

KARAKTERISTIK FISIKOKIMIA KOLAGEN LARUT ASAM DARI KULIT IKAN PARANG-PARANG (*Chirocentrus dorab*)

Mega Safithri^{1,3*}, Kustiariyah Tarman^{2,3}, Pipih Suptijah^{2,3}, Neni Widowati¹

¹Departemen Biokimia, Institut Pertanian Bogor, Gedung FAPET Jalan Agatis Wing 5 Level 5, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680 Jawa Barat Indonesia. Telepon (0251) 8423267

²Departemen Teknologi Hasil Perairan, Institut Pertanian Bogor, Jalan Agatis, Kampus IPB Dramaga, Bogor, 16680 Jawa Barat Indonesia. Telepon (0251) 8622915

³Divisi Bioteknologi Kelautan, Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan, IPB University, Bogor Indonesia

* Korespondensi: mega.safithri@gmail.com

Diterima: 20 Mei 2019/Disetujui: 06 Desember 2019

Cara sitasi: Safithri M, Tarman K, Suptijah P, Widowati N. 2019. Karakteristik fisikokimia kolagen larut asam dari kulit ikan parang-parang (*Chirocentrus dorab*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 22(3): 441-452.

Abstrak

Limbah kulit ikan parang-parang (*Chirocentrus dorab*) dapat dimanfaatkan menjadi salah satu sumber kolagen. Isolasi kolagen dapat dilakukan secara kimia salah satunya dengan metode kolagen larut asam. Tujuan penelitian ini adalah isolasi kolagen dengan metode kolagen larut asam dan menentukan karakteristik fisikokimia kolagen kulit ikan parang parang. Isolasi kolagen terdiri atas praperlakuan dan hidrolisis dengan asam. Praperlakuan menggunakan NaOH 0,1 M selama 12 jam dan hidrolisis dengan asam asetat 0,5 M. Hasil praperlakuan menunjukkan kadar protein non kolagen 0,1243 mg/mL. Rendemen yang didapat yaitu 2,61%. Karakteristik fisik kolagen meliputi viskositas 6,50 cP, suhu denaturasi 40°C, suhu transisi 77,30°C, dan suhu pelelehan 153,90°C. Karakteristik kimia kolagen meliputi nilai pH 6.25, analisis FTIR yang memiliki gugus fungsi amida A (3425,58), B (2924,09), I (1647,21), II (1543,05), dan III (1246,02) (cm⁻¹), kadar asam amino penyusun kolagen yaitu glisin (26,69%), prolin (12,24%) dan alanin (9,51%)

Kata kunci: FTIR, isolasi kolagen, viskositas

Physicochemical characteristics of acid soluble collagen from the skin of Parang parang fish (Chirocentrus dorab)

Abstract

Waste of parang parang fish (*Chirocentrus dorab*) skin can be used as a source of collagen. Collagen isolation can be done chemically by the Acid Soluble Collagen (ASC) method. The objective of this research was to isolate collagen with ASC method and characterize their physicochemical. Collagen isolation consisted of pretreatment and hydrolysis with acids. The pretreatment used NaOH 0.1 M for 12 hours, while hydrolysis used acetic acid 0.5 M. Pretreatment results indicated that the concentration of non-collagen protein was 0.1243 mg/mL, while the yield collagen was 2.61%. The collagen had the viscosity of 6.50 cP, the denaturation temperature of 40°C, the transition temperature of 77.30°C, and the melting temperature of 153.90°C. The obtained collagen also had pH of 6.25. The fourier transform infrared (FTIR) spectra analysis showed the collagen contained amide A (3425.58), B (2924.09), I (1647.21), II (1543.05), and III (1246.02) (cm⁻¹). The collagen also contained glycine (26.69%), proline (12.24%) and alanine (9.51%).

Keywords : FTIR, collagen isolation, viscosity

PENDAHULUAN

Kolagen adalah protein yang terdapat pada tubuh hewan dan bersifat *biodegradable*. Protein kolagen terdiri atas 18 jenis asam amino, 7 di antaranya merupakan asam amino esensial (Kumar *et al.* 2011). Kolagen sangat dibutuhkan di industri pangan maupun nonpangan. Salah satu industri nonpangan yang membutuhkan kolagen adalah industri kosmetik. Kolagen bersifat elastis pada kulit dan dapat mengurangi keriput yang terjadi sebagai efek dari penuaan (Schmidt *et al.* 2016). Kolagen yang biasa digunakan umumnya didapatkan dari kulit dan tulang babi atau kulit dan tulang sapi. Kolagen yang berasal dari hewan babi dan sapi, dapat menimbulkan dampak buruk terhadap kesehatan manusia (Putra *et al.* 2013) dan masalah kehalalan (Hidayat dan Siradj 2015). Penggunaan kolagen yang bersumber dari babi dan sapi dapat menyebabkan wabah penyakit seperti penyakit *prion bovine spongiform encephalopathy* (BSE), penyakit mulut dan kuku (PMK) (Schmidt *et al.* 2016). Permasalahan ini dapat diatasi dengan mengganti bahan baku tersebut dengan limbah dari perairan yaitu kulit ikan, sisik dan tulang ikan. Salah satu sumber kolagen yang dapat digunakan adalah kulit ikan parang parang

Ikan parang parang memiliki potensi untuk dikembangkan karena merupakan salah satu jenis ikan yang ditemukan di laut utara Sumatera, laut selatan Sumatra Barat, Jawa, selatan Jawa dan laut timur Indonesia (Abdussamad *et al.* 2011). Data produksi ikan parang parang di perairan Bengkalis dari tahun ke tahun semakin meningkat, produksi pada tahun 2011 sebanyak 17.356 ton dan pada tahun 2012 sebanyak 17.393 ton (Rengi 2014). Kulit ikan parang-parang berpotensi sebagai sumber kolagen. Kolagen yang bersumber dari kulit dan tulang ikan memiliki struktur molekul yang lebih kecil dibandingkan dengan kolagen yang terbuat dari kulit sapi atau kulit babi sehingga lebih mudah untuk diserap (Kumar *et al.* 2011). Isolasi kolagen dari kulit ikan merupakan salah satu cara penggunaan limbah hasil perikanan menjadi produk dengan nilai komersial lebih

tinggi. Metode isolasi kolagen menentukan karakteristik kolagen yang didapatkan. Isolasi kolagen secara kimia dapat menggunakan asam organik maupun non organik. Asam organik dapat digunakan untuk mengisolasi kolagen. Zaelani *et al.* (2019) menggunakan asam asetat untuk mengisolasi kolagen ikan kakap merah. Suyanti *et al.* (2017) menggunakan asam sitrat untuk mengisolasi kolagen kulit ikan nila. Sementara itu Schmidt *et al.* (2016) menyatakan bahwa penggunaan asam anorganik yaitu asam klorida untuk isolasi kolagen kurang efisien dibandingkan dengan asam organik. Penelitian isolasi kolagen secara kimia dari beberapa jenis ikan dan bagiannya telah dilakukan dengan berbagai metode diantaranya kolagen larut asam atau *acid soluble collagen* (ASC) dan hidro-ekstraksi. Isolasi kolagen kulit ikan parang parang dengan metode hidro-ekstraksi telah dilakukan, namun isolasi dengan metode kolagen larut asam serta karakteristik fisikokimia hasil isolasi kolagen tersebut belum dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk isolasi kolagen kulit ikan parang parang dengan metode kolagen larut asam dan menentukan karakter fisikokimia kolagen yang telah diisolasi.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit ikan parang-parang yang didapat dari Pasar Anyar Bogor. Kulit ikan parang parang dibersihkan kemudian dimasukkan *coolbox* (stereofom) dan diberi es. Sampel diterima di laboratorium dalam keadaan dingin (10°C). Bahan kimia yang digunakan adalah akuades, NaOH 0,1 M (sigma aldrich), asam asetat (CH₃COOH 80%) (Sigma Aldrich), *Bovine Serum Albumin* (BSA) (sigma Aldrich), dan reagen Bradford (Sigma Aldrich). Alat-alat yang digunakan adalah *Fourier Transform Infrared* (FTIR) *Spectroscopy* (Bruker Tensor 37 German), spektrofotometer (Genesys 10 UV Thermo Scientific), viskometer (Brookfield), kromamater (Lutron RGB 1002), dan *termal differential scanning calorimetry* (DSC-60 Shimadzu), neraca analitik (FS-Ar 210), pH

meter (Hanna Instruments), *freeze dry* (Christ Alpha 2-4 LD UK), UPLC (ELSD Waters *Acquity H-Class*).

Metode Penelitian Pembuatan kolagen

Praperlakuan mengacu pada metode Kittiphattanabawon *et al.* (2010) dengan modifikasi. Kulit ikan direndam dalam larutan NaOH 0,1 M dengan perbandingan 1:10 (b/v) selama 12 jam. Larutan NaOH diganti setiap 2 jam sekali kemudian diuji kandungan protein secara kuantitatif dengan uji Bradford untuk menentukan konsentrasi NaOH dan lama waktu perendaman terbaik dan untuk menghilangkan kandungan protein non-kolagen yang masih terdapat pada kulit yang akan dinetralisasi dengan akuades.

Isolasi dengan asam

Isolasi kolagen dilakukan berdasarkan metode Erizal *et al.* (2014). Kulit ikan hasil praperlakuan direndam dengan asam asetat 0,5 M dengan perbandingan rasio kulit dengan asam asetat 1:10 (b/v) selama 48 jam pada suhu 4°C, selanjutnya, disaring menggunakan kertas saring Whatman. Hasil berupa ekstrak kolagen berwujud cair yang kemudian dikering-bekukan (*freeze dry*) hingga diperoleh kolagen padat.

Analisis kadar protein

Analisis kadar protein dilakukan berdasarkan metode Bradford (1976). Analisis kandungan protein “nonkolagen” pada NaOH sisa perendaman kulit ikan parang parang dilakukan menggunakan *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- ; 600- ; 800- ; 1.000- ; 1.200- ; dan 1.400 ppm

Analisis rendemen kolagen

Analisis nilai rendemen kolagen dilakukan berdasarkan metode AOAC (2005). Nilai rendemen diperoleh dari perbandingan

berat kering kolagen yang dihasilkan dengan berat bahan kulit ikan parang parang. Nilai rendemen diperoleh dengan rumus:

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

Analisis pH

Analisis pH kolagen dilakukan berdasarkan metode AOAC (2005). Sampel sebanyak 1 g sampel dilarutkan dalam 50 mL akuades dan dihomogenkan. Alat pH meter dinyalakan dan dibiarkan hingga stabil terlebih dahulu, kemudian elektroda dicelupkan ke dalam sampel hingga beberapa saat sampai diperoleh angka yang stabil pada proyektor pH meter.

Analisis viskositas

Analisis viskositas dilakukan berdasarkan metode Wulandari (2016) dengan modifikasi. Viskositas kolagen dilarutkan dalam asam asetat 0,5 M dengan konsentrasi 0,3% (b/v). Larutan 250 mL diukur viskositasnya menggunakan viskometer Brookfield dengan kecepatan 100 rpm

Analisis derajat putih

Analisis derajat putih kolagen dilakukan berdasarkan metode Alhana (2015). Analisis warna dilakukan menggunakan kromameter (Lutron RGB 1002). Sampel sebanyak 0,5 g diletakkan ke dalam kertas putih. Pemotretan dengan kromameter dilakukan sebanyak tiga kali pada masing-masing sampel. Hasil pengukuran ditampilkan berupa angka digital pada alat. Sistem warna yang digunakan adalah sistem warna Hunter. Sistem warna Hunter $L^*a^*b^*$ memiliki tiga atribut yaitu nilai L^* , a^* , dan b^* . Nilai L^* menunjukkan kecerahan sampel (warna kromatis, 0: hitam sampai 100: putih). Warna kromatik merah sampai hijau ditunjukkan oleh nilai a^* (a^* : 0 sampai 100 untuk warna merah, a^* : 0 sampai -80 untuk warna hijau). Warna kromatik biru sampai kuning ditunjukkan oleh nilai b^* (b^* : 0 sampai 70 untuk warna kuning, b^* : 0 sampai -70 untuk warna biru). Derajat putih dihitung menggunakan rumus: $100 - [(100-L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$

Analisis Gugus Fungsi dengan FTIR

Analisis Gugus Fungsi dengan FTIR dilakukan berdasarkan metode Yan *et al.* (2008). Analisis FTIR digunakan untuk menentukan gugus fungsi khas kolagen. Analisis FTIR dilakukan dengan menimbang 100 mg KBr dan 2 mg sampel uji dicampurkan, kemudian ditumbuk sampai halus dan tercampur rata dalam mortar agate. Pengukuran sampel uji dilakukan pada bilangan gelombang antara 4000-500 cm^{-1} . Spektra FTIR yang dihasilkan menunjukkan puncak-puncak serapan bilangan gelombang dari sampel uji. Gugus fungsi sampel uji ditentukan berdasarkan puncak serapan bilangan gelombang yang terdeteksi dengan wilayah serapan untuk gugus fungsi protein

Analisis asam amino

Analisis asam amino dilakukan berdasarkan metode AOAC (2005). Analisis asam amino dilakukan menggunakan *Ultra Performance Liquid Chromatography* (UPLC). 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:

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

C : konsentrasi standar asam amino (ug/mL)

FP : Faktor pengenceran

BM : Bobot molekul setian asam amino (g/mol)

Analisis titik leleh

Analisis titik leleh dilakukan berdasarkan metode Alhana (2015). Analisis titik leleh dilakukan menggunakan alat DSC untuk mengetahui karakteristik termal dari kolagen dihasilkan. Metode yang dilakukan yaitu sampel sebanyak 5-10 mg ditempatkan dalam wadah aluminium lalu ditutup. Sampel

kemudian dianalisis pada suhu antara 20°C hingga 300°C dengan laju pemanasan 10°C/menit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Protein Nonkolagen dan Rendemen Kolagen

Perendaman kulit ikan dalam NaOH 0,1 M dilakukan selama 12 jam dan larutan NaOH diganti setiap 2 jam. Berdasarkan hasil perendaman NaOH 2 jam pertama, kulit ikan memiliki kadar protein non-kolagen yang cukup tinggi yaitu, 1,46 mg/mL dan 2 jam berikutnya terjadi penurunan kadar protein non-kolagen, sampai perendaman selama 12 jam diperoleh konsentrasi protein non-kolagen 0,13 mg/mL (*Table 1*). Penggunaan NaOH 0,1 M saat praperlakuan pada kulit ikan parang parang yaitu mengacu pada penelitian sebelumnya yang melakukan isolasi kolagen dari kulit ikan parang parang dengan metode hidro-ekstraksi (Kurniawan 2016). Tujuan dilakukannya praperlakuan menggunakan basa adalah menghilangkan kontaminan (lemak, mineral dan pigmen) dan menghilangkan protein non-kolagen (Schmidt *et al.* 2016). Penggunaan larutan NaOH 0,05 dan 0,1 M dapat melarutkan protein non-kolagen tanpa menyebabkan kehilangan kolagen, tetapi apabila lebih besar dari 0,1 M dapat melarutkan kolagen tersebut karena apabila OH⁻ berlebih mengakibatkan terputusnya sebagian ikatan kovalen kolagen (Liu *et al.* 2015). Larutan NaOH dapat mengubah tropokolagen menjadi prokolagen dan perendaman dengan NaOH dapat mempermudah masuknya air ke dalam kulit ikan sehingga protein non-kolagen dan kontaminan terjebak dalam matriks menjadikan lebih mudah dilepaskan (Jaswir *et al.* 2011).

Nilai rendemen kolagen kulit ikan parang-parang yang didapatkan 3,73% dan lebih tinggi dibandingkan penelitian sebelumnya yang menggunakan metode hidro-ekstraksi pada bahan baku yang sama yaitu 2,15±0,62% (Kurniawan 2016). Menurut Potaros *et al.* (2009) nilai rendemen yang berbeda disebabkan oleh metode ekstraksi, suhu dan waktu ekstraksi. Rendemen

Table 1 Non-collagen protein concentration in NaOH solution

Hour	Concentration (mg/mL)
2	1.60±0.004
4	0.68±0.004
6	0.46±0.002
8	0.35±0.005
10	0.33±0.004
12	0.13±0.004

kolagen pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan kolagen dari kulit ikan patin 5,10%(Singh *et al.* 2011) dengan metode hidrolisis asam. Ratnasari *et al.* (2013) menyatakan bahwa perbedaan jenis kulit, konsentrasi asam, pH, dan jumlah kolagen yang terbuang saat praperlakuan serta pencucian akan mempengaruhi rendemen.

Karakter Fisikokimia Kolagen Kulit Ikan Parang Parang

Nilai pH kolagen kulit ikan parang parang yaitu 6,25±0,00. Nilai tersebut lebih rendah dibandingkan kolagen kulit ikan parang parang dengan metode isolasi hidro-ekstraksi (Kurniawan 2016) yaitu bernilai 6,55. Faktor yang mempengaruhi nilai pH bersifat lebih asam adalah penggunaan konsentrasi asam yang lebih tinggi dan tidak dilakukan proses netralisasi setelah hidrolisis, sedangkan pada metode hidro-ekstraksi menggunakan konsentrasi asam yang lebih rendah, dan dilakukan netralisasi, dan dilakukan ekstraksi menggunakan air sehingga hasil kolagen memberikan nilai pH yang mendekati netral.

Viskositas kolagen kulit ikan parang parang yaitu 6,50±0,00 cP. Nilai viskositas tersebut lebih rendah dari kolagen kulit ikan gabus yaitu 10 cP (Wulandari *et al.* 2015). Nilai viskositas dipengaruhi oleh bobot molekul kolagen hasil isolasi (Ogawa *et al.* 2004). Faktor-faktor yang dapat memengaruhi viskositas adalah suhu, gaya tarik antar molekul, dan jumlah molekul terlarut (Zang *et al.* 2007). Nilai viskositas yang tinggi berkaitan dengan gaya elektrostatis yang kuat antar molekul kolagen (Zhang *et al.* 2011). Viskositas yang rendah berkaitan dengan suhu yang digunakan saat isolasi (Chi *et al.* 2013). Polimer yang semakin

kecil menyebabkan nilai viskositas akan semakin rendah (Putra *et al.* 2013).

Derajat putih kolagen kulit ikan parang parang yang diisolasi dengan metode kolagen larut asam adalah 48,49±4,23%. Hasil tersebut lebih rendah dibandingkan dengan kolagen dari kulit ikan gabus 66,67% (Wulandari *et al.* 2015). Hasil warna kolagen kulit ikan parang-parang lebih rendah. Preparasi sampel dan pigmen belum hilang saat praperlakuan. Warna kolagen disebabkan oleh pigmen dari bahan baku dan selain itu, warna kolagen dapat disebabkan oleh metode isolasi yang digunakan. Menurut Fawzya *et al.* (2016) metode kolagen larut asam dapat memberikan warna kolagen yang lebih putih dibandingkan dengan menggunakan metode hidro-ekstraksi, karena penggunaan konsentrasi asam yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode hidro-ekstraksi. Perendaman dengan menggunakan basa atau asam menyebabkan pengembangan pada kulit sehingga pigmen dapat dieliminasi (Jaswir *et al.* 2011)

Gugus Fungsi Kolagen

Spektrum FTIR kolagen kulit ikan parang parang memiliki puncak serapan khas pada wilayah amida yaitu amida A, amida B, amida I, amida II, amida III (Figure 1 dan Table 2). Hasil isolasi kolagen kulit ikan parang parang metode kolagen larut asam terdapat amida A pada puncak serapan 3425,58 cm⁻¹ dengan wilayah serapan (3350-3550 cm⁻¹) yang memiliki karakteristik adanya renggangan NH (Erizal *et al.* 2012). Posisi amida A dipengaruhi oleh adanya komponen gugus OH yang mengkonfirmasi partisipasi aktif molekul air dalam kolagen (Erizal *et al.* 2012). Amida B pada hasil penelitian menunjukkan serapan bilangan

Table 2 Collagen functional groups characteristics

Amide	Peak absorbancy of wave number (cm ⁻¹)			Amide characteristics
	Standard of absorbancy area	Acquired absorbancy	Skin collagen of Parang-parang fish	
Amide A	3350-3550 ¹	3425.58	3332.29	NH <i>stretching</i> ¹
Amide B	2935-2915 ²	2924.09	2924.09	CH ₂ <i>asymmetric stretching</i> ²
Amide I	1600-1700 ³	1647.21	1647.21	C=O <i>stretching</i> ³
Amide II	1480-1575 ³	1543.05	1546.91	NH <i>bending</i> , CN <i>stretching</i> ³
Amide III	1229-1301 ³	1246.02	1334.74	NH <i>bending</i> , CN <i>stretching</i> ³

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

gelombang 2924,09 cm⁻¹. Coates (2000) mengemukakan bahwa puncak serapan bilangan gelombang amida B pada rentang 2935-2915 cm⁻¹ yang memiliki karakteristik renggangan asimetrik CH₂. Berdasarkan penelitian Kurniawan (2016) yang melakukan isolasi kolagen kulit ikan parang-parang dengan metode hidro-ekstraksi menunjukkan amida A bergeser ke arah kanan atau ke arah frekuensi yang lebih rendah, hal tersebut dapat disebabkan oleh gugus NH pada peptida terlibat dalam ikatan hidrogen pada proses ekstraksi dengan air (Li *et al.* 2013), sedangkan pada amida B tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan.

Amida I menunjukkan bilangan gelombang 1647,21 cm⁻¹ yang berdasarkan Kong dan Yu (2007) wilayah serapan Amida I terdapat pada bilangan gelombang 1600–1700 cm⁻¹ dengan karakteristik adanya vibrasi renggangan C=O dari ikatan peptida

dan pada frekuensi amida I menunjukkan berkolerasi erat dengan struktur sekunder protein. Amida I memiliki struktur sekunder protein antara lain α -*helix*, β -*sheet*, β -*turn*, dan *random coil (loop)*. Berdasarkan Kong dan Yu (2007) α -*helix* memiliki bilangan gelombang antara 1650-1658 cm⁻¹, β -*sheet* menunjukkan bilangan gelombang 1620-1640 cm⁻¹ dan 1690-1695 cm⁻¹, β -*turn* memiliki bilangan gelombang antara lain 1688, 1680, 1672, dan 1666 cm⁻¹, *random coil* memiliki bilangan gelombang 1648 cm⁻¹. Berdasarkan hasil yang didapat kolagen kulit ikan parang-parang yang diisolasi dengan kolagen larut asam menunjukkan adanya struktur sekunder *random coil*, sedangkan dengan metode hidro-ekstraksi kolagen kulit ikan parang parang menunjukkan adanya struktur sekunder α -*helix* yaitu pada bilangan gelombang 1553 cm⁻¹ (Kurniawan 2016). Perbedaan struktur

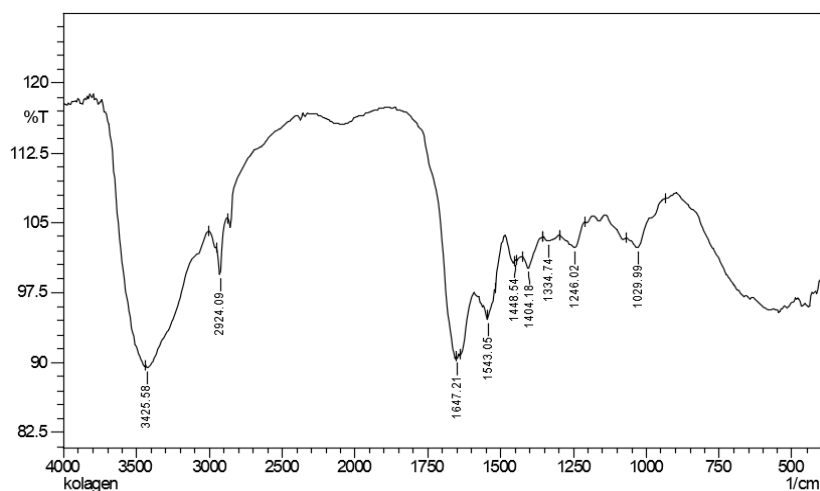


Figure 1 Infrared spectrum of parang-parang fish collagen

sekunder tidak dipengaruhi oleh metode yang digunakan. Berdasarkan hasil penelitian Faisal (2014) yang melakukan isolasi kolagen kulit ikan buntal dengan metode hidro-ekstraksi memiliki gugus amida I dengan bilangan gelombang 1651 cm^{-1} (α -helix), hasil penelitian Yan *et al.* (2008) dengan menggunakan metode kolagen larut asam dari kulit ikan *Theragra chalcogramma* memiliki gugus amida I dengan bilangan gelombang $1648,74\text{ cm}^{-1}$ (*random coil*), dan hasil penelitian Wulandari (2016) melakukan isolasi kolagen dari kulit ikan gabus metode hidro-ekstraksi memiliki gugus amida I dengan bilangan gelombang $1639,46\text{ cm}^{-1}$ (β -sheet), sehingga metode kolagen larut asam dan hidro-ekstraksi memungkinkan membentuk struktur sekunder α -helix, β -sheet, β -turn, dan *random coil* (*loop*).

Amida II pada hasil penelitian bilangan gelombang $1543,05\text{ cm}^{-1}$ yang berdasarkan Kong dan Yu (2007), wilayah serapan Amida II terdapat pada bilangan gelombang $1480\text{--}1575\text{ cm}^{-1}$ dengan karakteristik vibrasi renggangan CN dan NH bending (tekuk) pada ikatan peptida. Amida II memiliki vibrasi sama seperti amida I yaitu tidak terpengaruh oleh vibrasi rantai samping namun korelasi antara frekuensi dan struktur sekunder protein kurang jelas dibandingkan dengan amida I (Barth 2007). Hasil penelitian isolasi kolagen kulit ikan parang parang dengan metode hidro-ekstraksi menunjukkan bilangan gelombang yang lebih tinggi dibandingkan kolagen yang diisolasi dengan metode kolagen larut asam. Hal ini dapat terjadi karena keterkaitan dengan ikatan hidrogen sehingga menghasilkan bilangan gelombang yang lebih tinggi (Tziveleka *et al.* 2017).

Amida III pada hasil penelitian menunjukkan bilangan gelombang $1246,02\text{ cm}^{-1}$. Wilayah serapan amida III yaitu $1229\text{--}1301\text{ cm}^{-1}$ dengan karakteristik adanya interaksi intermolekuler pada kolagen yang berkaitan dengan renggangan CN dan NH bending (tekuk). Nilai rasio yang mendekati 1,0 pada intensitas rasio antara puncak serapan pada bilangan gelombang 1450 cm^{-1} dan puncak serapan amida III menandakan bahwa kolagen tersebut memiliki struktur *triple helix* yang merupakan ciri khas kolagen

(Matmaroh *et al.* 2011). Hasil penelitian menunjukkan rasio 1,13 sedangkan kolagen kulit ikan parang parang yang diisolasi dengan metode hidro-ekstraksi menunjukkan nilai rasio 1,17 (Kurniawan 2016). Kolagen yang mengalami denaturasi memiliki intensitas rasio 0,59 yang mengindikasikan hilangnya struktur *triple helix* yang disebut dengan gelatin (Gioissis *et al.* 1998).

Asam Amino Kolagen

Kulit ikan parang parang memiliki lima kadar asam amino terbanyak yaitu glisin, prolin, asam glutamat, arginin dan alanin. Tiga kadar asam amino terendah yaitu tirosin, histidin, dan isoleusin (*Table 3*). Hasil penelitian ini sesuai dengan Aberoumand (2012) bahwa kolagen memiliki kadar tirosin dan histidin yang rendah dan tidak mengandung triptofan dan sistein. Kadar asam amino pada kolagen akan mempengaruhi stabilitas termal dan kadar asam amino yang tinggi pada pembentukan kolagen akan memiliki kestabilan suhu yang tinggi (Jamilah *et al.* 2013). Kolagen terdiri atas tiga polipeptida yang saling berpilin membentuk *triple helix* yang tersusun dari tiga asam amino utama yaitu glisin, prolin, dan alanin. Glisin menyusun hampir sepertiga dari struktur kolagen sedangkan sisanya merupakan asam amino yang lain (Chi *et al.* 2014). Asam amino glisin tersebut akan mempengaruhi ikatan hidrogen dan berperan dalam pembentukan rantai alpha tripel heliks pada kolagen (Matmaroh *et al.* 2011). Glisin terdapat pada posisi ketiga susunan asam amino tripel heliks kolagen (Gly-X-Y). Posisi X adalah prolin dan posisi Y adalah hidrosiprolin yang akan membentuk *triple helix* (Fawzya *et al.* 2016). Berdasarkan hasil analisis kolagen kulit ikan parang parang memiliki kadar asam amino glisin yaitu 26,69 % dan hampir menempati sepertiga dari jumlah asam amino. Namun demikian, berdasarkan penelitian Kurniawan (2016) pada kolagen kulit ikan parang parang yang diisolasi dengan metode hidro-ekstraksi jumlah asam amino glisin lebih tinggi dibandingkan dengan metode kolagen larut asam yaitu 28,24%. Fawzya *et al.* (2016) menyatakan bahwa perbedaan kadar asam

Table 3 Amino acid levels of parang-parang fish collagen

Amino acid	Concentration (%)
Alanine	9.51
Arginine	9.81
Aspartate	5.81
Glutamate	11.72
Phenylalanine	3.09
Glycine	26.69
Histidine	1.08
Isoleucine	1.48
Leucine	3.32
Lysine	4.86
Proline	12.24
Serine	3.48
Threonine	3.38
Tyrosine	0.7
Valine	2.83

amino pada bahan baku yang sama dapat disebabkan oleh metode isolasi, bahan isolasi, dan metode penentuan asam amino.

Asam amino penyusun kolagen lainnya yaitu prolin dan alanin. Hasil menunjukkan kadar asam amino prolin yang diperoleh yaitu 12.24%. Hasil tersebut menunjukkan kadar protein yang hampir sama dengan kolagen kulit ikan parang parang dengan metode hidro-ekstraksi yaitu 12,38% (Kurniawan 2016) dan kolagen kulit ikan patin (12%) (Singh *et al.* 2011). Hasil menunjukkan sesuai dengan kadar prolin atau hidroksi prolin terdiri atas seperlima atau lebih dari total asam amino (Kittiphattanabawon *et al.* 2010). Asam amino prolin dan hidroksi prolin akan mempengaruhi nilai stabilitas termal (Muyonga *et al.* 2004). Asam amino prolin dalam kolagen berperan dalam menjaga integritas kolagen (Tamilmozhi *et al.* 2013) dan berdasarkan Huang *et al.* (2011) cincin pirolidin pada asam amino prolin dan hidroksi prolin membantu memperkuat stabilitas termal pada struktur *triple helix*. Kadar asam amino alanin pada kolagen kulit ikan parang-parang cukup tinggi yaitu 9,51%. Kadar alanin pada kolagen menempati 1/9 dari total asam

amino (Kittiphattanabawon *et al.* 2010).

Stabilitas Termal

Berdasarkan hasil termogram (Figure 2) menunjukkan suhu denaturasi kolagen kulit ikan parang-parang adalah 40°C serta memiliki dua puncak eksotermik. Puncak eksotermik yang pertama menunjukkan suhu awal 73,2°C, suhu akhir pelelehan 82,4°C, dan suhu maksimum 77, 3°C. Puncak eksotermik kedua menunjukkan suhu awal 153,3°C, suhu akhir pelelehan 164,0°C, dan suhu maksimum 153,9°C.

Puncak eksotermik I menunjukkan transisi gelasi dari kolagen yaitu terputusnya ikatan hidrogen yang mengarah pada pembentukan polimer amorf yang disebut dengan gelatin, suhu terbentuknya kolagen menjadi gelatin terjadi pada suhu maksimum (T_{max}) 77,3°C. Puncak eksotermik II menunjukkan suhu transisi maksimum yaitu puncak *melting* (pelelehan) bahan yang terjadi pada suhu 153,9°C. Nilai entalpi yang diperoleh negatif yang menunjukkan terjadi suatu reaksi eksotermik. Aliran panas (W/g) akan setara dengan perubahan entalpi (J/s) yang diterima atau dilepas oleh sampel.

Suhu denaturasi kolagen hasil penelitian menunjukkan nilai 40°C, denaturasi merupakan perubahan struktur protein tanpa diikuti dengan pelepasan ikatan kovalen. Suhu denaturasi kulit ikan parang-parang lebih tinggi dibandingkan kolagen dari kulit ikan nila yang memiliki suhu denaturasi 35,75°C (Putra *et al.* 2011), kolagen dari kulit ikan mackerel 29,7°C (Muyonga *et al.* 2004), dan kolagen dari sirip hiu 25°C (Nagai *et al.* 2001). Denaturasi kolagen berbeda-beda berdasarkan habitat dan spesies (Mandal *et al.* 2014). Menurut Ogawa *et al.* (2004) kestabilan kolagen pada suhu merupakan adaptasi fisiologis terhadap lingkungannya.

Puncak eksotermik I terjadi pada suhu 77,30°C hal tersebut menunjukkan suhu transisi gelasi atau suhu terbentuknya menjadi gelatin. Suhu gelasi kolagen memiliki nilai suhu yang berbeda-beda seperti kolagen kulit ikan ekor kuning yang menggunakan metode kolagen larut asam yaitu 67,69°C (Astiana 2016), kolagen kulit ikan gabus 78,44°C

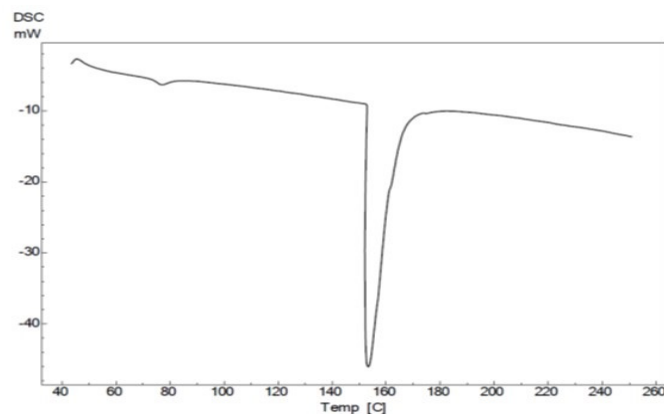


Figure 2 Thermogram of parang-parang fish collagen

(Wulandari *et al.* 2015), dan kolagen dari kulit ikan pari 86,7°C (Nur'aenah 2013). Stabilitas termal tersebut dipengaruhi oleh kandungan asam amino prolin dan hidroksi prolin, dan apabila kandungan asam amino tersebut lebih tinggi maka memiliki nilai denaturasi dan suhu transisi gelasi yang lebih tinggi (Yousefi *et al.* 2017). Berdasarkan data tersebut hasil sesuai dengan jumlah kandungan asam amino prolin yang didapat lebih tinggi dibandingkan penelitian Astiana (2016) kolagen kulit ikan ekor kuning, dan lebih kecil dibandingkan dengan penelitian Wulandari *et al.* (2015) kolagen kulit ikan gabus, dan Nura'nah (2013) kolagen kulit ikan pari. Berdasarkan Krishnamoorthi *et al.* (2017) stabilitas termal tersebut dipengaruhi oleh habitat dan spesies, ikan yang berada di habitat dingin memiliki asam amino hidroksiprolin yang rendah, sehingga memiliki stabilitas termal yang rendah. Asam amino prolin dan hidroksiprolin memiliki ikatan hidrogen dan cincin pirolidin sehingga menjaga kestabilan polipeptida (Zang *et al.* 2007).

Puncak eksotermik II terjadi pada suhu 153,90°C yang menunjukkan suhu pelelehan kolagen. Suhu pelelehan kolagen dari kulit ikan berbeda-beda, perbedaan tersebut dapat dipengaruhi oleh metode isolasi yang digunakan. Kolagen dari ikan gabus yang diisolasi dengan metode hidro-ekstraksi memiliki nilai suhu pelelehan 159,90°C (Wulandari *et al.* 2015), kolagen daging tripang Gamma dengan metode hidro-ekstraksi memiliki suhu pelelehan 163,67°C (Alhana 2015). Suhu pelelehan kolagen tersebut menunjukkan bahwa kolagen yang

diisolasi dengan kolagen larut asam memiliki suhu pelelehan yang lebih rendah. Menurut Ahmad dan Benjakul (2010) suhu pelelehan dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan. Pelarut asetat dapat memutuskan ikatan hidrogen intramolekul yang merupakan penstabil *triple helix* dari kolagen.

KESIMPULAN

Kolagen kulit ikan parang parang berhasil diisolasi dengan metode kolagen larut asam diperoleh rendemen 3,73%. Karakteristik fisik kolagen didapatkan viskositas 6,50 cP, suhu denaturasi 40°C, suhu transisi 77,3°C, dan suhu pelelehan 153,9°C. Karakteristik kimia kolagen didapatkan nilai pH 6,25, memiliki gugus fungsi kolagen (amida A, amida B, amida I, amida II, dan amida III) dan kadar asam amino kolagen (glisin 26,69%, prolin 12,24% dan alanin 9,51%).

DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC]. Association of Official Analytical Chemist. 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington.
- 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.
- Abdussamad EM, Pillai NGK, Zacharia PU, Jeyabalan K. 2011. Dorab Fishery of Gulf of Mannar Waters and Population Characteristics of The Species *Chirocentrus dorab* (Forsskal, 1775) and

- Chirocentrus nudus* Swainson, 1839. *Indian Journal of Fisheries*. 58(1): 19-23.
- Aberoumand A. 2012. Comparative study between different methods of collagen extraction from fish and its properties. *World Applied Science Journal*. 16 (3): 316-319
- Ahmad M, Benjakul S. 2010. Extraction and characterisation of pepsin solubilised collagen from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*). *Food Chemistry*. 120:817-824
- Alhana. 2015. Ekstraksi dan karakterisasi kolagen dan nanokolagen dari daging teripang gamma (*Stichopus variegatus*) [Tesis]. Bogor(ID): Institut Pertanian Bogor
- Astiana I. 2016. Efektivitas asam dan enzim papain dalam menghasilkan kolagen dari kulit ikan ekor kuning (*Caesiocuning*) [Tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor
- Barth A. 2007. Review: Infrared spectroscopy of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1767: 1073-1101
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72(1): 248-254
- Chi CF, Cao ZH, Wang B, Hu FY, Li ZR, Zhang B. 2014. Antioxidant and functional properties of collagen hydrolysates from spanish mackerel as influenced by average molecular weight. *Molecules*. 19: 11211-11230.
- Chi CF, Wang B, Li ZR, Luo HY, Ding GF. 2013. Characterization of acid-soluble collagens from the cartilages of scalloped hammerhead (*Sphyrna lewini*), red stingray (*Dasyatis akajei*), and skate (*Raja porosa*). *Food Science and Biotechnology*. 22: 909-9016
- Coates J. 2000. Interpretation of infrared spectra, a practical approach.: Meyers RA, editor. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. USA (US): John Wiley & Sons Ltd.
- Erizal, Abbas B, Setyo AK, Sulistiono GS, Sudirman. 2014. Pengaruh iradiasi gamma pada sifat fisiko-kimia kolagen dalam larutan. *Jurnal Sains Materi Indonesia*. 15(4): 221-225.
- Faisal F. 2014. Isolasi dan karakterisasi kolagen dari kulit ikan buntal (*Tetraodon lunaris*) [Skripsi]. Bogor(ID): Institut Pertanian Bogor.
- Fawzya YN, Chasanah E, Poernomo A, Khirzin MH. 2016. Isolasi dan karakterisasi parsial kolagen dari teripang gamma (*Sticopus variegatus*). *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 11(1): 91-100
- Goissis G, Piccirilli L, Goes JC, Plepis AM, Das-Gupta DK. 1998. Anionik collagen: polimer composites with improved dielectric and rheological properties. *Artificial Organs*. 22: 203-209.
- Hidayat AS, Siradj M. 2015. Sertifikasi halal dan sertifikasi non halal pada produk pangan industri. *Ahkam: Jurnal Ilmu Syariah*. 15:199-222
- Huang YR, Shiao 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*. 25:1507-1513.
- Jamilah B, Hartina UMR, Hashim MD, 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, Shahidi F. 2010. Isolation and characterization of collagen from the cartilages of brownbanded bamboo shark (*Chiloscyllium punctatum*) and blacktip shark (*Carcharhinus limbatus*). *Food Science Technology* 43: 792-800
- Kong J, Yu S. 2007. Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*. 39(8): 549-559.
- Krishnamoorthia J, Ramasamy P, Shanmugama V, Shanmugama A. 2017.

- Isolation and partial characterization of collagen from outer skin of sea bream (Enrenberg, 1831) from the coast. *Biochemistry and Biophysics Report*. 10: 9-45.
- Kumar MH, Spandana V, Poonam T. 2011. Extraction and determination of collagen peptide and its clinical importance from tilapia fish scales (*Oreochromis niloticus*). *International Research Journal of Pharmacy*. 2(10): 97-99.
- Kurniawan DR. 2016. Formulasi sediaan gel pelembab kulit berbasis kolagen kulit ikan parang-parang (*Chirocentrus dorab*) [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor
- 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: 103-113
- 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
- Mandal A, Sekar S, Seeni MK, Mukherjee A, Sastry TP, Mandal AB. 2014. Fabrication of collagen scaffolds impregnated with sago starch capped silver nanoparticles suitable for biomedical applications and their physicochemical studies. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 16(37): 20175-20183.
- 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: 1179-1186.
- 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
- Nagai T, Yamashita E, Taniguchi K, Kanamori N, Suzuki N. 2001. Isolation and characterization of collagen from the outer skin waste material of cuttlefish (*Sepia lycidas*). *Food Chemistry*. 72: 425-429
- Nur'aenah N. 2013. Ekstraksi dan karakterisasi kolagen dan nanopartikel kolagen dari kulit ikan pari (*Pastinachus solocirostris*) sebagai bahan baku kosmetik. [Tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Ogawa M, Portier JR, Moody MW, Bell J, Schexnayder MA, Lasso JN. 2004. Biochemical properties of bone and scale collagens isolated from the subtropical fish black drum (*Pogonia cromis*) and sheepshead sea bream (*Archosargus probatocephalus*). *Food Chemistry*. 88: 495-501
- Potaras T, Raksakulthai N, Runglerdkreangkrai J, Worawattanamatekul W. 2009. Characteristics of collagen from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin isolated by two different methods. *Kasetsart Journal-Natural Science*. 43(3): 584-593.
- Putra ABN, Sahubawa L, Ekantari N. 2013. Ekstraksi dan Karakterisasi Kolagen dari Kulit Ikan Nila Hitam (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 8(2): 171-180
- Ratnasari I, Yuwono SS, Nusyam H, Widjanarko SB. 2013. Extraction and characterization of gelatin from different fresh water fishes as alternative sources of gelatin. *International Food Research Journal*. 20(6): 3085-3091.
- Rengi, P dan Tang, UM. 2013. Identifikasi, Eksplorasi Potensi Dan Sumberdaya Perikanan Tangkap Kabupaten Bengkalis. <http://repository.uri.ac.id>.
- Schmidt MM, Dornelles RCP, Mello RO, Kubota EH, Mazutti MA, Kempka AP, dan Demiate IM. 2016. Mini Review: Collagen extraction process. *International Food Research Journal*. 23(3):913-922.
- 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.
- Suryanti S, Marseno DW, Indrati R, Irianto HE. 2017. Pengaruh jenis asam dalam isolasi gelatin dari kulit ikan nila (*Oreochromis niloticus*) terhadap karakteristik emulsi. *Agritech*. 37(4):410-419.
- Tamilmozhi S, Veeruraj A, Arumugam M. 2013. Isolation and characterization of acid and pepsin-solubilized collagen from the skin of sailfish (*Istiophorus platypterus*). *International Food Reserarch Journal*. 54: 1499-1505.
- Tziveleka LA, Ioannou E, Tsiourvas D, Berillis P, Foufa E, Roussis V. 2017. Collagen from the marine sponges *Axinella cannabina* and *Suberites carnosus*: isolation and morphological, biochemical, and biophysical characterization. *Marine Drugs*. 15(6): 1-17.
- 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.
- Wulandari. 2016. Karakterisasi fisikokimia kolagen yang diisolasi dengan metode hidro-ekstraksi dan stabilisasi nanokolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*) [Tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- 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.
- Yousefi M, Ariffin F, Huda N. 2017. An alternative source of type I collage based on by-product with higher thermal stability. *Food Hydrocolloids*. 63: 472-382.
- Zang Y, Liu W, Li G, Shi B, Miao Y, Wu X. 2007. Isolation and partial characterization of pepsin-soluble collagen from the skin of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Food Chemistry*. 103: 906-912.
- Zhang F, Wang A, Li Z, He S, Shao L. 2011. Preparation and characterisation of collagen from freshwater fish scales. *Food and Nutrition Sci*. 2:818- 823.
- Zaelani BFD, Safithri M, Tarman K, Isetyaningsih I, Meydia. 2019. Collagen isolation with acid soluble method from the skin of red snapper (*Lutjanus sp*). *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci*. 241 012033. doi:10.1088/1755-1315/241/1/012033.