

Isolasi Kolagen Dari Kulit Dan Tulang Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis*)

Stephanie TW Ata¹, Risfah Yulianty², Fitriyanti J. Sami¹, Naimah Ramli³

¹ Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Jln. Perintis Kemerdekaan Km 13,7 Daya Makassar, Sulawesi Selatan 90242

² Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar, Indonesia

³ Akademi Farmasi Kebangsaan Makassar, Jln. Perintis Kemerdekaan Km 13,7 Daya Makassar, Sulawesi Selatan 90242

Artikel info

Diterima
Direvisi
Disetujui

Kata kunci

Kulit dan Tulang Ikan
Cakalang
Katsuwonus pelamis
Kolagens

Keyword

Skin and bone fish
Skipjack
Katsuwonus pelamis
Collagen

ABSTRAK

Kolagen merupakan salah satu jenis protein yang banyak terkandung dalam tubuh hewan dengan proporsi sekitar 30% dari total protein dalam tubuh secara keseluruhan. Kulit dan tulang ikan dapat dimanfaatkan sebagai sumber kolagen alternatif untuk menggantikan kolagen dari hewan darat seperti sapi atau babi terkait dengan kekhawatiran isu penyakit *Bovine Spongiform Encephalopathy* (BSE), flu babi serta keagamaan/ kehalalan. Tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi kolagen dan mengetahui jumlah kolagen yang diperoleh dari kulit dan tulang ikan cakalang. Kulit dan tulang ikan cakalang diekstraksi dengan cara perendaman menggunakan larutan asam asetat 0,5 M hingga diperoleh filtrat yang kemudian dipresipitasi dan dikeringkan dengan *spray dryer* hingga diperoleh kolagen kering. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kolagen yang dapat diisolasi dari ikan cakalang dengan nilai persentase sebesar 14,48 % kolagen kulit ikan dan 16,71 % kolagen tulang ikan cakalang.

ABSTRACT

Collagen is a type of protein that is contained in the body of an animal with a proportion of about 30 % of the total protein in the body as a whole . Skin and bones of fish can be used as an alternative source of collagen to replace the collagen from animals such as cattle. Concerning the issue about Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) disease, the swine flu as well as halal standard product. The main objective of this study was to isolate collagen and determine the amount of collagen derived from skin and bones skipjack tuna fish. Skipjack tuna fish skin and bones extracted by immersion using 0.5 M acetic acid solution to obtain a filtrate futhermore precipitated and dried with a spray dryer to obtain a dry collagen . The results showed that the collagen can be isolated from skipjack tuna with a percentage value amounted to ranging from 14.48% collagen of skin and 16.71 % collagen of skipjack tuna.

Koresponden author

Stephanie TW Ata
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Indonesia
Email : stephanieata99@yahoo.co.id

PENDAHULUAN

Kolagen adalah salah satu dari jaringan ikat utama protein hewani dan telah banyak digunakan sebagai bahan biomedis. Kolagen adalah protein yang paling berlimpah dalam jaringan hewan dengan proporsi 30% dari total protein tubuh sebagai komponen utama dari jaringan ikat, otot, gusi dan kulit [10]. Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Aberoumand (2012), menyatakan bahwa kolagen merupakan biomaterial yang penting bagi aplikasi medis karena sifatnya yang *biodegradable*. Kolagen telah banyak digunakan untuk kepentingan biomedis, farmasetika, industri makanan, industri obat, dan industri kosmetik. Dalam industri farmasi, kolagen adalah biomaterial alami yang memiliki kandungan unik dan telah digunakan untuk perawatan kesehatan sejak peradaban Mesir kuno [11].

Kolagen sendiri berasal dari bahasa Yunani yaitu *kola* yang mempunyai arti "bahan pembentuk perekat". Kolagen adalah protein serabut yang memberikan kekuatan dan fleksibilitas pada jaringan dan tulang hal ini sangat penting untuk berbagai jaringan lainnya, termasuk kulit dan tendon. Kolagen digunakan sebagai bahan baku dalam industri kosmetik dan farmasi. Dalam bidang kosmetik, kolagen berperan sebagai zat aktif yang dapat memberikan banyak manfaat untuk kulit seperti sebagai zat pencegah keriput, meningkatkan kelembaban kulit, menjaga kulit dari radikal bebas, dan menjaga elastisitas kulit. Dalam tubuh manusia, kadar kolagen dalam kulit akan semakin berkurang seiring dengan bertambahnya usia, terlebih akan aktifitas manusia yang semakin padat dan seringkali terpapar oleh cahaya UV-A serta UV-B dari radiasi sinar matahari [5].

Sebagian besar kolagen komersial terbuat dari kulit sapi dan kulit babi yang umumnya tidak sesuai dengan keyakinan agama dan etnis tertentu seperti Muslim, Yahudi, dan Hindu, dan dikhawatirkan juga kolagen dari sapi terkontaminasi *Bovine Spongiform Encephalopathy* (BSE) atau penyakit sapi gila (*mad cow disease*) dan dikhawatirkan juga jika berasal dari babi mengandung penyakit flu babi. Karena alasan inilah dicari alternatif lain sebagai sumber kolagen.

Pemanfaatan kulit ikan sebagai bahan baku kolagen merupakan alternatif yang prospektif untuk mengatasi masalah tersebut [3]. Kulit dan tulang ikan merupakan sumber kolagen yang dapat diterima oleh semua konsumen baik Islam, Hindu dan Yahudi. Beberapa peneliti telah melakukan penelitian kolagen yang berasal dari ikan. Isolasi kolagen dari kulit ikan buntal pisang memiliki rendamen kolagen sebesar 8,65% [6]. Pada kulit ikan nila hitam diperoleh rendamen 5,97% [19] dan pada tulang ikan tuna diperoleh rendamen 5,93% [8].

Ikan cakalang merupakan salah satu jenis ikan tangkapan yang jumlahnya cukup besar di

perairan Indonesia. Ikan cakalang selain menjadi ikan konsumsi yang digemari masyarakat, juga merupakan komoditas ekspor. Produk ikan cakalang sebagian besar hanya memanfaatkan daging ikannya saja, sedangkan sisa-sisa pemanfaatan lain berupa kepala, sirip, kulit dan tulang belum dimanfaatkan secara optimal. Berdasarkan latar belakang di atas dengan memanfaatkan limbah kulit dan tulang ikan, maka dilakukan penelitian isolasi kolagen dari kulit dan tulang cakalang.

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan adalah kulit dan tulang ikan cakalang diperoleh dari Pelelangan ikan Paotere, NaOH, aquadest, CH_3COOH , NaCl, asam oksalat, H_2SO_4 pekat, pereaksi ninhidrin, CuSO_4 , serbuk Mg, H_2SO_4

Pengambilan sampel

Sampel ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*) diperoleh dari pelelangan ikan Paotere Makassar

Ekstraksi dan Isolasi Kolagen

Proses ekstraksi dan isolasi kolagen dari sampel kulit dan tulang ikan cakalang menggunakan metode Mocan, E *et al.* (2011), Ogawa, *et al* (2004) dengan cara isolasi dengan asam. Semua prosedur isolasi kolagen dilakukan pada suhu kamar, dengan tahap-tahap sebagai berikut:

1. Persiapan bahan baku utama. Pemisahan dari pengotor. Sampel kulit dan tulang ikan cakalang, kemudian ditimbang sebanyak 50 g.
2. Sampel kemudian dilakukan penghilangan protein non-kolagen dan pembebasan lemak (*degreasing*) dengan cara merendam sampel yang telah dipotong-potong dalam larutan NaOH 0,1 M. Pelarut NaOH yang digunakan untuk kulit sebanyak 300 ml dan untuk tulang ikan sebanyak 500 ml. Perendaman ini dilakukan selama 3×24 jam dan tiap hari pelarut NaOH 0,1 M diganti dengan yang baru. Kulit dan tulang dicuci dengan aquades hingga pH sampel mencapai pH 7.
3. Proses ekstraksi kolagen dilakukan dengan larutan CH_3COOH pada konsentrasi 0,5 M. Pelarut yang digunakan untuk kulit ikan sebanyak 300 ml dan tulang ikan sebanyak 500 ml dengan waktu inkubasi 3×24 jam. Hasil ekstraksi disaring dengan saringan plastik untuk memisahkan residu dan ekstrak (*supernatan*). *Supernatan* dipresipitasi dengan cara menambahkan NaCl 0,9 M sehingga didapatkan presipitat kolagen (*proses salting-out*).
4. Presipitat dibiarkan selama 24 jam, kemudian disentrifugasi pada 8000 rpm selama 30 menit.
5. Presipitat dan *supernatan* selanjutnya diliofilisasi (*spray drying*) selama 30 menit dipisahkan dalam masing-masing wadah. Sehingga didapatkan kolagen kering

Analisa Karakteristik Kolagen

Uji yang dilakukan menggunakan metode Murray, 2003., Wilcox., *et al* 1998, dan Helmkampet *al* 1964

1. Uji Ninhidrin

Sampel hasil isolat di masukkan dalam tabung reaksi, kemudian dilakukan penambahan basa NaOH 1M, lalu dengan pereaksi Ninhidrin 1 % dipanaskan, dan diamati perubahan yang terjadi. Hasil positif yang ditunjukkan adalah berwarna ungu, biru, dan kuning pucat berdasarkan jenis asam amino yang terkandung.

2. Uji Hopkins-Cole

Sampel hasil isolat di masukkan dalam tabung reaksi, dan dengan penambahan asam oksalat 1% lalu dengan serbuk Mg dalam larutan. Kemudian dengan penambahan asam kuat H₂SO₄ pekat. Di amati perubahan yang terjadi. Hasil positif yang ditunjukkan adalah pembentukan cincin ungu pada pisahan dua lapisan.

Analisis Spektroskopi UV-Vis Kolagen

Kolagen kering ditimbang sebanyak 50,0 mg dan dilarutkan dalam 25 ml asam asetat 0,5 M distirer hingga larut, dilakukan penyaringan dan dimasukkan ke dalam labu 50 ml, dicukupkan volumenya sampai tanda dengan asam asetat 0,5 M. setelah itu diambil 3 ml untuk dilakukan pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200 – 400 nm.

ANALISIS DATA

Data yang akan diperoleh berdasarkan hasil pengamatan dan pengukuran dibandingkan dengan literatur

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses ekstraksi kolagen dilakukan dengan metode Mocan *et al* (2011) dan Ogawa (2004) dengan beberapa modifikasi. Tahap pertama yaitu tahap *degreasing*, merupakan suatu tahapan untuk menghilangkan pengotor dan protein non kolagen dengan perendaman menggunakan NaOH 0,1 M selama 3x24 jam pada suhu kamar dan dilakukan penggantian NaOH setiap hari untuk memaksimalkan proses *degreasing* atau penghilangan lemak dan protein non kolagen [21].

Pada tahap *degreasing* terjadi perubahan materi secara kimia. Materi yang bereaksi adalah protein kolagen kulit dan tulang (satu dari tiga asam amino yang terkandung dalam rantai peptidanya adalah glisin) dengan NaOH, seperti yang terlihat pada persamaan berikut [21] :



Sebelum terjadi reaksi, asam amino yang terkandung di dalam kolagen (glisin dan prolin) memiliki daya regang yang kuat. Kolagen yang membentuk heliks disebut kelompok kolagen. Setelah direndam di dalam larutan NaOH, terjadi reaksi yang mengakibatkan pilinan heliks menjadi regang

pada kulit dan tulang sehingga dapat mengikat air. Hal ini ditandai dengan struktur yang semula tipis menjadi tebal dan warna menjadi bening. Perubahan wujud materi yang terjadi berupa perubahan fisika terjadi perubahan bentuk dan wujud tetapi tidak diikuti perubahan jenis [21].

Tahap ekstraksi dengan asam asetat menyebabkan terjadinya perubahan materi protein kolagen (asam amino glisin) yang bereaksi dengan CH₃COOH seperti yang terlihat pada persamaan berikut [21]:



Setelah proses ekstraksi selesai, dilakukan penyaringan untuk memisahkan filtrat atau residu, kemudian supernatan/filtrat selanjutnya dipurifikasi kolagennya dengan cara *salting-out* menggunakan garam NaCl. Penggunaan garam dengan konsentrasi yang tinggi akan menyebabkan ditariknya air yang mengelilingi molekul protein, sehingga protein mengendap sebagai residu kolagen basah. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi pada 8.000 rpm selama 30 menit, supernatan yang diperoleh didiamkan dalam lemari pendingin selama 1x24 jam untuk dilakukan liofilisasi. Selanjutnya dengan menggunakan *spray dryer* diperoleh kolagen kering. Kolagen kering tersebut selanjutnya dihitung kadar rendamennya dengan membandingkan berat kolagen kering dengan berat dari sampel awal hingga diperoleh angka rendamen sebesar 14,48% untuk kulit ikan dan 16,67% untuk tulang ikan cakalang.

Identifikasi Asam Amino Dan Protein Kolagen

Kolagen kering yang diperoleh kemudian dilakukan uji pendahuluan dengan menggunakan beberapa pereaksi.

Pada uji ninhidrin menunjukkan terjadinya perubahan warna dari bening ke kuning, yang secara teori hasil positif ninhidrin adalah berwarna biru, ungu dan kuning, bergantung dari jenis asam amino penyusunnya. Uji ini bertujuan untuk menentukan apakah dalam suatu larutan sampel terdapat gugus asam amino bebas. Reaksi yang terjadi antara sampel dan pereaksi ninhidrin menyebabkan terbentuknya senyawa kompleks diketohidrindilendiketohidrindamin. Semua asam amino alfa bereaksi dengan ninhidrin membentuk aldehida dengan satu atom C lebih rendah dan melepaskan NH₃ dan CO₂. Selain itu terbentuk kompleks berwarna biru yang disebabkan oleh 2 molekul ninhidrin yang bereaksi dengan NH₃ (Riawan, 2010).

Selanjutnya pengujian yang dilakukan adalah uji Hopkins-cole yang bertujuan untuk pengujian asam amino triptofan. Triptofan akan berkondensasi dengan aldehida dan asam pekat sehingga membentuk kompleks berbentuk cincin ungu dari jenis asam 2,3,4,5-tetrahidro-karbolin-4-karboksilat [14]). Hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil negatif karena berupa warna yang dihasilkan kuning bening dan berbusa setelah penambahan serbuk magnesium dan asam sulfat pekat.

Hasil Analisis Spektroskopi UV-Vis Kolagen

Hasil pengukuran yang dilakukan pada kulit dan tulang ikan cakalang menunjukkan positif adanya kolagen. Hal ini ditandai dengan adanya absorpsi pada panjang gelombang 232 nm dan 231,5 nm dimana serapan panjang gelombang untuk kolagen terdapat pada rentang 200-250 nm (Erizal, 2014). Hal yang sama juga dilaporkan oleh Li dkk (2007) serta Zhang dkk (2011) yaitu kolagen yang diperoleh dari ikan lele (catfish) absorpsi maksimumnya disekitar 232 nm dan kolagen sisik ikan gurame (carp fish) pada absorpsi maksimum 230 nm.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian isolasi kolagen dari kulit dan tulang ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*) yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa (1) Kulit dan tulang ikan cakalang mengandung kolagen berdasarkan hasil uji kualitatif. (2) Nilai rendamen kolagen yang diperoleh dari kulit ikan dan tulang ikan cakalang sebesar 14,48 dan 16,71%

DAFTAR PUSTAKA

1. Aberoumand, A. 2012. Comparative Study Between Different Methods of Collagen Extraction From Fish and Its Properties. *World Applied Sciences Journal* 16(3): 316-319.
2. Chi, H.L., Anuj, S. and Yungyung, I. 2001, Review Biomedical Application of Collagen. *International Journal of Pharmaceutics* 221: 1-22.
3. Choi, J.H., Behnam Sh, and Kim S.M. 2013. Physico-biochemical Characteristics of Scallop Mantle Collagen Soluble In Pepsin. *Journal Agricultural Science and Technology* 15: 293-302.
4. Daniel, S., Reto, M., and Fred, Z. 2002. Collagen Glycation and Skin Aging. *Cosmetic and Toiletries Manufacture Worldwide*. 1-6
5. Draelos, Z.D. and Thaman L.A. 2006. *Cosmetic Science and Technology Series*. Vol-30, *Cosmetic Formulation of Skin Care Products*. New York: Taylor and Francis Group.
6. Faizal, Fiqi. 2014. Isolasi dan Karakteristik Kolagen dari Kulit Ikan Buntal Pisang (*Tetraodon lunaris*). Skripsi. Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.
7. F. Zhang, A. Wang, Z. Li, S. He, L. Shan. 2011. *Food and Nutrition Sciences*, Vol. 2, pp. 818-823.
8. Herdianta, Priyanto, dan Sri Harsodjo. 2010. Efektifitas Senyawa Kolagen dari Tulang Ikan Tuna (*Thunnus albacares*) Terhadap Penyembuhan Luka Terbuka Pada Tikus Putih (*Rattus Novergicus*). Skripsi. Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Jakarta
9. H.Y. Liu, D. Li, S.D. Guou. 2007 "Studies on collagen from the skin of channel catfish (*Ictalurus punctatus*)". *Food Chemistry*, Vol. 101, pp. 621-625.
10. Kittiphattanabawon P, Benjakul S, Visessanguan W, Nagai T, Tanaka M. 2005. *Characterization of Acid-Soluble Collagen from Skin and Bone of Bigeye Snapper (Priacanthustayenus)*. *Food Chem.* 221: 363-372
11. Lee, C.H., Anuj S, and Yungyung L. 2001. *Review: Biomedical Application of Collagen. Int.J. of Pharm.* 221:1-22.
12. Mulja, M. and Syahrani A. 1990. Aplikasi Analisis Spektrofotometri UV-Visible. Mecpiso Grafika, Surabaya. Hal: 26
13. Mulya M. 1995. *Analisis Instrumental*. Airlangga University Press, Surabaya. Hal : 40
14. Murray, RF., Granner OK., Rodwell V. 2003. *Biokimia Harper Edisi 25*. Jakarta: Buku Kedokteran.
15. Murniyati, A.S. 2003. *Biologi 100 Ikan Ekonomis Penting di Indonesia*. Sekolah Usaha Perikanan Menengah Negeri Tegal. Tegal. Hal: 20
16. Naro, Putra A.B., 2010. Isolasi dan Karakterisasi Kolagen Kulit Nila Hitam dengan Metode Asam. Skripsi. Laporan Akhir Penelitian. Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada.
17. Ogawa, M., R.J. Portier, M.W. Moody, J. Bell, M.A. Schexnayder, and J.N. Losso. 2004. *Biochemical Properties of Bone and Scale Collagens Isolated from The Subtropical Fish Black Drum (Pogonia cromis) and Sheepshead Seabream (Archosargus probatocephalus)*. *Food Chemistry*. 88: 495-501.
18. Riawan, S. 2010. Kimia Organik untuk Mahasiswa Kedokteran, Kedokteran Gigi, dan Perawat. Penerbit Binarupa Aksara. Ciputat: Tangerang. Hal: 50
19. Sahubawa, L. dan Putra A.B.Naro. 2011. Pengaruh Konsentrasi Asam Asetat dan Waktu Ekstraksi Terhadap Mutu Kolagen Limbah Kulit Ikan Nila Hitam. *Jurnal Tekno Sains*. Jurusan Perikanan Fakultas Pertanian Universitas Gajah Mada, Yogyakarta
20. Shoulders, M.D. and Raines, R.T. 2009. Collagen Structure and Stability. *Annual Review of Biochemistry* 78: 929-958
21. Simanjuntak, B.R. 2013. Pengolahan Kolagen dari kulit Ikan Nila Merah di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan Jakarta. Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
22. Sitti, M., Indri M.R., dan Achi F. H. 2010. Pengaruh Konsentrasi CH₃COOH dan HCl Sebagai Pelarut dan Waktu Perendaman Pada Pembuatan Gelatin Berbahan Baku Tulang dan Kulit Ayam. *Jurnal Teknik Kimia No 1 Vol 17*. Universitas Sriwijaya
23. Wong DWS. 1989. *Mechanism and Theory in Food Chemistry*. New York (US): Academic Pr
24. Zahrani, R.A. 2009. Extraction and Isolation of Collagen Type I from Fish Skin. University of Otago. Dunedin. New Zealand
25. Zhang, F., Anning W., Zhihua L., Shengwen H. and Lijun Shao. 2011. Preparation and Characterisation of Collagen from Freshwater Fish Scales. *Food and Nutrition Sciences*, 2011, 2, 818-823 doi:10.4236/fns.2011. 28112 Published Online October 2011.