

KARAKTERISTIK KOLAGEN LARUT ASAM DARI KULIT IKAN EKOR KUNING

Characterization of Acid Soluble Collagen from Redbelly Yellowtail Fusilier Fish Skin (Caesio cuning)

Ika Astiana*, Nurjanah, Tati Nurhayati

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,
Institut Pertanian Bogor, kampus IPB Darmaga, Jalan Agatis, Bogor, Jawa Barat 16680
Telepon (0251) 8622909 –8622907, Faks. (0251) 8622907

*Korespondensi: astianaika@gmail.com

Diterima: 10 Januari 2016/ Review: 15 Maret 2016/ Disetujui: 17 April 2016

Cara sitasi: Astiana I, Nurjanah, Nurhayati T. 2016. Karakteristik kolagen larut asam dari kulit ikan ekor kuning. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 19(1): 79-93.

Abstrak

Kulit ikan merupakan salah satu biota yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku penghasil kolagen. Kolagen dapat diekstraksi secara kimiawi maupun kombinasi antara proses kimiawi dan enzimatis. Ekstraksi kolagen secara kimiawi dapat dilakukan dengan proses asam yang menghasilkan kolagen larut asam (ASC). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi dan waktu optimum pretreatment dan ekstraksi serta menentukan karakteristik kolagen larut asam dari kulit ikan ekor kuning. Ekstraksi kolagen dilakukan dengan pretreatment menggunakan NaOH pada konsentrasi 0,05; 0,1; dan 0,15M dan ekstraksi menggunakan asam asetat pada konsentrasi 0,3; 0,5; dan 0,7 M. Pretreatment NaOH kolagen terbaik yaitu perlakuan konsentrasi NaOH 0,05 M dan lama waktu perendaman 8 jam. Kombinasi perlakuan asam asetat dengan konsentrasi 0,3 M selama 3 hari diperoleh tingkat kelarutan yang terbaik. Rendemen kolagen yang dihasilkan adalah $18,4 \pm 1,49\%$ (bk) dan $5,79 \pm 0,47\%$ (bb). Komposisi asam amino yang dominan pada kolagen ASC adalah glisina ($25,09 \pm 0,003\%$), alanina ($13,71 \pm 0,075\%$), dan prolina ($12,15 \pm 0,132\%$). Kolagen dari kulit ikan ekor kuning memiliki struktur protein $\alpha 1$, $\alpha 2$, β dan γ dengan berat molekul 125, 113, 170-181, dan 208 KDa. Suhu puncak transisi gelas dan pelelehan $67,69^\circ\text{C}$ dan $144,4^\circ\text{C}$. Struktur permukaan kolagen berdasarkan analisis SEM memiliki serabut-serabut pada permukaannya.

Kata kunci: asam asetat, ekstraksi, NaOH, optimasi

Abstract

Fish skin can be used as raw material for producing collagen. The collagen can be extracted by chemical or combination of chemical and enzymatic processes. Extraction of collagen chemically can do with the acid process that produces acid soluble collagen (ASC). This study aimed to determine the optimum concentration and time of pretreatment and extraction, also to determine the characteristics of the acid soluble collagen from the skin of yellow tail fish. Extraction of collagen done by pretreatment using NaOH at the concentration of 0.05; 0.1; and 0.15 M and extraction using acetic acid at the concentration of 0.3; 0.5; and 0.7 M. Pretreatment NaOH with concentration 0.05 M and soaking time of 8 hours is the best combination for eliminating non collagen protein. Combination treatment of acetic acid at the concentration of 0.3 M for 3 days obtained the best solubility. The yield of collagen ASC was $18.4 \pm 1.49\%$ (db) and $5.79 \pm 0.47\%$ (wb). Amino acid composition that is dominant in the ASC collagen was glycine ($25.09 \pm 0.003\%$), alanine ($13.71 \pm 0.075\%$), and proline ($12.15 \pm 0.132\%$). Collagen from yellow tail fish skin has $\alpha 1$, $\alpha 2$, β and γ protein structure with the molecular weight of 125, 113, 170-181, and 208 KDa. The transition and melting temperatures of collagen were 67.69°C and 144.4°C . The surface structure of collagen by analysis of SEM has fibers on the surface.

Keywords: cholesterol, fatty acids, meat tissue, proximate, red snapper (*L. argentimaculatus*)

PENDAHULUAN

Kolagen merupakan protein jaringan ikat. Molekul dasar pembentuk kolagen adalah tiga unit rantai α polipeptida yang saling berpilin membentuk struktur triple heliks yang lebih dikenal dengan istilah tropokolagen (Gelse *et al.* 2003). Komposisi asam amino dari kolagen cenderung didominasi oleh glisina, prolina, hidroksiprolina dan alanina. Komposisi asam amino dan karakteristik fisikokimia kolagen sangat bervariasi dan bergantung pada jaringan (Hema *et al.* 2013).

Kolagen memegang peranan penting dalam industri biomedis, farmasi, makanan, dan kosmetik (Kim dan Mendis 2006). Kolagen memiliki fungsi biologis dalam pembentukan jaringan dan organ serta terlibat dalam pembelahan, pertahanan, dan differensiasi sel. Fungsi biologis tersebut yang menyebabkan penggunaan kolagen dalam industri. Kolagen memiliki karakteristik yang mudah diserap dalam tubuh, memiliki sifat antigenesis rendah, afinitas dengan air tinggi, tidak beracun, biocompatible dan biodegradable, relatif stabil, dapat disiapkan dalam berbagai bentuk sesuai kebutuhan, dan mudah dilarutkan dalam air maupun asam sehingga pemanfaatannya dalam bidang industri berkembang pesat (Lee *et al.* 2001).

Ikan merupakan salah satu biota yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku penghasil kolagen. Kolagen yang bersumber dari kulit dan tulang ikan memiliki struktur molekul yang lebih kecil dibandingkan dengan kolagen yang terbuat dari sapi atau babi sehingga lebih mudah untuk diserap (Kumar *et al.* 2011). Limbah dari organisme perairan yaitu tulang, jeroan, dan sisik ikan diketahui banyak mengandung kolagen. Limbah yang dihasilkan pada saat pengolahan ikan dapat mencapai 20-60% dari bahan baku. Limbah berupa kulit dan tulang ikan mencapai 30% dari limbah tersebut dengan kandungan kolagen yang tinggi (Guillen *et al.* 2002). Pemanfaatan limbah industri perikanan menjadi suatu produk yang bernilai jual akan meningkatkan pendapatan serta mengurangi limbah industri.

Setiap ikan memiliki kandungan kolagen dan sifat fisika kimia yang berbeda-beda berdasarkan sumber dan cara ekstraksi. Karim dan Bhat (2009) menyatakan bahwa kolagen dapat diekstraksi menggunakan asam atau basa. Proses asam cocok digunakan untuk bahan baku yang memiliki sedikit ikatan silang misalnya babi dan kulit ikan. Proses basa umumnya digunakan untuk bahan baku yang memiliki ikatan silang lebih kompleks dan padat seperti tulang dan kulit sapi.

Penelitian mengenai kandungan kolagen larut asam dari kulit ikan telah banyak dilakukan antara lain kulit ikan catfish *Pangasianodon hypophthalmus* sebesar 5.1% (Singh *et al.* 2011), ikan rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) sebesar 9.48% (Tabarestani *et al.* 2012), tuna (*Thunnus alalunga*) sebesar 13.97%, Hiu (*Scoliodon sorrakowah*) sebesar 8.96%, ikan rohu (*Labeo rohita*) sebesar 4.13% (Hema *et al.* 2013), ikan kurisi (*Nemipterus hexodon*) sebesar 24.9% (Nalinanon *et al.* 2011). Salah satu bahan kulit ikan yang berpotensi digunakan sebagai sumber kolagen adalah kulit ikan ekor kuning. Selama ini belum ada penelitian mengenai kandungan kolagen dari kulit ikan ekor kuning. Volume produksi ikan ekor kuning selama kurun waktu tahun 2008 sampai 2013 mengalami peningkatan sebesar 7,41% yaitu dari 56.040 ton pada tahun 2008 menjadi 77.071 ton pada tahun 2013 (KKP 2014).

Proses ekstraksi yang berbeda kemungkinan dapat menghasilkan karakteristik kolagen yang berbeda sesuai dengan kelarutannya. Perbedaan spesies dan habitat juga sangat mempengaruhi proses *Pretreatment* dan ekstraksi untuk mendapatkan kolagen dengan kemurnian sesuai standar. Proses *Pretreatment* dan ekstraksi juga berkaitan dengan efisiensi biaya dan waktu dalam aplikasi (Liu *et al.* 2015). Informasi mengenai efektivitas *Pretreatment* alkali dan hidrolisis dengan asam asetat terhadap kolagen dari kulit ikan ekor kuning belum pernah dilaporkan, sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai efektivitas *Pretreatment* alkali dan hidrolisis dengan asam

asetat terhadap karakteristik kolagen dari kulit ikan ekor kuning. Penelitian ini bertujuan menentukan konsentrasi dan lama perendaman kulit dalam larutan alkali (NaOH) dan asam asetat terbaik serta menentukan karakteristik kolagen dari kulit ikan ekor kuning.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit ikan ekor kuning. Ikan ekor kuning diperoleh dari Muara Angke Jakarta Utara. Bahan-bahan yang digunakan untuk ekstraksi kolagen terdiri dari NaOH serbuk merek Merck, asam asetat (CH_3COOH) merek Emsure, NaCl merek Merck, metanol merek Emsure, HCl merek Emsure, dan akuades. Bahan-bahan lain meliputi bahan untuk analisis karakteristik kolagen.

Alat yang digunakan untuk ekstraksi kolagen yaitu spektrofotometer UV-VIS merek Hitachi U-2800, sentrifugasi merek Himac CR 21G, *stirring hotplate* merek Favorit, *magnetic stirrer* 5cm, dan *freeze dryer* merek Labconco. Sementara alat-alat yang digunakan untuk analisis diantaranya, *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) merek *Water-Corporation USA*, *Scanning Electron Microscopy* (SEM) merek JEOL JSM-6360-LA, dan *Differential Scanning Calorimetry* (DSC-60) merek Shimadzu.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam tiga tahap, yaitu 1) karakterisasi dan preparasi bahan baku kulit ikan ekor kuning berupa analisis proksimat; 2) optimasi ekstraksi kolagen; 3) karakterisasi kolagen hasil ekstraksi.

Karakterisasi dan Preparasi Bahan Baku (Singh *et al.* 2011)

Kulit ikan ekor kuning yang akan digunakan dikarakterisasi terlebih dahulu dengan melakukan pengukuran morfologi untuk mendapatkan bahan baku yang seragam, perhitungan rendemen, analisis komposisi kimia berupa kadar air, abu, lemak, protein,

dan asam amino. Sampel yang akan digunakan dalam ekstraksi kolagen kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel. Kulit ikan ekor kuning kemudian dipotong kecil-kecil dengan dimensi 0,5 x 0,5 cm.

Pretreatment Deproteinasi Kulit Ikan Ekor Kuning (Modifikasi Tabarestani *et al.* 2012)

Proses deproteinasi bertujuan untuk menghilangkan protein non kolagen dengan menggunakan NaOH. Kulit ikan ekor kuning direndam dengan larutan NaOH dengan konsentrasi 0,05; 0,1; 0,15 M dengan perbandingan 1:10 (w/v) pada waktu perendaman sampai 10 jam (Modifikasi Tabarestani *et al.* 2012). Larutan alkali diganti setiap 2 jam. Campuran dihomogenkan secara manual pada suhu 10°C. Sampel kemudian dicuci dengan air dingin hingga pH netral. NaOH sisa perendaman kulit ikan diuji kandungan protein non kolagennya dengan uji biuret untuk menentukan konsentrasi dan waktu terbaik untuk perendaman kulit.

Ekstraksi Kolagen Larut Asam (Modifikasi Tabarestani *et al.* 2012)

Sampel yang telah dideproteinasi kemudian dihidrolisis menggunakan asam asetat (CH_3COOH). Ekstraksi kolagen larut asam dilakukan dengan merendam sampel yang telah di deproteinasi dengan asam asetat 1:30 (b/v) dengan konsentrasi 0,3; 0,5; dan 0,7 M selama 24, 48, dan 72 jam (Modifikasi Tabarestani *et al.* 2012). Sampel kemudian disaring menggunakan saringan kain. Hasil penyaringan kemudian diuji kelarutannya menggunakan NaCl 2,6 M dan penimbangan residu yang telah dioven. Asam asetat dengan kelarutan yang paling tinggi merupakan perlakuan terbaik.

Hasil ekstraksi asam asetat yang terbaik kemudian dipresipitasi dengan NaCl 2,6 M. Hasil presipitasi dipisahkan dengan sentrifugasi kecepatan 20.000 g selama 1 jam. Pelet hasil sentifugasi dilarutkan kedalam 0,3 M asam asetat 1:2 (w/v) kemudian didialisis menggunakan

kantong dialisis 12 KDa terhadap akuades. Tahap selanjutnya pelet dikeringkan dengan freeze dryer untuk memperoleh kolagen dalam bentuk serbuk dan dihitung rendemennya.

Karakterisasi Fisik dan Kimia Kolagen Larut Asam

Karakterisasi kolagen dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui mutu fisiko-kimia kolagen yang dihasilkan. Karakteristik fisikokimia yang diamati antara lain asam amino dengan HPLC, berat molekul dengan SDS-PAGE, analisis *thermal* dengan *Differential Scanning Calorimetry* (DSC), dan struktur permukaan dengan SEM.

Analisis Asam Amino (AOAC 1995)

Komposisi asam amino ditentukan dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Perangkat HPLC dibilas dahulu dengan eluen yang akan digunakan selama 2-3 jam. Syringe yang akan digunakan juga harus dibilas dengan akuades. Khusus untuk pengujian asam amino bebas, tidak dilakukan proses hidrolisis dengan asam dan pemanasan.

a. Tahap pembuatan hidrolisat protein

Sampel ditimbang sebanyak 0,2 g dan dihancurkan. Sampel yang telah hancur ditambahkan dengan HCl 6 N sebanyak 5-10 mL, kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 100°C selama 24 jam. Hidrolisat protein yang diperoleh disaring dengan milipore berukuran 45 mikron.

b. Tahap pengeringan

Hidrolisat protein ditambah dengan 30 µL larutan pengering. Larutan pengering dibuat dari campuran antara metanol, natrium asetat, dan trietilamin dengan perbandingan 2:2:1. Proses pengeringan dibantu menggunakan gas nitrogen untuk mempercepat pengeringan dan mencegah oksidasi.

c. Tahap derivatisasi

Sebanyak 30 µL larutan derivatisasi ditambahkan pada hasil pengeringan. Larutan derivatisasi dibuat dari campuran antara larutan metanol, pikoiotisianat, dan trietilamin dengan perbandingan 3:3:4. Proses derivatisasi

dilakukan agar detektor mudah untuk mendeteksi senyawa yang ada pada sampel, kemudian dilakukan pengenceran dengan cara menambahkan 10 mL asetonitil 60% atau buffer fosfat 0,1 M lalu dibiarkan selama 20 menit. Hasil pengenceran disaring kembali menggunakan milipor berukuran 0,45 mikron.

d. Injeksi ke HPLC

Hasil saringan diambil sebanyak 20 µL untuk diinjeksikan ke dalam HPLC. Penghitungan konsentrasi asam amino dilakukan dengan cara membandingkan kromatogram sampel dengan standar. Pembuatan kromatogram standar menggunakan asam amino yang mengalami perlakuan yang sama dengan sampel. Kandungan masing-masing asam amino pada bahan dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Konsentrasi asam amino} = \frac{\text{luas area contoh}}{\text{luas area standar}} \times \frac{C \times \text{FP} \times \text{BM} \times 100}{\text{bobot contoh (g)}}$$

Keterangan:

C : konsentrasi standar asam amino

FP : faktor pengenceran

BM : bobot molekul dari masing-masing asam amino

Analisis Berat Molekul (Singh *et al.* 2011)

Sampel dilarutkan dalam 5% SDS dan campuran diinkubasi pada suhu 85 °C selama 1 jam dalam water bath yang suhunya terkontrol. Campuran disentrifugasi pada 4000 g selama 5 menit pada suhu kamar. Supernatan yang diperoleh dicampur dengan bufer (Tris HCl 60 mM, pH 6,8, mengandung 2% SDS dan 25% gliserol) dengan rasio 1:1 (v/v) dan mengandung 10% β-merkaptotanol (β-ME). Campuran dipanaskan dalam air mendidih selama 2 menit. Sebanyak 5 µL sampel dimasukkan ke dalam gel *polyacrylamide* yang terdiri dari 7.5% running gel dan 3% stacking gel dan dielektroforesis pada arus konstan 15 mA/gel selama 3 jam. Setelah elektroforesis selesai, gel di staining dengan 0,05% (b/v) *coomassie blue* R-250 dalam 15% (v/v) metanol dan 5% (v/v) asam asetat selama 3 jam, kemudian sampel destaining dengan campuran 30% (v/v) metanol dan 10% (v/v) asam asetat selama 2 jam. Berat molekul

protein sampel diperkirakan berdasarkan berat molekul marker. Marker yang digunakan adalah *Pre-stained Protein Markers (Broad Range)* for SDS-PAGE dari *Nacalai Tesque* dengan berat molekul 8.8 sampai 192 KDa.

Analisis Termal (Liu *et al.* 2015)

Analisis thermal dengan menggunakan DSC yang terlebih dahulu dikalibrasi pada suhu dan enthalpi menggunakan indium sebagai standar. Kolagen dilarutkan dalam asam asetat 0,05 M dengan ratio antara kolagen dan larutan asam asetat 1:40 (w/v) pada suhu 4°C. Kemudian sampel direhidrasi (10 ± 0.5 mg) dan ditutup rapat dan discan dari suhu 20-50°C pada tingkat pemanasan 1°C/menit. Suhu transisi maksimum (Tmax) terlihat dari termogram sedangkan total denaturasi enthalpy (ΔH) ditentukan dengan mengukur daerah DSC termogram.

Analisis Morfologi dengan Scanning Electron Microscopy (SEM) (Siddiqui *et al.* 2013)

Sampel ditaburkan pada specimen holder yang dilapisi double sticky tape, kemudian dibersihkan dengan hand blower untuk menghilangkan debu-debu pengotor. Sampel yang telah menempel pada *double sticky tape* kemudian dilapisi emas-pladium setebal 400 Å dengan mesin ion Sputter JFC-1100. Coating tersebut dimaksudkan agar benda uji yang akan dilakukan pemotretan menjadi penghantar listrik. Sampel yang telah dilapisi emas-pladium selanjutnya dimasukkan ke dalam specimen chamber pada mesin SEM untuk dilakukan pemotretan pada perbesaran 100 kali sampai 1000 kali dengan jarak kerja 6-10 mm pada 4,0-5,0 kV. Sumber elektron dipancarkan menuju sampel untuk memindai permukaan sampel, kemudian emas sebagai konduktor akan memantulkan elektron ke detector pada mikroskop SEM. Hasil pemindaian akan diteruskan ke lensa detektor.

Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan

pada tahap deproteinasi dengan larutan NaOH dan proses hidrolisis dengan asam asetat (CH_3COOH) menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF). Adapun model Rancangan Acak Lengkap Faktorial adalah sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + e_{ijk}$$

Data hasil penelitian yang diperoleh akan dianalisis dengan analisis ragam (ANOVA) dan jika terdapat beda nyata antara taraf perlakuan maka dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proporsi Kulit Ikan Ekor Kuning

Ikan ekor kuning merupakan ikan yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Ikan ini banyak dipasarkan dalam bentuk utuh maupun dalam bentuk fillet. Bagian tubuh yang dapat dimanfaatkan dari ikan ini adalah daging, kulit, jeroan, tulang, dan sisik. Ikan ekor kuning yang digunakan pada penelitian ini hanya bagian kulitnya saja.

Proporsi digunakan untuk memperkirakan berapa bagian dari bobot tubuh yang dapat dimanfaatkan. Proporsi ini merupakan parameter penting untuk mengetahui nilai ekonomis dan efektivitas suatu produk sebagai bahan baku. Perhitungan proporsi didapatkan dengan membandingkan berat masing-masing bagian tubuh dengan bobot totalnya. Proporsi daging, kulit, dan lain-lain (tulang, sisik, dan jeroan) dari ikan ekor kuning yang digunakan berturut-turut adalah 49%; 3%; dan 48%. Proporsi kulit ikan dibandingkan dengan daging, jeroan serta tulang dan sisik memiliki presentase yang paling kecil, akan tetapi memiliki nilai ekonomis yang tinggi apabila diolah dengan tepat.

Komposisi Proksimat Kulit Ikan Ekor Kuning

Perhitungan proksimat kulit ikan ekor kuning bertujuan untuk menentukan proses *Pretreatment* yang dilakukan dalam

menghasilkan kolagen. Ikan dikenal sebagai sumber protein yang tinggi. Kolagen merupakan produk turunan dari protein, sehingga kandungan protein di dalam kulit ikan sangat penting. Kadar protein kulit ikan ekor kuning adalah $17,87 \pm 0,14\%$. Nurjanah dan Abdullah (2010) menyatakan bahwa nilai yang terkandung dalam ikan berkisar antara 15-25%. Kandungan protein dari kulit ikan ekor kuning ini lebih rendah dibandingkan kulit ikan hiu 27,73%; kulit ikan hiu bambu 24,75%; kulit ikan rohu 18,84%; kulit ikan tuna 20,54%; kulit ikan mata besar 32%; kulit ikan balon 21,95%; dan kulit ikan nila yaitu 21,6% (Hema *et al.* 2013; Huang *et al.* 2011; Kittiphattanabawon *et al.* 2005; Kittiphattanabawon *et al.* 2010; Muyonga *et al.* 2004).

Kulit ikan ekor kuning memiliki kandungan lemak $1,17 \pm 0,05\%$. Kandungan lemak pada kulit ikan ekor kuning ini lebih tinggi dibandingkan kulit ikan hiu 0,16%; ikan hiu bambu 0,19%; dan kulit ikan balon 0,73% tetapi lebih kecil dibandingkan kulit ikan rohu yaitu 2,93%; kulit ikan tuna 18,32%; kulit ikan mata besar 0,98%; dan kulit ikan nila yaitu 6,8% (Hema *et al.* 2013; Huang *et al.* 2011; Kittiphattanabawon *et al.* 2005; Kittiphattanabawon *et al.* 2010; Muyonga *et al.* 2004). Sun (2006) mengelompokkan ikan berdasarkan kandungan lemaknya yaitu ikan berlemak rendah dengan kandungan lemak kurang dari 2%, ikan berlemak sedang dengan kandungan lemak antara 2-5%, dan ikan berlemak tinggi dengan kandungan lemak diatas 5%. Berdasarkan pengelompokan ini, kulit ikan ekor kuning termasuk ke dalam ikan berlemak rendah.

Kandungan air dalam bahan ikut menentukan acceptability, kesegaran, dan daya tahan bahan itu. Kadar air dari kulit ikan ekor kuning adalah $68,5 \pm 0,28\%$. Kadar air ini tidak jauh beda dengan kadar air kulit ikan hiu sebesar 68,38%; kulit ikan hiu bambu 61,96%; kulit ikan rohu 76,54%; kulit ikan mata besar 64,08%; kulit ikan balon 62,23%; dan kulit ikan nila yaitu 68,4% (Hema *et al.*

2013; Huang *et al.* 2011; Kittiphattanabawon *et al.* 2005; Kittiphattanabawon *et al.* 2010; Muyonga *et al.* 2004). Kadar abu merupakan analisis untuk mengetahui kandungan mineral kasar pada suatu bahan. Kadar abu dari kulit ikan ekor kuning adalah $0,74 \pm 0,002\%$. Kadar abu kulit ikan ekor kuning ini lebih rendah dibanding kulit ikan hiu sebesar 4,19%; kulit ikan hiu bambu 12,12%; kulit ikan rohu 2,03%; kulit ikan tuna 4,39%; kulit ikan mata besar 3,23%; kulit ikan balon 6,0%; dan kulit ikan nila yaitu 6% (Hema *et al.* 2013; Huang *et al.* 2011; Kittiphattanabawon *et al.* 2005; Kittiphattanabawon *et al.* 2010; Muyonga *et al.* 2004).

Pretreatment Deproteinasi Kulit Ikan Ekor Kuning

Kulit ikan yang akan diolah menjadi kolagen terlebih dahulu direndam menggunakan larutan NaOH. *Pretreatment* ini bertujuan untuk menghilangkan protein non kolagen pada kulit, sehingga protein kolagen mudah larut pada saat ekstraksi selanjutnya. Kolagen merupakan protein jaringan ikat. Protein jaringan ikat merupakan protein yang lebih sulit di ekstrak apabila dibandingkan dengan protein lain sehingga pada saat *Pretreatment* menggunakan NaOH, protein-protein non kolagen akan larut terlebih dahulu. Liu *et al.* (2015) menyatakan bahwa kolagen biasanya tidak dapat larut dalam larutan alkali. Penggunaan NaOH biasa digunakan dalam proses *Pretreatment* ekstraksi kolagen karena mampu meminimalkan kehilangan kolagen serta secara signifikan menyebabkan pembengkakan pada kulit apabila dibandingkan dengan larutan alkali lain (Liu *et al.* 2015). Jaswir *et al.* (2011) menyatakan bahwa selama perendaman dalam NaOH terjadi sedikit pembengkakan kulit sehingga memungkinkan masuknya air dan menyebabkan protein non kolagen yang terjebak dalam matrik kolagen menjadi lebih mudah dilepaskan. Hinterwaldner (1977) menyatakan bahwa pelepasan zat selain kolagen terjadi akibat hancurnya sebagian

ikatan silang pada struktur kolagen dalam kondisi basa.

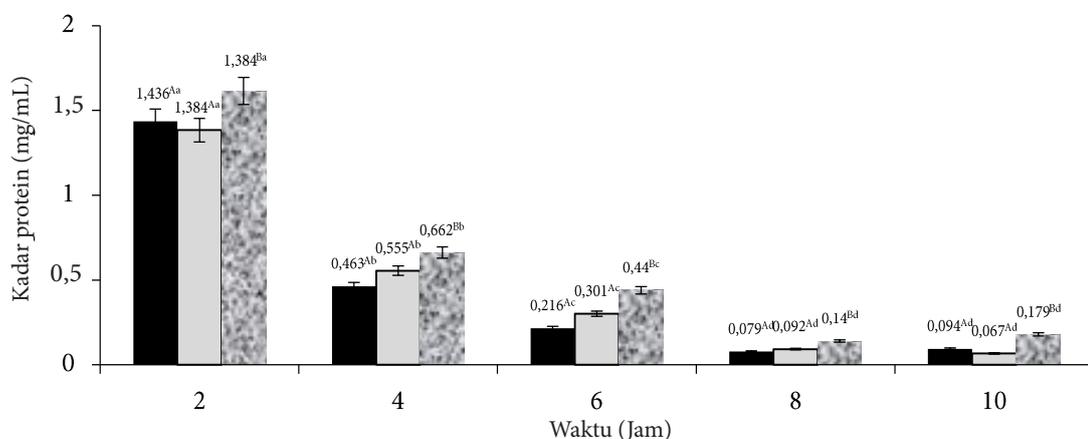
Kandungan protein dari larutan NaOH sisa perendaman kulit untuk setiap perlakuan kombinasi konsentrasi NaOH dengan lama waktu perendaman 2 jam menunjukkan kandungan protein yang tinggi dan nilai kandungan protein semakin menurun seiring penambahan waktu perendaman. Hasil ini menunjukkan bahwa protein non kolagen yang terkandung dalam kulit ikan sudah banyak dilepaskan dengan pelarut basa pada 2 jam pertama perendaman sehingga jumlah protein non kolagen dalam kulit semakin berkurang yang ditunjukkan dengan semakin kecilnya nilai konsentrasi protein dalam larutan NaOH sisa perendaman kulit pada pengamatan berikutnya.

Penurunan konsentrasi protein yang terlarut pada jam ke 2, 4, 6, dan 8 berbeda nyata ($p < 0,05$) akan tetapi setelah jam ke 8 menuju ke 10 konsentrasi protein yang terlarut pada NaOH tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) (Gambar 1). Pada jam ke 8 diambil sebagai waktu optimum dalam *Pretreatment* NaOH. Konsentrasi protein yang terlarut pada jam ke 10 lebih tinggi dibandingkan pada jam ke 8. Hasil ini dimungkinkan karena protein kolagen mulai terlarut pada NaOH. Konsentrasi 0,05 M dan 0,1 M tidak berpengaruh nyata ($p > 0,05$) terhadap kadar protein terlarut, akan tetapi konsentrasi 0,15

M berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar protein terlarut. Konsentrasi 0,15 M melarutkan protein yang paling tinggi dari jam ke-2 sampai ke-10. Pada konsentrasi NaOH 0,15 M memungkinkan kolagen ikut terlarut dalam NaOH. Liu *et al.* (2015) menyatakan bahwa penggunaan NaOH 0,05 dan 0,1 M dapat melarutkan protein non kolagen tanpa menyebabkan kehilangan kolagen pada kulit, sedangkan penggunaan NaOH 0,2 M secara signifikan menyebabkan kehilangan kolagen pada kulit. Kelebihan konsentrasi OH⁻ akan mengakibatkan terputusnya sebagian ikatan kovalen dalam struktur kolagen. Hasil ini selaras pendapat Jaswir *et al.* (2011) yang mengatakan bahwa NaOH memiliki peranan dalam pemisahan untaian dari batang-batang serat kolagen. Yoshimura *et al.* (2000) melaporkan bahwa basa menyerang terutama wilayah teleopeptida dari struktur kolagen selama proses *Pretreatment* sehingga dapat menyebabkan kelarutan kolagen. Konsentrasi 0,05 M pada jam ke-8 adalah kombinasi *Pretreatment* yang dipilih karena melarutkan protein dalam konsentrasi paling rendah sehingga dianggap optimal dalam menghilangkan protein non kolagen.

Ekstraksi Kolagen Larut Asam

Asam diperlukan untuk mengubah struktur serat kolagen dan melarutkannya. Asam organik misalnya asetat, asam sitrat,



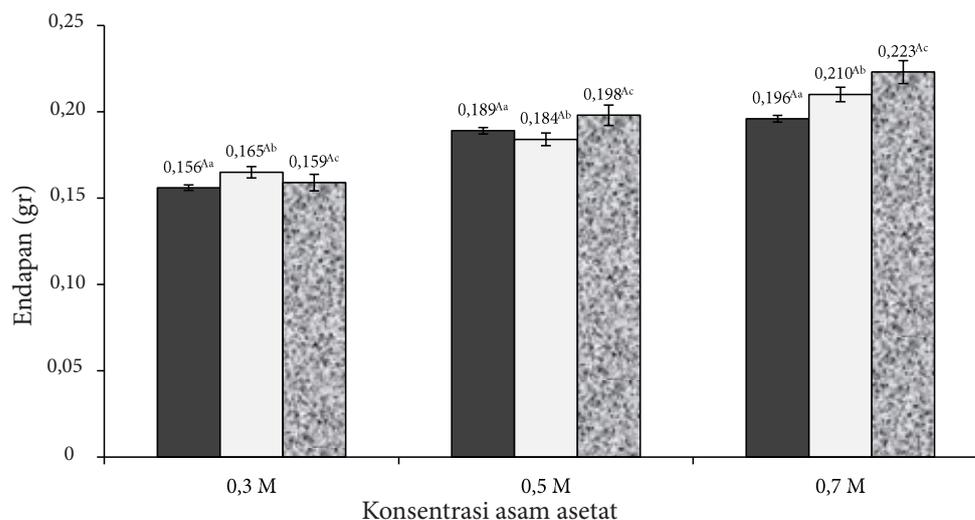
Gambar 1 Konsentrasi protein dalam larutan NaOH perendaman kulit ikan ekor kuning setiap perendaman 2 jam (■) NaOH 0,05 M; (□) NaOH 0,1M; (▒) NaOH 0,15 M.

dan asam laktat dapat digunakan dalam ekstraksi kolagen. Asam anorganik misalnya asam hidroklorik juga dapat digunakan dalam ekstraksi kolagen tetapi tidak seefektif asam organik. Asam asetat banyak dipilih sebagai pelarut dalam ekstraksi kolagen karena dapat mengekstrak kolagen lebih baik dibanding pelarut yang lain (Liu *et al.* 2015). Kasim (2013) menyatakan bahwa jumlah kolagen yang terekstrak menggunakan asam asetat lebih tinggi dibandingkan menggunakan asam sitrat dan asam klorida. Asam asetat mampu melarutkan kolagen yang tidak berikatan silang maupun yang berikatan silang (Liu *et al.* 2015). Perendaman dalam asam akan menyebabkan pengembangan kulit karena masuknya air dalam serat kolagen. Jaswir *et al.* (2011) menyatakan bahwa masuknya air ke dalam serat kolagen disebabkan terjadinya gaya elektrostatis antara gugus polar pada serat kolagen dengan H^+ dari asam atau terbentuknya ikatan hidrogen antara gugus non polar pada serat kolagen dengan H^+ dari asam. Pengembangan kulit ini akan merusak struktur serat kolagen karena terganggunya ikatan non kovalen sehingga akan melarutkan kolagen pada larutan asam asetat.

Perlakuan asam asetat terbaik dipilih berdasarkan banyaknya endapan yang dihasilkan setelah perendaman asam asetat. Endapan ini merupakan banyaknya kolagen

yang larut ke dalam asam asetat. Proses pengendapan kolagen ini dilakukan dengan penambahan NaCl 2,6 M. Penambahan garam dengan konsentrasi tinggi akan menyebabkan salting out dimana garam mengikat air dan menyebabkan agregasi pada protein sehingga molekul protein akan mengalami presipitasi. Hasil tersebut disebabkan kekuatan ionik garam lebih tinggi dibandingkan protein sehingga mudah mengikat air. Jumlah air yang terikat pada protein menurun sehingga menyebabkan gaya tarik menarik antara molekul protein lebih besar daripada gaya tarik antara protein dan air sehingga terjadi pengendapan protein (Winarno 2008).

Hasil penelitian (Gambar 2), menunjukkan bahwa perlakuan asam asetat 0,3; 0,5; dan 0,7 M tidak berpengaruh ($p > 0,05$) terhadap endapan yang terbentuk sedangkan perlakuan lama waktu perendaman 1 hari, 2 hari, dan 3 hari berpengaruh nyata ($p < 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa semakin tinggi waktu perendaman akan meningkatkan jumlah air yang diserap oleh kulit sehingga serat kolagen menjadi lebih mudah untuk dipisahkan dan memudahkan proses ekstraksi. Waktu terbaik yang dipilih adalah 3 hari karena memiliki endapan terbesar. Konsentrasi asam asetat yang dipilih adalah 0,3 M karena merupakan konsentrasi asam asetat terendah dan menghasilkan endapan yang tidak berbeda



Gambar 2 Endapan hasil perendaman asam asetat 0,3; 0,5; dan 0,7 M selama 1 hari (■), 2 hari (□), dan 3 hari (▨)

nyata ($p < 0,05$) dibandingkan konsentrasi 0,5 M dan 0,7 M. Liu *et al.* (2015) menyatakan bahwa penambahan asam asetat diatas 0,5 M tidak berpengaruh terhadap hasil kolagen yang didapat.

Rendemen Kolagen

Rendemen kolagen dari kulit ikan ekor kuning dihitung berdasarkan basis kering dengan membandingkan berat kolagen setelah di-freeze dry dengan basis kering bobot awal kulit ikan sebelum diproses. Hasil rendemen kolagen ASC kulit ikan ekor kuning adalah $18,4 \pm 1,49\%$. Jamilah *et al.* (2013) melaporkan bahwa kulit ikan baramudi yang diekstrak menggunakan asam asetat memiliki rendemen sebesar 8,1%. Rendemen kolagen kulit ikan ekor kuning juga lebih tinggi dibandingkan kulit ikan balon yaitu 4% (Huang *et al.* 2011).

Rendemen kolagen kulit ikan ekor kuning apabila dihitung berdasarkan basis basah adalah $5,79 \pm 0,47\%$. Hasil rendemen kolagen kulit ikan ekor kuning ini lebih besar dibandingkan kolagen dari kulit ikan rohu (4,13%) dan kulit ikan lele (5,1%), akan tetapi lebih rendah dibandingkan kolagen kulit ikan tuna (13,97%), kulit ikan hiu (8,96%), kulit ikan bigeye snapper (10,94%) (Hema *et al.* 2013; Kittiphattanabawon *et al.* 2005; Singh *et al.* 2011). Perbedaan hasil rendemen kolagen ini disebabkan oleh perbedaan kandungan protein pada kulit ikan, dimana kulit ikan ekor kuning yang digunakan memiliki kandungan protein lebih rendah dibandingkan kulit ikan rohu, hiu, tuna, dan bigeye snapper pada penelitian Hema *et al.* (2013) dan Kittiphattanabawon *et al.* (2005). Faktor yang dapat menyebabkan perbedaan hasil rendemen adalah kondisi saat *Pretreatment* dan ekstraksi yang berbeda.

Kandungan Asam Amino Kolagen Kulit Ikan Ekor Kuning

Kualitas suatu protein dapat dinilai kandungan asam amino yang menyusun protein tersebut (Suryaningrum *et al.* 2010). Kolagen terdiri dari tiga rantai polipeptida besar dan berulang. Komposisi asam amino dari kolagen

cenderung didominasi oleh glisin, prolin, hidroksiprolin dan alanin (Foegeding *et al.* 1996). Kandungan prolin dan hidroksiprolin merupakan asam amino yang berfungsi dalam meningkatkan stabilitas kolagen (Wong 1989). Tamilmozhi *et al.* (2013) menyatakan bahwa prolin merupakan asam amino yang unik pada kolagen karena berperan dalam menjaga integritas struktural kolagen. Kolagen dengan kandungan asam amino tinggi sangat baik digunakan sebagai bahan baku dalam industri karena memiliki kestabilan suhu yang tinggi (Jamilah *et al.* 2013). Komposisi asam amino kolagen kulit ikan ekor kuning dapat dilihat pada Tabel 1.

Asam amino terdiri dari sebuah gugus amino (NH_2), sebuah gugus karboksil (COOH), sebuah atom hidrogen dan gugus R (rantai cabang) yang terikat pada sebuah atom karbon (Winarno 2008). Rantai asam amino yang dihubungkan dengan ikatan peptida akan membentuk protein dengan beragam 33 struktur yang kompleks dan khas.

Komposisi asam amino dari kolagen cenderung didominasi oleh glisin, prolin, hidroksiprolin dan alanin (Hema *et al.* 2013). Hasil analisis asam amino menunjukkan bahwa glisin, prolin, dan alanin merupakan tiga asam amino yang paling banyak terdapat pada kolagen kulit ikan ekor kuning. Kittiphattanabawon *et al.* (2005) menyatakan bahwa glisina merupakan asam amino utama pembentuk kolagen yang meliputi 30% dari total asam amino. Kolagen ASC dari kulit ikan ekor kuning memiliki kandungan glisina, prolina, dan alanina sebesar 25,43%; 12,32%; dan 13,9% dari total asam amino kolagen. Hasil ini menunjukkan bahwa glisina merupakan asam amino yang paling dominan pada kolagen dan menempati sekitar 1/3 dari total asam amino. Jongjareonrak *et al.* (2005) menyatakan bahwa kolagen kulit ikan kakap yang diekstrak menggunakan asam asetat memiliki kandungan glisin 1/3 dari total asam amino yaitu 25,5%. Persentase kandungan prolin dan alanin kolagen pada penelitian Jongjareonrak *et al.* (2005) adalah 13,1% dan 14,3%.

Tabel 1 Kandungan asam amino kolagen kulit ikan ekor kuning (%)

Asam Amino	ASC
Glisina	25,09±0,003
Prolina	12,15±0,132
Alanina	13,71±0,075
Glutamat	12,49±0,029
Arginina	10,12±0,164
Lisina	5,90±0,032
Aspartat	5,95±0,042
Treonina	3,41±0,017
Leusina	2,87±0,031
Serina	2,84±0,021
Fenilalanina	1,73±0,060
Valina	1,48±0,009
Isoleusina	0,86±0,035
Metionina	1,34±0,019

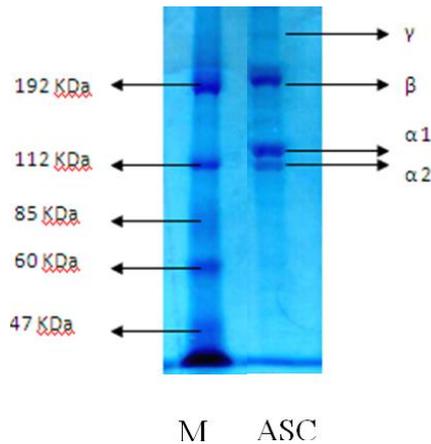
Berat Molekul

Berat molekul kolagen dari kulit ikan ekor kuning diukur menggunakan SDS-Page. SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis*) merupakan suatu teknik pemisahan protein berdasarkan berat molekulnya. Pada analisa SDS-PAGE, semua protein dibuat bermuatan negatif. SDS yang ditambahkan menyebabkan protein terdenaturasi dan akan berikatan dengan molekul protein sehingga mencegah terjadinya interaksi protein dan protein sedangkan β -merkaptotanol ke dalam gel tersebut dan pada proses pemanasan akan merusak struktur tiga dimensi protein. β -merkaptotanol akan memecah ikatan disulfida dan mereduksinya menjadi gugus sulfhidril. Pada proses elektroforesis, kompleks SDS-protein akan bergerak menuju kutub positif. Matriks berpori pada gel poliakrilamid kemudian memisahkan kompleks SDS-protein berdasarkan berat molekulnya (Rehm 2006).

SDS-Page memiliki matriks berpori pada gel poliakrilamid yang akan memisahkan kompleks SDS-protein berdasarkan berat molekulnya. Protein berukuran kecil akan

bergerak lebih cepat melintasi gel dibandingkan protein berukuran besar sehingga protein dengan berat molekul rendah memiliki jarak tempuh (Rf) yang lebih panjang dibandingkan protein dengan berat molekul tinggi. Berat molekul protein dapat ditentukan dengan menggunakan protein baku yang telah diketahui berat molekulnya dan membandingkan dengan nilai mobilitas relatif (Rf) yang diperoleh (Bollag dan Edelstein 1991). Hasil SDS-Page kolagen kulit ikan ekor kuning yang diekstrak menggunakan asam pada Gambar 3.

Kolagen dari kulit ikan ekor kuning yang diekstrak menggunakan asam memiliki struktur kolagen tipe I yang mengandung struktur identik $\alpha 1$, $\alpha 2$, β dan γ . Berat molekul $\alpha 1$, $\alpha 2$, β , dan γ pada kolagen kulit ikan ekor kuning adalah 125, 113, 170-181, dan 208 KDa. Penelitian Bae *et al.* (2008) menyatakan bahwa kolagen ASC dari beberapa ikan laut memiliki berat molekul $\alpha 1$ 120 KDa dan $\alpha 2$ 112-114 KDa. Singh *et al.* (2011) menyatakan bahwa kolagen ASC dan PSC ikan lele memiliki protein struktur $\alpha 1$ dan $\alpha 2$ dengan kisaran berat molekul 116 KDa, struktur β sekitar 220 KDa, dan struktur γ lebih dari 220 KDa.



Gambar 3 Elektroforesis kolagen dari ikan ekor kuning dengan (M) *marker*, dan kolagen ASC

Kolagen dari kulit ikan ekor kuning memiliki komponen dengan berat molekul tinggi yaitu struktur β dan γ . Komponen β dan γ menunjukkan adanya molekul kolagen yang mengalami cross linking. Ketebalan intensitas pita protein struktur β menunjukkan tingginya jumlah kolagen yang mengalami cross linking (Singh *et al.* 2011).

Analisis Termal

Analisis termal dengan metode Differential Scanning Colorimetry (DSC) dilakukan dengan mengukur perbedaan aliran panas pada sampel dan standar (referensi). Teknik ini biasa digunakan untuk mengukur fase-fase transisi, yaitu transisi gelas (T_g) dan titik leleh (T_m). Hasil analisis DSC dari pemanasan kolagen ASC pada rentang suhu 20°C-300°C dengan laju pemanasan 10°C/menit diperlihatkan pada Tabel 2.

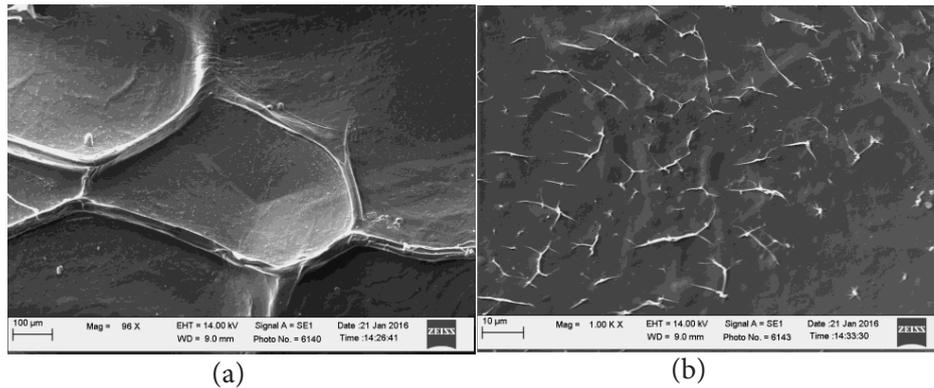
Kurva termogram DSC tersebut kolagen ASC kulit ikan ekor kuning memiliki pola grafik titik puncak suhu transisi gelas 67,69°C; suhu

awal pelelehan 139,2°C; suhu puncak pelelehan 144,4°C; dan suhu akhir pelelehan 153,69°C. Suhu transisi gelas kolagen kulit ikan ekor kuning ini lebih tinggi dibandingkan kolagen kulit ikan sturgeon yaitu 32,78°C (Wang *et al.* 2014), kakap yaitu 31,52°C (Jangjareonrak *et al.* 2005), belut laut sebesar 39°C (Veeruraj *et al.* 2013), dan sisik ikan kambing-kambing sebesar 41,58°C (Matmaroh *et al.* 2011), akan tetapi lebih rendah dibanding kolagen dari kulit ikan pari yaitu 86,75°C (Nur'aenah 2013) dan kulit cumi-cumi yaitu 75,93°C (Shanmugam *et al.* 2012). Suhu puncak pelelehan kolagen kulit ikan ekor kuning lebih tinggi dibanding kolagen kulit ikan sturgeon yaitu 120,66°C (Wang *et al.* 2014), dan lebih rendah dari ikan pari sebesar 165,88°C (Nur'aenah 2013).

Suhu transisi gelas ini merupakan suhu terputusnya ikatan hidrogen yang mengarah pada pembentukan polimer amorf yaitu gelatin. Pemanasan dengan suhu di atas 40°C menyebabkan hancurnya ikatan hidrogen dan terpotongnya sejumlah ikatan kovalen yang

Tabel 2 Analisis termal kolagen dari kulit ikan ekor kuning

Parameter	Suhu (°C)
Suhu awal pelelehan	139,2
Suhu puncak pelelehan	144,4
Suhu akhir pelelehan	153,69
Suhu transisi gelas	67,69



Gambar 4 Struktur permukaan kolagen kulit ikan ekor kuning: (a) perbesaran 100 kali, (b) perbesaran 1000 kali

menstabilkan struktur triple heliks menghasilkan konversi kolagen menjadi gelatin yang larut (Karim dan Bhat 2009). Zhang *et al.* (2007) menyatakan bahwa stabilitas termal kolagen dipengaruhi oleh kandungan asam aminonya. Semakin tinggi kandungan asam amino, maka akan semakin stabil suatu kolagen terhadap suhu. Asam amino prolin, hidroksiprolin, dan grup hidroksil memiliki cincin pirolidin dan ikatan hidrogen yang memiliki fungsi dalam menjaga kestabilan rantai polipeptida protein kolagen sehingga tidak mudah berubah menjadi struktur sekunder.

Analisis Struktur Permukaan Kolagen Kulit Ikan Ekor Kuning Menggunakan SEM

Scanning Electron Microscopy (SEM) merupakan jenis mikroskop elektron yang memanfaatkan berkas elektron untuk menerangi sampel sehingga menghasilkan gambar sampel. Sinar elektron yang dikenakan pada sampel akan memindai keseluruhan sampel. Sampel akan mengeluarkan elektron baru yang akan diterima oleh detektor dan dikirim ke monitor yang mengandung informasi mengenai topografi permukaan sampel. Hasil analisis SEM pada kolagen yang diekstrak dengan asam dapat dilihat pada Gambar 4.

Kolagen ASC pada perbesaran 1000 kali memiliki serabut-serabut putih pada permukaannya. Berdasarkan analisis berat molekul, kolagen ASC memiliki pita struktur

γ dimana struktur ini merupakan protein yang mengalami ikatan silang (*crosslink*) dengan protein lain. Ikatan *crosslink* ini akan menyebabkan protein saling berikatan dan membentuk agregat sehingga struktur permukaan pada kolagen ASC memiliki serabut-serabut putih.

KESIMPULAN

Pretreatment NaOH terbaik yaitu perlakuan konsentrasi NaOH 0,05 M dan lama waktu perendaman 8 jam. Kombinasi perlakuan asam asetat dengan konsentrasi 0,3 M selama 3 hari diperoleh tingkat kelarutan yang tinggi. Rendemen kolagen dengan metode asam adalah $18,4 \pm 1,49\%$ (bk) dan $5,79 \pm 0,47\%$ (bb). Komposisi asam amino yang dominan pada kolagen ASC adalah glisin, alanin, dan prolin. Kolagen dari kulit ikan ekor kuning memiliki pita kolagen dengan struktur α_1 , α_2 , β dan γ . Suhu puncak transisi gelas dan pelelehan sebesar $67,69^\circ\text{C}$ dan $144,4^\circ\text{C}$. Struktur permukaan kolagen memiliki serabut-serabut pada permukaannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad M, Benjakul S. 2010. Extraction and characterization of pepsin soluble collagen from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*). *Food Chemistry* 120:817-824.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 1995. Official Methods of

- Analysis. The Association of Official Analytical Chemist. Inc. Washington, DC.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. Official Methods of Analysis (18 Edn). Association of Official Analytical Chemist Inc. Mayland. USA.
- Bae I, Osatomi K, Yoshida A, Osako K, Yamaguchi A, Hara K. 2008. Chemical properties of acid-soluble collagens extracted from the skins of underutilized fishes. *Food Chemistry* 108: 49-54.
- Bollag DM, Edelman SJ. 1991. Protein Methods. New York: Wiley-Liss.
- Foegeding EA, Lanier TC, Hultin HO. 1996. Food Chemistry. Characteristics of Edible Muscle Tissue. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Gelse K, Poschl E, Aigner T. 2003. Collagens-structure, function, and biosynthesis. *Advanced Drug Delivery Reviews* 55: 1531-1546.
- Guillen MC, Gomez JT, Fernandez MD, Ulmo N, Lizarbe MA, Montero P. 2002. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. *Food Hydrocolloids* 16:25-34.
- Hema GS, Shyni K, Mthew S, Ananda R, Ninan G, Lakshmanan PT. 2013. A simple method for isolation of fish skin collagen-biochemical characterization of skin collagen extracted from albacore tuna (*Thunnus alalunga*), dog shark (*Scoliodon sorrakowah*), and Rohu (*Labeo rohita*). *Annals of Biological Research* 4(1): 271-278.
- Hinterwaldner R. 1977. Raw material. Di dalam: Ward AG dan Courts A, editor. The Science and Technology of Gelatin. New York: Academic Press.
- Huang YR, Shiao CY, Chen HH, Huang BC. 2011. Isolation and characterization of acid and pepsin solubilized collagens from the skin of ballon fish (*Diodon holocanthus*). *Food Hydrocolloids* 25: 1507-1513.
- Jamilah B, Hartina UMR, Hashim MD, Sazili AQ. 2013. Properties of collagen from barramundi (*Lates calcarifer*) skin. *International Food Research Journal* 20(2): 835-842.
- Jaswir I, Monsur HA, Salleh HM. 2011. Nano-structural analysis of fish collagen extracts for new process development. *African Journal of Biotechnology* 10(81): 18847-18854.
- Karim AA, Bhat R. 2009. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloid* 23:563-576.
- Kasim S. 2013. Pengaruh variasi jenis pelarut asam pada ekstraksi kolagen ikan pari (*Himantura gerrardi*) dan ikan tuna (*Thunnus sp.*). *Majalah Farmasi dan Farmakologi* 17(2): 35-38.
- Kim SK, Mendis E. 2006. Bioactive compounds from marine processing byproducts- A review. *Food Research International* 39: 383-393.
- Kittiphattanabawon P, Soottawat Benjakul S, Visessanguan W, Nagai T, Tanaka M. 2005. Characterisation of acid-soluble collagen from skin and bone of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). *Food Chemistry* 89:363-372.
- Kittiphattanabawon P, Benjakul S, Visessanguan W, Kishimura H, Shahidi F. 2010. Isolation and characterisation of collagen from the skin of brownbanded bamboo shark (*Chiloscyllium punctatum*). *Food Chemistry* 119: 1519-1526.
- [KKP] Kementrian Kelautan dan Perikanan. 2014. Statistik Kelautan dan Perikanan 2014. Jakarta: KKP.
- Kumar MH, Spandana V, Poonam T. 2011. Extraction and determination of collagen peptide and its clinical importance from tilapia fish scales (*Oreochromis niloticus*). *International Research Journal of Pharmacy* 2(10):97-

- 99.
- Lee CH, Singla A, Lee Y. 2001. Biomedical applications of collagen. *International Journal Pharmacy* 221:1-22.
- Liu D, Wei G, Li T, Hua J, Lu J, Regenstein JM, Zhou P. 2015. Effects of alkaline pretreatments and acid extraction conditions on the acid-soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. *Food Chemistry* 172:836-843.
- Matmaroh K, Benjakul S, Prodpran T, Encarnacion AB, Kishimura H. 2011. Characteristics of acids soluble collagen and pepsin soluble collagen from scale of spotted golden goatfish (*Parupeneus heptacanthus*). *Food Chemistry* 129: 1179-1186.
- Muyonga JH, Cole CGB, Duodu KG. 2004. Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chemistry* 85: 81-89.
- Nalinanon S, Benjakul S, Kishimura H, Osaka K. 2011. Type I collagen from the skin of ornate threadfin bream (*Nemipterus hexodon*): Characteristics and effect of pepsin hydrolysis. *Food Chemistry* 125:500-507.
- Nur'aenah N. 2013. Ekstraksi dan karakterisasi kolagen dan nanopartikel kolagen dari kulit ikan pari (*Pastinachus solocirostris*) sebagai bahan baku kosmetik. [tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Nurjanah, Abdullah A. 2010. Cerdas Memilih Ikan dan Mempersiapkan Olahannya. Bogor: IPB Press.
- Rehm H. 2006. Protein biochemistry and proteomics. Elsevier: Academic press.
- Saanin H. 1984. Taksonomi dan Kunci Identifikasi Ikan. Bogor: Binatjipta.
- Shanmugam V, Ramasamy P, Subhadrappa N, Sudharsan S, Seedeve P, Moovendhan M, Krishnamoorthy J, Shanmugam A, Srinivasan A. 2012. Extraction, structural and physical characterization of type I collagen from the outer skin of sepiella inermis (Orbigny, 1848). *African Journal of Biotechnology* 11(78): 14326-14337.
- Siddiqui YD, Arief EM, Yusoff A, Hamid SSA, Norani TY, Abdullah MYS. 2013. Extraction, purification and physical characterization of collagen from body wall of sea cucumber *Bohadschia bivitata*. *Health and Environment Journal* 4(2): 53-65.
- Singh P, Benjakul S, Maqsood S, Kishimura H. 2011. Isolation and characterization of collagen extracted from the skin of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Food Chemistry* 124: 97-105.
- Sun DW. 2006. Thermal Food Processing: New Technologies and Quality Issues. Boca Raton: CRC Press Taylor and Francis Group.
- Tabarestani S, Maghsoodlou Y, Motamedzadegan A, Mahoonak SAR, Rostamzad H. 2012. Study on some properties of acid-soluble collagens isolated from fish skin and bones of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *International Food Research Journal* 19(1): 251-257.
- Tamilmozhi S, Veeruraj A, Arumugam M. 2013. Isolation and characterization of acid and pepsin-solubilized collagen from the skin of sailfish (*Istiophorus platypterus*). *Food Research International* 54: 1499-1505.
- Veeruraj A, Arumugam M, Balasubramanian T. 2013. Isolation and characterization of thermostable collagen from the marie eel-fish (*Evenchelys macrura*). *Process Biochemistry* 48: 1592-1602.
- Wang L, Liang Q, Chen T, Wang Z, Xu J, Ma H. 2014. Characterization of collagen from the skin of Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*). *Food Hydrocolloids* 38:104-109.
- Winarno FG. 2008. Kimia Pangan dan Gizi. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.

Wong DWS. 1989. Mechanism and Theory in Food Chemistry. New York: Van Nostrand Reinhold.

Yoshimura K, Terashima M, Hozan D, Shirai

K. 2000. Preparation and dynamic viscoelasticity characterization of alkali-solubilized collagen from shark skin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(3): 685-690.