

UJI AKTIVITAS PROTEASE GETAH LABU SIAM DAN TALAS SERTA PERBANDINGANNYA TERHADAP GETAH PEPAYA

Ketut Ratnayani, A. A. Ayu Septri Juwarni*, A. A. I. A. Mayun Laksmiwati,
dan I G. A. Kunti Sri Panca Dewi

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Bali

**Email : gekseptri@gmail.com*

ABSTRAK

Getah pepaya (*Carica papaya* L.) yang dikenal luas sebagai sumber protease (papain) dapat menimbulkan rasa gatal jika bersentuhan dengan kulit. Beberapa getah tanaman lain yang dapat menimbulkan rasa gatal yaitu getah labu siam dan talas yang diduga kuat memiliki kandungan enzim protease. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan uji aktivitas protease pada getah tanaman talas (*Xantosoma sagittifolium* (L.) Schott) dan labu siam (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.), serta melakukan perbandingan aktivitasnya terhadap getah pepaya. Sampel getah talas dikumpulkan dari umbi, sedangkan labu siam dan pepaya diambil dari buah. Uji aktivitas protease dilakukan secara spektrofotometri (metode Anson) menggunakan substrat kasein. Hasil pengujian aktivitas protease menunjukkan bahwa getah talas dan labu siam positif mengandung protease namun dengan nilai aktivitas yang lebih rendah daripada getah pepaya, yaitu masing-masing sebesar 0,0123 U/mL dan 0,0264 U/mL. Sehingga getah tanaman talas dan labu siam berpotensi sebagai sumber protease alternatif. Perbandingan aktivitas protease tersebut terhadap getah pepaya berturut-turut (1 : 74,75) dan (1 : 34,82).

Kata kunci : getah labu siam, getah talas, getah pepaya, protease

ABSTRACT

Papaya (*Carica papaya* L.) latex has been used commercially as a protease (papain) sources. However it can cause itchy on the skin. Some other latex plants that can cause itchy were taro and chayote. They were strongly predicted to have protease components. This research aimed to determine protease activity of plants latex of taro (*Xantosoma sagittifolium* (L.) Schott) and chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.). The protease activity of these latex then were compared to the protease activity of papaya latex. Latex of papaya and taro were collected from fruit, while latex of chayote was collected from corm. The assay of protease activity was based on spectrophotometric methods (Anson's method) using casein as substrat. The result of protease activity assay showed that taro and chayote latex positively contains protease but their protease activities were less than papaya latex which were 0.0123 U/mL and 0.0264 U/mL respectively. It can be concluded that taro and chayote latex were potentially used as alternative protease sources. The protease activity ratio of taro latex to papaya was 1: 74.75 and the ratio of chayote latex to papaya latex was 1: 34.82.

Keywords : chayote latex, taro latex, papaya latex, protease

PENDAHULUAN

Di Indonesia, penelitian tentang penggunaan getah sebagai sumber protease masih relatif belum banyak dilakukan, sedangkan isolasi protease pada getah lebih sederhana dan efisien. Hal ini disebabkan isolasi protease getah yang

termasuk enzim ekstraseluler, dapat dilakukan tanpa pemecahan sel tumbuhan maupun penggerusan jaringan tumbuhan. Selain itu, protease yang terkandung pada getah memiliki aktivitas yang relatif lebih tinggi dibandingkan bagian tumbuhan lainnya. Hal ini didasarkan oleh penelitian yang dilakukan oleh Oseni and

Ekperigin (2013) yang mendapatkan bahwa getah *Calotropis procera* memiliki aktivitas protease yang lebih tinggi dibandingkan akar, batang muda, batang tua, daun, dan buahnya. Chaiwut *et al.* (2007) melaporkan bahwa aktivitas spesifik protease getah pepaya yaitu 4,95 U/mg dan kulit pepaya yaitu 1,07 U/mg. Getah merupakan emulsi lengket yang keluar dari jaringan tanaman yang terluka dan secara umum mengandung terpenoid, alkaloid, protein, fenolik, protease inhibitor, protease, kitinase, lektin (Agrawal and Konno, 2009), asam amino, vitamin, dan karbohidrat (Vierstra, 1996).

Getah pepaya merupakan salah satu sumber *papain* (protease) yang banyak digunakan dalam berbagai industri (Rani *et al.*, 2012). Kandungan enzim getah pepaya yang telah diketahui meliputi papain, kemopapain, glutamin siklotransferase, simopapain, lisosim, dan peptidase (Khrisna *et al.*, 2008). Getah pepaya dapat menyebabkan rasa gatal bila bersentuhan dengan kulit. Protease yang terkandung dalam buah nanas (bromelain) (Ramalingam *et al.*, 2012) dan getah mangga yang telah dilaporkan memiliki kandungan serin dan sistein protease (Saby *et al.*, 2003 dalam Agrawal and Konno, 2009) juga memiliki ciri yang mirip dengan pepaya yaitu dapat menyebabkan rasa gatal.

Reaksi gatal yang disebabkan getah tanaman pepaya, nanas, dan mangga, kemungkinan besar disebabkan oleh keberadaan protease, hal ini didukung oleh beberapa protease yang telah diisolasi dari getah pepaya (Sigma-P3375, 2013), nanas (Sigma-B4882, 2013), dan getah pinus (Sigma-F6008, 2013) dapat menyebabkan iritasi pada mata, kulit dan sistem pernafasan. Adanya rasa gatal akibat terjadinya iritasi yang disebabkan oleh protease (Lavinka dan Dong, 2013), maka perlu dilakukan uji aktivitas protease terhadap getah beberapa tanaman yang memiliki getah penyebab rasa gatal seperti labu siam dan talas serta perbandingannya dengan aktivitas protease getah pepaya.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan meliputi sampel getah (tanaman labu siam, talas dan pepaya), Asam

Trikloroasetat (TCA) 0,11 M, KH_2PO_4 0,05 M, K_2HPO_4 0,05 M, kasein 0,65% (b/v), Na_2CO_3 0,5 M, reagen Folin-Ciocalteu dan aquades. Pada pengukuran secara kolorimetrik (dengan spektrofotometer *Uv-Vis* digunakan L-tirosine sebagai larutan standar.

Peralatan

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 *stainles steel*, inkubator dan spektrofotometer *UV-Vis*.

Cara Kerja

Pengambilan Sampel Getah

Getah pepaya diperoleh dengan melukai buah pepaya muda dengan menggunakan pisau *stainles steel* pada kedalaman 1-2 mm, getah yang menetes keluar segera ditampung dengan botol vial. Untuk getah tanaman talas dan labu siam diperoleh dari membelah umbi talas dan buah labu siam. Setelah itu, getah diambil dengan bantuan pisau *stainles steel*. Sebagai upaya meminimalkan efek oksidasi dan denaturasi protein, sampel getah disimpan dalam termos es.

Preparasi Ekstrak Protease Kasar

Setiap 1 mL sampel getah tanaman ditambah 4 mL buffer fosfat 0,05 M (pH 7,0), setelah itu campuran ini disentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 7000 rpm hingga terbentuk dua lapisan yaitu supernatan dan residu. Supernatan yang didapatkan selanjutnya dipergunakan sebagai ekstrak protease kasar.

Uji Aktivitas Protease

Metode Anson yang telah dimodifikasi digunakan untuk melakukan uji aktivitas protease (Esmelrada, 2008). Dalam tabung sentrifugasi 1 (sampel), sebanyak 2,5 mL larutan kasein 0,65% (b/v) di pra-inkubasi pada suhu 37°C selama 4 menit. Kasein (substrat) yang telah diprainkubasi ini selanjutnya ditambah dengan 0,5 mL ekstrak protease kasar getah. Campuran ini kemudian divortex dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Setelah 30 menit, sebanyak 2,5 mL TCA 0,11 M ditambahkan ke dalam campuran untuk menghentikan reaksi hidrolisis. Campuran ini selanjutnya didiamkan selama 5 menit dan disentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan

7000 rpm. Supernatan yang dihasilkan ditentukan kadar tirosinnya secara kolorimetrik, yaitu sebanyak 1 mL supernatan direaksikan dengan 2,5 mL Na_2CO_3 dan 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu. Larutan ini selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada 729,6 nm. Kadar tirosin hasil hidrolisis digunakan untuk menentukan aktivitas protease ekstrak protease kasar getah tanaman. Hal yang sama juga dilakukan pada tabung sentrifugasi 2 (blanko), hanya saja penambahan TCA 0,11 M dilakukan sebelum penambahan ekstrak protease kasar getah tanaman. Larutan blanko ini berfungsi sebagai pengkoreksi kemungkinan adanya tirosin bebas yang bukan merupakan hasil hidrolisis selama waktu inkubasi. Aktivitas protease (U/mL) dinyatakan dalam unit aktivitas yaitu satu unit (U) dinyatakan sebagai jumlah enzim yang dapat menghidrolisis substrat dan menghasilkan warna setara dengan 1 μmol produk tirosin (181 μg) setiap menit waktu inkubasi pada kondisi percobaan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Protease Kasar

Ekstraksi protease kasar dari getah tanaman diawali dari pengumpulan sampel getah. Proses pengumpulan getah tanaman harus disesuaikan dengan karakteristik tanaman yang akan disadap, hal ini disebabkan perbedaan jumlah getah yang diproduksi oleh tanaman satu dengan yang lainnya. Pengumpulan sampel getah pepaya relatif lebih mudah dilakukan dibandingkan dengan tanaman talas dan labu siam, hal ini disebabkan tanaman pepaya memproduksi relatif lebih banyak getah. Sampel getah tanaman pepaya, labu siam dan talas yang didapatkan dalam penelitian ini berturut-turut berwarna putih susu, bening (tak berwarna), dan putih keunguan.

Proses ekstraksi protease kasar dari sampel getah dilakukan dengan menambahkan buffer fosfat pH 7 dan disentrifugasi 7000 rpm selama 10 menit hingga terbentuk dua lapisan yaitu residu dan supernatan. Lapisan residu harus dipisahkan dari supernatan karena lapisan ini sebagian besar komponen selain protein. Lapisan supernatan yang diperoleh selanjutnya digunakan sebagai ekstrak protease kasar. Ciri-ciri ekstrak protease kasar

getah tanaman pepaya, talas, dan labu siam dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Ciri fisik ekstrak protease kasar getah tanaman yang teramati

Ekstrak Protease Kasar Getah Tanaman	Ciri fisik yang teramati
Pepaya	Tidak berwarna, bening, tidak kental, tidak berbuih
Talas	Berwarna putih keunguan, keruh, tidak kental, tidak berbuih
Labu Siam	Tidak berwarna, bening, tidak kental, berbuih

Tabel 1 menunjukkan bahwa selain berasal dari sumber yang berbeda, masing-masing ekstrak protease kasar getah tanaman yang didapatkan dalam penelitian ini memiliki juga ciri yang berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan komponen kimia yang terkandung dalam ekstrak protease kasar getah tanaman pepaya, labu siam, dan talas juga berbeda.

Pengujian Aktivitas Ekstrak Protease Kasar

Uji aktivitas protease (metode Anson) memanfaatkan kasein 0,65% sebagai substrat. Ekstrak protease kasar masing-masing getah tanaman diuji aktivitas proteasenya dengan cara mereaksikan kasein dengan ekstrak protease getah dalam inkubator selama 30 menit, pH 7 dan suhu 37°C. Setelah 30 menit, reaksi hidrolisis kasein dihentikan dengan penambahan TCA. Setelah reaksi terhenti, dilakukan sentrifugasi untuk memperoleh supernatan yang mengandung tirosin. Kadar tirosin ditentukan secara kolorimetrik pada pH basa dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu. Kondisi basa dalam penelitian ini dicapai dengan penambahan Na_2CO_3 .

Asam amino (tirosin) merupakan salah satu komponen alami penyusun getah tanaman (Vierstra, 1996). Oleh karena itu, tirosin hasil hidrolisis (tirosin yang dihasilkan selama 30 menit waktu inkubasi) ditentukan kadarnya dengan mengurangi kadar tirosin setelah inkubasi (sampel) dengan kadar tirosin sebelum inkubasi (blanko). Kadar tirosin sebelum inkubasi, sesudah inkubasi dan hasil hidrolisis dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kadar tirosin sebelum inkubasi, sesudah inkubasi dan hasil hidrolisis

Getah Tanaman	Pengulangan	Kadar tirosin (μmol)		
		Sebelum Inkubasi (Blanko)	Sesudah Inkubasi (Sampel)	Hasil Hidrolisis
Pepaya	1	0,3323	0,8528	0,5205
	2	0,3137	0,7759	0,4622
	3	0,3284	0,8518	0,5234
	Rata-rata	0,3248 \pm 0,0098	0,8268 \pm 0,0441	0,5020 \pm 0,0345
Talas	1	0,0316	0,0376	0,0060
	2	0,0315	0,0375	0,0060
	3	0,0302	0,0384	0,0082
	Rata-rata	0,0311 \pm 0,0008	0,0378 \pm 0,0005	0,0067 \pm 0,0013
Labu Siam	1	0,0386	0,0531	0,0145
	2	0,0356	0,0522	0,0166
	3	0,0341	0,0468	0,0127
	Rata-rata	0,0361 \pm 0,0023	0,0507 \pm 0,0034	0,0146 \pm 0,0019

Kadar tirosin sebelum inkubasi (blanko) getah pepaya, talas, dan labu siam berturut-turut 0,3248 μmol ; 0,0311 μmol ; dan 0,0361 μmol menunjukkan bahwa ekstrak protease kasar getah tanaman secara alami telah mengandung tirosin bebas (sebelum dilakukan uji aktivitas protease), yang mana bila diurutkan dari kadar tirosin yang terbesar hingga terkecil berturut – turut yaitu getah pepaya, labu siam, dan talas. Kadar tirosin sampel merupakan total tirosin setelah inkubasi yang meliputi jumlah tirosin sebelum inkubasi dan jumlah tirosin hasil hidrolisis selama inkubasi. Getah pepaya, talas, dan labu siam memiliki kadar tirosin sampel berturut-turut 0,8268 μmol ; 0,0378 μmol ; dan 0,0507 μmol . Semakin besar selisih kadar tirosin sampel terhadap kadar tirosin blanko, maka semakin besar kadar tirosin hasil hidrolisis. Kadar tirosin hasil hidrolisis getah tanaman dengan kadar tertinggi hingga terendah berturut-turut getah pepaya (0,5020 μmol), labu siam (0,0146 μmol), dan talas (0,0067 μmol). Kadar tirosin hidrolisis secara tidak langsung mencerminkan aktivitas protease, yang mana semakin tinggi kadar tirosin hasil hidrolisis maka semakin tinggi pula aktivitas protease getah tanaman.

Hasil pengujian aktivitas ekstrak protease kasar getah tanaman pepaya, talas, dan labu siam berturut-turut 0,9194 U/mL; 0,0123 U/mL; dan 0,0264 U/mL seperti yang ditunjukkan pada Tabel 3. Perbedaan nilai aktivitas protease getah tanaman pepaya, labu siam, dan talas yang didapatkan pada penelitian ini, kemungkinan disebabkan perbedaan kadar protease, kemampuan (sifat kinetik) masing-

masing protease sebagai katalis, sifat fisik (kondisi optimum), ataupun jenis protease yang terkandung dalam getah tanaman. Aryulina, dkk (2004) menyatakan bahwa setiap jenis enzim memiliki sifat yang spesifik dan sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungannya. Ketidakesesuaian kondisi lingkungan dapat membuat turunya aktivitas enzim, inaktifnya enzim, dan rusaknya struktur enzim. Dengan demikian, kondisi lingkungan meliputi suhu, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, dan pH yang digunakan pada penelitian ini memberikan pengaruh yang berbeda bagi setiap jenis protease.

Tabel 3. Hasil uji aktivitas protease setiap mililiter getah tanaman

Jenis Getah Tanam an	Peng ulang an	Aktivitas Protease Per- mililiter Getah (U/mL)	Rata-Rata Aktivitas Protease Permililiter Getah (U/mL)
Pepaya	1	0,9542	0,9194 \pm 0,0627
	2	0,8470	
	3	0,9570	
Talas	1	0,0110	0,0123 \pm 0,0023
	2	0,0110	
	3	0,0150	
Labu Siam	1	0,0266	0,0264 \pm 0,0030
	2	0,0293	
	3	0,0233	

Perbandingan Aktivitas Protease Getah Tanaman Talas, Labu Siam terhadap Getah Pepaya

Berdasarkan hasil uji aktivitas protease getah tanaman pepaya, talas, dan labu siam, maka rasio perbandingan aktivitas protease getah tanaman talas dan labu siam relatif terhadap getah pepaya ditunjukkan oleh Tabel 4.

Tabel 4. Rasio perbandingan aktivitas protease getah tanaman talas dan labu siam terhadap getah pepaya

Aktivitas Protease	Rasio Perbandingan Aktivitas Protease
Talas : Pepaya	1 : 74,75
Labu siam : Pepaya	1 : 34,82

Perbandingan aktivitas protease getah labu siam dan getah talas terhadap getah pepaya berturut-turut hanya (1 : 34,82) dan (1 : 74,75), walaupun aktivitas protease kedua getah tanaman ini kecil namun ketersediaan tanaman ini sangat melimpah, sehingga kedua tanaman ini dapat digunakan sebagai sumber protease alternatif. Hal ini juga didukung dari nilai aktivitas protease getah talas (0,0123 U/mL) atau labu siam (0,0264 U/mL) yang mendekati nilai aktivitas protease relatif getah tanaman *sodom apple* (tanaman yang sering digunakan dalam proses pembuatan keju) yang hanya sebesar 0,052 U/mL (Oseni and Ekperigin, 2013). Hasil perbandingan aktivitas protease getah labu siam dan talas terhadap getah pepaya pada suhu 37°C dan pH 7 secara keseluruhan menunjukkan bahwa getah pepaya memiliki aktivitas protease yang lebih besar. Namun, tidak menutup kemungkinan pada kondisi yang berbeda aktivitas protease getah labu siam dan talas mengalami peningkatan, mengingat tiap enzim dari sumber yang berbeda (meskipun mengkalisis reaksi yang sama) akan memiliki sifat fisik (kondisi optimum) dan sifat kinetik yang spesifik.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa getah talas dan labu siam positif mengandung enzim protease namun dengan nilai aktivitas yang lebih rendah daripada

getah pepaya, yaitu masing-masing sebesar 0,0123 U/mL dan 0,0264 U/mL. Sehingga getah tanaman talas dan labu siam berpotensi sebagai sumber protease alternatif dengan rasio perbandingan aktivitas protease terhadap getah pepaya berturut-turut (1 : 74,75) dan (1 : 34,82).

Saran

Perlu penelitian lebih lanjut tentang pemurnian dan karakterisasi enzim protease getah tanaman talas dan labu siam.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis sampaikan ucapan terima kasih kepada LPPM UNUD atas bantuan dana yang diberikan melalui Hibah Penelitian Dosen Muda dana DIPA-PNBP dengan Kontrak Nomor : 237-46/UN14.2/PNL.01.03.00/2014 serta semua pihak yang memberi dukungan dan saran hingga penelitian ini terselesaikan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal, A. A. and Konno, K., 2009, *Latex: A Model for Understanding Mechanisms, Ecology, and Evolution of Plant Defense Against Herbivo*, *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40 : 311-331
- Aryulina, D., Muslim, C., Manaf, S., dan Winarni, E.W., 2004, *Biologi 3*, Erlangga, Jakarta
- Chaiwut, P., Nitsawang, S., Shank, L., and Kanasawud, P., 2007, A Comparative Study on Properties and Proteolytic Components of Papaya Peel and Latex Proteases, *Chiang Mai J. Sci.*, 34 (1) : 109-118
- Esmelrada, W., 2008, Optimasi Kultur pada Proses Fermentasi Kecap, *Skripsi*, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Khrisna, K.I., Paridvani, M., and Patel, J.A., 2008, Review on nutritional, medical and pharmacological properties of Papaya (*Carica papaya* Linn.), *Natural Product Radiance*, 7 (4) : 364-373

- Lavinka, P.C. and Dong, X., 2013, Molecular signaling and targets from itch: lessons for cough, *BioMed Central*, 1-13
- Oseni, O.A., and Ekperigin, M.M., 2013. Distribution of proteolytic and milk clotting enzymes in the plant of Sodom apple *Calotropis procera* (Ait.) R.Br. (Asclepiadaceae), *International Journal of Biotechnology Research*, I (2) : 024-027
- Ramalingam, C., Srinath, R., and Islam, N.N., 2012. Isolation and Characterization of Bromelain from Pineapple (*Ananas Comosus*) and Comparing its Anti-browning Activity on Apple Juice with Commercial Anti-browning Agents, *Elixir Food Science*, 45 : 7822-7826
- Rani, K., Rana, R., and Datt, S., 2012, Review on Latest Overview of Protease, *International Journal Of Current Life Sciencs*, 2 : 12-18
- Sigma-B4882, 2013, Saftey Data Sheet, <http://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDS_Page.do?country=ID&language=en&productNumber=B4882>, diakses tanggal 2 Desember 2013
- Sigma-F6008, 2013, Saftey Data Sheet, <http://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDS_Page.do?country=ID&language=en&productNumber=F6008>, diakses tanggal 2 Desember 2013
- Sigma-P3375, 2013, Saftey Data Sheet, <http://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDS_Page.do?country=ID&language=en&productNumber=P3375>, diakses tanggal 2 Desember 2013
- Vierstra, RD., 1996, Proteolysis in plants: mechanism and functions, *Plant Mol Biol*, 32 : 275