

**UJI AKTIVITAS ENZIM PAPAIN PADA GETAH BUAH DAN TANGKAI  
TANAMAN PEPAYA (*Carica papaya* L.) TERHADAP SUBSTRAT KASEIN**

**SKRIPSI**

**OLEH :  
RADITYA WIRYAWAN  
066120005**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS PAKUAN  
BOGOR  
2024**

**UJI AKTIVITAS ENZIM PAPAIN PADA GETAH BUAH DAN TANGKAI  
TANAMAN PEPAYA (*Carica papaya* L.) TERHADAP SUBSTRAT KASEIN**

**SKRIPSI**

**Skripsi Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar  
Sarjana Farmasi (S.Farm) Pada Program Studi Farmasi Fakultas  
Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan**

**OLEH :  
RADITYA WIRYAWAN  
066120005**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS PAKUAN  
BOGOR  
2024**

## HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Uji Aktivitas Enzim Papain Pada Getah Buah Dan Tangkai Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Substrat Kasein  
Oleh : Raditya Wiryawan  
Npm : 066120005  
Program Studi : Farmasi

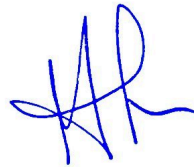
Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui  
Bogor, Oktober 2024

**Pembimbing Pendamping**



**Dra. Trirakhma Sofihidayati, M.Si.**

**Pembimbing Utama**



**Siti Mahyuni, S.Si., M.Sc.**

Mengetahui,

**Ketua Program Studi Farmasi**



**Apt. Dra. Ike Yulia Wiendarlina, M.Farm.**

**Dekan FMIPA UNPAK**



**Asep Denih, S.Kom., M.Sc., Ph.D.**

## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah karya tulis yang dikerjakan sendiri dan tidak pernah dipublikasikan atau digunakan untuk mendapatkan gelar sarjana diperguruan tinggi atau lembaga lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar, benarnya. Apabila dikemudian hari terdapat gugatan, penulis bersedia dikenakan sanksi sesuai peraturan yang berlaku.

Bogor, Oktober 2024



Raditya Wiryawan

**SURAT PERLIMPAHAN SKRIPSI, SUMBER INFORMASI, SURAT  
KEKAYAAN INTELEKTUAL KEPADA UNIVERSITAS PAKUAN**

---

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Raditya Wiryawan

NPM : 066120005

Judul Skripsi : Uji Aktivitas Enzim Papain Pada Getah Buah Dan Tangkai Tanaman  
Pepaya (*Carica Papaya L.*) Terhadap Substrat Kasein

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi diatas adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun.

Sumber informasi yang berasal atau yang dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka dibagian akhir Skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dan karya tulis saya kepada Universitas Pakuan.

Bogor, Oktober 2024



Raditya Wiryawan

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Puji Syukur saya ucapkan kehadirat Allah SWT. Atas segala nikmat dan karunia-Nya berupa kesehatan, kekuatan dan inspirasi kepada saya dalam proses penyelesaian skripsi ini. Shalawat serta salam selalu terlimpahkan pada Nabi Muhammad SAW. Skripsi ini saya persembahkan sebagai bukti semangat usaha saya serta cinta dan kasih sayang kepada orang-orang yang sangat berharga dalam hidup saya. Oleh karena itu, saya persembahkan skripsi ini untuk :

Endi, seseorang yang selalu saya bangga-banggakan ketika saya menyebutnya yaitu papah saya, beliau mengajarkan bagaimana caranya menjadi ayah yang baik dan selalu menjadi penokohan sebagai inspirasi saya nanti ketika di masa depan. Terima kasih telah membimbing dan mengajari saya bagaimana cara menjadi laki-laki yang bertanggung jawab dan selalu memberi kasih kepada keluarga serta membiayai saya dari kecil hingga dewasa ini sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini.

Tati, perempuan hebat dan mungkin lebih tangguh dari semua superhero yang ada di film yaitu mamah, saya persembahkan karya tulis ini untuk mamah karna tanpa beliau skripsi ini mungkin belum selesai karna motivasi saya menyelesaikan skripsi ini adalah ingin mamah bangga jika anaknya bisa menyelesaikan masa studi S1 ini tepat waktu. Terima kasih telah melahirkan, merawat serta membimbing saya selama ini dengan penuh cinta sehingga saya telah tumbuh menjadi dewasa ini dan berada di posisi ini. makasih banyak mah.

Adik kandung saya yaitu Tedi Daniswara yang selalu menemani saya ketika lelah dengan dunia luar dengan selalu bermain game bersama sehingga membuat saya merasa hidup. Terima kasih denis semoga kelak kita nanti bisa berhasil dan membanggakan kedua orang tua kita.

Pasangan saya yang selalu lucu dan bersinar yaitu Dinda Sabina Oktavia karena ia telah memberikan semangat kepada saya ketika saya mulai lelah dalam menyelesaikan skripsi ini dan memberikan arti bahwa warna itu tidak hanya tentang buku gambar dan pensil warnanya tetapi hidup pun memiliki warna serta selalu ada

ketika saya ada di masa-masa sulit dalam menyelesaikan studi ini, sehat selalu dinda!.

Gundala, terima kasih kepada Dani, Yanuar dan Jepang yang selalu kebersamai dan berjuang bersama-sama di kelas A yang dimana selama 4 tahun sangat berarti bersama kalian dalam masa suka maupun duka dalam masa studi ini, semoga kita dapat berjumpa di *chapter* kehidupan selanjutnya.

BF, terima kasih kepada Oji, Iki, Falaq, Ghifaris yang selalu menjadi teman saya dari SMA hingga masa kini. Dengan kalian saya mengerti bahwa saudara itu tidak perlu dengan satu keturunan karna kalian sudah saya anggap seperti saudara sendiri, semoga tali persaudaraan yang sangat berharga ini tidak pernah usai.

Himafar yang mengajarkan tentang bagaimana caranya menjadi lebih dewasa dalam bersikap, bersosialisasi dengan banyak orang dengan berbeda kepribadian serta membuat diri saya jauh lebih baik dibandingkan sebelumnya. Terima kasih kepada Fajar sebagai ketua himpunan yang telah menjadi partner saya selama 1 tahun dan selalu menjadi penokohon kepemimpinan yang gigih untuk saya.

Diri saya sendiri, saya sangat berterima kasih sudah mau berjuang menyelesaikan skripsi ini walaupun banyak hal sulit selama perjalanannya tapi anda sangat tangguh untuk menghadapinya sehingga masa studi serta karya tulis ini dapat diselesaikan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan dapat bermanfaat bagi banyak orang.

*Jangan takut gagal  
Karena yang tidak pernah gagal hanyalah orang-orang  
Yang tidak pernah melangkah*

(Boya Hamka)

## DAFTAR RIWAYAT HIDUP



**Raditya Wiryawan**, lahir di Bekasi pada tanggal 22 Juli 2002. Anak pertama dari pasangan Bapak **Endi** dan Ibu **Tati**. Penulis pertama kali menempuh pendidikan tepat pada umur 6 tahun di sekolah dasar MI Tarbiyatuh Falah dan lulus pada tahun 2014, sekolah menengah pertama di SMP Negeri 24 Bekasi dan lulus pada tahun 2017, dan sekolah menengah atas SMA Negeri 16 Bekasi lulus ada tahun 2019. Selanjutnya penulis melanjutkan jenjang pendidikan di program studi farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bogor (2020-2024).

Berkat petunjuk dan pertolongan Allah SWT, usaha dan disertai doa dari kedua orang tua dalam menjalani aktivitas akademik diperguruan Tinggi Universitas Pakuan Bogor, Alhamdulillah Penulis dapat menyelesaikan tugas akhir dengan skripsi yang berjudul **“Uji Aktivitas Enzim Papain Pada Getah Buah Dan Tangkai Tanaman Pepaya (*Carica Papaya L.*) Terhadap Substrat Kasein”**.



## KATA PENGANTAR

Puji syukur atas ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Uji Aktivitas Enzim Papain Pada Getah Buah Dan Tangkai Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Substrat Kasein”**. Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk melakukan penelitian dalam meraih gelar Sarjana Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan.

Skripsi ini dapat tersusun dengan baik berkat bimbingan, bantuan, serta dukungan dari berbagai pihak. Sehubungan dengan hal tersebut, penulis mengucapkan terimakasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada:

1. Siti Mahyuni M.Si. selaku Pembimbing Utama dan Dra Trirakhma Sofihidayati M. Si. selaku Pembimbing Pendamping
2. Dekan dan Ketua Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan
3. Seluruh staff dosen dan karyawan Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan

Penulis menyadari bahwa tulisan ini jauh dari kata sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan juga saran yang membangun dari pembaca sehingga dapat memberi manfaat untuk semua pihak.

Bogor, Oktober 2024

Penulis

## RINGKASAN

**Raditya Wiryawan. 066120005. 2024.** Uji Aktivitas Enzim Papain Pada Getah Buah Pepaya Dan Tangkai Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Substrat Kasein.

Dibawah Bimbingan. **Siti Mahyuni dan Trirakhma Sofihidayanti.**

---

Getah pepaya merupakan getah yang dihasilkan dari tanaman pepaya (*Carica papaya* L.). Getah ini mengandung suatu enzim pemecah protein atau enzim proteolitik yang disebut dengan enzim papain. Indonesia merupakan salah satu negara yang memanfaatkan enzim ini dalam industri, namun kebutuhan akan enzim ini masih dipenuhi dari impor 122,3 ribu ton pada tahun 2001. Enzim papain merupakan salah satu enzim proteolitik yang merupakan enzim dengan fungsi mengkatalisis reaksi hidrolisis protein menjadi monomernya yaitu asam amino dan dalam dunia medis enzim protease digunakan sebagai terapi untuk pengobatan pada iritasi dermal.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas enzim papain pada getah buah dan tangkai tanaman pepaya terhadap substrat kasein dengan mengukur nilai tirosin (asam amino) yang dihidrolisis pada kasein serta menentukan perbandingan aktivitas substrat kasein pada enzim papain. Ekstrak protease kasar didapatkan pada buah pepaya dengan metode penyadapan dan pada tangkai tanaman pepaya dengan metode kempa (*juicer*). Uji aktivitas protease dianalisis dengan metode Spektrofotometri UV-VIS dengan mengukur nilai absorbansi pada sampel. Hasil rata-rata kadar enzim papain pada getah buah dan tangkai tanaman pepaya diperoleh masing-masing sebesar  $1,1481 \pm 0,0145 \mu\text{mol}$  dan  $0,8609 \pm 0,0155 \mu\text{mol}$ , sedangkan nilai rata-rata aktivitas protease masing masing sebesar  $0,4209 \pm 0,0054 \text{ U/mL}$  dan  $0,3157 \pm 0,0055 \text{ U/mL}$ .

**Kata Kunci : Getah Buah dan Tangkai Pepaya, Enzim Papain, Aktivitas Protease, Spektrofotometri UV-VIS**

## SUMMARY

**Raditya Wiryawan. 066120005. 2024.** Papain Enzyme Test of Activity in Papaya Fruit Sap and Papaya Plant Stalk (*Carica papaya* L.) against Casein Substrate. Supervised by. **Siti Mahyuni and Trirakhma Sofihidayanti.**

---

Papaya sap is the produced from the papaya plant (*Carica papaya* L.). This sap contains a protein breakers enzyme or proteolytic enzyme called papain enzyme. Indonesia is one of the countries that utilize this enzyme in industry, but this enzyme is still imports 122.3 thousand tons in 2001. Papain enzyme is the one of proteolytic enzymes which is an enzyme with the function of catalyzing the reaction of protein hydrolysis into its monomers, namely amino acids and in the medical world protease enzymes are used as therapy for the treatment of tumors, inflammation, blood disorders and immune regulation.

This study aims to determine the activity of papain enzyme in papaya fruit sap and stalk against casein substrate by measuring the value of tyrosine (amino acid) hydrolyzed in casein and determining the ratio of casein substrate activity to papain enzyme. Crude protease extract was obtained from papaya fruit by tapping method and papaya plant stalk by juicer method. The protease activity test was analyzed by UV-VIS Spectrophotometry method by measuring the absorbance value of the sample. The average results of papain enzyme content in fruit sap and papaya plant stalk were obtained as  $1.1481 \pm 0.0145$   $\mu\text{mol}$  and  $0.8609 \pm 0.0155$   $\mu\text{mol}$ , respectively, while the average value of protease activity was  $0.4209 \pm 0.0054$  U/mL and  $0.3157 \pm 0.0055$  U/mL, respectively.

**Keywords: Papaya Fruit Sap and Stalk, Papain Enzyme, Protease Activity, UV-VIS Spectrophotometry**

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>i</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH</b> .....	<b>ii</b>
<b>SURAT PERLIMPAHAN SKRIPSI, SUMBER INFORMASI, SURAT KEKAYAAN INTELEKTUAL KEPADA UNIVERSITAS PAKUAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>DAFTAR RIWAYAT HIDUP</b> .....	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>vii</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>viii</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xiv</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	3
1.3 Hipotesis .....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
2.1 Tanaman Pepaya ( <i>Carica papaya</i> L.) .....	4
2.1.1 Deskripsi Tanaman .....	4
2.1.2 Kandungan dan Khasiat Getah Pepaya.....	5
2.2 Substrat Kasein .....	6
2.3 Ekstraksi Protease kasar dari Getah Pepaya .....	7
2.4 Uji Aktivitas Protease .....	7
2.5 Spektrofotometer UV-Vis .....	8
<b>BAB III BAHAN DAN METODE PENELITIAN</b> .....	<b>10</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	10

3.2 Alat dan Bahan Penelitian .....	10
3.2.1 Alat .....	10
3.2.2 Bahan .....	10
3.3 Tahap Persiapan Penelitian .....	10
3.3.1 Determinasi Tanaman .....	10
3.3.2 Pengambilan Sampel Getah .....	10
3.3.3 Pembuatan Larutan Buffer Fosfat .....	11
3.3.4 Pembuatan Ekstrak Protease Kasar .....	11
3.4 Uji Aktivitas Protease .....	12
3.4.1 Pembuatan Larutan Stok Tirosin 1,10 mM .....	12
3.4.2 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum ( $\lambda$ maks) .....	12
3.5.2 Pembuatan Kurva Standar Tirosin .....	12
3.5.3 Penentuan Aktivitas Ekstrak Protease Kasar .....	13
3.6 Analisis Data .....	16
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>17</b>
4.1 Determinasi Tanaman Pepaya ( <i>Carica papaya</i> L.) .....	17
4.2 Hasil Ekstrak Protease Kasar Tanaman Pepaya .....	17
4.3 Hasil Penetapan Kadar Tirosin .....	18
4.3.1 Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum .....	18
4.3.2 Penentuan Kurva Standar Tirosin .....	19
4.4 Hasil Uji Aktivitas Protease .....	19
4.5 Analisis Data .....	21
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>24</b>
5.1 Kesimpulan .....	24
5.2 Saran .....	24
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>23</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>26</b>

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
Gambar 1. Tanaman Pepaya.....	4
Gambar 2. Spektrofotometri UV-VIS .....	8
Gambar 3. Prinsip Kerja Spektrometer UV-Vis .....	9
Gambar 4. Analisis Data Menggunakan Metode Paired Samples Test .....	16
Gambar 5. Hasil Ekstrak Protease Kasar Getah Tanaman Pepaya.....	17
Gambar 6. Panjang Gelombang Maksimum .....	18
Gambar 7. Kurva Standar.....	19

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
Tabel 1. Tahap Dalam Pembuatan Kurva Standar Tirosin .....	13
Tabel 2. Tahap Penentuan Aktivitas Protease.....	15
Tabel 3. Hasil Absorbansi Menggunakan Spektrofotometri UV- VIS .....	20
Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Protease (U/mL) .....	21

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
Lampiran 1. Rancangan Penelitian.....	27
Lampiran 2. Determinasi Tanaman.....	28
Lampiran 3. Certificate Of Analysis.....	29
Lampiran 4. Perhitungan Bahan.....	31
Lampiran 5. Perhitungan Aktivitas Protease.....	33
Lampiran 6. Hasil Uji Statistik.....	37
Lampiran 7. Dokumentasi Kegiatan.....	38



# `BAB I PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Enzim merupakan katalisator pilihan yang diharapkan dapat mengurangi dampak pencemaran lingkungan dan pemborosan energi karena reaksinya tidak membutuhkan energi, bersifat spesifik dan tidak beracun. Enzim telah dimanfaatkan secara luas pada berbagai industri produk pertanian, kimia dan industri obat-obatan. Tiga sifat utama dari biokatalisator adalah menaikkan kecepatan reaksi, mempunyai kekhususan dalam reaksi dan produk serta kontrol kinetik (Akhdiya, 2003).

Enzim merupakan biokatalisator yang diproduksi oleh sel dan telah banyak dimanfaatkan dalam bidang industri. Enzim sebagai biokatalisator dapat mempercepat suatu reaksi tanpa ikut bereaksi. Pada industri yang menggunakan enzim, 59% enzim yang digunakan adalah protease, salah satunya adalah papain (Soda dan Agustini, 2013). Secara ekonomi, protease dari hewan harganya relatif lebih mahal, sedangkan protease dari mikroba belum sepenuhnya dapat menggantikan peran protease tumbuhan untuk tujuan tertentu (Witono, 2008). Protease merupakan enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis protein menjadi monomernya yaitu asam amino. Penjualan enzim ini mencapai 60% penjualan enzim dunia (Rao *et al.*, 1998). Negara Indonesia merupakan salah satu yang memanfaatkan enzim ini dalam industri, namun kebutuhan akan enzim ini masih dipenuhi dari impor 122,3 ribu ton pada tahun 2001 (Sutandi, 2003).

Enzim protease dalam dunia medis digunakan sebagai terapi untuk pengobatan tumor, radang, kelainan darah dan pengaturan kekebalan karena protein diperlukan untuk membawa kalsium yang terikat pada protein dalam darah, kekurangan protease dapat menyebabkan artritis, berkaitan dengan kekurangan kalsium. Kalsium dapat diubah menjadi glukosa, kekurangan protein yang dicerna tubuh akan menyebabkan dan mudah tersinggung. Protease juga mampu mencerna serpihan - serpihan yang tidak diinginkan dalam darah termasuk bakteri dan virus. Kekurangan protease pada manusia dapat menyebabkan lebih rentan terhadap

infeksi bakteri, virus dan jamur karena kekebalannya akan menurun (Soeka dkk., 2011).

Pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan tanaman yang berasal dari Amerika tropis. Buah pepaya tergolong buah yang populer dan digemari oleh hampir seluruh penduduk penghuni bumi ini. Batang, daun, dan buah pepaya muda mengandung getah berwarna putih. Getah ini mengandung suatu enzim pemecah protein atau enzim proteolitik yang disebut papain (Kalie, 1999). Tanaman pepaya hampir semua bagian tanaman dapat dimanfaatkan, mulai dari daun, batang, akar, maupun buah. Getah pepaya yang sering disebut sebagai papain dapat digunakan untuk berbagai macam keperluan, antara lain: penjernih bir, pengempuk daging, bahan baku industri penyamak kulit, serta digunakan dalam industri farmasi dan kosmetika (kecantikan) (Warisno, 2003). Getah pepaya merupakan salah satu sumber enzim papain (suatu jenis protease) yang telah dikenal dan banyak dimanfaatkan dalam berbagai industri seperti pelunakan daging, deterjen, industri makanan, industri fotografi, dan sebagai bahan aktif krim pembersih kulit (Rani *et al.*, 2012). Getah pepaya dapat menyebabkan rasa gatal bila bersentuhan dengan kulit. Reaksi gatal yang disebabkan getah tanaman tersebut, kemungkinan besar disebabkan oleh keberadaan enzim protease.

Enzim papain memiliki kemampuan untuk memecah molekul protein, membuatnya menjadi produk yang sangat bermanfaat bagi kehidupan manusia baik di rumah tangga maupun industri, seperti pada proses pengempukan daging, pembuatan konsentrat protein, pembuatan dadih, pelembut kulit pada industri penyamak kulit, penjernih pada industri bir, serta bahan obat dan kosmetik. Papain dapat kita peroleh dari getah pepaya, baik dalam buah, batang, dan daunnya. Menurut Indriani, Affandi, Sunarwati (2008) batang, daun dan buah pepaya muda mengandung getah berwarna putih. Di dalam getah pepaya terdapat lebih dari 50 asam amino antara lain asam aspartat, treonin, serin, asam glutamat, prolin, glisin, alanin, valine, isoleusin, leusin, tirosin, fenilalanin, histidin, lysin, arginin, tritophan, dan sistein. Selain itu getah juga mengandung suatu enzim pemecah protein atau enzim proteolitik yang disebut papain.

Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan pengujian aktivitas enzim protease pada getah bagian buah dan tangkai pada tanaman pepaya untuk mengidentifikasi apakah benar pada bagian buah dan tangkai tanaman pepaya mengandung enzim protease.

### **1.2 Tujuan Penelitian**

1. Menentukan kadar enzim papain pada getah buah dan tangkai tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap substrat kasein.
2. Menentukan nilai aktivitas substrat kasein pada enzim papain terhadap getah buah dan tangkai tanaman pepaya (*Carica papaya* L.)

### **1.3 Hipotesis**

1. Terdapat kadar enzim papain pada getah buah dan tangkai tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap substrat kasein.
2. Enzim papain pada salah satu bagian tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) memiliki nilai aktivitas protease yang lebih baik terhadap substrat kasein.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.)

##### 2.1.1 Deskripsi Tanaman

Pepaya (*Carica papaya* L.), salah satu buah introduksi yang telah lama dikenal berkembang luas di Indonesia, merupakan tanaman monodioecious (berumah tunggal sekaligus berumah dua) dengan famili *Caricaceae* dan genus *Carica*. Pepaya adalah jenis tanaman herba, batangnya berongga biasanya tidak bercabang dan tingginya dapat mencapai 10 meter. Daunnya merupakan daun tunggal dan berukuran besar, tangkai daun berukuran panjang dan berongga. Bunganya terdiri dari tiga jenis yaitu: bunga jantan, bunga betina dan bunga sempurna. Bentuk buah beragam dari yang bentuknya bulat sampai lonjong. Sentra produksi pepaya antara lain Jawa Timur, Jawa Barat, Jawa tengah, DI Yogyakarta, Sulawesi Selatan, Bali, NTB (Andry, 2014). Tanaman pepaya dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Tanaman Pepaya

Buah pepaya memiliki empat genus, antara lain yaitu *carica*, *jarilla*, *jacaranta* dan *cylicomoroph*. Ketiga genus pertama merupakan tanaman asli

Amerika tropis, sedangkan genus keempat merupakan tanaman yang berasal dari Afrika. Nama tanaman pepaya di dalam bahasa Indonesia di ambil dari bahasa Belanda yaitu papaja, dan kemudian mengadopsi dari bahasa arawak yaitu papaya, namun dalam bahasa jawa disebut pepaya atau kates. Pohon pepaya umumnya tidak bercabang tumbuh hingga 5-10 m dengan daun yang berbentuk spiral pada batang pohon bagian atas. Daunnya menyirip lima tangkai yang panjang dan berlubang di bagian tengah bentuknya dapat bercangap ataupun tidak. Pepaya adalah *monodiecius* (berumah tunggal sekaligus berumah dua) dengan tiga kelamin yaitu: tumbuhan jantan, tumbuhan betina, dan tumbuhan banci (*hermafrodit*). Bentuk buah pepaya bulat memanjang dengan ujung biasanya meruncing, Warna buah ketika muda hijau gelap dan setelah masak hijau muda hingga kuning (Bonaditya, 2014).

### **2.1.2 Kandungan dan Khasiat Getah Pepaya**

Pepaya banyak mengandung 2 materi biologi aktif, seperti papain dan chymopapain. Papain digunakan sebagai pengobatan yang topikal diantaranya yaitu sebagai krim muka dan debridemen luka karena papain memiliki kandungan dengan efek antiedema dan antiinflamasi. Carica papaya efektif untuk mencegah nekrotik, pengerasan permukaan luka, infeksi luka bakar, dan penebalan kulit. Chymopapain serta papain memiliki aktivitas sebagai antimikroba dan enzim proteolitik (Septianingsih, 2008).

Getah pepaya merupakan getah yang dihasilkan dari buah pepaya yang termasuk kedalam kelas Magnoliopsida, famili Caricaceae, genus *Carica* dan spesies *Carica papaya* L. Papain salah satu enzim yang paling banyak dihasilkan pada buah pepaya yang masih muda. Berdasarkan (Widiastuti dkk., 2015) kandungan getah pepaya (400 MCU/gram) jauh lebih banyak dibandingkan getah yang berasal dari batang dan daunnya (sekitar 200 MCU/gram). Getah pepaya memiliki kandungan papain yang tinggi mampu mempercepat fase inflamasi dan mengurangi infiltrasi dari monosit sehingga dapat mempercepat penyembuhan luka (Revilla, 2019). Getah pepaya memiliki fungsi sebagai pemecah protein yang disebut enzim papain yang dihasilkan dari getah pepaya muda yang digores permukaan kulitnya sehingga pepaya muda tersebut mengeluarkan getahnya untuk

ditampung kemudian di ekstrak menjadi bubuk. Getah pepaya memiliki kandungan enzim papain 10%, kimopapain 45% dan lisozim 20% (Darin & Anjisman, 2019). Keunggulan yang dimiliki oleh getah pepaya yakni, memiliki kandungan lebih dari 50 Asam Amino (Permata dkk., 2016).

Papain adalah suatu zat (enzim) yang dapat diperoleh dari getah tanaman pepaya dan buah pepaya muda. Getah pepaya tersebut terdapat hampir di semua bagian tanaman pepaya, kecuali bagian akar dan biji. Kandungan papain paling banyak terdapat dalam buah pepaya yang masih muda. Getah pepaya (papain) cukup banyak mengandung enzim yang bersifat proteolitik (pengurai protein) (Warisno, 2003). Enzim papain yang dikenal sebagai pengempuk daging, juga sangat dibutuhkan dalam industri pengolahan pangan dan industri kimia. Salah satu sumber enzim papain yang banyak digunakan adalah getah yang dihasilkan dari bagian tanaman papaya (Nani, 2007).

Enzim papain yang terdapat di dalam daun pepaya memiliki efek analgesik dan antiinflamasi dengan dua mekanisme yang berbeda. Cara yang pertama yaitu dengan cara menetralkan mediator inflamasi seperti prostaglandin dan kinin sehingga akan menghambat reseptor nyeri secara langsung. Pada saat prostaglandin tersebut dinetralkan, maka yang terjadi adalah spasme vaskular akan dihambat dan akan memberikan efek antipiretik. Hal ini yang akan menyebabkan aliran darah ke area kemudian diikuti dengan vasodilatasi akibat adanya antihistamin. Mekanisme enzim kedua yaitu dengan cara meningkatkan aktivitas dari kompleks imun dan protein plasma sehingga akan terjadi pengurangan edema yang akan menyebabkan pengurangan nyeri akibat dari tekanan cairan edema. Enzim papain bekerja membantu mempercepat kerja dari makrofag yaitu dengan cara meningkatkan produksi dari interleukin yang digunakan sebagai proses penyembuhan luka serta dapat menghambat terjadinya infeksi. (Paramansi N., 2013).

## **2.2 Substrat Kasein**

Kasein merupakan fosfoprotein paling dominan yang terdapat pada susu. Di dalam susu sekitar 80% dari proteinnya adalah kasein yang biasanya berupa garam dari kalsium. Protein tersebut merupakan senyawa amfoter yang dapat bereaksi

dengan asam maupun basa dan tidak dapat dikoagulasi oleh panas namun dapat diendapkan oleh asam dan enzim rennet, hal ini disebabkan karena molekulnya mempunyai muatan positif dan negatif. Titik isoelektrik pada protein tersebut ketika tercapai, muatan positif dan negatifnya adalah sama. Kasein dapat secara mudah mengendap pada titik isoelektriknya karena mengalami tahap yaitu dehidrasi (Winarno, 2007).

Kasein bersifat hidrofobik, memiliki muatan yang cukup tinggi yang banyak mengandung prolin dan beberapa residu sistin. Protein tersebut menunjukkan kecenderungan untuk berasosiasi dengan salah satu protein lain dan juga beberapa ligan, sesuai karakter hidrofobik dari misel dan kasein diketahui kaya akan protein prolin (Yuksel *et al.*, 2010).

### **2.3 Ekstraksi Protease kasar dari Getah Pepaya**

Ekstraksi bertujuan untuk memisahkan enzim dari sumbernya yaitu tanaman, hewan, maupun mikroba. Enzim memiliki kelebihan dari tanaman di antaranya adalah terjaganya ketersediaannya atau bisa dipanen berulang-ulang. Ekstraksi protease dari getah dapat dilakukan dengan cara menambahkan larutan buffer, yang bertujuan untuk menjaga pH lingkungan sehingga diharapkan mampu meminimalkan denaturasi dan inaktivasi enzim. Buffer dapat ditambah beberapa bahan kimia dengan tujuan untuk mencegah kerusakan enzim (Elfi, 2011). Bahan kimia yang bisa ditambahkan di antaranya EDTA, sistein serta NaOH untuk mencegah terjadinya reaksi oksidasi (Liggieri *et al.*, 2009). Protease secara komersial dapat diproduksi dari tumbuhan, hewan, dan mikroba. Enzim tersebut diisolasi dari tumbuhan memiliki keunggulan yaitu memiliki aktivitas dan stabilitas yang tinggi pada berbagai variasi pH, temperatur, inhibitor serta ion logam (Mehnoush *et al.*, 2011).

### **2.4 Uji Aktivitas Protease**

Aktivitas protease dapat ditentukan dengan melakukan uji kaseinolitik atau menguji aktivitas protease dengan memanfaatkan kasein sebagai substrat pada suhu, pH, dan lama waktu tertentu. Reaksi hidrolisis yang terjadi selanjutnya dapat dihentikan dengan menambahkan larutan TCA (asam trikloroasetat) sehingga

enzim dan sisa substrat menjadi terdenaturasi, kecuali produk hasil hidrolisis yang berupa sama amino (salah satunya yaitu tirosin). Tirosin yang larut dalam campuran reaksi tersebut selanjutnya dipisahkan dari enzim dan sisa substrat dengan cara disentrifugasi dan ditentukan serapannya dengan menggunakan metode Anson (Satwika, 2010).

## 2.5 Spektrofotometer UV-Vis

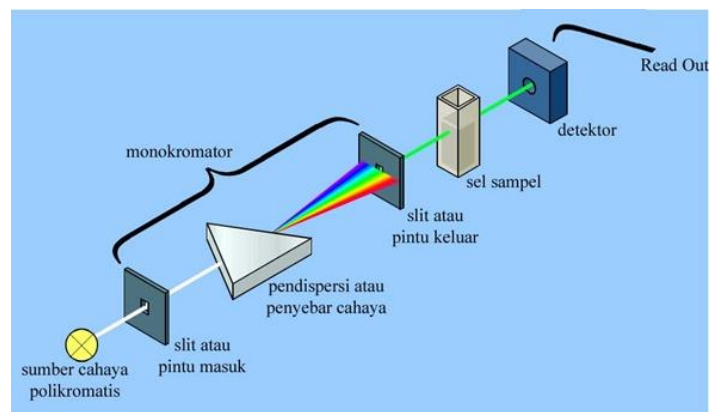
Spektrofotometer adalah alat yang digunakan untuk mengukur transmittan atau absorban suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang, tiap media akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu tergantung pada senyawa atau warna yang terbentuk (Cairns, 2009). Alat tersebut digunakan untuk mengukur absorbansi dengan cara melewatkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu pada suatu objek kaca atau kuarsa yang disebut kuvet. Cahaya tersebut sebagian akan di serap dan sisanya akan dilewatkan. Nilai absorbansi dari cahaya yang di serap sebanding dengan konsentrasi larutan di dalam kuvet (Sastrohamidjojo, 2007).



**Gambar 2.** Spektrofotometri UV-VIS

Spektrum elektromagnetik dibagi dalam beberapa daerah cahaya suatu daerah akan diabsorpsi oleh atom atau molekul dan panjang gelombang cahaya yang diabsorpsi dapat menunjukkan struktur senyawa yang diteliti. Spektrum elektromagnetik meliputi suatu daerah panjang gelombang yang luas dari sinar gamma gelombang pendek berenergi tinggi sampai pada panjang gelombang mikro (Marzuki Asnah, 2012).





**Gambar 3.** Prinsip Kerja Spektrometer UV-Vis (Mulja dan Suharman,1995)

Keuntungan utama metode spektrofotometri adalah bahwa metode ini memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil. Hasil yang diperoleh cukup akurat, dimana angka yang terbaca langsung dicatat oleh detektor dan tercetak dalam bentuk angka digital ataupun grafik yang sudah diregresikan (Yahya S, 2013).

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.

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

A = Absorbansi (serapan)

$\epsilon$  = absorbtivitas molar (L/mol cm)

b = lebar kuvet (cm)

c = konsentrasi larutan (mol/cm)

Berdasarkan hukum Lambert-Beer absorbansi akan berbanding lurus dengan konsentrasi, karena b atau l harganya 1 cm dapat diabaikan dan  $\epsilon$  merupakan suatu tetapan artinya konsentrasi makin tinggi maka absorbansi yang dihasilkan makin tinggi, begitupun sebaliknya konsentrasi makin rendah absorbansi yang dihasilkan makin rendah. Absorbansi yang diperoleh jika lebih besar dari 0,8 maka hubungan absorbansi dan konsentrasi larutan tidak lagi linear karena di luar rentang konsentrasi yang sesuai dengan Hukum Lambert-Beer. Rentang konsentrasi yang sesuai dengan hukum Lambert-Beer adalah antara 0,2-0,8 ( $0,2 \leq A \leq 0,8$ ). (Underwood, 1986).

## **BAB III**

### **BAHAN DAN METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April sampai dengan bulan Juni 2024 bertempat di Laboratorium Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan, Bogor.

#### **3.2 Alat dan Bahan Penelitian**

##### **3.2.1 Alat**

Alat –alat yang digunakan meliputi peralatan gelas, alat sentrifugasi, pH meter, vortex, lemari pendingin, termos es, botol vial, neraca analitik, pipet mikro, botol semprot, spatula, pisau stainless steel, inkubator, dan spektrofotometer UV-Vis.

##### **3.2.2 Bahan**

Bahan obyek penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah getah dari buah dan tangkai tanaman pepaya. Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini meliputi akuades, tirosin (Asam amino), kasein (Protein),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Kalium Dihidrogen fosfat) 0,2 M, NaOH (Natrium Hidroksida) 0,2 M,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (Natrium Karbonat) 0,5 M, TCA (Asam Trikloroasetat) 80%, dan reagen Folin-Ciocalteu.

#### **3.3 Tahap Persiapan Penelitian**

##### **3.3.1 Determinasi Tanaman**

Bahan baku buah dan tangkai tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) didapatkan dari daerah Bekasi Timur yang beralamat Jl. Benda Gg. Mtsn 02 No. 10 Jatiasih Kota Bekasi, 17425.

##### **3.3.2 Pengambilan Sampel Getah**

Ekstraksi protease kasar dari getah tanaman, diawali dari pengumpulan sampel getah atau yang sering disebut dengan proses penyadapan. Proses penyadapan getah tanaman harus disesuaikan dengan karakteristik tanaman yang akan disadap, hal ini disebabkan perbedaan jumlah getah yang diproduksi oleh

tanaman satu dengan yang lainnya. Getah buah pepaya diambil dengan cara melakukan penyadapan yaitu getah dilakukan pagi atau sore hari pada buah pepaya yang berumur 2,5–3 bulan. Banyaknya torehan yang dapat dibuat pada satu buah pepaya maksimum lima torehan dengan jarak 1–2 cm sehingga akan meneteskan getah buah dan segera tetesan ditampung dalam wadah (Cahyono 2013). Batang yang diambil adalah ujungnya yang masih muda. Pengambilan pada batang dilakukan dengan cara mematahkan bagian batang papaya yang masih muda. Batang ini dibersihkan terlebih dahulu kemudian dikempa dan dihancurkan untuk diambil getah juga sarinya yang berupa jus (*juice*), kemudian disaring. (Muhidin, 1999).

### **3.3.3 Pembuatan Larutan Buffer Fosfat**

Buffer fosfat dibuat dengan menimbang kalium dihidrogen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) sebanyak 3,4 gram, kemudian dimasukkan ke dalam Erlemenyer 125 ml dan dilarutkan dalam akuades sambil dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*. Larutan kalium dihidrogen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) diperoleh dengan konsentrasi 0,2 M. Larutan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,2 M dimasukkan dalam gelas ukur 500 ml dan dicek pH-nya dengan menggunakan alat pH meter, kemudian ditambahkan dengan NaOH 0,2 M yang dibuat dengan melarutkan 1gram NaOH dalam 125 ml akuades sebanyak 10 ml. Aquadest ditambahkan sampai 500 ml dan dititrasi dengan NaOH sampai diperoleh pH 7. (Rahayu, 2018).

### **3.3.4 Pembuatan Ekstrak Protease Kasar**

Ekstrak protease kasar didapatkan dari hasil pemisahan pada enzim papain dari getah buah dan tangkai tanaman pepaya. Ekstraksi dilakukan pada suhu 4°-6°C untuk meminimalkan efek denaturasi pada enzim (Ishartani dkk., 2011). Kondisi ini secara maksimal akan tercapai dengan cara mengusahakan semua proses pencampuran dan perlakuan pada tahap ekstraksi yang sedapat mungkin dilakukan dalam penangas es (*ice bath*).

Sebanyak 2 mL sampel getah tanaman dilarutkan dengan 8 mL buffer fosfat (pH 7,0). Campuran tersebut disentrifugasi pada kecepatan 7000 rpm selama 10 menit hingga terbentuk dua lapisan yaitu supernatan dan endapannya (residu).

Supernatan yang dihasilkan lalu dipisahkan dari endapannya yang sebagian besar mengandung getah dan komponen selain protein dengan cara supernatan (ekstrak protease kasar) yang telah dipisahkan dari endapan ini siap untuk digunakan sebagai sampel dalam uji aktivitas protease. Ekstrak protease kasar selanjutnya disimpan dalam suhu 4°C.

### **3.4 Uji Aktivitas Protease**

#### **3.4.1 Pembuatan Larutan Stok Tirosin 1,10 mM**

Larutan standar tirosin 1,10 mM dibuat dengan melarutkan 10 mg tirosin ke dalam 20 mL akuades, setelah itu campuran dihangatkan hingga tirosin larut dengan sempurna. Hasil tersebut selanjutnya dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 50 mL dan diencerkan hingga tanda batas dengan menggunakan akuades.

#### **3.4.2 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum ( $\lambda$ maks).**

Penetapan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara menggunakan larutan stok tirosin 1,10 mM dengan konsentrasi 27,5  $\mu$ M. Larutan stok tirosin 1,10 mM dimasukkan sebanyak 0,2 mL ke dalam botol vial dengan menggunakan pipet mikro dan untuk larutan blanko tidak dilakukan penambahan larutan stok tirosin 1,10 mM. Akuades sebanyak 1,8 mL dimasukkan ke dalam botol vial sampel dan blanko, selanjutnya sebanyak 5,0 mL larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,5 M dan 1 mL reagen Folin-Ciocalteu ditambahkan pada masing-masing botol vial yang telah berisi larutan tirosin dan blanko. Larutan tersebut masing-masing dihomogenkan lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit (Ratyani, 2014) dan kemudian pada larutan diukur absorbansinya pada rentang 500 – 900 nm menggunakan alat Spektrofotometri UV- VIS. Panjang gelombang yang menunjukkan nilai absorbansi tertinggi dinyatakan sebagai gelombang maksimum ( $\lambda$  maks).

#### **3.5.2 Pembuatan Kurva Standar Tirosin**

Kurva standar tirosin dibuat dengan menggunakan larutan stok tirosin 1,10 mM dengan variasi konsentrasi yaitu 6,875; 13,75; 27,5; dan 55,0  $\mu$ M. Larutan deret dibuat dengan cara dimasukkan masing-masing sebanyak 0,05; 0,1; 0,2 dan 0,4 mL ke dalam botol vial b, botol vial c, botol vial d dan botol vial e dengan menggunakan alat pipet mikro, sedangkan untuk larutan blanko (botol vial a) tidak dilakukan penambahan dengan menggunakan larutan stok tirosin 1,10 mM.

Sebanyak 2,0; 1,95; 1,9; 1,8; dan 1,6 mL akuades berturut-turut dimasukkan ke dalam botol vial a, botol vial b, botol vial c, botol vial d dan botol vial e. Reagen Folin-Ciocalteu, sebanyak 5,0 mL larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,5 M dan 1 mL ditambahkan pada masing-masing botol vial yang telah berisi larutan tirosin dan blanko. Larutan deret tersebut kemudian dihomogenkan lalu diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 30 menit (Ratyani, 2014). Setelah 30 menit waktu inkubasi, pada salah satu larutan standar tirosin diukur absorbansinya dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (685 nm).

Nilai absorbansi yang didapatkan digunakan untuk membuat kurva kalibrasi, yaitu dengan memplotkan nilai absorbansi terhadap konsentrasi tirosin. Tabel 1 menunjukkan tahap penambahan/perlakuan dalam pembuatan kurva standar tirosin

**Tabel 1.** Tahap Dalam Pembuatan Kurva Standar Tirosin

Penambahan/perlakuan	Blanko Standar	Standar 1	Standar 2	Standar 3	Standar 4
Botol Vial	A	B	C	D	E
Larutan stok tirosin (mL)	0,0	0,05	0,1	0,2	0,4
Akuades (mL)	2,0	1,95	1,9	1,8	1,6
$\text{Na}_2\text{CO}_3$ (mL)	5	5	5	5	5
Reagen Folin-Ciocalteu (mL)	1	1	1	1	1
Inkubasi pada $37^\circ\text{C}$	30	30	30	30	30
Konsentrasi tirosin yang diperoleh ( $\mu\text{M}$ )	0	6,875	13,75	27,5	55,0

### 3.5.3 Penentuan Aktivitas Ekstrak Protease Kasar

Metode penentuan aktivitas enzim diperoleh dari Anson (dalam Esmelrada, 2008) yang telah dimodifikasi. Dua buah tabung sentrifugasi disiapkan. Tabung 1 digunakan untuk penentuan aktivitas protease sampel (ekstrak protease kasar), sedangkan tabung 2 digunakan untuk larutan blanko.

Sebanyak 2,5 mL larutan kasein 0,65% (b/v) di pra-inkubasi pada suhu 37°C selama 4 menit dalam tabung 1. Ekstrak protease kasar sebanyak 0,5 mL setelah 4 menit ditambahkan ke dalam tabung 1, lalu campuran ini divortex dan inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Pada akhir inkubasi reaksi hidrolisis dihentikan dengan menambahkan 2,5 mL larutan TCA 80%, setelah itu campuran divortex dan di inkubasi selama 5 menit. Campuran selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 7000 rpm selama 10 menit hingga terbentuk dua lapisan yaitu endapan dan supernatan. Supernatan yang diperoleh dari tabung 1 ditentukan kadar tirosinnya secara kolorimetrik.

Blanko sebanyak 2,5 mL larutan kasein 0,65% (b/v) dimasukkan ke dalam tabung 2 dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Setelah 30 menit, 2,5 mL larutan TCA 80% ditambahkan ke dalam tabung 2 dan divortex. Ke dalam campuran tersebut ditambahkan 0,5 mL ekstrak protease kasar dan di inkubasi selama 5 menit. Campuran selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 7000 rpm selama 10 menit hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan supernatan yang diperoleh selanjutnya ditentukan kadar tirosinnya secara kolorimetrik. Larutan blanko ini berfungsi sebagai pengkoreksi kemungkinan adanya tirosin bebas yang bukan merupakan hasil hidrolisis protein selama waktu inkubasi 30 menit dan senyawa lain yang menyerap pada panjang gelombang berdekatan dengan panjang gelombang maksimum ( $\lambda$  maks).

Penentuan kadar tirosin secara kolorimetrik dilakukan dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu. Masing-masing sebanyak 1,0 mL supernatan yang didapatkan dari tabung 1 dan tabung 2 ditempatkan dalam tabung baru yang berbeda. Setelah itu, ke dalam masing-masing tabung ditambahkan 2,5 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,5 M lalu divortex serta di inkubasi selama 10 menit. Selanjutnya campuran ditambahkan 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu lalu campuran dibiarkan selama 30 menit. Setelah 30 menit, larutan dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum ( $\lambda$  maks) 685 nm. Data absorbansi diplotkan pada kurva standar tirosin untuk mengetahui konsentrasi tirosin hasil hidrolisis yang terdapat pada tabung 1 dan tabung 2. Konsentrasi tirosin dalam sampel yang telah didapatkan selanjutnya digunakan untuk menentukan

kadar tirosin ( $\mu\text{mol}$ ). Tabel 2 menunjukkan tahap penambahan/perlakuan dalam penentuan aktivitas protease.

**Tabel 2.** Tahap Penentuan Aktivitas Protease Panjang gelombang 685 nm.

Penambahan/perlakuan	Tabung 2 (Blanko)	Tabung 1 (Sampel)
Kasein 0,65% (b/v) (telah dipra-inkubasi)	2,5 mL	2,5 mL
Ekstrak protease kasar	-	0,5 mL
Akuades	0,5 mL	-
Diinkubasi pada suhu 37°C	30 menit	30 menit
TCA 80%	2,5 mL <sup>a</sup>	2,5 mL <sup>b</sup>
Di inkubasi	5 menit	5 menit
Disentrifugasi 7000 rpm	10 menit	10 menit
Supernatan yang akan ditentukan kadar tirosinnya	1,0 mL	1,0 mL
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 0,5 M	2,5 mL	2,5 mL
Reagen Folin-Ciocalteu	0,5 mL	0,5 mL

Keterangan : a menunjukkan larutan tersebut dimasukkan sebelum penambahan ekstrak protease kasar, sedangkan b menunjukkan larutan tersebut dimasukkan sesudah penambahan ekstrak protease kasar

Aktivitas protease (U/mL) dinyatakan dalam unit aktivitas, yaitu satu unit (U) dinyatakan sebagai jumlah enzim yang dapat menghidrolisis substrat (kasein) dan menghasilkan warna setara dengan 1  $\mu\text{mol}$  produk tirosin (181  $\mu\text{g}$ ) setiap menit waktu inkubasi pada kondisi percobaan tersebut.

$$1U = \frac{ti}{t}$$

Keterangan :

ti = tirosin hasil hidrolisis ( $\mu\text{mol}$ )

t = Waktu Inkubasi (30 menit)

Aktivitas protease (U/mL) ditentukan dengan menggunakan rumus yaitu:

$$\text{Aktivitas Protease (U/mL)} = \frac{U \times V_1}{V_2 \times V_3}$$

Keterangan :

V<sub>1</sub> = total volume yang digunakan dalam uji aktivitas protease sampel (meliputi volume kasein 1%, ekstrak protease kasar dan TCA) (5,5 mL)

V<sub>2</sub> = volume sampel ekstrak protease kasar yang digunakan (0,5 mL)

V<sub>3</sub> = volume supernatan yang digunakan dalam penentuan kadar tirosin secara kolorimetrik (1 mL)

### 3.6 Analisis Data

Data dari hasil penelitian dianalisis menggunakan program statistik komputer IBM SPSS Statistics 24. Data dari nilai kadar aktivitas enzim protease kemudian dianalisis menggunakan metode T Parsial untuk mengetahui adanya pengaruh pada antara perbedaan bagian tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap aktivitas enzim protease. hasil perhitungan T parsial didapat T hitung > T tabel ( $P < 0,005$ ) maka  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak. Data yang telah dianalisa disajikan dalam bentuk tabel dan grafik yang disertai dengan interpretasi, seperti contoh pada gambar 4.

Paired Samples Test									
		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	Sampel - Hasil	1.000000	.8660254	.2886751	.3343139	1.6656861	3.464	8	.009

**Gambar 4.** Analisis Data Menggunakan Metode Paired Samples Test



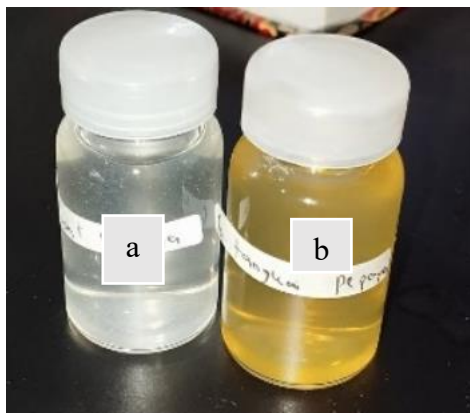
## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Determinasi Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.)

Determinasi tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) yang digunakan dalam penelitian yang dilakukan di Badan Riset dan Inovasi (BRIN) Jl.Raya Bogor No.970, Nanggewer Mekar, Kec.Cibinong, Kabupaten Bogor Jawa Barat, Indonesia. Hasil determinasi ini menunjukkan bahwa tanaman pepaya yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari suku *Caricaceae*. Determinasi tanaman bertujuan untuk mengidentifikasi kebenaran pada jenis, spesies, dan famili tanaman tersebut. Hasil determinasi tanaman pepaya dapat dilihat pada lampiran 2.

### 4.2 Hasil Ekstrak Protease Kasar Tanaman Pepaya

Hasil ekstraksi protease kasar didapatkan dari getah yang dihasilkan tanaman pepaya diawali dari pengumpulan sampel getah atau yang sering disebut dengan proses penyadapan pada bagian buah dan pada tangkai tanaman pepaya dilakukan metode jus (*juicer*) untuk mendapatkan kandungan getah pepaya. Hasil ekstrak protease kasar masing masing sampel didapatkan 10 mL yang selanjutnya disimpan dalam lemari es untuk meminimalkan denaturasi enzim. Faktor yang berpengaruh terhadap aktivitas protease saah satunya adalah suhu. Hasil ekstrak protease getah buah dan tangkai pepaya ditunjukkan oleh gambar 5.



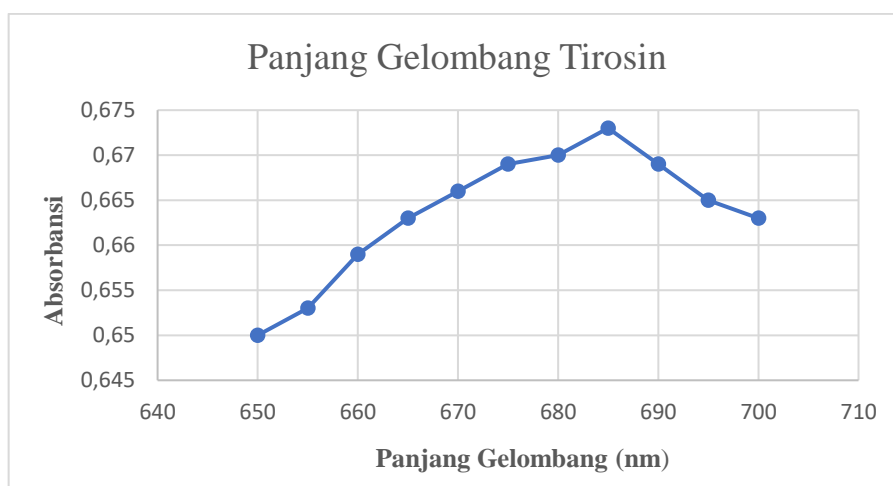
**Gambar 5.** Hasil Ekstrak Protease Kasar Getah Buah (a) dan Tangkai Tanaman Pepaya (b)

Menurut Yusriah dan Nengah (2013) adanya peningkatan suhu akan meningkatkan energi kinetik, sehingga menambah intensitas tumbukan antara substrat dan enzim, tetapi peningkatan suhu lebih lanjut pada enzim akan menurunkan aktivitas pada enzim karena disebabkan karena enzim yang dipanaskan akan mengalami denaturasi enzim. Enzim mengalami perubahan konformasi pada suhu yang terlalu tinggi, sehingga substrat terhambat dalam memasuki sisi aktif enzim.

### 4.3 Hasil Penetapan Kadar Tirosin

#### 4.3.1 Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum

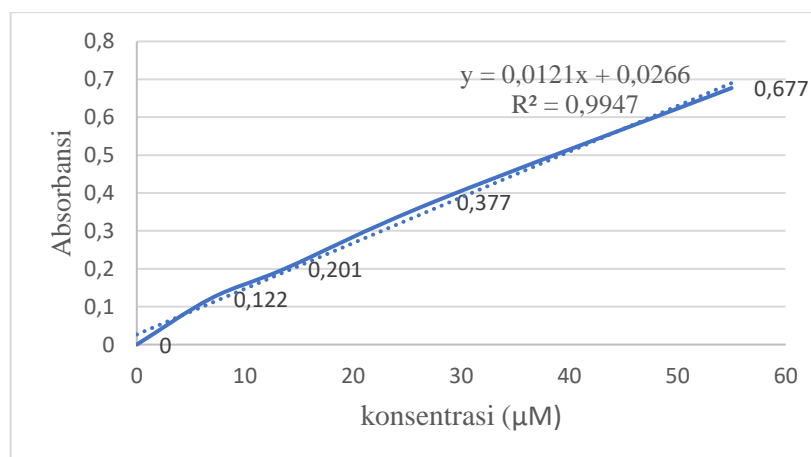
Penentuan Panjang gelombang maksimum ini bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang maksimum yang digunakan pada saat analisis untuk mendapatkan serapan yang maksimum digunakan blanko untuk kalibrasi sebagai larutan pembanding dalam analisis, larutan yang akan digunakan untuk membuat titik nol konsentrasi dari grafik kalibrasi. Pada pengukuran Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan mengukur absorbansi larutan standar tirosin  $27,5 \mu\text{M}$  dari panjang gelombang 500 nm hingga 900 nm, panjang gelombang yang memberikan absorbansi tertinggi digunakan sebagai panjang gelombang maksimum. Panjang gelombang maksimum ( $\lambda$  maks) tirosin yang didapatkan yaitu 685 nm dengan absorbansi 0,673. Hasil panjang gelombang yang didapatkan dapat dilihat pada Gambar 6.



**Gambar 6.** Panjang Gelombang Maksimum

### 4.3.2 Penentuan Kurva Standar Tirosin

Penentuan kurva standar tirosin dilakukan pada deret larutan stok tirosin 1,10 mM dengan variasi konsentrasi yaitu 6,875; 13,75; 27,5; dan 55,0  $\mu\text{M}$  dengan menggunakan panjang gelombang 685 nm, setiap kenaikan konsentrasi maka nilai absorbansi semakin tinggi. Kurva standar tirosin dikatakan linear bila nilai  $R^2$  (Koefisien korelasi) nilainya mendekati 1. Penentuan pada kurva standar ini bertujuan untuk menentukan apakah sampel buah dan batang tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) mengandung senyawa asam amino dengan dibandingkan dengan larutan standar tirosin yang diuji yaitu tirosin bisa dikatakan memiliki kandungan asam amino bila absorbansi yang dihasilkan dari sampel masuk rentang deret standar tirosin. Hasil penelitian kurva deret standar tirosin didapat nilai  $R^2$  yaitu 0,9947 hasil deret standar bisa dilihat dari hasil grafik, nilai  $R^2$  yang diperoleh mendekati angka 1 menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut linear sehingga dapat dikatakan bahwa absorbansi dan konsentrasi memiliki korelasi yang sangat kuat.



**Gambar 7.** Kurva Standar

### 4.4 Hasil Uji Aktivitas Protease

Uji aktivitas protease ini bertujuan untuk menentukan aktivitas protease enzim protease dalam menghidrolisis protein yaitu kasein dan menghasilkan asam amino. Tirosin merupakan salah satu asam amino yang digunakan untuk mengukur aktivitas protease. Semakin besar tirosin dihasilkan dari reaksi pemecahan protein

tersebut maka dapat dikatakan bahwa protease tersebut memiliki aktivitas yang tinggi (Yusriah dan Kuswytasari, 2013). Tirosin yang terbentuk oleh pemisahan dengan enzim protease dan substrat kasein dengan melakukan metode sentrifugasi, setelah itu supernatan yang dihasilkan dapat ditentukan konsentrasinya ( $\mu\text{M}$ ) tirosin menggunakan spektrofotometri UV- VIS dengan panjang gelombang 685 nm dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu dalam kondisi basa. Nilai absorbansi yang didapatkan lalu dikolerasikan terhadap kurva standar tirosin. Nilai absorbansi pada blanko serta getah pada buah dan tangkai tanaman pepaya dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil Absorbansi Menggunakan Spektrofotometri UV- VIS

Sampel	Pengulangan	Absorbansi	Rata- Rata Abs (X) $\pm$ SD
Blanko	Simplo	0.138	0,126 $\pm$ 0,0115
	Duplo	0.127	
	Triplo	0.115	
Getah Buah Pepaya	Simplo	0.689	0,682 $\pm$ 0,007
	Duplo	0.675	
	Triplo	0.681	
Getah Tangkai Pepaya	Simplo	0.543	0,543 $\pm$ 0,0075
	Duplo	0.535	
	Triplo	0.550	

Nilai absorbansi didapatkan pada blanko sebesar 0,126  $\pm$  0,0115, getah buah pepaya 0,682  $\pm$  0,007 dan pada getah tangkai pepaya 0,543  $\pm$  0,0075. Nilai absorbansi yang didapatkan pada sampel lalu dikolerasikan terhadap kurva standar tirosin. Banyaknya molekul tirosin ( $\mu\text{mol}$ ) selanjutnya dihitung dengan mengkonversikan konsentrasi tirosin hasil hidrolisis ( $\mu\text{M}$ ). Pada penelitian ini kondisi basa dicapai dengan penambahan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,5 M. Hasil pengujian aktivitas ekstrak protease kasar getah buah dan tangkai tanaman pepaya ditunjukkan pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil Uji Aktivitas Protease (U/mL)

<b>Sampel</b>	<b>Rata-rata kadar <math>\pm</math> SD (<math>\mu\text{mol}</math>)</b>	<b>Rata – Rata Aktivitas Protease) <math>\pm</math> SD (U/mL)</b>
Getah Buah pepaya	1,1481 $\pm$ 0,0145	0,4209 $\pm$ 0,0054
Getah Tangkai Pepaya	0,8609 $\pm$ 0,0155	0,3157 $\pm$ 0,0055

Hasil rata – rata aktivitas protease pada getah buah dan tangkai tanaman pepaya masing masing sebesar 0,4209  $\pm$  0,0054 U/mL dan 0,3157  $\pm$  0,0055 U/mL. Berdasarkan data tersebut, aktivitas protease pada getah buah pepaya memiliki nilai lebih tinggi dari getah tangkai pepaya.

#### **4.5 Analisis Data**

Berdasarkan analisis data yang telah dilakukan, bagian tanaman pepaya dan aktivitas protease hasil uji T parsial didapatkan hasil sig 0,000, Hasil ini lebih kecil dari  $\alpha = 0,05$ , maka keputusan yang diambil yaitu tolak  $H_0$  dan terima  $H_1$  artinya terdapat pengaruh pada salah satu bagian tanaman pepaya terhadap aktivitas protease. Hasil analisis SPSS dapat dilihat pada Lampiran 4.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Kadar enzim papain yang didapatkan pada bagian buah dan tangkai tanaman pepaya masing – masing sebesar  $1,148 \pm 0,0145 \mu\text{mol}$  dan  $0,8609 \pm 0,0155 \mu\text{mol}$ .
2. Getah buah pepaya memiliki nilai aktivitas protease yang lebih besar dibandingkan dengan getah pada tangkai pepaya dengan nilai aktivitas protease pada bagian buah  $0,4209 \pm 0,0054 \text{ U/mL}$  dan tangkai yaitu  $0,3157 \pm 0,0055 \text{ U/mL}$ .

#### **5.2 Saran**

Perlu penelitian lebih lanjut dengan menguji variabel pada variasi pengaruh PH dan suhu inkubasi terhadap aktivitas protease pada getah buah dan tangkai pepaya.

## DAFTAR PUSTAKA

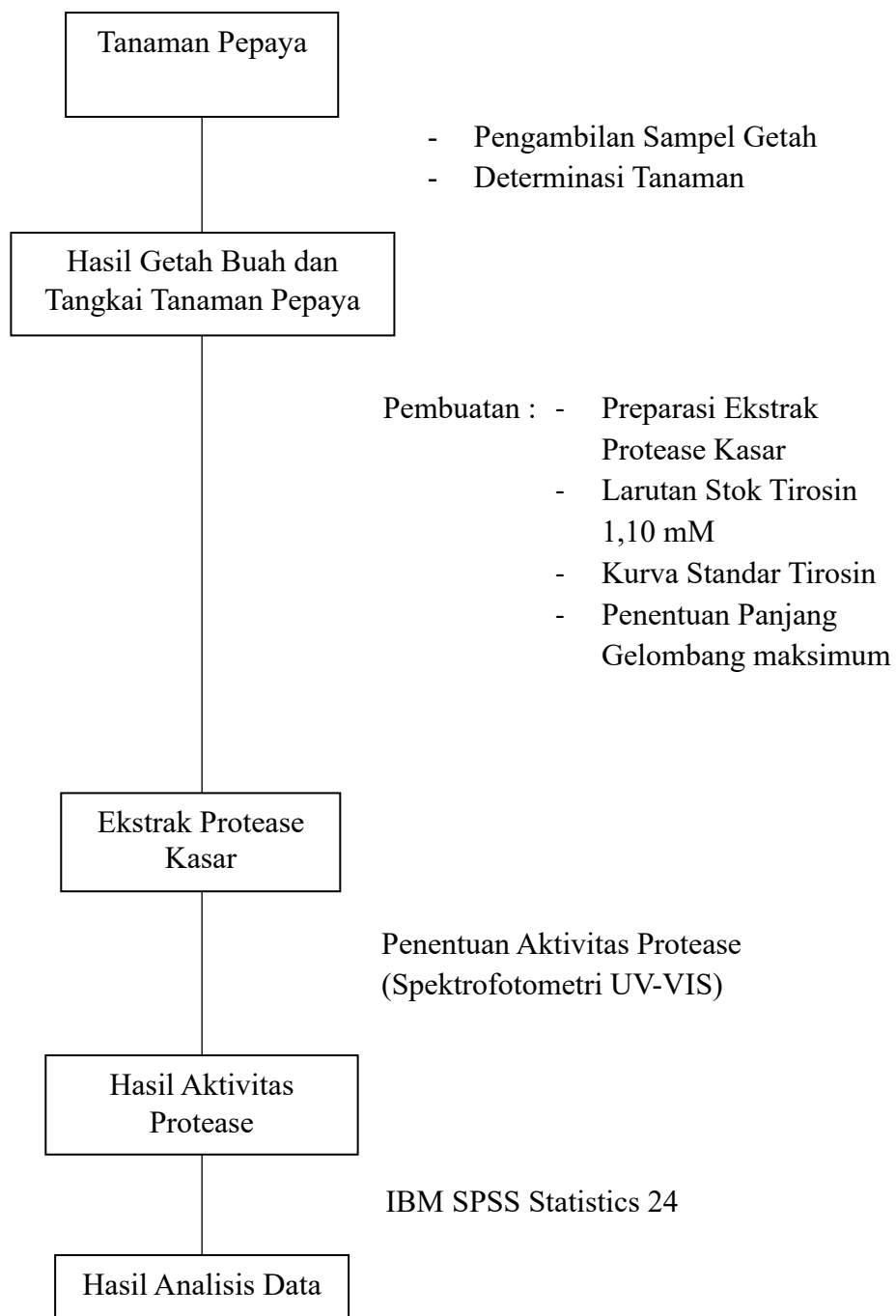
- Akhdiya, A. 2003. Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease Alkalin Termotabil. *Jurnal Buletin Plasma Nutfah* Vol.9 No.2.
- Mehrnoush, A. 2011. Optimization of the Conditions for Extraction of Serine Protease from Kesinai Plant (*Streblus asper*) Leaves Using Response Surface Methodology. *Molecules*. ISSN 1420-3049.
- Andry. 2014. Strategi pengembangan usaha tani pepaya california. Skripsi Mahasiswa Fakultas Ekonomi dan Manajemen. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Bonaditya. 2014. *Pepaya carica*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- C. Liggieri, W.D. Obrego'n, S.A. Trejo, N. Priolo, 2009. Biochemical analysis of a papain-like protease isolated from the latex of *Asclepias curassavica* L. *Acta Biochim, Biophys. Sin.* 41(2) 154–162.
- Cahyono, Bambang. 2013. *Kiat Sukses Bisnis Getah Pepaya*. Jakarta: Pustakamina.
- Chrysty, Meilty Ishak. 2012. *Pengaruh Proses Pengeringan dan Imobilisasi Terhadap Aktivitas dan Kestabilan Enzim Bromelain dari Buah Nenas (Ananas comosus (L) Merr)*. Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin Makassar. Makassar.
- Cairns, D. 2009. *Essentials of Pharmaceutical Chemistry Second Edition (Intisari Kimia Farmasi Edisi Kedua)*. Penerjemah: Puspita Rini. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Darin, R., & Anjisman. 2019. Uji Efektifitas Salep Getah Pepaya Muda (*Carica papaya* L) Terhadap Penyembuhan Luka Sayat pada Mécit (*Mus musculus*) Dan Implementasinya Sebagai Bahan Media Edukasi Masyarakat. *Pedago Biologi*, 7(1), 10–22.
- Elfi. 2011. *Pemurnian Protease dari Daun Mengkudu (Morinda citrifolia L.)*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Esmelrada, W. 2008. Optimasi Kultur pada Proses Fermentasi Kecap. Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Ishartani, D., Andarwulan, N. & Syah, D. 2011. *Pemurnian Protease dari Buah dan Daun Mengkudu (Morinda citrifolia L.)*. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Kalie, M.B. 1999. *Bertanam Pepaya*. Jakarta: PT Penebar Swadaya.
- Lavinka, P.C., and Dong, X. 2013. Molecular signaling and targets from itch: Lessons for cough. *BioMed Central*, 1-13.
- Marzuki, Asnah. 2012. *Kimia Analisis Farmasi*. Makassar: Dua Satu Press.

- Muhidin, D. 1999. *Papain dan Pektin*. Jakarta: Penebar swadaya.
- Mulja, M., Suharman. 1995. *Analisis Instrumenta*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Nani. 2007. *Potensi pasar Papain dan Hasil Penelitian Tanaman Obat di berbagai Institut III*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Panjaitan, T.F.C. 2016. Optimasi Ekstraksi Gelatin Dari Tulang Ikan Tuna (*Thunnus albacares*). *Jurnal Wiyata*, 3(1):11-16.
- Parampasi, N., Soemarno, T. 2013. Pengaruh pemberian ekstrak daun pepaya dalam etanol 70% pada proses penyembuhan luka insisi. *Majalah Patologi*. 22(1):31-6.
- Permata, D. A., Ikhwan, H., Aisman. 2016. Aktivitas Proteolitik Papain Kasar Getah. Buah Pepaya dengan Berbagai Metode Pengeringan, *Jurnal Teknologi Pertanian Andalas* 20(2): 1-3. ISSN 1410 -1920.
- Rahayu, S.E., 2018. Pengaruh Bahan Pembawa Dan Suhu Penyimpanan Bakteriofage Virulen Terhadap Aktivitas Bakteri *Ralstonia solanacearum* Penyebab Penyakit Layu Bakteri Pada Tanaman *Eucalyptus sp.* Skripsi Fakultas Pertanian dan Peternakan. Universitas Islam Negri Suska Riau.
- Rani, K., Rana, R., and Datt, S. 2012. Review on Latest Overview of Protease, *International Journal Of Current Life Sciences*, Vol 2, 12-18.
- Rao, M.B., Tanksale A.M., Ghate, M.S., Deshpande, V.V., 1998, Molecular and Biotechnological Aspects of Microbial Proteases, *Microbiology and Molecular Biology Rev, Sci Am.* 62: 597-635.
- Ratyani, K. 2014. Skrining Aktivitas Protease Pada Getah Tanaman (Labu Siam, Lidah Buaya Dan Talas) Serta Perbandingannya Terhadap Getah Pepaya. Skripsi Jurusan Kimia Fakultas Mipa. Bali: Universitas Udayana.
- Revilla, G. 2019. Efektivitas Pemberian Papain Getah Pepaya Terhadap Kadar Faktor Pertumbuhan Transforming Growth Factor-B (Tgf-B) pada Proses Penyembuhan Luka Bakar Tikus Percobaan. *Jurnal Kesehatan Andalas.* 8 (2): 285-289.
- Sastrohamidjojo, H. 2007. *Spektroskopi*. Yogyakarta: Gadjah Mada University.
- Satwika, Respatiphala, R. 2010. Kombinasi Metode Sonikasi, Pemanasan dan Fraksinasi Amonium Sulfat untuk Ekstraksi Enzim Fosfolipase-A2 dari *Acanthaster Planci*. Skripsi. Depok: Universitas Indonesia.
- Siregar, H.S., Ginting, Limbong, L.N. 2015. Pengaruh jenis pelarut dan suhu ekstraksi kaki ayam terhadap karakteristik fisik dan kimia gelatin yang dihasilkan. *Jurnal Rekayasa Pangan dan Pertanian*, 3(2): 171-177.



- Septianingsih, E., 2008. *Efek penyembuhan luka bakar ekstrak etanol 70% daun pepaya (Carica papaya L.) dalam sediaan gel pada kulit punggung kelinci New Zealand*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Soda, F.N., Agustini R. 2013. Pengaruh Penambahan Ion Logam K<sup>+</sup> terhadap Aktivitas Enzim Papain. *UNESA Journal of Chemistry*. 2 (2): 29-40.
- Soeka, Y.S. Rahayu, S.H dan Setianingrum, N. 2011. Kemampuan Bacillus licheniformis dalam Memproduksi Enzim Protease yang Bersifat Alkalin dan Termofilik. *Jurnal Media Litbang Kesehatan*. 21 (2): 89-95.
- Sutandi C, 2003. *Analisis Potensi Enzim Protease Lokal*. Fakultas Teknologi Pertanian. Bogor: IPB Press.
- Tarigan, J., 1988. *Pengantar Mikrobiologi*, 279-286, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Proyek Pengembangan Lembaga Pendidikan Tenaga Kependidikan. Jakarta.
- Underwood, A.L and R.A Day, Jr. 1986. *Analisa Kimia Kuantitatif*. Jakarta: Erlangga.
- Warisno. 2003. *Budidaya Tanaman Pepaya*. Yogyakarta: Kanisius.
- Widiastuti, Ismiyanti, Resmi A. 2015. Pengaruh Pemberian Berbagai Kadar Getah Buah Pepaya (*Carica papaya*, L.) Terhadap Jumlah Kumulatif Kematian Larva Aedes aegypti. *Jurnal Fakultas Kesehatan Masyarakat*. 9(1):61-68.
- Witono, Y., 2008, Deklorofilasi Ekstrak Protease dari Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea*) dengan Absorban. *Celite, Berk. Penel Hayati*, 13, 115-121.
- Winarno, F.G., dan I. E. Fernandez. 2007. *Susu dan Produk Fermentasinya*. Bogor: MBrio Press.
- Indriani, N.L.P., Affandi, Sunarwati, D. 2008. *Pengelolaan Kebun Pepaya Sehat. Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. ISBN: 978-979-1465-03-8.
- Yahya, S. (2013). *Spektrofotometri UV- VIS*. Jakarta: Erlangga.
- Ye, J., F. Fan., X. Xu and Y. Liang. 2013. Interactions of Black and Green tea Polyphenols with Whole Milk. *Food Research International*. 53: 449-455.
- Yusriah dan N D, Kuswyasari. 2013. Pengaruh pH dan Suhu Terhadap aktivitas Protease *Penicillium* sp. *Jurnal Sains dan Seni Pomits Vol. 2, No.1*.

# LAMPIRAN

**Lampiran 1. Rancangan Penelitian**

## Lampiran 2. Determinasi Tanaman



### DIREKTORAT PENGELOLAAN KOLEKSI ILMIAH

Gedung B.J. Habibie JL. M.H Thamrin No. 8, Jakarta Pusat 10340  
Surel: [dit-pki@brin.go.id](mailto:dit-pki@brin.go.id) Laman: [www.brin.go.id](http://www.brin.go.id)

Nomor : E-495/IL.6.2/IR.01.1/9/2024 24 Mei 2024  
Lampiran : -  
Perihal : Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan

Yth.  
Bpk./Ibu/Sdr(i) **Raditya Wiryawan**  
NPM : 066120005  
Universitas Pakuan

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah BRIN Cibinong, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1.	Pepaya	<i>Carica papaya L.</i>	Caricaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Plt. Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah,  
Badan Riset dan Inovasi Nasional



Dr. Ratih Damayanti, S.Hut. M.Si



Dokumen ini ditandatangani secara elektronik menggunakan sertifikat dari BRIN, sehingga terdapat verifikasi pada dokumen elektronik yang dapat ditubuh dengan memindai scan QR Code

## Lampiran 3. Certificate Of Analysis

### 1. Kasein

**Sigma-Aldrich**

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA  
 Website: www.sigmaldrich.com  
 Email USA: techserv@sial.com  
 Outside USA: eurtechserv@sial.com

**Certificate of Analysis**

Product Name: Casein from bovine milk - technical grade

Product Number: C7078  
 Batch Number: BCCG8142  
 Brand: SIGMA  
 CAS Number: 9000-71-9  
 Quality Release Date: 16 MAR 2022

Test	Specification	Result
Appearance (Color)	Off White	Off White
Appearance (Form)	Powder	Powder
Loss on Drying	≤ 12.0 %	11.1 %
Nitrogen Content	13.50 - 15.00 %	14.70 %

*Dr. R. Schweninger*

Dr. Reinhold Schweninger  
 Quality Assurance  
 Buchs, Switzerland CH

### 2. Tirosin

**T C I**

**Certificate of Analysis**

06/02/2021 (JST)  
 TOKYO CHEMICAL INDUSTRY CO., LTD.  
 4-10-1 Nihonbashi-Honcho, Chuo-ku, Tokyo 103-0023 Japan

Chemical Name: L-(+)-Tyrosine		Lot: SIBRK
Product Number: T0550		
CAS RN: 60-18-4		

Tests	Results	Specifications
Appearance	White powder	White to Almost white powder to crystal
Optical purity(LC)	100.0 ee%	min. 98.0 ee%
Purity(Nonaqueous Titration)	99.7 %	min. 98.5 %
Solubility in 1mol/L HCl	almost transparency	almost transparency

TCI Lot numbers are 4-5 characters in length. Characters listed after the first 4-5 characters are control numbers for internal purpose only. The contents of the specifications are subject to change without advance notice. The specification values displayed here are the most up to date values. There may be cases where the product labels display a different specification, however, the product quality still meets the latest specification.

**Customer Service:**  
 TOKYO CHEMICAL INDUSTRY CO., LTD  
 Tel: +81-3-5640-8878  
 Fax: +81-3-5640-8902  
 E-mail: globalbusiness@TCIchemicals.com

*Takuya Nishioka*  
 Takuya Nishioka  
 Quality Assurance Department Manager

## 3. TCA (Trichloroacetic Acid)



## Certificate of Analysis

1.00807.0100 Trichloroacetic acid for analysis EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur  
Batch K54031707

	Spec. Values		Batch Values	
Assay (alkalimetric)	≥ 99.5	%	100.1	%
Identity (IR-spectrum)	passes test		passes test	
Appearance	colorless, deliquescent crystals		passes test	
Appearance of solution (200 g/l; water)	clear and colorless		passes test	
In water insoluble matter	≤ 0.01	%	≤ 0.01	%
Chloride (Cl)	≤ 10	ppm	≤ 10	ppm
Nitrate (NO <sub>3</sub> )	≤ 20	ppm	≤ 20	ppm
Phosphate (PO <sub>4</sub> )	≤ 5	ppm	≤ 5	ppm
Sulfate (SO <sub>4</sub> )	≤ 200	ppm	≤ 200	ppm
Heavy metals (as Pb)	≤ 20	ppm	≤ 20	ppm
Cu (Copper)	≤ 5	ppm	≤ 5	ppm
Fe (Iron)	≤ 10	ppm	≤ 10	ppm
Readily carbonisable substance	passes test		passes test	
Sulfated ash (600 °C)	≤ 300	ppm	≤ 300	ppm

Date of release (DD.MM.YYYY) 16.02.2022  
Minimum shelf life (DD.MM.YYYY) 30.09.2024

Dr. Sebastian Lips  
Responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature.

#### Lampiran 4. Perhitungan Bahan

1. Pembuatan Larutan stok Tirosin 1,10 mM (Mr = 181)

$$M = \frac{\text{gram}}{Mr} \times \frac{1000}{V}$$

$$0,0011 \text{ M} = \frac{\text{gram}}{181} \times \frac{1000}{50} = 9,955 \text{ gram atau } 10 \text{ mg}$$

2. Pembuatan Larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,5M (Mr = 102)

$$M = \frac{\text{gram}}{Mr} \times \frac{1000}{V}$$

$$0,5 \text{ M} = \frac{\text{gram}}{102} \times \frac{1000}{100} = 5,3 \text{ gram}$$

3. Pembuatan Larutan NaOH 0,2 M (Mr = 40)

$$M = \frac{\text{gram}}{Mr} \times \frac{1000}{V}$$

$$0,2 \text{ M} = \frac{\text{gram}}{40} \times \frac{1000}{100} = 0,8 \text{ gram}$$

4. Pembuatan Larutan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,2 M (Mr = 136)

$$M = \frac{\text{gram}}{Mr} \times \frac{1000}{V}$$

$$0,2 \text{ M} = \frac{\text{gram}}{136} \times \frac{1000}{100} = 2,72 \text{ gram}$$

5. Konsentrasi Standar Tirosin

Lar Stok Tirosin 1,10 mM

$$\frac{\text{Sampel larutan tirosin}}{Mr \text{ Tirosin}} = \frac{0,01 \text{ g}}{181} = 0,000005 \text{ mol}$$

$$\frac{0,000005 \text{ mol}}{0,05 \text{ L}} = 0,0011 \text{ mol/L}$$

- Volume yang dipipet 0,05 mL

$$0,05 \text{ mL} \times 0,0011 \text{ mol/L} = 0,00005 \text{ L} \times 0,0011$$

$$= 0,000000055 \text{ mol}$$

$$\frac{0,000000055 \text{ mol}}{0,008 \text{ L}} = 0,00006875 \text{ M}$$

$$= 0,006875 \text{ mM}$$

$$= 6,875 \mu\text{M}$$

- Volume yang dipipet 0,1 mL

$$0,1 \text{ mL} \times 0,0011 \text{ mol/L} = 0,0001 \text{ L} \times 0,0011$$

$$= 0,00000011 \text{ mol}$$

$$\frac{0,00000011 \text{ mol}}{0,008 \text{ L}} = 0,00001375 \text{ M}$$

$$= 0,01375 \text{ mM}$$

$$= 13,75 \text{ } \mu\text{M}$$

- Volume yang dipipet 0,2 mL

$$0,2 \text{ mL} \times 0,0011 \text{ mol/L} = 0,0002 \text{ L} \times 0,0011$$

$$= 0,00000022 \text{ mol}$$

$$\frac{0,00000022 \text{ mol}}{0,008 \text{ L}} = 0,0000275 \text{ M}$$

$$= 0,0275 \text{ mM}$$

$$= 27,5 \text{ } \mu\text{M}$$

- Volume yang dipipet 0,4 mL

$$0,4 \text{ mL} \times 0,0011 \text{ mol/L} = 0,0004 \text{ L} \times 0,0011$$

$$= 0,00000044 \text{ mol}$$

$$\frac{0,00000044 \text{ mol}}{0,008 \text{ L}} = 0,000055 \text{ M}$$

$$= 0,055 \text{ mM}$$

$$= 55 \text{ } \mu\text{M}$$

## 6. Larutan Deret Standar Tirosin

Lar Stok tirosin 1,10 mM

- Konsentrasi 6,875  $\mu\text{M}$

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1100 \text{ } \mu\text{M} = 8 \text{ mL} \cdot 6,875 \text{ } \mu\text{M} = 0,05 \text{ mL}$$

- Konsentrasi 13,75  $\mu\text{M}$

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1100 \text{ } \mu\text{M} = 8 \text{ mL} \cdot 13,75 \text{ } \mu\text{M} = 0,1 \text{ mL}$$

- Konsentrasi 27,5  $\mu\text{M}$

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1100 \text{ } \mu\text{M} = 8 \text{ mL} \cdot 27,5 \text{ } \mu\text{M} = 0,2 \text{ mL}$$

- Konsentrasi 55  $\mu\text{M}$

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1100 \text{ } \mu\text{M} = 8 \text{ mL} \cdot 55 \text{ } \mu\text{M} = 0,4 \text{ mL}$$



### Lampiran 5. Perhitungan Aktivitas Protease

$$\text{Faktor Pengenceran} = \frac{V_2}{V_1} = \frac{10}{2} = 5 \text{ mL}$$

$$V \text{ Total} = V_t = 5 \text{ mL} = 5 \times 10^{-3} \text{ L}$$

$$Y = 0,0121(b) x + 0,0266 (a)$$

$$R^2 = 0,9947$$

Blanko

$$X = \frac{y-a}{b} \times fp$$

$$X = \frac{0,126 - 0,0226}{0,0121} \times 5$$

$$X = \frac{0,6524}{0,0121} \times 5 = 8,5454 \times 5 = 42,727 \mu\text{M}$$

$$\mu\text{mol tirosin Blanko} = [\text{Blanko}] \times V_t = 42,727 \mu\text{M} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 0,2136 \mu\text{mol}$$

### Sampel 1 Simplo

$$X = \frac{y-a}{b} \times fp$$

$$X = \frac{0,689 - 0,0226}{0,0121} \times 5$$

$$X = \frac{0,6664}{0,0121} \times 5 = 55,0744 \times 5 = 275,372 \mu\text{M}$$

$$\mu\text{mol tirosin S1} = [S1] \times V_t = 275,372 \mu\text{M} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 1,3769 \mu\text{mol}$$

$$\mu\text{mol tirosin hasil hidrolisis} = \mu\text{mol tirosin sampel} - \mu\text{mol blanko}$$

$$= 1,3769 \mu\text{mol} - 0,2136 \mu\text{mol}$$

$$= 1,1633 \mu\text{mol}$$

Aktivitas Protease ekstrak protease kasar getah pepaya

$$U = \frac{\mu\text{mol tirosin}}{t} = \frac{1,633 \mu\text{mol}}{30 \text{ menit}} = 0,0388 \text{ Unit}$$

$$K = \frac{U \times V_1}{V_2 \times V_3} = \frac{0,0388 \times 5,5 \text{ mL}}{0,5 \times 1} = 0,4268 \text{ U/mL}$$

**Sampel 1 Duplo**

$$X = \frac{y-a}{b} \times fp$$

$$X = \frac{0,675 - 0,0226}{0,0121} \times 5$$

$$X = \frac{0,6524}{0,0121} \times 5 = 53,9174 \times 5 = 269,587 \mu\text{M}$$

$$\mu\text{mol tirosin S1} = [\text{S1}] \times Vt = 269,587 \mu\text{M} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 1,3479 \mu\text{mol}$$

$$\mu\text{mol tirosin hasil hidrolisis} = \mu\text{mol tirosin sampel} - \mu\text{mol blanko}$$

$$= 1,3479 \mu\text{mol} - 0,2136 \mu\text{mol}$$

$$= 1,1343 \mu\text{mol}$$

Aktivitas Protease ekstrak protease kasar getah pepaya

$$U = \frac{\mu\text{mol tirosin}}{t} = \frac{1,1343 \mu\text{mol}}{30 \text{ menit}} = 0,0378 \text{ Unit}$$

$$K = \frac{U \times V1}{V2 \times V3} = \frac{0,0378 \times 5,5 \text{ mL}}{0,5 \times 1} = 0,4158 \text{ U/mL}$$

**Sampel 1 Triplo**

$$X = \frac{y-a}{b} \times fp$$

$$X = \frac{0,681 - 0,0226}{0,0121} \times 5$$

$$X = \frac{0,6584}{0,0121} \times 5 = 54,4132 \times 5 = 272,066 \mu\text{M}$$

$$\mu\text{mol tirosin S1} = [\text{S1}] \times Vt = 272,066 \mu\text{M} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 1,3603 \mu\text{mol}$$

$$\mu\text{mol tirosin hasil hidrolisis} = \mu\text{mol tirosin sampel} - \mu\text{mol blanko}$$

$$= 1,3603 \mu\text{mol} - 0,2136 \mu\text{mol}$$

$$= 1,1467 \mu\text{mol}$$

Aktivitas Protease ekstrak protease kasar getah pepaya

$$U = \frac{\mu\text{mol tirosin}}{t} = \frac{1,1467 \mu\text{mol}}{30 \text{ menit}} = 0,0382 \text{ Unit}$$

$$K = \frac{U \times V1}{V2 \times V3} = \frac{0,0382 \times 5,5 \text{ mL}}{0,5 \times 1} = 0,4202 \text{ U/mL}$$

**Sampel 2 Simplo**

$$X = \frac{y-a}{b} \times fp$$

$$X = \frac{0,543 - 0,0226}{0,0121} \times 5$$

$$X = \frac{0,5204}{0,0121} \times 5 = 43,0082 \times 5 = 215,041 \mu\text{M}$$

$$\mu\text{mol tirosin S1} = [\text{S1}] \times Vt = 215,041 \mu\text{M} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 1,0752 \mu\text{mol}$$

$$\begin{aligned} \mu\text{mol tirosin hasil hidrolisis} &= \mu\text{mol tirosin sampel} - \mu\text{mol blanko} \\ &= 1,0752 \mu\text{mol} - 0,2136 \mu\text{mol} \\ &= 0,8616 \mu\text{mol} \end{aligned}$$

Aktivitas Protease ekstrak protease kasar getah pepaya

$$U = \frac{\mu\text{mol tirosin}}{t} = \frac{0,8616 \mu\text{mol}}{30 \text{ menit}} = 0,0287 \text{ Unit}$$

$$K = \frac{U \times V1}{V2 \times V3} = \frac{0,0287 \times 5,5 \text{ mL}}{0,5 \times 1} = 0,3157 \text{ U/mL}$$

**Sampel 2 Duplo**

$$X = \frac{y-a}{b} \times fp$$

$$X = \frac{0,535 - 0,0226}{0,0121} \times 5$$

$$X = \frac{0,5124}{0,0121} \times 5 = 42,3471 \times 5 = 211,7355 \mu\text{M}$$

$$\mu\text{mol tirosin S1} = [\text{S1}] \times Vt = 211,7355 \mu\text{M} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 1,0587 \mu\text{mol}$$

$$\begin{aligned} \mu\text{mol tirosin hasil hidrolisis} &= \mu\text{mol tirosin sampel} - \mu\text{mol blanko} \\ &= 1,0587 \mu\text{mol} - 0,2136 \mu\text{mol} \\ &= 0,8451 \mu\text{mol} \end{aligned}$$

Aktivitas Protease ekstrak protease kasar getah pepaya

$$U = \frac{\mu\text{mol tirosin}}{t} = \frac{0,8451 \mu\text{mol}}{30 \text{ menit}} = 0,0282 \text{ Unit}$$

$$K = \frac{U \times V1}{V2 \times V3} = \frac{0,0282 \times 5,5 \text{ mL}}{0,5 \times 1} = 0,3102 \text{ U/mL}$$

**Sampel 2 Triplo**

$$X = \frac{y-a}{b} \times fp$$

$$X = \frac{0,550 - 0,0226}{0,0121} \times 5$$

$$X = \frac{0,5274}{0,0121} \times 5 = 43,5868 \times 5 = 217,934 \mu\text{M}$$

$$\mu\text{mol tirosin S1} = [S1] \times Vt = 217,934 \mu\text{M} \times 5 \times 10^{-3} \text{ L} = 1,0897 \mu\text{mol}$$

$$\mu\text{mol tirosin hasil hidrolisis} = \mu\text{mol tirosin sampel} - \mu\text{mol blanko}$$

$$= 1,0897 \mu\text{mol} - 0,2136 \mu\text{mol}$$

$$= 0,8761 \mu\text{mol}$$

Aktivitas Protease ekstrak protease kasar getah pepaya

$$U = \frac{\mu\text{mol tirosin}}{t} = \frac{0,8761 \mu\text{mol}}{30 \text{ menit}} = 0,0292 \text{ Unit}$$

$$K = \frac{U \times V1}{V2 \times V3} = \frac{0,0292 \times 5,5 \text{ mL}}{0,5 \times 1} = 0,3212 \text{ U/mL}$$

<b>Sampel</b>	<b>Pengulangan</b>	<b>Kadar (<math>\mu\text{mol}</math>)</b>	<b>Rata – rata Kadar <math>\pm</math> SD (<math>\mu\text{mol}</math>)</b>	<b>Nilai Aktivitas (U/mL)</b>	<b>Rata – Rata Aktivitas Protease <math>\pm</math> SD (U/mL)</b>
Getah	Simplo	1,1633		0,4268	
Buah	Duplo	1,1343	1,1481 $\pm$ 0,0145	0,4158	0,4209 $\pm$ 0,0054
Pepaya	Triplo	1,1467		0,4202	
Getah	Simplo	0,8616		0,3157	
Tangkai	Duplo	0,8451	0,8609 $\pm$ 0,0155	0,3102	0,3157 $\pm$ 0,0055
Pepaya	Triplo	0,8761		0,3212	

**Lampiran 6.** Hasil Uji Statistik T-Test

<b>Paired Samples Test</b>									
		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	Sampel - Hasil	1.7544556	.7411011	.2470337	1.1847948	2.3241163	7.102	8	.000

## Lampiran 7. Dokumentasi Kegiatan



Buah Pepaya



Tangkai Pepaya



Vortex



Spektrofotometri UV-VIS



Sentrifugasi



Larutan Standar



PH Meter