

EFEKTIFITAS ALKALI DAN ASAM TERHADAP MUTU KOLAGEN DARI KULIT IKAN PATIN

Hilda Lu'lu'in Nanda Alfira Devi*, Pipih Suptijah, Mala Nurilmala

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor,
Kampus IPB Darmaga, Jalan Agatis, Bogor 16680 Jawa Barat
Telepon (0251) 8622909-8622906, Faks. (0251) 8622915

*Korespondensi: *hildaluluin@gmail.com*

Diterima: 18 April 2017/ Disetujui: 6 Agustus 2017

Cara sitasi: Devi HLNA, Suptijah P, Nurilmala M. 2017. Efektifitas alkali dan asam terhadap mutu kolagen dari kulit ikan patin. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(2): 255-265.

Abstrak

Kulit ikan merupakan salah satu sumber bahan baku alternatif yang mengandung protein kolagen dalam jumlah cukup besar untuk mengisolasi kolagen. Kolagen dalam kulit ikan umumnya diekstraksi dengan metode asam, alkali, dan enzimatis. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji efektifitas NaOH dan asam asetat dalam proses ekstraksi kolagen dari kulit ikan patin (*Pangasius* sp.). Perlakuan yang digunakan pada tahap praperlakuan adalah pemberian NaOH 0,05; 0,10; 0,15 and 0,20 M dengan waktu perendaman 2, 4, 6, 8 dan 10 jam dengan pergantian larutan NaOH yang baru setiap 2 jam. Perlakuan pada tahap ekstraksi adalah pemberian asam asetat 0,05; 0,10; 0,15 dan 0,20 M dengan waktu perendaman kulit ikan patin 1, 2, dan 3 jam. Rancangan percobaan yang digunakan untuk proses praperlakuan adalah split plot, sedangkan untuk proses hidrolisis adalah rancangan acak lengkap faktorial. Hasil penelitian menunjukkan bahwa praperlakuan dengan NaOH konsentrasi 0,05 M selama 4 jam memberikan pengaruh nyata terhadap konsentrasi protein terlarut ($p < 0,05$). Konsentrasi asam asetat 0,15 M selama 1 jam memberikan pengaruh nyata terhadap derajat pengembangan kulit ikan pada proses hidrolisis. Rendemen yang dihasilkan sebesar 17,272%, kadar protein sebesar 86%, dan viskositas 12 cP. Hasil ekstrak kolagen dari kulit ikan patin teridentifikasi sebagai kolagen tipe I melalui analisis gugus fungsi dan elektroforesis. Kolagen dari kulit ikan patin memiliki struktur rantai $\alpha 1$ dan $\alpha 2$ dengan berat molekul rantai α yaitu 94 dan 98 kDa serta rantai β yaitu 204 kDa.

Kata kunci: asam asetat, natrium hidroksida, kolagen, *Pangasius* sp.

Effectiveness of Alkali and Acid to Produce Collagen from Fish Skin of Striped Catfish

Abstract

Fish skin is one of the alternative sources contained high protein to isolate collagen. Fish skin generally extracted by the method of acid, alkali and enzymes. The study aim to determine the effectiveness of NaOH and acetic acid on catfish (*Pangasius* sp.) skin extraction process. The concentrations of alkaline pretreatment were 0,05; 0,1; 0,15 and 0,2 M with the soaking time of 2, 4, 6, 8 and 10 h by NaOH replacement in every 2 h. The concentrations of acetic acid for hydrolisis process were 0.05; 0.1; 0.15 and 0.2 M with the soaking time of 1, 2, and 3 h. The experimental design used for pretreatment process is split plot, while for the hydrolisis process is factorial completely randomized design. The results showed that pretreatment with a concentration of 0.05 M NaOH for 4 h has a significant effect for eliminating non-collagen protein ($p < 0.05$). The acetic acid concentration of 0.15 M for 1 h also has a significant effect on fish skin swelling. The yield of striped catfish collagen was 17.272%, the protein content was 86%, and the viscosity was 12 cP. Fish skin extract was identified as type I collagen by functional groups and electrophoretic analysis. Collagen from striped catfish skin has $\alpha 1$ and $\alpha 2$ and protein structure with the molecular weight of α chain were 94 and 98 kDa, meanwhile the molecular weight of β chain was 204 kDa.

Keywords: acetic acid effectiveness, collagen quality, *Pangasius* sp., sodium hydroxide, soaking time

PENDAHULUAN

Kolagen merupakan protein struktural ekstraseluler yang berperan dalam pembentukan struktur jaringan ikat dan terdiri dari kolagen Tipe A dan Tipe B. Tipe kolagen tersebut memiliki komposisi asam amino dan sifat fisik berbeda yang berkaitan erat dengan suhu lingkungan sumber kolagen hewan (Tabarestani *et al.* 2010). Sumber kolagen alternatif yang diperlukan untuk menggantikan kolagen dari mamalia adalah kulit ikan. Hal ini dikarenakan munculnya kasus penyakit *Bovine Spongiform Encephalopathy*, *Transmissible Spongiform Disease* serta penyakit mulut dan kuku pada sapi. Permasalahan lain juga muncul dalam pandangan agama. Kolagen dari sapi dilarang bagi pemeluk agama Hindu sementara kolagen dari babi tidak dapat digunakan oleh pemeluk agama Islam (Singh *et al.* 2011).

Kolagen yang diekstrak dari ikan air laut telah banyak diteliti antara lain kolagen dari tulang rawan ikan hiu *Chiloscyllium punctatum* dan Blacktip (Kittiphattanabawon *et al.* 2010), abalone (Dong *et al.* 2012), dan kulit ikan tuna (Hema *et al.* 2013). Potensi kolagen dari ikan air tawar di Indonesia perlu dikembangkan untuk meningkatkan nilai ekonomis ikan sehingga dapat meningkatkan taraf hidup masyarakat.

Ikan patin merupakan salah satu ikan air tawar yang potensial di Indonesia. Produksi Ikan patin di Indonesia terus mengalami peningkatan setiap tahun yaitu mencapai 31.490 ton pada tahun 2006, 651.000 ton pada tahun 2012, dan mencapai 1.007.000 ton pada tahun 2013. Peningkatan produksi dari budidaya ikan patin diikuti dengan peningkatan industri Ikan patin yang diolah dalam bentuk filet. Aplikasi skema *zero waste* mengimplementasikan pemanfaatan *by product* ikan agar memberi nilai tambah pada ekonomi masyarakat (Kemendag 2013). Penelitian tentang kolagen ikan air tawar dari perairan tropis Indonesia khususnya ikan patin diperlukan untuk pengembangan potensi ikan patin sekaligus implementasi *zero waste*.

Kolagen dari ikan air tawar yang telah diteliti antara lain kulit ikan nila hitam

(Sahubawa dan Putra 2011), ikan mas (Motowidlo *et al.* 2008), dan nila (Wang *et al.* 2013). Hasil ekstraksi kolagen kulit ikan patin menggunakan metode asam dan pepsin menunjukkan bahwa kolagen kulit ikan patin memiliki stabilitas *thermal* yang lebih baik dibanding ikan lain (Singh *et al.* 2011).

Metode ekstraksi kolagen yang umum digunakan adalah metode asam atau enzimatis menggunakan pepsin. Proses praperlakuan merupakan proses yang sangat berpengaruh terhadap kemurnian kolagen yang diisolasi, efisiensi waktu, dan biaya isolasi kolagen (Liu *et al.* 2015). Jenis ikan memiliki komposisi protein yang berbeda yang dipengaruhi oleh habitatnya (Singh *et al.* 2011). Hal tersebut menyebabkan setiap ikan memiliki kondisi optimal praperlakuan dan hidrolisis yang berbeda-beda. Penelitian ini bertujuan menentukan konsentrasi dan lama perendaman kulit ikan patin yang terbaik pada proses praperlakuan menggunakan NaOH dan proses hidrolisis menggunakan asam asetat serta menentukan karakteristik kolagen dari kulit ikan patin.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit ikan patin hasil samping produksi filet yang diperoleh dari Karawang. Ukuran ikan yang digunakan sebagai bahan baku filet ± 700 g. Bahan-bahan yang digunakan untuk ekstraksi kolagen terdiri dari NaOH (Merck), asam asetat (Merck), akuades dan akuabides. Bahan-bahan lain meliputi bahan untuk analisis karakteristik kolagen.

Peralatan yang digunakan untuk ekstraksi kolagen di antaranya spektrofotometer (AA6300 Shimadzu, Japan), termometer, water bath, dan *freeze dryer* (Eyela FDU-1200, Tokyo, Japan). Alat-alat yang digunakan untuk analisis diantaranya High Performance Liquid Chromatography (Water Cooperation, USA), Viscometer Brookfield (USA), *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (Bruker Tensor 37, Ettlingen, Germany), *Differential Scanning Calorimetry* (DSC-60 Shimadzu Kyoto Japan) dan *Chromameter* (Minolta CR-310, Tokyo, Japan).

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam empat tahap yaitu preparasi dan analisis bahan baku meliputi analisis proksimat dan logam berat, praperlakuan, hidrolisis dan ekstraksi, serta karakterisasi meliputi analisis proksimat, uji viskositas, dan pH.

Preparasi dan analisis bahan baku

Preparasi dan analisis bahan baku mengacu pada Nalinanon *et al.* (2011). Sampel kulit ikan patin dicuci terlebih dahulu dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel, kemudian kulit ikan dibersihkan dari sisa daging yang menempel. Seluruh bagian kulit ikan patin dipotong kecil-kecil dengan panjang x lebar adalah sekitar 0,5x0,5 cm. Sampel kulit ikan disimpan pada plastik dan disimpan pada suhu -20°C hingga digunakan. Penyimpanan tidak boleh lebih dari tiga bulan. Sampel dianalisis logam berat dan proksimat menggunakan metode AOAC 2005.

Praperlakuan kulit ikan patin

Praperlakuan kulit ikan patin mengacu pada Singh *et al.* (2011) yang dimodifikasi. Protein non kolagen pada sampel kulit ikan patin dihilangkan dengan cara sampel direndam NaOH dengan perbandingan 1:10 (w/v). Konsentrasi NaOH yang digunakan yaitu 0,05; 0,1; 0,15 dan 0,2 M. Campuran dihomogenkan secara manual pada suhu 4°C dan larutan alkali diganti setiap dua jam selama 10 jam (penentuan waktu perendaman 10 jam didahului penelitian pendahuluan selama 24 jam). Sisa perendaman kulit ikan yang dihasilkan, kemudian dianalisis kandungan protein non kolagen dengan uji biuret untuk mendapatkan kurva konsentrasi protein terlarut. Kurva digunakan untuk menentukan konsentrasi NaOH terbaik. Sampel dicuci dengan akuades hingga pH netral menggunakan pH meter.

Uji biuret bertujuan untuk menentukan konsentrasi protein suatu sampel dengan standar yang digunakan adalah Bovine Serum Albumin (BSA). Pereaksi biuret yang digunakan dicampurkan sebanyak 3 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 9 g Na-K-tartat dan 5 g KI dalam 1000 mL larutan NaOH 0,2 M.

Sampel cair sebanyak 4 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang bersih dan kering, kemudian ditambahkan pereaksi biuret sebanyak 6 mL. Campuran dibiarkan pada suhu kamar selama 30 menit atau diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit sampai warna ungu terbentuk sempurna. Pengukuran absorbansi campuran dilakukan pada panjang gelombang 520 nm. Prosedur pengukuran absorbansi larutan standar BSA dilakukan dengan cara yang sama seperti larutan sampel dengan konsentrasi BSA 0-1,5 mg/mL dari larutan stok BSA 5 mg/mL untuk memperoleh satu kurva standar.

Hidrolisis dan ekstraksi kolagen

Sampel yang telah dilakukan praperlakuan dilanjutkan dengan hidrolisis melalui perendaman sampel dalam larutan asam asetat (CH_3COOH). Hidrolisis dengan larutan asam asetat bertujuan untuk mengubah struktur serat kolagen sehingga mempermudah proses ekstraksi dengan mengacu pada Singh *et al.* (2011) yang dimodifikasi. Variasi dua faktor perlakuan yaitu konsentrasi asam asetat dan lama waktu perendaman digunakan dalam tahap hidrolisis. Konsentrasi asam asetat yang digunakan terdiri dari 0,05; 0,1; 0,15 dan 0,2 M sedangkan waktu perendaman adalah 1, 2 dan 3 jam. Perbandingan antara kulit dengan larutan asam asetat adalah 1:10 (w/v). Sampel diukur derajat pengembangan (DP). Derajat pengembangan (DP) kulit diperoleh dari selisih berat kulit setelah perendaman dengan sebelum perendaman asam asetat dibandingkan dengan berat awal kulit ikan sebelum dilakukan perendaman dengan asam asetat.

Hasil perendaman terbaik dicuci dengan air akuades sampai mencapai pH netral kemudian dilanjutkan ekstraksi dengan akuabides pada suhu 40°C selama 2 jam dengan perbandingan antara kulit dan akuabides adalah 1: 2 (w/v). Hasil ekstraksi berupa kolagen dalam bentuk cair, selanjutnya dikeringkan dengan *freeze dryer* untuk memperoleh kolagen kering.

Karakterisasi kolagen

Karakterisasi kolagen yang dilakukan terdiri dari analisis proksimat (AOAC 2005),

viskositas (Tabarestani *et al.* 2011), analisis gugus fungsi, SDS PAGE (Singh *et al.* 2011) dan pH (AOAC 2005).

Analisis Data

Analisis data dilakukan menggunakan prinsip Mattjik dan Sumertajaya (2013). Data yang diperoleh pada tahap optimasi praperlakuan dengan larutan NaOH dianalisis dengan rancangan petak terbagi (*split plot*), sedangkan hidrolisis kolagen dengan CH₃COOH dianalisis dengan rancangan acak lengkap faktorial (RALF). Tahap praperlakuan menggunakan 2 faktor yaitu NaOH sebanyak 4 taraf (0,05 M; 0,1 M; 0,15 M dan 0,2 M) dan faktor lama waktu perendaman sebanyak 5 taraf (2 jam, 4 jam, 6 jam, 8 jam dan 10 jam) dengan pergantian larutan NaOH setiap 2 jam. Tahap hidrolisis dengan 2 faktor yaitu konsentrasi CH₃COOH sebanyak 4 taraf yaitu 0,05 M; 0,1 M; 0,15 M dan 0,2 M dan faktor lama perendaman sebanyak 3 taraf yaitu 1 jam, 2 jam dan 3 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Kimia Bahan Baku

Hasil analisis proksimat kulit ikan patin (Tabel 1) menunjukkan bahwa kandungan protein kulit ikan patin lebih rendah dibandingkan kulit ikan buntal, hiu dan ikan tuna. Kulit ikan merupakan bahan baku yang baik untuk mengisolasi kolagen karena kolagen merupakan penyusun 80% protein yang terdapat pada kulit ikan (Kolodziejka *et al.* 2008).

Kadar lemak kulit ikan patin adalah 2,33%, lebih tinggi dari ikan buntal (0,73%) dan ikan nila hitam (1,68%), namun lebih rendah dari ikan tuna (18,32±0,11%) (Huang *et al.* 2011; Sahubawa dan Putra 2010; Hema *et al.* 2013). Berdasarkan kadar

lemaknya, ikan patin dapat dikelompokkan ke dalam ikan berlemak sedang. Ikan tulang rawan misalnya ikan hiu pada umumnya memiliki kandungan lemak yang rendah pada kulit dikarenakan mekanisme penyimpanan cadangan lemak berada di hati (Hema *et al.* 2013).

Hasil analisis logam berat menunjukkan bahwa kandungan logam berat kulit ikan patin masih berada di bawah standar yang BSN (2014) tentang syarat mutu dan pengolahan kolagen kasar (Tabel 2). Logam berat merupakan cemaran yang berbahaya bagi kosumen untuk produk pangan, farmasi, atau kosmetik. Syarat mutu dan pengolahan kolagen kasar dari ikan yaitu Pb (0,4 mg/kg), Hg (0,5 mg/kg), Cd (0,1 mg/kg) dan As (0,1 mg/kg) (BSN 2014). Berdasarkan standar tersebut, kulit ikan patin yang digunakan untuk penelitian masih layak digunakan sebagai bahan baku pembuatan kolagen karena kandungan logam beratnya berada di bawah standar minimal.

Praperlakuan Kulit Ikan Patin

Kandungan protein pada 2 jam pertama dari tiap konsentrasi menunjukkan hasil protein terlarut yang tinggi. Nilai ini semakin menurun seiring dengan pergantian larutan NaOH dan penambahan waktu perendaman 2 jam berikutnya. Konsentrasi protein dari larutan NaOH hasil perendaman kulit ikan patin tertinggi dihasilkan oleh perlakuan kombinasi NaOH 0,10 M dengan waktu perendaman 2 jam (0,478 mg/mL), sedangkan hasil terendah terjadi pada perlakuan 6 jam pada konsentrasi 0,05 M (0,081 mg/mL) (Gambar 1). Hal ini menunjukkan bahwa protein non kolagen banyak terlarut pada 2 jam pertama perendaman kulit ikan sehingga jumlahnya semakin

Tabel 1 Hasil analisis proksimat kulit ikan patin

Parameter	Persentase (%)			
	Patin ¹	Buntal ²	Hiu ³	Tuna ³
Kadar Air	66,80	62,23	68,38	56,54
Kadar Abu	0,14	6,00	4,19	4,39
Kadar Protein	19,48	21,95	27,73	20,54
Kadar Lemak	2,33	0,73	0,16	18,32

Keterangan: ¹Data hasil penelitian; ²Huang *et al.* (2011); ³Hema *et al.* (2013)

Tabel 2 Kandungan logam berat kulit ikan patin

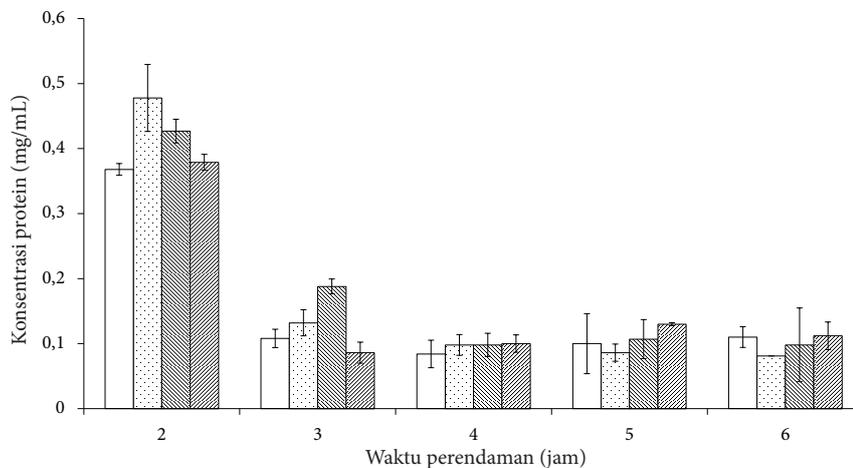
Logam berat	BSN 2014	Kadar logam berat
Timbal (Pb)	<0,4 ppm	0,0006 ppm
Merkuri (Hg)	<0,5 ppm	0,0001 ppm
Kadmium (Cd)	<0,1 ppm	Tidak terdeteksi
Arsenik (As)	<0,1 ppm	Tidak terdeteksi

menurun pada pengamatan selanjutnya. Larutan NaOH sisa perendaman kulit ikan berwarna keruh. Hal ini menunjukkan terjadinya proses deproteinasi pada kulit ikan. Deproteinasi atau penghilangan protein non kolagen pada kulit ikan disebabkan oleh larutan NaOH yang mampu memecah sebagian besar telopeptida molekul kolagen pada proses praperlakuan sehingga terjadi swelling pada kulit ikan (Jaswir *et al.* 2011). NaOH dipilih untuk proses deproteinasi karena sifat protein yang larut dalam NaOH serta menyebabkan pengembangan pada kulit ikan patin dibandingkan dengan larutan alkali lain (Liu *et al.* 2015).

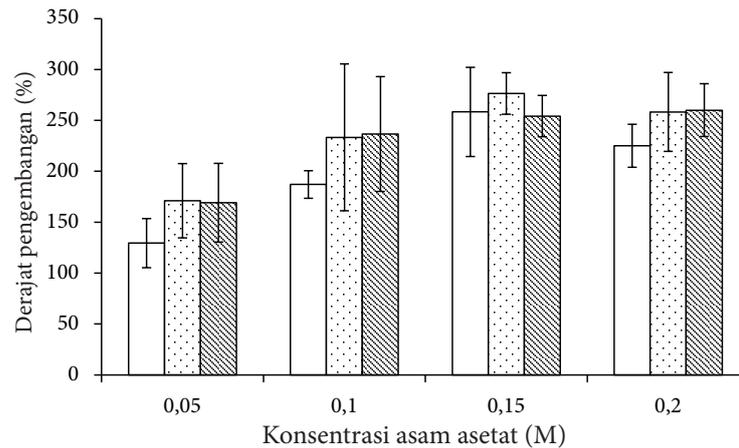
Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa konsentrasi NaOH dan waktu perendaman serta interaksi keduanya berpengaruh nyata terhadap konsentrasi protein terlarut. Hasil uji lanjut DMRT menunjukkan perlakuan perendaman 6 jam pada konsentrasi 0,05 M yang menghasilkan konsentrasi protein terlarut paling kecil tidak berbeda nyata dengan perlakuan perendaman 4 jam pada konsentrasi 0,05 M. Perlakuan terpilih untuk tahap perendaman kulit adalah konsentrasi

NaOH 0,05 M dengan waktu perendaman 4 jam.

Kandungan protein pada larutan NaOH hasil perendaman kulit ikan patin pada berbagai konsentrasi dan interaksi dengan variasi waktu perendaman yang diperoleh dari uji biuret menunjukkan bahwa kandungan protein yang terlarut dalam larutan NaOH semakin menurun per 2 jam waktu perendaman. Perlakuan interaksi konsentrasi NaOH 0,1 M dan waktu perendaman 2 jam menghasilkan protein terlarut paling tinggi yaitu 0,478 mg/mL. Perlakuan pada konsentrasi NaOH 0,1 M memungkinkan kolagen telah ikut terlarut dalam NaOH. Hal ini sesuai dengan Liu *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa penggunaan NaOH dengan konsentrasi di bawah 0.1 M dapat melarutkan protein non kolagen tanpa menyebabkan kehilangan kolagen pada kulit, sedangkan konsentrasi di atas 0.1 M secara signifikan menyebabkan kehilangan kolagen pada kulit pada proses praperlakuan. Cho *et al.* 2005 menyatakan gugus OH berikatan dengan protein sehingga terjadi migrasi protein dan komponen pengotor lain yang terdapat dalam matrik kolagen.



Gambar 1 Konsentrasi protein dalam larutan NaOH sisa perendaman: □ NaOH 0,05 M; ▨ NaOH 0,1 M; ▩ NaOH 0,15; ▪ NaOH. 0,2 M. Notasi dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata.



Gambar 2 Derajat pengembangan (DP) kulit ikan patin: waktu perendaman 1 jam; waktu perendaman 2 jam, waktu perendaman 3 jam.

Nilai derajat pengembangan kulit ikan patin terkecil terjadi pada perlakuan konsentrasi 0,05 M dengan waktu perendaman 1 jam (129,430%); sedangkan derajat pengembangan tertinggi terjadi pada perlakuan konsentrasi asam asetat 0,15 M dengan waktu perendaman 2 jam (276,459%) (Gambar 2). Proses pengembangan kulit ikan pada proses hidrolisis dengan perendaman menggunakan asam asetat ini menyebabkan terjadinya penetrasi asam ke dalam struktur kulit ikan. Penggunaan larutan asam asetat menyebabkan terjadinya peningkatan ion H^+ yang masuk ke dalam struktur kulit ikan melalui gaya elektrostatik antar gugus polar. Hal ini berpengaruh terhadap pemisahan struktur serat kolagen dan juga mengganggu ikatan non kovalen kolagen yang menyebabkan serat kolagen menjadi prokolagen (Jaswir *et al.* 2011).

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan perbedaan konsentrasi asam asetat dan waktu perendaman serta interaksinya berpengaruh nyata terhadap derajat pengembangan kulit ikan patin ($p < 0,05$). Hasil uji lanjut DMRT menunjukkan

bahwa derajat pengembangan tertinggi diperoleh dari perlakuan dengan konsentrasi 0,15 M dalam waktu 2 jam namun demikian tidak berbeda nyata dengan perlakuan dengan konsentrasi 0,15 M dengan waktu perendaman 1 jam. Perlakuan terpilih yang digunakan untuk tahap selanjutnya adalah asam asetat dengan konsentrasi 0,15 M dengan waktu perendaman 1 jam.

Karakteristik Kolagen Rendemen

Hasil penelitian menunjukkan rendemen kolagen yang dihasilkan dari kulit ikan patin adalah 17,272%. Rendemen kolagen kulit ikan patin dengan metode ekstraksi menggunakan suhu $40^{\circ}C$ lebih tinggi dibanding rendemen kolagen kulit ikan patin dengan asam (5,1%) dan ikan cobia (12,40%) (Tabel 3). Nilai rendemen kolagen memiliki kecenderungan meningkat akibat peningkatan suhu ekstraksi karena kenaikan suhu membantu memecah ikatan hidrogen pada kulit ikan sehingga kolagen yang dihasilkan lebih banyak (Sompie *et al.* 2015; Alfaro *et al.* 2009). Pranoto *et al.* (2015) melaporkan bahwa

Tabel 3 Rendemen kolagen dari kulit ikan

Kulit ikan	Metode isolasi	Rendemen % (bb)
Patin	ASC dengan suhu	17,27
Gabus ¹	ASC dengan suhu	16,00
Patin ²	<i>Acid soluble collagen</i>	5,10
Cobia ³	<i>Acid soluble collagen</i>	12,40

Keterangan: ¹Wulandari *et al.* 2016; ²Singh *et al.* 2011; ³Amiza dan Aishah 2011.

jumlah rendemen kulit ikan kurisi menurun pada suhu 60°C hingga suhu 80°C dan meningkat pada suhu 95°C. Proses ekstraksi pada suhu 60°C tidak mampu menyediakan cukup energi untuk menghilangkan secara utuh ikatan hidrogen pada material kolagen dan diubah menjadi gelatin.

Komposisi kimia

Kolagen kulit ikan patin memiliki kadar air yang cukup tinggi dibandingkan dengan ikan tuna dan hiu (Tabel 4). Kadar air yang cukup tinggi ini dapat disebabkan oleh penggunaan konsentrasi asam yang tinggi. Konsentrasi asam yang tinggi memiliki kemampuan yang lebih besar dan kuat dalam menghidrolisis kolagen serta menyebabkan terjadinya pemendekan rantai-rantai peptida pada kolagen sehingga penyerapan air semakin tinggi (Mulyani *et al.* 2009). Kadar abu kolagen ikan patin cukup rendah jika dibandingkan dengan kadar abu dari ikan skate, tuna, dan hiu (Tabel 4). Kadar abu yang cukup rendah pada kolagen menunjukkan proses demineralisasi pada tahap praperlakuan efektif mengeliminasi mineral yang terkandung pada kulit ikan patin.

Kadar protein kolagen kulit ikan patin meningkat dibandingkan protein bahan baku. Hal ini disebabkan proses praperlakuan dengan larutan NaOH yang mampu menghilangkan zat pengotor secara optimal. Kandungan protein kolagen kulit ikan patin pada suhu ekstraksi 40°C ini lebih tinggi dibandingkan kandungan protein kulit ikan pari yaitu 86,97% (Nur'aenah 2013) namun lebih rendah dibandingkan protein kulit ikan tuna dan hiu (Hema *et al.* 2013).

Kandungan lemak kolagen kulit ikan patin lebih tinggi dibandingkan dengan kulit ikan tuna dan hiu (Hema *et al.* 2013). Keberadaan lemak pada kulit ikan patin merupakan unsur

pengotor yang perlu dihilangkan pada tahap praperlakuan karena keberadaan lemak dan mineral akan mengganggu efektivitas aplikasi kolagen pada berbagai produk (Shon *et al.* 2011).

Gugus fungsi

Hasil analisis menunjukkan adanya puncak serapan amida A, amida B, amida I, amida II dan amida III (Gambar 3). Ikatan N-H terjadi pada kisaran 3490-3430 cm⁻¹. Ikatan N-H (Amida A) pada kolagen yang diekstraksi pada suhu 40°C mengalami penurunan ke frekuensi yang lebih rendah. Grup NH dari peptida yang terkait dalam ikatan hidrogen, posisinya akan turun ke frekuensi yang lebih rendah, biasanya sekitar 3300 cm⁻¹. Hal ini sesuai dengan pernyataan Singh (2011), Amida A dari kolagen ASC dan PSC (*Pepsin Soluble Collagen*) kulit ikan *Pangasius hypophthalmus* mengalami penurunan frekuensi pada 3300 cm⁻¹.

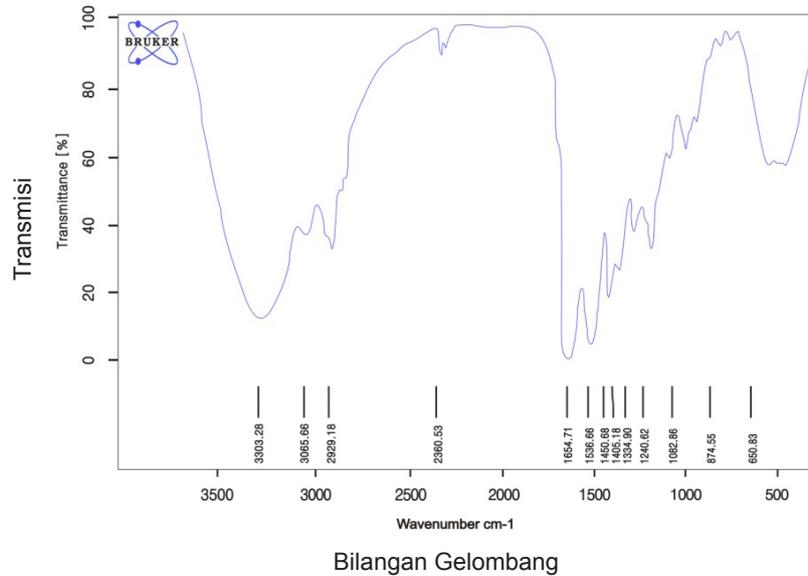
Amida I kolagen pada suhu ekstraksi 40°C menunjukkan nilai 1.654,71 cm⁻¹. Singh *et al.* (2011) menyatakan bahwa nilai amida I yang rendah dikarenakan besarnya porsi non-heliks pada telopeptida sehingga ikatan intramolekuler hidrogen antara C=O pada peptida dan keterkaitan donor hidrogen lebih rendah. Amida I dihubungkan dengan stretching vibrasi gugus karbonil ikatan C=O sepanjang polipeptida dan merupakan penanda yang sensitif dari struktur sekunder peptida. Amida I terdiri dari empat komponen struktur sekunder protein yaitu α -helix, β -sheet, β -turn dan random coil yang saling bertumpang tindih.

Amida II berhubungan dengan CN stretching dan NH bending yang berada dalam wilayah serapan 1480 hingga 1575. Puncak serapan amida II pada kolagen kulit ikan patin pada suhu 40°C berada pada wilayah

Tabel 4 Komposisi proksimat kolagen kulit ikan

Proksimat	Patin ¹	Skate ²	Tuna ³	Hiu ³
Kadar Air	7,76±0,19	7,01±0,67	7,53±0,30	9,13±0,14
Kadar Abu	0,04±0,02	3,38±0,09	0,74±0,02	0,76±0,02
Kadar Protein	87,56±0,91	86,4±0,43	91,08±0,71	88,80±0,59
Kadar Lemak	2,13±0,14	0,35±0,07	0,64±0,01	0,37±0,01

Keterangan: ¹Data hasil penelitian; ²Shon *et al.* (2011); ³Hema *et al.* (2013);



Gambar 3 Gugus fungsi hasil ekstraksi kulit ikan patin dengan suhu 40°C

serapan 1536,66. Struktur *triple helix* kolagen dapat diketahui keberadaannya berdasarkan intensitas rasio (IR) antara puncak wilayah serapan amida III dan puncak wilayah 1450 cm^{-1} . Nilai IR yang mendekati 1,0 menandakan bahwa kolagen masih memiliki struktur *triple helix*. Rasio IR antara amida III dan 1454 cm^{-1} pada kolagen kulit ikan patin adalah 1,168. Hal ini membuktikan adanya ikatan triple heliks yang belum terpecah menjadi gelatin. Gelatin memiliki struktur yang terdiri dari karbon, hidrogen, gugus hidroksil (OH), gugus karbonil (C=O) dan gugus amina (NH). Puncak wilayah serapan gelatin yaitu *stretching* OH pada bilangan gelombang 3100-3500 cm^{-1} , *stretching* CH pada daerah 3000-2800 cm^{-1} ; CH aromatik pada 3100-3000 cm^{-1} ; *stretching* C=O pada 1670-1649 cm^{-1} (Martianingsih dan Atmaja 2010).

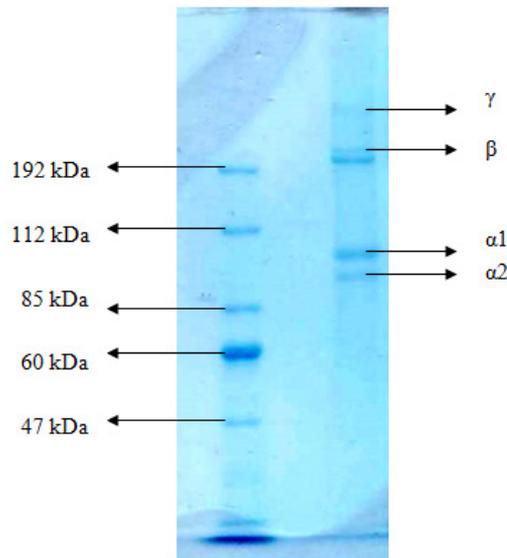
Berat molekul

Pola elektroforesis hasil analisis SDS-PAGE kolagen kulit ikan patin ditunjukkan pada Gambar 4. Pola elektroforesis kolagen menunjukkan pola yang serupa dengan kolagen tipe I dari kulit ikan lele (Bama *et al.* 2010), patin (Singh *et al.* 2011) dan nila (Sahubawa dan Putra 2011). Kolagen tipe I terbentuk dari 90% bahan organik, sebagian besar dapat ditemukan pada kulit, tulang, tendon, ligamen, jaringan ikat dan kornea.

Kolagen kulit ikan patin mengandung komponen berat molekul tinggi rantai $\alpha 1$, $\alpha 2$, dan β . Berat molekul dari rantai α yaitu pada 94 kD dan 98 kD, sedangkan rantai β memiliki berat molekul 204 kD. Rantai α pada kolagen kulit ikan patin memiliki berat molekul sekitar 100 kDa sedangkan rantai β adalah sekitar 200 kDa (Wibawa *et al.* 2015). Rantai β menunjukkan adanya intermolekular ikatan silang. Intra dan intermolekuler ikatan silang yang banyak dipengaruhi oleh kondisi ikan. Ikan yang lapar mengandung lebih banyak kolagen dengan ikatan silang yang lebih banyak dibanding ikan yang diberi makan dengan baik. Kandungan ikatan silang pada kolagen hewan mamalia meningkat seiring dengan meningkatnya umur. Protein dengan ikatan silang yang tinggi tidak ditemukan pada ikan karena sebagian besar jaringan ikat ikan terbaharui setiap tahun (Kittipathanabawon *et al.* 2011).

Viskositas

Nilai viskositas kolagen kulit ikan patin adalah 12 cP pada suhu kamar. Nilai viskositas suatu bahan yang semakin tinggi menunjukkan makin besar tahanan cairan bahan tersebut. Faktor-faktor yang mempengaruhi viskositas antara lain suhu, gaya tarik antar molekul dan jumlah molekul terlarut (Zhang *et al.* 2011) Nilai viskositas



Gambar 4 Hasil analisis SDS-PAGE kolagen kulit ikan patin

kolagen sangat dipengaruhi oleh temperatur (Karim dan Bhat 2009). Amiza dan Aishah (2010) menyatakan viskositas gelatin yang diekstrak dari kulit ikan cobia kering lebih tinggi dari kulit ikan cobia beku. Suhu, waktu ekstraksi, jenis asam dan basa kuat adalah faktor yang mempengaruhi rantai atau polimer protein. Suhu yang semakin tinggi maka waktu alir yang diperlukan kolagen akan semakin menurun. Waktu alir yang menurun disebabkan berkurangnya tahanan suatu cairan karena makin pendeknya rantai senyawa polimer yang disebabkan oleh suhu (Sahubawa dan Putra 2011).

Nilai pH

Nilai pH kolagen kulit ikan patin yang diekstraksi pada suhu 40°C adalah 5,53. Nilai ini lebih tinggi dibanding kolagen dari kulit ikan gabus sebesar 5,24 (Wulandari 2016), kulit ikan pari sebesar 5,00 (Nur'aenah 2013) dan kulit ikan kakap putih sebesar 3,41 (Jamilah *et al.* 2013). Nilai pH sangat berpengaruh terhadap kelarutan kolagen. Kolagen akan mudah larut pada kondisi pH yang asam. Nilai pH diatas dan dibawah pI, maka protein memiliki muatan positif atau negatif. Kolagen dari kulit ikan menunjukkan kelarutan yang lebih tinggi pada pH >6. Hal tersebut dikarenakan kolagen dari kulit memiliki derajat *crosslink* yang rendah. Perbedaan nilai pH kolagen juga dapat

disebabkan oleh perbedaan jenis dan konsentrasi asam atau basa yang digunakan selama proses hidrolisis (Tabarestani *et al.* 2012).

KESIMPULAN

Protein non kolagen dihilangkan secara maksimum setelah kulit direndam menggunakan NaOH 0,05 M selama 4 jam. Kulit mengalami pengembangan maksimum setelah direndam dalam larutan NaOH 0,05 M selama 1 jam. Kolagen kulit ikan patin yang dihasilkan memiliki rendemen 17,272%. Gugus fungsi kolagen kulit ikan patin memiliki nilai IR 1,168 dan struktur *triple helix* yang merupakan karakteristik khas kolagen. Hasil SDS-PAGE menunjukkan adanya rantai $\alpha 1$ dan $\alpha 2$ yang merupakan ciri khas kolagen tipe I. Nilai viskositas kolagen adalah 12 cP dan pH 5,53.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfaro AT, Costa CS, Fnseca GG, and Prentice C. 2009. Effect of extraction parameters on the properties of gelatin from king weakfish (*Macrodon ancylodon*) bones. *Food Science Technology*. 5(6): 553-562.
- Amiza, MA and Aishah SD. 2011. Effect of drying and freezing of cobia (*Rachycentron canadum*) skin on its gelatin properties. *International Food Research Journal*. 18: 156-166

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. Official Methods of Analysis (18 Edn). Association of Official Analytical Chemist Inc. Mayland. USA.
- Bama P, Wijayalakshimi M, Jayasimman R, Kalaichelvan PT, Deccaraman M, Sankaranarayanan S. 2010. Extraction of collagen from cat fish by pepsin digestion and preparation and characterization of collagen chitosan sheet. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*. 2(4): 133-137.
- 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*. 19:221- 229.
- Dong X, Yuan Q, Qi H, Yang J, Zhu B, Zhou D, Murata Y, and Ye W. 2012. Isolation and characterization of pepsin soluble collagen from abalone (*Haliotis discus*) gastropod muscle part II. *Food Science Technology*. 18(2): 271-278.
- Hema GS, Shyni K, Mathew S, Anandan R, Ninan G, Lkshmanan PT. 2013. A simple method for isolation of fish skin collagen- biochemical characterization of skin collagen extracted from albacore tuna (*Thunnus Alalunga*), dog shark (*Scoliodon sorrakowah*), and rohu (*Labeo rohita*). *Annal of Biological Research*. 4(1): 271-278.
- 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.
- Karim AA, Bhat R. 2009. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids*. 23(3): 563-576.
- [Kemendag] Kementerian Perdagangan. 2013. Ikan patin hasil alam bernilai ekonomi dan berpotensi ekspor tinggi. Warta Ekspor. Jakarta (ID): Kementerian Perdagangan.
- 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: 1519-1526.
- Kolodziejska I, Skierka E, Sadowska M, Kolodziejski W, Niecikowska C. 2008. Effect of extracting time and temperature on yield of gelatin from different fish offal. *Food Chemistry*. 107: 700-706.
- 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.
- Martianingsih N, Atmaja L. 2009. Analisis sifat kimia, fisik, dan termal gelatin dari ekstraksi kulit Ikan pari (*Himantura gerrardi*) melalui variasi jenis larutan asam. Prosiding KIMIA FMIPA - ITS.
- Mattjik AA, Sumertajaya IM. 2013. Perancangan Percobaan dengan Aplikasi SAS dan Minitab. Bogor (ID): IPB Press. 159-172.
- Motowidlo AR, Sladewska A, Mulkiewicz E, Kolodziejczyk A, Aleksandrowicz A, Miskiewicz J, Stepnowski P. 2008. Isolation and characterization of thermally stable collagen preparation from the outer skin of the silver carp *Hypophthalmichthys molitrix*. *Aquaculture*. 285: 130-134
- Mulyani T, Sudaryati, Rahmawati SF. 2009. Hidrolisis gelatin tulang ikan kakap menggunakan larutan asam. *Jurnal Teknologi Pangan*. 2: 81-86.
- Nalinanon S, Benjakul S, Kishimura H, Osako K. 2011. Type I collagen from the skin of ornate threadfin bream (*Nemipterus hexodon*): Characteristics and effect of pepsin hydrolysis. *Food Chemistry*. 125: 500-507.
- 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.
- Sahubawa L, Putra ABN. 2011. Pengaruh konsentrasi asam asetan dan waktu

- ekstraksi terhadap mutu kolagen limbah kulit ikan nila hitam. *Jurnal Teknosains*. 1: 1-69.
- 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 characterization of collagen extracted from the skin of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Food Chemistry*. 124: 97-105.
- Tabarestani SH, Maghsoudlou Y, Motamedzadegan A, Mahoonak AR, and Rostamzad H. 2010. Study on some properties of acid soluble collagen isolated from fish skin and bones of rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*). *International Food Reseach Journal*. 19(1): 251-257.
- Wang W, Li Z, Liu J, Wang Y, Liu S, Sun M. 2013. Comparison between thermal hydrolysis and enzymatic proteolysis processes for the preparation of tilapia skin collagen hydrolysate. *Journal of Food Science*. 31(1): 1-4.
- Wibawa SF, Retnoningrum DS, Suhartono MT. 2015. acid soluble collagen from skin of common carp (*Cyprinus carpio* L), red snapper (*Lutjanus* sp.) and milkfish (*Chanos chanos*). *World Applied Sciences Journal*. 33(6): 990-995
- 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.
- 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.