

EVALUASI SIFAT-SIFAT KOLAGEN TULANG BROILER PADA PENERAPAN KOMBINASI PROSES BERBEDA

Evaluation of The Properties of Collagen of Broiler's Bone Prepared Under Different Combination Processes

Diterima 12 Oktober 2017; diterima pasca revisi 30 Oktober 2017
Layak diterbitkan 31 Oktober 2017

Muhammad Irfan Said¹⁾^, Hajrawati¹⁾, dan Mulyanti Munda¹⁾

Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar,

Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Makassar 90245 Telp/Fax (0411) 587217

ABSTRACT

Collagen is one of the protein derivative products that can be produced by hydrolysis process. Collagen proteins found one of them in bone cattle. The protein is strongly bound to minerals in bone. The process of collagen extraction of bone requires a special method. One of them is demineralization process. The combination of several process methods allows collagen to have different properties. This study aims to evaluate the properties of collagen extract produced from broiler bone in the application of a combination of different processes. The study was used a major sample of composite bone from broiler. The main ingredient is using acetic acid (CH_3COOH 1M). The applied treatment was a combination of the use of CH_3COOH concentration levels (8%, 10% and 12%) with the length of process (24 and 48 hours). Variables measured were rendemen, gel strength, viskocity, and pH value. The data were analyzed by ANOVA using the basic design of Completely Randomized Design (CRD) factorial pattern. Parameters observed included yield, gel strength, viscosity and pH. The results showed that the difference of concentration had significant effect ($P<0,05$) to pH and viscosity, but no significant effect ($P>0,05$) to yield and gel strength. The process length had significant effect ($P<0,05$) to pH, but to yield, gel strength and viscosity had no significant effect ($P>0,05$). Application of 10% CH_3COOH concentration with a 24 h process length showed better properties in collagen-based composite bone of broiler.

Key words: Extract, collagen, bone, broiler, demineralization

ABSTRAK

Kolagen adalah salah satu produk turunan protein yang diproduksi melalui proses hidrolisis. Protein kolagen ditemukan pada tulang hewan ternak. Protein kolagen terikat kuat dengan mineral dalam tulang. Salah satu metode ekstraksi kolagen dengan demineralisasi dengan mengkombinasikan beberapa metode. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi sifat-sifat ekstrak kolagen dari tulang broiler. Sampel dalam penelitian ini adalah komposit tulang broiler. Bahan utama dalam penelitian ini adalah asam asetat (CH_3COOH 1M). Penggunaan kombinasi konsentrasi (CH_3COOH 1M) 8%, 10% dan 12% selama 24 dan 48 jam. Data dianalisis oleh ANOVA menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial. Variabel yang diamati antara lain yield, kekuatan gel, pH dan viskositas. Hasil menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi secara signifikan ($P<0,05$) untuk pH dan viskositas tetapi tidak signifikan ($P>0,05$) untuk pH, tetapi untuk yield kekuatan gel, dan viskositas tidak signifikan ($P>0,05$). Penggunaan konsentrasi 10% (CH_3COOH 1M) selama 24 jam menunjukkan sifat properti komposit tulang broiler lebih baik.

Kata kunci : Ekstrak, kolagen, tulang, broiler, demineralisasi

PENDAHULUAN

Tingkat pencemaran lingkungan dari sektor peternakan semakin lama semakin mengkhawatirkan (Bodirsky et al., 2014). Limbah peternakan merupakan limbah yang mudah mengalami proses pembusukan, sehingga harus ditangani secara serius (Centner, 2004). Salah satu limbah peternakan yang belum ditangani secara maksimal adalah limbah tulang (Arshadi et al., 2015).

Secara statistik, broiler merupakan populasi unggas terbesar di Indonesia. Setiap pemotongan ternak sudah pasti menghasilkan limbah tulang. Data Kementerian Pertanian RI (2015) menunjukkan populasi broiler yang mencapai 1.528,33 juta ekor. Berdasarkan data populasi tersebut, jika diasumsikan 70% dari populasi tersebut yang disembelih, maka dalam setiap bulan, jumlah pemotongan mencapai ($70\% \times 1.528,33$ juta ekor : 12 bulan) = 89,16 juta ekor/perbulan. Setiap ekor broiler diasumsikan memiliki berat hidup rata-rata 1,5 kg/ekor, maka total berat hidup tercatat $1,5 \text{ kg} \times 89,16 \text{ juta ekor} = 133,74 \text{ juta kg}$.

Berdasarkan data tersebut, apabila 20,85% dari berat hidup broiler adalah limbah tulang, maka potensi limbah tulang mencapai ($20,85\% \times 133,74 \text{ juta kg} = 27,88 \text{ juta kg/bulan}$).

Sampai saat ini pemanfaatan limbah tulang masih sebatas sebagai bahan baku pakan ternak, sedangkan pemanfaatan limbah tulang sebagai sumber kolagen belum banyak diteliti. Penggunaan kolagen dalam kehidupan manusia belum dilakukan secara maksimal. Pemanfaatan kolagen selama ini lebih banyak dalam bidang farmasi dan pangan seperti food suplemen

demineralisasi merupakan salah satu tahapan proses penting yang perlu diperhatikan. Pada tahapan ini terjadi proses hidrolisis dan

Untuk menghasilkan ekstrak kolagen dengan sifat-sifat yang lebih baik, dibutuhkan kombinasi proses yang tepat. Proses solubilisasi komponen mineral serta denaturasi ikatan protein secara terbatas dan sangat mempengaruhi sifat-sifat fisik dan kimia kolagen yang dihasilkan (Zhang et al., 2007).

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi sifat-sifat ekstrak kolagen yang diproduksi dari tulang broiler pada penerapan kombinasi proses berbeda.

MATERI DAN METODE

Materi Penelitian

Material utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah tulang komposit dari broiler. Tulang komposit yang dimaksud adalah tulang yang diperoleh dari seluruh bagian tubuh (kecuali kepala dan kaki). Bahan baku tulang setelah dicuci dengan air mengalir, selanjutnya dipotong kecil-kecil dengan ukuran 3-5 cm. Potongan-potongan tulang tersebut kemudian dihomogenkan hingga membentuk komposit. Bahan kimia yang digunakan adalah asam asetat (CH_3COOH 1 M)

Beberapa peralatan pendukung yang digunakan antara lain: water bath (*Memmert Tipe WNB7-45*), oven digital (*Memmert*), timbangan analitik (*Sartorius TE 214S*), labu ukur, beaker glass, erlenmenyer, corong gelas, gelas ukur dan termometer. Peralatan-peralatan pendukung untuk proses uji kualitas antara lain : Universal Testing Machine, viskometer *Brookville* dan pH meter (*Hanna NI 8520*).

How to cite :

Said, M.I., Hajrawati, & Munda, M. (2017). Evaluasi Sifat-sifat Kolagen Tulang Broiler pada Penerapan Kombinasi Proses Berbeda. Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak, 12 (2), 89-96.

*Corresponding author:

Muhammad Irfan Said

irfan.said@unhas.ac.id

Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar

Metode Penelitian

Pelaksanaan penelitian

Proses produksi ekstrak kolagen dilakukan secara bertingkat (Ockerman and Hansen 2000) yang telah sedikit dimodifikasi. Bahan baku tulang broiler (300 g) yang telah dipotong kecil-kecil, kemudian dimasukkan ke dalam beaker glass yang berisi larutan etanol 70% untuk membersihkan sisa-sisa lemak yang menempel. Proses ini dilakukan selama 24 jam pada suhu ruang. Sampel tulang kemudian dicuci dengan air mengalir selama 3 menit. Bahan baku tulang yang telah dicuci, selanjutnya dimasukkan ke dalam larutan perlakuan sesuai kombinasi yang telah ditentukan hingga seluruh permukaan tulang terendam secara sempurna. Sampel tulang kemudian dicuci kembali dengan air mengalir. Sampel tulang dinetralkan dengan larutan basa ($\text{Ca}(\text{OH})_2$ 20% b/v) selama 24 jam dengan rasio tulang : larutan basa (1:1,5). Sampel tulang yang telah dinetralkan, kemudian dimasukkan ke dalam erlemenyer dan ditambah dengan aquades dengan rasio tulang : aquades (1:1). Proses ekstraksi pertama dilakukan dalam *water bath* suhu 70°C (fraksi 1) selama 24 jam yang dilanjutkan dengan eksstraksi kedua pada suhu suhu 75°C (fraksi 2) selama 24 jam. Hasil ekstraksi diperoleh ekstrak kolagen cair. Filtrat yang terbentuk dikeringkan di dalam oven suhu 55°C selama 18-20 jam. Lapisan ekstrak kolagen yang telah kering kemudian digiling dengan blender hingga membentuk serbuk dan selanjutnya ditimbang untuk menentukan nilai

rendemen. Serbuk selanjutnya dikemas dengan plastik klip untuk dilakukan uji kualitas.

Rancangan Penelitian

Penelitian dilaksanakan secara eksperimen laboratorium dengan menerapkan rancangan dasar berupa Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 3×2 dengan 3 kali ulangan. Pada penelitian ini diterapkan 2 faktor, faktor pertama menggunakan 3 level konsentrasi asam asetat dan faktor kedua menggunakan 2 level waktu proses (24 jam dan 48 jam). Variabel terukur adalah rendemen, kekuatan gel, viskositas, nilai pH.

Analisis data

Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan sidik ragam berdasarkan RAL Pola Faktorial dengan bantuan program statistik SPSS (one-way ANOVA). Perlakuan yang menunjukkan pengaruh yang nyata, selanjutnya dilakukan uji beda nyata dengan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5% (Steel & Torrie 1991).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen (%)

Nilai rendemen adalah besaran produk yang dapat diperoleh dari sejumlah bahan baku yang diproses (Giménez et al. 2005). Proses ini terkait dengan proses produksi (Kołodziejska et al., 2008; Kasankala et al., 2007). Data nilai rendemen kolagen pada penerapan level konsentrasi asam asetat dan lama proses berbeda disajikan secara lengkap pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai Rendemen (%) Kolagen Berbahan Baku Tulang Komposit Broiler pada Penerapan Level Konsentrasi dan Lama Proses Berbeda

Konsentrasi Asam Asetat	Lama Proses (jam)		Rata-Rata
	24	48	
8 %	3,81±0,33	3,77±0,48	3,79±0,36
10 %	4,14±0,14	4,10±0,29	4,12±0,21
12 %	4,08±0,41	4,54±0,28	4,31±0,40
Rata-Rata	4,01±0,31	4,14±0,45	

Hasil analisis sidik ragam data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa, perbedaan level konsentrasi dan lama proses demineralisasi maupun interaksinya tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap nilai rendemen ekstrak kolagen berbahan baku tulang komposit broiler. Tidak adanya pengaruh yang muncul dapat disebabkan karena konsentrasi asam asetat yang diterapkan dalam proses tersebut belum mampu memecah ikatan fibril kolagen menjadi molekul yang lebih kecil. Rendemen yang dihasilkan berada dengan penelitian oleh Munda (2013) pada kisaran rata-rata 3,79-4,31%..

Penggunaan asam lemah belum mampu memecah fibril secara sempurna sehingga berdampak bagi nilai rendemen. Namun demikian, peningkatan konsentrasi asam masih

memungkinkan akan meningkatkan nilai rendemen (Zhou dan Joe, 2005). Jumlah rendemen kolagen juga dipengaruhi oleh proporsi kandungan kolagen di dalam tulang itu sendiri (Junianto dkk., 2006).

Kekuatan Gel

Salah satu sifat penting kolagen adalah kemampuannya dalam berubah, yakni dari fase cairan menjadi semi padat atau mengubah bentuk sol menjadi gel yang bersifat *reversible*. Menurut (Kołodziejska et al., 2008), bahwa nilai kekuatan gel merupakan salah satu parameter untuk mengetahui kualitas fisik dari suatu molekul kolagen. Besaran nilai kekuatan gel dari kolagen tulang komposit broiler yang diproduksi dari kombinasi proses berbeda disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai Kekuatan Gel (g Bloom) Kolagen Berbahan Baku Tulang Komposit Broiler pada Penerapan Level Konsentrasi dan Lama Proses Berbeda

Konsentrasi Asam Asetat	Lama Proses (jam)		Rata-Rata
	24	48	
8 %	33,09±5,99	35,71±6,80	34,40±5,91
10 %	29,17±2,26	30,47±2,26	29,82±2,14
12 %	46,19±2,84	33,09±5,99	34,62±1,97
Rata-Rata	36,15±4,80	33,09±5,19	

Berdasarkan data pada Tabel 2 terlihat bahwa besaran nilai rata-rata kekuatan gel kolagen tulang komposit broiler cukup bervariasi 29,82-36,15 g Bloom (Munda, 2013). Hasil analisis secara statistik menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi asam asetat maupun lama proses yang diterapkan tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap nilai kekuatan gel kolagen berbahan baku tulang komposit broiler. Hasil ini kemungkinan dapat terjadi seperti halnya pada nilai rendemen. Besaran konsentrasi yang diterapkan belum mampu memecah jaringan-jaringan fibril kolagen menjadi monomer-monomer yang lebih sederhana sehingga sifat kolagen yang satu dengan yang lainnya tidak berbeda secara nyata. Ikatan-ikatan hidrogen antara molekul air dengan kelompok hidroksil bebas dari

kelompok asam amino, ukuran rantai protein, konsentrasi serta distribusi berat molekul tidak mengalami perubahan yang memadai sehingga mempengaruhi nilai kekuatan gel (Arnesen dan Gildberg, 2002; Bhat dan Karim, 2008).

Viskositas

Nilai viskositas merupakan salah satu sifat fisik dari kolagen yang merupakan suatu kemampuan menahan dari suatu zat cair untuk mengalir. Proses alir dari suatu zat cair dipengaruhi oleh viskositas yang terjadi akibat adanya adsorbsi dan pengembangan koloid (Schrieber dan Gareis 2007).

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam data pada Tabel 3 menunjukkan bahwa, perbedaan level konsentrasi berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap nilai viskositas kolagen.

Nilai rata-rata hasil pengukuran viskositas bervariasi 4,15-4,88 cP (Munda, 2013). Nilai viskositas ini sesuai dengan standar nilai viskositas yang ditetapkan oleh GMIA (2012) yaitu 1,5–7,5 cP. yakni 3,80-5,30 cP.

Nilai viskositas kolagen berbahan baku tulang komposit broiler yang menggunakan kombinasi proses berbeda selengkapnya disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai Viskositas (cP) Kolagen Berbahan Baku Tulang Komposit Broiler pada Penerapan Level Konsentrasi dan Lama Proses Berbeda

Konsentrasi Asam Asetat	Lama Proses (jam)		Rata-Rata
	24	48	
8 %	5,10±0,00	4,67±0,29	4,88±0,30b
10 %	3,97±1,00	4,33±0,29	4,15±0,69 a
12 %	5,00±0,00	4,17±0,29	4,58±0,49ab
Rata-Rata	4,69±0,74	4,39±0,33	

Keterangan : ^{a,b} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P<0,05$)

Nilai viskositas dipengaruhi oleh struktur molekul asam amino yang menyusun protein. Susunan asam amino yang semakin panjang akan meningkatkan nilai viskositas kolagen (Leiner, 2002). Kolagen yang diproduksi dari tulang broiler memungkinkan mengandung partikel mineral yang dapat mempengaruhi viskositas (Lestari, 2005). Nilai kolagen memungkinkan dapat bervariasi. Kolagen yang berikatan dengan partikel mineral menyebabkan ikatan molekul kolagen dengan larutan menjadi semakin sedikit sehingga distribusi molekul gelatin semakin cepat dan nilai viskositas juga mengalami penurunan. Semakin kecil berat molekul dari kolagen, dapat menyebabkan distribusi molekul kolagen dalam larutan menjadi semakin cepat sehingga menghasilkan nilai viskositas yang rendah (Avena-Bustillos et al., 2006).

Nilai pH

Nilai pH merupakan salah satu parameter untuk menentukan standar mutu dari kolagen. Nilai pH dapat mempengaruhi sifat-sifat yang lainnya seperti viskositas dan kekuatan gel (Astawan dkk., 2002). Nilai pH kolagen berbahan baku tulang komposit broiler disajikan pada Tabel 4.

Berdasarkan Tabel 4 terlihat nilai rata-rata hasil pengujian pH berada pada kisaran 4-5 (Munda, 2013). Hasil ini masih berada pada kisaran pH yang ditetapkan oleh GMIA (2012) yaitu 3,8-5,5. Nilai pH yang rendah dipengaruhi oleh penggunaan bahan yakni asam asetat. Nilai pH yang rendah pada kolagen sebenarnya memiliki kelebihan. Salah satu diantaranya adalah relatif lebih tahan terhadap kontaminasi mikroorganisme. Penggunaan kolagen dengan nilai pH yang rendah juga sesuai dengan kondisi pencernaan manusia sehingga dapat dipertimbangkan penggunaannya dalam pangan manusia (Khomsatin, 2004).

Tabel 4. Nilai pH Kolagen Berbahan Baku Tulang Komposit Broiler pada Penerapan Level Konsentrasi dan Lama Proses Berbeda

Konsentrasi Asam Asetat	Lama Proses (jam)		Rata-Rata
	24	48	
8 %	5,14±0,08	4,87±0,21	5,01±0,20b
10 %	4,91±0,22	4,85±0,18	4,88±0,18ab
12 %	5,17±0,12	4,33±0,06	4,75±0,47a
Rata-Rata	5,07±0,18	4,68±0,30	

Keterangan : ^{a,b} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P<0,05$)

KESIMPULAN

1. Peningkatan level konsentrasi penggunaan asam asetat dalam proses produksi kolagen berbahan baku tulang komposit broiler menurunkan nilai viskositas dan pH produk kolagen, namun terhadap nilai rendemen dan kekuatan gel relatif konstan
2. Peningkatan lama proses maupun kombinasi kedua faktor yang diterapkan tidak mempengaruhi parameter yang diukur (rendemen, kekuatan gek, viskositas maupun pH)
3. Penggunaan asam asetat dengan level konsentrasi 10% dengan lama proses 24 jam menghasilkan sifat-sifat kolagen tulang komposit broiler yang lebih baik dibanding perlakuan lainnya

UCAPAN TERIMA KASIH

Tim peneliti dengan ini mengucapkan banyak terima kasih khususnya kepada Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi, Rektor Universitas Hasanuddin, Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LP2M) Universitas Hasanuddin atas dukungan pembiayaan penelitian kompetitif skim Hibah Penelitian Strategi Nasional (Stranas).

DAFTAR PUSTAKA

- Arnesen, J.A., & Gildberg, A. (2002). Preparation and characterization of gelatin from the skin of harp seals (*Phoca groenlandica*). *Bioresource Technology*, 82, 191-194. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00164-X](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00164-X)
- Arshadi, M., Faraji, A.R., Amiri, M.J., Mehravar, & M., Gil A. (2015). Removal of methyl orange on modified ostrich bone waste—A novel organic–inorganic biocomposite. *Journal of Colloid & Interface Science*, 446, 11-23.
- Astawan, M., Hariyadi, P., & Mulyani, A. (2002). Analisis sifat reologi gelatin darikulit ikan cicut. *Jurnal Teknologi & Industri Pangan.*, 13(1), 38-46.
- Avena-Bustillos, R.J., Olsen, C.W., Olson, D.A., Chiou, B., Yee, E., Bechtel, P.J., McHugh, L.H. (2006). Water vapor permeability of mammalian and fish gelatin films. *Journal of Food Science*, 71(4), 202-207. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00016.x>

- Bhat, R & Karim, A.A. (2008). Ultraviolet irradiation improves gel strength of fish gelatin. *Food Chemistry*, 113, 1160-1164. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.039>
- Bodirsky, B.L., Popp, A., Lotze-campen, H., Dietrich, J.P., Rolinski, S., Weindl, I., Stevanovic, M. (2014). Reactive nitrogen requirements to feed the world in 2050 and potential to mitigate nitrogen pollution. *Nature Communications*, 5, 3858. doi:<http://dx.doi.org/10.1038/ncomms4858>
- Centner, T.J. (2004). Developing institutions to encourage the use of animal wastes as production inputs. *Agriculture & Human Values*, 21, 367-375. doi:<http://dx.doi.org/10.1007/s10460-003-1223-5>.
- Giménez, B., Gómez-Guillén, M.C., & Montero, P. (2005). The role of salt washing of fish skins in chemical and rheological properties of gelatin extracted. *Food Hydrocolloids*, 19, 951-957.
- GMIA. (2012). Gelatin Handbook. Gelatin Manufacturers Institute of America Members as of January 2012.
- Junianto., K., Haetami, & Maulina, I. (2006). Produksi gelatin dari tulang ikan & pemanfaatannya sebagai bahan dasar pembuatan cangkang kapsul. Laporan Penelitian Hibah Bersaing IV Tahun I. Fakultas Perikanan & Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran
- Kasankala, L. M., Xue, Y., Weilong, Y., Hong, S. D., & He, Q. (2007). Optimization of gelatine extraction from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fish skin by response surface methodology. *Bioresource Technology*, 98(17), 3338–3343. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.03.019>
- Kementerian Pertanian RI. (2015). Statistik Peternakan. Direktorat Jenderal Peternakan & Kesehatan Hewan, Kementerian Pertanian RI, Jakarta.
- Khomsatin, S. (2004). Evaluasi Perbedaan Konsentrasi Asam Klorida & Lama Perendaman Terhadap Kualitas Gelatin dari Kulit Sapi Trimming. Departemen Ilmu Produksi & Teknologi Peternakan. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Kołodziejska, I., Kaczorowski, K., Piotrowska, B., & Sadowska, M. (2004). Modification of the properties of gelatin from skins of Baltic cod (*Gadus morhua*) with transglutaminase. *Food Chemistry*, 86(2), 203–209. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.08.036>
- Kołodziejska, I., Skierka, E., Sadowska, M., Kołodziejski, W., & Niecikowska, C. (2008). Effect of extracting time and temperature on yield of gelatin from different fish offal. *Food Chemistry*, 107(2), 700–706. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.071>
- Leiner, P.B. (2002). The Physical and Chemical Properties of Gelatin. <http://www.pbgelatin.com>.
- Lestari, S.D. (2005). Analisis Sifat Fisika Kimia dan Rheologi Gelatin Kulit Hiu Gepeng (*Alopias Sp*) dengan Penambahan MgSO₄, Sukrosa, dan Gliserol. Fakultas Perikanan & Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Munda, M. (2013). Pengaruh Konsentrasi Asam Asetat & Lama Demineralisasi terhadap Kuantitas & Kualitas Gelatin Tulang Ayam. Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar.

- Ockerman, H.W., & Hansen C.L. (2000). Animal By Product Processing & Utilization. CRC Press, USA.
- Kołodziejska, I., Skierka, E., Sadowska, M., Kołodziejski, W., & Niecikowska, C. (2008). Effect of extracting time and temperature on yield of gelatin from different fish offal. *Food Chemistry*, 107(2), 700–706. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.071>
- Schrieber, R., & Gareis, H. (2007). Gelatine Handbook, Wiley-VCH GmbH & Co, Weinheim.
- Steel, R.G.D., & Torrie, J.H. (1991). Principle & Procedure of Statistics. 2nd .ed. International Book Company, Tokyo.
- Zhang, Y., Liu, W., Li, G., Shi, B., Miao, Y., & Wu, X. (2007). Isolation and partial characterization of pepsin-soluble collagen from the skin of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Food Chemistry*, 103(3), 906–912. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.09.053>
- Zhang, Y., Liu, W., Li, G., Shi, B., Miao, Y., & Wu, X. (2007). Isolation and partial characterization of pepsin-soluble collagen from the skin of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Food Chemistry*, 103(3), 906–912. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.09.053>.
- Zhou, P & Joe, M.R. 2005. Effect of alkaline and acid pretreatments on alaska pollock skin gelatin extraction. *J. Food Sci*, (70), 392-396. doi:10.1111/j.1365-2621.2005.tb11435.x