



SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA VI
"Pemantapan Riset Kimia dan Asesmen Dalam Pembelajaran
Berbasis Pendekatan Saintifik"
Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP UNS
Surakarta, 21 Juni 2014



**MAKALAH
PENDAMPING**

KIMIA ANALITIK

ISBN : 979363174-0

STUDI PERANAN ION LOGAM PADA PROSES IMOBILISASI ENZIM PAPAIN

Sari Edi Cahyaningrum^{1,*}

¹ Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam,

Universitas negeri Surabaya Indonesia

* tel/fax : 08123290484 email:muhacahya@yahoo.co.id

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang peranan ion logam Cu(II) dan Mg(II) pada proses imobilisasi enzim papain pada padatan pendukung kitosan. Pada penelitian ini peranan ion logam dipelajari dengan cara menginteraksikan ion logam pada berbagai macam konsentrasi dan variasi cara interaksi, stabilitas ion logam setelah imobilisasi, dan konfirmasi gugus fungsional yang berperan pada proses imobilisasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ion logam mempunyai pengaruh yang sangat besar terhadap aktivitas enzim, pengaruh akan menurun apabila ion logam berperan sebagai agen ikat silang pada proses imobilisasi enzim papain. Hasil analisis gugus fungsional menunjukkan bahwa ion logam terikat pada gugus fungsional NH₂ kitosan, COO dan OH enzim. aktivitas enzim papain menurun drastis apabila ion logam terikat pada gugus -SH.

Kata kunci: *ion logam, imobilisasi enzim papain, aktivitas enzim.*

PENDAHULUAN

Imobilisasi enzim adalah suatu proses dimana enzim yang secara fisik

ditempatkan pada suatu tempat atau ruang tertentu sedemikian rupa sehingga aktivitas katalitiknya tetap ada dan dapat digunakan



berulang kali [1]. Imobilisasi enzim diharapkan dapat mencegah difusi enzim dalam produk sehingga memungkinkan untuk memperoleh enzim tersebut kembali setelah proses reaksi selesai [2]. Enzim imobil yang dihasilkan dapat dipakai berulang kali, stabilitasnya dapat dipertahankan karena enzim tidak terkontaminasi produk dan produk yang diperoleh tidak dikotori enzim. [2,3]. Proses imobilisasi enzim diharapkan tidak mengubah struktur tiga dimensi enzim. Apabila terjadi perubahan konformasi enzim maka dapat menyebabkan penurunan aktivitas katalitik enzim, sehingga imobilisasi enzim harus dilakukan dengan sangat hati-hati dan pada kondisi yang terkontrol sesuai dengan sifat fisikokimia dari enzim yang akan diimobilisasi [4,5]. Selain faktor-faktor tersebut, pada proses imobilisasi perlu dilakukan pemilihan matriks pendukung dan metode yang digunakan juga harus sesuai dengan sifat fisikokimia enzim sehingga enzim imobil yang dihasilkan mempunyai penurunan aktivitas yang minimum. Pada proses imobilisasi papain diharapkan gugus fungsional yang terlibat bukanlah gugus fungsional yang terletak pada pusat aktif, karena apabila gugus fungsional pada pusat aktif akan menyebabkan terjadi penurunan aktivitas yang sangat besar [6,7]. Berdasarkan hal tersebut maka gugus fungsional papain yang diharapkan terlibat pada proses imobilisasi papain adalah gugus yang terletak selain di pusat aktif yaitu NH_2 dan COO^- yang terletak pada rantai utama dan OH , COO^- yang terletak pada rantai

samping. Gugus- gugus fungsional tersebut kaya akan elektron, demikian pula gugus fungsional utama kitosan bead, sehingga proses imobilisasi papain dengan matriks kitosan bead secara langsung tidak akan terjadi secara efektif. Salah satu cara untuk mengatasi hal tersebut adalah dengan menggunakan agen ikat silang imobilisasi. Agen ikat silang (crosslink agent) yang biasa digunakan adalah glutaraldehid dan senyawa-senyawa organik lainnya. Beberapa peneliti telah mencoba menggunakan ion logam sebagai agen ikat silang, ion logam memberikan efek yang berbeda karena ada ion logam yang berperan sebagai activator enzim dan ada yang berperan sebagai inhibitor suatu enzim. Karena itu sangat diperlukan teknik imobilisasi yang tepat ketika menggunakan ion logam dalam proses imobilisasi enzim, khususnya papain

METODE PENELITIAN

Bahan untuk imobilisasi papain: kitosan bead, MgCl_2 , CaCl_2 , ZnSO_4 , CuSO_4 , CoCl_2 , NiCl_2 , MnCl_2 , Asam sitrat, Na-sitrat, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Na_2CO_3 , papain, BSA, reagen Bradford, tirosin, TCA, reagen folin, kasein dan air bebas mineral.

Peralatan untuk imobilisasi papain: peralatan gelas, botol film, shaker berpenangas, tabung sentrifuse, sentrifuse, spektrofotometer UV-Vis, AAS, pH meter, kertas saring.

Prosedur.

Pemilihan jembatan kation

Pemilihan jembatan kation untuk imobilisasi papain pada *kitosan nanobead* dilakukan dengan cara: sebanyak 100 mg *kitosan nanobead* diinteraksikan dengan 10 mL larutan Ca(II), Mg(II), Ni(II), Mn(II), Zn(II), Cu(II) dan Co(II) konsentrasi 500 mg/L. Interaksi dilakukan selama 60 menit. Setelah interaksi sampel tersebut selanjutnya disaring. *Kitosan nanobead* yang telah mengikat kation logam selanjutnya dicuci dengan air bebas mineral, kemudian dikeringkan dan digunakan sebagai matriks pada imobilisasi papain.

Imobilisasi papain dilakukan dengan cara menginteraksikan 0,1 g matriks (*kitosan nanobead*-kation logam) dengan 10 mL papain 20 mg/mL pH 7 selama 12 jam. Setelah interaksi sampel selanjutnya disaring. Padatan dicuci dengan air bebas mineral kemudian dikeringkan dan selanjutnya diuji aktivitas enzimatis papain imobil terhadap substrat kasein. Filtrat + filtrat pada air pencuci yang kemungkinan mengandung papain diukur kadar protein enzim yang tidak terimobilisasi..

Pemilihan Metode Imobilisasi

Pemilihan metode imobilisasi dilakukan dengan tujuan untuk menghasilkan metode yang paling baik sehingga menghasilkan papain imobil yang mempunyai kualitas enzimatis yang baik pula. Beberapa model imobilisasi yang dipelajari adalah menginteraksikan : kitosan dengan papain secara langsung, papain dengan logam secara langsung,

kitosan diinteraksikan dengan logam kemudian diinteraksikan dengan papain. *Kitosan nanobead* diinteraksikan dengan papain kemudian diinteraksikan lagi dengan kation logam. Metode enkapsulasi yaitu menginteraksikan secara bersama-sama kitosan serbuk, kation logam, papain dan asam asetat. Pada metode ini proses imobilisasi terjadi bersamaan proses pembentukan kitosan bentuk *bead*.

Stabilitas Jembatan Kation Logam terhadap Proses Imobilisasi.

Sebanyak 100 mg *kitosan nanobead* diinteraksikan dengan 10 ml kation logam dengan konsentrasi dibuat bervariasi 100, 250, 500, 750, 1000 dan 1500. Diinteraksikan selama 60 menit. Setelah interaksi kemudian dipisahkan antara filtrat dan endapan. Endapan dicuci dengan air bebas mineral. Kemudian dikeringkan. Kemudian sebanyak 100 mg matriks kitosan nanobead-kation logam diinteraksikan dengan papain selama 12 jam. Padatan yang dihasilkan dicuci dengan air bebas mineral. Filtrat sisa imobil + air cucian dianalisis kadar kation logamnya dengan menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (AAS).

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Pemilihan Jembatan Kation

Pemilihan jembatan kation pada proses imobilisasi dilakukan dengan tujuan untuk menentukan jembatan kation yang nantinya dipilih sebagai kajian utama penelitian, untuk itu maka dilakukan *srenning* terhadap 7 logam yang mewakili

golongan utama dan golongan transisi yaitu Mg(II) dan Ca(II) untuk kation golongan utama, sedangkan golongan transisi diwakili oleh Ni(II), Co(II), Mn(II), Cu(II) dan Zn (II). Data hasil penelitian tentang pemilihan jembatan kation ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Data imobilisasi papain pada kitosan dengan berbagai jembatan kation logam

NO.	Jembatan kation	Jumlah papain terimobil (mg/ml)	Aktivitas papain imobil (Unit/mg)	Aktivitas papain imobil (Unit/mg)
1.	Ca	33.83	2.15	2.24
2.	Ni	39.57	1.52	1.01
3.	Co	36.54	0.53	0.49
4.	Mn	32.55	0.62	0.62
5.	Cu	68.51	0.34	0.39
6.	Zn	52.13	2.28	2.31
7.	Mg	35.67	2.17	2.28

Tabel 2. Data imobilisasi papain pada kitosan bead dengan berbagai jembatan kation logam

NO.	Jembatan kation	Jumlah papain terimobil (mg/ml)	Aktivitas papain imobil (Unit/mg)	Aktivitas papain imobil (Unit/mg)
1.	Ca	40.45	2.35	2.37
2.	Ni	48.09	2.73	2.58
3.	Co	46.39	1.54	1.45

4.	Mn	42.13	0.67	0.71
5.	Cu	74.36	0.25	0.30
6.	Zn	57.46	2.45	2.45
7.	Mg	38.78	2.19	2.29

Data yang diperoleh menunjukkan bahwa masing-masing logam mempunyai kemampuan yang berbeda dalam fungsinya sebagai jembatan pada proses imobilisasi. Demikian pula proses imobilisasi papain pada kitosan serbuk juga menunjukkan hasil yang sangat berbeda dengan proses imobilisasi pada *kitosan nanobead*. Data pada Tabel .1. dan 2. secara umum dapat dilihat pada bahwa *kitosan nanobead* mempunyai kemampuan mengimobilisasi papain yang lebih besar dibanding kitosan serbuk. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa jari-jari dan volume pori *kitosan nanobead* jauh lebih besar dibanding kitosan serbuk.

Berdasarkan hal tersebut maka fakta bahwa kemampuan mengimobilisasi *kitosan nanobead* lebih besar dibanding kitosan serbuk adalah kemungkinan disebabkan ukuran pori *kitosan nanobead* lebih besar dibanding kitosan serbuk. Data yang diperoleh sesuai dengan data penelitian Juang (2002) [8] yang mengimobilisasi enzim glukosidase pada kitosan serbuk dan kitosan nanobead; Peirera (2003) [9] yang

mengimobilisasi lipase pada matriks *kitosan nanobead* menghasilkan jumlah enzim lipase yang terimobilisasi lebih banyak dibanding pada kitosan serbuk. Papain merupakan molekul yang besar sehingga supaya menghasilkan interaksi yang baik maka diperlukan material dengan ukuran pori yang besar sebagai matriks pendukung pada proses imobilisasi papain yang memungkinkan papain dapat masuk ke dalam pori dan berinteraksi secara kimia dengan matriks.

Pada penelitian ini papain yang telah terimobilisasi dalam matriks kitosan serbuk dan *kitosan nanobead* setelah terimobil maka dilakukan pencucian dengan air bebas mineral sampai pada air pencuci tidak terdapat lagi papain. Hal tersebut dilakukan dengan harapan bahwa papain yang hanya menempel dan terperangkap pada permukaan matriks dapat terlepas, sehingga imobilisasi papain pada kitosan merupakan proses imobilisasi yang melibatkan interaksi secara kimia, baik melalui interaksi elektrostatik atau ikatan ionik maupun interaksi melalui ikatan kovalen.

Data pada Tabel .1 menunjukkan bahwa papain yang terimobil pada kitosan serbuk setelah dilakukan pencucian menunjukkan bahwa papain banyak yang lepas bila dibandingkan dengan papain yang terimobil pada *kitosan nanobead*. Hasil penelitian pada bab 5 menunjukkan bahwa disamping ukuran pori *kitosan nanobead* lebih besar dibanding kitosan serbuk, sistem polimerisasi *kitosan nanobead* lebih tertata dibanding kitosan karena sebenarnya proses pembentukan *bead* merupakan proses repolimerisasi. Sistem tatanan polimer pada satu layer yang lebih baik memungkinkan kemampuan dalam mengikat papain pada *kitosan nanobead* lebih baik dibanding pada kitosan serbuk, sehingga jumlah papain yang terimobil juga lebih banyak.

Data pada tabel 6.1 juga menunjukkan bahwa baik kitosan serbuk maupun *.kitosan nanobead* yang mengikat kation logam golongan transisi mampu mengimobilisasi papain yang lebih banyak dibandingkan kitosan serbuk dan *kitosan nanobead* yang mengikat kation logam golongan utama. Hal tersebut memberikan gambaran awal bahwa jenis kation logam yang berperan sebagai jembatan kation mempunyai peranan yang penting dalam imobilisasi papain. Aktivitas enzimatis papain imobil, papain yang terimobil pada *kitosan nanobead* relatif lebih tinggi aktivitas enzimatisnya dibanding papain yang terimobil pada kitosan. Dari data tersebut juga dapat diketahui bahwa

kation Ca(II) dan Mg(II) relatif tidak menyebabkan penurunan aktivitas enzimatis papain, sedangkan kation-kation golongan transisi mempunyai pengaruh yang beragam terhadap aktivitas papain imobil, kation Cu(II) misalnya menyebabkan penurunan yang sangat signifikan terhadap aktivitas enzimatis papain imobil.

Berdasarkan hasil-hasil penelitian tersebut maka dipilih kation Mg(II) , Ca(II) untuk mewakili kation golongan utama sedangkan Cu(II) dan Zn(II) untuk mewakili kation golongan transisi. Selain untuk mewakili golongan kation tersebut masuk golongan utama dan golongan transisi faktor lain yang digunakan sebagai dasar pemilihan adalah kation yang terpilih diharapkan juga mewakili kation yang penggolongannya menurut konsep HSAB (*Hard Soft Acid Base*) dimana Mg(II) dan Ca(II) termasuk golongan asam keras, Cu(II) dan Zn(II) termasuk golongan asam *borderline*.

Kation yang termasuk golongan asam lunak tidak dipilih karena situs aktif papain adalah sistein dengan gugus fungsionalnya adalah SH yang bersifat basa lunak. Interaksi antara kation logam yang bersifat asam lunak dengan gugus -SH akan memblokir aktivitas papain secara drastis sehingga aktivitas papain imobil akan sangat menurun. Pada proses imobilisasi hal tersebut sangat dihindari, proses imobilisasi diharapkan memperbaiki karakteristik enzimatis suatu enzim dengan sedikit penurunan aktivitas enzimatisnya.

Kation- kation yang terpilih sebagai jembatan pada proses imobilisasi papain yaitu Mg(II), Ca(II), Cu(II) dan Zn(II) selanjutnya akan menjadi kajian utama pada penelitian ini.

Pemilihan Metode Imobilisasi

Berbagai metode imobilisasi telah dikaji oleh beberapa peneliti dengan harapan menemukan metode imobilisasi yang memberikan hasil enzim imobil sesuai dengan karakteristik yang diharapkan. Pada penelitian ini dicoba untuk memvariasi berbagai metode imobilisasi yaitu memvariasi urutan interaksi antara kitosan bentuk *bead*, kation logam dan papain, disamping itu juga dilakukan model interaksi dengan enkapsulasi. Metode enkapsulasi dilakukan dengan cara mencampurkan kitosan serbuk, asam asetat, kation logam dan papain. Setelah tercampur kemudian disempatkan pada larutan NaOH yang mengandung etanol. Pada saat proses pencampuran didapatkan bahwa papain menggumpal, hal tersebut terjadi karena kitosan larut pada asam asetat 1 M dan pH yang dihasilkan adalah 2,4. Pada pH tersebut papain mulai mengalami denaturasi dengan berubah bentuknya

menjadi menggumpal. Berdasarkan hal tersebut maka proses imobilisasi dengan cara enkapsulasi tidak dipilih sebagai fokus penelitian.

Penelitian selanjutnya dikembangkan dengan mempelajari metode imobilisasi yang lain yaitu interaksi secara kimia antara kitosan nanobead, kation logam dan papain dengan urutan penambahan dan konsentrasi yang bervariasi. Data yang diperoleh ditampilkan pada tabel 3 dan 4. Pada penelitian ini untuk memilih metode imobilisasi dipilih 2 kation yang diharapkan dapat mewakili dari kation yang telah dipilih sebagai fokus penelitian, yaitu dipilih Mg(II) untuk mewakili golongan utama dan Cu(II) untuk golongan transisi, disamping itu data sebelumnya menunjukkan bahwa Mg(II) mampu berfungsi sebagai jembatan kation dengan jumlah papain yang terimobil sedikit tetapi aktivitasnya mengalami penurunan yang tidak terlalu drastis. Jembatan kation Cu(II) walaupun mampu menjadi jembatan kation dengan jumlah papain yang terimobil banyak tetapi aktivitas papain imobil mengalami penurunan yang sangat banyak. Data hasil penelitian tentang pemilihan metode imobilisasi papain pada matriks kitosan nanobead dengan jembatan kation Mg(II) dan Cu(II) disajikan pada tabel .3 dan .4.

Tabel .3. Data imobilisasi papain pada bead kitosan melalui jembatan kation Mg(II) dengan berbagai macam cara imobilisasi

NO.	Model interaksi	Jumlah terimobil (%)	Aktivitas (%)
-----	-----------------	----------------------	---------------

		Tidak dicuci	dicuci	Tidak dicuci	dicuci
Konsentrasi Mg 250 ppm					
1.	<i>Bead</i> kitosan-papain	10,56	5,87	15,82	9,23
2.	<i>Bead</i> kitosan-papain-Mg	9,89	6,79	8,67	8,67
3.	<i>Bead</i> kitosan- Mg-papain	56,54	34,56	60,89	56,12
4.	Papain-Mg	0	0	30,78	0
5.	Papain-Mg- <i>Bead</i> kitosan	57,5	44,52	25,72	28,34
Konsentrasi Mg 750 ppm					
1.	<i>Bead</i> kitosan-papain	10	3	73,24	32,45
2.	<i>Bead</i> kitosan-papain-Mg	8,56	3	60,43	29,89
3.	<i>Bead</i> kitosan- Mg-papain	55,96	50,52	69,74	54,09
4.	Papain-Mg	0	0	78,95	-
5.	Papain-Mg- <i>bead</i> kitosan	51,56	26,44	56,13	46,34

Tabel .4. Data imobilisasi papain pada kitosan melalui jembatan kation Cu(II) dengan berbagai macam cara imobilisasi

NO.	Model interaksi	Jumlah terimobil (%)		Aktivitas (%)	
		Tidak dicuci	dicuci	Tidak dicuci	dicuci
Konsentrasi Cu 750 ppm					
1.	<i>Bead</i> kitosan-papain-Cu	56,00	59,00	5,78	7,90
2.	<i>Bead</i> kitosan- Cu-papain	85,67	82,03	8,06	10,45
3.	Papain – Cu	0	0	0	0

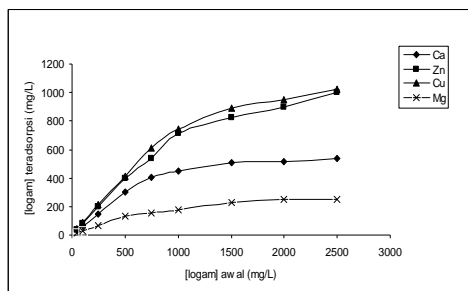
4.	Papain – Cu – <i>Bead</i> kitosan	78,15	75,45	0	0
Konsentrasi Cu 350 ppm					
1.	<i>Bead</i> kitosan-papain-Cu	45,00	39,00	8,92	9,57
2.	<i>Bead</i> kitosan- Cu-papain	69,78	67,89	12,89	16,34
3.	Papain- Cu	0	0	0	0
4.	Papain- Cu- <i>Bead</i> kitosan	75,45	73,65	0	0
Konsentrasi Cu 200 ppm					
1.	<i>Bead</i> kitosan-papain-Cu	35,00	29,00	10,03	12,57
2.	<i>Bead</i> kitosan- Cu-papain	65,78	64,89	15,89	20,34
3.	Papain- Cu	0	0	0	0
4.	Papain – Cu- <i>bead</i> kitosan	60,90	55,02	0	0

Pada tabel 3 terlihat bahwa interaksi *kitosan nanobead* dengan papain secara langsung ada sebagian kecil papain yang dapat terimobil tetapi setelah dilakukan pencucian maka enzim tersebut lepas lagi, hal tersebut menunjukkan bahwa imobilisasi papain menggunakan matriks *kitosan nanobead* secara langsung tidak dapat terjadi secara efektif. Demikian pula imobilisasi papain dengan cara menginteraksikan *kitosan nanobead* dengan papain, setelah keduanya berinteraksi baru ditambahkan kation Mg(II), juga menghasilkan bahwa jumlah papain yang terimobil sedikit dan setelah dilakukan pencucian maka enzim tersebut terlepas lagi. Pada penelitian ini setelah proses imobilisasi selesai, dilakukan

proses pencucian pada papain imobil. Proses pencucian akan menghilangkan enzim yang tidak terikat melalui agen *crosslink* sehingga enzim yang terimobilisasi akan efektif ketika digunakan.

Pada model interaksi dimana papain diinteraksikan dengan kation Mg(II) secara langsung baru setelah itu diinteraksikan dengan *kitosan nanobead* diperoleh data bahwa jumlah papain yang terimobil relatif banyak tetapi aktivitas papain mengalami penurunan. Hal tersebut diperkirakan karena kation Mg(II) langsung berinteraksi dengan gugus fungsional yang terdapat pada papain sehingga kemungkinan merubah konformasinya, sebagai akibatnya terjadi penurunan aktivitas. Model interaksi dimana *kitosan nanobead* diinteraksikan dengan

kation logam sehingga terbentuk matriks baru setelah itu diinteraksikan dengan papain diperoleh data bahwa jumlah papain yang terimobil banyak dan papain imobil relatif tidak mengalami penurunan aktivitas.



Gambar 6.5. Stabilitas kation logam yang telah teradsorpsi pada bead kitosan terhadap proses imobilisasi.

Pemilihan metode imobilisasi dengan menggunakan kation Cu(II) sebagai jembatan kation menunjukkan bahwa interaksi papain dengan kation Cu(II) menyebabkan penurunan aktivitas papain secara drastis bahkan pada konsentrasi kation Cu yang besar, papain tidak punya aktivitas sama sekali. Kemungkinan kation Cu(II) telah memblokir sisi aktif papain sehingga papain tidak dapat menjalankan aktivitasnya sebagai biokatalisator. Seperti halnya pada interaksi dengan jembatan kation Mg(II), pada penelitian dengan jembatan kation Cu(II) menghasilkan data bahwa interaksi kitosan nanobead dengan papain kemudian setelah terjadi interaksi baru diinteraksikan dengan kation Cu(II) menunjukkan bahwa proses imobilisasi papain tidak efektif dimana sebagian papain akan lepas kembali setelah dilakukan pencucian, sehingga kation

Cu(II) tidak dapat menunjukkan perannya sebagai jembatan kation.

Metode imobilisasi yang memberikan hasil cukup baik dengan menggunakan kation Cu(II) adalah metode dimana kitosan nanobead diinteraksikan dengan kation Cu(II) terlebih dahulu. Hasil interaksi menghasilkan matriks yang siap berperan sebagai matriks pendukung pada proses imobilisasi. Setelah itu papain diinteraksikan dengan matriks dengan cara dishaker selama waktu yang bervariasi, pH dan konsentrasi papain yang bervariasi pula. Berdasarkan uraian tersebut maka metode imobilisasi yang dipilih adalah kitosan nanobead diinteraksikan dengan kation logam, selanjutnya kitosan nanobead-kation logam digunakan sebagai matriks untuk imobilisasi papain diinteraksikan dengan papain. Jadi model interaksinya adalah kitosan nanobead-kation logam-papain.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan maka dapat diambil kesimpulan bahwa ion logam mempunyai peranan yang sangat penting pada proses imobilisasi enzim papain, logam Mg(II) merupakan activator papain jadi pengaruhnya kecil terhadap aktivitas papain imobil, sebaliknya karena (Cu(II) merupakan inhibitor papain maka pengaruhnya terhadap aktivitas papain imobil sangat besar.

DAFTAR RUJUKAN

- [1]. Yagar, 2002, *J. Process Biochem.* 31I, 287-289.
- [2]. Jiannmin, 2006, *Biological Macromolecular*, 39, 185-191.
- [3]Tien, C.L., Millette, M., Mateescu, M.A., Lacroix, M., 2004, *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 39, 347-354
- [4]Hayrettin Tumturk^{1,*}, Gokhan Demirel¹, Haydar Altinok², Serpil Aksoy¹, Nesrin Hasirci 2008.. *Journal of Food Chem*; 23(2): 234-246.
- [5]Nadir Dizge, Coskun Aydiner, Derya Y. Imer, Mahmut Bayramoglu, Aziz Tanriseven and Bülent Keskinler 2007. *Biores. Technol.*; 100: 1983-1991.DOI:10.1016/j.biortech.2008.10.008
- [6]Vaidya, B.K., G.C. Ingavle, S. Ponrathnam, B.D. Kulkarni and S.N. Nene, *Biores. Technol.*; 2008 (99): 3623-3629.DOI: 10.1016/j.biortech.2007.07.035
- [7]Markova N, Manolova N, Rashkov I. *Carbohydr Res* ; 2006.341:2098–107
- [8].S. Çetinus, E. Sahin and D. Saraydin 2009.*Food Chemistry*; 2009. 114.(3): 962- 69.
- [9] M. M. Elnashar and A. M. Yassin. 2009 *Journal of Applied Polymer Science*; 2009.114, (1): 17-24.

TANYA JAWAB

Nama Penanya : Sulistiyo Saputro

Nama Pemakalah : Sari Edi Cahyaningrum

Pertanyaan

Papain anda buat sendiri atau digunakan papain murni?

JAWABAN

Papain murni dibeli dari sigma

Nama Penanya : Ilim

Nama Pemakalah : Sari Edi Cahyaningrum

PERTANYAAN

Mengapa suhu papain imobil papain berbeda?yang berpengaruh ikatannya atau logamnya?JAWABAN

Logam akan memebentuk ikatan yang berbeda-beda dengan gugus fungsi oral kitosan dan papain sehingga mempengaruhi suhu papain imobil