Kode/Nama Rumpun Ilmu: 162/Teknologi Hasil Pertanian

ABSTRAK DAN EXECUTIVE SUMMARY PENELITIAN DOSEN PEMULA



Peningkatan Keempukan Daging Ayam Petelur Afkir Dengan Metode Injeksi Ante-mortem Ekstrak Kasar Enzim Protease dari Tanaman Biduri dan Pepaya

Peneliti:

Riska Rian Fauziah, S.Pt., M.P. NIDN: 0027098502

UNIVERSITAS JEMBER

Nopember, 2014

PENINGKATAN KEEMPUKAN DAGING AYAM PETELUR AFKIR
DENGAN METODE INJEKSI ANTE-MORTEM EKSTRAK KASAR ENZIM
PROTEASE DARI TANAMAN BIDURI DAN PEPAYA

Peneliti : Riska Rian Fauziah¹

Sumber Dana : BOPTN 2014

¹Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh injeksi ante-mortem enzim protease tanaman biduri dan pepaya pada kualitas daging ayam petelur afkir. Penelitian ini dilakukan dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial dengan Kelompok 1 (K1) enzim protease biduri dan kelompok 2 (K2) papain, perlakuan masing-masing kelompok ada 4, yaitu konsentrasi enzim 0% (P0), 1% (P1), 3% (P3) dan 5% (P5) dengan tiga kali ulangan. Data dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* dan dilanjutkan dengan *Duncan's Multiple Range Test.* Injeksi antemortem protease biduri dan papain memberikan pengaruh yang sangat nyata (P<0,01) terhadap keempukan. Tingkat keempukan daging yang diinjeksi dengan enzim papain lebih baik jika dibanding dengan enzim protease biduri. Injeksi enzim dengan dosis 3 ml sudah mampu meningkatkan keempukan daging ayam petelur afkir. Injeksi antemortem enzim protease biduri dan papain dapat menurunkan WHC, meningkatkan kadar protein terlarut, *cooking loss* dan *drip loss* serta berpengaruh terhadap warna daging ayam petelur afkir.

Kata kunci: daging ayam petelur afkir, ante-mortem, protease biduri, papain

PENINGKATAN KEEMPUKAN DAGING AYAM PETELUR AFKIR DENGAN METODE INJEKSI ANTE-MORTEM EKSTRAK KASAR ENZIM PROTEASE DARI TANAMAN BIDURI DAN PEPAYA

Peneliti : Riska Rian Fauziah¹

Sumber Dana : BOPTN 2014

¹Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian

Kontak Email : fauziah.rr@gmail.com

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Konsumsi daging ayam di Indonesia dari tahun ke tahun terus meningkat. Pada tahun 2012, daging ayam berkontribusi sebesar 66,8% dalam memenuhi kebutuhan daging dengan 84,4% berasal dari daging ayam broiler (livestokreview.com, 2013). Populasi ayam petelur yang tinggi sebenarnya merupakan potensi untuk memenuhi kebutuhan daging ayam, karena ayam petelur afkir memiliki kandungan gizi yang tidak jauh berbeda dengan daging ayam potong.

Daging ayam petelur afkir memiliki kelemahan pada teksturnya yang alot (keras) karena berumur tua, sehingga kurang diminati konsumen. Soeparno (2005), menyatakan bahwa umur ternak akan menentukan kealotan daging karena ikatan-ikatan silang serabut otot secara individual meningkat sesuai dengan peningkatan umur. Nowak (2011), menyatakan bahwa keempukan daging merupakan parameter yang paling berpengaruh terhadap daya terima konsumen, oleh karena itu upaya untuk mengurangi kealotan pada daging ayam petelur afkir ini dibutuhkan untuk meningkatkan daya terima konsumen. Salah satu cara yang dapat dilakukan yaitu dengan menggunakan enzim protease.

Enzim protease memiliki kemampuan untuk mengempukkan daging karena enzim ini mampu menghidrolisis protein miofibril pada daging (Rao *et al.*, 1998). Enzim protease yang umum digunakan untuk mengempukan daging berasal dari tanaman seperti papain dari tanaman pepaya, bromelin dari buah nanas, ficin dari tanaman fig (De Vitre, 1984), enzim protease dari jahe (Naveena and Mendiratta, 2001) dan juga enzim protease dari tanaman biduri (Witono, dkk., 2002). Aktivitas protease biduri dengan konsentrasi 0,5% dapat mengempukkan daging sapi (Murtini dan Qomarudin, 2003). Lawrie (2003), menyebutkan bahwa aplikasi protease dalam pengempukan daging dapat dilakukan dengan beberapa cara. Gottschall and Kies (1942), Wang and Maynard (1955), Tappel *et al.* (1965) and Weir *et al.* (1958) dalam Huffman (1961) menyebutkan bahwa penggunaan enzim protease dalam pengempukan daging terkendala penyebaran enzim yang tidak merata di dalam jaringan daging. Berdasarkan hasil penelitian Huffman (1961), injeksi ante-mortem

enzim papain pada ayam memberikan efek pengempukan daging yang signifikan dan enzim tersebar secara merata. Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh injeksi ante-mortem enzim protease tanaman biduri dan pepaya terhadap kualitas ayam petelur afkir.

Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh injeksi antemortem enzim protease tanaman biduri dan pepaya pada kualitas ayam petelur afkir.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan dan Alat

Sampel dalam penelitian ini adalah daging dari ayam petelur afkir sebanyak 24 ekor yang diperoleh dari peternakan lokal, ekstrak kasar enzim protease biduri dan enzim protease papain. Bahan kimia sebagian besar berspesifikasi *pure analys* (p.a.) merek Sigma (USA) yang digunakan adalah 0,05 M buffer Phospat pH 7 (Na2HPO4 dan NaH2PO4 0,05 M), soluble casein, NaOH 2N, larutan TCA 15%, reagen mix-lowry (Na2CO3, Natrium Kalium tartat 2%, dan CuSO4 1%), follin, reagen TNBS, HCl 1N. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi : pisau, jarum suntik 5 ml, baskom, gunting, timbangan analitik, centrifuge Medifiger, spektrofotometer, pH meter Jen Way tipe 3320 (Jerman), magnetik stirrer Stuart, vortex Thermolyne 16700, lemari pendingin by Freezetech, waterbath GFL 1083, Coloreader Konica Minolta, neraca analitic Ohaus, pemanas listrik Gerhardt, spatula, peralatan kaca, kain saring, pisau stainless stell, telenan, plastik PP dan alat-alat gelas.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial dengan Kelompok 1 (K1) enzim papain dan kelompok 2 (K2) enzim protease biduri. Perlakuan untuk masing-masing kelompok ada 4, yaitu konsentrasi enzim 0% (P0), 1ml (P1), 3ml (P3) dan 5ml (P5), masing-masing perlakuan dilakukan 3 kali ulangan. Analisa statistik yang digunakan untuk perhitungan data adalah analisis ragam (ANOVA).

Tahapan Penelitian

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk membandingan kinerja protease biduri dan papain (Metode Lowry yang telah dimodifikasi), setelah mendapatkan aktivitas protease penelitian dilanjutkan dengan preparasi larutan injeksi. Injeksi protease pada ayam mengikuti metode Huffman *et al.* (1967).

Penyiapan bahan injeksi dilakukan dengan menyiapkan ekstak kasar enzim protease biduri dan pepaya yang telah diketahui aktivitasnya. Injeksi dilakukan dengan menyuntikkan 0 ml (P0), 1 ml (P1), 3 ml (P3) dan 5 ml (P5) ekstrak kasar enzim protease pada ayam.

Sebelum ternak disembelih dilakukan pengistirahatan selama 12-24 jam sebelum penyuntikan dan penyembelihan (Soeparno, 2005), injeksi protease biduri dan papain melalui pembuluh darah pada vena sayap (vena cephalica) (Huffman et al., 1967) dan pemotongan setelah 10 menit injeksi (Kang et al., 1974) secara Islami (Rosyidi, 1999). Proses pemotongan karkas dilakukan dengan pemotongan dada dan

paha serta deboning untuk memperoleh daging dada dan paha menggunakan metode menurut Soeparno (2005). Ayam yang telah di sembelih dipisahkan antara bagian dada dan paha, kemudian dilakukan analisa untuk masing-masing perlakuan pada daging bagian paha dan dada tersebut.

Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah tekstur (Metode Rheotex), WHC (Water Holding Capacity) (Subagio, dkk, 2003), kadar protein terlarut (metode Lowry, Walker., 1994), cooking loss (Soeparno, 2005), drip loss (Navid et al., 2011), dan warna (Navid et al., 2011).

Analisis Data

Data hasil penelitian akan dianalisa ragam (anova) dengan taraf kepercayaan 5%, apabila anova berbeda maka diuji jarak dengan metode DMRT 5%. Rata-rata data hasil penelitian akan diploting dalam histogram atau kurva.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Ekstrak kasar enzim protease tanaman biduri dan pepaya diperoleh dari getah tanaman, sehingga dilakukan penyadapan untuk mendapatkan getah tersebut. Pengujian aktivitas enzim protease dilakukan mengikuti metode Lowry (Walker, 1994 dengan modifikasi). Hasil pengujian aktivitas protease tanaman biduri dan papain diketahui masing-masing sebesar 0,148 U/ml dan 0,27 U/ml.

Ayam petelur afkir yang digunakan dalam penelitian ini adalah ayam petelur jenis Isa Brown dengan umur sekitar 82 minggu dengan bobot tubuh rata-rata 2 kg. Analisis proksimat dilakukan terhadap sampel ayam petelur afkir yang akan digunakan diperoleh data seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisa proksimat daging ayam petelur afkir

Parameter	Persentase (%)
Kadar air	70,83
Kadar protein	23,47
Kadar lemak	2,27
Kadar abu	1,98
Kadar karbohidrat	1,45

Karkas ayam petelur afkir yang telah diperlakukan selanjutnya dipisah antara bagian dada dan paha, kemudian dianalisa tekstur, WHC, protein terlarut, *cooking loss*, dan *drip loss*. Data hasil analisa tersebut tersaji dalam Tabel 2. Analisa lain yang dilakukan terhadap daging ayam tersebut adalah analisa warna dan data yang diperoleh seperti yang tersaji pada Tabel 3.

Tabel 2. Data Hasil Pengamatan Terhadap Daging Ayam Petelur Afkir

D 11	Dosis injeksi	Rata-rata									
Perlakuan		Tekstur WHC			ЧС	Prot		Cooking loss		Duin loss	
	3	168	Stui	VV	пС	terlarut		Cooking loss		Drip loss	
		Dada	Paha	Dada	Paha	Dada	Paha	Dada	Paha	Dada	Paha
Enzim biduri	0 ml	12,08 ^c	$16,08^{d}$	34,21 ^b	38,02 ^e	$0,75^{a}$	$0,31^{a}$	18,43 ^a	15,68 ^a	4,57 ^a	$3,50^{a}$
	1 ml	11,58 ^c	15,75 ^d	29,67 ^{ab}	33,58 ^d	$0,83^{a}$	$0,23^{a}$	23,53 ^a	24,34 ^{ab}	7,02 ^{cd}	6,45 ^b
	3 ml	9,75 ^{bc}	12,67 ^c	$28,76^{a}$	29,93°	$2,05^{b}$	$0,75^{b}$	25,55 ^{ab}	27,02 ^b	8,49 ^{de}	8,25 ^{bc}
	5 ml	$8,50^{ab}$	10,25 ^b	23,63 ^a	$25,20^{b}$	$3,78^{d}$	$2,13^{d}$	21,62 ^a	20,52 ^a	11,31 ^{fg}	8,77 ^{cd}
Enzim papain	0 ml	12,17 ^c	16,25 ^d	33,51 ^b	35,11 ^{de}	$0,81^{a}$	$0,20^{a}$	21,05 ^a	18,45 ^a	$5,10^{ab}$	5,15 ^{de}
	1 ml	11,25°	10,67 ^{bc}	28,21 ^a	$34,79^{d}$	3,26 ^c	1,41 ^c	27,56 ^b	30,41 ^b	6,14 ^{bc}	6,74 ^e
	3 ml	9,58 ^b	9,42 ^b	25,43 ^a	26,74 ^{bc}	6,18 ^e	$3,04^{e}$	21,35 ^a	$23,80^{a}$	10,08 ^{ef}	9,51 ^{ef}
	5 ml	6,92 ^a	7,33 ^a	17,64 ^a	15,08 ^a	7,42 ^f	3,83 ^f	27,49 ^b	27,81 ^b	11,76 ^g	10,55 ^f

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan pengaruh yang sangat nyata (P<0,01)

Tabel 3. Data Hasil Pengamatan Warna Terhadap Daging Ayam Petelur Afkir

	Dosis injeksi	Rata-rata							
Perlakuan		Keceral	nan (L)	Kemera	han (a)	Kekuningan (b)			
		Dada	Paha	Dada	Paha	Dada	Paha		
Enzim biduri	0 ml	49,15	42,73	17,88	17,95	22,25	22,77		
	1 ml	43,62	38,77	16,93	16,58	18,93	18,70		
	3 ml	44,01	38,93	17,35	14,58	20,23	16,63		
	5 ml	42,92	38,20	15,25	14,92	22,73	19,98		
Enzim papain	0 ml	48,32	42,97	28,32	19,07	22,30	22,10		
	1 ml	44,83	38,95	17,63	17,17	25,50	21,58		
	3 ml	42,88	37,12	15,65	15,62	24,25	18,67		
	5 ml	43,18	38,75	18,92	15,58	25,85	21,82		

Pembahasan

Injeksi antemortem enzim protease biduri dan papain berpengaruh sangat nyata (P<0,01) terhadap keempukan daging ayam petelur afkir. Injeksi enzim tersebut dapat meningkatkan keempukan daging ayam petelur afkir. Berdasarkan Tabel. 2, injeksi enzim dapat meningkatkan keempukan daging ayam petelur afkir karena karena enzim tersebut dapat menghidrolisis protein pada ikatan silang antara kolagen (Gonzales et.al., 2001). Semakin tinggi dosis enzim yang diinjeksikan, maka keempukan semakin meningkat. Peningkatan dosis enzim ini diketahui memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap keempukan daging, baik pada daging bagian dada maupun bagian paha. Hasil penelitian menunjukkan bahwa enzim papain memiliki kemampuan yang lebih baik dalam meningkatkan keempukan daging ayam petelur afkir. Hasil yang sama juga diperoleh dari penelitian Calkins and Sulivan (2007), yang mendapatkan data bahwa enzim papain mampu meningkatkan keempukan daging yang lebih baik dibanding enzim bromelin, ficin, dan protease mikroba. Hal ini disebabkan karena kemampuan enzim papain yang sangat efektif dalam menghidrolisis protein myofibril dan kolagen. Daging bagian dada lebih empuk jika dibanding daging paha, hal ini disebabkan otot bagian paha merupakan otot yang aktif, dimana otot yang aktif menghasilkan jaringan protein kolagen lebih banyak sehingga daging lebih *alot* dibanding otot yang kurang aktif (Widiastuti, 2012).

Berdasarkan Tabel. 2, diketahui bahwa pengaruh injeksi enzim menurunkan nilai WHC daging ayam petelur afkir. Injeksi antemortem enzim protease biduri dan papain berpengaruh sangat nyata (P<0,01) terhadap nilai WHC daging ayam petelur afkir. Taraf perbedaan yang sangat nyata (P<0,01) ini diberikan oleh jenis enzim dan dosis yang berbeda. Semakin tinggi dosis enzim yang diinjeksikan pada ayam petelur afkir, menghasilkan nilai WHC yang semakin rendah baik pada daging bagian dada maupun paha. Kemampuan enzim papain dalam menurunkan nilai WHC lebih tinggi jika dibanding enzim protease biduri. Hal ini diduga karena kemampuan enzim papain yang sangat efektif dalam menghidrolisis protein myofibril dan kolagen. Water holding capacity antara sangat dipengaruhi oleh derajat hidrolisis. Apabila derajat hidrolisis tinggi maka molekul protein banyak mengalami hidrolisis sehingga menjadi rantai peptida yang lebih pendek. Hidrolisis tersebut juga dapat menurunkan daya ikat air, karena protein telah terhidrolisis sehingga ikatan silang protein dalam serabut otot semakin lemah dan menurunkan kemampuan protein daging dalam mengikat air (Soeparno, 2005). Semakin tinggi dosis enzim yang diinjeksikan menghasilkan nilai WHC yang semakin rendah.

Data penelitian ini menunjukkan bahwa injeksi antemortem enzim protease biduri dan papain berpengaruh sangat nyata (P<0,01) terhadap kadar protein terlarut daging ayam petelur afkir, baik bagian dada maupun bagian paha. Injeksi antemortem enzim dapat meningkatkan kelarutan protein daging, semakin tinggi dosis enzim yang diinjeksikan semakin tinggi pula kadar protein terlarut. Peningkatan dosis enzim secara signifikan (P<0,01) meningkatkan kadar protein terlarut (Tabel. 2). Peningkatan kadar protein terlarut ini disebabkan karena protein terhirolisis sehingga merusak ikatan polipeptida, melemahkan ikatan kolagen, dan denaturasi protein. Hal ini berkontribusi terhadap kehilangan air dan komponen nutrisi terlarut lain dalam daging. Hasil yang sama juga diperoleh daro penelitian (Ionescu *et al.* 2008) yang mengamati pengaruh enzim papain dan bromelin terhadap protein otot dan kolagen pada daging sapi.

Injeksi antemortem enzim protease biduri dan papain tidak memberikan pengaruh yang nyata (P>0,05) terhadap *cooking loss* daging ayam petelur afkir. Dosis yang berbeda meberikan pengaruh yang nyata (P<0,05) terhadap *cooking loss* daging bagian paha ayam petelur afkir. Berdasarkan Tabel. 2, diketahui semakin tinggi dosis enzim yang diinjeksikan, *cooking loss* cenderung semakin tinggi. WHC mempengaruhi nilai susut masak daging, semakin tinggi nilai WHC, semakin rendah susut masak (Soeparno, 2005). Hal ini karena kemampuan daging mengikat air berpengaruh terhadap jumlah air dan konponen terlarut lain yang dilepaskan selama pemasakan. Pada penelitian ini peengaruh injeksi enzim tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap *cooking loss* daging, hal yang sama juga didapatkan dalam penelitian Okubanjo et al. (2011) yang mengamati efek pengempukan kalsium klorida pada daging bagian dada ayam petelur afkir dan juga pada penelitian Morgan et al. (1991) yang mengamati proses pengempukan daging sapi.

Injeksi antemortem enzim protease biduri dan papain berpengaruh sangat nyata (P<0,01) terhadap *drip loss* daging ayam petelur afkir, baik bagian dada

maupun bagian paha. Dosis enzim yang diinjeksikan memberikan pengaruh yang sangat nyata (P<0,01) terhadap *drip loss* daging bagian dada, sedang pada daging pada bagian paha baik jenis enzim maupun dosis enzim memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap nilai *drip loss*. Menurut Offer et al. (1989), laju dan kuantitas drip yang dihasilkan dari daging segar dipengaruhi oleh kondisi rigormortis daging dan permeabilitas membran sel dalam daging. Drip yang dihasilkan ini berasal air yang mengisi ruang intraseluler daging. Injeksi enzim memicu terhidrolisanya protein daging yang mengakibatkan daya ikat air (WHC) daging menurun. Menurut Soeparno (2005), penurunan daya ikat air daging dipengaruhi oleh struktur protein daging. Perubahan-perubahan struktur sel dalam daging dipengaruhi aktivitas enzim proteolitik (Padaga dan Purnomo, 1996). Kecepatan hidrolisis enzim terhadap substrat ditentukan oleh konsentrasi enzim, sehingga bertambahnya konsentrasi enzim dapat meningkatkan kecepatan hidrolisis substrat.

Warna daging ayam petelur afkir juga dipengaruhi oleh injeksi antemortem enzim protease biduri dan papain. Perlakuan ini memberikan pengaruh yang nyata (P<0,05) terhadap tingkat kecerahan (L) daging bagian dada dan pengaruh yang sangat nyata (P<0,01) terhadap tingkat kecerahan (L) daging bagian paha. Perlakuan ini juga memberikan pengaruh yang sangat nyata (P<0,01) terhadap tingkat kemerahan (a) daging bagian dada dan pengaruh yang nyata (P<0,05) pada daging bagian paha. Sedangkan tingkat kekuningan (b) baik pada daging bagian dada maupun paha dipengaruhi perlakuan ini dengan tingkat kepercayaan (P<0,05) atau pengaruh yang nyata. Warna pada daging dipengaruhi oleh pigmen yang terdapat didalam daging, yaitu mioglobin. Perbedaan warna daging timbul dari status kimia dari molekul-molekul mioglobin (Lawrie, 1995). Mioglobin yang teroksidasi akan berubah menjadi oksimioglobin yang berwarna merah cerah dan akan berubah menjadi metmioglobin yang berwarna kecoklatan apabila globin terdenaturasi. Pada daging ayam, kandungan mioglobin pada daging bagian paha cenderung lebih tinggi jika dibandingkan dengan bagian dada (Soeparno, 2005). Hal ini yang menyebabkan daging bagian paha cenderung lebih gelap dan kemerahan jika dibanding daging bagian dada.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa tingkat keempukan daging yang diinjeksi dengan enzim papain lebih baik jika dibanding dengan enzim protease biduri. Peningkatan keempukan daging dengan metode antemortem ini relatif merata. Injeksi enzim dengan dosis 3 ml sudah mampu meningkatkan keempukan daging ayam petelur afkir. Injeksi antemortem enzim protease biduri dan papain dapat menurunkan WHC, meningkatkan kadar protein terlarut, *cooking loss* dan *drip loss* serta berpengaruh terhadap warna daging ayam petelur afkir.

Saran

Perlu dikembangkan penelitian lanjutan untuk membandingkan kualitas daging ayam petelur afkir yang telah diinjeksi dengan enzim dengan daging ayam yang kualitasnya sudah dapat diterima secara umum, misalnya daging ayam broiler atau ayam kampung serta pengembangan produk dari daging ayam petelur afkir ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Calkins, R. and Sullivan, G. 2008. Adding Enzymes to Improve Beef Tenderness. BEEF FACTS Product Enhancement. www.beefresearch.org
- De Vitre, H. E., 1984, Tenderization of spent hen muscle using papain, bromelin or ficin, alone and in combination with salts. Thesis. Kansas State University, Manhattan, Kansas
- Gonzalez CB, Valeria AS, Fernado JC, Adriana AP, Jorge A. L (2001). Effect of Calcium chloride marination on bovine Cutaneus trunci muscle. Meat Sci., 57: 251-256.
- Huffman, D.L, A.Z. Palmer, J.W. Carpenter, and R. L. Shirley, 1961. The effect of antemortem injection of papain on tenderness of chickens. Poultry Science. 40:1627
- Huffman, D.L, A.Z. Palmer, J.W. Carpenter, D.D. Hargrove, and M. Koger. 1967. Effect of breeding, level of feeding and antemortem injection of papain on the tenderness of weanling calves. J. Anim. Sci. 26:290-293.
- Ionescu, A., Aprodu, I. and Pascaru, G.. 2008. Effect of Papain and Bromelin on Muscle and Collagen Proteins in Beef Meat. The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati Fascicle VI – Food Technology, New Series, II (XXXI), pp. 9-16.
- Kang, C. K., William D.W., and Eldon E. W. 1974. Tenderization of meat with proteolytic enzymes. In: Chicago, United State Patents number 3,818,106.
- Lawrie, R.A. 1995. Ilmu daging Edisi keLima diterjemahkan oleh Aminuddin Parakkasi. UI Press. Jakarta.
- livestokreview.com, 2013. Daging broiler sumbang 84,4% kebutuhan daging unggas nasional. Online. Diakses tanggal 30 Maret 2014
- Morgan JB, Savell JW, Hale DS, Miller RK, Griffin DB, Cross HR, Shackelford SD (1991). National Beef Tenderness Survey. J. Anim. Sci., 69: 3274–3283.
- Murtini E. S. dan Qomarudin, 2003, Pengempukan daging dengan enzim protease tanaman biduri (*Calotropis gigantea*), Jurnal Teknologi dan Industri Pangan, Vol. XIV, No. 3: 266-268
- Naveena, B. M., & Mendiratta, S. K. (2001). Tenderization of spent hen meat using ginger extract. British Poultry Science 42: 344-350
- Navid, S., A. Sheiklar and K. Kaveh, 2011, Influence of the combination of vitamin D₃ and papaya leaf on meat qouality of spent layer hen, Agricultural Journal, vol. 6, No. 4: 197-200
- Nowak, Dariusz. 2011, Enzymes in Tenderization of Meat The System of Calpains and Other Systems a Review. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2011, Vol. 61, No. 4, pp. 231-237
- Offer GP, Knight R, Jeacocke R, Almond T, Cousins J, Elsey N, Parsons A, Sharp RS, Purslow (1989). The structural basis of the water-holding, appearance and toughness of meat and meat products. Food Microstruct., 8: 151-170.

- Okubanjo A. O., Omojola A. B*, Olusola, O. O and Oladepo, O. O. 2011. Postmortem tenderization of spent layer's breast meat with calcium chloride. African Journal of Food Science Vol. 5(2) pp. 45 49
- Padaga, Masdiana CH dan Purnomo, Hari. 1996. Ilmu Daging. NUFFIC Universitas Brawijaya. Malang
- Rao, M. B., A. M. Tanksale, M. S. Ghatge and V. V. Deshpande, 1998, Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases, Microbiology and Molecular Biology Reviews, Vol. 62, No.3, pp. 597–635.
- Rosyidi, Djalal. 1999. Abatoir Dan Teknik Pemotongan Ternak. Universitas Brawijaya. Malang
- Soeparno. 2005. Ilmu dan Teknologi Daging. UGM Press. Yogyakarta.
- Walker, J. M., 1994, Protein Protocols Handbook, Humana Press Inc. Totowa, New Jersey
- Widiastuti, A., Pudjomartatmo dan A. M. P. Nuhriawangsa, 2012, Pengaruh Dosis Injeksi Antemortem Papain Kasar terhadap Kualitas Fisik dan Organoleptik Daging Ayam Petelur Afkir pada Jenis Otot yang Berbeda. Sains Peternakan Vol. 10 (2), September 2012: 100-107
- Witono, Y., 2002, Pemanfaatan enzim protease dari tanaman biduri untuk pengolahan makanan, Jurnal Sains dan Teknologi, Vol. 1, No. 1: 32-37