

Prosiding

**Seminar Nasional 2012
Masyarakat Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia**

**"Penguatan Industrialisasi Melalui Penguasaan IPTEK
Pengolahan Hasil Perikanan"**

Diselenggarakan atas kerjasama:



**Pascasarjana
Universitas Brawijaya Malang**



**Masyarakat Pengolahan
Hasil Perikanan Indonesia**



**Balai Besar Litbang
Pengolahan Produk dan Bioteknologi
Kelautan dan Perikanan (BBP4BKP)
Badan Litbang - KKP**



Malang, 10 November 2012

Penerbit:

PASCASARJANA UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KOMPOSISI PROKSIMAT DAN PROFIL ASAM AMINO TULANG RAWAN IKAN HIU AIR (*Prionace glauca*)

Titiek Indhira Agustin^{1*}, Mivida Febriani¹, Erina Yatmasari²

¹Fakultas Teknik dan Ilmu Kelautan- Universitas Hang Tuah, Surabaya

²Fakultas Kedokteran - Universitas Hang Tuah, Surabaya

*Email: titiekagustin@gmail.com

Abstrak

Tulang rawan ikan hiu merupakan limbah dari industri pembekuan steak daging ikan hiu. Tulang rawan ikan hiu terdiri dari dua bagian yaitu tulang punggung dan tenggok. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi komposisi proksimat, profil asam amino, kandungan glukosa dan kalsium tulang rawan ikan hiu. Kadar protein dan kalsium tulang punggung (30,74% dan 10.673,59 ppm) lebih tinggi daripada tulang tenggok (30,35% dan 10.262,39%) (berat kering). Kadar glukosa dalam tulang punggung (26,75%) lebih rendah dari tulang tenggok (40,17%). Kandungan total asam amino tulang punggung (23,66%) lebih tinggi daripada tulang tenggok (19,46%). Persentase asam amino esensial terhadap total asam amino pada tulang punggung (68,42%) lebih tinggi daripada tulang tenggok (56,13%). Nilai asam amino esensial tertinggi pada tulang punggung adalah arginin (4,00%) tetapi pada tulang tenggok asam amino esensial tertinggi adalah asam glutamat (3,26%). Oleh karena itu tulang rawan ikan hiu baik punggung maupun tenggok dapat menjadi sumber kalsium dan asam amino yang murah untuk tujuan komersil.

Kata kunci : profil asam amino, tulang rawan ikan hiu, komposisi proksimat.

Pendahuluan

Ikan hiu adalah salah satu jenis ikan dengan kerangka tulang rawan yang lengkap, hidup di laut dalam dan tahan hidup dalam ratusan juta tahun. Sementara ini ikan hiu dimanfaatkan untuk diambil siripnya terutama untuk ekspor sehingga daging dan tulang menjadi limbah. Berdasarkan penelitian secara klinis, tulang rawan hiu dinyatakan mampu menjaga pertumbuhan dan penyebaran sel tumor, membantu mengurangi rasa sakit dan nyeri pada tulang, membantu menghindari penyakit rematik, memperkuat dan menjaga fungsi tulang, membantu menghilangkan rasa pegal dan encok, menjaga kesehatan dan keaktifan tubuh serta menghindari kelainan tulang belakang yang bengkok (Yudana 2005).

Tulang rawan ikan hiu terutama tersusun dari protein dan karbohidrat kompleks yang terikat dengan jaringan tertentu tanpa dukungan saraf dan darah (Lene and Comac 1992). Kandungan protein merupakan salah satu parameter untuk menentukan gizi produk pangan. Semua protein tersusun dari asam-asam amino yang berbeda-beda, protein yang mengandung asam amino esensial dikategorikan kedalam protein bermutu tinggi. Asam amino esensial adalah asam amino yang dibutuhkan oleh tubuh tetapi tubuh tidak dapat mensintesisnya sehingga perlu di suply dari luar melalui makanan. Perkembangan teknologi telah menggeser pola makan manusia yang semula bergantung pada makanan pokok sekarang masyarakat kota memilih makanan suplemen untuk menunjang gizinya.

Besarnya manfaat tulang rawan ikan hiu dalam kesehatan mendorong berkembangnya penelitian-penelitian tentang kandungan senyawa-senyawa aktif dalam tulang rawan ikan hiu. Dalam tubuh ikan hiu terdapat dua bagian tulang yaitu tulang punggung yang beruas-ruas memanjang dari pangkal kepala sampai pangkal ekor dan

2 | Bidang Keamanan pangan (B4)

tulang tenggok yang berupa tulang pipih biasanya dipisahkan dari bagian pangkal kepala. Kedua jenis tulang ini memiliki karakteristik yang berbeda, tulang punggung lebih keras sedangkan tulang tenggok lebih lunak sehingga lebih mudah dalam preparasi. Perbedaan tekstur ini tentu memiliki perbedaannya pula dalam komposisi proksimatnya. Metode pengeringan tentu mempengaruhi kualitas komposisi senyawa-senyawa aktif dalam tulang ikan hiu. Oleh karena itu perlu dilakukan kajian awal tentang kandungan proksimat dan profil asam amino pada tulang rawan ikan hiu dengan metode pengeringan yang berbeda.

Bahan dan Metode

Bahan dan Alat

Bahan utama dalam penelitian ini adalah sampel tulang rawan ikan hiu dari dua bagian yang berbeda yaitu bagian tenggok dan bagian punggung. Bahan kimia yang digunakan untuk analisis semuanya berstandar pro analisis (p.a.) yang terdiri dari asam sulfat pekat, asam klorida 0,1N, kalium sulfat, tembaga sulfat, asam oksalat, natrium hidroksida, indikator bromokresol hijau dan metil merah, *aquadest*), boraks, petroleum eter, pereaksi *anthrone* (9,10-Dihydro-9-oxanthracene), dan glukosa standar.

Peralatan yang digunakan dalam analisis proksimat adalah labu *Kjeldahl* 150 ml, alat pemanas *Kjeldahl*, alat distilasi *Kjeldahl*, Erlenmeyer 100 ml, buret 50 ml, labu ukur 50 ml, 100 ml, 250 ml, 500 ml; gelas ukur 10 ml; kertas saring; kapas bebas lemak; labu lemak; alat sokhlet; pemanas listrik; oven; neraca analitik; corong kaca; penangas air; tanur listrik; eksikator; batang pengaduk; pipet tetes; kuvet; spektrofotometer UV untuk analisa kadar glukosa, AAS (Spektrofotometer Absorpsi Atom) untuk analisa kadar Ca dan HPLC untuk analisa profil asam amino.

Metode Penelitian

Sampel tulang hiu yang diperoleh dari PT. Angin Timur dalam kondisi beku langsung disimpan dalam freezer sampai dilakukan preparasi. Sampel tulang hiu kemudian di-*thawing* udara selama dua jam selanjutnya dipotong-potong menjadi potongan yang sangat kecil dan tipis dan dikeringkan menggunakan mesin pengering pada suhu $50^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 12 jam. Tulang hiu yang telah kering selanjutnya dilakukan penepungan menggunakan blender dan diayak (disaring) menggunakan ayakan 80 mesh untuk menghasilkan ukuran partikel tepung yang homogen. Tepung tulang hiu kemudian disimpan dalam kantong plastik dan disimpan di kulkas sampai dilakukan analisis.

Analisa proksimat yang meliputi analisis kadar air metode Infra Red Moisture Balance (IRM), kadar abu (AOAC 1995), kadar lemak metode soxhlet (AOAC 1995), kadar protein metode mikro kjedhal (AOAC 1995) dan karbohidrat by difference. Analisa kadar glukosa metode *anthrone* (Apryantono 1989), analisa kadar Ca (kalsium) dengan AAS dan analisa profil asam amino (Adijuana dan Kosasih 1992)

Hasil dan Pembahasan

Preparasi Sampel Tulang Hiu

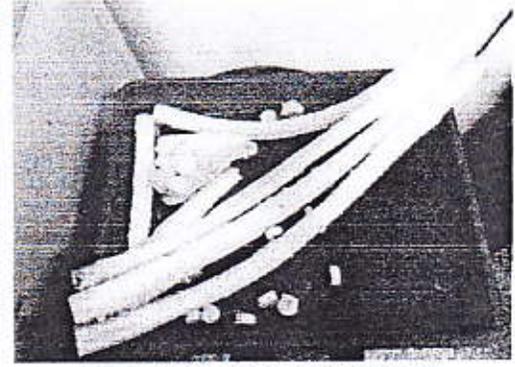
Tulang ikan hiu yang dibeli dari PT. Angin Timur ada dua jenis bagian yaitu tulang pada bagian tenggok dan tulang pada bagian punggung. Tulang tenggok diambil dari tulang badan bagian atas sedang tulang punggung diambil dari sepanjang tubuh ikan. Tulang ikan dibawa dari PT. Angin Timur dalam kondisi beku sehingga setibanya di Laboratorium PHP – UHT tulang ikan tersebut di-*thawing* udara selama 2 jam kemudian dilakukan penyiangan yaitu penyayatan daging yang masih melekat pada tulang ikan hiu. Pada tulang tenggok, daging yang masih melekat cukup banyak sehingga menurunkan rendemennya. Rendemen

tulang tenggok segar hanya sekitar 65% sedangkan tulang punggung rendemen tulang segar mencapai 95%.

Tulang ikan hiu yang telah bersih dari daging, selanjutnya dipotong kecil-kecil dan tipis kemudian ditiriskan selama 15 menit. Tulang tenggok segar 787gr dikeringkan selama 12 jam didapatkan 161 gr. Sedangkan tulang punggung segar sebanyak 830 g dikeringkan dan berat setelah dikeringkan sebanyak 234 g, sehingga diperoleh rendemen seperti pada Tabel 1 dan gambar tulang tenggok dan tulang punggung ikan hiu disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1 a. Tulang Tenggok



Gambar 1 b. Tulang Punggung

Gambar 1. Tulang Tenggok (a) dan Tulang Punggung Ikan Hiu (b)

Tabel 1. Rendemen Tulang Hiu Kering.

Tulang	Segar (gr)	Kering (gr)	Rendemen (%)
Tenggok	787	161	20
	630	118	18
	881	202	22
	Rerata		20
Punggung	830	234	28
	305	89	29
	683	220	32
	Rerata		21,8

Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa rendemen tulang punggung lebih tinggi daripada tulang tenggok, hal ini disebabkan karena pada tulang tenggok segar masih banyak tersisa daging. Jika daging yang menempel pada tulang tersebut tidak dihilangkan terlebih dahulu maka akan memperlambat proses pengeringan dan selain itu juga dapat mempengaruhi hasil analisis parameter yang lain. Pipilan daging ikan hiu yang seperti cacahan daging dapat dimanfaatkan menjadi produk olahan seperti bakso daging hiu atau nugget daging hiu.

4.1. Hasil Analisis Proksimat Tulang

Limbah tulang yang dihasilkan dari proses produksi daging fillet hiu dari PT. Angin Timur berupa tulang tenggok dan tulang punggung. Tulang tenggok merupakan tulang-tulang agak pipih yang biasanya dikumpulkan dari bagian atas badan hiu dan tulang punggung adalah tulang belakang yang berbuku-buku. Dalam kondisi segar pada bagian tulang tenggok masih terbawa sedikit daging sehingga dalam preparasi tulang harus dilakukan penyayatan daging yang melekat pada tulang tersebut kemudian dipotong kecil-

4 | Bidang Keamanan pangan (B4)

kecil dan tipis selanjutnya dikeringkan dengan mesin pengering dan diblender kemudian diayak untuk menghasilkan serbuk tepung yang homogen. Dalam penelitian ini tepung tulang hiu yang digunakan sebagai sampel adalah yang lolos saringan 80 mesh. Hasil analisa proksimat tulang hiu disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata Kadar Proksimat Tulang Hiu

Kode Sampel	Kadar Air (%)	Kadar Abu (%)	Kadar protein (%)	Kadar Lemak (%)	Karbohidrat (by difference)
TS	66,00±3,46	1,24±0,08	3,97±0,08	1,61±0,08	27,22±3,17
PS	74,67±2,31	1,41±0,15	3,64±0,04	1,54±0,37	18,74±2,39
TP	5,43±0,06	6,20±0,34	30,70±0,62	1,92±0,18	55,74±0,25
TT	5,20±0,20	5,36±0,26	30,35±0,05	1,94±0,05	57,15±0,89

Keterangan : TS : Tenggek segar
TT : Tepung tenggek

PS : Punggung segar
TP : Tepung Punggung

Tulang segar kandungan airnya sangat tinggi sehingga membutuhkan waktu sekitar 12 jam untuk proses pengeringan. Dalam aplikasinya biasanya tulang rawan ikan hiu dikonsumsi dalam bentuk tepung. Komponen terbesar dalam tepung tulang adalah karbohidrat diharapkan dengan tingginya karbohidrat ini maka kandungan glukosaminnya juga tinggi.

Kadar abu yang terdapat pada tepung tulang punggung hiu adalah 6,20% dan tepung tulang tenggek 5,36% lebih tinggi jika dibandingkan dengan kadar abu tulang segar. Kadar abu menunjukkan kandungan senyawa anorganik yang tahan terhadap suhu tinggi. Komposisi tulang diketahui diantaranya adalah kalsium yang merupakan komposisi utama, sehingga data hasil analisis kadar abu dapat dilanjutkan dengan menganalisis kadar kalsium di dalam tulang ikan hiu.

Kadar lemak pada tulang ikan hiu dalam penelitian ini cukup rendah, namun kadar proteinnya cukup tinggi yaitu 30,70% pada tepung punggung dan 30,35 pada tepung tenggek. Kandungan protein ini merupakan kadar total senyawa nitrogen dalam tulang ikan hiu atau merupakan kadar protein total sehingga perlu dilakukan analisis lebih lanjut untuk mengetahui senyawa-senyawa yang terkandung didalam tulang ikan hiu. Menurut IOM (2002) kandungan senyawa dalam tulang ikan hiu adalah glukosamin dan konjugatnya galaktosamin, chondroitin.

4.2. Kadar Glukosa dan Kadar Ca (Kalsium)

4.2.1. Kadar Glukosa

Kadar glukosa dalam tulang ikan hiu ditentukan dengan metode spektroskopi sinar tampak (colorimetri) yaitu dengan pereaksi anthrone. Keuntungan metode anthrone yaitu metode ini cukup sederhana, selektif dan efisien selain itu, pereaksi anthrone memiliki sensitifitas yang tinggi sehingga dapat digunakan baik secara kuantitatif maupun kualitatif untuk penentuan kadar glukosa dengan keberadaan sejumlah besar senyawa lain seperti protein dan garam anorganik. Hasil penentuan kurva glukosa standar pada panjang gelombang 630 nm disajikan pada Gambar 2.

mem
ment
baik.

Sar

TS

TS

PS

PS

T

T

T

T

Kete

teng

26,7

kani

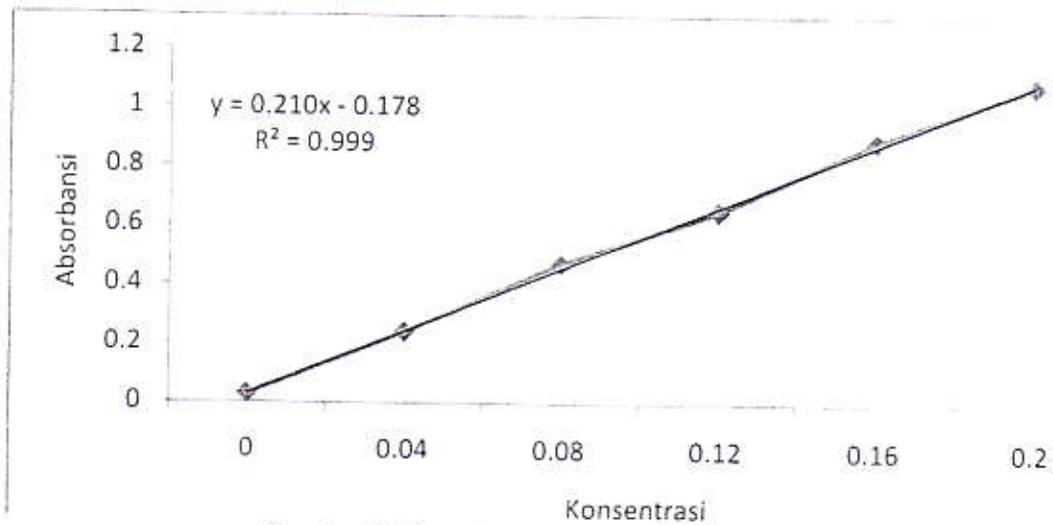
ditei

mer

glyc

pros

raw:



Gambar 2. Kurva Larutan Glukosa Standar

Berdasarkan kurva pada Gambar 2 diketahui bahwa larutan standar glukosa mempunyai persamaan regresi $Y = 0,210 x - 0,178$ dengan koefisien korelasi 0.999 mendekati nilai 1 yang berarti bahwa metode yang digunakan mempunyai linieritas yang baik. Hasil analisis kadar glukosa pada tulang ikan hiu dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kadar Glukosa (%) Tulang Ikan Hiu Air (*Prionace glauca*)

Sampel	Nilai absorbansi (Y)	Konsentrasi (b)	Intersep (a)	Konsentrasi glukosa (mg/ml)	% glukosa
TS 1	0,715	0,178	0,21	4,25	42,52
TS 2	0,732	0,178	0,21	4,33	43,33
		Rerata			42,93
PS 1	0,633	0,178	0,21	3,86	38,62
PS 2	0,635	0,178	0,21	3,87	38,71
		Rerata			38,67
TT 1	0,680	0,178	0,21	4,09	40,86
TT 2	0,651	0,178	0,21	3,95	39,48
		Rerata			40,17
TP 1	0,388	0,178	0,21	2,70	26,95
TP 2	0,380	0,178	0,21	2,66	26,57
		Rerata			26,76

Keterangan : TS : Tenggek segar
TT : Tepung tenggek

PS : Punggung segar
TP : Tepung Punggung

Data pada Tabel 3 memperlihatkan bahwa kadar glukosa tertinggi pada tulang tenggek segar yaitu 42,93% dan kadar glukosa terendah pada tepung tulang punggung yaitu 26,76%. Kandungan glukosa pada tulang dapat digunakan sebagai indikator awal terhadap kandungan glukosamin. Anonymous (2012a), glukosamin merupakan senyawa alami yang ditemukan di dalam tubuh khususnya tulang rawan dan memegang peranan penting dalam menjaga kesehatan dan fungsi tulang rawan. Glukosamin penting dalam pembentukan glycosaminoglycans (GAGs), sintesis glukosamin dari glukosa dan glutamin merupakan proses yang terbatas sedangkan glukosamin dibutuhkan untuk sintesis matriks tulang rawan.

6.4 Bidang Keamanan pangan (B4)

4.2.2. Kadar Ca (Kalsium)

Kadar kalsium (Ca) pada tulang ikan hiu dianalisis menggunakan AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometry*). Analisis kandungan Ca dengan AAS memiliki banyak kelebihan yaitu proses analisis yang lebih singkat sehingga perolehan data lebih cepat. Kandungan kalsium pada tepung tulang punggung ikan hiu cukup tinggi yaitu 10.673,59 ppm dan 10.262,39 ppm pada tepung tulang tenggok. Kandungan yang tinggi ini memberikan peluang pemanfaatan tulang hiu sebagai sumber kalsium. Hasil analisa kandungan Ca pada tulang ikan hiu disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Kadar Kalsium Tulang Ikan Hiu

Sampel	Kadar Ca (ppm)	Rata-rata
TS 1	9772,95	9772,92
TS 2	9772,89	
PS 1	9864,8	9864,77
PS 2	9864,74	
TT 1	10673,63	10673,59
TT 2	10673,55	
TP 1	10262,43	10262,39
TP 2	10262,34	

Osteoporosis atau penyakit tulang keropos adalah salah satu penyakit yang menimpa tulang karena berkurangnya massa dan kepadatan tulang. Akibat dari osteoporosis adalah tulang-tulang menjadi rapuh dan mudah patah akibat kepadatan tulang berkurang. Dokter Spesialis Gizi Klinik Departemen Ilmu Gizi FKUI, Inge Permadhi dalam Rimanews.com menyatakan bahwa sebagian orang yang mengalami osteoporosis, tidak menyadarinya dan tidak merasakan sakit (*silent disease*) dan ketahuan setelah tulang patah. Untuk mencegah terjadinya osteoporosis tersebut dapat dimulai dengan menerapkan pola makan sehat yakni jumlah kalori yang dimakan sesuai dengan kebutuhan dan komposisinya harus seimbang, selain itu perlu mengkonsumsi makanan yang tinggi kalsium untuk memenuhi kebutuhan kalsium tulang (Anonymous, 2012b). Tulang hiu yang mengandung kalsium cukup tinggi memiliki potensi sebagai sumber kalsium yang dapat digunakan dalam fortifikasi makanan maupun minuman yang rendah kandungan kalsiumnya seperti susu kedele.

4.3. Profil Asam Amino Ikan Hiu

Analisis profil asam amino menggunakan HPLC (*High-performance liquid chromatography*). Effendi (2004), menyatakan bahwa analisis menggunakan metode ini memiliki kelebihan yaitu mampu memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran, mudah melaksanakannya, kecepatan analisis dan kepekaan yang tinggi, dapat dihindari terjadinya dekomposisi / kerusakan bahan yang dianalisis, resolusi yang baik, dapat digunakan bermacam-macam detektor, kolom dapat digunakan kembali dan mudah melakukan "sample recovery". Hasil analisis profil asam amino tulang hiu bagian tenggok dan bagian punggung disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Analisis Asam Amino Tulang Ikan Hiu

Asam Amino	Konsentrasi Asam Amino (%)					
	1	2	3	4	5	6
Aspartic Acid	0.338	0.402	1.415	1.628	1.601	1.276
Glutamic Acid	0.795	0.984	3.258	3.996	3.738	1.708
Serine	0.152	0.192	0.708	0.807	0.980	1.283
Histidine	0.094	0.084	0.381	0.366	0.389	1.275
Threonine	0.304	0.560	1.618	2.120	1.496	1.389
Alanine	0.598	0.811	2.934	3.746	2.206	1.508
Arginine	0.717	0.731	3.250	4.000	3.187	2.272
Valine	0.179	0.422	1.146	1.409	1.067	1.546
Proline	0.087	0.090	0.394	0.380	0.481	1.512
Methionine	0.038	0.110	0.310	0.261	0.153	3.077
Isoleucine	0.168	0.184	0.679	0.888	0.716	1.143
Phenylalanine	0.133	0.215	0.550	1.002	0.959	2.531
Leucine	0.182	0.163	0.708	0.679	0.773	1.130
Glutamine	0.331	0.267	1.048	1.452	1.385	1.146
Lysine	0.323	0.265	1.065	0.923	1.014	0.935
	4.439	5.480	19.464	23.656	20.145	23.731

Keterangan :

1: TS 3: TT 5: TS Freeze dried
 2: PS 4: TP 6: TP Freeze dried

Data pada Tabel 5 menunjukkan bahwa terdapat 15 jenis asam amino yang teridentifikasi dalam tulang hiu, 9 jenis asam amino adalah asam amino esensial. Asam amino esensial adalah asam amino yang dibutuhkan oleh tubuh namun tubuh tidak mampu untuk mensintesisnya sehingga asam amino esensial tersebut sangat penting disuplai dari luar melalui makanan. Total asam amino esensial pada tulang hiu disajikan pada Tabel 6

Tabel 6. Komposisi Asam Amino Esensial Pada Tulang Ikan Hiu

Asam Amino	Konsentrasi Asam Amino (%)					
	1	2	3	4	5	6
Histidine	0.094	0.084	0.381	0.366	0.389	1.275
Threonine	0.598	0.811	2.934	3.746	2.206	1.508
Arginine	0.717	0.731	3.250	4.000	3.187	2.272
Methionine	0.038	0.110	0.310	0.261	0.153	3.077
Valine	0.168	0.184	0.679	0.888	0.716	1.143
Phenylalanine	0.133	0.215	0.550	1.002	0.959	2.531
Isoleucine	0.182	0.163	0.708	0.679	0.773	1.130
Leucine	0.331	0.267	1.048	1.452	1.385	1.146
Lysine	0.323	0.265	1.065	0.923	1.014	0.935
Total esensial	2,584	2,83	10,925	13,317	10,782	15,017
Total asam amino	4.439	5.480	19.464	23.656	20.145	23.731
% as. amino esensial	58,211	51,642	56,129	56,294	53,522	63,280

Keterangan :

1: TS 3: TT 5: TS Freeze dried
 2: PS 4: TP 6: TP Freeze dried

Data pada Tabel 6 menunjukkan bahwa % asam amino esensial tertinggi adalah tepung tulang punggung yang dikeringkan dengan freeze dryer, namun nilai tersebut tidak terlalu jauh perbedaannya dengan % asam amino yang kering oven sehingga untuk meminimalkan biaya produksi maka sebaiknya tulang hiu dikeringkan secara alami dengan

panas matahari atau mesin pengering. Asam amino esensial tertinggi adalah asam amino arginin pada sampel tepung punggung yaitu 4,00%. Dedi (2012), menyatakan bahwa asam amino arginin penting untuk kesehatan reproduksi pria karena 80% cairan semen terdiri dari arginin selain itu juga membantu detoksifikasi hati pada sirosis hati dan fatty liver. Suryaningrum, Diah dan Murniyati (2011) menambahkan bahwa arginin juga membantu meningkatkan kesehatan otot dan mengurangi pembentukan lemak tubuh serta dapat menghambat pertumbuhan kanker payudara.

Kesimpulan

1. Komposisi proksimat tulang hiu baik bagian tenggok maupun bagian punggung memiliki kandungan protein dan kalsium yang cukup tinggi sehingga mempunyai potensi untuk dimanfaatkan sebagai sumber protein dan kalsium.
2. Profil asam amino tulang hiu baik tenggok maupun punggung memiliki komposisi dan kandungan yang cukup baik terutama kandungan asam amino esensial arginin pada tulang punggung cukup tinggi.

Daftar Pustaka

- Apriyantono, A., D. Fardiaz, Ni Luh P., Sadarmawati dan Slamet B. 1989. Petunjuk Laboratorium Analisis Pangan. PAU – Pangan dan Gizi IPB. Bogor.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of The Association of official Analytical Chemists 15th ed. Arlington:AOAC.
- Anonymous. 2012a. Glucosamine Hydrochloride (HCl) and Joint Pain. Ingredients. htm. <http://www.prescription2000.com>. Akses tanggal 15 Oktober 2012.
- Anonymous. 2012b. Konsumsi Kalsium Bisa Cegah Osteoporosis. Konsumsi Kalsium Bisa Cegah Osteoporosis Koran Online Indonesia Berjuang Tanpa Kebencian.htm <http://www.rimanews.com>. Akses 20 Oktober 2012.
- Dedi, R., 2012. Asam Amino Esensial dan Non Esensial. htm. <http://dediramdani.blogspot.com>. Akses 10 Agustus 2012
- Effendi, DLP., 2004. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Dalam Bidang Farmasi. Jurusan Farmasi. Fakultas Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatera Utara Digitized by USU digital library.
- Institute of Medicine and National Research Council (IOM). 2002. Dietary Supplement Ingredient Prototype Monographs. Washington DC.
- Lene, W. and L. Comac. 1992. *Shark Don't Get Cancer*. Avery Publish Group. Inc. New York.
- Nur, M.A. Adijuwana H. and Kosasih. 1992. Teknik Laboratorium. PAU Ilmu Hayati. IPB Bogor.
- Suryaningrum, D., Diah I. Dan Murniyati. 2011. Aneka Produk Olahan Lele. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. Jakarta. ISBN 978-602-96199-8-0.
- Yudana, Agung, 2005, *Turahi Musuh Baru Kanker*, <http://www.Pondokrenungan.com>, dibuka tanggal 24 September 2005.