

**EKSTRAKSI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN DARI TULANG IKAN
KAKAP MERAH (*Lutjanus argentimaculatus*) DAN UJI AKTIVITASNYA
SEBAGAI ANTIOKSIDAN**



**SITTI FATHIRAH KAMALUDDIN
H031 19 1094**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**EKSTRAKSI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN DARI TULANG IKAN
KAKAP MERAH (*Lutjanus argentimaculatus*) DAN UJI AKTIVITASNYA
SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

SITTI FATHIRAH KAMALUDDIN

H031 19 1094



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**EKSTRAKSI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN DARI TULANG IKAN
KAKAP MERAH (*Lutjanus argentimaculatus*) DAN UJI AKTIVITASNYA
SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

SITTI FATHIRAH KAMALUDDIN

H031 19 1094

Skripsi

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Kimia

pada

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

SKRIPSI

EKSTRAKSI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN DARI TULANG IKAN KAKAP MERAH (*Lutjanus argentimaculatus*) DAN UJI AKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN

SITTI FATHIRAH KAMALUDDIN
H031191094

Skripsi,

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Program Studi Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Hasanuddin

Pada 30 Mei 2024

dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Program Studi Kimia

Departemen Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Hasanuddin

Makassar

Mengesahkan:

Pembimbing Tugas Akhir,



Dr. Rugaiyah A. Arfah, M.Si

NIP 19611231 198702 2 002

Mengetahui:

Ketua Program Studi,



Dr. St. Fauziah, M.Si

NIP 19720202 199903 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul “Ekstraksi Dan Karakterisasi Kolagen dari Tulang Ikan Kakap Merah (*Lutjanus argentimaculatus*) dan Uji Aktivitasnya Sebagai Antioksidan” adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (Dr. Rugaiyah A. Arfah, M.Si dan Dr. Nur Umriani Permatasari, M. Si). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 12 Juni 2024



Sitti Fathirah Kamaluddin
NIM H031191094

Ucapan Terimakasih

Penelitian yang saya lakukan dapat terlaksana dengan sukses dan skripsi ini dapat terampungkan atas bimbingan, diskusi dan arahan Ibu Dr. Rugaiyah A. Arfah, M.Si sebagai pembimbing utama dan Ibu Dr. Nur Umriani Permatasari, M.Si sebagai pembimbing pertama. Saya mengucapkan berlimpah terima kasih kepada mereka. Terima kasih juga saya sampaikan kepada Bapak Dr. Syahrudin Kasim, M.Si dan Ibu Prof. Paulina Taba, M.Phil., Ph.D., selaku tim dosen penguji yang telah meluangkan waktunya untuk memberi saran dan masukan selama proses penyusunan skripsi ini. Penghargaan yang tinggi juga saya sampaikan kepada

Kepada ketua Departemen Kimia, Ibu Dr. St. Fauziah, M.Si. dan sekretaris Departemen Kimia, Ibu Dr. Nur Umriani Permatasari, M.Si., serta seluruh dosen Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin yang telah membagi ilmu kepada penulis selama menempuh pendidikan. Para staf dan seluruh analis Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, terkhusus Kak Siti Khairunnur atas kesempatan untuk menggunakan fasilitas dan peralatan di Laboratorium Biokimia dan ibu Tini, selaku analis Laboratorium Kimia Terpadu (FTIR) yang telah sabar dan membantu peneliti selama ini.

Teristimewa kepada Ibu penulis Ibu Andi Mulia terima kasih karena sudah mengantarkanku ke tempat ini dengan segala perhatian, kasih sayang, pengorbanan baik dari materi maupun waktu, motivasi serta do'a yang tiada henti untuk penulis. Terima kasih juga kepada kakak saya yang tiada hentinya memberikan waktu untuk adiknya. Teman-teman seangkatan Tugas Kelar dan Konfigurasi 2019 yang selalu melukis cerita bersama, menemani dalam suka maupun duka, dan menghiasi perkuliahan. Terimakasih pula kepada teman-teman peneliti Biokimia 2019, Lala dan Eca yang juga membantu dan berjuang bersama dalam penelitian dan penyusunan skripsi.

Penulis,

Sitti Fathirah Kamaluddin

ABSTRAK

SITTI FATHIRAH KAMALUDDIN. **Ekstraksi Dan Karakterisasi Kolagen Dari Tulang Ikan Kakap Merah (*Lutjanus argentimaculatus*) dan Uji Aktivitasnya Sebagai Antioksidan** (dibimbing oleh Rugaiyah A. Arfah dan Nur Umriani Permatasari).

Latar Belakang. Ikan kakap merah (*Lutjanus argentimaculatus*) merupakan salah satu ikan karang yang banyak dikonsumsi. Pemanfaatan limbah dari tulang ikan kakap merah sebagai sumber kolagen menjadi alternatif lain selain tulang sapi atau babi. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi optimum proses ekstraksi, karakteristik, serta menghitung aktivitas antioksidan kolagen tulang ikan kakap merah. **Metode.** Kolagen tulang ikan kakap merah diperoleh melalui dua tahap. Tahap pertama yaitu tahap pretreatment dengan larutan NaOH 0,075 M selama 10 jam. Tahap kedua yaitu tahap ekstraksi. Optimasi ekstraksi kolagen ditentukan melalui *Response Surface Methodology* (RSM) dengan dua variabel yaitu konsentrasi CH_3COOH dan waktu perendaman terhadap rendemen kolagen. Rendemen kolagen kering yang dihasilkan kemudian dikarakterisasi dengan *Fourier Transform Infrared* (FTIR) dan *Ultra Performance Liquid Chromatography* (UPLC), serta dilakukan uji antioksidan. **Hasil.** Hasil analisis statistik ANOVA menunjukkan bahwa variabel konsentrasi dan waktu perendaman berpengaruh secara signifikan terhadap rendemen. Kondisi optimum ekstraksi yaitu menggunakan kombinasi variabel konsentrasi CH_3COOH 0,19 M dengan waktu perendaman selama 58 jam menghasilkan rendemen kolagen sebesar 0,4%. Kolagen tulang ikan kakap merah memiliki karakteristik dengan kadar air 10,02%, kadar abu 1,39%, kadar protein 47,36%, dan pH 6,34. Kolagen tulang ikan kakap merah menunjukkan puncak serapan amida A, B, I, II, dan III yang mirip dengan kolagen pembanding. Hasil analisis UPLC menunjukkan asam amino tertinggi yaitu glisin (3,30%), prolin (1,55%), dan asam glutamat (1,49%). Aktivitas antioksidan kolagen diperoleh nilai IC_{50} sebesar 601,27 mg/L dan termasuk golongan antioksidan sangat lemah.

Kata kunci: Antioksidan; Kolagen; RSM; Tulang Ikan Kakap Merah; UPLC

ABSTRACT

SITTI FATHIRAH KAMALUDDIN. **Extraction and Characterization of Collagen from Red Snapper (*Lutjanus argentimaculatus*) Bones and Testing of Activity as an Antioxidant** (supervised by Rugaiyah A. Arfah and Nur Umriani Permatasari).

Background. Red snapper (*Lutjanus argentimaculatus*) is one of the coral fish that is widely consumed. Utilizing waste from red snapper bones as a source of collagen is another alternative to beef or pork bones. **Aim.** This research was to determine the optimum conditions for the extraction process, characteristics, and calculate the antioxidant activity of collagen from red snapper bone. **Methods.** Collagen of red snapper bone is obtained in two phases. The first phase is the pretreatment with 0.075 M NaOH solution for 10 hours. The second phase is the extraction. Optimization of collagen extraction was determined using Response Surface Methodology (RSM) with two variables, namely CH₃COOH concentration and soaking time on collagen yield. The dried collagen yields were then characterized by Fourier Transform Infrared (FTIR) and Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC), and tested for antioxidants. **Results.** The optimum extraction conditions were using a variable combination of 0.19 M CH₃COOH with a soaking time of 58 hours resulting in a collagen yield of 0.4%. Characteristic of red snapper bone collagen had 10,02% of water content, 1,39% of ash content, 47,36% of protein content, and pH of 6,34. Collagen of red snapper bone shows amide functional groups A, B, I, II, and III which were similar to commercial collagen. The UPLC analysis results showed that the highest amino acids were glycine (3,30%), proline (1,55%), and glutamic acid (1,49%). The antioxidant activity of collagen obtained an IC₅₀ value of 601.27 mg/L and was included in the very weak antioxidant group.

Keywords: Antioxidant; Collagen; Red snapper; RSM; UPLC

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
PERNYATAAN PENGAJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
BAB II METODE PENELITIAN	3
2.1 Bahan Penelitian	3
2.2 Alat Penelitian	3
2.3 Waktu dan Tempat Penelitian	3
2.4 Prosedur Penelitian	3
2.4.1 Preparasi Sampel	3
2.4.2 <i>Pretreatment</i> Kolagen	3
2.4.3 Analisis Protein terlarut dengan Metode Lowry	4
2.4.4 Desain Eksperimen Metode RSM	4
2.4.5 Pengaruh Kosentrasi Asam Asetat dan Waktu Perendaman terhadap Rendemen Kolagen dari Tulang Ikan Kakap Merah dengan Metode RSM	4

2.4.6	Produksi Kolagen Tulang Ikan Kakap Merah pada Kondisi Optimum	4
2.4.7	Analisis Rendemen	5
2.4.8	Karakterisasi Kolagen Tulang Ikan Kakap Merah	5
2.4.8.1	Analisis Kadar Air	5
2.4.8.2	Analisis Kadar Abu	6
2.4.8.3	Analisis Kadar Protein dengan Metode Kjeldahl.....	6
2.4.8.4	Analisis pH	7
2.4.8.5	Analisis Asam Amino	7
2.4.8.6	Analisis Gugus Fungsi dengan FTIR	7
2.4.9	Uji Aktivitas Antioksidan	8
2.4.9.1	Pembuatan larutan DPPH 0,4 mM	8
2.4.9.2	Pembuatan Larutan Standar Asam Askorbat 500 mg/L	8
2.4.9.3	Pembuatan Larutan Induk Sampel Kolagen 1000 mg/L	8
2.4.9.4	Penentuan Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat dengan Metode DPPH	8
2.4.9.5	Penentuan Aktivitas Antioksidan Kolagen dengan Metode DPPH	8
BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN		10
3.1	<i>Pretreatment</i> Kolagen	10
3.2	Optimasi Ekstraksi Kolagen	10
3.3	Analisis Rendemen Kolagen TIKM	13
3.4	Karakterisasi Tulang Ikan Kakap Merah (TIKM)	14
3.4.1	Analisis Kadar Proksimat Kolagen TIKM	14
3.4.2	Analisis pH	16
3.4.3	Analisis Asam Amino dengan UPLC.....	16
3.4.4	Analisis Gugus Fungsi dengan FTIR	17
3.4.5	Uji Aktivitas Antioksidan	19
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN		21
4.1	Kesimpulan	21
4.2	Saran	21
DAFTAR PUSTAKA		22

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. <i>Analysis of Variant</i> (ANOVA) Konsentrasi Asam Asetat (M) dan Waktu Perendaman (Jam)	11
2. Rendemen Kolagen Tulang Ikan Kakap Merah dan Beberapa Sumber Lainnya	13
3. Komposisi Proksimat Tulang Ikan Kakap Merah dan Ikan Lainnya ...	14
4. Hasil Analisis Asam Amino Kolagen TIKM	16
5. Karakteristik Gugus Fungsi Kolagen	18
6. Aktivitas Antioksidan Kolagen Tulang Ikan Kakap Merah	20
7. Data Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat	20

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Penentuan Titik Optimum	12
2. Kolagen TIKM	14
3. Spektrum Infra Merah Kolagen Standar dan Kolagen TIKM	17
4. Plot Kontur Optimasi Produksi Kolagen TIKM	41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan Alir Penelitian	26
2. Peta Tempat Pengambilan Sampel Tulang Ikan Kakap Merah	27
3. Perhitungan Pembuatan Larutan	28
4. Perhitungan Optimasi Rendemen Kolagen TIKM	32
5. Perhitungan Validasi Kondisi Optimum TIKM	35
6. Perhitungan Kadar Air	36
7. Perhitungan Kadar Abu	37
8. Perhitungan Kadar Protein	38
9. Perhitungan Rendemen Produksi Kolagen TIKM	39
10. Data Uji Lowry Larutan NaOH Hasil Perendaman	40
11. Plot Kontur Optimasi Produksi Kolagen TIKM	41
12. Perhitungan Kadar Asam Amino Kolagen TIKM	42
13. Data Penentuan Komposisi Asam Amino Kolagen TIKM	43
14. Kromatogram Analisis Asam Amino Kolagen TIKM	44
15. Kromatogram Analisis Standar Asam Amino	45
16. Spektrum Infra Merah Kolagen TIKM	46
17. Spektrum Infra Merah Standar Kolagen	47
18. Data Aktivitas Antioksidan	48

DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Arti
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
AOAC	Association of Official Analytical Chemist
TIKM	Tulang Ikan Kakap Merah
UPLC	Ultra Performance Liquid Chromatography
FTIR	Fourier Transform Infrared
UV-Vis	Ultra-Violet Visible
RSM	Response Surface Methodology
AABA	Alfa Amino Butyric Acid
SNI	Standar Nasional Indonesia

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan kakap merah (*Lutjanus argentimaculatus*) atau disebut juga *snapper red* menjadi komoditas ikan karang yang paling banyak dieksploitasi dan salah satu jenis ikan yang memiliki harga jual relatif mahal dibandingkan dengan jenis ikan karang lainnya (Singkuku dkk., 2017). Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP) mencatat bahwa Indonesia memproduksi ikan kakap sebanyak 312.945 ton pada tahun 2021. Jumlah tersebut mengalami kenaikan 4,32% dibandingkan pada tahun sebelumnya yakni sebanyak 299.996 ton. Total produksi perikanan tangkap yang meningkat pesat berbanding lurus dengan jumlah hasil samping produk. Hal ini disebabkan pada umumnya bagian dari ikan yang dikonsumsi oleh manusia adalah daging, sedangkan sisanya menjadi limbah (Destiana dan Sari, 2018). Besarnya sisa pengolahan yang tidak dimanfaatkan dapat menimbulkan efek negatif pada kelestarian dan keseimbangan lingkungan. Sementara itu, limbah pengolahan ikan seperti tulang, kulit, dan sisik ikan juga mengandung jaringan ikat dan protein yang disebut kolagen (Romadhon dkk., 2019).

Kolagen merupakan komponen struktural utama dari jaringan pengikat putih (*white connective tissue*) pada jaringan organ tubuh vertebrata dan invertebrata (Sembiring dkk., 2020). Setiap ikan memiliki kandungan kolagen dan sifat fisika kimia yang berbeda-beda berdasarkan sumber dan cara ekstraksinya (Astiana dkk., 2016). Ekstraksi kolagen dari kulit atau tulang ikan dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu metode kimiawi dan metode kombinasi secara kimiawi dan enzimatis (Muthumari dkk., 2016). Ekstraksi secara kimiawi dapat melalui proses asam atau basa. Ekstraksi kolagen menggunakan asam sangat cocok untuk bahan baku yang memiliki struktur kolagen dengan ikatan silang yang sedikit, misalnya pada sampel kulit dan tulang ikan. Selain itu, proses basa umumnya digunakan untuk bahan baku yang memiliki ikatan silang lebih padat dan kompleks seperti tulang dan kulit sapi (Alhana dkk., 2015). Efisiensi proses ekstraksi kolagen dapat dipengaruhi oleh banyak faktor seperti konsentrasi asam, waktu ekstraksi, kecepatan pengadukan, dan rasio cairan terhadap padat. Faktor-faktor ekstraksi yang dibuat bervariasi menyebabkan diperlukannya suatu metode yang efektif untuk mencari optimasi dari proses ekstraksi, yaitu *Response Surface Methodology* (RSM) (Kiew dan Don, 2012).

Response Surface Methodology (RSM) adalah metode matematika teknik yang menghubungkan variabel bebas terhadap respons kemudian menghasilkan persamaan regresi yang mewakili keterkaitan antara parameter *input* dan properti *output* (Kiew dan Don, 2012). Gagasan utama dari metode RSM adalah untuk mengetahui pengaruh variabel bebas terhadap respons, mendapatkan model hubungan antara variabel bebas dan respon serta mendapatkan kondisi proses yang menghasilkan respon terbaik. Metode RSM diharapkan dapat membantu peneliti untuk menentukan kondisi operasi yang optimum sehingga dapat menghemat biaya, waktu, dan tenaga (Prabudi dkk., 2018).

Kolagen dapat digunakan diberbagai industri seperti makanan, farmasi, medis, dan kosmetik (Sionkowksa dkk., 2020). Kolagen dalam produk kosmetik pelembab kulit dapat berperan sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif, sehingga dapat menghambat kerusakan sel (Ardhani dkk., 2019). Aktivitas antioksidan kolagen dapat diukur menggunakan beberapa metode salah satunya menggunakan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) (Adawiah dkk., 2015). Metode DPPH merupakan metode yang cepat, mudah, dan efisien untuk menentukan aktivitas antioksidan (Ding dkk., 2019).

Bedasarkan uraian pada latar belakang, maka penelitian mengenai ekstraksi dan karakterisasi kolagen dari tulang ikan kakap merah dilakukan untuk melihat pengaruh konsentrasi asam asetat dan waktu perendaman pada ekstraksi. Kolagen yang dihasilkan dikarakterisasi serta dilakukan uji antioksidan dari tulang ikan kakap merah.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. berapa rendemen kolagen tulang ikan kakap merah (*Lutjanus argentimaculatus*) yang dapat diperoleh dari hasil ekstraksi pada kondisi optimum dengan metode *Response Surface Methodology* (RSM)?
2. bagaimana karakteristik kolagen dari tulang ikan kakap merah (*Lutjanus argentimaculatus*)?
3. bagaimana aktivitas antioksidan kolagen dari tulang ikan kakap merah (*Lutjanus argentimaculatus*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dalam penelitian ini adalah:

1. menentukan kondisi optimum (konsentrasi asam asetat dan waktu perendaman) terhadap rendemen kolagen tulang ikan kakap merah (*Lutjanus argentimaculatus*) dari hasil ekstraksi kolagen dengan metode *Response Surface Methodology* (RSM),
2. menganalisis karakteristik (kadar air, kadar abu, protein, pH, asam amino, dan gugus fungsi) kolagen dari tulang ikan kakap merah (*Lutjanus argentimaculatus*),
3. menghitung aktivitas antioksidan kolagen dari tulang ikan kakap merah (*Lutjanus argentimaculatus*).

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan mampu sebagai upaya mengatasi dan mengurangi hasil limbah perikanan serta memberikan informasi karakteristik fisikokimia kolagen yang terdapat pada tulang ikan kakap merah (*Lutjanus argentimaculatus*).