

**PENGARUH PEMBENTUKAN NANO-PARTIKEL TERHADAP
KARAKTERISTIK KOLAGEN YANG DIISOLASI SECARA
ENZIMATIK DARI SISIK IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)**

**THE EFFECT OF NANO-PARTICLE FORMATION ON THE
CHARACTERISTICS OF COLLAGEN ISOLATED ENZYMATICALLY
FROM TILAPIA SCALES (*Oreochromis niloticus*)**

SKRIPSI



Oleh:

**FATKHI RIZKY KURNIAWAN
4171017**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2021**

**PENGARUH PEMBENTUKAN NANO-PARTIKEL TERHADAP
KARAKTERISTIK KOLAGEN YANG DIISOLASI SECARA
ENZIMATIK DARI SISIK IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)**

**THE EFFECT OF NANO-PARTICLE FORMATION ON THE
CHARACTERISTICS OF COLLAGEN ISOLATED ENZYMATICALLY
FROM TILAPIA SCALES (*Oreochromis niloticus*)**

SKRIPSI



Oleh:

**FATKHI RIZKY KURNIAWAN
4171017**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2021**

**PENGARUH PEMBENTUKAN NANO-PARTIKEL TERHADAP
KARAKTERISTIK KOLAGEN YANG DIISOLASI SECARA
ENZIMATIK DARI SISIK IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)**

**THE EFFECT OF NANO-PARTICLE FORMATION ON THE
CHARACTERISTICS OF COLLAGEN ISOLATED ENZYMATICALLY
FROM TILAPIA SCALES (*Oreochromis niloticus*)**

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:

**FATKHI RIZKY KURNIAWAN
4171017**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2021**

PENGESAHAN SKRIPSI

PENGARUH PEMBENTUKAN NANO-PARTIKEL TERHADAP KARAKTERISTIK KOLAGEN YANG DIISOLASI SECARA ENZIMATIK DARI SISIK IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)

THE EFFECT OF NANO-PARTICLE FORMATION ON THE CHARACTERISTICS OF COLLAGEN ISOLATED ENZYMATICALLY FROM TILAPIA SCALES (*Oreochromis niloticus*)

Oleh:

FATKHI RIZKY KURNIAWAN

4171017

Dipertahankan di hadapan Pengaji Skripsi Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional pada tanggal: 28 Agustus 2021

Pembimbing Utama

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

Pembimbing Pendamping

Mengetahui,
**Ketua Program Studi S1 Farmasi
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional**

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

Tim Pengaji

1. apt. Disa Andriani, S.Farm., M.Sc.
2. Nastiti Utami, S.Si., M.Sc.
3. apt. Dian Puspitasari, S. Farm., M. Sc.
4. apt. Diah Pratimasari, S. Farm., M. Farm.

Ketua Pengaji

Anggota Pengaji

Anggota Pengaji

Anggota Pengaji

1.

2.

3.

4.

HALAMAN PERSEMPAHAN

Aku berlindung kepada Allah dari syaitan yang terkutuk,

*“Dan sesungguhnya Kami telah memberi ilmu kepada Dawud dan Sulaiman,
dan keduanya mengucapkan, ‘Segala puji bagi Allah yang melebihkan kami
dari kebanyakan hamba-hamba-Nya yang beriman’.”*

(Al-Qur'an Surat An-Naml: 14)

Dengan menyebut nama Allah, tiada satupun sekutu bagi-Nya

Karya ini saya persembahkan untuk:

1. *Agama saya, Agama keselamatan dari langit, Islam.*
2. *Keluarga Sri Zit-Towl, terutama Ibu Rejeki, Bapak Sriyono, Firman Muharram Syach, Gustiar Cahaya Ramadhan, dan Fahri Ali Akbar.*
3. *Jama'ah Masjid Mukminah, Jatiteken, Laban, Mojolaban, Sukoharjo, terutama A. Rafli, Hafidz S., Hamzah A. M., M. Furqon, M. Ridho, Roni E, M.. Rendy, dan Zuan M..*
4. *Keluarga besar Pimpinan Daerah Ikatan Pelajar Muhammadiyah Solo Raya terkhusus Agung A., Anindita R., Assa N. F., Aulia R., Fajar T. W., Fauzan M., Hani F., Intan K., Isnaini R., Judistira Haidar S. P., Jont F., M. T. Hassan, Mafaza A., Mira N., N. R. Yuliana, N. R. Yuliani, dan Nuri A., dan Ruzain A..*
5. *Seluruh mahasiswa S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, terkhusus Samgar T. N. dan Tim Program Holistik Pembinaan dan Pemberdayaan Desa 2020 (Alfito T., Anisa N., Badrotul H., Dedeck M. S., Fatah A., Pupunk F., Susilowati, Wahyu G., dan Zulfa N.) beserta Tim Relawannya (M. Hanafi, Wahid S., dan relawan lain yang tidak dapat saya sebut satu per satu).*

HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu perguruan tinggi, sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Sukoharjo, 28 Agustus 2021



PRAKATA

Segala puji bagi Allah yang Maha Perkasa atas rahmat dan karunia yang tersampaikan sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul “Pengaruh Pembentukan Nano-partikel Terhadap Karakteristik Kolagen yang Diisolasi dari Sisik Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) secara Enzimatik” sebagai salah satu syarat menyandang gelar sarjana farmasi di Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional. Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan Allah yang disalurkan melalui berbagai pihak, dengan demikian penulis mengucapkan *alhamdulillah* dan terimakasih kepada:

1. apt. Lusia Murtisiwi, S. Farm., M. Sc., selaku Ketua Prodi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.
2. apt. Dian Puspitasari, S. Farm., M. Sc., selaku Dosen Pembimbing Utama yang selalu mendampingi hampir disetiap detail penelitian dan penyusunan naskah.
3. apt. Diah Pratimasari, S. Farm., M. Farm., selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang mengarahkan jalannya penelitian dan selalu memberi motivasi.
4. apt. Disa Andriani, S.Farm., M.Sc., selaku Dosen Pembimbing Akademik dan Penguji Utama yang selalu mengayomi, memotivasi, dan memberikan masukan.
5. Nastiti Utami, S.Si., M.Sc., selaku Dosen Penguji yang memberi saran dan masukan.
6. Ibu Sri Rejeki dan Bapak Sriyono yang memberikan segalanya untuk saya.

7. Pak Hilmi Bachtiar selaku admin S1 Farmasi yang selalu membantu saya dalam hal kelengkapan administrasi perulahan.
8. Resmaya M. sebagai rekan penelitian skripsi kelompok tim kolagen dan Fatah Assrofi yang membantu uji protein.
9. Mahasiswa S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Angkatan 2017 yang memberi semangat saya.

Akhir kata, penulis berharap semoga naskah penelitian skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan, dunia medis, maupun bidang lain yang berkaitan. Penulis menyadari naskah penelitian skripsi yang telah dilakukan jauh dari kesempurnaan sehingga kritik dan saran membangun sangat diharapkan.

Sukoharjo, 28 Agusrus 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL LUAR	i
HALAMAN SAMPUL DALAM.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSEMAHAN.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
PRAKATA	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Kolagen.....	5
B. Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	8
C. Ekstraksi Kolagen.....	9
D. Nano-partikel.....	10
E. Spektrofotometer <i>Infra-red</i>	11
F. Uji t Aplikasi <i>Statistical Program For Sosial Science</i> (SPSS)	13
F. Landasan Teori.....	14
G. Hipotesis	16
H. Kerangka Konsep Penelitian	17
BAB III METODE PENELITIAN	18
A. Desain Penelitian	18

B. Alat dan Bahan	18
C. Variabel Penelitian.....	19
D. Definisi Operasinal.....	19
E. Prosedur Penelitian	20
F. Metode Analisis Hasil.....	26
G. Alur Penelitian.....	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	28
A. Determinasi.....	28
B. Isolasi Kolagen	28
C. Uji Kualitatif Kolagen	30
D. Sifat Fisika.....	31
E. Sifat Kimia.....	36
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN.....	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur kolagen	5
Gambar 2. Perbedaan kolagen dan gelatin.....	7
Gambar 3. Ikan nila.....	8
Gambar 5. Ilustrasi komponen spektrofotometer infra-merah	11
Gambar 4. Pita kolagen hasil ekstraksi enzim papain.....	12
Gambar 6. Kerangka konsep penelitian	17
Gambar 7. Alur penelitian.....	27
Gambar 8. Reaksi ninhidrin dengan protein	31
Gambar 9. Hasil uji gugus fungsi sampel kolagen.....	42
Gambar 10. Hasil uji gugus fungsi sampel nano-kolagen	43
Gambar 11. Wilayah serapan infra merah gelatin.....	44

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Wilayah serapan kolagen hasil ekstraksi enzim papain dalam spektrofotometer infra-merah.....	13
Tabel 2. Karakteristik kolagen dan nano-kolagen dari kulit ikan teripang	15
Tabel 3. Rendemen kolagen.....	31
Tabel 4. Hasil uji ukuran partikel nano-kolagen.....	33
Tabel 5. Hasil uji organoleptis	34
Tabel 6. Hasil uji derajat keasaman	35
Tabel 7. Hasil kadar air	37
Tabel 8. Hasil kadar abu.....	38
Tabel 9. Hasil kadar protein.....	39
Tabel 10. Hasil kadar lemak.....	40
Tabel 11. Analisis wilayah serapan infra merah sampel kolagen	42
Tabel. 12 Analisis wilayah serapan infra merah sampel nano-kolagen.....	43
Tabel. 13. Perbandingan sampel dengan gelatin	45

DAFTAR LAMPIRAN

A. Perhitungan Bahan	51
B. Perhitungan Analisa.....	52
C. Dokumentasi Praktikum	66

DAFTAR SINGKATAN

BSE = *Bovine Spongiform Encephalopathy*

PSA = *Particle Size Analyzer*

SNI = Standar Nasional Indonesia

SPSS = *Statistical Program For Social Science*

INTISARI

Kebutuhan kolagen terus meningkat karena manusia yang tidak bisa memproduksi kolagen mulai usia 40 tahun. Sisik ikan nila dapat digunakan sebagai bahan alternatif kolagen karena belum terolah optimal, namun dapat menghasilkan 0,63% kolagen dengan pelarut asam, menurut Hartati (2010) enzim dapat digunakan sebagai pelarut kolagen dengan keunggulan menghasilkan lebih banyak rendemen. Perkembangan teknologi farmasi menuntut pembentukan nano-kolagen yang lebih cepat menunjukkan efek terapi (Pringgadani, 2018).

Ekstraksi kolagen dari sisik ikan nila (*Oreochromis niloticus*) secara enzimatis dilakukan dengan pelarut enzim papain, metode pegecilan ukuran partikel yang digunakan adalah *stirrer magnetic*. Kolagen dan nano-kolagen dibandingkan hasil uji fisika dan kimianya guna mengetahui pengaruh perlakuan pengecilan ukuran partikel.

Hasil ekstraksi dari sisik ikan nila (*Oreochromis niloticus*) menggunakan enzim papain menghasilkan rendemen 31,2 g. Perlakuan nano-partikel terhadap rendemen tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan pada uji kadar air, uji kadar abu, uji kadar protein, dan uji kadar lemak, namun memberikan pengaruh sifat fisik pada uji organoleptis dan uji derajat keasaman. Rendemen hasil ekstraksi memenuhi standar pada penentuan derajat keasaman dan kadar air, sedangkan rendemen dengan perlakuan nano-partikel yang dihasilkan memenuhi standar pada penentuan kadar air.

Kata kunci : sisik ikan nila, enzim papain, dan nano-partikel

ABSTRACT

The need for collagen continues to increase because humans cannot produce collagen starting at the age of 40 years. Tilapia fish scales can be used as an alternative material for collagen because it has not been processed optimally, but it can produce 0.63% collagen with acid solvents, according to Hartati (2010) enzymes can be used as collagen solvents with the advantage of producing more yield. The development of pharmaceutical technology demands the formation of nano-collagen that shows a therapeutic effect more quickly (Pringgadani, 2018).

Collagen extraction from tilapia (*Oreochromis niloticus*) scales was enzymatically carried out with papain enzyme as solvent, the particle size reduction method used was a magnetic stirrer. Collagen and nano-collagen were compared with their physical and chemical test results to determine the effect of particle size reduction treatment.

Extraction of tilapia (*Oreochromis niloticus*) scales using papain enzyme resulted in a yield of 31.2 g. The treatment of nano-particles on yield did not show a significant effect on the water content test, ash content test, protein content test, and fat content test, but gave an effect on physical properties on organoleptic tests and acidity tests. The yield from the extraction met the standards for determining the degree of acidity and water content, while the yield with the treatment of nano-particles met the standards for determining the water content.

Key word : tilapia scales, papain enzyme, and nano-particle

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Kolagen merupakan sepertiga protein yang terkandung dalam tubuh manusia. Kolagen yang umumnya berfungsi sebagai penghubung antar sel satu dengan sel yang lain ternyata memiliki fungsi yang berbeda-beda dalam tubuh tergantung lokasinya (Hartati, 2010). Kolagen yang dibutuhkan manusia untuk menjaga kesehatan akan berkurang ± 1% setiap tahun, sehingga pada usia 30 tahun manusia akan kehilangan 15-20% kolagen dalam tubuhnya. Produksi kolagen dalam tubuh manusia akan berhenti pada usia 40 tahun sehingga diusia tersebut kolagen dalam tubuh manusia akan hilang sebesar 35-40% (Alhana dkk., 2015).

Kebutuhan kolagen oleh manusia sangatlah tinggi, kolagen dapat diaplikasikan dalam produk kecantikan, produk pangan, dan produk-produk dalam dunia medis. Tingginya kebutuhan kolagen yang biasanya diekstraksi dari bagian hewan babi dan sapi menuntut peneliti untuk mencari bahan baku alternatif kolagen. Pencarian bahan baku alternatif tersebut juga didasari oleh tidak dapatnya beberapa kaum dan ras untuk mengkonsumsi kolagen hasil ekstraksi dari bagian hewan babi dan sapi. Rentannya penularan penyakit *bovine spongiform encephalopathy* (BSE), penyakit kuku, dan penyakit mulut dari babi dan sapi melalui produk yang mengandung kolagen juga menuntut peneliti untuk mencari bahan baku alternatif kolagen (Putra Naro, 2013).

Salah satu komoditas perikanan di Indonesia adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*), ikan nila mudah beradaptasi dan dibudidayakan hampir di berbagai jenis perairan di Indonesia. Ikan nila memiliki daging tebal sehingga digemari oleh masyarakat untuk memenuhi kebutuhan protein hewani (Nurhidayah, 2019). Sisik ikan nila merupakan salah satu bagian tubuh ikan nila yang kurang optimal dalam pengolahannya, karena sisik ikan nila tidak bisa dikonsumsi secara langsung (dari sudut pandang bidang pangan) dan bentuknya kurang mumpuni bila digunakan untuk membuat kerajinan. Menurut penelitian Romadhon (2019) sisik ikan nila mengandung rendemen kolagen kering lebih banyak dari tulang ikan nila, yaitu 0,63% rendemen dari sisik ikan nila dan 0,53% rendemen dari tulang ikan nila. Kolagen sisik ikan juga memiliki sifat fisika dan kimia yang lebih unggul bila dibandingkan dengan kolagen yang juga diekstraknya dari kulit dan tulang ikan nila.

Ekstraksi kolagen biasanya menggunakan metode kimiawi, penggunaan zat kimia dalam ekstraksi dapat merugikan lingkungan dan berpotensi tertinggal dalam produk kolagen (Hartati, 2010). Pelarut kolagen berupa enzim dapat digunakan pada proses ekstraksi, penggunaan pelarut enzim meniadakan kemungkinan zat kimia tertinggal, lebih aman untuk lingkungan dan kualitas produk lebih tinggi (Hartati, 2010). Enzim papain adalah salah satu enzim yang dapat digunakan sebagai pelarut dalam ekstraksi kolagen, enzim papain bekerja dengan cara memutus rantai peptide pada protein. Menurut penelitian Astina (2016) penambahan enzim papain dengan konsentrasi 5,000 U/mg pada proses ekstraksi kolagen menghasilkan rendemen yang lebih banyak. Kandungan asam amino dan

stabilitas kolagen yang diekstraksi secara enzimatik lebih baik dibanding dengan kolagen yang diekstraksi dengan metode kimiawi.

Perkembangan ilmu pengetahuan menuntut peneliti untuk membentuk zat aktif dalam sediaan obat dan kosmetik menjadi ukuran nano, zat aktif dengan ukuran nano memiliki efek kerja yang lebih cepat karena lebih mudah terdifusi dan memiliki jumlah luas area yang lebih tinggi, sehingga tingkat keterikatan zat aktif dengan reseptor lebih banyak bila dibanding zat aktif dengan ukuran normal. Inovasi perubahan bentuk kolagen menjadi nano-kolagen dapat dilakukan, menurut Pringgandini (2018) sediaan yang sering disebut nano-kolagen ini memiliki sifat biologis yang lebih baik dengan efek farmakologis yang lebih cepat muncul, karena sediaan nano-kolagen lebih mudah terdifusi dalam kulit bila dibandingkan dengan kolagen biasa yang memiliki ukuran partikel yang lebih besar.

Optimalisasi fungsi dan kegunaan dari sisik ikan nila dilakukan dengan mengekstraksi kolagen dengan metode ekstraksi secara enzimatik menggunakan enzim papain, pembentukan nano-kolagen dari kolagen yang dihasilkan juga dilakukan guna mengoptimalkan fungsi dan kegunaan dari sisik ikan nila. Karakterisasi sifat fisik dan kimia perlu dilakukan oleh peneliti untuk mengetahui pengaruh dari perlakuan pengecilan ukuran partikel kolagen menjadi nano-kolagen.

B. Perumusan Masalah

1. Apakah kolagen dapat diekstraksi dari sisik ikan nila (*Oreochromis niloticus*) secara enzimatik?

2. Apakah terdapat perbedaan karakteristik fisika dan kimia antara kolagen dan nano-kolagen yang diekstrak dari sisik ikan nila (*Oreochromis niloticus*) secara enzimatik?
3. Apakah nano-kolagen yang diekstrak dari sisik ikan nila (*Oreochromis niloticus*) memenuhi kriteria Standar Nasional Indonesia (SNI) kolagen 8076:2014?

C. Tujuan Penelitian

1. Melakukan ekstraksi kolagen dari sisik ikan nila (*Oreochromis niloticus*) secara enzimatik.
2. Mengetahui perbedaan karakteristik fisika dan kimia antara kolagen dan nano-kolagen yang diekstrak dari sisik ikan nila (*Oreochromis niloticus*) secara enzimatik.
3. Melakukan standarisasi nano-kolagen yang diekstrak dari sisik ikan nila (*Oreochromis niloticus*) sesuai dengan SNI kolagen 8076-2014.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian dilakukan untuk mengoptimalkan nilai guna dari sisik ikan nila (*Oreochromis niloticus*) menjadi produk kolagen dan nano-kolagen.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian yang akan dilakukan oleh peneliti merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan kolagen yang diekstrak secara enzimatik dari sisik ikan nila dan kemudian dibentuk menjadi nano-kolagen. Ekstraksi enzimatik dilakukan dengan dua tahap, yaitu deproteinasi dan ekstraksi menggunakan enzim papain, kolagen yang dihasilkan dari hasil ekstraksi tersebut selanjutnya dibentuk menjadi nano-kolagen menggunakan metode *stirring* dengan alat *stirrer magnetic*. Kolagen dan nano-kolagen yang didapat selanjutnya dibandingkan sifat fisika dan kimianya, sifat fisika dan kimia yang dimaksud adalah uji organoleptis, uji proksimat yang meliputi kadar air, kadar abu, kadar protein, dan kadar lemak, serta pengujian gugus fungsi dengan spektrofotometer infra-merah.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Buret (*Pirex*), cawan porselin, desikator, destilator (*Pirex*), Erlenmeyer (*Pirex*), freezer (*National*), gelas beker 50 ml (*Pirex*), gelas ukur 10 ml (*Pirex*), gelas ukur 100 ml (*Pirex*), heating mantle (*B One*), (hot plate stirrer magnetic (*J Lab Tech*)), kaca arloji, kompor (*Maspion*), kurs porselin, labu alas bulat (*Pirex*), labu ukur 50 ml (*Pirex*), labu ukur 250 ml (*Pirex*), mortar, oven (*Memert UN 30*), particle size analyzer (*Horiba S-Z 100*), penjepit tabung, pH meter

(*Hanna*), pipet volume (*Pirex*), pipet tetes, *push ball*, spektrfotometer inframerah (*Shimazu*), tabung reaksi, tanur (*Thermolyne*), thermometer, dan timbangan analitik (*Ohrus*).

2. Bahan

Air suling 40 l, asam asetat 176,328 ml, asam oksalat 1,575 g, enzim papain 100.000 μ/g 49,975 g, etanol 96% 40 ml, H_2SO_4 90 ml, HCl 0,833 ml, indikator metil merah 45 tetes, indikator pp 9 tetes, kertas laksus, kertas saring 4 lembar, kloroform 30 ml, NaCl 1,52 kg, dan NaOH 171 g.

C. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Kolagen dan nano-kolagen yang diekstrak dari sisik ikan nila secara enzimatik.

2. Variabel Terikat

Perbedaan karakter atau sifat fisika dan kimia dari kolagen dan nano-kolagen hasil ekstraksi.

3. Variabel Terkendali

Konsentrasi pelarut dan pereaksi, suhu ekstraksi, waktu ekstraksi, dan perlakuan pengujian.

D. Definisi Operasional

1. Sisik ikan nila merupakan bagian dari ikan nila yang belum terolah secara optimal.

2. Kolagen dalam hewan ikan terdapat pada bagian tulang, kulit, sisik, ataupun bagian lain.
3. Ekstraksi kolagen secara enzimatik diawali dengan deproteinasi dengan NaOH serta ekstraksi menggunakan enzim papain sebagai pemutus rantai peptida dan penambahan asam asetat sebagai pembentuk suasana asam
4. Suhu yang digunakan dalam penelitian adalah 4°C serta waktu untuk tahap deproteinasi 8 jam dan tahap ekstraksi sendiri adalah 48 jam.
5. Pengubahan bentuk kolagen menjadi nano-kolagen dilakukan dengan metode *stirring*.

E. Prosedur Penelitian

1. Isolasi Kolagen

a. Perlakuan Awal

Perlakuan awal dilakukan dengan memodifikasi prosedur kerja yang telah dilakukan oleh Astiana (2016), sisik ikan nila yang telah dibersihkan direndam dalam larutan NaOH 0,05 M (raiso 1:10 b/v) selama 8 jam dengan suhu 4°C dan penggantian larutan setiap 2 jam.

b. Ekstraksi

Ekstraksi kolagen secara enzimatik dilakukan dengan menambahkan asam asetat 0,3 M (raiso 1:10 b/v) dan enzim papain 5.000 U/mg selama 24 jam pada suhu 4°C, supernatan kemudian diendapkan menggunakan NaCl 2,6 M selama 12 jam (Astiana, 2016). Endapan dimasukkan dalam oven selama 24 jam dengan suhu 35-37°C (Desmelati, 2020).

2. Uji Kualitatif Kolagen

Sampel tercampur 5 ml NaOH 1 M dan 5 ml pereaksi Ninhidrin 1% dalam tabung reaksi dipanaskan, hasil positif mengandung kolegen ditandai dengan perubahan warna larutan dalam tabung reaksi menjadi ungu atau biru atau kuning pucat sesuai jenis asam amino yang terkandung (Ata dkk, 2016)

3. Pembentukan Nano-kolagen

Kolagen dilambahkan etanol 96% dengan rasio perbandingan 1:2, kemudian diberi perlakuan *stirring* menggunakan *stirrer magnetic* selama 3 jam dengan kecepatan 1000 rpm pada suhu 40°C. Hasil dioven selama 24 jam dengan suhu 35-37°C (Desmelati, 2020).

4. Karakterisasi Kolagen dan Nano-kolagen

a. Sifat Fisika

1) Rendemen Kolagen

Perhitungan rendemen dilakukan terhadap kolagen dan nano-kolagen yang didapatkan dari ekstraksi enzimatik dengan rumus (Alhana, 2015):

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat kering kolagen}}{\text{berat awal sisik ikan nila}} \times 100\%$$

2) Uji Organoleptis

Uji Organoleptis yang mengamati dan membandingkan bau, bentuk, dan rasa menggunakan panca indra, uji ini dilakukan terhadap sampel kolagen dan nano-kolagen yang didapatkan dari ekstraksi enzimatik.

3) Uji Derajat Keasaman (pH)

Masing-masing sampel kolagen dan nano-kolagen ditambah air suling dengan rasio 1:100 (b/v), sampel diukur derajat keasamannya menggunakan pH meter.

4) Pengujian Ukuran Partikel

Analisis ukuran kolagen dan nano-kolagen dilakukan menggunakan alat PSA dengan prosedur meneteskan 5 ml hasil perlakuan nano-kolagen pada lensa identifikasi, kemudian ditembakkan sinar laser gelombang nano sehingga menghasilkan grafik sebaran yang akan terekam secara otomatis, sejumlah data serta informasi dari ukuran dan sebaran sampel akan muncul pada layer monitor dari detektor rangkaian alat PSA (Pringgadini, 2018).

b. Sifat Kimia

1) Uji Kadar Air

Cawan porselin bersih dipanaskan pada oven dengan suhu 105°C selama 2 jam, kemudian didinginkan dalam desikator selama 30 menit lalu ditimbang, masing-masing sampel kolagen dan nano-kolagen sebanyak 0,5 g dimasukan dalam cawan dan dioven selama 8 jam pada suhu 105°C, kemudian didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang kembali. Kadar air dihitung dengan rumus (Nurhidayah dkk., 2019):

$$Kadar\ air\ \% = \frac{b1 - b2}{bobot\ sampel} \times 100\%$$

Keterangan:

b1 = bobot cawan + sampel sebelum dipanaskan

b2 = bobot cawan + sampel setelah dipanaskan

2) Uji Kadar Abu

Tara krus porselin bersih di tanur pada suhu 800°C selama 2 jam, kemudian didinginkan pada desikator selama 30 menit dan ditimbang, masing-masing sampel kolagen dan nano-kolagen sebanyak 0,5 g dimasukan dalam krus porselin yang telah ditara dan dimasukan tanur pengabuan listrik selama 3 jam pada suhu 800°C, lalu didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang. Kadar abu dihitung dengan rumus (Nurhidayah dkk., 2019):

$$Kadar abu\% = \frac{\text{berat cawan dan abu} - \text{berat cawan kosong}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

3) Uji Kadar Protein

a) Dekstruksi

0,3 gram masing-masing sampel kolagen dan non-kolagen dimasukkan dalam labu alas bulat 100 ml kemudian ditambahkan 10 ml asam sulfat pekat. Campuran larutan dipanaskan menggunakan api kecil yang dengan perlahan api dibesarkan. Destruksi dilakukan hingga didapatkan larutan berwarna jernih kehijauan (Rosaini dkk., 2015).

b) Destilasi

Hasil destruksi yang telah dingin ditambahkan 100 ml air suling, kemudian diambil dengan pipet sebanyak 5 ml dan dimasukkan dalam labu destilasi. 10 ml NaOH 30% ditambahkan dalam campuran sehingga dibawah larutan asam terdapat lapisan. 5 tetes indikator metil merah dan 10 ml HCl 0,1 N ditambahkan dalam erlenmeyer penampung. Hasil destilasi dicek menggunakan kertas lakmus,

apabila tetap berwarna merah (tidak bersifat basa) maka dapat dihentikan (Rosaini dkk., 2015).

c) Standarisasi Larutan NaOH

(1) Pembuatan Larutan Asam Oksalat 0,1 N

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

(2) Pembuatan Larutan NaOH 0,1 N

1 gram NaOH dilarutkan dalam 10 ml air suling, kemudian larutan dimasukkan dalam labu ukur 250 ml dan ditambahkan air suling hingga tanda batas (Hudaya, 2016).

(3) Standarisasi Larutan NaOH

Larutan NaOH dimasukkan dalam buret yang sebelumnya telah 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 menjadi warna merah muda (Hudaya, 2016).

d) Titrasi dengan NaOH

Hasil destilasi dititrasi menggunakan larutan NaOH 0,1 N yang telah dstandarisasi. Tahap titrasi dapat dihentikan bila titik akhir titrasi telah tercapai, ditandai dengan warna merah muda menjadi kuning. Tahap ini dilakukan sebanyak tiga kali (Rosaini dkk., 2015).

$$\% Nitrogen = \frac{ml\ NaOH\ blanko - ml\ NaOH\ sampel \times N\ NaOH \times 14 \times 100\%}{mg\ sampel}$$

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

4) Kadar Lemak

Cawan dioven pada suhu 105°C kemudian didinginkan dalam desikator lalu ditimbang, masing-masing sampel kolagen dan nano-kolagen sebanyak 0,125 g dimasukan dalam tabung reaksi dan ditambahkan kloroform hingga 10 ml kemudian dikocok dan dibiarkan 24 jam. Tahap selanjutnya saring menggunakan kertas saring, ambil 5 ml dan masukkan dalam cawan yang telah dioven sebelumnya, kemudian oven pada suhu 105°C selama 4 jam kemudian masukan dalam desikator 30 menit lalu ditimbang, kadar lemak dihitung dengan rumus (Nurhidayah dkk., 2019):

$$kadar\ lemak\% = \frac{bobot\ cawan\ dan\ lemak - bobot\ cawan\ kosong}{bobot\ sampel} \times 100\%$$

5) Analisis dengan Spektroforometer infra-merah

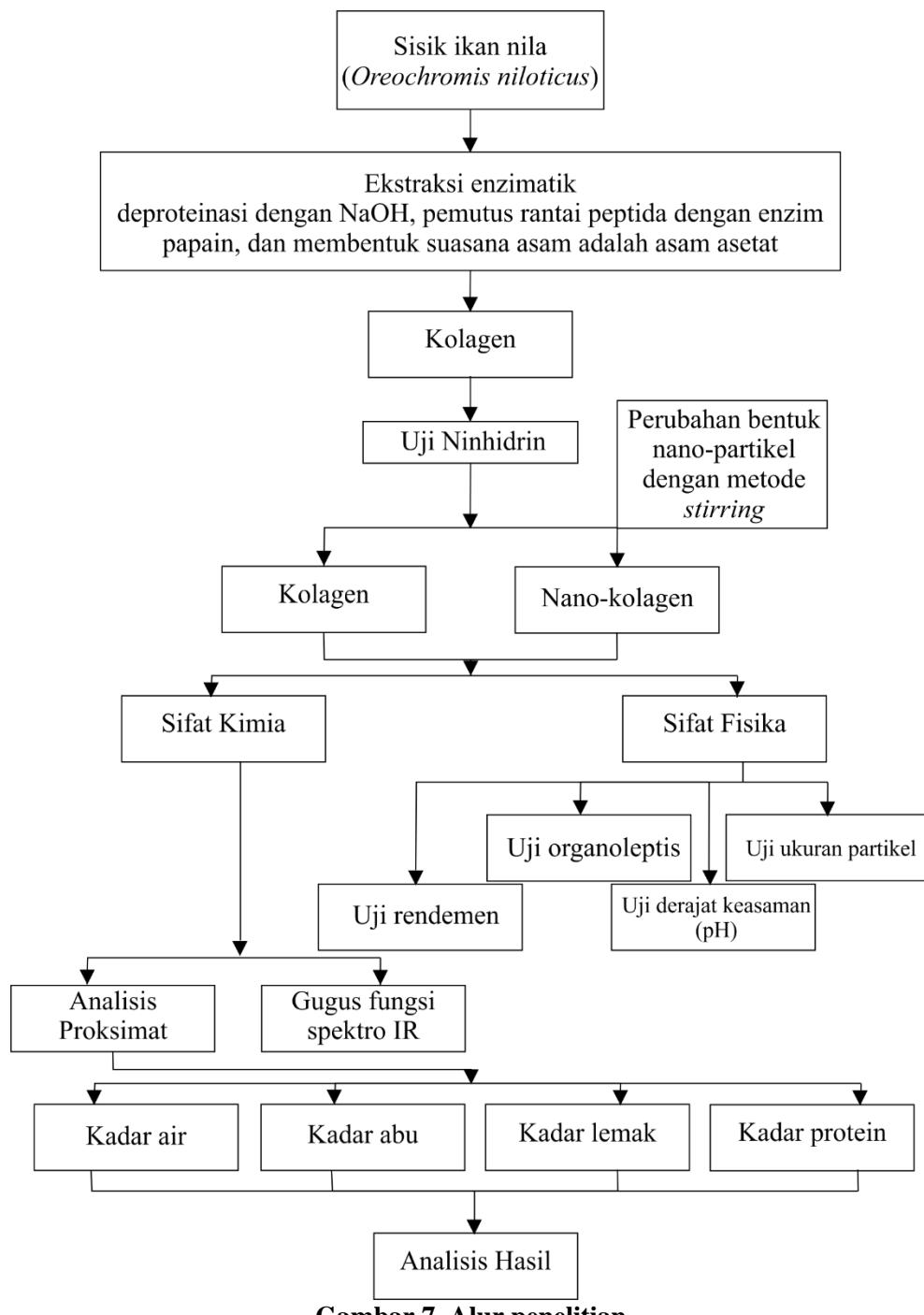
1 mg dari masing-masing sampel kolagen dan nano-kolagen kering dicampur dengan 1 mg KBr kemudian ditumbuk dengan mortir. Tahap selanjutnya ditata dalam pellet dan ditekan sampai membentuk lapisan transparan. Pelet diletakkan pada tempat sampel dan di analisis menggunakan spektrometer inframerah pada daerah spektra 1000-4000 cm⁻¹¹ (Ristaningrum, 2020).

F. Metode Analis Hasil

Analisis hasil dilakukan dengan membandingkan kolagen dan nano-kolagen dalam pengujian sebagai berikut:

1. Uji organoleptis yang membandingkan bentuk, bau dan warna.
2. Uji proksimat yang meliputi uji kadar air, kadar abu, kadar protein, dan kadar lemak.
3. Uji gugus fungsi menggunakan spektrofotometer infra-merah.
4. Analisis pengaruh pembentukan nano-partikel melalui perbandingan hasil uji dari kolagen dan nano-kolagen dengan uji t dalam aplikasi SPSS. Uji t dilakukan dengan metode *dependen* karena menguji subjek dengan perlakuan sebelum dan sesudah, uji t *dependent* yang digunakan adalah uji t dependen parametrik bila distribusi data baik atau uji wilcoson bila distribusi data tidak baik, data yang digunakan untuk uji t *dependen* hanyalah data dari uji proksimat karena hanya dalam uji proksimatlah yang menghasilkan data berbentuk angka.

G. Alur Penelitian



Gambar 7. Alur penelitian

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Kolagen dapat diekstraksi dari sisik ikan nila (*Oreochromis niloticus*) secara enzimatik menggunakan enzim papain dengan hasil rendemen 31,2 g.
2. Perlakuan nano-partikel terhadap kolagen yang diekstrak dari sisik ikan nila (*Oreochromis niloticus*) secara enzimatik menggunakan enzim papain tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan pada uji kadar air, uji kadar abu, uji kadar protein, dan uji kadar lemak, namun memberikan pengaruh pada sifat fisik pada uji organoleptik dan uji derajat keasaman.
3. Kolagen hasil ekstraksi hanya memenuhi standar pada ketentuan derajat keasaman dan kadar air, sedangkan nano-kolagen yang dihasilkan hanya memenuhi standar pada ketentuan kadar air.

B. Saran

1. Penambahan EDTA pada perlakuan awal dan penggunaan NaCl Pro Analisis perlu dilakukan untuk menurunkan kadar mineral dalam rendemen.
2. Optimasi pelarut berupa enzim papain dan pengeringan rendemen dengan alat *freezerdry* perlu dilakukan untuk meningkatkan jumlah rendemen.
3. Penetralan campuran etanol dan kolagen perlu dinetralkan nilai derajat keasamannya terlebih dahulu agar nilai derajat keasaman rendemen nano-kolagen memiliki nilai yang sesuai standar.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdassah, M., 2017, Nanopartikel Dengan Gelas Ionik, Farmaka, 15(1), Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran.
- Ahmad Gulam Mirza, Setyaningsih Iriani, Trilaksani Wini., 2019, Formulasi Dan Bioaktivitas Suplemen Tablet Berbasis Spirulina Dan Hidrolisat Kolagen Kulit Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*), *Jurnal Penelitian*, 22 (3), 453-563.
- 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 Tarman., 2015, Ekstraksi dan Karakterisasi Kolagen dari Daging Teripang Gamma, *JPHPI*, Volume 18 Nomor 2.
- Anissah Umi, Barokah Rohmad Giri, dan Ariyani Farida, 2019, Pengaruh Penyimpanan Terhadap Profil Formaldehida Alami Dan Kemunduran Mutu Pada Ikan Beloso (*Saurida tumbil*), *JPHPI*, 22 (3), 535-548.
- Astiana, Ika, 2016, Efektivitas Asam dan Enzim Papain Dalam Menghasilkan Kolagen Dari Kulit Ikan Ekor Kuning (*Caesio cuning*), Tesis, Institut Pertanian Bogor.
- Ata, S.T.W., Yulianty, R., Sami, F.J., Ramli, N., 2016, Isolasi Kolagen Dari Kulit Dan Tulang Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis*), *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 1(1): pp 27-30, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Desmelati, Sumarto, Dewita, Dahlia, Syafrijal, dan Sari A. P., 2020, *Determination of Nano-collagen Quality from Sea Cucumber Holothuria scabra*, *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 430.
- Hamdani Syarif, 2016, Spektrofotometer Infra Merah, Edukasi.
- Hartati Indah, 2010, Kajian Produksi Kolagen Dari Limbah Sisik Ikan Secara Ekstraksi Enzimatis, *Momentum*, 6 (1), 33-35.
- Hudaya, Kamaludin Husna., 2016, Desain Titrator Otomatis Untuk Pengukuran Dua Titrasi Secara Simultan, Skripsi, Jember: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.
- Komala, Widowati Hartono Arman, Aleida Christine Sara, Saogo Sonya Christina, Damayanti Maytrinis Krisye, Suptijah Rika, Dan Pipih, 2014, Inovasi Nano-

Kolagen Dari Sisik Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Untuk Mempercepat Proses Penghilangan Bekas Luka Ada Kulit Secara In Vivo, PKM-Penelitian, IPB, Bogor.

Lang Ariane, 2020, Should You Choose Collagen Or Gelatin?, Healthline Web

Loppies Magdalena Regina Cindy, Apituley N. A. Daniel, dan Soukotta D., 2020, Komposisi Mineral Sisik Ikan Kakap Merah (*Lutjanus sp.*) dan Kakatua (*Scarus sp.*) dengan Perendaman Asam, ISBN, 7 (6), 71-85.

Maryam St., Effendi Nurmaya, dan Kasmah., 2019, Produksi Dan Karakterisasi Gelatin Dari Limbah Tulang Ayam Dengan Menggunakan Spektrofotometer Fourier Transform Infra Red, Majalah Farmaseutik, 15 (2), 96-104.

Martina Angela Dan Witono Retti Judy, 2014, Pemurnian Garam Dengan Metode Hidroekstraksi *Batch*, Penelitian Dan Pengabdian Masyarakat, Universitas Katolik Parahyangan.

Nuraeni Witri, Daruwati Isti, Maria Eva, Sriyani Eka Maulana., 2013, Verifikasi Kinerja Alat *Particle Size Analyzer* (PSA) Horiba Lb-550 Untuk Penentuan Distribusi Ukuran Nanopartikel, *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Nuklir*, 226-271.

Nurhidayah B, Eddy Soekendarsi, dan Andi Evi Erviani., 2019, Kandungan kolagen Sisik Ikan Bandeng (*Chanos-chanos*) dan Sisik Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*), *BIOMA: Jurnal Biologi Makassar*, 4(1): 39-47.

Pamungkas Bagu Fajar, Supriyadi, Murdiati Agnes, Dan Retno Indarti, 2018, Ekstraksi Dan Karakterisasi Kolagen Larut Asam Dan Pepsin Dari Sisik Ikan Haruan (*Channa striatus*) Kering, *JPHPI*, 21 (3), 513-521.

Pringgandini Ayu Laras, Indarti Yulia Ghinna, Melinda, Sari Morita., 2018, Efektivitas spray nanokolagen limbah sisik ikan mas (*Cyprinus carpio*) untuk mempercepat proses penyembuhan luka insisi, Laporan Penelitian, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.

Pujiastuti Novy, 2015, Identifikasi Dan Prevalensi Ektoparasit Pada Ikan Konsumsi Di Balai Benih Ikan Siwarak, Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang, Semarang.

Purwanto, Buku Ajar Matakuliah Elusidasi Struktur Kimia Alami, 6 April 2019.

Putra Naro, Sahubawa Latif, Ekantari Nurfitri., 2013, Ekstraksi Dan Karakterisasi Kolagen Dari Kulit Ikan Nila Hitam (*Oreochromis niloticus*), Laporan, Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

- Ramli Rahmayanti Andi, Annisa Rezky Andi, Bahmid Alim Nur, Mustafa Dalvi Muhammad., 2020, Isolation of papain-soluble collagen from the skin of snake-head fish (*Channa striata*), *Canrea Journal: Food Technology, Nutritions, and Culinary*, 3 (2), 87-93.
- Ristaningrum Kirana Ayu Dhea, 2020, Isolasi Dan Karakterisasi Kolagen Dari Kulit Dan Tulang Belut Sawah (*Monopterus albus*), Skripsi, Fakultas Farmasi, STIKES Nasional, Surakarta.
- Riyanto Agus, 2011, Pengolahan dan Analisis Data Kesehatan, Yogyakarta, Nuha Medika.
- Rosaini, Henni., Roslinda Rasyid., dan Vinda Hagramida., 2015, Penetapan kadar protein secara kjeldahl beberapa makanan olahan kerang remis (*Corbicula moltkiana Prime*) dari Danau Singkarak, *Jurnal Farmasi Higea*, Vol. 7, No. 2.
- Safithri Mega, Tarman Kustriyah, Suptijah Pipih, Dan Widowati Neni., Karakteristik Fisikokimia Kolagen Larut Asam Dari Kulit Ikan Parang-Parang (*Chirocentrus dorab*), *JPHPI*, 22 (3), 441-452.
- Setiawan Beny, Restuhadi Fajar, Dan Hamzah Faizah, 2015, Pengembangan Etanol Semi Padat Dengan Pencampuran Minyak Jelantah, *Jom Faperta*, 2 (2), 1-10.
- Setywati Hanny., dan Wahyuning Setyani., 2015, Potensi Nanokolagen Limbah Sisik Ikan Sebagai Cosmeceutical, *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, hlm. 30-40.
- Simamora Ramadhani Ranti Gevtry, Trilaksani Wini, Uju., 2019, Profiling Kolagen Gelembung Renang Ikan Patin (*Pangasius sp.*) Melalui Proses Enzimatis, *JPHPI*, 22 (2), 299-310.
- Supratman, 2010, Elusidasi Struktur Senyawa Organic (Metode Spektroskopi Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organic), Widya Padjadjaran, Bandung.
- Syafirjal, Sumarto, Dan Dewita., 2018, Karakteristik Mutu Nanopartikel Kolagen Daging Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Dengan Lama Waktu Pengadukan Berbeda, *Terubuk*, 46 (3), 27-36.
- Trilaksani Wini, Nurilmala Mala, Dan Setiawati Hani., 2012, Ekstraksi Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah (*Lutjanus sp.*) Dengan Proses Perlakuan Asam, *JPHPI*, 15 (3), 240-252.