

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Enzim Papain

2.1.1. Sumber Enzim Papain⁽⁴⁾

Enzim papain dapat diperoleh dari lateks pohon pepaya (*carica papaya*). Tanaman ini tumbuh tersebar diseluruh tanah air, dapat dilihat dari nama-nama yang diberikan oleh daerah-daerah, misalnya Jawa Tengah menyebutnya Kates, Jawa Barat-Gedang, Sumatera Barat-Sampelo, Sumatera Utara-Betik, Kalimantan-Muk Kwa, Sulawesi Tengah-Kaliki, Irian-Papaya, Flores-Padu, Timor-Timur - Aldila. Negeri nenek moyangnya sangat jauh di belahan benua Amerika, tepatnya Meksiko.

Pepaya dapat tumbuh di daerah basah maupun kering, didaerah dataran rendah maupun pegunungan hingga 1000 m diatas permukaan laut. Tumbuhnya sangat cepat dan dapat mencapai 5 - 10 m.

Golongan Pepaya

Ditilik dari daging buahnya, varietas-varietas pepaya yang ada di Indonesia dikelompokkan menjadi 2 (dua) golongan yakni :

1. Golongan Pepaya Burung

Pepaya yang termasuk kedalam golongan ini umumnya berbentuk buah kecil, daging buah kuning dan jarang dijumpai di Pulau Jawa.

2. Golongan Pepaya Semangka

Pepaya yang termasuk ke dalam golongan ini umumnya berbentuk buah besar, daging buah merah dan banyak terdapat di Pulau Jawa. Varietas-varietas pepaya yang termasuk ke dalam golongan pepaya semangka adalah varietas Cibinong, semangka paris, dan noris, sedangkan varietas lainnya merupakan hasil persilangan diantara varietas tersebut.

2.1.2. Cara Isolasi Papain

Untuk dapat mengisolasi papain, maka sebelumnya dilakukan penyadapan terhadap buah. Penyadapan yang baik umumnya dilakukan pada pagi hari, yakni sekitar 05.00 - 08.00. Apabila penyadapan dilakukan pada siang hari, maka hasil yang diperoleh berkualitas rendah. Adapun cara penyadapan adalah sebagai berikut :

- Pada buah pepaya dibuat torehan memanjang dari pangkal ke ujung buah. Jarak setiap torehan sekitar 2 cm dengan kedalaman kurang lebih 1 mm.

- Getah yang keluar segera ditampung dengan menggunakan wadah plastik atau baja tahan karat.
- Untuk mencegah terjadinya pembekuan, kedalam wadah ditambahkan asam oksalat, sitrat, atau florida.
- Selanjutnya dilakukan pengeringan .
- Papain kasar yang telah didapat ini selanjutnya dimurnikan. Prosesnya dapat dilakukan dengan beberapa metode, satu diantaranya yakni:
Metode KIMMEL dan SMITH (Koekoek,1969)
 - Getah pepaya digerus dengan larutan sistein 0,04 M pada pH 5,5, Kemudian pH ditingkatkan sampai 9. Larutan disaring dan filtrat ditambah dengan larutan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (250 g/L).
 - Endapan yang terbentuk dicuci dengan larutan sistein 0,02 M pada pH 7,8 , kemudian kedalam larutan ini ditambahkan NaCl (110 g/L) untuk membentuk endapan kedua yang mengandung papain.
 - Endapan yang terbentuk dilarutkan lagi dengan larutan sistein 0,02 M pada pH 6,5 pada temperatur 40 °C dengan cara sentrifuse hingga diperoleh pasta yang lengket.

- Selanjutnya papain dikeringkan dengan cara melarutkan pasta kedalam air dan ditambahkan larutan NaCl jenuh untuk mengendapkan papain sepenuhnya.

2.1.3. Distribusi dan Konsentrasi Papain pada beberapa Varietas Pepaya⁽⁵⁾

Papain terdapat dalam jumlah yang cukup banyak di dalam getah pepaya, karenanya distribusi papain pada pepaya umumnya terdapat lebih besar di bagian buah dan daun dibanding pada bagian lainnya. Sedangkan pada bagian biji dan akar tidak dijumpai adanya papain. Getah yang keluar dari buah berwarna putih bersih, tidak tercampur dengan bahan-bahan lain, sedangkan getah yang keluar dari bagian lain seperti batang dan daun umumnya tercampur dengan klorofil dan serat-serat.

Dari hasil analisa oleh Daryono dan Muchidin (1974), diketahui bahwa, pepaya varietas Jinggo menghasilkan papain yang paling rendah bila dibandingkan dengan 6 varietas lain yang diuji. Dan pepaya varietas Semangka Paris menghasilkan papain tertinggi.

2.1.4. Sifat Kimia dan Fisika Papain⁽⁵⁾

Sebagai enzim proteolitik, papain ditemukan oleh Griffith Mugles pada tahun 1750. Dalam penemuannya hanya dikatakan, bahwa getah dari buah pepaya merupakan enzim yang bersifat mencerna. Kemudian dalam tahun 1879, Wurt dan Bonchurt, pertama kali meneliti sifat kimia dari papain. Namun demikian struktur kimianya belum ditentukan dengan tepat, dan hanya dikatakan bahwa papain merupakan senyawa organik kompleks yang terdiri dari gugusan asam amino.

Dari penelitian selanjutnya, dapat diketahui bahwa papain sebenarnya terdiri dari suatu rantai polipeptida tunggal yang tersusun atas ratusan asam amino.

Dilihat dari struktur molekulnya, menurut Beevers (1976), dalam papain terdapat jembatan disulfida yang terbentuk antara residu sistein nomor 22 dan 63, 56 dan 95, serta 152 dan 200. Residu sistein yang ketujuh pada posisi molekul asam amino nomor 25 dalam rantai polipeptida berfungsi sebagai tempat katalitik yang aktif.^(5,8)

1	Ile	Pro	Glu	Tyr	Val	Asp	Trp	Arg	Gln	Lys	Gly	Ala	Val	Thr	Pro
16	Val	Lys	Asn	Gln	Gly	Ser	Cys	Gly	ser	Cys	Trp	Ala	Pho	ser	Ala
31	Val	Val	Thr	Ile	Glu	Gly	Iia	Iia	Lys	Iia	Arg	Thr	Gly	Asn	Leu
46	Asn	Gln	Tyr	Ser	Glu	Gln	Gln	Glu	Leu	Asp	Cys	Asp	Arg	Arg	Ser
51	Tyr	Gly	Cys	Asn	Gly	Gly	Tyr	Pro	Trp	Ser	Ala	Leu	Gln	Leu	Val
76	Ala	Gln	Tyr	Gly	Ila	His	Tyr	Arg	Asn	Thr	Pro	Tyr	Tyr	Glu	Gly
91	Val	Gln	Arg	Tyr	Cys	Arg	Ser	Arg	Glu	Lys	Gly	Pro	Tyr	Ala	Ala
106	Lys	Thr	Asp	Gly	Val	Arg	Gln	Val	Gln	Pro	Tyr	Asn	Gln	Gly	Ala
121	Leu	Leu	Tyr	Ser	Ila	Ala	Asn	Gln	Pro	Val	Ser	Val	Val	Leu	Gln
136	Ala	Ala	Gly	Lys	Asp	Pho	Gln	Leu	Tyr	Arg	Gly	Gly	Ile	Phe	Val
151	Gly	Pro	Cys	Gly	Asn	Lys	Val	Asp	His	Ala	Val	Ala	Ala	Val	Gly
166	Tyr	Asn	Pro	Gly	Tyr	Lie	Lau	Iie	Lys	Asn	Ser	Trp	Gly	Thr	Gly
181	Trp	Gly	Glu	Asn	Gly	Tyr	Iie	Arg	Iie	Lys	Arg	Gly	Thr	Gly	Asn
196	Ser	Tyr	Gly	Val	cys	Gly	Leu	tyr	Thr	Ser	Ser	Pho	Tyr	Pro	Val
211	Lys	Asn													

Komposisi											
14	Ala	A	18	Gln	Q	11	Lau	L	13	Ser	S
12	Arg	R	7	Glu	E	10	Lys	K	8	Thr	T
19	Asn	N	28	Gly	G	0	Met	M	5	Trp	W
6	Asp	D	2	His	H	4	Pho	F	19	Tyr	Y
7	Cys	C	12	Iie	I	10	Pro	P	18	Val	V
Berat molekul = 29 426				Total residu = 212							

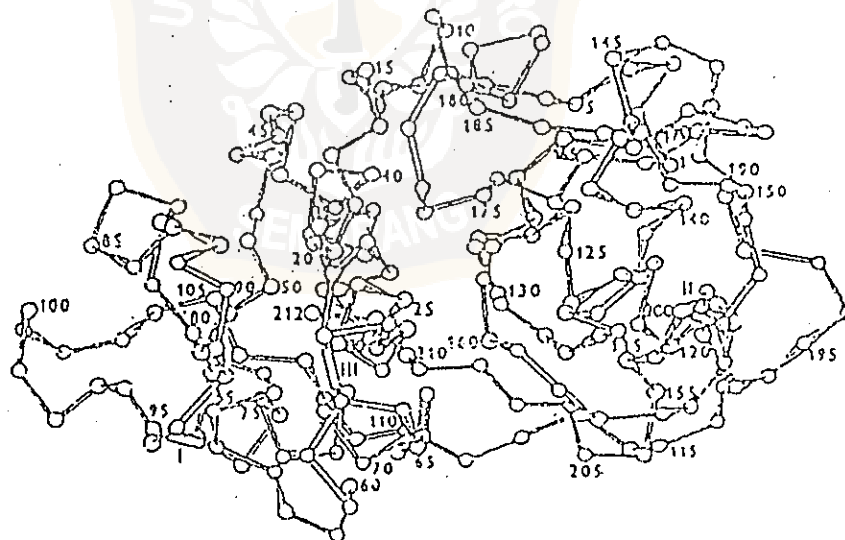
Keterangan Tabel II.1

1. 1 - 211 menunjukkan jumlah gugus asam amino

2. Keterangan singkatan :

Ala	Alanin	Ile	Isoleusin
Arg	Arginin	Leu	Leusin
Asp	Asparagin	Phe	Phenilalanin
Cys	Cystein	Pro	Prolin
Glu	Glutamat	Ser	Serin
Gly	Glycin	Thr	Treonin
His	Histidin	Trp	Triptopan
Tyr	Tyrosin	Val	Valin

Menurut Drenth et al (1968), adanya interaksi tambahan diantara molekul asam amino dapat meningkatkan potensi aktivitas katalitik dari papain, dan hal ini terjadi antara golongan karboksil dari aspartat dan glutamat dengan residu dari asam amino dasar, seperti arginin dan lisin. Selain itu, kelompok hidroksil dari serin dan treonin, juga bereaksi dengan kebanyakan asam amino bebas. Dengan demikian, kini diketahui bahwa papain memiliki struktur tiga dimensi yang hanya diketahui dan dibuktikan melalui analisa kristalografi dengan menggunakan sinar X. Struktur tersebut dapat dilihat pada Gambar II.1 berikut ini.



Gambar II.1 Struktur Papain

Keterangan gambar:

Lingkaran-lingkaran kecil melukiskan atom C - α dari residu asam amino. Angka romawi I, II, dan III melukiskan lokasi jembatan disulfida.

Ditinjau dari berat molekulnya, ada beberapa pendapat mengenai hal ini, menurut Balls dan Lineweaver berat molekul papain berkisar antara 27.000-33.000, sedangkan menurut hasil perhitungan Dayhoff, berat molekul papain adalah 23.426.

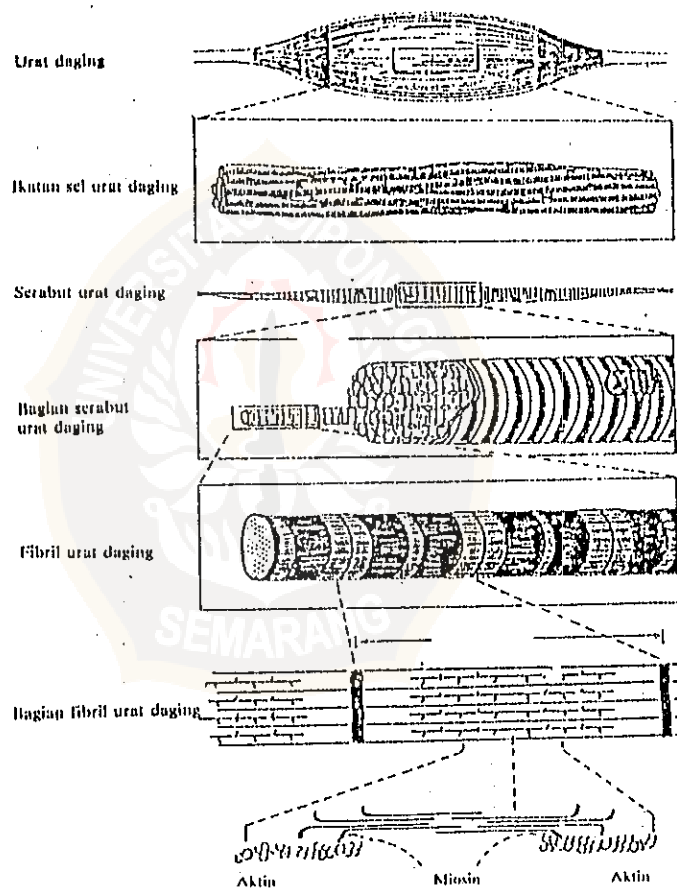
Papain mempunyai sifat agak sukar larut dalam air, mudah terurai dan tidak larut dalam beberapa pelarut organik, seperti alkohol, aseton, eter, kloroform dan beberapa pelarut kimia organik lainnya.⁽⁵⁾

2.2. D A G I N G

2.2.1. Struktur dan Komposisi Daging

Daging tersusun dari jaringan-jaringan sel. Jaringan sel ini secara umum dapat dibagi ke dalam empat golongan; yakni: jaringan kulit, jaringan pengikat, jaringan syaraf dan jaringan otot. Jaringan otot tersusun dari serabut otot yang diikat oleh jaringan pengikat sehingga mem-

bentuk berkas yang padat. Gambar 2 memperlihatkan komponen-komponen yang membentuk struktur daging. Serabut otot membentuk filamen-filamen dengan garis tengah 0,01-0,02 mikron dan beberapa inti sel. Letak jaringan-jaringan otot sejajar satu dengan yang lain dan membujur. ⁽²⁾



Gambar II.2 Struktur Daging

Komponen utama daging terdiri dari 75 % air, 18 % protein, dan 3 % lemak. Ternak sapi rata-rata menghasilkan 55 % karkas, 9 % bermacam-macam hasil sampingan, 6 % kulit dan 30 % bahan tak berguna. Komposisi rata-rata karkas sapi adalah 75 % jaringan otot, 25 % jaringan adipose, 12 % tulang, residu, termasuk sebagian urat daging dan jaringan penghubung. Ukuran jaringan otot ditentukan oleh beberapa faktor, yaitu bangsa hewan, umur dan jenis makanan. Sebagai contoh karkas dari ternak yang diberi makan biji-bijian, berisi jaringan adipose lebih banyak dari ternak yang diberi makanan rumput.

2.2.2. Protein Daging

Protein yang ada dalam urat daging, secara umum dapat dibagi menjadi:

1. Protein miofibril
2. Protein sarkoplasma
3. Protein tenunan pengikat

Miosin merupakan komponen yang paling banyak diantara protein-protein miofibril. Molekul miosin yang berat molekulnya kira-kira 500.000 tersebut tidak simetris, rasio panjang terhadap diameter sekitar 100:1. Molekul-molekul miosin

dibentuk dari dua sub unit utama meromiosin ringan (L) dan meromiosin berat (H). Meromiosin (H) terletak di bagian perifer filamen miosin.

Protein utama yang lain dari miofibril adalah aktin. Bisa didapatkan dalam dua bentuk:

1. Aktin-G, yang terdiri dari unit globular yang relatif kecil dan mempunyai berat molekul lebih kurang 70.000.
2. Aktin-F, tempat unit-unit globular tersebut terpasang dari ujung ke ujung untuk membentuk rantai ganda.

Aktin dan miosin dapat membentuk aktomiosin setelah hewan dipotong. Aktomiosin berpengaruh terhadap kontraksi dan delatasi tenunan otot daging.⁽⁷⁾

2.2.3. Keempukan dan Tekstur Daging

Keempukan dan tekstur daging ditentukan oleh dua faktor, yaitu;

1. Faktor antemortem, seperti genetik, termasuk bangsa, spesies dan fisiologi, umur, jenis kelamin, dan stres .
2. Faktor postmortem yang diantaranya meliputi metode penyimpanan, pemotongan, pengolahan,

dan termasuk didalamnya metode pemasakan dan penambahan bahan-bahan pelunak. ⁽¹⁾

Tekstur menunjukkan ukuran serabut otot yang dibatasi oleh septum-septum perimiseal jaringan ikat yang membagi otot secara longitudinal. Tingkat kekasaran tekstur meningkat dengan bertambahnya umur. Pada umumnya otot ternak jantan mempunyai tekstur yang lebih kasar dibandingkan betina. ⁽²⁾

Sedangkan kesan keempukan secara keseluruhan meliputi tekstur dan melibatkan tiga aspek; pertama kemudahan awal penetrasi gigi ke dalam daging, kedua; mudahnya daging dikunyah menjadi fragmen/potongan yang lebih kecil, dan ketiga; jumlah residu yang tertinggal setelah pengu-nyahan. ⁽³⁾

2.3. Inhibitor

2.3.1. Macam-Macam Inhibitor

Dipandang dari segi penghambatan, maka penghambatan enzim dapat digolongkan menjadi penghambatan yang reversibel (tidak stabil) dan penghambatan irreversibel (stabil). ⁽⁴⁾

Dalam pengikatan irreversibel, senyawa inhibitor akan terikat secara kovalen pada lokasi aktif enzim atau sedikitnya senyawa tersebut terikat sedemikian kuat sehingga disosiasi terjadi sangat lambat. Sedangkan penghambatan reversibel sendiri dibagi menjadi dua golongan, yaitu penghambatan kompetitif dan penghambatan non kompetitif. Inhibitor kompetitif adalah senyawa yang mirip dengan substrat dan dapat terikat pada lokasi aktif dari enzim. Sedangkan inhibitor non kompetitif, senyawanya tidak mirip dengan substrat, sehingga tidak menyerang sisi aktif dari enzim tersebut. ^(8,9)

2.3.2. Inhibitor Papain

Beberapa asam organik, seperti asam sitrat, asam isoaskorbat dan asam askorbat diketahui mempunyai sifat penghambatan terhadap aktivitas papain, tetapi mempunyai tingkat penghambatan yang berbeda. ⁽³⁾

Asam askorbat, asam isoaskorbat dan asam sitrat termasuk kelompok asam hidroksi. Dimana kelompok ini aktif terhadap golongan pereduksi sulfhidril seperti sistein dan protein-SH. ⁽¹¹⁾

2.3.3. Asam Askorbat

Vitamin C termasuk salah satu vitamin yang larut dalam air. Vitamin C dapat berbentuk L-askorbat dan asam L-dehidroaskorbat; keduanya mempunyai keaktifan sebagai vitamin C. Asam askorbat teroksidasi secara reversibel menjadi asam L-dehidroaskorbat. Asam L-dehidroaskorbat secara kimia sangat labil dan dapat mengalami perubahan lebih lanjut menjadi L-diketogulonat yang tidak memiliki keaktifan vitamin C lagi.⁽¹²⁾

Asam askorbat sangat penting peranannya dalam proses hidroksilasi dua asam amino prolin dan lisin menjadi hidroksiprolin dan hidroksilisin. Kedua senyawa ini merupakan komponen kolagen yang penting, sehingga pemenuhan vitamin C mutlak diperlukan.^(10,13)