

EKSTRAKSI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN LARUT ASAM DAN PEPSIN DARI SISIK HARUAN (*Channa striatus*) KERING

Bagus Fajar Pamungkas^{1,2}, Supriyadi², Agnes Murdiati², Retno Indrati^{2*}

¹Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas
Mulawarman, Samarinda

²Departemen Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian,
Universitas Gadjah Mada, Jalan Flora, Bulaksumur, Yogyakarta 55281

Telepon (0274) 549650, Faks. (0274) 589797

*Korespondensi: indrati@ugm.ac.id

Diterima: 2 November 2018 / Disetujui: 17 Desember

Cara sitasi: Pamungkas BF, Supriyadi, Murdiati A, Indrati R. 2018. Ekstraksi dan karakterisasi kolagen larut asam dan pepsin dari sisik haruan (*Channa striatus*) kering. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 21(3): 513-521.

Abstrak

Karakteristik kolagen dapat dipengaruhi oleh sumber bahan baku dan metode ekstraksi yang digunakan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan karakteristik kolagen larut asam dan pepsin dari sisik haruan (*Channa striatus*) kering. Metode yang dilakukan meliputi ekstraksi kolagen dari sisik haruan menggunakan asam asetat 0,5 M atau pepsin 0,1% serta karakterisasinya. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rendemen kolagen larut asam (KLA-SH) dan larut pepsin (KLP-SH) dalam berat kering yaitu 0,98 dan 1,94%. Komposisi asam amino KLA-SH dan KLP-SH didominasi oleh asam amino glisin dan mempunyai asam imino yaitu 226 dan 230 residu/1000 residu. Spektrum FTIR KLA-SH dan KLP-SH menunjukkan proses ekstraksi kolagen dengan asam dan pepsin dapat mempertahankan struktur *triple helix* kolagen. Berdasarkan hasil SDS-PAGE, KLA-SH dan KLP-SH mempunyai profil protein yang terdiri dari α_1 dan α_2 chain, β -chain, dan γ -chain dan diidentifikasi sebagai kolagen tipe I.

Kata kunci: Kolagen tipe I, metode ekstraksi, profil protein, sisik haruan.

Extraction and characterization of acid-soluble collagen and pepsin-soluble collagen from the dry scales of the striped snakehead (Channa striatus)

Abstract

Characteristics of collagen are influenced by the source of raw materials and extraction methods used. The aim of this research was to characterize the acid- and pepsin-soluble collagens from the dry scales of the striped snakehead (*Channa striatus*). Collagen was extracted using to methods including 0.5 M acetic acid and 0.1% pepsin. The yield of acid soluble collagen (KLA-SH) and pepsin soluble collagen (KLP-SH) were 0.98% and 1.94%, respectively. KLA-SH and KLP-SH contained glycine as the major amino acid and had high imino acid group content i.e 226 and 230 residues/1.000 residues, respectively. FTIR spectra of KLA-SH and KLP-SH showed that of the structure of collagen could be maintained in the form of triple helix structure. KLA-SH and KLP-SH consisted of α_1 - and α_2 -chain, β -chain, and γ -chain and is suggested as type I collagen.

Keywords: Extraction methods, haruan scale, protein pattern, type I collagen.

PENDAHULUAN

Kolagen merupakan bagian dari matrik ekstraselular protein yang berperan penting dalam mempertahankan struktur berbagai jaringan, berupa komponen utama dari berbagai jaringan ikat seperti kulit, tulang, tendon, pembuluh darah, membran basal, tulang rawan dan gigi yang menyumbang sekitar 25-30% dari total kandungan protein hewani (Liu *et al.* 2007; Pati *et al.* 2010). Kolagen dengan konformasi triple-heliks telah teridentifikasi sebanyak 29 varian, yaitu tipe I – XXIX (Liu *et al.* 2010). Kolagen tipe I adalah yang paling melimpah dan dapat ditemukan pada semua jaringan ikat vertebrata serta memiliki aplikasi luas di berbagai bidang misalnya makanan, biomedis, farmasi, dan industri kosmetik (Hoyer *et al.* 2014).

Sumber utama kolagen komersial umumnya berasal dari tulang sapi dan babi. Penggunaan tulang sapi sebagai sumber kolagen mulai menimbulkan kekhawatiran di kalangan produsen karena merebaknya *Bovine Spongiform Encephalopathy* (BSE), *Transmissible Spongiform Encephalopathy* (TSE) dan *Foot and Mouth Disease* (FMD) (Zhang *et al.* 2010). Unsur agama tertentu juga melarang penganutnya untuk mengkonsumsi makanan yang mengandung babi, ataupun hewan ternak misalnya sapi yang tidak disembelih sesuai ajaran agama tertentu (Huang *et al.* 2016), oleh karena itu diperlukan bahan baku alternatif sebagai sumber kolagen yang bisa diterima secara luas oleh masyarakat di antaranya yang berasal dari ikan.

Produk samping misalnya kepala, kulit, tulang, sisik, dan isi perut sebagian besar dihasilkan selama proses pengolahan ikan (Kittiphattanabawon *et al.* 2005), jumlahnya dapat mencapai 50-70% dari bahan baku dan dapat menyebabkan pencemaran lingkungan apabila sistem pembuangannya tidak tepat. Produk samping pengolahan ikan selama ini lebih banyak dimanfaatkan sebagai bahan pakan atau pupuk dengan nilai ekonomis rendah (Di *et al.* 2014). Pemanfaatan optimal dari produk samping pengolahan ikan terutama sebagai bahan baku kolagen merupakan salah satu cara untuk meningkatkan nilai tambah produk samping dan untuk mengurangi pencemaran lingkungan.

Penelitian mengenai ekstraksi dan karakterisasi kolagen dari produk samping pengolahan ikan telah dilaporkan di antaranya kolagen larut asam dan pepsin dari kulit dan tulang *spanish mackerel* (Li *et al.* 2013), kulit dan gelembung renang *grass carp* (Wu *et al.* 2015), dan sisik *seabass* (Chuaychan *et al.* 2015), kolagen larut asam dari kulit ikan ekor kuning (Astiana *et al.* 2016), kulit *african catfish*, *salmon*, dan *baltic cod* (Tylingo *et al.* 2016), serta kulit ikan patin (Devi *et al.* 2017). Metode ekstraksi kolagen dengan asam dan pepsin dapat menghasilkan kolagen dengan rendemen dan karakteristik yang berbeda tergantung pada sumber bahan baku dan kondisi proses yang digunakan (Regenstein dan Zhou 2007).

Haruan atau *snakehead fish* (*Channa striatus*) merupakan salah satu ikan air tawar yang hidup di perairan tropis dan tersebar hampir di seluruh perairan umum di Indonesia. Haruan umumnya dikonsumsi sebagai lauk pauk dan diolah menjadi ikan asin, kerupuk dan amplang (Muthmainnah 2013). Pemanfaatan haruan sebagai produk olahan menyisakan banyak limbah, terutama sisik ikan yang mencapai 30-40% dari ikan utuh. Sisik haruan dapat dimanfaatkan sebagai sumber bahan baku alternatif untuk ekstraksi kolagen, namun, belum banyak penelitian tentang ekstraksi kolagen dari sisik haruan terutama sisik kering dengan metode ekstraksi yang berbeda. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan karakteristik kolagen larut asam dan pepsin dari sisik haruan kering.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini berupa sisik haruan segar yang diperoleh dari pasar tradisional di Samarinda. Bahan-bahan yang digunakan untuk ekstraksi kolagen terdiri dari NaOH, EDTA, CH₃COOH, NaCl (*Merck*), dan pepsin (EC3.4.23.1; powdered; ≥250 Units/mg solid) dari Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA), sedangkan bahan-bahan untuk elektroforesis diperoleh dari Bio-Rad Laboratories (Hercules, CA, USA). Semua reagen dan bahan kimia lain adalah *analytical grade*. Alat-alat yang digunakan

adalah *refrigerated centrifuge* (Eppendorf Centrifuge 5417 R, Hamburg, Germany), LC-MS/MS (The Waters Xevo TQD, Milford, MA), spektrofotometer UV-VIS (Genesys 10S, China), SDS-PAGE (Mini Protean unit, Bio-Rad Laboratories, Inc., Richmond, CA, USA), dan FTIR (Nicolet iS 10, Thermo Fisher Scientific Inc., USA).

Metode Penelitian

Preparasi bahan baku

Sisik haruan dicuci dengan air dingin, ditiriskan, dan dijemur di bawah sinar matahari selama 8 jam. Sisik haruan kering dikemas dalam plastik polietilen, dimasukkan dalam *cool box*, ditambah *gel ice* kemudian dikirim ke Fakultas Teknologi Pertanian UGM dan disimpan pada suhu -18°C sampai tiba saat digunakan.

Ekstraksi kolagen larut asam

Metode ekstraksi kolagen mengacu pada metode Chuaychan *et al.* (2015) dengan modifikasi berupa waktu sentrifugasi dan dialisis. Sisik ikan direndam dalam larutan NaOH 0,1 M pada suhu kamar dengan rasio 1:10 (b/v) selama 6 jam untuk menghilangkan protein non kolagen. Demineralisasi sisik ikan dilakukan menggunakan EDTA-2 Na 0,5 M dengan rasio 1:10 (b/v) pada pH 7,4 selama 24 jam. Sisik ikan yang sudah didemineralisasi kemudian direndam dalam asam asetat 0,5 M dengan rasio 1:10 (b/v) dan di-*stirer* selama 48 jam pada suhu kamar. Kolagen dalam filtrat diendapkan dengan menambahkan NaCl sampai diperoleh konsentrasi 2,6 M. Presipitat diperoleh dengan sentrifugasi pada 15.000 g, suhu 4°C selama 30 menit, kemudian dilakukan dialisis (MWCO 12 kDa) selama 48 jam. Kolagen yang diperoleh selanjutnya dikeringkan dengan *freeze dryer* dan disebut sebagai kolagen larut asam dari sisik haruan (KLA-SH).

Ekstraksi kolagen larut pepsin

Residu sisik setelah ekstraksi dengan asam direndam dalam asam asetat 0,5 M yang mengandung pepsin 0,1% dengan rasio 1:8 (b/v) selama 72 jam. Filtrat yang diperoleh dipresipitasi dan didialisis dengan cara yang sama dengan ekstraksi kolagen larut asam

yang telah dijelaskan sebelumnya. Kolagen yang diperoleh disebut sebagai kolagen larut pepsin dari sisik haruan (KLP-SH).

Prosedur Analisis

Rendemen kolagen

Rendemen kolagen dihitung berdasarkan berat kering kolagen yang telah di *freeze dry* dibandingkan dengan berat kering sisik haruan (Chuaychan *et al.* 2015).

Analisis proksimat

Kadar air, kadar abu, protein, dan lemak sisik haruan kering dan kolagen ditentukan dengan metode AOAC (2005).

Analisis asam amino

Sampel dihidrolisis dengan HCl 6 N pada 110°C selama 24 jam dengan adanya fenol 1% (v/v). Hidrolisat diderivatisasi, dikeringkan dan dilarutkan dengan pelarut sampel. Derivat sampel kemudian dianalisis dengan LC-MS/MS (The Waters Xevo TQD, Milford, MA). Daerah di bawah *peak* masing-masing asam amino dalam kromatogram dihitung dan dibandingkan dengan standar asam amino dan dilaporkan sebagai jumlah residu per seribu asam amino.

Kadar hidroksiprolin

Penentuan kadar hidroksiprolin KLA-SH dan KLP-SH dilakukan mengacu pada metode Reddy dan Enwemeka (1996) dengan modifikasi. Sampel dihidrolisis dengan HCl 6 N pada suhu 110°C selama 6 jam. Filtrat yang diperoleh dicampur dengan bufer kloramin T dan didiamkan selama 20 menit pada suhu kamar. Kromofor terbentuk dengan penambahan reagen Ehrlich dan diinkubasi pada suhu 60°C selama 20 menit. Absorbansi dibaca pada 550 nm menggunakan spektrofotometer UV-VIS (Genesys 10S, China).

Fourier transform spectroscopy (FTIR)

Analisis gugus fungsi kolagen dengan FTIR dilakukan mengacu pada Di *et al.* (2014). Kolagen dicampur dengan kalium bromida, kemudian dipadatkan dalam cetakan pelet dan divakum dalam mesin pencetak pelet. Pengukuran dilakukan pada

bilangan gelombang 650-4.000/cm. Gugus-gugus fungsi kolagen ditentukan berdasarkan puncak serapan bilangan gelombang yang terdeteksi dengan wilayah serapan untuk gugus fungsi protein.

Sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

Analisis profil protein KLA-SH dan KLP-SH dengan SDS-PAGE mengacu pada metode Laemmli (1970) dengan modifikasi, menggunakan *resolving gel* 7,5% dan *stacking gel* 5%. Kolagen dilarutkan dalam SDS 10% (w/v), diinkubasi pada suhu 85°C selama 1 jam, dan disentrifugasi pada kecepatan 10.000 g selama 15 menit. Supernatan dicampur dengan bufer sampel dengan rasio 1:1 (v/v) dan dipanaskan selama 4 menit. Sampel diinjeksi pada gel poliakrilamid dan elektroforesis dijalankan pada 180 V. Gel diwarnai dengan larutan *staining* selama 30 menit kemudian direndam dalam larutan *destaining* sampai gel jernih.

Analisis data

Data hasil penelitian disajikan dalam bentuk rata-rata \pm standar deviasi dari tiga kali ulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen dan proksimat

Rendemen KLP-SH dalam berat kering (1,94%) lebih besar daripada rendemen KLA-SH (0,98%) ditunjukkan pada *Table 1*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan pepsin 0,1% untuk mengekstrak residu sisik dari ekstraksi asam dapat meningkatkan rendemen kolagen yaitu 1,98 kali lipat. Rendemen KLA-SH yang rendah diduga disebabkan oleh rendahnya kelarutan *cross-linking* pada daerah telopeptida sisi heliks

(Zhang *et al.* 2010). Penambahan pepsin yaitu 0,1% menyebabkan molekul *cross-linking* pada daerah telopeptida dipecah oleh pepsin, menyebabkan peningkatan kelarutan kolagen (Nalinanon *et al.* 2011). Jongjareonrak *et al.* (2005) juga melaporkan bahwa pepsin mampu memecah molekul *cross-linking* pada daerah telopeptida tanpa merusak integritas *triple helix*, menghasilkan peningkatan rendemen kolagen. Hasil penelitian ini sesuai dengan (Zhang *et al.* 2010) yang melaporkan bahwa pepsin 0,1% terbukti efektif melarutkan kolagen dari sisik *carp* dengan nilai rendemen kolagen larut pepsin (2,32%) lebih tinggi dibandingkan rendemen kolagen larut asam (0,86%). Rendemen KLP-SH masih lebih rendah dibandingkan rendemen larut pepsin dari sisik *carp*, namun lebih tinggi daripada rendemen larut pepsin dari sisik *goatfish* yaitu 1,20% (Matmaroh *et al.* 2011) dan sisik *seabass* yaitu 1,06% (Chuaychan *et al.* 2015). Perbedaan kemampuan pepsin untuk mengekstrak kolagen diduga dipengaruhi oleh spesies ikan, konfigurasi dan komposisi kolagen, serta jumlah dan sumber pepsin yang digunakan (Di *et al.* 2014).

Sisik haruan kering mengandung kadar air 10,87%, protein 45,52%, abu 40,35%, dan lemak 0,25%. Kadar abu yang tinggi pada sisik haruan diduga disebabkan oleh kandungan kalsium hidroksiapatit ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$) pada sisik ikan (Liu *et al.* 2009). Jika dibandingkan dengan sisik haruan, KLA-SH dan KLP-SH mengandung protein dalam jumlah tinggi yaitu masing-masing 92,92 dan 93,12%, namun kadar abu, lemak, dan kadar air lebih rendah. Kadar protein yang tinggi dan kadar air yang rendah pada kolagen menunjukkan bahwa metode ekstraksi yang digunakan efektif untuk mengekstrak kolagen dari sisik haruan dan sejumlah besar air dikeluarkan

Table 1 Yield and proximate composition of the collagen

Component	Haruan scales	KLA-SH	KLP-SH
Yield (%)	-	0.98 \pm 0.15	1.94 \pm 0.79
Moisture (% bb)	10.87 \pm 0.02	5.72 \pm 0.34	5.48 \pm 0.67
Protein (% bb)	45.52 \pm 0.07	92.92 \pm 0.43	93.12 \pm 0.16
Ash (% bb)	40.35 \pm 0.46	0.71 \pm 0.32	0.66 \pm 0.41
Fat (% bb)	0.25 \pm 0.05	0.05 \pm 0.04	0.06 \pm 0.03

pada saat proses pengeringan beku. Kadar abu yang rendah pada kolagen menunjukkan bahwa proses demineralisasi dengan EDTA-2Na 0,5 M pada pH 7,4 dapat menghilangkan sekitar 98% komponen anorganik dari sisik haruan. Hasil penelitian ini sesuai dengan Wang *et al.* (2013) yang melaporkan bahwa sekitar 98% komponen inorganik dapat dihilangkan dari sisik *croceine croaker* setelah demineralisasi menggunakan EDTA-2Na 0,5 M (pH 7,4).

Komposisi asam amino

Komposisi asam amino KLA-SH dan KLP-SH dalam residu/1.000 residu asam amino disajikan pada *Table 2*. KLA-SH dan KLP-SH mempunyai komposisi asam amino yang hampir mirip. Glisina merupakan asam amino yang paling dominan, yaitu 306 residu/1.000 residu pada KLA-SH dan 303 residu/1.000 residu pada KLP-SH. KLA-SH dan KLP-SH juga kaya akan asam amino prolina, arginina, alanina, dan valina. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Matmaroh *et al.* (2011), Di *et al.* (2014), dan

Chuaychan *et al.* (2015) yang melaporkan bahwa glisina merupakan asam amino yang dominan pada kolagen dan semua famili kolagen dicirikan oleh adanya pengulangan dari sekuen asam amino Gly-X-Y, X adalah prolina dan Y hidroksiprolina. Asam imino berupa prolina dan hidroksiprolina penting untuk integritas struktural kolagen, karena berperan penting dalam pembentukan ikatan hidrogen intramolekul (Chi *et al.* 2014). Jumlah asam imino KLA-SH dan KLP-SH masing-masing yaitu 226 dan 230 residu/1.000 residu. Jumlah asam imino KLP-SH mendekati jumlah asam imino kolagen larut pepsin dari sisik *carp* yaitu 231 residu/1.000 residu (Zhang *et al.* 2011). Jumlah asam imino KLA-SH dan KLP-SH lebih besar daripada jumlah asam imino pada kolagen larut asam dan larut pepsin dari sisik *goatfish* (186 dan 189 residu/1.000 residu) (Matmaroh *et al.* 2011) serta dari sisik *seabass* (193 dan 195 residu/1.000 residu) (Chuaychan *et al.* 2015). Perbedaan kandungan asam imino pada kolagen dari masing-masing spesies dipengaruhi oleh lingkungan hidup spesies tersebut terutama berhubungan

Table 2 Amino acid composition of KLA-SH and KLP-SH (residues/1.000 amino acid residues)

Amino acid	KLA-SH	KLP-SH
Glycine	306	303
Proline	163	168
Arginine	114	113
Alanine	110	109
Hydroxyproline	63	62
Valine	69	66
Lysine	37	36
Phenylalanine	27	29
Isoleucine	26	27
Methionine	26	28
Leucine	25	26
Glutamic acid	10	10
Aspartic acid	7	6
Tyrosine	8	9
Histidine	3	3
Cysteine	0	0
Threonine	4	3
Serine	2	2
Total	1.000	1.000

dengan suhu air sebagai habitatnya. Kolagen dari ikan yang hidup di perairan hangat (*warm-water fish*), mempunyai kandungan asam imino yang lebih tinggi daripada ikan yang hidup di perairan dingin (*cold-water fish*) (Regenstein dan Zhou 2007).

Gugus fungsi kolagen

Hasil spektrum inframerah KLA-SH dan KLP-SH yang menunjukkan puncak-puncak serapan amida I, II, III, A dan B disajikan pada *Figure 1*. Gugus amida A KLA-SH dan KLP-SH terdeteksi pada bilangan gelombang 3.307 cm^{-1} dengan karakteristik N-H *stretching*. Gugus amida A dengan N-H *stretching* yang bebas biasanya terdeteksi pada bilangan gelombang $3.400\text{--}3.440\text{ cm}^{-1}$, namun ketika grup NH

terlibat dalam ikatan hidrogen dalam rantai peptida, posisinya dapat bergeser ke frekuensi yang lebih rendah (Sai dan Babu 2001). Gugus amida B KLA-SH dan KLP-SH masing-masing terdeteksi pada bilangan gelombang 2.946 dan 2.945 cm^{-1} . Nilai gugus amida B kolagen sisik haruan dalam penelitian ini lebih rendah dibandingkan kolagen larut asam dan pepsin sisik *goatfish* yaitu 3.081 cm^{-1} (Matmaroh *et al.* 2011). Abe dan Krimm (1972) menjelaskan bahwa adanya gugus amida B pada kolagen berhubungan dengan karakteristik CH_2 asimetri *stretching* yang dihasilkan. Gugus amida I KLA-SH dan KLP-SH terdeteksi pada bilangan gelombang 1.629 cm^{-1} yang berhubungan dengan vibrasi peregangan gugus karbonil. Amida II bertanggung jawab

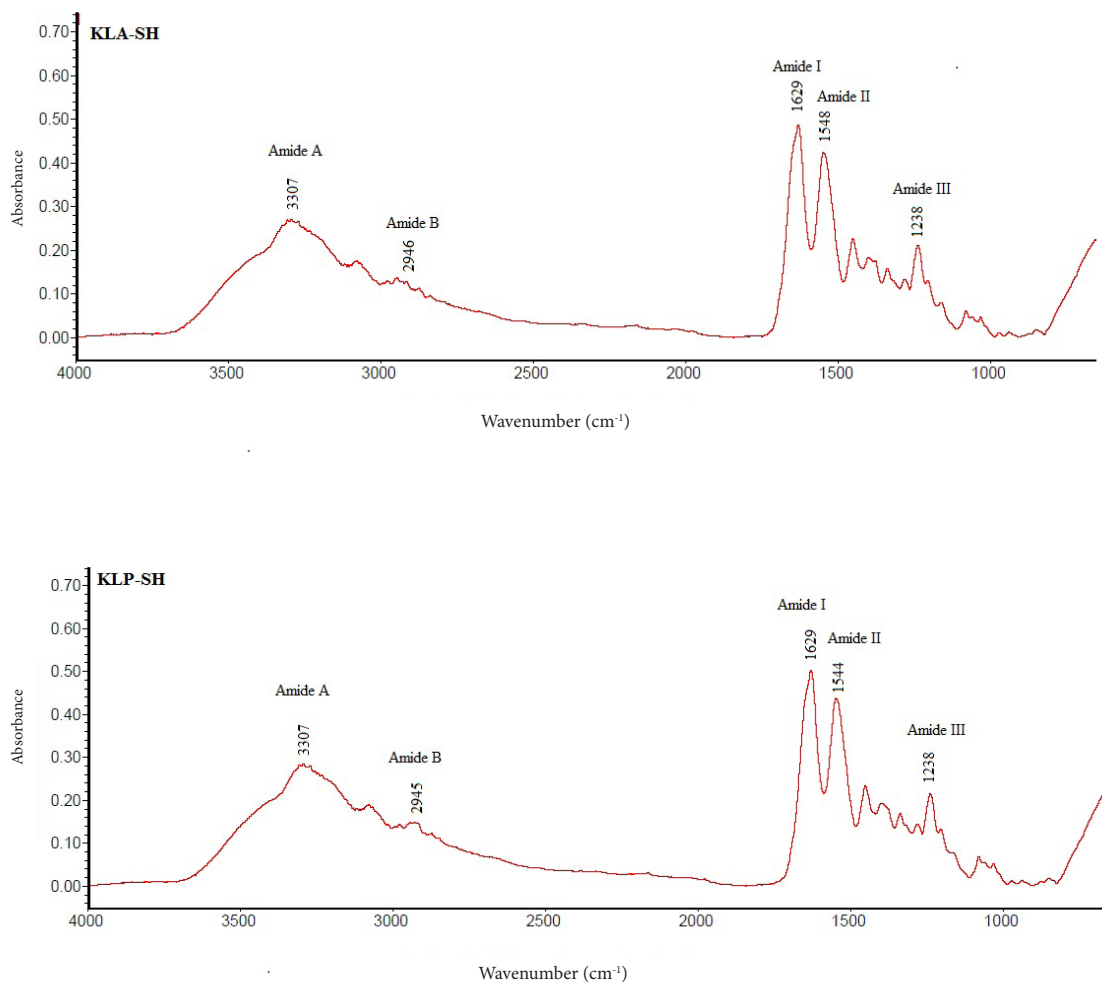


Figure 1 FTIR spectra of acid-soluble collagen (KLA-SH) and pepsin-soluble collagen (KLP-SH) from the haruan scales

terhadap kombinasi vibrasi NH *bending* dan CN *stretching* (Barth dan Zscherp 2002). Gugus amida II KLP-SH terdeteksi pada bilangan gelombang yang lebih rendah (1.544 cm^{-1}) daripada KLA-SH (1.548 cm^{-1}). Hal tersebut menunjukkan proporsi ikatan hidrogen yang lebih besar pada KLP-SH. Nalinanon *et al.* (2007) juga melaporkan bahwa pepsin mampu memecah domain non-heliks daerah telopeptida, sehingga meningkatkan proporsi *triple helix* KLP-SH yang distabilkan oleh ikatan hidrogen. Gugus amida III KLA-SH dan KLP-SH terdeteksi pada bilangan gelombang 1.238 cm^{-1} , mengindikasikan adanya ikatan hidrogen yang terdeteksi pada KLA-SH dan KLP-SH. Plepis *et al.* (1996) menggunakan intensitas rasio antara gugus amida III dan gugus 1.450 cm^{-1} untuk menunjukkan struktur *triple helix* kolagen yang merupakan karakteristik khas pada kolagen. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rasio penyerapan KLA-SH dan KLP-SH antara ketinggian gugus amida III dan gugus 1.450 cm^{-1} adalah 0,85 atau mendekati 1,0 yang mengindikasikan proses ekstraksi yang dilakukan dapat mempertahankan struktur *triple helix* dan struktur intermolekuler KLA-SH dan KLP-SH.

Profil protein kolagen dengan SDS-PAGE

Berdasarkan hasil SDS-PAGE, KLA-SH dan KLP-SH mempunyai profil protein yang mirip yaitu terdiri dari α_1 dan α_2 chain, β -chain (dimer dari α_1 -chain), dan γ -chain (trimer dari α_1 -chain) (Figure 2). α_1 dan α_2 chain dari KLA-SH dan KLP-SH masing-masing mempunyai berat molekul 126 dan 117 kDa. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa KLA-SH dan KLP-SH merupakan kolagen tipe I. Hal ini sesuai dengan profil protein kolagen dari sisik *silver carp* (Zhang *et al.* 2010), sisik *seabass* (Chuaychan *et al.* 2015), sisik *nile tilapia* (Zeng *et al.* 2016) dan sisik *tilapia* (Huang *et al.* 2016) yang menunjukkan bahwa kolagen tipe I merupakan heterodimer yang terdiri dari dua α -chain dalam bentuk $[\alpha_1(I)_2\alpha_2(I)]$. Hasil SDS-PAGE juga menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan dalam mobilitas α -chain dari KLA-SH dan KLP-SH. Intensitas pita protein β - dan γ -chain dari KLP-SH lebih rendah dibandingkan KLA-SH. Hal tersebut mengindikasikan bahwa KLA-SH mempunyai proporsi *crosslink* inter dan intra-molekuler yang lebih tinggi dibandingkan KLP-SH. Chuaychan *et al.* (2015) melaporkan bahwa pemotongan

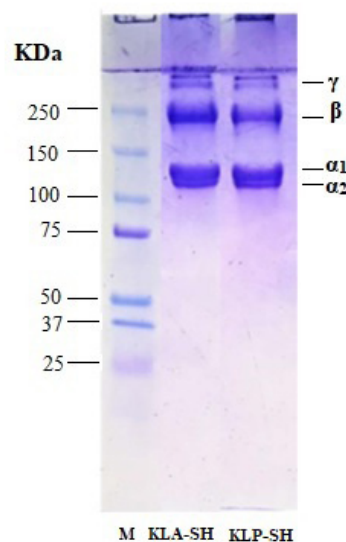


Figure 2 Protein patterns of the collagen from the dry scales of haruan. M: marker; KLA-SH: acid-soluble collagen from the haruan scales; KLP-SH: pepsin-soluble collagen from the haruan scales

crosslink pada wilayah telopeptida oleh pepsin dapat menghilangkan sebagian β - dan γ -chain dari KLP-SH, sehingga intensitas pita proteinnya terlihat lebih rendah.

KESIMPULAN

Pepsin mampu meningkatkan rendemen kolagen hingga 98%. Komposisi asam amino KLA-SH dan KLP-SH didominasi oleh asam amino glisina. Spektrum FTIR KLA-SH dan KLP-SH menunjukkan bahwa proses ekstraksi yang dilakukan mampu mempertahankan struktur *triple helix* pada kolagen. Berdasarkan SDS-PAGE, KLA-SH dan KLP-SH diidentifikasi sebagai kolagen tipe I dengan profil protein yang terdiri dari α_1 dan α_2 chain, β -chain, dan γ -chain.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi, Republik Indonesia yang telah memberikan bantuan biaya penelitian ini melalui Beasiswa Pendidikan Pascasarjana Dalam Negeri/BPPDN) nomor 1420/E.4.4/2014.

DAFTAR PUSTAKA

- Abe Y, Krimm S. 1972. Normal vibrations of crystalline polyglycine I. *Biopolymers*. 11(9): 1817–39.
- AOAC. 2005. *Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist*. Association of Official Analytical Chemist, Inc: Arlington, Virginia, USA.
- Astiana I, Nurjanah, Nurhayati T. 2016. Karakteristik kolagen larut asam dari kulit ikan ekor kuning. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 19(1): 79–93.
- Barth A, Zscherp C. 2002. What vibrations tell us about proteins. *Quarterly Reviews of Biophysics*. 35(4): 369–430.
- Chi C, Wang B, Li Z-R, Luo H-Y, Ding G-F, Wu C-W. 2014. Characterization of acid-soluble collagen from the skin hammerhead shark (*Sphyrna lewini*). *Journal of Food Biochemistry*. 38: 236–247.
- Chuaychan S, Benjakul S, Kishimura H. 2015. Characteristics of acid- and pepsin-soluble collagens from scale of seabass (*Lates calcarifer*). *LWT - Food Science and Technology*. 63(1): 71–76.
- Devi HLNA, Suptijah P, Nurilmala M. 2017. Efektivitas alkali dan asam terhadap mutu kolagen dari kulit ikan patin. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(2): 255–265.
- Di Y, Chang-feng C, Bin W, Guo-fang D, Zhong-rui L. 2014. Characterization of acid- and pepsin-soluble collagens from spines and skulls of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). *Chinese Journal of Natural Medicines*. 12(9): 712–720.
- Hoyer B, Bernhardt A, Lode A, Heinemann S, Sewing J, Klinger M, Notbohm H, Gelinsky M. 2014. Jellyfish collagen scaffolds for cartilage tissue engineering. *Acta Biomaterialia*. 10(2): 883–892.
- Huang C-Y, Kuo J-M, Wu S-J, 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.
- Jongjareonrak A, Benjakul S, Visessanguan W, Nagai T, Tanaka M. 2005. Isolation and characterisation of acid and pepsin-solubilised collagens from the skin of Brownstripe red snapper (*Lutjanus vitta*). *Food Chemistry*. 93(3): 475–484.
- Kittiphattanabawon P, Benjakul S, Visessanguan W. 2005. Characterisation of acid-soluble collagen from skin and bone of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). *Food Chemistry*. 89: 363–372.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227: 680–685.
- Li Z, Wang B, Chi C, Zhang Q, Gong Y, Tang J, Luo H, Ding G. 2013. Isolation and characterization of acid soluble collagens and pepsin soluble collagens from the skin and bone of Spanish mackerel (*Scomberomorus niphonius*). *Food hydrocolloids*. 31(1): 103–113.
- Liu H, Li D, Guo S. 2007. Studies on collagen from the skin of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Food Chemistry*. 101: 621–625.
- Liu Q, Kong B, Xiong YL, Xia X. 2010. Antioxidant activity and functional properties of porcine plasma protein

- hydrolysate as influenced by the degree of hydrolysis. *Food Chemistry*. 118(2): 403–410.
- Liu W, Li G, Miao Y, Wu X. 2009. Preparation and characterization of pepsin-solubilized type I collagen from the scales of snakehead (*Opiocephalus argus*). *Journal of Food Biochemistry*. 33: 20–37.
- Matmaroh K, Benjakul S, Prodpran T, Encarnacion AB, Kishimura H. 2011. Characteristics of acid soluble collagen and pepsin soluble collagen from scale of spotted golden goatfish (*Parupeneus heptacanthus*). *Food chemistry*. 129(3): 1179–86.
- Muthmainnah D. 2013. The length-weight relationship and condition factor of striped snakehead (*Channa striata* Bloch, 1793) grow out in swamp pond, South Sumatra Province. *Depik*. 2(3): 184–190.
- Nalinanon S, Benjakul S, Visessanguan W, Kishimura H. 2007. Use of pepsin for collagen extraction from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). *Food Chemistry*. 104: 593–601.
- Nalinanon S, Benjakul S, Kishimura H. 2011. Characterization of collagen from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*) extracted with the aid of albacore tuna pepsin. *KingMongkut's Agro-Industry Journal*. 3(1): 53–70.
- Pati F, Adhikari B, Dhara S. 2010. Isolation and characterization of fish scale collagen of higher thermal stability. *Bioresource Technology*. 101(10): 3737–3742.
- Plepis AMDG, Goissis G, Das-Gupta DK. 1996. Dielectric and pyroelectric characterization of anionic and native collagen. *Polymer Engineering and Science*. 36(24): 2932–2938.
- Reddy GK, Enwemeka CS. 1996. A simplified method for the analysis of hydroxyproline in biological tissues. *Clinical Biochemistry*. 29(3): 225–229.
- Regenstein JM, Zhou P. 2007. Collagen and gelatin from marine by-products. In *Maximising The Value of Marine By-Products*, Shahidi F (ed). Woodhead Publishing Limited: Cambridge; 279–303.
- Sai KP, Babu M. 2001. Studies on Rana tigerina skin collagen. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*. 128: 81–90.
- Tylingo R, Mania S, Panek A, Piątek R, Pawłowicz R. 2016. Isolation and characterization of acid soluble collagen from the skin of african catfish (*Clarias gariepinus*), salmon (*Salmo salar*) and baltic cod (*Gadus morhua*). *Journal of Biotechnology & Biomaterials*. 6(2): 1–6.
- Wang B, Wang Y-M, Chi C-F, Luo H-Y, Deng S-G, Ma J-Y. 2013. Isolation and characterization of collagen and antioxidant collagen peptides from scales of croceine croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Marine Drugs*. 11: 4641–4661.
- Wu X, Cai L, Cao A, Wang Y, Li J. 2015. Comparative study on acid-soluble and pepsin-soluble collagens from skin and swim bladder of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 96(3): 815–821.
- Zeng S, Yin J, Zhang C, Jiang Z, Wu W, Zhao X. 2016. Physicochemical properties of pepsin-solubilized collagen extracted from nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) scale. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 25(5): 656–665.
- Zhang F, Wang A, Li Z, He S, Shao L. 2011. Preparation and characterisation of collagen from freshwater fish scales. *Food and Nutrition Sciences*. 2: 818–823.
- Zhang J, Duan R, Ye C, Konno K. 2010. Isolation and characterization of collagens from scale of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Journal of Food Biochemistry*. 34: 1343–1354.