

ISOLASI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN DARI KULIT

IKAN TAWES (*Barbonymus gonionotus*)

AWAL S

H311 16 511



**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

ISOLASI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN DARI KULIT

IKAN TAWES (*Barbonymus gonionotus*)

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains*

Oleh:

**AWAL S
H311 16 511**



MAKASSAR

2021

LEMBAR PENGESAHAN (TUGAS AKHIR)

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN DARI KULIT IKAN
TAWES (*Barbonymus gonionotus*)**

Disusun dan diajukan oleh:

AWAL S

H311 16 511

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin pada tanggal 03 Agustus 2021 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pertama,



Dr. Rugaiyah A Arfah, M.Si
NIP. 19611231 198702 2 002



Abdur Rahman Arif, S.Si, M.Si.
NIP. 19861008 201504 1 002

Ketua Departemen Kimia,



Dr. Abd. Karim, M.Si

NIP. 19620710 198803 1 002

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Awal S
NIM : H311 16 511
Program Studi : Kimia
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul:

ISOLASI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN DARI KULIT
IKAN TAWES (*Barbonymus gonionotus*)

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 03 Agustus 2021

Yang menyatakan,


Awal S

PRAKATA

Segala puji milik Allah SWT, *Rabb* semesta alam, yang senantiasa memberikan rahmat dan karunia-Nya serta kemudahan, sehingga kami dapat menyusun dan menyelesaikan penelitian ini dengan judul “**Isolasi dan Karakterisasi Kolagen dari Kulit Ikan Tawes (*Barbonymus gonionotus*)**” sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains. Shalawat dan salam semoga tetap tercurah kepada nabiyullah Muhammad SAW, juga atas segenap keluarga, para sahabat, para *tabi'in* dan *tabi at-tabi'in* serta para pengikutnya hingga akhir zaman.

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada ibu Dr. Rugaiyah A. Arfah, M.Si dan bapak Abdur Rahman Arif, S.Si., M.Si., selaku dosen pembimbing yang dengan penuh kesabaran, ketelatenan dan keikhlasan telah meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan serta pengarahan selama penyusunan skripsi ini, kedua orang tua saya tercinta, ibu dan bapak dosen penguji Dr. Nursiah La Nafie, M.Sc dan Muhammad Zakir, S.Si, M.Si, D.Sc., yang telah meluangkan waktunya untuk memberi saran dan masukan yang sangat berharga, Bapak dan Ibu Dosen Departemen Kimia FMIPA Unhas, serta teman-teman seperjuangan kromofor16, MIPA 2016 dan semua pihak yang tidak dapat penulis tuliskan satu persatu, *jzazakumullahu khairan*.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan proposal ini, oleh karena itu saran dan kritik yang bersifat membangun sangat penulis harapkan, agar tercipta karya yang lebih baik lagi kedepannya.

Penulis

2021

ABSTRAK

Kolagen adalah protein utama penyusun jaringan ikat yang ditemukan di kulit, tulang, tendon, pembuluh darah, dan kornea mata. Kolagen dapat dihasilkan dari ikan terutama pada bagian kulit dan tulang. Kulit ikan tawes (*Barbonymus gonionotus*) merupakan salah satu bahan yang berpotensi sebagai sumber kolagen. Penelitian ini bertujuan mengisolasi kolagen dengan metode kolagen larut asam, dan menentukan karakteristik dengan melihat gugus fungsi kolagen kulit ikan tawes menggunakan *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR) serta asam amino kolagen menggunakan *Ultra Performance Liquid Chromatography* (UPLC). Isolasi kolagen terdiri atas praperlakuan dan ekstraksi dengan asam. Praperlakuan menggunakan NaOH 0,075 M dan ekstraksi menggunakan CH₃COOH 1 M selama 4 jam. Kolagen kulit ikan tawes memiliki rendemen 2,84%, kadar air 15,81%, kadar abu 0,15%, kadar protein 74,09% dan pH 5,9. Hasil analisis FTIR pada wilayah serapan khusus gugus fungsi kolagen yaitu NH (3421,72 cm⁻¹), CH₂ (2924,09 cm⁻¹), C=O (1654,92 cm⁻¹), CN dan NH (1544,98 cm⁻¹), NH dan CN (1242,18 cm⁻¹). Hasil UPLC menunjukkan asam amino tertinggi yaitu glisin, prolin dan arginin dengan nilai 23,31%, 10,80% dan 8,23%.

Kata Kunci: Kulit ikan tawes, kolagen, isolasi, FTIR, UPLC.

ABSTRACT

The collagen is the main protein for making up connective tissue that able to be found in skin, bones, tendons, blood vessels, and corneas of the eye. The collagen can be produced from fish, especially in the skin and bones. The Tawes skin (*Barbonymus gonionotus*) is one material that has the potential as a source of collagen. This study aims to isolate collagen by the acid soluble collagen method and determine the structural characteristics with look at the functional groups in the collagen scales of the parrot fish with the Fourier Transform Infra-Red (FTIR) Spectroscopy and collagen amino acids using Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC). The collagen isolation consists of pretreatment and extraction with acids. The pretreatment used 0.075 M NaOH as well as extraction used CH₃COOH 1 M for 4 hours. The parrot fish scales have a yield of 2.84%, 15.81% moisture content, 0.15% ash content, and 74.09% protein content, and 5.9 pH. The results of FTIR analysis in the specific absorption area of the collagen functional groups appeared on NH (3421,72 cm⁻¹), CH₂ (2924,09 cm⁻¹), C=O (1654,92 cm⁻¹), CN and NH (1544,98 cm⁻¹), NH and CN (1242,18 cm⁻¹). The UPLC results showed that the highest amino acid were glycine, proline and arginine with the following values being 23.31%, 10.80% and 8.23%.

Keywords: Skin of tawes fish, collagen, isolation, FTIR, UPLC.

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA.....	v
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR ARTI SIMBOL DAN SINGKATAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Maksud Penelitian.....	4
1.3.2 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Kolagen.....	5
2.1.1 Struktur Kolagen.....	6
2.1.2 Manfaat Kolagen.....	10
2.1.3 Ekstraksi Kolagen.....	11
2.2 Ikan Tawes.....	14

2.2.1 Klasifikasi Ikan Tawes	15
2.2.2 Morfologi Ikan Tawes	16
2.2.3 Habitat Hidup	16
2.2.4 Makanan dan Cara Makan	16
BAB III METODE PENELITIAN.....	18
3.1 Bahan Penelitian.....	18
3.2 Alat Penelitian	18
3.3 Waktu dan tempat	18
3.3.1 Waktu dan tempat pengambilan sampel.....	18
3.3.2 Waktu dan tempat penelitian.....	19
3.4 Prosedur Penelitian.....	19
3.4.1 Pembuatan Pereaksi.....	19
3.4.1.1 Pembuatan larutan induk NaOH 1 M	19
3.4.1.2 Pembuatan deret standar NaOH	19
3.4.1.3 Pembuatan larutan induk CH ₃ COOH 5 M	19
3.4.1.4 Pembuatan deret standar CH ₃ COOH	20
3.1.1.4 Pembuatan larutan Lowry A	20
3.1.1.5 Pembuatan larutan Lowry B.....	20
3.4.2 Preparasi Sampel	20
3.4.3 Optimasi Ekstraksi Kolagen.....	20
3.4.4 Karakterisasi kolagen kulit ikan tawes.....	22
3.4.4.1 Penentuan Kadar Air	22
3.4.4.2 Penentuan Kadar Abu.....	22
3.4.4.3 Penentuan Kadar Protein.....	23
3.4.4.4 Penentuan Derajat Pengembangan	24

3.4.4.5 Analisis protein terlarut (Lowry).....	24
3.4.4.6 Penentuan rendamen kolagen kulit ikan tawes	24
3.4.4.7 Analisis gugus fungsi dengan FTIR	25
3.4.4.8 Penentuan derajat asam (pH)	25
3.4.4.9 Penentuan komposisi asam amino kolagen (UPLC)	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	27
4.1 proksimat kulit ikan tawes.....	27
4.2 Optimasi ekstraksi kolagen	28
4.3 Rendamen kolagen kulit ikan tawes	34
4.4 karakterisasi kolagen kulit ikan tawes.....	35
4.4.1 Proksimat kolagen kulit ikan tawes.....	35
4.4.2 Derajat keasaman (pH) kolagen	37
4.4.3 Gugus fungsi kolagen (FTIR)	38
4.4.4 komposisi asam amino kolagen (UPLC)	41
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	43
5.1 Kesimpulan.....	43
5.2 Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN.....	51

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Peranan kolagen dalam proses penyembuhan luka.....	10
2. Ekstraksi kolagen larut asam	22
3. Komposisi proksimat kulit ikan tawes dan beberapa ikan lainnya	27
4. Rendamen kolagen kulit ikan tawes	34
5. Komposisi proksimat kolagen kulit ikan tawes	36
6. Karakteristik gugus fungsi kolagen.....	38
7. Hasil asam amino kolagen kulit ikan tawes	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Kolagen	6
2. Ikatan hidrogen intramolekul pada struktur <i>triple helix</i> kolagen	7
3. Susunan molekul tropokolagen	7
4. Struktur <i>triple helix</i> kolagen	9
5. Ikan tawes.....	15
6. Reaksi pada uji lowry	29
7. Data pengaruh konsentrasi NaOH terhadap konsentrasi protein	30
8. Reaksi NaOH dengan protein.....	31
9. Data pengaruh konsentrasi CH ₃ COOH terhadap DP kulit ikan tawes..	32
10. Proses dialisis kolagen	33
11. Reaksi AgNO ₃ dengan NaCl.....	33
12. Kolagen kulit ikan tawes	35
13. Spektrum inframerah kolagen	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan Alir Penelitian	51
2. Perhitungan kadar air	53
3. Perhitungan kadar abu.....	54
4. Perhitungan kadar protein	55
5. Perhitungan rendamen kolagen	56
6. Perhitungan derajat pengembangan	57
7. Data uji lowry larutan NaOH hasil perendaman	58
8. Spektrum infra merah kolagen kulit ikan tawes.....	59
9. Spektrum infra merah kolagen komersial	60
10. Perhitungan kadar asam amino kolagen.....	61
11. Data penentuan komposisi asam amino kolagen	62
12. Kromatogram analisis asam amino kolagen	63
13. Kromatogram standar asam amino.....	65
13. Tahap optimasi ekstraksi kolagen kulit ikan tawes.....	67

DAFTAR ARTI SIMBOL DAN SINGKATAN

Simbol/Singkatan	Arti
ASC	Acid Soluble Collagen
PSC	Pepsin Solube Collagen
FTIR	Fourier Transform Infra Red
UPLC	Ultra Performance Liquid Chromatography
KKP	Kementerian Kelautan dan Perikanan
KA	Kulit hasil perendaman NaOH konsentrasi terbaik
KA1	Kulit ikan tawes direndam dengan NaOH konsentrasi terbaik dan CH ₃ COOH 0.50 M
KA2	Kulit ikan tawes direndam dengan NaOH konsentrasi terbaik dan CH ₃ COOH 0.75 M
KA3	Kulit ikan tawes direndam dengan NaOH konsentrasi terbaik dan CH ₃ COOH 1 M

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara kepulauan terbesar di dunia dengan wilayah perairan yang lebih luas dibanding luas daratannya. Luas total perairan Indonesia yaitu 6,400 juta km². Selain itu Indonesia memiliki garis pantai terpanjang kedua di dunia setelah Kanada dengan panjang 108 ribu km (KKP, 2018). Kondisi tersebut menjadikan Indonesia memiliki potensi sumber daya perikanan yang melimpah, menurut Badan Pusat Statistik (2017), total produksi perikanan nasional pada tahun 2017 sebesar 23,26 juta ton, dari sub sektor perikanan tangkap 6,04 juta ton dan perikanan budidaya 17,22 juta ton. Keanekaragaman jenis ikan di Indonesia sangat tinggi, terdapat kurang lebih 8500 jenis ikan, dengan jumlah 800 jenis ikan terdapat pada perairan air tawar dan payau. Salah satu jenis ikan tersebut yakni ikan tawes.

Ikan tawes adalah jenis ikan air tawar anggota suku *Cyprinidae*, produksi ikan tawes terus mengalami peningkatan setiap tahunnya. Produksi ikan tawes pada tahun 2014, 2015, dan 2016 berturut-turut sebesar 28.300 ton, 32.600 ton, dan 39.100 ton (KKP, 2016). Kelimpahan ikan tawes tersebar di berbagai wilayah perairan Indonesia, diantaranya di wilayah Kecamatan Belawa, Kabupaten Wajo Provinsi Sulawesi-selatan, kelimpahan tersebut disebabkan Kecamatan Belawa diapit oleh dua danau besar yaitu danau tempe dan danau sidenreng, namun pemanfaatannya masih sebatas daging untuk konsumsi ataupun dijual, sehingga bagian yang lain tidak dimanfaatkan dan berpotensi menjadi limbah di lingkungan. Limbah yang dihasilkan akan bernilai ekonomis jika dilakukan pengolahan lebih

lanjut. Salah satu upaya untuk memanfaatkan limbah tersebut adalah mengolah limbah kulit ikan tawes untuk dijadikan sebagai bahan baku pembuatan kolagen.

Kolagen adalah salah satu dari jaringan ikat utama protein hewani. Kolagen merupakan protein yang paling melimpah dalam jaringan hewan dengan proporsi 30% dari total protein tubuh sebagai komponen utama dari jaringan ikat, otot, gusi dan kulit (Kittiphattanabawon, 2005). Lee dkk. (2001) menyatakan bahwa kolagen merupakan biomaterial yang penting dalam aplikasi medis karena memiliki karakteristik khusus yaitu bersifat *biodegradable*. Kolagen juga berperan penting dalam pembentukan jaringan dan organ, serta terlibat dalam berbagai ekspresi fungsional sel. Kittiphattanabawon dkk. (2005) menyatakan bahwa selain untuk aplikasi medis, kolagen juga sudah dimanfaatkan untuk industri film, farmasi, kosmetik, dan makanan. Industri kolagen saat ini sudah banyak dikembangkan, namun sebagian besar kolagen tersebut diproduksi dari kulit dan tulang sapi maupun babi. Kolagen dari sumber tersebut kurang sesuai dengan keyakinan agama tertentu (Pranoto dkk., 2007). Selain itu kolagen dari sumber tersebut dikhawatirkan menimbulkan beberapa resiko penyakit diantaranya flu babi, sapi gila, dan kaki mulut (Jongjareonrak dkk. 2005).

Kittiphattanabawon dkk., (2010) menyatakan bahwa kolagen dapat dihasilkan dari ikan terutama pada bagian kulit dan tulang. Kolagen yang bersumber dari ikan memiliki struktur molekul yang lebih kecil dibandingkan dengan kolagen yang terbuat dari sapi atau babi sehingga lebih mudah untuk diserap oleh tubuh selain itu kolagen ikan juga memiliki protein struktural yang kompleks (Kumar dkk., 2011). Devi dkk. (2017) menyatakan bahwa, kulit ikan merupakan bahan baku yang baik untuk mengisolasi kolagen karena kolagen merupakan

penyusun 80% protein yang terdapat pada kulit ikan. Menurut Nurilmala dkk. (2017) kulit memiliki kandungan kolagen yang lebih tinggi dibandingkan pada bagian tulang. Kolagen dari kulit ikan lebih mudah untuk diekstraksi daripada kolagen dari tulang ikan. Hal ini disebabkan kulit ikan memiliki tekstur yang lebih lunak dibandingkan dengan tulang.

Kolagen dapat diperoleh melalui proses isolasi dari kulit ikan, penelitian terkait isolasi kolagen dari kulit ikan telah dilakukan oleh Sahubawa dan Putra (2013) mendapatkan rendemen kolagen dari kulit ikan nila hitam sebanyak 5,96%. Selain itu pada penelitian Mayasari (2016) mendapatkan rendamen kolagen kulit ikan tuna sebanyak 5,00%, dan penelitian Komala (2015) mendapatkan rendamen kolagen kulit ikan tongkol sebanyak 7,46%. Suptijah dkk. (2018) menyatakan bahwa, proksimat kolagen kulit ikan patin mengandung air 6,55%, abu 1,80%, protein 64,74% dan komposisi asam amino yang dominan adalah glisin, prolin, alanin, arginin dan glutamat. Analisis FTIR menunjukkan adanya gugus amida A, amida B, amida I, amida II dan amida III. Untuk mengetahui rendemen yang dihasilkan adalah kolagen maka spektrum inframerah yang dihasilkan dibandingkan dengan spektrum inframerah kolagen standar.

Produksi kolagen dalam negeri sampai saat ini masih belum optimal. Data International Trade Center (2016) menyebutkan bahwa impor gelatin termasuk kolagen ke Indonesia dengan HS Code 3503 pada Tahun 2015 adalah 4.109 ton dengan nilai mencapai US\$ 31.741.000. Oleh karena itu maka dilakukanlah penelitian untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi kolagen dari kulit ikan tawes.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. bagaimana kondisi optimum proses ekstraksi kolagen dari kulit ikan tawes?
2. berapa rendamen kolagen yang diperoleh dari proses ekstraksi kolagen kulit ikan tawes pada kondisi optimum ?
3. bagaimana karakteristik kolagen yang diekstraksi dari kulit ikan tawes ?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Maksud penelitian ini adalah untuk menentukan karakteristik kolagen yang diekstrak dari kulit ikan tawes.

1.3.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. menentukan kondisi optimum (konsentrasi NaOH, asam asetat dan waktu perendaman) pada proses ekstraksi kolagen dari kulit ikan tawes.
2. menentukan rendamen kolagen yang terdapat pada kulit ikan tawes pada kondisi optimum.
3. mengkarakterisasi kolagen dari kulit ikan tawes.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini yaitu:

1. sebagai upaya untuk memanfaatkan limbah kulit ikan tawes.
2. memberikan informasi mengenai pengolahan kulit ikan tawes menjadi kolagen.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

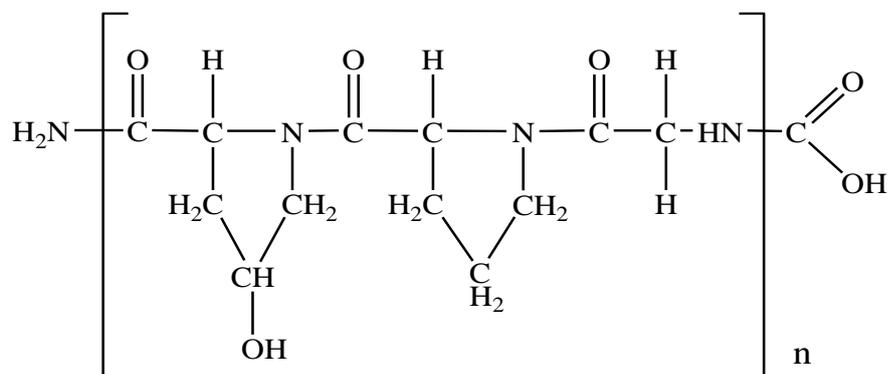
2.1 Kolagen

Kolagen berasal dari bahasa Yunani yakni “*cola*” yang berarti lem (*glue*) dan “*genno*” yang berarti kelahiran (*birth*). Hal ini disebabkan karakteristik kolagen yang melekatkan sel untuk membentuk kerangka jaringan dan organ tubuh. Molekul kolagen berdiameter 1,5 nm dengan panjang 280 nm dan berat molekulnya 290.000 Dalton. Kandungan kolagen berupa tiga rantai polipeptida dengan lebih dari 1000 asam amino di masing-masing rantainya. Kolagen adalah protein serabut yang memberikan kekuatan dan fleksibilitas pada jaringan dan tulang serta memegang peranan penting bagi jaringan lainnya, termasuk kulit dan tendon. Senyawa ini merupakan protein utama yang menyusun komponen matrik ekstraseluler (Asyiraf, 2011).

Sumber kolagen yang paling banyak di pasaran umumnya berasal dari kulit dan tulang sapi ataupun babi. Kolagen dari sumber tersebut kurang sesuai dengan keyakinan agama tertentu (Pranoto, 2007), sehingga diperlukan alternatif sumber kolagen yang aman dan halal. Salah satu biota perairan yang berpotensi sebagai sumber kolagen adalah ikan. Kulit ikan yang merupakan hasil samping pengolahan filet ikan dari berbagai perusahaan industri pengolahan produk perikanan dianggap sebagai limbah, sehingga pemanfaatan kulit ikan sebagai sumber kolagen alternatif tidak hanya dapat mengurangi jumlah limbah industri pengolahan, tetapi sekaligus juga meningkatkan nilai tambah limbah tersebut. Friess (1998), menyatakan bahwa lebih dari 50 % protein ekstra-seluler pada kulit merupakan kolagen.

2.1.1 Struktur Kolagen

Kolagen yang paling banyak dikenal adalah kolagen tipe I yang terdiri dari tiga rantai α polipeptida. Kolagen tipe I paling banyak terdapat pada bagian tubuh yang lunak seperti kulit dan tendon maupun bagian tubuh yang keras seperti tulang dan gigi serta jaringan penghubung (Cardoso dkk., 2014). Kolagen memiliki susunan *triple helix* dari tiga rantai α polipeptida, mengandung dua jenis turunan asam amino yang tidak langsung dimasukkan selama proses translasi (Muyonga dkk., 2004). Struktur *triple helix* kolagen berasal dari tiga asam amino utama, yakni glisin, prolin, dan hidroksi prolin (Lodish dkk., 2000).

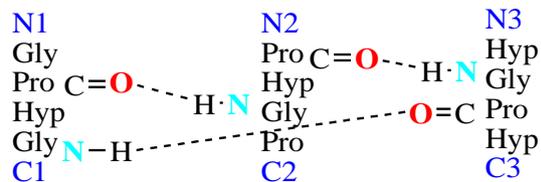


Gambar 1. Struktur Kolagen (Lehninger, 1993).

Menurut Katili (2009), struktur kolagen tersusun atas tiga tingkat yaitu :

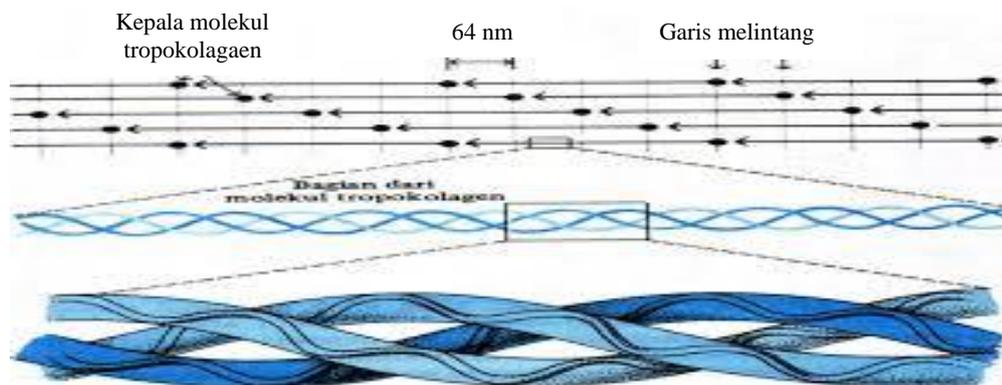
1. kerangka kovalen yang terdiri atas rantai-rantai protein individual dengan bobot molekular sebesar kira-kira 100.000 g/mol. Residu asam amino yang paling berlimpah adalah glisin yakni 33% dari residu asam amino total yang ada. Prolin juga berlimpah sekitar 12% selain itu ada asam amino lain seperti hidroksiprolin dan hidroksilisin.
2. tiga rantai bergabung untuk membentuk tripel heliks dalam struktur sekunder. Tripel heliks ini merupakan satuan struktural dasar dari kolagen

dan disebut tropokolagen. Tropokolagen merupakan batang berdiameter 15 A dan panjang 3000 A. Dalam heliks tropokolagen ketiga benang terikat hidrogen satu dengan yang lain dengan perantara gugus peptida -NH dari residu glisin dan gugus peptida -C=O pada rantai lain.



Gambar 2. Ikatan hidrogen intramolekul pada struktur *triple helix* kolagen (Bella dkk, 1994)

3. satuan tropokolagen yang terangkakan secara kovalen yang kemudian membentuk satu ikatan atau berkas yang disebut mikrofibril. Kolagen fibril dapat terbentuk dalam ikatan paralel, dalam hal pembentukan urat, atau dalam lembaran-lembaran seperti ikatan pembentukan kertas dan pembentukan kulit.



Gambar 3. Susunan Molekul Tropokolagen Pada Fibril Kolagen (Lehninger, 1993)

Gambar 3 menunjukkan susunan molekul tropokolagen pada fibril kolagen. Tiap tropokolagen memanjang sampai empat garis melintang dengan selang 64 nm. Di bawah diagram skema fibril terlihat gambaran bagian molekul tropokolagen,

yang memperlihatkan kerangka tropokolagen heliks ganda tiga. Perbesaran lebih lanjut pada gambar di bawah yang memperlihatkan bahwa tiap-tiap rantai dari ketiga peptida tropokolagen merupakan satuan heliks, sudut dan ruang antaranya ditentukan oleh gugus R yang kaku dari sejumlah residu prolin dan hidroksprolin (Katili, 2009).

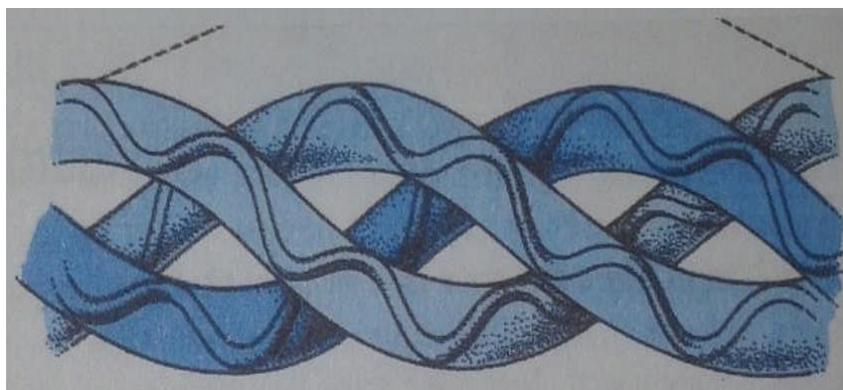
Rantai heliks ganda tiga tersebut dijembatani terhadap sesamanya oleh ikatan hidrogen, sejenis ikatan kovalen silang (jembatan) yang tidak umum, hanya dapat dijumpai pada kolagen. Jembatan ini terbentuk diantara residu lisin pada kedua rantai. Tropokolagen heliks ganda tiga yang berdekatan juga saling berikatan silang. Protein ini tidak dapat meregang karena lekatnya lilitan heliks ganda tiga tropokolagen dan ikatan silangnya (Katili, 2009).

Residu hidroksilisin dari tropokolagen memiliki peranan penting dalam pembentukan serat kolagen. Hal ini disebabkan oleh adanya ikatan hidrogen yang saling silang dalam kolagen. Peranan yang penting tersebut dapat dilihat dengan adanya vitamin C (asam askorbat) yang diperlukan dalam pembentukan hidroksilisin. Vitamin C sangat penting dalam mengaktifkan enzim *prolyl hidroksilase* yang berfungsi untuk merubah residu prolin dalam kolagen menjadi hidroksprolin. Kekurangan vitamin C dapat memicu terpecah-pecahnya kolagen atau dengan kata lain kolagen yang kurang sempurna dalam pembentukannya dan hal ini menyebabkan timbulnya gejala seriawan yang ditandai oleh kerusakan pembuluh darah serta struktur kulit (Katili, 2009).

Kolagen yang paling banyak dikenal adalah kolagen tipe I yang terdiri dari tiga rantai α polipeptida. Kolagen tipe I paling banyak terdapat pada bagian tubuh yang lunak seperti kulit dan tendon maupun bagian tubuh yang keras seperti tulang

dan gigi serta jaringan penghubung (Cardoso dkk., 2014). Glisin ditemukan sebagai asam amino utama bersama dengan alanin, prolin, dan hidroksiprolin pada sisik ikan spesies *Thunnus alalunga*, *Scoliodon sorrakowah*, dan *Labeo rohita* (Hema dkk., 2013). Pada spesies *Catla catla* dan *Cirrhinus mrigala*, ditemukan kandungan glisin dan alanin bersama dengan prolin, hidroksiprolin yang berlimpah (Mahboob, 2015). Glisin dan prolin juga menjadi asam amino dengan konsentrasi terbesar yang ditemukan pada spesies *Liza melinoptera*, *Liza macrolepis*, *Valamugil speigleri*, dan *Mugil cephalus* (Massod dkk., 2015).

Kolagen tersusun atas asam amino yang didominasi oleh glisin, prolin dan hidroksiprolin. Dalam kolagen kandungan asam amino glisin sebesar 25%, prolin sebesar 13% dan hidroksiprolin 12%. Selain itu juga ada asam amino alanin, metionin, lisin, arginin, serin, leusin dan asparagin. Glisin, hidroksiprolin dan prolin merupakan komponen yang memberikan stabilitas termal pada kolagen. Molekul dasar pembentuk kolagen disebut tropokolagen, yang mempunyai struktur batang dengan berat molekul 300.000 kDa dan di dalamnya terdapat tiga rantai polipeptida yang sama panjang membentuk struktur heliks. Serabut kolagen yang berbentuk *triple helix* dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur *triple helix* kolagen (Lehninger, 1982)

2.1.2 Manfaat Kolagen

Menurut Chai dkk. (2010), kolagen memegang peranan cukup penting dalam industri makanan, kosmetik, farmasi dan biomedis. Peranan kolagen dalam proses penyembuhan luka dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Peranan Kolagen Dalam Proses Penyembuhan Luka (Triyono, 2005)

Fase penyembuhan luka	Peranan kolagen
<ol style="list-style-type: none">1. Fase inflamasi<ol style="list-style-type: none">a. Hemostasis dengan menghentikan pendarahan yang berlebihan.b. Vasodilatasi terjadi migrasi netrofil untuk melawan infeksi.c. Netrofil menarik makrofag membantu mengeluarkan debris.d. Makrofag menarik fibroblas ke daerah luka untuk mulai sintesa kolagen.	<ol style="list-style-type: none">a) Membantu proses hemostasis.b) Menarik makrofag dengan kemampuannya kemotaksis.c) Menyebabkan antibakteri secara alami infiltrat inflamasi.
<ol style="list-style-type: none">2. Fase proliferasi<ol style="list-style-type: none">a. Fibroblas terlihat di daerah luka dan mulai sintesis kolagen.b. Pembentukan jaringan granulasi terdiri dari lengkung-lengkung kapiler yang membentuk lipatan-lipatan serabut kolagen.	<ol style="list-style-type: none">a) Aksinya sebagai lipatan-lipatan untuk penggabungan fibroblas.b) Menarik fibroblas ke daerah luka.c) Di dalam struktur matrik, menjadi model untuk pertumbuhan jaringan baru.
<ol style="list-style-type: none">3. Fase maturasi<ol style="list-style-type: none">a. Reorganisasi matrik jaringan konektif.b. Fibril-fibril kolagen konsolidasi menjadi lebih tebal dan serabut yang lebih padat.	<ol style="list-style-type: none">a) Memberi kekuatan pada jaringan baru.b) Meningkatkan organisasi serabut-serabut kolagen yang kas pada remodeling penyembuhan luka.

Kolagen dapat diaplikasikan pada industri makanan, kosmetik, biomedis dan industri farmasi. Pada kosmetik, kolagen digunakan untuk mengurangi keriput pada wajah atau dapat disuntikkan ke dalam kulit untuk menggantikan jaringan kulit yang telah hilang. 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 (Stepanhi dkk., 2016). Pada biomedis, kolagen digunakan sebagai *sponges* untuk luka bakar, benang bedah, agen hemostatik, penggantian atau substitusi pada pembuluh darah dan katup jantung tiruan. Pada industri farmasi kolagen digunakan sebagai *drug carrier* yaitu: *mini-pellet* dan tablet untuk penghantaran protein, formulasi gel pada kombinasi dengan liposom untuk sistem penghantaran terkontrol, bahan pengontrol untuk penghantaran transdermal, dan nanopartikel untuk penghantaran gen (Lee dkk., 2001).

2.1.3 Ekstraksi Kolagen

Ekstraksi atau pemurnian kolagen setelah demineralisasi dapat menggunakan tiga metode utama, yakni menghasilkan kolagen larut garam netral, kolagen larut asam, dan kolagen larut pepsin (Aberoumand, 2010). Menurut Setyowati dan Setyani (2015), proses ekstraksi menentukan karakteristik fisik kolagen yang didapatkan. Nurhayati dkk (2013) dalam penelitiannya menyimpulkan bahwa, ekstraksi dengan asam asetat pada suhu 4 °C dengan konsentrasi 0,5 M dan 1,5 M memiliki perbedaan kadar asam amino, suhu denaturasi, dan kemampuan mengembang. Pada perlakuan asam asetat 0,5 M, kolagen memiliki proporsi asam amino dan suhu denaturasi yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan asam asetat 1,5 M, meskipun kemampuan mengembangnya membutuhkan waktu yang lebih

lama. Menurut Komala (2015) pada penelitiannya menyatakan bahwa, *pretreatment* dalam mengisolasi kolagen sangat berpengaruh terhadap kualitas kolagen yang dihasilkan. *Pretreatment* terbaik diperoleh dari perendaman kulit dalam larutan NaOH 0,05 M selama 12 jam.

Mayasari (2016) dalam penelitiannya menyimpulkan bahwa, kemampuan pengembangan kulit ikan tuna untuk menghasilkan rendamen kolagen tertinggi dicapai dengan perendaman NaOH 0,05 M dan CH₃COOH 1 M. Komala (2015) dalam penelitiannya menyimpulkan bahwa, analisis asam amino kolagen kulit ikan tongkol mengandung glisin, prolin, arginin, dan alanin yang dominan selain itu analisis FTIR menunjukkan wilayah penyerapan utama amida A, B, I, II, dan III dengan masing-masing bilangan gelombang yaitu 3395 cm⁻¹, 2929 cm⁻¹, 1652 cm⁻¹, 1543 cm⁻¹, dan 1237 cm⁻¹. Mahardika (2013) pada penelitiannya menyatakan bahwa, komposisi proksimat kulit ikan cucut (*Chiloscyllium punctatum*) mengandung kadar air sebesar 58%, abu 14,43%, protein 29,77%, dan lemak 0,16%, uji FTIR kolagen kulit ikan cucut pada beberapa konsentrasi menunjukkan gugus fungsi amida A pada bilangan gelombang 3310 cm⁻¹, amida B bilangan gelombang 2939 cm⁻¹, amida I pada 1651 cm⁻¹, amida II pada 1543 cm⁻¹, dan amida III pada 1242 cm⁻¹. Mahardika (2013) mengemukakan bahwa komposisi proksimat kulit ikan cucut bambu (*Chiloscyllium punctatum*) mengandung kadar air sebesar 58%, abu 14,43%, protein 29,77%, dan lemak 0,16%. Sahrianna (2019) pada penelitiannya melakukan isolasi kolagen dari sisik ikan kakatua mendapatkan rendemen kolagen sebanyak 3,3938%, selain itu melakukan analisis proksimat kolagen meliputi kadar air 7,60%, kadar abu 0,92%, dan kadar protein 89,37%. Wulandary dkk. (2015) pada penelitiannya melakukan analisis asam amino kolagen

dari kulit ikan gabus mendapatkan komposisi asam amino yang dominan yaitu glisin (27,11%), prolin (13,87%) dan alanin (12,58%).

Wulandary dkk. (2015) pada penelitiannya menyimpulkan bahwa, pretreatment NaOH konsentrasi 0,05 M selama 6 jam memberikan pengaruh nyata terhadap eliminasi protein non kolagen ($p < 0,05$), sedangkan untuk asam asetat terbaik dengan konsentrasi 0,1 M selama 2 jam berpengaruh signifikan terhadap derajat pengembangan dan tingkat kelarutan kolagen dari kulit ikan gabus. Kolagen merupakan protein jaringan ikat. Protein jaringan ikat merupakan protein yang lebih sulit di ekstrak apabila dibandingkan dengan protein lain sehingga pada saat pra-perlakuan menggunakan NaOH, protein-protein non kolagen akan larut terlebih dahulu. Liu dkk. (2015) menyatakan bahwa kolagen biasanya tidak dapat larut dalam larutan alkali. Penggunaan NaOH biasa digunakan dalam proses pra-perlakuan ekstraksi kolagen karena mampu meminimalkan kehilangan kolagen serta secara signifikan menyebabkan pembengkakan pada kulit apabila dibandingkan dengan larutan alkali lain. Jaswir dkk. (2011) menyatakan bahwa, selama perendaman dalam NaOH terjadi sedikit pembengkakan kulit sehingga memungkinkan masuknya air dan menyebabkan protein non kolagen yang terjebak dalam matriks kolagen menjadi lebih mudah dilepaskan. Hinterwaldner (1977) menyatakan bahwa, pelepasan zat selain kolagen terjadi akibat hancurnya sebagian ikatan silang pada struktur kolagen dalam kondisi basa. Zhou dan Regenstein (2005) menyatakan, contoh dari larutan alkali yang dapat digunakan untuk menghilangkan protein non-kolagen yaitu NaOH dan $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

Dincer dkk. (2015) pada penelitiannya melakukan ekstraksi dengan asam asetat pada spesies *Dicentrarchus labrax*, pada penelitian tersebut dilakukan

perbandingan ekstraksi menggunakan asam asetat 0,5 M dan campuran pepsin 1% selama 48 jam. Penggunaan CH_3COOH mengakibatkan terputusnya ikatan hidrogen intramolekul yang merupakan penstabil struktur *triple helix* kolagen. ASC (*Acid Soluble Collagen*) memiliki rendemen lebih tinggi dibandingkan PSC (*Pepsin Soluble Collagen*). ASC diklasifikasikan dalam kolagen tipe I yang juga terdapat pada spesies *Theragra chalcogramma* berdasarkan penelitian Yan dkk. (2008), dan spesies *Pseudosciaena crocea* oleh Wang dkk. (2013).

Seluruh tipe kolagen dapat diekstraksi dengan cara fermentasi diikuti proses pemisahan berdasarkan kelarutannya pada ion dan pH yang berbeda. Pemisahan kolagen tipe I, II, dan III telah dilakukan dengan mengkondisikan larutan pada pH yang berbeda, salah satunya dengan elektroforesis (Hsiao dkk., 2004). Shahiri dkk. (2012) pada penelitiannya menggunakan spesies *Onchorhynchus mykiss* menyimpulkan bahwa, kelarutan kolagen pada kisaran pH 1-4 lebih tinggi akibat gaya tolak menolak antar molekul, sedangkan pada pH 7 dan 9, justru terjadi penurunan kelarutan. Fenomena ini ditandai dengan terbentuknya presipitat dan agregasi yang disebabkan oleh interaksi hidrofobik antar molekul kolagen (Setyowati, dkk., 2015).

2.2 Ikan Tawes

Ikan tawes merupakan salah satu ikan asli Indonesia, memiliki nama ilmiah *Puntius javanicus*, kemudian berubah menjadi *Puntius gonionotus*, dan terakhir berubah menjadi *Barbonymus gonionotus*. Ikan tawes memiliki nama lokal tawes (Indonesia), taweh atau tawas, lampam Jawa (Melayu). Di danau Sidendreg ikan tawes disebut bale kande (Amri dkk., 2008). Produksi ikan tawes di Indonesia pada tahun 2014, 2015, dan 2016 terus mengalami peningkatan (KKP, 2016).

2.2.1 Klasifikasi Ikan Tawes

Menurut Nelson (2006) klasifikasi ikan tawes (*Barbonymus gonionotus*) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Class : Actinopterygii
Ordo : Cypriniformes
Famili : Cyprinidae
Genus : *Barbonymus*
Spesies : *Barbonymus gonionotus*



Gambar 5. Ikan Tawes

Ikan tawes merupakan salah satu ikan asli Indonesia, memiliki nama ilmiah *Puntius javanicus*, kemudian berubah menjadi *Puntius gonionotus*, dan terakhir berubah menjadi *Barbonymus gonionotus*. Ikan tawes memiliki nama lokal tawes (Indonesia), taweh atau tawas, lampam Jawa (Melayu). Di danau Sidendreng ikan tawes disebut bale kande (Amri dkk., 2008).

2.2.2 Morfologi Ikan Tawes

Ikan tawes termasuk kedalam famili Cyprinidae seperti ikan mas dan ikan nila. Bentuk badan agak panjang dan pipih dengan punggung meninggi, kepala kecil, moncong meruncing, mulut kecil terletak pada ujung hidung, sungut sangat kecil atau rudimenter. Di bawah garis rusuk terdapat sisik 5½ buah dan 3-3½ buah diantara garis rusuk dan permulaan sirip perut. Garis rusuknya sempurna berjumlah antara 29-31 buah. Badan berwarna keperakan gelap di bagian punggung. Pada moncong terdapat tonjolan-tonjolan yang sangat kecil. Sirip punggung dan sirip ekor berwarna abu-abu atau kekuningan, dan sirip ekor bercabang dengan lobus membulat, sirip dada berwarna kuning dan sirip dubur berwarna oranye terang. Sirip dubur mempunyai 6½ jari-jari bercabang (Kottelat dkk., 1993).

2.2.3 Habitat Hidup

Ikan tawes merupakan salah satu ikan asli Indonesia. Ikan tawes dalam habitat aslinya adalah ikan yang berkembang biak di sungai, danau dan rawa – rawa dengan lokasi yang disukai adalah perairan dengan air yang jernih dan terdapat aliran air, mengingat ikan ini memiliki sifat biologis yang membutuhkan banyak oksigen dan hidup di perairan tawar dengan suhu tropis 22 – 28°C, serta pH 7. Ikan ini dapat ditemukan di dasar sungai mengalir pada kedalaman hingga lebih dari 15 m, rawa banjir dan waduk (Kotelat dkk., 1993). Ikan tawes adalah ikan yang telah lama dibudidayakan karena cocok di Indonesia yang beriklim tropis, sehingga ikan ini dapat dibudidayakan sepanjang tahun (Cahyono, 2011).

2.2.4 Makanan dan Kebiasaan Makan Ikan Tawes

Makanan alami biasanya berupa plankton, baik fitoplankton atau zooplankton, kelompok cacing, tumbuhan air, organisme bentos dan ikan maupun

organisme lain yang berukuran lebih kecil daripada organisme yang dipelihara. Secara ekologis pengelompokan makanan alami sebagai plankton, nekton, benthos, perifiton, epifiton dan neuston, di dalam perairan akan membentuk suatu rantai makanan dan jaringan makanan. Ikan tawes (*Barbonymus gonionotus*) merupakan ikan herbivor. Kebiasaan makanan ikan (*food habits*) adalah kuantitas dan kualitas makanan yang dimakan oleh ikan, sedangkan kebiasaan cara memakan (*feeding habits*) adalah waktu, tempat dan caranya makanan itu didapatkan oleh ikan. Kebiasaan makanan dan cara memakan ikan secara alami bergantung pada lingkungan tempat ikan itu hidup (Taofiqurohman, dkk., 2007).

Pakan alami ikan adalah organisme hidup yang juga diproduksi bersama-sama dengan spesies yang dibiakkan, atau dipelihara secara terpisah dalam unit produksi yang spesifik atau dikumpulkan dari alam liar (misalnya penangkapan ikan). Contohnya adalah organisme akuatik tingkat rendah seperti fitoplankton dan zooplankton. Jenis-jenis pakan alami yang dimakan ikan sangat bermacam-macam, bergantung pada jenis ikan dan tingkat umurnya. Benih ikan yang baru belajar mencari makan, pakan utamanya adalah plankton nabati (fitoplankton) namun sejalan dengan bertambah besar ikan berubah pula makanannya (Yumrawati, 2007).