

KARAKTERISTIK KOLAGEN GELEMBUNG RENANG IKAN LENCAM (*Lethrinus lentjan*)

Aula Sakinah*, Wini Trilaksani, Tati Nurhayati

Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB University
Jalan Agatis, Lingkar Kampus IPB Dramaga, Bogor, Indonesia 16680

Diterima: 15 Januari 2023/Disetujui: 2 Juni 2023

*Korespondensi: aulasakinah@apps.ipb.ac.id

Cara sitasi (APA Style 7th): Sakinah, A., Trilaksani, W., & Nurhayati, T. (2023). Karakteristik kolagen gelembung renang ikan lencam (*Lethrinus lentjan*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 26(3), 571-585. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v26i3.45529>

Abstrak

Ekspor filet ikan lencam yang terus meningkat di Indonesia menyebabkan peningkatan pada jumlah hasil samping produksi, salah satunya gelembung renang. Gelembung renang ikan merupakan sumber alternatif kolagen yang telah menarik minat ilmuwan dan industri untuk diaplikasikan di berbagai sektor kesehatan, farmasi, dan kosmetik. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan rasio bahan dan pelarut serta waktu yang optimal pada tahap praperlakuan dalam ekstraksi kolagen gelembung renang ikan lencam. Penelitian dibagi menjadi tiga tahapan, yaitu optimasi praperlakuan sampel menggunakan larutan NaOH dengan lama waktu yang berbeda, ekstraksi dengan rasio bahan dan pelarut asam asetat dan penambahan enzim papain, dan karakterisasi kolagen. Analisis komponen gelembung renang ikan lencam meliputi proksimat, asam amino, dan protein terlarut. Analisis kualitas kolagen meliputi proksimat, asam amino, pengukuran warna, derajat putih, pH, pita protein, dan gugus fungsi. Kondisi praperlakuan terbaik didapat pada gelembung renang ikan lencam yang direndam NaOH 0,1 M selama 8 jam. Rasio bahan dan pelarut asam asetat terbaik, yaitu 1:30 (b/v) larut enzim papain (PaSC) dengan rendemen 28,88±0,71%. Kandungan protein mencapai 92,56±0,12%, derajat putih 97,86%, nilai pH 6,64, kandungan hidroksiprolina sebesar 79,32 mg/g, glisina 293,35 mg/g, dan prolina 102,57 mg/g sebagai asam amino penciri kolagen. Hasil deteksi gugus fungsi menunjukkan adanya gugus fungsi amida I, II, III, A, dan B serta rantai α1 dan α2.

Kata kunci: ekstraksi, enzim papain, hidroksiprolina, rendemen

Characteristics of Swim Bladder Collagen in Pink Ear Emperor Fish (*Lethrinus lentjan*)

Abstract

The upswing in the exportation of *Lethrinus lentjan* filets in Indonesia has resulted in a concomitant increase in the quantity of production by-products, including swim bladder. Fish swim bladders possess collagen, which has garnered interest from both the scientific and industrial communities for potential applications in healthcare, pharmaceuticals, and cosmetics. The primary objective of this study was to ascertain the most suitable ratio of materials and solvents, as well as the optimal duration of pretreatment, for the effective extraction of collagen. The study was conducted in three distinct stages: pretreatment of the sample with NaOH solutions of varying durations, extraction of collagen using papain enzyme and varying ratios of materials and acetic acid, and characterization of the extracted collagen. Examination of the swim bladder constituents of pink ear emperor fish encompasses proximate, amino acid, and dissolved protein analyses. Quality analysis of collagen encompasses various techniques, including proximate analysis, amino acid analysis, color measurement, whiteness degree assessment, pH determination, protein band analysis, and functional group detection. The optimal pretreatment conditions involved soaking pink ear emperor fish swim bladders in 0.1 M NaOH for 8 h, and the highest yield of collagen was attained using a soluble papain enzyme ratio of 1:30 (w/v) for 48 h, resulting in a collagen output of 28.88±0.71%. The extracted collagen possessed a protein content of 92.56±0.12%, a whiteness degree of 97.86%, a pH value of 6.64, a hydroxyproline content of 79.32 mg/g, a glycine content of 293.35 mg/g, and a proline content of 102.57

mg/g. These values are characteristic of the amino acids found in collagen. The results of functional group detection experimentally confirmed the presence of amide I, II, III, A, and B functional groups, as well as $\alpha 1$ and $\alpha 2$ chains.

Keywords: extraction, hydroxyproline, papain enzyme, yield

PENDAHULUAN

Kolagen adalah protein struktural utama jaringan ikat pada tubuh hewan vertebrata yang keberadaannya mencapai 25-30% dari total protein hewani (Walters & Stegemann, 2014; Pal *et al.*, 2015). Kolagen memiliki biokompatibilitas yang sangat baik, biodegradabilitas dan antigenisitas yang rendah, sehingga dapat diaplikasikan pada industri makanan, kosmetik, biomedis, dan farmasi (Chen *et al.*, 2019). Kolagen berperan penting dalam mencegah pembentukan kerutan dan tanda penuaan pada lapisan dermis kulit (Zhao *et al.*, 2018). Sumber bahan baku kolagen pada umumnya berasal dari bahan baku tulang dan kulit mamalia di antaranya sapi dan babi. Kolagen terestrial saat ini dibatasi penggunaannya karena alasan sosial, budaya, dan agama (Liu *et al.*, 2015). *Marine collagen* merupakan sumber bahan baku kolagen dari hewan laut yang dalam dua dekade terakhir telah mendapat perhatian yang meningkat karena memiliki keunggulan jika dibandingkan dengan kolagen terestrial. Pasar *marine collagen* diperkirakan akan mencapai sebesar USD 983,84 juta pada tahun 2025, dengan tingkat pertumbuhan tahunan gabungan sebesar 7,4% (Coppola *et al.*, 2021).

Ikan lele merupakan salah satu jenis ikan laut yang memiliki nilai ekonomis penting dan salah satu biota perairan yang dapat dijadikan sumber bahan baku *marine collagen*. Angka produksi ikan lele di Indonesia pada tahun 2021, yaitu 104 ribu ton (Kementerian Kelautan dan Perikanan [KKP], 2021). Produksi filet daging ikan lele yang tinggi berpotensi menghasilkan limbah yang signifikan contohnya gelembung renang.

Gelembung renang ikan berpotensi sebagai sumber kolagen. Proporsi gelembung renang sebagai limbah dari filet ikan lele berkisar sekitar 2% dari total berat ikan. Gelembung renang ikan memiliki kandungan protein yang tinggi. Gelembung renang ikan cunang (*Muarenesox talabon*)

memiliki kandungan protein berturut-turut 93,39%, 96,16%, dan 96,2% (Kartika *et al.*, 2016; Djailani *et al.*, 2016; Gadi, 2017). Gelembung renang ikan tuna sirip kuning memiliki kadar protein sebesar 72,53% (Kaewdang *et al.*, 2014). Pemanfaatan gelembung renang sebagai sumber kolagen dapat dilakukan melalui metode asam dan enzimatis.

Ekstraksi kolagen dari gelembung renang ikan patin menggunakan metode asam menghasilkan rendemen sebesar 16% (Sitepu *et al.*, 2019), sementara metode enzimatis dengan *papain soluble collagen* menghasilkan rendemen sebesar 27% (Simamora *et al.*, 2019). Metode ekstraksi kolagen secara enzimatis terbukti meningkatkan hasil rendemen. Peningkatan ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu bahan baku, *pre treatment*, waktu ekstraksi, dan metode ekstraksi (Ahmed *et al.*, 2020). Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan menggunakan metode ekstraksi asam dan enzimatis menggunakan enzim papain. Rasio dan volume larutan asam yang digunakan perlu diteliti lebih lanjut. Proses ekstraksi kolagen dimulai dari tahap praperlakuan menggunakan larutan alkali untuk menghilangkan protein nonkolagen (Gaurav *et al.*, 2017). Alkali yang paling umum digunakan dalam proses praperlakuan adalah NaOH, namun penggunaan NaOH dengan konsentrasi di atas 0,1 M secara signifikan dapat melarutkan kolagen dan membentuk residu garam natrium dalam jumlah yang besar (Liu *et al.*, 2015). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan rasio bahan dan pelarut serta waktu yang optimal pada tahap praperlakuan dalam ekstraksi kolagen gelembung renang ikan lele.

BAHAN DAN METODE Preparasi Bahan Baku

Preparasi sampel dilakukan sesuai dengan metode Liu *et al.* (2015). Sampel

gelembung renang ikan lencam dicuci menggunakan air dingin ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) dan direndam dalam larutan NaOH 0,1 M dengan perbandingan sampel 1:10 (b/v) selama 24 jam. Larutan NaOH digantikan setiap 2 jam untuk menghilangkan protein non-kolagen. Setelah itu, sampel dibilas dengan air suling hingga mencapai pH mendekati netral. Analisis komponen gelembung renang ikan lencam meliputi analisis proksimat (Association of Official Analytical and Chemistry [AOAC], 2005), asam amino (Nollet, 1996), dan protein terlarut (Bradford, 1976).

Ekstraksi Kolagen

Sampel yang telah dideproteinasi diekstrak menggunakan CH_3COOH dan enzim papain 5.000 U/g. Ekstraksi kolagen metode asam dan enzim papain dilakukan dengan merendam sampel yang telah dideproteinasi dalam larutan asam asetat dengan perbandingan 1:10, 1:20, 1:30 (b/v) 0,5 M selama 48 jam (modifikasi Tabarestani *et al.*, 2012). Supernatan kemudian diendapkan menggunakan NaCl 1,8 M. Hasil presipitasi dengan NaCl 1,8 M dipisahkan melalui sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 30 menit. Pelet yang dihasilkan dari sentrifugasi dilarutkan dalam asam asetat 0,3 M dengan perbandingan 1:2 (b/v), kemudian didialisis menggunakan kantong dialisis berpori 14 KDa terhadap akuades. Pelet selanjutnya dikeringkan dengan *freeze dryer* untuk mendapatkan kolagen kering. Analisis kualitas kolagen meliputi analisis proksimat (AOAC, 2005), analisis asam amino, pengukuran warna dan derajat putih, analisis pH, analisis pita protein (Laemmli, 1970), dan analisis gugus fungsi (Yan *et al.*, 2008).

Analisis Data

Rancangan percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) dengan dua faktor, yaitu metode pembuatan kolagen dan rasio pelarut (1:10, 1:20, 1:30). Data dianalisis tiga kali ulangan. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan ANOVA dengan selang kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) dan dilakukan uji lanjut *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf kepercayaan 95% (Mattjik & Sumertajaya, 2002).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi Kimia Gelembung Renang Ikan Lencam

Penentuan komposisi kimia gelembung renang ikan lencam bertujuan untuk mengetahui karakteristik gelembung renang ikan lencam yang akan dijadikan sebagai bahan baku kolagen. Analisis ini dilakukan untuk mengetahui proporsi protein awal dari gelembung renang ikan lencam sebagai bahan baku pembuatan kolagen. Komposisi kimia gelembung renang ikan dapat dilihat pada *Table 1*.

Kadar air memiliki persentase tertinggi dibandingkan parameter lainnya. Air berfungsi menjaga kelenturan dan tekstur gelembung renang. Fungsi lainnya adalah untuk menyeimbangkan pH (Chen *et al.*, 2016). Hasil pengujian menunjukkan bahwa gelembung renang ikan lencam dalam kondisi segar. Jumlah molekul air dalam jaringan gelembung renang akan berpengaruh terhadap kadar abu, lemak dan protein. Oleh karena itu, fluktuasi kandungan air selama proses, penyimpanan, pengolahan, dan pengeringan jaringan akan mengubah komposisi biokimia yang lain.

Komposisi tertinggi berikutnya adalah kadar protein. Kadar protein gelembung renang ikan lencam lebih tinggi dibandingkan dengan protein ikan manyung, ikan kerapu, dan ikan patin. Pemurnian kolagen yang berupa jaringan ikat protein dan umumnya berbentuk fibril sangat tergantung pada komposisi protein dari bahan baku yang digunakan (Gaurav *et al.*, 2017). Kandungan dominan pada gelembung renang adalah protein kolagen, sehingga gelembung renang ikan lencam dengan kandungan protein yang tinggi lebih berpotensi dijadikan sebagai sumber alternatif kolagen (Gadi, 2017).

Komposisi Asam Amino Gelembung Renang Ikan Lencam

Asam amino merupakan senyawa yang memiliki peranan penting dalam pembentukan protein. Asam amino penciri utama pembentuk protein kolagen terdiri atas glisina, alanina, prolina, dan hidroksprolina (Liu *et al.*, 2012). *Table 2* menampilkan

Table 1 Chemical composition of fish swim bladders dry weight from pink ear emperor fish
Tabel 1 Komposisi kimia berat kering gelembung renang ikan lencam

Parameter (%)	Pink ear emperor	Ariid catfish*	Pangas catfish**	Grouper [^]
Moisture	-	-	-	-
Ash	0.75	0.22	2.01	0.52
Lipid	1.42	1.33	2.13	4.48
Protein	94.32	93.75	85.22	89.88
Carbohydrates	3.51	4.7	10.64	5.12

*(Utami, 2021), ** (Sitepu *et al.*, 2019), [^](Trilaksani *et al.*, 2019)

Table 2 Amino acid profile of fish swim bladders from pink ear emperor fish
Tabel 2 Profil asam amino gelembung renang ikan lencam

Type of amino acid (mg/g)	Pink ear emperor	Yellow-pike fish*	Pangas catfish**	Ariid catfish [^]	Grouper ^{^^}
Non-essential					
Glisine	94.81	56.36	56.85	86.70	47.19
Proline	42.79	24.48	31.03	26.20	23.71
Alanine	40.05	23.21	23.85	28.90	22.02
Glutamic acid	34.12	20.21	17.31	27.10	20.53
Aspartic acid	20.35	11.40	12.31	14.80	11.61
Serine	13.37	6.50	8.16	9.00	7.89
Tyrosine	4.4	1.31	3.07	4.00	1.88
TOTAL	249.89	143.47	152.58	196.7	134.83
Essential					
Phenylalanine	11.05	5.12	6.82	7.40	4.97
Valine	9.56	6.05	7.19	8.50	4.94
Isoleucine	5.41	2.91	5.26	5.10	-
Lysine	11.94	10.41	12.2	10.50	6.93
Isoleucine	12.63	6.05	9.00	9.30	6.27
Histidine	3.58	2.60	2.30	5.60	1.55
Arginine	37.42	19.27	21.61	22.90	18.54
Threonine	14.59	7.24	7.38	8.90	6.89
TOTAL	106.18	59.65	71.76	78.2	50.09

*(Kartika *et al.*, 2016), ** (Sitepu *et al.*, 2019), [^](Utami, 2021), ^{^^}(Trilaksani *et al.*, 2019)

keragaman asam amino kolagen gelembung renang ikan lencam.

Asam amino yang tinggi ditemukan pada gelembung renang ikan lencam di antaranya glisina, prolina, alanina, dan asam glutamat. Komposisi asam amino penciri

kolagen yang cukup tinggi adalah glisina sebesar 94,81 mg/g, prolina sebesar 42,79 mg/g, alanina sebesar 40,05 mg/g dan asam glutamat sebesar 34,12 mg/g. Kandungan asam amino penciri pada bahan baku diduga meningkatkan rendemen ekstrak kolagen.

Efek Praperlakuan Gelembung Renang Ikan Lencam terhadap Kadar Protein Terlarut

Proses praperlakuan dilakukan sebelum ekstraksi kolagen yang bertujuan membuka matriks gelembung renang dan menghilangkan protein nonkolagen, lemak, pigmen serta mineral pada bahan baku. Praperlakuan menggunakan larutan natrium hidroksida (NaOH) memerlukan variasi waktu dari beberapa jam hingga beberapa hari (Schmidt *et al.*, 2016). Praperlakuan yang terlalu lama akan menghilangkan protein kolagen serta mengurangi efisiensi proses. Konsentrasi NaOH yang efektif dapat menghilangkan protein non-kolagen tanpa kehilangan kolagen dan strukturnya. Konsentrasi protein terlarut NaOH selama praperlakuan dapat dilihat pada *Figure 1*.

Kandungan protein terlarut pada filtrat NaOH sisa perendaman gelembung renang ikan lencam semakin menurun dari perendaman jam ke-2 hingga jam ke-8. Hal ini menunjukkan adanya pelepasan protein yang dimulai dari 2 jam pertama perendaman gelembung renang hingga durasi perendaman selanjutnya. Meng *et al.* (2019) menyatakan bahwa penggunaan larutan alkali, dalam hal ini natrium hidroksida (NaOH), efektif digunakan dalam mereduksi

protein nonkolagen. Penggantian larutan NaOH dilakukan secara bertahap setiap 2 jam untuk mengetahui degradasi antara protein nonkolagen dengan protein kolagen. Kandungan protein terlarut mengalami fluktuasi kenaikan pada lama perendaman 10 jam dan terus mengalami peningkatan hingga 14 jam.

Komposisi Kimia Kolagen Gelembung Renang Ikan Lencam

Kualitas kolagen yang dihasilkan dapat dilihat dengan mengacu kepada standar kolagen yang sudah ada. Kesesuaian kolagen dilakukan dengan membandingkan karakteristik kimia kolagen gelembung renang ikan manyung dengan standar kolagen, yaitu berdasarkan SNI 8076-2014 mengenai kolagen kasar dari sisik ikan. *Table 3* menampilkan komposisi kimia kolagen gelembung renang ikan.

Kadar air dipengaruhi oleh lamanya ekstraksi, konsentrasi asam asetat yang digunakan, serta interaksi antara konsentrasi asam asetat dan lama ekstraksi. Penetrasi air ke dalam jaringan kolagen melalui suatu ikatan hidrogen atau gaya elektrostatis antara gugus polar menyebabkan ditemukannya kandungan air pada kolagen (Romadhon *et al.*, 2019). Kadar air dipengaruhi oleh kehilangan

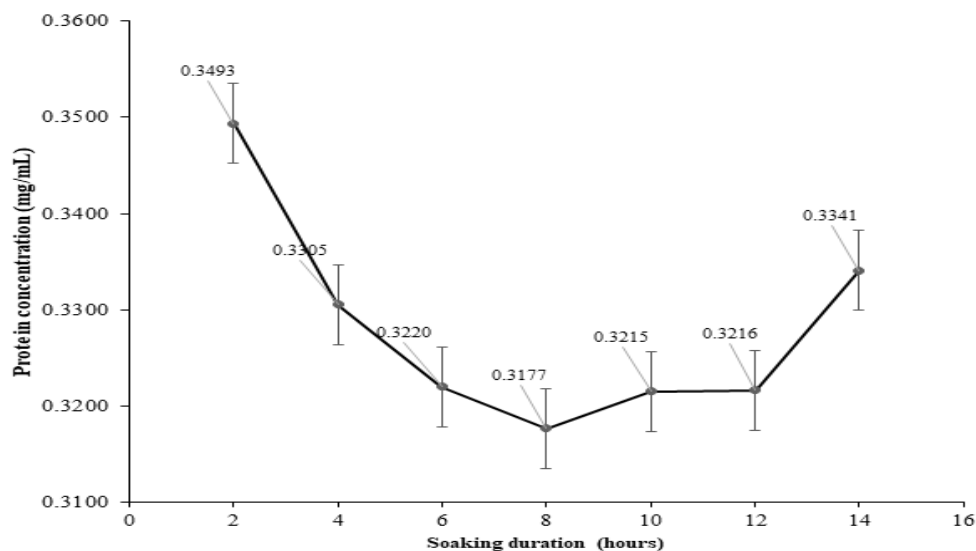


Figure 1 The concentration of soluble protein in 0.1 M NaOH with a soaking duration of 14 hours and solution replacement every 2 hours

Gambar 1 Konsentrasi protein terlarut dalam NaOH 0,1 M dengan durasi perendaman selama 14 jam dan penggantian larutan setiap 2 jam

Table 3 Chemical composition of fish swim bladders collagen from pink ear emperor fish
Tabel 3 Komposisi kimia kolagen gelembung renang ikan lencam

Parameter (%)	Pink ear emperor	Ariid catfish*	Pangas catfish**	Grouper [^]	SNI 8076-2014 (Collagen)
Moisture	4.82±0.12	3.62±0.34	10.76±1.6	10.31±0.00	<12
Ash	0.49±0.01	0.51±0.06	1.01±0.6	5.1±7.07	<1.0
Lipid	0.35±0.01	1.24±0.04	0.67±0.02	5.99±7.07	<1.0
Protein	92.59±0.12	94.12±1.1	87.66±0.66	75.2±0.00	>75

*(Utami, 2021), ** (Simamora *et al.*, 2019), [^](Trilaksani *et al.*, 2019)

air yang terjadi selama proses pengeringan dan penyerapan air pada saat perendaman (Azara, 2017).

Kadar abu suatu bahan menunjukkan kuantitas keberadaan mineral dalam bahan tersebut. Hasil analisis kadar abu kolagen ikan lencam, yaitu 0,49±0,01%. Tinggi atau rendahnya kadar abu disebabkan karena adanya mineral yang terikat pada kolagen. Kadar lemak yang diperoleh yaitu 0,35±0,007%. Salah satu persyaratan penting kolagen adalah kadar lemak <1% (SNI 8076-2014). Sisa lemak pada kulit dapat menurunkan kadar kemurnian kolagen (Nilsuwan *et al.*, 2022). Oksidasi lemak yang terdistribusi pada matriks kulit ikan dapat menyebabkan aroma dan rasa yang tidak diharapkan pada kolagen. Praperlakuan menggunakan NaOH dapat dilakukan untuk mengeliminasi pengotor meliputi lemak, mineral, aroma, dan protein nonkolagen.

Kadar lemak kolagen ikan lencam paling rendah dibandingkan ikan manyung, patin dan kerapu. Kadar lemak pada kolagen bergantung pada perlakuan selama proses pembuatan kolagen, baik pada tahap pembersihan maupun proses *degreasing* hingga pada tahap penyaringan filtrat hasil ekstraksi. Perlakuan *defating* akan mengurangi kandungan lemak yang ada dalam bahan baku sehingga produk yang dihasilkan memiliki kadar lemak yang rendah.

Protein merupakan kandungan tertinggi dalam kolagen. Kadar protein kolagen ikan lencam yaitu 92,59±0,12%. Kadar protein merupakan salah satu parameter karakteristik kolagen. Kadar protein kolagen ikan lencam

lebih tinggi dibandingkan dengan ikan patin dan kerapu. Syarat mutu kadar protein kolagen ikan lencam memenuhi syarat berdasarkan SNI yaitu >75%. Kadar protein menunjukkan kemurnian kolagen yang diperoleh. Menurut Jafari *et al.* (2020), kolagen adalah protein struktural utama yang ditemukan dalam matriks ekstraseluler dan membentuk sekitar 25-35% dari total kandungan protein tubuh.

Rendemen Kolagen Gelembung Renang Ikan Lencam

Efektivitas ekstraksi dapat dilihat dari hasil rendemen kolagen. Metode ekstraksi pada penelitian ini menggunakan asam asetat dan enzim papain aktivitas 5.000 U/g, dengan perlakuan rasio sampel dan pelarut 1:10, 1:20, dan 1:30 (b/v). Menurut Skierka & Sadowska (2007), penggunaan larutan asam dapat memutus ikatan garam antarmolekul dan basa schiff serta meningkatkan muatan yang berlawanan pada triple heliks untuk proses *swelling* serat kolagen. Proses ekstraksi dilakukan pada suhu rendah agar kolagen tidak mudah rusak. Perlakuan terpilih ditentukan berdasarkan parameter rendemen ekstrak kolagen terbaik.

Enzim yang digunakan pada penelitian ini adalah enzim papain. Enzim papain merupakan enzim protease yang diisolasi dari tumbuhan pepaya. Enzim papain stabil dan aktif dalam berbagai kondisi, bahkan pada suhu tinggi (Amri & Mamboya, 2012). Hasil perhitungan rendemen menunjukkan bahwa perbedaan bahan baku berpengaruh terhadap rendemen kolagen ($p < 0,05$). Hal ini sesuai dengan pernyataan Suptijah *et al.* (2018) bahwa

salah satu faktor yang dapat memengaruhi nilai rendemen kolagen yang dihasilkan adalah jenis bahan yang digunakan. Enzim dapat digunakan dikombinasikan dengan asam untuk mendapatkan hasil kolagen yang lebih tinggi. Enzim papain (EC 3.4.22.2) terdiri dari 212 residu asam amino yang tersusun dalam rantai polipeptida tunggal. Enzim papain adalah kelas endopeptidase yang memutus ikatan peptida di pusat rantai protein (Grzonka *et al.*, 2007).

Rendemen kolagen gelembung renang ikan lencam semakin meningkat dengan peningkatan rasio sampel dan pelarut. Pada perbandingan 1:10 (b/v), diperoleh nilai rendemen sebesar $18,64 \pm 1,19\%$ (ASC) dan $25,52 \pm 0,94\%$ (PaSC). Pada perbandingan 1:20 (b/v), diperoleh rendemen sebesar $20,06 \pm 0,59\%$ (ASC) dan $27,29 \pm 0,40\%$ (PaSC). Pada perbandingan 1:30 (b/v), mencapai nilai maksimum dengan nilai rendemen $21,54 \pm 0,95\%$ (ASC) dan $28,88 \pm 0,75\%$ (PaSC). Rendemen terbaik dari penelitian ini diperoleh pada perbandingan 1:30 (b/v) dengan metode PaSC. Hasil analisis rendemen ekstrak kolagen gelembung renang ikan lencam dan beberapa jenis ikan lainnya dapat dilihat pada *Table 4*.

Rendemen merupakan salah satu parameter penting yang digunakan dalam produksi kolagen dan semakin tinggi nilainya menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan selama proses tersebut efektif dan efisien. Rendemen kolagen gelembung renang ikan lencam semakin meningkat dengan peningkatan rasio sampel dan pelarut dan mencapai nilai maksimum. Pembengkakan yang dihasilkan pada proses praperlakuan

dapat memfasilitasi ekstraksi asam dengan meningkatkan kecepatan transfer massa dari matriks jaringan (Liu *et al.*, 2015). Peningkatan jumlah pelarut dapat meningkatkan interaksi antara proton bebas dan asam amino rantai kolagen, sehingga meningkatkan pemutusan ikatan silang yang ada dalam heliks kolagen (Jafari *et al.*, 2020). Interaksi antara asam dan molekul kolagen dapat memutus ikatan silang pada heliks kolagen dan meningkatkan efisiensi ekstraksi. Penelitian mengenai efisiensi ekstraksi menggunakan rasio pelarut dan metode yang berbeda penting dilakukan untuk memaksimalkan kemurnian dan rendemen dari kolagen.

Profil Asam Amino Kolagen Gelembung Renang Ikan Lencam

Delapan asam amino berkontribusi pada stabilitas struktur heliks kolagen dan merupakan salah satu sifat utama yang menentukan aplikasi potensial kolagen (Zhao *et al.*, 2018). Asam amino esensial dalam kolagen di antaranya ialah isoleusina, leusina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, valina, dan arginina. Indikasi ketersediaan kolagen dapat dilihat dari proporsi kandungan asam amino dan protein penyusunnya. Kolagen yang digunakan untuk uji asam amino merupakan kolagen terbaik hasil ekstraksi. Profil asam amino kolagen pada gelembung renang ikan lencam dapat dilihat pada *Table 5*.

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak protein yang dihasilkan dari gelembung renang ikan lencam merupakan kolagen yang berkualitas. Kolagen ini

Table 4 Yield of fish swim bladders collagen from pink ear emperor fish species

Tabel 4 Rendemen kolagen gelembung renang ikan lencam dan ikan lainnya

Sample	Extraction method	Yield (%)
Pink ear emperor	ASC	21.54 ± 0.95
	PaSC	28.88 ± 0.78
Pangas catfish	PaSC ¹	27.00 ± 0.08
	ASC ²	16.04 ± 0.60
Tuna fish	PaSC ³	1.11 ± 0.057

¹Simamora *et al.* (2019); ²Sitepu *et al.* (2019); ³Kaewdang *et al.* (2014); ASC (Acetic acid method); PaSC (Papain enzyme method)

Table 5 Amino acid profile of fish collagen from swim bladders from pink ear emperor fish
Tabel 5 Profil asam amino kolagen dari gelembung renang ikan lele

Amino acid (mg/g)	Pink ear emperor fish	Tuna (Kaewdang <i>et al.</i> , 2014)	Red snapper (Jamilah <i>et al.</i> , 2013)	Ariid catfish (Utami, 2021)	Pangas catfish (Sitepu <i>et al.</i> , 2019)
Non-essential					
Glisine	293.35	225	326	232.72	266.06
Proline	102.57	80	11	110.51	108.96
Alanine	114.26	102	134	97.32	112.92
Glutamic acid	79.32	48	83	83.36	-
Aspartic acid	80.37	91	71	95.98	-
Serine	45.52	69	46	48.33	-
Hydroxyproline	26.24	50	27	38.44	40.78
Tyrosine	7.32	15	5	14.57	8.17
TOTAL	748.95	680	703	721.23	536.89
Essential					
Phenylalanine	24.40	22	13	25.96	22.68
Valine	25.58	38	22	27.90	24.25
Isoleucine	15.51	25	9	17.06	9.33
Lysine	28.54	44	25	33.71	37.91
Isoleucine	31.66	47	23	31.57	21.57
Histidine	7.39	12	5	17.95	18.16
Arginine	81.00	56	53	85.25	125.84
Threonine	26.92	42	24	14.57	34.08
TOTAL	241	286	174	253.97	293.82

terindikasi memiliki komposisi asam amino utama penyusun kolagen, yaitu glisina, alanina, dan prolina, dalam jumlah yang tinggi. Tidak terdapat perbedaan substansial antara profil asam amino kolagen yang diekstraksi dengan metode yang berbeda. Metode ekstraksi asam atau enzim dapat digunakan untuk isolasi kolagen tipe I (Jafari *et al.*, 2020). Kolagen yang berasal dari jenis ikan yang berbeda hanya menunjukkan sedikit perbedaan dalam komposisi asam aminonya (Tang *et al.*, 2015).

Perbedaan asam amino secara total dapat berhubungan dengan jenis ikan dan berkorelasi dengan suhu habitat jenis ikan (Chen *et al.*, 2019). Asam amino dominan pada kolagen adalah glisina, prolina, alanina, hidroksiprolina, asam glutamat, dan arginina (Sinthusamran *et al.*, 2013).

Kandungan asam amino juga diduga berperan dalam stabilitas termal kolagen. Kittiphattanabawon *et al.* (2005) menyatakan bahwa asam amino hidroksiprolina berperan dalam menstabilkan struktur rantai *triple helix* melalui ikatan hidrogen. Hidroksiprolina, yang merupakan asam amino khas kolagen, terbentuk melalui proses oksidasi prolina yang dikatalis oleh prolin hidroksilase. Keberadaan hidroksiprolina dalam struktur kolagen dapat meningkatkan elastisitas kolagen serta berkontribusi pada stabilitas struktur *triple helix* melalui formasi ikatan hidrogen antar rantai melalui gugus hidroksil (Ghanaeian & Soheilifard, 2018). Kandungan hidroksiprolina pada gelembung renang ikan lele lebih rendah dibandingkan dengan ikan manyung. Perbedaan kandungan hidroksiprolina dapat

dipengaruhi oleh spesies, lingkungan, dan suhu tubuh ikan (Lin *et al.*, 2020).

Kandungan glisina yang tinggi penting karena glisina adalah asam amino yang menyusun sekuens dasar kolagen Gly-X-Y dalam pembentukan tropokolagen (Cherim *et al.*, 2016). Asam amino penyusun kolagen lainnya ialah prolina dan alanina. Asam amino prolina adalah asam amino esensial dengan cincin pirolidin untuk memperkuat struktur *triple helix* (Gaurav *et al.*, 2017).

Gugus Fungsi Kolagen Gelembung Renang Ikan Lencam

Kolagen terdiri dari dua rantai $\alpha 1$ dan rantai $\alpha 2$ yang membentuk pola *triple helix*. Rantai alfa terdiri atas sekuens asam-asam amino dengan pola tertentu yang dihubungkan oleh ikatan peptida, jembatan garam, ikatan antar-dipol, ikatan kovalen, ikatan ionik, dan ikatan hidrogen. Karakteristik utama yang membedakan kolagen dengan protein lainnya terletak pada gugus fungsional. Kong & Yu (2007) menyebutkan bahwa rantai polipeptida memiliki sembilan pita karakteristik serapan, yaitu amida A, amida B, dan amida I-IV. Puncak serapan gugus fungsi kolagen pada gelembung renang ikan lencam dapat dilihat pada *Table 6*.

Analisis spektral kolagen memberikan wawasan struktural berdasarkan pita getaran yang dihasilkan oleh tulang punggung polipeptida (amida). Penentuan gugus fungsi kolagen dan nonkolagen dilakukan

dengan spektrofotometer FTIR melalui pendeteksian sinar inframerah sebagai sumber elektromagnetik. Analisis FTIR ini bertujuan untuk memastikan senyawa yang dihasilkan merupakan kolagen berdasarkan gugus-gugus fungsi penyusunnya. Prinsip dari spektroskopi FTIR adalah dengan mengukur panjang gelombang dan intensitas penyerapan radiasi inframerah.

Gugus amida A merupakan gugus khas kolagen yang menunjukkan NH *stretching*, dengan wilayah serapan amida A berada pada kisaran 3.300-3.325 cm^{-1} . Gugus amida B kolagen pada gelembung ikan lencam mendekati wilayah serapan 2.943 cm^{-1} . Puncak serapan gugus amida B mendekati wilayah nilai 3.100 yang terbentuk dari *asimetrikal stretching* CH_2 . Gugus amida I pada kolagen gelembung renang ikan lencam berada pada puncak 1.662 cm^{-1} . Amida I menunjukkan vibrasi *stretching* dari gugus karbonil (C=O) yang berada disepanjang polipeptida yang merupakan ciri khas struktur sekunder dari peptida dengan puncak serapan 1600-1690 cm^{-1} . Komponen α -*helix* ditunjukkan pada wilayah serapan antara 1.654 cm^{-1} dan 1.658 cm^{-1} , β -*sheet* dengan wilayah serapan antara 1.624-1.642 cm^{-1} , β -*turn* dengan wilayah serapan 1.666, 1.672, 1.680, dan 1.688 cm^{-1} serta *random coil* dengan wilayah serapan 1.648 cm^{-1} . Spektrum gugus fungsi kolagen gelembung renang ikan lencam dilihat pada *Figure 2*.

Berdasarkan puncak serapan, amida I pada kolagen gelembung renang ikan

Table 6 Functional groups profile collagen from the swim bladders of pink ear emperor fish
Tabel 6 Profil gugus fungsi kolagen gelembung renang ikan lencam

Functional groups	Wavenumber (cm^{-1})		Vibration
	Pink ear emperor fish	The standard of absorbtion region	
Amida A	3,300	3,300-3,325	NH stretching is associated with hydrogen bonding
Amida B	2,943	3,100	Stretching CH^2
Amida I	1,662	1,630-1,695	Stretching C=O
Amida II	1,548	1,480-1,575	CN stretching
Amida III	1,455	1,200-1,400	NH binding

lencam memiliki struktur α -heliks. Frekuensi gelombang amida I berhubungan dengan struktur sekunder protein. Gugus amida II dan amida III pada kolagen gelembung renang ikan lencam memiliki puncak serapan wilayah 1.548 cm^{-1} dan 1.455 cm^{-1} . Gugus amida II dan amida III menunjukkan interaksi intermolekuler pada kolagen dengan adanya gugus *stretching* CN dan *binding* NH. Gugus amida II dan amida III merupakan bagian dari struktur *triple helix*. Struktur *triple helix* ini terbentuk oleh tiga asam amino, yaitu glisina, prolina, dan hidrokisiprolina.

Ketampakan Visual, Derajat putih, Nilai pH Kolagen Gelembung Renang Ikan Lencam

Kolagen berkualitas baik memiliki warna dasar putih dengan derajat putih mendekati 100%. Pengukuran ini bertujuan untuk mengetahui warna dominan sampel kolagen yang dihasilkan. Alat yang bisa digunakan untuk pengukuran ini adalah RGB-1002, yang dilengkapi dengan sensor eksternal dan menggunakan geometri pengukuran warna $45^\circ\text{C}/0$. Derajat putih kolagen gelembung renang ikan lencam yaitu sebesar 97,86%. Hasil ini lebih tinggi dibandingkan dengan kolagen dari ikan manyung sebesar 90,63% (Utami, 2021), ikan kerapu sebesar 90,58% (Trilaksani *et al.*, 2019), ikan patin sebesar 90,99% (Simamora *et al.*, 2019) dan

ikan kakap sebesar 44,76% (Jamilah *et al.*, 2013).

Perbedaan derajat putih kolagen dapat disebabkan oleh kurang maksimalnya pemisahan sampel dari gelembung renang ikan selama proses persiapan. Derajat putih kolagen yang rendah dapat dipengaruhi oleh efektivitas dalam melarutkan pigmen selama tahap praperlakuan. Perendaman dalam larutan basa menyebabkan pengembangan pada gelembung renang ikan, sehingga pigmen dalam gelembung renang ikan dapat dengan mudah dihilangkan dan dikeluarkan.

Nilai pH kolagen ikan lencam $6,64 \pm 0,293$ telah sesuai dengan standar kolagen berdasarkan SNI 8076:2015, yaitu berkisar antara 6,5 hingga 8. Hasil pH kolagen gelembung renang ikan lencam lebih tinggi daripada kolagen ikan patin (Simamora *et al.*, 2019), ikan cunang (Gadi, 2017), dan ikan kerapu (Safithri *et al.*, 2019), serta lebih tinggi dibandingkan ikan manyung (Utami, 2021). Nilai pH kolagen yang rendah dapat disebabkan oleh proses netralisasi yang tidak sempurna. Proses penetralan setelah ekstraksi kolagen menggunakan asam yang dapat memengaruhi pH akhir kolagen. Proses penetralan residu yang sempurna dapat mengurangi residu asam sehingga kolagen memiliki pH mendekati netral. Faktor lain yang memengaruhi nilai pH adalah perbedaan metode ekstraksi. Menurut Jamilah *et al.* (2013)

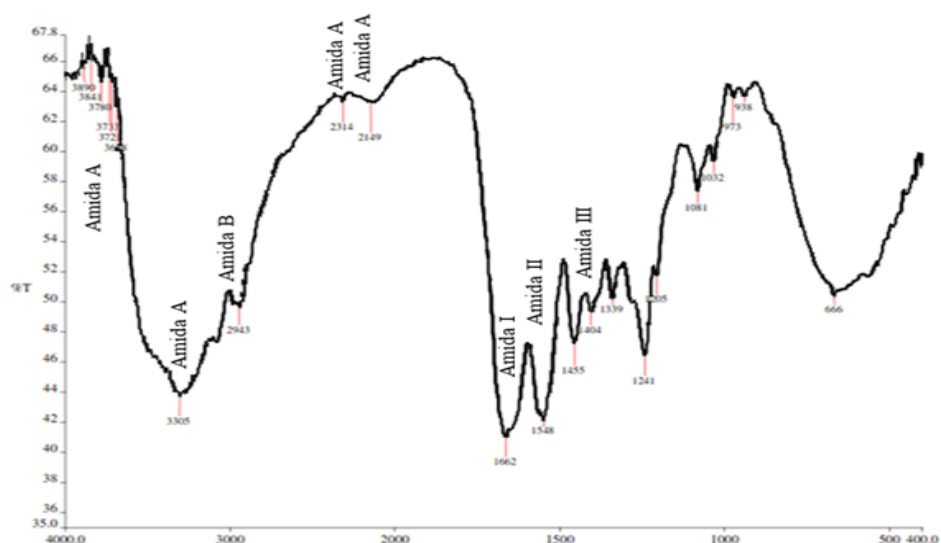


Figure 2 Functional group spectrum from the swim bladders of pink ear emperor fish

Gambar 2 Spektrum gugus fungsi kolagen gelembung renang ikan lencam

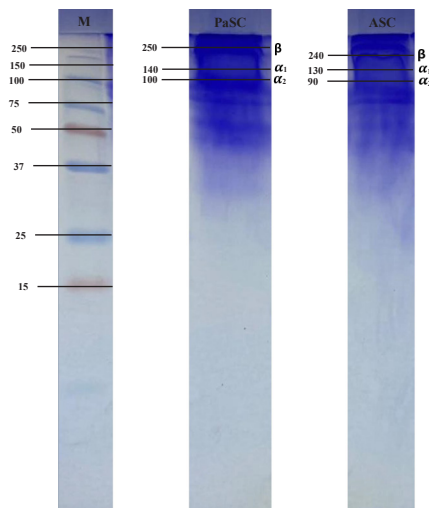


Figure 3 Protein pattern of collagen from pink ear emperor fish
Gambar 3 Pola protein kolagen gelembung renang ikan lele

kolagen yang diekstraksi dengan enzim papain cenderung memiliki pH asam.

Pola Protein Kolagen Gelembung Renang Ikan Lele

Sodium dodecyl sulfate polycrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) adalah teknik pemisahan protein standar berdasarkan kemampuan untuk bergerak terhadap muatan listrik. Protein terpisah berdasarkan ukuran molekul dan interaksinya terhadap muatan listrik. Penentuan tipe kolagen dengan membandingkan kolagen yang diperoleh dengan sumber lain yang memiliki pola kolagen serupa sebagai referensi (Silva *et al.*, 2014). Kolagen terdiri tiga rantai α dapat berupa rantai α yang sama atau berbeda tergantung pada tipe kolagennya.

Ketebalan intensitas pita pada protein menunjukkan tingginya jumlah kolagen yang mengalami *cross linking*. Perbedaan tipe kolagen ditandai dengan kompleksitas yang cukup besar dan keseragaman struktur, varian sambungan, non hiliks domain, perakitan kolagen gelembung renang ikan lele. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pola elektroforesis yang terdeteksi pada kolagen gelembung renang ikan lele terdiri atas dua rantai alpha yang berupa (α_1 dan α_2) dan satu rantai beta (β). Keberadaan rantai β yang ditemukan pada pola protein kolagen mengindikasikan adanya komponen ikatan silang dan ketebalan pita protein struktur β menunjukkan tingginya *cross linking* pada

kolagen (Singh *et al.*, 2011). Pola pita protein kolagen gelembung renang ikan lele dapat dilihat pada *Figure 3*.

Bobot molekul yang terdapat pada kolagen gelembung renang ikan lele yang diekstraksi dengan metode PaSC memiliki pita utama yaitu α_1 140 kDa, α_2 100 kDa, dan β 250 kDa. Sedangkan dengan metode ekstraksi ASC memiliki pita utama yaitu α_1 130 kDa, α_2 90 kDa, dan β 240 kDa. Hasil pola elektroforesis kolagen gelembung renang ikan lele memungkinkan dapat diklasifikasikan sebagai kolagen tipe I karena terdiri dari dua rantai α_1 dan satu rantai α_2 (Bielajew *et al.*, 2020). Kolagen tipe I juga ditemukan pada gelembung renang lainnya, yaitu gelembung renang ikan tuna sirip kuning (Kaewdang *et al.*, 2014) dan gelembung renang ikan kakap putih (Sinthusamran *et al.*, 2013).

KESIMPULAN

Proses praperlakuan kolagen mencapai waktu efektif pada lama perendaman 8 jam menggunakan larutan NaOH 0,1 M. Perlakuan terbaik diperoleh rasio bahan baku dan pelarut sebesar 1:30 (b/v) dengan ekstraksi kolagen PaSC.

DAFTAR PUSTAKA

Ahmed, M., Verma, A. K., & Patel, R. (2020). Collagen extraction and recent biological activities of collagen peptides derived from sea-food waste: A review. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*,

- 18, 100315.
- Amri, E., & Mamboya, F. (2012). Papain, a plant enzyme of biological importance: A review. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 8(2), 99–104. <https://doi.org/10.3844/ajbbsp.2012.99.104>
- Association of Official Analytical and Chemistry. (2005). *Official Methods of Analysis*.
- Azara, R. (2017). Pembuatan dan analisis sifat fisikokimia gelatin dari limbah kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.). *Jurnal Rekapangan*, 11(1), 62–69.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72(1-2), 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).
- Badan Standarisasi Nasional. (2014). SNI 8076:2014. Kolagen kasar dari sisik ikan – Syarat mutu dan pengolahan.
- Bielajew, B. J., Hu, J. C., & Athanasiou, K. A. (2020). Collagen: quantification, biomechanics and role of minor subtypes in cartilage. *Nature Review Materials*, 1–18
- Chen, J., Li, L., Yi, R., Xu, N., Gao, R., & Hong, B. (2016). Extraction and characterization of acid-soluble collagen from scales and skin of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Lwt*, 66, 453–459. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.070>
- Chen, Y., Jin, H., Yang, F., Jin, S., Liu, C., Zhang, L., Huang, J., Wang, S., Yan, Z., Cai, X., Zhao, R., Yu, F., Yang, Z., Ding, G., & Tang, Y. (2019). Physicochemical, antioxidant properties of giant croaker (*Nibea japonica*) swim bladders collagen and wound healing evaluation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 138, 483–491. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.111>
- Cherim, M., Mustafa, A., Cadar, E., Lupașcu, N., Paris, S., & Sirbu, R. (2016). Collagen sources and areas of use. *Europe Journal Interdiscip Study*, 4(1), 122. <https://doi.org/10.26417/ejis.v4i1.p122-128>
- Coppola, D., Lauritano, C., Esposito, F. P., Riccio, G., Rizzo, C., & de Pascale, D. (2021). Fish waste: from problem to valuable resource. *Marine Drugs*, 19(2), 1–39. <https://doi.org/10.3390/MD19020116>
- Djailani, F., Trilaksani, W., & Nurhayati, T. (2016). Optimasi ekstraksi dan karakterisasi kolagen dari gelembung renang ikan cunang dengan metode asam-hidro- ekstraksi. *Journal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 19(2), 156–167. <https://doi.org/10.17844/jphpi.2019.19.2.156>
- Gadi, S. D. (2017). Kolagen larut asam dari gelembung renang Ikan cunang (*Muarenesox talabon*) sebagai sediaan krim pelembab wajah [Tesis]. Institut Pertanian Bogor.
- Gaurav, Kumar, P., Nidheesh, T., Govindaraju, K., Jyoti, & Suresh, P. V. (2017). Enzymatic extraction and characterisation of a thermostable collagen from swim bladder of rohu (*Labeo rohita*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(5), 1451–1458. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7884>
- Ghanaeian, A., & Soheilifard, R. (2018). Mechanical elasticity of proline-rich and hydroxyproline-rich collagen-like triple-helices studied using steered molecular dynamics. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 86, 105–112. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2018.06.021>
- Grzonka, Z., Kasprzykowski, F., & Wiczak. (2007). Cysteine Proteases. *Industrial Enzymes: Structure, Function and Application*. Springer.
- 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 (Basel)*, 12(10), 1–37. <https://doi.org/10.3390/polym12102230>
- 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), 791–798.
- Kaewdang, O., Benjakul, S., Kaewmanee, T.,

- & Kishimura, H. (2014). Characteristics of collagens from the swim bladders of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *Food Chemistry*, 155, 264–270. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.076>
- Kartika, I. W. D., Trilaksana, W., & Adnyane, I. K. M. (2016). Karakterisasi kolagen limbah gelembung renang ikan cunang hasil ekstraksi asam dan hidrotermal. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 19(3), 222–232. <https://doi.org/10.17844/jphpi.2016.19.3.222>
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. (2018). Produksi Perikanan. Pusat Data Statistik dan Informasi Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. (2021). Produksi perikanan tangkap laut jenis ikan tuna. Statistik KKP.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.042>
- Kong, J., & Yu, S. (2007). Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 39(8), 549–559. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7270.2007.00320.x>
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural protein during the assembly of head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680–685.
- Li, J., Li, Y., Li, Y., Yang, Z., & Jin, H. (2020). Physicochemical properties of collagen from *Acaudina molpadioides* and its protective effects against H₂O₂-induced injury in RAW264.7 cells. *Marine Drugs*, 18(7). <https://doi.org/10.3390/MD18070370>
- Lin, F., Rong, H., Lin, J., Yuan, Y., Yu, J., Yu, C., You, C., Wang, S., Sun, Z., & Wen, X. (2020). Enhancement of collagen deposition in swim bladder of Chu's croaker (*Nibea coibor*) by proline: View from in-vitro and in-vivo study. *Aquaculture*, 523, 735175. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735175>
- Liu, D., Liang, L., Regenstein, J. M., & Zhou, P. (2012). Extraction and characterisation of pepsin-solubilised collagen from fins, scales, skins, bones and swim bladders of bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*). *Food Chemistry*, 133(4), 1441–1448. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.032>
- Liu, D., Wei, G., Li, T., Hu, J., Lu, N., Regenstein, J. M., & Zhou, P. (2015). Effects of alkaline praperlakuans and acid extraction conditions on the acid-soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. *Food Chemistry*, 172, 836–843. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.147>
- Mattjik A. A., & Sumertajaya, M. (2002). Perancangan Percobaan dengan Aplikasi SAS dan Minitab. Bogor (ID) :IPB Press.
- Meng, D., Tanaka, H., Kobayashi, T., Hatayama, H., Zhang, X., Ura, K., Yunoki, S., & Takagi, Y. (2019). The effect of alkaline praperlakuan 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. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.091>
- Nilsuwan, K., Fusang, K., Pripatnanont, P., & Benjakul, S. (2022). Properties and characteristics of acid-soluble collagen from salmon skin defatted with the aid of ultrasonication. *Fishes*, 7(1), 1–14. <https://doi.org/10.3390/fishes7010051>
- Nollet, L. M. L. (1996). Handbook of food analysis: physical characterization dan nutrient analysis. Edisi ke-2. CRC Press LLC.
- Pal, G. K., Nidheesh, T., & Suresh, P. V. (2015). Comparative study on characteristics and in vitro fibril formation ability of acid and pepsin soluble collagen from the skin of catla (*Catla catla*) and rohu (*Labeo rohita*). *Food Research International*, 76, 804–812. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.018>
- Romadhon, R., Darmanto, Y. S., & Kurniasih, R. A. (2019). The difference

- characteristics of collagen from tilapia (*Oreochromis niloticus*) bone, skin, and scales. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 22(2), 403–410. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v22i2.28832>
- 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. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v22i3.28924>
- Schmidt, M. M., Dornelles, R. C. P., Mello, R. O., Kubota, E. H., Mazutti, M. A., Kempka, A. P., & Demiate, I. M. (2016). Collagen extraction process. *International Food Research Journal*, 23(3), 913–922.
- Silva, R. S. G., Bandeira, S. F., & Pinto, L. A. A. (2014). Characteristics and chemical composition of skins gelatin from cobia (*Rachycentron canadum*). *LWT - Food Science and Technology*, 57(2), 580–585. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.026>
- Simamora, G. R. R., Trilaksani, W., & Uju. (2019). *Profiling* kolagen gelembung renang ikan patin (*Pangasius* sp.) melalui proses enzimatis. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan*, 2(22), 299–310. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v22i2.27717>
- Singh, P., Benjakul, S., Maqsood, S., & Kishimura, H. (2011). Isolation and characterisation of collagen extracted from the skin of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Food Chemistry*, 124(1), 97–105. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.05.111>
- Singh, P., Benjakul, S., Maqsood, S., & Kishimura, H. (2011). Isolation and characterisation 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 swim bladder of seabass (*Lates calcarifer*). *Food Chemistry*, 138(4), 2435–2441. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.136>
- Sitepu, G. S., Santoso, J., & Trilaksani, W. (2019). Kolagen gelembung renang ikan patin (*Pangasius* sp.) hasil ekstraksi asam. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan*, 22(2), 327–339. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v22i2.27781>
- Skierka, E., & Sadowska, M. (2007). The influence of different acids and pepsin on the extractability of collagen from the skin of Baltic cod (*Gadus morhua*). *Food Chemistry*, 105(3), 1302–1306. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.030>
- Suptijah, P., Indriani, D., & Wardoyo, S. E. (2018). Isolasi dan karakterisasi kolagen dari kulit ikan patin (*Pangasius* sp.). *Jurnal Sains Natural*, 8(1), 8. <https://doi.org/10.31938/jsn.v8i1.106>
- Tabarestani, S. H., Maghsoudlou, Y., Motamedzadegan, A., Mahoonak, S. A. R., & Rostamzad H. (2012). Study on some properties of acid-soluble collagens isolated from fish skin and bones of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *International Food Research Journal*, 19(1), 251–257.
- Tang, S., Chen, W., Su, W., Weng, K., & Osako, T. (2015). Physico chemical properties and film-forming ability of fish skin collagen extracted from different fresh water species. *Process Biochem*. 50(1).148–155.
- Trilaksani, W., Adnyane, I. K. M., Riyanto, B., & Safitri, N. (2020, 5-6 Agustus). Nano collagen of the grouper swim bladder in compliance with quality standard of cosmetics materials. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, Volume 404, The 4th EMBRIO International Symposium and the 7th International Symposium of East Asia Fisheries and Technologists Association 5–6 August 2019, Bogor, Indonesia.
- Utami R. (2021). Kolagen gelembung renang ikan manyung (*Arius thalassinus*) sebagai sediaan serum wajah. [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Walters, B. D., & Stegemann, J. P. (2014). Strategies for directing the structure and function of three-dimensional collagen

- biomaterials across length scales. *Acta Biomaterialia*, 10(4), 1488–1501. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.08.038>
- Yan, M., Li, B., Zhao, X., Ren, G., Zhuang, Y., Hou, H., Zhang, X., Chen, L., & Fan, Y. (2008). Characterization of acid-soluble collagen from the skin of walleye pollock (*Theragra chalcogramma*). *Food Chemistry*, 107(4), 1581–1586. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.027>
- Zhao, W. H., Chi, C. F., Zhao, Y. Q., & Wang, B. (2018). Preparation, physicochemical and antioxidant properties of acid and pepsin-soluble collagens from the swim bladders of miiuy croaker (*Miichthys miiuy*). *Marine Drugs*, 16(5). <https://doi.org/10.3390/md16050161>