

Perikanan

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN HIDROLISAT KOLAGEN KULIT
DAN TULANG IKAN PATIN (*Pangasius pangasius*) YANG
DIBUAT DENGAN ENZIM BROMELIN**

Oleh

IDA DESLIANI



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

**INDRALAYA
2014**

635.807
Ida
a
2014

R 26240 / 26801

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN HIDROLISAT KOLAGEN KULIT
DAN TULANG IKAN PATIN (*Pangasius pangasius*) YANG
DIBUAT DENGAN ENZIM BROMELIN**



Oleh
IDA DESLIANI



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

**INDRALAYA
2014**

RINGKASAN

IDA DESLIANI. Aktivitas Antioksidan Hidrolisat Kolagen Kulit dan Tulang Ikan Patin (*Pangasius pangasius*) yang Dibuat dengan Enzim Bromelin (Dibimbing oleh ACE BAEHAKI dan SHANTI DWITA LESTARI).

Penelitian ini bertujuan untuk membuat hidrolisat kolagen dari kulit dan tulang ikan patin dengan menggunakan enzim bromelin sehingga peptida kolagen yang dihasilkan diharapkan memiliki sifat antioksidan.

Faktor perlakuan terdiri dari konsentrasi enzim yang terdiri dari 5 konsentrasi enzim yang berbeda yaitu 1-5% dan waktu hidrolisis yang berbeda (0, 5, 10, 20, 30, 40, 60, 90, 120 dan 160 menit). Parameter yang diamati meliputi perhitungan rendemen, analisis derajat hidrolisis, analisis antioksidan (DPPH dan daya reduksi) dan analisis berat molekul dengan SDS-PAGE.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hidrolisat kolagen kulit dan tulang yang dihidrolisis oleh enzim bromelin memiliki aktivitas antioksidan. Berat molekul hidrolisat kolagen kulit berkisar 9,56-206 kDa dan hidrolisat kolagen tulang memiliki berat molekul berkisar 58,9-119,98 kDa. Rendemen kolagen kulit dan tulang masing-masing sebesar 45,84% dan 12,86%. Derajat hidrolisis tertinggi pada hidrolisat kolagen kulit sebesar 2,58% menit ke 160 sedangkan derajat hidrolisis tertinggi pada hidrolisat kolagen tulang sebesar 2,97% menit ke 160. Aktivitas antioksidan metode DPPH pada hidrolisat kolagen kulit dan tulang sebesar 61,67% dan 71,83%. Sedangkan aktivitas antioksidan metode daya reduksi pada hidrolisat kolagen kulit dan tulang sebesar 0,35 dan 0,38.

RINGKASAN

IDA DESLIANI. Aktivitas Antioksidan Hidrolisat Kolagen Kulit dan Tulang Ikan Patin (*Pangasius pangasius*) yang Dibuat dengan Enzim Bromelin (Dibimbing oleh ACE BAEHAKI dan SHANTI DWITA LESTARI).

Penelitian ini bertujuan untuk membuat hidrolisat kolagen dari kulit dan tulang ikan patin dengan menggunakan enzim bromelin sehingga peptida kolagen yang dihasilkan diharapkan memiliki sifat antioksidan.

Faktor perlakuan terdiri dari konsentrasi enzim yang terdiri dari 5 konsentrasi enzim yang berbeda yaitu 1-5% dan waktu hidrolisis yang berbeda (0, 5, 10, 20, 30, 40, 60, 90, 120 dan 160 menit). Parameter yang diamati meliputi perhitungan rendemen, analisis derajat hidrolisis, analisis antioksidan (DPPH dan daya reduksi) dan analisis berat molekul dengan SDS-PAGE.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hidrolisat kolagen kulit dan tulang yang dihidrolisis oleh enzim bromelin memiliki aktivitas antioksidan. Berat molekul hidrolisat kolagen kulit berkisar 9,56-206 kDa dan hidrolisat kolagen tulang memiliki berat molekul berkisar 58,9-119,98 kDa. Rendemen kolagen kulit dan tulang masing-masing sebesar 45,84% dan 12,86%. Derajat hidrolisis tertinggi pada hidrolisat kolagen kulit sebesar 2,58% menit ke 160 sedangkan derajat hidrolisis tertinggi pada hidrolisat kolagen tulang sebesar 2,97% menit ke 160. Aktivitas antioksidan metode DPPH pada hidrolisat kolagen kulit dan tulang sebesar 61,67% dan 71,83%. Sedangkan aktivitas antioksidan metode daya reduksi pada hidrolisat kolagen kulit dan tulang sebesar 0,35 dan 0,38.

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN HIDROLISAT KOLAGEN KULIT
DAN TULANG IKAN PATIN (*Pangasius pangasius*) YANG DIBUAT
DENGAN ENZIM BROMELIN**

**Oleh
IDA DESLIANI**

**SKRIPSI
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Perikanan**

**pada
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

**INDRALAYA
2014**

Skripsi

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN HIDROLISAT KOLAGEN KULIT
DAN TULANG IKAN PATIN (*Pangasius pangasius*) YANG DIBUAT
DENGAN ENZIM BROMELIN**

Oleh
IDA DESLIANI
05091006001

telah diterima sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar
Sarjana Perikanan

Pembimbing I

Indralaya, April 2014



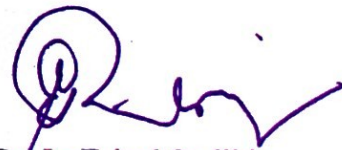
Dr. Ace Baehaki, S.Pi, M.Si

Fakultas Pertanian
Universitas Sriwijaya
Dekan,

Pembimbing II



Shanti Dwita Lestari, S.Pi, M.Sc



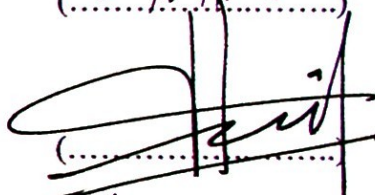
Dr. Ir. Erizal Sodikin
NIP.196002111985031002

Skripsi berjudul “Aktivitas antioksidan hidrolisat kolagen kulit dan tulang ikan patin (*Pangasius pangasius*) yang dibuat dengan enzim bromelin” oleh Ida Desliani telah dipertahankan di depan komisi pengujian pada tanggal 25 Maret 2014

Komisi Pengujian

1. Dr. Ace Baehaki, S.Pi., M.Si Ketua (..........)

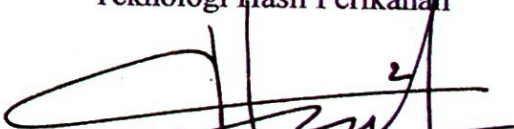
2. Shanti Dwita Lestari, S.Pi., M.Sc Sekretaris (..........)

3. Agus Supriadi, S.Pt., M.Si Anggota (..........)

4. Rodiana Nopianti, S.Pi., M.Sc Anggota (..........)

5. Siti Hanggita RJ, S.TP., M.Si Anggota (..........)

Mengesahkan
Ketua Program Studi
Teknologi Hasil Perikanan


Agus Supriadi, S.Pt., M.Si.
NIP. 197705102008011018

Saya yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan dengan sesungguhnya bahwa seluruh data dan informasi yang disajikan dalam skripsi ini, kecuali yang disebutkan dengan jelas sumbernya adalah hasil penelitian atau investigasi saya sendiri di bawah arahan pembimbing dan belum pernah atau tidak sedang diajukan sebagai syarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan di tempat lain.

Indralaya, April 2014

Yang Membuat Pernyataan

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Ida' followed by a stylized '@' symbol.

Ida Desliani

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Kayuagung, Sumatera Selatan tanggal 8 Desember 1991, merupakan anak ketiga dari tiga bersaudara pasangan Bapak M.Ali.Syamsuddin,S.Sos dan Ibu Nuraini.

Pendidikan Taman Kanak-kanak penulis diselesaikan di TK Pertiwi Kayuagung tahun 1997, Sekolah Dasar diselesaikan di SDN 7 Kayuagung tahun 2003, Sekolah Menengah Pertama diselesaikan di SMPN 7 Kayuagung tahun 2006, dan Sekolah Menengah Atas diselesaikan di SMAN 1 Kayuagung tahun 2009. Sejak Agustus 2009 penulis tercatat sebagai mahasiswa Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya melalui jalur PMP (Penelusuran Minat dan Prestasi).

Penulis pernah menjadi asisten praktikum Kimia Pangan pada tahun 2011, Gizi Ikani pada tahun 2011, Teknologi Laboratorium pada tahun 2012 dan Bahan Baku Hasil Perikanan pada tahun 2013 di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Universitas Sriwijaya. Penulis pernah mengikuti pelatihan penulisan program kreativitas mahasiswa dan menjadi peserta *Speech Contest* pada acara Dies-Natalis Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.

Pengalaman organisasi penulis adalah sebagai ketua kewirausahaan di IMASILKAN (Ikatan Mahasiswa Teknologi Hasil Perikanan) periode 2010-2012 serta anggota HMBS (Himpunan Mahasiswa Bende Seguguk) periode 2009 sampai sekarang.

Penulis telah melaksanakan Praktek Lapangan di PT.Indokom Samudra Persada Lampung dengan judul “Pengolahan Limbah Padat dan Cair pada Proses Produksi Udang Putih (*Panaeus vannamei*)” pada tahun 2012 yang dibimbing oleh Ibu Shanti Dwita Lestari, S.Pi, M.Sc dan penulis juga telah melakukan Kuliah Kerja Nyata bersama Universitas Jambi di Desa Mangunjaya pada tahun 2012.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis persembahkan kehadirat Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan sebaik mungkin. Skripsi yang berjudul “Aktivitas Antioksidan Hidrolisat Kolagen Kulit dan Tulang Ikan Patin (*Pangasius pangasius*) yang Dibuat dengan Enzim Bromelin” disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh Gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.

Penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada :

1. Bapak Dekan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.
2. Bapak Agus Supriadi, S.Pt, M.Si selaku Ketua Prodi Teknologi Hasil Perikanan dan selaku dosen pembimbing akademik.
3. Bapak Dr. Ace Baehaki , S.Pi, M.Si. dan Ibu Shanti Dwita Lestari, S.Pi, M.Sc., selaku pembimbing penulis yang membantu, memberikan arahan dan perhatian selama penelitian dan penyelesaian skripsi.
4. Bapak Agus Supriadi, S.Pt, M.Si., Ibu Rodiana Nopianti, S.Pi, M.Sc., Ibu Siti Hanggita RJ S.TP, M.Si., Ibu Susi Lestari, S.Pi., M.Si selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan dan pengarahan dalam penyelesaian skripsi.
5. Ibu Indah Widiastuti, S.Pi, M.Si., Ibu Dr. Ir. Kiki Yulianti, M.Sc., Bapak Budi Purwanto, S.Pi., Ibu Dian Wulansari S.TP, M.Si dan Ibu Sherly Ridowati, N.I, S.TP, M.Sc. atas ilmu yang telah diberikan selama ini. Mbak Absah, Mbak Ani, Mba Tika, Mbak Upiet dan Mbak Lisma atas ilmu yang diberikan serta bantuannya selama ini.

6. Keluargaku, kedua orang tuaku tercinta yang selalu memberikan doa, dukungan, perhatian dan kasih sayang tak terhingga, oof, kak abor dan kak atek ku sayang yang tiada henti-hentinya memberikan dukungan, perhatian dan kasih sayang yang tak terhingga serta keponakan kecilku ibah dan kiki yang selalu mengukir canda ditegah kegalauan menyelesaikan tugas akhir ini.
7. Seseorang yang istimewa Septian Dwi Putra, SH atas segala bantuan, doa serta motivasi tiada henti yang telah diberikan selama ini.
8. Sahabat seperjuangan Gemala yang selalu beriringan saling memotivasi untuk menyelesaikan TA ini hingga akhir, Zee sahabat terbaik dari awal semester hingga sekarang, Shella sahabat seperjuangan penelitian, Selly sahabat dan juga motivator terhebat yang pernah ada, Mb Tika yang selalu ada disaat suka dan duka dalam menyelesaikan TA ini, MCP sahabat yang tak pernah mengeluh jika diminta bantuan, Sandy, Linda, Atul, Macek dan Reny sahabat terbaik yang selalu memotivasi dan memberi semangat.
9. Teman-teman THI 2009 Wak Rejak, Danu, Diaz, Agus, Fajar, Winda, Siska, Mego, Ary Bewok, Hadi, Wahyu, Bang Ivan, Ulil, Franzo, Hernandes, Iyan, Dovin atas support dan semangat nya selama ini.

Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna bagi semua pihak yang membutuhkan serta dapat menjadi sumbangan pemikiran yang bermanfaat bagi kita semua, amin.

Indralaya, Maret 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan	3
C. Hipotesis	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Ikan Patin (<i>Pangasius pangasius</i>)	4
B. Kolagen	7
C. Hidrolisis	9
D. Hidrolisat Kolagen	11
E. Enzim	13
F. Enzim Bromelin	17
G. Antioksidan	19
III. PELAKSANAAN PENELITIAN	
A. Tempat dan Waktu	27
B. Alat dan Bahan	27
C. Metode Penelitian	28
D. Cara Kerja	31

E. Parameter Pengamatan.....	35
1. Rendemen Kolagen	35
2. Derajat Hidrolisis	35
3. Uji Aktivitas Antioksidan	36
a. Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)	36
b. Metode Daya Reduksi.....	36
4. SDS-PAGE (<i>Sodium Dodecil Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis</i>)	37
F. Analisis Data	39
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Rendemen.....	40
B. Derajat Hidrolisis	42
C. Aktivitas Antioksidan Hidrolisat Kolagen	45
1. Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	45
2. Aktivitas Antioksidan dengan Metode Daya Reduksi.....	49
D. SDS-PAGE (<i>Sodium Dodecil Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis</i>)	52
V. KESIMPULAN	
A. Kesimpulan.....	58
B. Saran	58
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Komposisi kimia daging ikan patin (<i>Pangasius pangasius</i>) segar	6
2. Persentase asam amino pada hidrolisat kolagen	12
3. Jenis asam amino yang terkandung dalam hidrolisat kolagen	13
4. Penggolongan enzim secara internasional berdasarkan reaksi yang dikatalisnya.....	15
5. Kandungan bromelin di dalam tanaman nanas (%)......	18

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Ikan Patin (<i>Pangasius pangasius</i>).....	5
2. Reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari zat antioksidan	22
3. Diagram alir penelitian.....	30
4. Rendemen kolagen kulit dan tulang ikan patin (<i>Pangasius pangasius</i>)	40
5. Derajat hidrolisis kolagen kulit dan tulang dengan berbagai waktu Hidrolisis berdasarkan tingkatan waktu 0,5,10,20,30,40,60,90,120 dan 160 (menit).....	43
6. Persen penghambatan metode DPPH larutan hidrolisat kolagen kulit dan tulang dengan berbagai waktu hidrolisis berdasarkan tingkatan waktu 0,5,10,20,30,40,60,90,120 dan 160 (menit)	46
7. Nilai absorbansi analisis daya reduksi larutan hidrolisat kolagen kulit dan tulang dengan berbagai waktu hidrolisis berdasarkan tingkatan waktu 5,10,20,30,40,60,90,120 dan 160 (menit)	50
8. Pola pita hidrolisat kolagen kulit dengan berbagai waktu hidrolisis Berdasarkan tingkatan waktu 5,10, 20,30,40,60,90,120 dan 160 (menit)	53
9. Pola pita hidrolisat kolagen kulit dengan berbagai waktu hidrolisis berdasarkan tingkatan waktu 5,10,20,30,40,60,90,120 dan 160 (menit)	55

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Diagram alir pembuatan enzim bromelin	66
2. Ekstraksi kolagen kulit ikan patin	67
3. Ekstraksi kolagen tulang ikan patin	68
4. Hidrolisis kolagen	69
5. Perhitungan rendemen kolagen kulit dan tulang	70
6. Derajat hidrolisis hidrolisat kolagen kulit ikan patin	71
7. Derajat hidrolisis hidrolisat kolagen tulang ikan patin.....	73
8. Perhitungan dan interpretasi marker hidrolisat kolagen kulit pada analisa SDS-PAGE.....	75
9. Perhitungan dan interpretasi marker hidrolisat kolagen tulang pada analisa SDS-PAGE.....	77
10. Perhitungan persen penghambatan analisis antioksidan metode DPPH.....	79
11. Hasil absorbansi analisis daya reduksi (<i>Reducing Power</i>).....	81
12. Kesimpulan hasil setiap parameter penelitian	82
13. Gambar proses pembuatan ekstrak enzim bromelin	83
14. Gambar proses ekstraksi kulit ikan patin	86
15. Gambar proses hidrolisis kolagen kulit dan tulang secara enzimatis..	88
16. Gambar analisis antioksidan metode DPPH.....	89
17. Gambar analisis antioksidan metode daya reduksi	90



I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Ikan patin merupakan jenis ikan konsumsi air tawar, berbadan panjang berwarna putih perak dengan punggung berwarna kebiru-biruan. Produksi ikan patin di Indonesia mengalami peningkatan dari tahun ke tahun. Sumatera Selatan memiliki potensi pengembangan ikan patin yang cukup tinggi karena 52% dari total produksi ikan air tawar itu secara nasional berasal dari Sumsel. Produksi ikan patin pada 2011 mencapai 117.040 ton. Diperkirakan, produksi pada 2012 meningkat sekitar 15% dibanding tahun sebelumnya adapun produksi ikan Sumsel secara keseluruhan mencapai 291.375 ton (Dinas Kelautan dan Perikanan Sumsel, 2013).

Pemanfaatan limbah hasil perikanan belum optimal sedangkan dari tahun ke tahun perkembangan industri perikanan semakin meningkat. Pada industri pengolahan ikan bagian yang dibuang adalah kepala, ekor, sirip, tulang dan jeroan menghasilkan ikan yang telah disiangi rata-rata sebesar 65% (Irawan, 1995). Menurut Zhao *et al.* (1996), kulit dan tulang ikan mengandung kolagen dalam jumlah besar. Kolagen adalah protein yang banyak terdapat pada jaringan tubuh dapat ditemukan pada kulit, jaringan pengikat dan tulang serta merupakan protein struktural tubuh (Winarno, 1983).

Kolagen yang telah mengalami proses hidrolisis polipeptida disebut hidrolisat kolagen. Hidrolisat kolagen dihasilkan dari proses hidrolisis kolagen yang terdapat pada tulang, kulit dan jaringan ikat hewan seperti sapi, ikan dan babi.

Pada proses hidrolisis, polipeptida-polipeptida kolagen akan dipecah menjadi molekul yang lebih sederhana dengan perlakuan asam (alkali), basa dan enzim (Swidersky, 2009). Penggunaan enzim sebagai katalis pada produk hidrolisat dapat meningkatkan laju reaksi yang luar biasa tanpa pembentukan produk samping (Yazid dan Nursanti, 2006).

Enzim adalah satu atau beberapa gugus polipeptida (protein) yang berfungsi sebagai katalis (senyawa yang mempercepat proses reaksi tanpa habis bereaksi) dalam suatu reaksi kimia (Sadikin, 2002). Menurut Winarno (1983), bromelin tergolong jenis enzim protease sulfhidril yang mampu menghidrolisis ikatan peptida pada protein atau polipeptida menjadi molekul yang lebih kecil yaitu asam amino. Bromelin dihasilkan dari ekstraksi buah nanas yang dapat mendegradasi kolagen. Enzim ini mudah didapat karena buah nanas berbuah sepanjang tahun dan tersebar di seluruh Indonesia (de Man, 1997).

Menurut Swidersky (2009), peptida kolagen dapat berpotensi sebagai antihipertensi, antimikroba, *immunomodulator* dan antioksidan. Kolagen telah diketahui kaya akan asam amino hidrofobik, lebih dari sepertiga jumlah residu asam amino adalah glisin dan 20% adalah prolin serta hidroksiprolin. Oleh karena itu, kolagen diharapkan menyediakan antioksidan peptida alami dan memiliki sifat antioksidan (Lin *et al.*, 2010).

Beberapa penelitian sebelumnya telah dilakukan mengenai hidrolisat kolagen adalah hidrolisat kolagen dari kulit ikan tilapia yang dihidrolisis dengan enzim protease (Wang *et al.*, 2013) dan peptida antioksidan hidrolisat kolagen tulang ikan menggunakan enzim protease (Lin *et al.*, 2010). Berdasarkan penelitian terdahulu menunjukkan bahwa hidrolisat kolagen kulit dan tulang ikan yang dihidrolisis

menggunakan enzim protease dapat meningkatkan laju reaksi yang luar biasa tanpa pembentukan produk samping tetapi sejauh ini penggunaan enzim bromelin dalam proses hidrolisis belum banyak dilakukan. Pembuatan produk hidrolisat kolagen dari kulit dan tulang ikan patin belum banyak dilakukan meskipun telah banyak penelitian yang melaporkan bahwa hidrolisat kolagen kulit dan tulang ikan yang telah mengalami proses hidrolisis enzimatik memiliki aktivitas antioksidan yang potensial. Oleh karena itu pada penelitian ini akan dilakukan pengujian aktivitas antioksidan hidrolisat kolagen kulit dan tulang ikan patin dengan dua metode yaitu metode DPPH dan metode daya reduksi (*reducing power*).

B. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan enzim bromelin dalam menghidrolisis kolagen kulit dan tulang ikan patin dan menganalisis aktivitas antioksidan hidrolisat kolagen yang dihasilkan.

C. Hipotesis

Enzim bromelin diduga mampu menghidrolisis kolagen kulit dan tulang ikan patin sehingga peptida kolagen yang dihasilkan diharapkan memiliki sifat antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhdiya, A. 2003. Isolasi bakteri penghasil enzim protease alkalin termostabil. Buletin plasma nutfah Vol. 9 (2). 123-127.(online).(http://www.iptek.net.id, diakses 23 Juni 2013).
- Ali, M., N.M. Noor dan Y.S. Leksono. 2010. Ekstrak kolagen dari sisik ikan kakap merah (*Lutjanus sp*). Prosiding seminar nasional pengolahan produk dan bioteknologi kelautan dan perikanan. Jakarta.
- Al-Zahrani, R. 2010. Extraction and isolation of collagen type I from fish skin Thesis. University of Otago, New Zealand. (published). (http://faculty.mu.edu.sa/public/uploads/1338113774.7306projectpdf, diakses tanggal 18 Mei 2013)
- Amertaningtyas, D. 2000. Pengolahan kerupuk rambak ulit ikan patin. Jurnal Ilmu Peternakan. Universitas Brawijaya Malang.7 :120-125.
- Astrina, H. Nur dan N. Rohmah. 2010 .Pemanfaatan limbah tulang ikan patin sebagai bakso berkalsium tinggi. Program kreatif mahasiswa. Universitas Negeri Malang.
- Bachrudin, Z. 1999. Petunjuk laboratorium: Isolasi, identifikasi, dan pewarnaan protein. PAU Bioteknologi. UGM Yogyakarta.
- Balian, S dan T. Bowes. 1997. Hidrolisat protein ikan (HPI). Skripsi. Universitas Diponegoro.
- Barath, Mani dan S. Kanth . 2010. Antioxidant effect of gold nanoparticles restrains hyperglycemic conditions in diabetic mice. Journal of Nanobiotechnology. 8 : 16-19.
- Bagchi, D., B. Misner, M. Kothari dan S.C. Downs. 1992. Effects of orally administered undenatured type II collagen against arthritic inflammatory disease: a mechanistic exploration. Journal of Molecular Science. Vol (22) 101-10.
- Bella, J., B. Brodsky dan H.M. Berman. 1995. Hydration structure of a collagen peptide. Structure. Journal of Food Science and Tecnology. 3 : 280-288.
- Benzie, K and J. Strain. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measurement of antioxidant power: the FRAP assay. Journal of Biochemistry. 239:70 76.

- Bordbar, S., A. Ebrahimpour, A.A. Hamid dan N. Sari. 2013. The improvement of the endogenous antioxidant property of stone fish (*Actinopyga lecanora*) tissue using enzymatic proteolysis. *Journal of Food Science*. 9:15-20.
- Centenaro, G. S., M.S. Mellado dan C. P. Hernandez. 2011. Antioxidant activity of protein hydrolysate of fish and chicken bones. *Journal of Food Science and Technology*. 3:280-288.
- Charpentier, R dan H. Cateora . 1996. Tumeric : Phytonutrient protection for variety of psysiological stress. Vitamin research product, Carcoon. Nevada. ([http://:rrv.com](http://rrv.com) tanggal 10 Oktober 2013).
- Connor, K. A., G. L. Amidon dan V. J. Stella. 1929. Chemical stability of pharmaceutical. Second edition. A wiley interscience publication. New York.
- Dalimartha dan Soediby. 1999. Metode fitokimia. Ed ke- 2. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah. Bandung. ITB Press. Terjemahan dari Phytochemical method.
- deMan, J.M. 1997. Kimia makanan. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Dianti, M. 2008. Pemanfaatan gelatin dari kulit ikan patin (*Pangasius sp*) sebagai bahan baku pembuatan edible film. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Dinas Kelautan dan Perikanan Sumsel. 2013. Industri Perikanan : Sumsel bangun pabrik pengolahan ikan patin. (online). <http://news.bisnis.com/> industri-perikanan-sumsel-bangun-pabrik-pengolahan-ikan-patin. Diakses 3 Maret 2014).
- Djarajah, A.S. 2001. Budidaya Ikan Patin. Kanisius. Yogyakarta.
- Ebrahimzadeh, M. A., S. M. Nabavi, S. F. Bahramian dan A. R. Bekhradnia. 2010. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Var Officinalis*, *Var Angustifolius*, *Var Odorata* and *Hyrcana speciosum*. *Journal Pharmacology Science*. Vol (23) 29-34.
- Falch, R. 1991. Optimization of extraction conditions for pollock skin gelatin. *Journal of Food Science*. Vol (69) : 393-398.
- Fennema, L. 1985. Optimization of nitrogen recovery in the enzymatic hydrolysis of dogfish (*Squalus acanthias*) protein composition of the hydrolysates. *International Journal of Food Science and Nutrition*. Vol (48) 191-200.
- Girindra, M. 1990. Biokimia I. PT. Gramedia. Jakarta.

- Hale, M. 1969. The formation of fibrils from collagen solutions. The effect of experimental conditions: kinetic and electron-microscope studies. *Journal of Biochemistry*. 75 : 588-598.
- Halliwell, B dan O. I. Aruoma. 1997. Free radical and antioxidants: The need for in vivo markers of oxidative stress. Aruoma, O.I. dan S-L Cuppett. (eds.). *Antioxidant methodology: In Vivo and in Vitro Concepts*. AOCS Press, Champaign, Illinois .
- Halver, L. 1989. Collagen from fish waste. *Journal of Food Biochemistry*. 24 :436-440
- Han, S. H., Y. Uzawa, T. Moriyama dan Y. Kawamura. 2011. Effect of collagen peptides from bluefin tuna abdominal skin on cancer cells. *Journal of Biological Chemistry Vol (3) : 129-134*.
- Harvey, D. 2000. *Modern analytical chemistry*. Edisi ke-1. New York. McGraw Hill.
- Hernani dan M. Rahardjo. 2005. *Tanaman berkhasiat antioksidan*. Swadaya. Jakarta.
- Hernandez, L. B., L. Amigo, M. Ramos dan I. Recio. 2005. Angiotensin converting enzyme inhibitory activity in commercial fermented products. Formation of peptides under simulated gastrointestinal digestion. *Journal of food biochemistry*. 52:1504-1510.
- Herpandi, N. Huda, A. Rosma dan W . A. W. Nadiah. 2012. Degree of hydrolysis and free tryptophan content of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) Protein hydrolysates produced with different type of industrial proteases. *Journal of International Food Research*, 19 (3): 863-867.
- Irawan, S. 1995. *Limbah sumberdaya perikanan tawar*. PT Remaja Resada Karya. Bandung.
- Jia, J., Y. Zhou, A. Chen, Y. Li dan G. Zhenh. 2010. Enzymatic hydrolysis of allaska pollack (*Theragra chalcogramma*) skin and antioxidant activity of the result hydrolysate. *Journal of Science Food Agriculture*. 90 :635-640.
- Junianto., K. Haetami dan M. Ine. 2006. *Produksi gelatin dari tulang ikan dan pemanfaatannya sebagai bahan dasar pembuatan cangkang kapsul*. Laporan Penelitian. Universitas Padjadjaran.
- Kim, K., Y. Kim, H. G. Byun, K. Nam, D.S. Joo DS dan F. Shahidi. 2001. Isolation and characterization of antioxidative peptides from gelatin hydrolysate of allaska pollack skin. *Journal Agriculture and food biochemistry*.49:1984-1989.

- Khairuman dan K. Amri. 2010. Petunjuk praktis budidaya patin di kolam terpal. PT AgroMedia Pustaka. Jakarta.
- Koesoemawardi, D. 2009. Kajian hidrolisat protein dari ikan runcah sebagai bahan fortifikasi makanan. Universitas Lampung. Seminar Hasil Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat.
- Klompong, V., S. Benjakul, D. Kantochote and F. Shahidi. 2007. Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevelly (*Selaroides leptolepis*) as influenced by degree of hydrolysis and enzyme type. Food of Biochemistry. 102 : 1317-1327.
- Kumaunang, Mureen dan V. Kamu. 2011. Aktivitas enzim bromelin dari ekstrak kulit nanas (*Anenas comosus*). Universitas Sam Ratulangi. Manado.
- Kristinsson, H. G dan Rasco, B. A. 2000. Kinetics of the hydrolysis of atlantic salmon (*Salmosalar*) muscle proteins by alkaline proteases and a visceral serine protease mixture. Journal of Biochemistry. 36: 131-139.
- Lautan, K. 1997. Bahan tambahan makanan. Fakultas Kesehatan Masyarakat. Universitas Sumatera Utara.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227: 680-685.
- Lehninger. 1993. Basic of biochemistry. Diterjemahkan oleh Thenawidjaja. Dasar Dasar Biokimia. Erlangga. Jakarta.
- Lin, Y. J., G. W. Le, J. Y. Wang, Y. X. Li, Y. H. Shi dan J. Sun. 2010. Antioxidative peptides derivated from enzyme hydrolysis of bone collagen after microwave assisted acid pre treatment and nitrogen protection. International Journal of Molecular Science. 11:4297-4308.
- Liu, D. C, Y. K. Lin, dan M. T. Chen. 2001. Optimum condition of extracting collagen from chicken feet and its caracetristics. Asian-australasian Journal of Animal Science. 14 : 1638 – 1644.
- Manisha, P., S. Kanchan, K. Jovita, M. K. Koshy dan A. Shubhini. 2009. Sida veronicacaefolia as a source of natural antioxidant. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drugs Research 1(3): 180-182.
- Matsuda, N., Y. Koyama, Y. Hosaka, Y. Ueda, H. Watanabe, T. Araya, T. Irie dan K. Takehana. 2006. Effects of ingestion of collagen peptide on collagen fibrils

- and glycosaminoglycans in the dermis. *Journal of Nutrition Vitaminology* 52 (3): 211-215.
- Miguel, M., I. Recio, R. Gomez, J.A. Ramos dan L. Fandino. 2004. Angiotensin I converting enzyme inhibitory activity of peptides derived from egg White proteins by enzymatic hydrolysis. *Journal of Food Protection*. 67(9) : 1914-1920.
- Mohan, S. C., V. Balamurungan, S.T. Salini dan R. Rekha. 2012. Metal ion chelating activity and hydrogen peroxide scavenging activity of medical plant *kalanchoe pinnata*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 4: 197-202.
- Mubarik, N. R., A. Suwanto dan M. T. Suhartono. 2000. Isolasi dan karakterisasi protease ekstraseluler dari isolat bakteri termofilik ekstrim. *Prosiding Seminar Nasional Industri Enzim dan Bioteknologi II. Mikrobiologi, Enzim dan Bioteknologi dalam Perspektif Ekonomi dan Industri*. Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi, Jakarta. (Online). (<http://www.iptek.net.id>. diakses 26 Juni 2013)
- Muchtadi, D., N.S. Palupi dan Astawan. 1992. *Enzim dalam Industri Pangan*. PAU Pangan dan Gizi. IPB. Bogor.
- Nagai, T dan Suzuki, N. 2000. Preparation and Characterization of Saveral Fish Bone Collagen. *Journal of Food Biochemistry*. 24: 427-436.
- Nielsen, J.E., L. Beier, D. Otzen, T. Borchert. dan K.V. Andersen. 1999. Electrostatics in in- the active site of an α -amylase. *Journal of Biochemistry*. 246 : 816-824
- Ningsih, R. 2000. *Penyamakan Kulit Ikan Patin sebagai Bahan Kerajinan*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Oyaizu M. 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japan Journal Nutrition*. 44: 307-315.
- Ozcelik, B., J.H. Lee and D.B. Min. 2003. Effect of Light, Oxygent, and pH on the Absorbance of 2,2-diphenyl-1-picrylhidrazyl. *Journal of Food Science*. 68: 487-490.
- Pang, S., Y.Ping, K.K.Woo. 2013. The evaluation of the suitability of fish wastes as a source of collagen. *Journal of Food Sciences*. 53: 77-81.
- Pokorni, J., N. Yanishlewva and M. Gordon. 2001. *Antioxidant in food, practical applications*. CRC Press. New York.

- Poppe, J. 1992. Gelatin in Imeson, A. (Ed.). Thickening and gelling agents for food. London. Blackie Academic and Professional.
- Purwadi, T. 1999. Pengkajian mutu dan tekno-ekonomi perekat dari tulang ikan. Tesis . Sekolah Pascasarjana. IPB. Bogor.
- Pusat Penyuluhan Kelautan dan Perikanan. 2011. Laporan Penyuluhan. Jakarta.
- Prakash A, R. Fres and E. Miller. 2001. Antioxidant activity. Medallion Laboratories Analytical Progress. London.
- Prasetyo, N., M. Nirmala dan B. Sri. 2012. Pembuatan kecap ikan gabus secara hidrolisis enzimatik menggunakan sari nanas. Semarang. Universitas Diponegoro.
- Rybicki, E.P., E.C.Vernon, M.D. James dan J.R.Sharon. 1996. Molecular Biology Techniques Manual. Ed ke-3. University of Capetown.
- Sadikin, M. 2002. Biokimia Enzim. Widya Medika. Jakarta.
- Scotia. 2013. Hidrolisis protein dan asam amino secara enzimatik dari limbah ikan. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Shabib, R. 1992. Dasar-dasar biokimia pengantar enzim. Yudhistira. Jakarta.
- Shimada, J., I. Kaone, N. Thismura, O. Tio dan H. Katae. 1992. Taste of peptides in wheat gluten hydrolyzate by protease. *Journal Nippon Kasei Gakkaishi*. 45 : 615-620
- Sichel, W. 2009. Uji aktivitas antioksidan tablet effervescent kombinasi ekstrak etanol daun dewandaru (*Egenia uniflora*) dan herba sambiloto (*Andrographis paniculata*) dengan metode DPPH. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Sudarmadji, S. 2002. Analisa bahan makanan dan pertanian. Liberty bekerjasama dengan PAU Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta.
- Sudjaja. 1986. Metode Pemisahan. Yogyakarta. UGM Press.
- Suetsuna, K., H. Ukeda dan H. Ochi. 2000. Isolation and characterization of free radical scavenging activities peptides derived from casein. *Journal of Nutrition Biochemistry*. 11:128-131.
- Surati, C. 2002. Analisis potensi protease lokal. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.

- Swidersky F. 2009. Hydrolizat collagen as suplement Diety. *Journal of Applied Physics*. 16 : 123–128.
- Tahir, R. 2003. Aktivitas antioksidan ekstrak tunggal dan kombinasinya dari tanaman *Curcuma* spp. *Jurnal Ilmu Farmasi Indonesia*. 6: 69-74.
- Utama, M. 1997. Ekstraksi pelarut. Laporan Biokimia. (online). (<http://www.iptek.net.id>, diakses 23 Juni 2013).
- Wang, W., Z.Li, J.Liu, Y.Wang, S.Liu dan M.Sun. 2013. Comparison between thermal hydrolysis and enzymatic proteolysis process for the preparation of tilapia skin collagen hydrolysates. *Czech Journal Food Science*. 31 (1) :1-4
- Widyastuti, E dan Nurcholis M. 2012. Electrophoresis food analysis and biochemistry practice. Universitas Brawijaya. Food and Science Technology.
- Willem, S. 2008. Pemanfaatan tepung tulang ikan patin sebagai sumber kalsium dan fosfor dalam pembuatan biskuit. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Winarno, F.G. 1983. Enzim pangan. PT. Gramedia, Jakarta.
- Yazid, E. dan L. Nursanti. 2006. Penuntun praktikum biokimia untuk mahasiswa analis. Yogyakarta.
- Zhang, Z., G. Li dan B. Shi. 2005. Physicochemical properties of collagen, gelatin and collagen hydrolysate derived from bovine lamed split wastes. *Journal of Food Science*. Leath. *Journal Technologi Chemistry*. 90 : 23-28.
- Zhao, X., C.H. Xue, Z.J. Li dan H.Y. Liu. 2004. Antioxidant and hepato protective activities of low molecular weight sulfated polysaccharide from (*Laminaria japonica*). *Journal of Applied Physics*, 16 : 111–115.