

ANALISIS KANDUNGAN KOLAGEN EKSTRAK TULANG IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) ASAL KABUPATEN GOWA SULAWESI SELATAN

Tahirah Hasan¹, Yasnidar Yasir¹, Firno¹

¹Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Makassar, Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 9, Makassar, Sulawesi Selatan 90245, Indonesia

ABSTRAK

Kolagen merupakan protein serabut yang dapat memberikan ketahanan dan kelenturan pada jaringan kulit, tulang dan tendon. Kolagen terdapat pada bagian tubuh ikan, salah satunya adalah tulang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan kolagen yang terdapat pada tulang Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) asal Kabupaten Gowa Sulawesi Selatan. Penelitian ini dilakukan dengan 3 tahap, yaitu deproteinisasi dengan NaOH 0,05 M, hidrolisis dengan CH₃COOH 0,1 M dan ekstraksi dengan air suling pada suhu 45°C. Pengukuran kadar kolagen ekstrak tulang ikan nila asal Kabupaten Gowa Sulawesi Selatan menggunakan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 660 nm. Hasil analisis kandungan kolagen ekstrak tulang Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) asal Kabupaten Gowa Sulawesi Selatan diperoleh kadar $3,22,056 \pm 0,65$ ppm.

Kata Kunci : Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*), kandungan kolagen

ABSTRACT

Collagen is a fiber protein that can provide resilience and flexibility to skin, bone and tendon tissues. Collagen is found in fish body parts, one of which is bone. This study aims to determine the collagen content found in Tilapia (*Oreochromis niloticus*) bones from Gowa Regency, South Sulawesi. This research was conducted with 3 stages, namely deproteinization with 0.05 M NaOH, hydrolysis with 0.1 M CH₃COOH and extraction with distilled water at 45°C. Measurement of collagen content of tilapia fish bone extract from Gowa Regency, South Sulawesi using a visible spectrophotometer at a wavelength of 660 nm. The results of the analysis of the collagen content of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) bone extract from Gowa Regency South Sulawesi obtained a level of $3,22,056 \pm 0.65$ ppm.

Keywords : Tilapia (*Oreochromis niloticus*); Collagen content

PENDAHULUAN

Kolagen merupakan protein struktural ekstraseluler yang sangat penting untuk pembentukan struktur jaringan ikat yang meliputi hampir 30% dari total protein pada tubuh invertebrate. Kolagen yang terdapat pada jaringan dan tulang juga merupakan protein serabut yang berfungsi untuk memberikan elastisitas, serta sangat dibutuhkan untuk berbagai jaringan lainnya seperti pada kulit dan tendon.

Komposisi asam amino dan sifat fisik yang terdapat pada kolagen sangat dipengaruhi oleh suhu lingkungan sumber kolagen hewan (Tabarestani dkk, 2010).

Kolagen memiliki peranan penting pada industri kosmetik, biomedis, farmasi, dan makanan. Peranan kolagen dalam industri kosmetik digunakan untuk memperbaiki kulit yang mengalami kekerutan. Kolagen dalam industri farmasi berperan sebagai pembawa obat yaitu mini-

pellet dan penghantaran protein oleh tablet, sedangkan pada industri biomedis digunakan sebagai benang bedah, sponges untuk luka bakar, penggantian atau substitusi pada pembuluh darah dan agen hemostatik. Penggunaan kolagen pada industri makanan digunakan sebagai bahan utama dalam pembuatan gelatin. Gelatin merupakan bahan makanan berupa protein yang dapat dihasilkan dari denaturasi termal kolagen dari hewan, yang berfungsi sebagai pembentuk gel, penstabil dan pengental (Lee dkk, 2001).

Kolagen pada bidang industri saat ini sudah banyak dikembangkan, namun kolagen tersebut sebagian besar berasal dari tulang dan kulit babi atau sapi. Kolagen memiliki kandungan dan komposisi molekul yang berbeda tergantung pada jenis organisme dan habitatnya.

Hewan lain yang diduga memiliki sumber kolagen yang berasal dari perairan. Ikan merupakan salah satu biota perairan yang dikenal memiliki protein yang tinggi, sehingga ikan dapat berpotensi untuk dijadikan sumber kolagen yang baik.

Beberapa penelitian tentang kolagen pada sampel ikan dari spesies dan habitat yang berbeda telah dilakukan. Hasil penelitian Faiz (2014) diperoleh 8,56% kolagen dari ekstrak kolagen dari ekstrak kulit ikan buntal pisang (*Tetradon lunaris*). Hasil penelitian Jamilah dkk (2013) diperoleh 15,8% kolagen dari ekstrak kulit ikan kakap putih (*Lates calcarifer*). Penelitian di atas membuktikan bahwa perbedaan jenis dan habitat ikan sangat berpengaruh terhadap jumlah rendamen dan komposisi molekul kolagen. Oleh karena itu penelitian sumber kolagen dari jenis dan habitat lain perlu dikembangkan.

Potensi kolagen dari ikan air tawar di Indonesia perlu dikembangkan untuk meningkatkan nilai ekonomis ikan; sehingga taraf hidup masyarakat dapat meningkat. Salah satu ikan air tawar yang berpotensi untuk menghasilkan kolagen adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Ikan nila merupakan komoditas perikanan yang diminati oleh masyarakat untuk memenuhi kebutuhan protein hewani, karena mempunyai daging yang tebal serta memiliki potensi untuk dibudidayakan. Bagian ikan nila yang berpotensi sebagai sumber kolagen adalah tulang, karena

sekitaran 30% dari tulang disusun oleh komponen-komponen organik dan salah satunya adalah kolagen (Chi dkk, 2001).

Kabupaten Gowa merupakan salah satu penghasil budidaya perikanan air tawar dan air payau di Provinsi Sulawesi Selatan. Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) asal Kabupaten Gowa Sulawesi Selatan.

Berdasarkan uraian tersebut, maka rumusan masalah pada penelitian ini akan dilakukan analisis kandungan kolagen ekstrak tulang ikan nila (*Oreochromis niloticus*) asal Kabupaten Gowa Sulawesi Selatan.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan kadar kolegaen ekstrak tulang ikan nila (*Oreochromis niloticus*) asal Kabupaten Gowa Sulawesi Selatan.

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah beaker gelas, labu ukur, gelas ukur, freeze dryer, mikropipet, pipet ukur, spektrofotometer Visible Thermo Spektronic 20 D+, tabung reaksi, timbangan analitik dan water bath shaker.

Bahan-bahan yang digunakan adalah air suling, asam asetat glasial, kertas pH universal, kolagen p.a, natrium hidroksida (NaOH), ninhydrin (C₉H₆O₄), tulang ikan nila (*Oreochromis niloticus*).

B. Prosedur Penelitian

1. Pengambilan dan Penyiapan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tulang ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Ikan nila diambil dari dau Bili-bili yang berasal dari Kel. Bontoparang, Kec. Parangloe Kab. Gowa, Sulawesi Selatan. Tulang ikan nila terlebih dahulu dipisahkan dari dagingnya. Kemudian tulang ikan nila dicuci dengan air untuk menghilangkan sisa-sisa kotoran yang menempel pada tulang ikan nila, setelah bersih tulang ikan nila dikeringkan di bawah sinar matahari. Sampel ikan yang telah dikeringkan, dipotong menjadi bagian-bagian yang lebih kecil.

2. Ekstraksi Sampel

Ekstraksi kolagen dilakukan dengan tiga tahap, yaitu deproteinisasi dengan larutan NaOH 0,05 M, hidrolisis dengan perendaman menggunakan larutan asam asetat 0,1 M dan ekstraksi dengan air suling menggunakan metode hidro-ekstraksi

mengacu pada metode Liu, dkk (2015) pada penelitian Wulandari, dkk (2015) yang dimodifikasi.

a. Proses deproteinisasi

sampel tulang ikan nila ditimbang sebanyak 200 gram, kemudian direndam dengan larutan NaOH 0,05 M selama 8 jam dengan rasio 1: 10 (b/v) dan setiap 2 jam pelarut NaOH ditiriskan, lalu dicuci menggunakan air suling hingga pH 7.

b. Proses dehidrolisis

sampel tulang ikan nila hasil deproteinisasi, direndam dengan larutan CH_3COOH 0,1 M dengan rasio 1:10 (b/v) selama 2 jam, kemudian ditiriskan lalu dicuci dengan air suling hingga pH 7.

c. Proses ekstraksi dengan air suling

Sampel tulang ikan hasil hidrolisis, ditambahkan dengan air suling dengan perbandingan rasio 1:1, kemudian dipanaskan di atas water bath shaker pada suhu 45°C selama 2 jam, lalu disaring. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya dikeringkan dengan Freeze Dryer.

3. Analisis Kolagen

Uji kualitatif dan kuantitatif yang dilakukan mengacu pada metode Murray (2003), Wilcox et al, (1998), dan Helmkamp et al, (1964) dan Stephanie et al., (2016) yang dimodifikasi.

a. Uji kualifikasi ekstrak tulang ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan Pereaksi Ninhidrin 0,1%

ekstrak tulang ikan nila dipipet sebanyak 0,5 ml, lalu dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan larutan NaOH 1 M sebanyak 1 ml, ditambahkan pereaksi ninhydrin 0,1% sebanyak 0,5 ml, dipanaskan diamati perubahan warna yang terjadi. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi warna kuning berdasarkan jenis asam amino ya g terkandung dalam sampel.

b. Uji Kuantitatif Ekstrak Tulang Ikan Nila dengan Metode Lowry

1) Pembuatan Larutan Standar Kolagen 1000 ppm

Kolagen p.a ditimbang sebanyak 50 mg, dilarutkan sedikit dengan air suling di dalam beaker kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml, dicukupkan dengan air

suling sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

2) Pembuatan larutan standar kolagen 1000 ppm

Larutan induk kolagen 1000 ppm dipipet sebanyak 5 ml, dimasukkan ke dalam labu tentu ukur 50 ml, ditambahkan air suling hingga tanda batas, lalu dikocok hingga homogen.

3) Pembuatan Deret Larutan Standar Kolagen Dengan Variasi Konsentrasi

Disiapkan 5 tabung reaksi, masing-masing diberi label konsentrasi yaitu 5 ppm; 10 ppm; 20 ppm; 40 ppm; dan 80 ppm. Kemudian dipipet sebanyak 0,1 ml; 0,2 ml; 0,4 ml; 0,8 ml dan 1,6 ml dari larutan baku 100 ppm, lalu dicukupkan dengan air suling hingga 2 ml menggunakan micropipet.

4) Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum

Larutan standar kolagen dari salah satu konsentrasi yaitu 20 ppm sebanyak 2 ml ditambahkan reagen Lowry B sebanyak 2,75 ml, kemudian ditambahkan reagen Lowry A sebanyak 0,25 ml dan didiamkan selama 30 menit, setelah itu dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur serapannya dengan spektrofotometer visible dengan rentang Panjang gelombang 600-700 nm dan diperoleh Panjang gelombang maksimum 660 nm. Data serapan (y) dan data konsentrasi (x) dimasukkan dalam perhitungan untuk mendapatkan persamaan regresi linear.

5) Pengukuran Kadar Kolagen Ekstrak Tulang Ikan Nila dengan Spektrofotometer visible

Penentuan kadar kolagen ditentukan berdasarkan metode lowry menggunakan kolagen p.a standar. 2ml larutan sampel ditambahkan 2,75 ml lowry B kemudian ditambahkan 0,25 lowry A dan didiamkan selama 30 menit, lalu dimasukkan ke dalam kuvet, selanjutnya dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer visible pada Panjang gelombang 660 nm. Kadar kolagen dihitung menggunakan persamaan regresi linear $y=ax + b$.

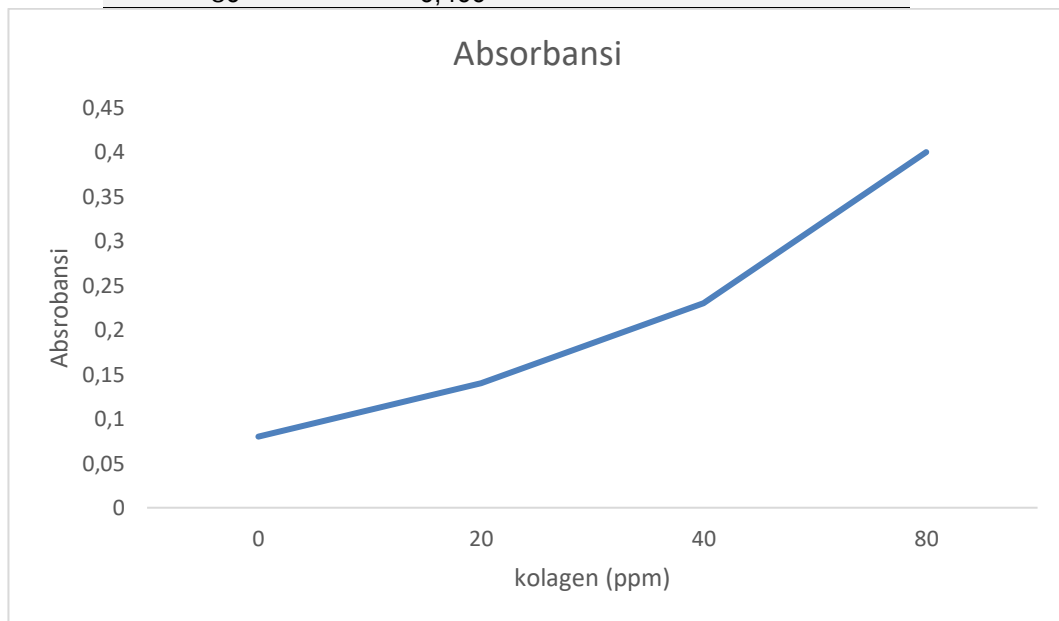
HASIL PENELITIAN

Tabel 1. Data Hasil Uji Kualitatif Ekstrak Tulang Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Bahan Uji	Pereaksi	Warna	Keterangan
Ekstrak tulang ikan nila	Ninhidrin	Kuning	Positif Prolin dan Hidroksirolin

Tabel 2. Data Hasil Pengukuran Larutan Standar Kolagen

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi ($\lambda = 660 \text{ nm}$)	Persamaan regresi
5	0,080	$y = 0,0043x + 0,0571$ $R^2 = 0,09998$
10	0,100	
20	0,140	
40	0,230	
80	0,400	



Gambar 1. Grafik Hasil Analisis Larutan Standar Kolagen

Tabel 3. Data Hasil Pengukuran Kadar Kolagen Ekstrak Tulang Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) pada Panjang Gelombang 660 nm

Replikasi	Absorbansi (A)	FP	Protein Terukur	Rata-rata $\pm$ SD (ppm)
I	1,440	1	321,60	3,22,065 $\pm$ 0,65
II	1,444	1	322,53	

PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tulang ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang berasal dari Danau Bili-Bili, Kel. Bontoparang, Kec. Parangloe Kab Gowa, Sulawesi Selatan. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk menentukan kadar kolagen ekstrak tulang ikan nila (*Oreochromis niloticus*) asal Kabupaten Gowa Sulawesi Selatan. Proses ekstraksi kolagen dikerjakan dalam tiga tahap, yaitu tahap deproteinisasi

menggunakan larutan NaOH 0,05 M, hidrolisi dengan larutan asam asetat 0,1 M dan ekstraksi dengan air suling menggunakan metode hidro-ekstraksi yang mengacu pada metode Liu, dkk (2015) pada penelitian Wulandari dkk (2015) yang dimodifikasi.

Deproteinisasi menggunakan larutan NaOH yang bertujuan untuk menghilangkan protein non kolagen. Larutan NaOH juga dapat menghilangkan pengotor lain 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 (Zhou dan Regenestein, 2005). Perendaman dalam larutan NaOH mengakibatkan tulang ikan menjadi lebih tebal, warna tulang menjadi bening kecoklatan hingga putih keruh yang disebabkan lemak yang terkandung dalam tulang ikan larut dalam larutan basa. Hal ini sependapat dengan Hinter Walnerd, 1997 yang menyatakan bahwa Sebagian ikatan hydrogen, peptide, dan kovalen pada struktur kolagen dapat dihancurkan oleh larutan basa, sehingga kotoran lemak, pigmen, protein non kolagen, pigmen ikut terbuang bersama pelarut.

Tujuan dari hidrolisis menggunakan asam asetat yaitu merubah struktur serat kolagen untuk memudahkan proses kelarutan pada ekstraksi. Pemilihan asam asetat digunakan dalam hidrolisis karena asam asetat mampu memutuskan rantai polipeptida yang berada pada matriks menjadi tropokalgen. Penggunaan asam asetat dapat meningkatkan ion H^+ yang dapat menyebabkan air mudah masuk di dalam serat kolagen melalui gaya elektrostatik antara ion H^+ dari asam dengan gugus polar pada serat kolagen. Hal ini mempengaruhi struktur utuh serat tropokolagen menjadi prokolagen yang pada akhirnya memudahkan proses kelarutan kolagen dalam ekstraksi (Sinthusamran et al, 2013).

Ekstraksi tulang ikan nila dalam water bath shaker pada suhu $45^{\circ}C$ bertujuan untuk mempercepat terjadinya pemutusan ikatan kovalen dan ikatan hydrogen, yang dapat mengubah struktur prokolagen juga dapat menghasilkan gelatin dengan cara pemanasan yang berlebih. Pemanasan pada suhu $45^{\circ}C$ untuk menghindari denaturasi lanjut yang dapat mengkonversi kolagen menjadi gelatin. Hal ini juga diperkuat oleh Shoulders dan Raines (2009) yang menyatakan bahwa jika suhu pemanasan menjadi $60^{\circ}C$ atau lebih, maka struktur kolagen akan mengalami perubahan bentuk untaian menjadi rusak secara permanen. Ekstrak berupa kolagen cair dibekukan kemudian dikeringkan

menggunakan freeze dryer untuk menghasilkan kolagen dalam bentuk serbuk.

Penentuan kada kolagen ekstrak tulang ikan nila dengan metode lowry menggunakan kolagen p.a sebagai standar. Ekstrak kolagen tulang ikan nila ditambahkan reagen lowry B. bahan-bahan dalam reagen lowry B terdiri dari $CuSO_4$ yang berfungsi mereduksi fosfotungsat-fosfomolibdat, Na-K-tartrat berfungsi mencegah kupro oksida dalam reagen lowry B mengalami pengendapan, sedangkan $NaCO_3$ bersama NaOH berperan sebagai garam yang mengkoordinasikan reaksi dalam suasana basa (Lowry, 1951).

Uji pendahuluan ekstrak tulang ikan nila dilakukan menggunakan pereaksi ninhydrin. Pengujian ini bertujuan untuk melihat adanya asam amino bebas yang terdapat dalam ekstrak tulang ikan nila. Reaksi antara sampel dan pereaksi ninhydrin menyebabkan terbentuknya senyawa kompleks diketonhidrindilen-diketonhidrindamin. Ninhydrin bereaksi dengan semua asam amino alfa membentuk aldehida dengan satu atom C lebih rendah, kemudian melepas CO_2 dan NH_3 . Selain NH_3 bereaksi dengan dua molekul ninhydrin membentuk kompleks, sehingga membentuk warna biru (Riawan, 2010). Hasil uji ninhydrin menunjukkan terjadinya perubahan warna dari tidak berwarna berubah menjadi warna kuning. Hal ini menunjukkan bahwa larutan sampel positif mengandung asam amino prolin dan hidroksirolin yang secara teori prolin dan hidroksirolin yang gugus aminonya tersubstitusi, sehingga memberikan hasil berwarna kuning (Bintang M, 2010).

Berdasarkan asam amino yang terkandung di dalam sampel, maka dapat dinyatakan bahwa ekstrak tulang ikan nila (*Oreochromis niloticus*) asal Kabupaten Gowa Sulawesi Selatan mengandung kolagen. Hal ini sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa asam amino utama pembentuk kolagen adaah asam amino glisin, prolin, dan hidroksirolin (Katili, 2009).

Analisis kadar kolagen ekstrak tulang ikan nila (*Oreochromis niloticus*) menggunakan spektrofotometer visible dengan Panjang gelombang 660 nm

diperoleh kadar rata-rata sebesar $322,065 \pm 0,65$ ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa tulang ikan nila (*Oreochromis niloticus*) asal Kabupaten Gowa Sulawesi Selatan dapat dijadikan sumber alternatif kolagen yang aman dan juga halal untuk menggantikan kolagen yang bersumber dari tulang sapi maupun babi. Penggunaan tulang ikan sebagai sumber alternatif bahan baku kolagen dapat meningkatkan nilai ekonomis dari tulang ikan nila asal Kabupaten Gowa.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak tulang ikan nila (*Oreochromis niloticus*) asal Kabupaten Gowa Sulawesi Selatan memiliki kandungan kolagen sebesar $322 \pm 0,65$ ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Bintang, M. 2010. Biokimia Teknik Penelitian. Erlangga: Jakarta.
- Chi, H.L.; Anuj S; Yungyung I. 2001. Review Biomedical Application of Collagen. *Internasional Journal of Pharmaceutic*. Vol. 221. Hal 1-2.
- Faizal, F. 2014. Isolasi dan Karakteristik Kolagen dari Kulit Ikan Buntal Pisang (*Tetraodon lunaris*). Skripsi. Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakutlas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.
- Jamilah, B.; Hartina U.M.R.; Hashim M.D.; Sazili A.Q., 2013. Properties of Collagen from Barramundi (*Lates calcarifer*) Skin. *International Food Research J*. 20(2): 835-842.
- Katili, A.S. 2009. Struktur dan Fungsi Protein Kolagen. ITB Bandung.
- Lee, C.H.; Singla A; Lee Y., 2001. Review : Biomedical Application of Collagen. *International Journal of Pharmacy*. (221): 1-22.
- Lowry, OH; Rosebrought A.; Nira J.; Lewis Farr.; Risse J.; 1951. *Protein Measurement with The Folin Phenol Reagen*. Department of Pharmacology, Woshington University School of Medicine.
- Murray, R.K.; Granner Daryl K.; Viktor W. Rodwell; Warren. 2012. Biokimia Harper Edisi 27. Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Sinthusamran S.; Benjakul, S.; Kishimura H.; 2013. Comparative Study on Moleculer Characteristic of Acid Soluble Collagens from Skin and Swim Bladder of Seabass (*Lates calcarifer*). *Food Chemistry*, 138, 2435-2441.
- Shoulders M.D. and R.T. Raines. 2009. Collagen Structure and Stability. *Annu Rev Biochem*, 78 Hal 929-958.
- Syaiikh, A.bin. M.A., 2016. Tafsir Ibnu Katsir jilid 1. Pustaka Imam Asy-Syaff'i. Bogor.
- Tabarestani, S.H.; Maghsoudlou Y.; Motamedzadegan A.; Mahoonak S.A. R.; Rostamzad H. 2010. Study on Some Properties of Acid Soluble Collagen Isolated from Fish Skin and Bones of Rainbow Trout (*Onchoryncus mykiss*). *International Food Research Journal*. 19(1): 251-257.
- Zhou P.; Regenstein JM. 2005. Effects of Alkaline and Acid Pretreatments on Alaska Pollock Skin Gelatin Extraction. *Journal of Food Science*. 70(6). Hal 392-396

