

**PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF CHICKEN FEET COLLAGEN EXTRACT
IN VARIATIONS OF PAPAIN ENZYME CONCENTRATION AND EXTRACTION
DURATION**

**KARAKTERISTIK FISIKOKIMIA EKSTRAK KOLAGEN DARI CEKER AYAM
PADA VARIASI KONSENTRASI ENZIM PAPAIN DAN LAMA EKSTRAKSI**

Tirza Boru Pardede, Nyoman Semadi Antara^{*}, Lutfi Suhendra, I M. Mahaputra Wijaya
Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Kampus Bukit Jimbaran,
Badung, Indonesia

Diterima 26 oktober 2024 / Disetujui 5 Desember 2025

ABSTRACT

Collagen is a polypeptide dominated by the amino acids glycine, proline, and hydroxyproline. The polypeptide is in the form of a triple helix structure which is the main characteristic of collagen. Chicken feet which are rich in collagen can be an alternative as a source of collagen that is widely accepted by the community. This study aims to determine the effect of papain enzyme concentration and extraction time on the physicochemical characteristics of the collagen produced and to determine the combination of treatments that produce the highest physicochemical characteristics of collagen. This study is an experimental study designed using a Randomized Block Design (RBD) with a factorial experiment consisting of two factors, namely the concentration of papain enzyme (0%, 2%, 4%, and 6%) and extraction time (6, 12, and 18 hours). Collagen in this study was tested qualitatively (Ninhydrin and FTIR) and quantitatively using a UV-Vis spectrophotometer. FTIR results showed success in extracting collagen while maintaining its structure and components. The physicochemical variables observed included yield, pH, water content, ash content, and protein content. The results showed that the interaction between the two treatments had a very significant effect on the observed variables, except for ash content. The combination of treatments to produce the highest physicochemical characteristics of collagen is a papain enzyme concentration of 4% and an extraction time of 18 hours with a value of 60.19%. The characteristics of the collagen produced are a yield of 0.61%, pH 6.56, water content of 3.82%, ash content of 0.85%, and protein content of 85.29%.

Keywords : *papain enzyme, chicken feet, collagen, enzyme concentration, extraction time*

ABSTRAK

Kolagen merupakan polipeptida yang didominasi oleh asam amino glisin, prolin, dan hidroksiprolin. Polipeptida tersebut dalam bentuk struktur heliks rangkap tiga yang menjadi karakteristik utama kolagen. Ceker ayam yang kaya akan kolagen dapat menjadi alternatif sebagai sumber kolagen yang diterima oleh masyarakat secara luas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi enzim papain dan lama ekstraksi terhadap karakteristik fisikokimia kolagen yang dihasilkan dan menentukan kombinasi perlakuan yang menghasilkan karakteristik fisikokimia kolagen tertinggi. Penelitian ini merupakan penelitian percobaan yang dirancang menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan percobaan faktorial yang terdiri atas dua faktor, yaitu konsentrasi enzim papain (0%, 2%, 4%, dan 6%) dan lama ekstraksi (6, 12, dan 18 jam). Kolagen dalam penelitian ini diuji secara kualitatif (Ninhidrin dan FTIR) dan secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil FTIR menunjukkan keberhasilan dalam mengekstraksi kolagen dengan mempertahankan struktur

* Korespondensi Penulis :

Email : semadi.antara@unud.ac.id

dan komponennya. Variabel fisikokimia yang diamati meliputi rendemen, pH, kadar air, kadar abu, dan kadar protein. Hasil penelitian menunjukkan bahwa interaksi antara kedua perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap variabel yang diamati, kecuali kadar abu. Kombinasi perlakuan untuk menghasilkan karakteristik fisikokimia kolagen tertinggi adalah konsentrasi enzim papain 4% dan lama ekstraksi 18 jam senilai 60,19%. Karakteristik kolagen yang dihasilkan adalah rendemen 0,61%, pH 6,56, kadar air 3,82%, kadar abu 0,85%, dan kadar protein 85,29%.

Kata kunci : enzim papain, ceker ayam, kolagen, konsentrasi enzim, lama ekstraksi

PENDAHULUAN

Sebagian besar kolagen yang dijual di pasaran Indonesia berasal dari produk yang diimpor dari Jepang, Perancis, Brazil, India, China, Jerman, Australia, dan Argentina (Chasanah et al., 2021). Impor kolagen menunjukkan bahwa kebutuhan akan kolagen di dalam negeri sangatlah tinggi. Permintaan kolagen dalam industri makanan, farmasi, dan kosmetik terus meningkat karena manfaatnya yang luas, seperti meningkatkan kesehatan kulit dan mempercepat penyembuhan luka. Secara ilmiah, jumlah kolagen dalam tubuh manusia menurun 1% setiap tahun, sehingga pada usia 30 tahun, tubuh kehilangan kolagen antara 15-20%, kemudian pada usia 40 tahun tubuh manusia tidak lagi memproduksi kolagen, dan tubuh kehilangan kolagen sebesar 35-40% pada usia tersebut (Alhana et al., 2015). Paparan radiasi ultraviolet (UV) dapat menyebabkan kerusakan kolagen pada kulit manusia. Karena kandungan kolagen dalam tubuh manusia berkurang seiring bertambahnya usia, salah satu cara untuk mengatasi kehilangan kolagen dalam tubuh adalah dengan menjalani pola hidup yang sehat, termasuk mengonsumsi makanan dan suplemen yang kaya akan kolagen.

Salah satu protein penghubung jaringan yang bersifat tidak larut dalam air adalah kolagen. Kolagen merupakan tiga puluh persen protein penyusun tubuh manusia (Hukmi et al., 2018). Polipeptida kolagen, yang didominasi oleh asam amino glisin, prolin, dan hidroksiprolin, terbentuk dalam bentuk *fibril* atau heliks rangkap tiga (*triple helix*). Kolagen berfungsi untuk membangun kulit, tulang, otot, sendi, dan gigi di tubuh manusia.

Untuk tujuan komersial, kolagen biasanya berasal dari hewan, seperti sapi, babi, ikan, dan ayam. Kolagen dari ikan memerlukan lebih banyak biaya untuk diproduksi, dan beberapa orang mungkin mengalami alergi terhadap bau ikan yang kuat. Kolagen yang beredar juga umumnya berasal dari tulang atau kulit sapi dan babi. Namun, ada beberapa agama yang melarang penganutnya untuk mengonsumsi produk hewan babi atau sapi (Huang et al., 2016). Oleh karena itu, untuk menyediakan kolagen yang dapat diterima oleh masyarakat secara luas, diperlukan bahan baku alternatif. Ceker ayam adalah salah satu sumber kolagen yang dapat digunakan.

Menurut Susanto et al. (2018), 1,9 juta pasang potongan atau 42,75 ribu ton ceker ayam diproduksi setiap tahun di Indonesia. Purnomo (1992) menyatakan bahwa komposisi ceker ayam terdiri dari protein 22,98 persen, kadar air 65,9%, lemak 5,6 persen, abu 3,49 persen, dan bahan lain 2,03 persen. Menurut Liu et al. (2001), kolagen merupakan komponen utama ceker ayam, dengan nilai sekitar 5,64 hingga 31,39 persen dari total protein, atau 28,73 hingga 36,83 persen. Ini memiliki potensi yang sangat besar untuk menghasilkan kolagen dari ceker ayam.

Dengan menggunakan enzim untuk ekstraksi kolagen, ikatan silang pada zona telopeptida dipecah. Ini meningkatkan solubilitas kolagen dan hasilnya (Shaik et al., 2021). Mengurangi antigenisitas kolagen tidak mengubah struktur heliks rangkap tiga kolagen yang merupakan keuntungan tambahan dari penggunaan enzim dalam proses ekstraksi (Ahmad et al., 2018). Dibandingkan dengan enzim lainnya, enzim papain yang biasanya digunakan dalam ekstraksi, murah dan mudah ditemukan di pasar. Beberapa faktor memengaruhi enzim papain dalam proses ekstraksi, yaitu konsentrasi enzim, lama ekstraksi, pH larutan, suhu ekstraksi, dan konsentrasi substrat (bahan baku). Karena

memengaruhi efektivitas proses ekstraksi secara langsung, konsentrasi enzim dan lama waktu ekstraksi adalah yang paling penting dari semua faktor ini. Dalam penelitian ini, konsentrasi enzim dan lama ekstraksi didasarkan pada prinsip kinetika enzim dan difusi. Konsentrasi enzim yang tepat dapat mempercepat pemecahan protein non kolagen tanpa merusak kolagen, dan lama ekstraksi yang ideal memungkinkan enzim menembus jaringan dengan mudah.

Rahmawati et al. (2020) menghasilkan gelatin yang merupakan turunan kolagen, dengan konsentrasi enzim papain 0%, 1%, 2%, 3%, dan 4%. Hasil penelitian yang dilakukan pada tulang dan ceker ayam menunjukkan bahwa dengan konsentrasi enzim papain 4%, kadar air adalah 6,865%, kadar protein adalah 54,059%, kadar abu adalah 3,572%, dan pH adalah 4,567. Selain itu, Zahra (2021) menggunakan enzim papain untuk ekstraksi kolagen dari kulit ikan Selar Kuning selama 12 dan 24 jam. Penelitiannya mencapai hasil terbaik selama 12 jam dengan rendemen 3,736%, kadar abu 35,896%, dan kadar air 3,868%. Berdasarkan uraian di atas, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi enzim papain dan lama ekstraksi kolagen ceker ayam terhadap karakteristik fisikokimia kolagen, serta untuk menentukan perlakuan konsentrasi enzim papain dan lama ekstraksi yang menghasilkan kolagen tertinggi pada karakteristik fisikokimia kolagen.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu ceker ayam potong segar yang sudah bersih dari kulit kasarnya yang didapatkan dari Pasar Badung, garam, NaOH (Merck), HCL (Merck), CH₃COOH (teknis), enzim papain (Best), H₂SO₄ (Merck), tablet Kjeldahl (Merck), ninhidrin 1%, akuades, asam borat, fenolftalein (Merck), dan KBr (Merck).

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu *erlenmeyer* (Iwaki), *copper stainless* (Philips), *centrifuge* (Dragon LC-045), *vortex mixer* (Thermo), *furnace* (WiseTherm), oven (Maksindo), timbangan (Taffware), desikator (Duran), labu ukur (Iwaki), gelas ukur (Iwaki), inkubator (B-One), stirrer (Max-Blend), spektrofotometer (Thermo), rak dan tabung reaksi (Iwaki), mesin destilasi (Bahrotest), buret (Pyrex), dehidrator, pompa hidrolik, *freezer*, *aluminium foil*, cawan, penggaris, pisau, wadah, kompor, dandang, spatula, saringan, termometer, pH meter, lemari asam, plastik wrap, cobek dan ulekan.

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang disusun secara faktorial dengan 2 faktor. Faktor pertama adalah konsentrasi penambahan enzim papain terdiri dari 4 taraf, yaitu 0%, 2%, 4%, dan 6%. Faktor kedua adalah konsentrasi lama ekstraksi yang terdiri dari 3 taraf, yaitu 6 jam, 12 jam, dan 18 jam. Masing-masing dilakukan dalam 2 (dua) kelompok berdasarkan waktu pengerjaan sehingga terdapat 24 (dua puluh empat) unit percobaan. Data hasil penelitian dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman (ANOVA). Apabila terdapat pengaruh perlakuan terhadap variabel yang diamati, maka dilanjutkan dengan menggunakan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*).

Pelaksanaan Penelitian

Preparasi bahan baku/ceker ayam (modifikasi Rahmawati et al., 2020)

Proses yang pertama, yaitu preparasi alat dan bahan. Bahan baku pada penelitian ini, yaitu ceker ayam potong segar yang sudah bersih dari kulit kasarnya yang dibeli dari Pasar Badung. Kemudian, ceker ayam tersebut dicuci hingga bersih dari sisa kulit kasarnya dan kotoran yang menempel dengan

menggunakan air mengalir sambil dibilas. Kemudian, ceker ayam tersebut dicuci hingga bersih dengan air mengalir. Selanjutnya, ceker ayam direbus pada suhu 75°C selama 5 menit untuk membantu membersihkan dari kotoran yang masih tersisa. Selain itu, perebusan dapat melunakkan dan mengurangi lemak pada ceker. Setelah direbus, dilakukan penumbukan pada ceker ayam menggunakan cobek dan ulekan untuk membantu menghancurkan tulang. Kemudian, ceker ayam dihaluskan menggunakan *copper stainless*. Dalam proses ini, mengacu pada penelitian (Rahmawati et al., 2020) dari pencucian hingga perebusan, penelitiannya memotong ceker ayam 2 cm. Sedangkan, pada penelitian ini untuk yang modifikasi ialah penumbukan dan penghalusan ceker ayam dengan tujuan memudahkan pelarut masuk ke dalam sel.

Pretreatment ceker ayam (Chasanah et al., 2021)

Proses kedua pada penelitian ini, yaitu pretreatment ceker ayam yang sudah halus dengan perendaman menggunakan NaOH 1M selama 24 jam. Pada pretreatment ini dilakukan demineralisasi. Demineralisasi merujuk pada tahap eliminasi kalsium dan garam dari ceker ayam dan menghasilkan struktur tulang lunak yang dikenal sebagai ossein yang mengandung kolagen dan berbagai jenis protein kecil lainnya. Setelah perendaman larutan basa, dilakukan penirisan. Kemudian, dinetralisasi menggunakan air mengalir hingga pHnya netral (6-7).

Ekstraksi (modifikasi Ariyanti et al., 2018 dan Nursyam, 2010)

Proses ketiga pada penelitian ini, yaitu proses ekstraksi. Ekstraksi pada penelitian ini dilakukan metode maserasi menggunakan pelarut asam asetat 0,75M (Ariyanti et al., 2018) dengan penambahan enzim papain (0%, 2%, 4%, dan 6%) selama (6, 12, dan 18 jam). Setelah itu, dilakukan penyaringan. Selanjutnya, dipresipitasi secara *salting out* dengan menambahkan garam sebanyak 10% (Nursyam, 2010) selama 24 jam. Kemudian, disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 4000 rpm untuk mengendapkan serat-serat residu kolagen basah. Endapan tersebut dimasukkan dalam cawan petri. Selanjutnya, dikeringkan dalam dehidrator dengan suhu 30°C selama satu hari untuk mendapatkan kolagen kering.

Variabel yang Diamati

Variabel yang diamati pada penelitian ini meliputi kadar kolagen secara kualitatif (Ninhidrin dan FTIR) serta secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk menentukan perlakuan yang menghasilkan kadar kolagen tertinggi, yaitu pada konsentrasi enzim papain 4% dan lama ekstraksi 12 jam. Selain itu, variabel lainnya adalah mengetahui perlakuan yang menghasilkan kadar kolagen tertinggi, rendemen (Kusa et al., 2022), pH (AOAC 2005), kadar air (AOAC 2005), kadar abu (AOAC 2005), dan kadar protein metode Kjeldahl (AOAC 2005).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitatif dengan Uji Ninhidrin

Hasil uji ninhidrin pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 1. Gambar 1 menunjukkan bahwa sampel menghasilkan warna ungu yang mengindikasikan adanya gugus amina bebas yang berasal dari asam amino pada kolagen. Setiap asam amino alfa bereaksi dengan ninhidrin yang membentuk aldehida yang memiliki satu atom karbon lebih sedikit dan melepaskan amonia dan karbon dioksida (Ata et al., 2016). Amonia ini kemudian bereaksi dengan ninhidrin yang tidak tereduksi untuk menghasilkan *Ruhemann's purple* yang berwarna ungu.

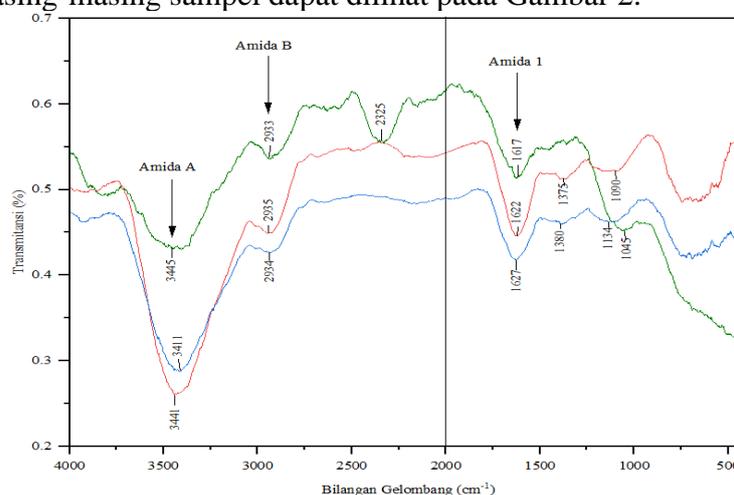


Gambar 1. Hasil uji ninhidrin pada sampel
(Sumber: dokumen pribadi, 2024)

Dalam proses reaksi uji ini, ninhidrin berinteraksi dengan gugus amina ($-\text{NH}_2$) pada asam amino, kemudian mengalami dekarboksilasi yang menghilangkan gugus karboksil ($-\text{COOH}$) sebagai karbon dioksida (CO_2) dan menghasilkan aldehida dengan satu atom karbon lebih sedikit. Selain itu, gugus amina dilepaskan sebagai amonia (NH_3). Hasil akhirnya adalah pembentukan kompleks warna ungu yang menjadi indikator adanya asam amino dalam sampel kolagen.

Kualitatif dengan Analisis Uji FTIR

Spektrum FTIR masing-masing sampel dapat dilihat pada Gambar 2.



Keterangan:

- Bahan Baku
- Konsentrasi Enzim 4% dan Lama Ekstraksi 18 Jam
- Kolagen Murni

Gambar 2. Spektrum FTIR

Tabel 1 menunjukkan indikasi gugus fungsional dari puncak serapan bahan baku, perlakuan konsentrasi enzim 4% dengan lama ekstraksi 12 jam, dan kolagen murni yang dapat terlihat perubahan puncak transmitsinya pada Gambar 1. Pada penelitian ini terdapat amida A dengan wilayah serapan $3350\text{--}3550\text{ cm}^{-1}$ yang memiliki karakteristik adanya renggangan NH (Erizal et al.,

2014). Selain amida A, terdapat juga amida B yang mengindikasikan adanya gugus khas kolagen dengan wilayah serapan 2915-2935 cm^{-1} yang memiliki karakteristik adanya vibrasi regangan simetris dari gugus CH_2 sesuai pernyataan (Coates et al., 2000). Pada bahan baku terdapat puncak serapan 2325 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya CO_2 , dimana sampel bahan baku ini ialah ceker ayam sebelum proses ekstraksi yang telah dipretreatment. Pada penelitian ini terdapat juga amida I dengan wilayah serapan 1600-1690 cm^{-1} yang memiliki karakteristik adanya vibrasi renggangan $\text{C}=\text{O}$ dari ikatan peptida, dimana amida ini berperan sebagai indikator adanya protein kolagen (Mberato et al., 2020). Pada kolagen murni dan perlakuan konsentrasi enzim 4% dan lama ekstraksi 12 jam terdapat indikasi gugus fungsional C-H bending pada gugus metil ($-\text{CH}_3$) yang sering ditemukan pada rantai samping asam amino di protein. Puncak dalam rentang 1045–1134 cm^{-1} menunjukkan adanya ikatan C–O yang terkait dengan kelompok hidroksil dari asam amino seperti hidroksiprolin dalam kolagen.

Tabel 1. Identifikasi gugus fungsional

Bahan Baku	Puncak Serapan (cm^{-1})		Indikasi Gugus Fungsional
	Konsentrasi Enzim 4% dan Lama Ekstraksi 12 Jam	Kolagen Murni	
3445	3441	3411	NH <i>stretching</i>
2933	2935	2934	Asimetrimetrikal <i>stretching</i> CH_2
2325	-	-	CO_2
1617	1622	1627	$\text{C}=\text{O}$ <i>stretching</i>
-	1375	1380	C-H bending
1045	1090	1134	C-O

Pada bahan baku terdapat indikasi gugus fungsi CO_2 yang terdapat perubahan setelah proses ekstraksi. CO_2 ini terlepas karena dari suhu 50°C saat proses ekstraksi yang optimal bagi aktivitas enzim untuk bekerja, mengakibatkan pembebasan asam amino dan komponen lainnya yang kemungkinan dapat menyebabkan CO_2 itu tereliminasi. Selain itu, terdapat perubahan dari spektrum bahan baku yang melemah pada puncak 1375-1380 cm^{-1} ke sampel kolagen menjadi lebih jelas yang disebabkan oleh vibrasi *wragging* CH_2 dari gugus prolin berdasarkan pernyataan Fauziyyah (2017). Perubahan itu karena konsentrasi kolagen yang meningkat, dimana proses ekstraksi dapat menghasilkan konsentrasi kolagen yang lebih tinggi dan berkontribusi pada intensitas puncak yang lebih jelas.

Jika kolagen terakumulasi dan tidak terdegradasi dapat meningkatkan tampilan puncak indikator kolagen, dimana puncak utama indikator kolagen terdapat pada amida I. Amida I sangat sensitif terhadap struktur sekunder protein khususnya struktur heliks- α yang merupakan struktur khas kolagen karena ikatan $\text{C}=\text{O}$ dalam ikatan peptida sangat dominan dalam struktur kolagen. Sejalan dengan penelitian Suptijah et al. (2018) terdapat amida I pada kolagen dari kulit ikan patin dan didukung dengan penelitian Safithri et al. (2019) pada kolagen dari kulit ikan parang-parang. Bahan baku menunjukkan tanda-tanda adanya kolagen tetapi masih mengandung pengotor lainnya dan spektrum puncak indikator kolagennya masih lemah. Sampel perlakuan konsentrasi enzim 4% dengan lama ekstraksi 12 jam berhasil mengekstraksi kolagen dengan mempertahankan struktur dan komponen asam amino penting seperti hidroksiprolin, menunjukkan hasil ekstraksi yang efektif. Kolagen murni menunjukkan spektrum FTIR yang umumnya ideal pada kolagen dengan puncak-puncak yang mengonfirmasi struktur kolagen.

Kadar Kolagen

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa interaksi antara konsentrasi enzim papain dan lama ekstraksi serta masing-masing faktor berpengaruh sangat nyata pada taraf 1% terhadap kadar kolagen.

Nilai rata-rata kadar kolagen ini berkisar antara 44,56% - 60,19% yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai rata-rata kadar kolagen (% bk) terhadap konsentrasi enzim papain dan lama ekstraksi kolagen cekeer ayam

Lama Ekstraksi (Jam)	Konsentrasi Enzim Papain (%)			
	0%	2%	4%	6%
6	44,56±0,02 ^g	46,27±0,14 ^f	48,75±0,60 ^e	46,53±0,30 ^f
12	46,04±0,15 ^f	50,79±0,29 ^d	54,34±0,42 ^c	50,89±0,15 ^d
18	50,06±0,14 ^{de}	55,64±0,31 ^c	60,19±0,44 ^a	57,53±0,58 ^b

Keterangan: bk, yaitu basis kering. Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada taraf 5%. Data merupakan rata-rata dari dua kelompok percobaan.

Tabel 2 menunjukkan hasil rata-rata kadar kolagen tertinggi terdapat pada konsentrasi enzim 4% dan lama ekstraksi 18 jam senilai 60,19% berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Sedangkan, hasil rata-rata terendah terdapat pada konsentrasi enzim 0% dan lama ekstraksi 6 jam senilai 44,56% berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi enzim hingga 4% dan semakin lama ekstraksi, maka cenderung semakin tinggi kadar kolagen yang dihasilkan.

Penggunaan konsentrasi enzim papain yang lebih tinggi dapat menurunkan kadar kolagen karena kemungkinan terjadi degradasi kolagen. Konsentrasi enzim yang optimal dalam penelitian ini, yaitu 4% selaras dengan penelitian Cahyono et al. (2018) mengenai kadar protein dimana kolagen merupakan bagian dari protein, menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi enzim papain sampai batas tertentu, maka semakin tinggi juga jumlah protein yang dihasilkan, dimana sama halnya dengan jumlah kolagen. Semakin lama waktu ekstraksi yang diperlakukan dalam penelitian ini cenderung kadar kolagen semakin meningkat karena kolagen memiliki struktur tripel heliks yang membutuhkan waktu lebih lama untuk dilepaskan dari matriks jaringan ikat yang menyebabkan peningkatan kadar kolagen terjadi setelah waktu yang lebih lama dibandingkan peningkatan kadar protein totalnya.

Pada penelitian ini, kadar kolagen yang didapatkan lebih tinggi daripada penelitian Endah Dwijayanti et al. (2023) yang juga menghitung kadar kolagen pada kulit ikan dengan jumlah rerata 6,27%. Protein total lebih tinggi dibandingkan kadar kolagen pada penelitian ini, dikarenakan protein non kolagen kemungkinan terakumulasi yang dihitung dalam nilai total protein.

Rendemen

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa interaksi antara konsentrasi enzim papain dan lama ekstraksi serta masing-masing faktor berpengaruh sangat nyata pada taraf 1% terhadap rendemen kolagen. Rendemen pada penelitian ini sangat kecil, kemungkinan karena pada proses pretreatment waktu perendaman yang dilakukan dengan NaOH sangat lama, yaitu 24 jam sehingga dapat berpotensi menyebabkan denaturasi kolagen atau pemecahan struktural kolagen itu sendiri berdasarkan pernyataan Mokhtar et al. (2017) juga pada proses ekstraksi, penggunaan pelarut yang lebih besar memberikan lebih banyak ruang bagi enzim atau bahan kimia untuk bekerja secara efisien dalam memecah dan melarutkan kolagen. Nilai rata-rata rendemen penelitian ini berkisar antara 0,24% - 0,74% yang dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3 menunjukkan bahwa rendemen tertinggi terdapat pada konsentrasi enzim 6% dan lama ekstraksi 18 jam senilai 0,74% berbeda nyata dengan perlakuan lainnya, diikuti oleh konsentrasi 6% dan lama ekstraksi 12 jam senilai 0,67%. Sedangkan, rendemen terendah terdapat pada konsentrasi enzim 0% dan lama ekstraksi 6 jam senilai 0,24% tidak signifikan dengan konsentrasi 0% dan lama ekstraksi 12 jam, diikuti oleh konsentrasi 0% dan lama ekstraksi 18 jam tidak signifikan dengan

konsentrasi 2% dan lama ekstraksi 6 jam. Dari rerata perlakuan konsentrasi berbeda nyata dengan nilai terendah pada konsentrasi 0% dan nilai tertinggi pada konsentrasi 6%. Juga rerata perlakuan lama ekstraksi berbeda nyata dengan nilai terendah pada 6 jam dan nilai tertinggi pada 18 jam.

Tabel 3. Nilai rata-rata rendemen (% bk) pada perlakuan konsentrasi enzim papain dan lama ekstraksi kolagen ceker ayam

Lama Ekstraksi (Jam)	Konsentrasi Enzim Papain (%)			
	0%	2%	4%	6%
6	0,24±0,000 ⁱ	0,30±0,011 ⁱ	0,41±0,005 ^g	0,48±0,007 ^e
12	0,26±0,006 ⁱ	0,38±0,004 ^h	0,50±0,007 ^d	0,67±0,006 ^b
18	0,30±0,006 ⁱ	0,45±0,004 ^f	0,61±0,000 ^c	0,74±0,001 ^a

Keterangan: bk, yaitu basis kering. Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada taraf 5%. Data merupakan rata-rata dari dua kelompok percobaan.

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi enzim papain dan semakin lama ekstraksi, maka cenderung semakin tinggi juga nilai rendemen yang didapatkan selaras dengan penelitian gelatin oleh Haryati et al. (2019). Hal ini dapat mengakibatkan protein non kolagen akan terdegradasi dengan lebih efisien yang jika terpecah, kolagen menjadi lebih mudah diakses dan dapat terekstraksi lebih baik. Selain itu, juga meningkatkan penetrasi enzim ke dalam jaringan yang berarti enzim dapat menjangkau dan memecah ikatan peptida di bagian dalam jaringan.

Hasil perlakuan konsentrasi enzim papain pada penelitian ini selaras dengan penelitian Rahmawati et al. (2020) dimana rata-rata rendemen menunjukkan kecenderungan peningkatan seiring dengan bertambahnya konsentrasi enzim papain, diduga karena semakin banyak substrat yang dapat berinteraksi dengan situs aktif enzim papain sehingga laju reaksi meningkat dan jumlah hasil reaksinya bertambah. Sedangkan, untuk hasil perlakuan lama ekstraksi pada penelitian ini selaras dengan penelitian Kusa et al. (2022) terjadi peningkatan jumlah rendemen seiring dengan meningkatnya waktu ekstraksi, ini diduga semakin banyak cairan yang dapat masuk ke dalam jaringan yang kemudian mempermudah proses pelarutan kolagen karena perpindahan molekul selama proses difusi dipengaruhi oleh durasi waktu.

Kadar Keasaman (pH)

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa interaksi antara konsentrasi enzim papain dan lama ekstraksi serta masing-masing faktor berpengaruh sangat nyata pada taraf 1% terhadap kadar keasaman kolagen. Nilai rata-rata pH penelitian ini berkisar 6,00–7,00 dan memenuhi SNI 8076 (2014), kecuali pada konsentrasi enzim 0% dengan rentang 6,50–8,00 yang dapat dilihat di Tabel 4. Tabel 4. Nilai rata-rata pH pada perlakuan konsentrasi enzim papain dan lama ekstraksi kolagen dari ceker ayam

Lama Ekstraksi (Jam)	Konsentrasi Enzim Papain (%)			
	0%	2%	4%	6%
6	6,20±0,01 ⁱ	6,61±0,01 ^{ef}	6,89±0,01 ^b	7,00±0,01 ^a
12	6,01±0,01 ^j	6,59±0,00 ^f	6,72±0,01 ^d	6,76±0,01 ^c
18	6,00±0,01 ^j	6,50±0,01 ^h	6,56±0,01 ^g	6,64±0,01 ^e

Keterangan: huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada taraf 5%. Data merupakan rata-rata dari dua kelompok percobaan.

Tabel 4 menunjukkan hasil rata-rata pH tertinggi terdapat pada konsentrasi enzim 6% dan lama

ekstraksi 6 jam senilai 7,00 berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Sedangkan, hasil rata-rata pH terendah terdapat pada perlakuan konsentrasi 0% dan lama ekstraksi 18 jam senilai 6,00, namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi enzim 0% dan lama ekstraksi 12 jam senilai 6,01.

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi enzim papain dan semakin sedikit waktu ekstraksi, maka cenderung semakin meningkat nilai pH yang dihasilkan. Hal ini dapat diakibatkan oleh aktivitas enzim yang lebih cepat dalam memecah protein tanpa akumulasi asam yang signifikan, sehingga menghasilkan larutan dengan nilai pH yang lebih tinggi.

Hasil perlakuan konsentrasi enzim papain pada penelitian ini selaras dengan penelitian Rahmawati et al. (2020) dimana rata-rata pH cenderung naik seiring dengan bertambahnya konsentrasi enzim papain. Sedangkan, untuk hasil perlakuan lama ekstraksi pada penelitian ini selaras dengan penelitian Yusuf (2021) dimana jika semakin lama ekstraksi maka nilai pH cenderung semakin rendah yang menunjukkan suatu keasaman. Hal ini, diduga karena selama ekstraksi kolagen penelitian ini menggunakan asam dalam melarutkan enzim yang digunakan dan kemungkinan terdapat sisa asam yang terserap dalam struktur bahan baku dan memengaruhi pH terutama dengan lamanya ekstraksi yang memperpanjang paparan bahan baku terhadap kondisi asam.

Kadar Air

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa interaksi antara konsentrasi enzim papain dan lama ekstraksi serta masing-masing faktor berpengaruh sangat nyata pada taraf 1% terhadap kadar air kolagen. Nilai rata-rata kadar air ini berkisar antara 3,70% – 5,89% memenuhi syarat mutu kolagen maksimum 12% pada SNI 8076 (2014) yang dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Nilai rata-rata kadar air (% bk) pada perlakuan konsentrasi enzim papain dan lama ekstraksi kolagen cecek ayam

Lama Ekstraksi (Jam)	Konsentrasi Enzim Papain (%)			
	0%	2%	4%	6%
6	5,89±0,04 ^a	5,70±0,02 ^b	5,35±0,01 ^d	4,60±0,02 ^f
12	5,65±0,01 ^c	5,20±0,02 ^d	4,53±0,04 ^f	4,34±0,01 ^h
18	4,77±0,01 ^e	4,44±0,03 ^g	3,82±0,01 ⁱ	3,70±0,01 ^j

Keterangan: bk, yaitu basis kering. Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada taraf 5%. Data merupakan rata-rata dari dua kelompok percobaan.

Tabel 5 menunjukkan hasil rata-rata kadar air tertinggi terdapat pada konsentrasi enzim 0% dengan lama ekstraksi 6 jam senilai 5,89% berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Sedangkan hasil rata-rata terendah terdapat pada konsentrasi enzim 6% dengan lama ekstraksi 18 jam senilai 3,70% yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi enzim papain dan semakin lama ekstraksi, maka cenderung semakin menurun nilai kadar air yang dihasilkan.

Penurunan kadar air yang terjadi dengan meningkatnya konsentrasi enzim papain dan lama waktu ekstraksi kolagen disebabkan oleh proses pemecahan struktur kolagen yang mengurangi kapasitasnya untuk menahan air. Konsep isoklometrik mengacu pada kondisi dimana volume tetap. Dalam konteks ekstraksi kolagen, saat volume matriks kolagen relatif stabil, peningkatan interaksi antar molekul kolagen yang dihasilkan dari hidrolisis mengurangi ruang yang tersedia untuk menampung air bebas. Hal ini menyebabkan lebih banyak air terlepas dari sistem, sehingga menurunkan kadar air dalam produk akhir.

Hasil perlakuan lama ekstraksi pada penelitian ini selaras dengan penelitian Ulfah (2011) dimana semakin lama waktu perendaman, kadar air cenderung semakin menurun. Hal ini diduga karena

semakin banyak air yang tereliminasi dari matriks kolagen, sejalan dengan degradasi dan pelepasan protein-protein non kolagen. Pada penelitian ini, semakin tinggi konsentrasi enzim papain cenderung semakin menurun nilai kadar air yang dihasilkan. Hal ini diduga karena enzim papain berfungsi untuk memecah protein-protein non kolagen dan proses ini mengakibatkan pengurangan kadar air karena protein lain yang menyerap air telah terpecah dan dihilangkan.

Kadar Abu

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi enzim papain dan lama ekstraksi berpengaruh sangat nyata pada taraf 1%, tetapi interaksi antara keduanya tidak menunjukkan pengaruh signifikan terhadap kadar abu kolagen. Nilai rata-rata kadar abu ini berkisar antara 0,71% – 0,99% memenuhi syarat mutu kolagen maksimum 1% pada SNI 8076 (2014) yang dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Nilai rata-rata kadar abu (% bk) pada perlakuan konsentrasi enzim papain dan lama ekstraksi kolagen ceker ayam

Lama Ekstraksi (Jam)	Konsentrasi Enzim Papain (%)				Rerata
	0%	2%	4%	6%	
6	0,96±0,01	0,87±0,01	0,75±0,01	0,71±0,02	0,82±0,01 ^c
12	0,97±0,01	0,89±0,00	0,82±0,02	0,74±0,00	0,85±0,01 ^b
18	0,99±0,00	0,94±0,00	0,85±0,03	0,79±0,00	0,89±0,01 ^a
Rerata	0,97±0,01 ^a	0,90±0,00 ^b	0,81±0,02 ^c	0,75±0,01 ^d	

Keterangan: bk, yaitu basis kering. Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada taraf 5%. Data merupakan rata-rata dari dua kelompok percobaan.

Tabel 6 menunjukkan rata-rata kadar abu tertinggi pada perlakuan konsentrasi enzim 0% senilai 0,97% berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Sedangkan, rata-rata kadar abu terendah pada konsentrasi enzim 6% senilai 0,75% berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Dari rerata perlakuan lama ekstraksi, kadar abu tertinggi dengan lama 18 jam senilai 0,89% yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya dan terendah dengan lama 6 jam senilai 0,82% yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya.

Interaksi antara perlakuan konsentrasi enzim papain dan lama ekstraksi kolagen ceker ayam tidak berpengaruh pada kadar abu karena adanya proses pretreatment yang sebagian besar zat anorganik telah terbuang, sehingga kadar abu yang tersisa hanya berasal dari mineral yang sulit larut atau terikat erat dalam jaringan yang tidak mudah larut oleh NaOH yang digunakan dalam proses pretreatment. Kadar abu setelah pretreatment telah stabil dan konstan, sehingga setelah ekstraksi interaksi kedua perlakuan yang dilakukan tidak signifikan dan semua perlakuan pada penelitian ini memenuhi SNI 8076 (2014).

Hal tersebut pada penelitian ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi enzim papain dan semakin sedikit waktu ekstraksi, maka cenderung semakin menurun nilai kadar abu yang dihasilkan. Hasil perlakuan konsentrasi enzim papain pada penelitian ini selaras dengan penelitian Rahmawati et al. (2020) dimana kadar abu cenderung menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi enzim papain kemungkinan karena enzim memecah lebih banyak material organik dalam proses ekstraksi. Pada penelitian ini, jika semakin lama ekstraksi maka nilai kadar abu cenderung semakin meningkat diduga karena waktu ekstraksi yang lebih lama meningkatkan pelepasan sisa komponen non kolagen termasuk sisa mineral yang masih ada dalam bahan baku dapat ikut terlarut selama proses ekstraksi yang berkontribusi pada peningkatan kadar abu.

Kadar Protein

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa interaksi antara konsentrasi enzim papain dan lama ekstraksi serta masing-masing faktor berpengaruh sangat nyata pada taraf 1% terhadap kadar protein kolagen. Nilai rata-rata kadar protein ini berkisar antara 75,55% – 90,32% yang dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Nilai rata-rata kadar protein (% bk) pada perlakuan konsentrasi enzim papain dan lama ekstraksi kolagen ceker ayam

Lama Ekstraksi (Jam)	Konsentrasi Enzim Papain (%)			
	0%	2%	4%	6%
6	75,55±0,03 ^k	83,79±0,08 ^e	87,11±0,06 ^b	80,17±0,08 ^h
12	79,12±0,06 ⁱ	85,37±0,02 ^d	90,32±0,16 ^a	82,66±0,01 ^f
18	76,54±0,06 ^j	86,36±0,09 ^c	85,29±0,06 ^d	81,29±0,07 ^g

Keterangan: bk, yaitu basis kering. Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada taraf 5%. Data merupakan rata-rata dari dua kelompok percobaan.

Tabel 7 menunjukkan hasil rata-rata kadar protein tertinggi terdapat pada konsentrasi enzim 4% dan lama ekstraksi 12 jam senilai 90,32% berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Sedangkan, hasil rata-rata terendah terdapat pada konsentrasi enzim 0% dan lama ekstraksi 6 jam senilai 75,55% berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Dari rerata perlakuan konsentrasi enzim papain dan lama ekstraksi pada penelitian ini, nilai terendah pada konsentrasi enzim 0% dan nilai tertinggi pada konsentrasi enzim 4% di 6 jam dan 12 jam, di 18 jam dengan konsentrasi enzim 2%.

Kondisi optimal untuk ekstraksi kolagen dari ceker ayam berdasarkan hasil penelitian ini adalah menggunakan konsentrasi enzim papain 4% dengan lama ekstraksi 12 jam yang menghasilkan kadar protein tertinggi. Pada penelitian ini yang optimal menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi hingga 4% dan semakin lama ekstraksi hingga 12 jam, maka cenderung semakin tinggi kadar protein yang dihasilkan. Penggunaan konsentrasi enzim papain yang lebih tinggi dan waktu ekstraksi yang lebih lama dapat menurunkan kadar protein karena kemungkinan terjadi degradasi protein.

Hasil perlakuan lama ekstraksi pada penelitian ini selaras dengan penelitian Miskiyah et al. (2022) dimana semakin lama waktu perendaman maka kadar protein yang dihasilkan semakin kecil. Hal ini diduga karena papain sebagai enzim proteolitik dapat memecah protein menjadi peptida dan asam amino jika waktu kontakannya terlalu lama. Hasil perlakuan konsentrasi enzim papain pada penelitian ini selaras dengan penelitian Cahyono et al. (2018) dimana semakin tinggi konsentrasi enzim papain sampai batas tertentu, maka semakin tinggi juga jumlah protein yang dihasilkan. Hal ini diduga semakin tinggi konsentrasi enzim papain hingga batas tertentu, jumlah protein yang dihasilkan semakin tinggi karena enzim papain lebih banyak tersedia untuk menghidrolisis kolagen menjadi bentuk protein larut. Namun, di atas konsentrasi tertentu, enzim berlebih dapat menyebabkan overhidrolisis, dimana protein dipecah menjadi fragmen kecil atau asam amino sehingga pada konsentrasi tinggi, hasil protein dapat menurun.

KESIMPULAN

Kesimpulan

Pada penelitian ini dilakukan uji kuantitatif yang terdapat uji ninhidrin dan FTIR. Uji ninhidrin menunjukkan bahwa ekstraksi kolagen berhasil melepaskan asam amino yang bereaksi dengan ninhidrin menghasilkan warna ungu. Juga didukung oleh uji FTIR yang menunjukkan keberhasilan dalam mengekstraksi kolagen dengan mempertahankan struktur dan komponennya. Perlakuan

konsentrasi enzim papain dan lama ekstraksi serta interaksi antara keduanya sangat berpengaruh terhadap rendemen, pH, kadar air, dan kadar protein pada kolagen. Konsentrasi enzim papain dan lama ekstraksi berpengaruh, tetapi interaksi antara kedua perlakuan terhadap kadar abu tidak berpengaruh. Perlakuan dalam menghasilkan kolagen tertinggi dari kadar kolagen berdasarkan uji kuantitatifnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis, yaitu konsentrasi enzim papain 4% dan lama ekstraksi 18 jam senilai 60,19%. Karakteristik kolagen yang dihasilkan adalah rendemen 0,61%, pH 6,56, kadar air 3,82%, kadar abu 0,85%, dan kadar protein 85,29%. Perlakuan dalam menghasilkan kolagen tertinggi dari kadar kolagen berdasarkan uji kuantitatifnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis, yaitu konsentrasi enzim papain 4% dan lama ekstraksi 18 jam senilai 60,19%. Karakteristik kolagen yang dihasilkan adalah rendemen 0,61%, pH 6,56, kadar air 3,82%, kadar abu 0,85%, dan kadar protein 85,29%.

Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, disarankan untuk mengekstraksi kolagen ceker ayam dengan perlakuan konsentrasi enzim 4% dan lama ekstraksi 18 jam untuk mendapatkan kadar kolagen tertinggi. Rendemen yang didapatkan sangat kecil dan disarankan juga melakukan penelitian lebih lanjut terkait faktor lama perendaman dengan larutan basa NaOH pada proses pretreatment serta faktor perbandingan antara bahan baku dan pelarut pada proses ekstraksi. Selain itu, disarankan untuk uji aktivitas enzim sebelum digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, T., Ismail, A., Ahmad, S. A., Khalil, K. A., Awad, E. A., Leo, T. K., Imlan, J. C., dan Sazili, A. Q. 2018. Characterization of gelatin from bovine skinextracted using ultrasound subsequent to bromelain pretreatment. *Food Hydrocolloids*, 80, 264-273. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.01.036>
- Alhana, A., Suptijah, P., dan Tarman, K. 2015. Extraction and characterization of collagen from sea cucumber flesh. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 18(2), 150–161. <https://doi.org/10.17844/jphpi.2015.18.2.150>
- Ariyanti, A., Dewi, M., Hapsari, A. P., dan Mashadi. 2018. Perbandingan kadar kolagen cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) dengan cangkang kerang hijau (*Mytilus viridis*) di Bandengan, Kendal, Jawa Tengah. *Jurnal Pharmascience*, 05(02), 134–142. <http://dx.doi.org/10.20527/jps.v5i2.5795>
- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis. In Mayland. 18thed. USA: The Association of Official Analytical Chemist.
- Ata, S. T., Yulianty, R., Sami, F. J., dan Ramli, N. 2016. Isolasi kolagen dari kulit dan tulang ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*). *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 1(1), 27-30.
- Badan Standardisasi Nasional. 2014. Kolagen kasar dari sisik atau kulit ikan. <http://sispk.bsn.go.id/SNI/DetailSNI/13176>. Diakses pada 03 Februari 2024.
- Cahyono, E., Rahmatu, R., Ndobe, S., dan Mantung, A. 2018. Ekstraksi dan karakterisasi gelatin tulangtuna pada berbagai konsentrasi enzim papain gelatine extraction and characterization from tuna bone in various concentration of papain. *Jurnal Teknologi Hasil Perikanan*, 7(2), 148–153.
- Chasanah, N. R., Dewi Rahmawati, Y., dan Hasdar, M. 2021. Efektivitas hcl dan naoh sebagai pretreatment kolagen kulit kaki ayam. *Jurnal Ilmiah Gizi dan Kesehatan (JIGK)*, 3(01), 17–

25. <https://doi.org/10.46772/jigk.v3i01.562>
- Coates, J. 2000. Interpretation of infrared spectra, a practical approach. In Meyers RA (Eds.), *Encyclopedia of analytical chemistry*. Chichester: John Wiley and Sons Ltd.
- Endah, D., Munadi, R., & Farnatubun, M. W. 2023. Analisis proksimat dan kolagen pada kulit ikan tawassang (*Naso thynnoides*). *Jurnal Teknologi*, 18(02), 103–107. <https://doi.org/10.47398/iltek.v18i02.124>
- Erizal, Perkasa, D. P., Abbas, B., Sudirman, S., dan Sulistioso, G. S. 2014. Fast swelling superabsorbent hydrogels starch based prepared by gamma radiation techniques. *Indonesian Journal of Chemistry*, 14(3), 246-252.
- Fauziyyah, H. H. 2017. Pengaruh konsentrasi asam fosfat dan lama perendaman terhadap kualitas gelatin tulang ayam broiler (*Gallus domestica*). Skripsi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang, Indonesia.
- Haryati, D., Nadhifa, L., dan Nurlaila A. 2019. Ekstraksi dan karakterisasi gelatin kulit ikan baronang (*Siganus canaliculatus*) dengan metode enzimatis menggunakan enzim bromelin. *Canrea Journal*, 2(1).
- Huang, C. Y., Kuo, J. M., Wu, S. J., dan Tsai, H. T. 2016. Isolation and characterization of fish scale collagen from tilapia (*Oreochromis sp.*) by a novel extrusion-hydro-extraction process. *Food Chemistry*, 190, 997–1006. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.066>
- Hukmi, N. M. M., dan Sarbon, N. M. 2018. Isolation and characterization of acid soluble collagen (ASC) and pepsin soluble collagen (PSC) extracted from silver catfish (*Pangasius sp.*) skin. *International Food Research Journal*, 25(5), 1785-1791. <http://www.ifrj.upm.edu.my>
- Mberato, S. P., Rumengan, I. F. M., Warouw, V., Wulur, S., Rumampuk, N. D. T., Undap, S. L., Suptijah, P., dan Luntungan, A. H. 2020. Penentuan struktur molekul kolagen sisik ikan kakatua (*Scarus sp*) berdasarkan serapan molekul terhadap gelombang FTIR. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 8(1), 7-14.
- Mokhtar, N. D., Widya, A. W., Nurul, A. H., Hazrina, A. H., Muhamad, S. A. H., dan Noraslinda, M. B. 2017. Extraction optimization and characterization of collagen from chicken (*Gallus gallus domesticus*) feet. *DIRPUB*. 79-85. <https://doi.org/10.15242/dirpub.dir0417286>
- Miskiyah, M., Sasmitaloka, K. S., dan Budiyanoto, A. 2022. Pengaruh lama waktu perendaman terhadap karakteristik gelatin ceker ayam. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 16(2), 186–192. <https://doi.org/10.21107/agrointek.v16i2.11846>
- Nursyam, H. 2010. Ekstraksi kolagen dari limbah kulit ikan tuna (*Thunnus sp*) dengan berbagai konsentrasi NaCl. *Jurnal Penelitian Perikanan*, 13(1), 107-113.
- Tawisna, W., Andarini, dan Edison. 2022. Komposisi fisikokimia kolagen teripang berunok (*Paracaudina australis*) di ekstrak dengan asam asetat konsentrasi berbeda. *Jurnal Online Mahasiswa* (Vol. 9, Issue 2).
- Purnomo, E. 1992. *Penyamakan kulit kaki ayam*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius. [Online]. Available: <https://balaiyanpus.jogjaprovo.go.id/opac/detail-opac?id=61931>.
- Kusa, S. R., Naiu, A. S., dan Yusuf, N. 2022. Karakteristik kolagen kulit tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*) pada waktu hidro-ekstraksi berbeda dan potensinya dalam bentuk sediaan nanokolagen. *Media Teknologi Hasil Perikanan*, 10(2), 107–116. <https://doi.org/10.35800/mthp.10.2.2022.41716>
- Rahmawati, R., dan Nurjanah, S. 2020. Pengaruh konsentrasi enzim papain terhadap mutu gelatin bubuk dari tulang dan cakar ayam. *Jurnal Konversi*, 9(1), 39-51. <https://doi.org/10.24853/konversi.9.1.14>
- Safithri, M., Tarman, K., Suptijah, P., dan Widowati, N. 2019. Karakteristik fisikokimia kolagen larut

- asam dari kulit ikan parang-parang (*Chirocentrus dorab*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 22(3): 441-452.
- Shaik, M. I., Chong, J. Y., dan Sarbon, N. M. 2021. Effect of ultrasound-assisted extraction on the extractability and physicochemical properties of acid and pepsin soluble collagen derived from sharpnose stingray (*Dasyatis zugei*) skin. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 38. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102218>
- Susanto, E., Rosyidi, D., Radiati, L. E., dan Subandi, S. 2018. Optimasi aktivitas antioksidan peptida aktif dari ceker ayam melalui hidrolisis enzim papain. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak*, 13(1), 14–26. <https://doi.org/10.21776/ub.jitek.2018.013.01.2>
- Suptijah, P., Indriani, D., dan Wardoyo, S. E. 2018. Isolasi dan karakterisasi kolagen dari kulit ikan patin (*Pangasius sp.*). *Jurnal Sains Natural*, 8(1), 8-23. <https://doi.org/10.31938/jsn.v8i1.106>
- Ulfah, M. 2011. The effect concentration of acetic acid solution and soaking time on chicken claw gelatin characteristics. In *AGRITECH* (Vol. 31, Issue 3).
- Yusuf, N. M. 2021. Pengaruh lama perendaman dengan asam fosfat dan suhu ekstraksi terhadap kualitas gelatin tulang ikan tongkol (*Euthynnus affinis*). Thesis. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang, Indonesia.
- Zahra, S. A. 2021. Ekstraksi kolagen dari kulit ikan selar kuning (*Selaroides leptolepis*) dengan metode ekstraksi kolagen larut asam dengan penambahan enzim papain. Skripsi. Universitas Pertamina, Jakarta Selatan, Indonesia.