

Pembuatan Isolat Papain dari Getah Buah Pepaya untuk Hidrolisis Protein Pada Pengembangan Metode Penambahan Materi Praktikum Biokimia

Rini Yana^{1*} Suci Permatasari^{2*}

¹Bagian Biokimia dan Kimia Medik, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Palembang
email : rini.yana.rh@gmail.com

Received 24 Jan 2022; accepted 25 Mar 2022

ABSTRAK

Buah pepaya merupakan buah yang tumbuh didaerah tropis dan banyak mengandung vitamin yang dibutuhkan oleh tubuh. Hampir semua bagian tanaman pepaya ini dapat dimanfaatkan seperti daun, bunga, batang dan getahnya. Getah buah pepaya berwarna putih cukup banyak mengandung enzim pemecah protein (proteolitik) yang disebut papain, dimana enzim ini dapat mengkatalis ikatan protein menjadi senyawa-senyawa yang sederhana seperti asam amino. Papain sebagai salah enzim yang mempunyai beberapa kelebihan antara lain lebih stabil terhadap faktor suhu dan pH. mudah didapat, tersedia dalam jumlah yang banyak dan harganya murah. Pembuatan isolat papain dari getah buah pepaya dengan metode pengeringan kabinet menghasilkan bubuk putih enzim papain, dimana uji aktivitas menggunakan metode Walter diperoleh 1,018 U/mL. Papain kering yang diperoleh sebanyak 56 g atau rendemen sebesar 46,7 %, berukuran 100 mesh. berwarna putih dan berbau khas pepaya. Aktivitas enzim papain terjadi pada pH optimum 8,0 dan suhu optimum pada 55 °C, dengan hasil hidrolisis yang memiliki kadar protein tertinggi pada konsentrasi enzim papain 8 %. Penggunaan papain isolat kadar protein tertinggi dicapai sebesar 3,600 mg/ml untuk sampel BSA dan untuk protein serum sebesar 1,178 mg/ml, sedangkan jika digunakan papain pabrikan diperoleh kadar protein tertinggi adalah 2.431 mg/ml untuk sampel BSA dan untuk protein serum sebesar 1.125 mg/ml.

Kata kunci : Isolat papain, getah buah pepaya, hidolisis protein.

ABSTRACT

Papaya fruit is a fruit that grows in the tropics that tastes good and contains many vitamins needed by the body. Almost all parts of this papaya plant can be used such as leaves, flowers, stems and sap. The white papaya sap contains quite a lot of protein-breaking enzymes (proteolytics) called papain, where this enzyme can catalyze protein bonds into simple compounds such as amino acids. Papain as an enzyme that has several advantages, among others, is more stable to temperature and pH factors. easy to obtain, available in large quantities and cheap. The manufacture of papain isolates from papaya latex by cabinet drying method produced a white powder of papain enzyme, where the activity test using the Walter method was obtained at 1.018 U/mL. Dried papain obtained as much as 56 g or yield of 46.7%, measuring 100 mesh. It is white in color and has a characteristic papaya smell. Papain enzyme activity occurred at an optimum pH of 8.0 and an optimum temperature of 55 °C, with the result of hydrolysis having the highest protein content at a papain enzyme concentration of 8%. The use of papain isolates, the highest protein content was achieved at 3.600 mg/ml for BSA samples and for serum protein of 1.178 mg/ml, whereas if manufactured papain was used, the highest protein levels were 2.431 mg/ml for BSA samples and for serum protein of 1.125 mg/ml. ml.

Key words: Papain isolate, papaya latex, protein hydrolysis.

1. Pendahuluan

Pepaya dengan nama latin *Carica papaya L* merupakan tanaman beriklim tropis, di Indonesia termasuk buah-buahan yang keberadaannya sangat banyak dan harganya cukup murah. Pepaya mengandung papain yang merupakan salah satu enzim proteinase terpenting¹. Papain (E.C.3.4.22.2) merupakan salah satu enzim proteolitik yang memiliki peran penting karena kegunaannya yang beragam dalam industri tekstil, farmasi, kosmetik dan makanan^{1,2}. Enzim Papain mempunyai khasiat untuk menyembuhkan luka misalnya luka disebabkan oleh kegiatan olah raga, dan juga alergi³. Enzim papain ini juga dapat digunakan untuk meningkatkan kuantitas pembuatan *virgin coconut oil* (VCO)⁴. Peningkatan asupan pakan, bobot badan rasio konversi pakan (FCR) dan persentase karkas ayam boiler terjadi bila pakan ditambahkan enzim papain⁵.

Semua bagian dari pepaya dapat digunakan yaitu daun dan bunga untuk sayur, buah sebagai buah segar dan batangnya untuk kayu bakar, sedangkan getahnya mengandung papain. Papain adalah enzim proteolitik yang ada dalam pepaya yang memecah protein dan memiliki jumlah aplikasi pengolahan makanan^{1,3,6,7}.

Getah buah pepaya ini dapat diperoleh dengan cara penyadapan pada buah pepaya yang berumur 2,5–3 bulan. Kajian penggunaan amonium sulfat pada pengengapan papain dari buah pepaya telah dilakukan sebagai koagulan dalam produksi keju cottage⁹.

Pembuatan enzim papain di Indonesia belum terlalu populer, karena masih mengandalkan pasokan dari negara-negara penghasil papain seperti India, Srilangka, Meksiko dan Brazil yang membuat enzim

papain dalam skala besar, padahal dibutuhkan dalam bidang industri penyamakan kulit, kosmetik, farmasi, pelunak daging dan pembuatan konsentrat protein pangan.

Papain merupakan salah satu jenis enzim hidrolase yang bersifat proteolitik dan mempunyai sifat yang sangat beragam dan spesifik. Enzim papain atau enzim proteolitik berfungsi untuk mengkatalisis pemecahan ikatan peptida, polipeptida dan protein dengan menggunakan reaksi hidrolisis menjadi molekul-molekul yang lebih sederhana seperti peptida rantai pendek dan asam amino¹⁰.

Aktivitas papain dipengaruhi oleh pH, suhu, waktu inkubasi, kekuatan ion dan tekanan¹¹. Selain itu papain termasuk ke dalam golongan protease sulfhidril yang aktivitasnya sangat dipengaruhi oleh adanya satu atau lebih gugus S-H pada sisi aktifnya. Gugus sulfhidril ini berperan dalam reaksi hidrolisis substrat menyangkut pembentukan ikatan kovalen tiol ester antara gugus karboksil dan sulfhidril protein papain.

Uji hidrolisis protein dengan menggunakan papain sebagai enzim telah banyak dilakukan, untuk itu perlu dibuat isolat papain dari getah buah pepaya yang dapat dipakai untuk pengujian kadar protein. Salah satu penggunaan enzim papain ini adalah untuk hidrolisis protein dari ikan Malong (*Congresox talabon*)¹².

Hidrolisis enzimatik dilakukan dengan menggunakan enzim, baik satu jenis enzim atau beberapa jenis enzim yang berbeda. Besarnya aktivitas enzim dipengaruhi beberapa faktor antara lain : pH, suhu, konsentrasi enzim¹³. Hidrolisis enzimatik lebih menguntungkan daripada hidrolisis secara kimia, karena tidak mengakibatkan kerusakan asam amino dan asam amino bebas serta peptida dengan rantai

yang dihasilkan lebih bervariasi. Reaksi dapat dipercepat, tingkat kehilangan asam amino esensial lebih rendah, biaya produksi relatif murah dan menghasilkan komposisi asam tertentu terutama peptida rantai pendek (dipeptida dan tripeptida) yang mudah diabsorpsi oleh tubuh¹⁴. Pemilihan enzim proteolitik untuk proses hidrolisis protein berdasarkan pada spesifikasi, pH optimal, kestabilan panas, pengaruh aktivator dan inhibitor, harga dan ketersediaan enzim tersebut. Berbagai penelitian tentang pemanfaatan papain telah dilakukan oleh beberapa peneliti. Pengaruh penambahan pepaya terhadap kualitas abon ayam telah dilakukan, dan menghasilkan bahwa penambahan buah pepaya berpengaruh sangat nyata terhadap aroma, rasa dan tekstur abon¹⁵. Studi pemanfaatan enzim papain getah buah pepaya untuk melunakkan daging juga sudah dilakukan, dimana hasilnya menunjukkan bahwa tingkat pelunakan sebesar 8,42 g/mm³¹⁶. Pertumbuhan lele dumbo dan tingkat pemanfaatan protein dipengaruhi oleh penggunaan papain, dan menghasilkan peningkatan nilai efisiensi pemanfaatan pakan (EPP), protein efficiency ratio (PER), dan relative growth rate (RGR)¹⁷. Betti dkk¹⁸ telah melakukan percobaan memanfaatkan enzim papain dari getah buah pepaya untuk membuat keju cottage. Hasilnya menunjukkan bahwa diperoleh kualitas keju cottage terbaik, dimana kadar protein 15,47%, lemak 2,58%, karbohidrat 24,58%, dan uji statistik Anova terhadap uji *organoleptic* adalah 3,20. Edy Agustian Yazid, Badilatun Udin Nuha,¹⁹ melakukan penelitian “Kadar protein terlarut pada ampas kedelai dari hasil proses pembuatan tempe dengan penambahan ekstrak kasar papain (*Crude Papain*)” menunjukkan bahwa dengan penambahan ekstrak kasar papain dapat meningkatkan kadar protein sebesar 4,77 % pada konsentrasi 15 %. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pH dan suhu terhadap aktivitas enzim papain isolat

dan enzim papain pabrikan, pengaruh konsentrasi enzim papain isolat dan konsentrasi enzim papain pabrikan terhadap kadar protein BSA dan kadar protein serum.

2. Metode

2.1. Bahan

Getah buah pepaya hasil sadapan (diambil dari Desa Cempaka, Kecamatan Cempaka, Kabupaten Ogan Komering Ulu Timur (OKUT), Provinsi Sumatera Selatan), Papain pabrikan, Natrium bisulfit 0,7 %, kasein 1 %, asam trikloroasetat (TCA) 0,1 M dan 5 %, tirosin 5 mM, buffer fosfat, pereaksi biuret (NaOH 10 %, CuSO₄ 2 %), bovin serum albumin (BSA), plasma/serum, folin ciocalteu dan aquabides.

2.2. Alat

Alat-alat gelas yang digunakan, magnetik stirer, mikro pipet, sentrifuge, pH meter, neraca analitik, vortek, waterbath, spektrofotometer ultraviolet vis.

2.3. Prosedur Kerja

2.3.1. Persiapan sampel

Penyadapan getah dilakukan pagi atau sore hari pada buah pepaya yang berumur 2,5–3 bulan, kulit buah ditoreh sedalam kurang lebih 1–2 mm dari atas ke bawah. Dari torehan akan menetes getah buah dan segera tetesan ditampung dalam wadah.

2.3.2. Isolasi Papain

Getah yang diperoleh dari hasil sadapan dicampur dengan larutan natrium bisulfit 0,7% dengan perbandingan empat kali jumlah getah, kemudian dicampur dan diaduk dengan merata agak kental dan berwarna putih susu. Kemudian dituangkan dalam cawan petri, lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 50 – 60 °C selama kurang lebih 6 jam. Setelah kering dihaluskan

dengan mortar dan diayak, sehingga diperoleh bubuk papain halus.

2.3.3. Pengujian aktivitas

Untuk mengetahui aktivitas enzim ini digunakan kasein sebagai substrat. Aktivitas enzim papain diukur dengan menggunakan metode Walter²⁰.

Metode ini didasarkan pada kemampuan papain untuk menghidrolisis substrat kasein menjadi peptida-peptida dan asam amino tirosin. Tirosin yang terbentuk inilah yang menjadi dasar perhitungan aktivitas papain. Tirosin direaksikan dengan reagen Follin ciocalteu, sehingga memperoleh senyawa kompleks berwarna biru yang menunjukkan nilai absorbansi pada panjang gelombang 578 nm. Diambil 0,6 ml larutan kasein 1%, dimasukkan ke dalam 4 tabung masing-masing sebagai blanko, standar dan sampel 1 enzim isolat papain dan sampel 2 enzim papain pabrikan. Pada tabung blanko ditambah 0,2 ml buffer fosfat pH 7; tabung standar ditambah 0,2 ml tirosin 5 mM dan tabung sampel 1 ditambah 0,2 ml enzim isolat papain 10 % dan sampel 2 ditambah 0,2 ml enzim papain pabrikan. Semua tabung diinkubasi pada temperature 50 °C selama 5 menit. Kemudian semua tabung ditambahkan 0,2 ml TCA 0,1 M dan buffer fosfat pH 7 sebanyak 0,2 ml, lalu disentrifugasi 3000 rpm selama 10 menit. Diambil 0,6 ml supernatan masing-masing ditambahkan 2 ml NaOH 1 M dan 0,4 ml larutan follin, lalu di vortex dan didiamkan selama 10 menit. Diukur absorbansinya pada 578 nm. Aktivitas enzim proteolitik dihitung dengan rumus

$$\frac{A_{sp} - A_{bl}}{A_{std} - A_{bl}} \times \frac{1}{t} \times \frac{1}{V_p} \times F_p$$

Keterangan :

A_{sp} = Absorbansi sampel

A_{std} = Absorbansi standar

A_{bl} = Absorbansi blanko

t = Waktu inkubasi

V_p = Volume papain yang diambil

F_p = Faktor pengenceran

2.3.4. Penentuan pH optimum

Dipipet 5 ml kasein 1 % sebagai subtrat, dengan variasi pH 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5; 8,0; 8,5; 9,0 inkubasi pada suhu 37 °C selama 5 menit. Ditambahkan 0,1 mL enzim papain 10 %, lalu didiamkan 1 menit, ditambahkan 5 mL TCA 5%, dikocok dan diinkubasi selama 30 menit. Disentrifuge dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit, dan diukur absorbansi (A_t) panjang gelombang pada 280 nm. Nilai A_b diperoleh dari kasein 1 % dalam variasi pH yang diinkubasi 37 °C, ditambahkan 5 mL TCA 5 % dikocok dan diinkubasi selama 30 menit, campuran disentrifugasi 4000 rpm selama 15 menit, diukur absorbansi (A_b) pada panjang gelombang 280 nm.

2.3.5. Penentuan suhu optimum

Uji aktivitas untuk penentuan suhu optimum dilakukan dengan menggunakan kasein 1 % dengan pH optimum enzim (hasil penentuan pH optimum). Dengan menentukan nilai A_t dan A_b , dari variasi suhu inkubasi yaitu : 45; 50; 55; 60; 65; 70; 75.

2.3.6. Penentuan Kurva Standar

Untuk penentuan kurva standar, diambil dari larutan standar dari bovine serum albumin yang telah dibuat dengan konsentrasi 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 0,1 mg/mL masing-masing 2 ml dimasukkan ke dalam tabung dan ditambahkan semua 2 ml aquadest, kemudian masing-masing ditambahkan pereaksi biuret 0,25 ml, dikocok rata dan dibiarkan selama 3 menit sehingga terbentuk warna ungu dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 550 nm.

2.3.7. Hidrolisis protein

Enzim isolat papain dan enzim papain pabrikan diambil dengan konsentrasi 1 %, 2 %, 4 %, 6 %, 8 %, 10 %, 12 %, dan 16 %. Disiapkan tabung untuk blanko, standar, sampel serum darah dan BSA 1 %, untuk blanko diisi aquadest 2 ml dan tabung lain disikan masing-masing 2 ml serum darah dan BSA. Ditambahkan enzim papain pabrikan dan enzim isolat papain 1 ml pada masing-masing tabung, kecuali tabung blanko dan standar. Diinkubasi pada 37 °C selama 10 menit, kemudian disentrifugasi 5000 rpm selama 2 menit. Diambil supernatannya, ditambahkan pereaksi biuret masing-masing sebanyak 250 µl, campur dengan baik dan diamkan selama 3 menit untuk melarutkan Cu₂O, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 550 nm.

3. Hasil

3.1 Isolasi papain

Dari hasil pengambilan getah buah pepaya jenis California yang berumur sekitar 2,5-3 bulan diperoleh cairan getah basah berwarna putih sebanyak 115 mL. Setelah getah dicampur dengan natrium bisulfit 0,7% diperoleh emulsi agak kental berwarna putih susu. Setelah pengeringan pada temperatur 55-60 °C selama 6 jam diperoleh papain kering sebanyak 56 g dengan ukuran 100 mesh. Papain kering ini berwarna putih dan berbau khas pepaya. Pada penelitian ini rendemen enzim papain sekitar 46,7 %, lebih besar jika dibandingkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Dianaty²¹, menunjukkan bahwa rendemen sebesar 36,75 % yang diperoleh melalui proses penggilingan dan ekstraksi dengan bantuan enzim. Rendemen ini akan meningkat menjadi 55 % jika dilanjutkan dengan metode pengendapan menggunakan saturasi ammonium sulfat. Hasil papain dari pepaya dilaporkan oleh Amri³, dimana sebanyak 8.17 g papain diperoleh per buah pepaya dan papain tertinggi diperoleh sebesar 686.29 g per pohon dalam periode 6 bulan. Welde⁹ mendapatkan konsentrasi papain hasil ekstraksi sebesar 0,003 mg/ml.

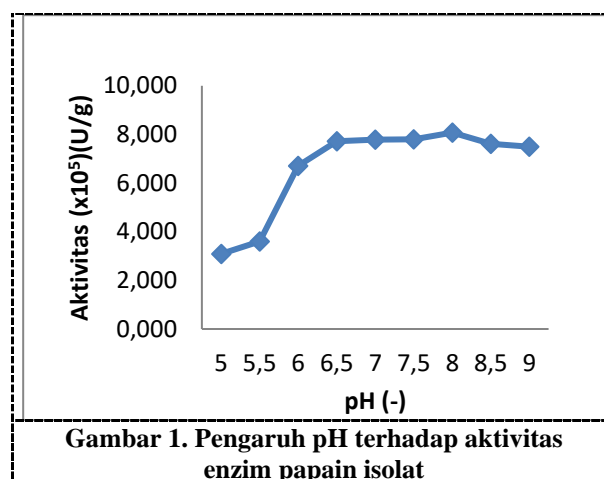
3.2 Hasil Aktivitas Enzim

Dari uji aktivitas yang diukur berdasarkan metode Walter¹⁵, pada papain isolat dan papain pabrikan, maka diperoleh nilai masing-masing sebesar $1,018 \times 10^5$ U/mL dan $0,826 \times 10^5$ U/mL. Dengan demikian aktivitas yang ditunjukkan oleh papain isolat lebih tinggi 23,2% dari pada aktivitas yang ditunjukkan oleh papain pabrikan. Hal ini dikarenakan papain isolat masih baru diperoleh dari tanaman papaya dibanding papain pabrikan yang telah lama diambil dan disimpan dimana proses denaturalisasi papain pabrikan telah terjadi. Makin tinggi aktivitas papain makin baik untuk hidrolisis protein.

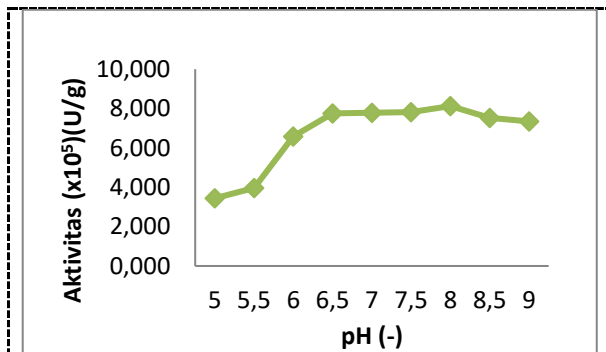
3.3 pH (derajat keasaman)

Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim papain isolat dan papain pabrikan dapat dilihat pada masing-masing Gambar 1 dan Gambar 2. Enzim merupakan protein yang tersusun atas residu-residu asam amino, dimana nilai pH sangat berpengaruh terhadap aktivitas enzim. Perubahan pH menyebabkan perubahan muatan pada residu-residu asam amino, terutama yang menyusun pusat aktif enzim. Dimana pengaruhnya terhadap konformasi enzim, daya katalitik dan efisiensi pengikatan enzim dengan substrat²². Dari kedua jenis papain yang diteliti, kenaikan pH akan menyebabkan aktivitas enzim dari papain isolat dan papain pabrikan akan meningkat tajam dari pH 5 sampai pH mencapai 6,5 yaitu dari aktivitas sebesar $3,09 \times 10^5$ U/mL menjadi $7,72 \times 10^5$ U/mL. Namun mulai pH 6,5 sampai pH 9, kenaikan aktivitas cenderung konstan. Aktivitas enzim papain tertinggi untuk papain isolat adalah pada pH 8,0 yaitu sebesar $8,076 \times 10^5$ U/mL. Demikian juga karakter yang mirip menggunakan

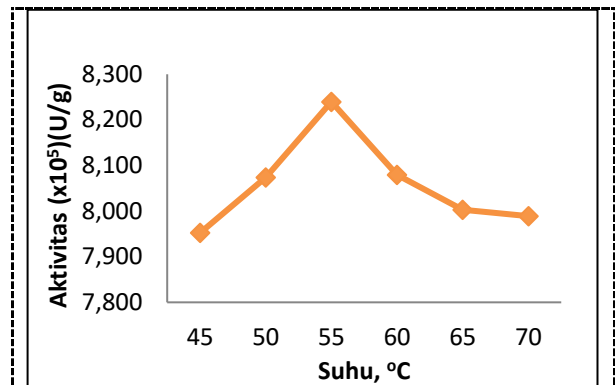
papain pabrikan. Aktivitas enzim dari papain pabrikan akan meningkat tajam dari pH 5 sampai pH mencapai 6,5 yaitu dari aktivitas sebesar $3,34 \times 10^5$ U/mL menjadi $7,75 \times 10^5$ U/mL. Aktivitas terbesar $8,125 \times 10^5$ U/mL juga pada pH 8. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa aktivitas dari kedua jenis papain tersebut adalah pada kondisi basa yaitu pada pH 8. Nilai aktivitas dari kedua jenis papain tersebut pada pH optimum 8, untuk papain isolat dan berbeda 0,6% dengan papain dari pabrikan. Dari uraian di atas dapat ditunjukkan bahwa perbedaan tersebut tidak signifikan. Kusumadjaja¹³, mendapatkan aktivitas enzim papain dari isolasi papaya burung varietas Jawa sebesar $0,02606 \times 10^5$ U/ml pada pH optimum sebesar 6, dimana enzim yang diperoleh berasal dari proses purifikasi berdasarkan metode presipitasi memakai aseton jenuh 30-50%. Pada suhu 50 °C diperoleh aktivitas sebesar $0,002469 \times 10^5$ U/ml. Dengan demikian papain yang diperoleh pada penelitian ini lebih baik dari apa yang diperoleh dari penelitian yang dilakukan oleh Kusumadjaja¹³.



Gambar 1. Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim papain isolat



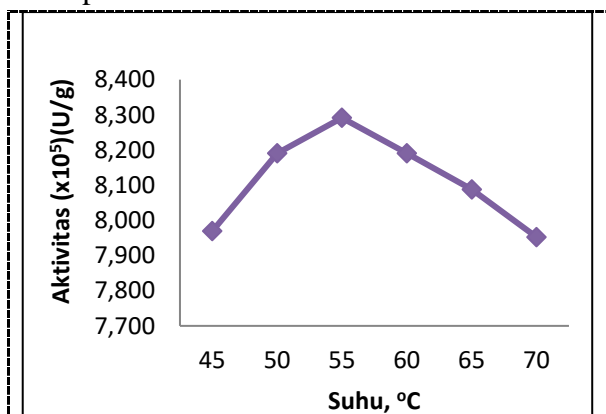
Gambar 2. Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim papain pabrikan



Gambar 4. Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim papain pabrikan

3.4 Suhu

Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim papain isolat dan papain pabrikan ditunjukkan oleh masing-masing Gambar 3 dan Gambar 4. Suhu optimum adalah suhu pada saat aktivitas enzim mencapai nilai tertinggi. Pada penelitian ini suhu optimum papain, dimana pH substrat dikondisikan ke pH 8,0 yang merupakan pH optimum. Pada grafik menunjukkan hasil uji aktivitas isolat papain dengan berbagai variasi suhu, dimana pada suhu 50 °C mulai terjadi kenaikan, dan pada suhu 55 °C mencapai suhu optimum, kemudian aktivitas enzim mulai turun perlahan.



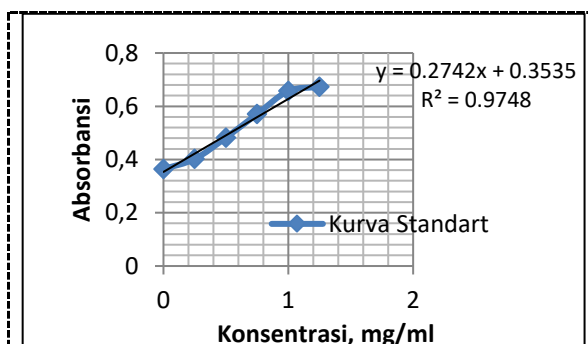
Gambar 3. Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim isolat papain

Reaksi enzimatik selalu dipengaruhi oleh suhu, dimana peningkatan suhu sampai suhu optimum akan meningkatkan laju reaksi atau aktivitas enzim. Tetapi peningkatan suhu di atas suhu optimum akan menurunkan laju reaksi enzimatik²³. Pemanasan di atas suhu 55 °C akan menyebabkan terjadi denaturasi atau perubahan destruktif, dimana ikatan-ikatan non kovalen yang mempertahankan struktur enzim akan terputus sehingga terjadi kerusakan dari molekul enzim¹⁸.

3.5 Penentuan Kurva Standar

Kurva standar merupakan kurva yang dibuat dari sederetan larutan standar yang masih dalam batas linieritas sehingga dapat diregresi-linierkan, yang biasa digunakan untuk menunjukkan besarnya konsentrasi larutan sampel dari hasil pengukuran sehingga konsentrasi sampel larutan bisa diperoleh. Hasil pengukuran kurva standar ditunjukkan pada Gambar 5 Berdasarkan kurva standar diperoleh persamaan $y = 0,274x + 0,3535$ dengan koefisien korelasi $R^2 = 0,9748$. Kurva standar adalah sebuah metode utama yang digunakan untuk menentukan konsentrasi suatu zat dalam

suatu sampel yang tidak diketahui dengan membandingkan yang tidak diketahui ke dalam seperangkat sampel standar dari konsentrasi yang telah diketahui.



Gambar 5. Pengaruh konsentrasi protein terhadap absorbansi

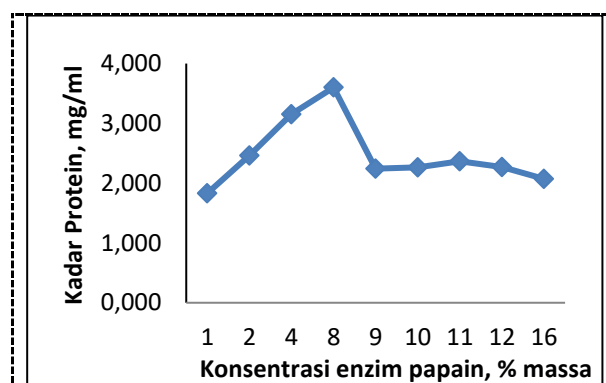
3.6 Hidrolisis Protein

Tabel 1 menunjukkan pengaruh konsentrasi papain isolat dan papain pabrikan mulai dari konsentrasi 1 % sampai 16 % volume terhadap konsentrasi BSA dan protein serum.

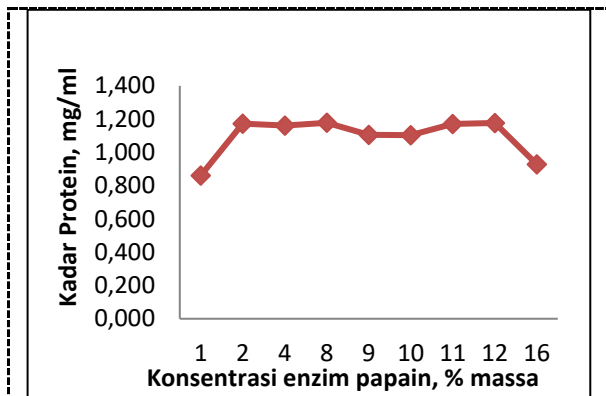
Tabel 1. Hasil kadar protein BSA dan serum dengan papain isolat dan papain pabrikan

Konsentrasi enzim papain %	Isolat papain mg/ml		Papain Pabrikan mg/ml	
	BSA	SERUM	BSA	SERUM
1	1,831	0,861	1,606	0,969
2	2,463	1,173	1,853	0,941
4	3,153	1,160	1,996	0,936
8	3,600	1,178	2,431	1,125
9	2,241	1,105	2,235	1,062
10	2,263	1,103	2,290	0,876
11	2,363	1,170	2,420	0,926
12	2,271	1,167	2,351	1,021
16	2,073	0,928	2,114	1,020

Pada Gambar 6 dan Gambar 7 menunjukkan pengaruh konsentrasi enzim papain isolat terhadap masing-masing kadar protein BSA dan protein serum. Pada setiap penambahan enzim papain isolat dan papain pabrikan, konsentrasi protein BSA dan protein serum meningkat sampai pada konsentrasi papain sampai 8 %, kemudian akan turun relatif kecil sampai pada konsentrasi papain mencapai 16 %. Konsentrasi tertinggi untuk BSA dan protein serum tercapai pada konsentrasi papain isolat 8 %. Pada konsentrasi papain isolat 8 % ini, diperoleh hasil tertinggi kadar protein sebesar 3,600 mg/ml untuk sampel BSA dan untuk protein serum sebesar 1,178 mg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi penguraian substrat protein yang terikat pada sampel BSA maupun serum berlangsung optimal. Selanjutnya terjadi penurunan yang cenderung konstan pada penambahan enzim isolat papain mulai 9 % sampai 16 %, karena konsentrasi enzim telah jenuh dengan substrat protein.



Gambar 6. Pengaruh konsentrasi enzim papain isolat terhadap kadar protein BSA

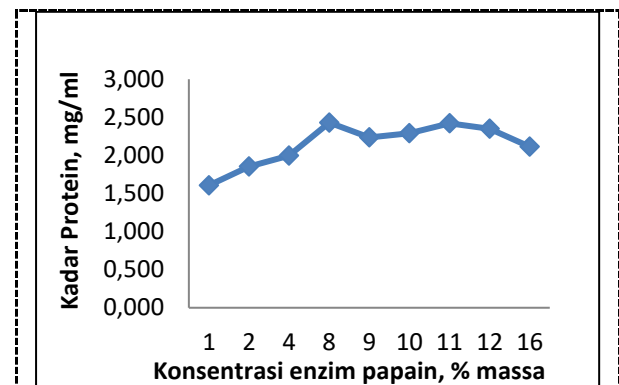


Gambar 7. Pengaruh konsentrasi enzim papain isolat terhadap kadar protein serum

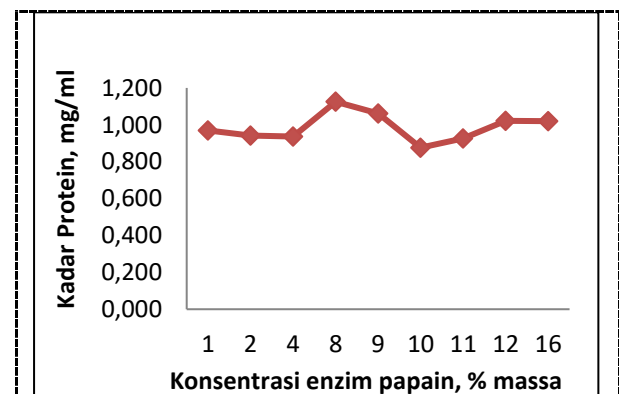
Pada Gambar 8 dan Gambar 9 menunjukkan pengaruh konsentrasi enzim papain pabrikan terhadap masing-masing kadar protein BSA dan protein serum. Pada konsentrasi papain pabrikan antara 1% sampai 16 %, diperoleh konsentrasi protein BSA antara 1,861 mg/ml sampai 2,431 mg/ml, sedangkan konsentrasi protein serum antara 0,876 mg/ml sampai 1,125 mg/ml. Pada konsentrasi papain pabrikan 8 %, diperoleh hasil tertinggi kadar protein BSA sebesar 2.431 mg/ml, sedangkan untuk protein serum terbesar 1.125 mg/ml juga diperoleh pada saat konsentrasi enzim papain sebesar 8%. Kondisi seperti ini disebabkan adanya penguraian substrat protein yang terikat pada sampel BSA maupun serum berlangsung optimal pada konsentrasi 8%. Selanjutnya akan terjadi penurunan yang cenderung konstan pada penambahan enzim isolat papain mulai 9 % sampai 16 %, karena konsentrasi enzim telah mencapai kondisi kesetimbangan dengan substrat protein.

Hasil penelitian yang telah diuraikan diatas sesuai dengan pendapat Yazid²⁴, bahwa pada konsentrasi substrat tertentu bertambahnya konsentrasi enzim akan meningkatkan reaksi enzimatik. Bahwa kecepatan reaksi enzimatik

berbanding lurus dengan konsentrasi enzim sampai batas tertentu, sehingga reaksi mengalami kesetimbangan, dan pada saat setimbang peningkatan konsentrasi enzim tidak berpengaruh lagi. Amri³, mengamati kemampuan enzim dari pepaya untuk memecah molekul organik yang terbuat dari asam amino (polipeptida). Enzim papain ini mampu menguraikan senyawa tersebut dalam proses biologis, kondisi psikologis dan patologis, rancangan obat, penggunaannya dalam industri sebagai *meat tenderizers*, sebagaimana papain isolat yang diteliti pada penelitian ini terhadap serum darah dan BSA.



Gambar 8. Pengaruh konsentrasi enzim papain pabrikan terhadap kadar protein BSA



Gambar 9. Pengaruh konsentrasi enzim papain pabrikan terhadap kadar protein serum

4. Kesimpulan

Aktivitas enzim papain terjadi pada pH optimum 8,0 dan suhu optimum pada 55 °C. Hasil hidrolisis yang memiliki kadar protein tertinggi terjadi pada saat konsentrasi enzim papain 8 %. Penggunaan papain isolat kadar protein tertinggi dicapai sebesar 3,600 mg/ml untuk sampel BSA dan untuk protein serum sebesar 1,178 mg/ml, sedangkan jika digunakan papain pabrikan diperoleh kadar protein tertinggi adalah 2.431 mg/ml untuk sampel BSA dan untuk protein serum sebesar 1.125 mg/ml.

Ucapan terima kasih.

Ucapan kasih kepada Universitas Sriwijaya melalui Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, atas bantuan dana penelitian skema Penelitian Tenaga Kependidikan tahun 2020 Dana DIPA Universitas Sriwijaya.

Daftar Pustaka

- Mulaw K M, Yilma T, & Almir Y. Extraction and Purification of Papain Enzyme from Papaya Leaf. Thesis Department of Chemical Engineering, Faculty of Chemical and Food Engineering, Bahir dar Institute of Technology, Ethiopia, 2018.
- Lambri M, Roda A, Dordoni R, Fumi MD, De Faveri DM, Mild Process for Dehydrated Food-grade Crude Papain Powder from Papaya Fresh Pulp: Lab-scale and Pilot Plant Experiments, Engineering Transactions, 38 : 7-12, 2014.
- Amri, E., & Mamboya, F. Papain, a plant enzyme of biological importance: A review, American Journal of Biochemistry and Biotechnology, 2012; 8 (2) : 99-104.
- Suirta I, Astitiasih IAR. Pembuatan Virgin Coconut Oil dengan Penambahan Enzim Papain dari Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya*), Jurnal Kimia (Journal Chemistry) 2020; 14 (2): 192-199.
- Rumokoy L, Pudjihastuti E, Untu IM, Toar W L. The Effects of Papain Crude Extract Addition in Diets on Broilers Production Performances, Animal Production. 2016; 18(1) : 30-35.
- Ratnaningrum, D., Kosasih, W. & Priatin, S. The Comparative Study of Papain Enzyme from Papaya Fruits California variant and Indonesian Local variant. Jurnal Kimia Terapan. Indonesia. 2017 ; 19 (2) : 42-48.
- Welde, Y. & Worku, A. Identification and extraction of papain enzyme from papaya leaf in adigrat town, northern Ethiopia, Journal of Medicinal Plants Studies, 2018; 6(3) :127-130.
- Tigist, M. Getnet, B, Beza, K, Endalamaw, M, Lulit, M, Tamirat, D, and Tinsae, M. Extraction and Purification of Papain Enzyme from Papaya Leaf and The Phytochemical Components of The Leaf. Biotechnology Society. 2016 ; 9 (8) : 176-184.
- Putri, R.A, Ali K, dan Asep S. Kajian penggunaan amonium sulfat pada pengengapan papain dari buah pepaya sebagai koagulan dalam produksi keju cottage. Jurnal sains dan Teknologi Kimia 2013; 4(2), 159-168
- Savitri. 2014 ; Makalah Hidrolisa Protein, vitrielst.blogspot.co.id.
- Muchtadi. D. 1992, Enzim dalam industri pangan, Bogor. PAU-IPB.
- Ilham, D. & Karnila, D. R. Characteristics of Hydrolysate Protein from Malong Fish (*Congresox talabon*)

- with Hydrolized by Using Papain Enzym. Berkala Perimakan Terubuk. 2019; 47 (2) : 186-193.
13. Kusumadjaja AP, Dewi RP, Penentuan Kondisi Optimum Enzim Papain dari Pepaya Burung Varietas Jawa, Indo.J.Chem, 2005, 5(2), 147-151.
 14. Winarno, 1995, Enzim Papain, Jakarta ; Gramedia.
 15. Agusti R, Pengaruh Penambahan Pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap Kualitas Abon Ayam (*Gallus gallus domestica*), Skripsi, Fakultas Tarbiyah dan Keguruan Universitas Islam Raden Intan, Lampung 1440 H / 2018
 16. Silaban R., Panggabean FTM., Rahmadani, Soripada TA. Studi Pemanfaatan Enzim papain Getah Buah Pepaya untuk Melunakkan Daging, Program Pascasarjana, Universitas Negeri Medan, 2012.
 17. Amalia R, Subandiyono, Arini E, Pengaruh Penggunaan Papain terhadap Tingkat Pemanfaatan Protein Pakan dan Pertumbuhan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*), Journal of Aquaculture Management and Technology, 2013, 2(1), 136-143.
 18. Pardede BE., Adhitiyawarman, Arreneuz S, Pemanfaatan Enzim Papain dari Getah Buah Pepaya (*Carica papaya L*) dalam Pembuatan Keju Cottage menggunakan Bakteri *Lactobacillus bulgaricus*, JKK, 2013, 2(3), 163-168.
 19. Yazid EA., Nuha BU. Kadar Protein Terlarut pada Ampas Kedelai dari Hasil Proses Pembuatan Ekstrak Kasar Papain (crude papain, 08(01), 2017, 45-52.
 20. Bergmeyer, H.V., Grassl. 1983. Method of Enzymatic Analysis Vol. 2. Florida: Weinheim Deefield.
 21. Dianaty, N., N. 2010. The Extraction of Papain from Papaya Leaves. Thesis of the degree of Bachelor of Chemical Engineering (Biotechnology) Faculty of Chemical & Natural Resources Engineering Universiti Malaysia Pahang.
 22. Wirahadikusumah, M. 1981, Biokimia Protein, Enzim dan Asam Nukleat, Terbitan ke-2, ITB, Bandung
 23. Sadikin. M, 2002 ; Biokimia Enzim, Penerbit Widya Medika.
 24. Yazid, E. (2015). Biokimia : Praktikum Analis Kesehatan, Jakarta : Buku Kedokteran EGC.

