

PENENTUAN STRUKTUR MOLEKUL KOLAGEN SISIK IKAN KAKATUA (*Scarus* sp) BERDASARKAN SERAPAN MOLEKUL TERHADAP GELOMBANG FTIR (FOURIER-TRANSFORM INFRARED SPECTROSCOPY ANALYSIS)

(Determination Of Molecular Structure Of Collagen Derived From Parrot Fish (*Scarus* sp) Scales Based On Fourier-Transform Infrared Spectroscopy Analysis)

Shellyn Prastisia Mberato¹, Inneke F. M Rumengan¹, Veibe Warouw¹, Stenly Wulur¹, Natalie D. T Rumampuk¹, Suzanne L. Undap², Pipih Suptijah³, Aldian H Luntungan⁴

1. Program Studi Ilmu Kelautan, FPIK, UNSRAT, Jl. Kampus UNSRAT Bahu, Manado 95115.
2. Program Studi Budidaya Perairan FPIK, UNSRAT, Jl. Kampus UNSRAT Bahu, Manado 95115.
3. Program Studi Teknologi Hasil Perairan, FPIK, IPB Jl. Agatis Kampus IPB Dermaga 16680.
4. Pascasarjana Magister Ilmu Perairan FPIK, UNSRAT, Jl. Kampus UNSRAT Bahu, Manado 95115.
*corresponding author: innekerumengan@unsrat.ac.id

Abstract

Parrot fish (*Scarus* sp) is a commodity which commonly consumed in North Sulawesi. High consumption of this fish has caused the high amount of fish scales as wastes. As parrot fish scales contain protein that could be transformed into commercial products such as collagen. Collagen could be applied in the industrial fields including cosmetics and pharmaceuticals. The purpose of this study was to determine molecular structure of collagen derived from the wet and dry parrot fish (*Scarus* sp) scales, based on molecular absorption of electromagnetic in the infrared region of the fourier transform infrared spectroscopy.

Preparation of collagen of fish scales both in wet and dry forms, was initially performed with pre-treatment of raw materials by maceration in sodium hydroxide (NaOH) solution for 48 hours. Then hydrolysis process was conducted in hydrochloric acid (HCl) solution again for 48 hours to remove mineral contents of the scales. Collagen yield of fish scales in wet and dry forms was 2.23% and 3.00%, respectively, with pH 7, and the respective water content was 13% and 12%. For collagen derived from the wet scales, the functional groups of amide A and B absorb the electromagnetic at infrared region of 3429 cm^{-1} and 2930 cm^{-1} , respectively. Also amide I, II and III absorb the electromagnetic at infrared region of 1657 cm^{-1} , 1452 cm^{-1} and 1242 cm^{-1} , respectively. It was comparable to that of collagen derived from the dry scales, the functional groups of amide A and B absorb the electromagnetic at infrared region of 3425 cm^{-1} and 2910 cm^{-1} , respectively. Also amide I, II and III absorb the electromagnetic at infrared region of 1653 cm^{-1} , 1402 cm^{-1} and 1244 cm^{-1} , respectively. The amide III group of the wet scales derived collagen as well as the dry scales derive collagen absorb the electromagnetics at infrared region in the range of 1309-1229 cm^{-1} indicating that the fish scale derived collagen has not denatured yet, but still in *triple helix* structure. Molecular functional groups detected for the parrot fish scales derived collagen are in the range of those for collagen standard.

Keywords : fish scale, *Scarus* sp, collagen, molecule structure, proximate

Abstrak

Ikan kakatua (*Scarus* sp) merupakan salah satu jenis komoditi ikan yang banyak dikonsumsi di Sulawesi Utara. Tingginya konsumsi ikan kakatua berakibat banyaknya limbah kuliner ikan ini berupa sisik ikan. Padahal sisik ikan kakatua mengandung protein yang dapat ditransformasikan menjadi produk samping komersial seperti kolagen. Kolagen dapat diaplikasikan pada bidang industri kosmetik dan farmasika. Tujuan penelitian ini menentukan struktur molekul kolagen dari sisik ikan kakatua (*Scarus* sp) berdasarkan wilayah serapan gelombang *infra red*.

Preparasi kolagen dari sisik ikan baik dalam bentuk basah maupun kering, diawali dengan proses pre-treatment bahan baku dengan melakukan perendaman menggunakan larutan NaOH selama 48 jam. Selanjutnya adalah tahap hidrolisis yang dilakukan dengan perendaman sampel menggunakan larutan

asam klorida (HCl) selama 48 jam untuk menghilangkan mineral yang ada dalam sisik. Kolagen sisik basah dan sisik kering dari ikan kakatua memiliki nilai rendemen masing-masing sebesar 2.23% dan 3.00%, nilai pH 7 serta kadar air sebesar 13% dan 12%. Pada kolagen sisik basah terdeteksi Amida A mempunyai bilangan gel (3429 cm^{-1}), Amida B (2930 cm^{-1}), Amida I (1657 cm^{-1}), Amida II (1452 cm^{-1}) dan Amida III (1242 cm^{-1}), sedangkan pada kolagen sisik kering terdeteksi Amida A mempunyai bilangan gel (3425 cm^{-1}), Amida B (2910 cm^{-1}), Amida I (1653 cm^{-1}), Amida II (1402 cm^{-1}) dan Amida III (1244 cm^{-1}). Amida III pada kolagen sisik basah dan kolagen sisik kering terdeteksi pada wilayah serapan $1309\text{-}1229\text{ cm}^{-1}$ hal menandakan bahwa kolagen sisik ikan kakatua belum terdenaturasi karena masih terdapat struktur *triple helix*. Gugus fungsional kolagen sisik kering dan kolagen sisik basah dari ikan kakatua memenuhi standar gugus fungsional kolagen standar.

Kata kunci : sisik, *Scarus* sp, kolagen, gugus fungsi, proksimat

PENDAHULUAN

Ikan merupakan komoditi hasil perikanan yang paling banyak dikenal dimasyarakat Sulawesi Utara. Hal ini didasari dari kegemaran masyarakat terhadap konsumsi ikan serta ketersediaan yang melimpah. Salah satu jenis ikan ekonomis penting yang belum dimanfaatkan secara optimal adalah ikan kakatua (*Scarus* sp). Terdapat 49 jenis ikan kakatua yang tersebar di perairan Indo-Pasifik termasuk di perairan Indonesia (Beaufort, 1940). Ikan kakatua sangat digemari dikalangan restoran makanan laut karena selain melimpah di perairan Indonesia, ikan kakatua memiliki serat daging yang halus dan lunak. Ukuran tubuh dari ikan kakatua sangat beragam, dari ukuran yang kecil hingga ukuran yang besar. Namun, pengelolaan produksi ikan kakatua selama ini masih sebatas daging (*fillet*) yaitu sebagai bahan pangan.

Tingginya konsumsi ikan kakatua serta penjualannya di pasar diikuti juga dengan banyaknya limbah hasil produksi yang tidak diolah seperti sisik ikan. Padahal sisik ikan kakatua dapat ditransformasikan menjadi turunan protein yang menghasilkan produk samping komersial. Sisik ikan kakatua mengandung protein hingga mencapai 32,30% (Rumengan *et al.* 2017). Tingginya kandungan protein pada sisik ikan kakatua diduga karena ikan kakatua memiliki aktivitas pada malam hari yang menyelimuti diri dengan lapisan lender yang berasal dari tubuhnya untuk menghindari dari predator (WINN, 1955). Kandungan protein pada sisik ikan kakatua ini dapat dijadikan protein yang lebih sederhana antara lain kolagen yang

meningkatkan nilai tambah pada produk hasil samping industri perikanan (Kartika *et al.*2016). Kolagen dapat digunakan sebagai bahan dasar farmasitika dan kosmetika yang memiliki nilai jual produk yang tinggi. Kosmetik yang mengandung kolagen dapat membantu jaringan kulit dalam meningkatkan kelembaban serta memperbaiki kekenyalan kulit. Kolagen sebagai bahan baku farmasitika dan kosmetika umumnya dimanfaatkan dari kulit dan tulang dari sapi dan babi, namun menjadi larangan karena berkaitan dengan nilai keagamaan (Gómez-Guillén *et al*2011). Selain daripada itu, ternyata jenis kolagen dari bahan baku sisik ikan lebih bagus dalam segi kualitas daripada kolagen sapi atau babi hal ini dikarenakan pada sisik ikan lebih rendah terdegradasi oleh cahaya matahari yang dapat merusak struktur kolagen (Imanah. 2019). Kolagen dari sisik ikan menjadi terobosan yang sangat menjanjikan karena limbah sisik ikan kakatua masih belum dimanfaatkan dengan baik oleh masyarakat khususnya di Sulawesi Utara. Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan perbandingan gugus fungsi kolagen sisik basah dan kolagen sisik kering dari ikan kakatua (*Scarus* sp).

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan pada Laboratorium Biologi Molekuler dan Farmasitika Laut Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi Manado. Ekstraksi serta pengamatan kolagen sisik ikan kakatua akan dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu

Kelautan Institut Pertanian Bogor. Analisis gugus FTIR kolagen sisik ikan kakatua akan dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Biofarmaka, Institut Pertanian Bogor. Penelitian ini dilakukan sejak bulan Juli 2018 sampai Oktober 2019.

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Pada penelitian ini menggunakan alat dan bahan sebagai penunjang pembuatan ekstraksi. Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah sisik kering dan sisik basah ikan kakatua (*Scarus sp*), air, aquades, NaOH, HCl. Alat yang digunakan untuk analisis pH adalah pH indikator digital.

Teknik pengambilan sampel sisik ikan kakatua

Sampel ikan kakatua (*Scarus sp*) dikumpulkan dari Pasar Bersehati Manado, Sulawesi Utara. Sampel sisik ikan kakatua kemudian di cuci dan disaring kedalam saringan hingga bersih untuk melepaskan sisa daging yang melekat pada sisik ikan kakatua tersebut.

Penelitian ini dilakukan menggunakan beberapa tahap, yaitu: (1) Pretreatment (3) Hidrolisis (4) Preparasi kolagen

Pretreatment

Pada tahap ini dilakukan pretreatment menggunakan NaOH dengan konsentrasi 0,5 N. direndam selama 48 jam. Selanjutnya sampel sisik ikan hasil perendaman dilakukan uji biuret agar mengetahui lama perendaman terbaik. Uji biuret dilakukan seiring dengan pergantian larutan. Pretreatment dimaksudkan agar sisa kotoran, bau amis yang masih ada pada sisik ikan terangkat secara keseluruhan, serta menghilangkan protein non-kolagen. sampel di bertujuan agar sampel sisik basa mendapatkan pH Netral (7) untuk dilakukan tahap selanjutnya pH diukur dengan menggunakan pH indicator digital

Hidrolisis

Tahap selanjutnya menggunakan asam HCl dengan konsentrasi 0,75%. Pada tahap ini direndam selama 48 jam, sambil diaduk menggunakan pengaduk setiap dua jam selama perendaman tanpa pergantian larutan. Larutan HCl dimaksudkan agar menghilangkan mineral pada sisik ikan kakatua. Sampel kemudian dinetralkan menggunakan hingga mencapai pH netral kembali untuk dilakukan tahap ekstraksi kolagen. pH diukur menggunakan pH indikator digital.

Preparasi kolagen

Sampel sisik ikan yang telah di hidrolisis mendapat pH netral kemudian diekstraksi agar menghasilkan kolagen. Setiap ekstraksi dilakukan dengan menggunakan suhu stabil 40°C. Hasil di pisahkan antara kolagen dengan residunya tidak terlarut dalam air.

Prosedur analisis randemen

Randemen kolagen yang dihasilkan diperoleh dengan membandingkan berat kering masing-masing kolagen dengan berat bahan baku sebelum diekstraksi. Perhitungan randemen ini mengacu pada AOAC 1995. Perhitungan dapat diperoleh dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Randemen Kolagen(\%)} = \frac{\text{Berat kering Kolagen}}{\text{Berat bahan}}$$

Analisis pH

Analisis pH menggunakan pH indikator digital untuk melihat nilai pH kolagen yang dihasilkan. Sampel kolagen sisik ikan kakatua diaduk secara merata. Selanjutnya, pH indikator dicelupkan ke dalam sampel beberapa saat sampai diperoleh nilai pH 7 yaitu pH netral.

Analisis FTIR kolagen sisik ikan kakatua (*Scarus sp*) (Muyonga et al, 2004)

Analisis FTIR untuk mengetahui gugus fungsi kolagen sisik ikan kakatua (*Scarus sp*) yang dihasilkan dari perlakuan terbaik. Sampel uji dibentuk pellet menggunakan campuran KBr. Pada tahap

ini, analisis FTIR akan menghasilkan puncak-puncak dari gugus fungsi dari sampel yang dikarakterisasi. Sampel dilakukan dengan pendeteksian hingga menghasilkan gugus fungsi dari rekorder histogram FTIR pada monitor. Histogram kemudian dianalisis untuk memperoleh data kuantitatif. Data kuantitatif akan disesuaikan dengan standar kolagen sisik ikan (SNI 80762014.)

Analisis proksimat (SNI 01-2891-1992)

Analisis proksimat merupakan analisis untuk mengetahui komposisi kimia suatu bahan. Analisis ini kadar air. Dilakukan sebelum proses ekstraksi sampel.

Kadar air

Pada tahap pertama dilakukan pengeringan cawan porselen dalam oven pada suhu 105°C selama 60 menit. Cawan porselen yang kering kemudian dimasukkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang mendapatkan berat konstan. Tahap selanjutnya sampel ditimbang sebanyak 2 gram dan dimasukkan pada

cawan dan dikeringkan dalam oven mencapai suhu 105°C selama 3 jam. Cawan yang berisi sampel kemudian didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang hingga mendapat berat konstan. Kadar air dapat dihitung menggunakan rumus:

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

Keterangan:

A = Berat cawan kosong (g)

B = Berat cawan porselen + Sampel awal (g)

C = Berat cawan + sampel kering

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik kolagen sisik ikan kakatua (*Scarus sp*)

Karakteristik kolagen sisik ikan kakatua dilakukan dengan menganalisis komposisi kimia meliputi kadar air, pH, dan randemen. Analisis proksimat kolagen sisik ikan ditunjukkan pada tabel 1

Tabel 1. Analisis proksimat kolagen sisik ikan kakatua (*Scarus sp*)

Parameter Komposisi Kimia	Kolagen Sisik Basah	Kolagen Sisik Kering	Syarat Mutu Kolagen
Kadar air	13 %	12 %	12 (BSN 2014)
pH	7	7	6,6-8 (BSN 2014)
Randemen	2.23 %	3.30 %	

Hasil pengujian menunjukkan bahwa nilai kadar air pada kolagen kering lebih rendah daripada kolagen basah. Kadar air dari kolagen sisik ikan dipengaruhi oleh proses pengeringan yang dilakukan pada preparasi bahan baku. Kadar air merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi mutu dari bahan baku termasuk untuk menentukan karakteristik fisika, kimia, mikrobiologi dan sensori dari ketahanan bahan baku (Pisuchpen, 2007).

Randemen berguna untuk mengetahui keefektifan suatu produk atau bahan baku. Rendemen kolagen merupakan persentase kolagen yang dihasilkan dari bahan baku awal. Pada randemen kolagen sisik basah dan sisik kering mengalami perbandingan yang berbeda. Pada kolagen sisik kering menghasilkan nilai rendemen 2.23 %. Rendemen kolagen sisik basah lebih rendah dibandingkan dengan kolagen sisik kering. Perbedaan nilai rendemen kolagen yang dihasilkan menurut Potaros et

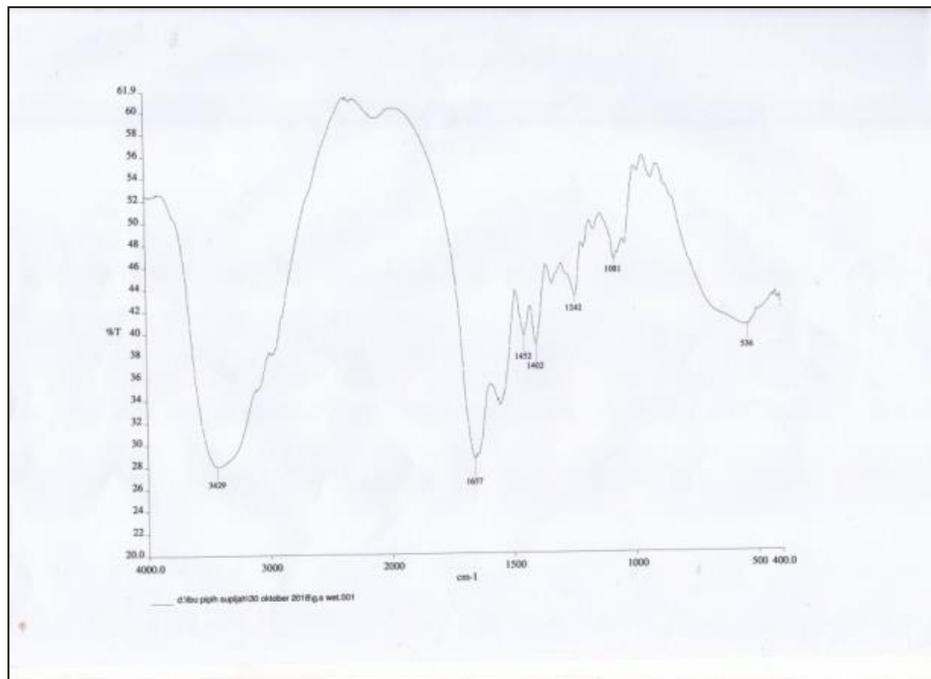
al. (2009), dapat disebabkan oleh perbedaan metode ekstraksi yang digunakan, perbedaan konsentrasi larutan untuk menghilangkan protein non-kolagen, perbedaan jenis bahan baku, serta perbedaan suhu dan waktu dalam proses ekstraksi. Larutnya kolagen yang dihasilkan ditandai dengan tingginya kekentalan dalam proses pelarutan selama perendaman.

Nilai pH merupakan parameter yang dilakukan untuk mengukur derajat keasaman atau kebasaan suatu larutan. Nilai pH pada kolagen sisik ikan kakatua menunjukkan nilai netral yaitu 7. Proses penetralan yang dilakukan bertujuan untuk menghilangkan sisa asam dan basa pada proses ekstraksi kolagen. Nilai pH pada kolagen sisik ikan kakatua yang dihasilkan memenuhi sesuai standar BSN (2014) yaitu berkisaran pada nilai pH 6.6-8.

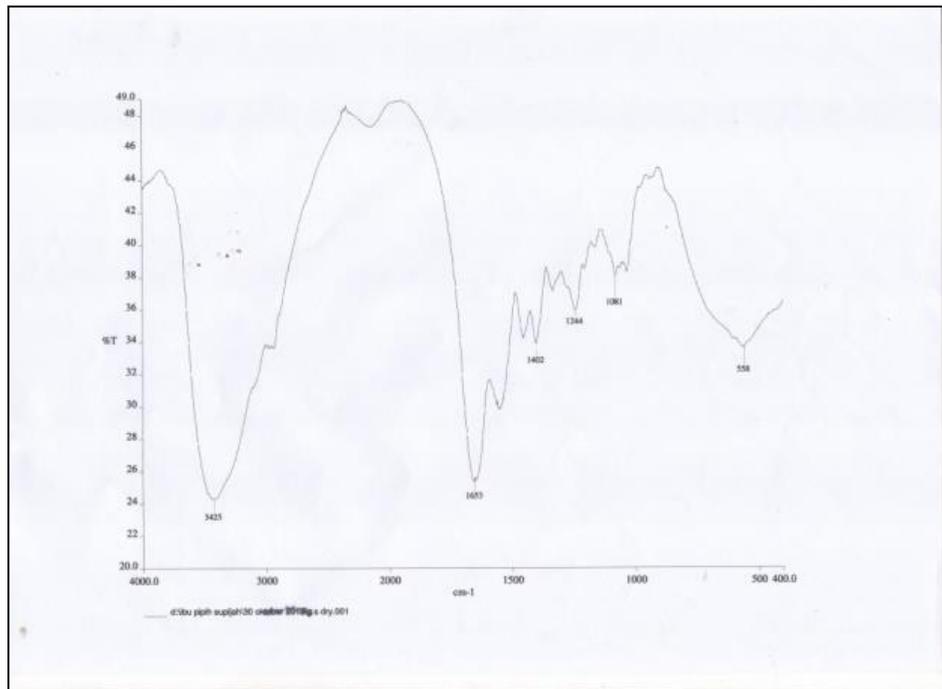
Analisis FTIR kolagen sisik ikan kakatua (*Scarus sp*) (Muyonga et al, 2004)

Serbuk kolagen sisik ikan kakatua dari hasil *freeze dryer* dikarakteristik menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR) dan diperoleh nilai transmisi (%) terhadap bilangan gelombang (cm^{-1}). Pengukuran FTIR dilakukan untuk memastikan senyawa yang dihasilkan merupakan kolagen berdasarkan gugus fungsinya. Prinsip dari spektroskopi FTIR yaitu dengan pengukuran panjang gelombang dan intensitas penyerapan radiasi inframerah oleh sampel.

Kolagen memiliki 5 daerah serapan khas amida diantaranya yaitu amida A, amida B, amida I, II, III. Gambar 1 merupakan hasil spektrum FTIR kolagen basah sisik ikan kakatua yang dilakukan pada penelitian ini. Sedangkan gambar 2 merupakan spektrum FTIR kolagen kering sisik ikan kakatua sebagai perbandingan.



Gambar 1. Spektrum FTIR kolagen basah sisik ikan kakatua (*Scarus sp*)



Gambar 2. Spekturm FTIR kolagen kering sisik ikan kakatua (*Scarus sp*)

Karakteristik gugus fungsi kolagen terdiri dari Amida A, B, I, II dan III masing-masing mempunyai bilangan gelombang yang berbeda dan spesifik. Untuk kolagen sisik basah, gugus fungsi amida A dan B menyerap elektromagnetik pada daerah inframerah masing-masing 3429 cm^{-1} dan 2930 cm^{-1} . Juga amida I, II dan III menyerap elektromagnetik pada daerah inframerah masing-masing 1657 cm^{-1} , 1452 cm^{-1} dan 1242 cm^{-1} . Sedangkan pada kolagen sisik kering, gugus fungsional amida A dan B menyerap

elektromagnetik pada daerah inframerah masing-masing 3425 cm^{-1} dan 2910 cm^{-1} . Juga amida I, II dan III menyerap elektromagnetik pada daerah inframerah masing-masing 1653 cm^{-1} , 1402 cm^{-1} dan 1244 cm^{-1} . Spektrofetometer FTIR dapat digunakan untuk mendeteksi perubahan struktur sekunder yang terjadi akibat denaturasi atau kerusakan lain oleh suhu (Muyogo *et al* 2004). Hasil analisis gugus fungsi kolagen sisik ikan kakatua dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Wilayah serapan gelombang *infra red* menurut gugus fungsi dari kolagen yang dipreparasi dari sisik ikan kakatua basah, kering, dan kolagen standar (cm^{-1})

Gugus fungsi	Sisik basah	Sisik kering	Kolagen standar	Ket
Amida A	3429	3425	3360-3310	NH <i>Stretching</i>
Amida B	2930	2910	2935-2915	<i>Asimmetrical Stretch of CH₂</i>
Amida I	1657	1653	1690-1600	C=O <i>Stretching</i>
Amida II	1452	1402	1575-1480	CN <i>Stretching</i> , NH <i>Bending</i>
Amida III	1242	1244	1309-1229	NH <i>Bending</i>

Dari hasil penelitian, gugus fungsi amida A ditunjukkan pada gugus NH-*Stretching* yang terdeteksi (Coada 2000) dan sebagai indeks terdapatnya ikatan hidrogen pada gugus amida. Amida B terdeteksi pada wilayah serapan kolagen gelombang 2935-2915 cm^{-1} menurut Coach, 2000 bahwa amida B menunjukkan adanya vibrasi regangan simetris dari gugus CH₂. amida I pada kolagen sisik basah terbentuk pada bilangan gelombang 1657 cm^{-1} dan kolagen sisik kering pada bilangan gelombang 1653 cm^{-1} yang menunjukkan adanya vibrasi regangan C=O dimana amida ini berperan sebagai indikator adanya serina dari protein kolagen. Amida II menerapkan gugus fungsi khair kolagen, CN *Stretching* dan NH *Bending*.

Amida III pada kolagen sisik basah dan kolagen sisik kering terdeteksi pada wilayah serapan kolagen standar 1309-1229 cm^{-1} yang menunjukkan bahwa kolagen sisik ikan kakatua belum terdenaturasi karena masih terdapat struktur *triple helix*.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa Amida III pada kolagen sisik basah dan kolagen sisik kering terdeteksi pada wilayah serapan

1242 cm^{-1} dan 1244 cm^{-1} hal menandakan bahwa kolagen sisik ikan kakatua belum terdenaturasi karena masih terdapat struktur triple helix. Gugus fungsional kolagen sisik kering dan kolagen sisik basah dari ikan kakatua memenuhi standar gugus fungsional kolagen standar.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC (the Association of Official Analytical Chemist). 1995. Official Methods of Analysis. Inc, Washington, DC. Chap. 38 : 1-3.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. 1992. Cara Uji Makanan dan Minuman: SNI 01-2891-1992. Jakarta : Badan Standardisasi Nasional.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. 2014. Kolagen kasar dari sisik ikan- Syarat mutu dan pengolahan: SNI 80762014. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- BEAUFORT, L.F. 1940. The Fishes of the Indo-Australian Archipelago. E.J.Brill, Leiden: 508 pp.
- Coates J. 2000. Interpretation of infrared spectra, a practical approach. Di dalam: Meyers RA, editor. Encyclopedia of Analytical Chemistry. Chichester: John Wiley & Sons Ltd.
- Gómez-Guillén MC, Giménez B, López-Caballero ME, Montero MP. 2011. Functional and bioactive properties of

- collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocolloids*.25: 1813-1827
- Imamah, N. 2019. Pengaruh pemberian kolagen ikan terhadap proses penyembuhan luka insisi (studi eksperimen pada tikus putih *rattus norvegicus*). *Jurnal Husada Mahakam* . Vol.5(1)
- Kartika, I.W.D. and W. Trilaksani. 2016. Karakterisasi kolagen dari limbah gelembung renang ikan cunang hasil ekstraksi asam dan hidrot
- ermal. J. Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia, 19(3):222-232.
- Muyonga JH, Cole CGB, Duodu KG. 2004. Characterisation of Acids soluble collagen from skins of young and adult Nileperch (*Lates niloticus*). *Food Chemistry* 85 (1): 81-89.
- Pisuchpen, S. 2007. Shelf life analysis of hot curry cubes. *Journal Asian Food and Agro Industry* 1 (01) : 43-50
- Potaros R, Nongnuch R, Jiraporn R, Wanchai W. 2009. Characteristics of Collagen from Nila Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Skin Isolated by Two Different Methods. *Nat Sci*;43;584-593.
- Rumengan, I.F.M., P. Suptijah. S.Wullur, and A. Talumepa. 2017. Characterization of chitin extracted from fish scales of marine fish species purchased from local markets in North Sulawesi, Indonesia. *IOP Conf. Series: Earth Environmental Science*. doi: 10.1088/1755-1315/89/1/012018
- WINN, H.E. 1955. Formation of a mucous Envelope at night by Parrot fishes. *Zoologica*. 40 (14): 145-149