

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan lele (*Clarias batrachus*) merupakan jenis ikan di Indonesia yang berhasil dibudidayakan secara semi intensif dan intensif. Ikan lele banyak dibudidayakan karena mempunyai nilai ekonomis. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS) (2026) produksi ikan lele Sulawesi Selatan tahun 2020 sebesar 2.726 ton meningkat menjadi 3.287 ton tahun 2024 menunjukkan peningkatan produksi ikan lele setiap tahunnya. Dengan demikian pemanfaatan ikan lele dalam industri pengolahannya juga akan semakin meningkat. Dalam pengolahan ikan lele tentunya akan menghasilkan *by-product* seperti tulang dan kulit yang tidak termanfaatkan. Seperti yang terjadi pada kelompok perikanan Mangga Tiga di Kelurahan Tanjung Merdeka, Kecamatan Tamalate, Kota Makassar yang memproduksi abon ikan lele yang hanya memanfaatkan daging ikan lele, sementara kulitnya terbuang. Ikan lele merupakan salah satu jenis ikan yang kaya akan kolagen baik dari tulang (Amalia *et al.*, 2022) maupun kulit (Aisyah, *et al.*, 2017; Tan & Chang, 2018). Namun jika dibandingkan kandungan kolagen pada kulit ikan lele (*Silurus triostegus*) (2,6%) lebih tinggi dari tulangnya (0,28) (Abbas *et al.*, 2022). Penelitian yang dilakukan oleh Destiana & Sari, (2018), juga menyatakan bahwa kandungan kolagen pada kulit ikan kakap dan manyung (80-89%) lebih tinggi dibandingkan dengan tulangnya (24%). Kulit ikan dapat mencapai 8-10% dari beratnya yang kaya akan kolagen (Nurilmala, *et al.*, 2022). Tan, *et al.*, (2019) juga melaporkan berat kulit ikan lele (*Ictalurus punctatus*) mencapai 3-6% dari total beratnya. Pembuatan kolagen dari kulit ikan lele merupakan salah satu potensi yang dapat dikembangkan selain pemanfaatan limbah, juga untuk memenuhi kebutuhan kolagen di Indonesia secara local, karena sampai saat ini permintaan kolagen di Indonesia masih mengandalkan produk impor dari beberapa negara, termasuk Amerika Serikat, Vietnam, dan Filipina (Utami, *et al.*, 2024). Kandungan protein yang cukup tinggi pada kulit ikan lele menjadikan kulit ini sangat berpotensi sebagai bahan baku kolagen.

Kolagen adalah protein struktural utama jaringan ikat (Hana, *et al.*, 2021) yang merupakan protein penting dalam tubuh sebagai pembentuk tulang, tulang rawan, sendi, tendon, kulit, rambut, dan kuku (Subhan, 2021). Kolagen diperlukan oleh jaringan untuk mempertahankan integritas struktural dan fungsi kekuatan (Furtado, *et al.*, 2022). Kolagen sudah banyak digunakan dalam industri seperti kosmetik, makanan, (Chen *et al.*, 2019; Irastorza, *et al.*, 2021), dan farmasi (Furtado, *et al.*, 2022) karena karakteristiknya yang sangat unggul. Beberapa sumber kolagen hewani yang tinggi, seperti sapi dan babi, namun dibatasi oleh penyakit *Bovine Spongiform Encephalopathy* (BSE) dan faktor agama. Oleh karena itu, kolagen ikan menarik perhatian peneliti karena mudah diekstraksi, memiliki kadar kolagen tinggi, sifat penyerapan baik, berat molekul rendah, biokompatibilitas, risiko penularan penyakit rendah, dan tidak terdapat masalah etika serta agama (Furtado, *et al.*, 2022; Afifah *et al.*, 2023; Utami, *et al.*, 2024).

Beberapa penelitian menunjukkan pemanfaatan kolagen ikan seperti pembuatan salep dari ikan nila (Nugroho *et al.*, 2022), sabun tulang dari ikan lele (Amalia *et al.*, 2022), kolagen sisik dan tulang kakap merah (Setyawati, *et al.*, 2023), serum anti

jerawat sisik ikan bandeng (Wahyuni *et al.*, 2023), ikan gabus (Febriyani, *et al.*, 2024), termasuk penelitian ekstrak kolagen menggunakan kulit ikan lele yang sudah dilakukan oleh Aisyah *et al.* (2016); Tan & Chang. (2018) namun dalam metodenya, pada *pretreatment* menggunakan asam HCl untuk melarutkan protein non kolagen.

Menurut Zhou dan Regensten, (2005) bahwa pengeluaran protein non kolagen lebih optimal menggunakan basa dibandingkan dengan asam (Suptijah, *et al.*, 2018). Biasanya kolagen tidak larut dalam alkali. NaOH adalah larutan alkali yang paling baik digunakan diantara alkali lainnya dalam pemisahan kolagen dan non kolagen karena tingkat kehilangan kolagen lebih rendah (Liu *et al.*, 2015)

Ekstrak kolagen meliputi beberapa tahapan mulai dari perendaman NaOH, perendaman asam asetat (CH_3COOH) dan pengendapan dengan NaCl. Perendaman NaOH berfungsi untuk menghilangkan protein non-kolagen karena protein non kolagen dapat larut dalam NaOH (Liu *et al.*, 2015). Konsentrasi NaOH dan waktu perendaman sangat berpengaruh pada kandungan protein pada larutan NaOH sisa perendaman kulit. Menurut Astiana *et al.*, (2016) perendaman terbaik yaitu konsentrasi NaOH 0,05 dengan lama perendaman 8 jam. Menurut Devi *et al.*, (2017) konsentrasi NaOH terbaik 0,05 M dengan lama perendaman 4 jam. Menurut Suptijah *et al.*, (2018) perendaman maksimum pada konsentrasi NaOH 0,05 M adalah 10 jam. Menurut Astiana *et al.*, (2016) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa konsentrasi NaOH 0,05 M tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 0,1 M. Perendaman pada larutan NaOH menggunakan suhu 4°C yang bertujuan untuk menjaga kolagen sehingga tidak rusak atau denaturasi oleh suhu yang tinggi (Gustini, *et al.*, 2022)

Perendaman asam asetat (CH_3COOH) berfungsi untuk melarutkan kolagen dalam kulit. konsentrasi asam asetat dan lama perendaman juga sangat berpengaruh terhadap larutan kolagen dalam kulit. Menurut Devi *et al.*, (2017) pada penelitiannya, konsentrasi perendaman asam asetat terbaik pada kulit ikan patin adalah 0,15 M dengan lama perendaman 1 jam. Menurut Suptijah *et al.*, (2018) perendaman asam asetat terbaik pada kulit ikan patin yaitu konsentrasi 0,05 dengan lama perendaman 2 jam. Penelitian Astiana *et al.*, (2016) menyebutkan bahwa tidak ada perbedaan nyata pada perendaman asam asetat dengan konsentrasi 0,3 M, 0,5 M, dan 0,7 M. sejalan dengan Liu *et al.*, (2015) yang menyatakan perendaman asam asetat diatas 0,5 M tidak menunjukkan perbedaan nyata. Namun lama perendaman menunjukkan perbedaan nyata dengan perlakuan perendaman terbaik 3 hari (72 jam) karena mempunyai endapan paling tinggi (Astiana *et al.*, 2016).

Berbeda dengan penelitian penggunaan asam asetat untuk melarutkan kolagen pada umumnya, Ong, *et al.*, (2021) dalam penelitiannya, membandingkan konsentrasi asam asetat 0,5 M dan 0,5 M dengan penambahan pepsin 1,5 %, yang menyatakan bahwa penambahan pepsin dalam asam asetat lebih efisien dan hasilnya jauh lebih tinggi. Sejalan dengan penelitian Sing, *et al.*, (2011) yang menyatakan penambahan pepsin memberikan hasil yang lebih besar tanpa adanya efek yang nyata.

Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengeksplorasi serta memanfaatkan limbah kulit ikan lele (*Clarias batrachus*) dengan mengoptimalkan proses ekstraksi kolagen melalui perlakuan asam–basa. Studi ini tidak hanya berfokus pada pemanfaatan limbah hasil pengolahan ikan, tetapi juga berkontribusi terhadap pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana efektifitas NaOH dalam mengurangi protein non-kolagen pada kulit ikan lele (*Clarias batrachus*)?
2. Bagaimana mekanisme kerja enzim pepsin dalam menghasilkan kolagen dari kulit ikan lele (*Clarias batrachus*) yang baik sesuai dengan SNI 8076:2014?

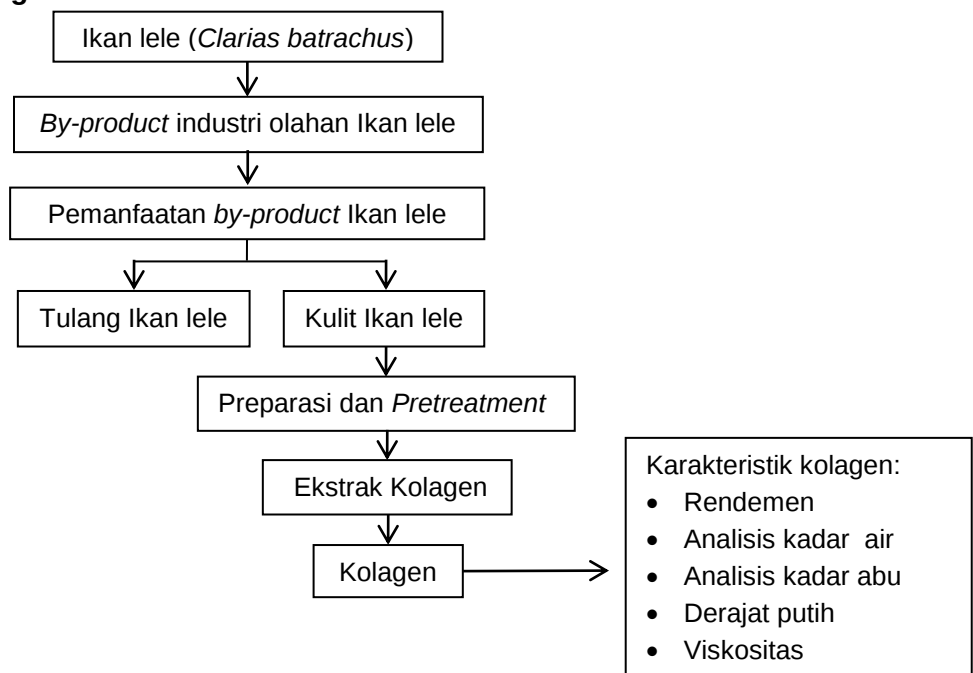
1.3 Tujuan

1. Menganalisis efektifitas NaOH dalam mengurangi protein non-kolagen pada kulit ikan lele (*Clarias batrachus*).
2. Menganalisis mekanisme kerja enzim pepsin dalam menghasilkan kolagen dari kulit ikan lele (*Clarias batrachus*) yang baik sesuai dengan SNI 8076:2014.

1.4 Hipotesis

1. Lama perendaman dalam NaOH dapat mengeliminasi protein non-kolagen pada kulit ikan lele (*Clarias batrachus*).
2. Penambahan enzim pepsin efektif menghasilkan kolagen sesuai satandar SNI 8076:2014.

1.5 Kerangka Pikir



Gambar 1. Kerangka pikir penelitian

BAB II METODE

2.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Riset

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni sampai September tahun 2025 di Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin. Preparasi, ekstraksi, uji biuret, uji kadar air, uji kadar abu, dan pengukuran pH dilakukan di Laboratorium Kualitas air, Departemen Perikanan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin. Sentrifugasi dilakukan di Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin. *freeze drying* dilakukan Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Analisis derajat putih, viskositas, dilakukan di Laboratorium Maritim, Fakultas Teknik Kimia, Politeknik Ujung Pandang.

2.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit ikan lele (*Clarias batrachus*), NaOH, asam asetat (CH_3COOH), pepsin, NaCl.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gunting, timbangan digital, gelas erlenmeyer, gelas ukur, batang pengaduk, *Freeze drying*, membran selofan, pH meter, kain saring (42 micron), spektrofotometer.

2.3 Metode Penelitian

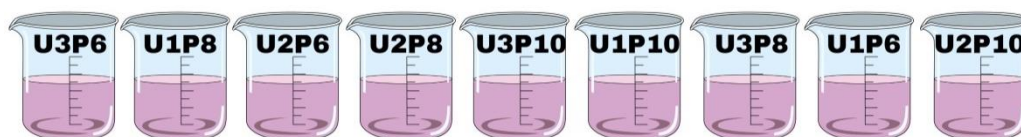
Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen di laboratorium. Melakukan percobaan ekstrak kolagen dari bahan kulit ikan lele, menggunakan larutan NaOH pada *pretreatment* dengan lama perendaman yang berbedah dan asam asetat pada proses ekstraksi dengan perlakuan penambahan enzim pepsin dengan konsentrasi yang berbedah.

2.4 Rancangan Penelitian

Metode ini menggunakan desain penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL) 3 kali ulangan. Ekstraksi dilakukan dengan dua tahapan perlakuan sebagai berikut:

- a. Pertama preparasi dan *pretreatment* sampel (pemisahan protein non-kolagen dan kolagen) menggunakan NaOH dengan konsentrasi 0,05 M dengan perlakuan lama perendaman sebagai berikut:

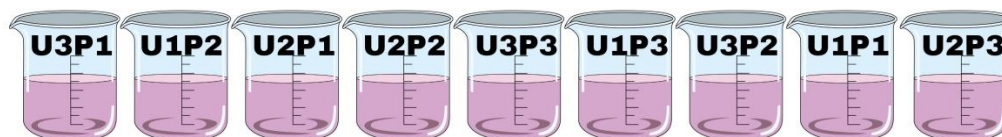
P6 : 6 jam;
P8 : 8 jam;
P10 : 10 jam.



Gambar 2. Desain wadah preparasi *pretreatment*

- b. Kedua, ekstrak kolagen (untuk melarutkan kolagen dalam kulit) melakukan perendaman kulit ikan lele selama 3 jam menggunakan asam asetat konsentrasi 0,3 M, dengan perlakuan penambahan pepsin sebagai berikut:

P1 : 0%;
 P2 : 1,5%;
 P3 : 2%,



Gambar 3. Desain Wadah ekstrak kolagen

2.5 Prosedur Penelitian

Proses isolasi kolagen dari sampel kulit ikan lele menggunakan metode Martinez *et al.*, (2025) dengan beberapa modifikasi. Pelaksanaan penelitian ekstraksi dan karakteristik kolagen kulit ikan lele dilakukan meliputi beberapa tahap. Tahap penelitian tersebut yaitu preparasi dan *pretreatment* sampel, ekstraksi kolagen, dan karakterisasi.

2.4.1 Preparasi dan *Pretreatment* Sampel

Kulit ikan lele yang digunakan diperoleh dari limbah industri produk perikanan Kota Makassar. kulit ikan lele pertama-tama dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dari permukaan kulit. Kemudian kulit yang telah dibersihkan dilakukan pemotongan dengan ukuran 1 x 1 cm. *Pretreatment* kulit ikan lele dilakukan untuk menghilangkan protein non-kolagen dan lemak yang terdapat pada kulit. Proses ini dilakukan pada suhu 4°C dengan merendam kulit ikan lele dalam larutan NaOH 0,05 M, dengan perbandingan bobot kulit dan larutan 1:10 (b/v) selama 6 jam, 8 jam, dan 10 jam. Setelah perendaman pisahkan kulit ikan lele dan air sisa perendaman. Kulit ikan lele dicuci dengan akuades sampai pH mencapai atau mendekati pH 7. Kemudian sisa air perendaman dilakukan uji biuret.

Uji biuret biuret dilakukan untuk menentukan perlakuan terbaik. Uji biuret adalah uji kadar protein non-kolagen yang terlarut dalam air sisa perendaman kulit ikan lele yang menggunakan larutan NaOH dengan standar yang digunakan adalah Bovine Serum Albumin (BSA). Uji biuret menggunakan reagen biuret yang mengandung NaOH dan CuSO₄ encer. Reagen biuret akan bereaksi dengan peptida protein (sampel) sehingga menghasilkan perubahan warna menjadi ungu. Sampel sebanyak 4 mL dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 6 mL reagen biuret. Homogenkan dan diamkan selama 30 menit. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 670 nm menggunakan spektropotometer. Selanjutnya analisis data untuk mengetahui nilai protein non-kolagen terlarut pada air sisa perendaman kulit ikan lele (Keppy and Allen, 2016). Nilai protein non-kolagen tertinggi merupakan perlakuan terbaik.

2.4.2 Ekstraksi Kolagen

Ekstraksi kolagen dilakukan setelah preparasi dan *pretreatment* sampel. Adapun proses pada tahap ini adalah sebagai berikut:

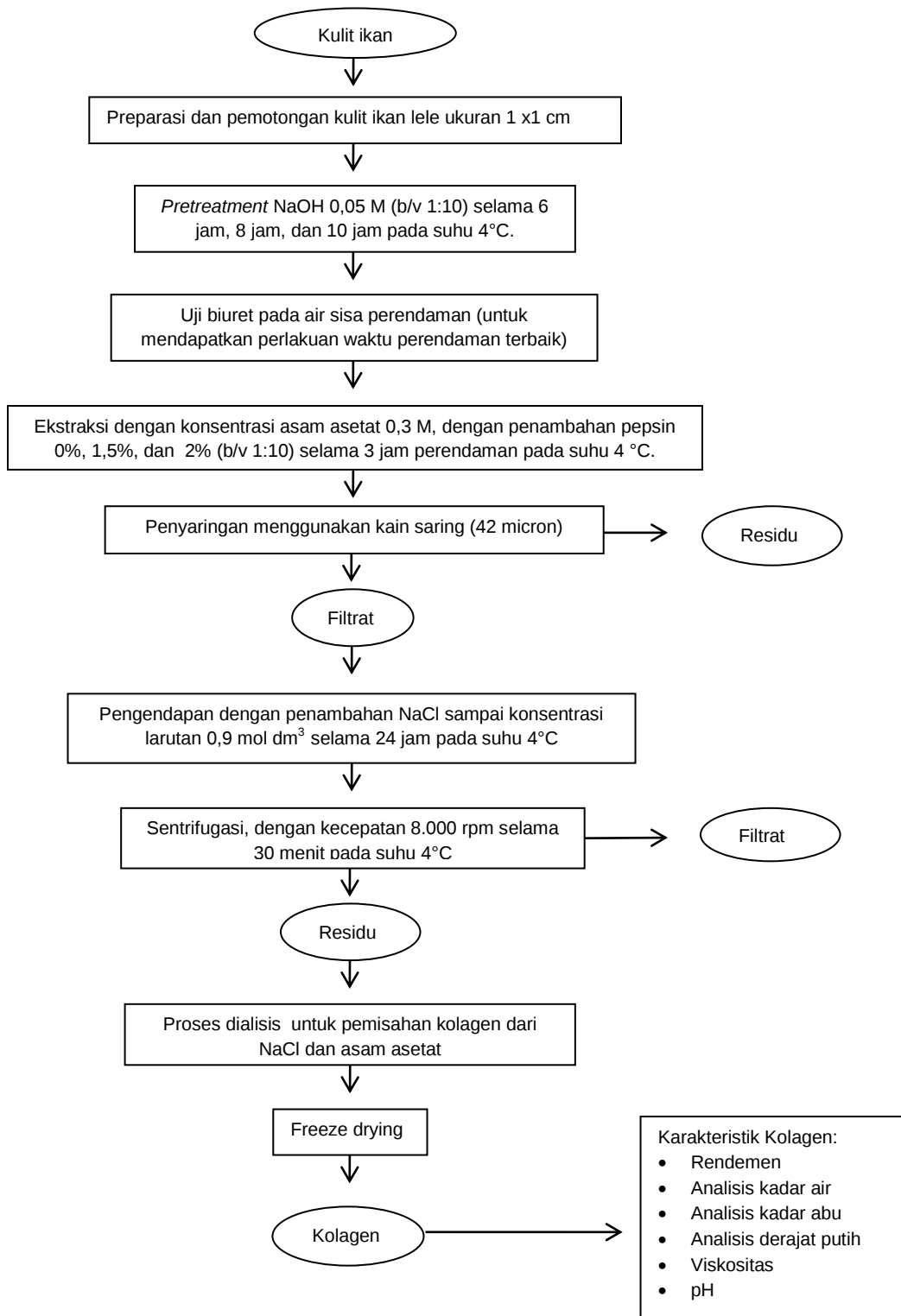
- a. Proses ekstraksi kolagen dilakukan dengan perendaman kulit ikan lele (Perlakuan terbaik dari perendaman NaOH) pada larutan asam asetat 0,3 M,

dengan perlakuan penambahan pepsin 1,5%, dan 2%. Perbandingan terhadap akuades 1:10 (b/v) pada suhu 4°C dengan lama perendaman 3 jam.

- b. Hasil ekstraksi kemudian disaring menggunakan kain saring (42 micron) untuk memisahkan residu dan ekstrak (supernatant).
- c. Ekstrak diendapkan (dipresipitasi) dengan cara menambahkan NaCl sampai konsentrasi akhir larutan mencapai 0,9 mol dm³. Sehingga didapatkan presipitat kolagen (proses *salting - out*). Presipitat dibiarkan selama 24 jam.
- d. Kemudian presipitat dari hasil endapan disentrifugasi untuk memisahkan kolagen dari partikel-partikel lain dengan kecepatan 8.000 rpm selama 30 menit pada suhu 4°C.
- e. Kemudian didialisis untuk memisahkan kolagen dari larutan NaCl dan asam asetat (pemurnian kolagen), dengan cara kolagen dilarutkan dalam asam asetat 0,5 M (b/v 1:10), kemudian dimasukkan ke dalam membran selofan.
- f. Membran selofan yang berisi ekstrak kolagen direndam dalam larutan asam asetat 0,1 M untuk memisahkan kolagen dari NaCl. Larutan asam asetat diganti setiap 3 jam dengan larutan asam asetat 0,1 M yang baru sebanyak dua kali.
- g. Selanjutnya membran yang berisi kolagen direndam dalam akuades untuk memisahkan kolagen dari asam asetat. Akuades diganti setiap 3 jam sampai pH akuades yang digunakan menjadi 5 atau lebih.
- h. Kolagen yang diperoleh pada ekstraksi kemudian dikeringkan dengan metode *freeze drying* setelah itu analisis karakteristik meliputi rendemen proksimat, viskositas, derajat putih, dan pH.

2.4.3 Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan Analysis Of Variance (ANOVA). Data yang menunjukkan pengaruh ($p < 0,05$), dilanjutkan dengan uji Duncan. Data yang dikumpulkan adalah data kuantitatif yang disajikan dalam bentuk tabel serta data kualitatif yang disajikan dalam bentuk narasi.



Gambar 4 Diagram alir penelitian ekstraksi kolagen (Martinez *et al.*, 2025)

2.4.4 Pengamatan dan Pengukuran

Pengamatan dan pengukuran pada ekstraksi kolagen yaitu analisis karakteristik kolagen meliputi analisis rendemen, kadar air, kadar abu, viskositas, derajat putih serta pH.

A. Pengukuran rendemen kolagen (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:

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

B. Analisis kadar air (AOAC 2005)

Analisis kadar air dilakukan untuk mengetahui komposisi kimia suatu bahan yang mengacu pada AOAC 2005, dengan persyaratan mutu kimia kolagen sisik dan kulit ikan yang ditetapkan dalam SNI 8076:2020. Proses analisis sebagai berikut:

Selama satu jam cawan dikeringkan dengan suhu 105°C, selanjutnya cawan dimasukkan dalam desikator sampai dingin (± 15 menit) kemudian ditimbang (hasil timbangan diupayakan tetap konstan). Sampel kemudian dimasukkan kedalam cawan sebanyak 5 g yang kemudian dikeringkan dalam oven selama 5 jam pada suhu 105°C. Selanjutnya kembali cawan dimasukkan dalam desikator untuk didinginkan kemudian ditimbang. Rumus yang digunakan sebagai berikut:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{B_1 - B_2}{B} \times 100\%$$

Keterangan:

B = Berat sampel (g)

B₁ = Berat (sampel + cawan) sebelum dikeringkan

B₂ = Berat (sampel + cawan) setelah dikeringkan

C. Analisis kadar abu (AOAC 2005)

Analisis kadar abu dilakukan untuk mengetahui komposisi kimia suatu bahan yang mengacu pada AOAC 2005, dengan persyaratan mutu kimia kolagen sisik dan kulit ikan yang ditetapkan dalam SNI 8076:2020. Proses analisis sebagai berikut:

Selama satu jam cawan pengabuan dikeringkan dalam oven dengan suhu 600°C selanjutnya didinginkan dalam desikator (15 menit). Selanjutnya ditimbang sampai berat konstan. Sebanyak 5 g sampel dimasukkan dalam cawan pengabuan kemudian dipanaskan diatas api hingga tidak berasap. Langkah selanjutnya, dimasukkan dalam tanur pengabuan selama satu jam pada suhu 600°C, kembali ditimbang hingga berat konstan. Penentuan kadar abu dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar abu (\%)} = \frac{\text{berat abu (g)}}{\text{berat sampel awal (g)}} \times 100\%$$

Keterangan:

Berat abu (g) = berat sampel dan cawan akhir (g) – berat cawan kosong (g)

D. Viskositas (Safihri, et al. 2019)

Pengukuran viskositas menggunakan prosedur analisis Safihri, et al., (2019). Larutan asam asetat 0,5 M sebanyak 300 mL digunakan untuk melarutkan kolagen dengan konsentrasi 0,3% (b/V). Larutan kolagen yang telah dihomogen sebanyak 250 mL diukur viskositasnya. Instrument yang digunakan adalah viskometer Brokkfield dengan spindle no. 2 pada 100 rpm.

E. Analisis Derajat Putih (Safihri, et al. 2019)

Analisis derajat putih kolagen dilakukan berdasarkan metode Safithri, et al., (2019). Analisis warna dilakukan menggunakan kromamater. 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:

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

F. Pengukuran pH (AOAC 2005)

Pengukuran pH dilakukan 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. Persyaratan standar mutu fisika (pH) kolagen sisik dan kulit ikan mengacu pada SNI 8076:2020.