

OPTIMASI EKSTRAKSI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN DARI GELEMBUNG RENANG IKAN CUNANG DENGAN METODE ASAM-HIDRO-EKSTRAKSI

Extraction Optimization and Characterization of Collagen from Yellow Pike Conger Swimbladder with Acid-Hydro-Extraction Method

Fernandy Djailani*, Wini Trilaksani, Tati Nurhayati

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor
Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Jalan Agatis, Bogor 16680 Jawa Barat

Telepon (0251) 8622909-8622906, Faks. (0251) 8622915

*Korespondensi: fernandydjailani@gmail.com

Diterima: 10 Juni 2016/ Review: 15 Juli 2016/ Disetujui: 16 Agustus 2016

Cara sitasi: 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.

Abstrak

Gelembung renang merupakan salah satu hasil samping produk perikanan yang potensial sebagai bahan baku kolagen. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan optimasi hidro-ekstraksi dan karakterisasi kolagen. Optimasi hidro-ekstraksi kolagen ditentukan menggunakan desain Box-behken metode respon permukaan dengan tiga variabel: konsentrasi CH_3COOH , waktu perendaman CH_3COOH dan waktu hidro-ekstraksi terhadap respon rendemen. Kolagen hasil hidro-ekstraksi dikarakterisasi berdasarkan kandungan asam amino, SDS-PAGE, FT-IR dan DSC. Hasil menunjukkan bahwa variabel konsentrasi berpengaruh secara signifikan terhadap rendemen. Kondisi ekstraksi optimal yaitu kombinasi variabel konsentrasi asam asetat 0,1 M; waktu perendaman asam asetat 1 jam dan waktu hidro ekstraksi 1 jam menghasilkan rendemen tertinggi yakni 63,35 %. Kolagen hasil ekstraksi digolongkan sebagai kolagen tipe I berdasarkan kandungan asam amino, pola elektroforesis dan spektra *fourier transform infrared* (FTIR). Suhu transisi gelasi kolagen yakni 67,23°C, menunjukkan kestabilan termal yang tinggi sehingga dapat diaplikasikan pada industri kosmetik dan nutrasetika.

Kata kunci: gelembung-renang, hido-ekstraksi, karakterisasi, kolagen, optimasi

Abstract

Swim bladder is one of marine potential byproducts for alternative source of collagen. This study aimed to optimize hydro-extraction and characterized collagen. Extraction optimization of collagen was determined using Box-behken design response surface method with three variables: CH_3COOH concentration, soaking time and extraction time to yield response. Hydro-extraction collagen was characterization based on the amino acid content, SDS-PAGE, FT-IR and DSC. According to the result, the concentration had significantly influence yield. Optimum extraction conditions were variable combinations of acetic acid concentration of 0.1 M, for 1 h and hydro-extraction time of 1 h to produce the highest yield 63.35%. collagen was classified as type I collagen by amino acid content, electrophoresis patterns and fourier transform infrared (FTIR) spectra. The glass transition of collagen was 67.23°C, showed high thermal stability that can be applied to the cosmetics industry and nutraceutical.

Keywords: characterization, collagen, hydro-extraction, optimization, swim-bladder

PENDAHULUAN

Kolagen adalah protein struktural utama dalam jaringan ikat vertebrata dan

jumlahnya sekitar 30 % dari total protein hewani (Muyonga *et al.* 2004; Sinthusamran *et al.* 2013). Zat ini merupakan komponen

utama dari jaringan ikat, otot, gigi, tulang dan kulit (Potaros *et al.* 2009). Kolagen terdiri dari tiga rantai polipeptida triplehelix berukuran hampir sama dan setiap rantai mengandung sekitar 1000 asam amino dengan panjang rata-rata 300 nm dan diameter 1,4 nm. Urutan primer asam amino berulang yaitu posisi ketiga selalu ditempati glisin dengan urutan rantai polipeptidanya adalah Gly-X-Y, X dan Y merupakan prolin dan hidrosiprolin (Whitford 2005). Kolagen dimanfaatkan secara luas baik di bidang farmasi, pangan dan kosmetik (Liu *et al.* 2009).

Kolagen banyak diproduksi dari kulit dan tulang hewan darat misalnya: sapi, babi dan unggas (Santos *et al.* 2013). Bahan baku tersebut terkadang menimbulkan reaksi negatif karena hewan-hewan tersebut ada yang terkena wabah penyakit sapi gila, penyakit mulut dan kuku (PMK), dan flu burung (Liu *et al.* 2015). Kolagen dari babi juga ditolak oleh pemeluk agama islam karena tidak halal (Rengenstein *et al.* 2003) dan kolagen yang bersumber dari sapi juga menjadi permasalahan tersendiri bagi pemeluk agama hindu (Kasankala *et al.* 2007). Alternatif sumber kolagen diperlukan untuk mengatasi masalah tersebut. Menurut Zhang *et al.* (2007) ikan dan hewan perairan lain dapat dijadikan alternatif sumber kolagen.

Ekstraksi kolagen dari hewan perairan di Indonesia telah banyak dilakukan, seperti: Alhana *et al.* (2015) melakukan ekstraksi kolagen dari teripang gama dan menghasilkan rendemen kolagen 1,50% (bb), Wulandari *et al.* (2015) melakukan ekstraksi kolagen dari kulit ikan gabus dan menghasilkan rendemen kolagen 16 % (bk), Astiana *et al.* (2016) melakukan ekstraksi kolagen dari kulit ikan ekor kuning dan menghasilkan rendemen 18,4% (bk). Ekstraksi kolagen dari gelembung renang ikan masih jarang dilakukan. Gelembung renang biasa dikenal sebagai gelembung udara, gelembung suara atau fish maws

yang pada kenyataannya menjadi buangan yang kurang termanfaatkan dengan baik dan cenderung mencemari lingkungan (Trilaksani *et al.* 2007). Salah satu usaha yang dapat dilakukan untuk memberikan nilai tambah adalah memanfaatkan gelembung renang sebagai kolagen. Fernandez *et al.* (2008) menyatakan bahwa kolagen yang berasal dari gelembung renang (hasil samping pengolahan ikan) dapat dijadikan alternatif karena aman digunakan dan bisa diterima oleh semua golongan. Kandungan kolagen dari gelembung renang menurut Leach (1966) mencapai 98% dalam basis kering. Ikan cunang (*Congresox talabon*) termasuk ikan yang memiliki gelembung renang cukup besar dan beratnya 0,6 % dari berat total ikan. Ikan ini dimanfaatkan sebagai bahan baku kerupuk dan ikan kaleng (KKP 2015).

Penelitian mengenai ekstraksi kolagen dari gelembung renang ikan menggunakan metode ASC (*Acid Soluble Collagen*) menghasilkan rendemen berbeda-beda. Penelitian Liu *et al.* (2012) menghasilkan kolagen 59 % basis kering dari ekstrak kolagen dari ikan herbivora big head carp (*Aristichtus nobilis*). Penelitian Sintusamran *et al.* (2013) menghasilkan kolagen 85.3 % basis kering dari ikan kakap putih, Kaewdang *et al.* (2014) melaporkan hasilnya sebesar 1,07% basis kering dari tuna sirip kuning. Hasil rendemen yang berbeda dipengaruhi oleh metode dan kondisi ekstraksi yang digunakan (Wang *et al.* 2008), sehingga optimasi ekstraksi diperlukan untuk menghasilkan kolagen dengan rendemen terbanyak.

Ekstraksi kolagen umumnya dilakukan dengan metode *acid soluble collagen* (ASC) dan *pepsin soluble collagen* (PSC). Pada penelitian ini dilakukan menggunakan kombinasi metode ASC dengan hidro-ekstraksi. Metode hidro-ekstraksi telah dilakukan pada ekstraksi kolagen dari sisik ikan nila dengan cara merendam sisik dalam akuabides pada

suhu 20 atau 50°C menggunakan waterbath selama 2 jam. Metode hidro-ekstraksi memiliki beberapa keuntungan antara lain waktu lebih singkat, sedikit memerlukan peralatan laboratorium, dapat diproduksi secara kontinu, rendemen tinggi, limbah sedikit dan biaya produksi lebih rendah (Huang *et al.* 2016). Optimasi ekstraksi kolagen dengan modifikasi metode ASC dan kombinasi hidro-ekstraksi diperlukan untuk menghasilkan rendemen kolagen terbanyak. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan optimasi ekstraksi kolagen dan juga mengkarakterisasi kolagen hasil optimasi.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini adalah gelembung renang ikan cunang yang diperoleh dari unit pengolahan kerupuk ikan, Indramayu, Jawa Barat. Bahan lain yang digunakan dalam penelitian ini antara lain NaOH (Merck), asam asetat (Merck), akuades, akuabides dan bahan untuk analisa. Peralatan yang digunakan yaitu Freeze-dryer (Eyela FDU-1200 Japan), *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (Bruker Tensor 37 German), *High Performance Liquid Chromatography* (Water Corporation USA), Spektroskopi (DR 5000 German), *Differential Scanning Calorimetry* (DSC-60) merek Shimadzu, stirrer (Mag-Mixer Yamato Scientific. Co. Ltd Tokyo Japan), dan *magnetic stirrer* ukuran 5 cm.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap yaitu, 1) Optimasi ekstraksi kolagen meliputi optimasi kombinasi konsentrasi asam asetat, waktu perendaman asam asetat dan waktu hidro-ekstraksi. 2) Karakterisasi kolagen meliputi komposisi asam amino, berat molekul, gugus fungsi dan suhu termal.

Optimasi ekstraksi kolagen (modifikasi Liu *et al.* 2015)

Preparasi Gelembung Renang

Gelembung renang segar diperoleh dari hasil samping pengolahan industri kerupuk di Indramayu dan di transportasikan ke laboratorium menggunakan *coolbox* yang berisi es dengan perbandingan gelembung renang dan es 1:3 (b/b). Gelembung renang dibekukan dan disimpan pada suhu -20°C sebelum digunakan. Waktu penyimpanan gelembung renang tidak melewati satu bulan.

Pretreatment gelembung renang dalam larutan NaOH

Gelembung renang beku dilelehkan dengan air mengalir sebelum digunakan, kemudian dibersihkan dari kotoran dengan air dingin selanjutnya dipotong kecil-kecil (0,5x0,5 cm²) menggunakan pisau. Gelembung renang yang sudah dipreparasi kemudian dicuci dengan akuades dingin selanjutnya direndam dalam larutan NaOH dengan konsentrasi 0,15 M selama 10 jam. Larutan NaOH setiap 2 jam sekali diganti. Rasio antara kulit dan larutan NaOH adalah 1:20 (b/v). Gelembung renang hasil preparasi dinetralkan dengan akuades dingin.

Ekstraksi kolagen dengan kombinasi metode Asam-hidro-ekstraksi

Gelembung renang hasil preparasi diekstrak menggunakan kombinasi metode ASC (direndam dalam larutan asam asetat berdasarkan perlakuan: konsentrasi 0,1, 0,3 dan 0,5 M, waktu perendaman asam asetat 1, 2 dan 3 jam dengan perbandingan asam asetat dan sampel 10:1). Gelembung renang hasil perendaman asam asetat dinetralkan dengan akuabides sebelum dilakukan hidro-ekstraksi. Gelembung renang kemudian diekstrak kolagen menggunakan metode hidro-ekstraksi (waktu ekstraksi dalam akuabides 1, 2 dan 3 jam) pada suhu waterbath 40°C.

Perbandingan akuabides dengan sampel yakni 2:1. Filtrat hasil perendaman disaring dengan dua lapis kain tipis. Pelet diperoleh dengan sentrifugasi pada kecepatan 10000g selama 1 jam. Pelet dikering-bekukan menggunakan *freeze dryer* dan rendemen pada setiap perlakuan dihitung.

Rendemen

Rendemen kolagen basis kering dihitung dengan rumus:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat kolagen freeze - dry}}{\text{Berat kering gelembung renang}} \times 100\%$$

Analisis kandungan Asam Amino (AOAC 2012)

Komposisi asam amino ditentukan dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Perangkat HPLC dibilas dahulu dengan eluen yang akan digunakan selama 2-3 jam. Syringe yang akan digunakan juga harus dibilas dengan akuades. Analisis asam amino menggunakan HPLC terdiri atas 4 tahap yaitu pembuatan hidrolisat protein, pengeringan, derivatisasi dan injeksi serta analisis asam amino. Khusus untuk pengujian asam amino bebas tidak dilakukan proses hidrolisis dengan asam dan pemanasan.

a. Tahap pembuatan hidrolisat protein

Sampel ditimbang sebanyak 0,2 g dan dihancurkan. Sampel yang telah hancur ditambah dengan HCl 6 N sebanyak 5-10 mL, kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 100°C selama 24 jam. Proses pemanasan dilakukan untuk menghilangkan gas atau udara yang ada pada sampel agar tidak mengganggu kromatogram yang dihasilkan dan untuk mempercepat reaksi hidrolisis. Hidrolisat protein yang diperoleh disaring dengan millipore berukuran 0,45 mikron.

b. Tahap pengeringan

Hidrolisat protein ditambah dengan 30 µL larutan pengering. Larutan pengering dibuat dari campuran antara metanol, natrium asetat, dan trietilamin dengan perbandingan 2:2:1. Proses pengeringan dibantu menggunakan

gas nitrogen untuk mempercepat pengeringan dan mencegah oksidasi.

c. Tahap derivatisasi

Larutan derivatisasi sebanyak 30 µL ditambahkan pada hasil pengeringan. Larutan derivatisasi dibuat dari campuran antara larutan metanol, pikotisianat, dan trietilamin dengan perbandingan 3:3:4. Proses derivatisasi dilakukan agar detektor mudah untuk mendeteksi senyawa yang ada pada sampel, kemudian dilakukan pengenceran dengan cara menambahkan 10 mL asetonitil 60% atau *buffer* fosfat 0,1 M lalu dibiarkan selama 20 menit. Hasil pengenceran disaring kembali menggunakan millipore berukuran 0,45 mikron.

d. Injeksi ke HPLC

Hasil saringan diambil sebanyak 20 µL untuk diinjeksikan ke dalam HPLC. Penghitungan konsentrasi asam amino dilakukan dengan cara membandingkan kromatogram sampel dengan standar. Pembuatan kromatogram standar menggunakan asam amino yang mengalami perlakuan yang sama dengan sampel. Kandungan masing-masing asam amino pada bahan dapat dihitung dengan rumus:

$$X = \frac{\text{Luas area contoh}}{\text{Luas area standar}} \times \frac{C \times FP \times BM \times 100}{\text{Berat contoh (g)}}$$

Keterangan:

X : konsentrasi asam amino
C : konsentrasi standar asam amino
FP : faktor pengenceran
BM : bobot molekul dari masing-masing asam amino

Analisis Berat Molekul (Singh *et al.* 2011)

Sampel dilarutkan dalam 5% SDS dan campuran diinkubasi pada suhu 85°C selama 1 jam dalam waterbath. Campuran disentrifugasi pada 4000 g selama 5 menit pada suhu kamar. Supernatan yang diperoleh

Tabel 1 Variabel independen

Variabel independen	Simbol	Min	Maks
Konsentrasi CH ₃ COOH (M)	X1	0,1	0,5
Waktu CH ₃ COOH (b/v) (mL)	X2	1	3
Waktu Ekstraksi (Jam)	X3	1	3

dicampur dengan bufer (Tris HCl 60 mM, pH 6,8, mengandung 2% SDS dan 25% gliserol) dengan rasio 1:1 (v/v) dan mengandung 10% β -merkaptotanol (β -ME). Campuran dipanaskan dalam air mendidih selama 2 menit. Sebanyak 5 μ L sampel dimasukkan ke dalam gel polyacrylamide yang terdiri dari 7,5% *running gel* dan 3% *stacking gel* dan dielektroforesis pada arus konstan 15 mA/gel selama 3 jam. Setelah elektroforesis selesai, gel di staining dengan 0,05% (b/v) *coomassie blue* R-250 dalam 15% (v/v) metanol dan 5% (v/v) asam asetat selama 3 jam, kemudian sampel destaining dengan campuran 30% (v/v) metanol dan 10% (v/v) asam asetat selama 2 jam. Berat molekul protein sampel diperkirakan berdasarkan berat molekul *marker*. *Marker* yang digunakan adalah Pre-stained Protein Markers (Broad Range) for SDS-PAGE dari Nacalai Tesque dengan berat molekul 8.8 sampai 192 KDa.

Analisis gugus fungsi dengan FTIR (Yan *et al.* 2008)

Analisis FTIR digunakan untuk mengetahui gugus-gugus fungsi khas dari kolagen yang dihasilkan. Sampel uji terlebih dahulu dibentuk pelet dengan campuran KBr. Sebanyak 100 mg KBr dan 2 mg sampel uji dicampurkan, kemudian ditumbuk sampai halus dan tercampur rata dalam mortaragate. Pengukuran sampel uji dilakukan pada bilangan gelombang antara 4000-5000/cm. Spektra FTIR yang dihasilkan menunjukkan puncak-puncak serapan bilangan gelombang dari sampel uji. Gugus-gugus fungsi sampel uji ditentukan berdasarkan puncak serapan bilangan gelombang yang terdeteksi dengan wilayah serapan untuk gugus fungsi protein.

Analisis Suhu Termal (Liu *et al.* 2012)

Differential scanning calorimetry (DSC) digunakan untuk mempelajari transisi fase,

Tabel 2 Analisis keragaman untuk model RSM dari rendemen kolagen hidro-ekstraksi

Sumber keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat bebas	Kuadrat Tengah	F-hitung	P-hitung Prob > F
Model	3845,95	6	640,99	40,35	<0,0001
X1	3707,28	1	3707,28	233,38	<0,0001
X2	2,93	1	2,93	0,18	0,6766
X3	5,42	1	5,42	0,34	0,5722
X1 ²	122,95	1	122,95	7,74	0,0194
X2 ²	3,87	1	3,87	0,24	0,6321
X3 ²	2,66	1	2,66	0,17	0,6908
<i>Residual</i>	158,85	10	15,89		
<i>Lack of fit</i>	109,33	6	18,22	1,47	0,3691
<i>Pure error</i>	49,53	4	12,38		
Total	4004,80	16			

Tabel 3 Rendemen kolagen hidro-ekstraksi

X1	X2	X3	Rendemen (g)
0,1	1	2	59,339
0,1	3	2	63,051
0,1	2	1	61,804
0,1	2	3	64,008
0,3	2	2	52,175
0,3	2	2	44,896
0,3	3	3	43,010
0,3	2	2	44,896
0,3	2	2	44,838
0,3	1	1	44,896
0,3	2	2	43,242
0,3	1	3	44,925
0,3	3	1	50,551
0,5	1	2	24,246
0,5	2	1	20,534
0,5	2	3	19,258
0,5	3	2	11,949

seperti melting, suhu transisi gelas (T_g), atau dekomposisi eksotermik, serta untuk menganalisa kestabilan terhadap oksidasi dan kapasitas panas suatu bahan. Sampel ditimbang 10 mg kemudian discan dari 0 sampai 200°C pada kecepatan 5°C/menit. Suhu transisi maksimum (T_{max}) tercatat sebagai suhu puncak setiap puncak endotermik.

Analisis Data

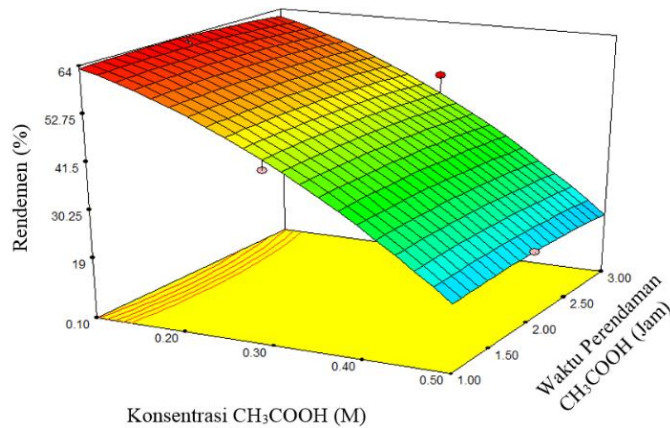
Data yang diperoleh pada tahap optimasi ekstraksi dianalisis dengan *response surface method* (RSM) menggunakan *design expert* 7.0 versi *trial*. Tiga variabel independen (Tabel 1) yang digunakan dalam rancangan percobaan penelitian adalah konsentrasi asam asetat (X1), waktu perendaman CH_3COOH (X2) dan waktu hidro-ekstraksi (X3), dengan tiga tingkat untuk setiap variabel, sedangkan variabel dependen adalah rendemen dari kolagen hidro-ekstraksi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Optimasi Ekstraksi Kolagen

Konsentrasi asam asetat (X1) (Gambar 1 dan Gambar 2) berpengaruh signifikan terhadap rendemen kolagen ($p < 0,05$), sedangkan waktu perendaman asam asetat (X2) dan waktu hidro-ekstraksi (X3) (Gambar 3) tidak berpengaruh signifikan terhadap rendemen ($p > 0,05$). Hasil sidik ragam disajikan pada Tabel 2.

Rendemen kolagen berkurang seiring meningkatnya konsentrasi asam asetat (Gambar 1 dan 2). Hasil Perhitungan rendemenen disajikan pada Tabel 3. Asam asetat merupakan salah satu pelarut organik populer yang digunakan untuk ekstraksi kolagen. Konsentrasi asam asetat dapat mengubah pH yang mengatur kerapatan muatan protein dan memodifikasi interaksi elektrostatis dan struktur protein (Vehrul *et al.* 1998). Proses ekstraksi dipengaruhi juga



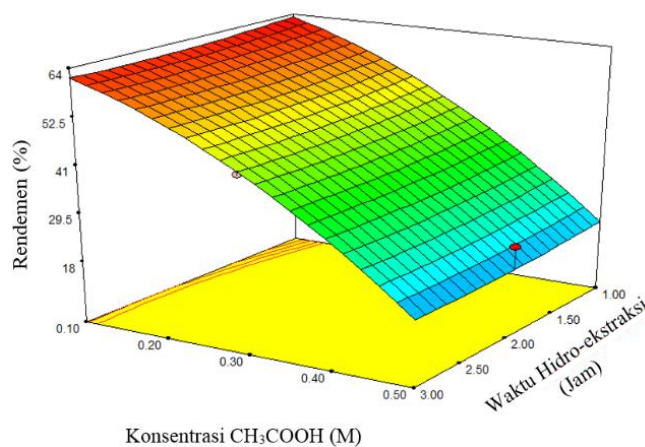
Gambar 1 Pengaruh konsentrasi dan waktu perendaman asam asetat terhadap rendemen kolagen

oleh waktu karena perpindahan molekul suatu zat selama proses difusi tergantung pada waktu (Wang *et al.* 2008). Hasil pada Tabel 3 setelah dilakukan perhitungan menggunakan program design expert 7.0 didapatkan kondisi optimal untuk ekstraksi yakni kombinasi perlakuan konsentrasi asam asetat 0,1 M; waktu perendaman asam asetat 1 jam; dan waktu hidro-ekstraksi 1 jam.

Karakterisasi Kolagen Asam Amino

Asam amino berkontribusi terhadap kestabilan struktur heliks kolagen (Ikoma *et al.* 2003). Komposisi asam amino kolagen hidro-ekstraksi dari gelembung renang ikan cunang disajikan pada Tabel 4. Hema *et al.*

(2013) menyatakan bahwa komposisi asam amino dari kolagen cenderung didominasi oleh glisin, prolin, hidroksiprolin dan alanin. Kolagen hidro-ekstraksi memiliki kandungan asam amino glisin, prolin dan alanin yakni 266,06; 108,96 dan 112,92 (/1000 total residu), menunjukkan bahwa glisin merupakan asam amino yang dominan. Hasil ini sesuai dengan penelitian Liu *et al.* (2015) yakni ASC dari gelembung renang ikan grass carp yang memiliki kandungan glisin tertinggi yakni 334, 88 (/1000 total residu). Kaewdang *et al.* (2014) juga menyebutkan bahwa ASC dari gelembung renang ikan yellowfin tuna memiliki komposisi asam amino glisin tertinggi yakni 225, 80 (/1000 total residu). Hasil penelitian Sinthusamran *et al.* (2013)



Gambar 2 Pengaruh konsentrasi asam asetat dan waktu hidro-ekstraksi terhadap rendemen kolagen

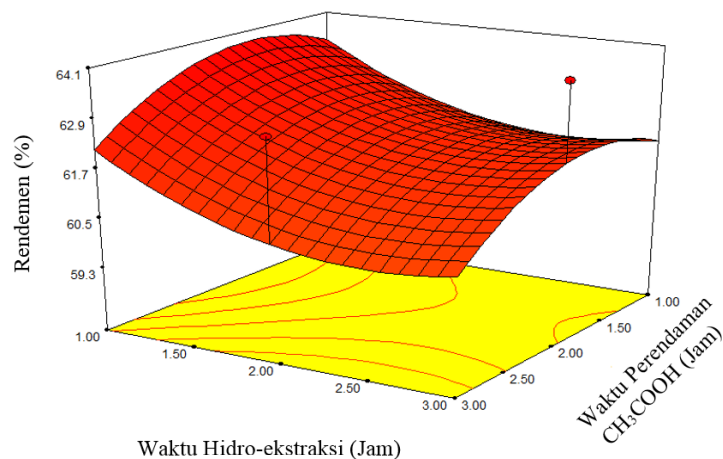
Tabel 4 Komposisi asam amino kolagen hidro-ekstraksi

Asam Amino	Kadar
Sisteina	0,00
Tirosina	8,17
Isoleusina	9,33
Histidina	18,16
Metionina	19,96
Leusina	21,57
Fenilalanina	22,68
Valina	24,25
Treonina	34,08
Lisina	37,91
Serina	40,78
Asam Aspartat	53,82
Asam Glutamat	95,51
Prolina	108,96
Alanina	112,92
Arginina	125,84
Glisina	266,06
Total	1000

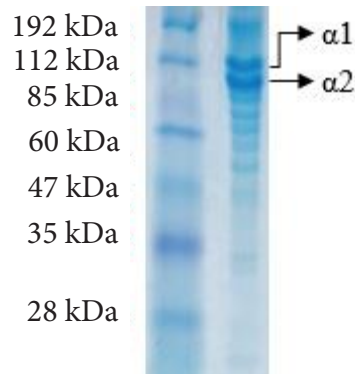
menunjukkan komposisi asam amino glisin tertinggi dari ASC gelembung renang ikan seabass yakni 326, 111 (/1000 total residu).

Kittiphattanabawon *et al.* (2005) menyatakan bahwa glisin merupakan asam amino utama pada kolagen dan kadarnya paling tinggi jika dibandingkan dengan asam amino lainnya. Fungsi glisin pada kolagen

yaitu membentuk tiga rantai alfa heliks menjadi struktur super heliks (Rengenstein dan Zhou 2007). Selain glisin, kandungan asam amino prolin pada kolagen berperan juga menjaga intergritas struktur kolagen (Tamilmozhi *et al.* 2013). Prolin merupakan asam amino yang unik selain hidroksi-prolin sehingga disebut imino acid. Imino acid



Gambar 3 Pengaruh waktu perendaman asam asetat dan waktu hidro-ekstraksi terhadap rendemen kolagen



Gambar 4 Pola elektroforesis kolagen hidro-ekstraksi dari gelembung renang ikan cunang: M (*marker*) dan C (kolagen hidro-ekstraksi)

memiliki cincin pirolidina yang berfungsi menahan struktur superheliks pada kolagen (Nagai *et al.* 2008).

Berat Molekul SDS-PAGE

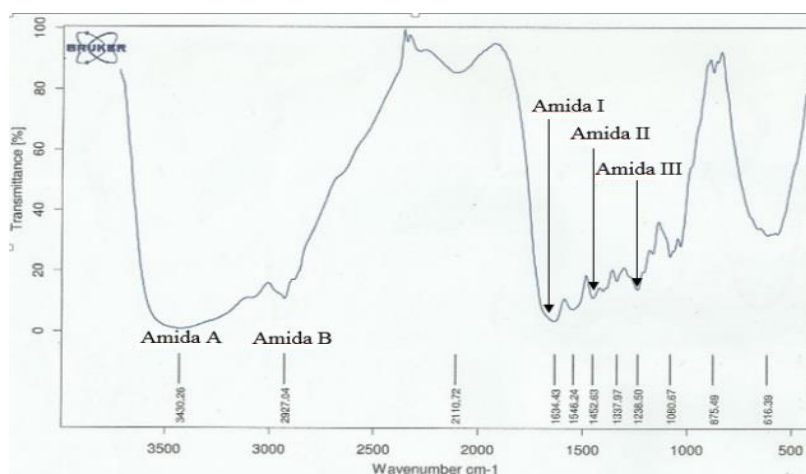
Pola elektroforesis kolagen hidro-ekstraksi dari gelembung renang ikan cunang disajikan pada Gambar 4. Kolagen hidro-ekstraksi memiliki pola elektroforesis yakni pita utama rantai $\alpha 1$ dan $\alpha 2$. Keberadaan rantai α menunjukkan bahwa kolagen tersebut merupakan kolagen tipe I (Ogawa *et al.* 2004).

Hasil ini sesuai dengan penelitian kolagen gelembung renang sebelumnya yang menghasilkan rantai $\alpha 1$ dan $\alpha 2$ dari ikan grass carp (Liu *et al.* 2015), yellowfin tuna (Kaewdang *et al.* 2014), seabass (Sinthusamran *et al.* 2103), bighead carp (Liu *et al.* 2012). Pita protein di bawah rantai α terdeteksi

pada kisaran berat molekul 28 kDa sampai 85 kDa. Menurut Huang *et al.* (2016) kondisi tersebut menunjukkan bahwa ada peptida lain dari degradasi kolagen yang memiliki fungsi sebagai anti-oksidan, pengkelat mineral dan aktivitas ACE Inhibitor.

Gugus Fungsi FTIR

Spektra FTIR kolagen Hidro-ekstraksi menunjukkan puncak serapan amida A, amida B, amida I, amida II dan amida III (Gambar 5) yang mengidentifikasi struktur-struktur pada protein kolagen. Muyonga *et al.* (2004) menyatakan bahwa kisaran puncak serapan amida A yakni 3400-3440/cm, amida B yakni 2925-2935/cm dan amida I yakni 1600-1700/cm. Ahmad dan Benjakul (2010) dan Duan *et al.* (2009) menyebutkan puncak serapan amida II berkisar antara 1550-1600/cm. Ahmad dan



Gambar 5 Spektra FTIR kolagen hidro-ekstraksi

Benjakul (2010), Benjakul *et al.* (2010) dan Heu *et al.* (2010) menemukan puncak serapan amida III berkisar antara 1220-1320/cm.

Kolagen hidro-ekstraksi memiliki puncak serapan Amida A yakni 3430,26/cm, Amida B yakni 2927,04/cm; Amida I yakni 1634,43/cm; amida II yakni 1546,24 cm⁻¹; amida III yakni 1238,50/cm. Muyonga *et al.* (2004) menyatakan bahwa amida A menunjukkan adanya gugus NH dan menunjukkan adanya ikatan hidrogen, amida B menunjukkan adanya gugus CH, amida I menunjukkan adanya gugus C=O yang merupakan struktur sekunder protein, amida II menunjukkan adanya ikatan NH dan amida III menunjukkan adanya ikatan N-H yang memperlihatkan adanya struktur heliks.

Suhu Termal (DSC)

Kolagen hidro-ekstraksi memiliki suhu transisi gelas (*T_g*) 67,26°C. *T_g* berkorelasi dengan kandungan asam amino yang terkandung di dalamnya yakni proline dan hidroksiproline (Kittiphattanabawon *et al.* 2005). Kandungan asam amino yang tinggi akan meningkatkan stabilitas termal dari kolagen (Ahmad dan Benjakul 2010).

Kolagen hidro-ekstraksi dari gelembung renang ikan cunang memiliki *T_g* lebih tinggi dibanding kolagen gelembung renang metode ASC: grass carp 38,3°C (Liu *et al.* 2015), yellowfin tuna 32,97°C (Kaewdang *et al.* 2014), seabass 35,02°C (Sinthusamran *et al.* 2013), bighead carp 37,3°C (Liu *et al.* 2012). Kolagen yang berasal dari ikan yang hidup perairan panas atau hangat akan memiliki kestabilan termal lebih tinggi dibanding ikan yang hidup diperairan dingin dan beku (Rengenstein & Zhou 2007).

KESIMPULAN

Kondisi optimum ekstraksi kolagen adalah kombinasi perlakuan konsentrasi 0,1 M, waktu perendaman asam asetat 1 jam dan waktu hidro-ekstraksi 1 jam menghasilkan rendemen sebanyak 63,35 %. Kolagen hidro-ekstraksi mempunyai karakteristik kolagen

tipe I dan memiliki suhu termal yang baik, sehingga dapat diaplikasikan pada industri kosmetik dan nutrasetika.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad M, Benjakul S. 2010. Extraction and characterization of pepsin soluble collagen from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*). *Food Chemistry Journal* 120:817-824.
- Alhana, Suptijah P, Tarman K. 2015. Ekstraksi dan karakterisasi kolagen dari daging teripang gamma (*Stichopus variegatus*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 18(2): 150-161.
- Astiana I, Nurjanah, Nurhayati T. 2016. Karakterisasi kolagen larut asam dari kulit ikan ekor kuning. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 19(1): 79-93.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2012. Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemist. Washington, DC: Inc.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. Official Methods of Analysis (18 Edn). Maryland: Association of Official Analytical Chemist Inc.
- Duan R, Zhang JJ, Du XQ, Yao XC, Konno K. 2009. Properties of collagen from skin, scale and bone of carp (*Cyprinus carpio*). *Food Chemistry* 112:702-706.
- Hema GS, Shyni K, Mthew S, Ananda R, Ninan G, Lakshmanan PT. 2013. A 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 Biological Research* 4(1): 271-278.
- Heu MS, Lee JH, Kim HJ, Jee SJ, Lee JS, Jeon YJ. 2010. Characterization of acid- and pepsin-soluble collagens from flatfish skin. *Food Science and Biotechnology* 10:27-33.
- Huang CY, Kuo JM, Wu SJ, Tsai HT. 2016.

- Isolation and characterization of fish scale collagen from tilapia (*Oreochromis sp.*) by a novel extrusion-hydro extraction process. *Food Chemistry* 190:997-1006.
- Ikoma T, Kobayashi H, Tanaka J, Walsh D, Mann S. 2003. Physical properties of type I collagen extracted from fish scales of *Pagrus major* and *Oreochromis niloticus*. *International Journal Biology Macromoleculular* 32(3-5):199-204.
- Kaewdang O, Benjakul S, Kaewmanee T, Kishimura H. 2014. Characteristic of collagens from the swim bladders of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *Food Chemistry* 155: 264-270.
- 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. *Bioresource Technology* 98(17): 3338–3343.
- Kittiphattanabawon P, Soottawat Benjakul S, Visessanguan W, Nagai T, Tanaka M. 2005. Characterisation of acid-soluble collagen from skin and bone of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). *Food Chemistry* 89:363-372.
- [KKP] Kementrian Kelautan dan Perikanan. 2015. KKP soroti tiga UPI di sorong. <http://kkp.go.id/index.php/berita/kkp-soroti-tiga-upi-di-sorong/>. [10 Mei 2015].
- Leach AA. 1966. Collagen chemistry in relation to isinglass and isinglass finings a review. *Journal of the Institute of Brewing* 73:8-16.
- Liu D, Liang L, Regenstein MJ, Zhou P. 2012. Extraction and characterization of pepsin solubilised collagen from fins, scales, skin, 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 MJ, Zhou P. 2015. Extraction and characterization of acid and pepsin soluble collagen from the scales, skin, and swim bladders of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Food Bioscience* 9: 68-74.
- Nagai T, Suzuki N, Nagashima T. 2008. Collagen from common minke whale (*Balaenoptera acutorostrata*) unesu. *Food Chemistry* 111: 296-301.
- Muyonga JH, Cole CGB, Duodu KG. 2004. Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chemistry* 85:81–89.
- Ogawa M, Portier RJ, Moody MW, Bell J, Schexnayder MA, Losso JN. 2004. Biochemical properties of bone and scale collagens isolated from the subtropical fish black drum (*Pogonis cromis*) and sheepshead seabream (*Archosargus probatocephalus*). *Food Chemistry* 88: 495-501.
- Potaras T, Raksakulthai N, Runglerdkreangkrai J, Worawattanamateekul W. 2009. Characteristics of collagen from nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin isolated by two different methods. *Natural Science* 43(3):584-593.
- Regenstein JM, Chaudry MM, Regenstein CE. 2003. The kosher and halal food laws. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2:111–117.
- Regenstein JM & Zhou P. 2007. Collagen and gelatin from marine by-product, maximising the value of marine by-product. Florida: CRC Press.
- Santos MH, Silva RM, Dumont VC, Neves JS, Mansur HS, and Heneine LGD. 2013. Extraction and characterization of highly purified collagen from bovine pericardium for potential bioengineering applications. *Journal of Materials Science and Engineering C* 33: 790–800.
- Singh P, Benjakul S, Maqsood S, Kishimura H. 2011. Isolation and characterization of collagen extracted from the skin of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Food Chemistry* 124:97-105.
- Sintusamran S, Benjakul S, Kishimura H. 2013. Comaprative study on molecular

- characteristics of acid soluble collagens from skin and swim bladder of seabass (*Lates calcarifer*). *Food Chemistry* 138:2435-2441.
- Tamilmozhi S, Veeruraj A, Arumugam M. 2013. Isolation and characterization of acid and pepsin-solubilized collagen from the skin of sailfish (*Istiophorus platypterus*). *Food Research International* 54: 1499-1505.
- Trilaksani W, Nurjanah, Utama WH. 2006. Pemanfaatan gelembung renang ikan patin (*Pangasius hypothalmus*) sebagai bahan baku isinglass. *Jurnal Teknologi Hasil Perikanan* 9(1):12-25.
- Vehrul M, Roefs M and Kruif G. 1998. Kinetics of heat-induced aggregation of β -lactoglobulin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46:896-903.
- Wang L, Liang Q, Chen T, Wang Z, Xu J, Ma H. 2014. Characterization of collagen from the skin of Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*). *Food Hydrocolloids* 38:104-109.
- Whitford D. 2005. Protein structure and function. John Willey & Sons Ltd. Inggris. p. 528.
- Wulandari, Suptijah P, Tarman K. 2015. Efektivitas pretreatment alkali dan hidrolisis asam asetat terhadap karakteristik kolagen dari kulit ikan gabus. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 18(3): 287-302.
- Yan M, Li B, Zhao X, Ren G, Zhuang Y, Hou H, Zhang X, Chen L, Fan Y. 2008. Characterization of acid soluble collagen from the skin of walleye pollock (*Theragra chalcogramma*). *Food Chemistry* 107:1581-1586.
- Zhang Y, Liu WT, Li GY, Shi B, Miao YQ, & Wu XH. 2007. Isolation and characterization of pepsin soluble collagen from the skin of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Food Chemistry* 103: 906-912.