

IDENTIFIKASI KOLAGEN DARI CANGKANG BULU BABI (*Diadema setosum*) ASAL PERAIRAN PULAU LEMUKUTAN

*Identification of Collagen from Sea Urchin Shells (*Diadema setosum*) from the Waters of Lemukutan Island*

Nora Idiawati¹⁾, Intan Novita¹⁾, Sy. Irwan Nurdiansyah¹⁾, Sukal Minsas¹⁾, Sepridawati Siregar²⁾

¹⁾Ilmu Kelautan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak, 78124, Indonesia

²⁾Jurusan Geologi, Fakultas Teknologi Mineral, Institut Sains dan Teknologi AKPRIND, Yogyakarta, 55222, Indonesia

*korespondensi: nora.idiawati@fmipa.untan.ac.id

Diterima 5 September 2022, Disetujui 24 Oktober 2022

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the yield of collagen from extraction using hydrochloric acid and identification of sea urchin collagen on the yield quality and identification of collagen with FTIR (Fourier Transform Infra Red) absorption functional groups. The results of the analysis of the yield value of collagen extract using hydrochloric acid solvent concentration of 1% was 4.99%, 3% was 7.68%, 5% was 6.26%. Then additional collagen extraction was carried out at the concentration with the best results to identify the quality of the collagen. The identification results in the water content value of 21.31%, ash content of 42.8%, and the results of the FTIR (Fourier Transform Infra Red) wave number for Amide A of 3448.72 cm⁻¹, Amide B of 2924.09 cm⁻¹, Amide I of 1641.42 cm⁻¹, Amide II of 1539.20 cm⁻¹, Amide III of 1228.66 cm⁻¹. The results of identification by FTIR are in accordance with the collagen standard.

Keywords: collagen, FTIR identification, sea urchin shell

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui rendemen kolagen dari ekstraksi menggunakan asam klorida dan identifikasi kolagen cangkang bulu babi terhadap kualitas rendemen yang dihasilkan serta identifikasi kolagen dengan gugus fungsi serapan FTIR (*Fourier Transform Infra Red*). Hasil analisis nilai rendemen ekstrak kolagen yang menggunakan pelarut asam klorida konsentrasi 1 % sebesar 4,99 %, 3 % sebesar 7,68 %, 5 % sebesar 6,26 %. Kemudian dilakukan ekstraksi kolagen tambahan pada konsentrasi dengan hasil terbaik untuk dilakukan identifikasi kualitas kolagen. Identifikasi tersebut mendapatkan hasil nilai kadar air sebesar 21,31 %, kadar abu sebesar 42,8 %, dan hasil bilangan gelombang FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) untuk Amida A sebesar 3448,72 cm⁻¹, Amida B sebesar 2924,09 cm⁻¹, Amida I sebesar 1641,42 cm⁻¹, Amida II sebesar 1539,20 cm⁻¹, Amida III sebesar 1228,66 cm⁻¹. Hasil identifikasi dengan FTIR ini sesuai dengan standar kolagen.

Kata kunci: cangkang bulu babi, identifikasi FTIR, kolagen

PENDAHULUAN

Pulau Lemukutan merupakan salah satu kawasan pesisir yang memiliki keanekaragaman hewan laut yang cukup tinggi. Kelimpahan bulu babi di perairan Pulau Lemukutan tergolong tinggi dan belum

termanfaatkan secara optimal. Bulu babi termasuk dalam anggota Filum *Echinodermata* (dari bahasa Yunani yang artinya kulit berduri). Filum *Echinodermata* terdiri dari beberapa kelas, salah satunya yaitu Kelas *Echinoidea* yang merupakan hewan laut berbentuk bulat dan memiliki duri

pada kulitnya (Hilda, 2012). Bulu babi merupakan hewan nokturnal atau aktif di malam hari, sepanjang siang mereka hanya bersembunyi di celah-celah karang dan akan keluar pada malam hari untuk mencari makanan (Zakaria, 2013). Bulu babi terbagi dalam dua sub kelas berdasarkan bentuk tubuhnya, yaitu bulu babi beraturan (*regular sea urchin*) dan bulu babi tidak beraturan (*irregular sea urchin*) (Laning et al., 2014). Bulu babi dalam kelompok regular memiliki bentuk tubuh hemisfer, membulat di bagian atas dan merata di bagian bawah, juga memiliki duri yang panjang dan kadang warnanya mencolok. Sedangkan kelompok irregular memiliki bentuk tubuh yang memipih (Basir, 2014). Bulu babi (Gambar. 1) marga *Diadema* termasuk kedalam kelompok bulu babi yang mempunyai cangkang beraturan (*regular sea urchin*).



Gambar 1. Bulu Babi (*Diadema setosum*)
(Sumber : Dokumentasi Pribadi)

Kolagen merupakan protein alami yang ada di dalam hewan vertebrata dan invertebrata. Pada hewan vertebrata, kolagen merupakan protein yang terdapat di kulit, tendon, tulang (tulang rawan maupun tulang keras), dan jaringan lainnya. Kolagen pada hewan invertebrata merupakan bahan penyusun dinding tubuh (Huo, 2009).

Kolagen laut baru-baru ini dilaporkan sebagai biomaterial baru untuk kultur sel dan jaringan sebagai alternatif dari kolagen mamalia konvensional, seperti kolagen sapi dan kolagen babi yang keamanan dan kehalalannya perlu diwaspadai. Kolagen yang ada pada *Diadema setosum* merupakan bahan penyusun pada bagian cangkang. Kolagen adalah salah satu kelompok protein yang tidak larut dalam air, yang keberadaannya mencapai 30 % dari

seluruh protein penyusun tubuh pada manusia (Raman dan Gopakumar, 2018).

Jenis asam yang dapat digunakan untuk mengekstraksi kolagen berbeda-beda, seperti dalam penelitian Ananda et al. (2018) perendaman menggunakan larutan basa menghasilkan kolagen yang tidak lebih baik dibanding dengan larutan asam. Jenis asam yang pada umumnya digunakan dalam pembuatan kolagen yaitu asam klorida, asam asetat, asam sitrat, dan asam fosfat. Menurut penelitian Rahmawati (2020), pelarut asam yang optimal dan menghasilkan ekstrak kolagen dengan karakteristik terbaik adalah asam klorida. Berdasarkan pernyataan tersebut, maka permasalahan pada penelitian ini adalah bagaimana hasil dari identifikasi kolagen cangkang bulu babi menggunakan pelarut asam klorida yang ada di perairan Pulau Lemukutan.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan pada Bulan Desember 2021 – April 2022. Sampel cangkang bulu babi (*Diadema setosum*) diambil di perairan Pulau Lemukutan. Ekstraksi sampel dilakukan di Laboratorium Ilmu Kelautan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura. Uji kadar air dan kadar abu dilakukan di Laboratorium pengujian terpadu pusat unggulan teknologi Politeknik Negeri Pontianak. Uji FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) dilakukan di Laboratorium Kimia Terpadu Universitas Hasanuddin Makassar.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah cangkang bulu babi jenis *Diadema setosum* yang diambil dari perairan Pulau Lemukutan, serta pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah Akuades, HCl 37 %, dan NaOH 1N.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah aluminium foil, batang pengaduk, botol vial, cawan porselen, coolbox, desikator, gelas arloji, gelas ukur, indikator pH, kamera bawah air, kertas label, kertas saring, oven analitik, penjepit, pipet tetes,

pisau, sentrifus, serok, tanur, timbangan analitik, dan tisu. Instrumentasi yang digunakan adalah Spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*).

Prosedur Kerja (Modifikasi Rahmawati, 2020)

Proses ekstraksi kolagen cangkang bulu babi dilakukan dengan cara merendam sampel dengan larutan HCl 37 % (1:6 b/v) dengan konsentrasi 3 % selama 72 jam (3 hari). Kolagen yang sudah terekstrak diambil filtratnya kemudian dinetralkan menggunakan NaOH 1N sampai kolagen mengendap. Kolagen yang sudah mengendap disentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 20 menit. Hasil ekstraksi yang diperoleh merupakan kolagen basah yang selanjutnya perlu dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50 °C selama 24 jam agar diperoleh kolagen kering dan dihitung rendemennya.

Ekstraksi Kolagen Proses ekstraksi kolagen dari cangkang bulu babi menggunakan metode maserasi untuk menghindari denaturasi pada protein kolagen. Hasil ekstraksi kolagen ditunjukkan dengan perubahan warna larutan menjadi keruh yang menandakan telah terekstrak kolagen dari cangkang bulu babi oleh pelarut asam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Rendemen

Tabel 1. Hasil rendemen ekstrak kolagen cangkang bulu babi dengan menggunakan variasi konsentrasi HCl

Konsentrasi HCl (%)	Rendemen (%)
1 %	4.99 %
3 %	7.68 %
5 %	6.26 %

Berdasarkan hasil pengujian rendemen yang diperoleh dari penggunaan larutan asam klorida mendapatkan hasil terbaik pada konsentrasi 3 % yaitu sebesar 7.68 % (Tabel 1). Faktor lain yang mempengaruhi perbedaan nilai rendemen di antaranya yaitu perbedaan konsentrasi larutan asam untuk ekstraksi kolagen, bahan baku yang

digunakan, suhu, dan waktu yang dipakai dalam proses ekstraksi (Potaros *et al.*, 2009). Ekstraksi kolagen dengan menggunakan larutan asam dapat menghasilkan rendemen kolagen yang lebih tinggi. Hal ini disebabkan karena enzim mampu memutus ikatan peptida dan ikatan silang pada ujung non heliks kolagen. (Schrieber dan Gareis, 2007).

Kadar Air dan Abu

Tabel 2. Hasil uji kadar air dan abu ekstrak cangkang bulu babi

Jenis Uji	Kadar Kolagen hasil ekstraksi dengan HCl 3%	SNI Kolagen
Kadar Air (%)	21.31	< 12
Kadar Abu (%)	42,8	<1%

Pada penelitian ini menunjukkan nilai kadar air yang sangat tinggi jika dibandingkan dengan syarat mutu kolagen SNI (2014) yaitu <12 % (Tabel 2). Hal ini diduga bahwa terjadinya perubahan wujud sampel dari padatan kering menjadi cair. Perubahan wujud ini disebabkan oleh penyerapan udara dan molekul air di lingkungan yang terjadi pada sampel tersebut atau biasa disebut peristiwa *hygroscopic*.

Pada penelitian ini menunjukkan nilai kadar abu yang sangat tinggi jika dibandingkan dengan syarat mutu kolagen SNI (2014) yaitu <1 %. Kadar abu yang tinggi disebabkan oleh masih banyak kandungan mineral pada sampel dan dapat diminimalisir melalui demineralisasi pada tahap awal ekstraksi (Alhana, 2015). Kolagen kering yang dihasilkan mengandung mineral karena sebelum deproteinisasi tidak dilakukan pemisahan mineral, mineral yang terkandung di dalam kolagen ketika di uji kadar abu tidak akan hilang tetapi ikut menjadi abu sehingga memperbanyak jumlah abu (Astawan dan Aviana, 2002). Untuk penelitian lebih lanjut perlu dilakukan pengeringan dengan dry vacuum terlebih dahulu sebelum ekstraksi kolagen.

Kadar Keasaman dan Kelarutan Kolagen

Kadar keasaman (pH) termasuk kedalam salah satu parameter untuk mengetahui kualitas suatu kolagen, Dengan mengetahui nilai pH kolagen kita dapat mengaplikasikan dengan sesuai baik dalam bidang pangan, kosmetik,

dan kesehatan. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh nilai kadar pH kolagen adalah 7. Adapun nilai pH untuk standar kolagen adalah pada rentang 6.5 – 8 sehingga hasil penelitian kadar pH kolagen cangkang bulu babi sesuai dengan standar nasional Indonesia.

Kolagen diuji kelarutannya menggunakan pelarut dengan rentang pH 1-14, pengujian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat kelarutan kolagen jika dilarutkan pada pH asam, basa, dan netral. Kolagen tertinggi terdapat pada pH yang rendah atau asam.

Tabel 3. Hasil kelarutan ekstrak kolagen cangkang bulu babi

Derajat Keasaman (pH)	Kelarutan (%)
1	99.4 %
7	9.7 %
14	2 %

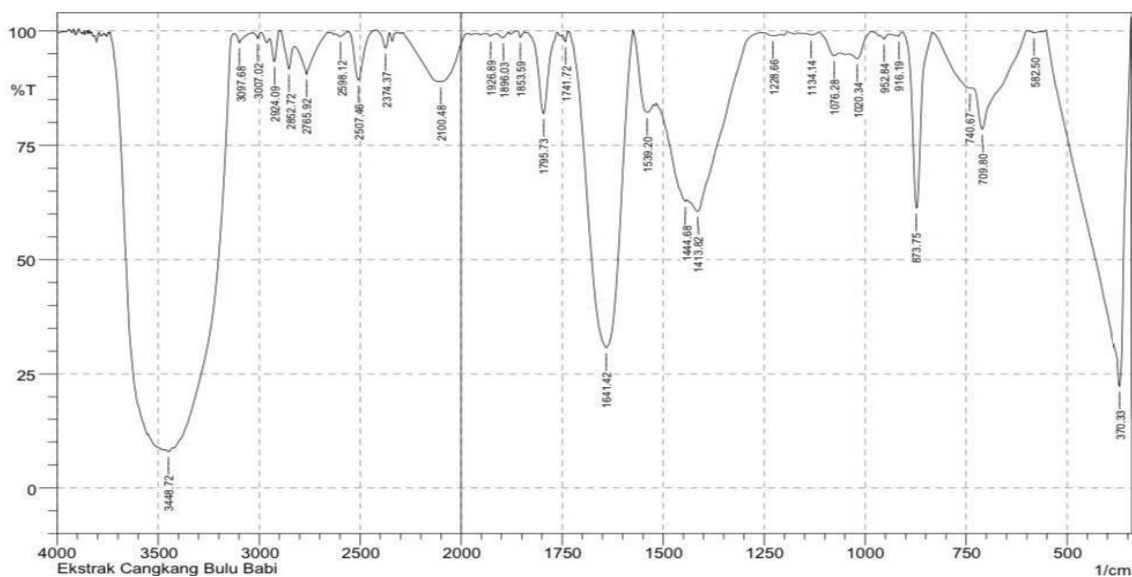
Pada penelitian ini diperoleh nilai kelarutan tertinggi pada pH 1 yaitu sebesar 99,4 % dan kelarutan terendah terjadi pada pH 14 yaitu hanya 2 %. Kolagen memiliki kelarutan tertinggi pada rentang pH 2-5 dan ketika dilarutkan pada pH di atas 5 maka kelarutannya akan menurun. Hal ini terjadi karena pada pH 7-8,6 merupakan titik isoelektrik kolagen, dimana pada titik isoelektrik muatan protein sama dengan 0 (nol)

yang menyebabkan interkasi hidrofobik pada kolagen akan meningkat sehingga akan menyebabkan protein mengendap pada titik isoelektrik tersebut (Matmaroh, 2011).

Berdasarkan spektra FTIR (Tabel. 4 dan Gambar. 2) kolagen cangkang bulu babi puncak serapan pertama yaitu serapan Amida A yang dimiliki kolagen dari cangkang bulu babi terdeteksi pada bilangan gelombang 3448,72 cm^{-1} yang menunjukkan vibrasi stretching NH. Bilangan gelombang normal yang dimiliki Amida A, yaitu 3400 cm^{-1} – 3500 cm^{-1} . Ketika gugus N-H pada peptida dipengaruhi oleh ikatan hidrogen, posisinya akan bergeser ke frekuensi yang lebih rendah (Nagarajan, 2012).

Serapan Amida B yang dimiliki kolagen dari cangkang bulu babi terdeteksi pada bilangan gelombang 2924,09 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus khas kolagen, yaitu Amida B. Coates (2000) menyatakan gugus Amida B dengan wilayah serapan pada bilangan gelombang 2915 cm^{-1} – 2935 cm^{-1} atau 2845 cm^{-1} – 2865 cm^{-1} . Kong & Yu (2007), menyatakan bilangan gelombang yang mengindikasikan serapan amida B terbentuk dari asimetrikal stretching CH2.

Identifikasi Gugus Fungsi Kolagen menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infra Red*)



Gambar 2 Spektra FTIR kolagen cangkang bulu babi

Serapan Amida I yang dimiliki kolagen dari cangkang bulu babi terdeteksi pada bilangan gelombang 1641,42 cm^{-1} yang menunjukkan adanya vibrasi peregangan gugus C=O. Amida I merupakan gugus fungsi khas yang menyusun kolagen. Kong & Yu (2007) menyatakan bahwa Amida I terdeteksi di kisaran bilangan gelombang 1600 cm^{-1} – 1690 cm^{-1} . Muyonga *et al.* (2004), menyatakan bahwa Amida I terdiri dari empat komponen struktur sekunder protein, yaitu α -heliks, β -sheet, β -turn, dan random coil. Berdasarkan hasil bilangan gelombang Amida I pada kolagen cangkang bulu babi menunjukkan bahwa kolagen yang dihasilkan memiliki struktur β -sheet. Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa molekul yang dihasilkan dari proses ekstraksi merupakan kolagen dan belum terdegradasi menjadi bentuk gelatin.

Serapan Amida II yang dimiliki kolagen dari cangkang bulu babi terdeteksi pada bilangan gelombang 1539,20 cm^{-1} . Kong & Yu (2007), menyatakan wilayah serapan Amida II, yaitu pada kisaran 1480 cm^{-1} – 1575 cm^{-1} . Adanya gugus Amida II menunjukkan adanya gugus CN stretching dan NH bending.

Serapan Amida III yang dimiliki kolagen dari cangkang bulu babi terdeteksi pada bilangan gelombang 1228,66 cm^{-1} . Amida III memiliki wilayah serapan 1229 cm^{-1} – 301 cm^{-1} . Wilayah serapan kolagen mengindikasikan adanya gugus fungsi amida III yang menunjukkan CH stretching dan NH bending. Muyonga *et al.* (2004), menyatakan bahwa intensitas Amida III berkaitan dengan adanya struktur triple heliks. Hal ini menunjukkan bahwa ekstraksi kolagen cangkang bulu babi belum mengubah kolagen menjadi gelatin yang ditandai dengan masih adanya struktur triple heliks.

Tabel 4. Karakteristik Gugus Fungsi Kolagen dari Cangkang Bulu Babi Hasil Analisis FTIR

No	Amida	Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Wilayah Serapan (cm^{-1})	Keterangan	Referensi
1.	Amida A	3448,72	3300-3500	Vibrasi <i>stretching</i> NH	Muyonga, Cole, dan Duodu (2004)
2.	Amida B	2924,09	2915-2935	Asimetrimetrikal <i>stretching</i> CH ₂	Coates (2000)
3.	Amida I	1641,42	1600-1690	Vibrasi <i>stretching</i> C=O	Kong dan Yu (2007)
4.	Amida II	1539,20	1480-1575	CN <i>stretching</i> , NH bending	Kong dan Yu (2007)
5.	Amida III	1228,66	1229-1301	CH <i>stretching</i> , NH bending	Kong dan Yu (2007)

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

- Identifikasi kolagen cangkang bulu babi yang menggunakan pelarut HCl 3% menghasilkan rendemen sebesar 7,68%, analisis kadar air menghasilkan nilai sebesar 21,31%, analisis kadar abu menghasilkan nilai sebesar 48,2%, analisis kadar keasaman menghasilkan nilai 7 (netral), dan analisis kelarutan terbaik terjadi pada pH 1 (asam).
- Identifikasi senyawa yang dihasilkan dari analisis menggunakan spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) mengasilkan nilai Amida A 3448,72 cm^{-1} , Amida B 2924,09 cm^{-1} , Amida I 1641,42 cm^{-1} , Amida II 1539,20 cm^{-1} dan amida III 1228,66 cm^{-1} .

DAFTAR PUSTAKA

- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. 2010. Cara Uji Kimia-Bagian 1: Penentuan Kadar Abu Dan Abu Tak Larut Dalam Asam Pada Produk Perikanan. SNI 2354.1:2010. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. 2015. Cara Uji Kimia-Bagian 2: Penentuan Kadar Air Pada Produk Perikanan: SNI 01-2354.2-2015. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- Abu bakar L, Wangi C, Uku J, Ndirangu S. 2012. Antimicrobial Activity Of Various Extracts Of The Sea Urchin *Tripneustes Gratilla* (Echinoidea). *African Journal Of Pharmacology And Therapeutics*. 1(1): 19- 23.

- Alhana, Suptijah P, Tarman K. 2015. Ekstraksi dan karakterisasi kolagen dari daging teripang gamma (*Stichopus variegatus*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 18(2): 150-161.
- Huo, J. dan Zhao, Z. 2009. Study on enzymatic hydrolysis of *Gadus morrhua* skin collagen and molecular weight distribution of hydrolysates. *Agricultural Sciences in China* 8. (6): 723-729.
- Kong, J., dan Yu, S. 2007. Fourier transform infra red spectroscopic analysis of protein secondary structures. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*. 39 (8): 549-559.
- Matmaroh, K., Benjakul, S., Prodpran, T., Encarnacion, A., Kishimura, H. 2011. Characteristics of Acid Soluble Collagen and Pepsin Soluble Collagen from Scale of Spotted Golden Goatfish (*Parupeneus heptacanthus*). *Journal of Food Chemistry*. 129:1179-1186.
- Muyonga JH, Cole CGB, Duodu KG. 2004. Fourier Transform Infra Red (FTIR) Spectroscopic Study of Acid Soluble Collagen and Gelatin From Skins and Bones of Young and Adult Nile Perch (*Lates niloticus*). *The Journal of Food Chemistry*. 86: 325-332.
- Nagarajan, M., Benjakul, S., Prodpran, T., Songtipya, P., & Kishimura, H. (2012). Characteristics and functional properties of gelatin from splendid squid (*Loligo formosana*) skin as affected by extraction temperatures. *Food Hydrocolloids*. 29: 389-397.
- Potaros T, Raksakulthai N, Runglerdkreangkrai J, Worawattanamateekul W. 2009. Characteristics of collagen from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin isolated by two different methods. *Kasetsart Journal-Natural Science*. 43(3): 584-593.
- Puspitawati, N.M., Simpen, N., dan Miwada, IN.S. 2012. Isolasi Gelatin dari Kulit Kaki Ayam Broiler dan Karakterisasi Gugus Fungsinya dengan Spektrofotometri FTIR. *Journal Kimia*. 6(1): 79-87.
- Rahmawati, D. 2020. Pengaruh Variasi Jenis Asam Terhadap Produksi Kolagen Berbahan Dasar Tulang Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*). Skripsi. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Raman, M. dan Gopakumar, K. 2018. Fish Collagen and its Applications in Food and Pharmaceutical Industry. *Ec Nutrition*. 13(12): 752-767.
- Safithri, M., Tarman, K., Suptijah, P., Sagita, SN. 2020. Karakteristik Kolagen Larut Asam Teripang Gama (*Stichopus variegatus*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 23(1): 166-177.
- Schrieber, R., dan Gareis, H. 2007. Gelatine Handbook. Germany: Wiley. Science and Technology of Gelatin. New York (US): Academic Press.