

## EFEKTIVITAS *PRETREATMENT* ALKALI TERHADAP KARAKTERISTIK KOLAGEN ALAMI DARI KEONG BAKAU (*Telescopium telescopium*)

Sri Purwaningsih\* dan Riyan Triono

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Dramaga, Jalan Agatis No. 1, Bogor 16680 Jawa Barat

\*Korespondensi: sripurwa65@gmail.com

Diterima: 13 Agustus 2018 /Disetujui: 22 Agustus 2019

**Cara sitasi** : Purwaningsih S dan Triono R. 2019. Efektivitas *pretreatment* alkali terhadap karakteristik kolagen alami dari keong bakau (*Telescopium telescopium*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 22(2): 355-365.

### Abstrak

Keong bakau (*Telescopium telescopium*) merupakan salah satu jenis gastropoda yang hidup di hutan bakau, banyak dijumpai di perairan payau dan merupakan hama di tambak. Penelitian ini bertujuan menentukan efektivitas *pretreatment* alkali dan asam asetat terhadap karakteristik kolagen daging keong bakau. Perendaman dengan konsentrasi NaOH 0,05 M, waktu perendaman 10 jam, penggantian 2 jam sekali, memberikan pengaruh nyata terhadap eliminasi protein non kolagen ( $\alpha = 0,05$ ). Perendaman dengan konsentrasi asam asetat 0,0083 M selama 6 jam berpengaruh signifikan ( $\alpha = 0,05$ ) terhadap derajat pengembangan dan tingkat kelarutan kolagen. Rendemen hasil ekstraksi sebesar  $1,08 \pm 0,21\%$ , dengan kecerahan 72,23%, dan viskositas 16,34 cP. Kandungan asam amino prolin kolagen daging keong bakau adalah 9,21%.

Kata kunci: asam amino, gastropoda, prolina, rendemen

### *Effects of Alkaline Pretreatment on the Characteristics of Collagen from Mangrove Conch (Telescopium telescopium)*

#### Abstract

The horn snail (*Telescopium telescopium*) is a gastropod living in mangrove forests and is considered as a pond pest. This study was aimed to determine the effects of alkaline and acetic acid pretreatment on the characteristics of collagen from the horn snail meat. The immersion of the meat in NaOH 0.20% for 10 hours gave a significant reduction in non-collagen protein content ( $\alpha = 0.05$ ). Further immersion with acetic acid 0.05% for 6 hours also significantly affected ( $\alpha = 0.05$ ) the swelling degree and the collagen solubility. The extraction yield was  $1.08 \pm 0.21\%$ , with 72.23% of brightness, and the viscosity was 16.34 cP. The proline content of the collagen was 9.21%.

Keywords: amino acids, gastropod, proline, yield

## PENDAHULUAN

Keong bakau (*Telescopium telescopium*) salah satu biota perairan termasuk kedalam moluska yang hidup di hutan bakau, perairan payau dan menjadi hama di tambak (Oktaviana 2003). Penelitian keong bakau di Indonesia saat ini terbatas kajian biologi dan lingkungannya, di beberapa budidaya tambak udang intensif berfungsi sebagai biofilter dalam pengelolaan limbah (Prasetyo 2006). Kandungan keong bakau yaitu protein (12,16%) dengan asam amino esensial tertinggi glutamat (1,20%) dan asam

amino non esensial histidin (1,56%), lemak (0,38%) dengan asam lemak jenuh tertinggi yaitu palmitat (27,81%) dan asam lemak tidak jenuh linoleat (9,03%). Ekstrak metanol dari keong mengandung senyawa alkaloid, steroid dan flavonoid, serta menunjukkan aktivitas antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  22,08 ppm (Hafiludin 2012).

Keong bakau merupakan biota perairan yang belum dimanfaatkan secara optimal. Daging keong bakau biasa dikonsumsi oleh masyarakat nelayan, namun sebetulnya daging keong bakau bisa digunakan

sebagai bahan baku untuk kosmetik karena mengandung kolagen. Kolagen merupakan jaringan ikat matriks ekstraseluler dalam suatu organisme dengan kelimpahan mencapai 30% dari total protein (Gelse *et al.* 2003). Fungsi kolagen di antaranya dapat memelihara kekencangan, elastisitas, dan regenerasi sel-sel kulit, dalam tubuh manusia dapat berperan sebagai struktur organik pembangun tulang, gigi, sendi, otot, dan kulit. Kittiphattanabawon *et al.* (2005) menyatakan bahwa kolagen dapat digunakan pada selain aplikasi medis, industri film, farmasi, kosmetik, dan makanan. Fungsi lain kolagen berperan penting dalam aplikasi medis karena bersifat biodegradable (Lee *et al.* 2001), berperan penting dalam pembentukan jaringan dan organ, juga terlibat dalam berbagai ekspresi fungsional sel.

Unit struktur kolagen yang terlibat dalam pembentukan struktur triple heliks yaitu tropokolagen terdiri dari Gly-X-Y, X (kemungkinan besar prolina) dan Y (kemungkinan besar hidroksiprolina) yang berbentuk batang (Ogawa *et al.* 2003). Liu *et al.* (2009) menyatakan bahwa karakteristik kolagen yang bersifat biodegradable, biocompatible dan antigenitas rendah banyak dimanfaatkan pada bidang farmasi, pangan, maupun kosmetik.

Bahan baku hasil perikanan yang dapat digunakan sebagai sumber kolagen yang sudah diteliti antara lain dari ikan gabus (*Chanos striata*) (Wulandari *et al.* 2015), teripang gamma (Alhana *et al.* 2015), serta kulit ikan tuna (*Thunnus sp.*) (Mayasari 2016). Penelitian tentang kolagen alami dari keong bakau belum pernah dilakukan, di antaranya perlu diteliti efektifitas dalam proses ekstraksinya. Penelitian tentang efektifitas ekstraksi kolagen dari keong bakau bertujuan menentukan perlakuan terbaik pada proses *pretreatment* dengan alkali (NaOH) dan asam asetat terhadap karakteristik kolagen dari daging keong bakau.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Daging keong bakau (*Telescopium telescopium*) yang memiliki panjang  $8,34 \pm 0,54$  cm, diameter  $3,34 \pm 0,54$  cm, dan berat rata-

rata  $45,73 \pm 4,54$  gram dari Sungai Pedada, Kecamatan Tulung Selatan, Kabupaten Ogan Komering Ilir, Sumatera Selatan sebagai bahan utama penelitian, bahan yang mendukung di antaranya natrium hidroksida (NaOH) (Merck), asam asetat (Merck), akuabides. Peralatan yang digunakan meliputi *waterbath incubator shaker* (BT 25 Yamato, Tokyo, Japan), *High Performance Liquid Chromatography* (Water Corporation, USA), dan spektrofotometer (DR 5000, Düsseldorf, Germany), *freeze dryer* (Eyela FDU-1200, Tokyo, Japan), *viscometer Brookfield* (USA), *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (Bruker Tensor 37, Ettlingen, Germany), *Chromameter* (Minolta CR-310, Tokyo, Japan).

### Metode Penelitian

Tahap penelitian meliputi preparasi dan karakterisasi keong bakau (*T. telescopium*), isolasi kolagen dan karakterisasi kolagen. Daging keong bakau dipisahkan dari cangkangnya kemudian dibekukan dan ditransportasikan ke laboratorium. Daging keong dibersihkan, dipotong dengan ukuran kira-kira  $1,5 \times 1,5$  cm dan disimpan pada suhu  $-20^\circ\text{C}$  sampai daging digunakan. Karakterisasi daging keong bakau yaitu organoleptik (SNI 01-2346-2006) meliputi aroma, warna, tekstur, dan penampakan oleh 30 orang panelis, analisis kimia (AOAC 2005), logam berat Pb dan Cd (BSN 2354.5-2011), As (BSN 01-48661998) serta Hg (BSN 01-2354.6-2006).

Metode isolasi kolagen mengacu pada metode Liu *et al.* (2015) yang dimodifikasi meliputi tiga tahap utama yaitu *pretreatment* dengan larutan alkali (NaOH), hidrolisis dengan perendaman menggunakan larutan asam asetat, dan ekstraksi dengan akuabides. *Pretreatment* NaOH bertujuan mengeliminasi protein non kolagen dan pengotor lain berupa mineral, lemak, odor dan pigmen. Perendaman daging keong bakau dalam larutan NaOH 1:10 (b/v) pada konsentrasi 0,025 M, 0,05 M dan 0,075 M selama 12 jam dengan penggantian larutan NaOH setiap 2 jam. Larutan NaOH dari proses perendaman yang diuji kadar protein metode biuret dengan BSA sebagai standar. Daging keong bakau dinetralkan dengan cara pencucian kemudian dihidrolisis dengan larutan asam asetat 1:10

(b/v). Konsentrasi asam asetat yang digunakan yaitu 0,0083 M dan 0,0167 M dengan waktu perendaman selama 8 jam. Parameter yang digunakan yaitu derajat pengembangan (DP) setelah perendaman dan kolagen terlarut yang dihasilkan. Daging keong bakau hasil dari perlakuan perendaman asam asetat terbaik dinetralkan kemudian diekstraksi pada suhu 40°C selama 2 jam dengan akuades (1:2 b/v). Kolagen yang dihasilkan dari tahap ekstraksi selanjutnya dikeringkan dengan *freeze dryer*.

Karakterisasi kolagen meliputi analisis rendemen, kandungan protein (AOAC 2005), komposisi asam amino dengan HPLC (AOAC 1995), warna (modifikasi Shon *et al.* 2011), viskositas (modifikasi Ahmad dan Benjakul 2010), dan gugus fungsi dengan FTIR (Yan *et al.* 2008).

### Analisis Data

*Pretreatment* larutan NaOH menggunakan Rancangan Acak Lengkap pengamatan berulang (RAL *in time*) dengan konsentrasi protein sebagai parameter. Hidrolisis dengan asam asetat pada konsentrasi yang digunakan, dengan derajat pengembangan dan tingkat kelarutan kolagen sebagai respon. Semua perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Analisis data menggunakan analisis ragam (ANOVA), hasil uji yang menunjukkan pengaruh nyata dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan pada taraf kepercayaan 95% (Mattjik dan Sumertajaya 2013).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik Daging Keong Bakau (*T. telescopium*)

Keong bakau yang digunakan dalam penelitian ini memiliki tubuh simetris bilateral yang dilindungi cangkang yang kuat, berbentuk kerucut pada ujung dan melingkar. Lapisan luar cangkang keong bakau dilengkapi garis spiral yang sangat rapat serta jalur yang melengkung ke dalam, cangkang berwarna cokelat keruh, cokelat keunguan, dan cokelat kehitaman. Hasil uji organoleptik dari keong bakau menunjukkan bahwa daging dari keong dalam kondisi segar, dengan kisaran nilai 7,78 sampai dengan 8,82. Data selengkapnya disajikan pada *Table 1*.

Karakteristik daging keong bakau memiliki kandungan air  $80,07 \pm 2,25\%$ . Hal ini lebih tinggi daripada kadar air dari keong laut matah merah (*Cerithidea obtusa*) yaitu  $75,44 \pm 0,48\%$  (Purwaningsih *et al.* 2017). Kadar air ini juga lebih tinggi dibandingkan dari kulit ikan gabus (*C. striata*) yaitu 77,18% sebagai bahan kolagen hasil penelitian Wulandari *et al.* (2016), namun lebih rendah jika dibanding dengan kadar air dari daging teripang gamma  $93,84 \pm 0,10\%$  (Alhana 2015).

Kadar protein dari daging keong bakau adalah  $7,24 \pm 1,43\%$ , lebih rendah dari kadar protein dari keong laut matah merah yaitu  $11,87 \pm 0,37\%$  (Purwaningsih *et al.* 2017). Wulandari *et al.* (2016) melaporkan kolagen dari kulit ikan gabus (*C. striata*) mengandung protein sekitar 20,36%, sedangkan penelitian Alhana *et al.* (2015) melaporkan kolagen daging teripang gamma mengandung protein sekitar  $2,69 \pm 0,03\%$ .

Kadar lemak dari daging keong bakau hasil penelitian adalah  $2,78 \pm 0,82\%$ , hal ini relatif lebih rendah dibandingkan dengan kadar lemak dari keong laut matah merah yaitu  $3,82 \pm 0,01\%$  (Purwaningsih *et al.* 2017) dan penelitian bahan baku pembuatan gelatin dari kulit ikan patin yaitu 12,54% (Rusli 2004), namun relatif lebih tinggi dari kadar lemak kulit ikan *C. striata* yaitu 1,42% sebagai bahan kolagen (Wulandari *et al.* 2016) dan daging teripang gamma  $0,18 \pm 0,01\%$  sebagai sumber kolagen (Alhana 2015).

Kadar abu dari daging keong bakau hasil penelitian adalah  $4,89 \pm 1,01\%$ . Kadar abu dari keong laut matah merah yang mempunyai habitat sama dengan keong bakau hasil penelitian Purwaningsih (2017) yaitu  $3,64 \pm 0,66\%$ , sedangkan kadar abu dari daging teripang gamma sebagai bahan baku dalam pembuatan kolagen hasil dari penelitian Alhana (2015) yaitu  $2,66 \pm 0,12\%$ . Kandungan abu dari keong bakau sebagai bahan baku untuk kolagen yang cukup tinggi membutuhkan proses *pretreatment* yang efektif sehingga kolagen yang dihasilkan memenuhi standar.

Analisis logam berat terhadap keong bakau dilakukan untuk menentukan tingkat cemaran logam yang terdapat pada bahan baku

Table 1 The result of organoleptic test of mangrove snails (*T. telescopium*)

| Parameter  | Characteristic                        | Value     |
|------------|---------------------------------------|-----------|
| Odour      | Fresh and fishy                       | 8.13±2.41 |
| Colour     | Brown and bluish white                | 8.01±1.53 |
| Texture    | Chewy and soft on the digestive tract | 7.82±1.79 |
| Appearance | Fresh meat                            | 7.78±2.04 |

kolagen. Logam berat yang dianalisis sesuai standar yang ditetapkan oleh BPOM pada penelitian ini meliputi timbal (Pb), kadmium (Cd), arsen (As), serta merkuri (Hg). Hasil penelitian menunjukkan bahwa logam berat yang terdeteksi pada daging keong bakau yaitu Cd 0,023 ppm sedangkan Hg, Pb, dan As 0 ppm. Kadar logam berat pada daging keong bakau ini masih ada dibawah ambang batas standar yang ditentukan oleh BPOM RI No 17 tahun 2014 tentang persyaratan cemaran logam berat dalam kosmetik Hg < 1 ppm, Pb < 20 ppm, Cd < 5 ppm, dan As < 3 ppm.

### Protein Non Kolagen

Larutan NaOH untuk menghilangkan protein non kolagen dan pengotor lain yang diukur dari konsentrasi protein yang terlarut. Konsentrasi protein dalam larutan NaOH sisa perendaman daging keong bakau ditentukan dengan uji biuret (*Figure 1*).

Hasil analisis data menunjukkan bahwa konsentrasi NaOH memberikan pengaruh nyata terhadap konsentrasi protein pada larutan perendaman setiap 2 jam selama 24 jam ( $\alpha=0,05$ ). Konsentrasi NaOH 0,05 dan 0,075 M tidak berbeda nyata dengan terhadap kandungan protein. Kandungan protein yang terlarut semakin menurun seiring dengan waktu perendaman yang semakin lama. Konsentrasi NaOH 0,05 M selama 10 jam perendaman merupakan perlakuan terpilih dalam meminimalisir protein non kolagen.

Daging keong selama perendaman dalam larutan NaOH dapat mengembang (*swelling*) karena matriks yang terbuka sehingga mengakibatkan protein non kolagen serta pengotor dapat terlarut. Yoshimura *et al.* (2000) menyatakan bahwa larutan daerah telopeptida pada umumnya terpecah pada proses *pretreatment* NaOH. Jaswir *et al.* (2011) menjelaskan bahwa *swelling* merupakan reaksi

saat perendaman karena gugus OH yang berikatan dengan protein pereaksi terlarut, Cho *et al.* (2005) menyatakan bahwa kondisi tersebut dapat mempermudah pergerakan protein non kolagen dan dan komponen lain.

### Derajat Pengembangan

Larutan asam yang digunakan meningkatkan  $H^+$  sehingga memudahkan air masuk dalam serat kolagen, perendaman akan menyebabkan pengembangan (*swelling*) daging keong sehingga mempermudah proses ekstraksi. Air yang masuk dikarenakan gaya elektrostatis atau terbentuk ikatan hidrogen dari gugus polar (serat kolagen) dengan  $H^+$  (asam). Proses tersebut dapat merusak serat kolagen sehingga memudahkan ekstraksi dan kelarutan kolagen (Jaswir *et al.* 2011). Hasil hidrolisis dengan larutan asam asetat tentang derajat pengembangan disajikan pada *Figure 2*.

Konsentrasi asam asetat pada perendaman daging keong bakau tidak memberikan pengaruh, sedangkan waktu perendaman memberikan pengaruh yang nyata pada taraf kepercayaan 95% ( $\alpha=0,05$ ). Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa waktu perendaman 8 jam berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Daging keong bakau semakin mengembang seiring dengan meningkatnya waktu perendaman. Penetrasi air dari larutan asam masuk ke dalam struktur kulit menyebabkan pengembangan kulit ikan (Jaswir *et al.* 2011). Nur'aenah (2013) melaporkan bahwa derajat pengembangan kulit ikan pari mengalami peningkatan seiring dengan lama waktu perendaman.

Tingkat kelarutan kolagen dipengaruhi oleh konsentrasi dan waktu perendaman asam asetat ( $\alpha=0,05$ ). Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa konsentrasi yang digunakan berbeda nyata, serta

waktu perendaman berbeda nyata selama perendaman 2 jam, 4 jam dan 6 jam. Perlakuan terpilih yaitu konsentrasi asam asetat 0,0083 M dengan waktu perendaman 6 jam (Figure 3). Tingkat kelarutan kolagen yang diamati dalam penelitian ini menunjukkan bahwa lama waktu perendaman mampu meningkatkan tingkat kelarutan kolagen dari daging keong bakau. Kolagen terlarut dalam asam asetat yang tinggi akan mengakibatkan rendemen kolagen yang dihasilkan menjadi rendah.

### Kolagen Daging Keong Bakau (*T. telescopium*)

Ekstraksi kolagen pada suhu 40°C menyebabkan prokolagen berubah strukturnya menjadi kolagen karena pemecahan ikatan hidrogen dan kovalen yang terus berlanjut. Penggunaan suhu yang lebih tinggi dapat merubah struktur kolagen menjadi gelatin. Suhu denaturasi kolagen menjadi gelatin adalah 45°C (Sai *et al.* 2012), suhu ekstraksi di atas 40°C menyebabkan transisi gulungan triple helix berubah menjadi random coil ( $\alpha$ -helix) yang merupakan ciri khas gelatin (Djabourov *et al.* 1993).

### Karakteristik Kolagen Daging Keong bakau (*T. telescopium*)

#### Rendemen

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rendemen kolagen dari daging keong bakau berkisar antara 0,68±0,02% sampai

dengan 1,08±0,21%, dengan nilai pH 6,2±0,24. Rendemen kolagen dari daging keong bakau lebih rendah dari rendemen kolagen dari kulit ikan gabus yaitu 16,00% (Wulandari *et al.* 2016). Hasil penelitian Alhana *et al.* (2015) menunjukkan bahwa rendemen kolagen dari daging teripang gamma berkisar antara 1,50% sampai dengan 1,94%. Matmaroh *et al.* (2011) melaporkan rendemen *acid soluble collagen* (ASC) kolagen sisik ikan *Parupeneus heptacanthus* yaitu 0,46% dan *pepsin soluble collagen* (PSC) 1,20%, sedangkan yang berasal dari sisik ikan mas (*Cyprinus carpio*) 0,86%-2,32%.

Rendemen kolagen sangat dipengaruhi oleh jenis bahan baku, proses *pretreatment* (NaOH, asam) serta pH. Menurut Knott dan Bailley (1998) rendemen kolagen yang rendah menunjukkan rendahnya solubilitas ikatan silang melalui reaksi aldehida dengan lisina dan hidroksilisina pada telopeptida.

### Kandungan protein

Rata-rata kandungan protein dalam kolagen dari daging keong bakau (*T. telescopium*) 80,68±0,42%. Kolagen daging keong bakau dalam penelitian ini memiliki kandungan protein yang sesuai dengan standar tentang syarat mutu dan pengolahan kolagen kolagen BSN (2014) yaitu kandungan proteinnya lebih dari 75%. Kandungan protein dalam kolagen daging keong bakau lebih tinggi dari kolagen yang dibuat dari teripang

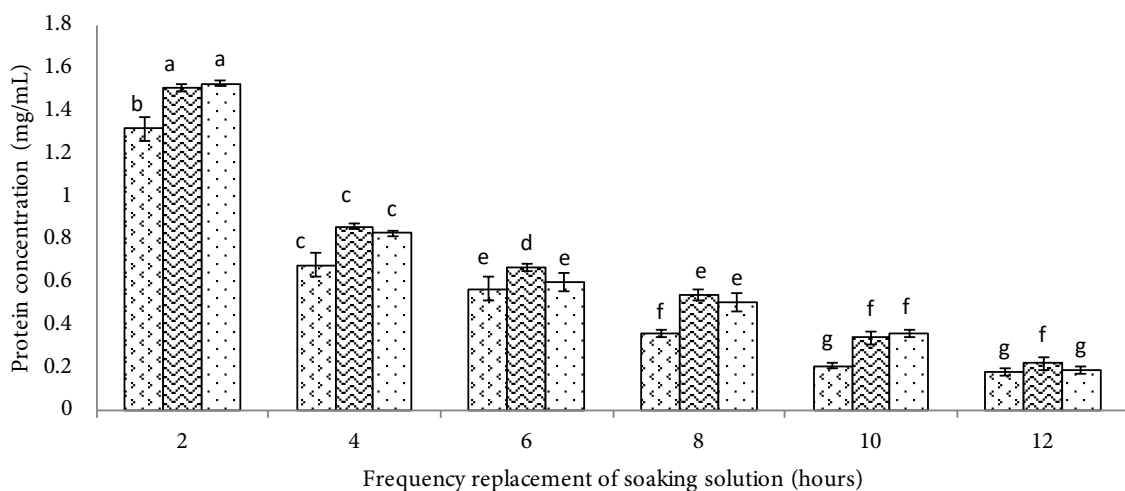


Figure 1 Protein concentration in the soaking solution NaOH from the meat of mangrove snail: (▨) NaOH 0.025 M ; (▩) NaOH 0.05 M ; (▧) NaOH 0.075 M.

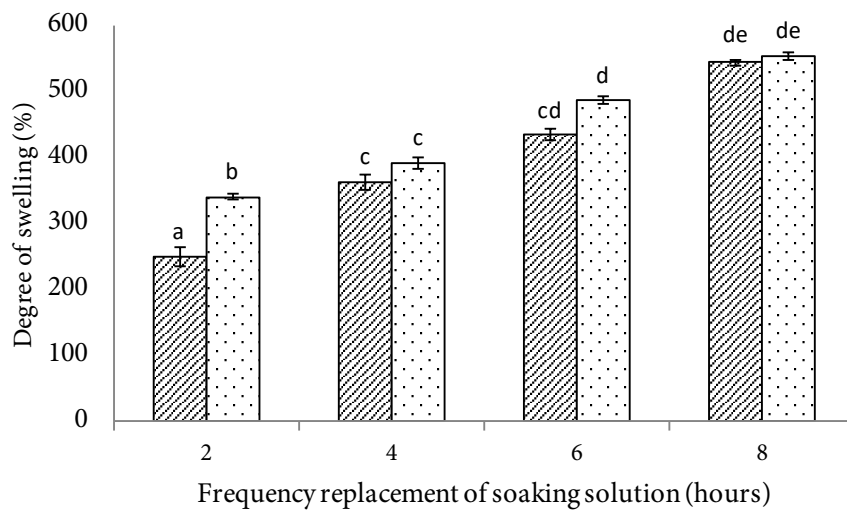


Figure 2 Degree of swelling during the soaking process: (▨) CH<sub>3</sub>COOH 0.0083 M; (▩) CH<sub>3</sub>COOH 0.0167 M.

gamma (67,68%) (Alhana *et al.* 2015) namun lebih rendah dari kulit ikan gabus (*C. striata*) (96,21%) (Wulandari *et al.* 2016), kulit ikan pari (86,97%) (Nur'aenah 2013), ASC ikan cucut (89,81%) (Kittiphattanabawon *et al.* 2010).

**Warna Kolagen**

Karakteristik fisik yang menentukan kualitas dari kolagen salah satunya adalah warna. Kolagen yang berkualitas baik memiliki warna dengan derajat putih mendekati 100% Warna kolagen yang dihasilkan bergantung

pada jenis bahan baku dan metode pretreatment yang digunakan. Warna kolagen yang putih dan terang dapat mempermudah dalam aplikasinya karena tidak harus menambahkan pewarna pada produk akhir, walaupun warna tidak berpengaruh terhadap sifat fungsionalnya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa derajat putih kolagen dari daging keong bakau 72,23%, hampir sama dengan kulit ikan pari (72,48%) (Nur'aenah 2013), lebih tinggi dari kulit ikan gabus (*C. striata*) (66,67%) (Wulandari *et al.* 2016), ASC dan

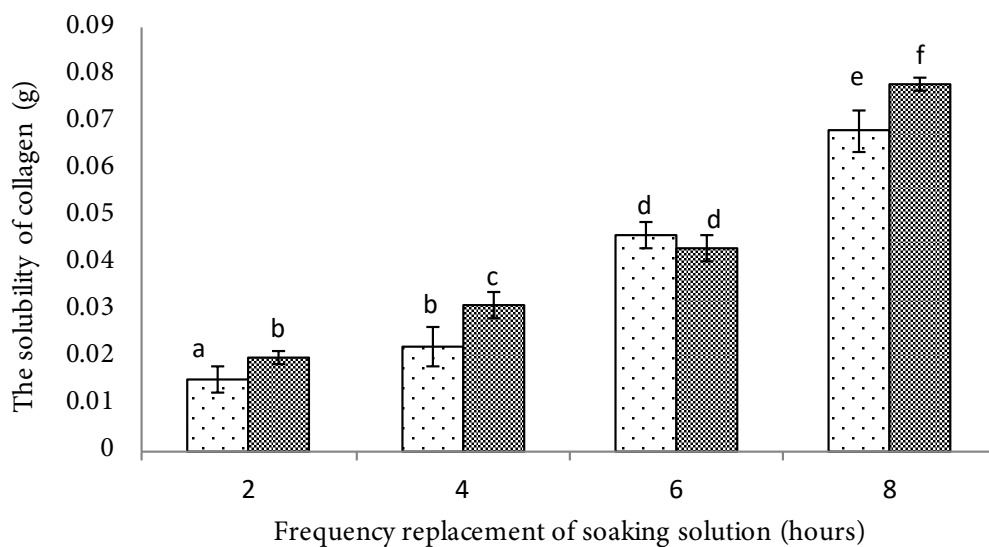


Figure 3 The solubility of collagen during soaking process : (▩) CH<sub>3</sub>COOH 0.0083 M; (▨) CH<sub>3</sub>COOH 0.0167 M )

PSC kulit ikan kakap putih (65,41% dan 61,33%) (Jamilah *et al.* 2013), namun lebih rendah dari kolagen dari kulit ikan skate (88,4%). Perbedaan warna atau derajat putih produk dipengaruhi oleh penggunaan NaOH pada saat *pretreatment*. *Pretreatment* dengan larutan basa atau asam organik merupakan metode yang efektif untuk mengeliminasi pigmen dalam pembuatan kolagen (Shon *et al.* 2011), kulit ikan yang mengembang akibat perendaman dengan larutan asam atau basa dapat mempermudah proses eliminasi pigmen dari kulit ikan (Jaswir *et al.* 2011).

### Komposisi asam amino kolagen

Kolagen tersusun atas rantai polipeptida, asam amino yang khas dari struktur kolagen yaitu glisina-prolina-hidroksiprolin (Friess 1998). Asam amino kolagen dari daging keong bakau disajikan pada *Table 2*. Asam amino kolagen daging keong bakau yaitu glisina, alanina, prolina, dan asam glutamat, relatif sama dengan kadar kolagen teripang

gamma yang dilaporkan oleh Alhana (2015). Fontaine-Vive *et al.* (2009) menyatakan bahwa glisina berperan dalam mengurangi hambatan sterik dan memicu interaksi ikatan hidrogen dalam rantai heliks. Kandungan prolin kolagen daging keong bakau (9,21%) lebih tinggi dari kolagen teripang gamma (Alhana *et al.* 2015), namun lebih rendah dari kolagen kulit ikan gabus (Wulandari *et al.* 2016), ikan patin (Singh *et al.* 2011), ikan cucut (Kittiphattanabawon *et al.* 2010) dan ikan amur sturgeon (Wang *et al.* 2014).

Prolina merupakan asam amino yang berperan dalam menjaga integritas struktur kolagen (Tamilmozhi *et al.* 2013), kadar prolina yang tinggi dapat meningkatkan stabilitas termal (Munyonga *et al.* 2011). Cincin asam amino prolina dan hidroksiprolina membantu memperkuat stabilitas *thermal triple helix* dan membatasi konformasi rantai polipeptida (Huang *et al.* 2011). Kolagen yang berasal dari spesies yang hidup di lingkungan dingin memiliki karakteristik titik lebur dan stabilitas

Table 2 Amino acid content of collagen of mangrove snail meat

| Amino acids   | Quantity (%)        |               |
|---------------|---------------------|---------------|
|               | Mangrove snail meat | Sea cucumber* |
| Aspartic acid | 3.62                | 3.51          |
| Glutamic acid | 11.56               | 10.10         |
| Serin         | 5.02                | 4.87          |
| Glycine       | 11.56               | 8.26          |
| Hystidine     | 6.76                | 6.96          |
| Arginine      | 5.87                | 5.70          |
| Threonine     | 4.23                | 3.47          |
| Alanine       | 14.32               | 13.24         |
| Proline       | 9.21                | 7.41          |
| Tyrosine      | 3.43                | 3.22          |
| Valin         | 3.43                | 3.23          |
| Methionine    | 3.23                | 2.94          |
| Isoleucine    | 1.87                | 1.58          |
| Leucine       | 6.12                | 5.49          |
| Phenylalanine | 1.68                | 1.88          |
| Lysine        | 4.66                | 3.88          |

Note : \* Alhana *et al.* (2015)

termal lebih rendah, mengandung prolina dan hidroksiprolina lebih rendah dari kolagen ikan yang hidup dalam lingkungan yang lebih hangat (Kittiphattanabawon *et al.* 2010).

**Viskositas kolagen**

Viskositas adalah daya aliran molekul yang menunjukkan kekentalan dalam sistem larutan, menggambarkan ketahanan fluida terhadap perubahan gaya. Faktor yang memengaruhi viskositas di antaranya temperatur, gaya tarik antar molekul, dan jumlah molekul terlarut (Zhang *et al.* 2011). Korelasi positif antara viskositas dengan bobot molekul menunjukkan peningkatan nilai viskositas ketika jumlah molekul semakin banyak (Ogawa *et al.* 2004).

Kandungan kolagen dari daging keong laut memiliki nilai viskositas 16,34 cP pada suhu 25°C, lebih tinggi dari viskositas kolagen teripang gamma (14,12±0,45 cP) (Alhana *et al.* (2015) dan kulit ikan *C. striata* 10 cP (Wulandari *et al.* 2016). Viskositas kolagen dari tuna albakor dan *yellowfin* tuna mengalami penurunan seiring dengan peningkatan suhu yang digunakan (4°C menjadi 32°C) dikarenakan ikatan hidrogen rusak. Ikatan hidrogen tersebut berperan dalam menjaga stabilitas struktur kolagen (Benjakul 2010).

Kandungan rantai β dan γ yang tinggi merupakan faktor penyebab tingginya nilai

viskositas larutan kolagen, sedangkan faktor penyebab penurunan nilai viskositas adalah suhu tinggi yang mengakibatkan kolagen terdenaturasi (Ogawa *et al.* 2004). Peningkatan suhu mengakibatkan rusaknya ikatan hidrogen kolagen sehingga struktur *triple helix* kolagen berubah menjadi konfigurasi *random coil* (ciri khas gelatin) (Gurdak *et al.* 2006). Zhang *et al.* (2011) menyatakan bahwa viskositas tinggi disebabkan adanya tolakan elektrostatis yang kuat antara molekul kolagen dalam larutan. Viskositas kolagen dari *Raja kenoeji* 3,25 cP pada suhu 40°C (Shon *et al.* 2011), *pepsin solubilised collagen using porcine pepsin* (PSCPP) yang berasal dari kulit *Aluterus monoceros* 19,6 cP pada suhu 40°C, proporsi inter dan intramolekul *cross-link* yang tinggi pada kolagen kulit ikan tuna albakor menyebabkan nilai viskositasnya tinggi karena mampu menstabilkan struktur kolagen (Ahmad dan Benjakul 2010).

**Gugus fungsi kolagen daging keong bakau**

Penentuan gugus fungsi kolagen dari daging keong bakau melalui pendeteksian sinar infra merah sebagai sumber radiasi elektromagnetik menggunakan FTIR. Gugus fungsi kolagen daging keong bakau disajikan pada *Figure 4*.

Puncak serapan kolagen dari daging keong bakau yaitu pada amida A, B, I, II dan

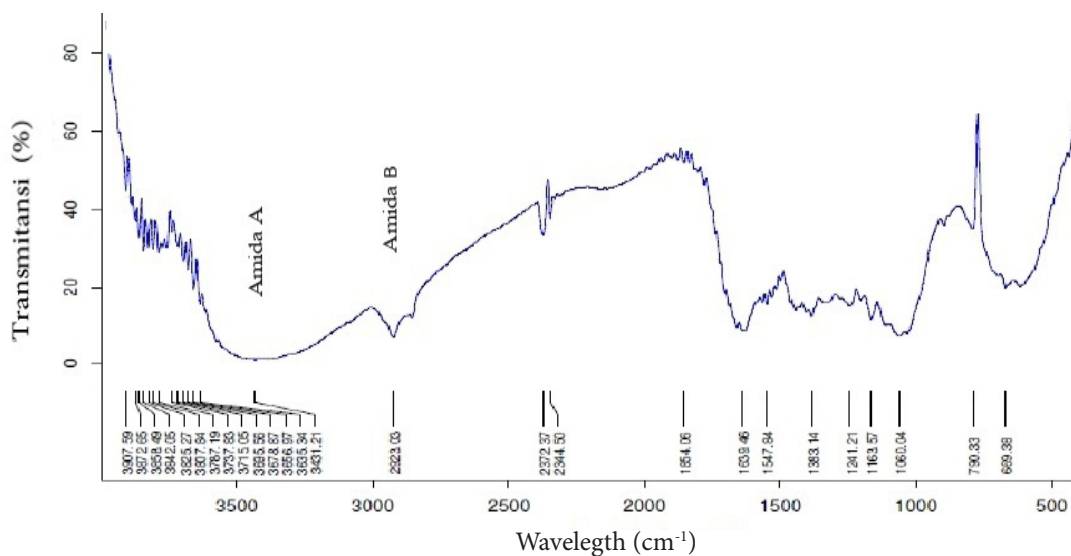


Figure 4 Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy of collagen from mangrove snail meat.



III. Puncak serapan amida A kolagen dari daging keong bakau pada panjang gelombang 3431,21  $\text{cm}^{-1}$  sedangkan Amida B 2923,03  $\text{cm}^{-1}$ . Amida A umumnya memiliki wilayah serapan 3400-3440  $\text{cm}^{-1}$  yang merupakan *stretching* gugus N-H, ikatan hidrogen dengan gugus N-H pada puncak serapan lebih rendah (3300  $\text{cm}^{-1}$ ) (Li *et al.* 2004), sedangkan Amida B pada wilayah serapan 2922-2924  $\text{cm}^{-1}$  menandakan *stretching asimetris* gugus  $\text{CH}_2$  (Veruuraj *et al.* 2013).

Wilayah puncak serapan Amida I kolagen dari daging keong bakau yaitu 1639,46  $\text{cm}^{-1}$ . Kisaran puncak serapan Amida I umumnya 1600-1700  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan *stretching* vibrasi gugus karbonil (ikatan C=O) yang merupakan ciri khas struktur sekunder dari peptide (Surewicz dan Mantsch 1988). Panjang gelombang Amida II dan III kolagen keong bakau yaitu 1547,84  $\text{cm}^{-1}$  dan 1241,21  $\text{cm}^{-1}$ , mendekati panjang gelombang Amida I ASC dari kulit ikan patin dan amida III ASC dan PSC kulit ikan patin (Singh *et al.* 2011).

## KESIMPULAN

Hasil penelitian terbaik yaitu perendaman dengan konsentrasi NaOH 0,20%, waktu perendaman 10 jam, penggantian 2 jam sekali. Perendaman dengan asam asetat terbaik dengan konsentrasi 0,05% dan waktu 6 jam. Rendemen hasil ekstraksi yaitu  $1,08 \pm 0,21\%$ , dengan kecerahan 72,23%, viskositas 16,34 cP. Kandungan asam amino prolina kolagen daging keong bakau adalah 9,21%. Gugus fungsi kolagen yang dihasilkan memiliki struktur  $\beta$ -sheet yang merupakan karakteristik khas kolagen.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Tulisan ini merupakan hasil penelitian yang didukung pendanaan dari program: Demand-Driven Research COREMAP-CTI, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Tahun Anggaran 2018.

## DAFTAR PUSTAKA

Alhana, Suptijah P, Tarman K. 2015. Ekstraksi dan karakterisasi kolagen dari teripang gamma (*Stichopus variegatus*). [Tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.

Ahmad M dan Benjakul S. 2010. Extraction and characterization of pepsin soluble collagen from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*). *Food Chemistry*. 120(3): 817-824.

[AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 1995. Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical of Chemist. Arlington, Virginia, (USA): Published by The Association of Official Analytical Chemist. Inc.

[AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. Official Method of Analysis (18 Edn). Arlington, Virginia, (USA): Published by The Association of Official Analytical Chemist. Inc.

[BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2011. Cara uji kimia Bagian 5: Penentuan kadar logam berat timbal (Hg) dan kadnium (Cd) pada produk perikanan: SNI 2354.5-2011. Jakarta (ID): Badan Standarisasi Nasional.

[BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2014. Kolagen kasar dari sisik ikan- Syarat mutu dan pengolahan: SNI 8076- 2014. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.

[BSN] Badan Standardisasi Nasional. 1998. Cara uji cemaran arsen dalam makanan: SNI 01- 4866-1998. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.

[BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2006. Cara uji kimia Bagian 6: Penentuan kadar logam berat merkuri (Hg) pada produk perikanan: SNI 01-2354.6-2006. Jakarta (ID): Badan Standarisasi Nasional.

Cho SM, Gu YS, Kim SB. 2005. Extracting optimization and physical properties of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatin compared to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids*. 19(2): 221-229.

Djabourov M, Lechaire J, Gaill F. 1993. Structure and rheology of gelatin and collagen gels. *Biorheology*. 30(3-4): 191-205.

Fontain-Vive F, Merzel F, Johnson MR, Kearley GJ. 2009. Collagen and component polypeptides: Low frequency and amide vibrations. *Chemical Physics*. 355(2-3): 141-148.

Friess W. 1998. Collagen-biomaterial for drug delivery. *European Journal of*

- Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 45(2): 113-136.
- Gelse K, Poßschlb E, Aigner T. 2003. Collagens-structure, function, and biosynthesis. *Adv Drug Delivery Reviews*. 55(12): 1531-1546.
- Hafiludin. 2012. Analisa kandungan gizi dan senyawa bioaktif keong bakau (*Telescopium telescopium*) disekitar perairan Bangkalan. *Jurnal Rekayasa*. 5(2): 116-122.
- Huang YR, Shiau CY, Chen HH, Huang BC. 2011. Isolation and characterization of acid and pepsin-solubilized collagens from the skin of balloon fish (*Diodon holocanthus*). *Food Hydrocolloids*. 25(6): 1507-1513.
- Jamilah B, Hartina MRU, Hashim M, Sazili AQ. 2013. Properties of collagen from barramundi (*Lates calcarifer*) skin. *International Food Research Journal*. 20(2):835-842.
- 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.
- Kittiphattanabawon P, 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(3): 363-372.
- Kittiphattanabawon P, Benjakul S, Visessanguan W, Kishimura H, Shahidi F. 2010. Isolation and characterisation of collagen from the skin of brownbanded bamboo shark (*Chiloscyllium punctatum*). *Food Chemistry*. 119(4): 1519-1526.
- Knoot L, Bailley AJ. 1998. Colagen cross-links in mineralizing tissue: a review of their chemistry, function, and clinical relevance. *Bone*. 22(3): 181-187.
- Gurdak E, Booth J, Robert CJ, Rouxhet PG, Gillian CCD. 2006. Influence of collagen denaturation on the nanoscale organization of adsorbed layers. *Journal of Colloid and Interface Science*. 302(2): 475-484.
- 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.
- Lee CH, Singla A, Lee Y. 2001. Biomedical applications of collagen. *International Journal of Pharmaceutics*. 221(1-2): 1-22.
- Li CM, Zhong ZH, Wan QH, Zhao H, Gu HF, Xiong SB. 2008. Preparation and thermal stability of collagen from scales of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *European Food Research and Technology*. 227(5): 1467-1473.
- Liu D, Wei G, Li T, Hua J, Lu J, Regenstein JM, Zhou P. 2015. Effects of alkaline pretreatments and acid extraction conditions on the acid-soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. *Food Chemistry*. 172: 836-843.
- Liu W, Li G, Miao Y, Wu X. 2009. Preparation and characterization of pepsin-solubilized type I collagen from the scales of snakehead (*Ophiocephalus argus*). *Journal of Food Biochemistry*. 33(1): 20-37.
- Liu HY, Li D, Guo SD. 2007. Studies on collagen from the skin of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Food Chemistry*. 101(2): 621-625.
- Matmaroh K, Benjakul S, Prodpran T, Encarnacion A, Kishimura H. 2011. Characteristics of acid soluble collagen and pepsin soluble collagen from scale of spotted golden goatfish (*Parupeneus heptacanthus*). *Food chemistry*. 129(3): 1179-1186.
- Mattjik AA, Sumertajaya IM. 2013. *Perancangan Percobaan dengan Aplikasi SAS an Minitab*. Bogor (ID): IPB Press.
- 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(1): 81-89.
- Nur'aenah N. 2013. Ekstraksi dan karakterisasi kolagen dan nanopartikel kolagen dari kulit ikan pari (*Pastinachus solocirostris*) sebagai bahan baku cosmeceutical [Tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Oktaviana, L. 2003. Struktur Komunitas Gastropoda di Hutan Mangrove Pulau

- Buru Kabupaten Karimun. [Skripsi]. Pekanbaru (ID): Universitas Riau
- 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 (*Pogonias cromis*) and sheeps head seabream (*Archosargus probatocephalus*). *Food Chemistry*. 88(4): 495–501.
- Ogawa M, Moody MW, Portier RJ, Bell J, Schexnayder MA, Losso JN. 2003. Biochemical properties of black drum and sheepshead seabream skin collagen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(27): 8088–8092.
- Prystupa DA, Donald AM. 1996. Infrared study of gelatin conformations in gel and sol states. *Polymer Gels and Networks*. 4(2): 87–110.
- Prasetyo, ND. 2006. Pemanfaatan keong bakau (*Telecopium telescopium*) sebagai biofilter terhadap parameter fisika dan kimia limbah yang dihasilkan tambak intensif udang vannamei (*Litopenaous vannamei*). [Skripsi]. Malang (ID): Universitas Muhammadiyah Malang.
- Purwaningsih S, Santoso J, Handharyani E, Setyawati, Deskawati E. 2016. Laporan Akhir Penelitian Pelatihan Teknik Pembuatan Pangan Fungsional Beras Glacillaria untuk Kelompok Nelayan di Bekasi, Jawa Barat.
- Rusli A. 2004. Kajian proses ekstraksi gelatin dari kulit ikan patin (*Pangasius hypothalamus*) segar. [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Sai S, Jongjareonrak A, Rawdkuen S. 2012. Reextraction, recovery, and characteristics of skin gelatin from farmed giant catfish. *Food Bioprocess Technology*. 5(4): 1197–1205.
- Shon J, Ji-Hyun E, Hwang SJ, Jong-Bang E. 2011. Effect of processing conditions on functional properties of collagen powder from Skate (*Raja kenoei*) skins. *Food Science Biotechnology*. 20(1): 99–106.
- Singh P, Benjakul S, Maqsood S, Kishimura H. 2011. Isolation and characterisation of collagen extracted from the skin of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Food Chemistry*. 124(1): 97–105.
- Surewicz WK, Mantsch HH. 1988. New insight into protein secondary structure from resolution enhanced infrared spectra. *Biochimica Biophysica Acta*. 952: 115–130.
- 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(2): 1499–1505.
- Veruuraj A, Arumugam M, Balasubramanian T. 2013. Isolation and characterization of thermostable collagen from the marine eel-fish (*Evenchelys macrura*). *Process Biochemistry*. 48(10): 1592–1602.
- Wang L, Liang Q, Chen T, Wang Z, Xu J, Maa H. 2014. Characterization of collagen from the skin of Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*). *Food Hydrocolloids*. 38: 104–109.
- 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.
- Yoshimura K, Terashima M, Hozan D, Shirai K. 2000. Preparation and dynamic viscoelasticity characterization of alkali-solubilized collagen from shark skin. *Journal of Agriculture Food Chemistry*. 48(3): 685–690.
- 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.