

Nusa Kimia

Jurnal Ilmu-ilmu Kimia

Pengaruh Penambahan Dispersing Agent terhadap Kualitas Pasta Pewarna
Pigmen Carbon Black

Oleh : Supriyono Eko Wardoyo, Ricson P. Hutagaol, Dina Rudita dan
Dede Nuraini

Pemanfaatan Biji Durian dan Biji Nangka sebagai Ekstender Perchat Urea
Formaldhid dalam Pembuatan Kayu Lapis Khava (*Khaya anthotheca*
Bull.)

Oleh : Adi Santoso

Efek Antioksidan dan Pengkelat Logam terhadap Aktivitas Proteolitik Enzim
Papain Daun Pepaya

Oleh : A.E. Zainal Hasan, RTM Sufamihardja dan Enok Masanah

Penggunaan Sumber Karbon yang Berbeda dalam Proses Fermentasi
Monascus Powder dan Pengaruhnya terhadap Kadar Lovastatin

Oleh : Djadjat Tisnadjaja dan Elin Herlina

Potensi Teknologi Membran dalam Proses Pembuatan Susu Rendah Lemak
sebagai Alternatif Pengganti Pasterisasi

Oleh : Mahyudin Abdul Rahman, Aspiyanto dan A.M. Lutfi

Biokonversi Karbondioksida untuk Bahan Baku Industri

Oleh : Untung Suwahyono

DAFTAR ISI

Nusa Kimia

Jurnal Ilmu-Ilmu Kimia
Vol. 3 No. 2, Desember 2003

Pengantar dari Redaksi	i
Daftar Isi	ii
Pengaruh Penambahan Dispersing Agent terhadap Kualitas Pasta Pewarna Pigmen Carbon Black <i>Oleh : Supriyono Eko Wardoyo, Ricson P. Hutagaol, Dina Rudita dan Dede Nuraini</i>	1 - 13
Pemanfaatan Biji Durian dan Biji Nangka sebagai Ekstender Perekat Urea Formaldehida dalam Pembuatan Kayu Lapis Khaya (<i>Khaya anthoheca</i> , Bull) <i>Oleh : Adi Santoso</i>	14 - 19
Efek Antioksidan dan Pengkelat Logam terhadap Aktivitas Proteolitik Enzim Papain Daun Pepaya <i>Oleh : A.E. Zainal Hasan, RTM Sutamihardja dan Enok Hasanah</i>	20 - 26
Penggunaan Sumber Karbon yang Berbeda dalam Proses Fermentasi Monascus Powder dan Pengaruhnya terhadap Kadar Lovastatin <i>Oleh : Djadjat Tisnadaja dan Elin Herlina</i>	27 - 30
Potensi Teknologi Membran dalam Proses Pembuatan Susu Rendah Lemak sebagai Alternatif Pengganti Pasteurisasi <i>Oleh : Mahyudin Abdul Rahman, Aspiyanto dan A.M. Lutfi</i>	31 - 39
Biokonversi Karbondioksida untuk Bahan Baku Industri <i>Oleh : Untung Suwahyono</i>	40 - 45

EFEK ANTIOKSIDAN DAN PENGKELAT LOGAM TERHADAP AKTIVITAS PROTEOLITIK ENZIM PAPAIN DAUN PEPAYA

Oleh :

A.E. Zainal Hasan¹, RTM. Sutamihardja², dan Enok Hasanah³

ABSTRACT

A.E. Zainal Hasan, RTM. Sutamihardja, and Enok Hasanah. Effects of Antioxidant and Chellating Agent to Papain Enzyme Proteolytic Activity of Papaya Leaves. Nusa Kimia Journal Vol. 3 No. 2 Dec 2003 : 20 - 26

Papaya (*Carica papaya* L.) is a plant originally came from Central America. Almost whole parts of this plant contain papain except on the root and seed. Papain is a proteolytic enzyme which have an ability to hidrolize protein. Papain is very sensitive to oxygen and metal compound. Papain also can be damaged in the presence of oxygen and metal compound, causing the proteolytic activity of papain become lower. The aim of the study is to see the effects of Na-metabisulfite as an antioxidant and Na-EDTA as a chellating agent to papain, and the physical characteristic of papaya leaves. The papain proteolytic activity of leaves.

The result of this study showed that Na-metabisulfite and Na-EDTA increased the proteolytic activity of leaves. The maximum proteolytic activity were obtained by treating on 2% Na-metabisulfite and 1% Na-EDTA concentration. Besides increasing the proteolytic activity, it could also maintain physical quality of the papaya sap. The treated papaya sap there was no changes on color and smell comparing with the non treated one.

Keywords : Papain, Protease, Papaya, Antioxidant, Chellating Agent, and Enzyme Proteolytic

ABSTRAK

Pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan tanaman yang berasal dari Amerika Tengah. Hampir seluruh bagian dari tanaman ini mengandung papain kecuali bagian akar dan bijinya. Papain merupakan enzim proteolitik yang memiliki kemampuan untuk menghidrolisis protein. Papain sangat peka terhadap adanya senyawa oksigen dan senyawa logam. Adanya senyawa oksigen dan senyawa logam dapat menyebabkan kerusakan pada papain sehingga aktivitas proteolitik papain menjadi rendah. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh penambahan Na-metabisulfit sebagai antioksidan dan Na-EDTA sebagai pengkelat logam pada papain, serta sifat fisik papain pada getah daun. Selain itu dilihat pula perbedaan aktivitas proteolitik antara papain dari getah daun.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan Na-metabisulfit dan Na-EDTA dapat meningkatkan aktivitas proteolitik pada getah daun. Aktivitas proteolitik maksimum diperoleh pada konsentrasi Na-metabisulfit 2% dan Na-EDTA 1%. Selain dapat meningkatkan aktivitas proteolitik, Na-metabisulfit dan Na-EDTA dapat menjaga kualitas fisik getah pepaya. Getah pepaya yang diberi perlakuan tidak mengalami perubahan warna dan bau, sedangkan getah tanpa perlakuan mengalami perubahan warna dan bau.

Kata kunci : Papain, Protease, Pepaya, Antioksidan, Kellating Agent, dan Proreolitik Enzim

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Enzim merupakan protein yang mempunyai fungsi khas dalam reaksi metabolisme tubuh, juga penting dalam reaksi lainnya. Dalam perkembangannya enzim merupakan alternatif utama dalam bidang industri, pengobatan dan analisis. Menurut Suhartono (1991) salah satu

keuntungan pemakaian enzim adalah enzim merupakan senyawa alamiah yang ramah lingkungan.

Enzim banyak berguna dalam aplikasi komersial karena sebagai biokatalis enzim bekerja secara spesifik dan sangat efisien. Salah satu enzim yang telah banyak dipelajari adalah enzim protease. Jenis enzim ini merupakan enzim yang terpenting dari segi ekonomi karena menguasai 59% dari total penjualan enzim di dunia (Suhartono, 1991). Salah satu jenis enzim protease yang banyak

¹Dosen Biokimia, FMIPA IPB ²Dosen FMIPA-UNB

³Asisten Dosen Biokimia, FMIPA IPB

digunakan dalam bidang industri saat ini adalah papain.

Papain adalah enzim yang berasal dari getah pepaya. Seluruh tanaman pepaya baik daun, batang maupun buahnya mengandung papain. Papain dikenal sebagai enzim proteolitik yang dapat menguraikan molekul protein menjadi molekul-molekul peptida dan polipeptida yang lebih sederhana. Papain adalah salah satu jenis enzim protease yang tersusun dari 212 residu asam amino dengan berat molekul 21000 Dalton (Muchtadi, 1992). Enzim ini termasuk dalam golongan enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh tanaman pepaya. Saat ini papain digunakan secara luas dalam industri seperti industri penyamakan kulit, pengolahan daging, obat-obatan, kosmetika, minuman keras dan konsentrat protein. Oleh karena itu papain sangat layak untuk dikembangkan. Hal ini juga ditunjang dengan harga papain yang relatif tinggi dengan biaya perolehan bahan baku yang relatif murah dan melimpah, serta cara pengolahan enzim yang relatif sederhana memberikan nilai tambah yang besar bagi pertanian pepaya.

Pengembangan industri papain di Indonesia seringkali mengalami hambatan. Hambatan ini salah satunya disebabkan oleh masih rendahnya kualitas papain yang dihasilkan oleh industri di dalam negeri. Selain proses pengolahan yang kurang baik, kerusakan pada getah pepaya seringkali menjadi penyebab rendahnya kualitas papain yang dihasilkan. Kerusakan getah pepaya dapat disebabkan oleh dua macam faktor yaitu kerusakan fisik dan kerusakan kimia. Kerusakan fisik dapat terjadi karena adanya benda-benda asing yang masuk dalam getah saat dilakukan penyadapan getah. Kerusakan secara kimia menyebabkan aktivitas proteolitik enzim yang dihasilkan menjadi rendah. Kerusakan ini menyebabkan nilai jual papain menjadi rendah. Kerusakan jenis ini disebabkan oleh terjadinya reaksi oksidasi pada getah pepaya yang disebabkan oleh kontak langsung antara getah dengan udara, sinar ultraviolet atau dengan panas yang tinggi.

Apabila papain diproduksi untuk tujuan komersial, baik untuk tujuan ekspor ataupun untuk penggunaan industri-industri dalam negeri, aktivitas papain

sangat diperhitungkan dan harus diupayakan agar aktivitas papain tetap tinggi. Oleh karena itu diperlukan cara-cara tertentu untuk mempertahankan dan meningkatkan aktivitas proteolitik enzim papain dalam getah yang dihasilkan. Salah satu caranya adalah dengan menambahkan senyawa antioksidan atau senyawa pengkelat logam. Berdasarkan penelitian Roni (2004), diperoleh bahwa dengan penambahan senyawa Na-metabisulfit dan K-metabisulfit sebagai antioksidan serta asam sitrat dan asam fosfat sebagai pengkelat logam dapat meningkatkan aktivitas proteolitik enzim papain. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Ferdani (2002) yang menggunakan Na-sitrat, sistein dan Na-metabisulfit sebagai aktivator untuk meningkatkan aktivitas papain.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan papain yang terdapat pada daun serta mengetahui pengaruh penambahan senyawa Na-metabisulfit sebagai antioksidan dan Na-EDTA sebagai senyawa pengkelat logam terhadap aktivitas proteolitik enzim papain. Selain itu, dari penelitian ini diharapkan dapat diketahui konsentrasi yang paling tepat untuk penambahan senyawa-senyawa tersebut.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan yaitu getah daun pepaya Semangka dari tanaman berumur 5-6 bulan, Na-metabisulfit sebagai senyawa antioksidan dan Na-EDTA sebagai senyawa pengkelat logam, sedangkan bahan-bahan untuk analisis aktivitas proteolitik yaitu HCl, akuades, bufer borat, bufer kasein, tirosin standar, TCA, CaCl_2 , Na_2CO_3 dan reagen Folin-ciocalteau.

Alat-alat yang digunakan yaitu mortar, gelas piala, saringan, tabung reaksi, tabung sentrifuse, kertas saring, mikropipet, pH meter, sentrifus dan spektrofotometer.

Metode Penelitian

Pengambilan Getah (Muhidin, 2001)

Daun pepaya dirajang halus. Hasil rajangan dihaluskan lagi dengan menggunakan mortar dan diperas untuk diambil sarinya. Getah dari daun pepaya ini berbentuk jus. Untuk proses selanjutnya, jus yang diperoleh ditambahkan dengan HCl sampai pH-nya mencapai 3,5 - 4,0 dan diaduk sampai terjadi gumpalan klorofil berwarna hijau. Kemudian gumpalan ini dipisahkan melalui penyaringan dengan menggunakan kertas saring. Filtrat yang dihasilkan merupakan larutan papain kasar.

Penambahan Antioksidan dan Pengkelat Logam (Roni, 2004)

Getah yang dihasilkan daun diberi perlakuan dengan menambahkan Na-metabisulfit dan Na-EDTA secara terpisah dengan perbandingan volume terhadap sampel adalah 1:1. Konsentrasi yang digunakan adalah 0, 1, 2 dan 3%. Getah yang telah diberi perlakuan kemudian disimpan selama 24 jam, kemudian dianalisis aktivitas proteolitiknya dengan menggunakan metode Bergmeyer. Kemudian sampel disimpan selama satu minggu dan dilakukan pengamatan terhadap warna dan bau secara kualitatif.

Penentuan Aktivitas Proteolitik Enzim Papain (Bergmeyer, 1983)

Sampel. Sebanyak 1 mL bufer borat, 1 mL kasein, 0,2 mL HCl 0,05 mol/l, dan 0,2 mL larutan enzim dicampurkan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Selanjutnya ke dalam larutan tersebut ditambahkan 2 mL TCA dan 0,2 mL CaCl₂ 2 mmol/l, kemudian kembali diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit, dan dilanjutkan dengan sentrifus pada 4000 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil sebanyak 1,5 mL, ditambahkan 5 mL Na₂CO₃ dan 1 mL pereaksi folin. Larutan didiamkan pada suhu 37°C selama 20 menit, kemudian dilakukan pembacaan absorbansi dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 578 nm.

Analisis Statistik (Matjik & Sumertajaya, 2000)

Data aktivitas proteolitik dianalisis secara statistik dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Adapun metode rancangan tersebut adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Y_{ij} = pengamatan perlakuan ke- i , dan ulangan ke- j

μ = pengaruh rata-rata umum

τ_i = pengaruh perlakuan ke- i , $i = 1, 2, 3, \dots$

ϵ_{ij} = pengaruh galat perlakuan ke- i , dan kelompok ke- j

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Penambahan Na-metabisulfit.

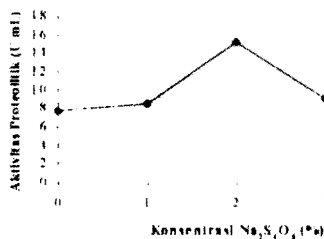
Penambahan Na-metabisulfit dilakukan pada getah daun, hasilnya dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan Na-metabisulfit dengan konsentrasi 1%, 2% dan 3% dapat meningkatkan aktivitas proteolitik pada getah. Getah dengan perlakuan memiliki aktivitas proteolitik yang lebih tinggi dibandingkan dengan getah kontrol. Untuk aktivitas maksimum diperoleh pada penambahan Na-metabisulfit dengan konsentrasi 2%, yaitu sebesar 15.2500 U/mL dengan persen kenaikan terhadap kontrol sebesar 197.17% di mana aktivitas dari kontrol adalah sebesar 7.7344 U/mL. Berdasarkan hasil analisis statistik peningkatan aktivitas pada konsentrasi 2% berbeda nyata terhadap kontrol dan terhadap konsentrasi lainnya pada tingkat kepercayaan 95%, sedangkan pada konsentrasi 1% dan 3% masing-masing tidak memberikan peningkatan aktivitas yang berbeda nyata baik terhadap kontrol maupun terhadap konsentrasi lainnya.

Tabel 1 Aktivitas proteolitik papain getah pepaya dengan perlakuan Na-metabisulfit

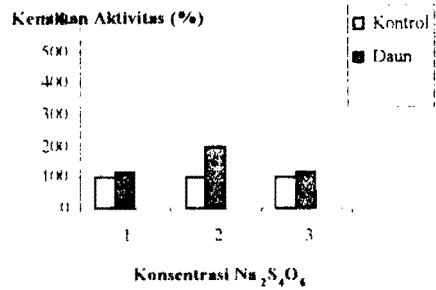
Konsentrasi Na-bisulfit (%)	Daun	
	Aktivitas Proteolitik (U/mL)	Kenaikan Aktivitas (%)
0	7.7344	-
1	8.6428	111.74
2	15.2500	197.17
3	9.0909	117.54

Peningkatan aktivitas proteolitik sebagai pengaruh dari penambahan Na-metabisulfit disebabkan oleh daya reduksi yang dimiliki oleh Na-metabisulfit. Menurut Suhartono (1991) enzim papain dalam getah pepaya merupakan zymogen (propapain), yaitu papain yang tidak aktif dengan gugus aktif -SH membentuk ikatan disulfid bersama residu sistein tetangganya. Penambahan Na- metabisulfit dalam getah pepaya dapat merubah enzim papain tidak aktif menjadi struktur papain aktif. Dalam getah pepaya, Na-metabisulfit dapat memecah ikatan disulfid papain dan mendonorkan gugus Na⁺ pada papain dalam getah. Bentuk papain inilah yang pada akhirnya menjadikan papain tidak aktif menjadi papain aktif, sedangkan gugus sulfid bebas pada getah akan mengikat gugus radikal peroksida sebagai penyebab rendahnya aktivitas dari enzim papain (Roni, 2004).

Walaupun penambahan Na-metabisulfit dapat meningkatkan aktivitas proteolitik enzim papain, terdapat kecenderungan penurunan aktivitas seiring dengan meningkatnya konsentrasi Na-metabisulfit yang ditambahkan. Hal ini dapat dilihat pada gambar 1. Gambar tersebut memperlihatkan adanya penurunan aktivitas proteolitik pada konsentrasi Na-metabisulfit 3%. Penurunan aktivitas proteolitik tersebut disebabkan oleh kembali berikatannya gugus Na⁺ dengan gugus sulfid. Berlebihnya sulfid dalam getah pepaya menjadikan muatan sulfid tersebut menjadi lebih negatif daripada muatan sebelumnya. Kondisi ini menyebabkan gugus sulfid kembali menarik gugus Na⁺ dari getah dan menyebabkan terbentuknya struktur papain menjadi tidak aktif (Roni, 2004).



Gambar 1 Grafik pengaruh penambahan Na-metabisulfit pada getah daun



Gambar 2 Persen kenaikan aktivitas proteolitik getah daun dengan perlakuan Na-metabisulfit

Gambar 2 memperlihatkan persen kenaikan aktivitas proteolitik terhadap kontrol. Apabila dilihat dari gambar tersebut, getah daun menghasilkan aktivitas proteolitik yang berbeda antara getah yang diberi perlakuan dengan getah yang tidak diberi perlakuan. Ini berarti bahwa penambahan Na-metabisulfit dapat meningkatkan aktivitas proteolitik papain pada getah daun.

Pengaruh Penambahan Na-EDTA

Penambahan Na-EDTA juga dilakukan pada getah daun pepaya seperti halnya pada penambahan Na-metabisulfit. Penambahan Na-EDTA dengan konsentrasi 1%, 2% dan 3% dapat meningkatkan aktivitas proteolitik papain pada getah daun. Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh aktivitas maksimum pada penambahan Na-EDTA dengan konsentrasi 1%, pada getah daun sebesar 6.2500 U/ml. dengan persen kenaikan terhadap kontrol adalah sebesar 500.00% di mana aktivitas proteolitik dari kontrol adalah 1.2500 U/ml. Berdasarkan hasil analisis statistik, penambahan Na-EDTA pada getah daun tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata pada tiap konsentrasi pada selang kepercayaan 95%.

Peningkatan aktivitas proteolitik getah menunjukkan kemampuan Na-EDTA dalam mengikat ion logam yang menghambat aktivitas proteolitik papain getah pepaya. Molekul EDTA akan mengelilingi ion logam tersebut sedemikian rupa sehingga membentuk kelat yang kokoh. Pengikatan ini akan

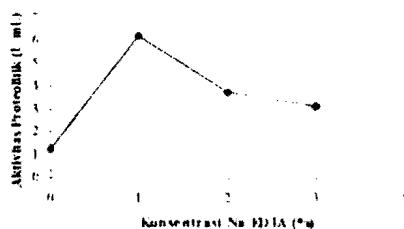
mencegah ion logam tersebut bereaksi dengan enzim papain, sehingga aktivitas enzim papain getah menjadi meningkat (Roni, 2004). Pengaruh penambahan Na-EDTA pada getah pepaya dapat dilihat pada gambar 3 dan 4.

Kemampuan EDTA dalam mengikat ion logam dinyatakan dalam konstanta stabilitas pengkelat logam yang menggambarkan perbandingan jumlah ion logam yang dapat diikat dengan ion logam yang tidak dapat diikat. Anonim (1972) menunjukkan bahwa EDTA merupakan senyawa yang paling baik dalam mengikat logam dibandingkan senyawa pengkelat lainnya. EDTA merupakan suatu ligan yang heksadentat dengan enam buah atom donor yaitu dua atom N dan empat atom O. Pada saat Na-EDTA ditambahkan ke dalam getah pepaya, keenam donor tersebut akan bersama-sama mengikat satu ion inti dengan membentuk lima lingkaran kelat.

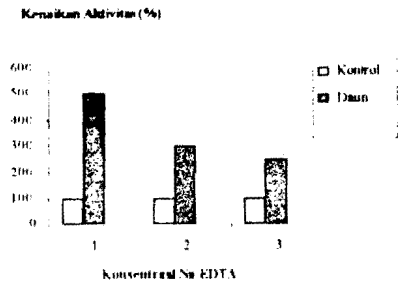
Gambar 3 dan 4 memperlihatkan peningkatan aktivitas proteolitik pada konsentrasi Na-EDTA 1%, tetapi pada konsentrasi Na-EDTA 2% dan 3% aktivitas proteolitiknya semakin menurun. Penurunan aktivitas tersebut dapat terjadi karena Na-EDTA tidak memiliki cukup energi untuk mengikat ion logam pada papain dalam getah (Roni, 2004).

Tabel 2. Aktivitas proteolitik papain getah pepaya dengan perlakuan Na-EDTA

[] (%)	Daun	
	Aktivitas Proteolitik (U/ml)	Kenaikan Aktivitas (%)
0	1.2500	-
1	6.2500	500.00
2	3.7499	299.99
3	3.1250	250.00



Gambar 3 Grafik pengaruh penambahan Na-EDTA pada getah daun



Gambar 4 Persen kenaikan aktivitas proteolitik getah daun dengan perlakuan Na-EDTA

Gambar 4 menunjukkan persen kenaikan aktivitas proteolitik terhadap kontrol. Dari gambar tersebut terlihat perbedaan aktivitas antara getah yang diberi perlakuan Na-EDTA dengan getah tanpa perlakuan, di mana getah dengan perlakuan memiliki aktivitas proteolitik yang lebih tinggi dibandingkan dengan getah tanpa perlakuan. Ini artinya bahwa penambahan Na-EDTA dapat meningkatkan aktivitas proteolitik getah pepaya.

Pengamatan Terhadap Warna dan Bau Getah Pepaya.

Selain dapat meningkatkan aktivitas proteolitik getah, penambahan Na-metabisulfid dan Na-EDTA pada getah juga dapat menjaga kualitas fisik getah. Dari hasil penelitian yang dilakukan, getah kontrol yang tidak mengalami penambahan perlakuan mengalami perubahan warna dan bau setelah satu minggu. Hasil pengamatan yang lebih lengkap dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4 Pengamatan warna dan bau pada getah daun

Perlakuan	1 hari		7 hari	
	Warna	Bau	Warna	Bau
Kontrol	Kuning jernih	Bau segar	Kuning keruh	Bau busuk
Na ₂ S ₂ O ₅	Kuning jernih	Bau segar	Kuning jernih	Bau segar
Na-EDTA	Kuning jernih	Bau segar	Kuning jernih	Bau segar

Perubahan warna getah pada getah daun kontrol disebabkan oleh adanya reaksi oksidasi yang dialami oleh getah. Penambahan Na-metabisulfit dan Na-EDTA dapat mencegah terjadinya reaksi oksidasi sehingga akan menstabilkan warna jernih pada getah daun dan menjaga derajat putih pada getah buah (Roni, 2004). Perubahan bau getah kontrol dari bau getah segar menjadi bau busuk menunjukkan adanya proses pembusukkan getah yang dilakukan oleh mikroorganisme yang secara alami terdapat dalam getah. Penambahan Na-metabisulfit dan Na-EDTA dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dalam getah sehingga dapat mengurangi bau busuk.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Penambahan Na-metabisulfit dan Na-EDTA terbukti dapat meningkatkan aktivitas proteolitik papain getah daun pepaya. Aktivitas proteolitik maksimum diperoleh pada konsentrasi Na-metabisulfit 2% dan Na-EDTA 1%. Selain meningkatkan aktivitas proteolitik getah, penambahan Na-metabisulfit dan Na-EDTA juga dapat menjaga kualitas fisik getah.

Saran

Perlu dilakukan penelitian terhadap getah buah pepaya serta pemurnian terhadap getah pepaya sehingga diperoleh enzim papain dengan aktivitas proteolitik yang lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1972. A review of The Technological Efficacy of Some Antioxidants and Sinergists. Geneva: WHO.
- Bergmeyer HU. 1983. Methods of Enzymic Analysis. Vol 2. Florida: Verlag Chemie, Weinheim Deefield Beac.
- Daryono M, Sabari. 1979. Apakah itu papain dan bagaimana menghasilkannya ? Jakarta: Majalah Hortikultur no 8: 187-190.
- Ferdani I. 2002. Pengaruh Natrium Sitrat, Sistein dan Natrium Metabisulfit Terhadap Aktivitas Papain Kasar. [Skripsi]. Bogor: Fateta IPB.
- Mattjik AA, Sumertajaya M. 2000. *Perancangan Percobaan*. Bogor: IPB Press.
- Muchtadi D, Nurheni SP, Made A. 1992. *Enzim dalam Industri Pangan*. Bogor: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi IPB.
- Muhidin D. 2001. *Agroindustri Papain dan Pektin*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Roni. 2004. Kajian Pengaruh Penambahan Antioksidan dan Pengkelat Logam Terhadap Aktivitas Proteolitik Enzim Papain Getah Pepaya. [Skripsi]. Bogor: Fateta IPB.
- Suhartono MT. 1991. *Protease*. Bogor. Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB.