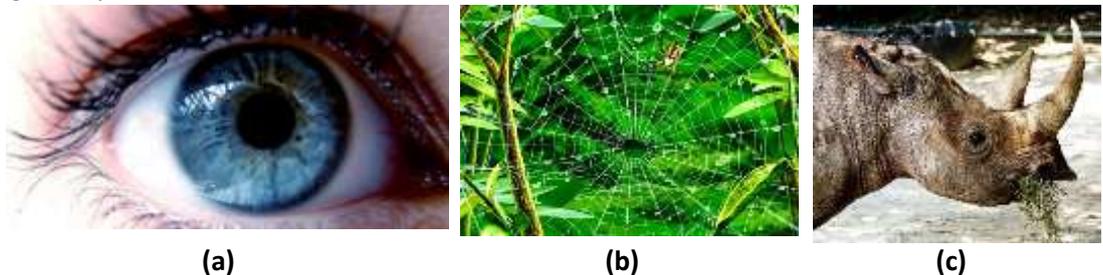


Asam Amino, Peptida dan Protein

1. Pendahuluan

Protein memiliki fungsi selular penting dalam tubuh karena berpartisipasi dalam biosintesis porfirin, purin, pirimidin dan urea. Rantai protein merupakan jenis polipeptida yang terdiri atas L- α -asam amino. Polimer asam amino yang memiliki rantai lebih pendek dinamakan dengan peptida yang berperan penting sebagai hormon. Protein merupakan makromolekul yang terdiri dari 1 (satu) rantai polipeptida dan terkadang dua atau lebih polipeptida. Protein juga dapat ditemukan dalam setiap sel dan molekulnya terdiri dari unsur C, H, N, O, S dan terkadang P, Fe, Zn dan Co. Berdasarkan jumlah asam amino yang menyusun polipeptida, peptida merupakan polipeptida yang tersusun atas kurang dari 50 asam amino sedangkan protein tersusun atas lebih dari 50 asam amino.

Ada lebih dari 300 jenis asam amino yang dapat ditemukan di alam, tetapi hanya 20 jenis asam amino yang menyusun protein. Manusia dan hewan tingkat tinggi hanya bisa mensintesis 10 dari 20 jenis asam amino tersebut sehingga membutuhkan tambahan nutrisi yang mengandung asam amino dari sumber makanannya. Sel dapat memproduksi protein dengan susunan dan fungsi yang berbeda menggunakan kombinasi dari 20 jenis asam amino. Oleh karena *building blocks* yang berbeda, organisme dapat menghasilkan protein dengan banyak fungsi seperti enzim, hormon, antibodi, transport, jaringan otot, protein pembentuk lensa mata, bulu, jaring laba-laba, tanduk badak, antibiotik, protein susu, bisa ular dan aktivitas biologi lainnya.



Gambar 2.1 Protein dalam Berbagai Fungsi. (a) lensa mata; (b) jaring laba-laba; (c) Cula badak

Berdasarkan komponen penyusunnya, protein diklasifikasikan menjadi dua kategori, yaitu:

- 1) Protein sederhana. Jika protein ini dihidrolisis maka hanya akan menghasilkan asam amino. Komposisi unsur penyusunnya adalah 50% karbon, 7% hidrogen, 23% oksigen, 16% nitrogen dan 0 – 3% belerang.
- 2) Protein terkonjugasi. Jika protein ini dihidrolisis maka akan menghasilkan asam amino dan senyawa organik atau anorganik. Komponen non-asam amino yang terkonjugasi pada struktur protein dinamakan gugus prostetik. Contoh protein terkonjugasi adalah nukleoprotein, lipoprotein, fosfoprotein, metaloprotein dan glikoprotein.

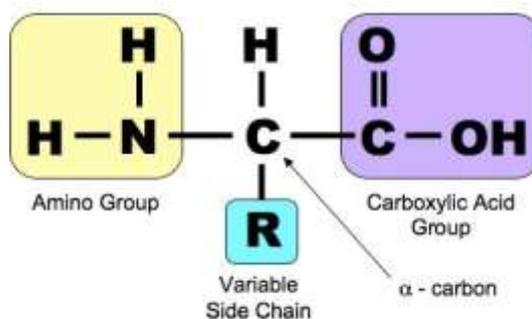
Tabel 2.1 Contoh Protein Terkonjugasi

Protein terkonjugasi	Grup Prostetik	Contoh
Lipoprotein	Lipid	β1-lipoprotein darah
Glikoprotein	Karbohidrat	Imunoglobulin G
Fosfoprotein	Gugus fosfat	Kasein dalam susu
Hemoprotein	Heme (besi porfirin)	Hemoglobin
Flavoprotein	Nukleotida flavin	Suksinat dehidrogenase
Metaloprotein	Besi	Ferritin
	Zink	Alkohol dehidrogenase
	Kalsium	Calmodulin
	Molibdenum	Dinitrogenase
	Kobalt	Plastosianin

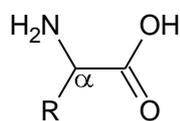
2. Asam Amino

1) Anatomi Asam Amino

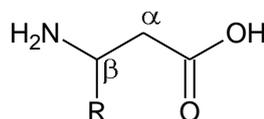
Asam amino memiliki dua gugus fungsi yaitu $-NH_2$ dan $-COOH$ seperti pada Gambar 2.2. Pada keadaan zwitter ion, biasanya gugus tersebut dalam keadaan $-NH_4^+$ dan $-COO^-$. Kecuali prolin, 20 jenis asam amino pembentuk protein memiliki gugus karboksil bebas dan gugus amino bebas tidak tersubstitusi yang terikat pada atom karbon α sehingga dinamakan dengan α -asam amino. Berdasarkan strukturnya, 20 jenis asam amino pembentuk protein, 19 diantaranya merupakan amina primer dan 1 amina sekunder (prolin). Selain itu, 19 asam amino memiliki C kiral dan 1 akiral (glisin).



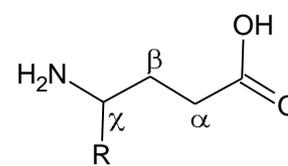
Gambar 2.2 Anatomi Asam Amino



α-asam amino



β- asam amino



γ- asam amino

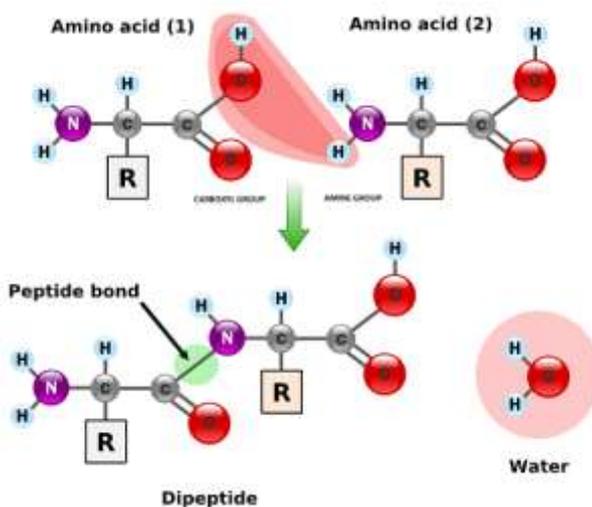
Gambar 2.3 Alpha, Beta dan Gamma Asam Amino

Berdasarkan jumlah asam amino penyusunnya, rantai asam amino dibagi menjadi:

- 1) Peptida. Terdiri dari asam amino yang jumlahnya kurang dari 50.
 - a) Dipeptida. Terdiri dari 2 asam amino.
 - b) Tripeptida. Terdiri dari 3 asam amino.

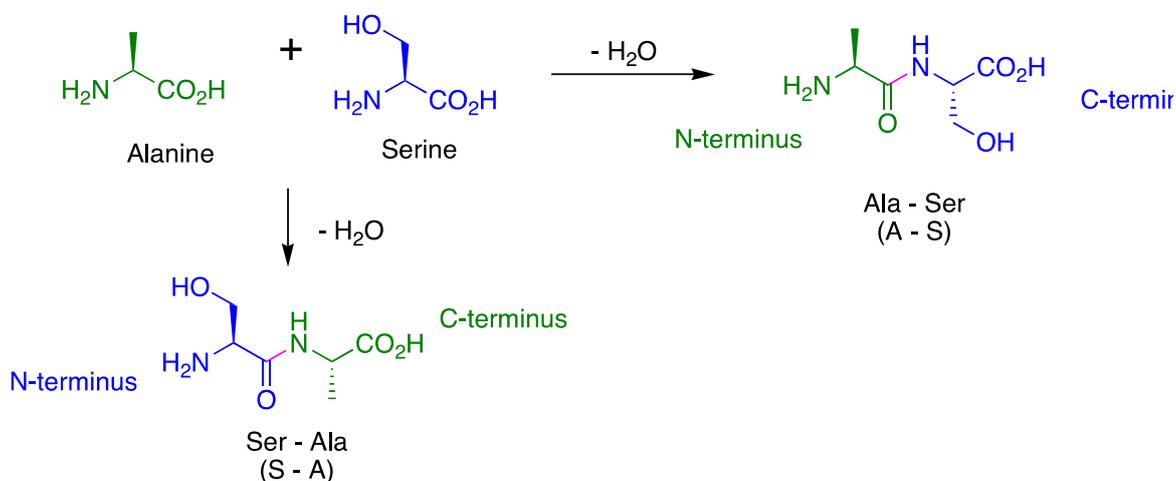
- c) Polipeptida. Terdiri lebih dari 10 asam amino.
- 2) Protein. Terdiri dari asam amino yang jumlahnya lebih dari 50. Biasanya protein terdiri dari 100 – 10000 asam amino.

Untuk membentuk peptida dan protein, asam amino akan membentuk ikatan peptida dengan molekul asam amino lainnya. Peptida terbentuk karena adanya ikatan antara amida pada gugus amino dengan gugus hidroksil pada molekul lainnya melalui proses kondensasi. Di lain pihak, pemecahan ikatan peptida dinamakan dengan hidrolisis. Pembentukan ikatan peptida dapat dilihat pada Gambar 2.4.

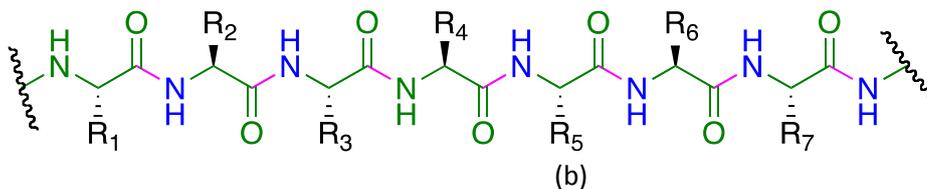


Gambar 2.4 Pembentukan Ikatan Peptida

Pada pembentukan protein ada asam amino yang berfungsi sebagai N-terminus dan C-terminus. Asam amino yang masih memiliki gugus amino dalam rangkaian protein dinamakan N-terminus sedangkan yang masih memiliki gugus karboksilat dinamakan C-terminus. Berdasarkan konvensi, penggambaran peptida dan protein selalu dimulai dengan N-terminus kemudian diakhiri dengan C-terminus.



(a)



Gambar 2.5 Penggambaran N-terminus dan C-terminus pada (a) dipeptida; (b) protein

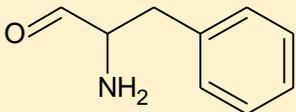
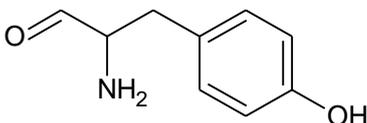
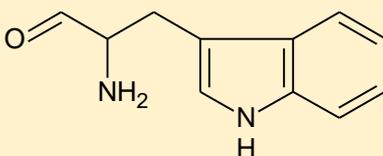
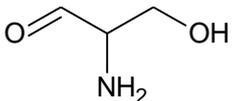
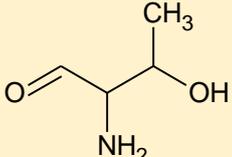
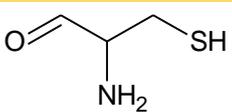
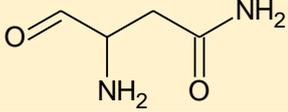
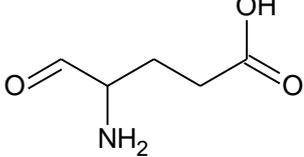
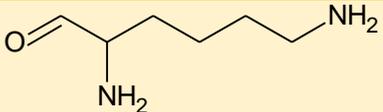
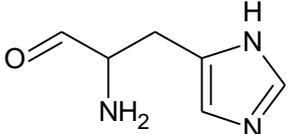
2) Rantai Samping Asam Amino

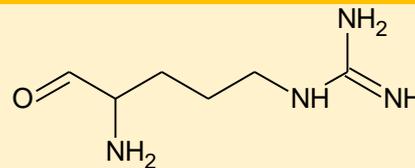
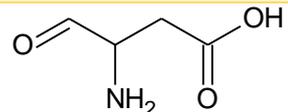
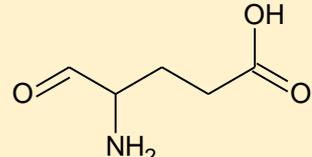
Berdasarkan rantai samping penyusunnya, asam amino diklasifikasikan menjadi 4 kelas yaitu:

- a) Gugus R nonpolar atau hidrofobik
- b) Gugus R netral (tidak bermuatan) polar
- c) Gugus R bermuatan positif
- d) Gugus R bermuatan negatif

Tabel 2.2 Asam Amino

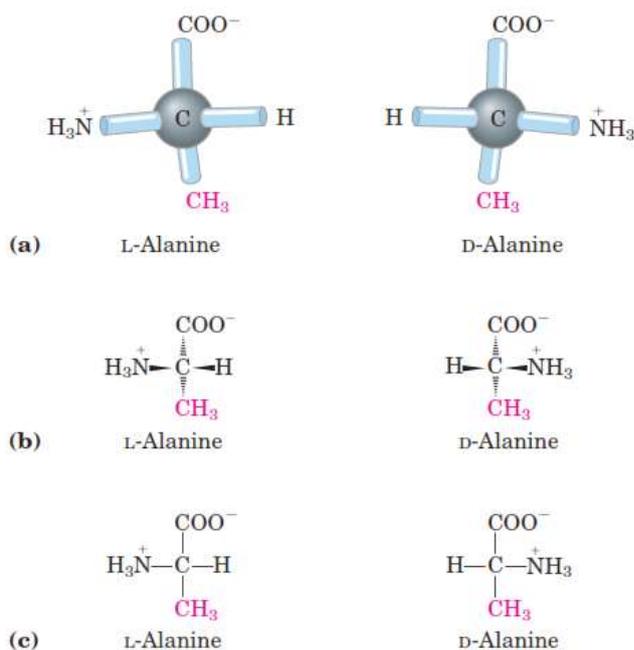
Nama Asam Amino	Simbol	Struktur
Nonpolar, alifatik		
Gugus R		
Glisin	Gly G	<chem>NC(=O)C</chem>
Alanin	Ala A	<chem>CC(N)C(=O)N</chem>
Prolin	Pro P	<chem>C1CCNC1=O</chem>
Valin	Val V	<chem>CC(C)C(N)C(=O)N</chem>
Leusin	Leu L	<chem>CC(C)C(C)C(N)C(=O)N</chem>
Isoleusin	Ile I	<chem>CC(C)C(C)C(N)C(=O)N</chem>
Metionin	Met M	<chem>CSCC(C)C(N)C(=O)N</chem>
Gugus R Aromatik		

Nama Asam Amino	Simbol		Struktur
Fenilalanin	Phe	F	
Tirosin	Tyr	Y	
Triptofan	Trp	W	
Polar, Tidak Bermuatan			
Gugus R			
Serin	Ser	S	
Treonin	Thr	T	
Sistein	Cys	C	
Asparagin	Asn	N	
Glutamin	Glu	Q	
Bermuatan Positif			
Gugus R			
Lisin	Lys	K	
Histidin	His	H	

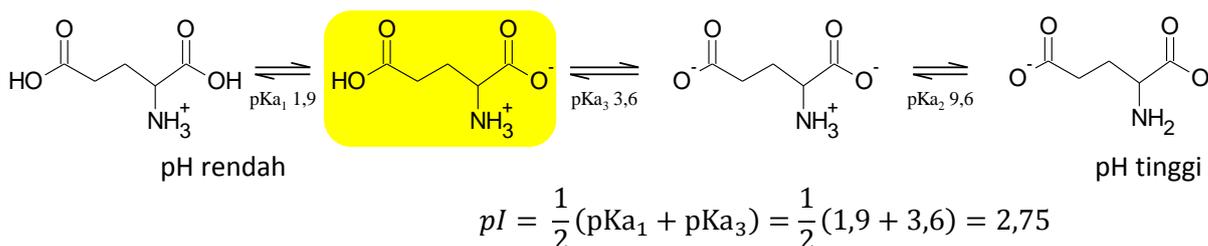
Nama Asam Amino	Simbol	Struktur
Arginin	Arg R	
Bermuatan Negatif		
Gugus R		
Aspartat	Asp D	
Glutamat	Glu E	

3) Stereoisomer

Selain glisin, α -karbon pada asam amino merupakan C kiral. Oleh sebab itu, struktur tetrahedral asam amino memiliki dua bentuk yang merupakan bayangan cermin yang dinamakan dengan enantiomer. Semua molekul yang memiliki C kiral merupakan optikal aktif yang bisa memutar bidang cahaya terpolarisasi sehingga membentuk sistem D dan L. Desain L dan D digunakan untuk menjelaskan *levorotatory* (memutar cahaya ke kiri) dan *dextrorotatory* (memutar cahaya ke kanan). Asam amino penyusun molekul protein adalah yang memiliki stereoisomer L. D-asam amino dapat ditemukan pada penyusun peptida rantai pendek yang menyusun dinding sel bakteri dan peptida yang berfungsi sebagai antibiotik.



Gambar 2.6 Stereoisomer pada asam amino



5) Asam Amino Esensial dan Nonesensial

Berdasarkan kemampuan tubuh mensintesis, asam amino dibagi menjadi asam amino essential, nonessential dan kondisional.

- a) Asam amino esensial adalah asam amino yang tidak dapat disintesis oleh tubuh sehingga harus diperoleh dari makanan yang dikonsumsi.
- b) Asam amino nonessential adalah asam amino yang dapat disintesis oleh tubuh.
- c) Asam amino esensial kondisional adalah asam amino yang tidak dapat disintesis oleh tubuh karena pada keadaan sakit atau kurangnya prekursor. Contohnya adalah bayi yang lahir prematur enzim yang digunakan untuk mensintesis arginin belum berkembang dengan baik.

Tabel 2.3 Asam Amino Esensial dan Nonesensial

Asam amino esensial	Asam amino nonessential
Histidin	Alanin
Isoleusin	Arginin
Leusin	Asparagin
Lisin	Asam aspartat
Metionin	Sistein
Fenilalanin	Asam glutamik
Treonin	Glutamin
Triptofan	Glisin
Valin	Prolin
	Serin
	Tirosin

3. Protein

1) Jenis Protein

Berdasarkan jenis konformasinya, protein dapat diklasifikasikan menjadi:

- a) Protein Fibrous. Protein jenis ini berupa paralel single axis yang tidak larut dalam air tetapi larut dalam larutan garam. Contohnya adalah kolagen, α-keratin, rambut, kuku, bulu dan kulit.
- b) Protein Globular. Protein ini memiliki bentuk spiral atau globular dan larut dalam sistem air. Contohnya adalah albumin dan hemoglobin.

Fungsi protein tergantung pada struktur pembentuk protein. Beberapa jenis protein berdasarkan fungsi biologinya yaitu:

- a) Enzim. Contohnya adalah heksokinase, sitokrom c dan DNA polimerase.

- b) *Storage Protein*. Contohnya adalah ovalbumin, kasein, gliadin dan zein.
- c) Protein Transport. Contohnya adalah hemoglobin dan hemosianin.
- d) Protein Kontraktil. Contohnya adalah miosin dan dinein.
- e) Protein Protektif. Hanya ada pada vertebrata dan contohnya adalah antibodi dan trombin.
- f) Toksin. Contohnya adalah bisa ular dan racun pada jamur.
- g) Hormon. Contohnya adalah insulin dan hormon pertumbuhan.
- h) Protein Struktur. Contohnya adalah kolagen dan α -keratin.

2) Struktur Protein

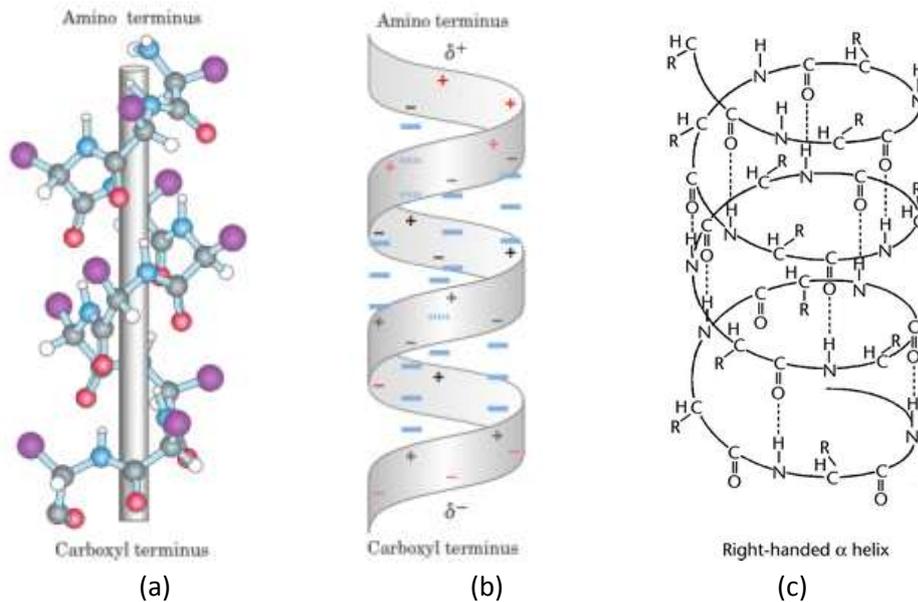
Ada 4 level struktur protein yaitu:

- a) Struktur Primer. Struktur ini terdiri atas satu rantai protein yang asam amino penyusunnya tidak membentuk ikatan.

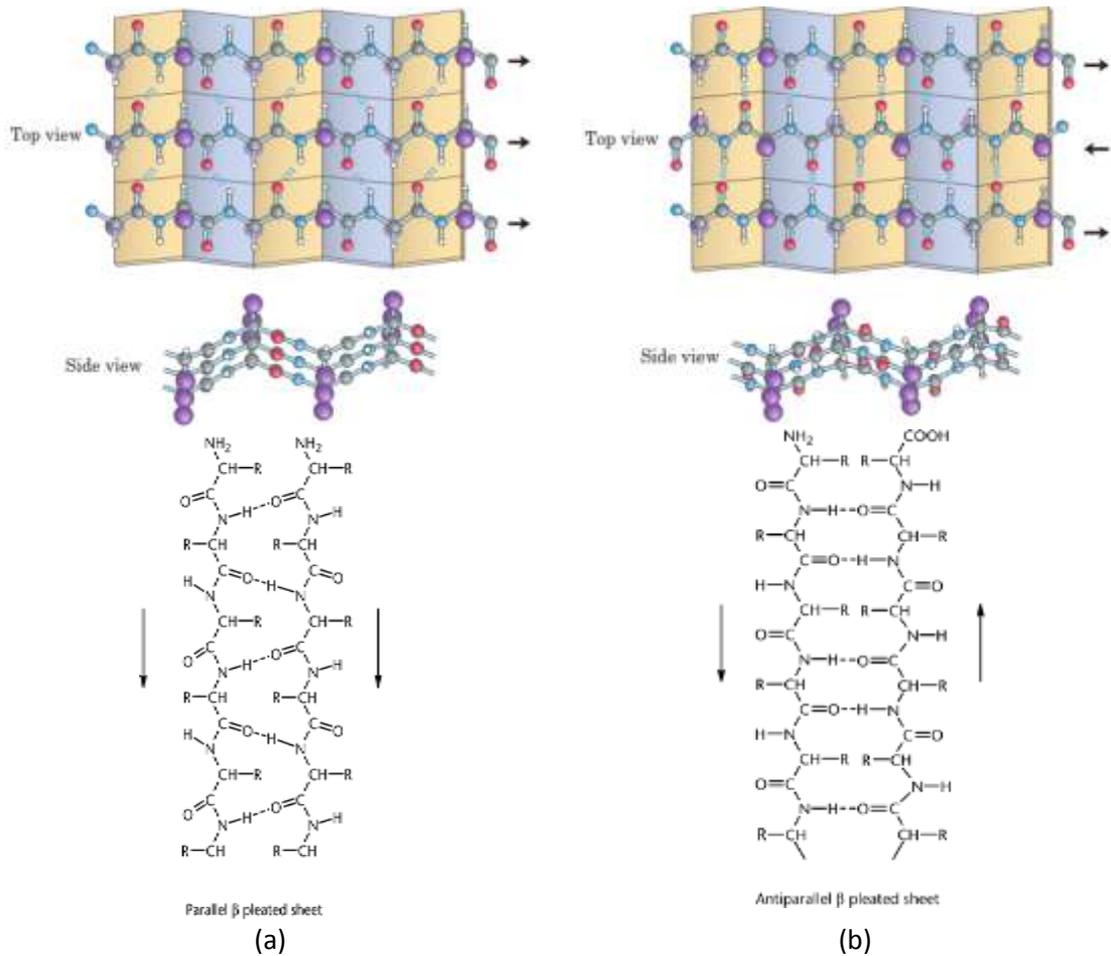


Gambar 2.8 Struktur Primer

- b) Struktur Sekunder. Rantai protein dapat membentuk struktur heliks, paralel dan antiparalel dengan membentuk ikatan hidrogen antar asam amino pembentuknya. Jika rantai polipeptida membentuk ikatan dari N-terminus ke arah C-terminus dinamakan dengan paralel sedangkan arah sebaliknya dinamakan dengan antiparalel.



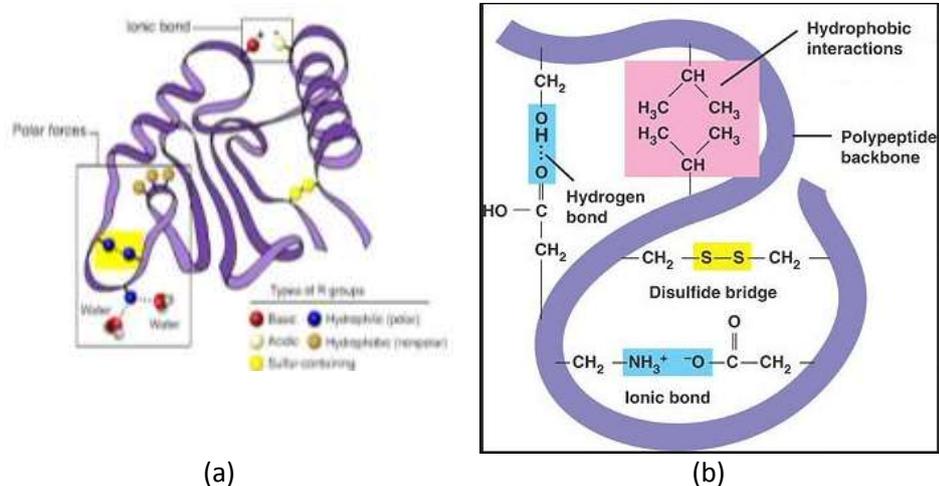
Gambar 2.9 Struktur heliks. (a) dan (c) Struktur Right handed alpha heliks; (b) Elektrik dipol alpha heliks



Gambar 2.10 (a) Struktur paralel; (b) Struktur antiparalel

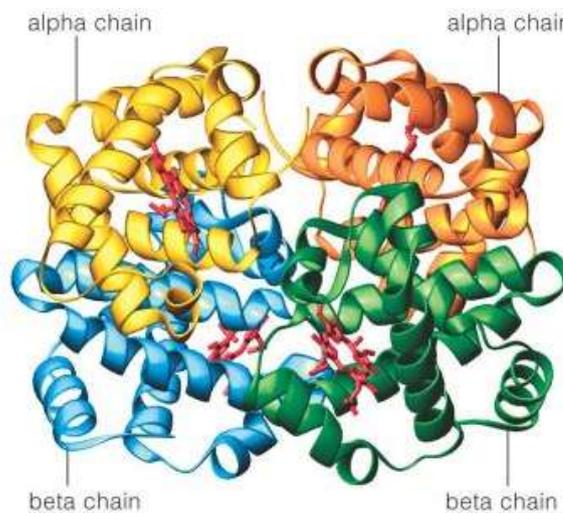
c) Struktur Tersier. Struktur ini merupakan campuran dari struktur sekunder yang menyusun satu rantai polipeptida. Lokasi dan arah serta sudut jenis struktur sekunder

tergantung pada jenis residu asam amino yang menyusun polipeptida tersebut. Ikatan yang membentuk struktur tersier adalah ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, jembatan disulfida dan ikatan ionik.



Gambar 2.11 (a) Struktur tersier; (b) Jenis ikatan pada struktur tersier

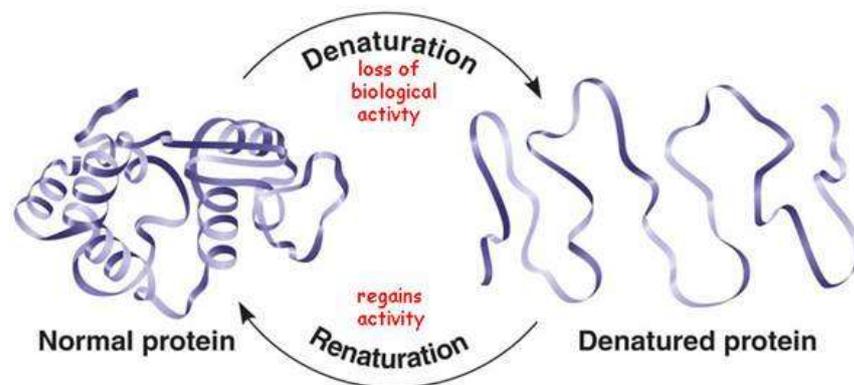
d) Struktur Kuarterner. Struktur ini terdiri atas dua atau lebih protein yang memiliki struktur tersier.



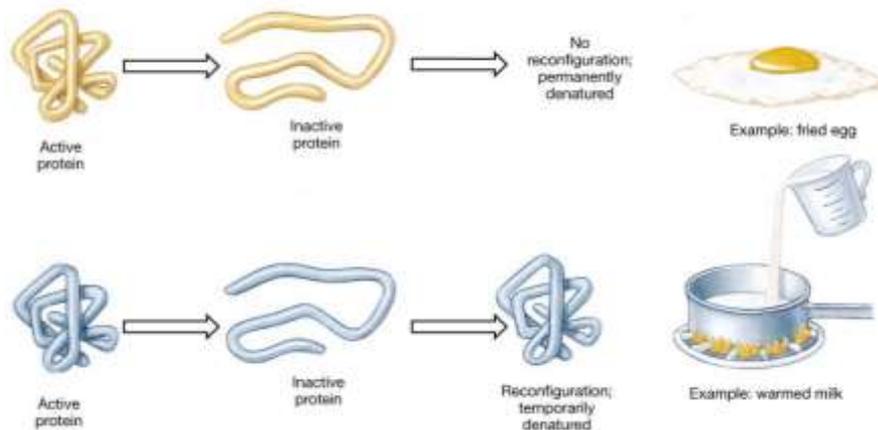
Gambar 2.12 Struktur Kuarterner

3) Denaturasi

Denaturasi merupakan hilangnya fungsi biologis suatu protein karena adanya perubahan struktur protein. Kembalinya fungsi biologis protein dari keadaan terdenaturasi dinamakan dengan renaturasi. Denaturasi protein dapat terjadi karena adanya pengaruh pemanasan, penambahan asam, penambahan basa, penambahan garam dan agitasi mekanik.



(a)



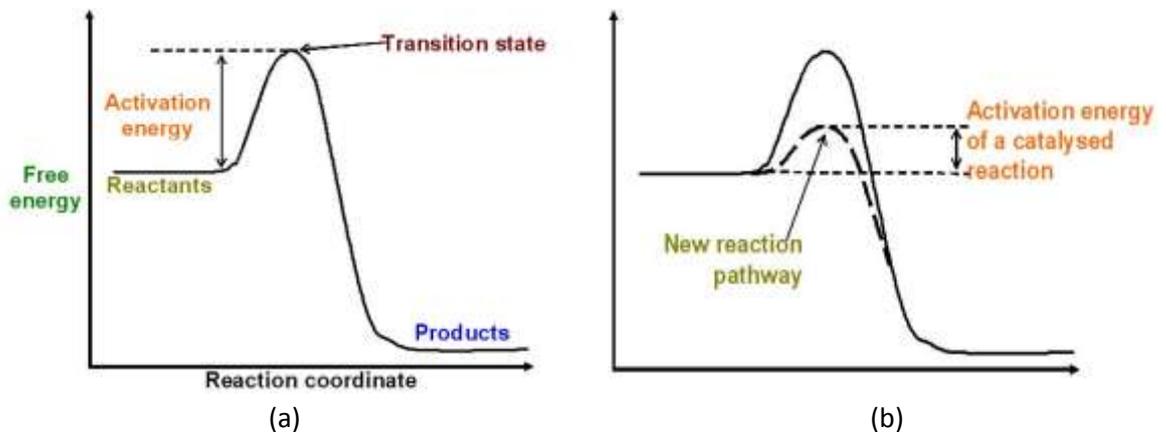
(b)

Gambar 2.13 (a) Proses Denaturasi dan Renaturasi; (b) Contoh Denaturasi dan Renaturasi

4. Enzim

1) Mekanisme Kerja Enzim

Untuk menghasilkan produk atau hasil reaksi dalam suatu reaksi kimia membutuhkan energi awal yang dinamakan energi aktivasi. Pada keadaan tersebut dinamakan dengan keadaan transisi atau *transition state*. Mekanisme reaksi kimia dapat dilihat pada Gambar 2.14. Salah satu cara untuk mempercepat reaksi adalah dengan menaikkan temperatur sehingga membuat molekul bergerak lebih cepat. Akan tetapi, biomolekul dan sistem biologi sangat sensitif terhadap perubahan temperatur sehingga proses biokimia tidak cocok dipercepat dengan menaikkan temperatur. Oleh sebab itu, enzim sangat berpengaruh dalam proses biokimia. Enzim merupakan suatu protein dengan susunan dan sifat katalitik dan memiliki fungsi aktivasi yang spesifik. Enzim dapat meningkatkan laju reaksi tanpa menaikkan temperatur dengan menurunkan energi aktivasinya. Mekanisme ini dapat menciptakan jalur reaksi baru yang lebih pendek. Enzim dapat mengontrol proses reaksi antara 10⁸ sampai 10¹¹ kali lebih cepat dibandingkan dengan reaksi nonezimatik.



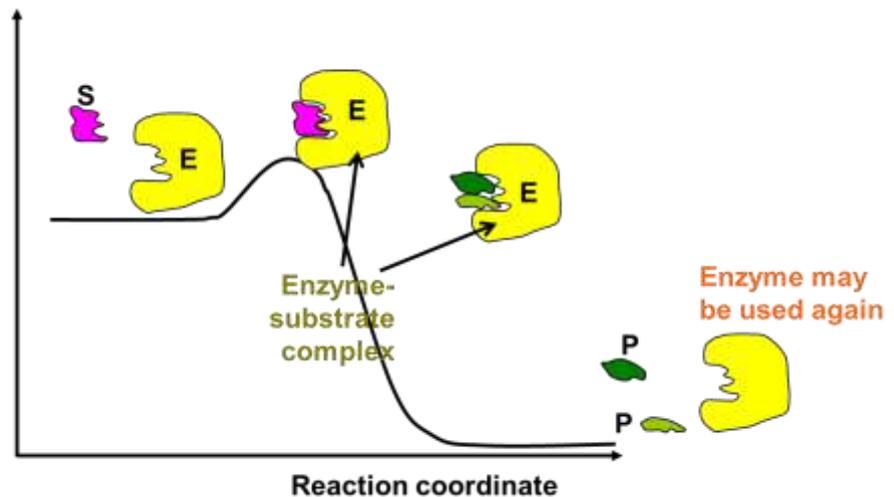
Gambar 2.14 (a) Mekanisme Reaksi; (b) Mekanisme Kerja Enzim

Enzim memiliki bentuk globular dengan struktur yang kompleks. Bagian penting dari enzim adalah situs aktif yang bertanggungjawab terhadap proses reaksi kimia yang akan dikatalisis menjadi jalur yang lebih pendek. Situs aktif tersebut memiliki bentuk, struktur dan susunan kimia yang spesifik dan menentukan fungsi biologisnya. Jenis enzim spesifik untuk substrat yang akan diaktivasi. Enzim biasanya memiliki bentuk protein terkonjugasi. Bagian enzim yang berupa nonprotein disebut dengan kofaktor dan dibutuhkan untuk membantu reaksi enzimatik. Kofaktor biasanya terikat kuat dalam biomolekul enzim dan merupakan gugus prostetik. Kofaktor yang terlepas dari biomolekul enzim dinamakan dengan koenzim. Contoh dari koenzim adalah vitamin.

2) Hipotesis Kerja Enzim

a) Hipotesis Lock and Key

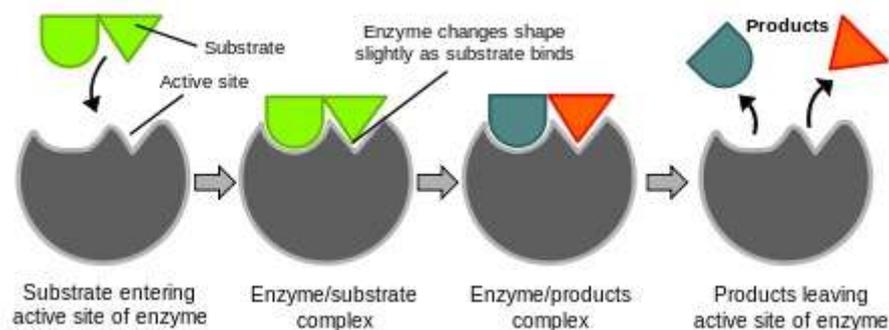
- Jika substrat dan situs aktif enzim memiliki kecocokan yang presisi.
- Seperti KEY cocok dengan LOCK secara tepat.
- Key dianalogkan sebagai enzim dan Lock dianalogkan sebagai substrat.
- Struktur yang terbentuk adalah kompleks enzim-substrat.
- Produk yang dihasilkan dari reaksi biologi tersebut memiliki sifat dan bentuk yang berbeda dari substrat.
- Setelah terbentuk, produk akan lepas dari situs aktif.
- Dalam keadaan bebas, produk tersebut dapat menjadi substrat untuk reaksi biologi lainnya.



Gambar 2.15 Mekanisme Hipotesis Lock and Key

b) Hipotesis Induced Fit

- Beberapa protein dapat mengubah bentuk strukturnya dalam bentuk konformasi.
- Ketika substrat berikatan dengan enzim sehingga enzim akan terinduksi dan mengalami perubahan konformasi .
- Situs aktif akan menghasilkan cetakan yang presisi sesuai dengan konformasinya.
- Lingkungan kimia akan cocok untuk melaksanakan reaksi biologi.
- Ikatan kuat dengan substrat menyebabkan reaksi berjalan dengan mudah (energi aktivasi lebih rendah).

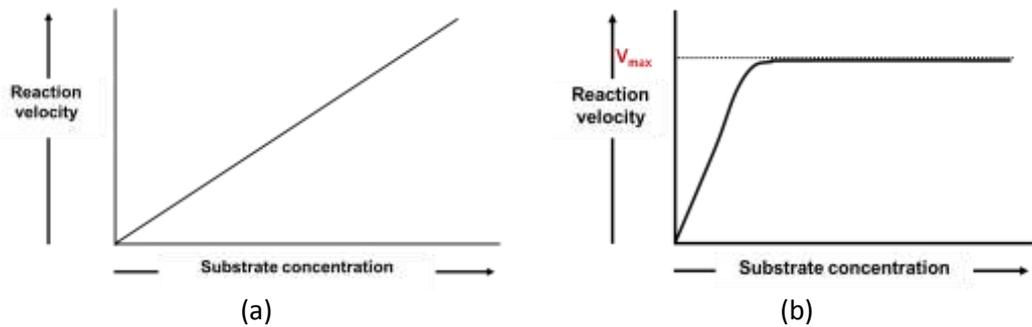


Gambar 2.16 Hipotesis Induced Fit

3) Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kerja Enzim

a) Konsentrasi substrat

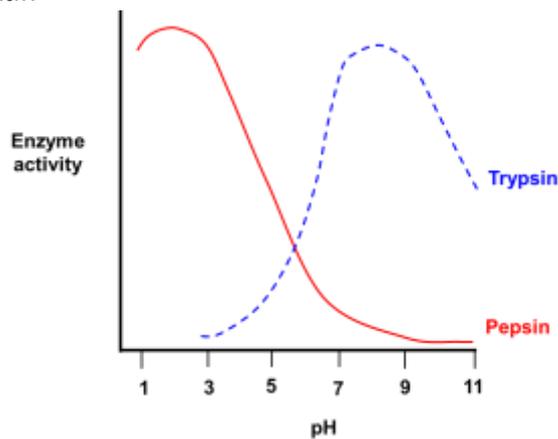
Reaksi kimia nonenzimatik akan membentuk tren laju reaksi yang proporsional dengan konsentrasi substrat. Akan tetapi, reaksi enzimatik awalnya akan mengalami kenaikan yang proporsional dengan konsentrasi substrat dan akan mencapai titik kejenuhan ketika semua molekul enzim telah terisi. Jika konsentrasi enzim diubah maka V_{maks} akan ikut berubah.



Gambar 2.17 Pengaruh Konsentrasi Substrat pada (a) Reaksi Nonezimatik; (b) Reaksi Enzimatik

b) pH

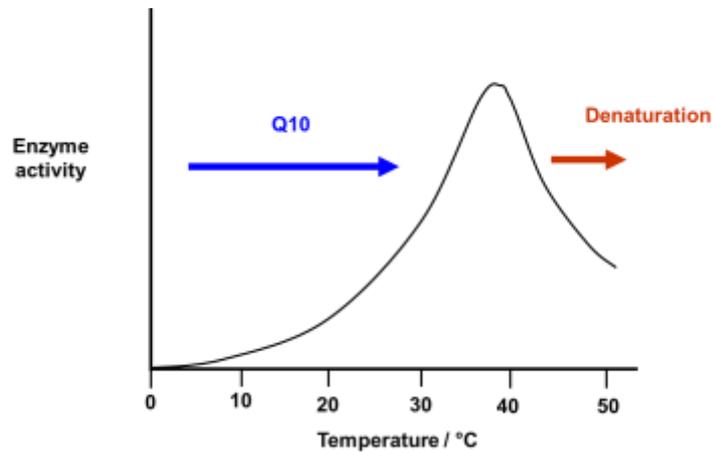
Perubahan pH yang ekstrim akan menyebabkan enzim akan mengalami denaturasi. Perubahan struktur enzim karena denaturasi akan menyebabkan situs aktif pada enzim akan mengalami perubahan dan substrat tidak akan terikat lebih lama pada situs aktif tersebut. Perubahan nilai pH yang tidak terlalu ekstrim dari nilai pH optimum enzim akan menyebabkan sedikit perubahan muatan pada struktur enzim dan reaksi dengan substrat tetap terjadi. Perubahan ionisasi akan berakibat pada kuat ikatan antara substrat dengan situs aktif.



Gambar 2.18 Pengaruh pH pada Kerja Enzim

c) Temperatur

Laju reaksi akan 2 sampai 3 kali lebih cepat setiap kenaikan temperatur reaksi sebanyak 10°C . Keadaan tersebut dinamakan dengan koefisien temperatur Q_{10} . Reaksi enzimatik yang terkontrol mengikuti aturan reaksi kimia tersebut. Akan tetapi pada temperatur tinggi protein akan terdenaturasi sehingga temperatur optimum reaksi enzimatik akan membentuk kesetimbangan antara Q_{10} dan denaturasi.



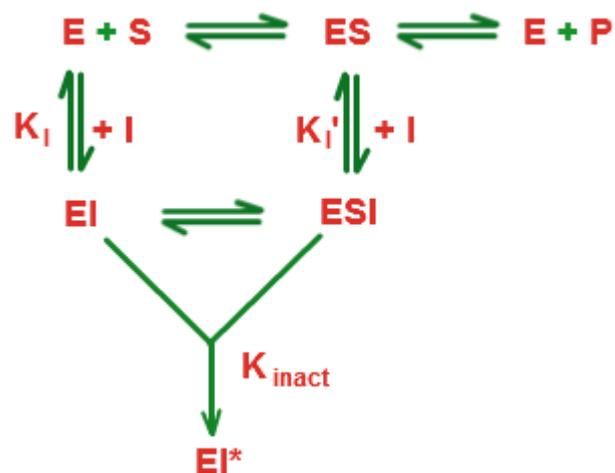
Gambar 2.19 Pengaruh Temperatur pada Kerja Enzim

d) Inhibitor

Inhibitor adalah senyawa kimia yang dapat memperlambat laju reaksi enzimatik. Biasanya inhibitor bekerja secara spesifik dan bekerja pada konsentrasi yang kecil. Inhibitor dapat memblock kinerja enzim tetapi tidak menghancurkan enzim. Contoh inhibitor adalah kinerja obat dan racun pada susunan syaraf. Berdasarkan efek inhibisi terhadap enzim, inhibitor dibagi menjadi:

(1) Inhibitor Irreversibel

Inhibitor jenis ini merupakan kombinasi beberapa gugus fungsional asam amino pada situs aktif dan bersifat irreversibel. Contohnya adalah gas syaraf dan pestisida mengandung organofosfor yang dapat berkombinasi dengan residu serin pada enzim asetokolin esterase.



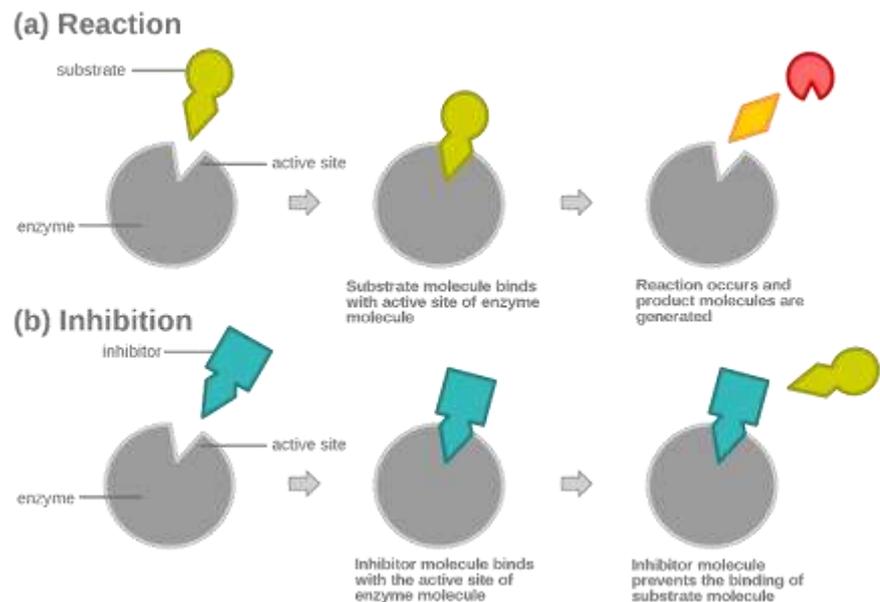
Gambar 2.20 Reaksi Inhibitor Irreversibel

(2) Inhibitor Reversibel

Inhibitor ini dapat dicuci dan dibersihkan dari enzim dengan larutan melalui proses dialisis. Inhibitor Reversibel dibagi menjadi 2 kategori yaitu:

(a) Kompetitif

Inhibitor ini akan bersaing atau berkompetisi dengan substrat sehingga dapat menghalangi substrat terikat pada situs aktif. Aksi inhibitor ini proporsional terhadap konsentrasinya dan struktur inhibitor ini menyerupai struktur substrat.



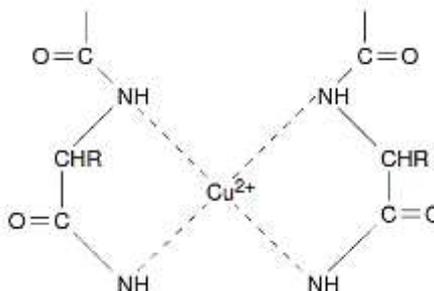
Gambar 2.21 Inhibisi Kompetitif

(b) Nonkompetitif

Inhibitor jenis ini akan menginhibisi dengan berikatan secara irreversibel pada enzim tetapi tidak pada gugus aktifnya. Proses inhibisi tidak dipengaruhi oleh konsentrasi substrat. Contohnya adalah kombinasi sianida dengan besi pada enzim sitokrom oksidase dan logam berat, Ag atau Hg yang berkombinasi dengan gugus -SH.

2) Tes Biuret

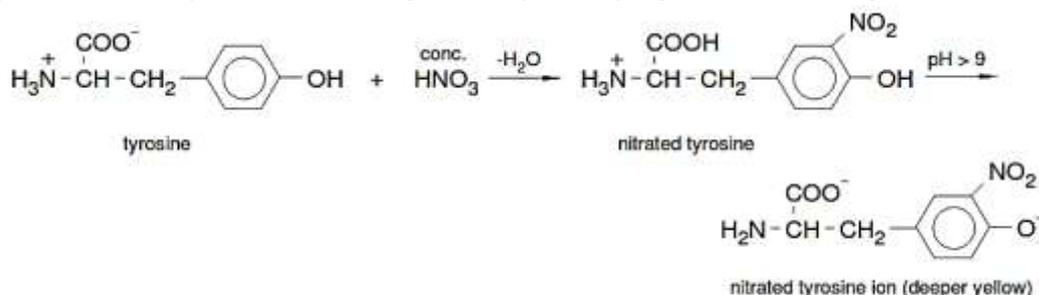
Biuret merupakan tes identifikasi untuk protein. Ikatan peptida pada protein akan membentuk kompleks dengan tembaga(II) menghasilkan kompleks berwarna ungu.



Gambar 2.24 Ion kompleks protein-tembaga(II)

3) Tes Xanthoproteat

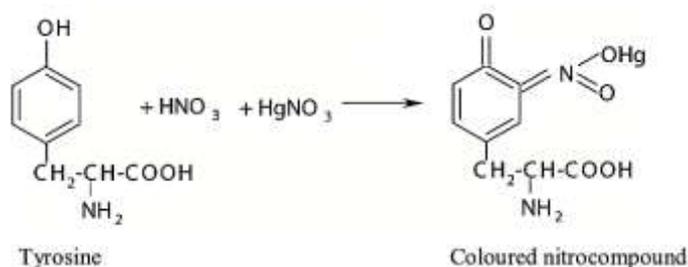
Tes ini digunakan untuk identifikasi asam amino yang mengandung inti benzen dan derivatnya. Cincin benzena akan mengalami nitrasi dengan asan nitrat. Asam amino tirosin dan triptofan mengandung benzena yang dapat teraktivasi untuk reaksi nitrasi sedangkan cincin benzena pada fenilalanin tidak dapat mengalami nitrasi. Hasil positif pada tes xanthoproteat akan menghasilkan produk yang berwarna kuning.



Gambar 2.25 Reaksi Nitrasi Cincin Benzena dengan Asam Nitrat

4) Tes Millon

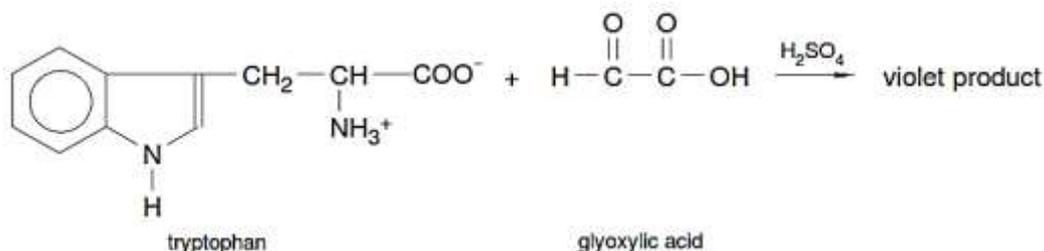
Tes Millon akan memberikan hasil positif untuk asam amino tirosin yang memiliki gugus hidroksil yang terikat pada cincin benzena (gugus fenol). Protein yang memiliki komponen tirosin akan menghasilkan produk presipitasi berwarna putih yang kemudian akan berubah menjadi merah ketika dipanaskan.



Gambar 2.26 Reaksi Tirosin dengan Reagen Millon

5) Tes Hopkins Cole

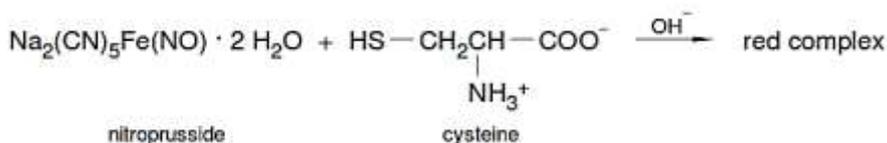
Reagen Hopkins Cole akan bereaksi dengan protein yang mengandung triptofan. Cincin indol akan bereaksi dengan asam gliksilik dengan katalis asam kuat membentuk produk berwarna ungu.



Gambar 2.27 Reaksi Triptofan dengan Reagen Hopkins Cole

6) Tes Nitroprusida

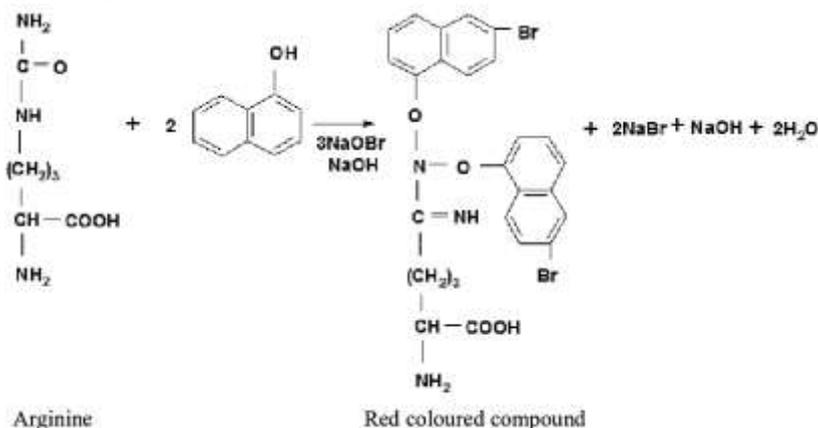
Tes nitroprusida spesifik untuk asam amino sistein yang memiliki gugus sulfhidril (-SH) pada keadaan basa membentuk produk berwarna merah.



Gambar 2.28 Reaksi Sistein dengan nitroprusida

7) Tes Sakaguchi

Asam amino arginin akan memberikan produk warna merah dengan reagen sakaguchi yang mengandung ion hipobromida dan α-naftol.



Gambar 2.29 Reaksi Arginin dengan Reagen Sakaguchi

2. Analisis Kuantitatif

1) Analisis Kandungan Protein dalam Serum dan Urin

Konsentrasi protein dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis atau dengan colorimeter-nephelometer. Standar yang digunakan pada kedua metode tersebut adalah albumin. Preparasi contoh dengan menggunakan metode colorimetry-nephelometry ditambahkan dengan larutan asam sulfosalisilat 3% dan larutan NaCl 0,9%. Metode colorimetry-nephelometry menggunakan filter merah dan sel dengan tebal 5 mm. Analisis kandungan protein secara spektrofotometri UV-Vis

dapat dilakukan dengan menggunakan biuret sebagai pengompleks dan diukur pada panjang gelombang 546 nm (520 – 570 nm) pada temperatur 37°C.

2) Isolasi Protein dalam Jaringan

Protein dapat diisolasi dengan menggunakan metode kromatografi kertas menggunakan eluen etanol dan amonium asetat 1 M dengan perbandingan 7:3. Plat hasil elusi dapat dianalisis setelah proses pengeringan dengan oven pada temperatur 50°C. Pengamatan dapat dilakukan dengan menggunakan zat warna ninhidrin 0,1% untuk menghasilkan spot berwarna ungu. Koefisien partisi asam amino memiliki karakteristik yang berbeda tergantung pada kondisi tes.

3) Penentuan aktivitas α -amilase dalam darah

Prinsip penentuan ini adalah substrat p-nitrofenol maltoheptaosida atau polimer glukosa yang sering disebut pNP-G7 akan dihidrolisis oleh α -amilase pada contoh. pNP-G7 akan dipecah menjadi oligosakarida dengan rantai yang lebih pendek menjadi p-nitrofenol (p-NP-G) yang berwarna kuning dan dibaca pada panjang gelombang 405 nm.

