

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN DARI KULIT DAN
TULANG BELUT SAWAH (*Monopterus albus*)**

(Isolation and Characterization Collagen from The Skin
and Bones of Asian Swamp Eel (*Monopterus albus*))

SKRIPSI



Oleh:

**DHEA AYU KARINA RISTANINGRUM
4161015**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2020**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN DARI KULIT DAN
TULANG BELUT SAWAH (*Monopterus albus*)**

(Isolation and Characterization Collagen from The Skin
and Bones of Asian Swamp Eel (*Monopterus albus*))

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai derajat Sarjana
Farmasi (S. Farm) pada Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu
Kesehatan Nasional di Surakarta**

Oleh :

**DHEA AYU KARINA RISTANINGRUM
4161015**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2020**

PENGESAHAN SKRIPSI

ISOLASI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN DARI KULIT DAN TULANG BELUT SAWAH (*Monopterus albus*)

(Isolation and Characterization Collagen from The Skin
and The Bone Eel (*Monopterus albus*))

Oleh:

DHEA AYU KARINA RISTANINGRUM
4161015

Dipertahankan di hadapan Penguji Skripsi Program Studi S1 Farmasi Sekolah
Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Pada tanggal : 31 Agustus 2020

Pembimbing Utama

apt. Dian Puspitasari, S. Farm., M. Sc.

Pembimbing Pendamping

apt. Novena Yety Lindawati, S. Farm., M. Sc.

Mengetahui,

Program Studi S1 Farmasi
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional
Ketua Program Studi

apt. Lusia Murtisiwi, S.Farm., M.Sc.

Tim Penguji

Ketua : apt. Diah Pratimasari, M. Farm.

Anggota :

1. Nastiti Utami, S.Si., M.Sc.

2. apt. Dian Puspitasari, S. Farm., M. Sc.

3. apt. Novena Yety Lindawati, S. Farm., M. Sc.

1.

2.

3.

*Dengan Menyebut Nama Allah SWT
Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang*

*“Wahai orang-orang yang beriman!
.Mohonlah pertolongan (kepada Allah) dengan sabar dan shalat.
Sungguh, Allah beserta orang-orang yang sabar.”*

(Al-Ankabuut: 69)

Karya ini saya persembahkan kepada
Ayah Ibu dan Kakak Tercinta

HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul :

ISOLASI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN DARI KULIT DAN TULANG BELUT SAWAH (*Monopterus albus*)

Yang dibuat untuk melengkapi persyaratan menyelesaikan Jenjang Pendidikan S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, sejauh pengetahuan saya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan tidak terdapat tiruan atau duplikasi karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, 31 Agustus 2020

Peneliti



Dhea Ayu Karina Ristaningrum

NIM : 4161015

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan yang Maha Pengasih dan Penyayang atas segala karunia dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul “ISOLASI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN DARI KULIT DAN TULANG BELUT SAWAH (*Monopterus albus*)” sebagai salah satu syarat menyanggah gelar Sarjana Farmasi di Progran Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional. Dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Untuk itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. apt. Lusia Murtisiwi, S.Farm., M.Sc. selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.
2. apt. Dian Puspitasari, S.Farm., M.Sc. selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, nasehat serta bantuan dalam penyelesaian skripsi.
3. apt. Novena Yety Lindawati, S.Farm., M.Sc. selaku pembimbing pendamping yang selalu memberikan motivasi, pengarahan, bimbingan, nasehat dan teladan selama penyelesaian skripsi.
4. apt. Diah Pratimasari, M.Farm. selaku dosen penguji atas saran dan masukan yang diberikan.
5. Nastiti Utami, S.Si., M.Sc. selaku dosen penguji atas saran dan masukan yang diberikan.
6. Tesia Aisyah Rahmania, S.Si., M.Pharm. Sci. atas motivasi, pengarahan, dan bimbingan yang diberikan.

7. Kedua orang tuaku, Bapak Istoyo dan Ibu Suratiningsih tercinta yang senantiasa mendoakan, memberikan nasehat dan memberikan semangat dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi.
8. Bunga Narendra Syhista Putri, Natasya Mutiara Suci Savitri, dan Andi Setiawan yang selalu mendoakan dan memberikan semangat dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi.
9. Hanggawati Puspita Mayangsari, Criste Mareta Ardika Sari, Riski Asih Dwi Lestari yang selalu memberikan semangat, dukungan, dan nasehat dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi.
10. Arrahmatus Syahidah dan Feransiska Marentina Widyasari yang selalu membantu dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi.
11. Eva Gushartanti, Ratih Lestari, Retno Nur Sholikhah, Aninta Dewi, Yulia Rossy Enggarwati, Septa Giyosti Eka Farevadhea yang selalu menyemangati peneliti untuk menyelesaikan skripsi.
12. Teman-teman S1 Farmasi angkatan 2016 yang memberikan bantuan dan semangat dalam menyelesaikan penelitian.
13. Staf dan Karyawan Program Studi S1 Farmasi STIKES Nasional, Laboran-laboran yang telah membantu pelaksanaan praktikum dalam proses skripsi.
14. Pihak-pihak yang telah memberikan dukungan dan bantuan, baik moral maupun material.

Akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan penelitian, ilmu pengetahuan maupun dunia medis. Penulis

menyadari skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan sehingga kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan.

Surakarta, 31 Agustus 2020

PENULIS

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
SAMPUL DALAM.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI.....	xv
<i>ABSTRACT</i>	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Kolagen	4
1 Pengertian Kolagen	4
2 Manfaat Kolagen.....	5
B. Belut Sawah.....	6

1. Klasifikasi	6
2. Morfologi	7
C Ekstraksi Kolagen.....	8
1 Asam Asetat	8
2 Natrium Hidroksida.....	8
D. Spektrofotometri IR.....	8
E. Landasan Teori.....	13
F. Hipotesis.....	14
G. Kerangka Konsep	15
BAB III METODE PENELITIAN.....	16
A. Desain Penelitian.....	16
B. Alat dan Bahan	16
C. Variabel Penelitian	17
D. Definisi Operasional.....	17
E. Prosedur Penelitian	18
1. Isolasi Kolagen.....	18
2. Rendemen Kolagen	19
3. Uji Kualitatif Kolagen.....	19
4. Uji Organoleptis	20
5. Analisis Proksimat	20
6. Analisis Gugus Fungsi dengan FTIR	23
F. Metode Analisis Hasil.....	23
G. Alur Penelitian.....	24

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	25
A. Isolasi Kolagen	25
B. Rendemen Kolagen dengan Optimasi NaOH	28
C. Uji Kualitatif	29
D. Uji Organoleptis	33
E. Analisis Proksimat	33
F. Analisis FTIR Kolagen	37
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	40
A. Kesimpulan.....	40
B. Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur Kolagen	4
Gambar 2. Morfologi Belut Sawah	6
Gambar 3. Skema Alat Spektrofotometri IR.....	10
Gambar 4. Spektrum FTIR Kolagen	11
Gambar 5. Kerangka Konsep Penelitian	15
Gambar 6. Alur Penelitian.....	24
Gambar 7. Mekanisme Reaksi Glisin dengan NaOH.....	26
Gamabr 8. Mekanisme Reaksi Glisin dengan Asam Asetat	27
Gambar 9. Mekanisme Reaksi Nihindrin dengan Asam Amino.....	31
Gambar 10. Uji Kualitatif Kolagen.....	32
Gambar 11. Hasil FTIR Kolagen Kulit dan Tulang Belut Sawah.....	37

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Wilayah serapan Spektroskopi IR.....	11
Tabel 2. Rendemen Kolagen.....	29
Tabel 3. Uji Kualitatif Kolagen.....	32
Tabel 4. Hasil Analisis Proksimat.....	33
Tabel 5. Wilayah Serapan kolagen kulit dan tulang belut sawah	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan NaOH	45
Lampiran 2. Perhitungan Asam Asetat 0,5 M.....	47
Lampiran 3. Perhitungan NaCl 0,9 M.....	48
Lampiran 4. Rendemen Kolagen.....	49
Lampiran 5. Kadar Air	50
Lampiran 6. Kadar Lemak	51
Lampiran 7. Kadar Protein.....	52
Lampiran 8. Sampel	56
Lampiran 9. Perendaman NaOH.....	57
Lampiran 10. Perendaman Asam Asetat 0,5 M	58
Lampiran 11. Proses <i>Salting Out</i>	59
Lampiran 12. Rendemen Kolagen.....	60
Lampiran 13. Uji Kualitatif Kolagen	61
Lampiran 14. Kadar Air	62
Lampiran 15. Kadar Lemak	63
Lampiran 16. Kadar Protein.....	65
Lampiran 17. Hasil FTIR Kolagen.....	66

INTISARI

Belut sawah merupakan ikan air tawar yang mengandung kolagen terutama pada bagian kulit dan tulangnya, namun pemanfaatannya masih belum maksimal. Umumnya kolagen banyak didapatkan dari sapi maupun babi, dimana terdapat kekhawatiran mengenai isu penyakit menular dan keagamaan, penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi kolagen dan mengetahui karakteristik kolagen yang dihasilkan dari kulit dan tulang belut sawah.

Isolasi kolagen dilakukan dalam 2 tahap yaitu tahap pra-perlakuan dan hidrolisis kimia. Optimasi pra-perlakuan dilakukan dengan 3 variasi perlakuan dengan perendaman pada 3 konsentrasi NaOH yang berbeda, yaitu konsentrasi 0,05 M ; 0,1 M ; dan 1 M. Pra-perlakuan dilakukan selama 6 jam dengan penggantian pelarut setiap 3 jam untuk kulit serta selama 24 jam dengan penggantian pelarut setiap 6 jam untuk tulang. Hidrolisis kimia dilakukan dengan merendam hasil pra-perlakuan menggunakan larutan CH_3COOH 0,5 M selama 6 jam, kemudian dilakukan proses *salting out* menggunakan NaCl 0,9 M. Hasil rendemen terbaik dilakukan karakterisasi secara kimia dan fisika.

Hasil optimasi dari 3 variasi konsentrasi NaOH didapatkan rendemen kolagen sebesar 0,07% pada konsentrasi NaOH 0,05 M; 1,18% pada konsentrasi NaOH 0,1 M; 0,14% pada konsentrasi NaOH 1 M. Rendemen terbanyak didapatkan pada konsentrasi 0,1 M dengan warna putih mengembang. Karakteristik dari rendemen adalah komponen proksimat seperti kandungan air sebesar 8,35%, kandungan lemak sebesar 12,93%, serta kandungan protein sebesar 21,5%. Hasil FTIR kolagen tulang dan belut sawah menunjukkan puncak serapan khas kolagen yaitu Amida A ($3299,25 \text{ cm}^{-1}$), Amida B ($2937,5 \text{ cm}^{-1}$), Amida I ($1653,90 \text{ cm}^{-1}$), Amida II ($1538,16 \text{ cm}^{-1}$), dan Amida III ($1242,08 \text{ cm}^{-1}$).

Kata Kunci : Kolagen, Tulang dan kulit belut sawah, Pra-perlakuan, Karakterisasi, Isolasi

ABSTRACT

Asian swamp eel is a freshwater fish that contains collagen, especially in the skin and bones, but the application is still not optimal. Generally, collagen is mostly obtained from cows and pigs, where there are concerns about infectious and religious issues. The study aim to isolate collagen and determine the characteristics of collagen produced from the skin and Asian swamp eel bones.

Collagen isolation was carried out in 2 stages, namely the pre-treatment stage and chemical hydrolysis. Pre-treatment optimization was carried out with 3 variations of treatment by immersion in 3 different concentrations of NaOH, namely a concentration of 0.05 M; 0.1 M; and 1 M. The pre-treatment was carried out for 6 hours with replacement every 3 hours for skin and for 24 hours with solvent replacement every 6 hours for bone. Chemical hydrolysis was carried out by soaking the pre-treatment results in 0.5 M CH₃COOH solution for 6 hours, then the salting process was carried out using 0.9 M NaCl. The yield was carried out by chemical and physical characterization.

The optimization results from 3 variations of NaOH concentrations obtained collagen yield of 0.07% at a concentration of 0.05 M NaOH; 1.18% at 0.1 M NaOH concentration; 0.14% at a concentration of 1 M NaOH. The most yields were obtained at a concentration of 0.1 M with a fluffy white color. The characteristics of the yield were proximate components such as water content of 8.35%, fat content of 12.93%, and protein content of 21.5%. FTIR results of collagen from skin and bone Asian swamp eel showed typical collagen absorption peaks, namely Amide A (3299.25 cm⁻¹), Amide B (2937.5 cm⁻¹), Amide I (1653.90 cm⁻¹), Amide II (1538) . , 16 cm⁻¹), and Amide III (1242.08 cm⁻¹).

Keywords : Collagen, Skin and Asian swamp eel bones, Pre-treatment, characterization, isolation

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Menurut Stephanie dkk (2016) kolagen merupakan protein yang menyusun jaringan ikat, otot gusi, dan kulit dengan persentase 30% dari total jumlah protein dalam tubuh. Kolagen juga banyak dimanfaatkan di dalam dunia kesehatan diantaranya sebagai pelindung dalam *ophthamology*, mengobati luka bakar dan luka, serta membantu penghantaran obat dan protein (Muthukumar dkk., 2018).

Bertambahnya usia serta pengaruh radiasi UV-A dan UV-B akan berdampak pada penurunan jumlah kolagen di dalam tubuh. Kerusakan kolagen dan penurunan jumlah kolagen menyebabkan penuaan dini, keriput, menurunnya kelembaban kulit dan berkurangnya elastisitas kulit (Stephanie dkk., 2016), sehingga diperlukan asupan kolagen dari luar.

Selama ini kolagen biasa diambil dari tulang dan kulit sapi maupun babi, namun bahan baku ini tidak sesuai dengan beberapa agama seperti Agama Islam, Yahudi, dan Hindu. Selain itu, ada beberapa isu penggunaan yang dapat menimbulkan beberapa penyakit seperti *bovine spongiform encephalopathy* (BSE), *trans-missible spongiform encephalopathy* (TSE), *foot and mouth disease* (FMD), dan infeksi cacing pita (Dewi dkk., 2017; Nurhayati dkk., 2013). Perkembangan penelitian untuk mendapatkan alternatif sumber kolagen baru, salah satunya adalah ikan air tawar, karena kolagen banyak ditemukan pada kulit dan tulang ikan air tawar.

Penelitian mengenai kandungan kolagen didalam kulit ikan air tawar telah banyak dilakukan seperti penelitian Stephanie dkk (2016) mengisolasi kolagen dari kulit dan tulang ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*), Suptijah dkk (2018) mengisolasi dan mengkarakterisasi kolagen dari kulit ikan patin (*Pangasius sp*), Nurhidayah dkk (2019) melakukan penelitian kandungan kolagen dalam sisik ikan bandeng (*Chanos-chanos*) dan dalam sisik ikan nila (*Oreochromis niloticus*), Nurhayati dkk (2013) mengisolasi dan mengkarakterisasi kolagen dari kulit ikan nila (*Oreochromis niloticus*), serta Dewi dkk (2017) melakukan penelitian tentang histologi, mengisolasi dan mengkarakterisasi kolagen gelembung renang ikan cunang (*Muaranesox talabon*).

Penelitian mengenai kandungan kolagen didalam kulit dan tulang belut sawah (*Monopterus albus*) belum banyak dilakukan sehingga dilakukan penelitian mengenai isolasi dan karakterisasi kolagen kulit dan tulang belut sawah (*Monopterus albus*).

Belut sawah (*Monopterus albus*) merupakan ikan air tawar yang memiliki morfologi seperti ular dan tidak memiliki sirip. Belut sawah (*Monopterus albus*) termasuk jenis hewan karnivora yang memakan ikan-ikan kecil, cacing, dan serangga di sawah, biasa beraktifitas pada malam hari sehingga termasuk dalam jenis hewan nokturnal (Jefry, 2016; Tulusya dkk., 2015).

Potensi pemanfaatan kulit dan tulang belut sawah (*Monopterus albus*) sebagai sumber kolagen sangat tinggi, sehingga diperlukan karakterisasi kolagen dalam tulang dan kulit belut sawah (*Monopterus albus*). Karakterisasi kolagen penting dilakukan untuk mendukung pengembangan aplikasi kolagen dalam dunia

kesehatan dan kosmetik. Karakterisasi kolagen dilakukan baik dari sifat fisik maupun sifat kimia, seperti nilai rendemen, uji organoleptis, analisis proksimat (kadar air, kadar protein, kadar lemak) dan gugus fungsi dengan FTIR. Diharapkan penelitian ini dapat memberikan hasil karakteristik kolagen yang sesuai dengan persyaratan.

B. Perumusan Masalah

1. Apakah kolagen dapat diisolasi dari kulit dan tulang belut sawah (*Monopterus albus*) ?
2. Apakah karakteristik kolagen dari kulit dan tulang belut sawah (*Monopterus albus*) sudah sesuai persyaratan kolagen yang telah ditetapkan?

C. Tujuan Penelitian

1. Mendapatkan isolat kolagen dari kulit dan tulang belut sawah (*Monopterus albus*).
2. Mengetahui karakteristik kolagen yang dihasilkan belut sawah (*Monopterus albus*).

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk memanfaatkan kulit dan tulang belut sawah (*Monopterus albus*) menjadi produk dengan nilai ekonomis yang tinggi.

BAB III

METODELOGI PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dimana menggunakan sampel kolagen yang diambil dari kulit dan tulang belut sawah. Tahap pertama ekstraksi kolagen dengan perendaman dalam larutan NaOH yang di optimasi dari beberapa konsentrasi yaitu 0,05 M; 0,1 M; dan 1 M dan dilanjutkan perendaman dalam larutan asam asetat (CH_3COOH) 0,5 M. Setelah didapatkan ekstrak kering dilakukan karakterisasi pada ekstrak kolagen, yaitu dengan menganalisa kadar air, kadar protein, kadar lemak dan menentukan gugus fungsi menggunakan spektroskopi IR.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah pipet tetes, gelas kimia (Pyrex® dan Iwaki®), spatula, labu kjehdahl. Alat-alat (*instrument*) seperti oven, neraca analitik (Acis BC 500), desikator, spektrofotometer IR (Shimadzu), *Moisture Balance*.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah kulit dan tulang belut sawah yang diambil dari budidaya daerah Boyolali, NaOH tehnik, CH_3COOH glasial, air

suling, NaCl, KBr, H₂SO₄ p, selenium, indikator metil merah, asam klorida, asam oksalat, kloroform.

C. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi natrium hidroksida (NaOH).

2. Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini meliputi nilai rendemen kolagen kulit dan tulang belut sawah (*Monopterus albus*).

3. Variabel terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah suhu dan waktu isolasi kolagen.

D. Definisi Operasional

1. Belut sawah (*Monopterus albus*) merupakan ikan air tawar yang memiliki morfologi seperti ular dan tidak memiliki sirip.
2. Kolagen adalah protein berbentuk serat sebagai komponen utama dalam tulang, gigi, tulang rawan, lapisan kulit sebesar 30% atau sepertiga jumlah total protein.
3. Pelarut dalam isolasi kolagen antara lain larutan NaOH untuk pra-perlakuan dan pada ekstraksi kolagen digunakan CH₃COOH.
4. Suhu yang digunakan pada penelitian ini adalah suhu ekstraksi sebesar 4°C.

5. Waktu ekstraksi adalah waktu yang digunakan untuk mengekstraksi kolagen dari kulit dan tulang belut sawah (*Monopterus albus*) yaitu perendaman menggunakan larutan NaOH selama 6 jam dan 24 jam serta perendaman menggunakan larutan Asam Asetat selama 48 jam.

E. Prosedur Penelitian

Penelitian dilakukan dalam beberapa tahap yaitu

1. Isolasi kolagen

- a. Pra-perlakuan

Ekstraksi diawali dengan melakukan deproteinisasi dengan cara perendaman kulit dan tulang belut sawah (*Monopterus albus*) sebanyak \pm 100 gram menggunakan larutan natrium hidroksida (NaOH) 0,05 M; 0,1 M; dan 1 M dengan perbandingan (1:10 (b/v)) pada suhu 2-8°C agar protein non kolagen hilang. Kulit belut sawah (*Monopterus albus*) direndam selama 6 jam dengan penggantian pelarut setiap 3 jam, sedangkan tulang belut sawah (*Monopterus albus*) direndam selama 24 jam dengan penggantian pelarut setiap 6 jam. Selanjutnya kulit dan tulang hasil perendaman dipisahkan dari larutan NaOH dan dicuci menggunakan air suling sampai pH netral (Schmidt, 2016; Idrus dkk., 2018; Fawzya dkk., 2016).

- b. Hidrolisis Kimia

Tahap kedua adalah proses hidrolisis yang dilakukan dengan merendam kulit dan tulang hasil perendaman NaOH direndam dalam larutan asam asetat (CH_3COOH) dengan konsentrasi 0,5 M dengan perbandingan

(1:10 (b/v)) selama 48 jam pada suhu 2-8 °C. Larutan ekstrak ditambahkan garam NaCl 0,9 M dan diaduk sampai terbentuk gumpalan putih dalam larutan, kemudian didiamkan sampai terbentuk gumpalan putih. Tahap selanjutnya larutan disaring, gumpalan yang tersaring merupakan kolagen basah. Sampel dicuci dengan air suling sampai pH netral. Kolagen dikeringkan dengan cara didiamkan dalam suhu ruang (Ramdhani dan Aida, 2016; Schmidt, 2016; Idrus dkk., 2018; Fawzya dkk., 2016).

2. Rendemen Kolagen

Rumus untuk mendapatkan nilai rendemen adalah sebagai berikut (Alhana, 2015):

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{Berat kering kolagen}}{\text{Berat bahan awal}} \times 100\%$$

3. Uji Kualitatif

a. Uji Nihidrin

Sampel hasil isolasi dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian dilakukan penambahan basa NaOH 1 M, lalu ditambah dengan pereaksi Nihidrin 1% dipanaskan, dan diamati perubahan yang terjadi. Hasil positif yang ditunjukkan adalah warna ungu, biru, dan kuning pucat berdasarkan asam amino yang dikandung.

4. Uji Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan pada kolagen berdasarkan pengamatan bentuk, bau, dan warna menggunakan panca indra.

5. Analisis Proksimat

Prosedur dari analisis proksimat adalah sebagai berikut:

a. Penentuan Kadar Air

Moisture balance dinyalakan dengan menekan tombol *ON/OFF*, kemudian setting suhu pada 105°C. Tempatkan *aluminium plate* kedalam alat *moisture balance* dan tekan tombol tara agar berat *aluminium plate* terbaca 0,00 gram. Sampel kolagen sebanyak 0,5 gram diletakkan diatas *aluminium plate*, selanjutnya tekan tombol *start* sampai alat berbunyi dan menunjukkan tulisan *test over*. Hasil kadar air akan tampil pada display dalam bentuk angka dengan satuan persen (%).

b. Penentuan Kadar Protein

1) Tahap Destruksi

Sampel kolagen 0,1 gram dimasukkan dalam labu kjedahl 100 mL kemudian ditambahkan 10 mL asam sulfat pekat dan selenium untuk mempercepat destruksi. Selanjutnya dipanaskan menggunakan api kecil yang sedikit demi sedikit api dibesarkan. Destruksi dilakukan sampai didapatkan larutan berwarna jernih kehijauan (Rosaini dkk., 2015).

2) Tahap Destilasi

Hasil destruksi yang sudah dingin, ditambahkan 100 mL air suling. Selanjutnya dipipet 5 mL dan dimasukkan dalam labu destilasi. Larutan natrium hidroksida 30% ditambahkan melalui dinding sebanyak 10 mL sehingga dibawah larutan asam terdapat lapisan. Pada erlenmeyer penampung dimasukkan larutan asam klorida 0,1 N

sebanyak 10 mL yang telah ditambahkan indikator metil merah sebanyak 5 tetes. Hasil destilasi dicek menggunakan kertas lakmus, apabila tetap berwarna merah (tidak bersifat basa) maka dapat dihentikan (Rosaini dkk., 2015).

3) Standarisasi Larutan NaOH

a) Pembuatan Larutan Asam Oksalat 0,1N

Serbuk asam oksalat 1,575 gram dilarutkan dalam 10 mL air suling, kemudian larutan dimasukkan dalam labu ukur 250 mL dan ditambahkan air suling sampai tanda batas (Hudaya, 2016).

b) Pembuatan Larutan NaOH 0,1 N

Natrium hidroksida 4 gram dilarutkan dalam 10 mL air suling, kemudian larutan dimasukkan dalam labu ukur 1 L dan ditambahkan air suling sampai tanda batas (Hudaya, 2016).

c) Standarisasi Larutan NaOH

Larutan NaOH dimasukkan dalam buret yang sudah dibilas menggunakan larutan NaOH. 10 mL larutan asam oksalat dimasukkan dalam erlenmeyer dan ditambah dengan 3 tetes indikator pp, kemudian dititrasi menggunakan larutan NaOH. Titik akhir titrasi ditandai dengan perubahan warna merah muda (Hudaya, 2016).

4) Tahap Titrasi menggunakan NaOH

Hasil destilasi dititrasi menggunakan larutan natrium hidroksida (NaOH) 0,1 N yang telah distandarisasi. Pada tahap titrasi dapat

dihentikan apabila menunjukkan titik akhir titrasi ditandai dengan warna merah muda menjadi kuning. Tahap ini dilakukan sebanyak 3x (Rosaini dkk., 2015).

$$\% \text{Nitrogen} = \frac{\text{mL NaOH blangko} - \text{mL NaOH sampel} \times \text{N NaOH} \times 14}{\times 100\%}$$

$$\% \text{Protein} = \% \text{Nitrogen} \times \text{faktor konversi (6,25)}$$

c. Penentuan Kadar Lemak

Cawan dioven pada suhu 110°C dan didinginkan dalam desikator kemudian ditimbang. Sampel kolagen 0,1 g dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan kloroform ad 10 mL kemudian dikocok dan dibiarkan 24 jam. Tahap selanjutnya saring menggunakan kertas saring, ambil 5 mL dan masukkan dalam cawan dan oven pada suhu 100°C selama 4 jam kemudian masukan dalam desikator 30 menit lalu ditimbang (Nurhidayah dkk., 2019).

$$\% \text{Kadar lemak} = \frac{W3 - W1}{W2} \times 100\%$$

Keterangan:

W1 = Berat cawan kosong (gram)

W2 = Berat sampel (gram)

W3 = Berat cawan dengan lemak (gram)

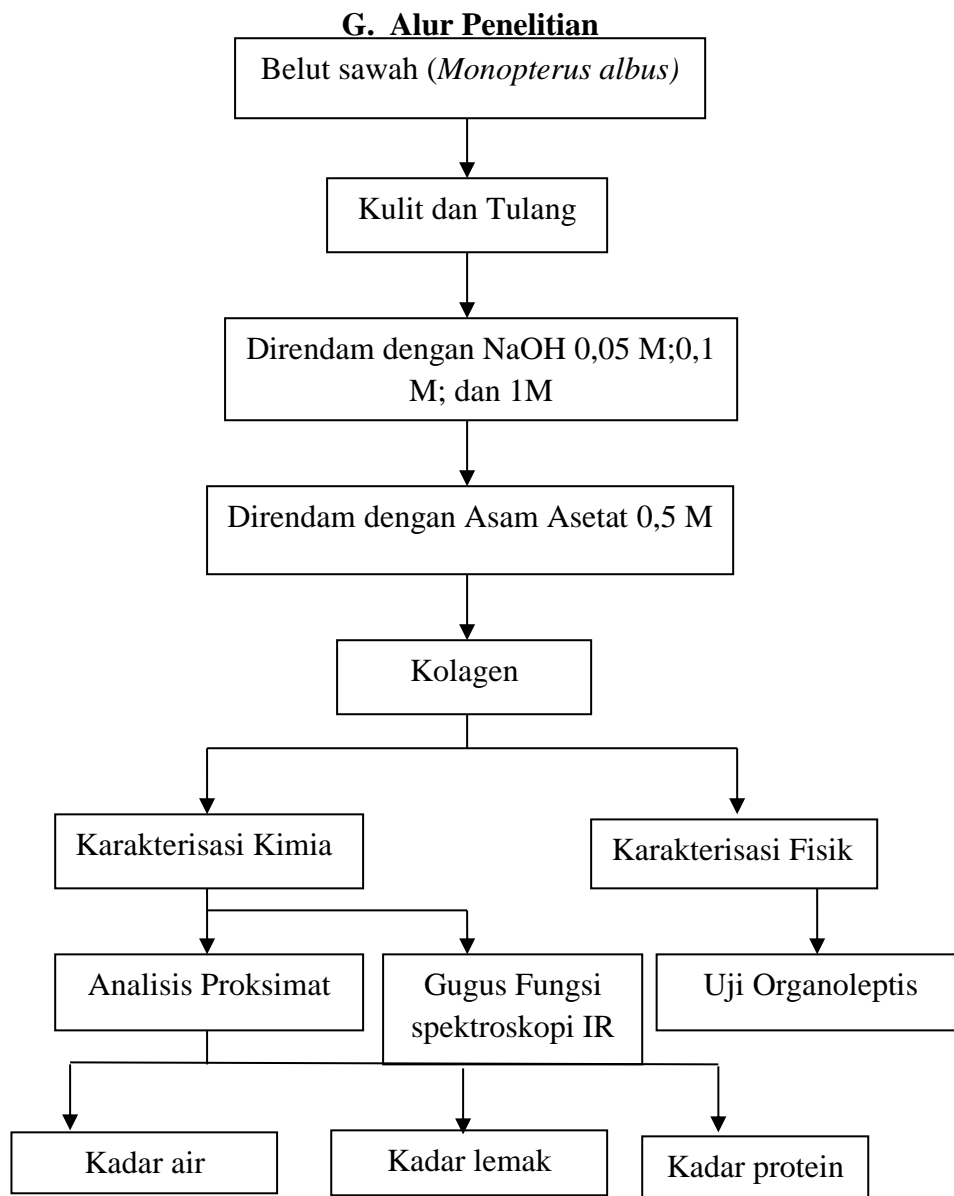
6. Analisis gugus fungsi dengan spektroskopi IR.

Kolagen kering 1 mg dicampur dengan 1 mg KBr kemudian ditumbuk dengan mortir. Tahap selanjutnya ditata dalam pellet dan ditekan sampai

membentuk lapisan transparan. Pellet diletakkan pada tempat sampel dan di analisis menggunakan spektroskopi IR pada daerah spektra $1000-4000\text{ cm}^{-1}$ (Ramdhani dan Aida, 2016; Alhana, 2015; Nurhayati dkk., 2013).

F. Metode analisis hasil

Uji organoleptis kolagen dilakukan dengan mengamati bentuk, bau, dan warna. Pada analisa proksimat terdapat beberapa parameter yaitu kadar air, kadar protein dan kadar lemak. Penetapan kadar dilakukan berdasarkan perbandingan hasil dengan standart mutu kolagen (SNI 8076-2014). Analisa gugus fungsi kolagen dilihat dengan spectrum pada spektrofotometri IR yang terbentuk dimana spektrum menggambarkan wilayah serapan yang terbentuk dari kolagen.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Didapatkan isolat kolagen dari tulang dan kulit belut sawah, dengan rendemen kolagen terbanyak sebesar 1,18% pada konsentrasi NaOH 0,1 M.
2. Isolat Kolagen dari kulit dan tulang belut sawah memiliki karakteristik sebagai kosmetik sebagai berikut kandungan air 8,35 %, kandungan lemak 12,93%, kandungan protein 21,57%, dan hasil analisa FTIR menunjukkan puncak serapan khas kolagen yaitu Amida A, Amida B, Amida I, Amida II dan III.

B. Saran

Perlu dilakukan optimasi ekstraksi kembali mengenai konsentrasi NaOH dan pH yang digunakan, sehingga mendapatkan rendemen yang lebih banyak, kadar air dan kadar lemak yang lebih rendah, kadar protein yang lebih tinggi sehingga komposisi proksimat sesuai dengan SNI, serta FTIR dengan wilayah serapan yang sesuai.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardi, A., 2012, Pola Spektrum Inframerah Transformasi Fourjer untuk Identifikasi Karagenan dengan Metode Analisis Komponen Utama, *Skripsi*, Bogor : Fakultas Matematika dan ilmu Pengetahuan Bogor.
- Afrian, Nanda., Zainudin Cut Dahlia Iskandar, Dian Masyitha, Winarudin, dan Ummu Balqis., 2018, Struktur Histologi Kulit Belut Sawah (*Monopterus albus*), *JIMVET*, E-ISSN : 2540-9942. 2(1):196-205.
- Alhana., 2015, Ekstraksi dan Karakterisasi Kolagen dan Nanokolagen dari daging Teripang Gamma (*Stichopus variegatus*), *Tesis*, Bogor : Program Studi Teknologi Hasil Perairan Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Alhana, Pipih Suptijah, dan Kustiariyah Tanaman, 2015, Ekstraksi dan Karakterisasi Kolagen dari Daging Teripang Gamma, *JPHPI*, Volume 18 Nomor 2.
- Dewi Setiyowati Gadi, Wini Trilaksani, dan Tati Nurhayati., 2017, Histologi Ekstraksi dan Karakterisasi Kolagen Gelembung Renang Ikan Cunang Muarenesox talabon, *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropies*, Vol. 9 No. 2 Hlm. 665-683.
- Fawzuya, Yusro Nuri., Ekowati Chasanah., Achmad Poernomo., dan M.H. Khirzin., 2016, Isolasi dan Karakterisasi parsial Kolagen dari teripang gamma (*Stichopus variegatus*), *JPB Kelautan dan Perikanan*. Vol. 11 No. 1 : 91-100.
- Fujiani, Tulusya., Efrizal, dan Resti Rahayu., 2015, Laju Pertumbuhan Belut Sawah (*Monopterus albus Zuiew*) dengan Pemberian Berbagai Pakan, *Jurnal Biologi Universitas Andalas (J. Bio UA)*, 4(1) : 50-56 (ISSN : 2303-2162).
- Hudaya, Kamaludin Husna., 2016, Desain tirator otomatis untuk pengukuran dua titrasi secara simultan, *Skripsi*, Jember : Fakultas Matematika dan Ilmu Pegetahuan Alam Universitas Jember.
- Idrus, Syarifudin., Sugeng Hadinoto., dan Joice P. M. Kolanus., 2018, Karakterisasi Kolagen gelembung renang tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*) dari perairan Maluku menggunakan ekstraksi asam, *Biopropal industry*. Vol.9 No.2: 87-94
- Jefry., 2016, Kinerja Produksi Budidaya Belut Sawah (*Monepterus albus*) dalam Media Air dengan Padat Tebar yang Berbed, *Skripsi*, Bogor : Dapartemen

Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.

Katili, Abu bakar Sidik., 2009, Struktur dan Fungsi Protein Kolagen, *Jurnal Pelangi Ilmu*, Vol. 2 No. 5.

Lutfiana, N., 2016, Pembuatan Glatin dari Limbah Tulang Ikan Kakap Merah (*Lutjanus sp.*) Dengan Proses Asam dan Basa, *Skripsi*, Purwokerto : Universitas Muhammadiyah Purwokerto.

Muthukumar T., G. Sreekumar, T.P. Sastry and M. chamundesswari., 2018, Collagen as a Potential Biomaterial in Biomedical Applications, *Rev. Adv. Mater. Sci*, 53 hal 29-39.

Nurhayati, Tazwir, dan Murniyati., 2013, Ekstraksi dan Karakterisasi Kolagen Larut Asam dari Kulit Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*), *JPB Kelarutan dan Perikanan* Vol. 8 No. 1 : 85-92.

Nurhidayah B, Eddy Soekandasari, dan Andi Evi Ervani., 2019, Kandungan kolagen Sisik Ikan Bandeng (*Chanos-chanos*) dan Sisik ikan Nila (*Oreochromis niloticus*), *BIOMA : Jurnal biologi Makasar*, 4(1): 39-47.

Pavia, Donald L., Gary M Lampman., Goerge S Kriz., dan James R Vyvyan., 2015, *Introduction to Spectroscopy, Fifth Edition*, Departement of Chemistry, Western Washington University, Washington.

Ramadani, Galang F.G., dan Aida Ariani., 2016, Pengambilan Kolagen pada Sisik Ikan dari Limbah Pabrik Fillet Ikan menggunakan Metode Ekstraksi Asam *Tugas akhir*, Surabaya : Departemen Diploma of Chemical Engineering Faculty of Industrial Technology Sepuluh Nopember Istitute of Technology Surabaya.

Rosaini, Henni., Roslinda Rasyid., dan Vinda Hagramida., 2015, Penetapan kadar protein secara Kjeldahl beberapa makanan olahan kerang remis (*Corbiculla moltkiana Prime*) dari danau singkarak, *Jurnal Farmasi Higea*, Vol. 7, No. 2.

Santoso, Rachmat., 2014, Penambahan Atraktan yang Berbeda dalam pakan Buatan Pasta terhadap pertumbuhan dan Feed Conversion Ratio Belut (*Monopterus albus*) dengan Sistem Resirkulasi, *Skripsi*, Surabaya:Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga Surabaya.

Scmidt, M. M., Dornells, R. C. P., Mello, R. O., Kuboto,E. H., Mazutti, M. A., Kempaka, A.P. dan Demiate, I. M., 2016, Collagen extraction process, *International Food Research Journal* 23(3): 913-922.

- Setyowati Hanny., dan Wahyuning Setyani., 2015, Potensi Nanokolagen Limbah Sisik Ikan Sebagai Cosmecuetical, *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, hlm. 30-40.
- Stephanie, T W A., Risfah Yulianty., Fitriyanti J. Samil., dan Naimah Ramli., 2016, Isolasi Kolagen Dari Kulit Dan Tulang Ikan Cakalang (Katsuwonus pelamis), *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences* 1(1): pp 27-30
- Suptijah, Pipih., Dini Indirani., dan supriyono Eko Wardoyo., 2018, Isolasi dan karakterisasi Kolagen dari Kulit Ikan Patin (*Pangasitus sp*), *Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa*, Vol. 8, No.1, 8-23.
- Syukroni, Ikbal., 2018, Nanopartikel kolagen kulit ikan sebagai bahan baku formulasi gel dank rim anti aging, Tugas Ilmu dan Teknologi Formulasi.
- Thitipramote, N., & Rawdkuen,S. (2011). Histological structure and chemical composition of the farmed giant catfish's skin. *J of Microsc soc Thai*, 4(2), 89-93.
- Utami, Tya Gita Putri., 2018, Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid Ekstrak Metanol *Sponge Clatharia sp*, *Skripsi*, Bandar Lampung : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.