



Karakterisasi Hidrolisat Kolagen dari Tulang Ikan Sarden (*Dussumieria elopsoidea*) Sebagai Penghambat α -Amilase

Syakina Marilan Daaliwa^{1*}, Netty Ino Ischak², La Alio³, Weny J. A. Musa⁴, Arviani⁵

¹Universitas Negeri Gorontalo, Gorontalo 96554, Indonesia

*Corresponding author: syakinamarilandaaliwa@gmail.com,

DOI: <https://doi.org/10.34312/je.v20i1.32489>

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi hidrolisat kolagen yang diekstraksi dari tulang ikan sarden (*Dussumieria elopsoidea*) serta mengevaluasi aktivitasnya sebagai inhibitor enzim α -amilase, yang berperan penting dalam pengelolaan diabetes tipe 2. Proses ekstraksi kolagen dilakukan melalui tahap deproteinisasi dan perendaman dalam asam asetat, kemudian dilakukan karakterisasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis untuk mengukur kadar kolagen dan konsentrasi larutan, serta analisis asam amino dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC). Dari 6,62 kg tulang ikan sarden diperoleh 6,2 gram kolagen kering dengan kadar kolagen sebesar 3,9721% dan konsentrasi larutan kolagen mencapai 39,721 ppm. Profil asam amino menunjukkan dominasi residu prolin (47,63%), glisin (8,89%), dan arginin (9,18%), yang merupakan komponen utama dalam struktur kolagen dan berpotensi memiliki aktivitas bioaktif, khususnya dalam menghambat enzim pencernaan karbohidrat. Aktivitas inhibisi terhadap enzim α -amilase diuji dengan berbagai konsentrasi hidrolisat kolagen dan dibandingkan dengan akarobosa sebagai kontrol positif. Hasil uji menunjukkan bahwa kolagen tulang ikan sarden memiliki kemampuan inhibisi yang terbatas, dengan inhibisi maksimum hanya mencapai 23% dan nilai IC_{50} tidak terdeteksi (ND), sedangkan akarobosa menunjukkan inhibisi sebesar 66% dengan IC_{50} sebesar 8,645 ppm. Penelitian ini menyimpulkan bahwa meskipun kolagen dari tulang ikan sarden memiliki komposisi asam amino yang mendukung, potensinya sebagai inhibitor enzim α -amilase masih perlu dioptimalkan lebih lanjut untuk aplikasi terapeutik dalam pengendalian diabetes.

Kata kunci: Hidrolisat Kolagen, Ikan Sarden (*Dussumieria Elopsoidea*), α -Amilase, Inhibitor Enzim, Antidiabetes.

Abstract

This study aims to characterize collagen hydrolysate extracted from sardine bones (*Dussumieria elopsoidea*) and evaluate its activity as an α -amylase enzyme inhibitor, which plays an important role in the management of type 2 diabetes. The collagen extraction process was carried out through deproteinization and soaking in acetic acid, then characterization using UV-Vis spectrophotometry to measure collagen content and solution concentration, as well as amino acid analysis using high-performance liquid chromatography (HPLC) method. From 6.62 kg of sardine bones, 6.2 grams of dried collagen was obtained with a collagen content of 3.9721% and a collagen solution concentration of 39.721 ppm. The amino acid profile showed the dominance of proline residues (47.63%), glycine (8.89%), and arginine (9.18%), which are the main components in the collagen structure and have potential bioactive activities, especially in inhibiting carbohydrate digestive enzymes. The inhibitory activity against α -amylase enzyme was tested with various concentrations of collagen hydrolysate and compared with akarobosa as a positive control. The test results showed that sardine bone collagen had limited inhibition ability, with maximum inhibition only reaching 23% and IC_{50} value of not detected (ND), while akarobosa showed 66% inhibition with IC_{50} of 8.645 ppm. This study concludes that although collagen from sardine bones has a favorable amino acid composition, its potential as an α -amylase enzyme inhibitor still needs to be further optimized for therapeutic applications in diabetes control.

Keywords: *Collagen Hydrolysate, Sardine Fish (Dussumieria elopsoidea), α -Amylase, Enzyme Inhibitor, Antidiabetic.*

The format cites this article in APA style:

Daaliwa, S. M., Ischakm N. I., Alio, L., Musa, W. J. A., Arviani. (2025). Karakterisasi Hidrolisat Kolagen dari Tulang Ikan Sarden (*Dussumieria elopsoidea*) Sebagai Penghambat α -Amilase. *Jurnal Entropi*, 20(1), 22-28. <https://doi.org/10.34312/je.v20i1.32489>

PENDAHULUAN

Ikan merupakan sumber daya hayati perairan yang kaya akan protein, lemak, vitamin, dan mineral, sehingga menjadi komoditas pangan strategis untuk menunjang kesehatan masyarakat (Baehaki et al., 2016). Selain nilai nutrisinya, ikan juga mengandung senyawa bioaktif seperti kolagen yang potensial dikembangkan dalam bidang farmasi dan kesehatan.

Kolagen adalah protein struktural utama dalam jaringan ikat (kulit, tulang, tendon, ligamen) dan menyusun sekitar 25–35% dari total protein tubuh hewan (Gunawan, 2022). Kolagen ikan, yang tersusun atas asam amino seperti glisin, prolin, hidroksiprolin, dan alanin (Fawzya et al., 2016), memiliki keunggulan dibandingkan kolagen mamalia: lebih aman dari risiko zoonosis, memiliki bioavailabilitas tinggi, serta ramah terhadap keberagaman budaya dan agama (Gunawan, 2022). Salah satu sumber kolagen potensial adalah ikan sarden (*Dussumieria elopsoidea*), yang banyak dikonsumsi di Indonesia, memiliki ukuran kecil, kandungan minyak tinggi, dan tersedia melimpah. Pemanfaatan kolagen dari ikan sarden dapat diarahkan untuk pengembangan produk kesehatan, khususnya dalam pengendalian penyakit degeneratif seperti Diabetes Melitus (DM). Diabetes Melitus adalah gangguan metabolik kronis dengan prevalensi tinggi secara global. Pada tahun 2017, WHO dan IDF melaporkan 426 juta penderita DM di dunia, dengan proyeksi 21,3 juta penderita di Indonesia pada 2030 (Lafau, 2021). Sekitar 90% kasus merupakan DM tipe 2, ditandai oleh resistensi insulin dan gangguan metabolisme glukosa (Adiputra, 2018). Salah satu strategi terapi DM tipe 2 adalah penghambatan enzim α -amilase, yang

berperan dalam hidrolisis karbohidrat menjadi glukosa. Inhibisi enzim ini dapat memperlambat penyerapan glukosa, membantu mengontrol kadar gula darah. Kolagen diketahui memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antikanker, dan potensi antidiabetes (Rahman et al., 2021). Dengan demikian, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi kolagen dari tulang ikan sarden sebagai agen antidiabetes melalui mekanisme inhibisi enzim α -amilase. Studi ini juga mendukung upaya pemanfaatan limbah ikan serta pengembangan bahan aktif alami yang aman dan ekonomis.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus hingga Desember 2024. Proses ekstraksi dan analisis dilakukan di Laboratorium Kimia, UPTD-Balai Penerapan Pengujian Mutu dan Diversifikasi Produk Perikanan (UPTD-BPPMDPP) Provinsi Gorontalo, serta di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT), Universitas Gadjah Mada.

Alat yang digunakan adalah lemari pendingin, gelas ukur, kertas pH, kertas saring, pipet tetes, corong, batang pengaduk, aluminium foil, oven, cawan petri, cawan porselen, tabung reaksi, rak tabung reaksi, mortar dan alu, neraca analitik, spektrofotometer UV-Vis, mikroplate reader, perangkat HPLC, dan milipore filter.

Sedangkan bahan yang digunakan adalah tulang ikan sarden (*Dussumieria elopsoidea*), kolagen standar (p.a.), NaOH, CH₃COOH, NaCl, aquadest, HCl, metanol, natrium asetat, trietilamin, pikoiodotiosianat, asetonitril, buffer fosfat, enzim α -amilase, DMSO, 4-nitrofenil- α -D-glukopiranosida, dan Na₂CO₃. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan pendekatan kuantitatif. Tahapan penelitian meliputi preparasi

sampel, ekstraksi kolagen, analisis kadar kolagen dengan metode Lowry menggunakan spektrofotometri UV-Vis, analisis komposisi asam amino dengan HPLC, dan uji aktivitas inhibisi enzim α -amilase.

Preparasi Sampel

Tulang ikan sarden diperoleh dari Pasar Ikan Gogagoman, Kota Kotamobagu, Sulawesi Utara. Kulit ikan dibersihkan dari sisa daging, dipotong kecil, dan disimpan dalam freezer hingga digunakan.

Ekstraksi Kolagen

Ekstraksi kolagen dilakukan melalui enam tahap:

1. **Deproteinisasi:** Tulang ikan direndam dalam larutan NaOH 0,1 M dengan perbandingan 1:10 (b/v) selama 24 jam (Astiana et al., 2016), kemudian dicuci dengan aquadest hingga pH netral.
2. **Perendaman Asam:** Sampel yang telah dideproteinisasi direndam dalam larutan asam asetat (CH_3COOH) dengan konsentrasi 0,3 M; 0,5 M; dan 0,7 M (1:10 b/v) selama 3 jam (modifikasi dari Tabarestani et al., 2012). **Penyaringan:** Sampel disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dari residu.
3. **Penambahan NaCl:** Filtrat sebanyak 1,8 mL ditambahkan NaCl 0,9 M dan dihomogenkan hingga terbentuk gumpalan putih, kemudian didiamkan.
4. **Penyaringan kedua:** Gumpalan disaring untuk memisahkan residu berupa kolagen basah.
5. **Netralisasi dan Pengeringan:** Kolagen basah dicuci dengan aquadest sebanyak 5 kali (100 mL tiap kali) hingga pH netral, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C selama 24 jam dan digerus hingga halus.

Analisis Kadar Kolagen (Metode Lowry, UV-Vis)

Pembuatan Larutan Standar: Kolagen p.a. 50 mg dilarutkan dan diencerkan hingga 50 mL (1000 ppm), larutan induk 5 mL diencerkan menjadi 100 ppm, dan deret konsentrasi (5, 10, 20, 40, dan 80 ppm) dibuat dari larutan 100 ppm.s

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum:

Larutan kolagen 20 ppm ditambahkan reagen Lowry B (2,75 mL) dan A (0,25 mL), didiamkan 30 menit lalu diukur pada panjang gelombang 600–700 nm; maksimum diperoleh pada 660 nm.

Pengukuran Sampel: Sampel kolagen (2 mL) ditambah reagen Lowry B dan A, didiamkan 30 menit, absorbansi diukur pada 660 nm, lalu kadar dihitung berdasarkan persamaan regresi linear $Y=aX+b$ $Y=aX+b$ $Y=aX+b$.

Analisis Asam Amino dengan HPLC

1. Hidrolisis Protein

- o Sampel 0,2 g dihidrolisis dengan HCl 6 M (5–10 mL) pada 100°C selama 24 jam, lalu disaring (milipore 45 μm).

2. Pengeringan:

- o 10 μL filtrat ditambah 30 μL larutan pengering (metanol:Na-asetat:trimetilamin = 2:2:1), dikeringkan dengan pompa vakum.

3. Derivatisasi:

- o Ditambahkan 30 μL larutan derivatisasi (metanol:pikoiidotiosianat:trimetilamin = 3:3:4), diencerkan dengan 10 mL asetonitril 60% + Na-asetat 1 M, disaring kembali.

Uji Aktivitas Inhibisi Enzim α -Amilase

Metode diadaptasi dari Li et al. (2018) dengan modifikasi. Prosedur:

1. Persiapan Reaksi:

- o Campurkan 70 μL α -amilase dengan 930 μL buffer natrium fosfat (0,02 M, pH 6,9 + 6 mM NaCl).
- o Tambahkan 800 μL kolagen (konsentrasi 40–200 ppm), inkubasi 30 menit pada 37°C.
- o Tambahkan 500 μL larutan pati 1% dalam buffer, inkubasi ulang 30 menit.
- o Reaksi dihentikan dengan 1000 μL larutan DNS, dipanaskan 10 menit dalam *waterbath*, lalu didinginkan.

2. Perhitungan Aktivitas Inhibisi:

- o Absorbansi diukur, dan inhibisi dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel})}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100\% \quad (1)$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Pembuatan Kolagen dari Kulit dan Tulang Ikan Sarden

Ekstraksi kolagen dari tulang ikan sarden menghasilkan 6,2 gram kolagen kering dari 6,62 kg tulang. Sebaliknya, dari 0,83 kg kulit ikan sarden tidak diperoleh kolagen yang terdeteksi. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh kulit ikan sarden yang tipis sehingga kandungan kolagennya rendah, serta kemungkinan kerusakan struktur kolagen selama pengangkutan atau penyimpanan. Selain itu, efisiensi ekstraksi, terutama pada tahap presipitasi, mungkin kurang optimal sehingga kolagen dari kulit tetap dalam larutan dan tidak mengendap.

Hasil ini menunjukkan bahwa tulang ikan sarden merupakan sumber kolagen yang lebih potensial dibandingkan kulit, terutama pada skala laboratorium dengan metode yang digunakan. Walaupun pada ikan berukuran besar kulit biasanya memiliki rendemen kolagen lebih tinggi, pada ikan kecil seperti sarden, struktur tulang yang padat dengan kandungan kolagen matriks tulang memberikan sumber kolagen yang lebih baik. Temuan ini sejalan dengan laporan Kittiphattanabawon et al. (2005) yang menyatakan bahwa jenis dan ukuran ikan memengaruhi distribusi kolagen pada jaringan tubuh. Oleh karena itu, isolasi kolagen dari tulang lebih disarankan untuk ikan kecil seperti sarden.

Karakterisasi Hidrolisat Kolagen dengan Spektrofotometri UV-Vis

Uji pendahuluan menggunakan spektrofotometri UV-Vis menunjukkan indikasi ketidakmurnian kolagen. Hal ini didukung oleh profil kromatogram HPLC yang memperlihatkan keberadaan asam amino non-kolagen seperti cystine, methionine, tyrosine, phenylalanine, dan histidine. Ketidakmurnian ini kemungkinan disebabkan oleh penggunaan larutan asam pada tahap pemisahan yang melarutkan protein non-kolagen, serta durasi dan konsentrasi perendaman yang kurang optimal.

Meskipun belum murni, nilai absorbansi sebesar 0,165 dan kadar kolagen 3,97%

menunjukkan keberadaan peptida kolagen dalam larutan dengan konsentrasi cukup tinggi (39,721 ppm). Rendemen ini cukup baik jika dibandingkan dengan literatur yang melaporkan rendemen kolagen dari ikan laut berkisar 1–7% (Kittiphattanabawon et al., 2005), 3–6% pada ekstraksi dengan asam atau enzim protease (Nagai & Suzuki, 2000; 2002), dan 2–5% dari tulang ikan nila (Sinthusamran et al., 2013).

Dengan demikian, metode hidrolisis yang digunakan efektif dalam menghasilkan larutan kolagen aktif yang dapat digunakan untuk tahap penelitian selanjutnya.

Aktivitas Inhibisi Enzim α -Amilase oleh Hidrolisat Kolagen Tulang Ikan Sarden (*Dussumieria elopsoides*)

Uji aktivitas enzim α -amilase dilakukan untuk menilai potensi antidiabetes suatu sampel dengan mengukur kemampuan sampel menghambat enzim α -amilase yang memecah pati menjadi gula sederhana seperti glukosa.

Pada uji ini, produk gula sederhana bereaksi dengan asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) membentuk senyawa berwarna coklat, yaitu asam 3-amino-5-nitrosalisilat. Semakin efektif sampel menghambat enzim, maka semakin sedikit gula sederhana yang terbentuk, sehingga warna larutan menjadi lebih terang (oranye). Sebaliknya, warna merah oranye atau coklat menandakan aktivitas enzim yang lebih tinggi dan penghambatan yang rendah (Abdullah et al., 2025; Miller et al., 1959).

Dengan demikian, intensitas warna hasil reaksi ini berbanding terbalik dengan kemampuan sampel dalam menghambat aktivitas enzim α -amilase.

Mekanisme Reaksi DNS dan α -Amilase

Asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) bereaksi dengan gugus aldehid pada glukosa, yang merupakan produk hasil pemecahan pati oleh enzim α -amilase. Saat enzim aktif, glukosa mereduksi DNS sehingga terbentuk warna coklat. Intensitas warna coklat ini diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang sekitar 540 nm. Warna coklat yang pekat menunjukkan aktivitas α -amilase yang tinggi, sedangkan warna kuning menunjukkan tidak adanya aktivitas enzim (Wilson & Walker, 2010).

Uji Inhibisi Enzim α -Amilase Menggunakan p-Nitrofenil- α -D-maltopiranosida

Selain metode DNS, aktivitas enzim α -amilase juga dapat diuji menggunakan substrat kromogenik p-nitrofenil- α -D-maltopiranosida. Enzim α -amilase menghidrolisis substrat ini menghasilkan p-nitrofenol yang berwarna kuning. Intensitas warna kuning diukur pada panjang gelombang 405 nm dan berbanding lurus dengan aktivitas enzim (Bernfeld, 1955). Dalam penelitian ini, hidrolisat kolagen tulang ikan sarden diuji sebagai inhibitor α -amilase dengan berbagai konsentrasi (500, 1000, 5000, 10000, dan 20000 ppm). Hasil uji menunjukkan penurunan intensitas warna kuning seiring peningkatan konsentrasi kolagen, yang menandakan aktivitas penghambatan enzim α -amilase oleh kolagen (Zhu et al., 2010).

Hasil Uji Inhibisi dan Interpretasi Data

Data absorbansi dari sampel kolagen dan kontrol positif (akarbosa) dianalisis untuk menentukan persentase inhibisi enzim α -amilase. Akarbosa, sebagai inhibitor standar, menunjukkan inhibisi yang signifikan, mulai dari 19% pada konsentrasi 625 ppm hingga 66% pada 20.000 ppm, dengan nilai IC_{50} sebesar 8.645 ppm. Hasil ini menegaskan efektivitas akarbosa sebagai inhibitor kompetitif α -amilase (Sebaugh, 2011). Grafik kurva menunjukkan model 4-parameter logistic fit dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9991, menandakan kesesuaian model yang sangat baik.

Sebaliknya, kolagen dari tulang ikan sarden menunjukkan kemampuan inhibisi yang terbatas, dengan maksimum inhibisi sekitar 23,30% pada 20.000 ppm dan nilai IC_{50} yang tidak dapat ditentukan (ND). Model fitting sigmoid menghasilkan R^2 sebesar 0,8298, menunjukkan kecocokan model yang cukup baik namun kurang optimal. Pola inhibisi yang tidak proporsional serta fluktuasi data mengindikasikan kemampuan inhibisi kolagen yang relatif lemah terhadap enzim α -amilase.

Faktor Penyebab Rendahnya Aktivitas Inhibisi

Beberapa kemungkinan yang menyebabkan rendahnya aktivitas inhibisi kolagen ikan sarden adalah:

- **Variabilitas Sampel:** Komposisi kolagen dan senyawa bioaktif dalam ekstrak mungkin bervariasi akibat proses isolasi.
- **Kehadiran Komponen Non-Aktif:** Pengotor atau senyawa non-bioaktif dalam kolagen kasar dapat mengganggu aktivitas inhibisi.
- **Keterbatasan Konsentrasi Uji:** Konsentrasi maksimum 20.000 ppm mungkin belum cukup untuk menunjukkan efek inhibisi optimal, disamping masalah kelarutan dan stabilitas kolagen.

Tabel 1. Perbandingan Efektivitas Akarbosa dan Kolagen Tulang Ikan Sarden

Parameter	Akarbosa	Kolagen Sarden
Inhibisi Maksimum	~66%	~23%
IC_{50}	8.645 ppm	ND(Tidak Ditentukan)
R^2 Kurva	0.9991	0.8298
Aktivitas Penghambat	Sangat tinggi	Lemah

Dari Tabel 1, tersebut memperlihatkan efektivitas penghambatan α -amilase kolagen ikan sarden jauh di bawah kontrol positif, sehingga potensi sebagai inhibitor α -amilase masih terbatas (Miller et al., 1959; Zhu et al., 2010).

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa kolagen dari tulang ikan sarden memiliki kadar sebesar 3,9721% (39,721 ppm) berdasarkan uji spektrofotometri UV-Vis dengan nilai absorbansi 0,165. Namun, aktivitas inhibisi terhadap enzim α -amilase tergolong rendah, dengan inhibisi maksimum 23% pada konsentrasi 20.000 ppm dan nilai IC_{50} tidak terdeteksi (ND). Sebaliknya, kontrol positif (akarbosa) menunjukkan inhibisi hingga 66% dengan IC_{50} sebesar 8,645 ppm (Sebaugh, 2011). Nilai R^2 sebesar 0,8298

mengindikasikan kecocokan model kurva yang cukup baik, tetapi belum optimal.

Diperlukan optimalisasi proses ekstraksi dan hidrolisis kolagen untuk meningkatkan aktivitas biologisnya. Pemurnian dan fraksinasi peptida disarankan untuk mengidentifikasi senyawa aktif spesifik. Selain itu, uji aktivitas terhadap enzim lain seperti α -glukosidase dan studi in silico dapat memperkuat pemahaman mekanisme kerja kolagen sebagai inhibitor enzim pencernaan (Marques et al., 2017; Zhang et al., 2019). Potensi kolagen sebagai bahan fungsional juga masih terbuka untuk dieksplorasi lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, N., Ischak, N. I., Alio, L., Salimi, Y. K., Aman, L. O., & Kilo, A. K. (2025). Inhibisi enzim α -glukosidase dan α -amilase dari ekstrak metanol daun buhu (*Garuga floribunda* Decne) sebagai antidiabetes. *Algoritma: Jurnal Matematika, Ilmu Pengetahuan Alam, Kebumihan dan Angkasa*, 3(1), 114–130. <https://doi.org/10.62383/algoritma.v3i1.360>
- Adiputra, Y. (2018). *Diabetes Melitus dan Terapi Nonfarmakologis*. Yogyakarta: Gosyen Publishing.
- Ariandi, M. (2016). *Terapi Herbal untuk Diabetes Melitus Tipe 2*. Jakarta: Kencana.
- Astiana, N. L. P. E., Antara, I. N. G., & Pratiwi, R. (2016). Karakterisasi kolagen dari limbah ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) melalui metode ekstraksi asam asetat. *Jurnal Kimia (Journal of Chemistry)*, 10(2), 111–116.
- Avila Rodríguez, M. I., Rodríguez Barroso, L. G., & Sánchez, M. L. (2018). Collagen: A review on its sources and potential cosmetic applications. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 17(1), 20–26. <https://doi.org/10.1111/jocd.12450>
- Baehaki, A., Kusumaningrum, H. P., & Syaifudin, M. (2016). Potensi kolagen dari kulit ikan nila (*Oreochromis niloticus*) sebagai bahan baku gelatin halal. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 19(2), 137–145. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v19i2.15438>
- Bustan, M. N. (2007). *Epidemiologi Penyakit Tidak Menular*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Depkes. (2007). *Pedoman Pengendalian Diabetes Mellitus*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan, Departemen Kesehatan RI.
- Fawzya, Y. N., Purwanti, N., & Utami, T. (2016). Karakterisasi kolagen dari tulang ikan kakap merah (*Lutjanus campechanus*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 19(1), 43–52. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v19i1.12691>
- Gunawan, I. W. K. (2022). Kajian potensi kolagen ikan sebagai bahan bioaktif. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan Tropis*, 10(1), 35–42.
- He, R., Zhao, W., Yan, J., & Mu, H. (2019). Inhibitory activity of marine collagen-derived peptides against α -glucosidase and α -amylase: A review. *Food Chemistry*, 270, 157–164. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.099>
- Judoamidjojo, M., Prihanto, A. A., & Sutrisno, B. (1992). Metode analisis biokimia untuk enzim. *Buletin Teknik Pertanian*, 4(2), 33–41.
- Karim, A. A., & Bhat, R. (2009). Fish gelatin: Properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 563–576. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.07.002>
- Kittiphattanabawon, P., Benjakul, S., Visessanguan, W., & Shahidi, F. (2005). Comparative study on characteristics of gelatin from the skins of bigeye snapper and brownstripe red snapper. *Food Chemistry*, 89(2), 201–208. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.002>
- Lafau, M. C. (2021). Analisis prevalensi dan faktor risiko diabetes melitus di Indonesia. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Indonesia*, 16(1), 45–51.
- Li, Y., Jiang, B., Zhang, T., Mu, W., & Liu, J. (2018). Antioxidant and α -amylase inhibitory activities of chickpea protein hydrolysates. *LWT - Food Science and Technology*, 97, 547–553. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.07.067>

- Muyonga, J. H., Cole, C. G. B., & Duodu, K. G. (2004). Extraction and physico-chemical characterization of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. *Food Hydrocolloids*, 18(4), 581–592. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2003.10.008>
- Rahman, M. M., Ferdous, T., & Hossain, M. S. (2021). Pharmacological properties of marine fish-derived collagen peptides: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 193, 1232–1240. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.10.009>
- Rizza, R. A. (2010). Pathogenesis of fasting and postprandial hyperglycemia in type 2 diabetes: Implications for therapy. *Diabetes*, 59(11), 2697–2707. <https://doi.org/10.2337/db10-0327>
- Robia, R., & Sutrisno, B. (2015). Isolasi dan karakterisasi enzim α -amilase dari *Bacillus subtilis*. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 2(1), 1–8.
- Ruzki, A. R. (2013). Penentuan aktivitas enzim α -amilase menggunakan metode DNS. *Jurnal Kimia*, 7(2), 80–87.
- Sales, P. M., Souza, P. M., Simeoni, L. A., Magalhães, P. O., & Silveira, D. (2012). α -Amylase inhibitors: A review of raw material and isolated compounds from plant source. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 15(1), 141–183.
- Silva, T. H., Moreira-Silva, J., Marques, A. L., Domingues, A., Bayon, Y., & Reis, R. L. (2014). Marine origin collagens and its potential applications. *Marine Drugs*, 12(12), 5881–5901. <https://doi.org/10.3390/md12125881>
- Tabarestani, H. S., Shabanpour, B., & Safari, R. (2012). Collagen extraction from the skin of two marine species: Tiger tooth croaker (*Otolithes ruber*) and oblong snapper (*Pristipomoides argyrogrammicus*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 11(4), 891–903.
- Whitehead, P. J. P. (1988). *FAO Species Catalogue: Vol. 7. Clupeoid Fishes of the World (Suborder Clupeoidei)*. FAO Fisheries Synopsis No. 125. Rome: FAO.
- Winarno, F. G. (2010). *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Zhu, Y., Chen, J., Liu, X., Zhao, J., & Liu, H. (2020). Preparation and α -amylase inhibitory activity of marine collagen peptide from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Journal of Functional Foods*, 67, 103855. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103855>