

## **Pengaruh konsentrasi asam klorida dan metode ekstraksi *microwave* terhadap karakteristik kolagen tulang ikan tuna (*Thunus sp*)**

*The effect of clorida acid and microwave extraction method on the characteristics of collagen bone tuna fish (Thunnus sp)*

**Marisa Rizky Hanivia**<sup>1)\*</sup>, **Jariah**<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Program Studi Teknologi Pangan, Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jawa Timur  
\*Email Korespondensi: marisarizky077@gmail.com

### **Informasi Artikel:**

Dikirim: 23/05/2022; ditinjau: 10/06/2022; disetujui: 15/09/2022

### **ABSTRACT**

*Indonesia still imports more than 6200 tons of collagen with the price reaching approximately 1\$. Therefore, domestic industrial developers are needed to produce collagen. Collagen itself is usually made from bone or skin raw materials from pigs or cows, but recently there are frequent infectious diseases from these livestock so that raw materials from fisheries can overcome these problems to be used as materials for making collagen. Tuna fish bones have a high collagen protein content and can be used as an alternative raw material for collagen. The purpose of this study was to determine the characteristics of tuna bone collagen made by Factor I concentration of hydrochloric acid (1%,3%,5%) with factor II extraction time (30 minutes, 60 minutes, 90 minutes). In this study using a Completely Randomized Design (CRD). In the results of the study, the best treatment, namely the treatment of 5% hydrochloric acid concentration with an extraction time of 90 minutes, had a yield value of 21.05%, water content 2.69%, ash content 0.27%, pH value 7.23, viscosity value 3.38cP and Color (L\*) 75.31. Furthermore, the results of the FTIR analysis of Amide A, Amide B, Amide I, Amide II, Amide III with absorption peaks in a row (3362.52 cm<sup>-1</sup>), (2935.25 cm<sup>-1</sup>), (1626.46cm<sup>-1</sup>), (1517,14cm<sup>-1</sup>), (1235.52cm<sup>-1</sup>)*

**Keywords:** Collagen, tuna fish bone, FT-IR, Microwave Assisted Extraction, hydrochloric acid

### **ABSTRAK**

Indonesia masih mengimpor lebih dari 6200 ton kolagen dengan harga per gram mencapai kurang lebih 1\$. Oleh karena itu diperlukan pengembang industri dalam negeri untuk memproduksi kolagen. Kolagen sendiri biasanya terbuat dari bahan baku tulang/kulit dari babi maupun sapi, namun baru-baru ini sering terjadi penyakit menular dari hewan-hewan ternak tersebut sehingga bahan baku yang berasal dari perikanan yang bisa mengatasi masalah tersebut untuk dijadikan bahan pembuatan kolagen. Tulang ikan tuna memiliki kandungan protein kolagen yang tinggi dan dapat menjadikan alternatif bahan baku kolagen. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik kolagen tulang ikan tuna yang dibuat dengan Faktor I konsentrasi asam klorida (1%,3%,5%) dengan faktor II lama waktu ekstraksi (30 menit, 60 menit, 90 menit). Pada penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pada hasil penelitian perlakuan terbaik yakni dari perlakuan konsentrasi asam klorida 5% dengan lama waktu ekstraksi 90 menit memiliki nilai rendemen 21,05%, Kadar air 2,69%, kadar abu 0,27%, nilai pH 7,23, nilai viskositas 3,38cP dan Warna

(L\*) 75,31. Selanjutnya didapatkan hasil analisa FTIR Amida A, Amida B, Amida I, Amida II, Amida III dengan puncak serapan berturut-turut (3362,52 cm<sup>-1</sup>), (2935,25 cm<sup>-1</sup>), (1626,46 cm<sup>-1</sup>), (1517,14 cm<sup>-1</sup>), (1235,52 cm<sup>-1</sup>)

**Kata Kunci:** Kolagen, tulang ikan tuna, FT-IR, *Microwave Assisted Extraction*, asam klorida

## PENDAHULUAN

Produksi kolagen pada negeri masih belum optimal. Data *International Trade Center* (2016) menjelaskan bahwasanya Indonesia mengimpor kolagen lebih dari 6200 ton per tahunnya. Pemanfaatan kolagen sendiri cukup luas baik pada bidang pangan, farmasi bahkan kecantikan. Kolagen sendiri memiliki sifat *biodegradable*, *biocompatible* dan afinitas rendah (Liu *et al.*, 2009) begitu pula dengan Zhang (2018) yang menyatakan bahwasanya kolagen adalah memiliki biokompatibilitas dan biodegradabilitasnya yang sangat baik untuk diaplikasikan sebagai bahan tambahan pangan, farmasi dan kosmetik. Oleh karena itu diperlukan pengembangan industri dalam negeri untuk mengatasi masalah impor di Indonesia.

Indonesia merupakan negara maritim yang memiliki banyak keanekaragaman sumberdaya perikanan. Produksi perikanan di Indonesia sangat tinggi di iringi dengan jumlah limbah perikanan yang tidak dimanfaatkan dengan optimal (Ramli, 2019). Menurut KKP (2007) limbah perikanan yang dihasilkan industri bisa mencapai 25-30% berupa tulang, kepala, kulit dsb, banyaknya limbah berkisar 36 ton pertahun.

Sumber kolagen biasanya berasal dari kulit/tulang hewan ternak seperti sapi, babi, unggas. Baru baru ini penyakit menular pada hewan ternak sering terjadi terus menerus seperti (*Bovine Spongiform*) penyakit sapi gila Flu Burung dsb (Elango *et al.*, 2019). Sehingga diperlukan adanya bahan alternatif pengganti hewan ternak tersebut. Tulang ikan adalah jawaban dari masalah tersebut. Dikarenakan ikan tidak memiliki penyakit menular seperti yang ada pada hewan ternak. Menurut Havez *et al.* (2020) Pemanfaatan kolagen berbasis tulang ikan berkembang pesat karena sifatnya yang unik dibandingkan dengan kolagen berbasis mamalia, seperti

tidak ada risiko penularan penyakit, kurangnya batasan agama, proses hemat biaya, berat molekul rendah, biokompatibilitas, dan mudah diserap oleh tubuh manusia.

Ikan tuna merupakan salah satu jenis ikan yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia, tulang ikan tuna pada industri pengolahan tidak dimanfaatkan dengan baik sehingga diperlukan pengolahan lebih lanjut (Mala, 2020). Protein yang terdapat pada tulang ikan tuna sangat tinggi apabila dibandingkan dengan jenis ikan lain menurut Thalib (2015) protein yang terkandung pada 100 gr tulang ikan tuna berkisar 24,1gr.

Dalam melakukan proses pembuatan kolagen tulang ikan tuna diperlukan pelarut dan metode ekstraksi. Penelitian ini menggunakan pelarut asam klorida dan saat dilakukan perbandingan dengan basa kuat, asam mampu dengan cepat memutus ikatan *tripel heliks* menjadi rantai tunggal sedangkan basa hanya mampu memutus rantai *triple heliks* kolagen menjadi rantai ganda (Wart & Court, 2007). Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Microwave Assisted Extraction* atau biasa disingkat MAE, dengan *Microwave oven* yang mampu menghasilkan radiasi gelombang mikro sebagai penghasil getaran sehingga menggetarkan makanan dan terjadi gesekan ion pada senyawa yang ada pada bahan yang kemudian menjadi panas. Ekstraksi ini lebih cepat dan efisien apabila dibandingkan dengan metode konvensional (Rafiee *et al.*, 2011).

Berdasarkan penjelasan di atas maka tujuan penelitian adalah mengetahui pengaruh konsentrasi asam klorida dan lama waktu ekstraksi menggunakan metode ekstraksi MAE (*Microwave Assisted Extraction*) terhadap karakteristik fisikokimia kolagen tulang ikan tuna.



Gambar 1. Bahan utama pembuatan kolagen tulang ikan

## METODE

Metode olah data yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan ini merupakan rancangan percobaan dengan menggunakan 9 perlakuan (Konsentrasi Asam Klorida 1%, 2%, 3%) dan Lama waktu ekstraksi (30 menit, 60 menit, 90 menit). Dengan pengulangan tiap perlakuan 2 kali.

### Bahan

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah tulang ikan tuna yang merupakan sisa proses pengalengan ikan di BANTU. Banyuwangi Cannery Bantu. Bahan kimia yang digunakan yaitu HCl, aquades, NaCl, NaOH, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-HgO, dan tablet kjeldahl.

### Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi antara lain, timbangan digital, *water bath*, *cabinet dryer*, kompor gas, termometer, pisau, wadah plastik dan gelas. Alat-alat yang digunakan untuk analisis antara lain neraca analitik, oven, desikator, *furnace*, pH meter, Microwave Oven, satu set *Viscometer* model RVT, *ColorideR*, FT-IR (*Spektrofotometer Fourier Transform Infra Red*), dan SEM (*Scanning Electron Microscope*).

## Metode/pelaksanaan

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan di laboratorium Teknologi Pengolahan Pangan, laboratorium Analisa Pangan, laboratorium Instrumen Program Studi Teknologi Pangan UPN "Veteran" Jawa Timur.

Analisis kolagen tulang ikan tuna yang dilakukan pada penelitian ini meliputi : 1) rendemen, 2) kadar air, 3) kadar abu, 4) kadar protein, 5) uji warna, Analisa dilanjutkan dengan analisis keputusan perlakuan terbaik dari karakteristik dan sensori kolagen tulang ikan tuna. Perlakuan terbaik selanjutnya dilakukan analisis gugus fungsi kolagen dengan menggunakan FT-IR (*Spektrofotometer Fourier Transform Infrared*) dan Morfologi Kolagen menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscope*). Analisa data dilakukan secara ANOVA dengan selang kepercayaan 5%. Apabila ditemukan pengaruh terhadap salah satu variabel maka dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pembuatan kolagen tulang ikan tuna

Tulang yang telah dibersihkan direndam dengan air mendidih selama 1-5 menit, tujuan perendaman dengan air panas ini untuk membuang sisa daging yang masih menempel pada bahan (*Sembiring et al., 2020*).

Selanjutnya tulang ikan yang telah bersih dari sisa daging yang menempel dilakukan pemotongan 2-5 cm tujuannya agar lebih cepat saat proses denaturasi oleh asam. Pengecilan ukuran diperlukan untuk memperluas permukaan bahan sehingga proses dapat berlangsung lebih cepat dan sempurna. (*Sembiring dkk, 2020*). Proses selanjutnya yakni melakukan demineralisasi, dengan menggunakan pelarut asam kuat yaitu Asam Klorida selama 72 jam dengan konsentrasi 1%, 3%, 5%. Asam klorida dinilai mampu melarutkan protein kolagen yang ada pada tulang ikan.

Tulang yang telah menjadi ossain dicuci sampai pH mendekati 7. Setelah itu

dilakukannya ekstraksi menggunakan metode MAE (*Microwave Assisted Extraction*) dengan lama waktu ekstraksi 30, 60, dan 90 menit. Setelah di ekstraksi larutan kolagen ditambahkan NaCl untuk mengendapkan kolagen. Pisahkan supernatan dan ambil endapan kolagen. Setelah itu dikeringkan menggunakan cabinet dryer selama 24 jam dengan suhu 50C. Setelah kering ditumbuk untuk menjadi bubuk kolagen

## Analisa fisikokimia

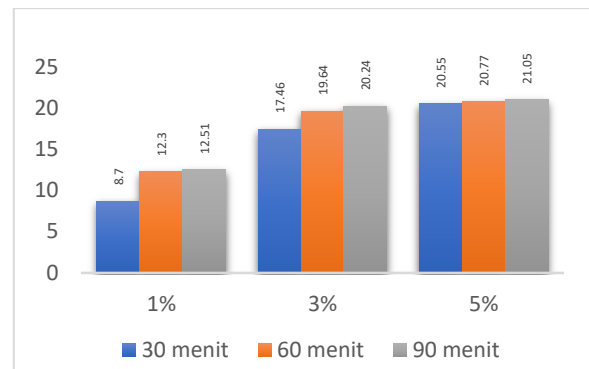
### 1. Rendemen

Berdasarkan hasil dari analisis ragam dapat diketahui bahwasanya adanya interaksi yang nyata antara konsentrasi asam klorida dan lama waktu ekstraksi.

Tabel 1. Nilai rendemen rata-rata

Perlakuan	Total	Rerata
M1R1	17,40	8,70 ± 0,28 <sup>a</sup>
M1R2	24,60	12,30±0,28 <sup>b</sup>
M1R3	25,02	12,51± 0,16 <sup>b</sup>
M2R1	34,92	17,46± 0,06 <sup>c</sup>
M2R2	39,28	19,64 ±0,03 <sup>d</sup>
M2R3	40,48	20,24 ±0,08 <sup>e</sup>
M3R1	40,70	20,53 ±0,07 <sup>e</sup>
M3R2	41,54	20,77 ±0,18 <sup>f</sup>
M3R3	42,10	21,05 ±0,35 <sup>g</sup>

Nilai rata-rata rendemen kolagen tulang ikan tuna yang didapatkan pada 4 berkisar antara 8,70 – 21,05%. Pada perlakuan waktu ekstraksi selama 90 menit dengan konsentrasi HCl 5% menghasilkan nilai rendemen tertinggi yakni sebanyak 21,05%, sedangkan pada perlakuan waktu ekstraksi selama 30 menit konsentrasi asam 1% menghasilkan nilai rendemen yang paling sedikit sebanyak 8,7%. Pada penelitian yang dilakukan Rahmawati (2020) diperoleh nilai rendemen kolagen tulang ikan tongkol dengan pelarut asam klorida konsentrasi 5% sebesar 21%. Sedangkan pada penelitian Romadhon (2019) diperoleh nilai rendemen kolagen tulang ikan nila sebesar 0,53%. Grafik hubungan antara perlakuan lama waktu ekstraksi dan konsentrasi asam terhadap rendemen kolagen tulang ikan tuna dapat diamati pada Gambar 2.



Gambar 2. Rerata rendemen kolagen tulang ikan tuna

Gambar 2 menunjukkan bahwasanya semakin tinggi konsentrasi dan semakin lama waktu ekstraksi dapat menghasilkan rendemen kolagen yang tinggi. Hal tersebut disebabkan karena konsentrasi asam yang tinggi dapat memecah rantai triple-heliks menjadi rantai tunggal sehingga kolagen pada saat proses ekstraksi semakin banyak. Hasil tersebut sesuai dengan Nalinaon *et al.* (2011), meningkatnya konsentrasi asam yang ditambahkan, mengakibatkan jumlah molekul asam dalam larutan tersebut bertambah sehingga kerapatan molekulnya semakin besar.

### 2. Kadar air

Berdasarkan hasil dari analisis ragam dapat diketahui bahwasanya adanya interaksi yang antara konsentrasi asam klorida dan lama waktu ekstraksi. Nilai rata-rata kadar air dapat dilihat pada Tabel 2.

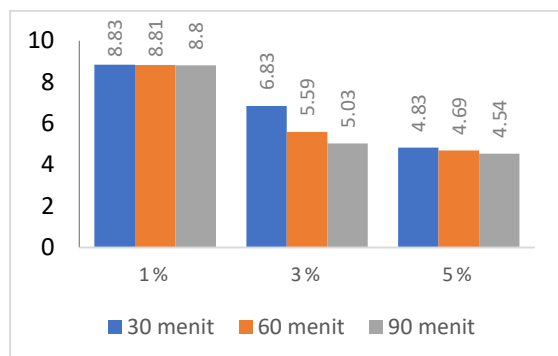
Tabel 2. Nilai kadar air rata-rata

Perlakuan	Total	Rerata
M1R1	17,65	8,83±0,50 <sup>a</sup>
M1R2	17,61	8,81±0,49 <sup>a</sup>
M1R3	17,59	8,80±0,55 <sup>a</sup>
M2R1	13,67	6,83±0,37 <sup>a</sup>
M2R2	11,18	5,59±0,56 <sup>a</sup>
M2R3	10,06	5,03±0,63 <sup>b</sup>
M3R1	9,66	4,83±0,91 <sup>c</sup>
M3R2	9,38	4,69±0,57 <sup>d</sup>
M3R3	9,08	4,54±0,79 <sup>d</sup>

Nilai rata-rata yang didapatkan pada perlakuan di atas berkisar antara 4,54-8,83%. Dimana hasil analisa kadar air diatas, didapatkan nilai kadar air terendah pada per-

lakukan konsentrasi 5% dengan waktu ekstraksi 30 menit dan 60 menit yang memiliki hasil sebesar 4,54% dan yang paling tertinggi pada perlakuan konsentrasi 1% dengan waktu ekstraksi 30 menit sebesar 8,83%. Nilai kadar air di atas memenuhi persyaratan mutu kolagen BSN (2014) yang menyatakan bahwasannya standar mutu kolagen memiliki kadar air maksimum 12%.

Pada penelitian Romadhon *et al.* (2019) didapatkan hasil pengujian kadar air kolagen tulang ikan nila berkisar antara 2,17%-7,25%. Begitu pula dengan penelitian Rahmawati (2020) yang memiliki nilai kadar air dengan rentan 5,00-6,00% dengan hasil terendah menggunakan perlakuan konsentrasi asam klorida sedangkan yang tertinggi menggunakan konsentrasi asam asetat. Grafik hubungan antara perlakuan lama waktu ekstraksi dan konsentrasi asam terhadap kadar air kolagen tulang ikan tuna dapat diamati pada Gambar 3.



Gambar 3. Rerata kadar air kolagen tulang ikan tuna

Dapat di ketahui bahwasannya kadar air semakin menurun saat konsentrasi asam klorida tinggi, meningkatnya konsentrasi asam yang diberikan diikuti dengan meningkatnya ion H<sup>+</sup> yang dihasilkan sehingga hidrolisis kolagen semakin tinggi, hal ini menyebabkan gugus polar bebas yang dihasilkan dan ikatan peptida protein yang banyak sehingga air yang akan diikat juga semakin banyak karena gugus polar bersifat bebas dan ikatan peptida mampu mengikat air. Pengaruh konsentrasi asam juga memberikan pengaruh nyata terhadap kolagen tulang ikan tuna. Ketiga konsentrasi tersebut diberikan pada proses demineralisasi dapat

memecah struktur asam amino yang menyuplai protein pada tulang. Hal ini Menagkitatkan struktur asam amino berubah menjadi sangat lemah, sehingga terjadi suatu proses yang disebut denaturasi. Hal tersebut juga sesuai dengan Lombu *et al.* (2015) yang menyatakan proses denaturasi disebabkan karena perubahan molekul dan jumlah air yang terikat menjadi lebih lemah dan menurun, menyebabkan molekul air mudah lepas sehingga pada saat dilakukan proses pengeringan nilai kadar air kolagen menjadi lebih rendah.

### 3. Kadar abu

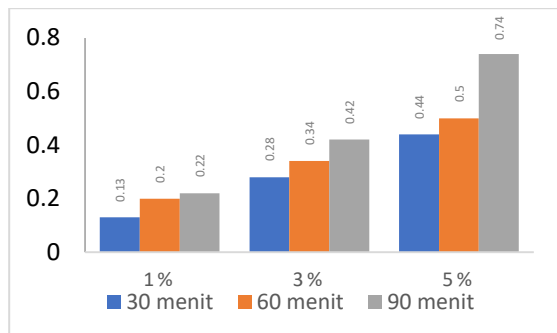
Berdasarkan hasil dari analisis ragam dapat diketahui bahwasannya adanya interaksi yang nyata antara konsentrasi asam klorida dan lama waktu ekstraksi. Nilai rata-rata kadar abu dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai kadar abu rata-rata

Perlakuan	Total	Rerata
M1R1	0,26	0,13±0,01 <sup>a</sup>
M1R2	0,39	0,20±0,04 <sup>a</sup>
M1R3	0,44	0,22±0,03 <sup>b</sup>
M2R1	0,55	0,28±0,04 <sup>b</sup>
M2R2	0,68	0,34±0,01 <sup>c</sup>
M2R3	0,84	0,42±0,03 <sup>d</sup>
M3R1	0,87	0,44±0,06 <sup>d</sup>
M3R2	1,00	0,50±0,07 <sup>e</sup>
M3R3	1,48	0,74±0,07 <sup>f</sup>

Nilai rata yang didapatkan pada analisa kadar abu di atas berkisar antara 0,13-0,74%. Dimana nilai rata-rata tertinggi didapat pada perlakuan 5% dengan lama waktu ekstraksi 60 menit sebesar 0,74%, sedangkan nilai rata-rata terendah didapat pada perlakuan dengan konsentrasi asam klorida 1% dengan lama waktu ekstraksi 30 menit. Nilai rata-rata tersebut sesuai dengan syarat mutu yang ditentukan oleh BSN (2014) yang menyatakan bahwasannya nilai maksimal kadar abu kolagen maksimal 1%. Pada penelitian Rahmawati (2020) didapatkan hasil tertinggi analisa kadar abu kolagen tulang ikan tongkol dengan menggunakan pelarut asam klorida yakni sebesar 0,52% sedangkan yang paling rendah dengan menggunakan pelarut asam sitrat yakni sebesar 0,17%. Grafik hu-

bungan antara perlakuan lama waktu ekstraksi dan konsentrasi asam terhadap kadar air kolagen tulang ikan tuna dapat diamati pada Gambar 4.



Gambar 4. Rerata kadar abu kolagen tulang ikan tuna

Banyaknya mineral yang terikat dapat menyebabkan jumlah kolagen yang terbebas semakin banyak dan menurut Suarno *et al.* (2015) Menyatakan bahwasannya asam klorida merupakan jenis asam anorganik yang mengandung mineral, sehingga ketika proses pengabuan mineral tersebut tidak ikut terbakar sehingga mempengaruhi nilai kadar abu yang ada pada sampel. Pernyataan tersebut juga didukung oleh Sudarmaji dalam Fitria (2017) menyatakan bahwa semakin rendah kadar abu pada bahan maka semakin tinggi kemurniannya. Dan tinggi rendahnya kadar abu suatu bahan dipengaruhi pada saat proses demineralisasi pada proses pembuatan kolagen.

#### 4. Kadar protein

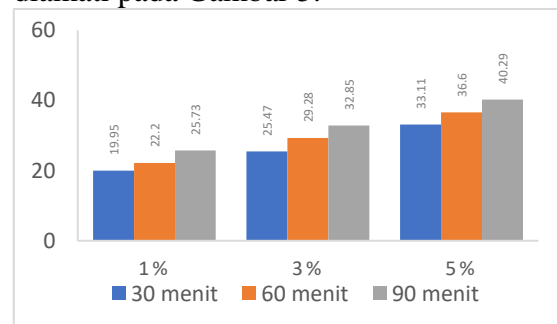
Berdasarkan hasil dari analisis ragam dapat diketahui bahwasannya adanya interaksi yang nyata antara konsentrasi asam klorida dan lama waktu ekstraksi. Nilai rata-rata kadar protein kolagen tulang ikan tuna dengan perlakuan konsentrasi asam klorida dan lama waktu ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai protein rata-rata

Perlakuan	Total	Rerata
M1R1	39,89	19,95±0,08 <sup>a</sup>
M1R2	44,40	22,20±0,03 <sup>b</sup>
M1R3	51,46	25,73±0,02 <sup>c</sup>
M2R1	50,93	25,47±0,04 <sup>d</sup>
M2R2	58,56	29,28±0,02 <sup>e</sup>
M2R3	65,69	32,85±0,05 <sup>f</sup>
M3R1	66,22	33,11±0,06 <sup>g</sup>
M3R2	73,19	36,60±0,13 <sup>h</sup>
M3R3	80,38	40,19±0,06 <sup>i</sup>

Rata-rata kadar protein kolagen tulang ikan tuna berkisar antara 19-40%. Perlakuan dengan nilai rata-rata tertinggi diperoleh pada konsentrasi asam klorida 5% dengan lama waktu ekstraksi 90 menit. Sedangkan perlakuan dengan nilai rata-rata terendah diperoleh pada konsentrasi 1% dengan lama waktu ekstraksi 30 menit.

Pada penelitian Tridar (2016) nilai rata-rata kadar protein kolagen tulang ikan gurame yang tertinggi diperoleh sebanyak 12,3% dengan perlakuan menggunakan enzimatis, sedangkan terendah diperoleh dengan perlakuan menggunakan pelarut kimiawi sebesar 10,03%, penelitian tersebut jauh lebih rendah dibandingkan dengan penelitian Alhan *et al.*(2015) nilai rata-rata kadar protein kolagen tripang tertinggi diperoleh sebesar 40,54% dengan perlakuan yang digunakan ekstraksi Asam Asetat 3%, sedangkan nilai rata-rata terendah diperoleh sebesar 30,3% dengan perlakuan yang digunakan ekstraksi asam asetat 1%. Grafik hubungan antara perlakuan lama waktu ekstraksi dan konsentrasi asam terhadap kadar protein kolagen tulang ikan tuna dapat diamati pada Gambar 5.



Gambar 5. Rerata kadar protein kolagen tulang ikan tuna

Semakin tinggi konsentrasi dan lama waktu ekstraksi menyebabkan kandungan protein semakin tinggi. Hal ini sesuai dengan Setiawati (2009) bahwa banyaknya jumlah kolagen dipengaruhi oleh banyaknya asam yang dapat melarutkan garam kalsium dan menyebabkan kolagen di dalam ossein ikut mengalami peningkatan demikian pula terhadap peningkatan jumlah kolagen yang dihasilkan setelah proses ekstraksi. Hidayat *et al.* (2016) konsentrasi asam yang semakin tinggi, menyebabkan kation asam yang terpe-rangkap dalam ossein semakin banyak, sehingga pH yang terukur semakin rendah dan hidrolisis kolagen akan berlanjut pada proses penguraian polimer kolagen.

## 5. Warna

Nilai rata-rata analisa warna kolagen tulang ikan tuna dengan perlakuan konsentrasi asam klorida dan lama waktu ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Nilai kadar abu rata-rata

Perlakuan	L*	a*	b*
M1R1	87,90±0,07	4,07±0,03	3,16±0,02
M1R2	88,15±0,06	4,06±0,01	2,97±0,10
M1R3	88,30±0,04	4,04±0,01	2,53±0,02
M2R1	81,18±0,04	3,62±0,09	2,28±0,08
M2R2	81,17±0,02	3,41±0,01	2,24±0,01
M2R3	81,06±0,05	3,34±0,06	2,16±0,02
M3R1	74,93±0,02	1,17±0,03	0,36±0,04
M3R2	75,32±0,03	1,08±0,02	0,23±0,02
M3R3	75,31±0,01	1,03±0,02	0,21±0,03

Hasil penelitian ini lebih tinggi apabila dibandingkan dengan penelitian Romadhon *et al.* (2019) pada perlakuan tulang ikan nila dengan ekstraksi asam asetat dengan konsentrasi 5% menghasilkan rerata nilai kecerahan (L\*), kemerahan (a\*), kekuningan(b\*) berturut-turut (76,91), (3,57), dan (5,17). Sedangkan pada penelitian Gunawan *et al.* (2017) pada kolagen kulit ikan tenggiri dengan konsentrasi asam asetat 5% dengan lama waktu ekstraksi 3 jam menghasilkan rerata nilai kecerahan (L\*), kemerahan (a\*), kekuningan(b\*) berturut-turut (70,78), (1,14), dan (19,34).

Perbedaan warna kolagen dipengaruhi oleh banyaknya pigmen yang terdapat pada bahan baku di mana pigmen tersebut dapat dilepaskan selama proses perendaman de-

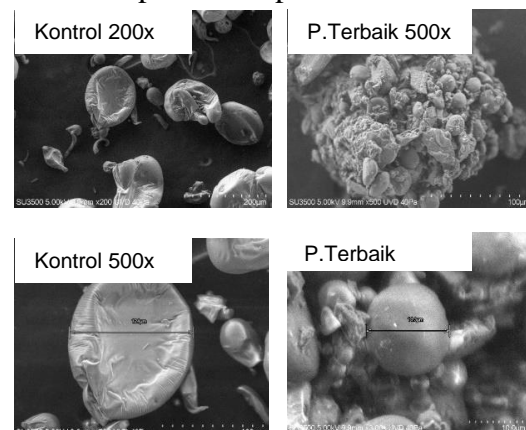
ngan asam/ alkali, pH larutan ekstraksi berpengaruh terhadap kestabilan warna pigmen, asam mampu melarutkan pigmen yang ada pada bahan sehingga semakin tinggi konsentrasi asam dan lama waktu ekstraksi nya maka semakin larut pigmen warna kecerahan yang ada pada bahan sehingga membuat hasil ekstrak kolagen semakin keruh (Alhana & Tarman, 2015).

## 6. Analisa keputusan

Pemilihan perlakuan terbaik dari kolagen tulang ikan tuna dengan parameter konsentrasi Asam Klorida 5% dan lama waktu ekstraksi 90 menit didasarkan pada standar mutu kolagen SNI 8076:2014 dengan parameter utama antara lain kadar air, kadar abu, serta parameter pendukung antara lain kadar protein, analisis warna,. Nilai keseluruhan yang didapat menggunakan metode degarmo. Perlakuan terbaik selanjutnya dilakukan analisis gugus fungsi kolagen dengan menggunakan FT-IR (*Spektrofotometer Fourier Transform Infra Red*) dan Morfologi Kolagen menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscope*).

## 7. Analisis morfologi kolagen

Hasil pengamatan morfologi kolagen menggunakan SEM disajikan pada gambar. Pada analisis morfologi kolagen perlakuan terbaik dari konsentrasi asam 5% dengan lama waktu ekstraksi 90 menit dibandingkan dengan Kontrol atau kolagen ikan yang beredar dipasaran. Analisis morfologi kolagen tulang ikan tuna dibandingkan dengan kontrol dapat dilihat pada Gambar 6.



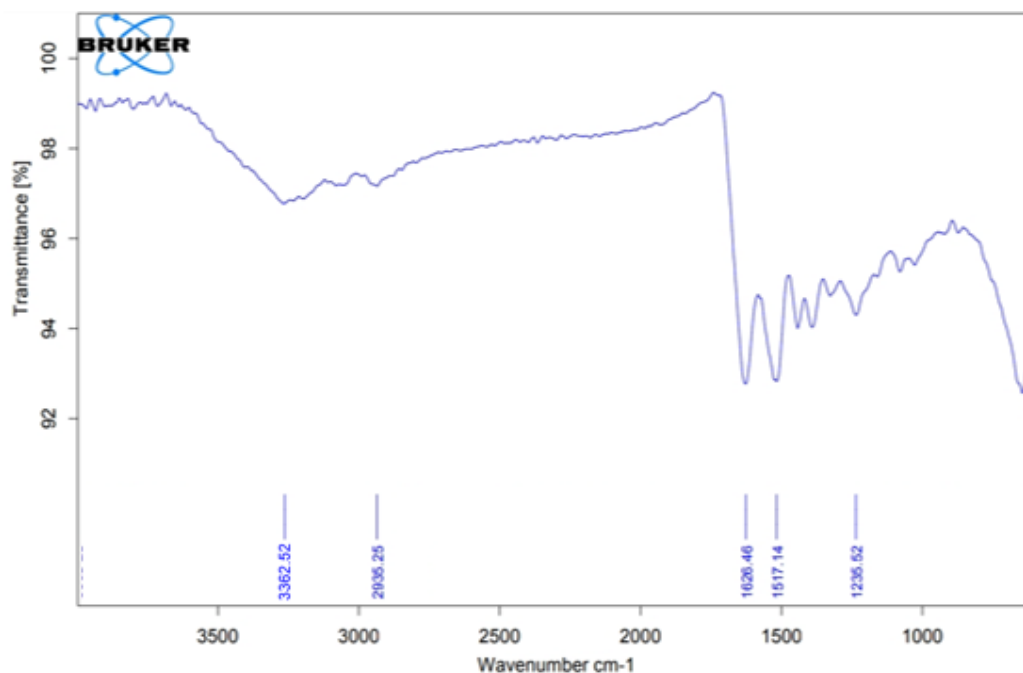
Gambar 6. Morfologi kolagen tulang ikan tuna dan kontrol

Hasil pengukuran partikel yang didapat, pada perlakuan terbaik memiliki panjang 14,5 $\mu$ m sedangkan untuk kontrol memiliki ukuran sebesar 124 $\mu$ m pada Pada gambar tersebut dapat diamati, bentuk partikel yang terlihat seperti bulatan dengan sedikit berpori pada permukaannya. Menurut (Romadhon *et al.*, 2019) Adanya pori yang terlihat pada kolagen tulang ikan tuna juga dapat disebabkan adanya ruang antara serat kolagen. Dapat diketahui kedua kolagen tersebut memiliki serabut-serabut putih pada permukaannya (Astina *et al.*, 2016) menyatakan bahwasanya struktur ini merupakan protein yang mengalami ikatan silang (*crosslink*) dengan protein lain. Ikatan *crosslink* ini akan menyebabkan protein saling berikatan dan membentuk agregat sehingga struktur permukaan pada kolagen memiliki serabut-serabut putih.

## 8. Analisis gugus fungsi kolagen

Analisis gugus fungsi kolagen tulang ikan tuna dilakukan pada perlakuan terbaik yaitu perlakuan asam klorida konsentrasi 5% lama ekstraksi 90 menit. Analisis gugus fungsi kolagen dilakukan dengan menggunakan alat FT-IR (*Spektrofotometer Fourier Transform Infra Red*) dan hasil yang diperoleh berupa grafik serapan gugus fungsi kolagen.

Amida A menunjukkan keberadaan gugus fungsi NH yang dekat dengan keberadaan ikatan hidrogen sehingga muncul pada panjang gelombang 3300-3500  $\text{cm}^{-1}$ . Hasil FTIR pada wilayah serapan tersebut didapatkan puncak serapan Amida A pada kolagen tulang ikan tuna berada di angka 3362,52  $\text{cm}^{-1}$  yang mana menunjukkan Vibrasi *Stretching* NH dari gugus amida yang berikatan dengan ikatan hidrogen dan OH dari hidroksi prolin (Singh, 2011). Hasil pengujian gugus fungsi kolagen dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Analisis FTIR kolagen tulang ikan tuna

Amida B menandakan keberadaan gugus fungsi CH, sehingga muncul pada panjang gelombang 2915-2935, Dimana pada hasil yang diperoleh pada wilayah serapan tersebut didapatkan puncak serapan Amida B

pada kolagen tulang ikan tuna berada di angka 2935,25  $\text{cm}^{-1}$ .

Sementara daerah Amida I menunjukkan adanya gugus C=C yang merupakan struktur sekunder protein, sehingga muncul pada panjang gelombang 1600-1690

(Singh *et al.*, 2011). Pada hasil analisis gugus fungsi kolagen didapatkan nilai puncak serapan berada di angka 1626,46  $\text{cm}^{-1}$ . Daerah Amida II menunjukkan adanya ikatan NH sehingga muncul pada panjang gelombang 1480-1575 $\text{cm}^{-1}$ (Singh *et al.*, 2011). Dimana hasil yang didapatkan pada analisis FTIR kolagen tulang ikan tuna nilai puncak serapan berada pada angka 1517,14  $\text{cm}^{-1}$  dan Amida III menunjukkan adanya ikatan NH pada struktur heliks kolagen (Singh *et al.*, 2011), sehingga muncul pada panjang gelombang 1229-1301  $\text{cm}^{-1}$  dimana hasil yang didapatkan pada analisis FTIR kolagen tulang ikan tuna puncak serapan nya berada pada angka 1235,52 $\text{cm}^{-1}$

### KESIMPULAN

Berdasarkan dari hasil penelitian di atas dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil penelitian diperoleh perlakuan terbaik yang didapatkan pada konsentrasi asam klorida 5% dan lama waktu ekstraksi 90 menit memiliki nilai rendemen sebesar 21,05%, kadar air sebesar 2,69%, kadar abu sebesar 0,27%, nilai pH 7,23, kadar protein sebesar 40,19%, viskositas 3,38cP, dan Warna 75,31.
2. Hasil identifikasi FTIR didapatkan puncak-puncak serapan kolagen Amida A berada pada puncak serapan 3362,52, Amida B berada pada puncak 2935,25, Amida I berada pada puncak serapan 1626,46, Amida II berada pada puncak serapan 1517,14 dan Amida III berada pada puncak serapan 1235,52.

### SARAN

Hal yang perlu dilakukan untuk penelitian lebih lanjut yakni diperlukannya proses pemurnian hasil kolagen menggunakan dialisis membran untuk memisahkan hasil kolagen kering sudah terpisah dengan protein non kolagen lainnya dan untuk mengetahui apakah kolagen sudah layak untuk di konsumsi atau tidak

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dapat dilakukan dengan baik atas bantuan rekan-rekan keluarga maupun teman-teman terdekat saya saat berkuliah di jurusan Teknologi Pangan. Saya juga berterima kasih kepada pembimbing saya ibu Dr., Dra. Jariah, MP. yang selalu memberikan bimbingan dan arahan sehingga penelitian ini dapat terselesaikan.

### DAFTAR PUSTAKA

- Alhana, S.P., & Tarman, K. (2015). Ekstraksi dan karakterisasi kolagen dari daging teripang gamma. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 18(2), 150-161.
- Astiana, I., Nurjanah., , & Tati N. (2016) Karakteristik kolagen larut asam dari kulit ikan ekor kuning. *Jurnal Intitute Pertanian Bogor*, 2(3),44-49
- Badan Standardisasi Nasional. (1995). SNI 06-3735-1995 : *Standar Mutu Kolagen*. Jakarta: Badan Perhitungan Statistik. Retrived from <https://pesta.bsn.go.id/produk/detail/13176-sni80762020>
- Elango, J., Robinson, J., Zhang, J., Bao, B., Ma, N., de Val, J. E. M. S., & Wu, W. (2019). Collagen peptide upregulates osteoclastogenesis from bone marrow mesenchymal stem cells through MAPK-Runx2. *Cells*, 8(5), 446. <https://doi.org/10.3390/cells8050446>.
- Fitria, D.L. (2017). *Pengaruh lama perendaman dalam naoh terhadap produksi gelatin tulang ayam broiler (gallus domesticus)*. [Thesis]. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Havez, J., Lista, A., & Maffozo, M. (2020). Fish collagen extraction, characterization, and applications for biomaterials engineering. *Multidisiplin Digital Publishing Institute*. 12(10), 2230. <https://doi.org/10.3390/polym12102230>
- Hidayat, G., Eko, N.D., & Laras R.(2016). Karakteristik gelatin tulang ikan nila

- dengan hidrolisis menggunakan asam fosfat dan enzim papain. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 19(1), 33.
- International Trade Center. (2016). *Trademap list of supplying markets for a product imported by united states of america*. Washington: ITC. Retrieved from <https://intracen.org/>.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. (2007). Indonesian fisheries statistics index. 2006. Kementerian Kelautan dan Perikanan. Jakarta: KKP.
- Liu, T., Dai, H., Ma, L., Yu, Y., Tang, M., Li, Y., ... & Zhang, Y. (2019). Structure of Hyla rabbit skin gelatin as affected by microwave-assisted extraction. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 1594-1607.
- Lombu, F. V., Agustin, A. T., & Pandey, E. V.. (2015). Pemberian konsentrasi asam asetat pada mutu gelatin kulit ikan tuna. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perairan*, 3(2), 25-28
- Mala, N., M., Hizbullah, H. H., Karnia, E., Kusumaningtyas, E., & Ochiai, Y. (2020). Characterization and antioxidant activity of collagen, gelatin, and the derived peptides from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin. *Marine drugs*, 18(2), 98.
- Rafiee, Z., Jafari, S. M., Alami, M., & Khomeiri, M. (2011). Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from olive leaves; a comparison with maceration. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 21(4), 738-745.
- Rahmawati, R., & Nurjanah, S. (2020). Pengaruh konsentrasi enzim papain terhadap mutu gelatin bubuk dari tulang dan cakar ayam. *Konversi*, 9(12), 39-52. <https://doi.org/10.24853/konversi.9.1.14>
- Ramli, L., Natsir, H., Dali, S., & Danial, S.. (2019). Collagen extraction from bone of *lutjanus sp.* and toxicity assay *Indonesia Chimica Acta*. 15(9), 25. <https://doi.org/10.20956/ica.v12i1.5925>
- Romadhon, R., Darmanto, Y.S., & Kurniasih, R.A. (2019). Karakteristik kolagen dari tulang, kulit, dan sisik ikan nila. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 22(2), 403-410
- Sembiring, T. E. S., Reo, A. R., Onibala, H., Montolalu, R. I., Taher, N., Mentang, F., & Damongilala, L. J. (2020). Ekstraksi kolagen tulang ikan tuna (*thunnus sp*) dengan asam klorida. *Media Teknologi Hasil Perikanan*, 8(3), 107-110. <https://doi.org/10.35800/mthp.8.3.2020.29573>
- Setiawati, I. H. (2009). *Karakterisasi mutu fisika kimia gelatin kulit ikan kakap merah (lutjanus sp) Hasil Proses Perlakuan Asam* [Skripsi]. Bogor: Intitut Pertanian Bogor.
- Singh, P., Benjakul, S., Maqsood, S., & Kishimura, H. (2011). Isolation and characterization of collagen extracted from the skin of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Food Chemistry*, 12(4), 97-105.
- Suwarno, S., Ratnani, R. D., & Hartati, I. (2015). Proses pembuatan gula invert dari sukrosa dengan katalis asam sitrat, asam tartrat, dan asam klorida. *Majalah Ilmiah Momentum*, 11(2), 99 -103
- Thalib, A. (2015). *Efek tepung tulang ikan madidihang (thunnus albacares bonnaterre) terhadap profil kalsium dan fosfor serta gambaran histopatologi pada tikus ovariektomi*. Malang: Universitas Brawijaya
- Tridhar, N.A. (2016). *Perbandingan produksi kolagen dari sisik dan tulang ikan gurami (osphronemus gouramy) secara kimia dan enzimatis*. [Skripsi]. Bandung: Universitas Pasundan
- Ward, A. G. and Courts. (1977.) The science and technology of gelatin. *Academic Press*.
- Zhang, D., Wu, X., Chen, J., & Lin, K. (2018). The development of collagen based composite scaffolds for bone regeneration. *Kaei Chinese Roots Global Impact*. 3(1), 129-138. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2017.08.004>