

**PEMURNIAN PARSIAL DAN KRISTALISASI
PAPAIN DARI GETAH *Carica papaya***

SKRIPSI



DWI PUTRI MASHFUFATUR ROHMAH

**PROGRAM STUDI S-1 KIMIA
DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2018**

**PEMURNIAN PARSIAL DAN KRISTALISASI
PAPAIN DARI GETAH *Carica papaya***

SKRIPSI

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelara Sarjana Sains Bidang Kimia
pada Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga**

**Dwi Putri Mashfufatur Rohmah
NIM 081411533023**

Disetujui oleh:

Pembimbing I,



**Prof. Dr. Afaf Baktir, MS.
NIP 195610141983032001**

Pembimbing II,



**Drs. Sofjan Hadi, M.Kes.
NIP 196507141992031001**

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Pemurnian Parsial dan Kristalisasi Papain dari Getah
Carica papaya
Penyusun : Dwi Putri Mashfufatur Rohmah
NIM : 081411533023
Pembimbing I : Prof. Dr. Afaf Baktir, MS.
Pembimbing II : Drs. Sofijan Hadi, M.Kes.
Tanggal Ujian : 13 Juli 2018

Disetujui oleh:

Pembimbing I,



Prof. Dr. Afaf Baktir, MS.
NIP 195610141983032001

Pembimbing II,



Drs. Sofijan Hadi, M.Kes.
NIP 196507141992031001

Mengetahui,

Ketua Departemen Kimia

Fakultas dan Sains Teknologi Universitas Airlangga



Dr. Purkan, M.Si.
NIP 197211161997021001

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan, namun tersedia di perpustakaan dalam lingkungan Universitas Airlangga, diperkenankan untuk dipakai sebagai referensi kepustakaan, tetapi pengutipan harus seizin penyusun dan harus menyebutkan sumbernya sesuai kebiasaan ilmiah.

Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Universitas Airlangga.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT. karena pertolongan, ijin dan rahmatNya telah selesai penulisan naskah skripsi, yang berjudul **“Pemurnian Parsial dan Kristalisasi Papain dari Getah *Carica papaya*”**.

Penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan oleh berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Afaf Baktir, MS. selaku pembimbing I dan Drs. Sofijan Hadi, M.Kes. selaku pembimbing II, atas bimbingan, dukungan dan restunya selama penyusunan skripsi ini,
2. Dr. Sri Sumarsih, M.Si. dan Dr. Abdulloh, M.Si. selaku dosen penguji, atas saran dan masukan dalam perbaikan skripsi ini,
3. Prof, Dr. Ni Nyoman Tri Puspaningsih, M.Si., atas ijin yang telah diberikan untuk menggunakan laboratorium proteomik,
4. Harsasi Setyawati, S.Si., M.Si. selaku dosen wali, atas motivasi dan dukungan yang selalu diberikan,
5. Dr. Purkan, M.Si. selaku Ketua Departemen Kimia, atas dukungan yang selalu diberikan,
6. Bapak dan Ibu dosen Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga, atas segala ilmu dan bimbingan yang telah diberikan,
7. Ibu Muliyatun, Mak Juwariyah, dan Mbak Riska, atas doa, motivasi, restu, dan *sangu* selama proses belajar hingga penyelesaian skripsi ini,
8. Pengurus laboratorium, khususnya Bapak Rahmat, Mbak Yuli, Bapak Rohadi, Bapak Kamto, Mbak One, Mbak Puput, Mbak Nyoman, dan Mbak Sylvi, atas dukungan dan bantuannya dalam berbagai pekerjaan di laboratorium,
9. Teman-teman sahabat biokimia dan penghuni laboratorium lantai 2, khususnya Novitawati dan Hesty yang selalu menemani dalam setiap hal, serta Mbak Dini, Mbak Firda, Mas Afi, Mbak Nira, Mbak Maris, Mbak Indah, Mas Risky, atas saran dan bantuannya dalam penelitian,

10. Geng duyung, khususnya Yossy dan Syafira yang selalu memberi dukungan, serta Linda yang sempat menemani dalam penelitian,
11. Teman-teman kimia 2014, kakak-kakak dan adik-adik yang selalu memberi motivasi untuk menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan, sehingga kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat menjadi model untuk pemurnian parsial dan kristalisasi sediaan enzim-enzim lain serta dapat diaplikasikan dengan *Crystallizer* Sinambung, sebagai alternatif pemenuhan kebutuhan enzim di industri Indonesia.

Surabaya, Juli 2018

Penyusun,

Dwi Putri Mashfufatur Rohmah

Rohmah, D. P. M., 2018, Pemurnian Parsial dan Kristalisasi Papain dari Getah *Carica papaya*, Skripsi, di bawah bimbingan Prof. Dr. Afaf Baktir, MS. dan Drs. Sofijan Hadi, M.Kes., Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya

ABSTRAK

Suatu metode kristalisasi dikembangkan untuk meningkatkan kemurnian dan kestabilan suatu enzim. Pada penelitian ini dilakukan pemurnian parsial melalui fraksinasi dan optimasi kristalisasi papain dari getah *Carica papaya* menggunakan ammonium sulfat. Peningkatan faktor kemurnian fraksi papain ditentukan melalui aktivitas spesifiknya. Keberadaan papain dalam sampel yang digunakan pada penelitian ini dan terjadinya pemurnian secara parsial diamati melalui pita yang muncul pada uji SDS-PAGE dengan 12% akrilamida. Hasil fraksinasi menunjukkan bahwa fraksi papain dari getah *Carica papaya* dapat diperoleh dengan penambahan ammonium sulfat sebanyak 40-80% jenuh, dengan aktivitas spesifik tertinggi, yaitu 2,0819 U/ μ g dan mengalami peningkatan faktor kemurnian sebesar 6,27 kali lipat dari ekstrak papain. Pembentukan kristal papain dilakukan dengan penambahan agen presipitan ammonium sulfat dengan kadar 55 hingga 80% jenuh yang diinkubasi pada suhu 5- 30 °C selama 18 hari. Aktivitas total tertinggi kristal, yaitu sebesar 10,7780 U yang terdapat pada kristal papain dengan presipitan ammonium sulfat 80% jenuh pada suhu 15 °C. Adapun, profil kristal papain diamati secara mikroskopis dengan perbesaran 400 dan 1.000 kali, menunjukkan bahwa kristal papain berbentuk kubus dan tetragonal. Berdasarkan hasil uji SDS-PAGE, papain yang digunakan pada penelitian ini memiliki berat molekul ~23 kDa.

Kata kunci: *kristalisasi, fraksinasi, ammonium sulfat, papain*

Rohmah, D. P. M., 2018, Partial Purification and Crystallization of Papain from *Carica papaya* Latex, Undergraduate Thesis, under guidance of Prof. Dr. Afaf Baktir, MS. and Drs. Sofijan Hadi, M.Kes., Chemistry Department, Science and Technology faculty, Universitas Airlangga, Surabaya

ABSTRACT

A crystallization method was developed to enhance the purity and stability of an enzyme. This research has done partial purification by fractionation and optimization crystallization of papain from *Carica papaya* latex with the addition of ammonium sulphate. The enhancement of purification factor was determined by its specific activity. The existence of papain on sample that used in this research and the occurrence of purification partially has seen by its band that appeared on SDS-PAGE assay with 12% of acrylamide. The fractionation results show that papain fraction of *Carica papaya* can be obtained by adding 40-80% saturated ammonium sulphate, with the highest specific activity, i.e. 2,0819 U/ μ g and the factor purification increase of 6,27 fold than papain extract. Meanwhile, the formation of papain crystals can be carried out by presipitant agent addition of ammonium sulphate in the level/ concentration 55 to 80% saturated that incubated at 5-30 °C for 18 days. The highest total activity, i.e. 10,7780 U that contained in papain crystal with 80% saturated ammonium sulphate at 15 °C. Meanwhile, the papain crystal profiles were observed microscopically with 400 and 1.000 times of magnification, suggesting that papain crystals have cube and tetragonal shape. Based on SDS-PAGE assay, papain that used in this research have ~23 kDa molecular weight.

Key words: *crystallization, fractionation, ammonium sulphate, papain*

PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Dwi Putri Mashfufatur Rohmah

NIM : 081411533023

Program Studi : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Jenjang : Sarjana (S1)

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan kegiatan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul:

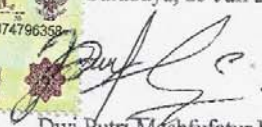
Pemurnian Parsial dan Kristalisasi Papain dari Getah *Carica papaya*

Apabila suatu saat nanti terbukti melakukan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.



Surabaya, 23 Juli 2018


Dwi Putri Mashfufatur Rohmah

NIM 081411533023

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR JUDUL	i
LEMBAR PERNYATAAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
PERNYATAAN ORISINALITAS	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	5
1.4 Manfaat	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Enzim	6
2.1.1 Protease	7
2.1.2 Papain	9
2.2 Pepaya	13
2.3 Pemurnian Protein	15
2.4 Kristalisasi	21
BAB III METODE PENELITIAN	24
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	24
3.2 Sampel, Bahan Kimia dan Alat Penelitian	24

3.3 Variabel Penelitian	25
3.4 Diagram Alir Penelitian	25
3.5 Cara Kerja	27
3.5.1 Preparasi ekstrak papain dari getah <i>Carica papaya</i> ...	27
3.5.2 Fraksinasi papain dari getah <i>Carica papaya</i>	27
3.5.2.1 Fraksinasi ammonium sulfat	27
3.5.2.2 Dialisis	27
3.5.2.3 Penentuan kadar protein	28
3.5.2.4 Penentuan aktivitas protease	28
3.5.3 Optimasi kristalisasi fraksi papain	29
3.5.4 SDS-PAGE	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1 Preparasi Ekstrak Papain dari Getah <i>Carica papaya</i>	30
4.2 Fraksinasi Papain dari Getah <i>Carica papaya</i>	30
4.2.1 Fraksinasi ammonium sulfat	30
4.2.2 Dialisis	31
4.2.3 Penentuan aktivitas spesifik papain	32
4.3 Optimasi Kristalisasi Fraksi Papain	35
4.4 SDS-PAGE	39
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	41
5.1 Kesimpulan	41
5.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul Tabel	Halaman
2.1	Karakteristik Papain	11
2.2	Klasifikasi Tanaman Pepaya	14
2.3	Komposisi Kimia Berbagai Bagian Pepaya	14
2.4	Daftar % Kejenuhan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ untuk Fraksinasi Protein	19
3.1	Variabel pada Setiap Tahap Penelitian	25
4.1	Ringkasan Prosedur Fraksinasi Getah <i>Carica papaya</i>	31
4.2	Optimasi Jumlah Enzim yang Dijenuhi Substrat	33
4.3	Data Hasil Uji Fraksinasi Papain dari Getah <i>Carica papaya</i>	34
4.4	Hasil Pengamatan Makroskopis Pembentukan Presipitat Fraksi Papain	35
4.5	Hasil Optimasi Kristalisasi Fraksi Papain	37

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul Gambar	Halaman
2.1	Klasifikasi Protease dalam Sistem <i>Enzyme Nomenclature</i> (EC)	8
2.2	Komposisi Asam Amino Penyusun Struktur Papain	11
2.3	Struktur Pita pada Papain	12
2.4	Skema Dasar Pemurnian Protein	16
2.5	Mekanisme <i>Salting Out</i> Protein	18
2.6	Diagram Fasa Kristalisasi Protein	22
3.1	Skema Alur Penelitian	26
4.1	Kurva Penentuan Waktu Inkubasi Optimum	33
4.2	Kristal Papain dan Kristal Ammonium Sulfat dengan Perbesaran 400 dan 1.000 Kali	36
4.3	<i>Crystallizer</i> Sinambung	38
4.4	SDS-PAGE	40

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul
1	Pembuatan Larutan Stok
2	Pembuatan Larutan Bufer
3	Pembuatan Reagen
4	Pembuatan Substrat Kasein 1%
5	Pembuatan Larutan dan Kurva Standart
6	Pengambilan Getah <i>Carica papaya</i> , Fraksinasi Ammonium Sulfat, dan Dialisis
7	Pengembangan Prosedur Aktivitas Protease
8	Uji Aktivitas Protease untuk Tahap Fraksinasi Ammonium Sulfat
9	Uji Kadar Protein untuk Tahap Fraksinasi Ammonium Sulfat
10	Analisis Perhitungan untuk Tahap Fraksinasi Ammonium Sulfat
11	Optimasi Kristalisasi Papain dari Getah <i>Carica papaya</i>
12	Uji Aktivitas Protease untuk Tahap Kristalisasi Fraksi Papain
13	Analisis Perhitungan untuk Tahap Kristalisasi Fraksi Papain
14	Data Sekunder Pendukung Penelitian
15	Penentuan Berat Molekul (BM) Berdasarkan SDS-PAGE

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Enzim adalah protein dengan fungsi sebagai biokatalisator, yang dapat mempertahankan aktivitasnya baik di dalam maupun di luar sel, sehingga dapat diaplikasikan secara luas. Dewasa ini, enzim memiliki peran besar dalam pengaplikasiannya di bidang agrikultural maupun bidang industri. Berdasarkan sifatnya sebagai biokatalisator yang memiliki cakupan luas, enzim digunakan dalam industri kilang minyak, pakan ternak, bahan makanan, dan farmasi (Malek dkk., 2016).

Enzim digunakan sebagai alternatif untuk menggantikan berbagai proses kimia dalam bidang industri. Hal ini dikarenakan sifatnya yang efisien, selektif, *predictable*, dan ramah lingkungan. Bahkan dalam beberapa aplikasinya, enzim dinyatakan lebih ekonomis dibandingkan katalis kimia karena dapat digunakan secara berulang selama aktivitasnya masih ada (Sutandi, 2003; Zufahair dkk., 2014).

Kebutuhan akan enzim dalam bidang industri semakin meningkat, terlebih bagi negara berkembang. Indonesia merupakan salah satu negara dengan kategori berkembang. Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) mengungkapkan bahwa enzim yang digunakan dengan status impor sebesar hampir 99% dan perkiraan senilai 187,5 Milyar (2015). Hal ini memacu dilakukannya berbagai upaya untuk pemenuhan enzim di Indonesia. Salah satu enzim yang mendominasi pasar dunia sebesar 60% adalah protease (Zufahair dkk., 2014).

Protease merupakan enzim yang berperan dalam hidrolisis protein menjadi senyawa yang lebih sederhana, seperti peptida rantai pendek dan asam amino. Enzim ini banyak digunakan dalam industri pangan, seperti pembuatan keju, bir, roti, dan pengempukan daging, serta industri non pangan, seperti pembuatan detergen dan penyamakan kulit (Naiola dan Widhyastuti, 2002).