

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Berkembangnya sektor pengolahan perikanan, menghasilkan hasil samping (limbah) perikanan yang terdiri dari limbah cair dan padat mencapai sekitar 30-40% dari total berat ikan (Sahar,2024). Salah satu limbah hasil `pengolahan perikanan yaitu kulit ikan kaya akan kolagen, terdiri dari 70-80% dari bahan kering (Kusumawinahyu *et al.*,2022).

Kolagen adalah protein dengan struktur berserat yang merupakan komponen utama matriks ekstraseluler yang terdapat pada hewan vertebrata dan invertebrate yang berperan penting untuk menjaga integritas struktur biologis beberapa jaringan. (Romadhon *et al.*,2019). Kolagen memiliki struktur khas berupa triple helix yang tersusun dari tiga rantai polipeptida. Struktur ini tersusun dari asam amino yang berulang, yaitu glisi, prolin, dan hidroksiprolin (Afifah *et al.*,2023).

Penggunaan kolagen telah meluas di berbagai bidang industri khususnya bidang medis, pangan, farmasi, dan kosmetik. Dalam bidang medis kolagen dapat dikombinasikan dengan silicon dan substansi lainnya untuk digunakan sebagai kulit tiruan untuk mengatasi masalah kulit terbakar. Dalam bidang pangan, kolagen dimanfaatkan sebagai *edible coating*. Dalam bidang farmasi kolagen dapat dikonversi menjadi gelatin yang merupakan bahan baku pembuatan kapsul. Dalam bidang kosmetik, dapat diaplikasikan dalam bentuk masker wajah, sabun, *body lotion* dan kosmetik lainnya. Serat kolagen penting untuk menjaga elastisitas, kelembapan dan kekencangan kulit (Tangka,a *et al.*,2020). Keistimewaan penggunaan kolagen berkaitan dengan karakteristik fisikokimia dari kolagen. Karakteristik kolagen seperti: mudah diserap tubuh, sifat antigenitas rendah, afinasi dengan air tinggi, tidak beracun, *biocompatible* dan *biodegradable*, relative stabil, dapat disiapkan dalam berbagai bentuk sesuai kebutuhan, dan mudah dilarutkan dalam air maupun asam (Singla & Lee, 2001 dalam Alhana *et al.*,2015).

Saat ini, sumber kolagen yang digunakan oleh kebanyakan industri berasal dari jaringan hewan mamalia seperti kulit babi dan kulit sapi. Akan tetapi, untuk aplikasi kolagen mamalia memiliki hambatan karena memiliki potensi resiko terjadinya penularan penyakit yang dimiliki oleh hewan mamalia seperti kontaminasi biologis seperti BSE (*Bovine Spongiform Encephalopathy*), FMD (*Foot and Mouth Disease*), TSE (*Transmissible Spongiform Encephalopathy*) dan batasan agama (Afifah *et al.*,2023). Oleh karena itu, hasil samping dari industri hasil perikanan berupa kulit ikan bisa menjadi alternatif sumber bahan baku kolagen yang menjanjikan untuk an di bidang industri farmasi, kosmetik, makanan dan bidang



ahan kulit ikan yang berpotensi sebagai sumber kolagen adalah *traodon* sp). Selain memiliki daging yang bernilai ekonomis, kulit *ton* sp) yang biasanya dibuang sebagai limbah memiliki potensi per kolagen. Pemanfaatan kulit ikan buntal kering sebagai bahan

baku kolagen tidak hanya memberikan nilai tambah pada limbah perikanan, tetapi juga berkontribusi dalam pengurangan limbah organik di lingkungan. Dari data statistik Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP) menunjukkan bahwa produksi perikanan tangkap ikan buntal di Sulawesi Selatan pada tahun 2019 sebanyak 81,1 ton/tahun dan produksi perikanan tangkap ikan buntal di Sulawesi Tenggara pada tahun 2020 sebanyak 3,18 ton/tahun (Sistem Informasi Diseminasi Data Statistik Kelautan Dan Perikanan [SIDATIK], 2023). Hal ini menunjukkan potensi bagi pemanfaatan kulit ikan buntal sebagai sumber kolagen. Banyaknya pelaku usaha di bidang komoditas hasil perikanan berupa kulit ikan buntal kering di Sulawesi yang dimana produk kulit ikan buntal saat ini hanya dijual ke pengepul di Makassar (Faisal, 2024), sehingga dapat dikembangkan agar memiliki nilai ekonomis yang tinggi di pasar internasional.

Ekstraksi kolagen terdapat 3 tahap yaitu *pretreatment* dengan alkali, hidrolisis asam asetat dan ekstraksi kolagen (Liu *et al.* 2015). Bhuimber *et al.* (2019), perendaman dengan alkali kuat digunakan untuk menghilangkan protein non kolagen. Menurut Liu *et al.* (2015), protein non-kolagen dapat larut dalam NaOH dan menghasilkan pembengkakan pada kulit ikan jika dibandingkan dengan larutan alkali lainnya. NaOH berperan sebagai pemisah untai pada batang serat kolagen. Nurhayati *et al.* (2012) menjelaskan bahwa faktor NaOH memiliki pengaruh yang lebih besar terhadap hasil proses ekstraksi kolagen. Konsentrasi NaOH dan waktu perendaman berpengaruh nyata terhadap kandungan protein pada larutan NaOH sisa perendaman kulit (Suptijah *et al.*, 2018). Menurut Astiana *et al.* (2016), waktu perendaman NaOH yang terbaik yaitu perlakuan konsentrasi 0,05 M NaOH dan lama waktu perendaman 8 jam. Nurjannah *et al.* (2021), menerangkan bahwa perendaman NaOH terbaik adalah 12 jam. Suptijah *et al.* (2018), waktu perendaman NaOH yang terbaik yaitu perlakuan konsentrasi 0,05 M NaOH selama 10 jam.

Proses ekstraksi yang berbeda kemungkinan dapat menghasilkan karakteristik kolagen yang berbeda sesuai dengan kelarutannya. Perbedaan spesies dan habitat juga sangat mempengaruhi proses proses *pretreatment* dan ekstraksi untuk mendapatkan kolagen dengan kemurnian sesuai standar. Proses *pretreatment* dan ekstraksi juga berkaitan dengan efisiensi biaya dan waktu dalam aplikasi (Liu *et al.*, 2015).

1.2. Tujuan dan Manfaat

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkarakterisasi kolagen dari kulit ikan buntal. Manfaat penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai karakteristik kolagen dari kulit ikan buntal dan menghasilkan bahan baku alternatif penghasil kolagen yang halal dan aman untuk dikonsumsi oleh masyarakat untuk ternatif pengganti kolagen dari jaringan hewan mamalia.



BAB II METODE PENELITIAN

2.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2024 sampai Maret 2025 di Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin. Preparasi, Uji Kadar Abu, Uji Kadar Air dan Uji pH dilakukan di Laboratorium Kualitas Air, Departemen perikanan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin. Sentrifugasi dilakukan di Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin. Analisis Derajat Putih, Viskositas, dan *freeze dry* dilakukan di Laboratorium Maritim, Fakultas Teknik Kimia, Politeknik Negri Ujung Pandang.

2.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan selama melakukan penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Alat dan kegunaan

No	Alat	Kegunaan
1.	Pisau	Alat memotong bahan
2.	Timbangan	Alat mengukur berat bahan
3.	Gelas erlenmeyer	Wadah pencampuran larutan pada saat pengujian
4.	Termometer	Alat pengukur suhu
5.	Gelas ukur	Mengukur volume cairan
6.	Batang pengukur	Untuk mengaduk suatu larutan
7.	oven	Untuk mengeringkan sampel
8.	Cawan porselen	Wadah untuk penguapan
9.	Desikator	Menghilangkan kadar air pada suatu bahan
10.	Tanur	Alat untuk melakukan pemanasan dalam suhu yang tinggi
11.	pH	Alat untuk mengukur derajat asam

Bahan yang digunakan selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Bahan dan kegunaan

No	Bahan	Kegunaan
1.	Kulit ikan buntal (<i>Tetraodontidae</i> sp)	Bahan sampel penelitian
2.	Natrium Hidroksida (NaOH)	Menghilangkan non kolagen dan lemak pada sampel
3.	Asam Asetat (CH_3COOH)	Untuk melarutkan kolagen dalam kulit
4.	Natrium Klorida (NaCl)	Untuk pengendapan larutan



2.3. Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan cara eksperimen di laboratorium menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 2 perlakuan perendaman NaOH dan 3 ulangan. Perlakuan perendaman pada penelitian ini masing-masing P1: 12 jam, dan P2: 13 jam. Data yang diperoleh dari pengujian karakteristik kolagen (kadar air, kadar abu, viskositas, pH, derajat putih dan rendemen) dianalisis dengan sidik ragam atau *Analisis of Varians* (ANOVA). Jika terdapat perbedaan nyata, dilakukan uji Duncan untuk melihat perlakuan mana yang berbeda nyata pada $p < 0,05$. Rancangan penelitian dapat disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Tata letak satuan percobaan

P1U2	P2U3	P2U1
P1U3	P2U2	P1U1

2.4. Pelaksanaan Penelitian

Proses isolasi kolagen dari sampel kulit ikan buntal (*Tetraodon* sp.) menggunakan metode Safithri *et al.* (2020) dengan modifikasi. Pelaksanaan penelitian ekstraksi dan karakteristik kolagen kulit ikan buntal dilakukan meliputi beberapa tahap. Tahap penelitian tersebut yaitu preparasi dan *pretreatment* sampel, ekstraksi kolagen, dan karakterisasi.

2.4.1 Pretreatment kulit ikan buntal

Kulit ikan buntal yang dimanfaatkan diperoleh dari industri pengolahan ikan buntal yang telah dikeringkan. Kulit ikan buntal pertama-tama dihaluskan. *Pretreatment* ikan buntal (*Tetraodon* sp) dihilangkan protein non-kolagen dan lemak yang terdapat pada kulit. Proses ini dilakukan pada suhu 4°C dengan merendam kulit ikan dalam larutan 0,1 M NaOH 1:10 (b/v) selama 12 jam, dan 13 jam. Proses perendaman menggunakan NaOH bertujuan untuk menghilangkan protein non kolagen. Larutan NaOH juga dapat menghilangkan kotoran seperti lemak, mineral, dan pigmen. Pretreatment menggunakan larutan basa lebih efektif dalam proses penghilangan protein non kolagen dibandingkan dengan penggunaan larutan asam, karena larutan basa menghilangkan kolagen lebih kecil (Hasan *et al.*, 2020). Perendaman dalam larutan NaOH mengakibatkan kulit ikan menjadi lebih tebal, warna kulit menjadi putih keruh yang disebabkan lemak yang terkandung dalam kulit larut dalam larutan basa. Hal ini sependapat dengan Hinterwaldner (1977) yang menyatakan bahwa sebagian ikatan hydrogen, peptide, dan kovalen pada struktur kolagen dapat dihancurkan oleh juga kotoran lemak, protein non kolagen, dan pigmen ikut terbuang setelah dilakukan perendaman menggunakan NaOH sampel dicuci hingga pH netral menggunakan pH universal.



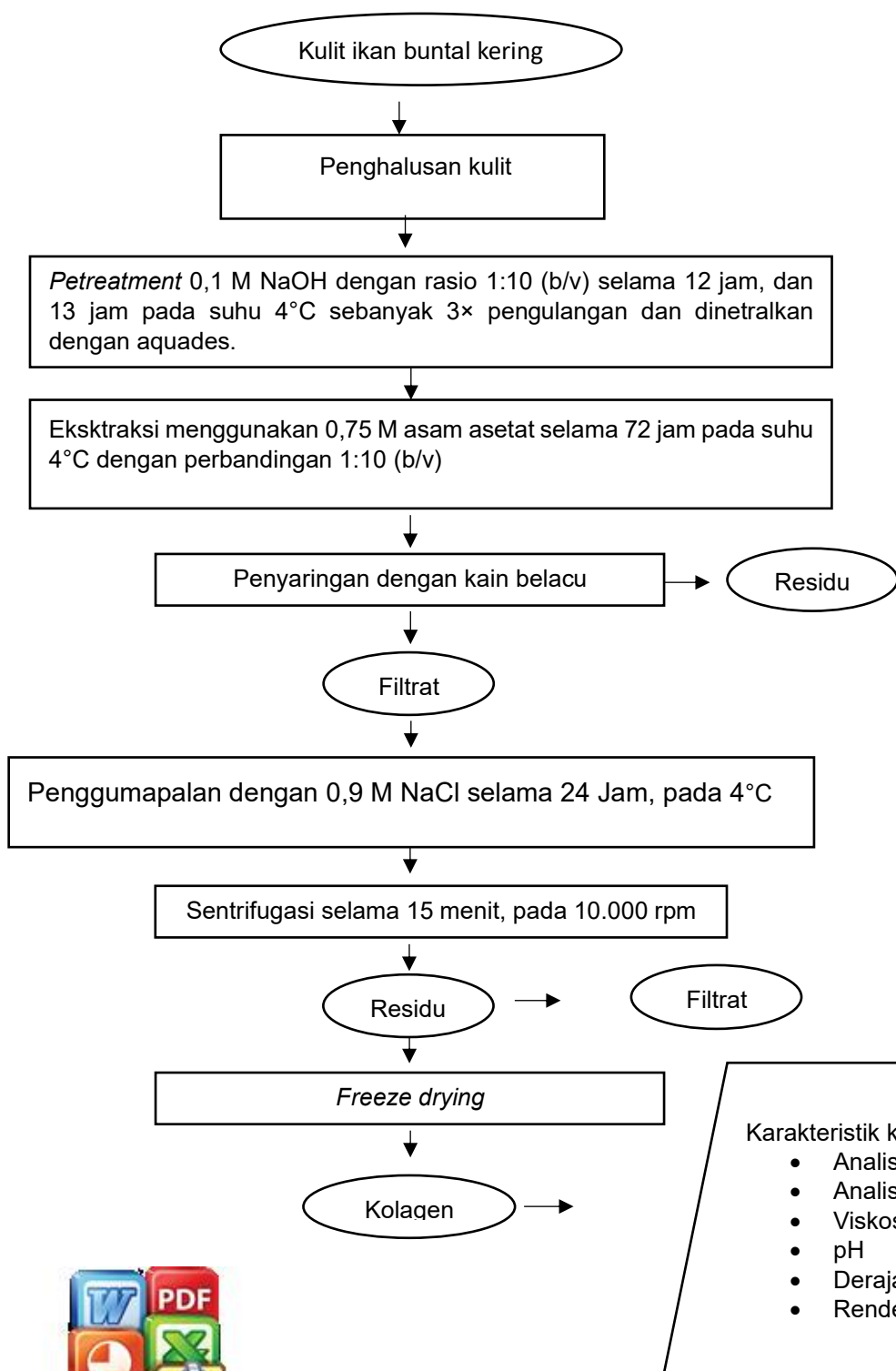
2.4.2 Ekstraksi kolagen larut asam

Ekstraksi kolagen. Proses ekstraksi kolagen dilakukan menggunakan larutan 0,75 M asam asetat. perbandingan terhadap akuades 1:10 (b/v) pada suhu 4°C selama 72 jam. Hidrolisis dengan asam asetat bertujuan untuk mengubah struktur serat kolagen sehingga mempermudah proses ekstraksi. Asam asetat banyak digunakan dalam proses ekstraksi kolagen karena dapat mengekstrak kolagen lebih baik dibandingkan pelarut lain (Liu *et al.*, 2015). Perendaman dengan asam akan menyebabkan pengembangan kulit ikan karena masuknya air dengan serat kolagen. Jaswir *et al.* (2011) menyatakan bahwa masuknya air ke dalam serat kolagen disebabkan terjadinya gaya elektrostatis antara gugus polar pada serat kolagen dengan H⁺ dari asam atau terbentuknya ikatan hidrogen antara gugus non polar pada serat kolagen dengan H⁺ dari asam. Pengembangan kulit ini akan merusak struktur serat kolagen karena terganggunya ikatan non kovalen sehingga akan melarutkan kolagen pada larutan asam asetat. Ekstrak disaring menggunakan kain belacu untuk memisahkan residu dan ekstrak (supernatan). Ekstrak dipresipitasi dengan cara menambahkan NaCl dengan konsentrasi 0,9 M. Sehingga didapatkan presipitat kolagen (proses *salting out*). Penambahan garam dengan konsentrasi yang tinggi akan menyebabkan proses *salting out* dimana garam mengikat air dan menyebabkan agregasi pada protein sehingga molekul protein akan mengalami presipitat. Presipitat dibiarkan selama 24 jam kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C (Tangkaa *et al.*, 2020). Penggunaan suhu 4°C untuk mencegah terjadinya denaturasi protein. Kolagen ikan umumnya memiliki suhu denaturasi rendah (25-36°C). Sentrifugasi dibawah suhu denaturasi 4°C mencegah perubahan struktur menjadi gelatin (Nurhayati *et al.*, 2013). Suhu rendah dapat meningkatkan densitas endapan kolagen, memudahkan pemisahan dari supernatant selama sentrifugasi (Nursyam. 2010). Kolagen yang diperoleh pada ekstraksi kemudian dikeringkan dengan menggunakan *freeze drying*.

2.4.3 Karakteristik kolagen

Kolagen dilakukan karakteristik. Karakteristik meliputi rendemen, nilai pH, viskositas, dan kadar abu, kadar air dan derajat putih. Diagram alir penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.





Gambar 1. Bagan alir pembuatan kolagen



2.5 Pengamatan dan Pengukuran

Pengamatan dan pengukuran pada pembuatan kolagen yaitu analisis kadar air, analisis kadar abu, perhitungan rendemen, pengukuran pH, analisis viskositas, dan derajat putih

2.5.1 Analisis kadar air (SNI 01-2891-1992).

Cawan porselin dikeringkan dahulu dalam oven pada suhu 105°C selama 60 menit. Cawan porselin yang sudah kering dimasukkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang hingga menunjukkan berat yang konstan. Selanjutnya sampel sebanyak 2 g ditimbang dan dimasukkan ke cawan lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 3 jam. Cawan beserta isinya kemudian didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang hingga memperoleh berat yang konstan. Kadar air dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar air} = \frac{B-C}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan:

A = berat cawan kosong (g)

B = berat cawan + sampel awal (g)

C = berat cawan + sampel kering (g)

2.5.2 Analisis kadar abu (SNI 01-2891-1992)

Cawan porselin dikeringkan dahulu dalam oven pada suhu 105°C selama 60 menit. Cawan porselin yang sudah kering dimasukkan dalam desikator selama 20 menit dan ditimbang hingga menunjukkan berat yang konstan. Selanjutnya sampel sebanyak 3 g dirimbang dan dimasukkan ke cawan porselin lalu di bakar di atas kompor Listrik hingga tidak berasap. Setelah itu dimasukkan ke dalam tanur pengabuan dengan suhu 800°C selama 6 jam. Cawan porselin yang berisi sampel hasil pengabuan dimasukkan ke dalam desikator selama 30 menit kemudian ditimbang hingga diperoleh berat yang konstan. Kadar abu dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar abu} = \frac{C-A}{B-A} \times 100 \%$$

Keterangan:

A = berat cawan porselin kosong (g)

B = berat cawan dengan sampel (g)



ngan sampel setelah dikeringkan (g)

itas menggunakan prosedur analisis Safihri Mega *et al.* (2019). at 0,5 M sebanyak 300 ml digunakan untuk melarutkan kolagen i 0,3% (b/V). Larutan kolagen yang telah dihomogen sebanyak

250 ml diukur viskositasnya. Instrument yang digunakan adalah viskometer Brokkfield dengan *spindle* no.1 pada 100 rpm.

2.5.4. Analisis derajat putih

Analisis derajat putih kolagen dilakukan berdasarkan metode Safithri Mega *et al.* (2019). Analisis warna dilakukan menggunakan kromameter. Sampel sebanyak 0,5 g diletakkan ke dalam kertas putih. Pemotretan dengan kromameter dilakukan sebanyak tiga kali pada masing-masing sampel. Hasil pengukuran ditampilkan berupa angka digital pada alat. System warna yang digunakan adalah system warna Hunter. System warna Hunter $L^*a^*b^*$ memiliki tiga atribut yaitu nilai L^* , a^* , dan b^* . nilai L^* menunjukkan kecerahan sampel (warna kromatis, 0: hitam sampai 100: putih). Warna kromatik merah sampai hijau ditunjukkan oleh nilai a^* : 0 sampai -80 untuk warna hijau). Warna kromatik biru sampai kuning ditunjukkan oleh nilai b^* (b^* :0 sampai 70 untuk warna kuning, b^* :0 sampai -70 untuk warna biru). Derajat putih dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Derajat putih (\%)} = 100 - [(100-L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$$

2.5.5. Pengukuran rendemen (AOAC 2005)

Perhitungan % rendemen kolagen didapat dengan rasio bobot kering kolagen hasil isolasi dengan bobot bahan baku daging sebelum diisolasi. Perhitungan % rendemen kolagen menggunakan rumus:

$$\text{Rendemen kolagen} = \frac{\text{bobot kering kolagen}}{\text{bobot bahan baku}} \times 100\%$$

2.5.6 Pengukuran pH (AOAC 2005)

Pengukuran pH dilakukan menggunakan pH meter digital. Alat pH meter harus dibilas dahulu menggunakan akuades dan dikeringkan dengan tisu sebelum digunakan. 1 g kolagen dilarutkan dalam 50 ml akuades lalu dihomogenkan. Alat pH meter dinyalakan dan dibiarkan hingga stabil terlebih dahulu, kemudian elektroda dicelupkan ke dalam sampel hingga beberapa saat sampai diperoleh angka yang stabil pada proyektor pH meter.

