

## KARAKTERISASI KOLAGEN DARI LIMBAH GELEMBUNG RENANG IKAN CUNANG HASIL EKSTRAKSI ASAM DAN HIDROTERMAL

### *Characterization of Collagen from Swim Bladder Waste of Yellow-pike (Muraenesox talabon) by Acid and Hydrothermal Extraction*

I Wayan Darya Kartika<sup>1\*</sup>, Wini Trilaksani<sup>1</sup>, I Ketut Mudite Adnyane<sup>2</sup>

<sup>1</sup>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

<sup>2</sup>Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Jalan Agatis, Bogor 16680 Jawa Barat. Telepon (0251) 8629462

\*Korespondensi: [daryakartika@hotmail.com](mailto:daryakartika@hotmail.com)

Diterima: 17 September 2016/ Review: 22 Oktober 2016/ Disetujui: 11 Desember 2016

**Cara sitasi:** Kartika IWD, Trilaksani W, Adnyane IKM. 2016. Karakterisasi kolagen dari limbah gelembung renang ikan cunang (*Muraenesox talabon*) hasil ekstraksi asam dan hidrotermal. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 19(3): 222-232.

#### Abstrak

Produksi perikanan tangkap Indonesia mencapai ±6,4 juta ton pada tahun 2014. Jumlah tersebut diperkirakan akan menghasilkan limbah perikanan yang besar, salah satunya gelembung renang yang berpotensi mengandung kolagen, sehingga perlu dikembangkan. Penelitian ini bertujuan menentukan karakteristik gelembung renang (proporsi dan kandungan kimia) dan karakteristik kolagen (rendemen dan sifat fisikokimia) yang diekstrak dari gelembung renang ikan cunang (*Muraenesox talabon*). Limbah gelembung renang memiliki proporsi 0,57-0,67% dari bobot tubuh ikan cunang dan 24,74% protein/100 gram basah (setara 93,39% protein/100 gram kering). Limbah tersebut memiliki potensi kolagen yang dicirikan dengan proporsi asam amino glisin, prolin, hidroksiprolin dan alain yang tinggi. Proses ekstraksi asam maupun hidrotermal menghasilkan ekstrak kolagen, teridentifikasi dari spektrum gugus fungsi amida I, amida II dan amida III. Kolagen yang diekstrak dengan proses asam mengandung glisin yang lebih tinggi dari proses hidrotermal, namun sebaliknya proses hidrotermal menghasilkan ekstrak dengan komposisi asam amino prolin, hidroksiprolin dan alanin yang lebih tinggi.

Kata kunci: ikan cunang, isolasi, karakteristik fisikokimia, kolagen, gelembung renang

#### Abstract

Indonesian capture fisheries production reached ± 6.4 million tons in 2014. This number was predicted resulted a huge fishery waste, one of them was swim bladder that potentially contain collagen, so it needs to be developed. This aim of this study was to determine the characteristics of the swim bladder (proportion and chemical content) and collagen characteristics (yield and physicochemical properties) extracted from the swim bladder cunang (*Muraenesox talabon*). Swim bladder waste had proportion 0.57 to 0.67% of whole yellow-piked conger body weight and 24.74% protein/100 g wet weight (equivalent to 93.39% of protein/100 gram dry). The waste had a potency of collagen, which is characterized by the high proportion of the amino acids glycine, proline, hydroxyproline and alain. Acid extraction and hydrothermal process resulted collagen extracts, identified from a spectrum of amide I, amide II and amide III functional groups. Collagen extracted with acid process contained a higher glycine than hydrothermal one, but instead hydrothermal process produced extract with a higher proline, hydroxyproline and alanine composition.

Keywords: collagen, isolation, physicochemical properties, swim-bladder, yellow-pike conger

## PENDAHULUAN

Indonesia memiliki potensi sumber daya perikanan yang melimpah, namun pemanfaatan selama ini masih sebatas daging (*fillet*). Produksi perikanan tangkap Indonesia dari subsektor perikanan laut dan perikanan umum pada tahun 2014 mencapai  $\pm 6,4$  juta ton, sehingga diperkirakan potensi limbah perikanan mencapai sekitar 4,1 juta ton (BPS 2014). Limbah perikanan tersebut berupa kepala, kulit, tulang, sirip, serpihan daging, perut ikan dan ikan/*fillet* ikan mutu rendah (*second grade*) dari proses pengolahan industri. Peningkatan nilai tambah produk hasil samping dapat terwujud apabila limbah tersebut dapat ditransformasi menjadi produk komersial (Muyoga *et al.* 2004a).

Limbah perikanan seperti sisik, kulit dan perut ikan telah diteliti mengandung protein yang tinggi dan apabila dikonversi menjadi turunan protein lain dapat meningkatkan nilai ekonomis limbah tersebut (Liu *et al.* 2012; Chen *et al.* 2016). Trilaksana *et al.* (2006) telah meneliti pemanfaatan gelembung renang ikan patin *Pangasius hypophthalmus* sebagai bahan baku pembuatan *Isinglass* dengan kandungan protein 94,38 – 94,63%. *Isinglass* umumnya masih digunakan sebagai *fining agent* pada industri bir di Eropa (Niu *et al.* 2013). Kandungan protein yang tinggi diduga berasal dari kandungan protein jaringan ikat yang tidak larut dalam air. Protein jaringan ikat tersebut dapat dikonversi menjadi derivat protein yang lebih sederhana seperti hidrolisat protein, kolagen dan gelatin sehingga dapat meningkatkan nilai tambah dari gelembung renang dan menambah diversifikasi produk hasil samping industri perikanan.

Kolagen merupakan komponen struktural utama jaringan ikat putih (*white connective tissue*) yakni sekitar 25-30% (Walters dan Stegemann 2014). Kolagen yang diekstrak dari ikan memiliki keunggulan diantaranya mampu mengatasi kebutuhan sekaligus kontroversi penggunaan kolagen di kalangan keyakinan dan etnis tertentu terhadap bahan baku dari hewan terestrial, misalnya babi, sapi ataupun ayam (Choi *et al.* 2013). Penggunaan kolagen ikan juga dapat menghindari bahaya beberapa penyakit seperti *bovine spongiform encephalopathy* (BSE), penyakit kuku dan

mulut, serta flu burung yang dapat ditularkan hewan terestrial (Yamaguchi 2002).

Liu *et al.* (2012) menyatakan bahwa kolagen dapat diisolasi dari gelembung renang dengan rendemen mendekati kolagen yang diekstrak dari tulang, kulit dan sisik ikan. Kolagen dari gelembung renang telah diekstrak dari gelembung renang ikan *Arius parkeri*, *Cynoscion acoupa*, *Cynoscion leiarchus*, *bighead carp* (*Hypophthalmichthys nobilis*) dan seabass (*Lates calcarifer*) (Fernandes *et al.* 2008; Liu *et al.* 2012; Sinthusamran *et al.* 2013). Kolagen dapat diekstrak dan diisolasi dengan beberapa metode atau proses, namun hingga kini metode ekstraksi asam masih mendominasi karena cukup mudah dilakukan. Ekstraksi asam dari kulit kakap merah *Lutjanus sp.* menghasilkan kolagen dengan rendemen 15,8% basis basah dan 58,1% basis kering; serta menghasilkan produk turunan gelatin dengan rendemen 14,33-16,80% basis basah (Trilaksana *et al.* 2012). Ekstraksi gelembung renang kakap merah *Lates calcarifer* dengan asam asetat 0,5 M pada suhu 4°C menghasilkan kolagen larut asam (ASC) dengan rendemen 28,5% (basis basah) atau setara 85,3% basis kering (Sinthusamran *et al.* 2013). Peningkatan suhu ekstraksi antara 20-50°C pada proses *extrusion-hydro-extraction* sisik ikan tilapia mampu menghasilkan kolagen dengan kandungan 10,7-11,8 g protein/100 g protein kasar (basis kering) dan 15,0-16,6 g hidroksiprolin/100 g hidroksiprolin (basis kering) bahan baku. Proses isolasi kolagen dengan beberapa proses ekstraksi sangat mempengaruhi rendemen dan karakteristik kolagen yang dihasilkan, sehingga penelitian tentang proses isolasi dan karakterisasi kolagen melalui beberapa modifikasi proses ekstraksi perlu dilakukan untuk memperoleh kualitas dan kuantitas kolagen yang maksimal. Penelitian tentang isolasi dan karakterisasi kolagen dari gelembung renang ikan cunang yang berasal dari limbah industri UKM perikanan belum pernah dilaporkan. Eksplorasi proses isolasi dan karakterisasi kolagen melalui metode ekstraksi asam dan hidrotermal diharapkan dapat memberikan informasi yang bermanfaat untuk meningkatkan nilai ekonomis gelembung renang tersebut. Penelitian ini bertujuan

menentukan karakteristik gelembung renang (proporsi dan komposisi kimia) dan karakteristik kolagen (rendemen, komposisi asam amino, derajat pengembangan dan sifat termal) yang ekstrak dari gelembung renang melalui proses berbeda, yaitu proses ekstraksi asam dan hidrotermal.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu gelembung renang ikan cunang (*Muraenesox talabon*) yang diperoleh dari hasil samping sentra UKM kerupuk di Desa Kenanga, Kecamatan Sindang, Kabupaten Indramayu-Jawa Barat. Bahan kimia yang digunakan untuk analisis yaitu akuades, akua bidestilata, NaOH, CH<sub>3</sub>COOH dan NaCl *pro analysis* (E. Merck). Alat yang digunakan yaitu neraca digital Satorius® (ketelitian 0,001 gr), pH-meter, kertas pH, *hotplate magnetic stirrer* YAMATO (100 V, 250 W; Tmax 300°C), *waterbath* (40°C), *sentrifuge* (HIMAC 21G), *freeze dryer*, pipet volumetrik, pipet tetes, mikropipet dan alat-alat gelas (Iwaki).

### Metode Penelitian

Penelitian ini diawali dengan menentukan bobot dan proporsi gelembung renang terhadap bobot total ikan. Komposisi kimia ditentukan melalui analisis proksimat dan analisis asam amino limbah gelembung renang. Kolagen diekstrak dari gelembung renang melalui metode ekstraksi asam dan ekstraksi hidrotermal. Kuantitas dan kualitas ekstraksi ditentukan melalui rendemen dan karakteristik fisikokimia.

### Proporsi Bahan Baku

Ikan cunang dipreparasi, sehingga didapatkan bagian-bagian utama misalnya kepala, tulang, daging, kulit, jeroan dan gelembung renang. Proporsi gelembung renang dihitung melalui pendekatan: (1) sebagai bagian dari keseluruhan ikan utuh dan (2) sebagai bagian dari hasil samping (limbah). Setiap bagian ikan ditimbang, kemudian diukur persentasenya dengan rumus :

$$\text{Persentase (\%)} = \frac{\text{Berat bagian tubuh (g)}}{\text{Berat tubuh keseluruhan (g)}} \times 100\%$$

### Komposisi Kimia dan Asam Amino

Komposisi kimia gelembung renang meliputi kadar air, kadar abu, kadar karbohidrat, kadar protein dan kadar lemak ditentukan berdasarkan analisis proksimat yang mengacu pada metode AOAC (2005). Hasil pengujian proksimat dinyatakan dalam basis basah dan basis kering. Pengujian lanjutan difokuskan pada protein yaitu melalui pengujian asam amino. Komposisi asam amino ditentukan melalui analisis asam amino bahan baku, mengacu pada metode Nollet (2015) dan Waters Inc. (1993) dengan alat *Ultra High Performance Chromatography* (UPLC), yang dinyatakan dalam mg/kg:

Kadar asam amino (mg/kg) =

$$\text{RA}_{\text{sampel}} \times \frac{\text{C. standar (pmol)}}{1000000000} \times \text{Bm} \times \text{fp} \times 1000$$

$$\text{RA}_{\text{standar}} \times \text{Bobot sampel}$$

### Ekstraksi Kolagen Gelembung Renang

Proses ekstraksi didahului oleh proses eliminasi substansi non-kolagen, pigmen dan lemak dari gelembung renang (Liu *et al.* 2015). Gelembung renang (berukuran 4,0±0,5 cm<sup>2</sup>) direndam larutan NaOH 0,1 M dengan rasio sampel terhadap larutan 1:10 (b/v). Sampel direndam selama 12 jam pada suhu 4°C dengan regulasi larutan NaOH setiap 2 jam. Residu NaOH pada sampel dicuci dengan akuades dingin (pH 7,0±0,5) hingga pH netral. Gelembung renang diekstrak dengan proses ekstraksi asam dan hidrotermal. Ekstraksi asam dilakukan mengacu Liu *et al.* (2015) yaitu dengan merendam sampel dalam asam asetat 0,5 M dengan rasio 1:10 (b/v) disertai agitasi selama 48 jam pada suhu 4°C (kode: A1). Hasil ekstraksi kemudian dipresipitasi dengan NaCl (konsentrasi akhir 0,9 M), kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10.000× g selama 30 menit pada 4°C. Pelet kemudian dilarutkan ke dalam asam asetat 0,5 M rasio 1:1 (b/v) dan didialisis (dengan kantong dialisis *cut-off* 14 kDa). Ekstraksi hidrotermal dilakukan mengacu Huang *et al.* (2016), yaitu dengan merendam sampel dalam akuades dengan rasio 1:1 (b/v) disertai agitasi selama 2 jam pada suhu 40°C (kode: H1). Hasil ekstraksi kemudian disaring

dengan katun tipis, sehingga didapatkan filtrat. Setelah ekstraksi, hasil dialisis maupun filtrat dikeringkan dengan *freeze dryer*, sehingga didapatkan produk kolagen kering.

### Evaluasi Rendemen Kolagen

Rendemen kolagen ditentukan berdasarkan persentase kolagen (gram) terhadap bahan baku gelembung renang basah (gram). Evaluasi rendemen kolagen dilakukan dengan analisis proksimat berupa kadar air, protein dan lemak mengacu AOAC (2005). Metode tersebut didasarkan pada kemampuan proses dalam mengekstrak substansi kolagen yang ada. Persentase proksimat dan rendemen diperoleh dari proporsi kandungan terhadap berat basah bahan baku.

### Karakteristik Fisikokimia Kolagen

Uji fisikokimia dilakukan untuk mengetahui sifat fungsional dari ekstrak kolagen. Uji ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh proses ekstraksi terhadap sifat kimia dan fisik kolagen. Uji fisikokimia tersebut meliputi uji asam amino (Nollet 1993), gugus fungsional (Muyonga *et al.* 2004) dan derajat pengembangan (Tronci 2013).

### Analisis Data

Data dianalisis meliputi kenormalan data bobot, proporsi, komposisi asam amino, rendemen dan sifat fisikokimia berdasarkan uji

Kolmogorov Smirnov. Rancangan percobaan yang digunakan yaitu rancangan acak lengkap (RAL) (Steel dan Torrie 1993).

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Limbah gelembung renang yang diperoleh dari desa Kenanga, Kabupaten Indramayu oleh masyarakat setempat disebut juga dengan katak atau lupe ikan. Gelembung renang ikan cunang termasuk jenis gelembung renang tipe tertutup atau phylostome, berbentuk silinder panjang dengan ujung-ujung mengecil tanpa saluran, serta dipenuhi pembuluh darah kapiler (ZFIN 2016).

### Proporsi Gelembung Renang

Gelembung renang dapat dikategorikan sebagai bagian tubuh ikan sekaligus hasil samping industri perikanan, selain daging. Hasil pengukuran proporsi gelembung renang ikan cunang dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1 dan Tabel 2 menunjukkan gelembung renang memiliki proporsi yang lebih kecil dari bagian lain, baik sebagai bagian tubuh maupun bagian dari limbah hasil perikanan, yakni masing-masing 0,57-0,67% dan 1,30-1,50% dengan berat rata-rata 11,33 gram. Komposisi kimia ikan sangat bervariasi antar spesies tergantung pada usia, jenis kelamin, lingkungan dan musim, sehingga simpangan baku relatif fluktuatif (FAO 2016).

Tabel 1 Berat dan persentase bagian tubuh dari ikan cunang (*Muraenesox talabon*)

Parameter	Nilai rata-rata					
	Kepala	Tulang	Daging	Kulit	Jeroan	Gelembung renang
Berat (g)	87,67±2,65	600,67±22,75	1012,67±13,94	91,33±2,08	19,67±1,26	11,33±0,96
Persentase (%)	4,81±0,11	32,94±0,56	55,54±0,47	5,01±0,17	1,08±0,06	0,62±0,05

Tabel 2 Berat dan persentase bagian non-daging dari ikan cunang (*Muraenesox talabon*)

Parameter	Nilai rata-rata				
	Kepala	Tulang	Kulit	Jeroan	Gelembung renang
Berat (g)	88,5±2,65	610,50±22,75	19,75±1,26	11,33±0,96	11,33±0,96
Persentase (%)	10,82±0,24	74,09± 0,54	2,43±0,14	1,40±0,10	0,62±0,05

Keterangan: \*Berat daging tidak diikutsertakan; pengukuran 4 ikan

Tabel 3 Komposisi proksimat gelembung renang ikan cunang dan beberapa ikan jenis lain (basis basah)

Parameter	Persentase (%)		
	Cunang ( <i>Muraenesox talabon</i> )	Tuna ekor kuning ( <i>Thunnus albacares</i> ) <sup>1</sup>	Patin ( <i>Pangasius sp.</i> ) <sup>2</sup>
Kadar air	73,88±0,22	83,33	74,03
Kadar abu	0,27±0,03	0,29	0,08
Kadar protein	24,74±0,75	12,09	25,67
Kadar lemak	0,50±0,05	1,44	0,03
Kadar karbohidrat*	1,28±0,36	2,85	0,19

Keterangan: \* = *by difference*, 1 = Yanuardi (2006), 2 = Kaewdang *et al.* (2014)

### Komposisi Proksimat

Hasil uji proksimat limbah gelembung renang dapat dilihat pada Tabel 3. Berdasarkan Tabel 3, diketahui bahwa komposisi kimia limbah gelembung renang sebagian besar terdiri atas air yaitu 73,88±0,22%. Nilai tersebut lebih rendah dari kandungan air gelembung renang ikan tuna ekor kuning (*Thunnus albacares*) yang telah diteliti oleh Kaewdang *et al.* (2014). Chen (2016) menyatakan kandungan air berfungsi menjaga kelenturan dan tekstur, disamping sebagai penyeimbang pH. Jumlah molekul air dalam jaringan gelembung renang mempengaruhi kadar abu, lemak dan protein sehingga fluktuasi kandungan air selama proses, penyimpanan, pengolahan dan pengeringan jaringan akan mengubah komposisi biokimia yang lain.

Protein merupakan zat pembangun jaringan, sekaligus menjadi kandungan utama dari otot atau daging ikan. Kandungan protein gelembung renang ikan cunang (24,39%) lebih rendah dibandingkan dengan protein pada gelembung renang ikan patin (25,67%), namun lebih tinggi dari gelembung

renang *yellowfin* tuna (12,09%) (Yanuardi 2006; Kaewdang *et al.* 2014). Kandungan protein dari sampel gelembung renang ikan cunang mencapai 93,39%, setelah dihitung dalam basis kering (Tabel 4). Hal tersebut menunjukkan bahwa gelembung renang ikan cunang memiliki kualitas yang baik untuk dijadikan sebagai bahan baku kolagen ditinjau dari rendemen terhadap kandungan solidnya.

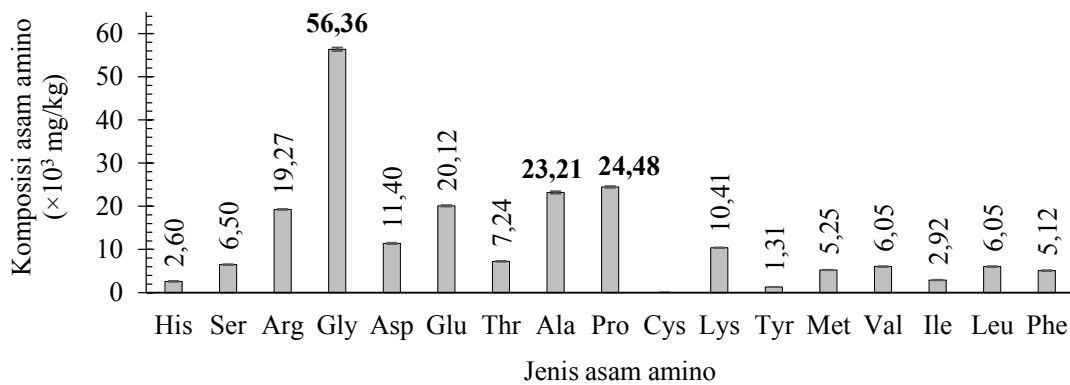
Kadar lemak gelembung renang ikan cunang (0,50%) lebih tinggi dibandingkan gelembung renang ikan patin (0,03%), namun lebih rendah dari gelembung renang *yellowfin* tuna (1,44%). Kadar abu gelembung renang ikan cunang (0,27%) lebih tinggi dibandingkan gelembung renang ikan patin (0,08%), namun lebih rendah dari gelembung renang *yellowfin* tuna (0,29%) (Yanuardi 2006; Kaewdang *et al.* 2014). Shon *et al.* (2011) menyatakan bahwa keberadaan lemak dan mineral-mineral lainnya akan mengganggu efektivitas kolagen dalam aplikasinya pada berbagai produk. Kandungan lemak yang kurang dari 2% dapat dihilangkan melalui proses *defatting* menggunakan pelarut alkali.

Tabel 4 Komposisi proksimat gelembung renang ikan cunang dibandingkan ikan jenis lain (basis kering)

Parameter	Persentase (%)		
	Cunang ( <i>Muraenesox talabon</i> )	Tuna ekor kuning ( <i>Thunnus albacares</i> ) <sup>1</sup>	Patin ( <i>Pangasius sp.</i> ) <sup>2</sup>
Kadar abu	0,98±0,07	1,74	0,30
Kadar protein	93,39±0,87	72,53	98,92
Kadar lemak	1,83±0,06	1,44	0,13
Kadar karbohidrat*	3,80±1,00	17,10	0,65

Keterangan: \* = *by difference*, 1 = Yanuardi (2006), 2 = Kaewdang *et al.* (2014)



Gambar 1 Komposisi asam amino limbah gelembung renang ikan cunang (*M. talabon*)

Proses *defatting* dapat dijalankan sekaligus dengan proses eliminasi *pretreatment* protein nonkolagen karena jaringan lemak dan protein dapat didegradasi oleh senyawa alkali, khususnya NaOH. Optimasi proses *pretreatment* untuk menghilangkan lemak dan mineral-mineral dalam jaringan gelembung renang perlu dilakukan untuk mempercepat proses hidrolisis.

### Asam Amino Gelembung Renang

Kandungan protein pada gelembung renang sangat berpotensi untuk digunakan dalam industri kolagen karena mengandung asam amino esensial dan asam amino non-esensial. Hasil uji asam amino gelembung renang, khususnya yang berperan sebagai penciri kolagen pada limbah gelembung renang dapat dilihat pada Gambar 1.

Gambar 1 menunjukkan limbah gelembung renangkaya akan glisin ( $56,36 \pm 0,41 \times 10^3$  mg/kg), diikuti oleh prolin ( $23,21 \pm 0,19 \times 10^3$  mg/kg) dan alanin ( $23,21 \pm 0,28 \times 10^3$  mg/kg). Proporsasi komposisi asam amino tersebut

mencapai 27,06% (glisin); 11,14% (prolin) dan 11,75% (alanin). Total ketiga asam amino penciri kolagen tersebut mencapai 49,95%, sehingga lebih tinggi dari persentase ideal kolagen dalam jaringan vertebrata yang mencapai 25-30% (Walter dan Stagemann 2010). Kandungan glisin yang tinggi karena ketersediaan glisin sangat penting pada setiap sekuens dasar -Gly-X-Y- untuk pembentukan 3 rantai  $\alpha$  dalam molekul *tropocollagen*, dimana posisi X dan Y sebagian besar adalah prolin dan 4-hidroksiprolin (Cherim *et al.* 2016).

### Rendemen Ekstrak Kolagen

Rendemen ditentukan melalui dua pendekatan, yaitu analisis proksimat ekstrak basah (khususnya kandungan protein) dan ekstrak kering. Rendemen kolagen dari ekstrak kering dihitung berdasarkan persentase berat ekstrak pasca *freeze drying* yang dihasilkan dibagi dengan berat gelembung renang yang digunakan. Parameter turunan berupa rasio protein terhadap lemak ditentukan untuk

Tabel 5 Analisis proksimat ekstrak kolagen basah (bb dan bk)

Parameter	Ekstraksi asam (A1)	Ekstraksi hidrotermal (H1)
Kadar air (%) bb	69,02 $\pm$ 0,01	68,88 $\pm$ 0,01
Kadar protein (%) bb	27,73 $\pm$ 0,05	20,94 $\pm$ 0,03
Kadar lemak (%) bb	1,13 $\pm$ 0,01	0,27 $\pm$ 0,02
Lainnya (%) bb*	2,13 $\pm$ 0,04	9,91 $\pm$ 0,05
Protein (%) bk	89,48 $\pm$ 0,14	67,28 $\pm$ 0,11
Lemak (%) bk	3,63 $\pm$ 0,02	0,87 $\pm$ 0,05
Protein/Lemak bk	24,65 $\pm$ 0,20	77,66 $\pm$ 3,96

Keterangan: \*kandungan abu dan karbohidrat

Tabel 6 Rendemen ekstrak kolagen pasca-pengering beku

Parameter	Ekstraksi asam	Ekstraksi hidrotermal
Rendemen basah (%)	2,73±1,22	43,33±15,88
Rendemen kering (%)	10,29±4,60	98,72±10,36

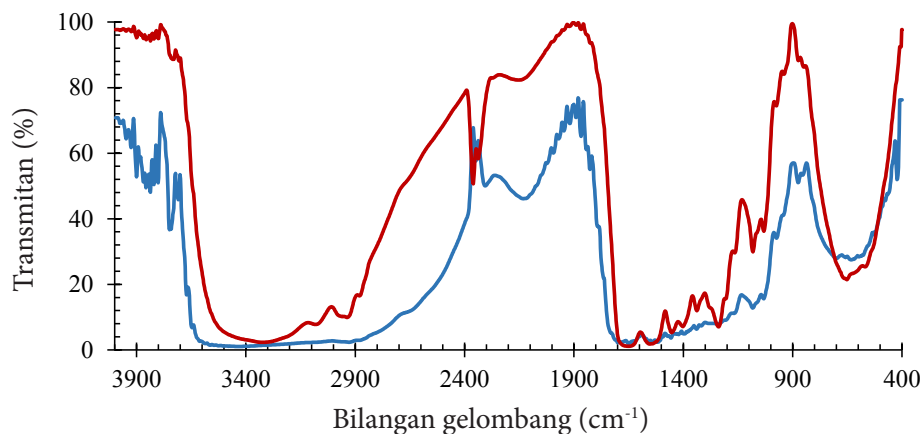
mengetahui keberhasilan proses ekstraksi dalam memisahkan protein dari komponen non-protein (Tabel 5).

Ekstrak basah kolagen dari gelembung renang memiliki kadar air lebih dari 50%. Kandungan air yang relatif sama dibandingkan total padatan membuat viskositas ekstrak meningkat. Jumlah protein yang berhasil diekstrak dari proses asam lebih tinggi dari proses hidrotermal, begitu pula halnya dengan kandungan lemak. Namun, komponen lain yang terekstrak dengan proses hidrotermal memiliki persentase yang lebih tinggi dari proses asam. Hal ini diduga, penetrasi asam asetat pada suhu rendah (4°C) selama 48 jam lebih efektif merusak matriks gelembung renang dari penetrasi akuades pada suhu tinggi (40°C) selama 2 jam. Menurut Safandowska dan Pietrucha (2013), beberapa jenis protein terdegradasi atau terdenaturasi pada suhu  $\geq 40^\circ\text{C}$ , namun belum mampu melampaui titik lebur asam lemak (asam stearat,  $70^\circ\text{C}$ ), sehingga sedikit lemak yang terdegradasi. Dempster (1960) menyatakan bahwa penetrasi 10% asam asetat pada organ eksternal mencapai 5 mm/8 jam pada suhu ruang, namun air hanya mampu meresap ke jaringan 3 mm/10 jam pada suhu yang sama.

Rasio protein (basis kering) terhadap lemak dari ekstrak basah kolagen yang

diproses dengan metode hidrotermal memiliki rasio yang lebih tinggi. Proses ekstraksi asam mampu mengekstrak lemak lebih banyak dari proses hidrotermal. Korelasi protein dan lemak diduga akibat komponen penyusun gelembung renang adalah persenyawaan protein dan lemak atau sering disebut lipoprotein. Proses denaturasi simultan dengan senyawa asam dan suhu tinggi mengakibatkan lipoprotein terpisah dari jaringan dan terlarut ke larutan ekstraktor.

Tabel 6 menunjukkan bahwa ekstrak kolagen yang telah dikeringkan dengan metode pengering beku menghasilkan rendemen yang jauh berbeda dengan total padatan (total solid) yang telah diuji proksimat. Rendemen basah yang dihasilkan proses H1 lebih tinggi (15,87 kali lipat) dari proses A1. Proses H1 juga menghasilkan rendemen 9,59 kali lipat rendemen proses A1. Peningkatan hasil rendemen proses hidrotermal diduga akibat kandungan air yang cukup besar pada serpihan kering, akibat ikatan hidrogen yang terbentuk selama proses ekstraksi yang menggunakan pelarut air. Hal ini sesuai penelitian Aberoumand (2012), bahwa ikatan hidrogen merupakan ikatan molekul terkuat dan dominan yang menyusun struktur primer (antar asam amino) dan struktur sekunder (antar sekuen asam amino) kolagen.



Gambar 2 Spektrum gugus fungsi kolagen hasil proses A1 dan H2

### Karakteristik Fisikokimia

Kolagen merupakan protein fungsional yang memiliki karakteristik tertentu. Karakteristik utama kolagen antara lain terletak pada gugus fungsional yang membedakannya dengan gelatin, komposisi asam amino penyusun yang khas, serta stabilitas termal molekul. Spektrum gugus fungsional pada kolagen merupakan penanda senyawa khas dari protein yang terdiri dari amida A, B, amida I, II dan III (Muyonga *et al.* 2004<sup>b</sup>). Serapan ( $\gamma$ ) gugus fungsi kolagen pada panjang gelombang ( $x$ ) tertentu teridentifikasi pada Gambar 2. Spektrum kolagen yang diekstraksi dengan proses ekstraksi asam dan hidrotermal menunjukkan pola yang sama secara umum.

Rasio absorpsi tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ) atau mendekati nilai 1 antara amida I dan  $1.454 \text{ cm}^{-1}$  menunjukkan bahwa struktur tripel heliks kolagen masih utuh (Liu *et al.*

2015). Zidek *et al.* (2016) menemukan bahwa kolagen terdenaturasi (gelatin) memiliki rasio serapan lebih dari 1 ( $p < 0,05$ ) antara amida III dan  $1.630 \text{ cm}^{-1}$ , dan mendekati 1 ( $p > 0,05$ ) antara amida III dan  $1600 \text{ cm}^{-1}$  untuk struktur tripel heliks kolagen yang masih utuh.

Struktur tripel heliks kolagen disusun atas beberapa sekuens asam amino yang khas. Kolagen umumnya mengandung 15-18 jenis asam amino dengan 7 diantaranya merupakan asam amino esensial (Kumar *et al.* 2011). Komposisi asam amino kolagen berbeda-beda pada setiap spesies karena adanya perbedaan struktur molekulnya (Lin dan Liu 2006). Komposisi asam amino (%) kolagen gelembung renang ikan cunang yang diekstraksi melalui proses asam dan hidrotermal disajikan pada Tabel 7.

Proses ekstraksi asam menghasilkan asam amino glisin dan leusin yang lebih tinggi secara signifikan ( $p < 0,05$ ) dibandingkan proses hidrotermal, sedangkan proses hidrotermal

Tabel 7 Komposisi asam amino kolagen berbahan baku gelembung renang

Asam amino	Komposisi asam amino (%)	
	Ekstraksi asam	Ekstraksi hidrotermal
Alanina	10,68 ± 0,01 <sup>bc</sup>	10,27 ± 0,02 <sup>ac</sup>
Arginina	8,58 ± 0,05 <sup>cc</sup>	8,93 ± 0,03 <sup>dc</sup>
Asam aspartat	4,90 ± 0,02 <sup>cc</sup>	4,21 ± 0,00 <sup>ac</sup>
Asam glutamat	8,80 ± 0,03 <sup>cc</sup>	7,96 ± 0,00 <sup>ac</sup>
Fenilalanina	2,74 ± 0,06 <sup>ac</sup>	2,22 ± 0,01 <sup>bc</sup>
Glisina	26,03 ± 0,21 <sup>ac</sup>	25,40 ± 0,01 <sup>bc</sup>
Histidina	1,23 ± 0,00 <sup>dc</sup>	1,09 ± 0,00 <sup>cc</sup>
Isoleusina	1,13 ± 0,02 <sup>ac</sup>	1,19 ± 0,00 <sup>bc</sup>
Leusina	2,54 ± 0,03 <sup>bc</sup>	2,47 ± 0,01 <sup>ab</sup>
Lisina	3,75 ± 0,06 <sup>ac</sup>	4,21 ± 0,02 <sup>bc</sup>
Metionina	2,06 ± 0,04 <sup>bc</sup>	2,05 ± 0,00 <sup>bc</sup>
Prolin	10,05 ± 0,04 <sup>ac</sup>	10,83 ± 0,03 <sup>bc</sup>
Hidroksiprolina	7,82 ± 0,03 <sup>ac</sup>	10,53 ± 0,14 <sup>dc</sup>
Serina	3,01 ± 0,03 <sup>bc</sup>	2,70 ± 0,01 <sup>ac</sup>
Sistina	0,00 ± 0,00 <sup>ac</sup>	00,00 ± 0,00 <sup>bc</sup>
Tirosina	0,64 ± 0,01 <sup>dc</sup>	0,51 ± 0,00 <sup>bc</sup>
Treonina	3,54 ± 0,00 <sup>dc</sup>	3,02 ± 0,00 <sup>bc</sup>
Valina	2,52 ± 0,05 <sup>bc</sup>	2,57 ± 0,00 <sup>cc</sup>
Total	100,00 ± 0,00 <sup>A</sup>	100,00 ± 0,00 <sup>H</sup>

Keterangan : 0,00 ± 0,00 adalah nilai yang sangat kecil/dibawah limit deteksi. <sup>a-b</sup>Nilai rataan yang diikuti oleh huruf berbeda adalah berbeda secara signifikan ( $p < 0,05$ )



Tabel 6 Rendemen ekstrak kolagen pasca-pengering beku

Sifat fisikokimia	Ekstraksi asam	Ekstraksi hidrotermal
T <sub>onset</sub> (°C)	62,22b	65,89c
T <sub>transisi</sub> (°C)	103,37c	101,70b

Keterangan: <sup>a-d</sup>Nilai rata-rata adalah sampel berpasangan; sebelum dan sesudah berbeda signifikan ( $p < 0,05$ )

menghasilkan komposisi isoleusin, lisin, prolin, sistin, serta hidroksiprolin yang lebih tinggi secara signifikan dibandingkan proses asam. Komposisi sistin tidak terdeteksi pada proses asam. Proses hidrotermal memiliki komposisi asam imino yang lebih tinggi dibandingkan proses asam.

Komposisi asam amino berperan dalam menentukan stabilitas termal karena setiap asam amino punya karakteristik termal yang berbeda, yang akan secara simultan mempertahankan denaturasi apabila massa diberikan kalor dari luar. Sifat termal kolagen hasil proses A1 dan H1 ditunjukkan pada Tabel 8.

Resistensi struktur kolagen terhadap panas memungkinkan struktur heliks tetap stabil terhadap fluktuasi suhu lingkungan. Kolagen rentan terhadap denaturasi struktur menjadi gelatin saat suhu melewati stabilitas termal kolagen (Zidek 2016). Nilai Tonset dan Ttransisi tertinggi diamati pada kolagen H1. Suhu onset adalah suatu kondisi saat struktur protein mulai terusik atau terganggu strukturnya akibat input kalor dari lingkungan. Oleh karena itu, kolagen H1 lebih sulit terdenaturasi dari kolagen A1. Suhu transisi merupakan batas kolagen mampu menampung kapasitas termal, dimana kolagen H1 mampu menampung kapasitas termal paling tinggi sehingga suhu transisi semakin tinggi (Safandowska dan Pietrucha 2013). Stabilitas termal kolagen ikan lebih tinggi dari kolagen sapi akibat eksistensi asam imino (hidroksiprolin dan hidroksilisin) yang meningkatkan kapasitas termal (Kaewdang *et al.* 2014).

## KESIMPULAN

Limbah gelembung renang memiliki proporsi 0,57-0,67% dari bobot tubuh ikan cunang, (*Muraenesox talabon*) mengandung 24,74% protein/100 gram basah (setara 93,39% protein/100 gram kering). Limbah tersebut memiliki potensi kolagen yang dicirikan

dengan kandungan asam amino glisin, prolin dan *alanina* yang tinggi. Proses ekstraksi asam maupun hidrotermal menghasilkan ekstrak kolagen berdasarkan identifikasi spektrum gugus fungsi amida I, amida II dan amida III. Kolagen yang diekstrak dengan metode asam mengandung glisin yang tinggi dari proses hidrotermal, namun sebaliknya proses hidrotermal mengandung komposisi asam amino prolin, hidroksiprolin dan alanin yang lebih tinggi. Kolagen hasil ekstraksi asam memiliki suhu transisi terbesar, sedangkan ekstrak kolagen dari proses hidrotermal memiliki suhu onset terendah.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini secara finansial didukung oleh Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) melalui Beasiswa Tesis/Disertasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical of Chemist. Arlington: The Association of Official Analytical Chemist Incorporation.
- [BPS] Badan Pusat Statistik. 2016. Produksi Perikanan Menurut Subsektor (ribu ton), 1999-2014. Jakarta: Badan Pusat Statistik.
- [FAO] Food and Agricultural Organization. 2016. Chemical Composition. <http://www.fao.org/docrep/v7180e/v7180e05.htm>
- Aberoumand A. 2012. Comparative study between different methods of collagen extraction from fish and its properties. *World Applied Sciences Journal* 16(3): 316-319.
- Chen J, Li L, Yi R, Xu N, Gao R, Hong B. 2016. Extraction and characterization of acid-soluble collagen from scales and skin of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Food Science and Technology* 66: 453-459.
- Cherim M, Mustafa A, Cadar E, Lupaşcu N,

- Paris S, Sirbu R. 2016. Collagen sources and areas of use. *European Journal of Interdisciplinary Studies* 4(1): 122-128.
- Choi JH, Behnam Sh, Kim SM. 2013. Physico-biochemical characteristics of scallop mantle collagen soluble in pepsin. *Journal Agricultural Science and Technology* 15: 293-302.
- Dempster WT. 1960. Rates of Penetration of Fixing Fluids. Michigan: Department of Anatomy, University of Michigan.
- Fernandes RMT, Couto NRG, Paschoal CWA, Rohling JH, Bezerra CWB. 2008. Collagen films from swim bladders: preparation method and properties. *Colloid Surface B* 62:17-21.
- Kaewdang O, Benjakul S, Kaewmanee T, Kishimura H. 2014. Characteristics of collagens from the swim bladders of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *Food Chemistry* 155: 264-270.
- 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.
- Lin YK, Liu DC. 2006. Comparison of physical-chemical properties of type I collagen from different species. *Food Chemistry* 99: 244-251.
- Liu D, Liang L, Regenstein JM, Zhou P. 2012. Extraction and characterisation of pepsin-solubilised collagen from fins, scales, skins, bones and swim bladders of bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*). *Food Chemistry* 133: 1441-1448.
- Liu D, Zhang X, Li T, Yang H, Zhang H, Regenstein JM, Zhou P. 2015. Extraction and characterization of acid- and pepsin-soluble collagens from the scales, skins and swim-bladders of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Food Bioscience* 9: 68-74.
- Muyonga JR, Coleb CGB, Duodu KG. 2004a. Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chemistry* 85:81-89.
- Muyonga JR, Cole CGB, Duodu KG. 2004b. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of acid soluble collagen and gelatin from skins and bones of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chemistry* 86:325-332.
- Niu L, Zhou X, Yuan C, Bai Y, Lai K, Yang F, Huang Y. 2013. Characterization of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin extracted with alkaline and different acid pretreatments. *Food Hydrocolloids* 33: 336-341.
- Nollet LML, Fidel T. 2015. Handbook of Food Analysis: Two Volume Set. Boca Raton: CRC Press.
- Safandowska M, Pietrucha K. 2013. Effect of fish collagen modification on its thermal and rheological properties. *International Journal of Biological Macromolecules* 28 (53): 32-37.
- Shon J, Eo J, Hwang SJ, Eun J. 2011. Effect of processing conditions on functional properties of collagen powder from skate (*Raja kenoi*) skins. *Food Science Biotechnology* 20(1): 99-106.
- Sinthusamran S, Benjakul S, Kishimura H. 2013. Comparative study on molecular characteristics of acid soluble collagens from skin and swim bladder of seabass (*Lates calcarifer*). *Food Chemistry* 138: 2435-2441.
- Steel RGD, Torrie JH. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistik, Suatu Pendekatan Biometrik. Penerjemah: Sumantri B. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Trilaksani W, Nurilmala M, Setiawati IH. 2012. Ekstraksi gelatin kulit ikan kakap merah (*Lutjanus sp.*) dengan proses perlakuan asam. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 15 (3): 240-251.
- Trilaksani W, Nurjanah, Utama HW. 2006. Pemanfaatan gelembung renang ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) sebagai bahan baku isinglass. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan* 9(1): 12-25.
- Tronci G, Doyle A, Russell SJ, Wood DJ. 2013. Triple-helical collagen hydrogels via covalent aromatic functionalisation with 1, 3-phenylenediacetic acid. *Journal of Materials Chemistry B*. 1(40): 5478-88.
- Walters BD, Stegemann JP. 2014. Review: Strategies for directing the structure and function of three-dimensional collagen

- biomaterials across length scales. *Acta Biomaterialia* 10: 1488-1501.
- Waters AccQ Inc. 1993. Tag Chemistry Package Instruction Manual. Millipore Waters Chromatography. California: Millipore Inc.
- Yamaguchi, K. 2002. *Bovine spongiform encephalopathy and People*. Tokyo: Iwanami Press.
- Yanuardi A. 2006. Karakteristik Kimia Gelembung Renang Ikan Patin (*Pangasius* sp.) pada Berbagai Suhu Penyimpanan [skripsi]. Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB.
- [ZFIN] The Zebrafish Model Organism Database. 2016. Swim bladder anatomy. The Zebrafish Model Organism Database Diakses pada 24 Mei 2016 <https://zfin.org/ZFA:0000076>
- Zidek J, Vojtova L, Abdel-Mohsen AM, Chmelik J, Zikmund T, Brtnikova J, Jakubicek R, Zubal L, Jan J, Kaiser J. 2016. Accurate micro-computed tomography imaging of pore spaces in collagen-based scaffold. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 1 27(6): 1-8.