

KARAKTERISTIK KOLAGEN DARI KULIT DAN SISIK IKAN COKLATAN, SWANGGI, DAN KURISI SEBAGAI BAHAN GELATIN

Widiyanto^{1,2*}, Uju¹, Mala Nurilmala¹

¹Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB University

²Sekolah Usaha Perikanan Menengah Negeri Tegal

Diterima: 12 Oktober 2022/Disetujui: 29 Desember 2022

*Korespondensi: widiyantoadhikari@gmail.com

Cara sitasi (APA Style 7th): Widiyanto, Uju, & Nurilmala, M. (2022). Karakteristik kolagen dari kulit dan sisik ikan coklatan, swanggi, dan kurisi sebagai bahan gelatin. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 25(3), 512-527. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v25i3.43598>

Abstrak

Hasil samping industri filet ikan coklatan, swanggi dan kurisi berupa kulit, yang hanya dimanfaatkan sebagai bahan pakan ternak meskipun dapat dimanfaatkan sebagai sumber kolagen dan gelatin. Kandungan hidroksiprolina pembentuk kolagen beserta sifat protein kolagen belum tersedia informasinya, sehingga dilakukan penelitian. Penelitian bertujuan menentukan jenis kulit terpilih sebagai bahan gelatin dengan memperhatikan karakteristik kulit, sisik, dan kulit bersisik ikan coklatan, swanggi, kurisi, dan kandungan hidoksiprolina sebagai penciri kolagen. Rancangan percobaan yang digunakan pada tahap deproteinasi adalah menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) tiga faktor di mana faktor pertama yaitu jenis ikan terdiri atas tiga taraf (ikan coklatan, swanggi, dan kurisi), faktor kedua yaitu waktu perendaman NaOH 12 taraf (2; 4; 6; 8; 10; 12; 14; 16; 18; 20; 22; 24) jam, faktor ketiga jenis kulit tiga taraf (kulit, sisik, kulit bersisik). Data dianalisis secara statistik dengan ANOVA dan uji lanjut Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu optimasi deproteinasi perendaman NaOH dimulai dari 14-20 jam tergantung jenis ikan dan bahan baku, efektif mengeliminasi protein non kolagen. Luas jaringan kolagen pengamatan histologi adalah $\pm 95,136,16 \mu\text{m}^2$ tertinggi pada jenis kulit bersisik ikan swanggi berasosiasi dengan kandungan protein tertinggi pada kulit bersisik swanggi sebesar 21,20% (basis basah) 56,17% (basis kering). Jenis kulit memiliki berat molekul dalam kisaran 10 sampai 105 kDa mempunyai kandungan protein yang merupakan protein sarkoplasma, miofibril, dan jaringan ikat yang mengandung kolagen, sehingga dapat digunakan sebagai penghasil gelatin. Kulit bersisik ikan swanggi memiliki kandungan hidroksiprolina tertinggi daripada jenis kulit lainnya yaitu 0,0888 g/ μL sehingga dapat ditentukan sebagai jenis kulit terpilih.

Kata kunci: deproteinasi, hidroksiprolina, histologi, SDS-PAGE

Characteristics of Collagen Skin and Scales of Lattice Monocle Bream, Purple-Spotted Bigeye and Threadfin Bream as Gelatin Ingredients

Abstract

The by-product of the fish fillet industry for lattice monocle bream, purple-spotted bigeye and threadfin bream, are only used as an ingredient for animal feed although it can be used as a source of collagen and gelatin. The hydroxyproline content forming collagen along with the properties of collagen protein is not yet available, so research is done. This study was aimed to determine the selected skin type as a gelatin material by taking into account the characteristics of the skin and scales of lattice monocle bream, purple-spotted bigeye, threadfin bream, and hydroxyproline content as a collagen marker. The experimental design used at the deproteination stage used a Randomized Block Design (RBD) with three factors where the first factor was the type of fish consisting of three levels (lattice monocle bream, purple-spotted bigeye and threadfin bream), the second factor was the soaking time of NaOH 12 levels (2; 4; 6; 8; 10; 12; 14; 16; 18; 20; 22; 24) hours, the third factor of the skin type is three levels (skin, scales, scaly skin), The experimental design in this study was analyzed by statistic with ANOVA and Duncan's advanced test. The results showed that the deproteinization optimization time of NaOH immersion started from 14-20 hours depending on the type of fish and the raw materials, effectively eliminated non-collagen proteins. The area of collagen tissue in histology test preparations was $\pm 95.136,16 \mu\text{m}^2$ highest in the scaly skin of the purple-spotted

bigeye associated with the highest protein content in purple-spotted bigeye scaly skin of $21.20 \pm 0.18\%$ (wet basis) $56.17 \pm 0.12\%$ (dry basis). The skin type had a molecular weight in the range of 10 to 105 kDa. The raw material contains protein which is sarcoplasmic protein, myofibrils and collagen containing connective tissue, so the raw material can be used as a gelatin producer. The scaly skin of purple spotted bream has the highest hydroxyproline than other skin types of $0.0888 \mu\text{g}/\mu\text{L}$, so it can be determined as the selected skin types.

Keyword: deproteinization, histology, hydroxyproline, SDS-PAGE

PENDAHULUAN

Total produksi perikanan Indonesia pada tahun 2020 mencapai 21.834.106,56 ton. Hasil produksi perikanan tersebut termasuk ikan demersal yaitu ikan yang habitatnya dekat dengan dasar perairan. Ikan demersal di Laut Jawa merupakan salah satu komoditas yang melimpah dan memiliki nilai ekonomi yang tinggi, misal coklatan (*Scolopsis taenioptera*) dengan total tangkapan 2.581,98 ton, ikan swanggi (*Priacanthus tayenus*) 34.334,77 ton, ikan kurisi (*Nemipterus virgatus*) 120.302,24 ton, yang ditangkap di perairan Indonesia pada tahun 2020 (Pusat Data Statistik dan Informasi Kementerian Kelautan dan Perikanan [Pusdatin KKP], 2022). Peningkatan teknologi dan ukuran kapal penangkap ikan berdampak pada peningkatan produksi ikan khususnya ikan demersal (Ernawati & Sumiono, 2009) sehingga berdampak pada peningkatan jumlah industri pengolahan ikan, antara lain industri filet ikan, daging ikan giling, dan surimi. Industri pengolahan ikan menghasilkan produk samping berupa tulang, kulit, sisik dan sirip yang dapat menjadi sumber kolagen sebagai bahan penyusun gelatin, namun hanya dimanfaatkan sebagai pakan ternak (Mo *et al.*, 2017).

Kebutuhan gelatin di Indonesia saat ini masih dipenuhi oleh impor, misalnya pada tahun 2022 sampai bulan Juni impor gelatin mencapai 3.833.891 kg atau setara 28.834.370 USD (Badan Pusat Statistik [BPS], 2022). Distribusi gelatin di dunia didominasi dari tulang dan kulit mamalia (Niswandar, 2020). Boran *et al.* (2010) mengemukakan gelatin kulit ikan saat ini diminati sebagai produk untuk mengatasi masalah agama (Yahudi, Muslim, Hindu) sehingga dapat menjadi alternatif pemanfaatan dari hasil samping industri perikanan. Selain itu menurut

Alves *et al.* (2017) terdapat risiko penularan penyakit dari bahan baku ke manusia sebagai konsumen antara lain TSE (*Transmissible Spongiform Encephalopathy*) sebagai contoh BSE (*Bovine Spongiform Encephalopathy*), dan FMD (*Foot and Mouth Disease*).

Menurut Rabotyagova *et al.* (2008) ikan mengandung paling banyak jaringan ikat dan protein yang disebut kolagen. Kolagen adalah protein miofibrilar yang dibentuk oleh rantai polipeptida dalam untaian berantai tunggal yang disebut *triple helix*, yaitu glisina, prolina, dan hidroksiprolina. Kolagen *triple helix* kuat dan stabil karena hidroksiprolina pada posisi X berperan dalam kestabilan heliks (Jafari *et al.*, 2020). Song *et al.* (2021) telah mengukur jumlah kolagen pada suatu jaringan kulit ikan nila untuk mengetahui kandungan hidroksiprolina. Metode yang digunakan menggunakan *hydroxyproline assay kit*. Potensi kulit dan sisik ikan sebagai sumber kolagen serta efisiensi ekstraksinya dapat diperkirakan secara kualitatif dengan pengamatan mikroskopis. Kulit sebagai sumber kolagen tergantung dari susunan lapisan *stratum compactum* serta ketersediaan ruang antar susunan tersebut. Andriani & Masyitha (2017) menyampaikan struktur histologis pada kulit ikan akan dapat dideskripsikan dengan baik antara lain menggunakan pengamatan yang dilakukan setelah menyiapkan spesimen histologis yang telah diwarnai dengan trikrom Masson. Pewarna trikrom Masson dikenal sebagai metode pewarnaan jaringan ikat yang berada pada kulit ikan terutama kolagen sehingga dapat dilihat dengan indra penglihatan dengan bantuan mikroskop.

Pemanfaatan jenis kulit ikan coklatan, swanggi, kurisi, dan kandungan asam amino pembentuk kolagen sebagai bahan gelatin terutama hidroksiprolina dengan

memperhatikan sifat-sifat protein kolagen itu sendiri dan informasi karakteristiknya masih jarang dilaporkan, sehingga perlu dilakukan penelitian. Tujuan dari penelitian ini adalah penentuan jenis kulit terpilih sebagai bahan gelatin dengan memperhatikan karakteristik kulit dan sisik ikan coklatan, swanggi, kurisi, dan kandungan hidroksiprolina sebagai penciri kolagen.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini yaitu kulit, sisik, dan kulit bersisik ikan coklatan, swanggi, dan kurisi yang diperoleh dari kawasan industri filet ikan Pelabuhan Perikanan Pantai Tegalsari Kota Tegal. Bahan-bahan pendukung yang digunakan antara lain akuades, sodium dodesil sulfat (sigma aldrich), akuabides, HCl 37% (Merck), NaOH (Merck), *bovine serum albumin* (Merck), *hydroxyproline assay kit* (sigma aldrich), asam sitrat (gajah). Alat-alat yang digunakan, yaitu timbangan analitik (Adventurer ohaus), gelas beker (pyrex), mikropipet ukuran 1-10 μ L, 5-50 μ L, 10-100 μ L, 100-1.000 μ L, 5 mL (DLAB), vortex, oven pengering 80-250°C (B-ONE), mikroskop (Olympus CX23), elektroforesis SDS PAGE (peqlab biotechnologie GmbH Erlangen), *dry block thermostast* (Bio TDB-100), UV-C disinfeksi (Philips), sentrifugasi kecepatan tinggi (CORNING LSE), *elisa reader* (Thermo Scientific Multiskan GO), spektrofotometer (Rayleigh).

Metode Penelitian

Penentuan bahan baku terpilih ditentukan secara kuantitatif dengan melakukan analisis kandungan hidroksiprolina menggunakan *hydroxyproline assay kit* pada bahan baku yang telah dilakukan beberapa tahap analisis yakni penentuan rendemen bagian tubuh ikan, analisis komposisi kimia (Badan Standardisasi Nasional [BSN], 1992), pengamatan histologi metode trikrom Masson (Sheehan & Hrapchak, 1980) dimodifikasi oleh (Suvik & Effendy, 2012), analisis bobot molekul protein menggunakan SDS-PAGE (Laemmli, 1970) dimodifikasi oleh (Nurilmala *et al.*, 2017), deproteinasi (Kittiphattanabawon *et al.*,

2010 dengan modifikasi), analisis Bradford (Kruger, 2002), analisis bobot molekul protein hasil deproteinasi menggunakan SDS-PAGE, analisis kandungan hidroksiprolina (Sigma-Aldrich 2021).

Penentuan proporsi jenis kulit

Proporsi merupakan rasio bagian tubuh ikan terhadap bobot ikan secara utuh. Proporsi bagian tubuh ikan diperoleh dengan cara melakukan penimbangan bagian daging, jeroan, kulit, sisik, kepala serta tulang dan ekor. Ikan coklatan, swanggi dan kurisi yang digunakan terlebih dahulu dikarakterisasi dengan penghitungan rendemen bagian tubuh. Setiap bagian ditimbang dan dihitung persentasenya menggunakan rumus:

$$\text{Persentase (\%)} = \frac{\text{berat bagian tubuh ikan (g)}}{\text{berat keseluruhan ikan (g)}} \times 100\%$$

Selanjutnya dilakukan preparasi dengan cara daging sisa dan lemak maupun duri yang masih menempel dibuang secara manual dan dicuci dengan air keran yang mengalir. Bahan baku dibedakan menjadi tiga macam yaitu kulit tanpa sisik, sisik ikan, dan kulit ikan yang masih menempel sisiknya (kulit bersisik). Bahan baku kemudian dipotong kecil-kecil (1 cm²), ditempatkan dalam kantong plastik polietilena dan disimpan pada suhu -20°C sampai digunakan untuk analisis selanjutnya.

Analisis kimia

Analisis komposisi kimia (BSN, 1992) dilakukan untuk mengetahui kadar air, abu, lemak, protein, dan karbohidrat pada bahan baku yang terdiri dari kulit, sisik, kulit bersisik ikan coklatan, swanggi, dan kurisi.

Pengamatan histologi

Pengamatan histologi jaringan kulit ikan metode trikrom masson (Sheehan & Hrapchak, 1980) yang dimodifikasi (Suvik & Effendy, 2012). Proses pembuatan preparat jaringan kulit bersisik ikan coklatan, swanggi, dan kurisi dilakukan beberapa tahap antara lain koleksi jaringan (*sampling*), fiksasi menggunakan *neutral buffer formalin* konsentrasi 10%, dehidrasi menggunakan alkohol 1 jam, penjernihan menggunakan xilol selama 30 menit,

impegnasi menggunakan parafin selama satu jam selanjutnya penanaman jaringan dalam parafin (*embedding*), pemotongan blok parafin dengan mikrotom (CUT 4050, microTec Laborgeräte GmbH, Jerman) dengan ketebalan 5 μm .

Prosedur pewarnaan trikrom masson dilakukan dengan beberapa tahap antara lain deparafinisasi menggunakan xilol selama tiga menit, perendaman dalam larutan fiksatif bouin's (1 jam; 56°C), pewarnaan dengan larutan hematoksilin besi Weigert (10 menit), perendaman dalam larutan *biebrich scarlet*-fuksin asam (15 menit), perendaman dalam larutan *phosphomolibdic-phosphotungistic acid* dan dilanjutkan biru anilina (15 menit) dilanjutkan dengan perendaman dalam air asetat. Tahap selanjutnya dehidrasi menggunakan alkohol, penjernihan menggunakan xilol selama satu menit, *mounting* menggunakan entelan[®]. Pengamatan histologis pada preparat menggunakan mikroskop yang dilengkapi perangkat lunak indomakroview dilakukan dengan perbesaran 40X skala bar 100 μm , penghitungan luas area serat kolagen dilakukan dengan bantuan aplikasi imageJ.

Analisis bobot molekul sebelum deproteinasi

Analisis profil protein pada kulit, sisik, dan kulit bersisik pada ikan coklatan, swanggi dan kurisi dilakukan menggunakan *Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrilamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE) (Laemmli, 1970) yang dimodifikasi oleh Nurilmala *et al.* (2017). Sampel dilarutkan dengan akuades dengan perbandingan 1:1 (v/v) dihomogenkan menggunakan mortar dan *stamper* kemudian dipanaskan selama 1 jam menggunakan *dry block thermostat* pada suhu 85°C.

Gel yang digunakan yaitu gel pemisah (*separating*) 12,5% dan gel pengumpul (*stacking*) 3%. Bahan pembuatan gel yaitu bisakrilamid 30%, bufer tris, SDS 10%, APS 10% dan TEMED. Campuran bahan dimasukkan ke dalam plat kaca sebanyak 4 mL gel pemisah, gel ditunggu sekitar 1 jam hingga mengeras. Gel pengumpul kemudian ditambahkan ke dalam plat kaca gel pemisah yang telah

mengeras sebanyak 1 mL dan dipasang sisir sebagai cetakan pembuat sumur kemudian ditunggu hingga padat kembali sekitar satu jam. Sampel 5 μg dimasukkan ke dalam sumur SDS-PAGE kemudian dipisahkan dengan memberikan arus listrik pada gel dengan tegangan 170 V selama satu jam.

Proses *running* menggunakan bufer *running* sekitar 400 mL agar migrasi protein stabil. Protein yang telah dipisahkan divisualisasikan dengan menggunakan *Commassie Brilliant Blue* (*staining*) selama satu jam dan penghilangan warna pada gel (*destaining*) selama dua jam sehingga pita-pita protein dapat terlihat dan dianalisis bobot molekulnya menggunakan perangkat lunak Photocapt.

Deproteinasi

Deproteinasi menggunakan metode (Kittiphattanabawon *et al.*, 2010 dengan modifikasi) jensi kulit berupa kulit, sisik, dan kulit bersisik dihilangkan protein non-kolagennya dengan cara direndam dengan larutan NaOH konsentrasi 0,1 M dengan perbandingan 1:10 (b/v) selama 0 sampai 24 jam (untuk mengetahui waktu perendaman optimal) pada suhu kamar (25 sampai 28°C). Larutan NaOH diganti setiap dua jam selanjutnya larutan perendaman dikumpulkan dan dianalisis jumlah protein yang terlarut menggunakan spektrofotometer pada absorbansi 595 nm dan dihitung konsentrasi protein terlarut dengan metode Bradford (Kruger, 2002), kemudian dicuci dengan air mengalir hingga sampel mempunyai pH netral atau mendekati netral.

Analisis Bradford

Pengukuran kadar protein non kolagen terlarut menggunakan metode Bradford (Kruger, 2002). Larutan Bradford dibuat dengan mereaksikan 25 mg *Commassie Brilliant Blue* (CBB) G-250 dengan 12,5 mL etanol (C₂H₅OH) 95% dan asam fosfat (H₃PO₄) menjadi 25 mL, kemudian diencerkan hingga 250 mL dengan akuades. Sebelum digunakan, larutan disaring dengan kertas saring Whatman no. 1 dan disimpan sebagai stok. Dalam pengujian larutan stok diencerkan dengan akuades konsentrasi 1:3.

Larutan deret standar pada konsentrasi 0,01–01 mg/mL *Bovine Serum Albumin* (BSA) konsentrasi 2 mg/mL, dibuat dengan cara melarutkan 40 mg BSA dengan 20 mL akuades. Protein non kolagen terlarut diukur dengan cara mereaksikan 0,1 mL larutan sampel dengan 5 mL larutan Bradford di dalam tabung reaksi, diinkubasi selama lima menit, dicampurkan menggunakan vortex kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm.

Analisis bobot molekul sesudah deproteinasi

Analisis bobot molekul atau profil protein menggunakan *Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrilamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE). Sampel hasil deproteinasi dicampur larutan SDS yang merupakan detergen amonia dengan perbandingan 1:1 (v/v) dihomogenkan menggunakan mortar dan *stamper* kemudian dipanaskan pada suhu 85°C selama satu jam menggunakan *dry block thermostat*. Gel yang dipergunakan untuk elektroforesis terdiri atas gel penahan atau *stacking gel* dengan konsentrasi 3% dan gel pemisah atau *separating gel* dengan konsentrasi 12,5%. Sampel sebanyak 5 µg dimasukkan ke dalam sumur SDS-PAGE, elektroforesis dilakukan menggunakan arus listrik 10 mA dan tegangan 170 V selama 3 jam, setelah selesai gel diwarnai dengan menggunakan larutan *staining* yang mengandung asam asetat glasial 10%; metanol 50%; CBB 0,05%; akuades 40% kemudian dibilas dengan larutan *destaining* yang mengandung asam asetat glasial 10%; metanol 50%; akuades 40%. Proses *destaining* dilakukan hingga pita protein dapat terlihat jelas dan dianalisis bobot molekul menggunakan perangkat lunak Photocapt.

Analisis kandungan hidroksiprolina

Prosedur analisis diawali dengan menimbang sampel 10 mg, dimasukan ke dalam wadah tahan panas (*sample tube*) dihomogenkan menggunakan *tissue grinder pestle* kemudian dilarutkan dalam 100 µL dH₂O ditambah 100 µL HCl pekat (~12N), *sample tube* ditutup rapat dan dilapisi *aluminium foil*, dihidrolisis pada suhu 120°C

selama 3 jam, disentrifugasi menggunakan vortex pada kecepatan 10.000xg selama 3 menit kemudian supernatan dipindahkan ke dalam *well plate*. Penentuan kandungan hidroksiprolina terlebih dahulu dibuat larutan deret standar 0,1 mg/mL yakni 10 µL larutan standar hidroksiprolina dilarutkan dengan 90 µL dH₂O, selanjutnya 0 (blangko); 2; 4; 6; 8; 10 µL dari larutan deret standar 0,1 mg/mL dipindah ke dalam *well plate* sehingga menghasilkan standar hidroksiprolina 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1 µg/sumur.

Assay berupa campuran T-kloramina/bufer oksidasi dan DMAB reagent, *assay* T-kloramina/bufer oksidasi sebanyak 100 µL, dibuat dengan T-kloramina 6 µL dan bufer oksidasi 94 µL dicampur dan dimasukkan ke dalam masing-masing sumur yang berisi sampel dan standar hidroksiprolina, diinkubasi dalam suhu ruang (5 menit), *assay* DMAB reagen sebanyak 100 µL dibuat dengan dicampurkan 50 µL DMAB konsentrat dan 50 µL *perchloric acid*/larutan isopropanol ke dalam masing-masing well yang berisi *assay* T-kloramina/bufer oksidasi, sampel dan standar hidroksiprolina selanjutnya diinkubasi menggunakan oven pengering (90 menit; suhu 60°C), kemudian dianalisis pada absorbansi 560 nm pada *microplate reader* atau *elisa reader* (Thermo Fisher Scientific, MS, USA). Analisis diulang dua kali (duplo). Perhitungan konsentrasi hidroksiprolina bahan baku dengan rumus:

$$\frac{S_a}{S_v} = C$$

Keterangan:

C= Konsentrasi hidroksiprolina dalam sampel

S_a= Jumlah hidroksiprolina dari kurva standar (µg)

S_v= Volume sampel yang ditambahkan ke dalam sumur reaksi (µL)

Analisis Data

Analisis data yang digunakan pada tahap karakterisasi kulit, sisik, kulit bersisik ikan coklatan, swaggi, kurisi meliputi penentuan rendemen bagian tubuh ikan, analisis proksimat, pengamatan histologi, bobot molekul, dan kandungan hidroksiprolina. Analisis secara deskriptif ditampilkan berupa

tabel dan gambar. Pada tahap deproteinasi rancangan dilakukan untuk mengetahui interaksi antara faktor maupun pengaruh jenis ikan, waktu perendaman NaOH serta bahan baku terhadap kandungan protein non kolagen. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial (3 faktor), faktor pertama yaitu jenis ikan yang terdiri atas tiga taraf (ikan coklatan, swanggi, dan kurisi), faktor kedua yaitu waktu perendaman NaOH terdiri dari 12 taraf (2; 4; 6; 8; 10; 12; 14; 16; 18; 20; 22; 24) jam, faktor ketiga yaitu jenis kulit terdiri dari tiga taraf (kulit, sisik, kulit bersisik). Setiap perlakuan diulang tiga kali sehingga terdapat 324 kombinasi percobaan. Data dianalisis dengan metode analisis varian (ANOVA) menggunakan perangkat lunak Statistical Product and Service Solutions (SPSS) 22 dengan uji lanjut Duncan dengan selang kepercayaan 95% ($p < 0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proporsi Bagian Tubuh Ikan Coklatan, Swanggi dan Kurisi

Persentase proporsi ikan dihitung untuk menentukan perbandingan bagian tubuh ikan terhadap berat seluruh ikan. Biasanya hanya daging ikan yang digunakan, sehingga perlu diketahui perbandingan bagian tubuh lainnya yakni kepala, kulit, tulang dan ekor, sisik, jeroan untuk mengetahui persentase yang akan dimanfaatkan sebagai hasil samping industri filet ikan. Hasil perhitungan nilai rendemen bagian ikan didominasi oleh daging ikan, kemudian disusul oleh kepala, duri dan ekor, jeroan, sisik serta kulit. Rendemen kulit, sisik, kulit bersisik berkisar 2 sampai 7% dapat dilihat pada Tabel 1.

Nilai persentase proporsi kulit tersebut hampir sama dengan kulit ikan cunang yang bernilai sebesar $2,43 \pm 0,14\%$ (Kartika *et al.*, 2017). Nurilmala *et al.* (2022) menyatakan

bahwa proporsi ikan dipengaruhi oleh faktor internal yaitu ukuran, jenis ikan, fisiologi ikan, sedangkan faktor eksternal dipengaruhi oleh kondisi perairan, lingkungan, dan perlakuan pasca penangkapan yang berpengaruh terhadap rendemen bagian-bagian tubuh ikan. Pertumbuhan ikan juga memengaruhi proporsi ikan, seiring bertambahnya usia ikan, ukuran ikan bertambah, selain dinamika dan berbagai faktor, kondisi ikan dipengaruhi oleh ketersediaan makanan dan pertumbuhan awal ikan (Suwandi *et al.*, 2014).

Komposisi Kimia

Ebadi *et al.* (2019) menyatakan bahwa spesies, makanan, musim, tingkat aktivitas atau stres selama penangkapan dan jenis otot memengaruhi perubahan fisiko-kimiawi, termasuk komposisi kimia ikan. Perlakuan selama penyimpanan juga memengaruhi struktur, kelembapan, mikroba, tekstur, dan sifat kimia (He & Xiao 2016). Selain itu sifat-sifat kulit ikan yang meliputi komposisi asam amino, komposisi kolagen, struktur mikro dan mineral kulit ikan dengan bobot badan ikan yang berbeda memengaruhi nilai komposisi kimianya (Rosmawati *et al.*, 2018). Demikian pula, sisik ikan adalah biomaterial alami yang unik karena terdiri dari kolagen tipe I dan hidroksiapatit yang mempunyai kandungan protein, mineral, dan lemak (Qin *et al.*, 2022).

Hasil analisis komposisi protein berat kering (bk) tertinggi pada kulit dan sisik ikan swanggi berkisar antara 87,10 dan 52,90%. Analisis kandungan kimia dari kulit, sisik dan kulit bersisik ikan coklatan, ikan swanggi, ikan kurisi basis basah (bb) dan basis kering (bk) dapat dilihat pada Tabel 2, 3, dan 4.

Perbedaan kadar protein kulit, sisik dan kulit bersisik ikan berhubungan dengan struktur penyusunnya (Elliott. 2011). Komposisi protein pada kulit lebih tinggi

Tabel 1 Proporsi bagian tubuh ikan

Jenis Ikan	Proporsi bagian tubuh ikan (%)						
	Daging	Kepala	Duri dan Ekor	Jeroan	Kulit Bersisik	Sisik	Kulit
Coklatan	45,95±0,50	31,52±0,26	11,29±0,15	4,33±0,38	6,97±0,98	4,33±0,23	2,78±0,76
Swanggi	42,34±0,54	35,30±0,14	11,64±0,13	5,99±0,11	6,41±1,04	2,95±0,12	1,84±0,25
Kurisi	42,96±0,11	30,94±0,07	10,76±0,31	8,81±0,50	4,79±0,14	4,49±0,15	1,92±0,01

Tabel 2 Komposisi kimia kulit ikan

Parameter (%)	Ikan coklatan		Ikan swanggi		Ikan kurisi	
	bb	bk	bb	bk	bb	bk
Air	65,10±0,17		71,90±0,01		71,47±0,08	
Abu	1,05±0,01	2,99±0,01	1,26±0,01	4,48±0,05	1,43±0,01	4,99±0,04
Lemak	4,44±0,04	12,72±0,06	2,33±0,01	8,27±0,03	6,26±0,04	21,94±0,21
Protein	28,55±0,13	81,81±0,03	24,48±0,00	87,10±0,02	20,22±0,13	70,87±0,24
Karbohidrat*	0,87±0,01	2,48±0,03	0,04±0,01	0,14±0,00	0,63±0,01	2,19±0,02

Keterangan : * *by difference*, (bb) basis basah, (bk) basis kering

Tabel 3 Komposisi proksimat sisik ikan

Parameter (%)	Ikan coklatan		Ikan swanggi		Ikan kurisi	
	bb	bk	bb	bk	bb	bk
Air	58,18±0,03		54,87±0,08		56,64±0,25	
Abu	17,85±0,05	42,67±0,15	19,32±0,01	42,81±0,05	19,71±0,01	45,44±0,08
Lemak	1,84±0,04	4,39±0,09	0,90±0,01	1,98±0,05	1,41±0,03	3,25±0,08
Protein	20,33±0,08	48,60±0,15	23,88±0,00	52,90±0,24	21,41±0,13	49,36±0,03
Karbohidrat*	1,82±0,04	4,34±0,08	1,05±0,04	2,32±0,08	0,85±0,01	1,95±0,03

Keterangan : * *by difference*, (bb) basis basah, (bk) basis kering

Tabel 4 Komposisi proksimat kulit bersisik ikan

Parameter (%)	Ikan coklatan		Ikan swanggi		Ikan kurisi	
	bb	bk	bb	bk	bb	bk
Air	62,30±0,03		62,26±0,25		63,50±0,13	
Abu	13,18±0,07	34,96±0,16	14,57±0,04	38,59±0,16	11,91±0,04	32,61±0,22
Lemak	3,11±0,02	8,24±0,06	1,35±0,04	3,56±0,07	3,19±0,04	8,74±0,08
Protein	21,09±0,03	55,94±0,12	21,20±0,18	56,17±0,12	20,59±0,16	56,40±0,22
Karbohidrat*	0,33±0,01	0,86±0,02	0,64±0,01	1,68±0,03	0,82±0,03	2,25±0,09

Keterangan : * *by difference*, (bb) basis basah, (bk) basis kering

dibanding sisik dan kulit bersisik disebabkan oleh tingginya kadar abu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar abu (bk) pada kulit ikan coklatan, swanggi, kurisi yakni berturut-turut 2,99; 4,48; 4,99% sedangkan kadar abu (bk) sisik dan kulit bersisik berturut-turut 42,67; 42,81; 45,44% lebih tinggi dibanding kadar abu kulit bersisik 34,96; 38,59; 32,61% hal tersebut disebabkan oleh tingginya kandungan mineral pada sisik dan kulit bersisik. Chuaychan *et al.* (2016) mengemukakan sisik ikan mempunyai kandungan senyawa hidroksiapatit dan

kalsium (Ca) karbonat, lapisan permukaan sisik ikan merupakan lapisan tulang terdiri atas fibril kolagen dalam bentuk mineral

Jaringan Kulit Ikan

Secara umum kulit ikan terdiri dari dua lapisan utama, lapisan luar disebut epidermis dan lapisan dalam disebut dermis. Elliott (2011) menyatakan ketebalan epidermis bervariasi tergantung pada usia spesies, ukuran tubuh, kondisi lingkungan. Sebagian besar ikan memiliki epidermis lebih tipis dari dermis. Andriani & Masyitha (2017)

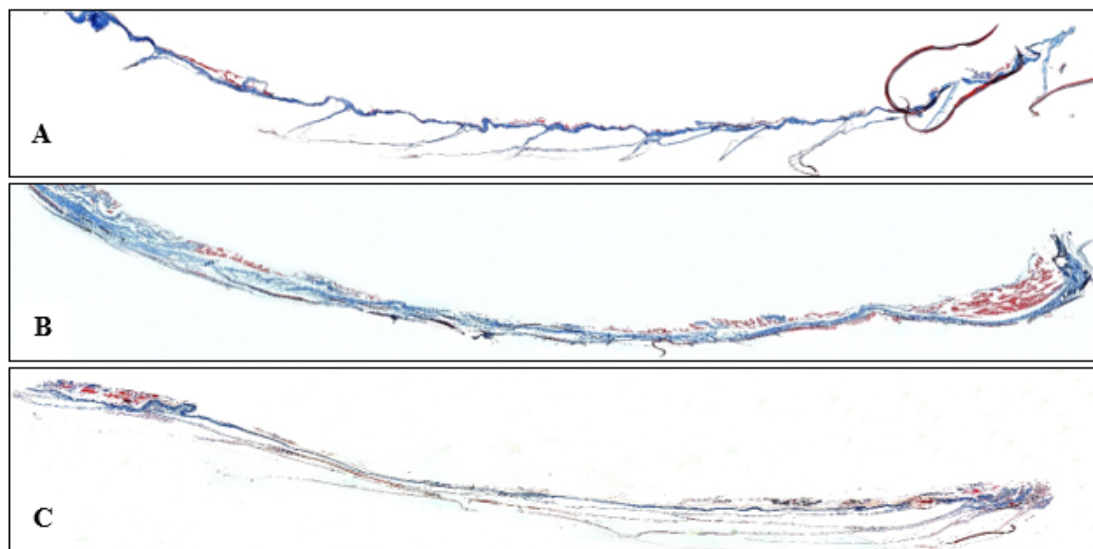
menyampaikan pada lapisan dermis terdapat pembuluh darah, saraf, sisik, sel pigmen, dan jaringan lemak. Sebagian besar lapisan dermis terdiri dari jaringan ikat yang mengandung kolagen. Dermis terbagi menjadi dua, bagian luar disebut stratum spongiosum, bagian dalam disebut stratum kompakum. Pada lapisan stratum spongiosum yang dekat dengan epidermis, relatif longgar terdiri dari jaringan lemak, pembuluh darah dan jaringan ikat kolagen, sedangkan lapisan stratum kompakum terdiri dari jaringan ikat kolagen yang teratur dan tebal.

Pewarnaan trikrom masson adalah pewarnaan yang digunakan untuk memvisualisasikan struktur jaringan ikat, ungu sampai hitam pada inti sel, biru hingga hijau pada kolagen, dan merah pada otot, sitoplasma, dan keratin (Wahyuni *et al.*, 2015). Hasil pengamatan histologi pada kulit bersisik

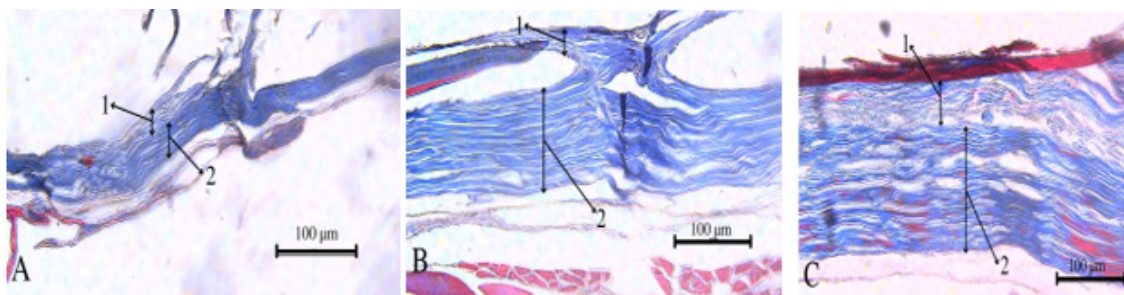
ikan coklatan, swaggi dan kurisi visual preparat secara utuh pada perbesaran 10 kali, skala garis 200 μm dan pada perbesaran 40 kali, skala garis 100 μm dan dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2.

Pengamatan histologi dilakukan pada jenis kulit bersisik ikan coklatan, swaggi, dan kurisi karena mempunyai lapisan kulit yang tipis dan untuk menghindari kerusakan lapisan maupun jaringan ikat pada kulit pada saat dilakukan preparasi. Hasil pengamatan histologi pada Gambar 1 sesuai dengan hasil perhitungan luas kolagen jenis kulit bersisik ikan coklatan, swaggi, kurisi menggunakan perangkat lunak ImageJ, menunjukkan kolagen (warna biru) yang terdapat pada jenis kulit bersisik ikan swaggi paling tinggi dibanding kulit bersisik ikan coklatan dan kurisi.

Perhitungan luas jaringan kolagen pada jenis kulit bersisik ikan coklatan 20.946,41



Gambar 1 Visual histologi preparat secara utuh (A) ikan coklatan, (B) swaggi, (C) kurisi



Gambar 2 Histologi kulit bersisik (A) ikan coklatan, (B) swaggi, (C) kurisi perbesaran 40X; skala garis 100 μm

μm^2 , swanggi $95.136,16 \mu\text{m}^2$, dan kurisi $57.962,61 \mu\text{m}^2$ dilakukan menggunakan perangkat lunak ImageJ dari gambar hasil histologi.

Perbedaan luas kolagen kemungkinan dipengaruhi oleh jumlah penyusun kolagen yaitu protein struktural dari matriks ekstraseluler yang terdapat pada jaringan ikat. Selain itu kadar protein pada kulit ikan juga berkorelasi dengan jumlah kolagen yang terkandung di dalam jaringan kulit (Haryati *et al.*, 2019).

Bobot Molekul

Berat molekul diketahui secara kualitatif dengan SDS-PAGE yang dilakukan untuk mengetahui berat molekul protein sisik, kulit, dan daging (Srinivasan & Durairaj 2021). Elektroforesis gel poliakrilamida didasarkan pada prinsip migrasi partikel bermuatan di bawah pengaruh medan listrik untuk memisahkan protein dan asam nukleat, untuk menentukan berat molekul protein berdasarkan ukuran protein di SDS-PAGE (Gandhi *et al.*, 2022). Pita berat molekul SDS-PAGE pada bahan baku sisik, kulit dan kulit bersisik ikan coklatan, swanggi, dan kurisi dapat dilihat pada Gambar 3.

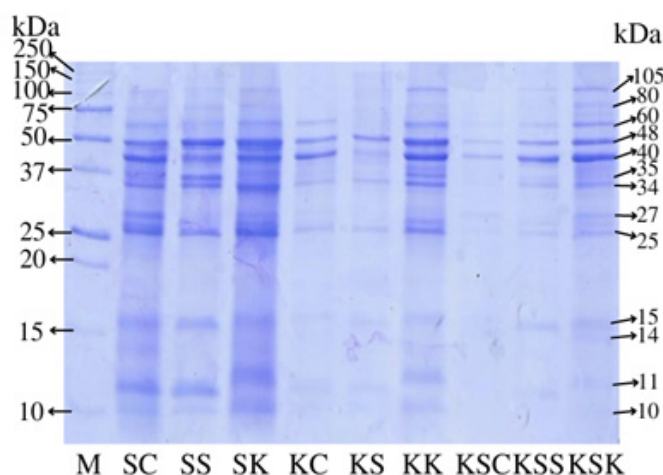
Menurut Nurdiani *et al.* (2020) tiga kelompok utama protein yang berbeda fungsi dan sifat kelarutannya adalah protein sarkoplasma (aldolase, enolase, isomerase),

miofibril (aktin, tropomiosin, troponin), dan stroma atau jaringan ikat (kolagen, elastin). Masing-masing kelompok protein mempunyai BM yang berbeda-beda sesuai dengan nama proteinnya, protein sarkoplasma mempunyai BM berkisar antara 25 sampai 90 kDa, protein miofibril mempunyai BM antara 16 sampai 70 (Mudalal *et al.*, 2014). Protein jaringan ikat meliputi kolagen terdiri dari dua rantai α yaitu rantai $\alpha 1$ dan $\alpha 2$ mempunyai BM antara 80 sampai 125 kDa (Boran *et al.*, 2010), sedangkan elastin mempunyai BM antara 60 sampai 70 kDa (Ozsvar *et al.*, 2021).

Shoulders & Raines (2009) menyatakan kolagen pada kulit merupakan kolagen tipe I yang beradapada kolagen fibril dan membentuk jaringan ikat. Kolagen fibril merupakan komponen utama dari matriks ekstraseluler yang tersusun dari molekul kolagen yang terbentuk dari protein tripel helix (Gelse *et al.*, 2003). Jenis kulit sisik, kulit dan kulit bersisik pada jenis ikan coklatan, swanggi, dan kurisi dapat disimpulkan mempunyai kandungan protein yang merupakan protein sarkoplasma, miofibril dan jaringan ikat yang mengandung kolagen sehingga bahan baku tersebut dapat digunakan sebagai bahan pembuat gelatin.

Deproteinasi

Deproteinasi bertujuan untuk meningkatkan hasil ekstraksi, deproteinasi jensi kulit dilakukan untuk menghilangkan

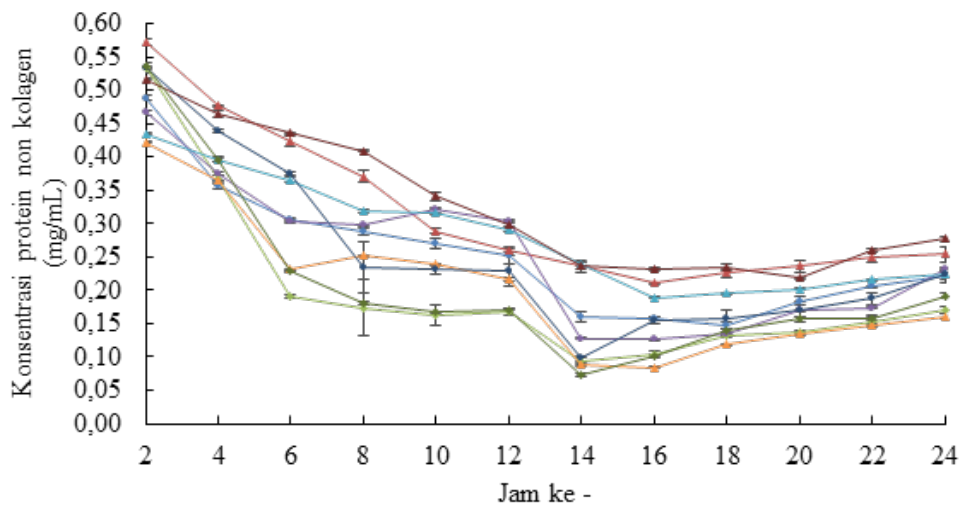


Gambar 3 Profil SDS-PAGE : (M) *marker*, (SC) sisik ikan coklatan, (SS) sisik ikan swanggi, (SK) sisik ikan kurisi, (KC) kulit ikan coklatan, (KS) kulit ikan swanggi, (KK) kulit ikan kurisi, (KSC) kulit bersisik ikan coklatan, (KSS) kulit bersisik ikan swanggi, (KSK) kulit bersisik ikan kurisi

protein non kolagen, lemak, mineral dan pigmen dari kulit ikan, karena memengaruhi produktivitas, kemurnian, dan efisiensi ekstraksi (Song *et al.*, 2021). Kolagen adalah komponen protein utama kulit ikan, tetapi komponen non kolagen, misal lemak dan mineral memengaruhi kemurnian dan fungsi kolagen. Oleh karena itu, sebelum ekstraksi, dilakukan deproteinasi untuk menghilangkan zat-zat protein non kolagen (Xu *et al.*, 2017). Deproteinasi mengacu pada (Kittiphattanabawon *et al.*, 2010) dengan modifikasi menggunakan larutan NaOH 0,1 M pada rasio sampel:larutan 1:10 (b/v) pada suhu 20°C, waktu perendaman selama 0

sampai 24 jam setiap dua jam diganti larutan. Tujuan dilakukan perendaman tersebut untuk mengetahui waktu optimal efektivitas larutan NaOH menghilangkan protein non kolagen. Konsentrasi protein terlarut dan waktu optimal perendaman NaOH dapat dilihat pada Gambar 4 dan Tabel 5.

Hasil deproteinasi jenis kulit menunjukkan konsentrasi protein terlarut tertinggi pada dua jam pertama. Konsentrasi protein terlarut turun pada jam berikutnya sampai pada waktu perendaman optimal. Konsentrasi protein terlarut terjadi peningkatan kembali setelah waktu optimal perendaman hal tersebut disebabkan karena protein



Gambar 4 Konsentrasi protein terlarut (→) KSC (kulit bersisik ikan coklatan), (→) KC (kulit ikan coklatan), (→) SC (sisik ikan coklatan), (→) KSS (kulit bersisik ikan swanggi), (→) KS (kulit ikan swanggi), (→) SS (sisik ikan swanggi), (→) KSK (kulit bersisik ikan kurisi), (→) KK (kulit ikan kurisi), (→) SK (sisik ikan kurisi)

Tabel 5 Waktu optimal deproteinasi

Parameter	Jenis Kulit								
	KSC	KC	SC	KSS	KS	SS	KSK	KK	SK
Konsentrasi protein non kolagen (mg/mL)	0,147 ^{p*<i>q</i>*r*}	0,210 ^{b*c*d*}	0,094 ^{w*x*y*}	0,126 ^{t*<i>u</i>*}	0,189 ^{f*<i>g</i>*}	0,084 ^{y*}	0,098 ^{v*<i>w</i>*x*}	0,219 ^{z*a*<i>b</i>*}	0,074 ^{z*}
Waktu optimal (jam)	18	16	14	16	16	16	14	20	14

Keterangan : (KSC) kulit bersisik ikan coklatan, (KC) kulit ikan coklatan, (SC) sisik ikan coklatan, (KSS) kulit bersisik ikan swanggi, (KS) kulit ikan swanggi, (SS) sisik ikan swanggi, (KSK) kulit bersisik ikan kurisi, (KK) kulit ikan kurisi, (SK) sisik ikan kurisi. Huruf *superscript* (tanpa atau dengan tanda*) yang berbeda menunjukkan adanya beda nyata dengan tingkat kepercayaan 95% ($p=0,05$)

kolagen yang ikut tereliminasi bersamaan dengan lamanya waktu perendaman NaOH. Safitri *et al.* (2019) melaporkan deproteinasi pada ikan parang-parang menggunakan larutan NaOH 0,1 M pada dua jam pertama kulit ikan memiliki kadar protein non kolagen 1,46 mg/mL dan dua jam berikutnya terjadi penurunan kadar protein non kolagen, sampai 12 jam perendaman diperoleh konsentrasi protein non kolagen 0,13 mg/mL. Meng *et al.* (2019) menyatakan konsentrasi larutan NaOH, lama perendaman dan perbandingan berat bahan dan volume larutan NaOH memengaruhi hilangnya protein non kolagen pada bahan dan mengoptimalkan pengembangan (*swelling*) bahan serta mengurangi kehilangan kolagen. Liu *et al.* (2015) menyatakan bahwa kondisi pada tahap deproteinasi (suhu, lama waktu perendaman dan konsentrasinya) secara signifikan memengaruhi penghilangan bahan non kolagen yang tidak diinginkan antara lain lemak, pigmen penyusun warna pada ikan, dan bahan organik lainnya.

Hasil analisis varian (ANOVA) bahwa jenis ikan, waktu perendaman, jensi kulit menunjukkan pengaruh signifikan terhadap konsentrasi protein non kolagen ($p < 0,05$). Waktu optimal yang diperoleh pada tahap deproteinasi dari masing-masing jenis ikan dan bahan baku digunakan pada tahap analisis selanjutnya yakni penentuan bobot molekul

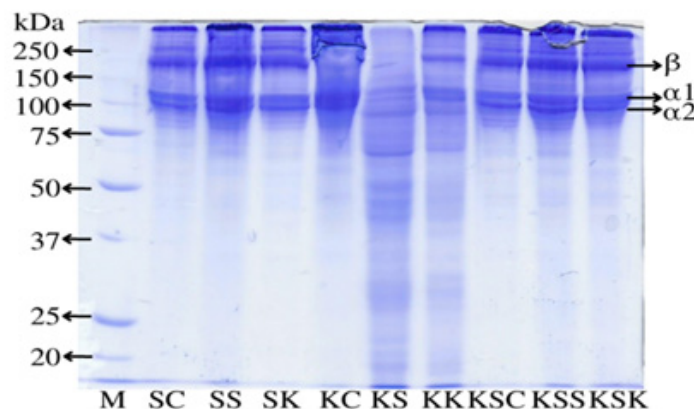
protein dengan SDS-PAGE dan penentuan kandungan hidroksiprolina.

Bobot Molekul

Elektroforesis membantu menilai profil komponen protein setelah tahap deproteinasi, pada hasil deproteinasi perendaman NaOH untuk menghilangkan protein non kolagen pada kulit, sisik, kulit bersisik dari jenis ikan coklatan, swanggi, dan kurisi selama waktu optimal perendaman. Selanjutnya analisis profil protein dengan SDS-PAGE dilakukan untuk mengetahui bobot molekul protein dengan menganalisis pita-pita yang terlihat. Gambar 5 menyajikan Profil SDS-PAGE setelah deproteinasi memiliki rantai α (α_1 dan α_2) dan polimer (rantai β).

Hasil elektroforesis menunjukkan rantai α_1 pada 117 kDa, rantai α_2 pada 107 kDa dan rantai β pada 244 kDa. Hal tersebut menunjukkan bahwa deproteinasi dengan larutan NaOH dapat mengeliminasi protein non kolagen sehingga tersisa protein kolagen dari hasil deproteinasi kulit, sisik dan kulit bersisik ikan coklatan, swanggi, kurisi. Menurut Arumugam *et al.* (2018) elektroforesis kolagen mempunyai tiga rantai, yaitu rantai α_1 118, rantai α_2 116 kDa, dan rantai β 200 kDa, yang mirip dengan kolagen tipe I komersial.

Silva *et al.* (2014) menyatakan kolagen tipe I berasal dari kulit, tulang rawan, tulang,



Gambar 5 Profil SDS-PAGE setelah deproteinasi: (M) *marker*, (SC) sisik ikan coklatan, (SS) sisik ikan kurisi, (KC) kulit ikan coklatan, (KS) kulit ikan swanggi, (KK) kulit ikan kurisi, (KSC) kulit bersisik ikan coklatan, (KSS) kulit bersisik ikan swanggi, (KSK) kulit bersisik ikan kurisi.

dan septum otot (epimisium) dan merupakan jenis kolagen yang paling mudah diperoleh. Bielajew *et al.* (2020) menyatakan rantai polipeptida kolagen secara struktural diatur dalam tripel helix yang membentuk struktur sekundernya yang disebut tropokolagen, protein yang terdiri dari tiga unit polipeptida kolagen I biasanya merupakan gabungan dua rantai α_1 dan satu α_2 selain itu rantai β atau rantai γ dapat ditemukan di SDS-PAGE.

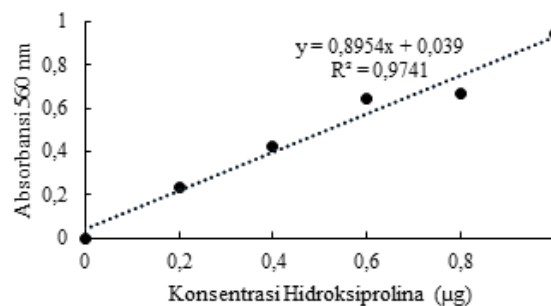
Kandungan Hidroksiprolina

Kolagen adalah istilah umum yang digunakan untuk mendefinisikan sekelompok protein struktural matriks ekstraseluler yang berada dalam susunan miofibrilar (van der Rest & Garrone, 1991) jumlahnya lebih dari 20 asam amino (Ferreira *et al.*, 2012). Kolagen terdiri dari rantai polipeptida yang terdiri dari tripel helix berulang Gly-X-Y dari glisina dan dua asam amino lainnya, yang paling umum adalah prolin dan hidroksiprolina (Gomez-Guillen *et al.*, 2002). Hidroksiprolina digunakan sebagai metode untuk mengukur kandungan kolagen dalam jaringan (Kittiphattanabawon *et al.*, 2005), Atma (2017) menyatakan hidroksiprolina adalah salah satu asam amino paling berpengaruh

dalam gelatin bersama dengan glisina, prolina, alanina, dan asam glutamat, oleh karena itu dengan mengetahui jumlah hidroksiprolina yang terkandung dalam bahan selanjutnya dapat dimanfaatkan menjadi gelatin. Kandungan hidroksiprolina kulit, sisik dan kulit bersisik ikan coklatan, swanggi, dan kurisi dianalisis secara deskriptif. Kuantifikasi hidroksiprolina dilakukan untuk mengetahui bahan baku terbaik berdasarkan kandungan hidroksiprolina.

Dalam kuantifikasi hidroksiprolina, rangkaian larutan standar hidroksiprolina 0,2-1 μg disiapkan, untuk merumuskan kurva linier guna penentuan hubungan antara absorbansi hidroksiprolina dan konsentrasi hidroksiprolina menghasilkan persamaan $y=0,8954x+0,039$ dengan koefisien determinasi (R^2) = 0,9741 atau 97% (Gambar 6). Kandungan hidroksiprolina pada kulit, sisik dan kulit bersisik ikan coklatan, swanggi, kurisi dapat dilihat pada Tabel 6.

Kuantifikasi dilakukan sebanyak dua kali pengulangan dengan rata-rata hidroksiprolina jenis kulit pada ikan coklatan, swanggi, dan kurisi setelah dilakukan deproteinasi NaOH, kandungan hidroksiprolina tertinggi pada bahan baku kulit bersisik ikan swanggi



Gambar 6 Kurva standar hidroksiprolina

Tabel 6 Kandungan hidroksiprolina kulit, sisik dan kulit bersisik ikan coklatan, swanggi, kurisi

Parameter	Jenis Kulit								
	KSC	KC	SC	KSS	KS	SS	KSK	KK	SK
Kandungan hidroksiprolina ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	0,0089	0,0086	0,0088	0,0888	0,0087	0,0088	0,0088	0,0087	0,0086

Keterangan: (KSC) kulit bersisik ikan coklatan, (KC) kulit ikan coklatan, (SC) sisik ikan coklatan, (KSS) kulit bersisik ikan swanggi, (KS) kulit ikan swanggi, (SS) sisik ikan swanggi, (KSK) kulit bersisik ikan kurisi, (KK) kulit ikan kurisi, (SK) sisik ikan kurisi.

sebesar 0,0888 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ sehingga dapat ditentukan sebagai jenis kulit terpilih. Hasil penelitian ini lebih tinggi dibandingkan konsentrasi hidroksiprolina dari kolagen kulit nila (*Oreochromis niloticus*), yang diekstraksi menggunakan asam asetat, yang mencapai 0,023 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ (Reátegui-Pinedo *et al.*, 2022).

KESIMPULAN

Hasil analisis kandungan protein berat kering (bk) tertinggi pada kulit dan sisik ikan swangi, kadar protein pada kulit lebih tinggi dibandingkan dengan sisik dan kulit bersisik. Luas jaringan kolagen tertinggi pada kulit bersisik ikan swangi. Profil SDS-PAGE pada bahan baku menunjukkan terdapat tiga kelompok protein yaitu protein sarkoplasma, miofibril dan jaringan ikat, sedangkan profil SDS-PAGE setelah deproteinasi menunjukkan pita-pita elektroforesis rantai α (α_1 dan α_2) dan rantai β sesuai dengan kolagen tipe I. Tahap deproteinasi jenis ikan, waktu perendaman, jenis kulit memengaruhi konsentrasi protein non kolagen. Waktu optimasi perendaman NaOH pada tahap deproteinasi antara 14 sampai 20 jam berbeda-beda berdasarkan jenis kulit. Kulit bersisik ikan swangi merupakan jenis kulit terpilih yang dapat digunakan sebagai bahan pembuat gelatin karena mempunyai kandungan hidroksiprolina tertinggi dibanding dengan jenis kulit lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Kelautan dan Perikanan, Skema Penelitian Prioritas Riset Nasional Nomor 001/EA.1/AK.04.PRN/2021.

DAFTAR PUSTAKA

- Alves, A. L., Marques, A. L. P., Martins, E., Silva, T. H., & Reis, R. L. (2017). Cosmetic potential of marine fish skin collagen. *Cosmetics*, 4(4), 1–16. doi:10.3390/cosmetics4040039.
- Andriani, D., & Masyitha, D. (2017). Struktur histologi kulit ikan gabus (*Channa striata*). *Jimvet*, 01(3), 283–290.
- Arumugam, G. K. S., Sharma, D., Balakrishnan, R. M., & Ettiyappan, J. B. P. (2018). Extraction, optimization and characterization of collagen from sole fish skin. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 9 March, 19–26. doi:10.1016/j.scp.2018.04.003.
- Atma, Y. (2017). Amino acid and proximate composition of fish bone gelatin from different warm-water species: A comparative study. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 58. doi:10.1088/1755-1315/58/1/012008.
- Bielajew, B. J., Hu, J. C., & Athanasiou, K. A. (2020). Collagen: quantification, biomechanics, and role of minor subtypes in cartilage. *Nature Reviews Materials*, 5(10), 730–747. doi:10.1038/s41578-020-0213-1
- Boran, G., Lawless, H. T., & Regenstein, J. M. (2010). Effects of extraction conditions on the sensory and instrumental characteristics of fish gelatin gels. *Journal of Food Science*, 75(9). doi:10.1111/j.1750-3841.2010.01827.x.
- Badan Pusat Statistik. (2022, Agustus 27). Impor gelatin. <https://www.bps.go.id/>
- Badan Standardisasi Nasional. (1992). SNI (Standar Nasional Indonesia) 01-2891–19:1–36 tentang cara uji makanan dan minuman. Badan Standardisasi Nasional.
- Chuaychan, S., Benjakul, S., & Nuthong, P. (2016). Element distribution and morphology of spotted golden goatfish fish scales as affected by demineralisation. *Food Chemistry*, 197, 814–820.
- Ebadi, Z., Khodanazary, A., Hosseini, S. M., & Zanguee, N. (2019). The shelf life extension of refrigerated *Nemipterus japonicus* fillets by chitosan coating incorporated with propolis extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, 139, 94–102. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.07.204
- Elliott, D. G. (2011). The skin: Functional morphology of the integumentary system in fishes. *Encyclopedia of Fish Physiology*, 1, 476–488.
- Ferreira, A. M., Gentile, P., Chiono, V., & Ciardelli, G. (2012). Collagen for bone tissue regeneration. *Acta biomaterialia*, 8(9), 3191–3200. doi:10.1016/j.actbio.2012.06.014
- Gandhi, K., Sharma, N., Gautam, P. B., Sharma, R., Mann, B., & Pandey, V. (2022). Polyacrylamide gel electrophoresis BT.

- Advanced Analytical Techniques in Dairy Chemistry. Springer.
- Gelse K, Pöschl E, Aigner T. 2003. Collagens - Structure, function, and biosynthesis. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 55(12):1531–1546. doi:10.1016/j.addr.2003.08.002.
- Gomez-Guillen, M. C., Turnay, J., Fernandez-Diaz, M. D., Ulmo, N., Lizarbe, M. A., & Montero, P. (2002). Structure and physical of gelatin extracted from different marine species: A comparative study. *Food Hydrocolloids*, 16, 25–34.
- Haryati, D., Nadhifa, L., Humairah, & Abdullah, N. (2019). Ekstraksi dan karakterisasi gelatin kulit ikan baronang (*Siganus canaliculatus*) dengan metode enzimatis menggunakan enzim bromelin. *Canrea jurnal*, 2(1), 26–31.
- He, Q., & Xiao, K. (2016). The effects of tangerine peel (*Citri reticulatae pericarpium*) essential oils as glazing layer on freshness preservation of bream (*Megalobrama amblycephala*) during superchilling storage. *Food Control*, 69, 339–345. doi:10.1016/j.foodcont.2016.05.019
- Jafari, H., Lista, A., Siekapan, M. M., Ghaffari-Bohlouli, P., Nie, L., Alimoradi, H., & Shavandi, A. (2020). Fish collagen: Extraction, characterization, and applications for biomaterials engineering. *Polymers*, 12(10),1–37. doi:10.3390/polym12102230
- Kartika, I. W. D., Trilaksana, W., & Adnyane, I. K. M. (2017). Characterization of collagen from swim bladder waste of yellow-pike (*Muraenesox talabon*) by acid and hydrothermal extraction. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 19(3), 222. doi:10.17844/jphpi.v19i3.15074
- Kittiphattanabawon, P., 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(3), 363–372. doi:10.1016/j.foodchem.2004.02.042
- Kittiphattanabawon, P., Benjakul, S., Visessanguan, W., & Shahidi, F. (2010). Comparative study on characteristics of gelatin from the skins of brownbanded bamboo shark and blacktip shark as affected by extraction conditions. *Food Hydrocolloids*, 24(2–3), 164–171. doi:10.1016/j.foodhyd.2009.09.001
- Kruger, N. J. (2002). The Protein Protocols Handbook Second Edition. (J. M. Walker, Ed.). Humana Press Inc.
- Laemmli, U. K.. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680–685. doi:10.1038/227680a0
- Meng, D., Tanaka, H., Kobayashi, T., Hatayama, H., Zhang, X., Ura, K., Yunoki, S., & Takagi, Y. (2019). The effect of alkaline pretreatment on the biochemical characteristics and fibril-forming abilities of types I and II collagen extracted from bester sturgeon by-products. *International Journal of Biological Macromolecules*, 131, 572–580. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.03.091
- Mo, W., Man, Y., & Wong, M. (2017). Use of food waste, fish waste and food processing waste for China's aquaculture industry. *The Science of the total environment*, 613–614, 635–643. 10.1016/j.scitotenv.2017.08.321
- Mudalal, S., Babini, E., Cavani, C., & Petracci, M. (2014). Quantity and functionality of protein fractions in chicken breast fillets affected by white striping. *Poultry Science*, 93(8), 2108–2116.
- Nirwandar, S. (2020). Halal Gelatin and its Business Opportunity in Indonesia. *International Journal of Halal Research*, 2(1), 50–57.
- Nurdiani, R., Prihanto, A., Firdaus, M., & Kim. (2020). Seafood as source of protein-based functional foods. *Encyclopedia of Marine Biotechnology*, 5(1), 2987–2997.
- Nurilmala, M., Jacoeb, A. M., & Dzaky, R. A. (2017). Karakteristik gelatin kulit ikan tuna sirip kuning. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(2), 339. doi:10.17844/jphpi.v20i2.18049
- Nurilmala, M., Jacoeb, A. M., Sinaga, Y., Sudrajat, A. O., Budiardi, T., Wahju, R. I., & Kamal, M. M. (2022). Karakteristik protein dan struktur jaringan serta steroid ikan sidat (*Anguilla bicolor bicolor*)

- berdasarkan lokasi daging berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 25(1), 97-106.
- Ozsvar, J., Yang, C., Cain, S., Baldock, C., Tarakanova, A., & Weiss, A. (2021). Tropoelastin and elastin assembly. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 1-11.
- Pusat Data Statistik dan Informasi Kementerian Kelautan dan Perikanan. (2022). Pengolahan Data Produksi Kelautan dan Perikanan. (2022, Oktober 07). <https://statistik.kkp.go.id>.
- Qin, D., You, X., Wang, M., Cong, X., Yuan, C., Yu, M., Cheng, X., & Chen, X. G. (2022). Development and application of fish scale wastes as versatile natural biomaterials. *Chemical Engineering Journal*, 428(2022), 131102. doi:10.1016/j.cej.2021.131102
- Rabotyagova, O. S., Cebe, P., & Kaplan, D. L. (2008). Collagen structural hierarchy and susceptibility to degradation by ultraviolet radiation. *Materials Science and Engineering C*, 28(8), 1420-1429. doi:10.1016/j.msec.2008.03.012
- Reátegui-Pinedo, N., Salirrosas, D., Sánchez-Tuesta, L., Quiñones, C., Jáuregui-Rosas, S. R., Barraza, G., Cabrera, A., Ayala-Jara, C., Martinez, R. M., Baby, A. R., & Prieto, Z. A. (2022). Characterization of collagen from three genetic lines (gray, red and F1) of *Oreochromis niloticus* (tilapia) skin in young and old adults. *Molecules*, 27(3), 1123.
- Rosmawati, Abustam, E., Tawali, A. B., Said, M. I., & Sari, D. K. (2018). Effect of body weight on the chemical composition and collagen content of snakehead fish *Channa striata* skin. *Fisheries Science*, 84(6), 1081-1089. doi:10.1007/s12562-018-1248-8
- Safithri, M., Tarman, K., Suptijah, P., & Widowati, N. (2019). Karakteristik fisikokimia kolagen larut asam dari kulit ikan parang-parang (*Chirocentrus dorab*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 22(3), 441-452.
- Sheehan, D. C., & Hrapchak, B. B. (1980). Theory and practice of histotechnology. *Journal of Clinical Pathology*, 34(12), 1406-1406. doi:10.1136/jcp.34.12.1406-c
- Sigma-aldrich. (2021). Technical Bulletin. <https://www.sigmaaldrich.com/ID/en>
- Silva, T. H., Moreira-Silva, J., Marques, A. L. P., Domingues, A., Bayon, Y., & Reis, R. L. (2014). Marine origin collagens and its potential applications. *Marine Drugs*, 12(12), 5881-5901. doi:10.3390/md12125881
- Song, Z., Liu, H., Liwen, C., Leilei, C., Zhou, C., Hong, P., & Deng, C. (2021). Characterization and comparison of collagen extracted from the skin of the Nile tilapia by fermentation and chemical pretreatment. *Food Chemistry*, 340, 128139. doi:10.1016/j.foodchem.2020.128139
- Srinivasan, S., & Durairaj, B. (2021). Collagen isolation and characterization from *Sardinella longiceps*. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 8(4), 679-686. doi:10.5455/javar.2021.h560
- Suvik, A., & Effendy, A. W. M. (2012). The use of modified masson's trichrome staining in collagen evaluation in wound healing study. *Malaysian Journal of Veterinary Research*, 3(1), 39-47.
- Suwandi, R., Nurjanah, & Winem, M. (2014). Proporsi bagian tubuh dan kadar proksimat ikan gabus pada berbagai ukuran. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 17, 22-28.
- van der Rest, M., & Garrone, R. (1991). Collagen family of proteins. *FASEB Journal: Official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 5(13), 2814-2823.
- Wahyuni, Kumorowati, E., Pitriani, & Achmad, H. (2015). Pengembangan metode pewarnaan histologi khusus trichrome masson's untuk diagnosa penyakit pada hewan. *Diagnosa Veteriner*, 14(3).
- Xu, S., Yang, H., Shen, L., & Li, G. (2017). Purity and yield of collagen extracted from southern catfish (*Silurus meridionalis* Chen) skin through improved pretreatment methods. *International Journal of Food Properties*, 20(1), S141-S153. doi:10.1080/10942912.2017.1291677

FIGURE AND TABLE TITLES

Table 1 Proportion of of fish body parts

Table 2 Chemical composition of fish skin

Table 3 Proximate composition of fish scale

Table 4 Proximate composition of the fish scaly skin

Table 5 Optimal time of deproteination

Table 6 The content of hydroxyprolina from skin, scales and scaly skin of lattice monocle bream, purple-spotted bigeye, threadfin bream

Figure 1 Visual histology of preparations (A) lattice monocle bream, (B) purple-spotted bigeye, (C) threadfin bream

Figure 2 Histology of scaly skin (A) lattice monocle bream, (B) purple-spotted bigeye, (C) threadfin bream magnification 40x; 100 µm line scale

Figure3 SDS-PAGE PROFILE: (M) marker, (SC) lattice monocle bream scales, (SS) purple-spotted bigeye scales, (SK) threadfin bream scales, (KC) lattice monocle bream skin, (KS) purple-spotted bigeye skin, (KK) threadfin bream, (KSC) lattice monocle bream scaly skin, (KSS) purple-spotted bigeye scaly skin, (KSK) threadfin bream scaly skin

Figure4 Concentration of non collagen protein (←→) KSC (scaly skin of attice monocle bream), (←→) KC skin of attice monocle bream, (←→) SC (scales of attice monocle bream, (←→) KSS (scaly skin of purple-spotted bigeye), (←→) KS (skin of purple-spotted bigeye), (←→) SS (scales of purple-spotted bigeye, (←→) KSK (scaly skin of threadfin bream), (←→) KK (skin of threadfin bream), (←→) SK (scales of threadfin bream)

Figure 5 SDS-PAGE profile after deproteination: (M) marker, (SC) lattice monocle bream scales, (SS) purple-spotted bigeye scales, (SK) threadfin bream scales, (KC) lattice monocle bream skin, (KS) purple-spotted bigeye skin, (KK) threadfin bream, (KSC) lattice monocle bream scaly skin, (KSS) purple-spotted bigeye scaly skin, (KSK) threadfin bream scaly skin

Figure 6 Standard curve of hydroxyprolina