

KARAKTERISTIK HIDROLISAT PROTEIN IKAN SELAR (*Caranx leptolepis*) YANG DIPROSES SECARA ENZIMATIS

Tati Nurhayati¹⁾, Ella Salamah¹⁾, Taufik Hidayat²⁾

Abstrak

Hidrolisat protein ikan mempunyai manfaat yang besar baik dalam bidang pangan termasuk pangan fungsional, maupun dalam bidang farmasi. Oleh karena itu dalam rangka diperolehnya produk pangan fungsional asal ikan yang memenuhi standar dan dalam rangka pemanfaatan ikan selar, maka dibuat produk hidrolisat ikan secara enzimatik melalui modifikasi proses. Penelitian ini diawali dengan penetapan konsentrasi enzim protease serta waktu dan pH hidrolisis enzim yang tepat dalam pembuatan produk. Kondisi terbaik digunakan untuk penelitian lanjutan guna melihat karakteristik produk yang dihasilkan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi enzim yang tepat untuk pembuatan produk adalah 5 % (b/v) dengan pH 7 dan waktu hidrolisis 6 jam. Karakteristik hidrolisat protein ikan, yaitu kadar air 91,99 %, kadar abu 1,36 %, kadar protein sebesar 5,3 %, kadar lemak sebesar 0,43 %. Kandungan α -amino nitrogen bebasnya sebesar 0,06 g/100 g. Nilai perbandingan α -amino nitrogen bebas dan nitrogen total yang dihasilkan sebesar 0,07. Kandungan asam amino produk hidrolisat protein ini terdiri dari 17 macam asam amino, dan hampir semua asam amino esensial pada produk hidrolisat protein ini dihasilkan, kecuali triptofan.

Kata kunci: enzimatik, hidrolisat protein ikan, pangan fungsional

PENDAHULUAN

Ketersediaan pangan bernilai gizi protein tinggi masih merupakan masalah di negara-negara berkembang termasuk Indonesia. Di negara kita, masalah kekurangan kalori protein (KKP) merupakan masalah gizi utama bersama-sama dengan masalah kekurangan vitamin A, iodium, dan zat besi (Karyadi *et al.*, 1994). Padahal komponen gizi ini amat diperlukan sebagai zat pembangun dan pengatur yang fungsinya dilaksanakan melalui berbagai bentuk, seperti reseptor, enzim, antibodi, pembentuk jaringan, dan lain-lain.

Protein dapat berasal dari tumbuhan-tumbuhan dan hewan. Sebagai salah satu sumber protein hewani adalah ikan yang mengandung protein sekitar 15-20 % (Stansby, 1982). Salah satu jenis ikan yang mempunyai kandungan protein tinggi adalah ikan selar kuning (*Caranx leptolepis*) yang mengandung protein ikan sebesar 18,8 % (Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI, 1989) dan merupakan ikan pelagis kecil dengan panjang maksimum 16 cm. Namun sampai saat ini pemanfaatannya masih terbatas menjadi ikan asin atau digoreng, padahal ikan ini mempunyai flavor yang khas sehingga dapat digunakan sebagai

¹⁾ Staf Departemen Teknologi Hasil Perairan, FPIK, IPB

²⁾ Alumnus Departemen Teknologi Hasil Perairan, FPIK, IPB

bahan baku dalam pembuatan hidrolisat protein. Keunggulan produk ini adalah tidak memerlukan kondisi penyimpanan beku, dengan demikian penyebarluasannya lebih memungkinkan dibandingkan produk surimi dan lain-lain (Huda, 1994). Pemanfaatan ikan selar kuning sebagai bahan baku dalam pembuatan hidrolisat protein diharapkan memberikan nilai tambah (*added value*) mengingat produk tersebut dapat diaplikasikan baik dalam bidang pangan maupun non pangan.

Kegunaan hidrolisat protein pada industri pangan, antara lain untuk fortifikasi ke dalam formulasi pangan non alergenik untuk bayi dan suplemen makanan diet, serta sebagai bahan pengemulsi. Pederson (1994) mengemukakan bahwa hidrolisat protein dapat digunakan untuk memperbaiki karakteristik berbagai produk pangan dan juga sebagai penyedap rasa. Dalam bidang farmasi dapat digunakan dalam pembuatan produk-produk dermatologis, seperti krim pembersih muka dan krim pelembab kulit (Pigot dan Tucker, 1990). Suplemen hidrolisat protein ikan dari genus *Salmo* atau *Onchorynchus* dengan karakteristik peptida tertentu, yaitu memiliki paling sedikit satu peptida Leu-Ala-Phe, Leu-Thr-Phe, Ile-Ile-Phe, Leu-Ala-Tyr, Ile-Ala-Tyr, Val-Phe-Tyr, Tyr-Ala-Tyr, Val-Leu-Trp, Ile-Ala-Trp, Tyr-Ala-Leu, dan Tyr-Asn-Arg, mempunyai sifat fungsional *angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor*, sehingga dapat mencegah terjadinya tekanan darah tinggi (USA Patent, 2007).

Hidrolisat protein ikan dapat dibuat secara enzimatis. Beberapa hasil penelitian sejenis pernah dilaporkan Kusnaeni (1993) dan Dewi (2002). Namun hasilnya belum baik mengingat masih tingginya total sisa padatan dan rendahnya asam amino bebas yang dihasilkan akibat kurang sempurnanya proses hidrolisis tersebut. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian dengan tujuan memodifikasi proses pembuatan hidrolisat protein ikan sehingga diharapkan akan diperoleh produk yang memenuhi standar.

METODOLOGI

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan meliputi ikan selar kuning (*Caranx leptolepis*) dan enzim papain merk PAYA. Bahan-bahan kimia yang digunakan meliputi bahan kimia untuk analisis kadar lemak, protein, asam lemak bebas, dan

asam amino. Alat-alat yang digunakan meliputi *water shakerbath*, sentrifuse, *freeze dryer*, dan alat-alat untuk analisis (*kjeldahl apparatus*, soxhlet, oven, tanur pengabuan, HPLC).

Metode Penelitian

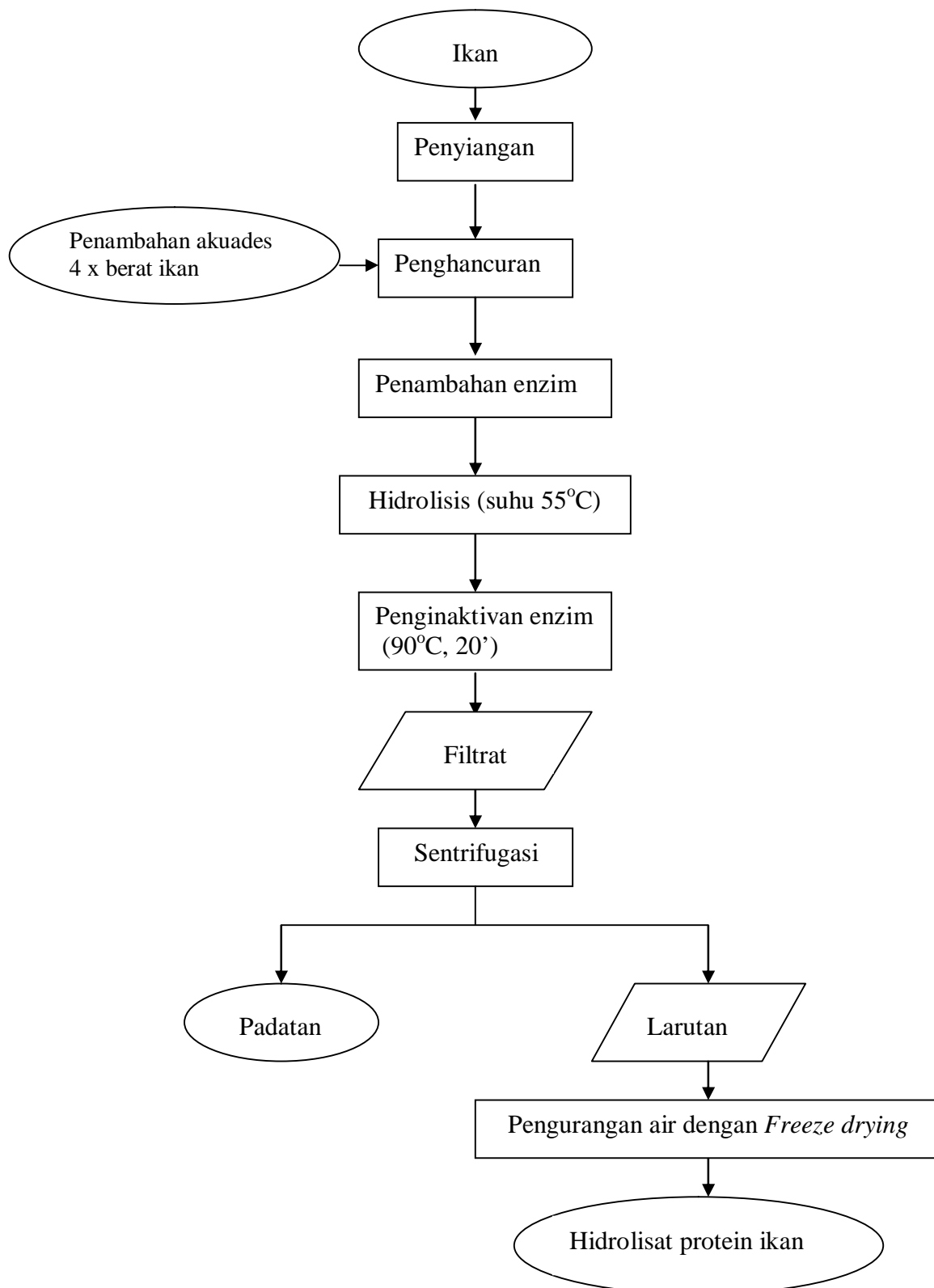
Penelitian dilakukan melalui 2 tahap, yaitu tahap penelitian pendahuluan dan tahap penelitian utama. Penelitian pendahuluan mempelajari pengaruh konsentrasi enzim terhadap sisa total padatan setelah hidrolisis, serta pengaruh waktu hidrolisis dan pH terhadap total α -amino nitrogen bebas. Penelitian utama meliputi pembuatan hidrolisat protein ikan dengan kondisi hidrolisis terbaik berdasarkan hasil penelitian pendahuluan dan mempelajari karakteristiknya termasuk kandungan asam amino.

Penelitian Pendahuluan

Daging ikan yang telah dihancurkan, ditambah air dengan perbandingan 1:4 (b/v), dan enzim pada berbagai konsentrasi (1-6 % (b/v)), setelah itu dihidrolisis pada suhu 55 °C. Analisis yang dilakukan pada tahap ini adalah total sisa padatan. Konsentrasi enzim yang menghasilkan sisa total padatan paling sedikit digunakan pada tahap penentuan waktu dan pH hidrolisis. Waktu hidrolisis yang dicobakan adalah 5; 5,5; dan 6 jam, sedangkan pH yang dicobakan adalah 6,5; 7; dan 7,5. Pada tahap penentuan konsentrasi enzim, digunakan kontrol (tanpa penambahan enzim) saat pembuatan hidrolisat protein ikan. Pada tahap ini analisis yang dilakukan adalah α -amino nitrogen bebas (LTP, 1974). Konsentrasi enzim, serta pH dan waktu hidrolisis terbaik digunakan untuk penelitian utama.

Penelitian Utama

Pada tahap ini proses pembuatan hidrolisat protein ikan menggunakan konsentrasi enzim, waktu dan pH hidrolisis terbaik berdasarkan hasil penelitian pendahuluan. Setelah dihidrolisis pada suhu 55 °C, dilanjutkan dengan penginaktifan enzim pada suhu 90 °C selama 20 menit, penyaringan, sentrifugasi sehingga didapatkan fraksi terlarut. Fraksi ini kemudian dikurangi



Gambar 1. Diagram alir proses pembuatan hidrolisat protein ikan (modifikasi Imm dan Lee, 1999)

airnya menggunakan *freeze dryer*. Analisis meliputi analisis proksimat (kadar air, kadar abu, kadar lemak, kadar protein dan nitrogen total) (AOAC, 1995), α -amino nitrogen bebas (LPTP, 1974), dan analisis asam amino (Nur dan Adijuwana, 1989). Diagram alir proses pembuatan hidrolisat protein ikan disajikan pada Gambar 1.

Analisis Data

Data yang diperoleh pada tahap penelitian pendahuluan dianalisis menggunakan rancangan acak lengkap pola searah (untuk penentuan konsentrasi enzim) dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) dan rancangan acak lengkap pola faktorial (untuk mencari pH dan waktu optimum proses hidrolisis yang dilanjutkan dengan uji beda nyata jujur (BNJ) (Steel dan Torrie, 1991).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi Kimia Bahan Baku untuk Pembuatan Hidrolisat Protein Ikan

Sebagai bahan baku untuk pembuatan hidrolisat protein ikan adalah ikan selar kuning (*Caranx leptolepis*) yang mempunyai komposisi kimia sebagai berikut: kadar air 75,71 %; abu 2,31 %; protein 15,61 %; dan lemak 2,94 %. Stansby (1982) menyatakan bahwa ikan dengan kadar protein 15-20 % termasuk ke dalam golongan ikan berprotein tinggi, sedangkan kadar lemak kurang dari 5 % termasuk ke dalam golongan ikan berlemak rendah. Mengingat kandungan protein ikan selar yang tinggi dan lemak yang rendah, maka jenis ikan ini cocok untuk digunakan sebagai bahan baku pembuatan hidrolisat protein ikan .

Penentuan Konsentrasi Enzim Terbaik dalam Proses Hidrolisis

Dalam pembuatan hidrolisat protein ikan secara enzimatik, tingkat keberhasilan hidrolisis dapat ditentukan melalui total sisa padatan ikan. Semakin rendah total sisa padatan menunjukkan semakin banyaknya ikan yang berhasil dihidrolisis oleh enzim papain. Untuk itu maka perlu dicari konsentrasi enzim yang tepat untuk mendapatkan sisa padatan serendah mungkin dan konsentrasi enzim yang seminimal mungkin.

Dalam penelitian ini digunakan berbagai konsentrasi, yaitu 1-6 % (b/v) dengan aktivitas enzim spesifik sebesar 1,0593 unit/gram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa total sisa padatan berkisar 32,65-45,98 % (Gambar 2).



Gambar 2. Pengaruh konsentrasi enzim terhadap total sisa padatan

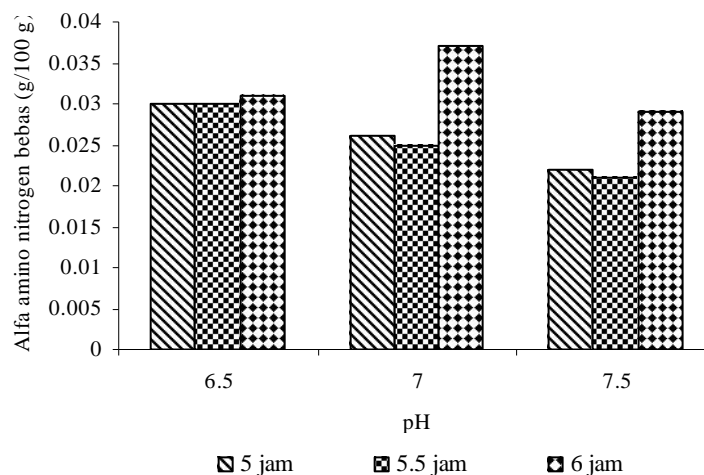
Berdasarkan Gambar 2 dapat dilihat bahwa daging ikan yang tanpa penambahan enzim (kontrol) menghasilkan sisa padatan paling tinggi, yaitu 45,98 %. Produk yang mengalami penambahan enzim, total sisa padatan semakin turun seiring meningkatnya konsentrasi enzim yang digunakan (39,24 hingga 32,65 %).

Hasil uji statistik menggunakan rancangan acak lengkap pola searah menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi enzim akan berpengaruh nyata terhadap penurunan sisa padatan yang dihasilkan. Hasil uji BNT menunjukkan bahwa hanya penambahan konsentrasi enzim hingga 5 % (b/v) yang berpengaruh nyata terhadap penurunan total sisa padatan. Ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi enzim berpengaruh terhadap peningkatan kecepatan pembentukan produk sampai batas maksimum, dan untuk selanjutnya peningkatan konsentrasi enzim tidak akan meningkatkan kecepatan pembentukan produk. Hal ini sesuai dengan pernyataan Lehninger (1993) bahwa peningkatan konsentrasi enzim akan meningkatkan kecepatan reaksi sampai batas tertentu, dan selanjutnya jika sudah mencapai batas maksimum, maka peningkatan konsentrasi enzim tidak lagi meningkatkan kecepatan reaksi. Dengan demikian dapat diambil kesimpulan bahwa konsentrasi enzim yang tepat untuk menghidrolisis ikan adalah 5 % (b/v).

Penentuan Waktu Hidrolisis dan pH Hidrolisis terhadap Peningkatan Kadar α -Amino Nitrogen Bebas

Protein yang terhidrolisis sempurna akan menghasilkan asam amino bebas. Senyawa ini digunakan sebagai indikator tingkat keberhasilan hidrolisis dalam proses pembuatan hidrolisat protein ikan. Kadar α -amino nitrogen bebas yang dihasilkan pada waktu hidrolisis dan pH berbeda disajikan pada Gambar 3. Berdasarkan Gambar 3 dapat dilihat bahwa α -amino nitrogen bebas berkisar 0,02-0,04. Waktu hidrolisis 6 jam dan pH hidrolisis 7 menghasilkan α -amino nitrogen bebas paling tinggi dan berdasarkan rancangan acak faktorial dan uji lanjut BNJ berbeda nyata dengan kombinasi perlakuan yang lain.

Secara umum kandungan α -amino nitrogen bebas cenderung meningkat dengan semakin lamanya waktu hidrolisis. Hal ini disebabkan karena semakin lama waktu hidrolisis maka proses hidrolisis berjalan lebih sempurna. Hal ini tentunya berimplikasi terhadap peningkatan kandungan α -amino nitrogen bebas (Hall, 1946 diacu dalam Susana, 1981; Harrow dan Mazur, 1971 diacu dalam Indrawaty, 1983). Hidrolisis yang baik dilakukan pada pH 6. Hal ini terkait dengan aktivitas enzim papain yang mempunyai aktivitas maksimum pada pH 6. Semakin aktif suatu enzim tentunya akan semakin baik dalam menghidrolisis substratnya (daging ikan) menghasilkan produk.



Gambar 3. Kandungan α -amino nitrogen bebas yang dihasilkan pada waktu dan pH hidrolisis yang berbeda

Karakteristik Hidrolisat Protein Ikan

Hidrolisat protein ikan yang dihasilkan dalam penelitian ini adalah dalam bentuk cair. Untuk melihat kemungkinan pemakaian hidrolisat protein ikan sebagai bahan suplemen makanan, maka dilakukan analisis proksimat (kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak), α -amino nitrogen bebas, dan analisis asam amino. Karakteristik hidrolisat protein ikan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik hidrolisat protein ikan

Parameter	Nilai
Kadar air (%)	91,99
Kadar abu (%)	1,36
Kadar nitrogen (%)	0,85
Kadar protein (%)	5,30
Kadar lemak (%)	0,43
Kadar α -amino nitrogen bebas (g/100 g)	0,06
Perbandingan α -amino nitrogen bebas dan nitrogen total	0,07
Asam amino (%b/b)	2,007

Kadar air hidrolisat protein ikan yang dihasilkan, yaitu sebesar 91,99 %. Bila dilihat dari kadar abu, ternyata produk tersebut mempunyai kadar abu cukup rendah yaitu 1,36 %. Kadar ini lebih rendah dibandingkan dengan kadar abu ikan yang digunakan. Hal ini disebabkan terbuangnya beberapa mineral yang bersifat tidak larut pada tahap sentrifugasi. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa produk ini tidak dapat digunakan sebagai sumber mineral.

Lemak yang ada pada produk ini juga termasuk rendah (0,43 %) dan lebih rendah dibandingkan dengan kadar lemak ikan yang digunakan (2,94 %). Rendahnya kadar lemak pada produk hidrolisat dapat digunakan sebagai bahan makanan diet, yaitu makanan dengan kandungan lemak kurang dari 5 %. Selain itu produk ini dapat berfungsi sebagai suplemen pada pembuatan roti tawar (Pigot dan Tucker, 1990).

Protein merupakan komponen terpenting dalam produk hidrolisat. Salah satu tujuan memproduksi produk hidrolisat ini adalah untuk memenuhi kebutuhan protein hewani, khususnya asal ikan. Tingkat mutu produk hidrolisat sangat ditentukan oleh kadar zat terlarut, terutama proteinnya (Sutedja *et al.*, 1981 diacu

dalam Syahrizal, 1991). Selama hidrolisis terjadi konversi protein yang bersifat tidak larut menjadi senyawa nitrogen yang bersifat larut, selanjutnya terurai menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana, seperti peptida-peptida dan asam amino sehingga lebih mudah diserap oleh tubuh. Apabila hidrolisis berlangsung sempurna, maka akan dihasilkan hidrolisat yang terdiri dari campuran 18-20 asam amino (Kirk dan Othmer, 1953).

Kadar protein yang terukur pada produk hidrolisat adalah protein terlarut. Berdasarkan hasil analisa, kadar protein produk sebesar 5,3 % (basis basah) atau 66,17 % (basis kering). Jika dibandingkan dengan bahan baku yang mempunyai kadar protein 15,61 % (basis basah) atau 64,27 % (basis kering), maka dapat dikatakan bahwa seluruh protein yang ada dalam bahan baku dikonversi menjadi protein terlarut. Ini berarti bahwa proses hidrolisis berlangsung sempurna.

Untuk membuktikan keberhasilan proses hidrolisis juga dapat dilihat dari kadar α -amino nitrogen bebas. Kadar senyawa tersebut pada produk hidrolisat adalah 0,06 %. Nilai ini lebih tinggi dibandingkan dengan produk hidrolisat yang diproduksi oleh Zakki (1999) yaitu sebesar 0,0392 %. Ini menunjukkan bahwa proses hidrolisis pada pembuatan produk ini berjalan lebih sempurna. Yokotsuka (1960) menyatakan bahwa proses hidrolisis yang berjalan baik dan sempurna akan menghasilkan produk hidrolisat yang memiliki flavor dan mutu yang baik.

Salah satu kriteria mutu produk hidrolisat adalah nilai perbandingan α -amino nitrogen bebas dengan nitrogen total yang disebut derajat hidrolisis protein. Lahl dan Braun (1994) menyatakan bahwa produk hidrolisat sebagai suplemen makanan yang telah disampaikan oleh *Food Chemical Codex* mempunyai derajat hidrolisis protein 0,02-0,67. Produk hidrolisat yang dihasilkan mempunyai derajat hidrolisis protein 0,07. Dengan demikian produk ini dapat digunakan sebagai suplemen makanan.

Pada penelitian ini asam amino yang terbentuk dari hasil hidrolisis sebanyak 17 jenis, yaitu asam aspartat, asam glutamat, serin, glisin, histidin, arginin, treonin, alanin, prolin, tirosin, valin, metionin, sistin, isoleusin, leusin, fenilalanin, dan lisin dengan jumlah 2,007 %. Data tersebut menunjukkan bahwa proses hidrolisis mendekati sempurna. Kirk dan Othmer (1953) menyatakan bahwa hidrolisis berjalan sempurna jika asam amino yang terbentuk sebanyak

18-20 jenis. Namun jika dibandingkan dengan kadar protein total (5,3 %) jumlah asam amino yang terbentuk lebih rendah (2,007 %). Hal ini diduga protein terlarut lainnya adalah masih dalam bentuk peptida-peptida. Diantara asam-asam amino yang terdeteksi terdapat asam amino esensial yang diperlukan untuk manusia, yaitu lisin 0,117 %(b/b), leusin 0,105 %(b/b), isoleusin 0,067 %(b/b), treonin 0,077 %(b/b), fenilalanin 0,085 %(b/b), valin 0,075 %(b/b), metionin 0,120 %(b/b), arginin 0,094 %(b/b) dan histidin 0,097 %(b/b).

Asam amino yang terdeteksi ada yang memberikan rasa manis, yaitu serin, glisin, alanin, dan valin. Rasa gurih diberikan oleh asam glutamat (West dan Todd, 1964). Melihat fakta ini, maka hidrolisat protein ikan dapat digunakan sebagai penyedap karena mengandung asam glutamat yang tinggi 0,385 %(b/b). Selain itu, produk ini juga dapat disertakan sebagai menu para penderita gangguan pencernaan dengan memanfaatkan asam amino esensial yang ada didalamnya.

KESIMPULAN

Hasil penelitian pendahuluan menunjukkan ikan selar kuning layak untuk dihidrolisis karena mempunyai kandungan protein yang cukup tinggi, yaitu 15,61 %(bb). Kondisi optimum untuk menghidrolisis ikan selar kuning menjadi produk hidrolisat protein adalah pada konsentrasi enzim papain 5 %, pH 7 dan waktu proses selama 6 jam.

Berdasarkan hasil analisis produk yang dilakukan pada hidrolisat protein diperoleh bahwa kadar air 91,99 %, abu 1,36 %, protein sebesar 5,3 %, lemak sebesar 0,43 %. Kandungan α -amino nitrogen bebasnya sebesar 0,06 g/100 g. Nilai perbandingan α -amino nitrogen bebas dan nitrogen total yang dihasilkan sebesar 0,07. Kandungan asam amino produk hidrolisat protein ini terdiri dari 17 macam asam amino, dan hampir semua asam amino esensial pada produk hidrolisat protein ini dihasilkan, kecuali triptofan.

SARAN

Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut menggunakan enzim papain yang lebih murni dengan keaktifan yang tinggi serta dalam proses hidrolisis digunakan perbandingan air yang tidak terlalu besar. Perlu dilakukan penelitian tentang pembuatan produk hidrolisat dalam bentuk serbuk ataupun

tepung menggunakan metode pengeringan yang lebih baik dan murah serta diaplikasikan produk hidrolisat yang dihasilkan ke dalam makanan.

DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemists. 1995. *Official Methods of Analysis of The Association Official Analytical Chemist*. Arlington Virginia USA: Published by The Association of Official Analytical Chemists, Inc.
- Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI. 1989. *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Jakarta: Bharata.
- Dewi GC. 2002. Studi penggunaan enzim papain pada produksi hidrolisat protein ikan [skripsi]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Huda N. 1994. Pengolahan daging lumat ikan laut berukuran kecil menjadi berbagai jenis tepung ikan: evaluasi nilai gizi dan sifat fungsional protein [tesis]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Imm JY, Lee CM. 1999. Production of seafood flavor from red hake (*Urophycis chuss*) by enzymatic hydrolysis. *J Agric Food Chem* 47 : 2360-2366.
- Indrawaty T. 1983. *Pembuatan Kecap Keong Sawah dengan Menggunakan Enzim Bromelin*. Jakarta: Balai Pustaka.
- Karyadi, Susilowati D, Sudiman H. 1994. Potensi gizi hasil laut untuk menghadapi masalah gizi ganda. Di dalam : Rifai MA (ed.). *Risalah Widyakarya Pangan dan Gizi V*. Jakarta : LIPI. Hal :157-175.
- Kirk RE, Othmer DF. 1953. *Encyclopedia of Chemical Technology*. New York : The Interscience Publ. Inc. Vol. 11.
- Kusnaeni S. 1993. Pembuatan hidrolisat protein ikan layang (*Decapterus russelli*) menggunakan enzim papain untuk suplemen protein pada mie [skripsi]. Bogor : Fakultas Teknologi Pertanian, IPB.
- [LPTP] Lembaga Penelitian Teknologi Perikanan. 1974. *Metode dan Prosedur Pemeriksaan Mikrobiologis dan Kimiawi Hasil Perikanan*. Jakarta: Departemen Pertanian, Direktorat Jenderal Perikanan, LPTP.
- Lahl WJ, Braun SD. 1994. Enzymatic production of protein hidrolisat for food use. Di dalam: *Food Industri X*. Chicago: Institute of Food Technologists USA.
- Lehninger AL. 1993. *Dasar Biokimia I*. Maggy Thenawidjaja, penerjemah. Jakarta : Penerbit Erlangga.
- Nur MA, Adjuwana H. 1989. *Teknik Pemisahan dalam Analisis Biologi*. Bogor: Pusat Antar Universitas, IPB.
- Pigot GM, Tucker BW. 1990. Utility fish flesh effectively while maintaining nutritional qualities. *Seafood Effects of Technology on Nutrition*. New York : Marcel Decker, Inc.

- Pedersen. 1994. Removing bitterness from protein hydrolysates. Di dalam: *Food Industri X*. Chicago: Institute of Food Technologists USA.
- Susana. 1981. Pengaruh penambahan HCl dan waktu hidrolisis terhadap mutu hidrolisat protein jengger udang [skripsi]. Bogor : Fakultas Teknologi Pertanian, IPB.
- Stansby ME. 1982. Properties of fish oils and their application to handling of fish and to nutritional and industrial use. Di dalam: Martin RE (ed.). *Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products*. Westport Connecticut : The AVI Publishing Company.
- Steel RGD, Torrie JH. 1991. *Prinsip dan Prosedur: Statistik suatu pendekatan biometrik*. Penerjemah: Bambang Sumantri. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama. Terjemahan dari: *Principles and Procedure of Statistic*.
- Syahrizal FSNA. 1991. Mikrobiologi kecap ikan yang dibuat secara hidrolisis enzimatis [skripsi]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, IPB.
- United States Patent: 7,179,793 [On line 27/4/2007].
http://www.pharmcast.com/Patents100/Yr2007/Feb2007/022007/7179793_Antihypertensive022007.htm.
- West ES, Todd WC. 1964. *Text Book of Biochemistry*. New York: The Mac Millan, Co.
- Yokotsuka T. 1960. Aroma and flavor japanese soy sauce. Di dalam: Mark EM, Chichester CO, Stewart GF (eds.). *Advances in Food Research*. Vol IV. New York: Academic Press.