology* 5(1), 541-549.
- Yusriah, Y., & Kuswytasari, N. D. (2013). Pengaruh pH dan Suhu Terhadap Aktivitas Protease *Penicillium* sp. *Jurnal Sains dan Seni ITS* 1(1). 48-50.