

Komposisi Kimia Hidrolisat Protein Jeroan Ikan dengan Konsep Autolisis Menggunakan Enzim Internal pada Ikan

Chemical Composition of Fish Viscera Protein Hydrolysate autolyzed by Fish Internal Enzyme

Made Suhandana*, Ginanjar Pratama, Jumsurizal, R. Marwita Sari Putri, Rizki Dwi Septyaningtyas

Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan
Universitas Maritim Raja Ali Haji, Tanjung Pinang, Kepulauan Riau

^{*)}Penulis untuk korespondensi: madesuhandana@gmail.com

ABSTRACT

This study aims to analyze the amino acid composition of fish viscera protein hydrolysate. Optimum hydrolysis process of fish viscera occurs at 60 °C with 4 hours hydrolysis process. Protein content of fish viscera hydrolysate was 54.36%. Hydrolyzates of fish viscera which are autolysis using internal enzymes have 18.12% lipid content. The defatting process is needed to reduce fat content in raw materials so that the hydrolysis process can run optimally. Hydrolysate of fish viscera contains several types of amino acids such as histidine, threonine, proline, tyrosine, leucine, aspartic acid, lysine, glycine, arginine, alanine, valine, isoleucine, phenylalanine, glutamic acid and serine. The highest level of amino acids is glutamic acid followed by leucine. The lowest amino acid is tyrosine.

Keywords: amino acid, fish protein hydrolysate, proximate

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis komposisi asam amino yang terkandung pada hidrolisat protein jeroan ikan yang di autolisis menggunakan enzim internal pada ikan. Hidrolisis protein jeroan ikan optimum terjadi pada suhu 60°C dengan waktu 4 jam. Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar protein hidrolisat protein jeroan ikan sebesar 54,36%. Hidrolisat jeroan ikan yang diautolisis menggunakan enzim internal memiliki kandungan sebesar 18,12%. Proses defatting sangat dibutuhkan untuk menurunkan kandungan lemak pada bahan baku sehingga proses hidrolisis bisa berjalan dengan baik. Hidrolisat protein jeroan ikan mengandung beberapa jenis asam amino seperti histidin, treonin, prolin, tirosin, leusin, asam aspartat, lisin, glisin, argini, alanin, valin, isoleusin, fenilalanin, asam glutamat dan serin. Kadar asam amino yang paling tinggi adalah asam glutamat yang diikuti oleh leusin. Asam amino yang paling rendah adalah tirosin.

Kata kunci: Asam amino, hidrolisat protein ikan, proksimat

PENDAHULUAN

Proses pengolahan ikan menghasilkan output berupa produk dan limbah yang jarang dimanfaatkan. Limbah hasil perikanan memiliki potensi yang masih menjanjikan. Jeroan ikan memiliki bobot 10-15% (tergantung pada spesies) dari biomassa ikan (Bhaskar & Mahendrakar, 2008). (Nurhayati, Desniar, & Suhandana, 2013) menemukan bahwa jeroan ikan memiliki kandungan protein sebesar 16,72%. (Ovissipour et al., 2008) juga menemukan bahwa jeroan ikan mengandung protein yang tidak berbeda jauh, yaitu sebesar 15,48%. Produksi jeroan ikan yang besar dan

potensi yang dimiliki perlu diimbangi dengan pemanfaatan limbah. Oleh karena itu, perlu dilakukan usaha untuk memanfaatkan jeroan ikan tersebut menjadi produk yang lebih bernilai tambah.

Kandungan protein pada jeroan ikan merupakan bahan baku yang potensial sebagai hidrolisat protein. Hidrolisat protein merupakan produk intermediet yang bisa diolah menjadi produk bernilai tambah. Hidrolisat protein dapat digunakan sebagai pepton (Nurhayati et al., 2013) atau peptida dengan aktivitas antioksidan (Jia et al., 2010) aktivitas antiproliferatif pada sel kanker payudara (Picot et al., 2006).

Hidrolisis protein secara sempurna dapat dilakukan menggunakan enzim proteolitik. Enzim proteolitik yang sering digunakan adalah papain, alkalase, atau enzim yang diisolasi dari isi perut ikan (Ariyani, Saleh, Tazwir, & Hak, 2003). Proses hidrolisis protein terbaik menggunakan enzim proteolitik. Enzim proteolitik yang digunakan adalah proyamex (Dey & Dora, 2014), flavourzyme (Dey & Dora, 2014), Alkalase (Dong et al., 2008), papain, tripsin, pepsin dan kimotripsi (Ko, Kim, & Jeon, 2012)

Jeroan ikan secara alami memiliki enzim-enzim yang berperan dalam proses pencernaan makanan. (Prasertan & Prachumratana, 2008) menyatakan bahwa spesies tuna yang ditangkap dari wilayah yang berbeda memiliki ukuran jeroan yang berbeda. Jeroan ikan tuna mengandung aktivitas enzim yang berbeda. Limpa dari yellowfin tuna mengandung aktivitas protease tertinggi (53,38 U/mL dengan aktivitas spesifik 2,56 U/mg) sedangkan pankreas mengandung aktivitas lipase tertinggi (0,72 U/mL dengan aktivitas spesifik 0,03 U/mg).

Hidrolisis protein menghasilkan komponen yang lebih sederhana berupa peptida dan asam amino. Hasil dari pemecahan oleh enzim proteolitik berupa campuran asam amino dan polipeptida dengan panjang yang bervariasi. Kandungan asam amino pada hidrolisat protein ikan perlu diteliti untuk menduga potensi pemanfaatan yang dapat dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk melihat komposisi kimia pada hidrolisat protein ikan yang dihidrolisis menggunakan waktu dan suhu optimum yang telah ditentukan

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Penelitian ini menggunakan jeroan ikan yang diambil dari industri pengolahan ikan dan pasar tradisional di Kabupaten Bintan, Provinsi Kepulauan Riau. Sampel dipreparasi di laboratorium Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Maritim Raja Ali Haji. Bahan-bahan lain yang digunakan adalah coomassive brilliant blue G-250, etanol 95%, asam fosfat 85%. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: oven (Marmmer), timbangan digital, *water bath*, pH meter, nylon mesh 375 mesh, timbangan

analitik, inkubator, spektrofotometer *Ultra Performance Liquid Chromatography* (UPLC)

Metode Penelitian

Metode penelitian menggunakan metode *experimental laboratoris* dan data yang diperoleh dianalisis menggunakan metode rancangan acak lengkap dan secara deskriptif.

Prosedur kerja

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahap, yaitu persiapan sampel, tahap penentuan suhu hidrolisis enzim terbaik, tahap penentuan waktu hidrolisis terbaik, dan tahap karakterisasi hidrolisat

Persiapan sampel

Persiapan sampel dilakukan dengan pembersihan sisa kotoran pada jeroan ikan. Sampel dipisahkan dengan pengotor-pengotor yang ditemukan. Sampel dicacah dan dihancurkan kembali dengan blender. Sampel tidak mengalami proses pemanasan atau inaktivasi enzim sebelum disimpan dalam freezer pada suhu -20°C.

Penentuan suhu hidrolisis terbaik

Tahap penelitian ini bertujuan untuk menentukan suhu terbaik yang digunakan untuk hidrolisis enzimatis jeroan ikan. Suhu yang digunakan adalah 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 °C. Suhu hidrolisis terbaik ditentukan dengan menghitung protein terlarut pada hidrolisat

Penentuan waktu hidrolisis terbaik

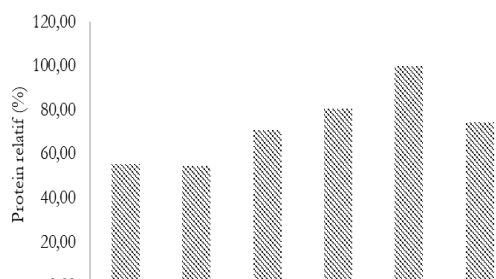
Tahap ini bertujuan untuk mengetahui lama waktu terbaik untuk menghidrolisis protein jeroan ikan. Waktu yang digunakan, yaitu 1, 2, 3, 4, dan 5 jam. Waktu hidrolisis terbaik ditentukan dengan menghitung protein terlarut pada hidrolisat.

Karakterisasi hidrolisat jeroan ikan

Karakterisasi hidrolisat protein ikan meliputi analisis proksimat hidrolisat jeroan ikan, analisis asam amino. Uji proksimat terdiri dari Protein (%), Lemak (%), Abu(%), Air(%) dengan menggunakan metode SNI 1992-01-2891 yang diuji di laboratorium Saraswanti indo genetec bogor.

Analisis Komposisi Asam Amino (SIG, 2013)

Pengujian asam amino dengan metode *Ultra Performance Liquid Chromatography* (UPLC) Analisis asam amino menggunakan UPLC terdiri beberapa tahap yaitu. Sampel ditimbang sebanyak 0.1 g dihancurkan dan dimasukkan ke tabung reaksi tertutup. Larutan sampel ditambah HCl 6 N sebanyak 5-10 mL, dihidrolisis dalam oven pada suhu 110°C selama 22 jam, lalu di dinginkan pada suhu kamar dan dipindahkan ke labu takar 500 mL. kemudian ditambahkan aquabides hingga tanda batas dan disaring dengan filter 0,45 µL dan dipipet 10 µL, tambahkan 70 µL



Gambar 1 Hasil pengujian protein terlarut pada hidrolisat protein jeroan ikan yang dihidrolisis pada suhu tertentu.

AccQ Fluor Borat dan divortex. Kemudian ditambahkan 20 µL reagen Flour Adan divortek dan diamkan selama 1 menit dan di inkubasi selama 10 menit pada suhu 55°C. kemudian disuntik pada UPLC sebanyak 1 µL dengan kondisi kromotografi menggunakan kolom ACCQ-Tag Ultra C18, temperatur 49°C, fase gerak sistem komposisi gradient detektorm PDA, laju alir 0,7 µL/menit dan panjang gelombang 260 nm.

Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati pada penelitian ini meliputi analisis proksimat (air, abu, protein dan lemak), dan profil asam amino.

Analisa Data

Data yang diperoleh dari hasil pengujian proksimat, dan asam amino kemudian diolah menggunakan Microsoft Excel Professional Plus 2013 dan dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

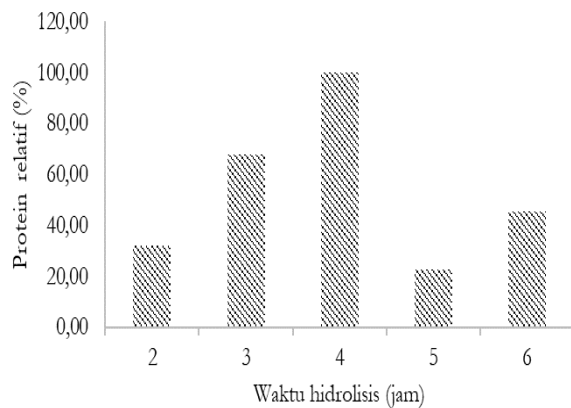
Suhu Hidrolisis Terbaik

Suhu merupakan salah satu faktor yang berperan penting dalam reaksi enzimatik. Suhu dapat meningkatkan pergerakan partikel dan memperbesar peluang antara substrat dan enzim untuk bereaksi. Peningkatan suhu inkubasi mampu meningkatkan aktivitas namun pada suhu tertentu aktivitas akan menurun akibat perubahan konformasi enzim dan substrat. Hampir semua enzim mengalami denaturasi apabila dipanaskan diatas suhu fisiologisnya. Aktivitas mengalami penurunan akibat adanya denaturasi (Leskovac, 2004).

Hasil penelitian menunjukkan suhu terbaik untuk proses hidrolisis adalah pada suhu 60 °C. Hidrolisis menggunakan enzim internal yang ada pada ikan dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti spesies ikan dan derajat hidrolisis. Suhu optimum proses hidrolisis pada kulit Alaska pollack adalah 55 °C (Jia et al., 2010). Suhu optimum proses hidrolisis jeroan Catla catla adalah 50 °C (Bhaskar, Benila, Radha, & Lalitha, 2008). Hidrolisis limbah udang menggunakan alkalase memiliki derajat hidrolisis tertinggi pada suhu 59.37 °C (Dey & Dora, 2014). Hidrolisat protein ikan dari fish soluble concentrate dihidrolisis menggunakan flavourzyme dan kojizyme. Suhu optimum proses hidrolisis menggunakan flavourzyme adalah 45°C sedangkan dengan kojizyme memiliki suhu optimum proses hidrolisis 50°C (Nilsang, Lertsiri, Suphantharika, & Assavanig, 2005). Penggunaan suhu yang lebih tinggi diduga menyebabkan oksidasi pada lemak yang terkandung pada bahan baku.

Waktu Hidrolisis Terbaik

Waktu hidrolisis merupakan salah satu faktor yang menentukan terbentuknya kompleks enzim dan substrat. Laju hidrolisis enzimatik menurun dan mencapai stasioner ketika tidak terjadi proses hidrolisis secara nyata oleh enzim. Sejumlah besar hidrolisat protein terlarut dihasilkan ketika tahap awal hidrolisis, namun ketika sejumlah enzim ditambahkan ketika fase stasioner dari proses hidrolisis tidak terjadi peningkatan hasil hidrolisis. (Shahidi, Han, & Synowiecki, 1995).



Gambar 2. Hasil pengujian protein terlarut pada hidrolisat protein jeroan ikan yang dihidrolisis pada waktu tertentu.

Proses hidrolisis yang dilakukan lebih dari 4 jam menunjukkan hasil yang lebih rendah. Hal ini diduga karena terjadi oksidasi sehingga proses hidrolisis oleh enzim proteolitik terhambat. Terjadinya oksidasi perlu diminimalisir untuk mendapatkan hidrolisat dengan rendemen yang lebih banyak. Mengurangi waktu antara penggilingan jaringan dan inisiasi hidrolisis menurunkan peluang terjadinya oksidasi lipid dan juga menurunkan efek penghambatan peroksidasi terhadap proteolisis (Zamora & Hidalgo, 2001). Mengurangi pengaruh terjadinya oksidasi selama hidrolisis juga mampu menurunkan efek penghambatan peroksidasi yang mungkin dapat menghambat pelekatan enzim pada substrat. Proses hidrolisis perlu dilakukan pada keadaan yang minim oksigen (Liu, Morioka, Itoh, & Obatake, 2000).

Hasil Uji Proksimat

Pengujian proksimat hidrolisat protein jeroan ikan memberikan informasi kandungan lemak, protein, air dan abu yang terdapat pada hidrolisat protein jeroan ikan. Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar protein hidrolisat protein jeroan ikan sebesar 54,36%. Kadar protein pada hidrolisat protein ini lebih tinggi dibandingkan kandungan protein pada pepton jeroan ikan tongkol yang memiliki nilai 50,18%.

Perbedaan yang signifikan terlihat dari kandungan lemak pada hidrolisat protein jeroan ikan. Hidrolisat jeroan ikan yang dihidrolisis

menggunakan enzim internal memiliki kandungan sebesar 18,12% sangat berbeda jauh dibandingkan dengan kandungan lemak pada pepton jeroan ikan. Perbedaan ini diduga disebabkan oleh kandungan lemak bahan baku yang tinggi. Proses defatting sangat dibutuhkan untuk menurunkan kandungan lemak pada bahan baku.

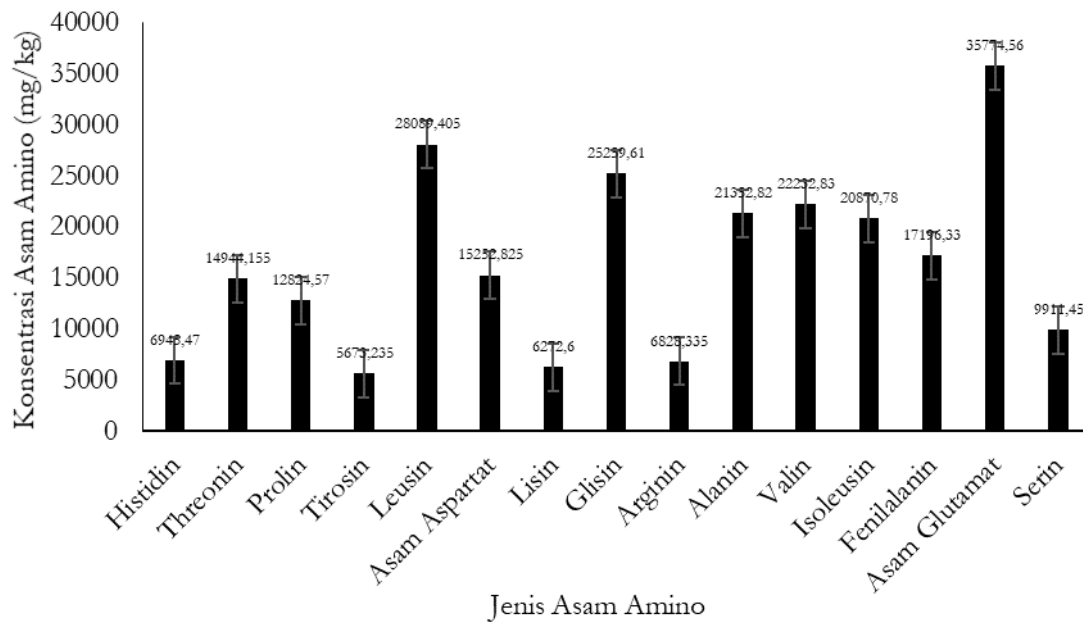
Daging ikan yang mengalami proses defatting memiliki kandungan lemak yang lebih rendah. Daging *Selaroides leptolepis* yang mengalami proses defatting dengan penambahan isopropanol memiliki kandungan lemak sebesar 0,67%. Sedangkan daging yang tidak mengalami proses defatting memiliki kandungan lemak sebesar 3,32% (Klompong, Benjakul, Kantachote, & Shahidi, 2007). Penggunaan Proses defatting menggunakan panas dapat memberikan dampak negatif jika ingin memanfaatkan endogenous enzyme. Penghilangan lemak sebaiknya dilakukan sebelum proses hidrolisis karena dapat menyebabkan oksidasi ((Mackie, 1982).

Tabel 1. Hasil Uji Proksimat Hidrolisat Protein Ikan

Parameter	Unit	Hasil	Pembanding
Lemak	%	18,12	0,47
Protein	%	54,36	50,18
Kadar Air	%	7,87	7,66
Kadar Abu	%	5,38	2,34

Hasil Uji Kandungan Asam Amino

Hidrolisis jeroan ikan menggunakan enzim internal yang ada pada ikan menghasilkan komponen protein yang lebih sederhana berupa peptida dan asam amino. Hidrolisis menghasilkan asam amino bebas dan peptida dengan rantai pendek yang dapat dimanfaatkan untuk farmasetika dan makanan/minuman fungsional karena profil yang dimiliki oleh asam amino tersebut (Chalamaiah, Dinesh Kumar, Hemalatha, & Jyothirmayi, 2012). Komposisi asam amino dari hidrolisat protein memiliki nilai nutrisi dan mempengaruhi sifat fungsional (Santos, Martins, Salas-Mellado, & Prentice, 2011)



Gambar 3 Komposisi asam amino hidrolisat protein jeroan ikan yang dihidrolisis menggunakan enzim internal

Hidrolisat protein jeroan ikan mengandung beberapa jenis asam amino seperti histidin, treonin, prolin, tirosin, leusin, asam aspartat, lisin, glisin, argin, alanin, valin, isoleusin, fenilalanin, asam glutamat dan serin. Kadar asam amino yang paling tinggi adalah asam glutamat yang diikuti oleh leusin. Asam amino yang paling rendah adalah tirosin.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa profil asam amino dari hidrolisat persian sturgeon lebih tinggi dibandingkan dengan profil asam amino yang disarankan oleh FAO / WHO untuk orang dewasa (Ovissipour et al., 2008). Hasil pengujian asam amino pada hidrolisat jeroan ikan *Catla catla* juga menunjukkan kandungan asam glutamat yang tinggi dan memiliki nilai yang sama dengan persyaratan yang ditunjukkan oleh FAO/WHO (Bhaskar & Mahendrakar, 2008). Protein hidrolisat mengandung sejumlah besar asam amino esensial (48,04%) dan memiliki arginin dan lisin sebagai asam amino yang dominan (Thiansilakul, Benjakul, & Shahidi, 2007).

Kandungan asam amino pada hidrolisat protein ikan memiliki berbagai potensi yang dapat dimanfaatkan. Hidrolisat kulit Alaska pollack memiliki oligopeptida yang mengandung dua sampai 8 asam amino dengan aktivitas antioksidan (Jia et al., 2010). Hidrolisat limbah

udang memiliki kandungan flavor enhancers, glutamic acid, aspartic acid, glycine and alanine yang tinggi (Dey & Dora, 2014).

KESIMPULAN

Hidrolisis protein jeroan ikan optimum terjadi pada suhu 60°C dengan waktu 4 jam. Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar protein hidrolisat protein jeroan ikan sebesar 54,36%. Hidrolisat jeroan ikan yang diautolisis menggunakan enzim internal memiliki kandungan sebesar 18,12%. Proses defatting sangat dibutuhkan untuk menurunkan kandungan lemak pada bahan baku sehingga proses hidrolisis bisa berjalan dengan baik. Hidrolisat protein jeroan ikan mengandung beberapa jenis asam amino seperti histidin, treonin, prolin, tirosin, leusin, asam aspartat, lisin, glisin, argin, alanin, valin, isoleusin, fenilalanin, asam glutamat dan serin. Kadar asam amino yang paling tinggi adalah asam glutamat yang diikuti oleh leusin. Asam amino yang paling rendah adalah tirosin.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi atas dukungan melalui program hibah

Penelitian Dosen Pemula. Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada semua pihak yang membantu menyelesaikan riset ini

DAFTAR PUSTAKA

- Ariyani, F., Saleh, M., Tazwir, & Hak, N. (2003). Optimasi proses produksi hidrolisat protein ikan (HPI) dari mujair (*Oreochromis mossambicus*). *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 9(5), 11–21.
- Bhaskar, N., Benila, T., Radha, C., & Lalitha, R. G. (2008). Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of Catla (*Catla catla*) for preparing protein hydrolysate using a commercial protease. *Bioresource Technology*, 99(2), 335–343. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.12.015>
- Bhaskar, N., & Mahendrakar, N. S. (2008). Protein hydrolysate from visceral waste proteins of Catla (*Catla catla*): Optimization of hydrolysis conditions for a commercial neutral protease. *Bioresource Technology*, 99(10), 4105–4111. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.09.006>
- Chalamaiah, M., Dinesh Kumar, B., Hemalatha, R., & Jyothirmayi, T. (2012). Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. *Food Chemistry*, 135(4), 3020–3038. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.100>
- Dey, S. S., & Dora, K. C. (2014). Optimization of the production of shrimp waste protein hydrolysate using microbial proteases adopting response surface methodology. *Journal of Food Science and Technology*, 51(1), 16–24. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0455-4>
- Dong, S., Zeng, M., Wang, D., Liu, Z., Zhao, Y., & Yang, H. (2008). Antioxidant and biochemical properties of protein hydrolysates prepared from Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Food Chemistry*, 107(4), 1485–1493. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.011>
- Jia, J., Zhou, Y., Lu, J., Chen, A., Li, Y., & Zheng, G. (2010). Enzymatic hydrolysis of alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) skin and antioxidant activity of the resulting hydrolysate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(4), 635–640. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3861>
- Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D., & Shahidi, F. (2007). Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food Chemistry*, 102(4), 1317–1327. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.016>
- Ko, S. C., Kim, D., & Jeon, Y. J. (2012). Protective effect of a novel antioxidative peptide purified from a marine *Chlorella ellipsoidea* protein against free radical-induced oxidative stress. *Food and Chemical Toxicology*, 50(7), 2294–2302. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.04.022>
- Leskovac, V. (2004). *Comprehensive Enzyme Kinetics*. New York: Kluwer Academic Publishers.
- Liu, C., Morioka, K., Itoh, Y., & Obatake, A. (2000). Contribution of lipid oxidation to bitterness and loss of free amino acids in the autolytic extract from fish wastes: Effective utilization of fish wastes, (April 1999), 343–348.
- Mackie, I. M. (1982). General review of fish protein hydrolysates. *Animal Feed Science and Technology*, 7(2), 113–124. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(82\)90045-1](https://doi.org/10.1016/0377-8401(82)90045-1)
- Nilsang, S., Lertsiri, S., Suphantharika, M., & Assavanig, A. (2005). Optimization of enzymatic hydrolysis of fish soluble concentrate by commercial proteases. *Journal of Food Engineering*, 70(4), 571–578. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.10.011>
- Nurhayati, T., Desniar, & Suhandana, M. (2013). Pembuatan pepton secara enzimatis menggunakan bahan baku jeroan ikan tongkol. *JPHPI*, 16(1).
- Ovissipour, M. R., Abedian, a M., Motamedzadegan, a, Rasco, B., Safari, R., & Shahiri, H. (2008). The effect of enzymatic hydrolysis on amino acids composition of Persian sturgeon

- (*Acipenser persicus*) viscera protein hydrolysate. *18th National Congress on Food Technology*, 1994–1996.
- Picot, L., Bordenave, S., Didelot, S., Fruitier-Arnaudin, I., Sannier, F., Thorkelsson, G., Piot, J. M. (2006). Antiproliferative activity of fish protein hydrolysates on human breast cancer cell lines. *Process Biochemistry*, *41*(5), 1217–1222. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.11.024>
- Prasertsan, P., & Prachumratana, T. (2008). Comparison and selection of protease and lipase sources from visceral organs of three tuna species, *30*(1), 73–76.
- Santos, S. D. dos, Martins, V. G., Salas-Mellado, M., & Prentice, C. (2011). Evaluation of Functional Properties in Protein Hydrolysates from Bluewing Searobin (*Prionotus punctatus*) Obtained with Different Microbial Enzymes. *Food Bioprocess Technol*, *4*, 1399–1406. <https://doi.org/DOI 10.1007/s11947-009-0301-0>
- Shahidi, F., Han, X., & Synowiecki, J. (1995). Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). *Food Chemistry*, *53*, 285–293. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(95\)93934-J](https://doi.org/10.1016/0308-8146(95)93934-J)
- Thiansilakul, Y., Benjakul, S., & Shahidi, F. (2007). Compositions, functional properties and antioxidative activity of protein hydrolysates prepared from round scad (*Decapterus maruadsi*). *Food Chemistry*, *103*(4), 1385–1394. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.10.055>
- Zamora, R., & Hidalgo, F. J. (2001). Inhibition of proteolysis in oxidized lipid-damaged proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *49*(12), 6006–6011. <https://doi.org/10.1021/jf0102719>