

**AKTIVITAS ENZIM KATEPSIN DAN KOLAGENASE PADA KULIT IKAN BANDENG (*Chanos chanos*, Forskal)
SELAMA PERIODE KEMUNDURAN MUTU**

Cathepsin and collagenase Activity And Its Correlation To The Parameters Of Milkfish Freshness

TATI NURHAYATI, ELLA SALAMAH, MOHAMMAD IRFAN, RONI NUGRAHA

Abstract

Fish skin is one of many parts from fish that can be utilized beside the muscle. Proteolytic enzymes like cathepsin and collagenase are known as one of the factors that influence in fish skin quality deterioration after death. The research purposes were to determine post mortem phase, quality deterioration pattern, cathepsin and collagenase activity, and its correlation to the parameters of milkfish freshness. The observations were done on fasted and fed fish before harvested at room and chilling temperature storage. The highest cathepsin and collagenase activity i.e. 7800-1429 U/ml and 0,0667-0,0792 U/ml respectively, were found in fish during the post-rigor phase. Simple linear correlation analysis showed that cathepsin and collagenase activity have a very close linear relationship ($r \geq 0.7$) with fish freshness quality parameters during the process of quality deterioration from pre rigor until post rigor phase.

Keywords: *cathepsin; collagenase; Chanos chanos Forskal; Fish Skin; Post mortem*

PENDAHULUAN

Ikan Bandeng (*Chanos chanos*, Forskal) merupakan ikan yang banyak diminati serta potensial pengembangannya di Indonesia. Potensi ikan bandeng dapat dilihat dari produksi budidaya bandeng yang naik dari mulai 212.883 ton pada tahun 2006 menjadi 263.139 pada tahun 2007 dan pada tahun 2008 naik menjadi 277.471 (Kelompok Kerja Data Statistik Kelautan dan Perikanan 2009). Produksi budidaya bandeng nasional terus naik seiring dengan usaha dari pemerintah untuk menaikkan produksi bandeng karena besarnya potensi ikan bandeng (Irianto dan Soesilo 2007).

Kulit ikan bandeng merupakan salah satu bagian pada ikan bandeng yang banyak dimanfaatkan selain dagingnya. Kulit ikan bandeng bisa didapat dari pengolahan ikan bandeng yang memisahkan kulit dengan dagingnya. Kulit ikan memiliki unsur utama protein kolagen yang banyak digunakan untuk bahan baku kulit olahan serta bahan perekat (Adawyah 2007; Huo dan Zhao 2009). Selain sebagai bahan pangan dan bahan baku kulit olahan, perkembangan saat ini juga menunjukkan bahwa kulit ikan diketahui mengandung enzim-enzim seperti kolagenase yang dapat dimanfaatkan pada industri untuk memisahkan kulit ikan dengan daging (Shahidi dan Kamil 2001). Kulit ikan sebagaimana ikan secara keseluruhan merupakan bahan yang cepat mengalami kemunduran mutu. Kemunduran mutu yang terjadi pada ikan dipengaruhi oleh faktor internal maupun eksternal. Faktor internal yang mengakibatkan cepatnya kemunduran mutu ikan, seperti spesies, jenis kelamin, kondisi biokimiawi ikan, dan faktor eksternal, seperti kondisi penanganan, cara kematian, suhu penyimpanan, pengemasan, dan faktor-faktor lainnya (Hastuti *et al.* 1997). Salah satu hal yang menyebabkan cepatnya kemunduran mutu ikan adalah enzim-enzim proteolitik yang mendegradasi jaringan pada tubuh ikan setelah mati (Delbarre-Ladrat *et al.* 2006). Kulit ikan rentan terhadap kerusakan akibat aktivitas bakteri dan enzim sehingga diperlukan pengetahuan mengenai kemunduran mutu pada kulit ikan serta untuk menstabilkannya (Gimenez *et al.* 2005).

Autolisis oleh enzim merupakan salah satu hal yang berperan dalam cepatnya kemunduran mutu pada

kulit ikan sebagaimana terjadi pada ikan. Enzim-enzim yang berperan dalam kemunduran mutu ikan diantaranya adalah enzim katepsin dan kolagenase. Enzim katepsin menyebabkan pelunakkan tekstur pada kemunduran mutu ikan (Hagen *et al.* 2008). Enzim katepsin terdapat pada lisosom sel otot dan matriks ekstraselular yang berhubungan dengan jaringan ikat (Haard 1994). Enzim kolagenase mendegradasi ikatan polipeptida terutama pada jaringan ikat atau kolagen dari ikan (Huss 1995). Oleh karena itu, diperlukan pengetahuan mengenai aktivitas enzim tersebut untuk mendapatkan pemahaman yang lebih baik mengenai aktivitas kemunduran mutu ikan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan fase kemunduran mutu (*post mortem*) ikan bandeng, pola kemunduran mutu kulit ikan bandeng berdasarkan analisis parameter kesegaran ikan, aktivitas enzim katepsin dan kolagenase serta korelasinya terhadap parameter kesegaran kulit ikan.

METODE PENELITIAN

Bahan ikan. Bahan ikan utama yang digunakan adalah ikan bandeng (*Chanos chanos*, Forskal) dengan ukuran 200-250 gr/ekor yang terdiri dari ikan yang tidak dipuasakan sebelum dipanen dan disimpan pada suhu ruang (kode: P), ikan bandeng yang dipuasakan sebelum dipanen dan disimpan pada suhu ruang (kode: Q), ikan bandeng yang tidak dipuasakan sebelum dipanen dan disimpan pada suhu *chilling* (kode: R) dan ikan bandeng yang dipuasakan sebelum dipanen dan disimpan pada suhu *chilling* (kode: S).

Pengujian parameter kesegaran ikan. Pengujian parameter kesegaran ikan yang dilakukan adalah uji organoleptik (BSN 2006), uji nilai pH, uji nilai *total volatile base* (TVB), uji *total plate count* (TPC). Uji nilai pH dan TVB dilakukan dengan metode Apriyantono *et al.* (1989). Perhitungan jumlah bakteri yang ada di dalam kulit ikan dilakukan dengan metode Fardiaz (1987) dan dilakukan secara duplo.

Ekstraksi enzim katepsin (Dinu *et al.* 2002). Tahap pertama dilakukan preparasi sampel untuk memperoleh ekstrak kasar protease dengan mengambil sampel kulit ikan. Kulit ikan disuspensikan dalam akuades dengan perbandingan kulit ikan dan akuades sebesar 1:5, lalu dihomogenisasikan pada suhu 0-4 °C. Ekstrak kulit hasil

homogenisasi ini disentrifugasi pada 1.000 rpm selama 10 menit dan supernatan yang diperoleh kemudian disentrifugasi lagi pada 10.000 rpm selama 10 menit. Pelet yang dihasilkan dari sentrifugasi ini kemudian dilarutkan dalam 0,1 M *buffer* tris-HCl pH 7,4 dengan jumlah yang sama seperti jumlah akuades sebelumnya (1:5) dan disentrifugasi pada 4.000 rpm selama 10 menit. Supernatan (ekstrak kasar enzim) yang diperoleh merupakan protein utama dari mitokondria dan lisosom yang siap untuk diteliti aktivitasnya lebih lanjut.

Ekstraksi enzim kolagenase (Moore dan Stein 1954 diacu dalam Kim *et al.* 2002). Proses ekstraksi dilakukan dengan cara mencuci kulit ikan bandeng dengan air dingin, dan ditambahkan dengan 100 mM *buffer* Tris-HCl (pH 8,0), dengan perbandingan bahan baku dan larutan *buffer* 1:5, kemudian dihomogenkan dengan *homogenizer*. Selanjutnya kulit yang telah homogen tersebut, disentrifugasi dengan kecepatan 7.000 rpm selama 20 menit. Setelah itu, pelet yang telah dihasilkan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 7.000 rpm selama 20 menit menggunakan larutan *buffer* yang sama. Perbandingan antara bahan baku dan larutan *buffer* sebesar 1:3. Selanjutnya *supernatan* yang dihasilkan ditambahkan dengan 20 mM Tris-HCl (pH 8,0) yang terdiri dari 0,36 mM CaCl₂, dan didiamkan pada suhu rendah (± 4 °C) selama 48 jam. Larutan yang dihasilkan merupakan ekstrak kasar kolagenase yang akan digunakan untuk pengujian selanjutnya.

Assay aktivitas enzim katepsin. Aktivitas enzim katepsin diuji menggunakan metode Dinu *et al.* (2002). Pengujian dilakukan dengan melarutkan 8 % hemoglobin dalam akuades dengan perbandingan 1:3 kemudian pH dibuat menjadi 2,0 dengan HCl 1 N dan konsentrasi akhir hemoglobin dibuat sebesar 2 % dengan penambahan akuades. Selanjutnya 1 ml dari larutan substrat (hemoglobin) dengan 0,2 ml larutan enzim direaksikan dan diinkubasi pada 37 °C selama 10 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 2 ml TCA 5 %. Campuran disaring dan hasil reaksi yang didapat ditambahkan dengan 1 ml pereaksi folin serta diukur absorbansinya pada 750 nm. Selain itu dilakukan pula pengukuran untuk larutan blanko dan larutan standar (tirosin) dengan prosedur yang sama.

Assay aktivitas enzim kolagenase. Aktivitas enzim kolagenase diukur dengan metode Moore dan Stein (1954) diacu dalam Park *et al.* 2002 yang telah dimodifikasi. Sebelum dilakukan pengukuran aktivitas kolagenase terlebih dahulu dilakukan proses pembuatan kolagen dari kulit ikan sebagai substrat.

Aktivitas enzim kolagenase diukur dengan mereaksikan 5 ml kolagen dengan 1 ml 0,05 M Tris-HCl (pH 7,5) yang mengandung 5 mM CaCl₂ dan 0,1 ml larutan enzim diinkubasi pada suhu 37 °C selama 1 jam. Reaksi dihentikan dengan penambahan 0,2 ml 50 % TCA. Setelah 10 menit pereaksi pada suhu ruang disaring. Supernatan (0,2 ml) dicampur dengan 1,0 ml larutan *ninhydrin* yang diencerkan, diinkubasi pada suhu 100 °C selama 20 menit, kemudian didinginkan pada suhu kamar. Campuran tersebut diencerkan dengan 5 ml 50 % 1-propanol untuk pengukuran absorbansi dengan panjang gelombang 570 nm. Larutan *buffer* (50 mM Tris-HCl pH 7,5) yang mengandung 5 mM CaCl₂ digunakan sebagai pengganti larutan enzim sebagai kontrol dan larutan tirosin digunakan sebagai larutan standar enzim kolagenase.

Pengukuran konsentrasi protein enzim. Konsentrasi protein ditentukan dengan menggunakan metode Bradford (1976) dengan *bovine serum albumin* sebagai standar. Sebanyak 0,1 ml enzim dimasukkan ditambahkan dengan 5 ml pereaksi Bradford, diinkubasi selama 5 menit dan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm.

Analisis data. Analisis terhadap nilai pH, TPC, TVB, dan aktivitas enzim dilakukan dengan uji ragam (ANOVA) berupa rancangan acak kelompok dengan 4 perlakuan (ikan P, Q, R, dan S) dan 4 kelompok (*pre rigor*, *rigor mortis*, *post rigor*, dan busuk).

Derajat hubungan linier antara aktivitas enzim (katepsin dan kolagenase) terhadap parameter kesegaran ikan (nilai organoleptik, pH, TVB, dan TPC) dilihat menggunakan koefisien korelasi linier sederhana (Snedecor dan Cochran 1967).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fase post mortem ikan bandeng. Fase *post mortem* yang terjadi pada ikan bandeng yang disimpan pada suhu ruang (kode: P dan Q) adalah fase *pre rigor* pada jam ke-0, fase *rigor mortis* pada jam ke-10, fase *post rigor* pada jam ke-15 dan fase busuk pada jam ke-19. Fase *post mortem* yang terjadi pada ikan yang disimpan pada suhu *chilling* (kode: R dan S) adalah fase *pre rigor* pada jam ke-0, fase *rigor mortis* pada jam ke-84, fase *post rigor* pada jam ke-300 dan fase busuk pada jam ke-540 (23 hari).

Pola kemunduran mutu kulit ikan bandeng. Pola kemunduran mutu kulit ikan bandeng dapat diketahui dengan melakukan analisis tingkat kesegaran ikan selama fase post mortem ikan bandeng. Analisis tingkat kesegaran ikan yang dilakukan adalah uji organoleptik, uji nilai pH, uji nilai TVB, dan uji nilai TPC.

Nilai organoleptik kulit ikan bandeng mengalami perubahan selama proses kemunduran mutu. Nilai organoleptik kulit ikan bandeng P, Q, R, dan S mengalami penurunan dengan semakin lamanya waktu penyimpanan. Kulit ikan yang disimpan pada suhu ruang (kode: P dan Q) lebih cepat dibandingkan dengan kulit ikan yang disimpan pada suhu *chilling* (kode: R dan S). Suhu *chilling* dapat memperlambat kemunduran mutu pada ikan karena suhu *chilling* dapat menghambat aktivitas bakteri pembusuk pada ikan (Huss 1995).

Nilai pH pada kulit ikan bandeng P, Q, R, dan S berkisar antara 6,42-7,11 pada fase *pre rigor*. Setelah fase *pre rigor* pH ikan turun dan mencapai titik terendah pada fase *rigor mortis* dengan kisaran 6,02-6,46. Nilai pH ikan naik pada fase *post rigor* sampai busuk. Penurunan nilai pH pada kemunduran mutu ikan disebabkan asam laktat yang terbentuk akibat respirasi anaerob pada ikan. Nilai pH pada kemunduran mutu ikan kembali naik setelah turun akibat dari meningkatnya basa-basa akibat aktivitas enzim dan bakteri (Huss 1995).

Nilai TVB kulit ikan bandeng P, Q, R, dan S menunjukkan peningkatan seiring dengan lamanya waktu penyimpanan. Nilai TVB pada kulit ikan bandeng P, Q, R, dan S pada fase *pre rigor* berkisar antara 5,88-6,27 mg N/100 g. Nilai TVB naik sampai pada fase busuk dimana nilai TVB mencapai kisaran 45,36-57,40 mg N/100 g. Nilai TVB pada fase busuk mencapai nilai yang sudah diatas batas nilai TVB untuk konsumsi, yaitu 30 mg N/

100 g (Farber 1965). Peningkatan nilai TVB selama kemunduran mutu ikan disebabkan oleh enzim autolisis yang menguraikan protein dan digunakan oleh bakteri untuk pertumbuhannya (Huss 1995).

Nilai TPC pada kulit ikan bandeng P, Q, R, dan S secara umum meningkat dengan semakin lamanya penyimpanan. Nilai TPC yang dinyatakan dalam log TPC pada fase *pre rigor* berkisar antara 3,66-3,72 cfu/ ml. Nilai TPC pada kulit ikan bandeng P, Q, R, dan S terus naik sampai dengan fase busuk yang mencapai nilai log TPC pada kisaran 7,34-7,85 cfu/ ml. Ikan yang disimpan pada suhu ruang (kode: P dan kode: Q) mengalami kenaikan nilai TPC lebih cepat dibandingkan dengan ikan yang disimpan pada suhu *chilling* (kode: R dan kode: S). Suhu *chilling* dapat menghambat kemunduran mutu ikan dengan menghambat aktivitas bakteri pada ikan (Medina *et al.* 2009).

Aktivitas enzim katepsin pada kulit ikan bandeng. Aktivitas enzim katepsin pada kulit ikan bandeng P, Q, R, dan S menunjukkan kenaikan dari fase *pre rigor* sampai puncaknya pada fase *post rigor*. Aktivitas enzim katepsin pada kulit ikan bandeng P, Q, R, dan S pada fase *post rigor* berturut-turut adalah 0,7800, 0,8929, 1,1429, 1,3057 U/ml. Peningkatan aktivitas enzim katepsin lebih cepat terjadi pada ikan P dan Q yang disimpan pada suhu ruang. Aktivitas enzim pada fase *post rigor* terjadi pada pH 6,55-6,78. Aktivitas enzim katepsin dipengaruhi oleh suhu dan pH. Aktivitas enzim katepsin berkurang pada suhu rendah dan optimum pada pH yang sesuai (Hultmann dan Rustad 2007).

Aktivitas enzim kolagenase pada kulit ikan bandeng. Aktivitas enzim kolagenase pada kulit ikan bandeng P, Q, R, dan S mengalami kenaikan dari fase *pre rigor* sampai puncaknya pada fase *post rigor*. Aktivitas enzim kolagenase pada kulit ikan bandeng P, Q, R, dan S pada fase *post rigor* berturut-turut adalah 0,0708, 0,0792, 0,0667, 0,0750 U/ml. Peningkatan aktivitas enzim kolagenase lebih cepat terjadi pada ikan P dan Q yang disimpan pada suhu ruang. Hal ini diduga karena enzim kolagenase lebih aktif pada temperatur yang lebih tinggi (Hernandez-Herrero *et al.* 2002).

Hubungan antara aktivitas enzim katepsin dan kolagenase dengan parameter kesegaran kulit ikan. Aktivitas enzim katepsin dan kolagenase pada kulit ikan memiliki hubungan yang sangat erat dengan parameter kemunduran mutu ikan ($r \geq 0,7$), yaitu dengan nilai organoleptik ikan bandeng. Aktivitas enzim kolagenase dengan nilai organoleptik kulit ikan bandeng lebih erat hubungannya dibandingkan dengan aktivitas enzim katepsin dengan organoleptik kulit ikan bandeng. Aktivitas enzim katepsin dan kolagenase tidak erat berhubungan dengan nilai pH ($r \leq 0,5$). Aktivitas enzim katepsin dan kolagenase berhubungan erat ($0,5 \leq r \leq 0,7$) nilai TVB kulit ikan bandeng. Aktivitas enzim katepsin dan kolagenase memiliki hubungan yang sangat erat dengan nilai TPC ($r \geq 0,7$). Nilai koefisien korelasi linier (r) antara aktivitas enzim katepsin dan kolagenase dengan parameter kesegaran ikan dapat dilihat pada Tabel 1. Kemunduran mutu yang terjadi pada ikan dan terlihat dari parameter kesegaran ikan seperti nilai organoleptik, TVB, dan TPC berasal dari aktivitas enzim yang mendegradasi protein pada ikan sehingga meningkatkan nilai TVB. Hasil pendegradasian protein digunakan oleh bakteri

pembusuk untuk melakukan pertumbuhan pada ikan (Delbarre-Ladrat *et al.* 2006).

Tabel 1. Koefisien korelasi linier sederhana aktivitas enzim katepsin dan kolagenase dengan parameter kesegaran ikan P, Q, R, dan S dari fase *pre rigor* hingga *post rigor*

Parameter Kesegaran Ikan	Koefisien Korelasi Aktivitas Enzim Katepsin	Koefisien Korelasi Aktivitas Enzim Kolagenase
Nilai organoleptik ikan bandeng	0,9	0,9
Nilai organoleptik kulit	0,8	0,9
Nilai pH kulit	0,1	0,2
Nilai TVB kulit	0,9	0,8
Nilai TPC kulit	0,9	0,9

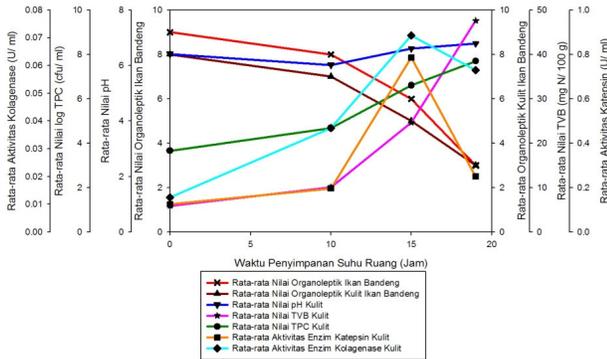
Tabel 2. Koefisien korelasi linier sederhana aktivitas enzim dan parameter kesegaran ikan fase *pre rigor* hingga busuk pada ikan P, Q, R, dan S

Parameter Kesegaran Ikan	Koefisien Korelasi Aktivitas Enzim Katepsin	Koefisien Korelasi Aktivitas Enzim Kolagenase
Nilai organoleptik ikan bandeng	0,7	0,7
Nilai organoleptik kulit	0,6	0,7
Nilai pH kulit	0,3	0,3
Nilai TVB kulit	0,6	0,6
Nilai TPC kulit	0,8	0,8

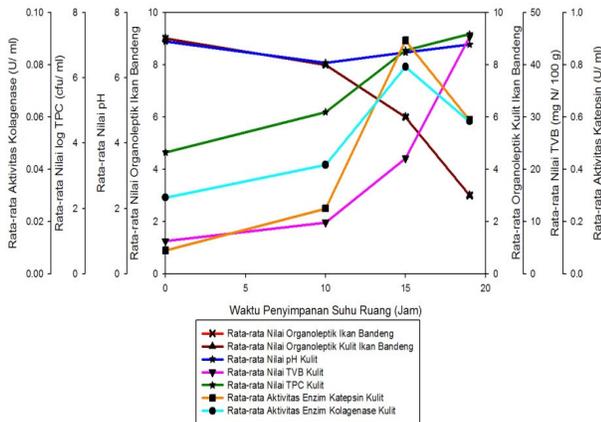
Keterangan: $r \leq 0,5$ (tidak erat), $0,5 \leq r \leq 0,7$ (erat), $r \geq 0,7$ (sangat erat)

Hubungan antara Parameter Kesegaran Kulit Ikan. Nilai organoleptik ikan bandeng P, Q, R, dan S mengalami penurunan dari fase *pre rigor* hingga busuk. Penurunan nilai organoleptik diikuti dengan kenaikan nilai TVB dan TPC. Nilai pH mengalami penurunan dari fase *pre rigor* hingga fase *rigor mortis* dan naik pada fase *post rigor* hingga busuk. Aktivitas enzim katepsin dan kolagenase mengalami kenaikan dari fase *pre rigor* hingga fase *post rigor* dan menurun pada fase busuk. Aktivitas enzim proteolitik merupakan faktor yang menyebabkan terjadinya kemunduran mutu pada ikan. Aktivitas enzim proteolitik menyebabkan pelunakkan jaringan yang terlihat dari nilai sensori/organoleptik ikan, meningkatnya basa-basa volatil yang terlihat dari nilai TVB dan aktivitas bakteri yang meningkat. Aktivitas enzim proteolitik ditunjang oleh kondisi pH yang mengaktifkan enzim, yaitu pada kisaran pH asam (Huss 1995).

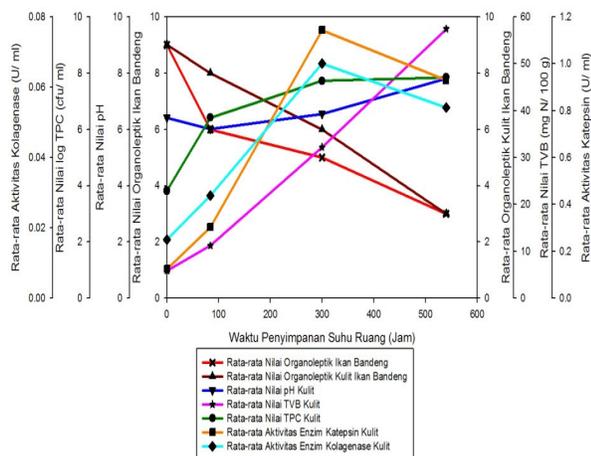
Berdasarkan hasil uji ragam (ANOVA, $\alpha=0,05$), perlakuan kombinasi ikan P, Q, R, dan S tidak berpengaruh nyata terhadap nilai pH, TVB dan TPC serta aktivitas enzim katepsin dan kolagenase. Nilai pH, TVB dan TPC serta aktivitas enzim katepsin dan kolagenase memiliki nilai yang berbeda nyata pada tiap fase kemunduran mutu ikan (*pre rigor*, *rigor mortis*, *post rigor*, dan busuk) (ANOVA, $\alpha=0,05$). Hubungan antara parameter kesegaran ikan untuk setiap perlakuan (P, Q, R, dan S) dapat dilihat pada Gambar 1, 2, 3, dan 4.



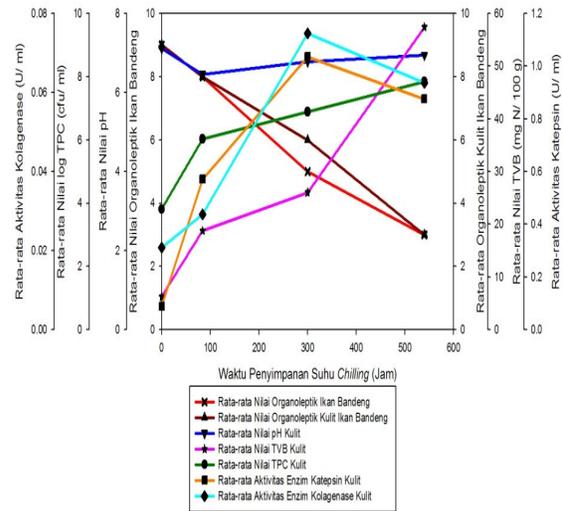
Gambar 1. Hubungan antar parameter kesegaran kulit ikan bandeng P



Gambar 2. Hubungan antar parameter kesegaran kulit ikan bandeng Q



Gambar 3. Hubungan antar parameter kesegaran kulit ikan bandeng R



Gambar 4. Hubungan antar parameter kesegaran kulit ikan bandeng S

KESIMPULAN DAN SARAN

Fase *post mortem* yang terjadi pada ikan bandeng yang disimpan pada suhu ruang (kode: P dan Q) adalah fase *pre rigor* pada jam ke-0, fase *rigor mortis* pada jam ke-10, fase *post rigor* pada jam ke-15 dan fase busuk pada jam ke-19. Fase *post mortem* yang terjadi pada ikan yang disimpan pada suhu *chilling* (kode: R dan S) adalah fase *pre rigor* pada jam ke-0, fase *rigor mortis* pada jam ke-84, fase *post rigor* pada jam ke-300 dan fase busuk pada jam ke-540 (23 hari).

Pengaruh perlakuan kondisi ikan sebelum dipanen P, Q, R, dan S tidak memberikan pengaruh nyata terhadap aktivitas enzim katepsin dan kolagenase pada kulit ikan bandeng (ANOVA; $\alpha=0,05$). Pada fase kemunduran mutu terdapat perbedaan aktivitas enzim katepsin dan kolagenase (ANOVA; $\alpha=0,05$) dimana terdapat perbedaan aktivitas enzim katepsin dan kolagenase pada tiap fase kemunduran mutu. Aktivitas enzim katepsin tertinggi terdapat pada fase *post rigor*. Aktivitas enzim katepsin pada kulit ikan bandeng P, Q, R dan S pada fase *post rigor* adalah 0,7800 U/ml-1,1429 U/ml. Aktivitas enzim kolagenase pada ikan bandeng P, Q, R, dan S tertinggi terdapat pada fase *post rigor*. Aktivitas enzim kolagenase ikan P, Q, R, dan S pada fase *post rigor*, yaitu 0,0667-0,0792 U/ml. Hubungan korelasi linier sederhana menunjukkan bahwa aktivitas enzim katepsin dan kolagenase berhubungan erat dengan parameter kesegaran ikan, yaitu sensori/organoleptik, TVB dan TPC. Aktivitas enzim katepsin dan kolagenase berhubungan kurang erat dengan nilai pH. Hubungan antara aktivitas enzim katepsin dan kolagenase menjadi kurang erat ketika memasuki fase busuk.

Berdasarkan penelitian ini, maka disarankan pemanfaatan ikan bandeng baik untuk bahan pangan maupun bahan baku industri tidak melewati fase busuk dan disimpan pada suhu *chilling*. Fase busuk ikan bandeng setelah 19 jam pada suhu ruang dan 23 hari pada penyimpanan suhu *chilling*. Pemanfaatan kulit ikan bandeng sebagai sumber enzim katepsin dan kolagenase dapat dilakukan dengan mengekstraksinya pada saat fase

post rigor dimana konsentrasi protein dan aktivitas enzim tertinggi terjadi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada DIKTI yang telah mendanai penelitian ini melalui Program Hibah Bersaing tahun 2008.

DAFTAR PUSTAKA

- Adawyah. 2007. *Pengolahan dan Pengawetan Ikan*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Apriyantono A, Fardiaz D, Puspitasari NL, Sedarnawati Y, Budianto S. 1989. *Petunjuk Laboratorium Analisis Pangan*. Bogor: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor.
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. Standar Nasional Indonesia 01-2346-2006. *Petunjuk Organoleptik Ikan Segar*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- Delbarre-Ladrat C, Cheret R, Taylor R, Verrez-Bagnis V. 2006. Trends in postmortem aging in fish: understanding of proteolysis and disorganization of the myofibrillar structure. *Critical Reviews In Food Science and Nutrition* Volume 46 (5): 409-421.
- Farber L. 1965. *Freshness Test*. Borgstorm G, editor. Di Dalam: *Fish as Food Vol IV*. New York: Academic Press.
- Fardiaz S. 1987. *Penuntun Praktek Mikrobiologi Pangan*. Bogor: LSI Institut Pertanian Bogor.
- Gimenez B, Gomez-Guillen M.C, Montero P. 2005. Storage of dried fish skins on quality characteristics of extracted gelatin. *Food Hydrocolloids* 19: 958-963.
- Haard NF. 1994. Protein Hydrolysis in seafoods. Shahidi F, Editor. Didalam: *Seafoods: Chemistry, Processing Technology*. Glasgow: Blackie Academic and Professional.
- Hagen O, Solberg C. dan Johnston IA. 2008. Activity of aspartate (cathepsin D), Cysteine proteases (cathepsins B, B + L, and H), and matrix metalloproteinase (collagenase) and their Influence on protein and water-holding capacity of muscle in commercially farmed atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Journal of Agricultural Food Chemistry*, (56): 5953-5959.
- Hernandez-Herrero MM, Duflos G, Malle P, Bouquelet S. 2002. Collagenase activity and protein hydrolysis as related to spoilage of iced cod (*Gadus morhua*). *Food Research International*. 36: 141-147.
- Hultmann L, Rustad T. 2004. Iced storage of Atlantic salmon (*Salmo salar*) – effects on endogenous enzymes and their impact on muscle proteins and texture. *Food Chemistry* 87: 31-41.
- Huo Jian-xin dan Zhao Zheng. 2009. Study on Enzymatic Hydrolysis of *Gadusmorhua* Skin Collagen and Molecular Weight Distribution of Hydrolysates. *Agricultural Sciences in China*. 8 (6): 723-729.
- Huss HH. 1995. *Fisheries Technical Paper: Quality and quality changes in fresh fish*. Roma: FAO.
- Irianto E dan Soesilo I. 2007. *Dukungan Teknologi Penyediaan Produk Perikanan*. Jakarta: Badan Riset Perikanan dan Kelautan.
- Kelompok Kerja Data Statistik Kelautan dan Perikanan. 2009. *Perikanan dalam Angka*. Jakarta: Departemen Kelautan dan Perikanan.
- Medina I, Gallardo JM dan Santiago PA. 2009. Quality preservation in chilled and frozen fish products by employment of slurry ice and natural antioxidants. *International Journal of Food Science and Technology*. 44: 1467-1479.
- Shahidi F dan Kamil JYVA. 2001. Enzymes from fish and aquatic invertebrates and their application in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 12: 435-464.