

KOMUNIKASI RINGKAS

EKSTRAKSI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN LARUT ASAM DARI KULIT IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)

*Extraction and Characterization of Acid-Soluble Collagen from Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fish Skin*

Nurhayati^{1*}, Tazwir¹, dan Murniyati¹

¹ Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, KKP, Jl. K.S. Tubun Petamburan VI, Jakarta Pusat 10260

* Korespondensi Penulis: n_hay04@yahoo.com

Diterima: 5 November 2012, Disetujui: 29 Mei 2013

ABSTRAK

Kulit ikan nila dapat diolah menjadi kolagen yang dapat meningkatkan nilai tambah kulit ikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi asam terhadap karakteristik kolagen yang dihasilkan. Ekstraksi kolagen dilakukan melalui perendaman dalam asam asetat dengan dua variasi konsentrasi yaitu 0,5 dan 1,5 M. Parameter yang diamati yaitu gugus fungsi, komposisi asam amino, suhu denaturasi, dan kemampuan mengembang kolagen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan asam asetat 0,5 M memiliki komposisi asam amino dan suhu denaturasi yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan asam asetat 1,5 M. Namun demikian, kolagen pada perlakuan asam asetat 1,5 M ternyata memiliki kemampuan mengembang lebih cepat (15 menit) dibandingkan perlakuan asam asetat 0,5 M (60 menit). Sementara itu, spektra FTIR menunjukkan kolagen yang diperoleh dari kedua perlakuan memiliki karakteristik yang sama. Berdasarkan karakteristik kolagen yang diperoleh dengan dua perlakuan ekstraksi, perlakuan asam asetat 0,5 M menunjukkan hasil yang lebih baik dibanding 1,5 M.

KATA KUNCI: kulit ikan nila, kolagen, ekstraksi, karakterisasi

ABSTRACT

Fish skin of nile tilapia can be improved its added value by processing to be collagen. This research aims to know the effect of different acid concentration on collagen characteristics produced. Collagen extraction was conducted by soaking in acetic acid with two concentration of 0.5 and 1.5 M. Parameters observed were functional groups, amino acid composition, denaturation temperatures, and swelling. The results showed that the treatment of 0.5 M acetic acid had amino acid compositions and denaturation temperatures higher than that of 1.5 M acetic acid. However, collagen with 1.5 M acetic acid had faster swelling (15 minutes) compared to 0.5 M acetic acid (60 minutes). Meanwhile, the FTIR spectra showed that collagen obtained from both treatments had the same characteristics. Based on the collagen characteristics produced 0.5 M acetic acid was better than 1.5 M for collagen extraction.

KEYWORDS: fish skin of nile tilapia, collagen, extraction, characterization

PENDAHULUAN

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu produk perikanan budidaya yang mengalami kenaikan volume produksi setiap tahunnya dengan kenaikan rata-rata sebesar 24,76% dari tahun 2007–2011 (KKP, 2011). Ikan nila kini banyak diolah menjadi filet ikan yang merupakan bahan baku industri pengolahan produk perikanan. Pengolahan filet ikan

nila menghasilkan hasil samping berupa kulit ikan dengan rendemen sebesar 8,7% dari berat total ikan (Peranginangin *et al.*, 2006). Dengan nilai rendemen tersebut, produksi ikan nila pada tahun 2011 sebesar 481.440 ton diperkirakan akan menghasilkan 41.885 ton kulit ikan nila. Pada umumnya kulit ikan nila ini diekspor ke beberapa negara ataupun dipasarkan lokal sebagai kerupuk kulit. Beberapa pemanfaatan kulit ikan nila diantaranya sebagai kulit tersamak untuk

bahan kerajinan seperti sepatu, sandal, dan dompet (Murniyati *et al.*, 2012), pembuatan gelatin sebagai bahan pangan dan farmasi (Peranginangin, 2007). Lebih dari itu, kulit ikan nila juga dapat diolah menjadi kolagen yang dapat meningkatkan nilai tambah kulit ikan.

Pada umumnya, kolagen berasal dari bahan baku tulang dan kulit mamalia seperti sapi dan babi (Santos *et al.*, 2013). Bahan baku dari babi tidak dibenarkan bagi pemeluk Agama Islam dan Yahudi, sementara penggunaan tulang dan kulit sapi menjadi persoalan tersendiri bagi pemeluk Agama Hindu serta menimbulkan kekhawatiran karena adanya isu penyakit sapi gila atau *mad cow disease* (Jongjareonrak *et al.*, 2005; Kasankala *et al.*, 2007). Oleh sebab itu, pengolahan kolagen dari kulit ikan sangatlah berguna untuk mengatasi permasalahan tersebut (Kittiphattanabawon *et al.*, 2005).

Kolagen merupakan komponen struktural utama jaringan ikat putih (*white connective tissue*) yang meliputi hampir 30% total protein pada tubuh. Hingga kini terdapat sekitar 25 tipe kolagen yang telah diidentifikasi, yaitu tipe I sampai XXV (Olsen *et al.*, 2003). Tipe kolagen yang teridentifikasi pada ikan hanya tipe I dan V. Kolagen tipe I terdapat pada kulit, tulang, dan sisik ikan (Nagai & Suzuki, 2000), sementara kolagen tipe V terdapat pada jaringan ikat dalam kulit, tendon dan otot ikan yang juga mengandung kolagen tipe I (Sato *et al.*, 1989). Kolagen dapat diaplikasikan pada industri makanan, kosmetik, biomedis dan industri farmasi. Pada kosmetik, kolagen digunakan untuk mengurangi keriput pada wajah atau dapat disuntikkan ke dalam kulit untuk menggantikan jaringan kulit yang telah hilang. Pada biomedis, kolagen digunakan sebagai *sponges* untuk luka bakar, benang bedah, agen hemostatik, penggantian atau substitusi pada pembuluh darah dan katup jantung tiruan. Pada industri farmasi kolagen digunakan sebagai *drug carrier* yaitu : *mini-pellet* dan tablet untuk penghantaran protein, formulasi gel pada kombinasi dengan liposom untuk sistem penghantaran terkontrol, bahan pengontrol untuk penghantaran transdermal, dan nanopartikel untuk penghantaran gen (Lee *et al.*, 2001).

Beberapa penelitian kolagen hasil samping olahan ikan telah banyak dilakukan. Kulit ikan dilaporkan mengandung kolagen dengan nilai rendemen yang bervariasi antara 11–63% tergantung dari jenis ikan, bahan pengekstrak, dan teknik ekstraksi kolagen (Nagai & Suzuki, 2000). Di Indonesia, terdapat beberapa penelitian mengenai kolagen dari ikan, diantaranya Ali *et al.* (2011) yang telah melakukan ekstraksi kolagen dari sisik ikan kakap merah, dan Peranginangin *et al.* (2008) yang juga telah melakukan ekstraksi kolagen dari kulit ikan kerapu. Sementara

itu, pada penelitian ini digunakan kulit ikan nila sebagai bahan baku kolagen dengan perlakuan perbedaan konsentrasi asam pada tahap ekstraksinya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi asam yang berbeda terhadap karakteristik kolagen yang dihasilkan.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan utama penelitian ini adalah hasil samping perikanan berupa kulit ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diperoleh dari daerah Semarang, Jawa Tengah. Kulit ikan selanjutnya dibawa ke Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan dengan cara menempatkannya dalam *coolbox* dan diberi serpihan es. Kulit ikan dicuci dengan air dingin (5°C) selama 10 menit, kemudian dipotong-potong ukuran 2–5 cm dengan menggunakan gunting. Kulit yang telah bersih disimpan dalam *cold storage* sampai tahap ekstraksi dilakukan. Penghilangan protein non kolagen dilakukan dengan perendaman kulit dalam larutan 0,8 M NaCl 1:5 (b/v) selama 3 hari, diikuti pencucian dengan air mengalir.

Metode

Ekstraksi kolagen

Ekstraksi kolagen dilakukan dengan perendaman dalam asam asetat mengacu pada Muyonga *et al.* (2004^a) yang dimodifikasi. Kolagen diekstrak menggunakan asam asetat dengan konsentrasi 0,5 dan 1,5 M (1:10 b/v) pada suhu 4°C selama 3 hari disertai dengan pengadukan secara berkala. Ekstraksi diulang dengan pereaksi dan kondisi yang sama, kemudian filtrat yang diperoleh disentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm selama 30 menit. Presipitasi kolagen dilakukan dengan penambahan NaCl ke dalam supernatan hingga konsentrasi 0,9 M, lalu disentrifus kembali. Pemurnian kolagen dilakukan melalui pelarutan kembali dengan asam asetat lalu dipresipitasi kembali seperti diatas. Kolagen basah dikeringkan dengan *freeze drier* sehingga diperoleh kolagen kering. Penelitian dilakukan dengan 3 kali ulangan.

Fourier Transform Infra-Red

Karakterisasi gugus fungsi kolagen dilakukan menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infra-Red*) Perkin Elmer Spectrum One. Gugus-gugus fungsi yang diperlihatkan pada spektrum kolagen digunakan untuk menentukan pola ikatan silang (*cross-linking*)

yang terjadi sehingga perubahan pada struktur sekunder kolagen dapat dipelajari (Muyonga *et al.*, 2004^b). Sebanyak 2 mg Kolagen dan 200 mg KBr digerus hingga homogen dan diletakkan pada alat pencetak disk, kemudian divakum untuk menghilangkan udara pada disk. Disk yang telah dicetak dimasukkan kedalam alat FTIR kemudian diukur pada panjang gelombang 400 cm⁻¹ sampai 4.000 cm⁻¹, kemudian spektrum IR akan muncul.

Analisis Asam Amino

Karakterisasi jenis asam amino dilakukan untuk mengetahui jenis asam amino yang terdapat pada kolagen (Dunn, 2006). Instrumentasi yang digunakan yaitu HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) Waters 1525 dengan kolom Waters Bondapak NH₂ 3,9 mm x 300 mm dan fasa gerak yaitu asetonitril : air (60:40). Standar asam amino yang digunakan pada analisis ini terdiri dari 15 jenis asam amino. Sejumlah 100 mg sampel kolagen ditimbang dan dimasukkan ke dalam tabung ulir dan ditambahkan 10 ml HCl 6 N. Sampel dialiri gas N₂ lalu dimasukkan ke dalam oven 110°C selama 22 jam lalu diangkat, disaring, dan diencerkan dalam labu takar 50 ml. Ambil 5 ml larutan sampel pada labu dan diuapkan 50°C selama 15 menit, dan diencerkan dalam labu 25 ml. Selanjutnya dilakukan derivatisasi, yaitu sampel sebanyak 10 µl ditambahkan 70 µl AccQ-Fluor Borate Buffer dan 20 µl AccQ Fluor, vortex, biarkan ± 1 menit pada suhu kamar, lalu di masukkan dalam oven 55°C selama 10 menit.

Suhu Denaturasi

Penentuan suhu denaturasi kolagen dilakukan sesuai metode Kittiphattanabawon *et al.* (2005) dengan sedikit modifikasi. Pengukuran dilakukan dengan viskometer Brookfield LVF 88883 menggunakan spindel (No. 1) pada kecepatan 60 rpm.

kurva suhu denaturasi diperoleh dengan mengukur viskositas larutan pada beberapa temperatur dari 25°C sampai 45°C. Temperatur dinaikkan secara bertahap. Temperatur denaturasi ditentukan sebagai temperatur dimana nilai viskositas berubah menjadi setengahnya.

$$\text{Fraksi viskositas} = \frac{\text{viskositas yang diukur} - \text{viskositas minimum}}{\text{viskositas maksimum} - \text{viskositas minimum}}$$

Kemampuan Mengembang (Swelling)

Uji kemampuan mengembang dilakukan dengan merendam kolagen kering ke dalam buffer fosfat pH 5,8 (British Standard 757, 1975). Penimbangan dilakukan terhadap kolagen sebelum dan sesudah perendaman pada interval waktu 15 menit. Indeks *swelling* diukur dengan rumus:

$$\text{Indeks Swelling} = \frac{(W2 - W1)}{W1}$$

Keterangan: W1 = Berat kolagen awal
W2 = Berat kolagen setelah direndam dalam buffer

HASIL DAN BAHASAN

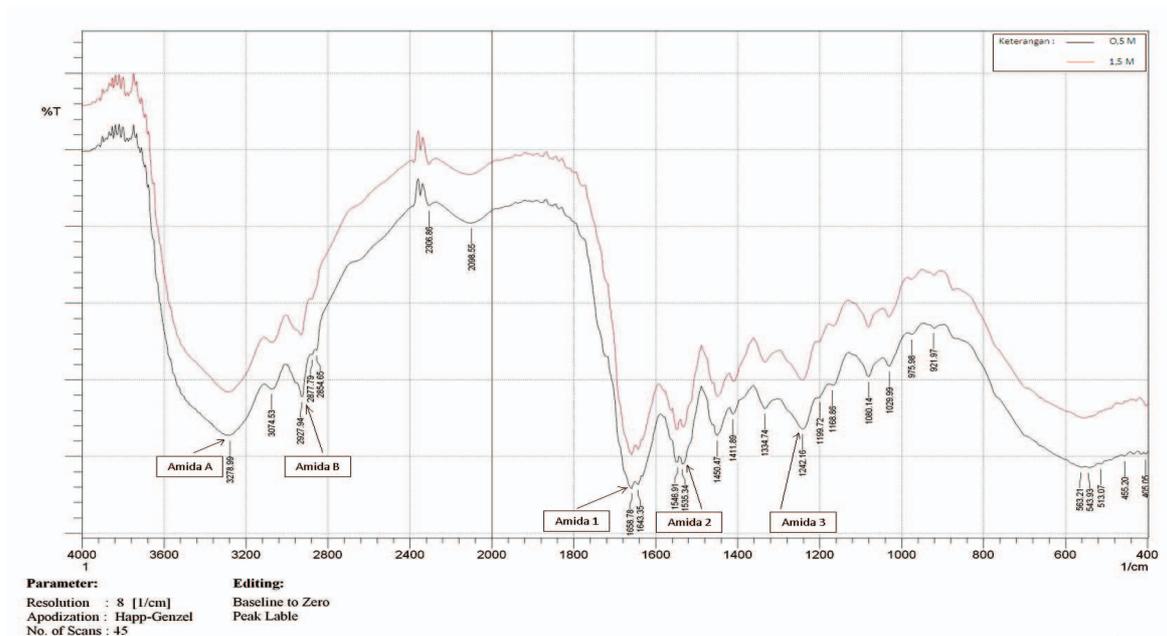
Gugus Fungsi Kolagen

Kolagen kulit nila dianalisis gugus fungsinya untuk melihat pengaruh konsentrasi asam terhadap karakteristik kolagen (Tabel 1). Spektra yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 1.

Berdasarkan spektrum kolagen yang diperoleh, kedua kolagen mempunyai karakteristik spektra yang sama. Tabel 1 menunjukkan bahwa kolagen dari kulit ikan nila memiliki 5 daerah amida, yaitu amida A, B,

Tabel 1. Posisi puncak spektra FTIR kolagen
Table 1. FTIR Spectra of collagen peak position

Daerah/Range	Bilangan gelombang/ Wave Number (cm ⁻¹)		Transmitans/ Transmitans (%)		Gugus Fungsi/ Functional Groups
	0.5 M	1.5 M	0.5 M	1.5 M	
Amida A	3279	3283	59.35	58.42	-NH perenggangan
Amida B	2928	2932	64.38	65.81	-CH ₂ - perenggangan asimetrik
Amida I	1659	1659	52.43	50.23	-C=O perenggangan
Amida II	1535	1532	55.63	53.90	Ikatan -NH
Amida III	1242	1242	60.19	59.97	Ikatan -NH



Gambar 1. Spektum inframerah kolagen kulit ikan nila.
 Figure 1. Infrared spectrum of Nile tilapia skin collagen.

I, II, dan III sama halnya dengan penelitian Liu *et al.* (2007) pada ikan lele. Spektrum kolagen yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 1. Daerah amida A menunjukkan adanya gugus NH serta menunjukkan adanya ikatan hidrogen. Daerah amida B menunjukkan adanya gugus CH. Daerah amida I menunjukkan adanya gugus C=O yang merupakan struktur

sekunder protein (Muyonga *et al.*, 2004^a; Muyonga *et al.*, 2004^b). Daerah amida II menunjukkan adanya ikatan NH dan daerah amida III menunjukkan adanya ikatan N-H yang memperlihatkan adanya struktur heliks (Muyonga *et al.*, 2004^a; Muyonga *et al.*, 2004^b). Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa spektrum infrared mengidentifikasi struktur-

Tabel 2. Komposisi asam amino kolagen kulit ikan nila
 Table 2. Amino acid composition of Nile tilapia skin collagen

Jenis Asam Amino/ Type of Amino Acid	Kandungan/Amount (%w/w)	
	Perlakuan Asam Asetat 0,5 M/ 0.5 M Acetic Acid Treatment	Perlakuan Asam Asetat 1,5 M/ 1.5 M Acetic Acid Treatment
Asam aspartat/ <i>Aspartic acid</i>	1.55	0.77
Asam glutamat/ <i>Glutamic acid</i>	2.77	1.38
Serin/ <i>Serine</i>	0.92	0.47
Histidin/ <i>Histidine</i>	0.24	0.12
Glisin/ <i>Glycine</i>	5.32	2.66
Treonin/ <i>Threonine</i>	0.65	0.32
Arginin/ <i>Arginine</i>	2.46	1.21
Alanin/ <i>Alanine</i>	2.79	1.37
Tirosin/ <i>Tyrosine</i>	0.18	0.08
Metionin/ <i>Methionine</i>	0.40	0.20
Valin/ <i>Valine</i>	0.60	0.30
Fenilalanin/ <i>Phenylalanine</i>	0.51	0.27
I-leusin/ <i>I-leucine</i>	0.42	0.27
Leusin/ <i>Leucine</i>	1.09	0.76
Lisin/ <i>Lysine</i>	0.98	0.87

struktur pada protein kolagen. Struktur sekunder kolagen adalah struktur protein tiga dimensi yang menggambarkan hubungan antar atom yang dipengaruhi ikatan nonkovalen seperti ikatan hidrogen.

Selain gugus fungsi, komposisi asam amino juga menentukan karakteristik kolagen. Kolagen merupakan protein fibrin (protein berbentuk serabut) yang tersusun atas beberapa asam amino. Pada umumnya glisin menjadi asam amino penyusun kolagen terbanyak (Hwang *et al.*, 2005; Kittiphattanabawon *et al.*, 2005; dan Muyonga *et al.*, 2004^a). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian dimana asam amino glisin mempunyai nilai yang dominan baik pada kolagen dengan perlakuan 0,5 M dan 1,5 M yaitu berturut-turut sebesar 5,32 dan 2,66 %w/w dari total asam amino. Tingginya konsentrasi asam asetat yang digunakan saat ekstraksi ternyata berpengaruh terhadap proporsi asam amino. Asam amino pada kolagen dengan perlakuan asam 1,5 M memiliki proporsi yang lebih rendah dibanding 0,5 M. Hal itu terjadi karena penggunaan asam dengan konsentrasi yang lebih tinggi dapat memicu terjadinya substitusi ion negatif pada garam dengan ion positif pada asam lebih cepat, sehingga dapat memutuskan struktur protein.

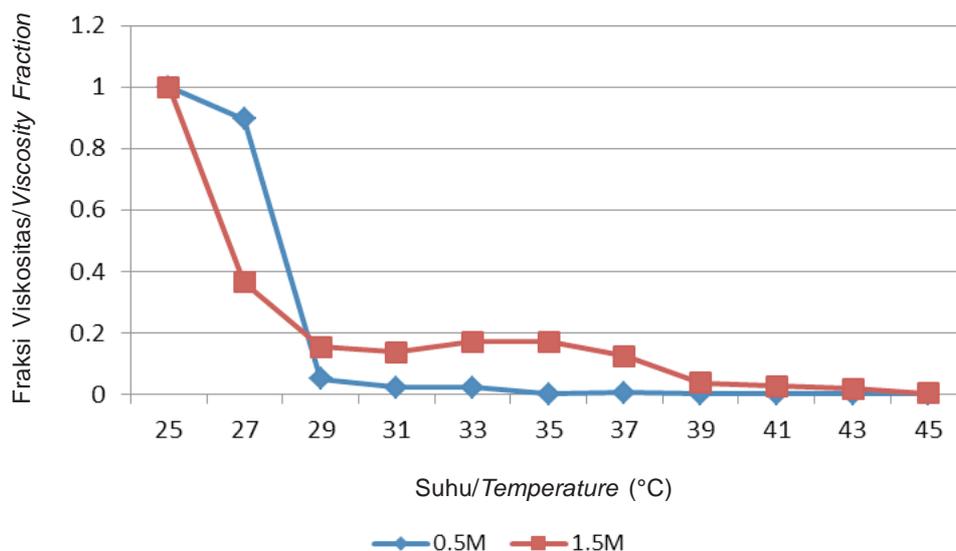
Suhu Denaturasi

Denaturasi adalah hilangnya struktur tersier dan sekunder dari protein dengan penerapan beberapa tekanan eksternal atau senyawa, seperti asam kuat, basa, pelarut organik (alkohol atau kloroform), dan panas.

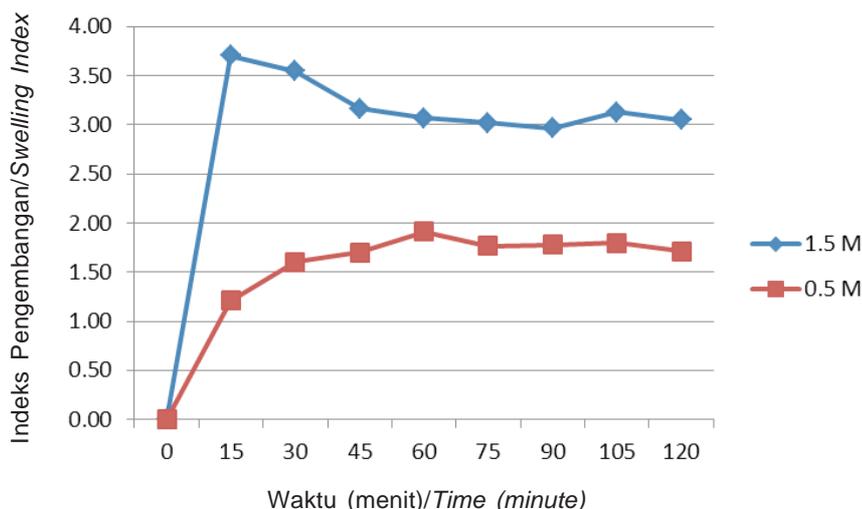
Pada Gambar 2 dapat dilihat bahwa viskositas relatif kolagen terus menurun seiring dengan meningkatnya suhu. Pada perlakuan asam asetat 0,5 M, penurunan viskositas relatif paling signifikan terjadi antara suhu 27–29°C, sedangkan pada perlakuan asam asetat 1,5 M penurunan suhu yang signifikan terjadi antara suhu 25–27°C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kolagen dengan perlakuan asam asetat 0,5 M memiliki suhu denaturasi sebesar 28°C, lebih tinggi bila dengan perlakuan asam asetat 1,5 M sebesar 26°C. Nilai suhu denaturasi ini lebih rendah bila dibandingkan dengan penelitian Muyonga *et al.* (2004^a) pada kulit ikan *nile perch*. Tinggi rendahnya suhu denaturasi kolagen disebabkan dari perbedaan habitat tempat ikan berasal dan tingginya kandungan asam amino kolagen (Kittiphattanabawon *et al.*, 2005; Noitup & Morrissey, 2005). Berdasarkan nilai suhu denaturasi yang diperoleh, pemanfaatan kolagen kulit ikan nila sebaiknya lebih diarahkan untuk sediaan-sediaan farmasi yang dalam pembuatannya tidak memerlukan suhu tinggi, karena dapat menyebabkan kolagen kehilangan sifat fisika, kimia, dan fungsionalnya.

Kemampuan Mengembang

Kemampuan mengembang atau *swelling* adalah suatu peristiwa mengembangnya suatu bahan. Kemampuan suatu bahan untuk mengembang dipengaruhi oleh sifat hidrofilisitas bahan tersebut yang ditentukan oleh gugus-gugus hidrofil pada rantai polimernya. Pada *swelling* test, berat kolagen setelah perendaman dengan buffer fosfat pH 5,8 meningkat



Gambar 2. Suhu denaturasi kolagen pada perlakuan asam asetat.
 Figure 2. Denaturation temperature of collagen in acetic acid treatment.



Gambar 3. Kemampuan pengembangan kolagen.
 Figure 3. The swelling of collagen.

dengan bertambahnya waktu (Gambar 3). Kolagen dengan 0,5 M asam asetat menghasilkan penyerapan air yang signifikan pada menit ke-15, namun penyerapan tertinggi terjadi pada menit ke-60. Hal ini disebabkan pada menit ke-15 gugus hidrofil pada kolagen menyerap air dalam jumlah yang besar. Pada menit selanjutnya penyerapan air masih tetap berlanjut. Proses tersebut disebabkan kolagen dalam kondisi hampir jenuh sehingga penyerapan air pada menit ke-120 tidak optimal. Lain halnya dengan kolagen hasil ekstraksi 1,5 M asam asetat yang menunjukkan penyerapan air tertinggi pada menit ke-15, dan mengalami penurunan pada menit selanjutnya. Hal ini dikarenakan penyerapan air terjadi secara cepat sehingga cepat pula terjadi kejenuhan penyerapan. Kemampuan mengembang kolagen disebabkan karena banyaknya komposisi amino yang bersifat polar dalam kolagen yaitu glisin, serin, treonin, dan tirosin, yang memiliki gugus fungsi polar sehingga dapat membentuk ikatan dengan air (Kittiphattanabawon *et al.*, 2005). Proses *swelling* juga dapat cepat terjadi karena pengaruh permukaan partikel kolagen yang tidak rata. Luas permukaan yang tidak rata dan bergelombang dapat memperluas permukaan kontak dengan air dan memungkinkan terjadinya hidrasi dengan segera. Kolagen dengan perlakuan konsentrasi asam 1,5 M memiliki permukaan yang bergelombang sehingga lebih mudah mengembang.

Pengolahan kulit ikan nila menjadi kolagen merupakan langkah tepat dalam mengatasi lonjakan hasil samping industri pengolahan perikanan sehingga dapat meningkatkan nilai tambah kulit ikan. Kolagen kulit ikan diharapkan dapat mensubstitusi kolagen

sapi dan babi yang banyak digunakan dalam industri makanan, kosmetik, biomedis dan farmasi. Ekstraksi kolagen merupakan tahapan penting dalam memperoleh kolagen dengan karakteristik yang sesuai dengan spesifikasi industri. Tinggi rendahnya konsentrasi asam asetat tidak mempengaruhi gugus fungsi dan jenis asam amino kolagen, namun berpengaruh terhadap proporsi jenis asam amino. Kolagen dengan perlakuan asam 0,5 M memiliki proporsi asam amino yang lebih tinggi dibanding perlakuan 1,5 M. Penggunaan konsentrasi asam yang lebih tinggi ternyata menghasilkan kolagen dengan suhu denaturasi yang lebih rendah, namun mempunyai kemampuan mengembang yang lebih cepat.

KESIMPULAN

Pada perlakuan asam asetat 0,5 M, kolagen memiliki proporsi asam amino dan suhu denaturasi yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan asam asetat 1,5 M, meskipun kemampuan mengembangnya membutuhkan waktu yang lebih lama. Berdasarkan karakteristik kolagen dapat disimpulkan bahwa penggunaan 0,5 M asam asetat pada ekstraksi kolagen memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan 1,5 M asam asetat.

DAFTAR PUSTAKA

Ali, M., Noor, N.M., dan Leksono, Y.S. 2010. Ekstraksi kolagen dari sisik ikan kakap merah (*Lutjanus sp.*). *Prosiding Seminar Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*.
 British Standard 757. 1975. *Sampling and Test of Gelatin*

- Dunn, B. 2006. Quantitative amino acid analysis. In: Colligan, J.E. et al. (eds.). *Current Protocols in Protein*. John Wiley and Sons, New York.
- Hwang, J.H., Mizuta, S., Yokoyama, Y., and Yoshinaka, R. 2005. Purification of molecular species of collagen in the skin of skate (*Raja kenoi*). *Food Chem.* 100: 921–925
- Jongjareonrak, A., Benjakul, S., Visessanguan, W., Nagai, T., and Tanaka, M. 2005. Isolation and characterization of acid and pepsin-solubilised collagens from the skin of Brownstripe red snapper (*Lutjanus vitta*). *Food Chemistry*. (93): 475–484.
- Kasankala, L.M., Xue, Y., Weilong, Y., Hong, S.D., and He, Q. 2007. Optimization of gelatine extraction from grass carp (*Catenopharyngodon idella*) fish skin by response surface methodology. *Bioresource Technology*. 98(17): 3338–3343.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP). 2011. *Kelautan dan Perikanan dalam Angka 2011*. Pusat data statistik dan informasi Sekretariat Jenderal Kementerian Kelautan dan Perikanan, Jakarta.
- Kittiphattanabawon, P., Benjakul, S., Visessanguan, W., Nagai, T., and Tanaka, M. 2005. Characterization of acid-soluble collagen from skin and bone of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). *Food Chemistry*. (221): 363–372.
- Lee, C.H., Singla, A., and Lee, Y. 2001. Review: Biomedical Application of Collagen. *International Journal of Pharmacy*. (221): 1–22
- Liu, H.Y., Li, D., and Guo, S.H. 2007. Studies on collagen from the skin of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Food Chemistry*. (101): 621–625
- Murniyati, Peranginangin, R., Tazwir, Hak, N., Nurhayati, dan Dewi, F.R. 2012. Penelitian pemanfaatan limbah hasil perikanan pada Produk Pangan dan Non Pangan. *Laporan Teknis Penelitian pengolahan Produk*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan.
- Muyonga, J.H., Cole, C.G.B., and Duodu, K.G. 2004^a. Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chemistry*. (85): 81–89.
- Muyonga, J.H., Cole, C.G.B., and Duodu, K.G. 2004^b. Fourier Transform infrared (FTIR) spectroscopic study of acid soluble collagen and gelatin from skins and bones of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chemistry*. (86): 325–332.
- Nagai, T. and Suzuki, N. 2000. Isolation of collagen from fish waste material-skin, bone, and fins. *Food Chemistry*. (68): 277–281.
- Noitup, P., Garnjanagoonchorn, W., and Morrissey, M.T. 2005. Fish skin type I collagen: characteristic comparison of albacore tuna (*Thunnus alalunga*) and silver-line grunt (*Pomadasy kaakan*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*. (14): 17–27.
- Olsen, D., Yang, C., Bodo, M., Chang, R., Leigh, S., and Baez, J. 2003. Recombinant collagen and gelatin for drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*. (55): 1547–1567.
- Peranginangin R., Tazwir, Hak, N., Suryanti, Ayudiarti, D.L., dan Haryanto. 2006. Riset optimasi pemanfaatan limbah perikanan tulang dan kulit ikan. *Laporan Teknis Penelitian pengolahan Produk*. Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan.
- Peranginangin, R. 2007. Teknologi ekstraksi gelatin secara asam dari kulit ikan sebagai bahan pangan dan farmasi. Prosiding Simposium Nasional Hasil Riset Kelautan dan Perikanan. p. 377–392.
- Peranginangin, R., Kusumawati, R., dan Apriantoro, E.W. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Kolagen yang Diekstraksi dari Kulit Ikan Kerapu (*Epinephelus Tauvina*). *Prosiding Seminar Nasional Tahunan V Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan Jurusan Perikanan Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada*.
- Santos, M.H., Silva, R.M., Dumont, V.C., Neves, J.S., Mansur, H.S., and Heneine, L.G.D. 2013. Extraction and characterization of highly purified collagen from bovine pericardium for potential bioengineering applications. *Materials Science and Engineering C*. 33: 790–800.
- Sato, K., Yoshinaka, V., Itoh, Y., and Sato, M. 1989. Molecular species of collagen in the intramuscular connective tissue of fish. *Food Chemistry*. (92): 87–91.

