

KARAKTERISASI GELEMBUNG RENANG IKAN TUNA SIRIP KUNING (*Thunnus* sp.) DAN KOLAGEN YANG DIHASILKAN MELALUI EKSTRAKSI ASAM ASETAT

Characterization of Swimbladder and its Collagen of Yellow Fin Tuna (Thunnus sp.) Produced from Acetic Acid Extraction

Sugeng Hadinoto*, Joice P. M. Kolanus, Syarifuddin Idrus

Balai Riset dan Standardisasi Industri Ambon, Jl. Kebun Cengkeh Ambon, Indonesia

*Korespondensi Penulis: sugenghadin15@gmail.com

Diterima: 8 Maret 2019; Direvisi: 15 Juli 2019 ; Disetujui: 22 November 2019

ABSTRAK

Gelembung renang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku kolagen karena mempunyai kandungan protein kolagen yang cukup tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komposisi kimia gelembung renang ikan tuna sirip kuning dan karakteristik kolagen yang diperoleh melalui ekstraksi menggunakan asam asetat 0,2 M. Gelembung renang ikan tuna sirip kuning diuji kandungan komposisi proksimat, logam berat (Hg, Pb, Cd dan As) dan asam amino. Kuantitas dan kualitas kolagen hasil ekstraksi dilihat melalui parameter rendemen, komposisi proksimat, logam berat, cemaran mikroba dan karakteristik fisikokimia (gugus fungsi, berat molekul, asam amino, dan stabilitas termal). Hasil penelitian menunjukkan bahwa gelembung renang ikan tuna sirip kuning mengandung protein 19,17%, yang didominasi oleh jenis asam amino glisin 5,71 mg/g, arginin 3,72 mg/g dan alanin 3,95 mg/g. Kandungan logam berat gelembung renang masih berada di bawah ambang batas. Ekstraksi kolagen dari gelembung renang ikan tuna sirip kuning menggunakan asam asetat 0,2 M menghasilkan rendemen kolagen sebesar 1,15%. Kolagen yang dihasilkan mengandung protein sebesar 94,14%, yang didominasi oleh asam amino glisin 1957,75 mg/g, arginin 827,96 mg/g dan alanin 825,98 mg/g; tidak terdeteksi logam berat (Hg, Pb, Cd dan As); dan bebas dari cemaran *Escherichia coli*, *Salmonella* dan *Coliform*. Karakteristik gugus fungsi dan berat molekul menunjukkan kolagen yang diperoleh tergolong kolagen Tipe I, dan kolagen yang dihasilkan memiliki kestabilan termal yang tinggi sehingga dapat diaplikasikan pada industri makanan, farmasi dan kosmetik.

KATA KUNCI : asam asetat, gelembung renang, kolagen, ikan tuna sirip kuning

ABSTRACT

*Swimbladder can be used as raw material for collagen because it contains high collagen protein. This study aimed to determine the chemical composition of the yellowfin tuna swimbladder and characterize the collagen obtained through extraction using 0.2 M acetic acid. The proximate composition, heavy metals (Hg, Pb, Cd and As) and amino acid content of yellowfin tuna swimbladder were observed. The quantity and quality of the obtained collagen were assigned through the parameters of yield, proximate composition, heavy metals, microbial contamination and physicochemical characteristics (functional groups, molecular weights, amino acids, and thermal stability). The result showed that yellowfin tuna swimbladder contained 19.17% protein, where glycine, arginine and alanine were the major amino acids found (i.e., 5.71 mg/g glycine; 3.72 mg/g arginine; and 3.95 mg/g alanine). The heavy metals contained of swimbladder was found below the threshold. The yield of collagen extracted using acetic acid 0.2 M was 1.15%. The collagen of yellowfin tuna swimbladder contained protein of 94.14%, which was dominated by the amino acid glycine of 1957.75 mg/g, arginine of 827.96 mg/g and alanine of 825.98 mg/g; heavy metals (Hg, Pb, Cd and As) were not detected; collagen was free from contamination of *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Coliform*. Characteristics of functional groups and molecular weights showed that collagen obtained was classified as Type I collagen, and collagen produced had high thermal stability therefore it can be applied to the food, pharmaceutical and cosmetics industries.*

KEYWORDS: acetic acid, swimbladder, collagen, yellowfin tuna

PENDAHULUAN

Gelembung renang (*swimbladder*) merupakan organ internal yang terdapat pada ikan, berbentuk kantung berisi udara (Fujaya, 2008). Gelembung renang bersama dengan jeroan ikan merupakan salah satu limbah pengolahan produk perikanan yang masih jarang dimanfaatkan (Sinthusamran, Benjakul & Kishimura, 2013). Meskipun dianggap sebagai limbah namun gelembung renang jenis ikan tertentu telah dimanfaatkan sebagai bahan obat-obatan tradisional dan dijadikan makanan, seperti sup gelembung renang ikan Kakap Cina (*Protonibea* sp.) dan ikan Gulama (*Pennahia argentata*) yang berkhasiat untuk menjaga kesehatan tubuh (Dutta, Giri, Dutta & Hazra, 2014).

Gelembung renang mengandung komponen kimia penting yang didominasi oleh protein kolagen (Kaewdang, Benjakul, Kaewmanee & Kishimura, 2014). Menurut Katili (2009), kolagen didominasi oleh asam amino glisin, prolin, hidroksiprolin dan alanin. Lehninger (2000) menyatakan bahwa kandungan protein kolagen adalah 21% prolin dan hidroksiprolin, 11% alanin dan sekitar 35% glisin. Kolagen dapat diaplikasikan pada industri farmasi, biomedis, kosmetik dan makanan.

Menurut Santos et al. (2013), bagian tulang dan kulit hewan darat seperti unggas, babi dan sapi banyak diproduksi menjadi kolagen, namun sekarang eksplorasi hewan perairan dalam rangka mencari sumber kolagen alternatif telah banyak dilakukan seperti dari kulit, tulang dan gelembung renang ikan (Jamilah, Hartina, Hashim & Sazili, 2013; Kaewdang et al., 2014; Kittiphattanabawon & Benjakul, 2005; Nagai, Suzuki & Nagashima, 2008), maupun dari daging teripang (Alhana, Suptijah & Tarman, 2015).

Sebagai sumber kolagen, gelembung renang ikan tuna mempunyai beberapa keunggulan di antaranya mempunyai kandungan protein cukup tinggi dan ketersediaannya melimpah karena belum dimanfaatkan. Kandungan protein gelembung renang ikan yang sudah dipelajari, seperti gelembung renang ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*) sebesar 12,09% (Kaewdang et al., 2014), 20,27% (Idrus, Hadinoto & Kolanus, 2018) dan ikan cunang (*Muarenesox talabon*) sebesar 33,67% (Gadi, Trilaksani & Nurhayati, 2017).

Penelitian mengenai pemanfaatan gelembung renang ikan telah banyak dilakukan, di dalam dan luar negeri. Di Indonesia, penelitian pemanfaatan gelembung renang ikan mulai dilakukan sejak tahun 2006, antara lain pembuatan isinglass dari gelembung renang ikan patin (Trilaksani, Nurjanah & Utama, 2006), ekstraksi kolagen dari gelembung renang ikan cunang dan tuna (Djailani, Trilaksani & Nurhayati, 2016; Kartika & Trilaksani, 2016; Gadi et al., 2017;

Idrus et al., 2018). Namun sampai saat ini belum diperoleh perlakuan yang optimal untuk mendapatkan karakteristik kolagen yang memenuhi syarat mutu kolagen sesuai dengan SNI 8076: 2014 (BSN, 2014). Selain itu metode *Acid Soluble Collagen* (ASC) untuk mengekstraksi kolagen dari gelembung renang ikan tuna belum banyak dilakukan. Kaewdang et al. (2014) melaporkan hasil rendemen dari kolagen gelembung renang ikan tuna yang diekstrak menggunakan asam asetat 0,5 M adalah sebesar 1,07%. Idrus et al. (2018) melaporkan bahwa penggunaan asam asetat 0,5 M dan 0,75 M menghasilkan kolagen dengan kandungan glisin 1175,05 mg/g dan 733,99 mg/g; arginin 848,75 mg/g dan 0 mg/g dan alanin 338,66 mg/g dan 215,35 mg/g. Menurut Wang et al. (2008), kondisi dan metode ekstraksi yang digunakan mempengaruhi hasil rendemen dan komposisi asam amino kolagen.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komposisi kimia gelembung renang ikan tuna sirip kuning dan karakteristik kolagen yang dihasilkan melalui proses ekstraksi asam asetat 0,2 M.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan baku pada penelitian ini adalah gelembung renang ikan tuna sirip kuning yang diperoleh dari PT. Arabikatama Khatulistiwa Fishing Industry (PT. AKFI) di Ambon. Bahan lainnya yaitu aquades, NaCl, NaOH, asam asetat pekat, asam sulfat pekat, H₃BO₃, HCl dan dietil eter.

Metode Penelitian

Pengujian komposisi proksimat, logam berat dan asam amino dilakukan terhadap gelembung renang ikan tuna sirip kuning. Analisis komposisi proksimat dilakukan untuk mengetahui kandungan gizi secara kasar dan untuk menentukan proses pra-perlakuan yang tepat pada ekstraksi kolagen. Analisis logam berat dan komposisi asam amino diperlukan untuk membandingkan hasil analisis bahan baku dengan produk kolagen gelembung renang. Kolagen diekstrak dari gelembung renang menggunakan asam asetat 0,2 M. Kuantitas dan kualitas hasil ekstraksi dilihat dari hasil pengujian parameter rendemen, komposisi proksimat, logam berat, cemaran mikroba dan karakteristik fisikokimia berupa gugus fungsi, berat molekul, asam amino dan stabilitas termal.

Pengujian parameter komposisi proksimat masing-masing dilakukan dengan 3 (tiga) kali ulangan, sedangkan untuk parameter logam berat, asam amino, mikrobiologi dan karakteristik fisikokimia hanya dilakukan 1 (satu) kali ulangan. Penelitian ini tidak menggunakan analisis data statistik.

Ekstraksi kolagen dari gelembung renang

Ekstraksi kolagen dari gelembung renang ikan mengikuti metode yang dikembangkan oleh Liu et al. (2015). Gelembung renang dibersihkan dari kotoran dan sisa darah menggunakan air mengalir, selanjutnya dipotong kecil-kecil ($\pm 1 \times 1 \text{ cm}^2$) menggunakan gunting steril. Hasil pemotongan dicuci menggunakan air mengalir selanjutnya dilakukan proses eliminasi substansi non-kolagen (*deproteination*), eliminasi lemak (*defatting*) dan eliminasi mineral (*demineralization*) dengan cara direndam dalam larutan NaOH 0,1 M. Selanjutnya sampel direndam selama 8 jam pada suhu 4 °C, setiap 2 jam larutan NaOH diganti. Sampel dinetralkan dengan cara dicuci menggunakan air mengalir sampai pH netral. Selanjutnya sampel direndam dalam larutan asam asetat 0,2 M selama 48 jam pada suhu 4°C, disertai dengan pengadukan. Sampel diendapkan dengan NaCl, kemudian disentrifugasi selama 30 menit pada suhu 4 °C dengan kecepatan 10000xg. Sampel dimasukkan ke dalam kantong dialisis *cut-off* 14 kDa, dan proses dialisis dilakukan menggunakan larutan asam asetat 0,5 M. Produk kolagen kering diperoleh dengan mengeringkan hasil dialisis dan filtrat menggunakan *freeze dryer*.

Rendemen

Rendemen kolagen ditentukan berdasarkan persentase kolagen (g) terhadap bahan baku gelembung renang basah (g). Rendemen kolagen dihitung berdasarkan rumus :

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat kolagen (g)}}{\text{Berat awal gelembung renang (g)}} \times 100\% \dots (1)$$

Analisis proksimat

Analisis proksimat meliputi kadar air, kadar abu, kadar protein dan kadar lemak mengikuti AOAC (2005). Secara ringkas, pengukuran kadar air menggunakan metode oven, kadar abu menggunakan pengabuan kering. Kadar protein diukur menggunakan metode Kjeldahl dengan faktor konversi nitrogen ke protein sebesar 6,25%, pengukuran kadar lemak menggunakan metode soxhlet.

Analisis kandungan asam amino

Analisis kandungan asam amino mengikuti AOAC (2005). Sampel sebelumnya diderivatisasi dengan cara menambahkan larutan derivatisasi sebanyak 30 μL pada 0,2 gram sampel kering, dan ditambahkan 10 mL asetonitil 60%, kemudian disaring menggunakan saringan Millipore 0,45 mikron. Sebanyak 20 μL hasil saringan disuntikkan ke dalam

HPLC yang dilengkapi dengan kolom C18, menggunakan metanol 95% sebagai fase gerak dengan laju alir 1 mL/menit. Pembacaan dilakukan pada panjang gelombang 450 nm dan menggunakan detektor fluoresen. 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.

Analisis berat molekul

Analisis berat molekul menggunakan SDS-Page mengikuti prosedur yang dijelaskan dalam Singh, Benjakul, Maqsood & Kishimura (2011). Kolagen gelembung renang ikan tuna sirip kuning dilarutkan dalam larutan Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) 5%, kemudian larutan diinkubasi selama 1 jam dalam penangas air dengan suhu 85 °C. Larutan kemudian disentrifugasi pada kecepatan 4000xg selama 5 menit pada suhu kamar. Dengan rasio 1:1 (v/v), sampel dicampur dengan buffer (Tris HCl 60 mM, mengandung gliserol 25% dan SDS 2%) yang mengandung β -merkaptotanol (β -ME) 10%, kemudian dipanaskan di dalam air mendidih selama 2 menit. Ke dalam gel polyacrylamide (3% *stacking gel* dan 15% *running gel*) dimasukkan sampel sebanyak 5 μL , kemudian dilakukan elektroforesis selama 3 jam pada arus konstan 15 mA/gel. Gel diberi pewarnaan *Coomassie blue* R250 0,05% dalam methanol 15% dan asam asetat 5%. Kemudian destaining dengan methanol 30% dan asam asetat 10%. Berat molekul protein ditentukan dengan membandingkan berat molekul sampel dengan marker. *Precision Plus Protein™ All Blue Standards* (161-0373) dengan berat molekul 10 sampai 250 kDa adalah *marker* yang digunakan untuk menentukan berat molekul.

Analisis gugus fungsi dengan FTIR

Analisis gugus fungsi dengan FTIR mengikuti prosedur yang dijelaskan dalam Bryan et al. (2007). Sebanyak 3 mg kolagen gelembung renang ikan tuna sirip kuning dicampur dengan KBr sebanyak 0,1 mg, selanjutnya ditumbuk dalam mortar sampai tercampur rata dan halus. Campuran sampel uji dan KBr kemudian dibentuk pelet tipis transparan dan dimasukkan ke dalam *holder*, kemudian diletakkan ke dalam detektor lintasan sinar FTIR. Pengukuran sampel uji dilakukan pada bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} . Puncak-puncak wilayah serapan bilangan gelombang pada sampel uji ditunjukkan oleh spektra FTIR.

Analisis termal

Analisis termal dilakukan dengan *Differential Scanning Calorimetry* (DSC) mengikuti Liu et al. (2015). DSC juga digunakan untuk mempelajari transisi fase

dan dekomposisi eksotermik dan kestabilan sampel terhadap oksidasi. Kolagen gelembung renang ikan tuna sirip kuning sebanyak 10 mg dipindai pada kecepatan 4 °C/menit dari 0 °C sampai 400 °C. Suhu puncak setiap puncak endotermik dicatat sebagai suhu transisi maksimum (T_{max}).

Analisis logam berat dan cemaran mikroba

Jenis logam berat dan cemaran mikroba yang diuji mengacu pada SNI 8076:2014 tentang Kolagen, yaitu timbal (Pb), kadmium (Cd), arsen (As) yang metode pengujiannya mengacu pada SNI 2354.5:2006 (BSN, 2006^a) dan merkuri (Hg) yang metode pengujiannya mengacu pada SNI 01-2354.6:2006 (BSN, 2006^b). SNI 01-2332.1:2006 digunakan sebagai acuan metode pengujian *Coliform*, *Escherichia coli*, serta SNI 01-2332.2:2006 untuk acuan metode pengujian *Salmonella* (BSN, 2006^c, 2006^d).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi Proksimat, Logam Berat dan Kandungan Asam Amino Gelembung Renang Ikan Tuna Sirip Kuning

Komposisi proksimat, logam berat dan kandungan asam amino gelembung renang ikan tuna sirip kuning dapat dilihat pada Tabel 1.

Potensi gelembung renang ikan tuna sirip kuning sebagai bahan baku pembuatan kolagen dapat dilihat dari kandungan protein yang cukup tinggi yaitu sebesar 19,17%. Menurut Jonsson dan Vidarsson (2016), gelembung renang ikan didominasi oleh protein kolagen. Voet, Voet, dan Pratt (2013) menyatakan bahwa $\pm 30\%$ protein dalam tubuh mengandung kolagen dan zat pembangun gigi otot, tulang, kulit dan sendi sebagai struktur organik.

Kadar air gelembung renang ikan tuna sirip kuning 71,23%, lebih rendah jika dibandingkan dengan hasil penelitian Kaewdang et al. (2014) sebesar 83,33% dan Idrus et al. (2018) sebesar 76,24%, namun lebih tinggi dibandingkan dengan gelembung renang ikan cunang (Gadi et al., 2017) sebesar 65,00%. Salah satu bahan yang menentukan daya simpan dan kesegaran suatu bahan adalah kadar air. Menurut Holma, Ayinsa dan Maalekuu (2013), ikan pada umumnya mengandung air 70-84%, mineral 1-2%, lemak 0,1-22% dan protein 15-24%.

Kadar lemak gelembung renang ikan tuna sirip kuning sebesar 2,05%, lebih tinggi jika dibandingkan dengan hasil penelitian Kaewdang et al. (2014) dan ikan cunang (Gadi et al., 2017), sebesar 1,44% dan 0,31%, namun lebih rendah dari hasil penelitian Idrus et al. (2018), sebesar 3,17%. Kadar lemak dan abu

pada gelembung renang ikan tuna sirip kuning dapat dihilangkan atau diturunkan pada tahapan pra-perlakuan. Menurut Shon, Eo, Hwang, dan Eun (2011) efektivitas kolagen yang diaplikasikan pada produk terganggu dengan keberadaan mineral dan lemak. Larutan alkali (basa) dapat digunakan untuk menghilangkan lemak pada bahan baku pembuatan kolagen yang mengandung lemak <2% melalui proses penghilangan lemak (*defatting*). Larutan alkali (NaOH) dapat mendegradasi jaringan protein dan lemak sehingga proses *defatting* dan proses penghilangan komponen nonkolagen (*deproteination*) dapat dijalankan sekaligus.

Gelembung renang ikan tuna sirip kuning mengandung logam berat Hg 0,02 mg/kg, Pb <1,0 mg/kg, As <0,02 mg/kg dan Cd 0,77 mg/kg. Dalam produk pangan maupun nonpangan logam-logam berat tersebut mempunyai ambang batas tertentu dan jika dikonsumsi akan menimbulkan dampak yang buruk. Menurut SNI 7387: 2009 nilai ambang batas logam berat pada produk perikanan yaitu Cd 0,1 mg/kg, As 1 mg/kg, Pb 0,3 mg/kg dan Hg 0,5 mg/kg (BSN, 2009).

Berdasarkan hasil penelitian gelembung renang ikan tuna sirip kuning mengandung 15 jenis asam amino. Hasil penelitian mendeteksi asam amino penciri kolagen, yang komposisinya cukup besar yaitu glisin 5,71 mg/g, arginin 3,72 mg/g dan alanin 3,95 mg/g. Hal ini membuktikan bahwa gelembung renang ikan tuna sirip kuning mempunyai potensi untuk diolah menjadi produk kolagen. Bahan yang mengandung kolagen memiliki kandungan asam amino glisin yang cukup tinggi. Jaringan kolagen dapat terbentuk dengan bergabungnya vitamin C, glisin dan lisin, sedangkan asam amino yang berfungsi untuk membantu metabolisme dan memperkuat membran sel adalah lisin (Katilli, 2009). Menurut Ngili (2009) transaminasi asam okso yang sesuai dapat membentuk asam amino serin, aspartat, alanin dan glutamat. Ketiga asam amino ini kemudian membentuk asam amino non esensial lain. Selama pembentukan urea dalam tubuh, ornitin dan aspartat akan mensintesis asam amino arginin.

Kolagen dari Gelembung Renang Ikan Tuna Sirip Kuning

Rendemen

Ekstraksi gelembung renang ikan tuna sirip kuning menggunakan asam asetat 0,2 M menghasilkan rendemen kolagen sebesar 1,15%, sedangkan hasil penelitian Kaewdang et al. (2014) menunjukkan penggunaan asam asetat 0,5 M diperoleh rendemen yang lebih rendah yaitu sebesar 1,07%. Penggunaan asam asetat 0,5 M pada ekstraksi gelembung renang ikan cunang diperoleh kolagen dengan rendemen

Tabel 1. Komposisi proksimat, logam berat dan kandungan asam amino gelembung renang ikan tuna sirip kuning

Table 1. Proximate, heavy metals and amino acids composition of swimbladder from yellowfin tuna

Parameter/Parameters	Gelembung renang ikan Tuna Sirip Kuning/ Swimbladders from yellowfin tuna
Komposisi proksimat/Proximate composition :	
Kadar air/Moisture content (%)	71.23±0.023*
Kadar abu/Ash content (%)	6.13±0.035*
Kadar protein/Protein content (%)	19.17±0.020*
Kadar lemak/Fat content (%)	2.05±0.015*
Logam berat/Heavy metals:	
Merkuri/Mercury (mg/kg)	0.02
Timbal/Lead (mg/kg)	<1.0
Arsenik/Arsenic (mg/kg)	<0.02
Kadmium/Cadmium (mg/kg)	0.77
Asam amino/Amino acids:	
Asam aspartat/Aspartic acid (mg/g)	4.33
Asam glutamat/Glutamic acid (mg/g)	7.09
Serin/Serine (mg/g)	2.22
Histidin/Histidine (mg/g)	1.00
Glisin/Glycine (mg/g)	5.71
Treonin/Threonine (mg/g)	2.42
Arginin/Arginine (mg/g)	3.72
Alanin/Alanine (mg/g)	3.95
Tirosin/Tyrosine (mg/g)	1.50
Metionin/Methionine (mg/g)	1.42
Valin/Valine (mg/g)	2.49
Penilalanin/Phenylalanine (mg/g)	1.92
Isoleusin/Isoleucine (mg/g)	2.03
Leusin/Leucine (mg/g)	3.49
Lisin/Lysine (mg/g)	4.68

*rerata ± SD dari 3 ulangan pada sampel yang sama/average of three measurements ± SD

2,73% (Kartika & Trilaksani, 2016). Hasil rendemen yang berbeda disebabkan karena kandungan protein pada gelembung renang yang berbeda. Kandungan protein gelembung renang ikan yang digunakan pada penelitian ini adalah sebesar 19,17%, lebih tinggi dari gelembung renang ikan yang digunakan oleh Kaewdang et al. (2014) yaitu sebesar 12,09%. Gelembung renang ikan cunang memiliki kandungan protein yang lebih tinggi yaitu sebesar 24,74% (Kartika dan Trilaksani, 2016).

Komposisi proksimat, logam berat dan mikrobiologi

Kolagen merupakan produk yang harus memenuhi standar seperti komposisi proksimat, logam berat dan mikrobiologi. Syarat mutu kolagen mengacu pada SNI 8076: 2014 (BSN, 2014). Komposisi kimia, logam

berat dan mikrobiologi kolagen gelembung renang Ikan tuna sirip kuning ditampilkan pada Tabel 2.

Kolagen gelembung renang ikan tuna sirip kuning memiliki kadar air sebesar 12,75%, abu 0,58%, lemak 0,11% dan protein 85,41% (Tabel 2). Protein merupakan komposisi proksimat dominan yang terdapat pada kolagen. Nilai kadar protein kolagen gelembung renang sudah memenuhi syarat yang ditetapkan. Kadar protein kolagen gelembung renang ikan tuna sirip kuning lebih tinggi jika dibandingkan dengan kolagen teripang gamma sebesar 63,66-68,54% dan hampir setara dengan kolagen gelembung renang ikan cunang, sebesar 86,74% (Alhana et al., 2015; Gadi et al., 2017).

Penggunaan larutan NaOH pada proses pra-perlakuan cukup efektif menurunkan lemak dan mengurangi pengotor dan mineral-mineral yang

Tabel 2. Komposisi proksimat, logam berat dan mikrobiologi kolagen gelembung renang ikan tuna sirip kuning
Table 2. Proximate composition, heavy metals and microbiology of collagen from yellowfin tuna

Parameter/Parameters	Kolagen Gelembung Renang Ikan Tuna Sirip Kuning/Collagen from Yellowfin Tuna Swimbladder	Syarat Mutu Kolagen Kulit Ikan/ Quality Requirements of Fish Skin Collagen (BSN, 2014)
Komposisi Proksimat/Proximate Composition:		
Kadar air/Moisture content (%)	12.75±0.050*	≤12
Kadar abu/Ash content (%)	0.58±0.025*	≤1
Kadar protein/Protein content (%)	85.41±0.026*	≥75
Kadar lemak/Fat content (%)	0.11±0.032*	-
Logam Berat/Heavy Metals :		
Merkuri/Mercury (mg/kg)	Tidak terdeteksi/Undetected	Maks. 0.4/ Max. 0.4
Timbal/Lead (mg/kg)	Tidak terdeteksi/ Undetected	Maks. 0.1/ Max. 0.1
Arsenik/Arsenic (mg/kg)	Tidak terdeteksi/ Undetected	Maks. 0.5/ Max. 0.5
Kadmium/Cadmium (mg/kg)	Tidak terdeteksi/ Undetected	Maks. 1/ Max. 1
Mikrobiologi/Microbiology :		
Coliform (APM/gram)	Negatif/Negative	-
Salmonella	Negatif/Negative	Negatif/Negative
E. coli (APM/gram)	<3	≤3

*rerata ± SD dari 3 ulangan pada sampel yang sama/average of three measurements ± SD

terdapat pada gelembung renang. Ini terbukti dari rendahnya kadar lemak dan kadar abu pada kolagen gelembung renang ikan tuna sirip kuning. Shon et al. (2011) menyatakan bahwa sebagian ikatan hidrogen, kovalen dan peptida dapat dihancurkan menggunakan larutan alkali, sehingga protein nonkolagen, pigmen, kotoran dan lemak dapat diluruhkan. Kolagen gelembung renang ikan tuna sirip kuning mengandung kadar air sebesar 12,75%, hampir setara dengan kadar air kolagen gelembung renang ikan cunang, sebesar 12,12% (Gadi et al., 2017). Nilai ini sudah memenuhi syarat mutu yang ditetapkan berdasarkan SNI 8076: 2014 yaitu ≤ 12% (BSN, 2014).

Kadar abu memberikan gambaran mengenai kadar logam berat suatu bahan, semakin rendah kadar abu semakin sedikit logam berat yang terkandung dalam bahan tersebut. Hasil analisis logam berat terhadap kolagen gelembung renang ikan tuna sirip kuning tidak ditemukan adanya merkuri (Hg), arsen (As), kadmium (Cd) dan timbal (Pb), hal ini berarti bahwa proses pra-perlakuan dan ekstraksi kolagen mampu menurunkan logam berat yang terdapat pada gelembung renang ikan tuna sirip kuning sebagai bahan baku kolagen. Kolagen hasil ekstraksi aman untuk diaplikasikan untuk produk pangan maupun non pangan.

Hasil analisis mikrobiologi menunjukkan kolagen bebas bakteri *Salmonella*, *E. coli* dan *Coliform*, hal ini berarti bahwa syarat mutu untuk analisis mikrobiologi telah terpenuhi. Untuk mengetahui mutu bahan pangan perlu dilakukan uji kuantitatif mikrobiologi. Kontaminasi mikroba dapat terjadi pada

proses ekstraksi kolagen, baik pada saat preparasi bahan baku, saat netralisasi maupun pada saat penyimpanan. *E.coli* jika masuk dalam organ pencernaan dapat menyebabkan keracunan dengan gejala-gejala muntah-muntah, demam, diare, sakit kepala dan sakit perut. Bakteri patogen yang berbahaya lainnya adalah *Salmonella*, jika tubuh terkontaminasi *Salmonella* akan menyebabkan paratifus, demam tifus dan gangguan perut (Wipradnyadewi, Puspawati, Agung & Ekawati, 2014).

Komposisi asam amino

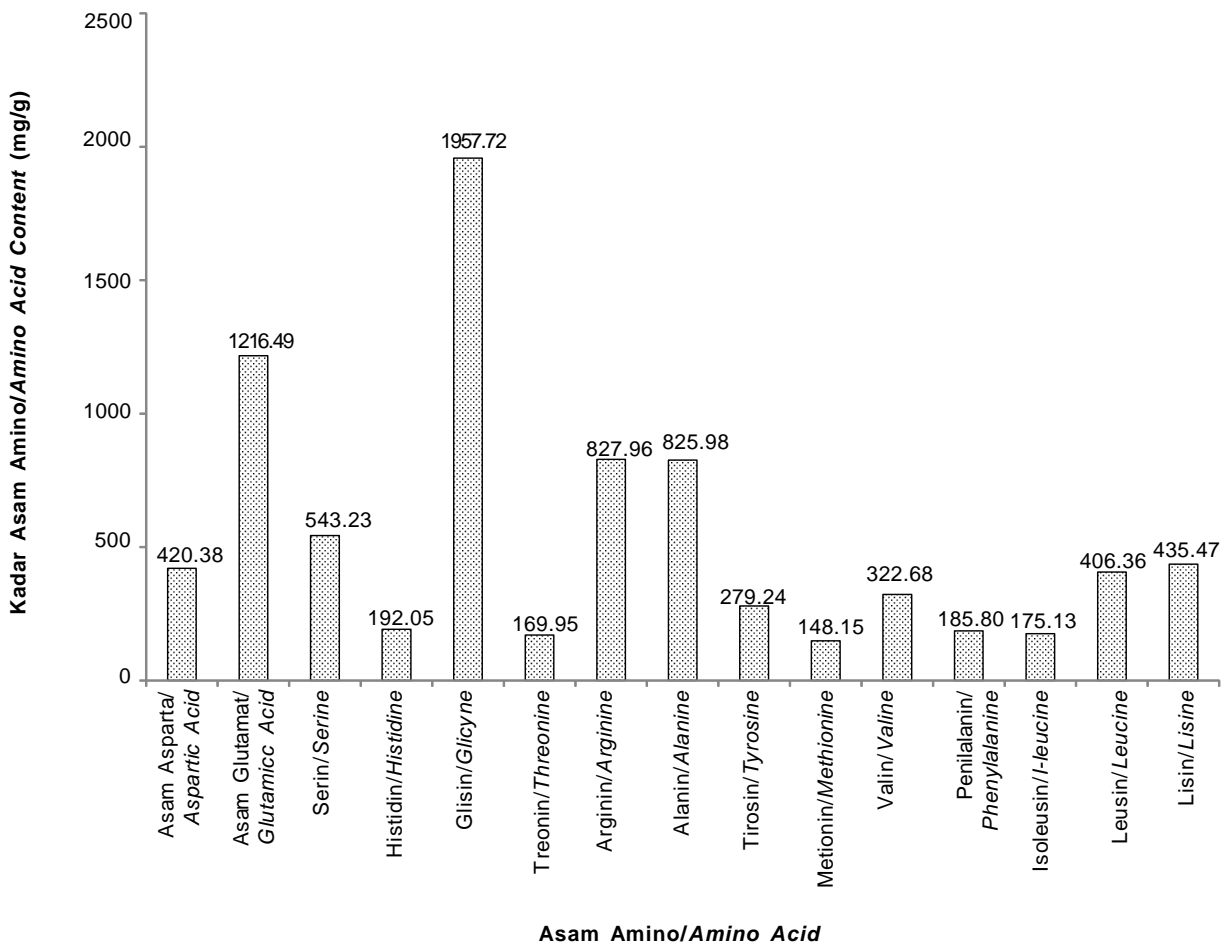
Suryaningrum, Muljanah, dan Tahapari (2010) menyatakan bahwa kandungan asam amino penyusun protein menentukan kualitas suatu protein. Kolagen terdiri dari tiga rantai polipeptida besar dan berulang. Kandungan protein kolagen didominasi oleh asam amino glisin, prolin, hidroksiprolin dan alanin. Menurut Katilli (2009), kolagen mempunyai struktur istimewa dan kekuatan rentang yang tidak terdapat pada protein lain sehingga membentuk hidroksiprolin dan hidroksilisin. Asam amino yang berperan dalam menjaga integritas struktural pada kolagen adalah prolin (Tamilmozhi, Veeruraj & Arumugam, 2013). Komposisi asam amino kolagen gelembung renang ikan tuna sirip kuning dapat dilihat pada Gambar 1.

Asam Glisin, asam glutamat, arginin dan alanin merupakan asam amino yang paling banyak ditemukan pada kolagen ikan tuna sirip kuning yang diekstrak dari gelembung renang menggunakan asam

asetat 0,2 M. Asam glutamat adalah asam amino pembentuk citarasa alami pada bahan pangan berbasis ikan. Menurut Suryaningrum et al. (2010), penyebab rasa umami (gurih) yang terdapat pada hampir semua bahan pangan adalah asam glutamat. Asam glutamat terdapat pada bahan pangan dengan komposisi yang berbeda-beda tergantung perlakuan yang diberikan. Asam amino glisin, arginin dan alanin merupakan asam amino utama pembentuk kolagen. Kolagen gelembung renang ikan tuna sirip kuning yang diekstrak menggunakan asam asetat 0,2 M tersusun atas 15 jenis asam amino yang didominasi oleh asam glutamat 1216,49 mg/g yang berfungsi sebagai senyawa citarasa dan tiga jenis asam amino pembentuk kolagen yaitu glisin 1957,72 mg/g, arginin 827,96 mg/g dan alanin 825,98 mg/g. Hasil ini selaras

dengan hasil penelitian Hema et al. (2013) yang juga menemukan bahwa hidroksiprolin, glisin, prolin dan alanin merupakan asam amino dominan dari kolagen. Kolagen dari gelembung renang ikan tuna sirip kuning yang diekstrak menggunakan asam asetat 0,5 M dan 0,75 M mengandung asam amino glisin 1175,05 mg/g dan 733,99 mg/g, arginin 848,75 mg/g dan 0 mg/g dan alanin 338,66 mg/g dan 215,35 mg/g (Idrus et al., 2018).

Kandungan asam amino yang paling tinggi pada kolagen adalah glisin sehingga glisin dapat dikatakan sebagai asam amino utama pembentuk kolagen. Kittiphattanabawon & Benjakul (2005) menyatakan bahwa 30% total asam amino pembentuk kolagen adalah glisin. Kolagen kulit ikan kakap yang diekstrak menggunakan asam asetat memiliki kandungan glisin



Gambar 1. Kandungan asam amino kolagen gelembung renang ikan tuna sirip kuning yang diekstraksi menggunakan asam asetat 0,2 M

Figure 1. Amino acids content of collagen from yellowfin tuna swimbladder extracted using acetic acid 0.2 M

1/3 dari total asam amino yaitu 25,5% (Jongjareonrak, Benjakul, Visessanguan, Nagai & Tanaka 2005). Persentase kandungan prolin dan alanin kolagen pada penelitian Jongjareonrak et al. (2005) adalah 13,1% dan 14,3%.

Alanin dan glisin mempunyai gugus R alifatik dan merupakan asam amino nonpolar. Fungsi alanin dan glisin membentuk tiga rantai alfa heliks. Dalam struktur alfa heliks protein akan lebih stabil jika energi yang diperlukan untuk mempertahankan suhu primer lebih rendah (Kusnandar, 2010). Nagai et al. (2008) mengemukakan bahwa struktur superheliks pada kolagen dapat dipertahankan dengan cincin pirolidin yang dimiliki oleh prolin dan hidroksprolin. Prolin dan hidroksprolin disebut juga asam imino, keberadaan asam imino dapat meningkatkan stabilitas termal kolagen (Benjakul et al., 2010).

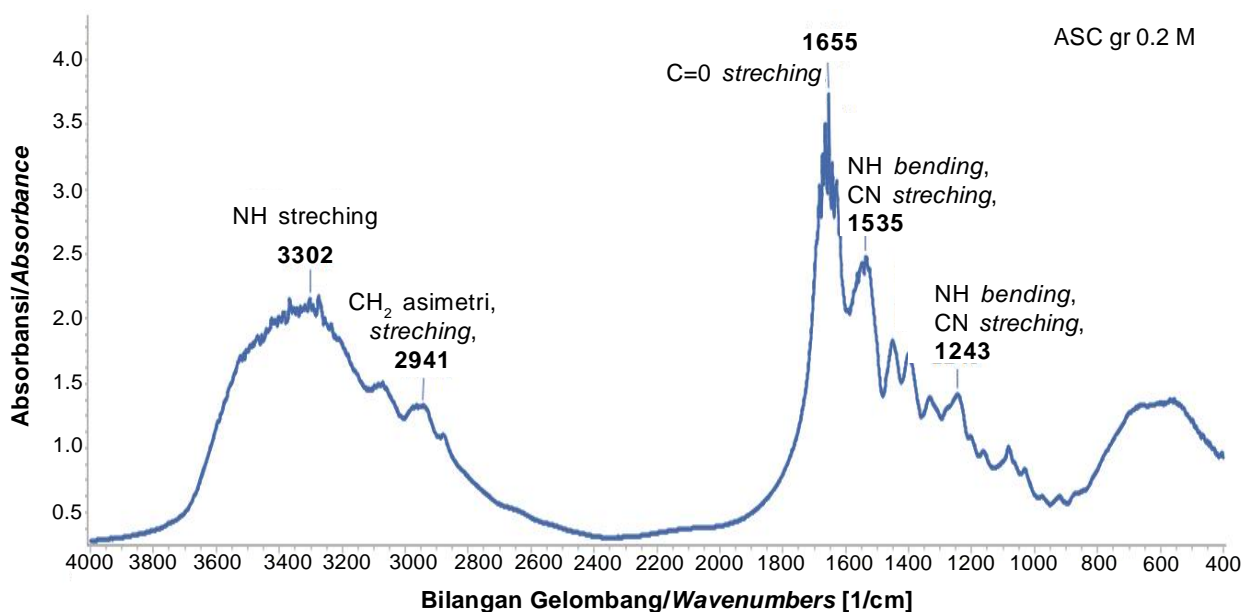
Kolagen gelembung renang ikan tuna sirip kuning mengandung asam amino arginin. Fungsi arginin antara lain terlibat dalam fungsi berbagai hormon, protein struktural dan enzim yang mendukung pelepasan hormon glukagin, insulin, prolaktin dan hormon pertumbuhan. Fungsi lain arginin dapat mempercepat penyembuhan luka dengan cara mendorong produksi limfosit dan merangsang timus (Gad, 2010).

Gugus fungsi

Keberadaan struktur protein yang dibentuk oleh beberapa ikatan peptida dan rantai sampingnya dapat

dianalisis menggunakan sinar inframerah yang kemudian membentuk pola spektrum serapan pada FTIR. Gugus fungsi khas yang teridentifikasi dari serapan FTIR dapat diklasifikasikan berdasarkan wilayah serapan amida A, B, I, II dan III yang merupakan ciri khas kolagen (Bi, Li, Doty & Camacho, 2005). Pada Gambar 2 dapat dilihat spektrum FTIR yang memberikan gambaran ikatan yang teridentifikasi pada masing-masing amida.

Gambar 2 mengindikasikan keberadaan amida A pada kolagen gelembung renang ikan tuna sirip kuning berada pada bilangan gelombang 3302 cm^{-1} . Menurut Muyonga, Cole & Duodu (2004), serapan bilangan gelombang yang berkisar antara 3300-3500 cm^{-1} merupakan gugus amida A. Keberadaan amida A pada kolagen gelembung renang ikan tuna sirip kuning merupakan representasi ikatan hidrogen N-H pada protein kolagen yang kemudian dapat diduga sebagai vibrasi *stretching* antara ikatan hidrogen N-H. Vibrasi N-H *stretching* pada polipeptida heliks kemudian beresonansi dengan vibrasi amida II di struktur β -sheet pada kombinasi amida II. Wilayah serapan amida B pada bilangan gelombang 2941 cm^{-1} teridentifikasi sebagai bentuk serapan asimetrikal *stretching* CH_2 yang menghubungkan gugus NH_2 pada struktur tiga dimensi protein kolagen (Duan, Zhang, Du, Yao & Konno, 2009). Selanjutnya Duan et al. (2009) menyatakan bahwa serapan amida B berada pada bilangan gelombang 2935-2915 cm^{-1} .



Gambar 2. Spektrum FTIR kolagen gelembung renang ikan tuna sirip kuning yang diekstraksi menggunakan asam asetat 0,2 M

Figure 2. FTIR spectrum of collagen from yellowfin tuna swimbladder extracted using acetic acid 0.2 M

Wilayah serapan amida I pada bilangan gelombang 1655 cm^{-1} teridentifikasi sebagai ikatan ganda $\text{C}=\text{O}$ yang bervibrasi *stretching* pada atom C gamma dan gugus OH^- yang dapat menentukan struktur sekunder kolagen. Ikatan yang sama juga terdeteksi pada bilangan gelombang 1648 cm^{-1} pada kolagen gelembung renang ikan tuna sirip kuning (Kaewdang et al., 2014). Menurut Muyonga et al. (2004) amida I memiliki wilayah serapan pada kisaran $1636\text{--}1661\text{ cm}^{-1}$. Wilayah serapan amida II dan amida III berada pada bilangan gelombang 1535 cm^{-1} dan 1243 cm^{-1} . Bilangan gelombang 1549 cm^{-1} dan 1454 cm^{-1} merupakan wilayah serapan amida II dan amida III (Kaewdang et al., 2014). Dengan adanya gugus CN stretching dan NH binding pada kolagen akan terjadi interaksi intermolekul pada puncak wilayah serapan (Kong & Yu, 2007).

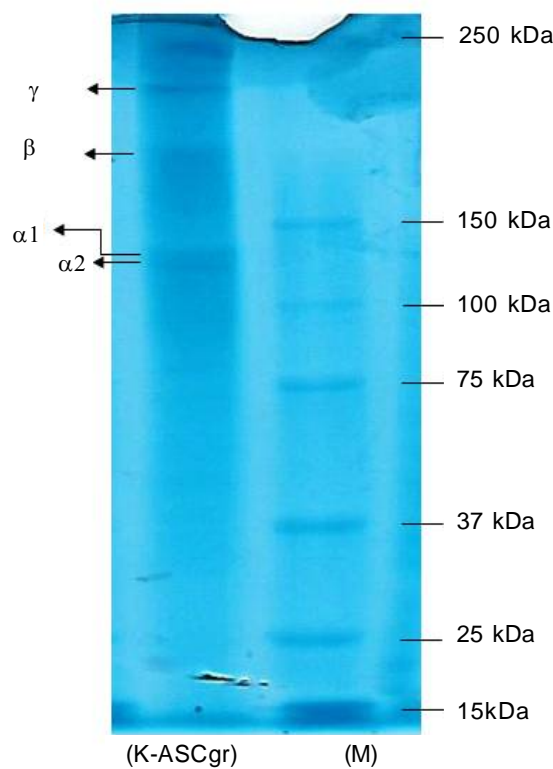
Berat molekul

Hasil SDS-Page kolagen gelembung renang ikan tuna sirip kuning yang diekstrak menggunakan asam asetat $0,2\text{ M}$ dapat dilihat pada Gambar 3. Berat molekul kolagen gelembung renang ikan tuna sirip

kuning menggunakan ekstraksi asam asetat $0,2\text{ M}$ memiliki struktur identik $\alpha 1$ dan $\alpha 2$ dengan berat molekul masing-masing $131,346\text{ kDa}$ dan $120,440\text{ kDa}$. Kolagen Tipe I ditunjukkan dengan keberadaan rantai α . Kolagen Tipe I banyak ditemukan pada jaringan ikat dan bagian tendon yang mengandung 3 rantai polipeptida dengan masing-masing berat molekul 94 kDa (Ogawa et al., 2004). Ketiga polipeptida tersebut adalah rantai α yang mempunyai struktur triple heliks yang melingkari rantai lainnya membentuk untaian tali (Shoulders & Raines, 2009).

Kolagen gelembung renang tuna sirip kuning juga memiliki pita β dan γ dengan berat molekul masing-masing $191,159\text{ kDa}$ dan $227,439\text{ kDa}$. Dimers dan trimers yang terbentuk akibat cross linking rantai α pada molekul kolagen akan membentuk pita β dan γ . Tingginya jumlah kolagen yang mengalami cross linking ditunjukkan dengan ketebalan intensitas pita protein struktur β (Singh et al., 2011).

Rantai alfa ($\alpha 1$ dan $\alpha 2$), rantai beta (α) dan gama (γ) yang terdapat kolagen gelembung renang ikan tuna sirip kuning menunjukkan hasil yang sesuai dengan kolagen gelembung renang dari ikan kakap putih (Sinthusamran



Gambar 3. Pola peptida kolagen gelembung renang ikan tuna sirip kuning, K-ASCgr : kolagen gelembung renang menggunakan ekstraksi asam asetat $0,2\text{ M}$, M : penanda

Figure 3. Peptida pattern of collagen from yellowfin tuna swimbladder, K-ASCgr : extracted using acetic acid 0.2 M , M : Marker

et al, 2013); ikan tuna sirip kuning (Kaewdang et al., 2014); ikan mas (Liu et al., 2015); dan ikan cunang (Gadi et al., 2017).

Stabilitas termal

Suhu denaturasi kolagen menentukan tingkat stabilitas termal dari kolagen. Pada pengukuran DSC kolagen dari gelembung renang ikan tuna sirip kuning pada suhu 0-400 °C, laju pemanasan 10 °C/menit diperoleh suhu puncak pelelehan/suhu transisi maksimal (T_{max}) 85,60 °C dengan tinggi puncak 1,0995 mW, suhu awal pelelehan (T_{onset}) 61,89 °C dan suhu akhir pelelehan (T_{end}) 136,05 °C (Gambar 4).

Suhu transisi maksimal (T_{max}) pada kolagen gelembung renang ikan tuna sirip kuning adalah 85,60 °C dengan ΔH 115,2233 J/g, Penelitian Kaewdang et al. (2014) mendapatkan hasil yang lebih rendah yaitu 32,97 °C dengan ΔH 1,786 J/g. Menurut Benjakul et al. (2010), stabilitas termal suatu bahan juga ditentukan oleh komposisi asam amino bahan tersebut, karena karakteristik termal masing-masing asam amino berbeda-beda sehingga denaturasi akan dipertahankan secara simultan apabila diberi kalor.

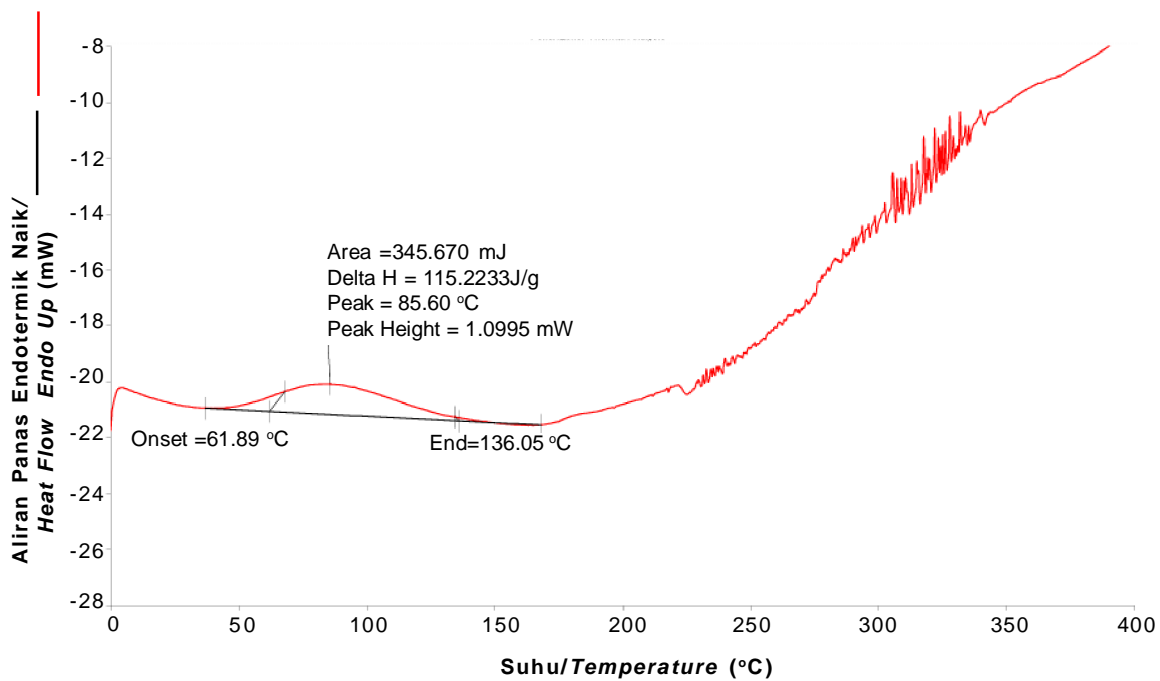
Kolagen dari bahan baku yang berbeda akan memiliki suhu transisi maksimal (T_{max}) yang berbeda,

kolagen ASC kulit ikan kakap T_{max} 35,02 °C / ΔH 0,918 J/g dan 33,33 °C/ ΔH 0,860 J/g; kolagen PSC gelembung renang ikan mas T_{max} 37,3 °C dengan ΔH 1,39 J/g; kolagen gelembung renang ikan cunang dengan ekstraksi asam mempunyai T_{max} 195,59 °C / ΔH 7,8113 J/g (Gadi et al., 2017; Liu et al., 2015; Sinthusamran et al., 2013).

Nilai T_{max} dan ΔH yang semakin tinggi menunjukkan tingginya tingkat kestabilan termal (Sinthusamran et al., 2013). Menurut Rengenstein dan Zhou (2007) kestabilan termal dipengaruhi oleh perbedaan lingkungan tempat ikan tersebut hidup. Tingkat kestabilan termal kolagen dari ikan yang hidup di perairan hangat lebih tinggi dibandingkan dengan kolagen dari ikan yang hidup di perairan dingin. Rantai pyrrolidine dari asam imino prolin dan hidrosiprolin serta sebagian ikatan hidrogen dari kelompok hidroksil dari hidrosiprolin juga menentukan stabilitas termal (Benjakul et al., 2010).

KESIMPULAN

Gelembung renang ikan tuna sirip kuning mempunyai komposisi kimia dengan protein yang cukup tinggi, mengandung 15 asam amino dan rendah



Gambar 4. Kurva *Differential Scanning Calorimeter* (DSC) kolagen gelembung renang ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*) menggunakan ekstraksi asam asetat 0,2 M.

Figure 4. *Differential Scanning Calorimeter* (DSC) curves of collagen from yellowfin tuna swimbladder (*Thunnus albacares*) extracted using acetic acid 0.2 M

cemaran logam berat. Penggunaan asam asetat 0,2 M pada ekstraksi kolagen dari gelembung renang ikan tuna sirip kuning menghasilkan rendemen 1,15% dengan karakteristik gugus fungsi dan berat molekul yang tergolong kolagen Tipe I, dengan komposisi kimia, logam berat dan cemaran mikroba sesuai dengan syarat mutu kolagen. Glisin, asam glutamat, arginin dan alanin adalah asam amino dominan yang ditemukan pada kolagen dari gelembung renang ikan tuna yang mana glisin, arginin dan alanin merupakan asam amino pembentuk kolagen sedangkan asam glutamat merupakan asam amino pembentuk citarasa. Di samping itu kolagen yang dihasilkan memiliki kestabilan termal yang tinggi sehingga dapat diaplikasikan pada industri makanan, farmasi dan kosmetik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih disampaikan kepada Kepala Balai Riset dan Standardisasi Industri Ambon yang telah membiayai penelitian ini melalui DIPA Balai. Terimakasih juga disampaikan kepada Dr. Wini Trilaksani, M.Sc atas bimbingan dan arahan selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Alhana, A., Suptijah, P., & Tarman, K. (2015). Ekstraksi dan karakterisasi kolagen dari daging teripang gamma (*Stichopus variegatus*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 18(2), 150-161. doi: <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v18i2.10610>

Association of Official Analytical Chemist (AOAC). (2005). *Official methods of analysis*. 18thed. Association of Official Analytical Chemist Inc. Mayland USA.

Badan Standardisasi Nasional (BSN). (2006a). *SNI 2354.5: 2006. Cara uji kimia - Bagian 5: Penentuan kadar logam berat Timbal (Pb) dan Kadmium (Cd) pada produk perikanan*. Jakarta: BSN RI.

Badan Standardisasi Nasional (BSN). (2006b). *SNI 2354.6: 2006. Cara uji kimia - Bagian 6: Penentuan kadar logam berat Merkuri (Hg) pada produk perikanan*. Jakarta: BSN RI.

Badan Standardisasi Nasional (BSN). (2006c). *SNI 01-2332.1-2006. Cara uji mikrobiologi - Bagian 1: Penentuan Coliform dan Escherichia coli pada produk perikanan*. Jakarta: BSN RI.

Badan Standardisasi Nasional (BSN). (2006d). *SNI 01-2332.2-2006. Cara uji mikrobiologi - Bagian 2: Penentuan Salmonella pada produk perikanan*. Jakarta: BSN RI.

Badan Standardisasi Nasional (BSN). (2009). *SNI 7387: 2009. Batas maksimum cemaran logam berat dalam pangan*. Jakarta: BSN RI.

Badan Standardisasi Nasional (BSN). (2014). *SNI 8076: 2014. Kolagen kasar dari sisik ikan-syarat mutu dan pengolahan*. Jakarta: BSN RI.

Benjakul, S., Thiansilakul, Y., Visessanguan, W., Roytrakul, S., Kishimura, H., Prodpran, T., & Meesane, J. (2010). Extraction and characterization of pepsin-solubilised collagens from the skin of bigeye snapper *Priacanthus tayenus* and *Priacanthus macracanthus*. *Science Food Agriculture*, 90,132-138.

Bi, X., Li, G., Doty, S.B., & Camacho, N.P. (2005). A novel method for determination of collagen orientation in cartilage by fourier transform infrared imaging spectroscopy (FT-IRIS). *Osteoarthritis and Cartilage*, 13(12), 1050-1058.

Bryan, M.A., Brauner, J.W., Anderle, G., Flach, C.R., Brodsky, B., & Mendelsohn, R. (2007). FTIR studies of collagen model peptides: complementary experimental and simulation approaches to conformation and unfolding. *Journal of the American Chemical Society*, 129(25), 7877-7884.

Djalani, F., Trilaksani, W., & Nurhayati, T. (2016). Optimasi ekstraksi dan karakterisasi kolagen dari gelembung renang ikan Cunang dengan metode asam-hidro-ekstraksi. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 19(2), 156-167. doi: 10.17844/jphpi.2019.19.2.156

Duan, R., Zhang, J., Du, X., Yao, X., & Konno, K. (2009). Properties of collagen from skin, scale and bone of carp (*Cyprinus carpio*). *Food Chemistry*, 112, 702-706.

Dutta, S., Giri, S., Dutta, J., & Hazra, S. (2014). *Blackspotted croaker, Protonibea diacanthus* (Lacepede, 1802): a new dimension to the fishing pattern in West Bengal, India. *Croatian Journal of Fisheries*, 72, 41-44.

Fujaya, Y. (2008). *Fisiologi ikan: dasar pengembangan teknik perikanan*. Jakarta: Rineka Cipta

Gad, Z.M. (2010). Anti-aging effects of L-arginine. *Journal of Advanced Research*, 1,16-177.

Gadi, D.S., Trilaksani, W., & Nurhayati, T. (2017). Histologi, ekstraksi dan karakterisasi kolagen gelembung renang ikan cunang (Muarenesox talabon). *Jurnal Ilmu dan Kelautan Tropis*, 9(2), 665-683. doi: <http://dx.doi.org/10.29244/jitkt.v9i2.19300>

Hema, G.S., Shyni, K., Mthew, S., Ananda, R., Ninan, G., & Lakshmanan, P.T. (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.

Holma, K., Ayinsa, & Maalekuu, B.K. (2013). Effect of traditional fish processing methods on the proximate composition of red fish stored under ambient room conditions. *American J. of Food Nutrition*, 3(3), 73-82.

Idrus, S., Hadinoto, S., & Kolanus, J.P.M. (2018). Karakterisasi kolagen gelembung renang ikan Tuna Sirip Kuning (*Thunnus albacares*) dari perairan Maluku menggunakan ekstraksi asam. *Jurnal Biopropal Industri*, 9(2), 89-96.

Jamilah, B., Umi Hartina, M.R., Mat Hashim, D., & Sazili, A.Q. (2013). Properties of collagen from barramundi (*Lates calcarifer*) skin. *International Food Research Journal*, 20(2), 835-842.

- Jongjareonrak, A., Benjakul, S., Visessanguan, W., Nagai, T., & Tanaka, M. (2005). Isolation and characterization of acid and pepsin-solubilised collagens from the skin of brownstripe red snapper (*Lutjanus vitta*). *Food Chemistry*, 93, 475-484.
- Jonsson, A., & Vidarsson, J.R. (2016). *By products from whitefish processing*. USA: Skyrsla Matis.
- Kaewdang, O., Benjakul, S., Kaewmanee, T., & Kishimura, H. (2014). Characteristics of collagens from the swimbladders of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *Food Chemistry*, 155, 264-270.
- Kartika, I.W.D., & Trilaksani, W. (2016). Karakterisasi kolagen dari limbah gelembung renang ikan cunang (*Muraenesox talabon*) hasil ekstraksi asam dan hidrotermal. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 19(3), 222-232. doi: 10.17844/jphpi.2016.19.3.222
- Katilli, A.S. (2009). Struktur dan fungsi protein kolagen. *Jurnal Pelangi Ilmu*, 2(5), 10-29.
- Kittiphattanabawon, P., & Benjakul, S. (2010). Isolation and properties of acidand-pepsin-soluble collagen from the skin of blacktip shark (*Carcharhinus limbatus*). *Eur Food Res Technol*, 230, 475-483.
- Kong, J., & Yu, S. (2007). Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 39(8), 549-559.
- Kusnandar, F. (2010). *Kimia Pangan*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Lehninger, A.L. (2000). *Dasar-dasar biokimia (terjemahan)*. Jakarta: Erlangga.
- Liu, D., Zhang, X., Li, T., Yang, H., Zhang, H., Regenstein, J.M., & Zhou, P. (2015). Extraction and characterization of acid and pepsin soluble collagens from the scales, skins and swim bladders of grass carp *Ctenopharyngodon idella*. *Food Bioscience*, 9, 68-74.
- Muyonga, J.H., Cole, C.G.B., & Duodu, K.G. (2004). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of acid soluble collagen and gelatin from skins and bones of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chemistry*, 86, 325-332.
- Nagai, T., Suzuki, N., & Nagashima, T. (2008). Collagen from common minke whale (*Balaenoptera acutorostrata*) unesu. *Food Chemistry*, 111, 296-301
- Ngili, Y. (2009). *Biokimia metabolisme dan bioenergenika*. Ed ke-1. Yogyakarta: Graha Ilmu
- Ogawa, M., Portier, R.J., Moody, M.W., Bell, J., Schexnayder, M.A., & Losso, J.N. (2004). Biochemical properties of bone and scale collagens isolated from the subtropical fish black drum (*Pogonis cromis*) and sheepshead seabream (*Archosargus probatocephalus*). *Food Chemistry*, 88, 495-501.
- Rengenstein, J. M., & Zhou, P. (2007). *Collagen and gelatin from marine by-product, maximising the value of marine by-product*. Florida: CRC Press.
- Santos, M.H., Silva, R.M., Dumont, V.C., Neves, J.S., Mansur, H.S., & Heneine, L.G.D. (2013). Extraction and characterization of highly purified collagen from bovine pericardium for potential bioengineering applications. *Journal of Materials Science and Engineering C*, 33, 790-800.
- 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.
- Sinthusamran, S., Benjakul, S., & Kishimura, H. (2013). Comparative study on molecular characteristics of acid soluble collagens from skin and swimbladder of seabass (*Lates calcarifer*). *Food Chemistry*, 138, 2435-2441.
- Shoulders, M.D., & Raines, R.T. (2009). Collagen structure and stability. *Annu Rev Biochem*, 78, 929-958.
- Shon, J., Eo, J., Hwang, S.J., & Eun, J. (2011). Effect of processing conditions on functional properties of collagen powder from skate (*Raja kenoi*) skins. *Food Science Biotechnology*, 20(1), 99-106.
- Suryaningrum, T.D., Muljanah, I., & Tahapari, E. (2010). Profil sensori dan nilai gizi beberapa jenis ikan patin dan hibrid nasutus. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 5(2), 153-164. doi: 10.15578/jpbkp.v5i2.419
- Tamilmozhi, S., Veerurajm 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.
- Trilaksani, W., Nurjanah, & Utama, H.W. (2006). Pemanfaatan gelembung renang ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) sebagai bahan baku isinglass. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*, 9(1), 12-21.
- Voet, D., Voet, J.G., & Pratt, C.W. (2013). *Principles of biochemistry, international student version*. 4 ed. John Wiley and Sons, Inc. Singapore.
- Wang, L., An, X., Yang, F.,Xin, Z., Zhao,L., & Hu, Q. (2008). Isolation and characterization of collagens from th eskin, scale and bone of deep-searedfish (*Sebastes mantella*). *Food Chemistry*, 108, 616-623.
- Wipradnyadewi, P.A.S., Puspawati, N.N., Agung, I.G.N., & Ekawati, I.G.A. (2014). *Penuntun praktikum mikrobiologi pangan*. Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan, Universitas Udayana.