

## EFEK KOLAGEN DARI BERBAGAI JENIS TULANG IKAN TERHADAP KUALITAS MIOFIBRIL PROTEIN IKAN SELAMA PROSES DEHIDRASI

[Effect of Various Fish Bone Collagens on the Quality of Myofibril Fish Protein During Dehydration Process]

Yudhomenggolo Sastro Darmanto\*, Tri Winarni Agustini, dan Fronthea Swastawati

Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro, Semarang

Diterima 16 Juni 2010 / Disetujui 14 Maret 2012

### ABSTRACT

Increase in fish fillet export in Indonesia has caused an increase in its waste such as bones, spines, skin and entrails of fish. Fish bones can be processed by demineralization to produce collagen, an important food additive. The effect of addition of 5% of collagen obtained from fresh water, brackish water and sea water fish bone on the fish protein miofibril of grouper was investigated in this research. Water sorption isotherm, Ca-ATPase activity, gel strength, water holding capacity, folding test and viscosity during dehydration process were evaluated. The results showed that collagens made from various fish bones have different Ca-ATPase activity. The reduction rate of Ca-ATPase activity were in accordance with the reduction of water sorption isotherm, gel forming ability, water holding capacity, viscosity and folding test during dehydration process.

**Key words:** dehydration process, fish bones collagen, myofibril protein

### PENDAHULUAN

Berdasarkan data nasional Departemen Kelautan dan Perikanan (2007), produksi ikan Nila sebesar 169,390 ton, ikan Bandeng 212,883 ton dan ikan Tengiri 131,225 ton per tahun. Limbah tulang ikan yang dihasilkan, ikan Nila 15,5%, ikan Tengiri 12,5 %, dan ikan Bandeng 12%. Tulang ikan dapat diolah menjadi kolagen melalui proses demineralisasi dan dapat dimanfaatkan sebagai bahan tambahan pangan yang berkualitas.

Kolagen merupakan komponen struktur utama dari jaringan pengikat meliputi 30% dari total protein pada jaringan organ tubuh vertebrata dan invertebrata (Poppe, 1997). Pada mamalia, kolagen terdapat pada kulit, tulang rawan, dan jaringan pengikat (Johns, 1977). Menurut Trimmerinda (2007), kolagen merupakan komponen utama lapisan kulit dermis yang terbuat dari sel fibroblast yang tersusun dari berbagai asam amino. Menurut Poedjadi (1994), kolagen merupakan jenis protein yang mempunyai struktur *heliks triple* dan terdiri atas glysin, proline dan hidroksi proline, tetapi tidak mengandung sistein, sistin dan triptopan. Balian dan Bowes (1997), menerangkan bahwa kolagen banyak mengandung asam amino dasar berbentuk glutamin dan asparagin.

Beberapa tahun terakhir ini semakin meningkat industri pengolahan ikan berbasis protein gel seperti sosis ikan, *nugget* ikan, pasta ikan, *fish cake*, kamaboko, *chikuwa*, bakso ikan, kaki naga dan lain sebagainya. Berbagai produk pangan berbasis gel protein tergantung dari jumlah miofibril protein yang ada di dalamnya. Suzuki (1981) menyatakan bahwa protein pada ikan 65–75% tersusun dari miofibril protein, sehingga miofibril protein merupakan objek penelitian yang sangat dominan bagi produk pangan yang berbasis protein gel.

Peneliti ingin mengetahui efektivitas kolagen, dengan cara mengaplikasikan pada produk pangan yang berbasis miofibril protein. Penambahan kolagen pada miofibril protein, diharapkan mempunyai fungsi untuk mempertahankan daya awet serta menambah nutrisi yang terdapat dalam produk tersebut.

Tujuan penelitian adalah mempelajari efek penambahan kolagen dari tulang ikan air tawar, air payau, dan air laut terhadap mutu miofibril selama proses dehidrasi.

### METODOLOGI

#### Bahan dan alat

Bahan penelitian adalah kolagen yang diperoleh dari tulang ikan Nila (air tawar), Bandeng (air payau) dan Tenggiri (air laut). Tingkat kualitas kolagen yang dihasilkan melalui proses demineralisasi diketahui dengan cara menganalisa kandungan fosfor dan kalsium pada kolagen. Disamping itu, dilakukan analisa proksimat serta jumlah rendemen dari kolagen tersebut.

#### Preparasi kolagen (Peranginangin *et al.*, 2006)

Tulang ikan setelah dicuci, dihilangkan lemaknya, kemudian dikeringkan. Selanjutnya tulang ikan direndam dalam *reagen* 4% HCl 1N selama 4 x 24 jam, dan dinetralkan dengan air distilasi sampai pH 7,00. Setelah itu tulang ikan dikeringkan dan dihaluskan dengan mortar.

#### Preparasi miofibril protein (Darmanto, 1999<sup>a</sup>)

Ikan setelah dipisahkan dari isi perut, kepala, duri dan kulit, dagingnya dicuci dengan *reagen* 0,1 M KCl, 20 mM *trismaelate buffer* (pH 7,0) sebanyak 3 kali. Selanjutnya daging ikan dipress dengan alat pengepres hidrolis agar kadar air menjadi 80%. Daging ikan diencerkan lagi dengan *reagen* 0,1 M KCl, 20 mM *trismaelate buffer* (pH 7,0), kemudian dihomogenkan dengan *Waring blender* dan disaring dengan net nilon #16. Larutan

\*Korespondensi Penulis :  
E-mail : darmanto\_thp@undip.ac.id

daging ikan yang dihasilkan ditambahkan dengan 1% triton X-100, dan didiamkan selama 30 menit dalam ruangan dengan suhu 5°C. Langkah selanjutnya larutan daging ikan disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Substrat yang dihasilkan diencerkan dengan reagen 0,1 KCl, 20 mM *trismaelate buffer* (pH 7,0) dan disentrifuse dengan 3000 rpm selama 10 menit. Proses ini dilakukan beberapa kali sampai supernatan menjadi jernih. Setelah jernih, substrat diencerkan lagi dengan air distilasi dingin dan disentrifuse dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Terakhir, substrat yang dihasilkan disentrifuse lagi dengan kecepatan 10,000 rpm selama 20 menit, endapan yang diperoleh adalah miofibril protein.

**Proses dehidrasi miofibril protein**

Sejumlah 100 g miofibril protein ditambah 5% kolagen, kemudian diatur sedemikian rupa sehingga pH 6,8, dengan menambah NaOH atau HCl. Kemudian miofibril protein dan kolagen dilumatkan dengan mortar selama 10 menit dalam ruangan 5°C. Supaya terjadi dehidrasi, lumatan miofibril protein tersebut dimasukkan dalam plastik selofan, dan ditempatkan dalam kotak yang berisi silika gel, dengan interval waktu 2 jam dalam suhu 70°C miofibril protein dianalisa kadar air, aktivitas air dan aktivitas enzim Ca-ATP.

**Analisis aktivitas air (Aw) (Akiba, 1961)**

Analisa aktivitas air dilakukan dengan metode oil monometer. pada suhu 10°C. Besarnya aktivitas air dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$Aw = \frac{p}{p_0} = \frac{RH}{100}$$

Keterangan: Aw: aktivitas air; p: keseimbangan tekanan uap sampel  
 p<sub>0</sub>: keseimbangan tekanan uap air; RH: rapat uap gas terhadap udara

**Analisis kadar air (Sikrosi, 1989)**

Analisa kadar air dilakukan dengan menghitung berat awal dan berat akhir miofibril protein setelah dimasukkan pada oven pada suhu 105°C selama 18 jam atau berat miofibril protein tersebut menjadi konstan.

**Analisis aktivitas enzim Ca-ATP (Kato et al., 1977)**

Sejumlah 1 gram miofibril protein dilarutkan dalam 19 ml reagen 0,1 M KCl, 20 mM *trismaelate buffer* (pH 7,0), setelah beberapa saat dihomogenkan dengan *waring blender*. Larutan yang dihasilkan selanjutnya sebagian dianalisa konsentrasi protein dan yang lain untuk analisa aktivitas enzim Ca-ATP.

Sejumlah 5 ml reagen campuran terdiri dari 3,5 ml reagen Ca-ATP, 1ml sampel dan 0,5 ml 10 M ATP, dimasukkan dalam pemanas air selama 5 menit pada suhu 25°C, setelah terjadi reaksi beberapa saat kemudian reaksi dihentikan dengan menambah 1 ml TCA 30%. Proses selanjutnya reagen diambil 1 ml, ditambah dengan 2 ml *ammonium molidate* dan 0,5 ml reagen *elon*, setelah dibiarkan selama 45 menit, kemudian disaring dan filtratnya diperiksa dengan spektrofotometer 640 nm. Besarnya aktivitas enzim Ca-ATP dihitung dengan satuan micro moles per menit inorganik pospat (Pi μ mol/menit/mg).

**Analisis data aktivitas enzim Ca-ATP (Kato et al., 1977)**

Miofibril protein adalah salah satu komponen protein pada ikan, oleh aktivitas enzim ATP-ase, miofibril dipecah menjadi ATP (Suzuki, 1981). Besarnya aktivitas enzim Ca-ATP selama proses dehidrasi dihitung dengan persamaan adalah sebagai berikut (Kato et al., 1977):

$$\text{Aktivitas enzim Ca-ATP} = L_n \{ (1-\pi) \times (6/5) \times (1/31) \times (1/5) \times 1 (5/A) \}$$

Keterangan: Pi: diperoleh dari persamaan regresi standar *phosphorus*; y = 0,031 x -0,024; A: diperoleh dari persamaan regresi standar albumin biovine serum; y = 0,043 x - 0,091

**Analisis gel strength (Matsumoto et al., 1997)**

Sejumlah 100 gram miofibril protein ditambah 0,3 % NaCl kemudian dilumatkan, dicetak dan dipanaskan pada suhu 60°C selama 1 jam. Setelah dingin, miofibril dipotong dengan ukuran diameter 2 cm ketebalan 1,5 cm, ditekan dengan menggunakan alat Food checker type 2141 Sankagaku Co. LTD., dengan diameter probe 5 mm, dilakukan sampai 6 kali.

$$\text{Gel strength} = \frac{g}{cm^2} = \frac{D}{L} \times \frac{K}{p}$$

Keterangan: D: daya rentang (g/cm<sup>2</sup>); L: luas bahan (cm<sup>2</sup>); K: kemuluran (cm); p: panjang (cm)

**Viskositas miofibril protein (Migata dan Suzuki, 1989)**

Miofibril protein diencerkan dengan reagen 0,6 M KCl, 20 mM *trismaelate buffer* (pH : 7,00), setelah disentrifuse supernatannya diambil 2 mg/ml kemudian diukur dengan *Ostwald Viscometer* pada suhu 25°C.

**Analisis water holding capacity (WHC) (Shimizu et al., 1981)**

Miofibril dengan ukuran panjang 1,5 cm, lebar 1,5 cm, tinggi 0,5 cm diletakkan diantara kertas saring, kemudian ditekan dengan kompresor dengan kekuatan 10 kg/cm<sup>2</sup>, selama 2 menit. Besarnya *water holding capacity* dapat dihitung dengan formula sebagai berikut :

$$WHC = \frac{BoxM-B1}{BoxM} \times 100\%$$

Keterangan: Bo: berat sampel; M: kadar air sampel; B1: Berat air pada kertas filter

**Analisis folding test (Matsumoto et al., 1997)**

Sejumlah 100 gram Miofibril protein ditambah 0,3% NaCl kemudian dilumatkan, dicetak dan dipanaskan pada suhu 60°C selama 1 jam. Setelah dingin dipotong dengan ukuran diameter 2 cm ketebalan 0,5 cm, kemudian dilipat menjadi setengah dan seperempat lingkaran dengan kriteria hasil sebagai berikut :

- AA : tidak retak bila dilipat menjadi seperempat lingkaran
- A : tidak retak bila dilipat menjadi setengah lingkaran
- B : retak bila dilipat menjadi setengah lingkaran
- C : pecah menjadi 2 bagian bila dilipat menjadi setengah lingkaran

### HASIL DAN PEMBAHASAN

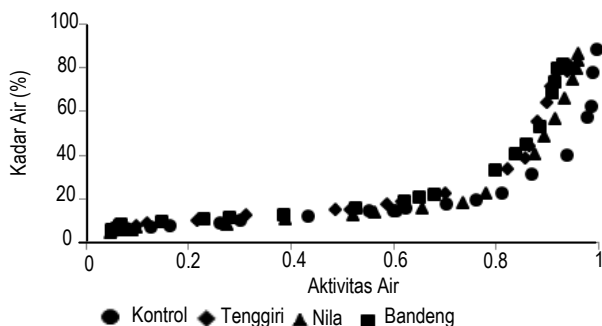
Komposisi kolagen tulang ikan Nila, Bandeng dan Tenggiri, tercantum dalam Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kolagen tulang ikan

Komposisi	Nila	Bandeng	Tenggiri
Protein (%)	25,06	32,99	31,92
Lemak (%)	0,74	1,32	1,41
Abu (%)	50,75	53,41	54,63
Kadar Air (%)	7,46	8,48	5,29
Fosfor (%)	2,06	0,69	0,92
Kalsium (%)	18,33	1,91	3,39
Rendemen (%)	56,45	36,22	49,8

Hasil analisa tersebut menunjukkan bahwa kolagen tulang ikan air tawar, payau dan laut, mempunyai komposisi yang berbeda-beda. Khususnya, kolagen dari ikan Nila kandungan fosfor dan kalsium lebih tinggi yaitu nilai fosfor lebih dari 1%, sedangkan kalsium lebih dari 5%. Hal tersebut merupakan indikasi bahwa kualitas kolagen tulang ikan Nila kurang sesuai dengan apa yang diharapkan. Disamping itu, kolagen dari ikan Nila kandungan proteinnya lebih rendah jika dibandingkan dengan kolagen ikan Bandeng dan Tenggiri. Menurut Ward and Courts (1977), jumlah kalsium dan fosfor tinggi harus dihindari untuk mendapatkan hasil kolagen yang berkualitas baik.

Isotherm absorpsi air adalah hubungan antara aktivitas air dan kadar air suatu bahan. Menurut Winarno (1997), bahwa air terikat dalam suatu bahan akan berpengaruh terhadap besar kecilnya kadar air dan aktivitas air, sehingga akan berpengaruh terhadap daya tahan bahan pangan tersebut. Sorpsi isotermiss air, dibagi menjadi 3 bagian, yaitu *Monolayer water*, *Multilayer water* dan *Capillary water*. Disamping itu, keberadaan air dalam satu bahan juga akan berpengaruh terhadap tekstur, citarasa, perubahan warna yang akan menyebabkan kerusakan bahan pangan tersebut.

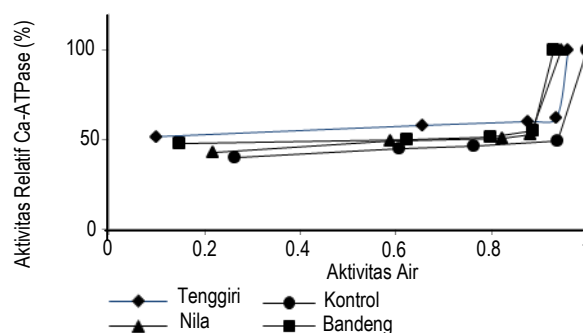


Gambar 1. Sorpsi isotermiss air dari berbagai kolagen pada miofibril protein

Gambar 1 menunjukkan bahwa sorpsi isotermiss air kolagen dari berbagai jenis tulang ikan berbeda-beda. Kolagen tulang ikan Bandeng lebih baik jika dibandingkan dengan ikan Tenggiri, dan Nila tetapi kolagen tulang ikan Nila dan Tenggiri kurang jelas perbedaannya. Namun, apabila dicermati, air menunjukkan grafik yang sigmoid pada posisi aktivitas air antara 0,05 - 0,17 dan 0,75 - 0,83. Demikian juga terlihat bahwa penurunan kadar air lebih banyak pada miofibril tanpa kolagen.

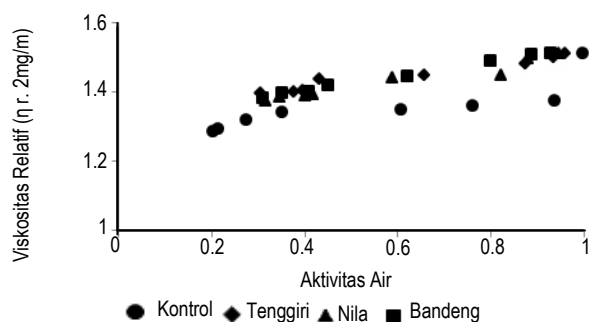
Diduga kolagen mempunyai peran penting dalam pengikatan air yang akan menyebabkan terjadinya perubahan posisi air pada miofibril protein. Oleh Nakano *et al.* (1979), diterangkan bahwa perubahan posisi air diindikasikan oleh perubahan *monolayer* dan *multilayer water*.

Miofibril protein dalam suatu bahan selama proses dehidrasi maupun pembekuan mengalami denaturasi (Asako *et al.*, 2005; Yamashita *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2009). Darmanto (1999b), menjelaskan bahwa denaturasi protein pada miofibril mengakibatkan daya ikat air rendah, kekuatan gel lemah, dan ikatan lemak berkurang. Matsumoto (1980), menyatakan bahwa denaturasi protein menyebabkan protein tidak dapat diekstraksi dengan larutan garam. Hasil penelitian, efek penambahan kolagen pada miofibril terhadap aktivitas enzim Ca-ATP dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hubungan antara aktivitas air dan aktifitas relatif Ca-ATPase dari berbagai kolagen pada miofibril protein

Grafik 2 tersebut menunjukkan aktivitas enzim Ca-ATP dari berbagai jenis kolagen tulang ikan berbeda-beda. Berturut-turut, kolagen tulang ikan Tenggiri lebih tinggi dari kolagen ikan Bandeng dan kolagen tulang Nila. Secara keseluruhan aktivitas enzim Ca-ATP menurun drastis ketika terjadi penurunan Aw dari 1 hingga 0,8 dan tidak terjadi penurunan yang berarti ketika Aw turun hingga 0,2. Hal tersebut diduga bahwa miofibril protein pada kondisi Aw lebih besar dari 0,8 terjadi denaturasi protein yang disebabkan oleh berbagai mikroorganisme. Menurut Winarno (1997), denaturasi protein mempunyai 2 macam arti, yaitu: pengembangan rantai peptide yang terjadi pada rantai polipeptida, dan pemecahan protein menjadi unit yang lebih kecil. Salah satu indikator kualitas miofibril protein adalah aktivitas enzim Ca-ATP (Cao *et al.*, 2006). Menurut Hossain *et al.*, 2004 aktivitas enzim Ca-ATP merupakan indikasi perubahan struktur dan perubahan posisi air selama proses dehidrasi. Beberapa metode yang lain untuk mengukur denaturasi protein adalah solubilitas, viskositas, aktivitas enzim ATP dan elektron microscopy (Suzuki, 1981). Darmanto (1985), menyatakan bahwa penurunan kualitas protein dari berbagai bentuk dan jenis ikan paralel dengan penurunan viskositas protein tersebut selama proses pembekuan dan dehidrasi. Hal ini sesuai dengan penelitian Ruttanapornvareesakul *et al.* (2005) dan Zhang *et al.* (2002), bahwa penurunan aktivitas enzim ATP dari miofibril protein pada berbagai jenis udang selama proses dehidrasi. Dari hasil penelitian, penambahan kolagen dari berbagai jenis tulang ikan pada miofibril protein, seperti terdapat dalam Gambar 3.



Gambar 3. Hubungan antara aktivitas air dan viskositas relatif dari berbagai kolagen pada miofibril protein

Gambar tersebut diatas terlihat bahwa penurunan aktivitas air bersamaan dengan penurunan viskositas miofibril protein selama proses dehidrasi. Miofibril protein tanpa penambahan kolagen pada awal penelitian viskositas menurun dengan drastis sampai pada Aw 0,9, kemudian penurunan viskositas perlahan-lahan sampai pada akhir penelitian. Akan tetapi, dengan penambahan kolagen, penurunan viskositas miofibril protein terjadi penurunan secara perlahan. Menurut Darmanto (1999<sup>b</sup>), *shellfish* protein hydrolysate dari kerang mutiara ditambahkan pada miofibril ternyata menghambat laju penurunan denaturasi. Inada *et al.* (1992), menerangkan bahwa penurunan viskositas protein paralel dengan penurunan solubilitas dan aktivitas enzim Ca-ATP.

Hasil penelitian *Gel Strength*, *Water Holding Capacity* dan *Folding Test* pada miofibril dengan penambahan berbagai jenis kolagen seperti dalam Tabel 2.

Tabel 2. Efek penambahan kolagen tulang ikan Nila, Bandeng, dan Tenggiri pada miofibril protein

Parameter	Kontrol	Jenis Ikan		
		Nila	Bandeng	Tenggiri
<i>Gel strength</i> (gcm <sup>2</sup> )	400,01	433,63	577,97	695,00
<i>WHC</i> (%)	80,02	84,20	86,20	86,70
<i>Folding test</i>	A	AA	AA	AA

Hasil penelitian *gel strength* dari ketiga jenis ikan, bahwa kolagen dari tulang ikan Nila sangat rendah (< 500 gcm<sup>2</sup>). Sedangkan untuk ikan Bandeng dan Tenggiri > 500 gcm<sup>2</sup>. Menurut Shimizu *et al.* (1981), dikatakan bahwa *gel strength* < 500 gcm<sup>2</sup> termasuk kurang baik, 500 - 1000 gcm<sup>2</sup> termasuk baik, dan >1000 gcm<sup>2</sup> termasuk sangat baik.

Hasil penelitian *Water Holding Capacity* menunjukkan bahwa dari ketiga jenis kolagen tulang ikan berbeda, berturut-turut ikan Tenggiri lebih tinggi jika dibandingkan dengan ikan Bandeng dan ikan Nila. *Water Holding Capacity* adalah salah satu kekuatan untuk mengikat air pada suatu bahan oleh molekul-molekul lain melalui ikatan yang berenergi tinggi seperti protein, karbohidrat, garam, dan sebagainya (Winarno, 1997). Suatu bahan lebih banyak mengikat air menunjukkan kualitas bahan tersebut sangat tinggi (Ocano-Hiquera *et al.*, 2011). Selanjutnya hasil penelitian *folding test* menunjukkan bahwa dengan penambahan kolagen dari berbagai jenis tulang ikan hasilnya AA, sedangkan tanpa penambahan kolagen hasilnya A.

## KESIMPULAN

Penambahan kolagen dari berbagai jenis tulang ikan dapat menekan laju penurunan aktivitas enzim Ca-ATP pada miofibril protein selama proses dehidrasi, terutama pada saat posisi Aw > 0,8, kemudian menurun secara perlahan-lahan paralel dengan penurunan aktivitas air. Semakin tinggi *gel strength*, *folding test*, viskositas dan *water holding capacity*, menunjukkan bahwa semakin tinggi kualitas miofibril protein. Kolagen dari jenis tulang ikan air laut mutunya lebih baik jika dibandingkan dengan kolagen tulang ikan air payau dan air tawar.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih atas bantuan dana dari Kementerian Pendidikan Nasional sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Kompetitif untuk Publikasi Internasional tahun Anggaran 2009 Nomor: 693/SP2H/PP/ DP2M/X dan semua pihak yang ikut membantu demi kelancaran kegiatan tersebut.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akiba M. 1961. Studies on Bound water in Fish Muscle. *Memoirs of the Faculty of Fisheries. Hokkaido University, Japan* 9: 85-179.
- Asako K, Hossain MA, Kuwahara K, Nozaki Y. 2005. Effect of trehalse on the gel-forming ability, state of water and miofibril denaturation of horse mackerel *Trachurus japonicas* surimi during frozen storage. *J Fisheries Sci* 71: 367-373.
- Balian G, Bowes JH. 1997. The Structure and Properties of Collagen. *In: A. G. Ward and A Courts (Eds). The Science and Technology of Gelatin. Academic Press. London, New York.*
- Cao MJ, Xin-Jin Jiang, Hui-Chang Zhong, Zhi-Jun Zhang, We-Jin Su. 2006. Degradation of myofibrillar proteins by a myofibril-bound serine proteinase in the skeletal muscle of crucian carp (*Carasitus auratus*). *J Food Chem* 94: 7-13.
- Darmanto YS. 1985. The Effect of Frozen and Storage on the Quality Protein of Various Morphological (Roun, Dressed, Fillet, Steak, Chunk) of White Croaker, Lizard Fish an Pacific Mackerel. Thesis, Faculty of Fisheries, Nagasaki University, Japan.
- Darmanto YS. 1999<sup>a</sup>. Efek hidrolisa protein ikan rucah terhadap "state of water" pada miofibril protein selama pada proses dehidrasi. *Majalah Ilmiah Perikanan Ilmu Kelautan* ISSN: 1410-7155. 2: 17-21.
- Darmanto YS. 1999<sup>b</sup>. Effect of shellfish protein hydrolysate (SPH) of pearl oyster meat, on the state of water and denaturation of myofibrils during dehydration process. *J Coastal Development* ISSN: 1410-5217. 2: 335-345.
- Departemen Kelautan dan Perikanan. 2007. Statistik Kelautan dan Perikanan 2007. Jakarta.

- Hossain A Md, Abu Alikhan M, Tadashi Ishihara, Kenji Hara, Kiyoshi Osatomi, Kazufumi Osaka, Yukihori Nazaki. 2004. Effect of proteolytic squid protein hydrolysate on the state of water and denaturation of Lizardfish (*Saurida wanieso*) myofibrillar protein during freezing. *J Innovative Food Sci and Emerging Technol* 5: 73-79.
- Inada N, Ichikawa H, Nozaki Y, Hiraoka K, Yokoyama T, Tabata Y. 1992. Effect of sugars on hydration and denaturation of fish myofibrillar protein due to dehydration with silica gel. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*. Tokyo Japan 39: 211-218.
- Johns P. 1977. The Structure and Composition of Collagen Containing Tissue. In: A. G. Ward and A. Courts (Eds). *The Science and Technology of Gelatin*. Academic Press, New York. P 564.
- Katoh N, Uchiyama H, Tsukamoto S, Arai K. 1977. A Biochemical Study on Fish Myofibrils ATPase. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish*.
- Matsumoto JJ, Tsuchiya T, Noguchi S, Ohnishi M, Akakane, T. 1997. Present. 26<sup>th</sup> Intern. Congr. Pure and Applied Chem Tokyo.
- Matsumoto JJ. 1980. Chemical Deterioration of Protein. Whitaker JR, Fujimaki M, (Ed), *J Am Chem Soc ACS Symposium series* 7: 95-124.
- Migata M, Suzuki T. 1989. Study on The Viscosity of Fish Actomyosin II, Viscosity Change of Carp Actomyosin Solution on Storage. *Bull. Jap. Soc. Fish*.
- Nakano H, Akiba M, Yasui T. 1979. The water state of myosin gel during dehydration. *J Nippon Suisan Gakkaishi* 59: 1209-1211.
- Ocano-Hiquera VM, Maeda-Martnez AN, Marquez-Rios E, Canizales-Rodriguez DF, Castilo-Yanez FJ, Ruiz-Bustos E, Graciano-Verdug AZ, Plascencia-Jatomea M. 2011. Freshness assessment of ray fish stored in ice by biochemical, chemical and physical methods. *J Food Chem* 125: 49-54.
- Peranginangin Hadi S, Suryanti. 2006. Ekstraksi gelatin dari tulang ikan kakap merah (*Lutjanus* sp) secara asam. *Jurnal Pasca Panen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. Badan Riset Kelautan dan Perikanan, Jakarta. 1: 27-34.
- Poedjiadi A. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Poppe J. 1997. Gelatin. In: Imeson A (Ed). *Thickening and Gelling Agents for Food*. Blackie Academic and Profesional, London. P 123.
- Ruttanapornvareesakul Y, Ikeda, Hara M, Osaka K, Kongpun KO, Nozaki Y. 2005. Effect of shrimp head protein hydrolysates on the state of water and denaturation of fish myofibrils during dehydration. *J Fisheries Sci* 71: 220-228.
- Shimizu U, Machida R, Takenami S. 1981. Species Variations in The Gelforming Characteristics of Fish Meat Paste, *Bull. Jap. Soc. Fish*.
- Sikrosi ZE. 1989. *Seafood Resources, Nutritional Composition and Preservation*. Dept. Of Food Preservation and Technical Microbiology. Technical University Politechnika Gdanska, Gdansk, Poland.
- Suzuki T. 1981. *Fish And Krill Protein: Processing Tehnology*. London. Applied Science Publisers. Ltd. P 260.
- Trimmerinda. 2007. Kolagen Lebih Keren dari pada Penemuan DNA. <http://www.trimmerinda.blogspot.com/2007/10/kolagen-lebih-keren-daripenemuan-dna.html-100k> [31 Mei 2008].
- Wang PA, Iciar Martinez, Ragnar Ludvig Olsen. 2009. Myosin heavy chain degradation during post mortem storage of Atlantic Cod (*Gadus morhua* L). *J of Food Chem* 115: 1228-1233.
- Ward AG, Courts A. 1977. *The Science and Technology of Gelatin*. Academic Press. London.
- Winarno FG. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gamedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Yamashita Y, Zhang N, Nozaki Y. 2003. Effect of chitin hydrolysate on the denaturation of lizard fish myofibrillar protein and the state of water during frozen storage. *J Food Hydrocolloid* 17: 569-576.
- Zhang N, Yamashita Y, Nozaki Y. 2002. Effect of protein hydrolysate from antarctic krill on the state of water and denaturation of Lizard Fish Myofibrils during frozen storage. *J Food Sci Tech* 2002: 200-206.