

---

---

ISOLASI PAPAIN DARI KULIT BUAH PEPAYA (*Carica papaya* L.)  
MENGUNAKAN BUFFER FOSFAT pH 8

---

---

Yohana Rosari\* Anifatus Sa'adah\* Tunik Saptawati\*

\**STIKES Telogorejo Semarang*

*Email: yohana.rosari@gmail.com*

---

---

**ABSTRAK**

Papain merupakan enzim proteolitik yang banyak dimanfaatkan dalam industri makanan, farmasi, dan kosmetik. Enzim ini secara umum diekstraksi dari getah buah pepaya, namun bagian lain seperti kulit buah juga berpotensi sebagai sumber papain. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi enzim papain dari kulit buah pepaya (*Carica papaya* L.) dengan menggunakan larutan buffer fosfat pH 8 sebagai media ekstraksi. Proses isolasi dilakukan melalui tahap homogenisasi, filtrasi, dan sentrifugasi untuk memperoleh ekstrak kasar enzim. Uji kualitatif dilakukan dengan menggunakan uji biuret dan ninhidrin. Hasil uji menunjukkan bahwa larutan hasil isolasi papain pH 8 positif terhadap uji ninhidrin, yang ditandai dengan munculnya warna ungu, mengindikasikan adanya asam amino. Sebaliknya, hasil uji biuret tidak adanya perubahan warna, menandakan bahwa protein telah terdegradasi. Temuan ini menegaskan bahwa kulit pepaya dapat dimanfaatkan sebagai sumber alternatif papain, sekaligus mendukung upaya pemanfaatan limbah pertanian secara lebih berkelanjutan.

**Kata Kunci** : papain, kulit buah pepaya, *Carica papaya* L., buffer fosfat, isolasi enzim, pH 8

**ABSTRACT**

*Papain is a proteolytic enzyme widely utilized in the food, pharmaceutical, and cosmetic industries. This enzyme is generally extracted from the latex of papaya fruit; however, other parts, such as the fruit's skin, also have the potential to serve as a source of papain. This study aims to isolate the papain enzyme from the skin of papaya (*Carica papaya* L.) using a phosphate buffer solution at pH 8 as the extraction medium. The isolation process involves homogenization, filtration, and centrifugation to obtain a crude enzyme extract. Qualitative tests were conducted using the biuret and ninhydrin tests. The results indicate that the solution obtained from the papain isolation at pH 8 tested positive for the ninhydrin test, as evidenced by the appearance of a purple color, indicating the presence of amino acids. Conversely, the biuret test showed no color change, indicating that the protein had been degraded. These findings confirm that papaya skin can be utilized as an alternative source of papain, while also supporting efforts to utilize agricultural waste more sustainably.*

**Keywords** : papain, papaya peel, *Carica papaya* L., phosphate buffer, enzyme isolation, pH 8

*Kolaborasi Interprofesional Kesehatan dalam Menjaga  
Sistem Muskuloskeletal Untuk Meningkatkan Kualitas Hidup*

## PENDAHULUAN

Panen buah pepaya semakin banyak dengan bertambahnya minat masyarakat, namun selama ini masyarakat hanya memanfaatkan olahan buah, daun, dan bunga pepaya untuk dikonsumsi. Sementara kulit buahnya dibuang menjadi limbah atau sampah organik. Hal itu yang menjadikan kulit buah pepaya dimanfaatkan sebagai enzim untuk mengurangi limbah dan menghasilkan nilai tambah (Rahmatullah *et al.*, 2023).

Papain merupakan enzim protease yang banyak ditemukan dalam getah serta dapat memecah protein (Nuryati *et al.*, 2018). Aktivitas enzim protease berperan penting dalam berbagai proses biologis, seperti pencernaan dan metabolisme protein. Seperti yang dijelaskan sebelumnya, enzim ini dapat menghidrolisis protein menjadi asam amino dengan memotong ikatan peptide. Karena kemampuannya ini, menjadikan enzim papain sangat cocok untuk industri makanan, farmasi, dan kosmetik (Ramadhani *et al.*, 2015). Oleh karena itu, isolasi papain dari kulit buah pepaya menjadi penting untuk memanfaatkan sumber daya alam secara optimal.

Faktor lingkungan seperti pH, suhu, aktivator (pengaktif), inhibitor (penghambat), konsentrasi substrat, dan konsentrasi enzim adalah beberapa faktor yang mempengaruhi enzim. Setiap enzim memiliki pH ideal untuk mencapai kinerjanya. Jika pH tidak sesuai, kinerja enzim akan terganggu, yang mengakibatkan tidak dapat bekerja secara optimal (Arsal *et al.*, 2023).

Proses isolasi papain dapat dilakukan dengan berbagai metode, salah satunya adalah menggunakan buffer fosfat dengan pH 8. Buffer fosfat pada pH ini

dipilih karena dapat menjaga stabilitas enzim selama proses ekstraksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi papain dari kulit buah pepaya dan membuktikan keberhasilan isolasi tersebut melalui uji biuret dan uji ninhidrin.

## METODOLOGI PENELITIAN

1. Alat dan Bahan  
Alat *Centrifuge* (OHAUS), *incubator* (IN55 Memmert), blender, *vortex*, alat gelas laboratorium (pyrex). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini kulit buah pepaya segar jenis Thailand berumur kurang lebih 2 bulan yang diperoleh dari Desa Karangnongko, Kecamatan Mojosongo, Boyolali, buffer fosfat pH 8, reagen uji biuret, reagen uji ninhidrin, air distilasi.
2. Prosedur penelitian.
  - a. Pengumpulan dan Pemilihan Bahan  
Pencucian dan penyortiran (sortasi basah) untuk memisahkan bagian tanaman yang akan digunakan dalam penelitian yaitu kulit buah pepaya. Pemilihan bahan sesuai dengan kebutuhan yang digunakan dalam penelitian yaitu, menggunakan buah pepaya varietas Thailand dengan buahnya yang masih belum matang berumur kurang lebih 2 bulan yang memiliki kandungan enzim papain.
  - b. Isolasi Enzim Papain  
Kulit buah pepaya segar yang telah dikupas, lalu dihaluskan dengan blender). Kulit dihaluskan dengan penambahan larutan buffer fosfat pH 8 dengan perbandingan (1:1) hingga membentuk pasta. Pasta yang telah jadi, disaring menggunakan

*Kolaborasi Interprofesional Kesehatan dalam Menjaga  
Sistem Muskuloskeletal Untuk Meningkatkan Kualitas Hidup*

kain flannel, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm selama 15 menit pada suhu 4 °C (Singla & Sit, 2023).

- c. Pengujian Kualitatif  
Uji Biuret: Larutan hasil isolasi dicampurkan dengan reagen biuret. Warna ungu menunjukkan adanya protein, yang mengindikasikan keberadaan papain.

Uji Ninhidrin: Larutan hasil ekstraksi dicampurkan dengan ninhidrin. Timbulnya warna ungu menunjukkan adanya asam amino, yang juga mengindikasikan keberadaan papain

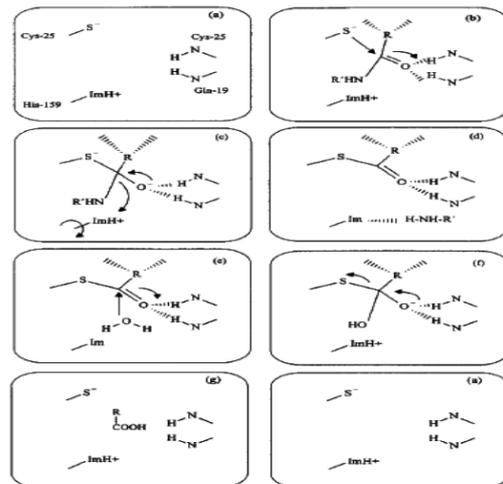
menunjukkan penurunan atau hilangnya warna ungu menandakan berkurangnya ikatan peptida pada kasein dan protein telah terdegradasi menjadi molekul yang lebih kecil atau asam amino (Dirga *et al.*, 2019). Sementara itu, hasil uji ninhidrin yang positif ditandai dengan munculnya warna ungu, mengindikasikan terbentuknya asam amino bebas sebagai hasil degradasi kasein oleh papain (Dwiningrum *et al.*, 2023).

Aktivitas enzim papain ditandai dengan proses pemecahan substrat menjadi produk oleh asam amino His dan Sis pada sisi aktif enzim. Selama proses hidrolisis protein, gugus-gugus amida akan terhidrolisis oleh papain secara bertahap dengan reaksi yang ditunjukkan melalui gambar berikut ini (Sumarlin *et al.*, 2012).

**HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

Enzim papain memiliki kemampuan untuk memecah ikatan peptida dalam protein menjadi bagian yang lebih pendek. Papain digunakan sebagai pelunak daging dalam industri makanan karena memiliki aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan protease lainnya (Saeed *et al.*, 2014). Mekanisme kerja enzim ini melibatkan pemecahan molekul protein melalui proses hidrolisis. Enzim ini akan terlebih dahulu memecah mukopolisakrida yang terdapat dalam matriks substansi dasar. Setelah itu, serat-serat tenunan pengikat dalam akan secara cepat hilang (Minah *et al.*, 2021).

Papain dinyatakan berhasil terisolasi apabila enzim tersebut mampu menghidrolisis kasein menjadi asam amino, yang dapat dibuktikan melalui analisis kualitatif dengan uji biuret dan uji ninhidrin. Keberhasilan hidrolisis ditunjukkan dengan hasil biuret yang



**Gambar 1. Proses pemecahan protein kasein oleh enzim menjadi asam amino**

Uji biuret digunakan untuk mendeteksi keberadaan ikatan peptida dalam protein. Proses pengujian ini dilakukan dengan penambahan reagen biuret yang terdiri dari CuSO<sub>4</sub> dan NaOH. Sampel yang mengandung banyak ikatan peptida (protein utuh) akan menghasilkan warna ungu. Warna ungu ini terbentuk karena ion Cu<sup>2+</sup> berinteraksi dan membentuk kompleks dengan ikatan peptida (Lubis *et*

*Kolaborasi Interprofesional Kesehatan dalam Menjaga  
Sistem Muskuloskeletal Untuk Meningkatkan Kualitas Hidup*

al., 2024). Isolasi enzim papain pada uji biuret menunjukkan hasil negatif, ditandai dengan tidak terjadi perubahan warna menjadi ungu atau warna tetap.

Uji ninhidrin dapat digunakan untuk analisis kualitatif asam amino. Tujuan dari analisis kualitatif ini adalah untuk mengidentifikasi keberadaan asam amino bebas dari suatu sampel. Asam amino bebas adalah asam amino yang memiliki gugus amino yang tidak terikat. Ninhidrin adalah reagen triketon siklik yang ketika bereaksi dengan asam amino akan menghasilkan warna biru-ungu. Dalam uji ini, ninhidrin berfungsi sebagai oksidator yang menyebabkan dekarboksilasi oksidatif dari  $\alpha$  asam amino, menghasilkan  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ , dan aldehid dengan rantai karbon yang lebih pendek daripada asam amino asalnya. Ninhidrin yang tereduksi kemudian bereaksi dengan  $\text{NH}_3$ , untuk membentuk senyawa kompleks yang menghasilkan warna biru-ungu. Semakin banyak ninhidrin yang bereaksi dengan zat uji, maka semakin pekat warna yang dihasilkan (Prastika *et al.*, 2019). Isolasi enzim papain pada uji ninhidrin menunjukkan hasil positif, ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi ungu.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa uji biuret menunjukkan hasil negatif, sementara uji ninhidrin menunjukkan hasil positif karena protease telah mengubah kasein (protein) menjadi asam amino yang ditunjukkan pada tabel dibawah ini.

**Tabel 1. Hasil uji biuret dan uji ninhidrin pada enzim papain dan pembanding**

Sampel	Hasil	Keterangan
--------	-------	------------

Uji biuret 1 (enzim papain) (-) asam amino



Uji ninhidrin 1 (enzim papain) (+) asam amino, terjadi perubahan warna ungu



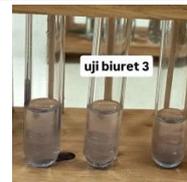
Uji biuret 2 (pembanding asam amino) (-) asam amino



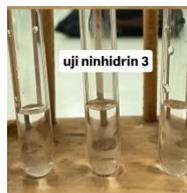
Uji ninhidrin 2 (pembanding asam amino) (+) asam amino, terjadi perubahan warna ungu



Uji biuret 3 (pembanding protein) (+) protein, terjadi perubahan warna ungu



Uji ninhidrin 3 (pembanding protein) (-) protein



Isolasi papain dari kulit buah pepaya menggunakan buffer fosfat pH 8 terbukti efektif. Stabilitas pH yang dijaga oleh buffer fosfat membantu mempertahankan aktivitas enzim selama proses ekstraksi. Hasil uji biuret dan ninhidrin menunjukkan bahwa papain berhasil diisolasi, mengindikasikan bahwa kulit

*Kolaborasi Interprofesional Kesehatan dalam Menjaga  
Sistem Muskuloskeletal Untuk Meningkatkan Kualitas Hidup*

pepaya merupakan sumber yang baik untuk enzim ini. Dengan demikian, kedua uji tersebut membuktikan bahwa papain yang diisolasi memiliki aktivitas proteolitik yang efektif dalam mengubah kasein menjadi asam amino.

Penelitian sebelumnya oleh Anggraini *et al* (2020) juga mendukung temuan ini, di mana papain dari pepaya menunjukkan aktivitas proteolitik yang signifikan. Potensi aplikasi papain dalam industri pangan dan farmasi semakin menegaskan pentingnya penelitian lebih lanjut terhadap isolasi enzim ini.

## **PENUTUP**

### **Kesimpulan**

Isolasi papain dari kulit buah pepaya menggunakan buffer fosfat pH 8 berhasil dilakukan. Pengujian kualitatif melalui uji biuret dan ninhidrin menunjukkan adanya protein dan asam amino, yang mengindikasikan keberadaan papain. Kulit buah pepaya dapat menjadi sumber enzim yang ekonomis dan efisien.

### **Saran**

Disarankan agar penelitian selanjutnya difokuskan pada pengoptimalan kondisi isolasi papain dari kulit buah pepaya serta mencakup uji aktivitas enzim papain untuk mengeksplorasi aplikasi praktis papain dalam industri makanan dan farmasi. Edukasi masyarakat tentang manfaat kulit pepaya sebagai sumber enzim juga sangat diperlukan untuk mendukung pengurangan limbah pertanian.

## **DAFTAR PUSTAKA**

Anggraini, D., Susanti, E., & Saputra, N. (2020). Efektivitas Krim Papain Kasar Getah Buah Pepaya (*Carica Papaya*

L.) yang Diolah dengan Metode Freeze Drying terhadap Penyembuhan Penebalan Kulit (Callus). *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*, 6(1), 1–6.

Arsal, A. F., Fauzi, A. Z., Permana, A. A., Noris, M., Rasmani, R., AS, A. P., Al-Hakim, R. R., Pratiwi, R. H., Taufiqurrahman, M., Perdana, A. T., & Junaedi. (2023). *Bioteknologi (1)* (M. S. Dr. Neila Sulung, N.S., S.Pd., M.Kes. Mila Sari (ed.); Issue March). PT GLOBAL EKSEKUTIF TEKNOLOGI.

Dirga, Asyhari, N., & Djayanti, A. D. (2019). Analisis Protein pada Tepung Kecambah Kacang Hijau (*Phaseolus aureus* L.) yang Dikecambahkan Menggunakan Air, Air Cucian Beras dan Air Kelapa. *Journal of Science and Application Technology*, 2(1), 27–33.

Dwiningrum, R., Pisacha, I. M., & Nursoleha, E. (2023). Review: Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Kandungan Protein Pada Olahan Bahan Pangan. *Journal Pharmacy Aisyah*, 2(2), 60–67.

Lubis, R. A. F., Ginting, W. M., Sipahutar, D. M., & Sipayung, A. R. (2024). Identifikasi Asam Amino dan Protein Pada Bahan Makanan Dengan Menggunakan Uji Ninhidrin dan Uji Biuret. *Sains Indonesiana: Jurnal Ilmiah Nusantara*, 2(3), 10–14.

Minah, F. N., Muyassaroh, Azizah, W., & Sabrina, M. (2021). Pengaruh Variasi Suhu dan Waktu Pengeringan Pada Pembuatan Enzim Papain dari Ekstrak Daun Pepaya. *ATMOSPHERE*, 2(2), 15–21.

Nuryati, N., Budiantoro, T., & Inayati, A. S. (2018). Pembuatan Enzim Papain Kasar dari Biji, Daun dan Kulit Pepaya dan Aplikasinya untuk Pembuatan Virgin Coconut Oil (VCO). *Jurnal Teknologi Agro-Industri*, 5(2), 77–89.

Prastika, H. H., Ratnayani, K., Puspawati,

*Kolaborasi Interprofesional Kesehatan dalam Menjaga  
Sistem Muskuloskeletal Untuk Meningkatkan Kualitas Hidup*

- N. M., & Laksmiwati, A. A. I. A. M. (2019). Penggunaan Enzim Pepsin Untuk Produksi Hidrolisat Protein Kacang Gude (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) Yang Aktif Antioksidan. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*, 7(2), 180–188.
- Rahmatullah, Putri, R. W., & Persada, G. A. (2023). Fruitin Donuts: Pembuatan Donat Hasil Olahan Kulit Pepaya dan Biji Buah Alpukat. *Jurnal Pengabdian Community*, 5(2), 60–63.
- Ramadhani, P., Rukmi, M. G. I., & Pujiyanto, S. (2015). Produksi Enzim Protease dari *A. niger* PAM18A dengan Variasi pH dan Waktu Inkubasi. *Jurnal Biologi*, 4(2), 25–34.
- Saeed, F., Arshad, M. U., Pasha, I., Naz, R., Khan, A. A., Nasir, M. A., Shafique, B., Saeed, F., Arshad, M. U., Pasha, I., Naz, R., Batool, R., Khan, A. A., Nasir, M. A., & Shafique, B. (2014). Nutritional and Phyto-Therapeutic Potential of Papaya (*Carica Papaya* Linn.): An Overview. *International Journal of Food Properties*, 17(7), 1637–1653.
- Singla, M., & Sit, N. (2023). Isolation of Papain From Ripe Papaya Peel Using Aqueous Two-phase Extraction. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17(2), 1685–1692.
- Sumarlin, L. O., Nurbayti, S., & Fauziah, S. (2012). Penghambatan Enzim Pemecah Protein (Papain) Oleh Ekstrak Rokok, Minuman Beralkohol Dan Kopi Secara In Vitro. *Jurnal Kimia Valensi*, 2(3), 449–458.