

PENGARUH PH DAN KECEPATAN PENGADUKAN PADA EKSTRAKSI PROTEIN DARI TULANG AYAM DENGAN SOLVENT LARUTAN NAOH

Beatrice L.M.Tanjung (L2C007019) dan Fadilla H.Utami (L2C007041)

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro
Jln. Prof. Sudarto SH., Tembalang, Semarang, 50239, Telp/Fax: (024) 7460058
Pembimbing: Dr. Andri Cahyo Kumoro, S.T., M.T.

Abstrak

Selama ini, limbah tulang ayam hanya digunakan untuk bahan pembuatan pakan ternak atau pupuk sehingga nilai ekonomisnya sangat rendah. Padahal, tulang ayam mengandung bahan organik yang bersifat fungsional seperti protein. Untuk mengatasi masalah tersebut, salah satu cara pemanfaatan limbah tulang ayam dapat dilakukan dengan mengekstrak protein yang terkandung di dalamnya. Penelitian ini ditujukan untuk mengkaji pengaruh pH dan kecepatan pengadukan pada ekstraksi protein dari tulang ayam dengan solvent larutan NaOH.

Parameter kendali dalam penelitian ini adalah solvent yang berupa larutan NaOH, waktu ekstraksi selama 1 jam, temperatur 80°C, rasio serbuk tulang ayam : solvent (g:mL) = 1:4, dan ukuran partikel 425 µm. Variabel operasi yang dikaji meliputi pH: 9, 10, 11 dan kecepatan pengadukan: 100, 200, 300 ppm. Optimasi dilakukan dengan RSM (Response Surface Methodology) untuk memperoleh pH dan kecepatan pengadukan yang optimum.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin cepat pengadukan dan semakin basa kondisi ekstraksi, maka semakin besar kadar protein yang terekstrak. Namun, pada kecepatan pengadukan yang terlalu besar (340 ppm) dan kondisi yang terlalu basa (pH 11,5) justru menurunkan efektivitas ekstraksi. Kadar protein tertinggi yang terekstrak dicapai pada kondisi ekstraksi menggunakan pH 10 dan kecepatan pengadukan 200 ppm selama 60 menit. Dari analisis ANOVA diperoleh bahwa variabel yang paling berpengaruh adalah kecepatan pengadukan.

Kata kunci: ekstraksi; kecepatan pengadukan; pH; protein; RSM; tulang ayam

Abstract

To date, chicken bones waste is only used for the manufacturing of animal feed and fertilizer, so that their economic value is still very low. Chicken bones contain organic material that has functional properties, that is protein. To overcome this problem, one way to explore chicken bones utilizations can be done by a protein extraction process. The objectives of this research are to determine the influence of pH and stirring speed on extraction of protein from chicken bone by NaOH solution.

Control variables in this research were NaOH solution as solvent, extraction time (1 hour), temperature (80°C), the ratio of chicken bones:solvent (g/mL) = 1 : 4, and particle size of bone powder (425 µm). The studied variables are pH: 9, 10, 11 and stirring speed: 100, 200, 300 rpm. The optimization was done by RSM (Response Surface Methodology) to obtain the optimum pH and stirring speed.

The results showed that the faster the stirring speed and the more alkaline conditions of extraction, the more of protein can be extracted. However, at high stirring speed (340 rpm) and too alkaline (pH 11.5) extraction condition, the extraction efficiency decreased. The highest protein content extracted achieved at pH 10 and stirring speed of 200 rpm for 60 minutes. From the ANOVA analysis, it was revealed that the most influential variable was the stirring speed.

Keywords: chicken bones; extraction; , pH; proteins; RSM; stirring speed

1. Pendahuluan

Salah satu sumber protein bagi masyarakat Indonesia adalah daging dari ternak potong. Indonesia merupakan negara yang banyak penduduknya. Dengan demikian, konsumsi daging ayam akan meningkat seiring bertambahnya jumlah penduduk. Konsumsi daging ayam tidak lepas dari masalah tulang yang dihasilkan. Hal ini menimbulkan masalah lingkungan, akibat sisa tulang yang dihasilkan tidak akan menjadi limbah. Oleh karena itu, perlu ditinjau lagi alternatif baru untuk mengoptimalkan manfaat limbah tulang ayam tersebut.

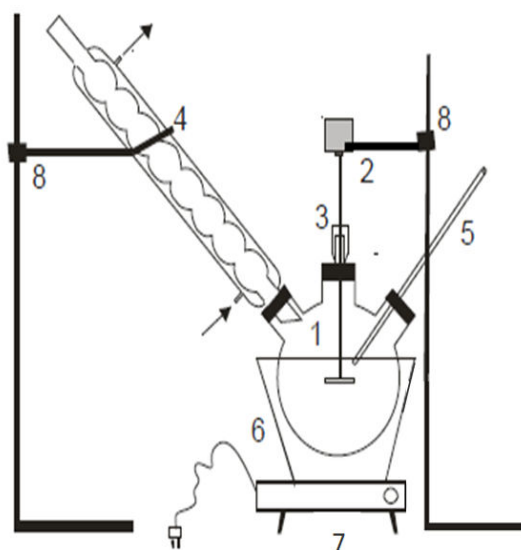
Tulang mengandung bahan anorganik maupun organik yang memiliki banyak manfaat. Komponen anorganik, yaitu kalsium, fosfor, bikarbonat, sitrat, magnesium, natrium, dan lain-lain. Sedangkan komponen organik yang utama adalah protein. Terdapat dua jenis protein dalam tulang, yaitu protein kolagen dan non kolagen (Arcanjo *et al.*, 1994). Kandungan kolagen dalam tulang lebih besar dibanding non kolagen. Protein kolagen memiliki nilai jual tinggi karena dapat digunakan pada pembuatan kosmetik, bahan dasar pembuatan gelatin dan perekat (Prasetyo dan Patra, 2004). Sedangkan protein non kolagen memiliki peranan penting dalam proses mineralisasi.

Protein dalam tulang dapat diambil dengan cara ekstraksi. Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat dari campurannya dengan menggunakan sejumlah massa solvent sebagai tenaga pemisah (Santosa, 2004). Dalam hal ini, ekstraksi protein dari tulang ayam merupakan ekstraksi padat-cair (*leaching*). Ekstraksi protein dari tulang ayam dapat dilakukan dalam keadaan asam maupun basa. Proses ekstraksi protein dari tulang ayam yang dilakukan dalam keadaan asam memerlukan biaya yang lebih besar dibandingkan ekstraksi dalam keadaan basa. Hal ini disebabkan karena suhu ekstraksi yang terlalu rendah (4°C), sehingga diperlukan pendinginan dalam proses ekstraksi. Dalam penelitian ini proses ekstraksi dilakukan dalam keadaan basa. Hal ini dilakukan dengan mempertimbangkan faktor biaya dan kemudahan operasinya.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh pH (derajat keasaman) solvent dan kecepatan pengadukan terhadap ekstraksi protein, serta memperoleh pH dan kecepatan pengadukan yang optimum.

2. Bahan dan Metode Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tulang ayam, kristal NaOH, HCl, dan aquadest. Susunan alat yang digunakan disajikan dalam gambar 1 berikut :



Keterangan:

1. Labu leher tiga
2. Motor pengaduk
3. Pengaduk
4. Pendingin balik
5. Termometer
6. Water bath
7. Kompor listrik
8. Klem dan statif

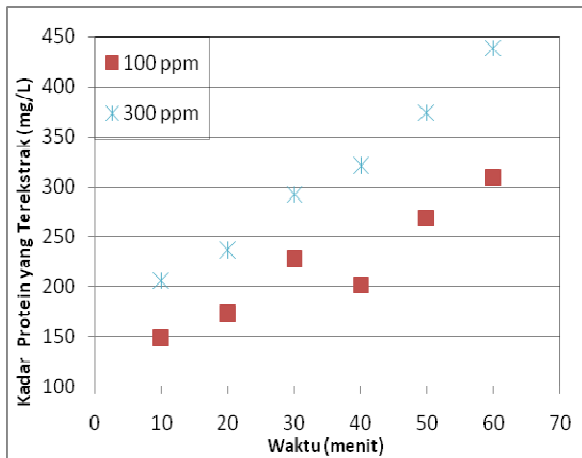
Gambar 1. Rangkaian Alat Percobaan

Larutan NaOH dengan pH yang diinginkan (9, 10, 11) dipanaskan dalam labu leher tiga yang dilengkapi dengan termometer, pendingin leibig, dan pemanas listrik hingga suhunya mencapai 80°C . Kemudian, sebanyak 75 g serbuk tulang ayam dimasukkan ke dalam 300 mL larutan NaOH tersebut. Campuran serbuk tulang ayam dan solvent larutan NaOH lalu diaduk dengan kecepatan pengadukan yang diinginkan (100, 200, 300 ppm). Setiap selang waktu 10 menit, sebanyak 10 mL sampel diambil untuk dianalisa kadar protein totalnya dengan menggunakan metode Kjeldahl. Proses ekstraksi dihentikan setelah 1 jam. Optimasi dilakukan dengan RSM (Response Surface Methodology) untuk memperoleh pH dan kecepatan pengadukan yang optimum.

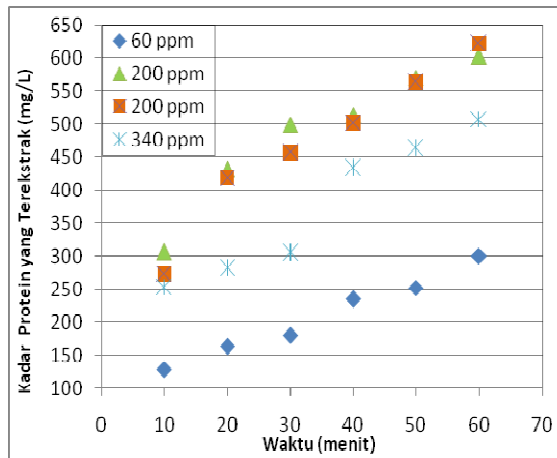
3. Hasil dan Pembahasan

A. Pengaruh Kecepatan Pengadukan terhadap Kadar Protein yang Terekstrak

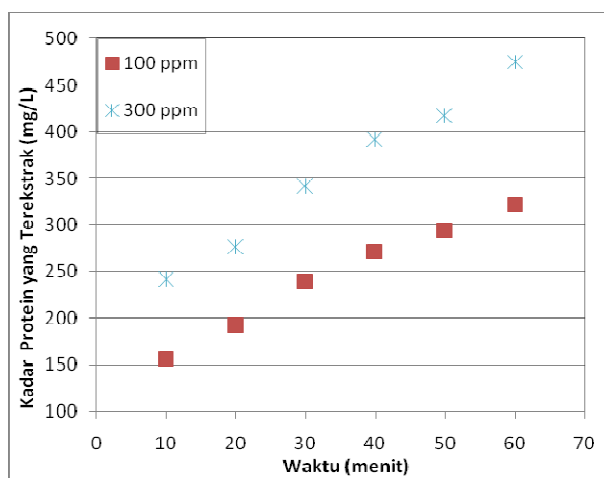
Dalam artikel ini akan dibahas dan dikaji mengenai pengaruh kecepatan pengadukan pada ekstraksi protein dari tulang ayam. Profil pengaruh kecepatan pengadukan pada pH 9, 10, dan 11 dapat dilihat pada Gambar 2, Gambar 3, dan Gambar 4 di bawah ini:



Gambar 2. Pengaruh Kecepatan Pengadukan pada pH 9



Gambar 3. Pengaruh Kecepatan Pengadukan pada pH 10



Gambar 4. Pengaruh Kecepatan Pengadukan pada pH 11

Dari grafik di atas, diperoleh hubungan bahwa semakin cepat pengadukan maka kadar protein yang terekstrak juga semakin besar. Hal ini bisa dilihat dari persamaan Reynolds di bawah ini :

$$N_{Re} = \frac{N \cdot d_p^2 \cdot \rho}{\mu} \tag{1}$$

Dalam penelitian ini, yang diketahui adalah kecepatan sudut (ppm). Oleh karena itu perlu dicari kecepatan liniernya, sehingga persamaan Reynolds di atas menjadi :

$$N_{Re} = \frac{N \cdot d_p^2 \cdot \rho}{\mu} \tag{2}$$

Dimana : N_{Re} = bilangan Reynolds, d = diameter partikel (m), ρ = densitas larutan (g/m^3), N = kecepatan putaran pengadukan (ppm), d_p = diameter pengaduk (m), μ = viskositas larutan ($g/m.s$). Bilangan Reynolds pada berbagai kecepatan pengadukan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Bilangan Reynolds dan Koefisien Perpindahan Massa (k_c) pada Berbagai Kecepatan Pengadukan

Kecepatan Pengadukan (ppm)	Bilangan Reynolds	k_c (cm/s)
60	54,71	$9,7 \times 10^{-4}$
100	91,19	$1,23 \times 10^{-3}$
200	182,38	$1,49 \times 10^{-3}$
300	273,57	$1,69 \times 10^{-3}$
340	310,05	$1,77 \times 10^{-3}$

Dengan semakin besarnya kecepatan pengadukan (N), maka N_{Re} yang didapat juga semakin besar. Naiknya N_{Re} menyebabkan naiknya turbulensi, sehingga kontak antara padatan dengan pelarut menjadi lebih intensif. Akibatnya, difusi protein dari permukaan bubuk tulang ke pelarut semakin banyak, sehingga koefisien transfer massa (k_c) nya semakin besar. Dengan kata lain, semakin cepat putaran pengadukan, maka nilai k_c cenderung meningkat. Oleh karena itu, dapat dilihat pada Gambar 2 dan Gambar 4 bahwa kadar protein yang terekstrak pada kecepatan pengadukan 300 ppm lebih besar daripada kecepatan pengadukan 100 ppm. Begitu juga halnya pada Gambar 3. Kadar protein yang terekstrak pada kecepatan pengadukan 200 ppm lebih besar dibandingkan pada kecepatan pengadukan 60 ppm. Hal tersebut dikarenakan pada kecepatan pengadukan yang lebih rendah, masih terdapat banyak bubuk tulang ayam yang mengambang di atas permukaan cairan, sehingga kontak antar fasenya tidak sempurna. Akibatnya, kadar protein yang terekstrak lebih sedikit.

Akan tetapi, pada Gambar 3, dapat dilihat bahwa pada kecepatan pengadukan 340 ppm, kadar protein yang terekstrak justru lebih rendah dibandingkan kecepatan pengadukan 200 ppm. Hal ini bisa dikarenakan apabila kecepatan pengadukan terlalu besar, maka kecepatan relatif (selisih kecepatan) antara gerakan partikel tulang ayam dengan pelarut menjadi sangat rendah. Dengan demikian, partikel tulang ayam seolah-olah hanya ikut berputar bersama pelarut tanpa disertai transfer massa yang efektif antara pelarut dengan partikel tulang ayam. Hal inilah yang justru mengurangi efektivitas ekstraksi.

Selain dari bilangan Reynold (N_{Re}), pengaruh kecepatan pengadukan juga dapat ditinjau dari harga koefisien transfer massanya (k_c). Harga k_c dapat dihitung dari bilangan Sherwood (Perrys *et al*, 1984) :

$$N_{Sh} = 2 + 0,6 \cdot N_{Re}^{1/2} \cdot N_{Sc}^{1/3} \quad (3)$$

Dimana : N_{Sh} = bilangan Sherwood ($\frac{k_c \times d}{D}$) dan $N_{Sc} = \text{bilangan Schmidt } (\frac{\mu}{\rho \cdot D})$.

Sehingga harga k_c dapat dihitung dengan persamaan:

$$k_c = \frac{D}{d} (2 + 0,6 \cdot N_{Re}^{1/2} \cdot N_{Sc}^{1/3}) \quad (4)$$

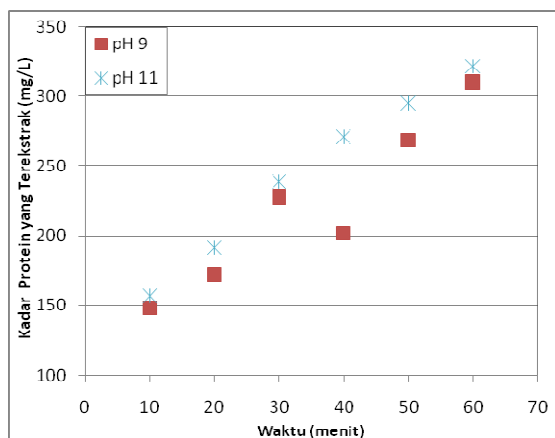
Di mana : D = difusivitas (cm^2/s) dan d = diameter partikel (cm). Besarnya harga koefisien perpindahan massa pada berbagai kecepatan pengadukan disajikan pada Tabel 1.

Dari Tabel 1, dapat dilihat bahwa, semakin besar kecepatan putaran pengadukan, maka harga k_c juga akan bertambah besar. Dalam proses leaching (ekstraksi padat-cair) sebagaimana yang dijalankan pada proses ekstraksi protein dari tulang ayam ini, faktor yang paling berperan dalam laju ekstraksi adalah transfer massa solute tulang ayam dari permukaan padatan melintasi lapisan film cairan menuju ke badan cairan. Dengan semakin tipisnya lapisan film cairan, transfer massa solut menuju badan cairan akan semakin cepat sebab jarak perpindahannya semakin kecil. Adanya pengadukan pada proses leaching ini dimaksudkan untuk memberikan turbulensi pada sistem ekstraksi sehingga akan menyebabkan penurunan ketebalan film cairan pada permukaan padatan. Dengan demikian, film cairan akan semakin tipis dan menyebabkan semakin besar laju ekstraksi atau bertambahnya harga k_c (Nur dkk, 2005).

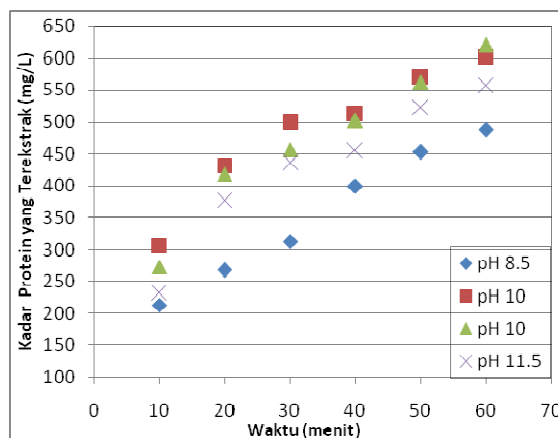
Sebagai pendukung, dari penelitian sebelumnya yang mengekstraksi tanin dari jambu mete dengan pelarut aseton dengan variabel kecepatan pengadukan 500, 600, 700, 800 ppm diperoleh hasil bahwa semakin besar kecepatan pengadukan maka harga k_c juga akan semakin besar ($0,2322 - 1,2678 \text{ g/cm}^2 \cdot \text{menit}$). Hal ini menyebabkan kadar tanin yang terekstrak juga semakin besar (Artati & Fadilah, 2007).

B. Pengaruh pH terhadap Kadar Protein yang Terekstrak

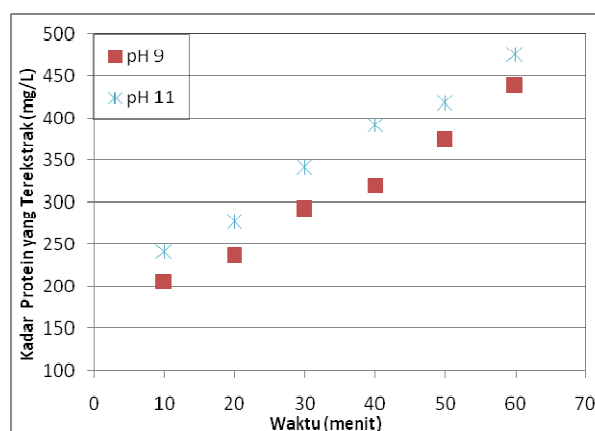
Profil pengaruh pH pada ekstraksi protein dari tulang ayam pada kecepatan pengadukan 100, 200, dan 300 ppm dapat dilihat pada Gambar 5, Gambar 6, dan Gambar 7 di bawah ini:



Gambar 5. Pengaruh pH pada Kecepatan Pengadukan 100 ppm

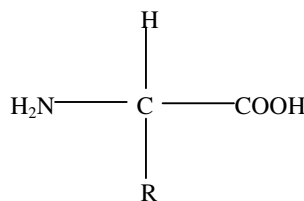


Gambar 6. Pengaruh pH pada Kecepatan Pengadukan 200 ppm



Gambar 7. Pengaruh pH pada Kecepatan Pengadukan 300 ppm

Ekstraksi protein dari tulang ayam dilakukan pada kondisi basa. Dari Gambar 6, dapat diketahui bahwa kadar protein optimum yang terekstrak diperoleh pada pH 10. Pada penelitian ini, kadar protein yang terekstrak pada pH 8.5 paling rendah dibandingkan dengan pH 10 dan 11.5. Hal ini dikarenakan kondisi larutan yang kurang basa, sehingga kemampuan NaOH untuk mengekstrak protein yang terkandung dalam tulang ayam berkurang. Akan tetapi, pada pH 11.5 kadar protein yang terekstrak justru lebih rendah dibandingkan pH 10. Fenomena ini dapat dijelaskan melalui analisis struktur dasar asam amino (Gambar 6) sebagai berikut :



Gambar 8. Struktur Asam Amino

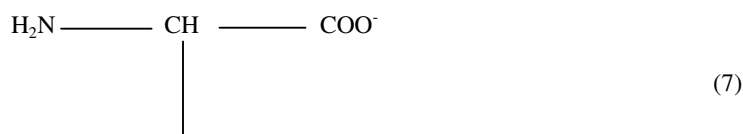
(Lehninger, 1995)

Mekanisme reaksi kimia yang terjadi pada ekstraksi protein dari tulang ayam pada kondisi basa adalah sebagai berikut:



(Poedjiadi, 1994)

Mula-mula gugus karboksilat akan melepaskan ion H^+ , sedangkan gugus amina akan menerima ion H^+ , seperti yang digambarkan pada reaksi di atas. Karena ekstraksi dilakukan dalam kondisi basa, maka ion-ion OH^- akan mengikat ion-ion H^+ pada gugus $-\text{NH}_3^+$. Sehingga, dalam kondisi basa bentuk asam amino akan menjadi :



(Poedjiadi, 1994)

Semakin basa kondisi ekstraksi, maka semakin besar pula konsentrasi ion OH^- yang mampu mengikat ion-ion H^+ pada gugus $-\text{NH}_3^+$. Oleh karena itu, dapat dilihat dari Gambar 5 dan Gambar 7, kadar protein yang terekstrak pada pH 11 lebih besar dibandingkan pH 9. Begitu halnya pada Gambar 6, dimana kadar protein yang terekstrak pada pH 10 lebih besar dibandingkan pH 8,5.

Namun, pada Gambar 6, diperoleh hasil bahwa kadar protein yang terekstrak pada pH 11,5 lebih rendah dibandingkan pH 10. Hal ini disebabkan karena terjadinya degradasi dan denaturasi protein. Denaturasi protein merupakan suatu keadaan dimana protein mengalami perubahan atau perusakan struktur sekunder, tersier dan kuaternernya. Denaturasi ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya pemanasan, suasana asam atau basa yang ekstrim, kation logam berat dan penambahan garam jenuh. Perubahan pH yang sangat ekstrim akibat kondisi yang terlalu basa akan merusak interaksi ionik OH^- dengan H^+ dari gugus NH_3^+ (Sugijanto, 2001).

Sebagai pendukung, dari penelitian sebelumnya yang mengekstrak protein dari daging ayam broiler dengan variabel pH 8 – 12, diperoleh hasil bahwa kondisi optimum ekstraksi diperoleh pada pH 9,5. Selanjutnya, kenaikan pH justru menurunkan efektivitas ekstraksi. Fenomena yang terjadi dalam penelitian ini dapat mendukung hasil penelitian yang kami lakukan (Betti & Fletcher, 2005).

C. Optimasi dengan *Response Surface Methodology* (RSM)

Data pH, kecepatan pengadukan, dan kadar protein maksimum yang terekstrak dapat diolah menggunakan *Response Surface Methodology* untuk mengetahui kadar protein optimum yang dapat diperoleh. Pengaruh kombinasi pH dan kecepatan pengadukan terhadap kadar protein maksimum yang diperoleh disajikan pada Tabel 4.3.

Tabel 2. Pengaruh Kombinasi pH dan Kecepatan Pengadukan terhadap Kadar Protein Maksimum

Run	pH	Kecepatan Pengadukan (ppm)	Kadar Protein Maksimum (mg/L)
1	9	100	309.7
2	9	300	438.9
3	11	100	321.4
4	11	300	475.5
5	8.5	200	487.6
6	11.5	200	558.1
7	10	60	300.7
8	10	340	507.4
9	10	200	602.1
10	10	200	620.8

Data pH, kecepatan pengadukan, dan kadar protein maksimum yang terekstrak yang diperoleh diolah dengan *Response Surface Methodology* untuk mendapatkan harga estimasi efek utama dan interaksi serta persamaan model matematik. Selanjutnya, dilakukan uji model persamaan matematik dan membandingkan hasil percobaan dengan prediksi menggunakan persamaan model matematik serta penentuan kondisi operasi optimum.

Dengan menggunakan harga koefisien regresi yang diperoleh dari program, dapat disusun suatu persamaan model matematika yang menghubungkan antara kadar protein yang terekstrak dengan variabel pH dan variabel kecepatan pengadukan sebagai berikut:

$$Y = 607.676 + 18.124 X_1 + 72.308 X_2 + 6.225 X_1 X_2 - 54.139 X_1^2 - 125.553 X_2^2 \quad (8)$$

$$x_1 = \frac{A-10}{1} \quad \text{dan} \quad x_2 = \frac{B-200}{100}$$

Keterangan :

X_1 : variabel tak berdimensi pH; A : variabel pH; X_2 : variabel tak berdimensi kecepatan pengadukan (ppm); B : variabel kecepatan pengadukan (ppm)

Selanjutnya, Persamaan 8 digunakan untuk memprediksi kadar protein yang terekstrak dengan pH dan kecepatan pengadukan. Perbandingan antara hasil penelitian dengan hasil prediksi ditampilkan dalam Tabel 3.

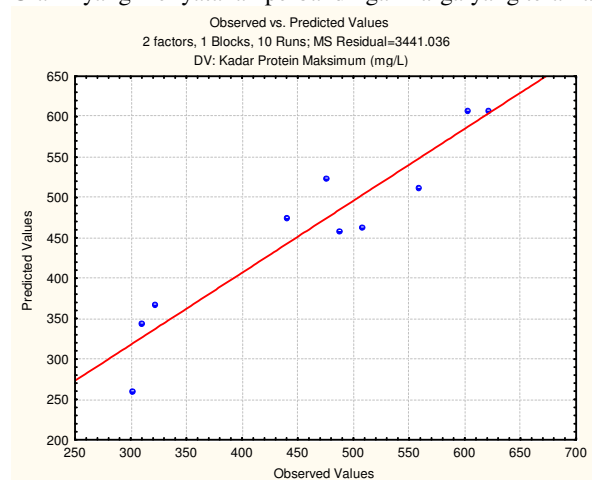
Tabel 3. Perbandingan Kadar Protein yang Terekstrak Hasil Penelitian dengan Prediksi

Run	X_1	X_2	Y_o	Y_p	Resids
1	9.0	100.0	221.22	343.7775	-34.0775
2	9.0	300.0	311.25	475.9437	-37.0437
3	11.0	100.0	245.57	367.5746	-46.1746
4	11.0	300.0	357.33	524.6408	-49.1408
5	8.5	200.0	355.55	458.6788	28.9212
6	11.5	200.0	430.15	513.0494	45.0506
7	10.0	60.0	209.33	260.3604	40.3396
8	10.0	340.0	373.75	462.8230	44.5770
9	10.0	200.0	487.20	607.6759	-5.5759
10	10.0	200.0	472.43	607.6759	13.1241

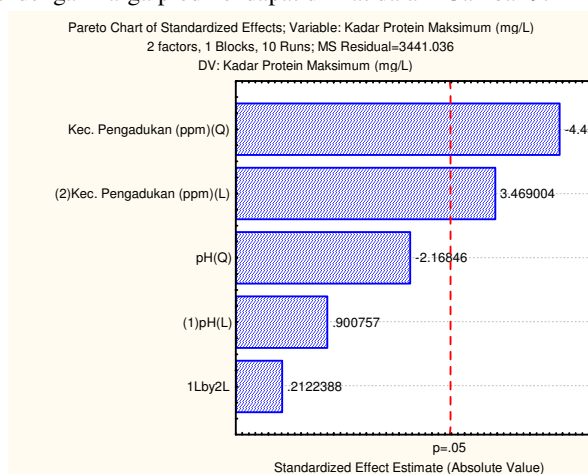
Keterangan :

X_1 : variabel pH; X_2 : variabel kecepatan pengadukan (ppm); Y_o : kadar protein yang terekstrak hasil percobaan (mg/L); Y_p : kadar protein yang terekstrak hasil prediksi (mg/L); Resids : selisih antara Y_o dan Y_p

Grafik yang menyatakan perbandingan harga yang teramati dengan harga prediksi dapat dilihat dalam Gambar 9.



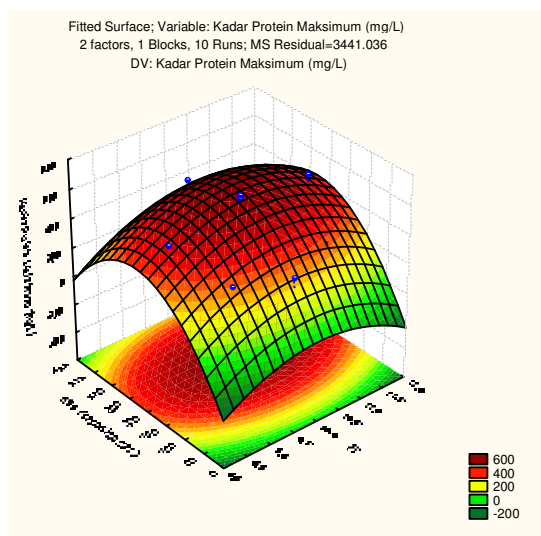
Gambar 9. Perbandingan Hasil Prediksi dengan Hasil Penelitian Kadar Protein Terekstrak



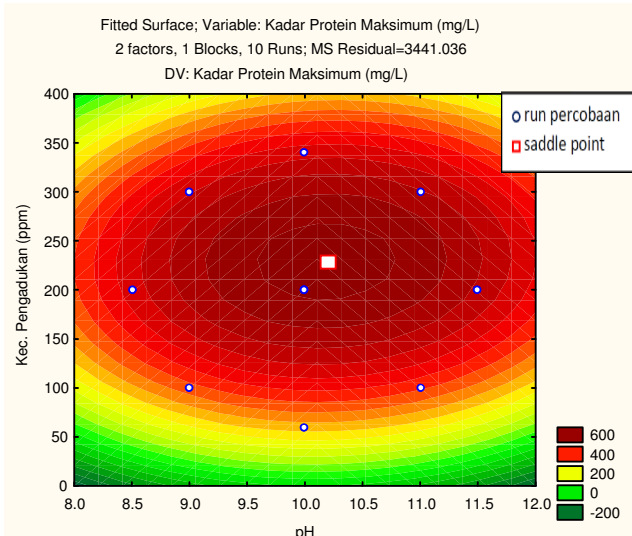
Gambar 10. Grafik Pareto Efek Terstandarisasi dari Kadar Protein Terekstrak

Simbol lingkaran pada Gambar 9 menunjukkan harga kadar protein yang terekstrak yang didasarkan pada hasil yang teramati pada penelitian. Sedangkan garis merah menunjukkan harga kadar protein yang terekstrak hasil prediksi dari persamaan model matematik yang didapatkan dengan metode RSM. Untuk mengukur pengaruh variabel pH, kecepatan pengadukan, serta variabel interaksi dapat dilihat dalam grafik *pareto* (Gambar 10) yang menggambarkan hubungan antara efek estimasi terstandarisasi dengan variabel.

Harga efek dari variabel yang melewati garis $p=0.05$ merupakan variabel yang paling berpengaruh yaitu kecepatan pengadukan (Q) dan kecepatan pengadukan (L). Harga efek dari variabel yang tidak melewati garis $p=0.05$ bukan merupakan variabel yang berpengaruh sehingga bisa diabaikan yaitu pH dan interaksi antara pH dan kecepatan pengadukan. Kemudian, pada Gambar 11 menunjukkan kurva optimasi 3 dimensi dan Gambar 12 menunjukkan grafik kontur permukaan yang merupakan grafik hubungan pH dan kecepatan pengadukan terhadap kadar protein yang terekstrak. Grafik tersebut berbentuk *saddle/hyperbolic paraboloid* dan mempunyai titik optimum di *saddle point*.



Gambar 11. Grafik Optimasi 3 Dimensi pH dan Kecepatan Pengadukan vs Kadar Protein yang Terekstrak



Gambar 12. Grafik Kontur Permukaan pH dan Kecepatan Pengadukan vs Kadar Protein yang Terekstrak

4. Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah: variabel pH dan kecepatan pengadukan berpengaruh terhadap proses ekstraksi protein dari tulang ayam dan diperoleh kondisi optimum dari keduanya, dari analisis ANOVA diketahui bahwa variabel kecepatan pengadukan lebih berpengaruh dibandingkan variabel pH, kadar protein tertinggi yang terekstrak dicapai pada kondisi ekstraksi menggunakan pH 10 dan kecepatan pengadukan 200 ppm selama 60 menit.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih disampaikan kepada Dr. Andri Cahyo Kumoro, S.T., M.T. yang telah membimbing kami dalam penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Arcanjo, K.D.S., Gomes, L., Pimentel, E.R., Effect of Magnesium Chloride and Guanidium Chloride on the Extraction of Components of Extracellular Matrix from Chicken Cartilage, Mern Inst Oswaldo Cruz, 1994, vol. 89, pp. 93-97.
- Artati, E.K., Fadilah, Pengaruh Kecepatan Putar Pengadukan Dan Suhu Operasi Pada Ekstraksi Tanin Dari Jambu Mete Dengan Pelarut Aseton, Ekuilibrium, 2007, vol.6, hal.33-38.
- Betti, M., Fletcher, D.L., The Influence of Extraction and Precipitation pH on the Dry Matter Yield of Broiler Dark Meat, The Journal of Processing, Product, and Food Safety, 2005, pp. 1303-1307.
- Lehninger, A.L., 1995. *Dasar-Dasar Biokimia*. Erlangga, Jakarta
- Nur, A., Jumari, A., Kwartiningsih, E., Ekstraksi Limbah Hati Nanas sebagai Bahan Pewarna Makanan Alami dalam Tangki Berpengaduk, Ekuilibrium, 2005, Vol. 4, hal 92-99.
- Perrys, R.H. dan Green D. 1984. *Perry's Chemical Engineering Hand Biik*. Six Edition. Singapore.
- Poedjiadi, A., 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. Penerbit UI-Press: Jakarta.
- Prasetyo, S., Patra, I., Pengaruh Variasi Jenis Tulang dan Temperatur pada Ekstraksi Kolagen dari Tulang, Prosiding Seminar Nasional Rekayasa Kimia dan Proses, 2004, ISSN: 1411-4216, hal.1-5.
- Santosa, H., Ekstraksi, Fakultas Teknik Jurusan Teknik Kimia, Universitas Diponegoro, Semarang, 2004, hal.1-3.
- Sugijanto, V.V., Manullang, M., The Production of Wheat Protein Concentrate, a Wheat Milling Byproduct Utilization, Jurnal Teknologi dan Industri Pangan, 2001, vol XII, hal 54-60.