

Purification and Optimization Immobilization of Papain in Latex from Mountain Papaya (*Vasconcellea pubescens*) fruit

Geraldine L.A. Gontha

ABSTRACT

Papain is one of the cysteine protease found in papaya latex. This enzyme belongs to the hydrolase group with lots of benefits, roles and usefulness in various fields. Papain has a huge market potential because it is used by almost all industries. *Vasconcellea pubescens* (also called mountain papaya) is one type of papaya which is capable of producing large quantities of latex but has not been used as a source of papain. By the study conducted before, it was found that purification of *V. pubescens* papain using two step salt precipitation method has not been able to purify papain maximally. Likewise, immobilization of the enzyme using encapsulation method in alginate and CaCl_2 also not obtain satisfactory results as papain immobile can be used only 3 times. This study aims to purify papain from *V. pubescens* fruit latex by Aqueous Two Phase Systems (ATPS) extraction technique. In this study will also be carried out optimization of papain immobilization through variations in the concentration of CaCl_2 . The results show that papain *V. pubescens* has a high specific activity ($93,62 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$; $115,01 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ dan $107,63 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$) and work optimally at pH 5-6 and a temperature of 75°C . Visualization of molecular weight by SDS-PAGE showed four protein bands suspected as papain has a molecular weight of 27.66 kDa, 11.17 kDa, 30.04 kDa and 36.16 kDa. Optimization of immobilization through variations in the concentration of CaCl_2 showed the highest activity is at a concentration of 1 M and Ca-alginate beads can be used in 4 cycles of repeated use

Keywords : papain, *V. pubescens*, purification, immobilization.

Pemurnian dan Optimasi Imobilisasi Papain Getah Buah Pepaya Gunung (*Vasconcellea pubescens* A. DC.)

Geraldine L.A. Gontha

INTISARI

Papain adalah protease sistein yang ditemukan dalam getah pepaya. Enzim yang termasuk golongan hidrolase ini memiliki potensi pasar yang besar karena digunakan oleh hampir semua industri. *Vasconcellea pubescens* atau sering disebut pepaya gunung merupakan salah satu jenis pepaya yang mampu memproduksi getah dalam jumlah banyak namun belum dimanfaatkan sebagai sumber papain. Penelitian sebelumnya belum mampu memurnikan papain *V. pubescens* secara maksimal dengan menggunakan metode pengendapan bertingkat. Demikian pula imobilisasi dengan metode penjerapan alginat dan CaCl₂ juga belum memperoleh hasil yang memuaskan karena papain imobil *V. pubescens* hanya dapat digunakan sebanyak 3 kali. Pada penelitian ini dilakukan purifikasi papain dari getah buah *V. pubescens* dengan teknik pemisahan sistem cairan 2-fase (*Aqueous Two Phase Systems* – ATPS), dan optimasi imobilisasi papain untuk penggunaan berulang melalui variasi konsentrasi CaCl₂. Hasil penelitian menunjukkan papain *V. pubescens* memiliki aktivitas spesifik yang tinggi (93,62 $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$; 115,01 $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ dan 107,63 $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$) dan bekerja optimum pada pH 5-6 dan suhu 75°C. Visualisasi berat molekul dengan SDS-PAGE menunjukkan empat pita protein yang diduga papain memiliki berat molekul 27,66 kDa, 11,17 kDa, 30,04 kDa dan 36,16 kDa. Optimasi imobilisasi melalui variasi konsentrasi CaCl₂ menunjukkan aktivitas tertinggi berada pada konsentrasi 1 M dan beads Ca-alginat dapat digunakan dalam 4 siklus penggunaan berulang.

Kata kunci : papain, *V. pubescens*, purifikasi, imobilisasi.