

**PERBANDINGAN PRODUKSI KOLAGEN DARI SISIK DAN
TULANG IKAN GURAMI (*Osphronemus gouramy*) SECARA
KIMIA DAN ENZIMATIS**

ARTIKEL

*Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Tugas Akhir Sarjana Teknik
Program Studi Teknologi Pangan*

Oleh :
Noorman Adhi Tridhar
113020044



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS TEKNIK
UNIVERSITAS PASUNDAN
BANDUNG
2016**

PERBANDINGAN PRODUKSI KOLAGEN DARI SISIK DAN TULANG IKAN GURAMI (*Osphronemus gouramy*) SECARA KIMIA DAN ENZIMATIS

Noorman Adhi Tridhar

113020044

Program Studi Teknologi Pangan Universitas Pasundan

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan perlakuan yang tepat pada ekstraksi kolagen dari sisik dan tulang ikan gurami, memanfaatkan limbah sisik dan tulang ikan gurami menjadi produk yang mempunyai nilai ekonomis tinggi dan juga untuk mengurangi pencemaran terhadap lingkungan.

Rancangan perlakuan yang dilakukan terdiri dari dua faktor, yaitu faktor ekstraksi menggunakan enzim (A) terdiri dari tiga taraf, yaitu $a_1 = 1\%$, $a_2 = 1,5\%$, dan $a_3 = 2\%$, dan faktor ekstraksi kimia dengan asam asetat (B) terdiri dari tiga taraf, yaitu $b_1 = 0,25\text{ M}$, $b_2 = 0,5\text{M}$, dan $b_3 = 0,75\text{ M}$. Analisis kimia yang dilakukan adalah dengan membandingkan nilai analisis berdasarkan parameter yang ditentukan berturut turut yaitu kadar abu, kadar protein, nilai pH, kadar air serta rendemen.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstraksi enzimatik adalah ekstraksi yang terbaik dibandingkan dengan ekstraksi kimia dengan mengacu kepada standar nasional Indonesia. Parameter yang ditentukan adalah analisis kadar protein, kadar air, nilai pH, dengan nilai masing masing 12,43%, 7,14%, dan nilai pH 6,5, sedangkan rendemen yang terbaik adalah ekstraksi kimia menggunakan asam asetat dengan nilai 4,27 %.

Kata Kunci : Kolagen, Ikan Gurami, Ekstraksi, Enzim Protease, Asam Asetat.

ABSTRACT

The purpose of this study was to get the best treatment on the extraction of collagen from fish scales and bones of carp, utilizing waste scales and bones of carp into a product that has high economic value and also to reduce environmental pollution.

The design of treatment was composed of two factors, namely extraction using enzymes (A) consists of three levels, namely $a_1 = 1\%$, $a_2 = 1.5\%$, and $a_3 = 2\%$, and the factor of chemical extraction with acetic acid (B) consists of three levels, namely $b_1 = 0.25\text{ M}$, $b_2 = 0.5\text{M}$, and $b_3 = 0.75\text{ M}$. the chemical analysis is done by comparing the value of the analysis based on the parameters specified in a row that the ash content, protein content, pH value, moisture content and yield.

The results showed that the enzymatic extraction is the best in comparison with chemical extraction by reference to national standards of Indonesia. The parameters determined is the analysis of protein content, moisture content, pH value, with the value of each 12.43%, 7.14%, and a pH value of 6.5, while the yield is best to use a chemical extraction of acetic acid to the value of 4.27 %.

Keyword : Collagen, Gourami Fish, Extraction, Protease Enzym, Asetat Acid.

Pendahuluan

Industri pengolahan ikan semakin pesat dengan bertambahnya jumlah produksi ikan di Indonesia khususnya perikanan budidaya. Ikan gurami salah satu produk perikanan budidaya yang produksi setiap tahunnya meningkat. Produksi ikan gurami di Indonesia pada tahun 2008 sekitar 36,636 ton, sedangkan pada tahun 2009 meningkat menjadi 46,254 ton. Tahun 2010 produksi ikan meningkat menjadi 56.889 ton dan pada tahun 2011 menjadi 64,652 ton sedangkan tahun 2012 meningkat menjadi 84,681 ton dan tahun 2013 menjadi 94,605 ton. Jumlah konsumsi ikan di Indonesia dari tahun ke tahun semakin meningkat. Pada tahun 2008 jumlah konsumsi ikan per kapita adalah 28,00 dan tahun 2009 adalah 29,08 sedangkan tahun 2010 naik menjadi 30,48. Tahun 2011 konsumsi ikan per kapita adalah 32,25 dan pada tahun 2012 adalah sebesar 33,89. Jumlah konsumsi ikan meningkat menjadi 33,89 kg/kapita/tahun pada tahun 2012. Pada tahun 2013 meningkat menjadi 35,14. Meningkatnya jumlah konsumsi ikan di Indonesia akan berakibat terhadap tingginya jumlah limbah yang dihasilkan, diantaranya yaitu limbah sisik dan tulang dari ikan (Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2013).

Semakin menjamurnya berbagai industri di Indonesia menyebabkan sering terjadinya pencemaran, baik berupa pencemaran air, udara dan tanah. Adanya pencemaran tersebut pada akhirnya yang menjadi korban adalah makhluk hidup dan lingkungan yang berada di sekitar kawasan industri tersebut (Hikamah, 2012)

Kolagen merupakan komponen struktural utama dari jaringan pengikat putih (*white connective tissue*) yang meliputi hampir 30% dari total protein pada jaringan organ tubuh vertebrata dan

invertebrata (Setiawati, 2009). Sebelumnya sumber kolagen menggunakan ekstrak serabut kolagen dari ternak, babi, ayam, mamalia, dan hewan unggas. Namun baru-baru ini, penyakit menular pada sapi serta hewan unggas sering terjadi secara terus-menerus, seperti *Bovine Spongiform Encephalopathy* atau sapi gila, dan flu burung, sehingga keamanan kolagen dari stok hidup dan unggas mengalami masalah keamanan (Herng Wu dan Chai, 2007).

Sisik dan tulang ikan merupakan salah satu sumber alternatif dalam pembuatan kolagen. Penelitian ini lebih difokuskan pada ikan air tawar yaitu gurami. Sisik dan tulang yang digunakan berasal dari ikan gurami karena sisik dari ikan gurami mempunyai jumlah yang lebih banyak pada permukaan badan ikan daripada ikan tawar yang lain. Selain itu sisik dan tulang ikan gurami mempunyai komposisi kimia yang tinggi yaitu protein dibandingkan dengan sisik ikan lainnya. Berdasarkan penelitian Nagai *et al.*, (2004), komponen yang terdapat pada sisik ikan antara lain 70% air, 27% protein, 1% lemak, dan 2% abu. Senyawa organik terdiri dari 40-90% pada sisik ikan dan selebihnya merupakan kolagen. Komposisi pada tulang ikan yaitu kadar air sebesar 7,03 %, kadar abu sebesar 0,93 %, kadar lemak sebesar 1,63 %, dan kadar protein sebesar 84,85 % (Harris, 2008).

Sumber kolagen tinggi terdapat pada sisik ikan berdasarkan bobot kering yaitu pada ikan sarden sebesar 50,9 %, *red sea bream* 37,5 %, dan *Japanese sea bass* 41,0 % (Nagai T, 2004).

Produksi kolagen dalam negeri sendiri sampai saat ini masih belum optimal. Data menyebutkan, bahwa pada tahun 2003 Indonesia masih mengimpor lebih dari 6200 ton kolagen dengan harga per gram mencapai kurang lebih US \$ 1. Kolagen dari sisik ikan merupakan kolagen

derivat dari ikan, dan diekstrak dari sisik ikan maka tidak perlu ada kekhawatiran terhadap penyakit-penyakit mamalia seperti penyakit sapi gila maupun virus flu burung (Hartati, 2010).

Pembuatan kolagen dapat dilakukan melalui proses ekstraksi dan ada dua cara ekstraksi yang dapat dilakukan, yaitu ekstraksi konvensional menggunakan solvent serta ekstraksi enzimatis menggunakan enzim protease (Hartati, 2010).

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode ekstraksi maserasi yaitu salah satu metode ekstraksi dingin. Ekstraksi maserasi dilakukan dengan cara merendam selama beberapa waktu, umumnya 24 jam dengan menggunakan satu atau campuran pelarut. Maserasi bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Secara teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi dilakukan dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan atau kamar (Departemen Kesehatan RI, 2000).

Pada proses ekstraksi enzimatis enzim yang digunakan adalah enzim protease, karena enzim protease adalah enzim yang berfungsi untuk memecah protein dengan cara menghidrolisa ikatan peptida yang menghubungkan asam-asam amino dalam rantai polipeptida. Enzim protease memecah protein dengan cara merusak asam amino yang berada di ujung rantai dan dengan merusak ikatan peptida yang ada di dalam protein (Hartati, 2010). Asam asetat digunakan untuk merubah materi kimia yang ada didalam sisik dan tulang ikan dimana pilinan heliks rantai kolagen akan terurai dari yang berbentuk heliks tiga rantai menjadi rantai yang sederhana (Simanjuntak, 2013).

Menurut Nurhayati (2013), mengenai ekstraksi dan karakterisasi

kolagen larut asam dari kulit ikan nila (*oreochromis niloticus*) menjelaskan bahwa 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

Kerangka Pemikiran

Kolagen merupakan material yang mempunyai kekuatan rentang dan struktur yang berbentuk serat. Protein jenis ini banyak terdapat dalam vertebrata tingkat tinggi. Hampir sepertiga protein didalam tubuh vertebrata berada sebagai kolagen. Kolagen juga merupakan komponen utama dalam serat tulang, gigi, tulang rawan, lapisan kulit dalam, tendon, dan tulang rawan. Kolagen ada dalam semua organ yang menampilkan kekuatan dan kekakuan (Lehninger, 2010).

Ikan dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan gelatin. Hal ini dikarenakan pada bagian tertentu dari ikan, misalnya tulang dan kulit, terdapat kolagen yang dengan penambahan perlakuan asam atau alkali serta proses pemanasan menyebabkan kolagen tersebut dapat dikonversi menjadi gelatin. Kandungan kolagen dari ikan keras (Teleostei) berkisar dari 15-17 %, sedangkan pada ikan bertulang rawan (Elasmobranchi) berkisar antara 22-24 % (Nurilmala, 2004).

Rendemen sisik gurami dengan bobot gurami 1500–2000 gram, berkisar antara 3,0-5,7 %. Sisik gurami mengandung kadar air berkisar 30,0–36,8

%, abu 18,7-26,3 %, lemak 0,1-1,0 %, protein 29,8-40,9 %, karbohidrat *by differences* 2,0-5,7 %, kitin 0,4-3,7 %, kalsium 5,0-8,6 % (Yogaswari, 2009).

Peran dan aktivitas protein dalam proses biologis antara lain sebagai katalis enzimatis, bahwa hampir semua reaksi kimia dalam sistem biologi dikatalis oleh makromolekul yang disebut enzim yang merupakan satu jenis protein. Sebagian reaksi seperti hidrasi karbondioksida bersifat sederhana reaksi lainnya seperti replikasi kromosom (Siddik, 2009). Enzim mempunyai daya katalitik yang besar, umumnya meningkatkan kecepatan reaksi sampai jutaan kali.

Ekstraksi kolagen dilakukan dengan perendaman dalam asam asetat yang dimodifikasi (Muyonga J.H, 2004).

Menurut Nurhayati (2013), dalam penelitiannya mengenai ekstraksi dan karakterisasi kolagen larut asam dari kulit ikan nila (*oreochromis niloticus*) menjelaskan bahwa ekstraksi kolagen yang 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).

Enzim termasuk dalam kategori protein. Cara kerja enzim pun terbilang unik karena hanya mempengaruhi zat tertentu. Misalnya, enzim protease hanya bereaksi terhadap protein dengan mengubahnya menjadi asam amino atau enzim amilase yang hanya bereaksi pada zat tepung dan

mengubahnya menjadi glukosa (Supekta, 2011).

Menurut Witono (2007), ekstraksi *virgin coconut oil* (VCO) secara enzimatis menggunakan protease dari tanaman biduri (*Calotropis gigantea*) dengan variasi konsentrasi 0,00; 0,05; 0,10 and 0,15% dan lamainkubasi 2; 3 dan 4 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa protease biduri efektif digunakan untuk mengekstrak VCO. Semakin tinggi konsentrasi protease biduri, viskositas VCO semakin meningkat. Kualitas VCO yang diproduksi secara enzimatis lebih baik daripada VCO yang diproses secara fermentasi spontan ditinjau berdasarkan parameter bilangan asam dan % FFA (*free fatty acid*).

Ekstraksi enzimatis pada prinsipnya sama dengan ekstraksi konvensional. Penggunaan enzim disini berfungsi untuk mengambil zat yang akan diekstrak, dengan demikian tidak diperlukan lagi pelarut khusus (*solvent*) dalam proses ekstraksi. Pelarut yang biasanya ditambahkan dalam ekstraksi enzimatis adalah air (Hartati, 2010).

Menurut Kasim (2013), tentang penelitian mengenai ekstraksi kolagen tulang rawan ikan pari (*Himantura gerrardi*) dan kulit ikan tuna (*Thunnus sp*) menggunakan variasi jenis larutan asam diketahui bahwa penelitian ini bertujuan untuk menentukan jenis asam yang efektif menghasilkan kolagen. Metode penelitian meliputi perlakuan awal yaitu pembersihan, perendaman masing-masing 3 x 24 jam dalam tiga larutan asam yaitu, asam asetat 0,5 N; asam sitrat 0,5 N dan asam klorida 0,5 N dilanjutkan dengan ekstraksi dan elektroforesis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rendemen kolagen basah yang diperoleh pada masing-masing pelarut pengekstraksi asam asetat, asam sitrat, dan asam klorida sebesar 0,1 % pada ikan pari sedangkan pada ikan tuna 1,2 %, 0,7 % dan 0,2 %.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa semua pelarut asam yang dipakai memiliki efektifitas yang sama pada ikan pari sedangkan pada ikan tuna paling tinggi diperoleh pada penggunaan pelarut asam asetat.

Menurut Imama (2003), dalam penelitiannya mengenai Pengambilan minyak ikan bandeng (*Chanos-chanos*) menggunakan n-heksana dengan bantuan papain menjelaskan bahwa proses penambahan enzim dikontrol oleh pH, kadar enzim, dan temperatur. Papain merupakan enzim yang stabil, tahan terhadap perubahan pH dan suhu yang besar, memiliki pH optimum 5-7 dan suhu optimum 28°C. Menurut Garbawati (2006), mengenai ekstraksi minyak kelapa secara enzimatis menggunakan ekstrak kasar diperoleh kondisi optimum untuk mengekstrak minyak kelapa dari 100 ml santan adalah jumlah enzim 1,20 gram, pH santan 5,9, suhu inkubasi 55°C, dan waktu inkubasi 20 jam, sedangkan menurut Zufahair dan Handayani (2008), dengan penelitiannya mengenai pemanfaatan kulit batang ubi kayu sebagai sumber enzim peroksidase untuk penurunan kadar fenol diketahui bahwa waktu dan kadar papain optimum yang diperoleh dari penelitian ini adalah 60 menit dan 6 mg/g dengan suhu inkubasi 28°C dan pH 4,4. Perbedaan ini terjadi karena aktivitas enzim dipengaruhi oleh konsentrasi substrat, jumlah enzim, pH, waktu kontak, dan suhu (Zufahair dan Handayani, 2008).

Kolagen mengandung kira-kira 3-5% glisin dan kira-kira 11 % alanin. Persentasi asam amino ini agak luar biasa tinggi, tetapi yang lebih menonjol adalah kandungan prolin dan 4-hidroksiprolin yang tinggi, yaitu asam amino yang jarang ditemukan pada protein selain pada kolagen dan elastin. Bersamanya, prolin dan hidroksiprolin mencapai kira-kira 21 persen dari residu asam amino pada kolagen (Siddik, 2009).

Karakterisasi jenis asam amino dilakukan untuk mengetahui jenis asam amino yang terdapat pada kolagen (Dunn, 2006). 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 (Muyonga J.H 2004).

Proses pembuatan kolagen melalui beberapa tahapan dan akan terjadi perubahan sifat fisika dan kimia. Perubahan fisika pada pembuatan kolagen terlihat pada saat kulit direndaman dalam larutan NaOH yang semula tipis menjadi tebal dan warna kulit menjadi bening. Perubahan bentuk kolagen, sebelum dikeringkan kolagen berwujud endapan dan setelah dikeringbekukan dengan *freeze-drier* menjadi padatan juga merupakan perubahan fisika. Perubahan kimia terlihat dari adanya perubahan warna kulit, pembentukan endapan baru, perubahan bau, perubahan pH yang dihasilkan dari proses perendaman kulit dalam larutan kimia (NaOH, CH₃COOH dan NaCl) menghasilkan kolagen yang merupakan hasil reaksi antara bahan yang terkandung dalam kulit dengan larutan kimia (NaOH, CH₃COOH dan NaCl) (Simanjuntak, 2013).

Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka pemikiran yang telah diuraikan di atas, maka hipotesis yang dapat diajukan sebagai berikut :

1. Diduga bahwa konsentrasi enzim protease dan konsentrasi asam asetat berpengaruh terhadap karakteristik serbuk kolagen dari sisik dan tulang ikan gurami.
2. Diduga bahwa ekstraksi kimia dan ekstraksi enzimatis berpengaruh terhadap karakteristik serbuk kolagen dari sisik dan tulang ikan gurami.

Tempat dan Waktu Penelitian

Waktu penelitian ini adalah bulan pada bulan Oktober 2015. Tempat penelitian berada di Laboratorium Penelitian Teknologi Pangan Universitas Pasundan Bandung.

BAHAN, ALAT DAN METODE PENELITIAN

Bahan – Bahan

Bahan baku utama yang digunakan adalah sisik dan tulang dari ikan gurami (*Osphronemus gouramy*). Sisik dan tulang didapatkan dari hasil samping proses *fillet* ikan gurami dengan bobot ikan gurami sekitar 1,5- 2 kilogram. Sisik dan tulang ikan tidak hancur atau masih dalam keadaan utuh dan baik. Bahan baku utama didapatkan dari penangkaran ikan gurami di daerah Munjul Leles Kabupaten Cianjur..

Bahan kimia yang digunakan untuk analisis adalah NaOH , CH₃COOH , NaCl, dan enzim protease didapatkan dari CV. Niaga Inti Yogyakarta yang berasal dari negara Cina.

Alat – alat

Alat-alat yang diperlukan meliputi: pisau, *freezer*, kain kasa 100 *mesh*, spatula, *beaker glass* 1000 dan 500 ml, *aluminium foil*, timbangan analitik, mesin *freeze-dryer* (Eyela Freeze Dryer Sistem).

Metode Penelitian

Pelaksanaan penelitian dalam pembuatan kolagen dari sisik dan tulang ikan gurami adalah sebagai berikut : Penelitian dilakukan dengan dua tahap. Tahap pertama dilakukan untuk menentukan konsentrasi enzim protease dan asam asetat terbaik dan tahap ke dua dilakukan untuk menentukan ekstraksi yang terbaik antara menggunakan enzim dan asam asetat.

Pada penelitian tahap pertama yaitu pembuatan kolagen dari sisik dan

tulang ikan gurami menggunakan ekstraksi enzimatis dan ekstraksi kimia dengan konsentrasi yang beragam. Konsentrasi enzim yang digunakan adalah 1 %, 1,5%, dan 2% berdasarkan berat/volume dan konsentrasi asam asetat adalah 0,25 M, 0,5 M, dan 0,75 M, serbuk kolagen yang dihasilkan dengan percobaan penelitian utama kemudian dilakukan pengujian yang meliputi kadar abu.

Penelitian tahap ke dua dilakukan untuk menentukan kolagen terbaik dengan menggunakan dua cara ekstraksi. Ekstraksi pertama menggunakan ekstraksi enzimatis dengan konsentrasi enzim terbaik pada penelitian pertama dan ekstraksi kedua menggunakan asam asetat dengan konsentrasi terbaik pada penelitian pertama dengan beberapa parameter yaitu kadar protein, nilai pH, kadar air serta rendemen.

Rancangan Perlakuan

Penelitian utama terdiri dari dua faktor, yaitu faktor ekstraksi menggunakan enzim (A) terdiri dari tiga taraf, yaitu a₁= 1%, a₂= 1,5%, dan a₃= 2%, dan faktor ekstraksi kimia dengan asam asetat (B) terdiri dari tiga taraf, yaitu b₁= 0,25 M, b₂= 0,5M, dan b₃= 0,75 M.

Berdasarkan rancangan diatas maka dapat dibuat denah (*Layout*) percobaan

Kelompok Ulangan I

a ₁	a ₂	a ₃	b ₁	b ₂	b ₃
----------------	----------------	----------------	----------------	----------------	----------------

Kelompok Ulangan II

a ₁	a ₂	a ₃	b ₁	b ₂	b ₃
----------------	----------------	----------------	----------------	----------------	----------------

Rancangan Analisis

Rancangan analisis yang dilakukan adalah dengan membandingkan nilai dari parameter yang dilakukan yaitu kadar abu, kadar protein, kadar pH, kadar air serta rendemen yang dihasilkan sehingga akan

didapatkan perlakuan terbaik antara ekstraksi enzimatis dan ekstraksi kimia.

Rancangan Respon

Respon yang akan diuji pada penelitian ini adalah respon kimia, meliputi:

- a. Kadar Abu, pengujian dengan metode gravimetri.
- b. Kadar Protein, pengujian kadar nitrogen menggunakan metode Kjehdal.
- c. Kadar pH, menggunakan pH meter.
- d. Kadar Air, pengujian kadar air menggunakan metode Gravimetri.
- e. Kadar Rendemen

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui perbandingan hasil antara produk kolagen ekstraksi secara enzimatis dan produk kolagen ekstraksi secara kimia dengan konsentrasi yang berbeda. Penelitian dilakukan dua ulangan dengan konsentrasi berbeda. Konsentrasi asam asetat yang digunakan adalah 0,25 M, 0,5 M, dan 0,75 M, sementara konsentrasi enzim protease yang digunakan adalah 1 %, 1,5%, dan 2%, selanjutnya semua di uji kadar abu untuk menentukan konsentrasi terbaik antara ekstraksi kimia dengan ekstraksi enzimatis. Setelah di dapatkan konsentrasi terbaik antara dua perlakuan tersebut maka selanjutnya konsentrasi terbaik itu akan dilakukan analisis kadar air, nilai pH, kadar protein dan rendemen, hasil tersebut dijadikan sebagai perbandingan hasil antara dua ekstraksi mana yang lebih baik dan mengacu kepada standarisasi nasional Indonesia.

Analisis Kadar Abu

Abu adalah zat anorganik sisa hasil pembakaran suatu bahan organik. Kadar

abu merupakan campuran dari komponen anorganik atau mineral yang terdapat pada suatu bahan pangan. Bahan pangan terdiri dari 96% bahan anorganik dan air, sedangkan sisanya merupakan unsur-unsur mineral. Kadar abu tersebut dapat menunjukkan total mineral dalam suatu bahan pangan. Bahan-bahan organik dalam proses pembakaran akan terbakar tetapi komponen anorganiknya tidak, karena itulah disebut sebagai kadar abu. Produk perikanan memiliki kadar abu yang berbeda-beda (Winarno, 1992).

Hasil analisis kadar abu terhadap sampel kolagen kering diketahui bahwa nilai rata rata untuk konsentrasi asam asetat 0,25 M, 0,50 M, dan 0,75 M adalah 0,928 %, 0,871 5 dan 0,763 %, sedangkan untuk konsentrasi enzim protease 1%, 1,5%, dan 2% adalah 0,830 %, 0,960 %, dan 0,819 %. sehingga berdasarkan hasil analisis kadar abu tersebut diketahui bahwa kolagen kering dengan konsentrasi asam asetat 0,75 M merupakan sampel yang memiliki nilai rata rata terendah yaitu 0,763 % dan kolagen dengan konsentrasi enzim protease 2% merupakan sampel yang memiliki nilai rata rata terendah untuk kadar abu yaitu 0,819 %. sehingga konsentrasi asam asetat 0,75 M dan konsentrasi enzim protease 2 % digunakan untuk analisis selanjutnya hasil tersebut mengacu terhadap standarisasi nasional Indonesia tentang kadar abu yaitu maksimal 1 %.

Kadar abu yang dihasilkan dari konsentrasi tertinggi mempunyai nilai abu yang terendah, dikarenakan pada saat ekstraksi enzimatis dan ekstraksi kimia konsentrasi tertinggi tersebut banyak mengekstrak protein sehingga yang paling banyak terekstrak adalah kadar protein, sedangkan kadar abu yang ada didalam bahan pangan tersebut tidak ikut masuk kedalam produk kolagen (Purnomo, 1991).

Kadar abu yang didapatkan dapat menunjukkan total mineral dalam suatu bahan pangan, apabila dalam suatu bahan

pangan memiliki total mineral yang tinggi maka kualitas bahan pangan tersebut tidak baik, dan sebaliknya apabila memiliki nilai kadar abu yang sedikit maka bahan pangan tersebut aman untuk digunakan. Semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka nilai kadar abu akan semakin kecil, karena konsentrasi tersebut berpengaruh terhadap kadar abu.

Kadar abu akan ada di dalam kolagen kering, dikarenakan dalam kolagen kering mengandung beberapa mineral yaitu kalsium fosfat, kalsium karbonat, dan magnesium fosfat. Mineral tersebut ikut larut bersama kolagen pada saat ekstraksi, sehingga kolagen kering juga mengandung mineral yang akan menyebabkan peningkatan rendemen (Purnomo, 1991).

Abu dan mineral dalam bahan pangan umumnya berasal dari bahan pangan itu sendiri, tetapi ada beberapa mineral yang ditambahkan ke dalam bahan pangan, secara disengaja maupun tidak disengaja. Kadar abu suatu bahan ditetapkan pula secara gravimetri. Analisis gravimetri merupakan bagian analisis kuantitatif untuk menentukan jumlah zat berdasarkan pada penimbangan dari hasil reaksi setelah bahan/analit yang dihasilkan diperlakukan terhadap pereaksi tertentu (Puspitasari, 1991).

Kadar abu berhubungan dengan mineral suatu bahan. Mineral yang terdapat dalam suatu bahan dapat merupakan dua macam garam yaitu garam organik dan anorganik. Garam organik diantaranya adalah asam malat, aksalat, asetat, pektat sedangkan anorganik antara lain dalam bentuk garam posfat, karbonat, sulfat, nitrat (Sudarmadji, 2010). Menurut Togatorof (2015), faktor paparan pada suhu yang tinggi menyebabkan kandungan mineral dalam bahan pangan akan berkurang.

Kolagen kering yang dihasilkan mengandung mineral karena sebelum proses pengeringan tidak dilakukan pemisahan mineral, mineral yang terkandung di dalam kolagen ketika diabukan tidak akan hilang tetapi ikut menjadi abu sehingga akan menyumbang kadar abu (Astawan dan Aviana, 2002).

Analisis Kadar Air

Air merupakan salah satu unsur yang penting didalam makanan. Kadar air merupakan komponen yang sangat penting dalam bahan pangan karena dapat mempengaruhi penampakan, tekstur, dan cita rasa. Semakin tinggi kadar air dalam bahan pangan maka tekstur bahan semakin lembek, dan juga sebaliknya jika kadar air dalam bahan pangan sedikit maka akan semakin keras (Winarno, 2004).

Kadar air didalam kolagen akan berpengaruh terhadap daya simpan, karena kadar air erat kaitannya dengan aktivitas metabolisme yang terjadi selama kolagen tersebut disimpan seperti aktivitas enzim, aktivitas mikroba dan aktivitas kimiawi, yaitu terjadinya ketengikan dan reaksi-reaksi non enzimatis sehingga menimbulkan perubahan sifat-sifat organoleptik dan nilai mutunya. Semakin tinggi kadar air didalam kolagen maka daya umur simpan kolagen akan sebentar, namun sebaliknya apabila kadar air rendah maka umur simpan kolagen akan semakin lama.

Hasil analisis kadar air dapat diketahui bahwa kolagen dengan ekstraksi enzimatis memiliki nilai terbaik untuk pengujian kadar air yaitu 7,14 % sedangkan kadar air dengan ekstraksi kimia sebesar 9,09% dimana nilai SNI kadar air untuk kolagen kering adalah maksimum sebesar 12 % sehingga ekstraksi enzimatis lebih baik daripada ekstraksi kimia.

Kadar air didalam kolagen kering menurut standar nasional Indonesia adalah maksimum sebesar 12 % sedangkan

produk kolagen yang diperoleh kurang dari 12% kadar airnya, dimana kadar air yang paling kecil adalah kolagen terpilih, pemilihan kadar air yang paling kecil karena kolagen berbentuk serbuk dan serbuk harus memiliki kadar air yang paling rendah.

Menurut Ulfah (2011), menyatakan bahwa perendaman ceker ayam dalam larutan asam asetat konsentrasi tinggi menghasilkan kolagen dengan kadar air tertinggi, sedangkan menurut Astawan dan Aviana (2002), enzim dapat menurunkan kadar air dari kolagen, disebabkan oleh struktur kolagen yang semakin terbuka dengan adanya ikatan yang lemah akibatnya menghasilkan gelatin dengan struktur yang lemah, sehingga daya ikat air pada gelatin juga kurang kuat. Daya ikat air yang lemah pada gelatin akan membuat air mudah menguap pada saat pengeringan sehingga kadar air gelatin kering lebih rendah, sehingga nilai kadar air ekstraksi enzimatis dengan nilai ekstraksi kimia akan berbeda.

Analisis kadar air dilakukan untuk mengetahui kandungan air pada kolagen kering dimana kandungan air didalam kolagen akan berpengaruh terhadap umur simpan kolagen tersebut, dimana pengeringan adalah mengeluarkan kandungan air didalam suatu bahan pangan dan man dari aktifitas mikrobiologis (Wirakartakusumah, 1992).

Produk kolagen tersebut dikeringkan dengan proses pengeringan beku. Pengeringan beku dilakukan untuk menjaga kandungan yang ada di dalam kolagen, terutama kandungan proteinnya. Kolagen basah apabila dilakukan pengeringan panas maka protein yang terkandung di dalam kolagen akan mengalami kerusakan. Keuntungan pengeringan beku adalah tidak menyebabkan permukaan yang keriput, lebih porus, warna normal, mutu flavor dan nilai gizi lebih dapat dipertahankan.

Kadar air gelatin akan berpengaruh terhadap daya simpan, karena erat kaitannya dengan aktivitas metabolisme yang terjadi selama gelatin tersebut disimpan seperti aktivitas enzim, aktivitas mikroba dan aktivitas kimiawi, yaitu terjadinya ketengikan dan reaksi-reaksi non enzimatis sehingga menimbulkan perubahan sifat-sifat organoleptik dan nilai mutunya (Ulfah, 2011).

Kadar Protein

Protein adalah polipeptida yang memiliki berat molekul lebih dari 5.000 makromolekul ini berbeda beda sifat fisiknya mulai dari enzim yang larut dalam air sampai keratin yang tak larut seperti rambut dan tanduk. Protein memiliki beberapa fungsi biologis diantaranya katalis enzim, transport dan penyimpanan, fungsi mekanik, pergerakan, pelindung, dan proses informasi (Ngili, 2013).

Kolagen merupakan komponen struktural utama jaringan ikat putih yang meliputi hampir 30 % total protein pada tubuh. Protein ini mempunyai struktur tripel helix terdiri dari 25 % glisin dan 25 % prolin (Nagai dan Suzuki, 2000).

Hasil analisis kadar protein kolagen dapat diketahui bahwa kolagen dengan ekstraksi enzimatis memiliki nilai terbaik untuk pengujian kadar protein yaitu sebesar 12,43 %, sedangkan nilai kadar protein menggunakan kimia adalah sebesar 10,27 %, dimana SNI kolagen kering untuk nilai kadar protein adalah sebesar 12-14 %.

Hasil penelitian diketahui bahwa ekstraksi enzimatis lebih tinggi kadar proteinnya dibandingkan dengan ekstraksi kimia, hal ini disebabkan karena enzim yang digunakan adalah enzim protease yaitu enzim yang berfungsi untuk memecah suatu protein dengan cara memutus ikatan peptida. Enzim protease berfungsi memecah protein dengan cara merusak asam amino yang berada diujung

rantai dengan asam amino yang ada didalam protein (Hartati, 2010).

Menurut Sahubawa (2008), enzim memiliki aktivitas tinggi dan karakteristik khusus dalam pemotongan atau penguraian secara sempurna asam amino pembentuk rantai peptide protein kolagen.

Sedangkan menurut Chamidah dan Elita (2002), protein kolagen pada ekstraksi asam asetat akan lebih sedikit disebabkan karena asam asetat akan menghidrolisis ikatan peptida lebih kuat sehingga akan terjadi kehilangan protein pada saat pencucian bahan baku. Perendaman dalam larutan asam asetat menyebabkan protein struktural terutama kolagen akan mengalami pengembangan (*swelling*) sehingga struktur koil terbuka. Konsentrasi larutan asam asetat yang tinggi menyebabkan terjadinya pemutusan ikatan hidrogen dan pembukaan struktur koil kolagen secara berlebih sehingga sebagian asam amino terekstrak dan terlepas dari kolagen dan terbawa ke air cucian, akibatnya kadar protein kolagen yang diperoleh lebih rendah.

Konsentrasi larutan asam asetat yang lebih tinggi dapat menyebabkan penurunan kadar protein, konsentrasi asam yang tinggi disebabkan karena asam asetat akan menghidrolisis ikatan peptida lebih kuat sehingga akan terjadi kehilangan protein (Ulfah,2011).

Menurut Poedjiadi (2005), enzim digunakan sebagai katalis untuk proses biokimia yang terjadi didalam sel maupun diluar sel, suatu enzim dapat mempercepat reaksi lebih cepat daripada reaksi tersebut tanpa menggunakan katalis. Enzim mempunyai kekhasan terhadap substrat tertentu,enzim akan bekerja terhadap substrat yang pas dengan enzim tersebut. Enzim yang bekerja untuk pemecahan molekul protein dengan cara hidrolisis disebut dengan peoteolitik atau enzim protease, jadi enzim protease akan bekerja lebih cepat untuk menguraikan

protein.Sedangkan asam setat digunakan untuk merubah materi kimia dari pilinan heliks rantai kolagen akan terurai dari heliks segitiga menjadi rantai sederhana (Simanjuntak, 2013).

Menurut Lehninger (1982), bahwa protein akan rusak terdenaturasi tidak hanya oleh panas, tetapi oleh pengaruh pH, yaitu terjadi perubahan struktur utama rantai peptida pada protein. Jika protein terdenaturasi susunan ikatan rantai polipeptida terganggu dan molekul protein terbuka menjadi struktur acak dan selanjutnya terkoagulasi, sehingga jumlah kolagen yang terekstraksi lebih rendah (Rusli, 2004).

Analisis Nilai Ph

Hasil analisis nilai pH dapat diketahui bahwa kolagen dengan ekstraksi enzimatis memiliki nilai terbaik untuk pengujian nilai pH yaitu 6,5 dimana SNI kolagen kering untuk nilai nilai pH adalah sebesar 6,5-8.

Hasil penelitian antara ekstraksi enzimatis dan ekstraksi kimia berbeda karena pada proses pembuatan kolagen itu sendiri perlakuannya berbeda antara ekstraksi kimia dengan ekstraksi enzimatis. Derajat keasaman digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman atau kebasaaan yang dimiliki oleh suatu larutan. Nilai pH berkisar dari 0 sampai dengan 14. Suatu larutan netral apabila memiliki nilai pH 7. Nilai pH lebih dari 7 menunjukkan derajat kebasaaan dan nilai dibawah 7 menunjukkan derajat keasama (Yunia, 2007).

Menurut Poedjiadi (2005), seperti pada protein pada umumnya, struktur enzim tergantung pada pH lingkungannya. Enzim dapat berbentuk ion positif , ion negatif, dan ion bermuatan ganda dapat disimpulkan bahwa pHberpengaruh terhadap efektivitas bagian ektif enzim dalam membentuk kompleks enzim substrat. pH rendah ataupun tinggi akan

menyebabkan menurunnya aktifitas enzim dan pH optimum adalah pH yang bekerja secara maksimum pada substrat dan enzim tertentu.

Menurut Ulfah (2011), konsentrasi larutan asam asetat berpengaruh terhadap pH gelatin ceker ayam, semakin tinggi konsentrasi larutan asam asetat maka pH gelatin menjadi lebih rendah. pH gelatin semakin rendah apabila konsentrasi larutan asam asetat tinggi disebabkan karena asam asetat lebih banyak terdifusi dalam jaringan ceker ayam, sehingga pada proses pencucian, asam yang tertinggal pada ceker ayam lebih banyak dibandingkan dengan konsentrasi yang rendah. Nilai pH sangat dipengaruhi oleh jenis larutan perendam dan konsentrasinya (Tourtellote, 1980).

Setiap enzim membutuhkan pH optimum agar bisa berfungsi optimal. Pada tingkat pH optimum, enzim mampu mengkatalisis reaksi pada tingkat tercepat dibandingkan pada tingkat pH lainnya. Sebagai contoh, enzim pepsin (enzim protease) yang mengkatalisis protein, diketahui paling aktif pada pH asam. pH akan bekerja secara optimum pada substrat yang sesuai dengan enzimnya (Poedjiadi, 2005).

Analisis Rendemen

Menurut Fahrul (2005), rendemen merupakan salah satu parameter dalam pembuatan kolagen. Efisien dan efektifnya proses ekstraksi bahan baku untuk pembuatan gelatin dapat dilihat dari nilai rendemen yang dihasilkan.

Rendemen gelatin diperoleh dengan perbandingan antara berat gelatin yang dihasilkan dengan berat bahan baku. Semakin besar rendemen yang dihasilkan maka semakin efisien perlakuan yang diterapkan dengan tidak mengesampingkan sifat-sifat lainnya (Fahrul, 2005).

Hasil analisis kadar rendemen dapat diketahui bahwa kolagen dengan ekstraksi kimia menggunakan asam asetat

memiliki nilai terbaik untuk pengujian kadar rendemen yaitu sebesar 4,27 %, sedangkan untuk ekstraksi enzimatis dengan enzim protease sebesar 3,94 %.

Menurut Ulfah (2011), rendemen kolagen tertinggi dihasilkan oleh ceker ayam yang direndam didalam larutan asam asetat, dimana semakin tinggi konsentrasi asam asetat maka struktur kolagen akan lebih terbuka yang berakibat semakin banyak kolagen yang terhidrolisis sehingga akan semakin banyak pula gelatin yang dapat diekstrak.

Menurut Fahrul (2005), penirisan kulit yang tidak sempurna setelah pencucian mengakibatkan kandungan air pada kulit menjadi tinggi sehingga pada saat penimbangan bobot yang dihitung bukan bobot murni kulit. Kandungan air yang tinggi dari bahan dapat mempengaruhi proses perendaman bahan, karena sifat dari air dapat mengencerkan konsentrasi larutan asam yang digunakan sehingga proses perendaman menjadi kurang efektif.

Menurut Zhou dan Joe (2005), konsentrasi asam yang diterapkan dalam proses produksi ekstrak kolagen dapat meningkatkan nilai rendemen. Kecepatan proses hidrolisis yang semakin cepat mampu meningkatkan jumlah molekul serabut kolagen yang terkonversi menjadi produk kolagen sederhana. Sedangkan menurut Naro (2013), proses ekstraksi sampel kulit ikan nila hitam yang menggunakan konsentrasi asam asetat 0,75M menghasilkan persentase rendemen kolagen yang lebih besar (5,96%) artinya makin tinggi konsentrasi larutan asam asetat yang digunakan, makin banyak kolagen yang dihasilkan. Hal ini menunjukkan bahwa faktor konsentrasi larutan asam asetat memberikan pengaruh signifikan terhadap ekstraksi protein kolagen.

Rendemen asam asetat akan lebih banyak daripada enzim protease karena sebelumnya dalam bentuk kolagen basah

berbentuk gel sedangkan kolagen dari enzim berbentuk cairan, hal ini dijelaskan menurut Stainsby (1977), bahwa pembentukan gel gelatin terjadi karena pengembangan molekul gelatin pada waktu pembuatan. Sehingga akan membuka ikatan-ikatan pada molekul gelatin dan cairan yang semula bebas mengalir menjadi terperangkap di dalam struktur tersebut, sehingga terbentuk gel yang kental.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian perbandingan Produksi Kolagen Dari Sisik dan Tulang Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*) Secara Kimia dan enzimatis dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Berdasarkan hasil penelitian diketahui hasil pengujian kadar abu pada konsentrasi asam asetat dan konsentrasi enzimatis diketahui bahwa hasil yang terbaik pada ekstraksi asam asetat adalah 0,75 M sebesar 0,762 % dan ekstraksi enzimatis adalah 2% sebesar 0,819 %.
2. Analisis kadar protein pada ekstraksi dengan asam asetat adalah sebesar 10,27 % dan ekstraksi enzimatis sebesar 12,43 %.
3. Analisis kadar air pada ekstraksi dengan asam asetat adalah sebesar 9,09 % dan pada ekstraksi enzimatis sebesar 7,14 %.
4. Analisis nilai pH pada ekstraksi dengan asam asetat adalah sebesar 6 dan ekstraksi dengan enzimatis sebesar 6,5.
5. Analisis kadar rendemen pada ekstraksi dengan asam asetat adalah sebesar 4,27 % dan ekstraksi dengan enzimatis sebesar 3,94 %.
6. Berdasarkan hasil analisis kadar protein, kadar air, nilai pH, pada produk kolagen kering dapat

disimpulkan bahwa ekstraksi enzimatis lebih baik dibandingkan dengan ekstraksi kimia.

Saran

Berdasarkan hasil evaluasi terhadap penelitian yang telah dilakukan yang dapat diberikan adalah hasil kolagen terbaik yang didapatkan perlu dilakukan pengujian lanjut yaitu pengujian glisin dan prolin.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2015. **Asam Asetat**. http://id.wikipedia.org/wiki/Asam_asetat. Diakses 21 Maret 2015.
- Anonim. 2015. **Ikan Gurami**. <http://id.wikipedia.org/wiki/Gurami>. Diakses 21 Maret 2015.
- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis Of The Association Analytical Chemsist*. Washington D.C.
- AOAC. 2003. *Official Methods of Analysis*. 16th Ed (2 revision) . AOAC International. Garthersburg. MD.USA.
- Astawan, M. dan Aviana A. 2002. **Pengaruh jenis larutan kimia, dan fungsional dari kulit ikan cucut**. Proseding Seminar Nasional PATPI. ISBN: 979-95249-6-2, Malang.
- Bachtiar, Y. 2002. **Pembesaran Ikan Di Kolam Pekarangan**. Agro Media Pustaka Jakarta. Jakarta.
- Baehaki, A. 2008. **Purifikasi dan karakterisasi protease dari bakteri patogen Pseudomonas aeruginosa**. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan. Vol. XIX No. 1: 80-87.

- Chamidah, A. dan Elita. 2002. **Pengaruh pengolahan terhadap kualitas gelatin kulit ikan hiu.**Seminar Nasional PATPI. ISBN : 979-95249-6-2, Malang.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. **Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat.** Jakarta . Diktorat Jendral POM–Depkes RI.
- Dunn, B. 2006. *Quantitative amino acid analysis.* In: Colligan, J.E. et al. (eds.). *Current Protocols in Protein.* John Wiley and Sons. New York.
- Eastoe JE. 1977. *The chemical examination of gelatin.* Di dalam: Ward AG dan Courts A, editor. *The Science And Technology of Gelatin.* New York: Academic Press.
- Fahrul. 2005. **Kajian ekstraksi gelatin dari kulit ikan tuna (*Thunnus alalunga*) dan karakteristiknya sebagai bahan baku industri farmasi.** Thesis. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Garbawati, E.B. 2006. **Ekstraksi Minyak Kelapa secara Enzimatik Menggunakan Ekstrak Kasar.** hal. 1.
- Gaur, S. and Wadhwa, N. 2008. *Alkaline protease from senesced leaves of invasive weed Lantana camara.* African Journal of Biotechnology.
- Hartati, I. 2010. **Kajian Produksi Kolagen Dari Limbah Sisik Ikan Secara Enzimatis.** Teknik Kimia Universitas Wahid Hasyim. Semarang.
- Herng Wu, K., dan Huey-Jine Chai. 2007. *Collagen of Fish Scale and Method of Making Thereof.* Jurnal Ilmiah Internasional. Keelung City.
- Hsiung Pan . 2010. *Purification and Characterization of a Fish Scale-Degrading Enzyme from a Newly Identified *Vogesella* sp.* National Taiwan Ocean University, Keelung, Taiwan, R.O.C.
- Imama , N. 2003. *Pengambilan Minyak Ikan Bandeng (*Chanos-Chanos*) Menggunakan N-Heksana Dengan Bantuan Papain.* Undergraduate thesis, FMIPA. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Kasim, S. 2013. **Ekstraksi Kolagen Tulang Rawan Ikan Pari (*Himantura gerrardi*) dan Kulit Ikan Tuna (*Thunnus sp*) Menggunakan Variasi Jenis Larutan Asam.** Majalah Farmasi dan Farmakologi, Vol. 17, No.2 – Juli 2013. Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Kastaman R dan Kramadibrata AM. 2007. **Sistem Pengelolaan Sampah Terpadu(Silarsatu).** Humaniora. Bandung.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP). 2011. **Kelautan dan Perikanan dalam Angka 2011.** Pusat data statistik dan informasi Sekretariat Jenderal Kementerian Kelautan dan Perikanan, Jakarta.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP). 2013. **Buku Statistik Kelautan dan Perikanan 2013.** Pusat data statistik dan informasi Sekretariat Jenderal Kementerian Kelautan dan Perikanan, Jakarta.
- Kristy, Y. 2014. **Kolagen.** <http://www.sridianti.com/apa-perbedaan-jenis-kolagen.html>. Diakses 3 april 2015.
- Lee, C.H., Singla, A., and Lee, Y. 2001. Review: *Biomedical Application*

- of Collagen. International Journal of Pharmacy.* (221): 1–22.
- Lehninger, Albert.L. 2010. **Dasar-dasar Biokimia (Terjemahan) Jilid 3.** Erlangga. Jakarta.
- Lehninger, Albert L. 1982. *Principles Of Biochemistry.* Worth Publisher. Inc. Sparks. Mayland. Hal 180
- Mahajan, R. T. dan Shamnkant, B.B., 2010. *Biological aspects of proteolytic enzymes.* A Review. India J. Pharm., research, 3(9), 2048-2068.
- Mehrnous. 2011. *Optimization of the Conditions for Extraction of Serine Protease from Kesinai Plant (Streblus asper) Leaves Using Response Surface Methodology.* J. Mol., 2011, 16: 9245-9260.
- Moon, S.H. and S.J., Parulekar, 1993. *Some observation on protease producing in continuous suspension cultures of Bacillus firmus.* Biotechnology and Bioengineering 41,43-45.
- Muyonga, J.H. 2004 . *Characterisation of acid soluble collagen from of young and adult nile perch (Lates niloticus).* Food Chemistry. (85): 81–89.
- Nagai T, Izumi M, Ishii M. 2004. *Preparation and partial characterization of fishscale collagen.* International Journal of Food Science and Technology. 39:239-244.
- Nagai, T. and Suzuki, N. 2000. *Isolation of collagen from fish waste material-skin, bone, and fins.* Food Chemistry. (68): 277–281.
- Naro, AB. 2013. **Ekstraksi dan Karakterisasi Kolagen dari Kulit Ikan Nila Hitam (Oreochromis niloticus).** Skripsi. Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada
- Ngili, Y. 2013. **Protein dan Enzim.** Rekayasa Sains. Bandung.
- Nurhayati. 2013. **Ekstraksi dan Karakterisasi Kolagen Larut Asam dari Kulit Ikan Nila.** Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, KKP. Jakarta.
- Nurilmala M, 2004. **Kajian potensi limbah tulang ikan keras (Teleostei) sebagai sumber gelatin dan analisis karakteristiknya** [tesis]. Bogor: Sekolah Pasca sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- 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.
- Poedjiadi, A. 2005. **Dasar-Dasar Biokimia.** Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Purnomo, E. 1991. **Penyamakan Kulit Kaki Ayam.** Kanisius. Yogyakarta
- Puspitasari. 1991. **Teknik Penelitian Mineral Pangan.** Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Rahardjo, M.F. 1985. *Ichthyologi.* Fakultas Perikanan Departemen Perairan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rosmayanti, M. 2014. **Asam Asetat.** <http://mella.rosmayanti.blogspot.com/2014/> hmtl. Diakses 23 Maret 2015.
- Rotllant J. 2005. *Calcium mobilization from fish scales is mediated by parathyroid hormone related protein via the parathyroid*

- hormone type I receptor. Regulatory Peptides* 132:33-40.
- Rusli, A. 2004. **Kajian proses ekstraksi gelatin dari kulit ikan patin segar.** Thesis. Bogor. Sekolah Pasca sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Safitri, setyorini. 2014. **Cara Menggunakan pH meter digital.**www. academia.edu. diakses 25 maret 2016.
- Sahubawa, L. 2008. **Fungsi dan Peranan Enzim dalam Pengolahan Produk Perikanan dalam Buku Kimiadan Biokimia Hasil Perikanan,** Edisi April 2008. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Jurusan Ilmu Perikanan Fakultas Pertanian UGM.
- Standard Nasional Indonesia. 2014. **Kolagen Kasar dari Sisik Ikan Syarat Mutu dan Pengolahan.** SNI 8076:2014.
- Setiawati, I.H. 2009. **Karakterisasi Mutu Fisika Kimia Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah (*Lutjanus Sp.*) Hasil Proses Perlakuan Asam** [Skripsi]. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan FPIK Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Siddik, A.B. 2009. **Kolagen** . Jurnal Pelangi Ilmu Volume 2. Jakarta.
- Simanjuntak, B. 2013. **Pengolahan Kolagen Kulit Ikan Nila Merah.** Balai Besar Penelitian Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. Jakarta.
- Smith JE. 1995. **Bioteknologi.** Edisi Kedua. Terjemahan A. Hartono dari Biotechnology (1988). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Stainsby. G. 1977. **The gelatin and the sol-gel transformation.**Dalam : Ward, A.G. dan Courts, A. (eds.). **The Scienceand Technology of Gelatin,** hal 109-165. Academic Press, New York.
- Stryer, L. 2000. **Biokimia.** Sadikin et al, penerjemah; Soebianto S, editor.Jakarta: EGC. Terjemahan dari:Biochemistry.
- Sudarmadji, S. 2010. **Analisa Bahan Makanan dan Pertanian.** Liberty Yogyakarta. Yogyakarta.
- Sumarno, Noegrohati S, Narsito dan Falah II. 2002 .**Estimasi Kadar Protein dalam Bahan Pangan Melalui Analisis Nitrogen Total dan Analisis Asam Amino.**Majalah Farmasi Indonesia.
- Supeksa . 2011. **Macam-Macam Enzim.** www.academia.edu/8463521/Macam-Enzim. Diakses 3 April 2015.
- Togatorof, Devi Marista. 2015. **The effect of ratio lemongrass bar juice with ginger juice and concentration of palm sugar powder on the quality of lemongrass fresh drink powder.** Teknologi Pangan Universitas Sumatra Utara. Medan.
- Tourtellote, P. 1980. **Gelatin.** Encyclopedia of Science and Technology. McGraw Hill Book Company, New York.
- Ulfah, M. 2011. **Pengaruh Konsentrasi Larutan Asam Asetat Dan Lama Waktu Perendaman Terhadap Sifat-Sifat Gelatin Ceker Ayam.**Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, INSTIPER, Yogyakarta.

- Winarno, F.G. 2004. **Kimia Pangan dan Gizi**. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Wirakartakususmah. 1992. **Peralatan Dan Unit Proses**. Edisi ke 1. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Witono. 2007. **Ekstraksi Virgin Coconut Oil Secara Enzimatis Menggunakan Protease Dari Tanaman Biduri (Calotropis Gigantea) (Enzymatic Extraction Of Virgin Coconut Oil Using Protease From Biduri Plant(Calotropis Gigantea)**. Jurnal Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Yogaswari . 2009. **Karakteristik Kimia dan Fisika Sisik Ikan Gurami** (skripsi). Fakultas Perikanan dan Kelautan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Yunia. 2007. **Derajat Keasaman**. http://kimia.upi.edu/utama/bahanajar/kuliah_web/2007/Yunia. Diakses 10 Maret 2016.
- Zhou, P and Joe. 2005. *Effect of alkaline and acid pretreatments on alaska pollock skingelatin extraction*. J. Food Sci, (70), 392-396
- Zusfahair dan Handayani. 2008. **Pemanfaatan Kulit Batang Ubi Kayu Sebagai Sumber Enzim Peroksidase Untuk Penurunan Kadar Fenol**. Seminar Nasional Aplikasi Sains dan Teknologi 2008 – IST AKPRIND. Yogyakarta