

**PROFIL PROTEIN PADA IKAN TENGGIRI
DENGAN VARIASI PENGGARAMAN DAN
LAMA PENGGARAMAN DENGAN
MENGUNAKAN METODE
SDS-PAGE**

Riky Wahyudi¹⁾, Endang Tri Wahyuni Maharani²⁾

¹Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang

email: riky.wahyudi91@gmail.com

²Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Muhammadiyah Semarang

email: endangtm@unimus.ac.id

Abstract

The aim of this study is to describe protein profile based SDS-PAGE in Mackerel with salting variation and salting time. Design of this study is experimental study with Mackerel with concentration of salting 10%, 20%, 30%, b/b and times of salting 12 hours, 24 hours and 36 hours as objects of this study. Variations of salting concentration is worked with each variation of salting time. Protein profile of Mackerel is analyzed using 10 % SDS-PAGE method. The result of this study shows that concentration of salting 10% b/b for 12 hours on Mackerel has more major protein bands than Mackerel which gets salting 20%, 30% b/b for 12 hours and 10%, 20% dan 30% b/b for 24 hours and 36 hours while salting 30% b/b for 36 hours is not suggested because all of major protein bands have denaturated to become thin major protein bands and minor protein bands.

Keyword : Mackerel, Salting, Protein Profile, SDS-PAGE

1. PENDAHULUAN

Salah satu ciri bangsa maju adalah bangsa yang memiliki tingkat kecerdasan, kesehatan, dan produktivitas kerja yang tinggi ketiga hal ini dipengaruhi oleh keadaan gizi (Permenkes, 2014). Gizi yang tidak optimal berkaitan dengan kesehatan yang buruk, dan dapat meningkatkan resiko penyakit infeksi, penyakit tidak menular seperti penyakit kardiovaskular (penyakit jantung dan pembuluh darah, hipertensi dan *stroke*), diabetes serta kanker yang merupakan penyebab utama kematian di Indonesia. Lebih separuh dari semua kematian di Indonesia merupakan akibat penyakit tidak menular (Depkes, 2008).

Ikan merupakan salah satu bahan makanan yang mengandung berbagai macam zat, selain harga yang murah, absorpsi protein ikan lebih tinggi dibandingkan dengan produk hewani lain seperti daging sapi dan ayam, karena daging ikan mempunyai serat-serat protein lebih pendek dari pada serat-serat protein daging sapi atau ayam (Pandit, 2008). Protein ikan memberi kontribusi terbesar dalam kelompok sumber protein hewani, sekitar 57,2%. Ikan asin kering sangat berperan dalam pemenuhan kebutuhan protein hewani, karena mengandung nilai gizi yang tinggi (Depkes, 2008).

Ikan tenggiri (*Scomberomorus commersoni*) adalah jenis ikan air laut yang merupakan kelompok ikan laut pelagis yang memiliki cita rasa khas sehingga digemari oleh masyarakat. Menurut Depkes gizi protein yang dihasilkan oleh ikan tenggiri cukup tinggi yaitu 21,4gr/100gr ikan (Depkes, 2008). Kualitas protein ikan perlu dijaga agar tetap tinggi maka diperlukan proses pengawetan ikan yang baik agar tidak merusak protein yang ada dalam ikan tersebut.

Proses pengawetan ikan terbagi menjadi 2 yaitu: Menggunakan pendingin seperti kulkas dan pengawetan secara tradisional yaitu dengan metode penggaraman (Endang,

2002). Pada dasarnya terdapat tiga cara penggaraman dalam pembuatan ikan asin, yaitu penggaraman kering, penggaraman basah, dan kombinasi keduanya. Penggaraman kering dilakukan dengan cara menaburkan atau melumurkan kristal garam pada seluruh bagian ikan dan rongga perut. Penggaraman basah dilakukan dengan cara merendam ikan di dalam larutan garam jenuh, kemudian ditiriskan dan dikeringkan. Metode Penggaraman yang umum digunakan oleh masyarakat setempat untuk penggaraman adalah dengan melakukan penggaraman kering dengan garam dapur (NaCl) sebanyak 100g/1kg ikan tenggiri selama 24 jam.

Analisis profil protein daging dilakukan dengan pemisahan protein menjadi molekul yang lebih sederhana dengan menggunakan teknik elektroforesis SDS-PAGE, selanjutnya dilakukan pengukuran jarak perpindahan (Rf) untuk mengidentifikasi profil protein pada masing-masing sampel (Sandra Hermanto, 2009). Tujuan penelitian yaitu menganalisis profil protein pada ikan tenggiri sebelum dan sesudah penggaraman dengan variasi konsentrasi penggaraman 10% b/b, 20% b/b, dan 30% b/b dan lama penggaraman 12 jam, 24 jam, dan 36 jam dengan menggunakan metode SDS-PAGE.

2. KAJIAN LITERATUR

Ikan merupakan salah satu bahan pangan yang banyak mengandung protein. Protein ikan sangat diperlukan oleh manusia karena selain mudah dicerna oleh tubuh, serta ikan juga memiliki kandungan asam amino dengan pola yang hampir sama dengan pola asam amino yang ada dalam tubuh manusia (Almatsier, 2001). Ikan mengandung sekitar 60 – 84% air, protein sekitar 18 - 30%, lemak sekitar 0,1 - 2,2%, karbohidrat 0 – 1% dan vitamin sisanya. Ikan merupakan sumber energi yang sangat diperlukan bagi tubuh manusia untuk menunjang kegiatan sehari - hari akan tetapi kekurangan protein pada ikan juga dapat menimbulkan kesehatan yang buruk dan dapat meningkatkan resiko penyakit infeksi, penyakit kardiovaskular, diabetes, serta kanker yang merupakan penyebab utama kematian di Indonesia (Depkes, 2008).

Ikan ternyata juga memiliki beberapa kekurangan yaitu : Kandungan air yang tinggi (80%), pH tubuh ikan yang mendekati netral dan daging ikan yang sangat mudah dicerna oleh *enzim autolysis* menyebabkan daging sangat lunak, sehingga menjadi media yang baik untuk pertumbuhan bakteri pembusuk. Kandungan asam lemak tak jenuh mengakibatkan daging ikan mudah mengalami proses oksidasi sehingga menyebabkan bau tengik. Kekurangan yang terdapat pada ikan dapat menghambat usaha pemasaran hasil perikanan, tidak jarang menimbulkan kerugian besar terutama disaat produksi ikan melimpah oleh karena itu , diperlukan proses pengolahan untuk menambah nilai, baik dari segi gizi, rasa, bau, bentuk/tekstur, maupun daya awet (Adawyah R, 2014).

Ikan Tenggiri (*Scomberomorus commerson*) adalah jenis ikan laut yang banyak ditemukan di berbagai daerah peralutan, namun di Indonesia ikan ini paling banyak ditemukan di Gorontalo. Ikan ini termasuk dalam marga *scombreromarus* dengan suku (famili) *scombridae*. Ikan ini juga masih kerabat dekat dengan ikan tuna, ikan tongkol, ikan makerel dan ikan kembung. Klasifikikasi ilmiah ikan tenggiri menurut (Sheedy, 2006) yaitu Kingdom : *Animalia*; Filum : *Chordata*; Kelas : *Actinopterygi*; Ordo : *Perciformes*; Famili : *Scombridae*; Genus : *Scomberomorus*; Spesies : *Scomberomorus Commerson*.

Ikan tenggiri hidup di iklim tropis perairan laut yang dimiliki Indonesia merupakan surga bagi ikan tenggiri. Ikan tenggiri menjadi komoditas perikanan laut yang paling utama karena memiliki nilai komersil yang tinggi dan ikan tenggiri mengandung gizi yang cukup tinggi sehingga kebutuhan protein hewani dapat dipenuhi dengan mengkonsumsi ikan ini. Ikan tenggiri banyak disukai oleh masyarakat karena dapat diolah menjadi berbagai produk seperti empuk – empuk, kerupuk, dan diasinkan (Aceng, 2008)

Pengawetan pada ikan perlu dilakukan untuk menjaga kualitas ikan, karena dengan pengawetan yang benar dan baik dapat memungkinkan agar ikan tersebut dapat didistribusikan ke tempat lain. Pengawetan dapat dilakukan dengan berbagai cara namun pada umumnya prinsip kerjanya adalah mematikan atau menghambat mikroorganisme.

Pengawetan biasanya melibatkan perlakuan fisik seperti pemanasan, pengeringan, pendinginan dan pembekuan. Pengawetan juga ada yang melibatkan penambahan bahan kimia seperti bahan pengawet, pelunak, penggaraman dll. Penggaraman adalah suatu rangkaian kegiatan yang bertujuan untuk mengawetkan produk hasil perikanan dengan menggunakan garam. Garam yang digunakan adalah jenis garam dapur (NaCl), baik berupa larutan maupun Kristal (Adawyah R, 2014).

Protein merupakan suatu makromolekul karena memiliki berat molekul yang besar. Protein secara umum terdiri dari 20 macam asam amino yang berikatan secara kovalen satu sama lain yang membentuk suatu rantai polipeptida. Struktur protein tidak stabil terhadap beberapa faktor antara lain pH, radiasi, temperatur dan pelarut organik. Berdasarkan sumbernya protein digolongkan menjadi dua jenis yaitu protein hewani dan protein nabati. Protein hewani merupakan protein yang berasal dari hewan seperti susu dan daging. Sedangkan protein nabati adalah protein yang dihasilkan oleh tumbuh-tumbuhan baik secara langsung maupun hasil olahan dari tumbuh-tumbuhan seperti sereal dan tepung (Sari, 2011).

Struktur protein terdiri atas struktur primer, sekunder, tersier dan kuaterner. Protein berdasarkan strukturnya digolongkan menjadi protein sederhana dan protein gabungan. Protein sederhana adalah protein yang hanya terdiri atas molekul-molekul asam amino sedangkan protein gabungan adalah protein yang berkaitan dengan senyawa bukan protein. Jenis protein gabungan antara lain mukoprotein, lipoprotein dan nukleoprotein (Ismail Marzuki, Amirullah, 2010).

SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamid Gel Electrophoresis*) adalah suatu metode elektroforesis yang digunakan untuk analisa pita protein secara kualitatif. Metode ini sering digunakan untuk menentukan berat molekul suatu protein disamping untuk memonitor pemurnian protein. Protein dalam gel dapat ditampakkan oleh pewarnaan *Coomasie Brilliant Blue* (Sudjadi, 2012).

3. METODE PENELITIAN

Metode penelitian ini adalah kualitatif dengan desain penelitian berupa penelitian eksperimen. Penelitian dilakukan di laboratorium Biologi Molekuler Universitas Muhammadiyah Semarang dan laboratorium Bioteknologi Universitas Gajah Mada pada tanggal 5 s/d 13 Juni 2017. Variabel penelitian ini yaitu profil protein ikan tenggiri sebelum dan sesudah penggaraman dengan konsentrasi penggaraman 10%, 20% dan 30% b/b dan lama perendaman selama 12 jam, 24 jam, dan 36 jam. Profil protein ikan tenggiri merupakan sub-sub unit protein pada ikan tenggiri yang diperoleh dengan menggunakan metode SDS-PAGE.

Objek penelitian ini adalah ikan tenggiri yang dibeli di pasar kobong semarang kemudian dilakukan penggaraman dengan variasi konsentrasi 10%, 20%, dan 30% b/b dan direndam selama 12 jam, 24 jam, dan 36 jam.

Teknik pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini merupakan data primer dan data yang diperoleh ditabulasikan kemudian disajikan dalam bentuk narasi deskriptif.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu blender, labu ukur, pipet volume, *beaker glass*, timbangan analitik, pot, cawan mortir, *vortex*, *centrifuge*, *microtube*, mikropipet, spektrofotometer, chamber elektroforesis, *power supply*, *waterbath*, rotator, *box* plastik, plastik *press* dan kaca *press*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan tenggiri, garam krosok, polyakrilamid 30%, TEMED, APS 10%, SDS 10%, 1,5 M Tris pH 8,8 dan 6,8, staining 0,1% *Coomasie Brilliant Blue* (CBB) R-250, destaining, asam asetat glasial 10%, butanol, alkohol 70%, running buffer 1x, biorad assay, PBS pH 7,4, sampel buffer, dan marker protein.

Langkah awal penggaraman pada ikan tenggiri adalah dengan memilih bahan ikan tenggiri yang segar. Disiapkan 10 ekor ikan yang memiliki besar dan berat yang hampir

sama. Langkah berikutnya dilakukan pembersihan isi perut pada ikan tenggiri sambil dicuci dengan air sampai ikan benar - benar bersih. Ikan tenggiri yang telah dicuci kemudian ditiriskan sampai air kering kemudian ikan dimasukkan dalam wadah penampungan untuk proses penggaraman. Dari 10 ekor sampel ikan 1 ekor ikan dianalisis total protein dan profil protein tanpa penggaraman sedangkan 9 ekor ikan yang tersisa dilakukan penggaraman 10%, 20% dan 30% b/b selama 12, 24, dan 36 jam. Ikan kemudian dimasukkan kedalam wadah tertutup yang telah diberi label sesuai perlakuan yang dilakukan. Ikan tenggiri dihaluskan dengan menambahkan PBS 1x dan *divortex*. Sampel dimasukkan ke dalam kulkas selama 1 jam dan *dicentrifuge* sehingga didapatkan supernatan (protein) dan kemudian dibaca total protein secara spektrofotometri.

Separating gel dibuat, ditambahkan butanol untuk menutupi permukaan dan dibiarkan sampai terjadi polimerisasi kemudian dibersihkan dengan aquades dan ditambahkan stacking gel. Sisir dimasukkan dan dibiarkan sampai terjadi polimerisasi. Sisir diangkat maka akan terbentuk sumuran (*well*). Dimasukkan sampel ke *well* dengan perbandingan 4:1 (16 μ l sampel : 4 μ l sampel buffer). Tambahkan *running buffer* pada alat dan *power supply* dihidupkan. Ditunggu hingga proses *running* selesai yang ditandai dengan turunnya *Bromo Phenol Blue* sampai ke dasar. Kemudian gel diwarnai dengan *Commassie Brilliant Blue R-250* selama 120 menit hingga pita protein terwarnai. *Destaining gel* 3–4 kali hingga gel tampak bersih, dimasukkan gel ke dalam larutan asam asetat glasial 10%, kemudian *dipress* dan dikeringkan selama 48 jam di ruangan gelap. Untuk menentukan berat molekul protein, dihitung menggunakan Rf dan diplotkan pada grafik logaritma dari Rf marker protein yang berat molekulnya telah diketahui (Darmawati, Haribi, & Artama, 2012).

4. HASIL PENELITIAN

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10 ekor ikan tenggiri. 1 ekor ikan tidak dilakukan penggaraman dan 9 ikan lainnya masing – masing ikan digarami dengan variasi konsentrasi penggaraman 10% b/b, 20% b/b, dan 30% b/b dan variasi lama penggaraman 12 jam, 24 jam dan 36 jam. Sampel tersebut dibeli di pasar Kobong Semarang.

Pada penelitian ini metode spektrofotometri digunakan untuk menentukan konsentrasi total protein ikan tenggiri sebelum penggaraman dan sesudah penggaraman dengan variasi penggaraman 10%, 20%, dan 30% b/b dan variasi lama penggaraman 12 jam, 24 jam, dan 36 jam. Hasil dari pengamatan spektrofotometer ditunjukkan pada **Tabel 1**

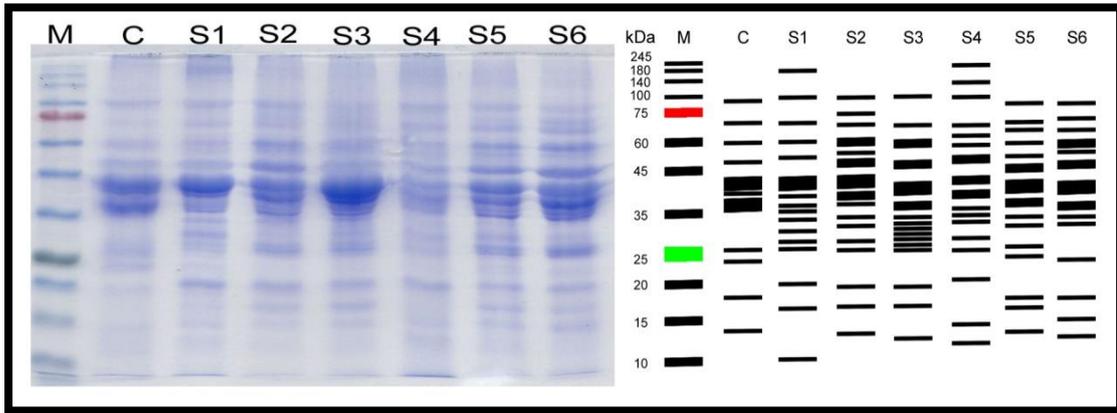
Tabel 1. Tabel protein pada ikan tenggiri dengan variasi konsentrasi penggaraman dan lama penggaraman

No	Konsentrasi Penggaraman (% b/b)	Lama Penggaraman (jam)	Total Protein (μ g/ μ l)
1	Sebelum penggaraman	0	10,8
2	10	12	8,4
3	20	12	7,5
4	30	12	7,5
5	10	24	7,4
6	20	24	7,1
7	30	24	6,8
8	10	36	7,1
9	20	36	6,6
10	30	36	6,0

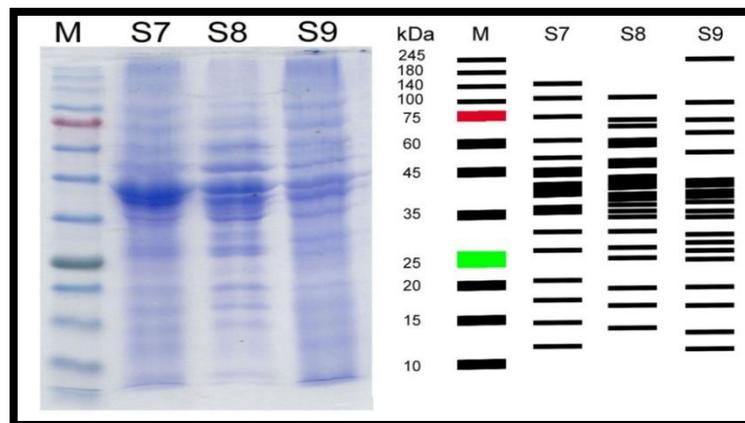
Dari hasil pengukuran O.D dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang λ 595 nm kontrol ikan tenggiri memiliki total protein yang lebih besar dibandingkan dengan ikan tenggiri yang dilakukan penggaraman. Total protein ikan tenggiri yang tertinggi ada

pada ikan tenggiri segar sebesar 10,8 µg/µl. Ikan tenggiri yang telah mendapat perlakuan variasi konsentrasi penggaraman dan variasi lama penggaraman memiliki total protein yang lebih rendah dari pada total protein ikan tenggiri segar.

Analisis profil protein dilakukan dengan metode SDS-PAGE terhadap daging yang direndam dengan larutan jahe selama 30 menit menunjukkan hasil yang tertera pada **gambar 1 dan 2**.



Gambar 1. SDS-PAGE dan visualisasi representasi pita protein ikan tenggiri dengan variasi penggaraman dan lama penggaraman pada gel 1



Gambar 2. SDS-PAGE dan visualisasi representasi pita protein ikan tenggiri dengan variasi penggaraman dan lama penggaraman pada gel 2.

Keterangan gambar 1 dan gambar 2

Kode Sampel	Konsentrasi Penggaraman (% b/b)	Lama Penggaraman (Jam)	Pita Protein		
			Mayor Tebal	Mayor Tipis	Minor
C	0	0	2	0	9
S1	30	12	1	0	15
S2	20	12	1	3	12
S3	10	12	1	3	12
S4	30	24	3	3	14
S5	20	24	1	3	12
S6	10	24	1	3	10
S7	10	36	1	3	11
S8	20	36	1	3	12
S9	30	36	0	2	16

M = Marker

Ikan tenggiri segar dan ikan tenggiri yang dilakukan perlakuan dengan variasi penggaraman dan variasi lama penggaraman, kemudian diseparasi dengan metode Laemmli (1970) dan diwarnai dengan 0,1% *Coomasie Brilliant Blue* (CBB) R-250 selama 120 menit pada suhu ruangan hingga pita protein terwarnai. Menurut Muchtaromah *et al.* (2012), penentuan berat molekul (BM) protein dilakukan dengan menghitung *Rf* (*Retardation Factor*) dari masing-masing pita (*band*) protein dengan rumus sebagai berikut :

$$Rf = \frac{\text{Jarak pergerakan pita dari tempat awal}}{\text{Jarak pergerakan warna dari tempat awal}}$$

Berat molekul (BM) dan nilai *Retardation Factor* (*Rf*) marker diplotkan pada kertas logaritma sehingga didapatkan BM sampel yang tertera pada tabel 2, 3, dan 4.

Tabel 2. Berat Molekul Penggaraman 10%, 20% dan 30% b/b selama 12 Jam

Kode Sampel	Berat Molekul (kDa)		
	Mayor Tebal	Mayor Tipis	Minor
C	42 dan 37		100, 69, 60, 51, 40, 26, 24, 19 dan 14
S1	43		180, 100, 72, 63, 51, 40, 37, 35, 34, 31, 29, 27, 20, 18, dan 11
S2	43	60, 48, dan 40	100, 75, 70, 57, 37, 35, 34, 29, 27, 20, 17, dan 14
S3	42	60, 51, dan 38	100, 70, 35, 34, 32, 31, 30, 29, 27, 20, 17 dan 14

Tabel 3. Berat Molekul Penggaraman 10%, 20% dan 30% b/b selama 24 Jam

Kode Sampel	Berat Molekul (kDa)		
	Mayor Tebal	Mayor Tipis	Minor
S4		51, 43, dan 42	180, 140, 100, 69, 63, 60, 40, 37, 34, 30, 27, 21, 15, dan 13
S5	40	48 dan 38	86, 72, 69, 60, 54, 35, 34, 29, 26, 19, 17, dan 14
S6	40	60, 48, dan 37	86, 72, 69, 57, 35, 34, 26, 18, 16, 13

Tabel 4. Berat Molekul Penggaraman 10%, 20% dan 30% b/b selama 36 Jam

Kode Sampel	Berat Molekul (kDa)		
	Mayor Tebal	Mayor Tipis	Minor
S7	42	45 dan 37	160, 115, 75, 65, 55, 32, 28, 22, 18, 15, dan 12
S8	43	60, 51 dan 40	115, 75, 71, 38, 37, 35, 32, 28, 26, 20, 17, dan 14
S9		43 dan 40	245, 100, 75, 65, 55, 38, 37, 35, 32, 30, 28, 26, 20, 17, 14, dan 12

Proses penggaraman menyebabkan turunnya kelarutan protein. Hal ini terjadi karena terbentuknya ikatan silang dari disulfida sehingga menyebabkan kelarutan protein menurun. Penggunaan kadar garam yang tepat akan mengikat protein agar tidak terjadi peningkatan kelarutan. Kadar garam yang digunakan sebesar 15% dapat menghalangi kerusakan protein dalam proses penggaraman, sehingga semakin besar konsentrasi garam maka kadar protein akan semakin berkurang (Tasman, 2015).

Garam mempengaruhi stabilitas struktural protein. Hal ini berkaitan dengan kemampuan garam untuk mengikat air secara kuat dan mengubah sifat hidrasi protein. Pada konsentrasi rendah, garam menstabilkan struktur protein karena meningkatkan hidrasi

protein dan terikat lemah pada protein. Sebaliknya, garam juga dapat menyebabkan ketidakstabilan struktur protein karena menurunkan hidrasi protein dan berikatan kuat dengan protein. Pengaruh garam untuk stabilisasi atau destabilisasi struktur protein berkaitan dengan konsentrasi dan pengaruhnya terhadap ikatan air. Peningkatan stabilitas protein pada kadar garam rendah disebabkan oleh peningkatan ikatan hidrogen antar molekul air. Sebaliknya, pada konsentrasi tinggi, garam mendenaturasi protein karena merusak struktur air sehingga air menjadi pelarut yang baik untuk residu nonpolar protein (Estiasih, 2016).

5. SIMPULAN

Proses penggaraman menyebabkan turunnya kelarutan protein. Hal ini terjadi karena terbentuknya ikatan silang dari disulfida sehingga menyebabkan kelarutan protein menurun. Hasil penelitian yang menunjukkan bahwa konsentrasi penggaraman 10% b/b selama 12 jam pada ikan tenggiri memiliki lebih banyak pita protein mayor dari pada ikan tenggiri yang mendapat perlakuan penggaraman 20%, 30% b/b selama 12 jam dan 10%, 20%, dan 30% b/b selama 24 jam dan 36 jam sedangkan pada penggaraman 30% b/b selama 36 jam tidak dianjurkan karena semua pita protein mayor tebal sudah terdenaturasi menjadi pita protein mayor tipis dan pita protein minor.

Disarankan untuk meneliti lebih lanjut mengenai profil protein ikan tenggiri dengan metode pengawetan yang berbeda misal penggaraman basah atau metode pengasapan. Perlu juga dilakukan penelitian lanjutan mengenai profil protein dengan menggunakan jenis ikan yang berbeda misalnya ikan gabus, kakap, nila atau lele.

Bagi masyarakat yang ingin melakukan penggaraman pada ikan tenggiri diharapkan melakukan penggaraman dengan konsentrasi penggaraman 10% b/b selama 12 jam agar protein pada ikan tenggiri tetap terjaga dan kebutuhan protein akan ikan dapat terpenuhi.

Perlakuannya adalah dengan cara : 1 ekor ikan tenggiri yang memiliki berat ± 250 g ditambahkan garam $\pm 1 \frac{1}{2}$ sendok makan yang setara dengan 25g dan didiamkan selama 12 jam agar didapatkan ikan tenggiri yang masih memiliki protein yang tinggi.

5. REFERENSI

- Aceng, ugan T., 2008. *Macam Olahan Ikan R*. Yanuar, ed., Bandung.
- Adawyah, R., 2014. *Pengolahan Dan Pengawetan Ikan*, Jakarta: PT. Bumi Aksara.
- Almatsier, S., 2001. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*, PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Darmawati, S., Haribi, R., & Artama, T. . (2012). Analisis Molekuler Profil Protein Pili Untuk Mengungkap Hubungan Similaritas 26 Strain Salmonella typhi Isolat Jawa. *Seminar Hasil-Hasil Penelitian-LPPM UNIMUS 2012*, (18), 1–9.
- Departemen Kesehatan RI, Direktorat Jenderal Bina Gizi dan KIA. Pedoman Umum Gizi Seimbang (Panduan Untuk Petugas), 2008. Direktorat Bina Gizi Masyarakat, Jakarta 2008
- Estiasih, T., dkk. 2016. *Kimia dan Fisik Pangan*. Bumi Aksara. Jakarta
- Heruwati, Endang Sri., 2002. *Pengolahan ikan secara tradisional: prospek dan peluang pengembangan*. *Jurnal Litbang Pertanian*
- Ismail Marzuki, Amirullah, F. (2010). *Kimia dalam Keperawatan (I)*. Makassar: Pustaka As Salam.
- Laemmli, U.K., 1970, *Cleavage of Structural Proteins During The Assembly of The Head Of Bacteriophage T4*, Nature, London.
- Muchtaromah, B., Sumitro, S. B., & Susilawati, T. (2012). Isolasi dan Karakterisasi Protein 100 kDa dari Membran Kepala Spermatozoa Kambing. *Experimental Life Science*, 2(1), 13–19.
- Pandit, IGS., dkk. 2008 *Pengaruh Penyanganan dan Suhu Penyimpanan Terhadap Mutu Kimiawi, Mikrobiologis, dan Organoleptik Ikan Tongkol (Auxis thazard, Lac). (Thesis). Bali Fakultas Pertanian Universitas Warmadewa Program Pascasarjana Universitas Udayana.*

- Permenkes, 2014. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.41. *Pedoman Gizi Seimbang*, pp.1–96.
- Sandra Hermanto, C. D. K. M. (2009). Perbedaan Profil Protein Produk Olahan (Sosis) Daging Babi dan Sapi Hasil Analisa SDS-PAGE, 181–186.
- Sari, M. (2011). Identifikasi Protein Menggunakan Fourier Transform Infrared (FTIR). *Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia*.
- Sudjadi. (2012). *Bioteknologi Kesehatan (V)*. Yogyakarta: Kanisius.
- Tasman 2015. Proses Penggarman Dan Pengeringan Serta Pengaruhnya Terhadap Protein Ikan.