

**PENGARUH PENAMBAHAN ION LOGAM Ca^{2+}
TERHADAP AKTIVITAS ENZIM PAPAIN**

**THE ADDITION EFFECT OF THE METAL IONS Ca^{2+}
ON THE PAPAIN ACTIVITIES**

Metty Risnawati* and Sari Edi Cahyaningrum
Department of Chemistry, Surabaya State University
Jl. Ketintang Surabaya(60231)telp.031-8298761

* Korespondensi telp: 08123198864, email: metty_risna@yahoo.com

Abstrak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan ion logam Ca^{2+} terhadap aktivitas papain, serta menentukan suhu dan pH optimum papain. Penentuan kondisi optimum dilakukan dengan mengukur aktivitas enzim pada berbagai variasi suhu yaitu 45°C , 50°C , 55°C , 60°C , 65°C , 70°C , dan 75°C pada pH 7 dan dilanjutkan dengan variasi pH yaitu 4, 5, 6, 7, 8, dan 9 pada suhu 55°C . Penentuan pengaruh penambahan ion logam diukur dengan mengukur aktivitas enzim dengan penambahan ion logam Ca^{2+} pada berbagai variasi konsentrasi yaitu 50 ppm, 100 ppm, dan 150 ppm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu optimum diperoleh pada suhu 55°C dengan aktivitas 0,107 U/g dan pH optimum terletak pada pH 7 dengan aktivitas 0,086 U/g. Pada suhu 55°C penambahan ion logam Ca^{2+} konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, dan 150 ppm dapat meningkatkan aktivitas papain dari 0,107 U/g menjadi 0,109 U/g, 0,113 U/g, dan 0,121 U/g. Pada pH 7 penambahan ion logam Ca^{2+} konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, dan 150 ppm dapat meningkatkan aktivitas papain dari 0,086 U/g menjadi 0,099 U/g, 0,116 U/g, dan 0,131 U/g. Aktivitas optimum dapat diperoleh dengan penambahan konsentrasi ion logam Ca^{2+} 150 ppm. Penambahan ion logam Ca^{2+} dan Mg^{2+} tidak merubah suhu dan pH optimum papain.

Kata kunci: Aktivitas papain, Ca^{2+} , Mg^{2+} , suhu, pH

Abstract. This study aimed to determine the effect of the addition of the metal ions Ca^{2+} on the activity of papain, and determine the optimum temperature and pH of papain. Determination of optimum conditions is done by measuring the enzyme activity at a variety of temperatures were 45°C , 50°C , 55°C , 60°C , 65°C , 70°C , and 75°C at pH 7 and pH variations were followed by 4, 5, 6, 7, 8, and 9 at temperatures 55°C . Determination of the effect of the addition of metal ions is measured by measuring the enzyme activity the addition of the metal ions Ca^{2+} at various concentrations are 50 ppm, 100 ppm, and 150 ppm. The results showed that the optimum temperature is obtained at a temperature of 55°C with activity 0,107 U/g and pH optimum is at pH 7 with activity 0,086 U/g. At a temperature of 55°C addition of metal ions Ca^{2+} concentration of 50 ppm, 100 ppm, and 150 ppm can increase the activity of papain from 0,107 U/g to 0,109 U/g, 0,113 U/g, and 0,121 U/g. At pH 7 the addition of metal ions Ca^{2+} concentration of 50 ppm, 100 ppm, and 150 ppm can increase the activity of papain from 0,086 U/g to 0,099 U/g, 0,116 U/g, and 0,131 U/g. Optimum activity is obtained by addition of metal ion Ca^{2+} concentration 150 ppm. The addition of metal ions Ca^{2+} did not change the temperature and pH optimum papain.

Keywords: papain activities, Ca^{2+} , Mg^{2+} , temperature, pH

PENDAHULUAN

Enzim merupakan senyawa protein yang berfungsi sebagai katalisator pada reaksi-reaksi kimia dalam sistem biologis. Enzim mempunyai kemampuan katalitik yang sangat besar. Enzim mampu mempercepat reaksi hingga satu juta kali lebih cepat dibanding reaksi-reaksi tanpa enzim. Di samping daya katalitiknya mencapai nilai yang luar biasa, enzim memiliki spesifitas terhadap substrat dari reaksi yang dikatalisisnya [1].

Menurut pendapat Novita, W (2006), produk enzim yang memiliki prospek baik untuk dikembangkan adalah protease, amilase, amiloglukosidase karena dipandang cukup luas penggunaannya dalam berbagai industri terutama industri pangan. Protease merupakan satu dari tiga kelompok terbesar dari industri enzim dan diperkirakan sebesar 60% dari perdagangan enzim diseluruh dunia [2].

Enzim protease adalah enzim yang dapat menguraikan atau memecah protein. Secara umum enzim ini dapat menghidrolisis polipeptida menghasilkan peptida dengan massa molekul relatif lebih rendah atau asam-asam amino [3]. Salah satu enzim protease adalah papain yang diperoleh dari buah pepaya. Kandungan papain dalam tanaman pepaya terdapat pada buah, daun, dan akar dalam jumlah yang berbeda. Papain merupakan serbuk hidroskopis putih keabu-abuan yang dapat larut sebagian dalam air dan gliserol serta tidak dapat larut dalam pelarut organik biasa.

Enzim papain merupakan salah satu enzim yang banyak dimanfaatkan dalam industri. Beberapa industri yang banyak memanfaatkan enzim papain antara lain: industri farmasi, industri kosmetik, tekstil, penyamakan kulit. Penggunaan papain dalam bidang industri memberikan beberapa keuntungan, antara lain: mudah didapat, tersedia dalam jumlah banyak, tidak bersifat toksik, tidak ada reaksi samping, merupakan enzim yang relatif tahan terhadap suhu, dan pada konsentrasi yang rendah bisa berfungsi dengan baik [4].

Faktor-faktor utama yang mempengaruhi aktivitas enzim adalah suhu, pH, konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, inhibitor dan aktivator. Untuk mengetahui karakter enzim protease dalam menghidrolisis protein menjadi asam aminonya agar mencapai aktivitas maksimumnya, perlu dipelajari lebih dulu kondisi optimum yang dapat mempengaruhi aktivitas

enzim protease misalnya suhu, pH, aktivator atau inhibitor.

Beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, yaitu oleh Dongoran (2004) aktivitas enzim papain dalam substrat kasein dengan aktivator sistein sebesar 5,378 unit/ml, natrium klorida sebesar 3,658 unit/ml dan tanpa aktivator sebesar 2,320 unit/ml. Selain itu, sistein dan natrium klorida pada konsentrasi 0,7% dapat menaikkan aktivitas papain sebesar 131,8 % pada sistein dan 57,7% pada natrium klorida [5]. Pada penelitian Dewi (2004) menggunakan suhu 55°C diperoleh pH optimum ekstrak kasar papain pada pH 6 dengan nilai aktivitas 2,606 U/ml untuk konsentrasi enzim 0,1 g/ml dan untuk pH 6 diperoleh suhu optimum ekstrak kasar papain pada suhu 50°C dengan nilai aktivitas 2,469 U/ml untuk konsentrasi enzim 0,1 g/ml [6]. Menurut Putranto (2006) Hyaluronidase dari *Streptokokus Grub B* (SGB) merupakan enzim ekstraseluler yang dapat diaktifkan oleh kofaktor logam (Ca^{2+} dan Mg^{2+}) [7].

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan karakteristik enzim papain yang meliputi suhu optimum, pH optimum, dan pengaruh ion logam Ca^{2+} terhadap aktivitas enzim papain.

METODE PENELITIAN

Bahan

Beberapa bahan yang digunakan dalam penelitian ini: Enzim papain, buffer fosfat 0,05 M pH 5, buffer fosfat 0,05 M pH 6, buffer fosfat 0,05 M pH 7, buffer fosfat 0,05 M pH 8, buffer fosfat 0,05 M pH 9, TCA, tirosin, substrat kasein, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, NaOH, aquabides

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Beaker glass, water bath, oven, aluminium foil, tabung reaksi, spektrofotometer UV-Vis, gelas ukur, labu ukur, spatula dan sendok, neraca digital, pipet mikro, pipet volume, rak tabung reaksi, alat sentrifuge, pH meter, vortex, cawan petri, magnetic stirrer

Cara Kerja

Penentuan suhu optimum

Untuk enzim papain

Di dalam tujuh buah tabung reaksi masing-masing dimasukkan 0,1 ml larutan enzim 0,1

g/ml, 0,5 ml larutan substrat kasein 0,02 g/ml, dan 0,5 ml buffer pH7 0,05 M, kemudian dikocok hingga homogen dengan tangan dan diinkubasi dalam *water bath* pada variasi suhu yaitu 45°C, 50°C, 55°C, 60°C, 65°C, 70°C, dan 75°C selama 10 menit. Ditambahkan 1 ml TCA 0,1 M dan 0,1 ml akuades, kemudian divortex hingga homogen dan diinkubasi dalam oven pada suhu 37°C selama 10 menit lalu disentrifuse dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Filtrat dari hasil sentrifuge diukur absorbansinya pada λ 275 nm. Dilakukan 4 kali pengulangan. Pada pembuatan blanko, larutan enzim diganti akuades.

Untuk enzim papain dengan penambahan ion logam Ca^{2+}

Disediakan tujuh buah tabung reaksi untuk masing-masing konsentrasi ion logam sebesar 50 ppm, 100 ppm, dan 150 ppm. Ke dalam tujuh buah tabung reaksi pertama masing-masing dimasukkan 0,1 ml larutan enzim 0,1 g/ml, 0,5 ml larutan substrat kasein 0,02 g/ml, 0,5 ml larutan CaCl_2 50 ppm, dan 0,5 ml buffer pH7 0,05 M, kemudian dikocok hingga homogen dengan tangan dan diinkubasi dalam *water bath* pada variasi suhu yaitu 45°C, 50°C, 55°C, 60°C, 65°C, 70°C dan 75°C selama 10 menit. Mengulangi perlakuan yang sama untuk konsentrasi ion logam 100 ppm dan 150 ppm. Ditambahkan 1 ml TCA 0,1 M dan 0,1 ml akuades, kemudian divortex hingga homogen dan diinkubasi dalam oven pada suhu 37°C selama 10 menit lalu disentrifuse dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Filtrat dari hasil sentrifuge diukur absorbansinya pada λ 275 nm. Dilakukan 4 kali pengulangan. Pada pembuatan blanko, larutan enzim diganti akuades.

Penentuan pH optimum

Untuk enzim papain

Di dalam enam buah tabung reaksi masing-masing dimasukkan 0,1 ml larutan enzim 0,1 g/ml, 0,5 ml larutan substrat kasein 0,02 g/ml, dan 0,5 ml buffer 0,05 M dengan variasi pH 4, 5, 6, 7, 8 dan 9, kemudian kocok hingga homogen menggunakan tangan dan diinkubasi dalam *water bath* pada suhu 55°C selama 10 menit. Ditambahkan 1 ml TCA 0,1 M dan 0,1 ml

akuades, kemudian divortex hingga homogen. Diinkubasi dalam oven pada suhu 37°C selama 10 menit dan disentrifuse dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Filtrat dari hasil sentrifuge diukur absorbansinya pada λ 275 nm. Dilakukan 4 kali pengulangan. Pada pembuatan blanko, larutan enzim diganti akuades.

Untuk enzim papain dengan penambahan ion logam Ca^{2+}

Disediakan enam buah tabung reaksi untuk masing-masing konsentrasi ion logam sebesar 50 ppm, 100 ppm, dan 150 ppm. Ke dalam enam buah tabung reaksi pertama masing-masing dimasukkan 0,1 ml larutan enzim 0,1 g/ml, 0,5 ml larutan substrat kasein 0,02 g/ml, 0,5 ml larutan CaCl_2 50 ppm dan 0,5 ml buffer 0,05 M dengan variasi pH 4, 5, 6, 7, 8 dan 9, kemudian kocok hingga homogen menggunakan tangan dan diinkubasi dalam *water bath* pada suhu 55°C selama 10 menit. Mengulangi perlakuan yang sama untuk konsentrasi ion logam 100 ppm dan 150 ppm. Ditambahkan 1 ml TCA 0,1 M dan 0,1 ml akuades, kemudian divortex hingga homogen. Diinkubasi dalam oven pada suhu 37°C selama 10 menit dan disentrifuse dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Filtrat dari hasil sentrifuge diukur absorbansinya pada λ 275 nm. Dilakukan 4 kali pengulangan. Pada pembuatan blanko, larutan enzim diganti akuades.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Data penelitian diperoleh dari beberapa tahap yang meliputi: penentuan panjang gelombang maksimum, penentuan kurva standar larutan tirosin dan penentuan pengaruh penambahan ion logam terhadap aktivitas papain.

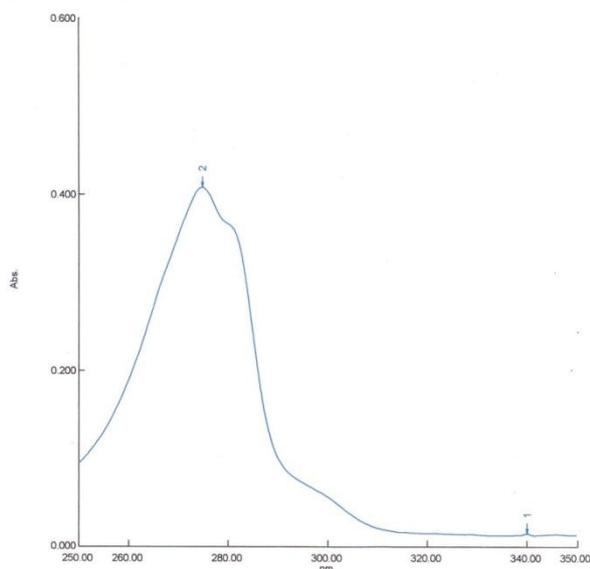
Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Pada penelitian ini konsentrasi tirosin yang digunakan untuk menentukan panjang gelombang maksimum adalah 5 mM dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 250 – 350 nm. Spektrofotometer yang digunakan adalah spektrofotometer UV-1800 (Shimadzu). Data yang diperoleh disajikan dalam tabel 1.

Tabel 1. Data Absorbansi dan Panjang Gelombang Larutan Tirosin 5 mM

Wavelength	Abs.
340	0,014
275	0,408
341	0,012

Data yang diperoleh pada tabel 4.1 digunakan untuk membuat grafik panjang gelombang terhadap absorbansinya.



Grafik 1. Penentuan panjang gelombang tirosin pada absorbansi maksimum

Dari gambar di atas menunjukkan bahwa panjang gelombang maksimum larutan tirosin tercapai pada panjang gelombang 275 nm. Jadi panjang gelombang yang digunakan pada penelitian ini adalah 275 nm.

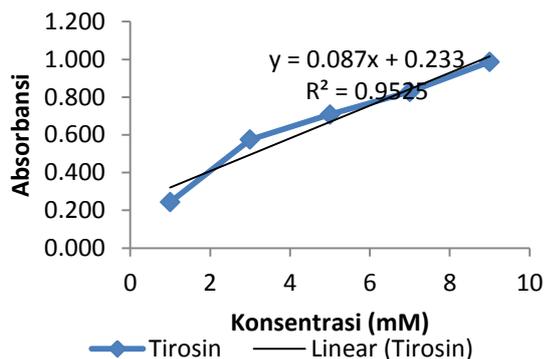
Pembuatan Kurva Standar Larutan Tirosin

Pada penentuan aktivitas papain langkah awal yang harus dilakukan adalah pembuatan kurva standar papain yakni menggunakan tirosin sebagai standar dengan variasi konsentrasi 1, 3, 5, 7, dan 9 mM kemudian nilai absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada 275 nm. Hasil pengukuran absorbansi larutan standar dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Nilai Absorbansi Larutan Standar Tirosin

Konsentrasi Tirosin (mM)	Absorbansi
1	0,243
3	0,575
5	0,708
7	0,828
9	0,987

Data nilai absorbansi pada tabel 2 dapat dibuat kurva standar tirosin antara nilai absorbansi dengan konsentrasi tirosin, seperti pada grafik 2.



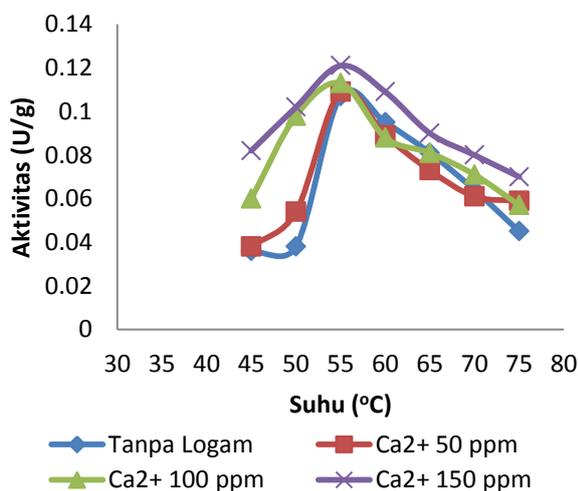
Grafik 2. Kurva Standar Tirosin

Berdasarkan kurva standar tirosin menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi

Tabel 3. Aktivitas Papain (U/g) Pada Penambahan Ion Logam Ca^{2+} dalam Berbagai Suhu

Penambahan Ion Logam	Suhu ($^{\circ}C$)						
	45	50	55	60	65	70	75
Tanpa Logam	0,036	0,038	0,107	0,095	0,081	0,064	0,045
Ca^{2+} (50 ppm)	0,038	0,054	0,109	0,089	0,073	0,061	0,059
Ca^{2+} (100 ppm)	0,060	0,098	0,113	0,088	0,081	0,071	0,057
Ca^{2+} (150 ppm)	0,082	0,102	0,121	0,109	0,090	0,080	0,070

Data nilai absorbansi pada tabel 3 juga dapat dibuat kurva yang menggambarkan hubungan antara aktivitas enzim papain dengan suhu, seperti pada grafik 3.



Grafik 3. Pengaruh ion logam Ca^{2+} terhadap aktivitas enzim papain dalam berbagai suhu

Grafik diatas memperlihatkan bahwa aktivitas papain tanpa penambahan ion logam mengalami kenaikan pada suhu $45^{\circ}C$ hingga

tirosin maka semakin besar pula nilai absorbansinya.

Pengaruh Penambahan Ion Logam Ca^{2+} dan Perubahan Suhu Terhadap Aktivitas Enzim Papain

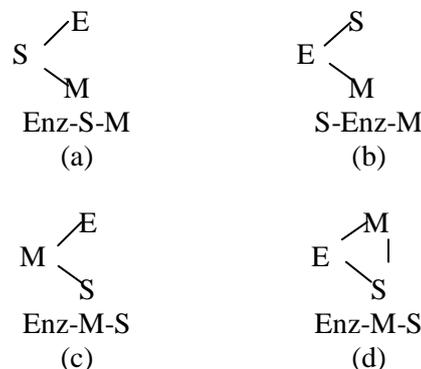
Pengaruh ion logam terhadap aktivitas papain diuji dengan mengukur aktivitas papain setelah diinkubasi dengan berbagai ion logam selama 10 menit, lalu dibandingkan dengan aktivitas awalnya (tanpa penambahan ion logam).

Hasil pengukuran penambahan ion logam dan variasi suhu terhadap aktivitas enzim papain dapat dilihat pada tabel 3.

$55^{\circ}C$. Pada suhu $55^{\circ}C$ memiliki nilai aktivitas papain tertinggi. Hal ini menunjukkan bahwa suhu $55^{\circ}C$ merupakan suhu optimum untuk papain. Pada suhu setelah suhu $55^{\circ}C$ mengalami penurunan aktivitas.

Penambahan ion Ca^{2+} memberikan peningkatan aktivitas enzim dengan semakin bertambahnya konsentrasi ion Ca^{2+} , bila dibandingkan dengan papain tanpa penambahan ion logam.

Mekanisme kerja enzim pada kompleks rangkap tiga enzim-logam-substrat memiliki empat skema yang mungkin terbentuk, yaitu:

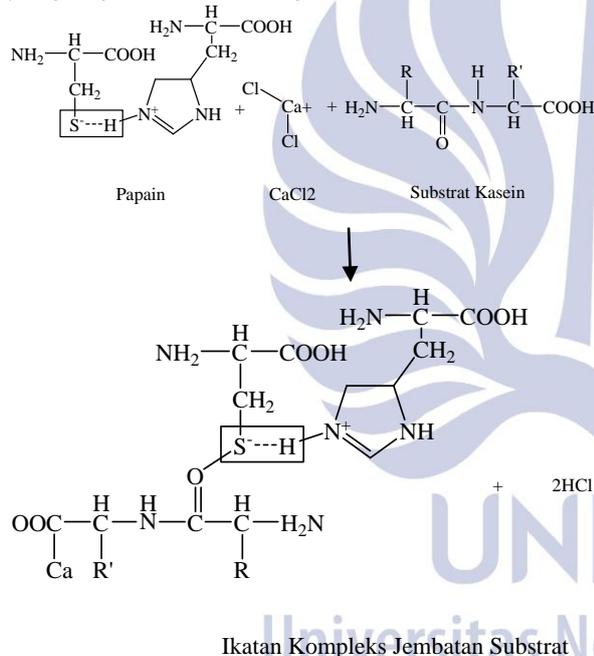


Gambar 1. Kompleks jembatan substrat (a), Kompleks jembatan enzim (b),

Kompleks jembatan logam sederhana (c), Kompleks jembatan logam siklik (d) [8].

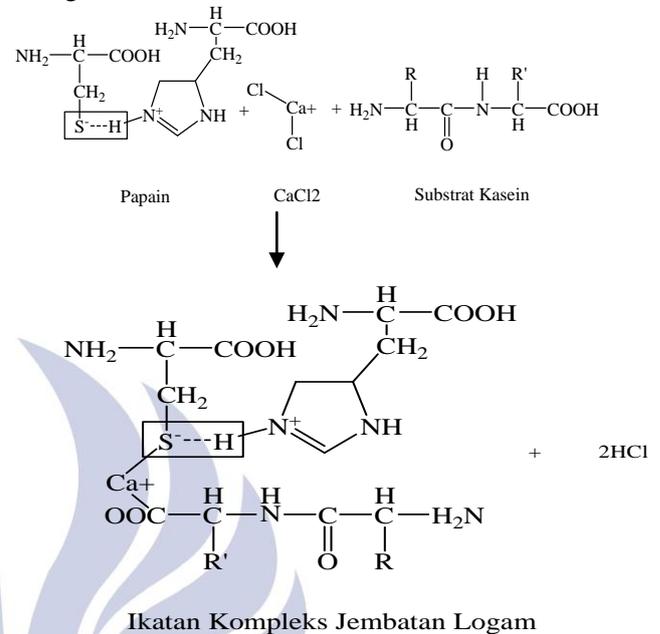
Pada kompleks jembatan substrat enzim membutuhkan logam akan tetapi tidak boleh menempati sisi katalitik karena logam berfungsi untuk mempercepat interaksi antara enzim dan substrat (Gambar 4.1a dan 4.1c). Pada kompleks jembatan enzim contohnya pada enzim alosterik yang metalloenzim dimana sisi aktifnya berada di punggung (Gambar 4.1b). Pada kompleks jembatan logam siklik sama dengan kompleks jembatan logam sederhana hanya berbeda pada bentuknya (Gambar 4.1d).

Mekanisme kerja papain yang mungkin terjadi adalah seperti pada gambar 4.1 a dan 4.1 c. Mekanisme kompleks jembatan substrat (gambar 4.1a) dapat terjadi karena ion logam membantu reaksi katalitik dengan cara mengikat substrat pada sisi pemotongan. Adapun mekanisme reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut:



Gambar 2 Mekanisme reaksi kompleks jembatan substrat

Mekanisme kompleks jembatan logam (gambar 4.1 c) dapat terjadi karena ion logam dapat mengikat enzim secara langsung untuk menstabilkan konformasi aktifnya sehingga dapat mempercepat interaksi antara enzim dan substrat. Adapun mekanisme reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut:



Gambar 3 Mekanisme reaksi kompleks jembatan logam

Pada penambahan ion Ca^{2+} memberikan peningkatan aktivitas enzim dengan semakin bertambahnya konsentrasi ion Ca^{2+} , hal ini dapat terjadi karena ikatan yang terbentuk antara enzim dan ion logam atau antara substrat dan ion logam tidak terlalu kuat sehingga tidak menyebabkan perubahan konformasi enzim.

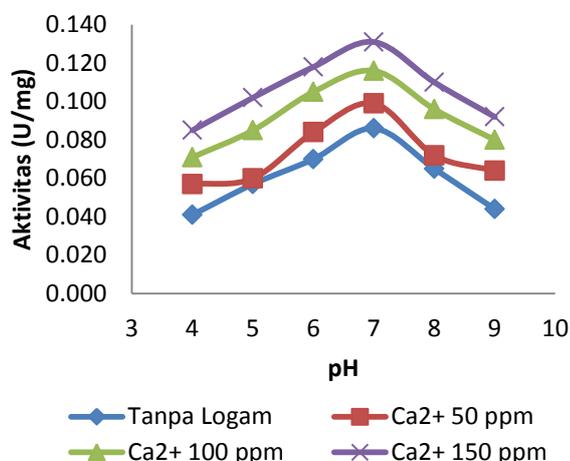
Pengaruh Penambahan Ion Logam Ca^{2+} dan Perubahan pH Terhadap Aktivitas Enzim Papain

Hasil pengukuran penambahan ion logam dan variasi pH terhadap aktivitas enzim papain dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Aktivitas Papain (U/g) Pada Penambahan Ion Logam Ca^{2+} dalam Berbagai pH

Penambahan Ion Logam	pH					
	4	5	6	7	8	9
Tanpa Logam	0,041	0,057	0,070	0,086	0,065	0,044
Ca^{2+} (50 ppm)	0,057	0,060	0,084	0,099	0,072	0,064
Ca^{2+} (100 ppm)	0,071	0,085	0,105	0,116	0,096	0,080
Ca^{2+} (150 ppm)	0,085	0,102	0,118	0,131	0,110	0,092

Data nilai absorbansi pada tabel 4.6 juga dapat dibuat kurva yang menggambarkan hubungan antara aktivitas enzim papain dengan pH, seperti pada grafik 4.



Grafik 4. Pengaruh ion logam Ca²⁺ terhadap aktivitas enzim papain dalam berbagai pH

Grafik di atas memperlihatkan bahwa aktivitas papain tanpa penambahan ion logam mengalami kenaikan pada pH 4 hingga pH 7. Hal ini menyatakan bahwa pH 7 merupakan pH optimum untuk papain. Pada pH setelah pH 7 mengalami penurunan aktivitas.

Pada pH 7 enzim papain mencapai nilai aktivitas enzim tertinggi. Hal ini dapat terjadi karena enzim berada pada tingkat ionisasi yang paling sesuai untuk berikatan dengan substrat. Konformasi enzim dalam bentuk yang stabil adalah ketika enzim dengan substrat membentuk kompleks enzim dan substrat yang stabil. Selain itu pengaruh pH dapat dihubungkan dengan titik isoelektrik. Titik isoelektrik merupakan suatu kondisi pH yang menyebabkan suatu protein memiliki jumlah muatan positif dan muatan negatif yang sama.

Pada penambahan ion Ca²⁺ memberikan peningkatan aktivitas enzim dengan semakin bertambahnya konsentrasi ion Ca²⁺, hal ini dapat terjadi karena ikatan yang terbentuk antara enzim dan ion logam atau antara substrat dan ion logam tidak terlalu kuat sehingga tidak menyebabkan perubahan konformasi enzim.

SIMPULAN

1. Penambahan ion logam Ca²⁺ dan Mg²⁺ dapat meningkatkan aktivitas papain. Penambahan ion logam Ca²⁺ 150 ppm dapat memberikan peningkatan aktivitas yang lebih tinggi bila

dibandingkan dengan ion logam Ca²⁺ 50 ppm dan 100 ppm.

2. Enzim papain tanpa penambahan ion logam dan yang di tambah dengan ion logam Ca²⁺ memiliki suhu optimum yang sama yaitu pada suhu 55°C.
3. Enzim papain tanpa penambahan ion logam dan yang di tambah dengan ion logam Ca²⁺ memiliki pH optimum yang sama yaitu pada pH 7.

DAFTAR PUSTAKA

1. Stryer. 1995. *Biokimia*. Tim Penerjemah Bagian biokimia FKUI. Penerbit Buku Kedokteran.
2. Novita, W. K. Arief., F. C. Nisa, dan U. Murdiyatmo. 2006. Karakterisasi Parsial Ekstrak Kasar Enzim Protease dari *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-14396. *Jurnal Teknologi Pertanian*, Vol. 7. No.2. <http://jtp.ub.ac.id/index.php/jtp/article/download/220/599>, 28 Agustus 2012.
3. Gultom, Togu. 2001. *Biokimia: Struktur dan Fungsi*. Yogyakarta: Jurusan Pendidikan Kimia-FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta.
4. Nurhidayati, T. 2003. Pengaruh Konsentrasi Enzim Papain dan Suhu Fermentasi terhadap Kualitas Keju Cottage. Surabaya: Biologi FMIPA-ITS. *KAPPA Vol. 4, No.1, 13-17. ISSN 1411-4046*
5. Dongoran, Daniel. S. 2004. Pengaruh Aktivator Sistein dan Natrium Klorida terhadap Aktivitas Papain. Medan: KIMIA FMIPA USU. *Jurnal Sains Kimia Vol.8, No.1, 2004: 29-34.* <http://repository.usu.ac.id>USU>, diakses pada tanggal 19 Juni 2009.
6. Dewi. Rita Puspa, 2004. *Penentuan PH dan Suhu Optimum Ekstrak Kasar Enzim Papain Hasil Isolasi dari Buah Pepaya Burung Varietas Jawa (Carica Papaya L)*. Skripsi yang tidak dipublikasikan. Universitas Negeri Surabaya, Jawa Timur, Indonesia.
7. Putranto, Wendry Setiyadi. 2006. Pengaruh Kofaktor Logam Ca dan Mg Terhadap Aktivitas Hyaluronidase *Streptococcus Agalactie*. *Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran. Jurnal (Online).* <http://repository.unpad.ac.id/handle/123456789/983?show=full>, diakses pada tanggal 19 Juni 2009.

8. Indah, Mutiara. 2004. Enzim. Universitas Sumatera Utara. *Digitized by USU digital library*.
<http://library.usu.ac.id/download/fk/biokimia-mutiara.pdf>, diakses pada tanggal 29 November 2012.

