

PROFIL PROTEIN TIGA JENIS DAGING YANG DILUMURI SERBUK DAUN PEPAYA BERBASIS SDS-PAGE

Nevi Kustia¹, Sri Darmawati², Fandhi Adi Wardoyo³

¹Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang
email: nevi.nevi75@gmail.com

²Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang
email: ciciekdarma@unimus.ac.id

³Laboratorium Kimia Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang
email: fandhiadi@unimus.ac.id

ABSTRACT

Papaya leaves contain protease enzymes (protein decomposers), namely papain and kimopapain. Both of these enzymes have the ability to break bonds in protein molecules so that proteins break down into polypeptides and dipeptides. If working on the meat can be decomposed so that the meat becomes tender. The purpose of this study was to determine protein profiles in three types of meat before and after smeared with papaya leaf powder with 60 minutes of immersion. The protein profile of three meat types was analyzed using the SDS-PAGE method. The design of this research is descriptive research with the object of research are goat meat, buffalo and cow covered with papaya leaf powder. The result of this research shows that there are meat of buffalo, goat and cow there are many major and minor ribbon, while in buffalo meat, goat and cow which has been smeared with papaya powder there are many minor protein bands. These results indicate that papain enzyme contained in papaya leaves are powdered to break peptide bonds in meat proteins to proteins in the form of minor bands (micromolecules) and show that the higher concentration of papaya leaf powder the more denatured the protein that is on 20% concentration has only 3 protein bands.

Keywords: Meat, Papaya Leaf, Protein Profile, SDS-PAGE

1. PENDAHULUAN

Protein merupakan salah satu nutrisi yang sangat penting untuk tubuh yang berfungsi sebagai zat pembangun dan pengatur. Protein juga dapat berfungsi sebagai sumber energi jika karbohidrat dan lemak tidak tersedia lagi. Protein secara umum dibagi menjadi protein hewani dan protein nabati. Protein hewani memiliki keistimewaan bila dibandingkan dengan protein nabati, karena protein hewani lebih kompleks susunan asam aminonya (Dalillah 2006).

Salah satu sumber protein yang banyak dikonsumsi adalah daging. Daging adalah semua jaringan hewan dan semua produk hasil pengolahan jaringan-jaringan tersebut yang sesuai untuk dikonsumsi serta tidak menimbulkan gangguan kesehatan bagi yang mengkonsumsi (Soeparno 2005). Lawrie (2003) menyatakan bahwa komposisi daging terdiri atas 75% air, 19% protein, 3,5% substansi nonprotein terlarut, dan 2,5% lemak. Substansi non protein yang larut terdiri dari karbohidrat, vitamin dan mineral dalam daging.

Daging merupakan sumber nutrisi yang berkualitas bagi manusia terutama sebagai sumber protein. Selain kandungan proteinnya yang tinggi, juga memiliki kualitas yang tinggi. Kualitas protein dapat dilihat dari komposisi asam amino penyusun dan daya cerna protein yang menentukan ketersediaan asam amino secara biologis (Dalillah 2006).

Kualitas daging salah satunya ditentukan oleh keempukan serat dagingnya. Dalam keadaan tertentu, tidak jarang konsumen mendapatkan daging yang berasal dari ternak yang sudah tua, sehingga setelah dilakukan pemasakan daging masih dalam keadaan alot dan susah dikunyah (Somanjaya R 2013). Penyebab daging alot lainnya yaitu :

Salah satu cara untuk memperbaiki kualitas daging agar dapat menjadi empuk adalah dengan memanfaatkan enzim proteolitik atau protease untuk memecah ikatan-ikatan peptida dalam protein daging agar menjadi molekul-molekul yang lebih sederhana (Indrawan I 2015).

Silaban pada tahun 2009, hasil penelitiannya menggunakan enzim papain pada getah buah pepaya dapat melunakkan daging. Pelunakan daging secara kimia dapat dilakukan melalui dua cara yakni secara enzimatik dan non enzimatik, secara enzimatik dapat menggunakan enzim protease (Proteolitik), sedangkan secara non enzimatik dapat menggunakan asam. Enzim proteolitik merupakan enzim yang dapat memecah protein sehingga dapat melunakkan daging. Enzim proteolitik akan menghidrolisis daging sehingga daging akan mengendur dan akan menjadi lebih empuk. Enzim proteolitik secara alami dapat dijumpai pada buah nanas, pepaya, jeruk dan lain-lain.

Karakteristik profil protein daging dapat diketahui dengan menggunakan metode SDS-PAGE, salah satunya adalah elektroforesis SDS gel poliakrilamida. Elektroforesis adalah suatu cara untuk memisahkan fraksi-fraksi suatu campuran berdasarkan atas pergerakan partikel koloid yang bermuatan di bawah pengaruh medan listrik. Cara elektroforesis telah digunakan untuk analisa virus, asam nukleat, enzim dan protein lain, serta molekul-molekul organik dengan berat molekul rendah seperti asam amino (Westermier R 2005).

Salah satu jenis elektroforesis yang digunakan secara luas pada saat ini adalah elektroforesis SDS gel poliakrilamida (SDS-PAGE). SDS-PAGE dinilai lebih menguntungkan dibandingkan dengan elektroforesis kertas dan elektroforesis pati. Hal ini disebabkan karena besarnya pori medium penyangga, serta perbandingan konsentrasi akrilamida dan bis-metilen akrilamida. Selain itu, gel ini tidak menimbulkan konveksi dan bersifat transparan (Bintang M 2010). Hasil penelitian yang dilakukan Saputro Ade (2015) menunjukkan bahwa penambahan enzim *papain* dari daun pepaya menunjukkan hasil berbeda pada perendaman 10, 20, 30 menit. Hasil berbeda ditunjukkan pada perendaman 20 dan 30 menit, daging yang direndam 30 menit pita mayornya lebih sedikit dibandingkan perendaman 20 menit.

2. KAJIAN LITERATUR

Daging merupakan bahan makanan hewani yang digemari oleh seluruh lapisan masyarakat karena rasanya lezat dan mengandung nilai gizi yang tinggi. Daging merupakan sumber protein yang tinggi, protein ini disebut sebagai asam amino esensial, asam amino ini sangat penting dan merupakan protein yang dibutuhkan oleh tubuh. Selain itu daging juga mengandung karbohidrat, lemak, mineral, fosfor, vitamin dan kalsium (Wijayanti 2014). Komposisi kimia daging secara umum dapat diestimasi, yaitu air sekitar 75%, protein 19%, lemak 2,5%, karbohidrat 1,2%, substansi non protein lemak yang larut 2,3% termasuk substansi nitro genus 1,65% dan substansi anorganik 0,65%, dan vitamin-vitamin yang larut dalam lemak dan dalam air, relatif sangat sedikit (Soeparno 2011).

Kualitas daging dipengaruhi oleh dua faktor yaitu sebelum dan sesudah pemotongan. Faktor sebelum pemotongan yang biasa disebut dengan *antemortem* yaitu yang dapat mempengaruhi kualitas daging adalah genetik, spesies, bangsa, tipe ternak, jenis kelamin, umur, pakan, dan stres. Sedangkan setelah pemotongan (*post mortem*) yang mempengaruhi kualitas daging antara lain meliputi metode pelayuan, stimulasi listrik, metode pemasakan daging, bahan tambahan pangan termasuk enzim pengempuk daging, hormon dan antibiotik, lemak intramuscular atau *marbling*, metode penyimpanan, macam otot daging dan lokasi pada suatu otot daging. (Soeparno 2005).

Protein (berasal dari bahasa Yunani dari kata *protos* yang berarti “paling utama”) adalah senyawa organik kompleks berbobot molekul yang merupakan polimer dan monomer-monomer asam amino yang dihubungkan satu sama lain dengan ikatan peptida. Protein dihasilkan dari setiap penskresian genetik molekul DNA yang terdapat didalam sel. Protein adalah suatu polipeptida dengan berat molekul dan sifat yang berbeda-beda sesuai dengan fungsi spesifik yang ditentukan oleh gen yang sesuai (Bintang M 2010). Protein adalah makromolekul organik kompleks yang mengandung hidrogen, oksigen, nitrogen, karbon, fosfor dan sulfur serta terdiri dari satu atau beberapa rantai asam amino yang berfungsi sebagai zat pembangun dan pendorong metabolisme dalam tubuh (Apriyanti 2015). Protein merupakan polimer dari sekitar 21 asam amino yang berlainan disambungkan dengan ikatan peptida. Karena keragaman rantai samping yang terbentuk jika asam-asam amino tersebut disambungkan protein yang berbeda dapat mempunyai sifat kimia yang berbeda, struktur sekunder dan tersier yang sangat berbeda. Rantai samping dapat bersifat polar atau nonpolar. Kandungan bagian asam amino polar yang tinggi dalam protein meningkatkan kelarutannya dalam air (Budiyanto 2002).

Pepaya merupakan tumbuhan yang tergolong dalam famili *Caricaceae*. Pepaya dipercaya sebagai gabungan dari dua species *Carica*. Tumbuhan ini merupakan tumbuhan khas di negara-negara tropis. Batang dan daun pada tumbuhan pepaya ini mengandung banyak getah putih seperti susu (*white milky latex*) (Warsito *et al* 2015). Daun pepaya merupakan salah satu jenis sayuran yang diolah pada saat masih muda menjadi makanan yang lezat dan memiliki nilai gizi tinggi (Soedarya 2009). Daun pepaya (*Carica papaya* L.) mengandung alkaloid karpainin, karpain, pseudokarpain, vitamin C dan E, kolin, dan karposid. Daun pepaya mengandung suatu glukosinolat yang disebut benzil isotiosianat. Daun pepaya juga mengandung mineral seperti kalium, kalsium, magnesium, tembaga, zat besi, zink, dan mangan. Selain itu, daun pepaya mengandung senyawa alkaloid karpain, karikaksantin, violaksantin, papain, saponin, flavonoid, dan tannin (Milind dan Gurdita 2011). Papain merupakan enzim proteolitik latex pepaya, *Carica papaya* yang menganalisis proses hidrolisis protein dan polipeptida menjadi asam amino. Papain juga digunakan sebagai pencerna protein dan diberikan sebagai topical debridemen enzimatik. Dalam getah pepaya terkandung enzim-enzim protease (pengurai protein) yaitu papain dan kimopapain. Kedua enzim ini mempunyai kemampuan menguraikan ikatan-ikatan dalam molekul protein sehingga protein terurai menjadi polipeptida dan dipeptida. Jika bekerja pada daging dapat diuraikan sehingga daging menjadi empuk. Kedua enzim ini juga mempunyai daya tahan panas yang baik, bahkan proses pengempukan daging justru terjadi pada suhu pemasakan atau pada waktu daging dimasak. Disamping pengurai protein, papain mempunyai kemampuan untuk membentuk protein baru atau senyawa yang menyerupai protein yang

disebut plastein. Bahan pembentuk plastein berasal dari hasil peruraian protein daging (Hidayah2013).

SDS adalah teknik untuk memisahkan rantai polipeptida pada protein berdasarkan kemampuannya untuk bergerak dalam arus listrik, yang merupakan fungsi dari panjang rantai polipeptida atau berat molekulnya. Hal ini didapatkan dengan ditambahkan detergen SDS dan pemanasan untuk merusak struktur tiga dimensi pada protein dengan terlepasnya ikatan *disulfide* yang selanjutnya direduksi menjadi gugus sulfidril. SDS akan membentuk kompleks dengan protein dan kompleks ini bermuatan negatif karena gugus anionik dari SDS (Bintang M 2010). Analisa menggunakan SDS-PAGE ini poliacrilamid yang digunakan terdiri dari dua yaitu stacking gel dan resolving gel. Stacking gel berfungsi sebagai gel tempat meletakkan sampel, sedangkan resolving gel merupakan tempat dimana protein akan berpindah, bergerak menuju anoda. Stacking gel dan resolving gel memiliki komposisi yang sama yang membedakan hanya konsentrasi gel polyacrilamid pembentuknya, dimana stacking gel lebih rendah dari pada resolving gel (Bintang M 2010)

3. METODE PENELITIAN

Desain penelitian yang dilakukan adalah penelitian deskriptif. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perendaman daging kambing, kerbau dan sapi dengan serbuk daun pepaya yang berkonsentrasi 5% , 10%, 15% dan 20% dengan lama perendaman 60 menit. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah profil protein daging kambing, kerbau dan sapi. Objek penelitian ini adalah daging kambing, kerbau dan sapi yang direndam serbuk daun pepaya dengan konsentrasi 5%, 10%, 15% dan 20% dengan lama perendaman 60 menit.

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Biomolekuler Universitas Muhammadiyah Semarang dan laboratorium Bioteknologi Universitas Gajah Mada Jogjakarta. Alat yang digunakan yaitu : *oven drying*, blender, mikrotube, mikropipet, *beaker glass*, *erlenmeyer*, *chamber elektroforesis*, *power supply*, sentrifuge, rotator, cawan mortal dan spektrofotometer. Bahan yang dipakai adalah daun pepaya dibuat dalam bentuk serbuk, daging (kambing, kerbau dan sapi), polyakrilamid 30%, TEMED, APS 10%, SDS 10%, 1,5 M Tris pH 8,8 dan 6,8, *staining coomassie brilliant blue (CBB)*, asam asetat glasial 10%, *biorad assay*, sampel buffer, dan marker protein.

Prosedur penelitian : daun pepaya dicuci, dipotong kecil , potongan-potongan daun pepaya disusun pada loyang pengering dengan rapi, kemudian dimasukkan kedalam tabung *vacum drying* selama 2-3 jam dengan suhu vakum 50-55⁰C. Setelah daun pepaya kering dilanjutkan dengan memblender kering kemudian diayak menggunakan ayakan dengan ukuran 100 mesh sehingga menjadi serbuk daun pepaya.

Sebanyak 10 gram daging dilumuri dengan serbuk daun pepaya berkonsentrasi 5%, 10% , 15% dan 20% , untuk konsentrasi 5% daging ditambah 0,5 gram serbuk daun pepaya dan direndam selama 60 menit, kemudian sisihkan dan dihaluskan. Dilakukan prosedur yang sama untuk konsentrasi 10%, 15% dan 20%. Sampel kemudian dihaluskan dalam cawan mortir, ditambahkan PBS 1X, dimasukkan daging dalam tabung vonikel dan dihomogenkan menggunakan vortex, kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit pada suhu 4⁰C, daging yang telah disentrifus kemudian diambil supernatannya, supernatan tersebut adalah protein. Konsentrasi protein selanjutnya diukur menggunakan spektrofotometer.

Selanjutnya dilakukan metode separasi protein dengan SDS–PAGE disiapkan plat glas, spaser, sisir yang telah dibersihkan dengan detergen dan alkohol 70% untuk pencetak gel. Setelah alat pencetak gel disiapkan, dimasukkan 4 ml larutan 12 % sebagai gel pemisah, kemudian ditambahkan butanol untuk menutup permukaan larutan secukupnya, ditunggu 30-60 menit sampai terjadi polimerisasi. Selanjutnya gel yang telah mengalami polarisasi dipasang pada Biorat mini protein II, kemudian ditambahkan ke dalamnya larutan elektroda bufer pH 8,3. Sampel disiapkan, sampel ditambah 5x sampel bufer dengan perbandingan 4:1(v/v) setelah itu campuran tersebut dipanaskan selama 2 menit di dalam air yang telah mendidih, setelah itu langsung diletakkan di dalam es. Sampel selanjutnya siap dimasukkan ke dalam gel, setelah itu diberi aliran listrik. Gel diambil, selanjutnya diwarnai dengan 0,1%

Coomassie Brilliant Blue R-250 selama 30-60 menit hingga pita-pita protein terwarnai. Selanjutnya untuk menghilangkan warna pada gel yang tidak mengandung protein diberi larutan destaining, larutan destaining diganti 3-4 kali hingga gel tampak bersih. Kemudian untuk menentukan berat molekul protein yang diinginkan dihitung Rf nya dan diplotkan pada grafik logaritmik dari Rf marker protein yang berat molekulnya telah diketahui. (Darmawati et al. 2012)

4. HASIL PENELITIAN

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daging kambing, daging kerbau dan daging sapi yang dilumuri serbuk daun pepaya dengan konsentrasi 5% , 10% , 15% dan 20% selama 60 menit dan daging yang tidak dilumuri sebagai kontrol.

Tabel 1. Total protein daging sebelum dan sesudah dilumuri serbuk daun pepaya

Jenis Daging	Total Protein dalam $\mu\text{g}/\mu\text{l}$				
	Kontrol	5%	10%	15%	20%
Kambing	28.23	23.49	21.86	20.85	19.41
Kerbau	25.13	18.78	18.23	15.02	13.32
Sapi	27.75	24.61	22.74	21.26	12.87

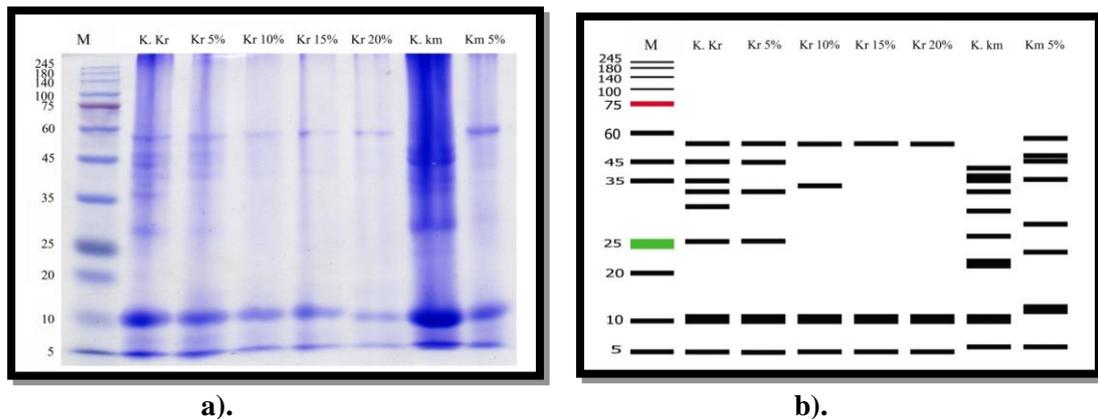
Tabel 2. Persentase penurunan total protein

Jenis Daging	Total Protein dalam %			
	5%	10%	15%	20%
Kambing	16.79	22.56	26.14	31.24
Kerbau	25.27	27.46	40.23	46.99
Sapi	11.31	18.05	23.39	53.62

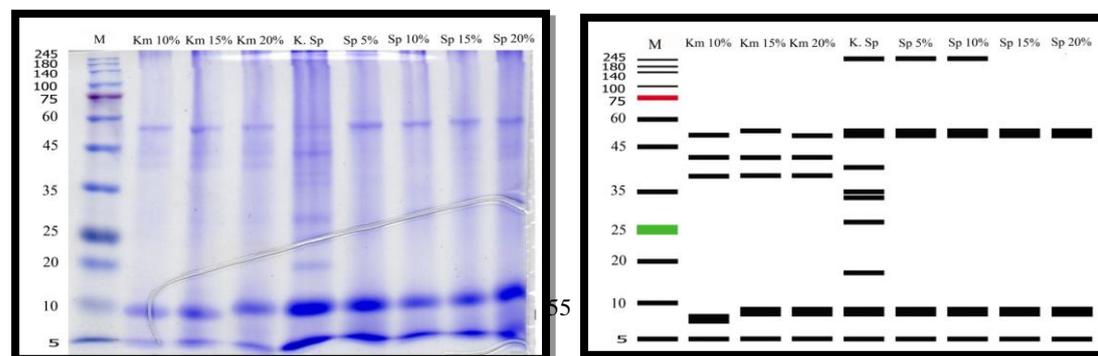
Dari hasil analisis spektrofotometri daging kontrol memiliki total protein yang lebih besar dengan total protein tertinggi dari daging kambing sebesar $28.23\mu\text{g}/\mu\text{l}$ dan terendah adalah daging kerbau sebesar $25.13\mu\text{g}/\mu\text{l}$.

Berdasarkan tabel 5, dapat dilihat bahwa total protein paling banyak penurunan pada daging sapi yang dilumuri serbuk daun pepaya 20% sebesar 53,62% sedangkan untuk daging kerbau dan kambing mengalami penurunan sebesar 46,99 % dan 31,24 %.

Analisis profil protein terhadap daging kambing, kerbau dan sapi yang sudah dilumuri serbuk daun pepaya dilakukan dengan metode SDS-PAGE menunjukkan hasil sebagai berikut:



Gambar 1. (a) Hasil SDS-PAGE gel 1, (b) Visualisasi representasi pita protein Gel 1



a).

b).

Gambar 2. (a) Hasil SDS-PAGE gel 2, (b) Visualisasi representasi pita protein Gel 2

Keterangan gambar :

- M : Marker
- K.Kr : Daging kerbau kontrol
- Kr5% : Daging kerbau dilumuri serbuk konsentrasi 5%
- Kr 10% : Daging kerbau dilumuri serbuk konsentrasi 10%
- Kr15% : Daging kerbau dilumuri serbuk konsentrasi 15%
- Km 20% : Daging kerbau dilumuri serbuk konsentrasi 20%
- K.Km : Daging kambing kontrol
- Km5% : Daging kambing dilumuri serbuk konsentrasi 5%
- Km 10% : Daging kambing dilumuri serbuk konsentrasi 10%
- Km15% : Daging kambing dilumuri serbuk konsentrasi 15%
- Km 20% : Daging kambing dilumuri serbuk konsentrasi 20%
- K.Sp : Daging sapi kontrol
- Sp 5% : Daging sapi dilumuri serbuk konsentrasi 5%
- Sp 10% : Daging sapi dilumuri serbuk konsentrasi 10%
- Sp 15% : Daging sapi dilumuri serbuk konsentrasi 15%
- Sp 20% : Daging sapi dilumuri serbuk konsentrasi 20%

Menurut Gunanti (2010) penentuan berat molekul (BM) protein dilakukan dengan menghitung Rf (*Retardation factor*) dari masing-masing pita (*band*) protein dengan rumus sebagai berikut:

Rf

Tabel 2. Rf dan Berat molekul marker

Jarak Marker	Rf Marker	Berat Molekul Marker (kDa)
0.2	0.03	245
0.3	0.05	180
0.5	0.09	140
0.7	0.13	100
0.9	0.16	75
1.3	0.24	60
1.8	0.33	45
2.0	0.37	35
3.3	0.62	20
3.8	0.71	15
4.6	0.86	10
5.3	1.0	5

Untuk mengetahui Berat Molekul Sampel (BM). Rf yang sudah diketahui nilainya diplotkan pada grafik logaritmik dengan BM (Marker) yang sudah diketahui nilainya.

Tabel 3. Hasil analisis dan Berat molekul sampel

Jenis sampel	Pita protein sampel	Berat Molekul (kDa)
K.Kr	1 pita mayor 7 pita minor	10 kDa. 54,45,35,33,31,26 dan 5 kDa.
Kr 5%	1 pita mayor 5 pita minor	10 kDa 54,45,33,26 dan 5 kDa
Kr 10%	1 pita mayor	10 kDa

	3 pita minor	54, 34 dan 5 kDa
Kr 15%	1 pita mayor	10 kDa
	2 pita minor	54 dan 5 kDa
Kr 20%	1 pita mayor	10 kDa
	2 pita minor	54 dan 5 kDa
K. Km	3 pita mayor	33, 22, dan 10 kDa
	5 pita minor	40, 32, 31, 27 dan 6 kDa
Km 5%	1 pita mayor	11 kDa
	7 pita minor	57,48,45,35,28,24 dan 6 kDa
Km 10%	1 pita mayor	8 kDa
	4 pita minor	51, 42, 39 dan 5 kDa
Km 15%	1 pita mayor	9 kDa
	4 pita minor	55, 42, 39 dan 5 kDa
Km 20%	1 pita mayor	9 kDa
	4 pita minor	55, 42, 39 dan 5 kDa
K.Sp	1 pita mayor	9 kDa
	2 pita minor	51, 40, 35, 33, 27, 17 dan 5 kDa
Sp 5%	1 pita mayor	9 kDa
	2 pita minor	245 dan 5 kDa
Sp 10%	1 pita mayor	9 kDa
	2 pita minor	245 dan 5 kDa
Sp 15%	1 pita mayor	9 kDa
	2 pita minor	245 dan 5 kDa
Sp 20%	1 pita mayor	9 kDa
	1 pita minor	5 kDa

Dalam getah pepaya terkandung enzim-enzim protease (pengurai protein) yaitu papain dan kimopapain. Kedua enzim ini mempunyai kemampuan menguraikan ikatan-ikatan dalam molekul protein sehingga protein terurai menjadi polipeptida dan dipeptida. Jika bekerja pada daging dapat diuraikan sehingga daging menjadi empuk. Kedua enzim ini juga mempunyai daya tahan panas yang baik, bahkan proses pengempukan daging justru terjadi pada suhu pemasakan atau pada waktu daging dimasak, disamping pengurai protein, papain mempunyai kemampuan untuk membentuk protein baru atau senyawa yang menyerupai protein yang disebut plastein. Bahan pembentuk plastein berasal dari hasil peruraian protein daging (Hidayah 2013).

Berdasarkan hal tersebut penambahan enzim protease yang terdapat dalam serbuk daun pepaya pada daging kerbau, kambing dan sapi akan memutus ikatan peptida pada protein daging menjadi mikromolekul yang lebih sederhana sehingga daging akan menjadi lebih lunak. Adanya perbedaan konsentrasi serbuk daun pepaya akan menunjukkan hasil yang berbeda yaitu semakin tinggi konsentrasi serbuk daun pepaya maka jumlah protein pada daging akan terdenaturasi.

5. SIMPULAN

Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa enzim papain yang terdapat dalam daun pepaya yang dijadikan serbuk mampu memecah ikatan-ikatan peptida pada protein daging hingga protein berbentuk pita-pita minor (mikromolekul) serta menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi serbuk daun pepaya dengan lama perendaman 60 menit maka hasil proteinnya semakin terdenaturasi.

Untuk melakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan bagian lain dari tanaman pepaya seperti bunga atau batang pepaya dengan variasi konsentrasi dan lama perendaman yang berbeda dan bagi masyarakat untuk melunakkan daging dapat menggunakan 50 g

serbuk daun pepaya (setara dengan 10 sendok makan) dalam 1 kg daging didiamkan selama 60 menit.

6. REFERENSI

- Apriyanti 2015. Defenisi Protein. <http://ayokesehatan.blogspot.co.id/2014/01/pengertian-protein-fungsiprotein-dan-sumber-protein.html> .Diakses 23 Maret 2017
- Bintang, Maria. 2010. *Biokimia Teknik Penelitian*. Erlangga, Jakarta
- Budiyanto, M.A.K, 2002. *Dasar-Dasar Ilmu Gizi*. UMM Pres Universitas Muhammadiyah, Malang
- Dalilah, E. (2006). Evaluasi Nilai Gizi Dan Karakteristik Protein. *Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor*, 1–72.
- Darmawati, S., Haribi, R., & Anwar, S. (2012). Analisis Molekuler Profil Protein Pili untuk Mengungkap Hubungan Similaritas 26 Strain Salmonella typhi Isolat Jawa. *Prosiding Seminar Unimus. Jurnal Universitas Muhammadiyah Semarang*. ISBN : 978. 979. 704. 883. 9, 14(3).
- Hidayah L, 2013 *Uji Aktifitas Enzim Bromalin dan Uji Enzim Papain*. Jurusan Peternakan Negeri Jember.
- Indrawan, Indri. 2015. *Enzim Pengempuk Daging*. <http://bakrie.ac.id/id/berita-ntp/artikel-pangan/913-enzim-pengempuk-daging>. Diakses tanggal 07 Maret 2017.
- Lawrie, R. A, 2003. *Meat science*. Edisi Ke-5. Penerjemah: A. Perakasi. UI press. Jakarta
- Milind, P., dan Gurditta. 2011. Basketful Benefits of Papaya. *IRJP*, 2(7): 6-12.
- Saputro, T.A. 2015. Profil Protein Daging Sapi yang Direndam Daun Pepaya. *Universitas Muhammadiyah, Semarang*
- Silaban R , Freddy T.M. Panggabean, Rahmadani, T. A. S. (2009). Studi pemanfaatan enzim papain getah buah pepaya untuk melunakkan daging. *Jurusan Kimia Dan Program Pascasarjana, Universitas Negeri Medan*.
- Soedarya, A.P (2009). *Agribisnis*. Bandung ; Penerbit Pustaka Grafika.
- Somanjaya, R. (2013). Pengaruh Enzim Papain Terhadap Keempukan Daging. *Jurnal Ilmu Pertanian Dan Peternakan*
- Soeparno, 2005. *Ilmu dan Teknologi Daging*. Cetakan Ke-4. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Suprpti, M.L (2005). *Teknologi Pengolahan Pangan*. Yogyakarta.
- Warsito, H, Rindiani, Nurdyansyah. 2015. *Ilmu Bahan Makanan Dasar*. Yogyakarta: Nuha Medika.
- Westermier, Reiner. 2005. *Electrophoresis in Practice: A Guide to Methods and Application of DNA and Protein Separations*. New-Jersey: John Wiley & Sons inc.
- Wijayanti, D. (2014). Uji Kadar Protein dan Organoleptik Daging Sapi Rebus yang dilunakkan dengan Sari Buah Nanas (Ananas comosus). *Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Surakarta*.