

Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Karakteristik Kolagen dari Kulit Ikan Patin (*Pangasius pangasius*)

The Effect of Extraction Method on Characteristic of Collagen from Stripped Catfish Skin (Pangasius pangasius)

Nadia Fabella, Herpandi*, Indah Widiastuti

Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Pertanian
Universitas Sriwijaya, Indralaya, Ogan Ilir 30662 Sumatera Selatan
Telp./Fax. (0711) 580934

*Penulis untuk korespondensi: herpandinapis@gmail.com

ABSTRACT

The purpose of this research was to know difference pretreatment effect to characteristic of collagen from Stripped Catfish (*Pangasius pangasius*) Skin. This research was conducted on April until July 2017 using the Randomized Block Design with three treatments (method by Alhana *et al.*, (2015), Baehaki *et al.*, (2016) and Rahmayanti (2014) and repeated three times. The parameters observed in this research were yield of crude collagen, protein, and amino acid. The result showed that treatments gave significant effect on protein of collagen. But there were no effect on the yield of crude collagen and amino acid. The result of this study indicated that average yield values of stripped catfish skin collagen of sample A1, A2, dan A3 were 5.85%, 7.12%, and 6.35%. Protein content that collagen were 34.57%, 33.83%, and 50.11%. The highest amino acid of stripped catfish skin collagen were glisine and proline.

Keywords: Stripped Catfish, Collagen, Extraction.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perlakuan *pretreatment* yang berbeda terhadap karakteristik kolagen dari kulit ikan patin (*Pangasius pangasius*) yang dihasilkan. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April sampai dengan Juli 2017 menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 3 perlakuan (metode menurut Alhana *et al.*, (2015), Baehaki *et al.*, (2016) dan Rahmayanti (2014)). Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Parameter yang diamati dalam penelitian ini yaitu pengukuran rendemen, kadar protein, dan asam amino. Perlakuan dalam penelitian berpengaruh nyata terhadap kadar protein, tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap nilai rendemen dan asam amino. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nilai rerata rendemen kolagen kulit ikan patin pada sampel A1, A2, dan A3 sebesar 5,85%, 7,12%, dan 6,35%. Sementara kadar protein pada sampel A1, A2, dan A3 sebesar 34,57%, 33,83%, dan 50,11%. Kadar asam amino tertinggi yang terdapat pada kolagen kulit ikan patin adalah glisin dan prolin.

Kata kunci: Ikan Patin, Kolagen, Ekstraksi.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya akan potensi ikan, baik perikanan tangkap maupun perikanan budidaya. Salah satu ikan yang telah dibudidayakan secara luas di Indonesia adalah ikan patin. Ikan patin merupakan salah satu spesies ikan budidaya

air tawar. Jenis ikan ini biasanya dimanfaatkan sebagai ikan konsumsi. Oleh karena itu, banyak pengusaha yang membudidayakan ikan patin.

Ikan patin termasuk komoditas ikan yang banyak diminati dan produksinya di Indonesia mengalami peningkatan secara

signifikan selama beberapa tahun terakhir, yaitu pada tahun 2015 produksinya meningkat sebesar 11,53% menjadi 80 ribu ton pada tahun 2015 (KKP, 2015). Ikan Patin adalah salah satu ikan air tawar yang sangat populer dikonsumsi di seluruh dunia.

Pada umumnya proses pengolahan ikan patin di Indonesia menghasilkan produk fillet yang kemudian dijual dalam bentuk fillet segar maupun beku. Rendemen pada proses pengolahan fillet ikan patin ini sekitar 45%, bagian selebihnya termasuk isi perut, lemak abdomen, tulang, kulit dan hasil perapian (*trimming*) sebesar 55% belum dimanfaatkan secara optimal (Sathivel *et al.*, 2002). Proses pengolahan ikan umumnya menghasilkan limbah hingga di atas 50% dari keseluruhan berat ikan yang diolah (Zuta *et al.*, 2003). Sebagian limbah pada ikan patin seperti kulit masih dapat dimanfaatkan menjadi produk bernilai tinggi, contohnya kolagen.

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* (Kasankala *et al.*, 2007). Kolagen dari komoditi perairan merupakan kolagen derivat dari komoditi perikanan, dan diekstrak dari komoditas perikanan maka tidak perlu ada kekhawatiran terhadap penyakit-penyakit mamalia seperti penyakit sapi gila maupun virus flu burung (Hartati, 2010).

Kolagen sendiri merupakan protein penghubung jaringan yang banyak digunakan sebagai aditif pada makanan, farmasi dan kosmetik. Karena manfaat kolagen yang sangat banyak, sehingga kebutuhan akan kolagen juga meningkat. Namun, meningkatnya permintaan kolagen belum diimbangi dengan banyaknya jumlah kolagen yang tersedia, hal ini salah satunya dikarenakan belum ditemukannya metode yang optimal untuk mengekstraksi kolagen. Untuk itu, peneliti tertarik untuk menemukan metode yang tepat dalam pembuatan kolagen

menggunakan kulit ikan patin sehingga didapat hasil kolagen yang optimal.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh metode yang berbeda terhadap karakteristik kolagen dari kulit ikan patin yang dihasilkan.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain kulit ikan patin (*Pangasius pangasius*) yang didapat dari pasar di daerah Palembang. Untuk ekstraksi kolagen digunakan NaOH, aquades, CH₃COOH, dan etanol. Untuk analisa menggunakan BSA, akuades, *Coomasie Brilliant Blue*, Asam Ortosfat, etanol, serta bahan lain yang digunakan untuk analisa asam amino. Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain beker gelas, erlenmeyer, gelas ukur, spatula, labu takar, pipet volumetrik, termometer, termokopel, neraca analitik, neraca digital, *hotplate*, *shaker*, dan lemari es. Untuk analisa menggunakan neraca analitik, spektrofotometer UV-Vis, dan HPLC.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK). Percobaan ini terdiri dari 3 perlakuan. Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali, dengan ulangan dijadikan sebagai kelompok. Perlakuan yang diterapkan adalah sebagai berikut:

- A1 : metode menurut Alhana *et al.*, (2015)
- A2 : metode menurut Baehaki *et al.*, (2016)
- A3 : metode menurut Rahmayanti (2014)

Prosedur kerja

Ekstraksi Kolagen Menurut Alhana *et al.*, (2015)

1. Kulit ikan patin dibersihkan dari kotoran yang menempel, kemudian dipotong-potong menjadi kecil.
2. Penghilangan protein non-kolagen dengan cara sampel yang telah dipotong-potong direndam dalam larutan NaOH 0,3 % selama 24 jam dengan perbandingan bobot kulit ikan patin dan volume larutan

- 1:10 (b/v). Kulit ikan patin kemudian dicuci dengan aquades hingga pH sampel mendekati atau mencapai pH 7.
3. Proses hidrolisis dilakukan dengan larutan CH_3COOH pada konsentrasi 0,1%, (b/v 1:10) serta didiamkan selama 48 jam. Kulit hasil perendaman CH_3COOH dicuci dengan air mengalir sampai mencapai pH netral.
 4. Tahap selanjutnya yaitu sampel diekstraksi dengan akuades selama 2 jam dengan rasio kulit dan akuades adalah 1:2 (b/v) pada suhu 45°C untuk menghindari degradasi kolagen menjadi gelatin. Hasil ekstrak berupa kolagen yang dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 48 jam.

Parameter

Parameter yang diamati dalam penelitian ini yaitu rendemen, kadar protein (Bradford, 1976), dan asam amino.

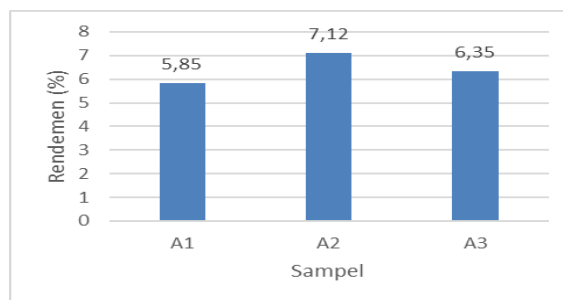
Analisa Data

Data yang diperoleh diolah dengan menggunakan statistik. Pengolahan data berupa statistik parametrik dan non parametrik. Menurut Gomez dan Gomez (1995), model matematika untuk rancangan percobaan dari jenis Rancangan Acak Kelompok (RAK). Data yang diperoleh dianalisis sidik ragam untuk mengetahui pengaruh perlakuan. Apabila perlakuan berpengaruh nyata, maka dilanjutkan uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Kolagen

Rendemen kolagen merupakan perbandingan antara jumlah kolagen yang dihasilkan dengan berat awal sampel yang digunakan, yang dinyatakan dalam bentuk persen. Hal ini dilakukan untuk mengetahui seberapa besar jumlah kolagen yang dihasilkan dari proses ekstraksi yang dilakukan terhadap kulit ikan patin. Nilai rata-rata rendemen kolagen kulit ikan patin dari berbagai metode ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 1.



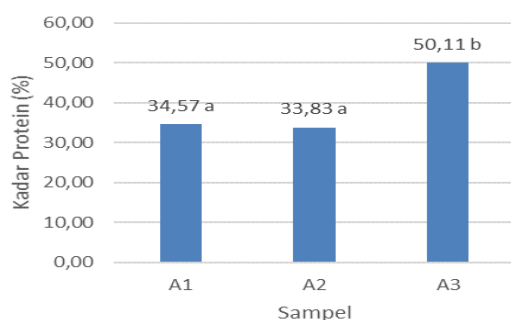
Gambar 1. Rendemen kolagen kulit ikan patin

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa perlakuan metode ekstraksi berpengaruh tidak nyata (F hitung $<$ F tabel) terhadap rendemen kolagen kulit ikan patin yang dihasilkan. Persentase rendemen kolagen kering kulit ikan patin sebesar 4,65% sampai dengan 7,12%. Dari data pada Gambar 4.1. dapat dilihat nilai rendemen tertinggi terdapat pada perlakuan A2 meskipun secara statistik nilainya tidak berbeda secara signifikan. Hal ini terjadi karena pada perlakuan A2 sampel yang direndam dalam larutan NaOH dilakukan pengadukan menggunakan *shaker* sehingga diduga pengadukan tersebut dapat mempercepat reaksi antara NaOH dengan sampel bila dibandingkan dengan perlakuan A1 yang juga menggunakan NaOH sebagai pelarut namun tidak diaduk.

Dibandingkan dengan rendemen kering kolagen kulit ikan rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) sebesar 9.48% (Tabarestani *et al.* 2012), tuna (*Thunnus alalunga*) sebesar 13.97%, Hiu (*Scoliodon sorrakowah*) sebesar 8.96%, (Hema *et al.* 2013), ikan kurisi (*Nemipterus hexodon*) sebesar 24.9% (Nalinanon *et al.* 2011), ternyata rendemen kering kolagen kulit ikan patin relatif kecil. Hal tersebut diduga disebabkan oleh perbedaan kandungan protein pada kulit ikan, dimana kulit ikan ekor kuning yang digunakan memiliki kandungan protein lebih rendah dibandingkan kulit ikan rohu, hiu, tuna, dan bigeye snapper pada penelitian Hema *et al.*, (2013) dan Kittiphattanabawon *et al.* (2005). Faktor yang dapat menyebabkan perbedaan hasil rendemen adalah kondisi saat Pretreatment dan ekstraksi yang berbeda.

Kadar Protein

Protein merupakan senyawa organik kompleks tersusun atas asam amino yang mengandung unsur C (karbon), H (hidrogen), O (oksigen) dan N (nitrogen). Protein termasuk komponen kedua terbesar setelah air pada sebagian besar jaringan tubuh. Ikan dikenal sebagai sumber protein yang tinggi. Kolagen merupakan produk turunan dari protein, sehingga kandungan protein di dalam kulit ikan sangat penting. Nilai rata-rata kandungan protein yang terdapat pada kolagen kulit ikan patin dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Rerata Kadar Protein Kolagen Ikan Patin

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa perlakuan *pretreatment* berpengaruh nyata (F hitung $>$ F tabel) terhadap kadar protein kolagen kulit ikan patin. Hasil Uji Lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) perlakuan metode ekstraksi terhadap kadar protein kolagen kulit ikan patin menunjukkan bahwa pengaruh metode perlakuan A1 berbeda tidak nyata dengan metode perlakuan A2, sedangkan perlakuan keduanya berbeda nyata dengan perlakuan A3. Hal ini diduga karena pada perlakuan A3 sampel direndam menggunakan etanol 50% untuk menghilangkan komponen lemak yang terkandung pada kulit ikan. Etanol merupakan pelarut non-polar yang sangat mudah melarutkan minyak dan lemak (Rahmayanti, 2014). Berbeda dengan perlakuan A1 dan A2 yang menggunakan NaOH pada saat *pretreatment*. NaOH dapat menghilangkan komponen non-kolagen termasuk protein non-kolagen pada sampel, sehingga menyebabkan kandungan protein juga ikut berkurang, berbeda dengan perlakuan A3 yang menggunakan etanol.

Kolagen merupakan protein jaringan ikat. Protein jaringan ikat merupakan protein yang lebih sulit di ekstrak apabila dibandingkan dengan protein lain sehingga pada saat *Pretreatment* menggunakan NaOH, protein-protein non kolagen akan larut terlebih dahulu. Liu *et al.* (2015) menyatakan bahwa kolagen biasanya tidak dapat larut dalam larutan alkali. Zhou dan Regenstein (2005) menyatakan penggunaan larutan basa pada proses *pretreatment* lebih efektif dalam proses ekstraksi protein nonkolagen dan hanya menyebabkan tingkat kehilangan kolagen yang rendah dibandingkan dengan penggunaan larutan asam.

Asam Amino

Asam Amino merupakan penyusun utama dari protein. Kualitas suatu protein dapat dinilai kandungan asam amino yang menyusun protein tersebut (Suryaningrum *et al.*, 2010). Kolagen mengandung asam amino prolin, glisin, alanin, asam glutamat dan hidroksiprolin dalam jumlah besar (Ogawa *et al.*, 2004). Kolagen juga mengandung metionin, tirosin, dan histidin tetapi dalam jumlah kecil serta tidak mempunyai triptofan atau sistein (Muyonga *et al.*, 2004). Hasil analisa asam amino kolagen kulit ikan patin dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan asam amino kolagen kulit ikan patin (dalam %)

As. Amino	A1	A2	A3
Glisin	26,19	26,18	26,44
Prolin	13,24	13,35	12,57
Asam Glutamat	12,12	12,04	10,88
Alanin	10,99	11,00	10,02
Arginin*	8,42	8,32	9,26
Asam Aspartat	6,08	6,06	5,36
Lisin*	5,53	5,57	5,33
Serin	3,68	3,68	3,99
Leusin*	3,12	3,17	3,53
Threonin*	3,07	3,07	3,49
Valin*	2,60	2,65	2,85
Fenilalanin*	2,09	2,02	2,53
Isoleusin*	1,64	1,66	1,86
Histidin*	0,70	0,70	1,16
Tirosin	0,54	0,54	0,73

Keterangan: *)= asam amino esensial

Dari data yang dilihat pada Tabel 2., kandungan asam amino yang terdapat pada masing-masing sampel tidak berbeda secara signifikan, hal ini menunjukkan bahwa perlakuan *pretreatment* pada sampel tidak mempengaruhi kandungan asam amino kolagen yang dihasilkan. Hasil analisis kandungan asam amino pada kolagen kulit ikan patin menunjukkan bahwa glisin adalah asam amino yang paling dominan pada kolagen kulit ikan patin. Kittiphattanabawon *et al.* (2005) menyatakan bahwa glisin mewakili sekitar sepertiga total dari asam amino pada kolagen. Keberadaan glisin pada posisi ketiga susunan berperan sangat penting dalam mengurangi halangan *steric* dan menyediakan ikatan hidrogen antar rantai yang tegak lurus dengan sumbu helix (Fontaine-Vive *et al.* 2009).

Tamilmozhi *et al.*, (2013) menyatakan bahwa prolin merupakan asam amino yang unik pada kolagen karena berperan dalam menjaga integritas struktural kolagen. Kolagen dengan kandungan asam amino tinggi sangat baik digunakan sebagai bahan baku dalam industri karena memiliki kestabilan suhu yang tinggi (Jamilah *et al.* 2013).

Asam amino terdiri dari sebuah gugus amino (NH_2), sebuah gugus karboksil (COOH), sebuah atom hidrogen dan gugus R (rantai cabang) yang terikat pada sebuah atom karbon (Winarno, 2008). Rantai asam amino yang dihubungkan dengan ikatan peptida akan membentuk protein dengan beragam 33 struktur yang kompleks dan khas. Kadar asam amino glisina, alanina, dan prolina yang tinggi serta kadar asam amino tirosina dan histidina yang rendah mengindikasikan bahwa kolagen yang diekstrak adalah kolagen tipe I (Nalinanon *et al.*, 2011). Silvipriya *et al.* (2015) menjelaskan bahwa kolagen yang diekstrak dari kulit pada umumnya merupakan kolagen tipe I.

Jongjareonrak *et al.*, (2005) menyatakan bahwa kolagen kulit ikan kakap yang diekstrak menggunakan asam asetat memiliki kandungan glisin 1/3 dari total asam amino yaitu 25,5%. Begitu juga menurut Astiana *et al.*, (2016) yang menyatakan bahwa kolagen kulit ikan kakap yang diekstrak

menggunakan asam asetat memiliki kandungan glisin sebesar 25,09% dari seluruh kandungan asam amino.

KESIMPULAN

Nilai rendemen kolagen kulit ikan patin berkisar antara 5,85% - 7,12%. Kadar protein kolagen kulit ikan patin tertinggi terdapat pada perlakuan *pretreatment* menggunakan etanol sebesar 50,11%, sedangkan kadar protein terendah terdapat pada perlakuan *pretreatment* menggunakan NaOH sambil diaduk secara terus-menerus. Asam amino yang paling banyak terdapat pada kolagen kulit ikan patin adalah asam amino glisin dan prolin.

DAFTAR PUSTAKA

- Alhana, P. Supitjah, K. Tarman. 2015. Ekstraksi dan karakterisasi kolagen dari daging teripang gamma. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia. 18(2): 150-161.
- Ali, M., Noor, N.M., dan Leksono, Y.S. 2011. Ekstraksi kolagen dari sisik ikan kakap merah (*Lutjanus sp.*). Prosiding Seminar Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan.
- AOAC (2005). *Association of Official Analytical Chemist*. Edisi Revisi. Edisi 18 2005. Official Methods of Analysis, Washington DC.
- Astiana, I., Nurjanah, T. Nurhayati. 2016. Karakteristik kolagen larut asam dari kulit ikan ekor kuning. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia. 19(1): 79-93.
- Bachaki, A., S.D. Lestari, I. Desliani. Collagen hydrolysis from skin and bone of pangasius catfish prepared by bromelain enzyme and antioxidant activity of hydrolysate. Der Pharma Chemica. 8(4): 155-158.
- Bradford, M.M. 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein

- Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding, *Anal. Biochem.*, 72, 248-254.
- Fontaine-Vive F, Merzel F, Johnson MR, Kearley GJ. 2009. Collagen and component polypeptides: low frequency and amide vibrations. *Chem Phys.* 355: 141-148.
- Gomez K.A., A.A. Gomez. 1995. *Prosedur Statistik Untuk Pertanian*. Edisi 2. Penerjemah Endang Sjamsudin dan Justika S. Baharsjah. Universitas Indonesia, Depok.
- Hartati, I. 2010. Kajian Produksi Kolagen dari Limbah Sisik Ikan Secara Ekstraksi Enzimatis. *Momentum*, 6 (1) : 33 – 35.
- Hema GS, Shyni K, Mathew S, Anandan R, Ninan G. A. 2013. Simple method for isolation of fish skin collagen-biochemical characterization of skin collagen extracted from Albacore Tuna (*Thunnus Alalunga*), Dog Shark (*Scoliodon Sorrakowah*), and Rohu (*Labeo Rohita*). *Annals of Biol Res.* 4(1): 271-278.
- Jamilah B, Hartina UMR, Hashim MD, Sazili AQ. 2013. Properties of collagen from barramundi (*Lates calcarifer*) skin. *Int. J. Food Res* 20(2): 835-842.
- 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 Chem.* (93): 475–484.
- Kasankala, L.M., Xue, Y., Weilong, Y., Hong, S.D., and He, Q. 2007. Optimization of gelatine extraction from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fish skin by response surface methodology. *Biores Tech.* 98(17): 3338–3343.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP). 2015. Kelautan dan Perikanan dalam Angka 2015. 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 Chem.* (221): 363–372.
- Lee, C.H., Singla, A., and Lee, Y. 2001. Review: Biomedical Application of Collagen. *Int J. Pharm.* (221): 1–22.
- Liu D, Wei G, Li T, Hua J, Lu J, Regenstein JM, Zhou P. 2015. Effects of alkaline pretreatments and acid extraction conditions on the acid-soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. *Food Chem* 172:836– 843.
- Muyonga JH, Cole CGB, Duodu KG. 2004. Characterisation of acids soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chem* 85: 81-89.
- Nagai, T. and Suzuki, N. 2000. Isolation of collagen from fish waste material-skin, bone, and fins. *Food Chem.* (68): 277–281.
- Nalinanon S, Benjakul S, Kishimura H, Osako K. 2011. Type I collagen from the skin of ornate threadfin bream (*Nemipterus hexodon*): characteristics and effect of pepsin hydrolysis. *Food Chem* 125: 500-507.
- Ogawa, M. R.J. Portier, M.W. Moody, J. Bell, M. A. Schexnayder, J.N. Losso. 2004. Biochemical properties of bone and scale collagens isolated from the subtropical fish black drum (*Pogonia cromis*) and sheepshead seabream (*Archosargus probatocephalus*). *Food Chem.* 88: 495-501.
- 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., Kusumawati, R., 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.
- Rahmayanti, A. 2014. *Ekstraksi Kolagen Dari Kulit Ikan Gabus (Channa striata) Serta Aplikasinya Untuk Skinning dan*

- Karakterisasi Kolagenase Bakteri Asal Indonesia*. [Tesis]. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- 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. *Mater. Sci. Eng., C*. 33: 790–800.
- Sathivel, S., Yin, H., Prinyawiwatkul, W., King, J.M. dan Xu, Z. 2002. Economical methods to extract and purify Catfish oil. Published Article in the Louisiana Agriculture, LSU AgCenter, Department of Food Science, Baton Rouge La.
- Silvipriya KS, Kumar KK, Bhat AR, Kumar BD, John A, Lakshmanan P. 2015. Collagen: animal sources and biomedical application. *J. Appl. Pharm Sci* 5(3): 123-127.
- Tabarestani S, Maghsoodlou Y, Motamedzadegan A, Mahoonak SAR, Rostamzad H. 2012. Study on some properties of acid-soluble collagens isolated from fish skin and bones of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Int. Food Res J.* 19(1): 251-257.
- Tamilmozhi S, Veeruraj A, Arumugam M. 2013. Isolation and characterization of acid and pepsin-solubilized collagen from the skin of sailfish (*Istiophorus platypterus*). *Food Res Int* 54: 1499-1505.
- Winarno FG. 2008. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Zhou, P. Regenstein, J.M. 2005. Effects of alkaline and acid pretreatments on alaska pollock skin gelatin extraction. *J. Food Sci.* 70(6): 392-396
- Zuta, C.P., Simpson, B.K., Chan, H.M. dan Philips, L. (2003). Concentrating PUFA from Mackerel processing waste. *J Am Oil Chem. Soc.* 80: 933-936.