

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Pepaya

Tempat asal tanaman pepaya adalah Amerika tropis. Dengan demikian tanaman ini tergolong tanaman daerah tropis. Sinar matahari, suhu, dan kelembaban udara merupakan kebutuhan tanaman ini.

Tanaman pepaya termasuk famili *Caricaceae*, famili ini memiliki 4 genus, yaitu : *Carica*, *Jarilla*, *Jacaratia*, dan *Cylicomorpha*. Ketiga genus pertama merupakan tanaman-tanaman yang berasal dari Amerika tropis, sedang genus *Cylicomorpha* merupakan tanaman yang berasal dari Afrika tropis. Genus *Carica* memiliki 21 jenis tanaman, buahnya enak dimakan dan banyak diusahakan. Sedang genus lain hanya lazim untuk dinikmati keindahan habitusnya.

Tanaman pepaya adalah tanaman herba, tumbuhnya tergolong cepat. Batangnya berongga, biasanya tidak bercabang, tingginya dapat sampai 10 meter. Daun besar, tunggal, dan bercabang. Tangkai daun panjang dan berongga, bentuk buah beragam, bulat sampai lonjong.¹⁾

Dari daging buahnya, varietas-varietas pepaya yang ada di Indonesia dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu :

1. Golongan pepaya burung

Pepaya yang termasuk golongan ini memiliki bentuk buah kecil, daging buah kuning. Pepaya ini jarang dijumpai di pulau Jawa.

2. Golongan pepaya semangka

Pepaya ini berbentuk buah besar, daging buah merah dan banyak terdapat di pulau Jawa. Varietas-varietas yang termasuk dalam golongan ini adalah varietas Cibinong, semangka paris dan noris, sedangkan varietas lain merupakan hasil persilangan diantara varietas tersebut.²⁾

2.2. Papain

Papain adalah suatu enzim pemecah protein atau disebut enzim proteolitik yang terdapat dalam getah pepaya. Kandungannya dapat mencapai 50% dari berat kering getah. Sel bagian tanaman kecuali biji dan akar mengandung enzim ini.¹⁾

Papain merupakan enzim yang stabil, tahan terhadap perbedaan pH dan suhu yang besar. Enzim ini mengandung tiga jembatan S-S yang berasal dari residu sistin dan satu gugus -SH bebas dari sistein. Gugus -SH ini sangat esensial untuk aktifitas enzimnya. Molekulnya banyak sekali mengandung gugus basa, karena itu titik isoelektriknya pada pH 8,75. Semua enzim ini memerlukan aktivator untuk aktivitasnya yang berfungsi membebaskan gugus -SH yang terhalang. Aktivator yang umum adalah sianida, sistein, dan glutathion.³⁾

Papain diisolasi dari getah pepaya dengan cara ekstraksi, pemisahan material yang tidak larut pada pH 9, pengendapan dengan amonium sulfat, dan rekristalisasi. Hasil kristalisasi terdiri dari tiga jenis papain :

1. Papain aktif
2. Papain yang dapat diaktifkan

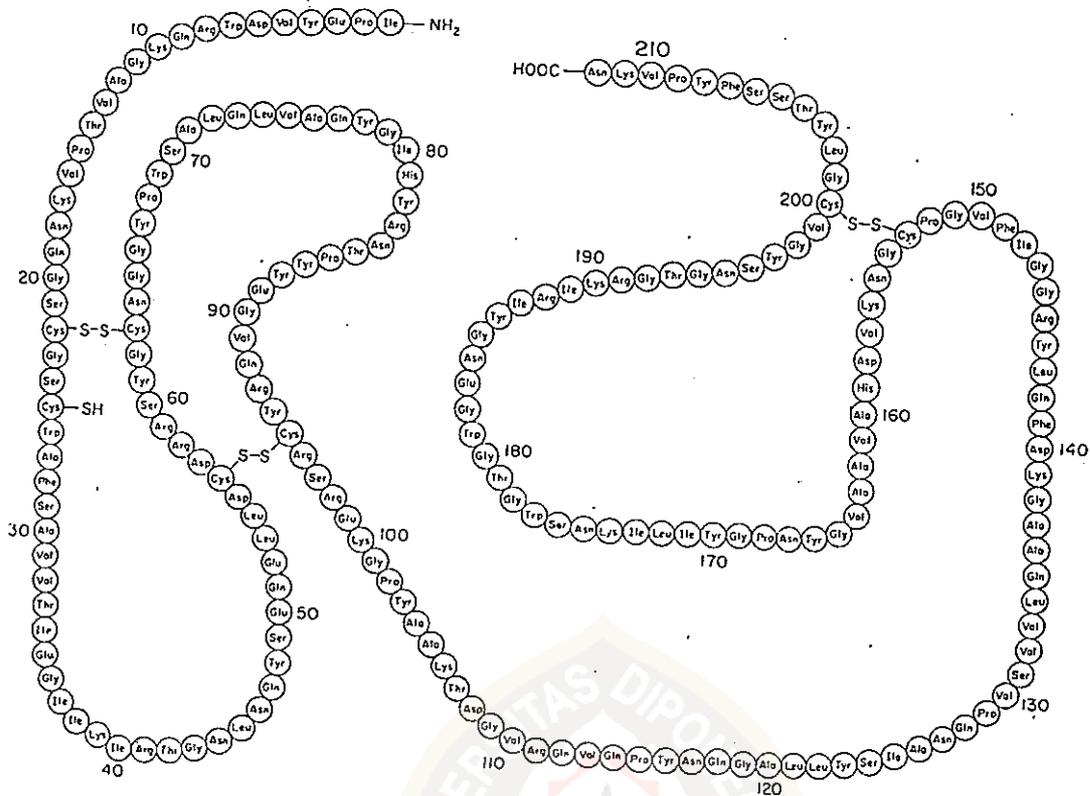
3. Papain non aktif

Pada papain aktif, sisi aktifnya sistein-25 memiliki gugus sulfhidril yang jelas. Sedangkan papain yang dapat diaktifkan dapat dikonversi menjadi papain aktif dengan cara mereduksi dengan thiol atau zat pereduksi lain. Pemisahan papain aktif dari molekul non aktif dapat dilakukan dengan kromatografi afinitas.⁴⁾

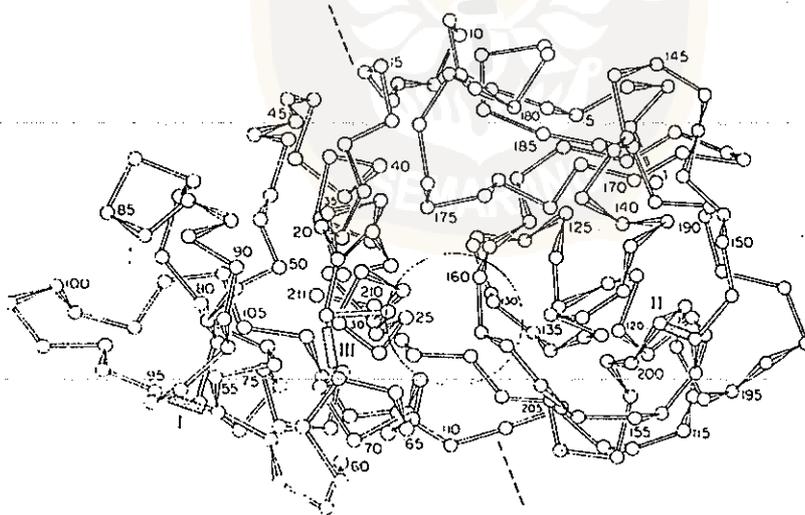
2.3. Struktur Papain

Papain tersusun atas rantai polipeptida tunggal dengan 212 asam amino, dengan berat molekul 23.900.⁵⁾ Pada struktur kristal papain terlihat bahwa molekul papain terbentuk dari dua daerah dengan pemotongan yang jelas diantara keduanya. Walaupun sistein-25 dan histidin-159 pada kontak yang dekat namun mereka berada pada sisi perpotongan yang berbeda.

Struktur dari papain yang telah ditentukan dengan difraksi sinar-X memperlihatkan bahwa molekul papain memiliki perpotongan yang jelas secara diagonal pada pusat molekul sehingga seolah-olah terbagi menjadi dua molekul. Hanya tiga bagian rantai yang berada pada daerah perpotongan ini. Substrat terikat pada gugus-gugus yang berada pada daerah perpotongan sehingga ikatannya berdekatan dengan gugus sulfhidril.⁶⁾



Gambar II.1. Struktur primer papain ⁶⁾



Gambar II.2. Struktur tersier papain ⁶⁾

2.4. Karakter Papain

Papain memiliki daya tahan panas yang tinggi. Keaktifannya menurun 20% pada pemanasan 70°C selama 30 menit pada pH 7,0. Papain mampu membentuk senyawa menyerupai protein dari hasil hidrolisis protein.⁷⁾ Keasaman optimum papain adalah 5-7, aktifitas tidak berkurang pada pH netral dengan suhu 50°C selama 30 menit. Relatif stabil pada pH 3-11, akan tetapi pada suasana alkalis, misalnya pada pH 11, dan sebaliknya pada suasana asam dengan pH dibawah 3 akan kehilangan aktifitasnya dengan cepat.⁸⁾ Koefisien ekstingsi papain pada 278 nm adalah 25. Titik isoelektrik pada pH 8,75. Suspensi kristal stabil pada 5°C selama 6-8 bulan.⁹⁾

2.5. Enzim Pengurai Protein ⁷⁾

Enzim pengurai protein digolongkan menjadi dua kelompok, yaitu :

- a. Eksopeptidase, dibagi lagi menjadi :
 - Karboksi (ekso) peptidase
Memotong peptida dari arah gugus karboksil terminal
 - Amino (ekso) peptidase
Memotong peptida dari arah gugus amino terminal
- b. Endopeptidase

Enzim ini memecah protein atau ikatan peptida dari dalam.

Berdasarkan sifat-sifat kimia dari lokasi aktif, enzim pengurai protein dibagi menjadi :

a. Golongan pertama

Enzim protease serin, mempunyai residu serin dalam lokasi aktifnya, bersifat endopeptidase. Yang termasuk enzim ini diantaranya adalah tripsin, kimotripsin, elastase, substilin.

a. Golongan kedua

Enzim protease sulfhidril, mempunyai residu sulfhidril pada lokasi aktif. Dihambat oleh senyawa oksidator, alkilator dan logam berat. Yang termasuk dalam enzim ini adalah papain, fisin, bromelin.

b. Golongan ketiga

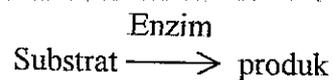
Protease metal, keaktifannya tergantung pada adanya metal, dihambat oleh EDTA. Yang termasuk dalam enzim ini adalah karboksipeptidase A, dan beberapa aminopeptidase.

c. Golongan empat

Protease asam, pada lokasi aktifnya terdapat dua gugus karboksil. Dihambat oleh p-bromofenasilbromida. Yang termasuk dalam enzim ini adalah pepsin, renin, protease kapang, aktif dalam pH rendah.

2.6. Substrat ¹⁰⁾

Substrat adalah senyawa yang reaksinya dikatalisis oleh enzim.



Satu enzim hanya dapat mengkatalisis reaksi dari beberapa substrat yang berbeda. Boleh juga dikatakan bahwa hanya beberapa senyawa mampu bertindak sebagai substrat bagi suatu enzim.

2.7. Gugus Katalitik¹⁰⁾

Petunjuk lain untuk memahami mekanisme katalisis adalah keberadaan dalam molekul protein, gugus-gugus yang telah diketahui merupakan katalisator efektif pada reaksi kimia organik biasa. Gugus seperti gugus hidroksil atau gugus amino dapat bertindak sebagai nukleofil, dan struktur di sekitar gugus tersebut dalam molekul enzim seringkali dirancang untuk memperkuat sifat katalitik nukleofil tersebut.

2.8. Tempat Katalitik¹⁰⁾

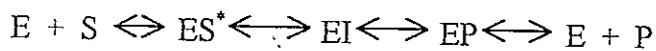
Tempat katalitik dari suatu enzim adalah bagian dari tempat pengikatan. Enzim seperti anti bodi, seringkali bersifat sangat khusus dalam mengikat senyawa tertentu, karena gugus asam amino pada tempat pengikatan hanya cocok untuk beberapa senyawa saja. Dengan istilah lain dapat dinyatakan bahwa suatu enzim dapat menunjukkan kekhasan yang tinggi terhadap substratnya.

2.9. Mekanisme Katalitik Umum¹⁰⁾

Efektifitas suatu enzim didapatkan dari gabungan pengikatan yang khusus dengan adanya gugus-gugus katalitik. Dalam suatu reaksi kimia biasa, suatu senyawa harus berubah menjadi senyawa yang lain, pembentukan keadaan antara yang kurang

menguntungkan ini menunjukkan adanya halangan energi aktivasi yang harus diatasi sebelum reaksi dapat terjadi.

Suatu reaksi enzimatik berlangsung sedikitnya melalui tiga tahap yaitu pembentukan enzim-substrat (ES), perubahan kompleks ini menjadi enzim-senyawa antara (EI), perubahan lebih lanjut menjadi kompleks enzim-produk (EP), yang akhirnya akan terurai.



ES^* = kompleks enzim-senyawa antara

2.10. Faktor-faktor Yang Mempengaruhi Kerja Enzim¹¹⁾

Konsentrasi enzim

Seperti pada katalis lain, kecepatan suatu reaksi yang menggunakan enzim tergantung pada konsentrasi enzim tersebut. Pada suatu konsentrasi substrat tertentu, kecepatan reaksi bertambah dengan bertambahnya konsentrasi enzim.

Konsentrasi substrat

Pada konsentrasi enzim yang tetap, penambahan konsentrasi substrat akan menaikkan kecepatan reaksi. Akan tetapi pada batas konsentrasi tertentu, tidak terjadi kenaikan kecepatan reaksi walaupun konsentrasi substrat dinaikkan. Hal ini terjadi karena adanya kompleks enzim-substrat. Untuk dapat terjadi kompleks enzim-substrat, diperlukan adanya kontak antara enzim dengan substrat pada tempat katalitik. Bila konsentrasi substrat diperbesar, makin banyak substrat yang berhubungan dengan enzim pada tempat katalitik tersebut. Pada suatu batas

konsentrasi substrat tertentu, semua tempat katalitik telah terpenuhi oleh substrat atau telah jenuh dengan substrat. Dalam keadaan ini bertambah besarnya konsentrasi substrat tidak menyebabkan bertambah besarnya konsentrasi kompleks enzim-substrat sehingga jumlah hasil reaksinya tidak bertambah besar.

Suhu

Pada suhu rendah reaksi kimia berlangsung lambat, sedangkan pada suhu yang lebih tinggi reaksi berlangsung lebih cepat.

Karena enzim adalah suatu protein, kenaikan suhu dapat mengakibatkan terjadinya proses denaturasi. Jika terjadi denaturasi, bagian aktif enzim akan terganggu dan kecepatan reaksi terganggu sehingga kecepatan reaksi akan menurun. Kenaikan suhu sebelum terjadi proses denaturasi enzim akan menaikkan kecepatan reaksi. Tetapi setelah terjadi proses denaturasi akan menurunkan kecepatan reaksi. Karena dua pengaruh yang berlawanan ini akan tercapai suatu suhu optimum yaitu suhu yang paling tepat bagi suatu reaksi yang menggunakan enzim.

Pengaruh pH

Enzim dapat berbentuk ion positif, ion negatif, atau ion bermuatan ganda (zwitter ion). Dengan demikian perubahan pH lingkungan akan berpengaruh terhadap efektifitas bagian aktif enzim dalam membentuk enzim-substrat.

Disamping pengaruh terhadap struktur ion pada enzim, pH rendah atau pH tinggi dapat pula menyebabkan terjadinya proses denaturasi dan ini akan

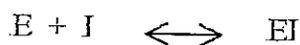
mengakibatkan menurunnya aktivitas enzim. Pada suatu pH tertentu yang dapat menyebabkan kecepatan reaksi paling tinggi, pH tersebut dinamakan pH optimum.

Pengaruh inhibitor

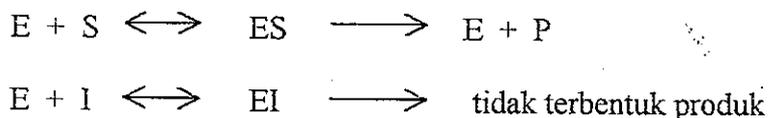
Mekanisme enzim dalam suatu reaksi ialah melalui pembentukan kompleks enzim-substrat (ES). Oleh karena itu hambatan atau inhibisi pada suatu reaksi yang menggunakan enzim sebagai katalis dapat terjadi apabila penggabungan substrat pada bagian aktif enzim mengalami hambatan. Molekul atau ion yang dapat menghambat reaksi tersebut dinamakan inhibitor. Hambatan yang dilakukan oleh inhibitor dapat berupa hambatan tidak reversibel dan hambatan reversibel.

Hambatan tidak reversibel pada umumnya disebabkan oleh terjadinya proses destruksi atau modifikasi sebuah gugus fungsi atau lebih yang terdapat pada molekul enzim.

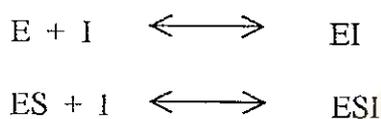
Hambatan reversibel dapat berupa hambatan bersaing atau hambatan tidak bersaing. Hambatan bersaing disebabkan karena ada molekul yang mirip dengan substrat, yang dapat pula membentuk kompleks, yaitu kompleks enzim-inhibitor (EI). Pembentukan kompleks EI ini sama dengan pembentukan kompleks ES, yaitu melalui penggabungan inhibitor dengan enzim pada bagian aktif enzim. Dengan demikian terjadi persaingan antara inhibitor dengan substrat terhadap bagian aktif enzim melalui reaksi sebagai berikut:



Inhibitor bersaing menghalangi terbentuknya kompleks ES dengan cara membentuk kompleks EI. Berbeda dengan kompleks ES, kompleks EI ini tidak dapat membentuk hasil reaksi (P).



Hambatan tidak bersaing tidak dipengaruhi oleh besarnya konsentrasi substrat. Inhibitor dapat bergabung dengan enzim pada suatu bagian enzim di luar bagian aktif. Penggabungan antara inhibitor dengan enzim ini terjadi pada enzim bebas atau enzim yang telah mengikat substrat yaitu kompleks enzim-substrat.



Penggabungan inhibitor dengan enzim bebas menghasilkan kompleks EI, sedangkan penggabungan dengan kompleks ES menghasilkan kompleks ESI. Baik kompleks EI maupun kompleks ESI bersifat inaktif. Ini berarti bahwa kedua kompleks tersebut tidak dapat menghasilkan produk yang diharapkan.

2.11. Amobilisasi Enzim

Amobilisasi enzim dapat dianggap sebagai perubahan enzim dari larut dalam air keadaan 'bergerak' menjadi keadaan 'tak bergerak' yang tidak larut. Amobilisasi mencegah difusi enzim ke dalam campuran reaksi dan mempermudah memperoleh kembali enzim tersebut dari aliran produk dengan teknik pemisahan padat atau cair yang sederhana.¹²⁾

Ada lima teknik atau metode amobilisasi, yaitu (1) adsorpsi enzim pada bahan pendukung; (2) pengikatan enzim secara kovalen pada bahan pendukung; (3) pengikatan silang enzim pada bahan pendukung; (4) penjeratan enzim dalam suatu bahan pendukung; (5) mikroenkapsulasi.¹³⁾

2.12. Alasan Amobilisasi Enzim

Enzim adalah katalisator yang menunjukkan fungsi dari induksi dan pengaturan reaksi, yang besarnya sebanding dengan kenaikan kecepatan reaksi. Tidak seperti kebanyakan katalisator anorganik, enzim umumnya larut dan tidak stabil, jadi katalisator organik ini dapat digunakan tetapi hanya pada larutan yang bebas dari zat pengganggu stabilitas enzim.¹⁴⁾

Secara tradisional penggunaan enzim adalah enzim bebas yang dipakai secara langsung, dengan melarutkan enzim bebas ke dalam larutan substrat. Penggunaan secara langsung dari enzim bebas secara skala besar pada industri mengandung beberapa kelemahan, antara lain :

1. Acapkali enzim bebas hanya dapat digunakan untuk satu kali proses karena pemisahan enzim dari produk sukar dilakukan.
2. Adakalanya proses inaktivasi enzim pada akhir reaksi perlu dilakukan dengan cara-cara yang dapat merusak produk, misalnya secara termal atau kimiawi.

Salah satu cara untuk menggunakan enzim dengan lebih efisien dan berulang kali dalam suatu proses industri adalah dengan penggunaan enzim amobil.¹³⁾

Adapun kelebihan enzim amobil adalah sebagai berikut :

1. Penggunaan ganda atau berulang-ulang dari enzim
2. Kemampuan untuk menghentikan reaksi dapat dikerjakan secara cepat dengan memindahkan enzim dari larutan reaksi
3. Dalam banyak hal, enzim distabilkan oleh ikatan
4. Dalam proses ini larutan tidak terkontaminasi dengan enzim
5. Proses analitik : - waktu paruh panjang
 - kecepatan peluruhan yang dapat diramalkan
 - pembuatan reagen dapat dihemat.¹⁴⁾

Meskipun secara teoritis penggunaan enzim amobil adalah lebih menguntungkan daripada enzim bebas untuk proses industri, kenyataannya tidak selalu demikian. Hal ini disebabkan proses amobilisasi enzim merubah parameter-parameter kinetik dan kestabilan enzim yang sangat ditentukan oleh teknik amobilisasi enzim yang digunakan.¹⁵⁾

2.13. Karrageenan

Rumput laut yang tergolong *Rhodophyceae* beberapa diantaranya mengandung bahan yang cukup penting yaitu *Karrageenan*. *Karragenophyt* adalah kelompok penghasil *Karrageenan* dari kelompok *Rodophyceae*. Kelompok ini antara lain adalah *Chondrus*, *Gigartina*, dan *Euchema*. *Karrageenan* terbagi atas dua fraksi yaitu *kappa karrageenan* dan *iota karrageenan*.¹⁶⁾

Kappa karrageenan adalah polisakarida yang mengandung ester sulfat, lebih dari 20% bagian gula tersulfonasi dan tidak larut dalam air dingin. Tetapi dapat

dilarutkan dengan pemanasan dan pada pendinginan terbentuk gel. Temperatur terjadinya gel dan kualitas gel tergantung pada konsentrasi polimer setara dengan jumlah dan tipe kation yang ada.¹⁴⁾

Kappa karrageenan diperoleh dari rumput laut jenis *Eucheuma cottonii*. Unit-unit penyusun polisakarida *Kappa karrageenan* adalah β -D-galaktosa sulfat dan 3,6, anhidro- α -D-galaktosa. Berat molekul *Kappa karrageenan* berkisar antara 100.000-800.000.¹⁷⁾

Struktur *Kappa karrageenan* adalah sebagai berikut :

