

# KARAKTERISASI KOLAGEN GELEMBUNG RENANG TUNA SIRIP KUNING (*Thunnus albacares*) DARI PERAIRAN MALUKU MENGGUNAKAN EKSTRAKSI ASAM

(*Collagen Characterization from Swim Bladder of Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*) from Maluku using Acid Extraction*)

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

Balai Riset dan Standardisasi Industri Ambon  
Jl. Kebun Cengkeh Ambon 97128, Indonesia  
e-mail: syarif.idrus@gmail.com

Naskah diterima 4 Juli 2018, revisi akhir 14 Agustus 2018 dan disetujui untuk diterbitkan 17 Agustus 2018

**ABSTRAK.** Gelembung renang merupakan bagian dari limbah hasil samping industri pengolahan ikan yang mengandung protein kolagen tinggi. Salah satu upaya untuk meningkatkan nilai tambah pada gelembung renang adalah dengan mengolahnya menjadi ekstrak kolagen. Gelembung renang yang diteliti berasal dari ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*) sebagai hasil tangkapan dominan di Maluku. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik ekstrak kolagen dari limbah gelembung renang ikan tuna sirip kuning yang meliputi proporsi, komposisi kimia, asam amino dan berat molekul. Gelembung renang diekstraksi menggunakan asam asetat 0,5 M dan 0,75 M. Limbah gelembung renang ikan tuna sirip kuning memiliki proporsi 0,35% dari seluruh bobot ikan dengan kandungan protein 20,27%. Proses ekstraksi asam menghasilkan kolagen yang teridentifikasi sebagai kolagen tipe I dengan berat molekul antara 130-145 kDa. Ekstraksi kolagen dari gelembung renang ikan tuna sirip kuning memberikan hasil terbaik pada ekstraksi menggunakan asam asetat 0,5 M dimana kandungan prolin 456,40 mg/g, glisin 1175,05 mg/g dan alanin 338,66 mg/g.

**Kata kunci:** asam asetat, gelembung renang, ikan tuna sirip kuning, kolagen

**ABSTRACT.** Swim bladders is part of byproduct from fish processing industry that contain high collagen protein. One effort to increase the added value of swim bladders is to process them into collagen extracts. The swim bladders was derived from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) as the dominant catch in Maluku. This research aimed to determine the characteristics of collagen extracts from the waste of swim bladders of yellowfin tuna which included proportion, chemical composition, amino acids and molecular weight. Swim bladders were extracted using 0.5 M and 0.75 M acetic acid. Waste swim bladders of yellowfin tuna has 0.35% of fish weights with 20.27% protein content. The acid extraction yielded collagen that identified as type I collagen with molecular weight between 130-145 kDa. Collagen extraction from swim bladders of yellowfin tuna gave best result using 0.5 M acetic acid which contains 456.40 mg/g proline, glycine 1175.05 mg/g and alanine 338.66 mg/g.

**Keywords:** acetic acid, collagen, swim bladder, yellowfin tuna

## 1. PENDAHULUAN

Limbah perikanan adalah buangan yang dihasilkan dari suatu industri pengolahan ikan yang berupa kepala, tulang, sirip dan jeroan/isi perut. Limbah-

limbah tersebut sebagian besar belum dikelola dan dimanfaatkan dengan baik sampai dengan saat ini namun dibuang ke laut, pantai dan tempat-tempat pembuangan sampah. Apabila kondisi ini

berlangsung secara terus-menerus akan berdampak buruk pada lingkungan. Menurut Bhaskar & Mahendrakar (2008), jeroan ikan mengandung protein dan lemak tak jenuh yang tinggi. Fakta yang ditemukan menunjukkan bahwa produk buangan ikan yang kaya akan protein dan lemak meningkatkan peluang untuk mengalami kebusukan sehingga dapat menimbulkan masalah lingkungan bila tidak dilakukan penanganan. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk memanfaatkan limbah jeroan ikan, seperti pembuatan hidrolisat protein dari ikan bandeng dan kakap putih (Wijayanti *et al.*, 2016; Nurhayati *et al.*, 2014).

Produksi perikanan tangkap ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*) di Provinsi Maluku pada tahun 2016 mencapai 14.363,1 ton (BPS Maluku, 2017), gelembung renang yang dihasilkan dari ikan tuna tersebut sebanyak  $\pm 50,27$  ton (proporsi gelembung renang hasil penelitian 0,35%). Nilai ini merupakan potensi yang menjanjikan dan mempunyai nilai lebih jika dimanfaatkan menjadi produk lain. Gelembung renang merupakan bagian dari limbah ikan yang menjadi bagian dari organ internal ikan.

Liu *et al.* (2012) menyatakan bahwa kolagen dapat diisolasi dari gelembung renang dengan rendemen mendekati kolagen yang diekstrak dari tulang, kulit dan sisik ikan. Kolagen dari gelembung renang telah diekstrak dari gelembung renang ikan *Arius parkeri*, *Cynoscion acoupa*, *Cynoscion leiarchus*, karper (*Hypophthalmichthys nobilis*) dan kakap (*Lates calcarifer*) (Fernandes *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2012; Sinthusamran *et al.*, 2013). Kolagen dapat diekstrak dan diisolasi dengan beberapa metode atau proses namun hingga kini metode ekstraksi asam masih mendominasi karena cukup mudah dilakukan.

Protein yang terkandung dalam gelembung renang didominasi oleh protein kolagen. Kolagen merupakan protein yang mengandung 35% glisin dan sekitar 11% alanin serta kandungan prolin dan hidrosiprolin sekitar 21% (Lehninger, 2000). Kolagen dapat diaplikasikan pada industri makanan, kosmetik, biomedis dan

industri farmasi. Kolagen dapat langsung dipakai atau dikonversi terlebih dahulu menjadi gelatin sebelum diaplikasikan ke dunia industri. Kolagen yang diekstrak dari bagian tubuh ikan memiliki keunggulan diantaranya mampu mengatasi kebutuhan sekaligus kontroversi penggunaan kolagen di kalangan keyakinan dan etnis tertentu terhadap bahan baku dari hewan terestrial, misalnya babi, sapi ataupun ayam (Choi *et al.*, 2013).

Fungsi dan peran yang unik dari gelembung renang diduga terkait dengan struktur jaringan ikat, khususnya matriks ekstraseluler (ECM). Molekul struktural dan fungsional ECM belum sepenuhnya dikarakterisasi namun masing-masing komponennya seperti elastin, laminin, fibronektin dan kolagen telah diekstraksi dan digunakan untuk banyak aplikasi. Kolagen merupakan komponen struktural utama jaringan ikat putih (*white connective tissue*) yang meliputi hampir 25-30% total protein pada tubuh vertebrata (Walters & Stegemann, 2014). Tipe kolagen yang teridentifikasi pada limbah ikan adalah tipe I dan V dari 25 jenis kolagen (I sampai XXV) yang telah diidentifikasi hingga kini. Limbah kulit, tulang dan sisik ikan merupakan kolagen tipe I sedangkan kolagen tipe V terdapat pada jaringan ikat dalam kulit dan tendon (Nagai & Suzuki, 2000); serta kolagen tipe lain yang belum teridentifikasi pada gelembung renang. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik ekstrak kolagen dari limbah gelembung renang ikan tuna menggunakan ekstraksi asam asetat.

## 2. METODE PENELITIAN

Bahan baku yang digunakan adalah gelembung renang ikan tuna sirip kuning dengan berat  $\pm 10$  kg yang diperoleh di pasar tradisional Mardika Ambon. Bahan lainnya yaitu asam asetat pekat, NaOH, aquades dan NaCl. Peralatan yang digunakan adalah pHmeter, viskometer, neraca analitik, wadah plastik, gunting bedah, gelas ukur, cawan porselen, oven, pipet, blender, *sentrifuge*, cawan aluminium, *freeze dryer*, tanur, desikator, labu *kjeldhal* dan instrumen UPLC.

### Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui 3 (tiga) tahap yaitu penentuan bobot total ikan dan proporsi gelembung renang terhadap bobot total ikan, ekstraksi kolagen gelembung renang menggunakan asam asetat dan penentuan karakterisasi kolagen hasil ekstraksi.

### Proporsi Bahan Baku

Ikan tuna dipreparasi sehingga diperoleh bagian-bagian utama seperti kepala, tulang, daging, kulit, jeroan dan gelembung renang. Proporsi gelembung renang dihitung menggunakan Persamaan 1.

$$\text{Persentase (\%)} = \frac{\text{Berat bagian tubuh (g)}}{\text{Berat tubuh keseluruhan (g)}} \times 100\% \quad \dots(1)$$

### Ekstraksi Gelembung Renang

Proses ekstraksi didahului oleh proses eliminasi substansi non-kolagen, pigmen dan lemak dari gelembung renang. Gelembung renang berukuran  $4,0 \pm 0,5 \text{ cm}^2$  direndam larutan NaOH 0,1 M dengan rasio sampel terhadap larutan 1:10 (b/v). Sampel direndam selama 8 jam pada suhu  $4^\circ\text{C}$  dengan regulasi larutan NaOH setiap 2 jam. Residu NaOH pada sampel dicuci dengan akuades dingin ( $\text{pH } 7,0 \pm 0,5$ ) hingga pH netral. Gelembung renang diekstrak dengan proses ekstraksi asam seperti pada penelitian Liu *et al.* (2015), yaitu dengan merendam sampel dalam asam asetat 0,5 M dan 0,75 M dengan rasio 1:10 (b/v) disertai agitasi selama 48 jam pada suhu  $4^\circ\text{C}$ . Hasil ekstraksi dipresipitasi dengan NaCl (konsentrasi akhir 0,9 M) kemudian disentrifugasi dengan kecepatan  $10.000 \times g$  selama 30 menit pada  $4^\circ\text{C}$ . Pelet kemudian dilarutkan ke dalam asam asetat 0,5 M rasio 1:1 (b/v) dan didialisis (dengan kantong dialisis *cut-off* 14 kDa). Setelah ekstraksi, hasil dialisis maupun filtrat dikeringkan dengan *freeze dryer* sehingga didapatkan produk kolagen kering.

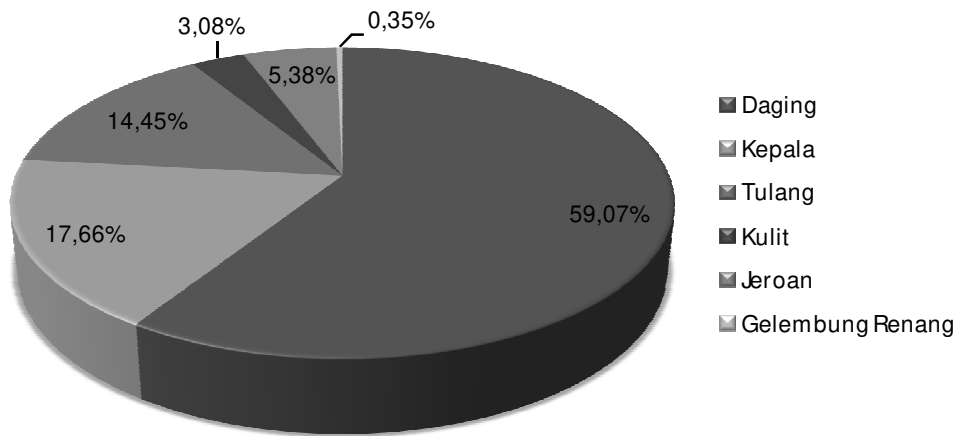
### Komposisi Kimia Gelembung Renang dan Karakteristik Kolagen

Pengujian komposisi kimia gelembung renang meliputi kadar abu dengan metode pengabuan kering (*dry ashing*), kadar air dengan metode oven, kadar lemak dengan metode soxhlet dan kadar protein dengan metode Kjeldahl ditentukan berdasarkan analisis proksimat mengacu pada *Association of Official Analytical Chemist/ AOAC* (2005). Pengujian terhadap karakterisasi kolagen gelembung renang meliputi pengujian asam amino (Nollet & Fidel, 2015) dan bobot molekul dengan *Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis/ SDS- PAGE* (Laemmli, 1970).

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN Berat dan Persentase Bagian Tubuh Ikan Tuna Sirip Kuning

Berat total ikan tuna sirip kuning sebelum pemisahan bagian tubuh ikan diperoleh sebesar 9800 g sedangkan total berat pengukuran setelah pemisahan diperoleh total sebesar 9734 g. Berat yang hilang sebesar 66 g yaitu berat darah dan lendir ikan tuna selama preparasi berlangsung. Ketersediaan gelembung renang ikan tuna sebagai bahan baku kolagen dapat diketahui dengan cara menghitung proporsi gelembung renang pada tubuh ikan. Gelembung renang memiliki proporsi yang lebih kecil dibandingkan bagian lain, baik sebagai bagian tubuh maupun bagian dari limbah hasil perikanan, yakni sebesar 0,35%. Hasil pengukuran berat gelembung renang ikan tuna sirip kuning dibandingkan dari bagian tubuh ikan yang lain dapat dilihat pada Gambar 1.

Hasil pengukuran gelembung renang menunjukkan proporsi kurang dari 1% dengan bobot rata-rata 34 g. Hasil ini berbeda jauh dengan penelitian Kaewdang *et al.*, (2014) yang memperoleh berat gelembung renang sebesar 3,5-5,5%. Perbedaan bobot diduga akibat hilangnya sebagian besar konsorsium gas ( $\text{O}_2$ ,  $\text{N}_2$  dan H) dan air pada saat proses preparasi.



Gambar 1. Persentase bagian tubuh ikan tuna sirip kuning

Tabel 1. Komposisi kimia gelembung renang ikan tuna sirip kuning, cunang dan patin

Parameter	Persentase (%)			
	Ikan tuna sirip kuning ( <i>Thunnus albacares</i> ) <sup>1</sup>	Ikan tuna sirip kuning ( <i>Thunnus albacares</i> ) <sup>2</sup>	Ikan cunang ( <i>Muraenesox talabon</i> ) <sup>3</sup>	Ikan patin ( <i>Pangasius sp.</i> ) <sup>4</sup>
Kadar air	76,24	83,33	73,88	74,03
Kadar abu	1,24	0,29	0,27	0,08
Kadar protein	20,27	12,09	24,74	25,67
Kadar lemak	3,17	1,44	0,50	0,03

Keterangan: 1 = Hasil Penelitian,  
 2 = Kaewdang *et al.* (2014),  
 3 = Kartika *et al.* (2016),  
 4 = Yanuardi (2006), sampel dalam kondisi basah.

Penelitian Feuillade & Nero (1998) menunjukkan bahwa proporsi gelembung renang pada ikan Teleostei ± 5%. Proporsi (volume dan/atau bobot) pada Teleostei, khususnya kelompok *Anguillidae* dipengaruhi fase pendewasaan, pola gerak, tekanan dan kedalaman (Shrimpton *et al.*, 1990). Kartika *et al.* (2016) menyatakan bahwa ikan cunang (*Muraenesox talabon*) memiliki proporsi gelembung renang sebesar 0,62%.

**Komposisi Kimia**

Komposisi kimia pada daging ikan tuna bervariasi tergantung spesies, jenis, umur, musim, laju metabolisme, aktivitas pergerakan, musim dan tingkat kematangan gonad (Wahyuni, 2011). Hasil uji komposisi kimia

gelembung renang ikan tuna dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan Tabel 1 diketahui bahwa komposisi kimia limbah gelembung renang sebagian besar terdiri atas air yaitu 76,24%. Nilai tersebut lebih rendah dari kadar air gelembung renang ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*) yang telah diteliti oleh Kaewdang *et al.* (2014) sebesar 83,33% dan lebih besar dari ikan cunang dan patin yang masing-masing sebesar 73,88% dan 74,03% (Kartika *et al.*, 2016; Yanuardi, 2006). Chen *et al.* (2016) menyatakan bahwa kadar air berfungsi untuk menjaga kelenturan dan tekstur gelembung, disamping sebagai penyeimbang pH. Jumlah molekul air dalam jaringan gelembung renang mempengaruhi kadar abu, lemak dan protein sehingga fluktuasi kandungan air

selama proses, penyimpanan, pengolahan dan pengeringan jaringan akan mengubah komposisi biokimia yang lain.

Protein merupakan zat pembangun jaringan sekaligus menjadi kandungan utama dari otot atau daging ikan. Kandungan protein gelembung renang ikan tuna sirip kuning yang diteliti (20,27%) lebih rendah dibandingkan dengan protein pada gelembung renang ikan patin (25,67%) dan ikan cunang (24,745%), namun lebih tinggi dari gelembung renang ikan tuna sirip kuning (12,09%) (Yanuardi, 2006; Kartika *et al.*, 2016; Kaewdang *et al.*, 2014). Hal tersebut menunjukkan bahwa gelembung renang ikan tuna memiliki kualitas yang baik untuk dijadikan sebagai bahan baku kolagen ditinjau dari rendemen terhadap kandungan solidnya.

Kadar lemak gelembung renang ikan tuna sirip kuning di penelitian ini sebesar 3,17% lebih tinggi dibandingkan gelembung renang ikan patin yaitu 0,03% (Yanuardi (2006), ikan cunang yaitu 0,50% (Kartika *et al.*, 2016) dan ikan tuna sirip kuning hasil penelitian Kaewdang *et al.*, (2014) yaitu 1,44%. Shon *et al.* (2011) menyatakan bahwa keberadaan lemak dan mineral-mineral lainnya akan mengganggu efektivitas kolagen dalam aplikasinya pada berbagai produk. Kandungan lemak yang kurang dari 2% dapat dihilangkan melalui proses *defatting* menggunakan pelarut

alkali. Proses *defatting* dapat dijalankan sekaligus dengan proses eliminasi pretreatment protein nonkolagen karena jaringan lemak dan protein dapat didegradasi oleh senyawa alkali, khususnya NaOH.

### Komposisi Asam Amino Kolagen Gelembung Renang

Asam amino merupakan kumpulan peptida-peptida yang membentuk suatu ikatan sebagai komponen utama penyusun protein. Berdasarkan strukturnya, asam amino terdiri dari sebuah gugus amino (NH<sub>2</sub>), gugus karboksil (COOH), sebuah atom hidrogen (H) dan gugus radikal yang terikat pada sebuah atom C (Voet *et al.*, 2013). Kandungan protein pada gelembung renang ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*) hasil ekstraksi menggunakan asam asetat 0,5 dan 0,75 M dapat dilihat pada Tabel 2.

Data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa gelembung renang ikan tuna sirip kuning hasil ekstraksi menggunakan asam asetat 0,5 M mengandung prolin 456,40 mg/g, glisin 1175,05 mg/g dan alanin 338,66 mg/g sedangkan hasil ekstraksi menggunakan asam asetat 0,75 M mengandung prolin 347,50 mg/g, glisin 733,99 mg/g dan alanin 215,35 mg/g. Hasil penelitian Kaewdang *et al.*, (2014) menunjukkan bahwa asam amino prolin, glisin dan alanin pada ikan tuna sirip

Tabel 2. Komposisi asam amino gelembung renang ikan tuna sirip kuning (*T.albacares*) menggunakan ekstraksi asam asetat

Jenis Asam Amino	Kadar Asam Amino (mg/g)		
	<i>T. albacares</i> (0,5 M asam asetat)	<i>T. albacares</i> (0,75 M asam asetat)	<i>T. albacares</i> (Kaewdang <i>et al.</i> , 2014)
Histidin	4910,13	nd	12
Treonin	1166,93	239,36	42
Prolin	456,40	347,50	80
Leusin	304,72	225,81	47
Asam Aspartat	399,37	320,51	69
Lisin	1235,76	214,46	44
Glisin	1175,05	733,99	225
Arginin	848,75	nd	56
Alanin	338,66	215,35	102
Valin	455,19	248,86	38
Fenilalanin	1930,57	833,32	22
Asam Glutamat	1188,58	880,61	97
Serin	830,17	750,25	50

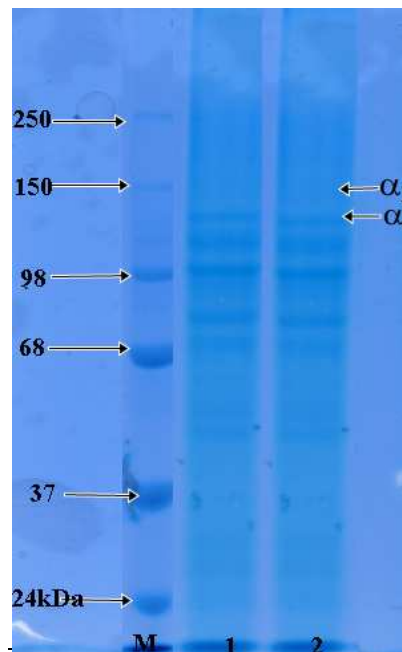
kuning berturut-turut yaitu 80, 225 dan 102 (/1000 total residu). Asam amino tersebut merupakan asam amino paling dominan yang terdapat pada bahan baku yang mengandung kolagen. Menurut Katilli (2009), asam amino glisin dapat bergabung dengan lisin dan vitamin C membentuk jaringan kolagen sedangkan alanin berfungsi untuk memperkuat membran sel dan membantu metabolisme glukosa energi tubuh.

Kandungan protein pada gelembung renang sangat berpotensi untuk digunakan dalam industri kolagen karena mengandung asam amino esensial dan asam amino non-esensial. Kolagen merupakan protein fungsional yang memiliki karakteristik tertentu. Karakteristik utama kolagen antara lain terletak pada gugus fungsional yang membedakannya dengan gelatin, komposisi asam amino penyusun yang khas, serta stabilitas termal molekul. Komposisi asam amino berperan dalam menentukan stabilitas termal karena setiap asam amino punya karakteristik termal yang berbeda, yang akan secara simultan mempertahankan denaturasi apabila massa diberikan kalor dari luar.

### Berat Molekul Kolagen Gelembung Renang

Bobot molekul kolagen dari gelembung renang ikan tuna diukur menggunakan prinsip elektroforesis *Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE) yang digunakan untuk memisahkan protein berdasarkan berat molekulnya dalam sebuah medan listrik (sifat *electrophoretic mobility*) (Rosenberg, 1996). Pada analisa SDS-PAGE, semua protein dibuat bermuatan negatif. SDS yang ditambahkan menyebabkan protein terdenaturasi dan akan berikatan dengan molekul protein sehingga mencegah terjadinya interaksi protein. Pada proses elektroforesis, kompleks SDS-protein akan bergerak menuju kutub positif. Matriks berpori pada gel poliakrilamid kemudian memisahkan kompleks SDS-protein berdasarkan berat molekulnya (Rehm, 2006). Berat molekul

(BM) kolagen dengan ekstraksi asam asetat dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pola pita protein kolagen gelembung renang ikan tuna sirip kuning hasil ekstraksi asam [(M) Marker; (1) Konsentrasi asam asetat 0,5 M; (2) konsentrasi asam asetat 0,75 M]

Gambar 2 menunjukkan bahwa protein kolagen dengan ekstrak asam asetat 0,5 dan 0,75 M memiliki pita utama  $\alpha_1$  dan  $\alpha_2$  dengan BM (Berat Molekul) 130 dan 145 kDa. Hasil penelitian menunjukkan kesesuaian dengan penelitian kolagen larut asam (ASC) dari hasil perairan lainnya yaitu memiliki dua rantai alfa ( $\alpha_1$  dan  $\alpha_2$ ) yang tergolong kolagen tipe I (Ogawa *et al.*, 2004), seperti kolagen gelembung renang ikan cunang (Djailani *et al.*, 2016), kolagen gelembung renang ikan tuna sirip kuning (Kaewdang *et al.*, 2014); gelembung renang ikan karper (Liu *et al.*, 2012) dan gelembung renang ikan kakap putih (Sinthusamran *et al.*, 2013).

Penelitian Orgel *et al.* (2014) menemukan bahwa protein dengan kisaran BM 135-245 kDa adalah struktur beta dan struktur alfa. Pola pita tebal rantai alfa memiliki dua struktur rantai yang dominan yaitu rantai  $\alpha_1$  dan rantai  $\alpha_2$ . Kedua rantai alfa merupakan ciri khas kolagen sehingga

kolagen yang dihasilkan diprediksi merupakan kolagen tipe I. Pola pita protein  $\alpha 1$  (tebal) dan  $\alpha 2$  yang teridentifikasi pada pola SDS-PAGE menunjukkan struktur protein sekunder (polipeptida) yaitu dua jenis rantai  $\alpha$ -heliks. Fratzl (2008) mengemukakan bahwa kedua jenis pola pita tersebut adalah gen COL1A1 yaitu kolagen tipe I yang terdiri dari 2 rantai  $\alpha 1$  dan 1 rantai  $\alpha 2$ . Jenis kolagen ini ditemukan di sebagian besar jaringan ikat dan identik dengan kolagen tipe I pada manusia (Rhodes & Miller, 1978).

#### 4. KESIMPULAN

Limbah gelembung renang ikan tuna sirip kuning memiliki proporsi 0,35% dari seluruh bobot ikan dengan kandungan protein 20,27%. Proses ekstraksi asam menghasilkan kolagen yang teridentifikasi sebagai kolagen tipe I dengan BM antara 130-145 kDa. Ekstraksi kolagen gelembung renang ikan tuna sirip kuning memberikan hasil terbaik pada ekstraksi menggunakan asam asetat 0,5 M yang mana kandungan prolin 456,40 mg/g, glisin 1175,05 mg/g dan alanin 338,66 mg/g.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Kepala Balai Riset dan Standardisasi Industri Ambon yang telah mendanai penelitian ini melalui DIPA Balai.

#### DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. (2005). *Official Methods of Analysis* (18 Edn). Maryland: Association of Official Analytical Chemist Inc.
- Bhaskar, N. & Mahendrakar, N.S. (2008). Protein hydrolysate from visceral waste protein of catla (*Catla catla*): optimization of hydrolysis condition for a commercial neutral protease. *Journal Bioresource Technology*, 99, 4105-4111.
- 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*). *Food Science and Technology*, 66, 453-459.
- Choi, S.S. & Regenstein, J.M. (2000). Physicochemical and sensory characteristics of fish gelatin. *Journal of Food Science*, 65(2), 194-199.
- Djailani, F., Trilaksani, W. & Nurhayati, T. (2016). Optimasi ekstraksi dan karakterisasi kolagen dari gelembung renang ikan cunang dengan metode asam-hidro-ekstraksi. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 19(2), 156-167.
- Feuillade, C. & Nero, R.W. (1998). A viscous-elastic swimbladder model for describing enhanced-frequency resonance scattering from fish. *The Journal of The Acoustical Society of America*, 103(6), 3245-3255.
- Fernandes, R.M., Neto, R.C., Paschoal, C.W., Rohling, J.H. & Bezerra, C.W. (2008). Collagen films from swim bladders: Preparation method and properties. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 62(1), 17-21.
- Fratzl, P. (2008). *Collagen structure and mechanics*. Technology & Engineering. Springer Science & Business Media. 506p.
- 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).
- Kartika, I.W.D., Trilaksani, W. & Adnyane, I.K.M. (2016). Karakterisasi kolagen dari limbah gelembung renang ikan cunang (*Muraenesox talabon*) hasil ekstraksi asam dan hidrotermal. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 19(3), 222-232.
- Katilli, A.S. (2009). Struktur dan fungsi protein kolagen. *J. Pelangi Ilmu*, 2(5), 10-29.
- Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural protein during the assembly of head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685.
- Lehninger, A.L. (2000). *Dasar-dasar biokimia* (terjemahan). Jakarta: Erlangga.
- Liu, D., Liang, L., Regenstein, J.M. & Zhou, P. (2012). Extraction and characterization of pepsin-solubilised collagen from fins, scales, skins, bones and swim bladders of bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*). *Food Chemistry*, 133, 1441-1448.

- Liu, D., Zhang, X., Li, T., Yang, H., Zhang, H., Regenstein, J.M. & Zhou, P. (2015). Extraction and characterization of acid and pepsin-soluble collagens from the scales, skins and swim-bladders of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Food Bioscience*, 9, 68-74.
- Nagai, T. & Suzuki, N. (2000). Isolation of collagen from fish waste material-skin, bone and fins. *Food Chemistry*, 68, 277-281.
- Nollet, L.M.L. & Fidel, T. (2015). *Handbook of food analysis: two volume set*. Boca Raton: CRC Press.
- Nurhayati, T., Salamah, E., Cholifah & Nugraha, R. (2014). optimasi proses pembuatan hidrolisat protein jeroan ikan kakap putih. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 17(1), 42-52.
- Ogawa, M., Portier, R.J., Moody, M.W., Bell, J., Schexnayder, M.A. & Losso, J.N. (2004). Biochemical properties of bone and scale collagens isolated from the subtropical fish black drum (*Pogonias cromis*) and sheepshead seabream (*Archosargus probatocephalus*). *Food Chemistry*, 88, 495-501.
- Orgel, J.P.R.O., Persikov, A.V. & Antipova, O. (2014). Variation in the helical structure of native collagen. *PLoS ONE*, 9(2).
- Rehm, B.H.A. (2006). Biopolyester particles produced by microbes or using polyester synthases: self-assembly and potential applications, p. 1-34. In B.H.A. Rehm (ed.), *Microbial bionanotechnology: biological self-assembly systems and biopolymer-based nanostructures*. Horizon Bioscience, Wymondham, United Kingdom.
- Rhodes, R.K. & Miller, E.J. (1978). Physicochemical characterization and molecular organization of the collagen A and B chains. *Biochemistry*, 17(17), 3442-3448.
- Rosenberg, I.M. (1996). *Protein analysis and purification*. 2<sup>nd</sup> ed. Springer Science. Boston (US). 384p.
- Shon, J., Eo, J., Hwang, S.J. & Eun, J. (2011). Effect of processing conditions on functional properties of collagen powder from skate (*Raja kenoei*) skins. *Food Science Biotechnology*, 20(1), 99-106.
- Shrimpton, J.M., Randall, D.J. & Fidler, L.E. (1996). Factors affecting swim bladder volume in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) held in gas supersaturated water. *Canadian Journal of Zoology*, 68(5), 962-8.
- 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, 2435-2441.
- Voet, D., Voet, J.G. & Pratt, C.W. (2013). *Principles of biochemistry, international student version*. 4th ed. John Wiley and Sons, Inc. Singapor. 105p.
- Wahyuni, M. & Rosmawaty, P. (2009). Perbaikan Daya Saing Industri Pengolahan Perikanan melalui Pemanfaatan Limbah non Ekonomis Ikan menjadi Gelatin. Departemen Kelautan dan Perikanan RI.
- Walters, B.D. & Stegemann, J.P. (2014). Review: Strategies for directing the structure and function of three-dimensional collagen biomaterials across length scales. *Acta Biomaterialia*, 10, 1488-1501.
- Wijayanti, I., Romadhon & Rianingsih, L. (2016). Karakteristik hidrolisat protein ikan bandeng (*chanos chanos forsk*) dengan konsentrasi enzim bromelin yang berbeda. *Jurnal Saintek Perikanan*, 11(2), 129-133.
- Yanuardi, A. (2006). *Karakteristik kimia gelembung renang ikan patin (Pangasius sp.) pada berbagai suhu penyimpanan*. Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.