

POTENSI KOLAGEN TERIPANG EMAS SEBAGAI INHIBITOR TIROSINASE

Mega Safithri^{1,3*}, Iriani Setyaningsih^{2,3}, Kustiariyah Tarman^{2,3}, Pipih Suptijah^{2,3},
Vitriyanna Mutiara Yuhendri¹, Meydia³

¹Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,

²Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,

³ Divisi Bioteknologi Kelautan, Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan,

Institut Pertanian Bogor

Gedung Fakultas Peternakan, Jalan Agatis Wing 5 Level 5, Kampus Institut Pertanian Bogor Darmaga,

Bogor 16680 Jawa Barat Telepon (0251) 8423267

*Korespondensi: rini_abrar@yahoo.com

Diterima: 2 Mei 2018/ Disetujui: 15 Agustus 2018

Cara sitasi: Safithri M, Setyaningsih I, Tarman K, Suptijah P, Yuhendri VM, Meydia. 2018. Potensi kolagen teripang emas sebagai inhibitor tirosinase. *Jurnal Pengolahan Hasil Perairan Indonesia*. 21(2): 295-303.

Abstrak

Kolagen memiliki aktivitas antioksidan dan mampu menghambat aktivitas tirosinase pada proses melanogenesis, salah satu biota laut yang dapat dijadikan sumber kolagen alternatif adalah teripang. Penelitian ini bertujuan menentukan karakteristik kolagen dan aktivitas penghambatan enzim tirosinase oleh kolagen teripang emas (*Stichopus hermannii*). Penghilangan protein non kolagen dilakukan dengan cara perendaman daging teripang menggunakan NaOH 0,1 M selama 48 jam. Isolasi kolagen dilakukan menggunakan asam asetat 0,5 M selama 48 jam. Analisis gugus fungsi kolagen dilakukan menggunakan FTIR dan analisis aktivitas tirosinase dilakukan menggunakan spektrofotometer. Kadar protein non kolagen yang diperoleh yaitu 0,090 mg/mL dan kolagen teripang emas memiliki rendemen 0,66%, nilai pH 6,91; gugus fungsi khas amida A (3379,29 cm⁻¹), amida B (2924,09 cm⁻¹), amida I (1681,93 cm⁻¹), amida II (1568,13 cm⁻¹), dan amida III (1269,16 cm⁻¹). Aktivitas penghambatan tirosinase menunjukkan bahwa kolagen teripang emas memiliki nilai IC₅₀ 5610 ppm. Kolagen teripang emas belum mampu menghambat aktivitas tirosinase.

Kata kunci: asam amino, FTIR, protein non kolagen

The potency of Stichopus hermannii Collagen as Tyrosinase Inhibitor

Abstract

Collagen has antioxidant activity and it is able to inhibit tyrosinase activity in the process of melanogenesis. One of the marine biotas that can be used as an alternative collagen source is sea cucumber. This study aimed to determine the activity of enzyme inhibition of tyrosinase by *Stichopus hermannii* collagen. Non collagen protein removal was done by soaking sea cucumber using 0.1 M NaOH for 48 hours. Collagen isolation was carried out using 0.5 M acetic acid for 48 hours. Collagen functional group analysis was carried out using FTIR and tyrosinase activity analysis was carried out using a spectrophotometer. Non collagen protein content obtained by 0.090 mg / mL and collagen of *S. hermannii* had a yield of 0.66%, pH value of 6.91; a typical functional group of amide A (3379.29 cm⁻¹), amide B (2924.09 cm⁻¹), amide I (1681.93 cm⁻¹), amide II (1568.13 cm⁻¹), and amide III (1269.16 cm⁻¹). Tyrosinase inhibitory activity showed that *S. hermannii* had an IC₅₀ value of 5610 ppm. *S. hermannii* had not been able to inhibit tyrosinase activity.

Keywords: amino acid, FTIR, non-collagen protein

PENDAHULUAN

Kolagen merupakan protein struktural yang banyak terdapat pada semua hewan. Kolagen adalah protein fibrosa dan merupakan komponen utama jaringan ikat yang dijumpai di tulang, tendon, kulit, pembuluh darah, dan kornea mata (Marks *et al.* 2014). Jumlah kolagen pada manusia mencapai sepertiga dari protein total, dan menyumbang tiga perempat dari berat kering kulit. Kerusakan kolagen, selain karena terpapar oleh radiasi UV dari sinar matahari, kandungan kolagen pada tubuh manusia juga berkurang seiring dengan bertambahnya usia (Draeos dan Thaman 2006). Kerusakan dan penurunan jumlah kolagen terjadi karena faktor usia diatasi dengan penambahan kolagen dalam formulasi kosmetik. Penambahan kolagen ini didasarkan pada sifat kolagen yang dapat mengontrol penguapan cairan, menjaga fleksibilitas, membantu pengembangan jaringan granulasi, melindungi dari efek radiasi UV, serta sebagai perlindungan dari serangan fisik dan bakteri (Khan dan Khan 2013).

Paparan sinar UV dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan gangguan pada kulit, salah satunya meningkatkan sintesis melanin yang menimbulkan hiperpigmentasi. Hiperpigmentasi merupakan sintesis melanin yang berlebih. Melanin merupakan pigmen yang terdapat pada kulit manusia. Melanin yang disintesis secara normal dapat melindungi kulit dari bahaya UV, namun sintesis melanin yang abnormal menghasilkan malesma atau bintik-bintik berwarna coklat dan bentuk lain dari hiperpigmentasi. Hiperpigmentasi melanin dapat menjadi masalah estetika, serta kesehatan pada kulit (Jenifer *et al.* 2012). Tirosinase merupakan enzim utama dalam sintesis melanin. Paparan sinar UV dalam waktu lama dapat meningkatkan aktivitas enzim tirosinase, sehingga meningkatkan sintesis melanin. Enzim tirosinase terlibat dalam dua reaksi penting dalam sintesis melanin, yaitu oksidasi tirosin menjadi L-DOPA, dan oksidasi L-DOPA menjadi DOPAquinon (Zaidi *et al.* 2014), sehingga untuk mengurangi sintesis melanin yang berlebih diperlukan senyawa yang dapat menghambat kerja enzim tirosinase, salah satunya adalah kolagen (Zhuang *et al.* 2009^b).

Kolagen yang banyak beredar dipasaran umumnya berasal dari sapi atau babi. Kolagen juga dapat diperoleh dari bahan baku hasil perairan di antaranya dari kulit ikan gabus dan ikan patin (Wibawa 2015; Wulandari 2016; Hardyanti 2014), serta teripang. Siahaan *et al.* (2017) menyatakan bahwa teripang mengandung kolagen yang tinggi. Tubuh teripang mengandung 70% protein kolagen. Teripang merupakan komponen penting dalam ekosistem laut yang tersebar di lautan seluruh dunia. Jumlah spesies teripang yang ada saat ini adalah sekitar 125 spesies (Bordbar *et al.* 2011). Perairan Indonesia memiliki 53 jenis teripang yang meliputi genus *Holothuria*, *Actinopyga*, *Bohadschia*, *Labiodemas*, *Thelonata* dan *Stichopus*. Jenis-jenis teripang banyak diperdagangkan di internasional terdapat 29 jenis, di antaranya yang termasuk ke dalam famili *Holothuridae* dan *Stichopodidae* (Pankey *et al.* 2014). Ekstraksi kolagen teripang sudah pernah dilakukan oleh Alhana *et al.* (2015) menggunakan teripang gamma namun hanya sampai pada tahap karakterisasi. Aktivitas penghambatan enzim tirosinase oleh kolagen telah dilakukan oleh Zhuang *et al.* (2009) menggunakan kolagen dari ubur-ubur sebesar 5 mg/mL pada konsentrasi 47,2%, sedangkan Abdillah *et al.* (2017) yang menganalisis IC₅₀ anti-tirosinase kolagen dari teripang jenis *Holothuria leucospilota* 1,20 mg/mL. Penelitian ini bertujuan menentukan karakteristik kolagen dan aktivitas penghambatan enzim tirosinase oleh kolagen dari daging teripang jenis emas (*Stichopus hemanni*).

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan adalah teripang emas (*Stichopus hermanni*) yang berasal dari Labuan Bajo, Nusa Tenggara Timur. Teripang dibersihkan lalu disimpan di freezer sampai beku. Sampel yang sudah beku kemudian dimasukkan *coolbox* (*stereofom*) dan diberi es untuk dikirimdikirim melalui jasa argodan diterima di Laboratorium dalam keadaan beku. Bahan yang digunakan terdiri dari akuades, DMSO (Merck), NaH₂PO₄ (Merck), Na₂HPO₄ (Merck), asam kojat (sigma aldrich), enzim tirosinase

(333 U/mL dalam buffer fosfat) (sigma aldrich), dan substrat (L-DOPA 2 mM) (sigma Aldrich). Alat-alat yang digunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR) (*spectrum one* Perkin Elmer), spektrofotometer (Genesys 10 uV Thermo Scientific), dan *microplate reader* (Epoch bi0Tek. Gen51.10)

Metode Penelitian

Preparasi daging teripang segar

Preparasi mengacu pada Karnila *et al.* (2011) dengan membersihkan teripang dari kotoran yang menempel pada kulit. Sampel selanjutnya dibelah dan dipisahkan daging dengan bagian tubuh teripang lainnya yaitu kulit, jeroan, dan gonad.

Ekstraksi kolagen dari daging teripang emas

Pra-perlakuan daging teripang segar mengacu pada Alhana *et al.* (2015) dengan modifikasi. Pra-perlakuan dilakukan dengan merendam daging teripang menggunakan larutan NaOH 0,1 M untuk menghilangkan protein nonkolagen, lemak, mineral, dan pigmen yang ada pada daging teripang. Perendaman daging teripang dilakukan dalam larutan NaOH 0,1 M dengan rasio daging dan larutan NaOH 1:10 (b/v). Larutan perendaman diganti setiap 6 jam dan larutan sisa perendaman diuji kandungan protein dengan metode Bradford. Daging hasil pra-perlakuan dicuci dengan akuades sampai mencapai pH 7.

Hidrolisis kolagen larut asam (Modifikasi Erizal *et al.* 2012). Ekstraksi kolagen dari daging teripang emas dilakukan dengan metode larut asam. Serat kolagen kasar yang diperoleh dari pra perlakuan direndam dengan CH_3COOH 0,5 M pada suhu 4°C selama 48 jam. Proses selanjutnya disaring dengan kain blacu, kemudian filtrat dikeringkan menggunakan pengering beku sehingga diperoleh kolagen kering.

Prosedur Analisis

Analisis rendemen kolagen

Nilai rendemen kolagen diperoleh dari perbandingan berat kering kolagen yang dihasilkan dengan berat bahan daging teripang emas (AOAC 2005). Nilai rendemen

diperoleh dengan rumus:

$$\text{Rendemen kolagen (\%)} = \frac{\text{Berat kering kolagen}}{\text{Berat bahan baku}} \times 100\%$$

Analisis kadar protein

Analisis kandungan protein (nonkolagen) pada NaOH sisa perendaman daging teripang dilakukan menggunakan metode Bradford (1976) dengan *bovine serum albumin* (BSA) sebagai standar. Sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 50 μL , kemudian ditambahkan reagen Bradford sebanyak 2,5 mL. Proses selanjutnya diinkubasi selama 5 menit, kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 610 nm. Konsentrasi standar BSA yang digunakan adalah 0; 400; 500; 600; 800; 1.000 dan 1.200 ppm.

Karakterisasi kolagen

Analisis gugus fungsi dengan FTIR dilakukan untuk mengetahui gugus fungsi khas yang ada pada kolagen yang dihasilkan. Kolagen sebanyak 0,02 g dihaluskan dengan 100 mg Kalium Bromida dalam mortar hingga homogen, kemudian dipadatkan ke dalam cetakan pelet serta divakum dalam mesin pencetak pelet. Pengukuran sampel uji dilakukan pada bilangan gelombang 4000-500 cm^{-1} . 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 pH kolagen mengacu pada Alhana *et al.* (2015). Kolagen sebanyak 1 g dilarutkan dalam 20 mL akuades, ditambahkan 50 mL akuades, dan dihomogenkan. Alat pH meter dinyalakan dan dibiarkan hingga stabil. Elektroda dicelupkan ke dalam sampel beberapa saat sampai diperoleh nilai pH yang stabil. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali.

Uji inhibisi tirosinase

Uji inhibitor tirosinase mengacu pada Batubara *et al.* (2010). Sampel kolagen hasil ekstraksi dilarutkan dalam DMSO hingga konsentrasinya 64.000 ppm. Larutan stok

disiapkan dengan melarutkan sampel ke dalam bufer fosfat 50 mM (pH 6,5). Sampel sebanyak 70 μ L diuji dengan konsentarsi 100; 200; 400; 1.600; 3.200; 6.400; 9.600 dan 12.800 ppm. Asam kojat 70 μ L sebagai kontrol positif diuji pada konsentrasi 200 ppm ditambahkan 30 μ L enzim tironase (sigma 333 unit/mL dalam bufer fosfat). Substrat (L-DOPA 2 mM) sebanyak 110 μ L ditambahkan dan campurannya diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Larutan pada masing-masing sumur diukur nilai absorbansinya dengan menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 492 nm untuk menentukan persen inhibisi dan nilai konsentrasi hambat 50% (IC_{50}). Persentase inhibisi dihitung dengan membandingkan absorbansi tanpa penambahan sampel (A) dengan penambahan sampel (B) pada panjang gelombang 492 nm. Persentase inhibisi dapat dihitung dengan persamaan:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{A-B}{A} \times 100\%$$

Analisis asam amino

Analisis asam amino dilakukan menggunakan *High performance Liquid Chromatography* (HPLC) (AOAC 2005). Metode ini diawali dengan hidrolisis sampel melalui penambahan HCl 6 N dan pemanasan, kemudian hidrolisat dikeringkan dan diderivatisasi dengan larutan

phenylisothiocyanat (PITC) atau Edman's *Reagent* dan ditambahkan asetonitril sebagai fase gerak. Sampel diinjeksikan kedalam HPLC setelah disaring terlebih dahulu menggunakan kertas saring milipore 0,45 μ . Konsentrasi asam amino dihitung dengan rumus :

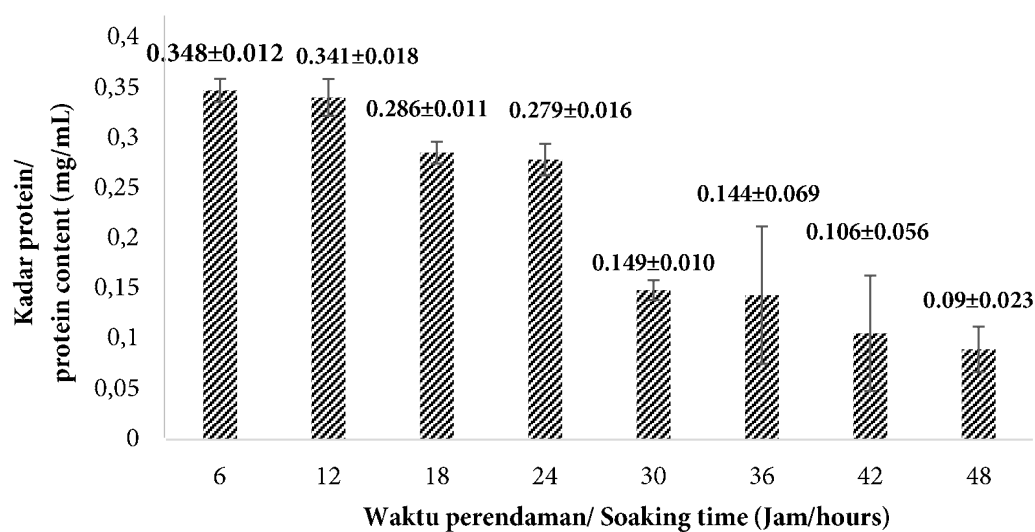
$$\text{Konsentrasi asam amino} = \frac{\text{luas area sampel} \times C \times FP \times BM \times 100}{\text{luas area standar} \times \text{bobot sampel (g)}}$$

- C : Konsentrasi standar asam amino (ug/mL)
 FP : Faktor pengenceran
 BM : Bobot molekul setian asam amino (g/mol)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Kolagen Kadar protein nonkolagen dan rendemen kolagen

Perendaman 6 jam pertama menunjukkan kadar protein sebesar 0,348 mg/mL. Kadar protein ini semakin menurun seiring dengan lamanya waktu perendaman. Perendaman pada jam ke-48 menunjukkan kadar protein sebesar 0,090 mg/mL (Gambar 1). Larutan basa yang digunakan dalam proses pra-perlakuan ini adalah NaOH 0,1 M. Larutan NaOH 0,05 dan 0,1 M dapat melarutkan protein nonkolagen tanpa menyebabkan kehilangan kolagen, serta membuat daging kolagen mengembang. Menurut Jaswir *et al.* (2011) selama perendaman dalam NaOH, sampel semakin mengembang karena adanya gaya elektrostatis sehingga memudahkan masuknya air dan menyebabkan



Gambar 1 Kadar protein nonkolagen
 (Figure 1 Non-collagen protein content)

protein nonkolagen serta molekul selain protein yang terjebak dalam matriks kolagen menjadi mudah dilepaskan.

Rerata rendemen kolagen teripang emas yang diperoleh adalah $0,66 \pm 0,14\%$. Faktor yang memengaruhi nilai rendemen yaitu perbedaan metode ekstraksi, lama waktu ekstraksi, perbandingan sampel dan pelarut, konsentrasi asam basa, dan jenis bahan baku yang digunakan (Diantika *et al.* 2014; Potaros *et al.* 2009).

Nilai pH kolagen

Nilai pH kolagen teripang emas yang dihasilkan adalah $6,91 \pm 0,0125$. Nilai pH kolagen yang dihasilkan dipengaruhi oleh konsentrasi asam yang digunakan. Nilai pH kolagen yang dihasilkan lebih rendah dari penelitian Alhana *et al.* (2015) yaitu 7,37 yang menggunakan teripang gamma, sedangkan nilai pH 6,91 masih sesuai nilai BSN yaitu nilai pH kolagen berkisar 6,5-8 (BSN 2014).

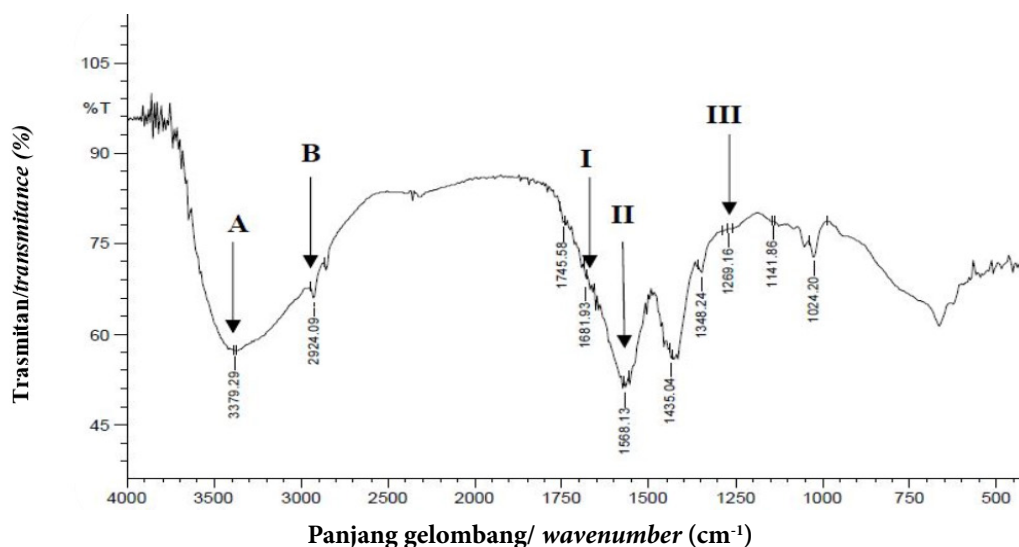
Gugus fungsi kolagen

Hasil spektrum inframerah kolagen daging teripang emas disajikan pada Gambar 2. Kolagen yang dihasilkan menunjukkan puncak-puncak serapan pada wilayah serapan yang meliputi amida A, amida B, amida I, amida II, dan amida III. Puncak puncak serapan ini merupakan serapan khas yang ada pada kolagen.

Wilayah serapan standar kolagen dan hasil pengukuran kolagen teripang emas serta karakteristik gugus fungsi kolagen hasil isolasi dapat dilihat pada Tabel 1. Amida A teridentifikasi bilangan gelombang 3379,29; amida B 2924,09; amida I 1681,93; amida II 1568,13; dan amida III 1269,16 cm^{-1} . Amida I memiliki struktur sekunder protein antara lain α -helix, β -sheet, β -turn, dan *random coil (loop)*. Gugus fungsi amida III mengkonfirmasi struktur tripel heliks kolagen teripang emas yang ditunjukkan dengan nilai rasio intensitas amida III dan intensitas pada bilangan gelombang 1450 cm^{-1} kolagen mendekati 1 yaitu sebesar 1.34. Menurut Nikoo *et al.* (2011), kolagen yang terdenaturasi menjadi gelatin memiliki intensitas rasio 0,59. Penggunaan asam akan meningkatkan H^+ sehingga air lebih mudah masuk kedalam serat kolagen dan terbentuknya ikatan hidrogen antara gugus nonpolar pada kolagen dengan H^+ dari asam, hal tersebut dapat mendukung rusaknya struktur serat kolagen melalui terganggunya ikatan nonkovalen dan memudahkan melarutkan kolagen (Jaswir *et al.* 2011).

Aktivitas Inhibisi Enzim Tirosinase

Enzim tirosinase mangkatalisis dua reaksi penting dalam sintesis melanin, yaitu oksidasi tirosin menjadi L-DOPA, dan oksidasi L-DOPA menjadi DOPAquinon, yang



Gambar 2 Spektrum FTIR kolagen teripang emas
(Figure 2 *Stichopus hermannii* collagen FTIR spectrum)

Tabel 1 Karakteristik gugus fungsi kolagen
(Table 1 Characteristics of collagen functional groups)

Jenis amida/ <i>Amide type</i>	Bilangan gelombang puncak serapan (cm ⁻¹)			Karakteristik amida/ <i>Characteristics of amide</i>
	Standar wilayah serapan/ <i>Absorption area standards</i>	Serapan yang diperoleh/ <i>Absorption obtained</i>	Serapan kolagen standar/ <i>Standard collagen uptake</i>	
Amide A	3350-3550 ¹	3379.29	3332.29	NH <i>stretching</i> ¹
Amide B	2935-2915 ²	2924.09	2924.09	CH ₂ asimetri <i>stertching</i> ²
Amide I	1600-1700 ³	1681.93	1647.21	C=O <i>stretching</i> ³
Amide II	1480-1575 ³	1568.13	1546.91	NH <i>bending</i> , CN <i>stretching</i> ³
Amide III	1229-1301 ³	1269.16	1334.74	NH <i>bending</i> , CN <i>stretching</i> ³

Keterangan: ¹Erizal *et al.* (2012); ²Coates (2000); ³Kong dan Yu (2007)

selanjutnya diubah menjadi pigmen melanin melalui proses nonenzimatik (Zaidi *et al.* 2014). Hasil persentase daya inhibisi enzim tirosinase disajikan pada Gambar 3. Nilai penghambatan tertinggi yaitu pada konsentrasi 12.800 ppm sebesar 83,713%, persentase inhibisi ini lebih rendah dibandingkan dengan asam kojat 200 ppm (94,263%). Zhuang dan Liping (2012) melaporkan bahwa kolagen dari ubur-ubur pada konsentrasi 100 ppm dapat menghambat aktivitas enzim tirosinase 40,4%, sedangkan kolagen teripang emas pada konsentrasi 100 ppm menghambat aktivitas enzim tirosinase 10,085%. Kolagen teripang emas diuji nilai IC₅₀. Hasil penelitian IC₅₀ enzim tirosinase menunjukkan bahwa kolagen teripang emas memiliki nilai IC₅₀ 5.610 ppm. Nilai IC₅₀ ini lebih tinggi dibandingkan penelitian Abdillah *et al.* (2017) yang memperoleh IC₅₀ 1.200 ppm menggunakan kolagen dari teripang jenis *Holothuria leucospilota*. Nilai IC₅₀ semakin rendah maka semakin baik aktivitas penghambatan enzim dari sampel hasil pengujian (Filbert *et al.* 2014). Sari *et al.* (2015) menggolongkan sampel dikatakan inhibitor aktif jika memiliki nilai IC₅₀ kurang dari 1.000 ppm, sedangkan IC₅₀ di atas 1.000 ppm maka sampel tersebut tergolong inhibitor tidak aktif, dengan demikian kolagen teripang emas pada penelitian ini tergolong inhibitor tirosinase yang tidak aktif. Zhuang dan Liping (2012) menyatakan, perbedaan nilai IC₅₀ dapat dipengaruhi oleh komposisi

asam amino. Peptida yang mengandung *total hydrophobic amino acids* (THAA) yang tinggi memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi untuk menekan reaksi oksidatif, sehingga dapat menurunkan aktivitas enzim tirosinase (Zhuang dan Liping 2012).

Kadar Asam Amino

Pengukuran kadar asam amino menggunakan alat *Ultra Performance Liquid Chromatography* (UPLC). Analisis asam amino yang dilakukan adalah pengukuran kadar 15 asam amino. Asam amino yang diukur adalah histidina, treonina, prolina, tirosina, leusina, asam aspartat, lisina, glisina, arginina, alanina, valina, isoleusina, fenilalanina, asam glutamat dan serina (Tabel 2). Hasil ini menunjukkan bahwa kolagen teripang emas memiliki asam amino hidrofobik yang tinggi, sehingga dapat menurunkan aktivitas enzim tirosinase (Zhuang dan Liping 2012). Penggunaan asam asetat meningkatkan H⁺ pada tahap isolasi, menyebabkan air lebih mudah masuk ke dalam serat kolagen dan terbentuknya ikatan hidrogen antara gugus nonpolar asam amino hidrofobik pada kolagen dengan H⁺ dari asam, hal tersebut dapat mendukung rusaknya struktur serat kolagen melalui terganggunya ikatan nonkovalen dan memudahkan melarutkan kolagen (Jaswir *et al.* 2011), sehingga dapat menurunkan aktivitas enzim tirosinase.

Tabel 2 Kadar asam amino kolagen
(Table 2 Amino acid of collagen)

Asam amino/ <i>amino acid</i>	Kadar asam amino/ <i>content of amino acid (%)</i>
Asam amino hidrofobik	
Isoleusina	2.41±0.04
Leusina	4.49±0.05
Fenilalanina	3.18±0.03
Alanina	8.07±0.00
Glisina	21.81±0.00
Tirosina	3.14±0.04
Valina	3.05±0.03
Sub total	46.15
Asam amino hidrofilik	
Arginina	9.97±0.04
Histidina	1.74±0.00
Treonina	6.67±0.11
Asam Aspartat	7.17±0.02
Asam Glutamat	12.65±0.04
Lisina	0.71±0.01
Prolina	8.84±0.01
Serina	6.60±0.02
Sub Total	54.35
Total	100.00

KESIMPULAN

Kolagen berhasil diisolasi dari daging teripang emas memiliki rendemen 0,66%, nilai pH 6,91. Kolagen teripang emas memiliki gugus fungsi khas pada amida A, amida B, amida I, amida II, dan amida III dengan bilangan gelombang 3379,29; 2924,09; 1681,93; 1269,16 cm^{-1} . Kolagen teripang emas memiliki aktivitas penghambatan enzim tirosinase dengan IC_{50} 5.610 ppm. Kadar asam amino hidrofobik kolagen yaitu 15,44%.

DAFTAR PUSTAKA

Abdillah S, Wijayanti G, Setiawan M, Noor US, Nurilmala M. 2017. *In vitro* anti-tyrosinase and anti-elastase activity of collagen from sea cucumber (*Holothuria leucospilota*). *African Journal of Biotechnology*. 16(1): 771-776.

Alhana, Suptijah P, Tarman K. 2015. Ekstraksi dan karakterisasi kolagen dari daging teripang gamma. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 18(2): 150-161.

[AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. *Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical of Chemist*. Arlington Virginia (US): Published by The Association of Official Analytical Chemist, Inc.

Batubara I, Darusman LK, Mitsunaga T, Rahminiwati M, Djauhari E. 2010. Potency of Indonesia medicinal plants as tyrosinase inhibitor and antioxidant agent. *Journal of Biological Sciences*. 10:138-144.

Bordbar S, Anwar F, Saari N. 2011. Hight value components and bioactives from sea cucumbers for functional foods–A Review. *Merine Drugs*. 1761-1805.

Bradford M. 1976. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle dye binding. *Analytical of Biochemistry*. 72: 248-254.

[BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2014. *Kolagen kasar dari sisik ikan-Syarat mutu*

- dan pengolahan*: SNI 8076-2014. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.
- Coates J. 2000. Interpretation of infrared spectra, a practical approach. Di dalam: Meyers RA, editor. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. USA (US): John Wiley & Sons Ltd.
- Diantika F, Sutan SM, Yulianingsih R. 2014. Pengaruh ekstraksi dan konsentrasi pelarut etanol terhadap ekstraksi antioksidan biji kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Teknologi Pertanian*. 15(3): 159-164.
- Draelos ZD, Thaman LA. 2006. *Cosmetic Science and Technology Series*. Volume ke-30, *Cosmetic Formulation of Skin Care Products*. New York (US): Taylor & Francis Group.
- Erizal, Abbas B, Setyo AK, Sulistiono GS, Sudirman. 2012. Pengaruh iradiasi gamma pada sifat fisiko-kimia kolagen dalam larutan. *Jurnal Sains Materi Indonesia*. 15(4): 221-225.
- Filbert, Koleangan HSJ, Runtuwenw MRJ, KamuVS. 2014. Penentuan aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC_{50} ekstrak metanol dan fraksi hasil partisinya pada kulit biji Pinang Yaki (*Areca vestiaria Giseke*). *Jurnal MIPA UNSRAT*. 3(2):149-154.
- Hardyanti STK. 2014. Isolasi kolagen dari kulit ikan patin (*Pangasius* sp.). [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Jaswir I, Monsur HA, Salleh HM. 2011. Nano-structural analysis of fish collagen extracts for new process development. *African Journal of Biotechnology*. 10(81): 18847-18854.
- Jenifer C, Stephanie CM, Abhishri SB, Shalini BU. 2012. A review on skin whitening property of plant extracts. *International Journal of Pharma and Bio Science*. 3(4): 332-347.
- Karnila R, Astawan M, Sukarno, Wresdiyati T. 2011. Karakteristik konsentrat protein teripang pasir (*Holothuria scabra* J.) dengan bahan pengekstrak aseton. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 16(1): 90-102.
- Khan R, Khan MH. 2013. Use of collagen as a biomaterial: An update. *Journal of Indian Society of Periodontology*. 17(4): 539-542.
- Komala AH. 2015. Ekstraksi dan karakterisasi kolagen dari kulit ikan tongkol (*Euthynnus affinis*). [Skripsi]. Bogor (ID): Insitut Pertanian Bogor.
- Kong J, Yu S. 2007. Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. *Acta Biochimica Biophysica Sinica*. 39(8): 549-559.
- Marks DB, Marks AD, Smith CM. 2014. *Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah Pendekatan Klinis*. Jakarta (ID): EGC.
- Nikoo M, Xu X, Benjakul S, Xu G, Ramires-Suarez JC, Ehsani A, Kasankala LM, Duan X, Abass S. 2011. Characterization of gelatin from the skin of farmed amur sturgeon *Acipenser schrenckii*. *International Aquatic Research*. 3(2): 135-145.
- Pankey H, Lantu S, Manuand L, Mokolensang JF. 2014. Prospect of sea cucumber culture in Indonesia as potensial food sources. *Coastal and Development*. 15(2): 114-124.
- Potaros T, Raksakulthai N, Runglerdkreangkrai J, Worawattanamateekul W. 2009. Characteristics of collagen from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin isolated by two different methods. *Kasetsart Journal-Natural Science*. 43(3): 584-593.
- Sari KR, Utami R, Batubara I, Carolina A, Febriany S. 2015. Aktivitas antioksidan dan inhibitor tirosinase ekstrak metanol mangium (*Acacia mangium*). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kayu Tropis*. 13(1): 88-97.
- Siahaan EA, Pangestu R, Munandar H, Kim SK. 2017. Review cosmeceuticals properties of sea cucumbers: Prospects and Trends. *Cosmetic*. 4(26):1-12.
- Wibawa SF. 2015. ACE inhibition and antioxidant activities of collagen hydrolysate from skin of snakehead fish (*Channa striata*). [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Wulandari. 2016. Karakterisasi fisikokimia kolagen yang diisolasi dengan metode hidro-ekstraksi dan stabilisasi nanokolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*). [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Zaidi UK, Ali SA, Ali AS, Naaz I. 2014. Review article: microbial tyrosinase:

- promising enzyme for pharmaceutical, food bioprocessing, and environmental industry. *Biochemistry Research International*. 1-16.
- Zhuang Y, Zhao X, Li B. 2009a. Optimization of antioxidant activity by response surface methodology in hydrolysates of jellyfish (*Rhopilema esculentum*) umbrella collagen. *Journal of Zhejiang University of Science B*. 10(8): 572-579.
- Zhuang Y, Sun L, Zhao X, Wang J, Hou H, Li B. 2009b. Antioxidant and melanogenesis-inhibitory activities of collagen peptide from jellyfish (*Rhopilema esculentum*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 89: 1722-1727.
- Zhuang Y, Liping S. 2012. Anti-melanogenic activities of collagen peptides from jellyfish (*Stomolophus meleagris*). *Advanced Materials Research*. 343: 505-512.