

Bukti Accepted Manuscript tgl. 7/04/2021



AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOLAGEN DARI KULIT IKAN PATIN (*Pangasius sp*) DENGAN ENZIM BROMELIN KASAR KULIT NANAS (*Ananas comosus L.*)

Abstrak

Kulit patin merupakan salah satu hasil samping industri perikanan yang memiliki kandungan senyawa yang dapat berpotensi sebagai sumber alternatif kolagen yang mengandung **aktivitas antioksidan**. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan aktivitas antioksidan yang terkandung dalam kolagen dari kulit ikan patin yang diekstraksi dengan enzim bromelin kasar dari kulit buah Nanas, **sehingga hasil samping industri fillet ikan patin beku dan industri selai Nanas dapat digunakan sebagai bahan baku antioksidan**. Kolagen dibuat dengan menggunakan crude enzim bromelin dari kulit Nanas dengan aktifitas 1,0 U/g dengan beberapa tahapan yaitu pretreatment, deproteinase, degreasing dan ekstraksi, data perlakuan dengan kombinasi **waktu 3 jam, 3,5 jam dan 4 jam** dan konsentrasi *crude* enzim 0 ; 1,5 % ; 2 % dianalisis dengan statistik menggunakan RAL faktorial. Hasil dari pengamatan menunjukkan bahwa kelarutan terbaik didapat pada perlakuan T3E2 yaitu 98,96%, viskositas terbaik yaitu 22,67 cP , derajat keasaman (pH) terbaik pada T1.E2 yaitu 6,73, berat molekul α_1 , α_2 , β dan γ adalah : 131,51 kDa, 110,48 kDa, 202,48 kDa dan 243,93 kDa, aktivitas antioksidan terbaik pada perlakuan T1.E3 yaitu 20,45 ferrous sulfate/g.

Kata Kunci : **Ikan Patin; Crude Enzim Bromelin; Antioksidan**

Aktivitas antioksidan 'Kolagen Dari Kulit Ikan Patin (*Pangasius Sp*) 'Dengan Enzim bromelin Kasar Kulit Nanas (*Ananas Comosus L.*)

Abstract

Pangas catfish skin is one of fishery by-products containing certain compounds which have the potential to be used as an alternative source of collagen having antioxidant activity. The purpose of this study is to determine the antioxidant activity in collagen, so that it can be used as an antioxidant material. Collagen was made using crude bromelain enzyme from pineapple peel with an activity of 1.0 U/g in several stages, which were pretreatment, deproteinization, degreasing, and extraction, using data analysis a combination of 3 hours, 3.5 hours and 4 hours and crude enzyme concentration of 0 ; 1.5% ; 2%. The results of the observations showed that the best solubility was obtained in the T3E2 treatment which was 98.96%. The best viscosity was 22.67 cP. The best acidity (pH) at T1.E2 was 6.73. The molecular weights α_1 , α_2 , β and γ were : 131.51 kDa, 110.48 kDa, 202.48 kDa and 243.93 kDa. The best antioxidant activity was in T1.E3 treatment, which was 20.45 ferrous sulfate/g.

Keywords: Pangas Catfish, Crude Bromelain Enzyme, Antioxidant

PENDAHULUAN

Commented [A1]: Jelaskan aktivitas antioksidan ini dari kolagen kulit ikan patina tau dari bahan lain??

Commented [A2]: Bedakan tujuan dan latar belakang, tujuan hanya menyebutkan tujuan rise tapi tidak perlu diberikan penjelasan lebih lanjut.
Kalimat ini adalah manfaat dari penelitian

Commented [A3]: Treatment ini pada tahap apa?

Commented [A4]: 5 kata kunci misal "antioksidan, bromelin, kolagen, nanas patin,"

Commented [A5]: Judul dalam Bahasa Inggris

Ikan patin (*Pangasius* sp) merupakan komoditas air tawar Indonesia yang produksinya sangat meningkat, ikan patin memiliki beberapa jenis beragam serta, Produksi fillets Ikan patin merupakan produk yang bernilai ekonomis tinggi serta termasuk salah satu komoditas ekspor. Laheng *et al.* (2016), permintaan pasar baik dari pasar domestik dan internasional meningkat pesat terhadap industri fillet ikan patin. Pada tahun 2016, produksi ikan patin mencapai 437111 ton, dan meningkat sangat signifikan dari tahun sebelumnya sebesar 339.069 ton. Pada tahun 2018 produksi ikan patin meningkat mencapai 604 587 ton (KKP 2018). Dari data tersebut menunjukkan bahwa produksi patin meningkat setiap tahunnya. Oleh karena itu, dengan peningkatan produksi juga di ikuti oleh peningkatan hasil samping yang terdiri dari kulit, kepala, tulang dan isi perut. Hasil samping yang dihasilkan dari industri pengolahan cukup signifikan 20-80% tergantung dari total bahan baku. Nilai tambah yang dapat di produksi yang bernilai tinggi antara lain protein, minyak, asam amino, mineral, enzim, peptide bioaktif, gelatin dan kolagen (Gahly *et al.* 2013). Pengolahan patin menjadi produk fillet akan menghasilkan hasil samping berupa kulit sebesar 5,12-6,14 % dari berat ikan (Ema Hastarini, 2012) yang berpotensi untuk dapat dimanfaatkan sebagai kolagen .

Kolagen merupakan salah satu senyawa dari protein fibrious yang ada dalam jaringan ikat dan komponen yang menyusun komponen struktural utama, selain itu juga merupakan komponen bagian tubuh seperti gigi, otot tulang, kuku. Kolagen terdiri dari tiga rantai polipeptida yang merupakan konformasi triple helix (Walters dan Stegemann 2014; Pal *et al.* 2015) dan termasuk kedalam kelompok protein yang larut dalam air. Kolagen yang terdapat dalam terdapat pada gigi, tendon, kulit, kornea mata dan tulang mencapai 25-30% dari total protein hewani (Potaros *et al.* 2009; Sinthusamran *et al.* 2013). Untuk saat ini kolagen komersial banyak yang diproduksi dari babi dan sapi, penelitian banyak dilakukan untuk alternatifnya yaitu hasil samping produksi perikanan, serta dengan penelitian dapat

Commented [A6]: italik

Commented [A7]: perbaiki menjadi kalimat yang baku

Commented [A8]: apa hubungan kalimat ini dengan kalimat sebelumnya?

Commented [A9]: et al. bukan at al.

Commented [A10]: Jangan gunakan kata hubung "pada/ dengan/ dari/ adapun dll" pada awal kalimat, langsung gunakan subjek

Commented [A11]: idem

Commented [A12]: idem

Commented [A13]: dari mana sumber data ini? Jika 80% hasil samping jadi berapa banyak produk utama yang diperoleh, bagaimana menjelaskan data ini???

Commented [A14]: Apa hubungan kalimat ini dengan kalimat sebelumnya

Commented [A15]: Hanya nama belakang yang digunakan serta tanpa tanda koma setelah nama, penempatan sumber pustak ini jangan ditengah-tengah kalimat, letakkan di awal atau akhir kalimat.

Commented [A16]: Perbaiki alinea ini menjadi lebih berurut umum ke khusus atau khusus ke umum.

Commented [A17]: spasi

Commented [A18]: perbaiki kalimat ini

Commented [A19]: idem

meningkatkan baik nilai fungsi atau ekonominya. Aktivitas biologi kolagen dieksplorasi untuk mengetahui manfaat yang penting bagi tubuh.

Commented [A20]: perbaiki menjadi kalimat yang baku

Aktivitas biologis kolagen dapat dimanfaatkan di bidang kesehatan. Murray dan Fitzgerald (2007) aktivitas biologis Protein dalam bentuk kompleks polipeptida rendah dan untuk meningkatkan aktivitas biologisnya dapat melalui proses hidrolisis oleh enzim sehingga protein kompleks dapat terlepas dari ikatan fragmennya. Wu *et al.* (2018) melaporkan bahwa aktivitas antioksidan dan *antifreezing* terdeteksi pada hidrolisat kolagen yang di ekstraksi dari ikan salmon. Sedangkan ,Ahmed dan Chun (2018) melaporkan, dalam hidrolisat kolagen kulit ikan tuna ditemukan adanya aktivitas antioksidan dan antimikroba.

Commented [A21]: perjelas maksud kalimat ini sebelum diperkuat dengan literatur.

Commented [A22]: Perbaiki penggunaan kata hubung dan jangan menghilangkan maksud kalimat utama dan anak kalimatnya.

Radikal bebas yang berasal dari pangan serta **lingkungan** yang dapat menyebabkan stres oksidatif pada tingkat sel dan apabila terjadi secara kontinu maka akan menyebabkan rusaknya sistem metabolisme yang berujung penyakit degradatif. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat untuk menghambat laju dari reaksi oksidasi (Valko *et al.* 2007). Hidrolisat protein telah diketahui mengandung aktivitas antioksidan dengan mekanisme donor atom hidrogen sehingga dapat menangkal laju oksidasi (Mendis *et al.* 2005).

Sejumlah penelitian telah dilakukan terkait dengan pemanfaatan hasil samping produksi perikanan dengan cara ekstraksi kolagen, diantaranya kolagen dari kulit ikan Pollock (Sun *et al.* 2016), gelembung renang ikan patin (Simamora *et al.* 2019), dan hasil samping mata tuna (*Thunnus* sp.). Prastyo, (2020) meaporkan bahwa aktifitas antioksidan dari hidrolisat kolagen kulit ikan nila mencapai IC₅₀ sebesar 93,32µg/mL.

Commented [A23]: Tanpa tanda koma setelah nama

Penelitian lebih lanjut untuk sediaan bioaktif perlu dilakukan dari hasil samping produksi perikanan.

Commented [A24]: Kalimat ini bukan menjadi dasar penelitian kolagen dan antioksidan

Jumlah dari hasil samping produksi perikanan yang melimpah, perlu adanya penanganan yang optimal untuk meningkatkan nilai ekonomi serta nilai fungsi dari suatu komoditi. Selain itu diketahui bahwa sediaan obat dari bahan alami lebih sedikit efek

samping dibandingkan dengan sediaan obat yang disintesis secara kimiawi. Penelitian ini bertujuan adalah untuk menentukan aktivitas antioksidan yang terkandung dalam kolagen dari kulit ikan patin yang diekstraksi dengan enzim bromelin kasar dari kulit buah Nanas, sehingga hasil samping industri fillet ikan patin beku dan industri selai Nanas dapat digunakan sebagai bahan baku antioksidan.

Commented [A25]: perbaiki

Commented [A26]: Tujuan ini belum tergambar dengan jelas pada latar belakang yang dibuat

Commented [A27]: Belum ada penjelasan mengapa harus menggunakan ekstrak bromelin untuk membuat kolagen patin, apa kelebihanannya dll. Penjelasan pentingnya waktu dan konsentrasi enzim juga belum ada. Serta hubungan dengan aktivitas antioksidan apa.

Commented [A28]: Buat latar belakang menjadi lebih berurutan sehingga tidak melompat antar tema/inti kalimat

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan baku utama yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah kulit ikan patin yang diperoleh dari perusahaan PT.Sumatera Food industri lampung, bahan kimia yang digunakan adalah :crude enzim bromelin 1,0 U/g, NaOH (Merk, Germany), CH_3COOH (Merk, Germany), Aquades dan bahan analisa lainnya. sedangkan alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Kain saring 500 mesh, gelas ukur (pyrex), neraca digital Satorius (ketelitian 0,001 g), sentrifuge (5810 R Made In Germany,), magnetic stirrer dengan hotplate, pH meter (Ionix, PH5S) *Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) (Rayleigh - UV1800 V/VIS - Spectrophotometer by Beijing Beifen-RuilisAnalytical Instruments(Group) Co. Ltd. (BFRL)), Rion Viscotester VT – 04F (Rion, Ltd. China),*

Commented [A29]: Perbaiki penulisan rumus kimia

Commented [A30]: Gunakan angka bukan hurup

Commented [A31]: italik

Commented [A32]: alat ini tidak digunakan pada uji parameter yang ada.

Metode Penelitian

Penelitian ini diawali dengan proses preparasi bahan baku dan karakteristik kulit ikan patin berupa analisis kimia komposisi proksimat, pretreatment menggunakan NaOH; degreasing dengan CH_3COOH dan Ekstraksi dengan menggunakan crude enzim bromelin

Commented [A33]: idem

Commented [A34]: jabarkan tahapan kegiatan yang dilakukan mulai dari preparasi, karakterisasi kulit, ekstraksi model rancangan perlakuan hingga pengujian sebagai metode yang digunakan.

Subbab berikutnya baru berisi tentang metode-metode yang digunakan untuk ekstraksi, dan pengujian

Commented [A35]: Tanpa koma setelah nama

Commented [A36]: Tanpa koma setelah nama

Commented [A37]: perbaiki

Preparasi Dan Ekstraksi Kulit Ikan Patin (Suptijah, 2018, Hadfi et al 2019, Baehaki, 2016, Hartina et al 2019)

Kulit ikan patin yang diperoleh dari industri pengolahan fillet dengan ukuran ikan patin ± 1 kg/ekor dikirimkan ke laboratorium yang dikemas dalam sterofoam agar kualitas

Pengujian kelarutan kolagen dengan cara sample sebrat 0,5 g dan dilarutkan kedalam aquades 5 ml hingga homogen pada suhu ruang. Kemudian sampel di sentrifugasi pada kecepatan 4500 gx suhu 22°C selama 30 menit. Endapan yang dihasilkan pisahkan dan dikeringkan dalam oven 130°Cs selama 20 menit kemudian ditimbang. Untuk menghitung kadar kelaurtan dapat menggunakan rumus :

$$\text{Ketidaklarutan (\%)} = \frac{\text{Berat Akhir}}{\text{Berat Awal}} \times 100$$

$$\text{Kelarutan (\%)} = 100 - \text{ketidaklarutan}$$

Viskositas

Pengukuran viskositas berdasarkan modifikasi (Ahmad dan Benjakul, 2010), diukur dengan menggunakan *Viscometer Brookfield*. Kolagen dilarutkan dengan menggunakan asam asetat 0,1 M dengan kosentrasi 0,3% (b/v). Larutan diukur dengan menggunakan spinder no 1 dan kecepatan 60 rpm.

pH (AOAC 2005)

Kolagen kering diambilkan sebanyak 1 g dilarutkan dengan akuades 20 ml, pH diukur dengan menggunakan alat pH meter digital. Elektroda pada pH meter dicelupkan kedalam sampel dan pada proyektor pH meter akan diperoleh angka yang stabil.

Berat Molekul (Astina 2016)

Pengujian berat molekul diperlukan sebanyak 2 mg sampel kering kemudian dilarutkan kedalam *Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS) 5% sebanyak 1 ml, kemudian inkubasi dengan menggunakan *waterbath* agar dapat terkontrol selama 1 jam pada suhu 85 °C agar suhunya. Campuran selanjutnya di masukkan dalam sentrifugasi pada pada suhu kamar 4,000 x g selama 5 menit. Supernatan yang didapat dicampur dengan bufer (TrisHCl 60 mM, pH 6.8 mengandung 2% SDS dan 25% gliserol) dengan rasio 1:1 (v/v) dan mengandung 10% β-merkptoetanol (β ME). Kemudian Campuran tersebut dipanaskan dalam air mendidih selama 2 menit. Sampel sebanyak 5 µL dimasukkan ke dalam *gel polyacrylamide* yang

Commented [A51]: perbaiki

Commented [A52]: spasi

Commented [A53]: mL

Commented [A54]: sampel

Commented [A55]: x g

Commented [A56]: idem

Commented [A57]: perbaiki

Commented [A58]: Viskositas bukan vikositas

Commented [A59]: Viskositas bukan vikositas

Commented [A60]: Tanpa koma setelahh nama

Commented [A61]: perbaiki

Commented [A62]: perbaiki

Commented [A63]: mL

Commented [A64]: spasi untuk kata penunjuk arah

Commented [A65]: mL

Commented [A66]: gunakan symbol derajat bukan angka 0

terdiri dari 3% *stacking* dan *gel 7.5% running gel* dan dielektroforesis pada arus konstan 15 mA/gel selama 3 jam. Setelah elektroforesis selesai, gel *distaining* dengan 0.05% (b/v) *coomassie blue* R-250 dalam metanol 15% (v/v) dan asam asetat 5% (v/v) selama 3 jam, kemudian sampel *destaining* dengan campuran 30% (v/v) metanol dan 10% (v/v) asam asetat selama 2 jam. Berat molekul protein sampel diperkirakan berdasarkan berat molekul marker. Marker yang digunakan adalah *Pre-stained Protein Markers (Broad Range) for SDS-PAGE* dari Nacalai Tesque dengan berat molekul 10 kDa sampai 260 kDa.

Antioksidan FRAP (Deachanty 2017)

Pengujian aktivitas antioksidan kolagen ikan patin ekstraksi dengan crude enzim bromelin dengan metode **FRAP** metode Kumar *et al.* (2014) yang telah dimodifikasi.

Preparasi reagen FRAP dilakukan dengan cara buffer asetat 300 mM pH 3,6 (8 mL CH₃COONa dan 92 mL CH₃COOH), dan 10 mM larutan TPTZ (2,4,6-tripyridyl-striazine) dalam 40mM HCl dan FeCl₃. Pengukuran absorbansi menggunakan 400 µL sampel dan 2600 µL reagen FRAP. sampel dan reagen FRAP dimasukkan kedalam tabung kemudian di vorteks agar homogen, kemudian diinkubasi menggunakan *waterbath* agar terkontrol dengan suhu 37°C selama 30 menit. Pengukuran absorbansi dilakukan di panjang gelombang 595 nm.

Untuk kurva standar dalam metode ini digunakan larutan Ferrous sulfat dengan beberapa konsentrasi.

Analisis Data

Proses perendaman dalam larutan NaOH dan **CH₃COOH** menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan konsentrasi **0,05** dengan waktu selama 12 jam dan dengan pergantian larutan dilakukan setiap 2 jam dan **CH₃COOH** dengan variasi konsentrasi 0,05;0,1;0,1 M dengan waktu perendaman 1.5 jam. **Dengan** pengulangan sebanyak 3 kali ulangan. Data yang didapat akan di analisis menggunakan Analisis ragam (ANOVA) dan

Commented [A67]: sebutkan kepanjangan dari FRAP

Commented [A68]: idem

Commented [A69]: perbaiki penulisan

Commented [A70]: satuan apa?

Commented [A71]: Perbaiki penulisan

Commented [A72]: Jangan gunakan kata hubung pada awal kalimat

apabila ada perbedaan nyata maka akan dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kelartan

Kelartan dari kolagen penelitian ini yaitu berkisa 98,96% pada perlakuan T3.E2.

Hasil Analisis Varian menunjukkan bahwa Faktor T tidak berpengaruh nyata (0,138) ($P>0,01$) dan Faktor E Tidak berpengaruh nyata ($P>0,01$) terhadap kelartan. Terdapat interaksi yang sangat nyata ($P<0,01$) antara faktor T dengan E terhadap kelartan. Kasil kelartan dari kolagen yang diekstrak dengan mencapai 91,36%. Hasil kelartan kolagen yang baik akan sangat mempermudah pengaplikasiannya (Pertwi, 2016).

Vikostas

Nilai viskositas dari ekstraksi kolagen kulit ikan patin dengan crude enzim bromelin yaitu 22,67 cP pada suhu ruang, nilai yang dihasilkan kecil jika dibandingkan dengan hasil penelitian dari Ahmad dan Benjakul (2010) yaitu kolagen PSC dari tuna sirip kuning dengan nilai viskositas 21 cP, tuna albakor 22,8 cP. Viskositas akan turun apabila suhu dinaikkan menjadi 32°C, ini dikarenakan oleh ikatan hidrogen yang berperan untuk menjaga kestabilan struktur kolagen telah rusak.

Derajat Keasaman (pH)

Tarestani et al (2012), nilai derajat keasamaan dari kolagen berkaitan dengan kelartan. Hasil pH berdasarkan Analisis Varian menunjukkan bahwa Faktor T tidak berpengaruh nyata (0,394) ($P>0,05$) dan Faktor E sangat berpengaruh nyata ($P<0,01$) terhadap pH. Faktor T dengan E memiliki interaksi yang sangat nyata ($P<0,01$) terhadap pH. Dari hasil uji DMRT Tidak ada perbedaan nyata antara perlakuan T1, T2 dan T3 akan tetapi Terdapat

Commented [A73]: Uraikan isi bab hasil dan pembahasan sesuai tahapan atau metodologi yang digunakan. Hasil dari preparasi dan karakterisasi (proksimat) kulit ikan patin belum ada.

Commented [A74]: Sampaikan semua data hasil penelitian disertai dengan standar error analisis datanya dalam bentuk grafik atau tabel. Sertakan juga symbol hasil uji lanjut Duncan untuk perlakuan yang dibuat

Commented [A75]: Jelaskan factor T tersebut apa, jangan membuat istilah yang tidak ada penjabaran sebelumnya.

Commented [A76]: Jelaskan dengan menyampaikan data yang ada jangan hanya asumsi karena pembaca tidak melihat bukti dari tulisan ini jika data tidak ada

Commented [A77]: Apa maksud kalimat ini?? Perbaiki sesuai ejaan yang baku.

Commented [A78]: Bagaimana bentuk kelartan yang dikatakan baik??

Commented [A79]: Tanpa tanda koma setelah nama

Commented [A80]: Viskositas bukan vikostas

Commented [A81]: Viskositas

Commented [A82]: Nilai kelartan ini pada perlakuan apa? Apakah yang terbaik atau hanya yang tertinggi saja?

Commented [A83]: Mana hasil analisis varian yang dilakukan

Commented [A84]: Sampaikan semua data hasil pengujian dalam bentuk grafik atau tabel disertai standar error dan symbol uji lanjut Duncan yang digunakan

Commented [A85]: Apa kepanjangan PSC?

Commented [A86]: Apa keterkaitan informasi ini dengan nilai viskositas yang dihasilkan dari penelitian? Apakah dalam proses uji atau penanganan kolagen diberikan perlakuan menaikkan suhu?? Pada suhu berapa uji viskositas dilakukan? Apakah pada suhu 32 °C

Commented [A87]: Italic dan diberi tanda titik setelah al.

Commented [A88]: Perbaiki struktur kalimat menjadi kalimat baku

Commented [A89]: perbaiki

Commented [A90]: jangan gubakan kata hubung diawal kalimat

Commented [A91R90]:

perbedaan nyata pada perlakuan E1 terhadap E2. terdapat perbedaan nyata antara perlakuan E1 dan E3. serta berbeda nyata antara perlakuan E2 dan E3.

Nilai pH terbaik yang diperoleh dari hasil ekstraksi kolagen dari kulit ikan patin dengan crude enzim bromelin dari kulit Nanas yaitu pada T1.E2 6,73, hasil ini sesuai jika dilihat dari syarat mutu kolagen SNI 8076:2014 yaitu 6,5-8. Nilai tersebut tinggi jika dibandingkan dengan kolagen oleh peng^{et al.} (2004) yaitu berkisar antara 3,8-4,7.

Terdapat perbedaan nilai derajat keasaman (pH) kolagen dapat dikarenakan adanya jenis dan konsentrasi larutan berbeda yang ditambahkan baik asam atau basa serta proses untuk penetralan. Nilai pH rendah juga dapat diakibatkan oleh kandungan asam asetat yang masih tersisa sehingga konsentrasi ion hidrogen yang lebih tinggi (Lower, 2013), dan nilai pH yang juga juga disebabkan oleh nilai pH yang rendah dari asam asetat yang digunakan yaitu 2,3 (Skierka dan Sadowska, 2007). di ^{karena} adanya proses hidro-ekstraksi sebelum proses ekstraksi dengan crude enzim bromelin.

Berat Molekul

Hasil SDS- Page dari kolagen kulit ikan patin yang di ekstraksi dengan menggunakan crude enzim bromelin dapat di lihat pada *Figure 1*. Berat molekul kulit ikan patin menggunakan ekstraksi crude enzim bromelin 1,0 U/g memiliki struktur yang identik dengan α_1 dan α_2 . rantai α menunjukkan bahwa kolagen kulit ikan patin termasuk kolagen tipe I. Hasil SDS-Page kalogen kulit ikan patin yang diekstrak dengan crude enzim bromelin dapat dilihat pada *Figure 1*.

Commented [A92]: perbaiki kalimat menjadi lebih mudah dipahami dan baku, symbol-simbol tersebut tidak disertai angka yang menunjukkan perbedaannya.

Commented [A93]: Sampaikan data hasil pengujian pH keseluruhan perlakuan dalam bentuk grafik atau tabel yang disertai standar error dan symbol hasil uji Duncan

Commented [A94]: Dimulai huruf besar

Commented [A95]: Italic dan diberi tanda titik setelah al.

Commented [A96]: Tanpa tanda koma setelah nama

Commented [A97]: Perbaiki kalimat ini menjadi lebih baku

Commented [A98]: Tanpa tanda koma setelah nama

Commented [A99]: Perbaiki cara membuat kalimat yang baik

Commented [A100]: perbaiki

Commented [A101]: perbaiki

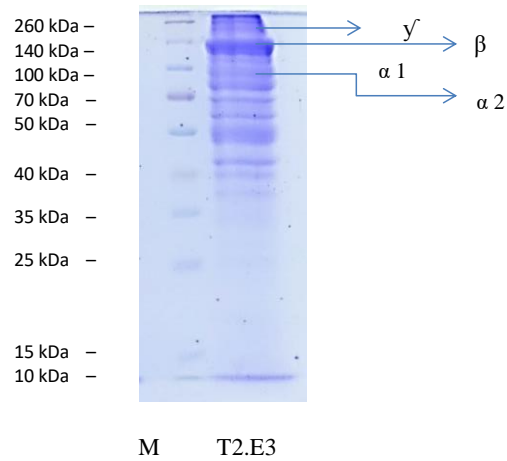


Figure 1. SDS-Page of catfish skin (M) marker, time of 4 hours and concentration of 2% (T2.E3) Collagen extraction with crude bromelain enzyme

Commented [A102]: kode ini tidak sama dengan kode pada SDS-PAGE

Commented [A103]: perbaiki

Table 1. Weight of Collagen Crude Molecules of Bromelain Enzymes and several types of fish

Commented [A104]: perbaiki judul tabel ini sesuai Bahasa Inggris yang baik

Sumber Kolagen	α^1 (kDa)	α^2 (kDa)	β (kDa)	γ (kDa)
Skin of Catfish (BrSC)	131,51	110,48	202,48	243,92
Skin of Catfish (Pangasianodon hypothalmus) ¹	>116	116	220	>220
Redbelly Yellowtail Fusilier Fish Skin (ASC)	122	112	186-203	251
Redbelly Yellowtail Fusilier Fish Skin (PaSC) ²				
Fish Skin <i>Siganus fuscescens</i> , <i>Kyphosus bigibbus</i> , <i>Myliobatis tobijei</i> , <i>Dasyatis akajei</i> , <i>Dasyatis Laevigata</i> ³	120	112-114		

Commented [A105]: gunakan upper untuk symbol rujukan

Commented [A106]: gunakan upper untuk sumber rujukan

Commented [A107]: gunakan upper

Commented [A108]: italik

¹Singh *et al.* (2011), ² Astiana *et al.* (2016) ³ Bae *et al.* (2008)

Kolagen yang di ekstraksi dari kulit ikan memiliki struktur identik dengan $\alpha 1$ dan $\alpha 2$ yang termasuk dalam golongan kolagen tipe I. (Ogawa *et al.* 2004) , kolagen tipe I mengandung 3 rantai polipeptida dengan masing-masing berat molekul 94 kDa dan banyak ditemukan pada jaringan ikat dan bagian tendon . Shoulder & Raines (2009) Polipeptida tersebut adalah rantai α dengan struktur heliks yang melingkari rantai lainnya membentuk untaian tali. Gelse *et al.* (2003), kolagen tipe I mempunyai Struktur *triple helix* terbentuk atas heterotrimer dari dua rantai $\alpha 1$ dan satu rantai $\alpha 2$. Struktur β (*α chain dimers*) dan γ (*α chain trimers*) menunjukkan adanya ikatan silang kovalen pada molekul kolagen (Chi *et al.* 2014).

Kolagen dari kulit ikan patin yang diekstraksi menggunakan crude enzim bromelin dari kulit nanas memiliki struktur kolagen tipe I yang mengandung struktur identik $\alpha 1$, $\alpha 2$, β , dan γ .

Kolagen kulit ikan patin Crude Enzim Bromelin mempunyai Berat molekul $\alpha 1$, $\alpha 2$, β , dan γ ini terlihat bahwa setara dengan kolagen yang sumber bahan baku sama dari penelitian (Singh *et al.* 2011) dan beberapa ikan laut (Bae *et al.* 2008) (Tabel 1). Dari hasil berat molekul tersebut terlihat bahwa kolagen yang diekstraksi dengan crude enzim bromelin belum berubah menjadi produk turunan kolagen yaitu gelatin. Karim dan Bhat (2009) Berat molekul dari gelatin lebih rendah dari kolagen yaitu dari 80-250 kDa. Hermanto *et al.* (2013) juga menyampaikan bahwa gelatin babi mempunyai berat molekul sebesar 28.6 kDa - 36.2 kDa.

Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan kolagen yang di ekstrak kulit ikan patin di tentukan dengan menggunakan metode FRAP. Hasil pengamatan aktifitas antioksidan pada kolagen menunjukkan nilai tertinggi pada perlakuan T1,E3 memiliki nilai yaitu 20,45 ferrous sulfate/g, dan pada perlakuan T2.E3 dengan nilai 16,30 μ mol ferrous sulfate/g dan pada

Commented [A109]: sebutkan juga berapa berat molekul yang dihasilkan dari penelitian yang dilakukan. Jelaskan juga mengapa hanya perlakuan T2E3 yang diukur BM nya

Commented [A110]: Tidak menggunakan simbol

Commented [A111]: Perbaiki cara pengutipan, kalimat ini tidak jelas maksudnya polipeptida yang dimaksud apa?

Commented [A112]: Bagaimana menjabarkan klaim ini jika rentang BM rujukan yang digunakan pada Tabel 1 luas dan BM pada hasil SDS-PAGE justru pada kisaran 140 kDa yang dominan.

Commented [A113]: Sebutkan BM kolagen yang diperoleh

Commented [A114]: Jangan gunakan kata hubung pada awal kalimat

Commented [A115]: Bagaimana membuktikan klaim ini???

Commented [A116]: perbaiki

perlakuan T3.E3 yaitu 15,08 μmol ferrous sulfate/g dan nilai terendah yaitu pada perlakuan T2.E2 yaitu 7,00 μmol ferrous sulfate /g dan sangat berbeda nyata dengan perlakuan kontrol tanpa penambahan crude enzim bromelin yaitu 4,52 μmol ferrous sulfate /g. Metode pengujian dengan FRAP adalah untuk menentukan aktifitas antioksidan yaitu dengan mengukur antioksidan dalam mereduksi Fe^{3+} yang kompleks $[\text{Fe}^{3+}]$ -TPTZ menjadi Fe^{2+} - TPTZ dengan cara mendonorkan elektronnya.

Sejumlah penelitian kolagen yang di ekstraksi dari ikan memiliki stabilitas antioksidan seperti hidrolisat kolagen dari kulit Pollack yang diekstraksi secara alcalase (Sun *et al.* 2016). aktifitas antioksidan juga telah dilaporkan dengan pengujian DPPH terhadap hidrolisat kolagen yang di ekstrak dengan enzim papain dari kulit dan tulang ikan patin dengan aktivitas antioksidan dari tulang ikan sebesar 71,55% dan dari kulit ikan 63,06% (Ace Baehaki 2015).

Jumlah asam amino hidrofobik yang tinggi dalam urutan peptida, terutama jenis Gly dan Pro berkontribusi secara signifikan dalam aktifitas antioksidan karena secara tepat bereaksi oleh hidrofobik. Oleh karena itu, kolagen dari kulit ikan yang dihasilkan mengandung elektron peptida yang dapat bereaksi dengan radikal bebas untuk mengubahnya dan dapat digunakan sebagai bahan tambahan dan makanan fungsional dan obat-obatan sebagai sumber alternatif antioksidan alami.

Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah: Kolagen yang di ekstraksi dengan menggunakan crude enzim bromelin kulit Nanas menghasilkan Aktivitas antioksidan terbaik pada perlakuan T1.E3 yaitu 20,45 ferrous sulfate/g, pH yang sesuai dengan SNI 8740:2014 yaitu pada perlakuan T1E2 6,73, Viskositas 22,67 cP pada suhu ruang, tingkat kelarutan kolagen dalam aquades terbaik pada perlakuan T3E2 98,96% dan Berat molekul dari kolagen ekstraksi crude enzim bromelin di katagori kan Tipe I dengan berat molekulnya $\alpha 1$, $\alpha 2$, β dan

Commented [A117]: sajikan data hasil pengujian antioksidan secara keseluruhan dalam bentuk tabel atau grafik yang disertai standar error dan simbol hasil uji Duncan.

Commented [A118]: perbaiki

Commented [A119]: perbaiki

Commented [A120]: perbaiki

Commented [A121]: hanya nama belakang yang digunakan dan tanpa tanda koma

Commented [A122]: jangan langsung gunakan singkatan sebelum ada disebutkan kepanjangannya.

Commented [A123]: aktivitas

Commented [A124]: perbaiki maksud kalimat ini

Commented [A125]: perbaiki

Commented [A126]: perjelas kiam ini maksudnya seperti apa terhadap nilai antioksidan hasil penelitian yang dihasilkan

Commented [A127]: perbaiki

y adalah : 131,51 kda, 110,48 kda, 202,48 kda dan 243,93 kda dengan nilai tersebut dapat dikatakan bahwa ekstraksi dapat di ekstraksi dengan crude enzim bromelin kulit Nanas

Commented [A128]: data yang disampaikan hanya hasil penelitian bukan dari rujukan literature.

Commented [A129]: kesimpulan menjawab tujuan. Sampaikan hasil terbaik penentuan antioksidan hasil penelitian saja

DAFTAR PUSTAKA

[KKP] Kementerian Kelautan dan Perikanan, [. (2018). *Produktivitas Perikanan Indonesia Pusat Data Statistika dan Informasi Kementerian Kelautan dan Perikanan Tahun 2018*. Jakarta: (ID) Kementerian Kelautan dan Perikanan.

Ace Baehaki Rodiana Nopianti, S. A. (2015). Antioxidant activity of skin and bone collagen hydrolyzed from striped catfish (*Pangasius pangasius*) with papain enzyme. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(11): 131-135.

Ace Baehaki, S. D. (2016). Collagen Hydrolysis from skin and bone of *Pangasius catfish* Prepared by Bromelain Enzyme and Antioxidant Activity of Hydrolysate. *Der Pharma Chemica*, 8 (4):155-158.

Ahmed R, C. B. (2018). Subcritical water hydrolysis for the production of bioactive peptides from tuna skin collagen. *The Journal of Supercritical Fluids*, 141 (1) : 1-35.

Analytical, [. A. (2005). *Official methods of analysis of the association of official analytical chemist*. Arlington Virginia USA: The association of Official ANalytical Chemidt, Inc. (Tidak Ada pada rujukan di tubuh tulisan)

Deny Tri Prastyo, W. T. (2020). Aktivitas Antioksidan Hidrolisat Kolagen Kulit Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *JPHPI* , Volume 23 Nomor 3.

Ema Hastarini, D. F. (2012). Karakteristik Minyak Ikan Dari Limbah Pengolahan Filet Ikan Patin Siam (*Pangasius hypophthalmus*) Dan Patin Jambal (*Pangasius djambal*). *AGRITECH* , Vol. 32, No. 4.

Murray BA, F. R. (2007). Angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins: Biochemistry, bioactivity and production. *Pharmaceutical Design Current*, 13(8): 773-791.

Pipih Suptijah, D. I. (2018). Isolasi dan Karakterisasi Kolagen dari kulit Ikan Patin (*Pangsius sp*). *Sains Natural Universitas Nusa Bangsa*, vol 8, no 1 8-23.

Seftylia Diachanty, N. A. (2017). Aktifitas antioksidan berbagai jenis rumput laut coklat dari kepulauan seribu. *JPHPI*, 20 (2).

Valko M, L. D. (2007). Free radical and antioxidant in normal physiological function and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology.*, 39(1): 44-84.

Wu RB, W. C. (2018). and anti-freezing peptides from salmon collagen hydrolysate prepared by bacterial extracellular protease. *Food Chemistry*, 248: 346-352.

Commented [A130]:

Commented [A131]: Perbaiki aturann penulisan daftar pustaka berdasarakan format panduan dari JPHPI

Nama yang dituliskan adalah nama belakang, kemudian nama depan dan tengah disingkat diletakkan setelah nama belakang, untuk semua penulis dalam satu publikasi dilakukan hal yang sama, kemudian diikuti tahun, judul publikasi, penerbit, volume dan halaman jurnal.

sumber literatur yang belum dicantumkan:

Laheng *et al.* 2016
Gahly *et al.* 2013
Walters dan Stegeman 2014
Pal *et al.* 2015
Potaros *et al.* 2009
Sinthusamaran *et al.* 2013
Ahmad dan Chun 2018
Mentis *et al.* 2005
Sun *et al.* 2016
Simamora *et al.* 2019
Hadfi *et al.* 2019
Hadfi dan Sarbon 2019
Baehaki 2016
Hartina *et al.* 2019
Shon *et al.* 2011
Ahmad dan Benjakul 2010
Astina 2016
Kumar *et al.* 2014
Pertiwi 2016
Tarestani *et al.* 2012
SNI 8076:2014
Peng *et al.* 2004
Lower 2013
Sklerka dan Sadowska 2007
Singh *et al.* 2011
Astiana *et al.* 2016
Bae *et al.* 2008
Ogawa *et al.* 2004
Chi *et al.* 2014
Shoulder dan Rainer 2009
Hermanto *et al.* 2013
Sun *et al.* 2016
Baehaki 2015

Bukti Submission Acknowledgment tgl 28/07/2021

4G 4G 11:49

4G 53



[JPHPI] Submission

Acknowledgement



Kotak Masuk



Prof. Dr. Ir Nurja... 28/7/2021

kepada saya



Fitri Yanti:

Thank you for submitting the manuscript, "ANTIOXIDANT ACTIVITY OF COLLAGEN FROM THE SKIN OF PANGAS CATFISH (*Pangasius sp*) WITH CRUDE BROMELAIN ENZYME OF PINEAPPLE PEEL (*Ananas comosus L.*)" to *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. With the online journal management system that we are using, you will be able to track its progress through the editorial process by logging in to the journal web site:

Manuscript URL: <https://journal.ipb.ac.id/index.php/jphpi/authorDashboard/submission/36731>
Username: fitya

If you have any questions, please contact me. Thank you for considering this journal as a venue for your work.

Prof. Dr. Ir Nurjanah, MS



**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOLAGEN DARI KULIT IKAN PATIN
(*Pangasius sp*) DENGAN ENZIM BROMELIN KASAR KULIT NANAS
(*Ananas comosus L.*)**

Fitri Yanti^{1,4*}, Niken Dharmayanti², Suryanti³

¹Program Studi Pemanfaatan Sumberdaya Perikanan, Peminatan Industri Pengolahan Hasil Perikanan

²Dosen, Politeknik AUP Jakarta, Jl.AUP No1 Pasar Minggu-Jakarta Selatan

³Peneliti BBRPB Kelautansdan Perikanan, Jl. KS Tubun, Petamburan VI,Slipi, Jakarta Pusat

⁴Politeknik Kelautan dan Perikanan Aceh, Jl. Laksamana Malahayati Aceh Besar

*Korespondensi : fitri.adr06@gmail.com

Abstrak

Kulit patin merupakan salah satu hasil samping industri perikanan memiliki kandungan senyawa yang berpotensi sebagai sumber alternatif kolagen mengandung aktivitas antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah menentukan aktivitas antioksidan yang terkandung dalam kolagen dari kulit ikan patin diekstraksi dengan enzim bromelin kasar dari kulit buah Nanas. Kolagen dibuat dengan menggunakan enzim bromelin kasar dari kulit Nanas dengan aktifitas 1.0 U/g dengan beberapa tahapan yaitu pretreatment, deproteinase, degreasing dan ekstraksi, data perlakuan dengan kombinasi waktu perendaman dan kosentrasi enzim bromelin kasar, dengan waktu perendaman 3 jam, 3,5 jam dan 4 jam dan kosentrasi enzim bromelin kasar 0 ; 1,5 % ; 2%, dianalisis dengan statistik menggunakan RAL faktorial. Hasil dari pengamatan menunjukkan bahwa kelarutan terbaik didapat pada perlakuan T3.E2 yaitu 98,96%, Viskositas terbaik yaitu 22,67 cP , derajat keasaman (pH) terbaik pada T1.E2 yaitu 6,73, berat molekul α_1 , α_2 , β dan γ adalah : 131,51 kda, 110,48 kda, 202,48 kda dan 243,93 kda, aktivitas antioksidan terbaik pada perlakuan T1.E3 yaitu 20,45 ferrous sulfate/g.

Kata Kunci : Ikan Patin; Enzim Bromelin kasar; Antioksidan; kolagen

**ANTIOXIDANT ACTIVITY OF COLLAGEN FROM THE SKIN OF PANGAS
CATFISH (*Pangasius sp*) WITH CRUDE BROMELAIN ENZYME OF PINEAPPLE
PEEL**

Abstract

Pangas catfish skins is one of the fishery by-products containing certain compounds which have the potential to be used as an alternative source of collagen having antioxidant activity. The purpose of this study is to determine the antioxidant activity in collagen so that it can be used as an antioxidant material. Collagen was made using kasar bromelain enzyme from pineapple peel with an activity of 1.0 U/g in several stages, which were pretreatment, deproteinization, degreasing, and extraction, using data analysis a combination of 3 hours, 3.5 hours and 4 hours and crude enzyme concentrations of 0; 1.5%; 2%. The results of the observations showed that the best solubility was obtained in the T3E2 treatment which was 98.96%. The best viscosity was 22.67 cP. The best acidity (pH) at T1.E2 was 6.73. The molecular weights α_1 , α_2 , β and γ were: 131.51 kda, 110.48 kda, 202.48 kda and 243.93 kda. The best antioxidant activity was in the T1.E3 treatment, which was 20.45 ferrous sulfate/g.

Keywords: catfish, crude bromelin enzyme, Antioxidant, Collagen

PENDAHULUAN

Ikan patin (*Pangasius sp*) merupakan komoditas air tawar Indonesia yang produksinya sangat meningkat seiring dengan permintaan pasar terhadap *fillet* daging ikan patin. Laheng *et al.* (2016), permintaan pasar baik dari pasar domestik dan internasional meningkat pesat terhadap industri *fillet* ikan patin. Data produksi ikan patin pada tahun 2016, mencapai 437.111 ton, dan meningkat sangat signifikan dari tahun sebelumnya sebesar 339.069 ton. Pada tahun 2018 produksi ikan patin meningkatkan mencapai 604 587 ton (KKP 2018). Dari data tersebut menunjukkan bahwa produksi patin meningkat setiap tahunnya. Oleh karena itu, dengan peningkatan produksi juga di ikuti oleh peningkatan hasil samping yang terdiri dari kulit, kepala, tulang dan isi perut. Hasil samping yang dihasilkan dari industri pengolahan cukup signifikan 20-80% dari total bahan baku. Hasil samping tersebut dapat di olah menjadi produk yang ber nilai tambah tinggi antara lain protein, minyak, asam amino, mineral, enzim, peptide bioaktif, gelatin dan kolagen (Gahly *et al.*, 2013). Pengolahan patin menjadi produk fillet akan menghasilkan hasil samping berupa kulit sebesar 5,12-6,14 % dari berat ikan (Hastarini, 2012), sehingga dengan jumlah persentasi tersebut maka berpotensi untuk dapat dijadikan bahan baku kolagen .

Kolagen merupakan salah satu senyawa dari protein *fibrious* yang ada dalam jaringan ikat dan komponen yang menyusun komponen struktural utama, selain itu juga merupakan komponen bagian tubuh seperti gigi, otot tulang, kuku. Kolagen terdiri dari tiga rantai polipeptida yang merupakan konformasi *triple helix* (Walters dan Stegemann 2014; Pal *et al.* 2015) dan termasuk ke dalam kelompok protein yang larut dalam air. Kolagen yang terdapat pada gigi, tendon, kulit, kornea mata dan tulang mencapai 25-30% dari total protein hewani (Potaros *et al.* 2009; Sinthusamran *et al.* 2013). Saat ini kolagen komersial banyak yang diproduksi dari babi dan sapi, penelitian banyak dilakukan untuk alternatifnya yaitu hasil samping produksi perikanan, serta dengan penelitian dapat meningkatkan baik nilai fungsi

atau ekonominya. Aktivitas biologi kolagen terus dilakukan penelitian untuk mengetahui manfaat yang penting bagi tubuh.

Kolagen yang diperoleh dari proses secara enzimatik menggunakan enzim protease akan menghasilkan hidrolisat protein kolagen yang diketahui memiliki berbagai aktifitas biologis yang bermanfaat di bidang Kesehatan. Aktifitas biologis dari protein dalam bentuk polipeptida masih rendah dan dapat ditingkatkan dengan proses hidrolisis oleh enzim yang dapat melepaskan dari ikatan Panjang fragmen protein kompleks (Murray dan Fitzgerald 2007). Aktivitas biologis kolagen dapat dimanfaatkan di bidang kesehatan dan kecantikan . Murray dan Fitzgerald (2007) aktivitas biologis Protein dalam bentuk kompleks polipeptida rendah dan untuk meningkatkan aktivitas biologisnya dapat melalui proses hidrolisis oleh enzim sehingga protein kompleks dapat terlepas dari ikatan fragmennya. Wu *et al.* (2018) melaporkan bahwa aktivitas antioksidan dan *antifreezing* terdeteksi pada hidrolisat kolagen yang di ekstraksi dari ikan salmon. Sedangkan ,Ahmed dan Chun (2018) dalam penelitiannya melaporkan yaitu dalam hidrolisat kolagen kulit ikan tuna ditemukan adanya aktivitas antioksidan dan antimikroba.

Radikal bebas yang berasal dari pangan serta lingkungan yang dapat menyebabkan stres oksidatif pada tingkat sel dan apabila terjadi secara kontinu maka akan menyebabkan rusaknya sistem metabolisme yang berujung penyakit degeneratif. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat untuk menghambat laju dari reaksi oksidasi (Valko *et al.* 2007). Hidrolisat protein telah diketahui mengandung aktivitas antioksidan dengan mekanisme donor atom hidrogen sehingga dapat menangkal laju oksidasi (Mendis *et al.* 2005).

Sejumlah penelitian telah dilakukan terkait dengan pemanfaatan hasil samping produksi perikanan dengan cara ekstraksi kolagen, diantaranya kolagen dari kulit ikan Pollock (Sun *et al.* 2016), gelembung renang ikan patin (Simamora *et al.* 2019), dan hasil samping mata tuna (*Thunnus* sp.). Prastyo (2020) melaporkan bahwa aktifitas

antioksidan dari hidrolisat kolagen kulit ikan nila mencapai IC_{50} sebesar $93,32\mu\text{g/mL}$, Penelitian lebih lanjut untuk sediaan bioaktif antioksidan perlu dilakukan dari hasil samping produksi perikanan.

Jumlah dari hasil samping produksi perikanan yang melimpah, perlu adanya penanganan yang optimal untuk meningkatkan nilai ekonomi serta nilai fungsi dari suatu komoditi. Selain itu diketahui bahwa sediaan obat dari bahan alami lebih sedikit efek samping dibandingkan dengan sediaan obat yang disintesis secara kimiawi. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan yang terkandung dalam kolagen dari kulit ikan patin yang diekstraksi dengan enzim bromelin kasar dari kulit buah Nanas, sehingga hasil samping industri fillet ikan patin beku dan industri selai Nanas dapat digunakan sebagai bahan baku antioksidan.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan baku utama yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah kulit ikan patin yang diperoleh dari perusahaan PT.Sumatera Food industri lampung, bahan kimia yang digunakan adalah : enzim bromelin kasar 1,0 U/g, NaOH (Merk, Germany), CH_3COOH (Merk, Germany), Aquades dan bahan analisa lainnya. sedangkan alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kain saring 500 mesh, gelas ukur (pyrex), neraca digital Satorius (ketelitian 0,001 g), sentrifuge (*5810 R Made In Germany*), *magnetic stirrer* dengan *hotplate*, pH meter (Ionix, PH5S), *Rion Viscotester VT – 04F* (Rion, Ltd. China),

Metode Penelitian

Penelitian ini diawali dengan proses preparasi bahan baku dan karakteristik kulit ikan patin berupa analisis kimia komposisi proksimat, pretreatment menggunakan NaOH; degreasing dengan CH_3COOH dan Ekstraksi dengan menggunakan enzim bromelin kasar.

Preparasi Dan Ekstraksi Kulit Ikan Patin (Suptijah 2018, Hadfi dan Sarbon 2019, Baehaki 2016, Hartina *et al* 2019) di Modifikasi

Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini menggunakan kulit ikan patin yang diperoleh dari industri pengolahan fillet dengan ukuran ikan patin ± 1 kg/ekor dikirimkan ke laboratorium, dengan cara kulit ikan sudah di bekukan terlebih dahulu kemudian dikemas dalam sterofom agar kualitas kulit ikan patin tetap terjaga. Kemudian kulit ikan patin dilakukan preparasi dengan cara membersihkan kulit dari sisa daging yang menempel, dan dilakukan pengecilan ukuran $0,5 \times 0,5 \text{ cm}^2$, yang berfungsi untuk memperluas permukaan sehingga mempermudah dalam tahap degrading.

Proses degrading bertujuan untuk menghilangkan protein non kolagen menggunakan NaOH. Kulit ikan patin direndam dalam larutan NaOH 0,05 M dengan perbandingan 1: 10 (w/v) pada waktu perendaman selama 12 jam. Larutan alkali diganti setiap 2 jam pada suhu 4°C modifikasi (Hadfi dan Sarbon 2019). Sampel kemudian dicuci dengan air dingin mencapai pH netral di capai.

Setelah degrading dihidrolisis dengan menggunakan asam asetat (CH_3COOH). Hidrolis dengan larutan asam dilakukan dengan merendam sampel dengan asam asetat 1:6 (w/v) dengan konsentrasi 0,03;0,05;0,1; M selama 1,5 jam modifikasi (Suptijah, 2018). Sampel disaring dengan menggunakan saringan kain ukuran 25 mikron.

Ekstraksi kolagen kulit ikan dilakukan dengan menggunakan metode (Baehaki, 2016 dan (Hartina 2019) yang di modifikasi, Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi dengan menggunakan enzim bromelin kasar. Ekstraksi terlebih dahulu Kulit ikan diberi perlakuan akuades disesuaikan dengan rasio 2:1 (b/v), kemudian enzim bromelin kasar ditambahkan pada konsentrasi rancangan beberapa kosentrasi 0 ; 1,5% : 2% (enzim/substrat) dengan lama waktu ekstraksi 2 jam, 3 jam, 4 dan kemudian diinkubasikan dengan suhu 30°C . Setelah ekstraksi, sampel didinginkan pada suhu -20°C selama 10 menit untuk menonaktifkan enzim.

Setelah ekstraksi, ekstrak disaring dengan menggunakan kain dengan ukuran 25 μ . Kemudian di keringkan dengan suhu ruang dingin dengan suhu 18-20°C.

Prosedur Pengujian

Kelarutan (Shon *et al.* 2011)

Pengujian kelarutan kolagen dengan cara sample seberat 0,5 g dan dilarutkan ke dalam aquades 5 mL hingga homogen pada suhu ruang. Kemudian sampel di sentrifugasi pada kecepatan 4500 g x g suhu 22°C selama 30 menit. Endapan yang dihasilkan pisahkan dan dikeringkan dalam oven 130°C selama 20 menit kemudian ditimbang. Untuk menghitung kadar kelaurtan dapat menggunakan rumus :

$$Ketidaklarutan (\%) = \frac{Berat Akhir}{Berat Awal} \times 100$$

$$Kelarutan (\%) = 100 - ketidaklarutan$$

Viskositas

Pengukuran Viskositas berdasarkan modifikasi (Ahmad dan Benjakul, 2010), diukur dengan mengguankan *Viscometer Brookfield*. Kolagen dilarutkan dengan mengguankan asam asetat 0,1 M dengan kosentrasi 0,3% (b/v). Larutan diukur dengan menggunakan spinder no 1 dan kecepatan 60 rpm.

pH (AOAC, 2005)

Kolagen kering diambilkan sebanyak 1 g dilarutkan dengan akuades 20 ml. pH diukur dengan menggunakan alat pH meter digital. Elektroda pada pH meter dicelupkan kedalam sampel dan pada proyektor pH meter akan diperoleh angka yang stabil.

Berat Molekul (Astina, 2016)

Pengujian berat molekul diperlukan sebanyak 2 mg sampel kering kemudian dilarutkan kedalam *Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS) 5% sebanyak 1 mL, kemudian inkubasi dengan menggunakan *waterbath* agar dapat terkontrol selama 1 jam pada suhu 85°C agar suhunya. Campuran selanjutnya di masukkan dalam sentrifugasi pada pada suhu kamar 4,000

x g selama 5 menit. Supernatan yang didapat dicampur dengan bufer (TrisHCl 60 mM, pH 6.8 mengandung 2% SDS dan 25% gliserol) dengan rasio 1:1 (v/v) dan mengandung 10% β -merkaptoetanol (β ME). Kemudian Campuran tersebut dipanaskan dalam air mendidih selama 2 menit. Sampel sebanyak 5 μ L dimasukkan ke dalam *gel polyacrylamide* yang terdiri dari 3% *stacking* dan *gel 7.5% running gel* dan dielektroforesis pada arus konstan 15 mA/gel selama 3 jam. Setelah elektroforesis selesai, gel *distaining* dengan 0.05% (b/v) *coomassie blue* R-250 dalam metanol 15% (v/v) dan asam asetat 5% (v/v) selama 3 jam, kemudian sampel *destaining* dengan campuran 30% (v/v) metanol dan 10% (v/v) asam asetat selama 2 jam. Berat molekul protein sampel diperkirakan berdasarkan berat molekul marker. Marker yang digunakan adalah *Pre-stained Protein Markers (Broad Range) for SDS-PAGE* dari Nacalai Tesque dengan berat molekul 10 kDa sampai 260 kDa.

Antioksidan FRAP (Deachanty, 2017)

Pengujian aktivitas antioksidan kolagen ikan patin ekstraksi dengan enzim bromelin kasar dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) metode Kumar *et al.* (2014) yang telah dimodifikasi. Preparasi reagen FRAP dilakukan dengan cara buffer asetat 300 mM pH 3,6 (8 mL CH₃COONa dan 92 mL CH₃COOH), dan 10 mM larutan TPTZ (2,4,6-tripyridyl-striazine) dalam 40mM HCl dan FeCl₃. Pengukuran absorbansi menggunakan 400 μ L sampel dan 2600 μ L reagen FRAP. sampel dan reagen FRAP dimasukkan kedalam tabung kemudian di vorteks agar homogen, kemudian diinkubasi menggunakan *waterbath* agar terkontrol dengan suhu 37°C selama 30 menit. Pengukuran absorbansi dilakukan di panjang gelombang 595 nm. Kurva standar dalam metode ini digunakan larutan Ferrous sulfat dengan beberapa konsentrasi.

Analisis Data

Proses ekstraksi menggunakan enzim bromelin kasar dengan variasi waktu dan konsentrasi yaitu waktu 3 jam (T1), 3,5 jam (T2) dan 4 jam (T3) dan konsentrasi enzim

bromelin kasar 0 (E1) ; 1,5 % (E2) ; 2 % (E3) dengan pengulangan sebanyak 3 kali ulangan, Data yang didapat akan di analisis menggunakan Analisis ragam (ANOVA) dan apabila ada perbedaan nyata maka akan dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi Kimia Kulit Ikan Patin

Sampel kulit ikan yang telah dilakukan proses pembersihan, selanjutnya dilakukan pengujian proksimat. Tujuan pengujian proksimat ini yaitu untuk mengetahui kandungan gizi untuk melihat potensi kulit ikan patin yang akan di gunakan sebagai bahan baku dalam menghasilkan kolagen.

Analisis karakteristik bahan baku dilakukan dengan menguji komposisi kimia. Adapun analisis komposisi kimia yang dilakukan pada penelitian ini meliputi kadar air, kadar abu, kadar protein dan kadar lemak. Karakteristik Kimia bahan baku kulit ikan patin dapat dilihat pada Table 1.

Table 1 Proximate composition of fish skin

Composition	Catfish ¹ (<i>Pangasius sp</i>) (%)	Catfish ² (<i>Chana striata</i>) (%)	Tuna ³ (<i>Thunnus albacares</i>) (%)	Catfish ⁴ (<i>Pangasius pangasius</i>) (%)
Water	67.22	77.18	59.31	66.80
Ash	0.16	0.47	5.73	0.14
Protein	27.19	20.36	27.32	19.48
Lipid	3.39	1.42	6.17	2.33

Note : ¹ Research data ; ² Wulandari 2016; ³Hadinoto and Idrus 2018 ; ⁴Devi *et al.* 2017

Hasil penelitian menunjukkan bahwa protein bahan baku kulit ikan patin lebih tinggi di bandingkan dengan komposisi lainnya. Kadungan protein kulit ikan patin lebih tinggi dibandingkan dengan ikan gabus (Wulandari 2016) dan dari ikan patin (Devi *et al.* 2017) akan tetapi mempunyai nilai sama dengan dengan ikan tuna (Hadinoto dan Idrus 2018).

Kandungan lemak kulit ikan patin lebih rendah bila dibandingkan dengan ikan tuna (*Thunnus albacore*) (Hadinoto dan Idrus 2018) dan lebih tinggi jika di bandingkan dengan ikan gabus dan ikan patin (Wulandari 2016, Devi *et al.* 2017). Sedangkan kadar abu hasil analisis lebih rendah bila dibandingkan ikan gabus (Wulandari 2016) dan ikan ikan tuna (Hadinoto dan Idrus 2018) dan lebih tinggi dibandingkan dengan ikan patin dari analisis (Devi *et al.* 2017).

Kelarutan

Hasil Analisis Varian menunjukkan bahwa Faktor T (waktu Perendaman) tidak berpengaruh nyata (0,138) ($P>0,01$) dan Faktor E (kosentrasi enzim bromelin kasar) Tidak berpengaruh nyata ($P>0,01$) terhadap kelarutan. Terdapat interaksi yang sangat nyata ($P<0,01$) antara faktor T dengan E terhadap kelarutan.

Nilai terbaik kelarutan dari kolagen yang diekstrak dengan menggunakan enzim bromelin kasar yaitu perlakuan T3.E2 mencapai 98,96%, nilai tersebut tinggi jika dibandingkan (Pertiwi 2016) yaitu 91,36% dan kelarutan kolagen yang baik akan sangat mempermudah pengaplikasiannya (Pertiwi 2016).

Viskositas

Hasil Analisis Varian menunjukkan bahwa antara Faktor T, Faktor E dan interaksi kedua nya tidak berpengaruh nyata ($P>0,01$) terhadap viskositas. Nilai terbaik Viskositas dari ekstraksi kolagen kulit ikan patin dengan enzim bromelin kasar yaitu 22,67 cP pada suhu ruang, nilai yang dihasilkan kecil jika dibandingkan dengan hasil penelitian dari Ahmad dan Benjakul (2010) yaitu kolagen PSC (*Pepsin Sololube Collagen*) dari tuna sirip kuning dengan nilai Viskositas 21,1 cP, tuna albakor 22,8 cP , viskositas akan turun apabila suhu dinaikkan menjadi 32°C, ini dikarenakan oleh ikatan hidrogen yang berperan untuk menjaga kestabilan struktur kolagen telah rusak.

Derajat Keasaman (pH)

Tabarestani *et al* (2012), nilai derajat keasamaan dari kolagen berkaitan dengan kelarutan, hal ini juga dapat disebabkan selama proses hidrolisis penggunaan jenis dan konsentrasi asam dan basa yang berbeda. Hasil pH berdasarkan Analisis Varian menunjukkan bahwa Faktor T tidak berpengaruh nyata (0,394) ($P>0,05$) dan Faktor E sangat berpengaruh nyata ($P<0,01$) terhadap pH. Faktor T dengan E memiliki interaksi yang sangat nyata ($P<0,01$) terhadap pH. Hasil uji DMRT Tidak ada perbedaan nyata antara perlakuan T1, T2 dan T3 akan tetapi Terdapat perbedaan nyata pada perlakuan E1 terhadap E2. terdapat perbedaan nyata antara perlakuan E1 dan E3. serta berbeda nyata antara perlakuan E2 dan E3.

Nilai pH terbaik yang diperoleh dari hasil ekstraksi kolagen dari kulit ikan patin dengan enzim bromelin kasar dari kulit Nanas yaitu pada T1.E2 6,73 , hasil ini sesuai jika dilihat dari syarat mutu kolagen SNI 8076:2014 yaitu 6,5-8. Nilai tersebut tinggi jika dibandingkan dengan kolagen oleh peng *et al*, (2004) yaitu berkisar antara 3,8-4,7, kolagen dari kulit ikan gabus sebesar 5,24 (wulandari 2016) dan dari kulit ikan patin yang diekstrak dengan suhu 40°C sebesar 5,53 (Devi *et all.* 2017).

Terdapat perbedaan nilai derajat keasaman (pH) kolagen dapat dikarenakan adanya jenis dan konsentrasi larutan berbeda yang ditambahkan baik asam atau basa serta proses untuk penetralan. Nilai pH rendah juga dapat diakibatkan oleh kandungan asam asetat yang masih tersisa sehingga konsentrasi ion hidrogen yang lebih tinggi (Lower 2013), dan nilai pH yang juga juga disebabkan oleh nilai pH yang rendah dari asam asetat yang digunakan yaitu 2,3 (Skierka dan Sadowska, 2007). di karenakan adanya proses hidro-ekstraksi sebelum proses ekstraksi dengan enzim bromelin kasar.

Aktivitas Antioksidan

Aktifitas antioksidan kolagen yang di ekstrak kulit ikan patin di tentukan dengan menggunakan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Metode pengujian

dengan FRAP adalah untuk menentukan aktifitas antioksidan yaitu dengan mengukur antioksidan dalam mereduksi Fe^{3+} yang kompleks $Fe^{3+}TPTZ$ menjadi $Fe^{2+}TPTZ$ dengan cara mendonorkan elektronnya.

Hasil pengamatan aktifitas antioksidan pada kolagen menunjukkan nilai tertinggi pada perlakuan T1.E3 memiliki nilai yaitu 20,45 ferrous sulfate/g, dan pada perlakuan T2.E3 dengan nilai 16,30 μmol ferrous sulfate/g dan pada perlakuan T3.E3 yaitu 15,08 μmol ferrous sulfate/g dan nilai terendah yaitu pada perlakuan T2.E2 yaitu 7,00 μmol ferrous sulfate /g dan sangat berbeda nyata dengan perlakuan kontrol tanpa penambahan enzim bromelin kasar yaitu 4,52 μmol ferrous sulfate /g. Hasil analisis sidik ragam perbedaan waktu tidak berbeda nyata dan jumlah enzim yang digunakan berpengaruh nyata, akan tetapi interaksi keduanya memberikan pengaruh sangat nyata ($p < 0,05$) terhadap aktivitas antioksidan. Hasil analisis antioksidan kalogen kulit ikan patin yang diekstrak dengan enzim bromelin kasar dapat dilihat pada figure 1.

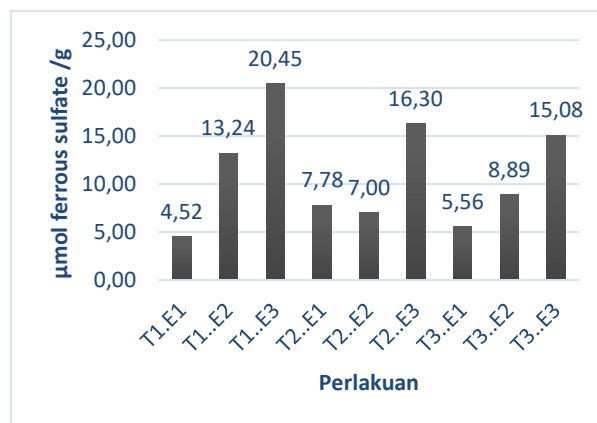


Figure 1 Antioxidant activity of pangas collagen

Sejumlah penelitian kolagen yang di ekstraksi dari ikan memiliki stabilitas antioksidan seperti hidrolisat kolagen dari kulit Pollack yang diekstraksi secara alcalase, (Sun *et al* 2016). Hidrolisat kolagen dari ikan tuna mempunyai aktivitas antioksidan dengan IC_{50} sebesar $66,28 \pm 0,12 \mu\text{g/mL}$ (Nurilmala *et al.* 2020). Aktifitas antioksidan juga telah dilaporkan dengan pengujian DPPH terhadap hidrolisat kolagen yang di ekstrak dengan enzim

papain dari kulit dan tulang ikan patin dengan aktivitas antioksidan dari tulang ikan sebaesar 71,55% dan dari kulit ikan 63,06% (Baehaki 2015).

Jumlah asam amino hidrofobik yang tinggi dalam urutan peptida, terutama jenis Glisin dan Prolin berkontribusi secara signifikan dalam aktifitas antioksidan karena secara tepat bereaksi oleh hidrofobik. Oleh karena itu, kolagen dari kulit ikan yang dihasilkan mengandung elektron peptida yang dapat bereaksi dengan radikal bebas untuk mengubahnya dan dapat digunakan sebagai bahan tambahan dan makanan fungsional dan obat-obatan sebagai sumber alternatif antioksidan alami.

Berat Molekul

Hasil SDS- Page dari kolagen kulit ikan patin yang di ekstraksi dengan menggunakan enzim bromelin kasar dapat di lihat pada gambar 1. Berat molekul kulit ikan patin menggunakan ekstraksi enzim bromelin kasar 1,0 U/g memiliki struktur yang identik dengan $\alpha 1$ dan $\alpha 2$. Rantai α menunjukkan bahwa kolagen kulit ikan patin termasuk kolagen tipe I. Hasil SDS-Page kolagen kulit ikan patin yang diekstrak dengan enzim bromelin kasar dapat dilihat pada figure 2.

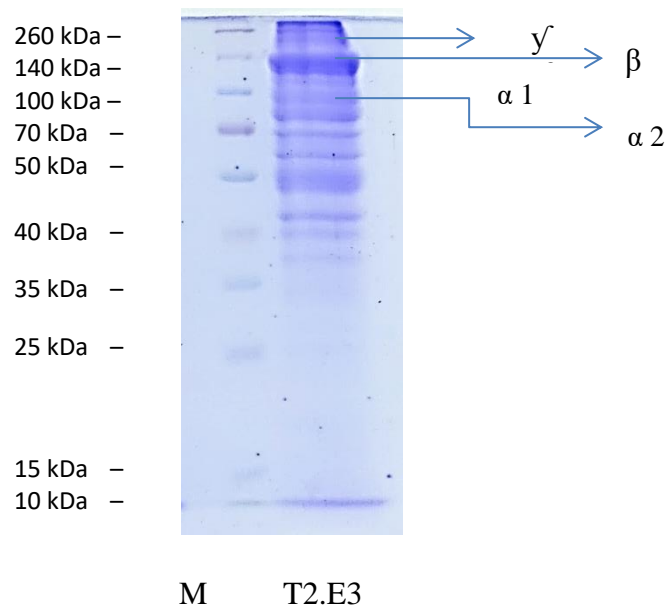


Figure 2. SDS-Page of catfish skin (M) marker, time of 4 hours and concentration of 2% (T2.E3) Collagen extraction with kasar bromelain enzyme

Table 2. Weight of Collagen Kasar Molecules of Bromelain Enzymes and several types of fish

Sumber Kolagen	α^1 (kDa)	α^2 (kDa)	β (KDa)	γ (kDa)
<i>Skin of Catfish</i> ¹	131,51	110,48	202,48	243,92
<i>Skin of Catfish</i> (Pangasianodon hypophthalmus) ²	>116	116	220	>220
Redbelly Yellowtail Fusilier Fish Skin (ASC)				
Redbelly Yellowtail Fusilier Fish Skin (PaSC) ³	122	112	186-203	251
Fish Skin <i>Siganus fuscescens</i> , <i>Kyphosus bigibbus</i> , <i>Myliobatis tobijei</i> , <i>Dasyatis akajei</i> , <i>Dasyatis Laevigata</i> ⁴	120	112-114		

Note: ¹ Research data ; ² Singh *et al.* (2011); ³ Astiana *et al.* (2016); ⁴ Bae *et al.* (2008)

Kolagen yang di ekstraksi dari kulit ikan memiliki struktur identik dengan $\alpha 1$ dan $\alpha 2$ yang termasuk dalam golongan kolagen tipe I. (Ogawa *et al.*, 2004) , kolagen tipe I mengandung 3 rantai polipeptida dengan masing-masing berat molekul 94 kDa dan banyak ditemukan pada jaringan ikat dan bagian tendon . Shoulder dan Raines, (2009) Polipeptida dari kolagen tipe I terdiri rantai α dengan struktur heliks yang melingkari rantai lainnya membentuk untaian tali. Gelse *et al.* (2003), kolagen tipe I mempunyai Struktur *triple helix* terbentuk atas heterotrimer dari dua rantai $\alpha 1$ dan satu rantai $\alpha 2$. Struktur β (*α chain dimers*) dan γ (*α chain trimers*) menunjukkan adanya ikatan silang kovalen pada molekul kolagen (Chi *et al.*2014).

Kolagen dari kulit ikan patin yang diekstrak menggunakan enzim bromelin kasar dari kulit nanas memiliki struktur kolagen tipe I yang mengandung struktur identik $\alpha 1$, $\alpha 2$, β , dan γ . Kolagen kulit ikan patin enzim bromelin kasar mempunyai Berat molekul $\alpha 1$, $\alpha 2$, β , dan γ ini terlihat bahwa setara dengan kolagen yang sumber bahan baku sama dari penelitian (Singh *et al.* 2011) dan beberapa ikan laut (Bae *et al.* 2008) (Tabel 1). Dari hasil berat molekul tersebut terlihat bahwa kolagen yang diekstraksi dengan enzim bromelin kasar belum berubah menjadi produk turunan kolagen yaitu gelatin. Karim dan Bhat (2009) Berat molekul dari gelatin lebih rendah dari kolagen yaitu dari 80-250 kDa. Hermanto *et al.* (2013)

juga menyampaikan bahwa gelatin babi mempunyai berat molekul sebesar 28.6 kDa -36.2 kDa.

Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah: Kolagen yang di ekstraksi dengan menggunakan enzim bromelin kasar dari kulit Nanas menghasilkan Aktivitas antioksidan terbaik pada perlakuan dengan waktu perendaman 3 jam dan konsentrasi enzim 2% (T1.E3), pH yang sesuai dengan SNI 8740:2014 yaitu pada perlakuan T1E2, Viskositas pada suhu ruang akan tetapi tingkat kelarutan kolagen dalam aquades terbaik pada perlakuan T3E2. Berat molekul dari kolagen ekstraksi enzim bromelin kasar di katagori kan Tipe I dengan nilai tersebut dapat dikatakan bahwa ekstraksi dapat di ekstraksi dengan enzim bromelin kasar kulit Nanas.

Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kementerian Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia / Badan Riset dan Sumberdaya Manusia Kelautan dan Perikanan atas dukungan pendanaan Magister Terapan dan Penulis mengucapkan terimakasih Atas bantuan dan dukungan selama penelitian kepada Ibu Pipih Suptijah.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad M, Benjakul S. 2010. Extraction and characterization of pepsin soluble collagen from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*). *Food Chemistry*. 120:817-824. Doi:10.1016/j.foodchem.2009.11.019.
- Ahmed R, Chun BS. 2018. Subcritical water hydrolysis for the production of bioactive peptides from tuna skin collagen. *The Journal of Supercritical Fluids*, 141 (1) : 1-35.
- Astiana I. 2016. Efektifitas Asam Dan Enzim Papain Dalam Menghasilkan Kolagen Dari Kulit Ikan Ekor Kuning (*Caesto cuning*). [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Astiana I, Nurjanah, Nurhayati T. 2016. Karakterisasi kolagen larut asam dari kulit ikan ekor kuning (*Caesto cuning*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 19(1): 79-93.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. Official Method of Analysis (18 Edn). Arlington, Virginia, USA : Published by The Association of Official Analytical Chemist. Inc.

- Baehaki A, Nopianti R, Anggraeni S. 2015. Antioxidant activity of skin and bone collagen hydrolyzed from striped catfish (*Pangasius pangasius*) with papain enzyme. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 7(11): 131-135.
- Baehaki A, Lestari SD, Desliani I. 2016. Collagen Hydrolysis from skin and bone of *Pangasius* catfish Prepared by Bromelain Enzyme and Antioxidant Activity of Hydrolysate. *Der Pharma Chemica*, 8 (4):155-158.
- Bae I, Osatomi K, Yoshida A, Osako K, Yamaguchi A, Hara K. 2008. Chemical properties of acid-soluble collagens extracted from the skins of underutilized fishes. *Food Chemistry* 108: 49-54.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. 2014. SNI 8076:2014. Standar Nasional Indonesia tentang kolagen kasar dari sisik ikan. Jakarta(ID): Badan Standarisasi Nasional.
- Chi C, Wang B, Li Z-R, Luo H-Y, Ding G-F, Wu C-W. 2014. Characterization of acid-soluble collagen from the skin hammerhead shark (*Sphyrna lewini*). *Journal of Food Biochemistry*. 38: 236–247.
- Devi HLNA, Suptijah P, Nurilmala M. 2017. Efektivitas alkali dan asam terhadap mutu kolagen dari kulit ikan patin. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(2): 255–265.
- Hadfi N.H. and Sarbon, N.M. 2019. Physicochemical properties of silver catfish (*Pangasius* sp.) skin collagen as influenced by acetic acid concentration. *Food Research* 3 (6) :783 – 790.
- Haditono S, Idrus S. 2018. Proporsi dan Kadar Proksimat Bagian Tubuh Ikan Tuna Ekor Kuning (*Thunnus albacares*) dari Perairan Maluku. *Majalah BIAM (Bahan Alam, Industri, Aneka Pangan, Minyak Atsiri)* 14: 51-57
- Hartina U, M. R., Qhairul Anuar, H., Nor Qhairul Izzreen, M. N., Hasmadi, M. 2019. Properties Of Hydrolysed Collagen From The Skin Of Milkfish (*Chanos chanos*) as Affected by Different Enzymatic Treatments.” *International Journal of Research Science & Management* 6 (2).
- Hastarini E, Fardiaz D, Irianto HE, Budijanto S. 2012. Karakteristik Minyak Ikan Dari Limbah Pengolahan Filet Ikan Patin Siam (*Pangasius hypophthalmus*) Dan Patin Jambal (*Pangasius djambal*). *AGRITECH*, , Vol. 32, No. 4
- [KKP] Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2018. *Produktivitas Perikanan Indonesia Pusat Data Statistika dan Informasi Kementerian Kelautan dan Perikanan Tahun 2018*. Jakarta: (ID) Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Murray BA, Fitzgerald RJ. 2007. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins: Biochemistry, bioactivity and production. *Current Pharmaceutical Design* 13(8): 773-791.

- Ogawa M, Portier RJ, Moody MW, Bell J, Schexnayder MA, Losso JN. 2004. Biochemical properties of bone and scale collagens isolated from the subtropical fish black drum (*Pogonias cromis*) and sheepshead seabream (*Archosargus probatocephalus*). *Food Chemistry* 88: 495-501.
- Peng Y, Glattauer V, Werkmeister JA, Ramshaw JAM. 2004. Evaluation for collagen products for cosmetic application. *Journal of Cosmetic Science*. 55:327-342. Doi10.1111/j.1467-2494.2004.00245.2.x.
- Pertiwi RM. 2016. Ekstraksi dan karakterisasi kolagen larut papain dari kulit ikan tuna sirip kuning [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Potaros T, Raksakhulthai N, Runglerdreangkrai j, Worawattanamateekul W. 2009. Characteristics of collagen from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin isolated by two different methods. *Natural Science*. 43(3):584-593.
- Prastyo DT, Trilaksani W, Nurjanah. 2020. Aktivitas Antioksidan Hidrolisat Kolagen Kulit Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *JPHPI*, Volume 23 (3): 423-433.
- Suptijah P, Indriani D, Wardoyo SE. 2018. Isolasi dan Karakterisasi Kolagen dari kulit Ikan Patin (*Pangsius sp*). *Sains Natural Universitas Nusa Bangsa*, vol 8,no 1 8-23.
- 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*. 124: 97–105.
- Sintusamran S, Benjakul S, Kishimura H. 2013. Comparative study on molecular characteristics of acid soluble collagens from skin and swim bladder of seabass (*Lateolabrax japonicus*). *Food Chemistry* 138:2435-2441
- Shon j, Ji-Hyun E, Hwang SJ, Jong Bang E. 2011. Effect of processing conditions on functional properties of collagen powder from Skate (*Raja kenoi*) skins. *The Journal of Food Science Biotechnology*. 20 (1):99-106.
- Tabarestani SH, Maghsoudlou Y, Motamedzadega A, Mahoonak SAR, Rostamzad H. 2012. Study on some properties of acid-soluble collagens isolated from fish skin and bones of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *International Food Research Journal* 19(1):251-257.
- Walters BD, Stagemann JP. 2014. Review: Strategies for directing the structure and function of three-dimensional collagen biomaterials across length scales. *Acta Biomaterialia*. 10(4): 1488-1501.
- Wulandari. 2016. Karakteristik fisikokimia kolagen yang diisolasi dengan metode hidroekstraksi dan stabilisasi nanokolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*) [tesis]. Bogor (ID) : Institut Pertanian Bogor.
- Wu RB, Wu CL, Liu D, Yang XH, Huang JF, Zhang J, Liao BQ. 2018. "and anti-freezing peptides from salmon collagen hydrolysate prepared by bacterial extracellular protease." *Food Chemistry* 248: 346-352.

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. 2007. "Free radical and antioxidant in normal physiological function and human disease." *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 39(1): 44-84.

Bukti Editor Decision 1/10/2021



**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOLAGEN DARI KULIT IKAN PATIN
(*Pangasius sp*) DENGAN ENZIM BROMELIN KASAR KULIT NANAS
(*Ananas comosus L.*)**

Fitri Yanti^{1,4*}, Niken Dharmayanti², Suryanti³

¹Program Studi Pemanfaatan Sumberdaya Perikanan, Peminatan Industri Pengolahan Hasil Perikanan

²Dosen, Politeknik AUP Jakarta, Jl.AUP No1 Pasar Minggu-Jakarta Selatan

³Peneliti BBRPB Kelautansdan Perikanan, Jl. KS Tubun, Petamburan VI,Slipi, Jakarta Pusat

⁴Politeknik Kelautan dan Perikanan Aceh, Jl. Laksamana Malahayati Aceh Besar

*Korespondensi : fitri.adr06@gmail.com

Abstrak

Kulit patin merupakan salah satu hasil samping industri perikanan memiliki kandungan senyawa yang berpotensi sebagai sumber alternatif kolagen mengandung aktivitas antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah menentukan aktivitas antioksidan yang terkandung dalam kolagen dari kulit ikan patin diekstraksi dengan enzim bromelin kasar dari kulit buah Nanas. Kolagen dibuat dengan menggunakan enzim bromelin kasar dari kulit Nanas dengan aktifitas 1.0 U/g dengan beberapa tahapan yaitu pretreatment, deproteinase, degreasing dan ekstraksi, data perlakuan dengan kombinasi waktu perendaman dan kosentrasi enzim bromelin kasar, dengan waktu perendaman 3 jam, 3,5 jam dan 4 jam dan kosentrasi enzim bromelin kasar 0 ; 1,5 % ; 2%, dianalisis dengan statistik menggunakan RAL faktorial. Hasil dari pengamatan menunjukkan bahwa kelarutan terbaik didapat pada perlakuan T3.E2 yaitu 98,96%, Viskositas terbaik yaitu 22,67 cP , derajat keasaman (pH) terbaik pada T1.E2 yaitu 6,73, berat molekul α_1 , α_2 , β dan γ adalah : 131,51 kda, 110,48 kda, 202,48 kda dan 243,93 kda, aktivitas antioksidan terbaik pada perlakuan T1.E3 yaitu 20,45 ferrous sulfate/g.

Kata Kunci : Ikan Patin; Enzim Bromelin kasar; Antioksidan; kolagen

**ANTIOXIDANT ACTIVITY OF COLLAGEN FROM THE SKIN OF PANGAS
CATFISH (*Pangasius sp*) WITH CRUDE BROMELAIN ENZYME OF PINEAPPLE
PEEL**

Abstract

Pangas catfish skins is one of the fishery by-products containing certain compounds which have the potential to be used as an alternative source of collagen having antioxidant activity. The purpose of this study is to determine the antioxidant activity in collagen so that it can be used as an antioxidant material. Collagen was made using kasar bromelain enzyme from pineapple peel with an activity of 1.0 U/g in several stages, which were pretreatment, deproteinization, degreasing, and extraction, using data analysis a combination of 3 hours, 3.5 hours and 4 hours and crude enzyme concentrations of 0; 1.5%; 2%. The results of the observations showed that the best solubility was obtained in the T3E2 treatment which was 98.96%. The best viscosity was 22.67 cP. The best acidity (pH) at T1.E2 was 6.73. The molecular weights α_1 , α_2 , β and γ were: 131.51 kda, 110.48 kda, 202.48 kda and 243.93 kda. The best antioxidant activity was in the T1.E3 treatment, which was 20.45 ferrous sulfate/g.

Keywords: catfish, crude bromelin enzyme, Antioxidant, Collagen

PENDAHULUAN

Ikan patin (*Pangasius sp*) merupakan komoditas air tawar Indonesia yang produksinya sangat meningkat seiring dengan permintaan pasar terhadap *fillet* daging ikan patin. Laheng *et al.* (2016), permintaan pasar baik dari pasar domestik dan internasional meningkat pesat terhadap industri *fillet* ikan patin. Data produksi ikan patin pada tahun 2016, mencapai 437.111 ton, dan meningkat sangat signifikan dari tahun sebelumnya sebesar 339.069 ton. Pada tahun 2018 produksi ikan patin meningkatkan mencapai 604 587 ton (KKP 2018). Dari data tersebut menunjukkan bahwa produksi patin meningkat setiap tahunnya. Oleh karena itu, dengan peningkatan produksi juga di ikuti oleh peningkatan hasil samping yang terdiri dari kulit, kepala, tulang dan isi perut. Hasil samping yang dihasilkan dari industri pengolahan cukup signifikan 20-80% dari total bahan baku. Hasil samping tersebut dapat di olah menjadi produk yang ber nilai tambah tinggi antara lain protein, minyak, asam amino, mineral, enzim, peptide bioaktif, gelatin dan kolagen (Gahly *et al.*, 2013). Pengolahan patin menjadi produk fillet akan menghasilkan hasil samping berupa kulit sebesar 5,12-6,14 % dari berat ikan (Hastarini, 2012), sehingga dengan jumlah persentasi tersebut maka berpotensi untuk dapat dijadikan bahan baku kolagen .

Kolagen merupakan salah satu senyawa dari protein *fibrious* yang ada dalam jaringan ikat dan komponen yang menyusun komponen struktural utama, selain itu juga merupakan komponen bagian tubuh seperti gigi, otot tulang, kuku. Kolagen terdiri dari tiga rantai polipeptida yang merupakan konformasi *triple helix* (Walters dan Stegemann 2014; Pal *et al.* 2015) dan termasuk ke dalam kelompok protein yang larut dalam air. Kolagen yang terdapat pada gigi, tendon, kulit, kornea mata dan tulang mencapai 25-30% dari total protein hewani (Potaros *et al.* 2009; Sinthusamran *et al.* 2013). Saat ini kolagen komersial banyak yang diproduksi dari babi dan sapi, penelitian banyak dilakukan untuk alternatifnya yaitu hasil samping produksi perikanan, serta dengan penelitian dapat meningkatkan baik nilai fungsi

atau ekonominya. Aktivitas biologi kolagen terus dilakukan penelitian untuk mengetahui manfaat yang penting bagi tubuh.

Kolagen yang diperoleh dari proses secara enzimatik menggunakan enzim protease akan menghasilkan hidrolisat protein kolagen yang diketahui memiliki berbagai aktifitas biologis yang bermanfaat di bidang Kesehatan. Aktifitas biologis dari protein dalam bentuk polipeptida masih rendah dan dapat ditingkatkan dengan proses hidrolisis oleh enzim yang dapat melepaskan dari ikatan Panjang fragmen protein kompleks (Murray dan Fitzgerald 2007). Aktivitas biologis kolagen dapat dimanfaatkan di bidang kesehatan dan kecantikan . Murray dan Fitzgerald (2007) aktivitas biologis Protein dalam bentuk kompleks polipeptida rendah dan untuk meningkatkan aktivitas biologisnya dapat melalui proses hidrolisis oleh enzim sehingga protein kompleks dapat terlepas dari ikatan fragmennya. Wu *et al.* (2018) melaporkan bahwa aktivitas antioksidan dan *antifreezing* terdeteksi pada hidrolisat kolagen yang di ekstraksi dari ikan salmon. Sedangkan ,Ahmed dan Chun (2018) dalam penelitiannya melaporkan yaitu dalam hidrolisat kolagen kulit ikan tuna ditemukan adanya aktivitas antioksidan dan antimikroba.

Radikal bebas yang berasal dari pangan serta lingkungan yang dapat menyebabkan stres oksidatif pada tingkat sel dan apabila terjadi secara kontinu maka akan menyebabkan rusaknya sistem metabolisme yang berujung penyakit degeneratif. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat untuk menghambat laju dari reaksi oksidasi (Valko *et al.* 2007). Hidrolisat protein telah diketahui mengandung aktivitas antioksidan dengan mekanisme donor atom hidrogen sehingga dapat menangkal laju oksidasi (Mendis *et al.* 2005).

Sejumlah penelitian telah dilakukan terkait dengan pemanfaatan hasil samping produksi perikanan dengan cara ekstraksi kolagen, diantaranya kolagen dari kulit ikan Pollock (Sun *et al.* 2016), gelembungan ikan patin (Simamora *et al.* 2019), dan hasil samping mata tuna (*Thunnus* sp.). Prastyo (2020) melaporkan bahwa aktifitas

antioksidan dari hidrolisat kolagen kulit ikan nila mencapai IC_{50} sebesar $93,32\mu\text{g/mL}$, Penelitian lebih lanjut untuk sediaan bioaktif antioksidan perlu dilakukan dari hasil samping produksi perikanan.

Jumlah dari hasil samping produksi perikanan yang melimpah, perlu adanya penanganan yang optimal untuk meningkatkan nilai ekonomi serta nilai fungsi dari suatu komoditi. Selain itu diketahui bahwa sediaan obat dari bahan alami lebih sedikit efek samping dibandingkan dengan sediaan obat yang disintesis secara kimiawi. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan yang terkandung dalam kolagen dari kulit ikan patin yang diekstraksi dengan enzim bromelin kasar dari kulit buah Nanas, sehingga hasil samping industri fillet ikan patin beku dan industri selai Nanas dapat digunakan sebagai bahan baku antioksidan.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan baku utama yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah kulit ikan patin yang diperoleh dari perusahaan PT.Sumatera Food industri lampung, bahan kimia yang digunakan adalah : enzim bromelin kasar 1,0 U/g, NaOH (Merk, Germany), CH_3COOH (Merk, Germany), Aquades dan bahan analisa lainnya. sedangkan alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kain saring 500 mesh, gelas ukur (pyrex), neraca digital Satorius (ketelitian 0,001 g), sentrifuge (*5810 R Made In Germany*), *magnetic stirrer* dengan *hotplate*, pH meter (Ionix, PH5S), *Rion Viscotester VT – 04F* (Rion, Ltd. China),

Metode Penelitian

Penelitian ini diawali dengan proses preparasi bahan baku dan karakteristik kulit ikan patin berupa analisis kimia komposisi proksimat, pretreatment menggunakan NaOH; degreasing dengan CH_3COOH dan Ekstraksi dengan menggunakan enzim bromelin kasar.

Preparasi Dan Ekstraksi Kulit Ikan Patin (Suptijah 2018, Hadfi dan Sarbon 2019, Baehaki 2016, Hartina *et al* 2019) di Modifikasi

Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini menggunakan kulit ikan patin yang diperoleh dari industri pengolahan fillet dengan ukuran ikan patin ± 1 kg/ekor dikirimkan ke laboratorium, dengan cara kulit ikan sudah di bekukan terlebih dahulu kemudian dikemas dalam sterofom agar kualitas kulit ikan patin tetap terjaga. Kemudian kulit ikan patin dilakukan preparasi dengan cara membersihkan kulit dari sisa daging yang menempel, dan dilakukan pengecilan ukuran $0,5 \times 0,5 \text{ cm}^2$, yang berfungsi untuk memperluas permukaan sehingga mempermudah dalam tahap degrading.

Proses degrading bertujuan untuk menghilangkan protein non kolagen menggunakan NaOH. Kulit ikan patin direndam dalam larutan NaOH 0,05 M dengan perbandingan 1: 10 (w/v) pada waktu perendaman selama 12 jam. Larutan alkali diganti setiap 2 jam pada suhu 4°C modifikasi (Hadfi dan Sarbon 2019). Sampel kemudian dicuci dengan air dingin mencapai pH netral di capai.

Setelah degrading dihidrolisis dengan menggunakan asam asetat (CH_3COOH). Hidrolis dengan larutan asam dilakukan dengan merendam sampel dengan asam asetat 1:6 (w/v) dengan konsentrasi 0,03;0,05;0,1; M selama 1,5 jam modifikasi (Suptijah, 2018). Sampel disaring dengan menggunakan saringan kain ukuran 25 mikron.

Ekstraksi kolagen kulit ikan dilakukan dengan menggunakan metode (Baehaki, 2016 dan (Hartina 2019) yang di modifikasi, Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi dengan menggunakan enzim bromelin kasar. Ekstraksi terlebih dahulu Kulit ikan diberi perlakuan akuades disesuaikan dengan rasio 2:1 (b/v), kemudian enzim bromelin kasar ditambahkan pada konsentrasi rancangan beberapa kosentrasi 0 ; 1,5% : 2% (enzim/substrat) dengan lama waktu ekstraksi 2 jam, 3 jam, 4 dan kemudian diinkubasikan dengan suhu 30°C . Setelah ekstraksi, sampel didinginkan pada suhu -20°C selama 10 menit untuk menonaktifkan enzim.

Setelah ekstraksi, ekstrak disaring dengan menggunakan kain dengan ukuran 25 μ . Kemudian di keringkan dengan suhu ruang dingin dengan suhu 18-20°C.

Prosedur Pengujian

Kelarutan (Shon *et al.* 2011)

Pengujian kelarutan kolagen dengan cara sample seberat 0,5 g dan dilarutkan ke dalam aquades 5 mL hingga homogen pada suhu ruang. Kemudian sampel di sentrifugasi pada kecepatan 4500 g x g suhu 22°C selama 30 menit. Endapan yang dihasilkan pisahkan dan dikeringkan dalam oven 130°C selama 20 menit kemudian ditimbang. Untuk menghitung kadar kelaurtan dapat menggunakan rumus :

$$Ketidaklarutan (\%) = \frac{Berat Akhir}{Berat Awal} \times 100$$

$$Kelarutan (\%) = 100 - ketidaklarutan$$

Viskositas

Pengukuran Viskositas berdasarkan modifikasi (Ahmad dan Benjakul, 2010), diukur dengan mengguankan *Viscometer Brookfield*. Kolagen dilarutkan dengan mengguankan asam asetat 0,1 M dengan kosentrasi 0,3% (b/v). Larutan diukur dengan menggunakan spinder no 1 dan kecepatan 60 rpm.

pH (AOAC, 2005)

Kolagen kering diambilkan sebanyak 1 g dilarutkan dengan akuades 20 ml. pH diukur dengan menggunakan alat pH meter digital. Elektroda pada pH meter dicelupkan kedalam sampel dan pada proyektor pH meter akan diperoleh angka yang stabil.

Berat Molekul (Astina, 2016)

Pengujian berat molekul diperlukan sebanyak 2 mg sampel kering kemudian dilarutkan kedalam *Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS) 5% sebanyak 1 mL, kemudian inkubasi dengan menggunakan *waterbath* agar dapat terkontrol selama 1 jam pada suhu 85°C agar suhunya. Campuran selanjutnya di masukkan dalam sentrifugasi pada pada suhu kamar 4,000

x g selama 5 menit. Supernatan yang didapat dicampur dengan bufer (TrisHCl 60 mM, pH 6.8 mengandung 2% SDS dan 25% gliserol) dengan rasio 1:1 (v/v) dan mengandung 10% β -merkaptoetanol (β ME). Kemudian Campuran tersebut dipanaskan dalam air mendidih selama 2 menit. Sampel sebanyak 5 μ L dimasukkan ke dalam *gel polyacrylamide* yang terdiri dari 3% *stacking* dan *gel 7.5% running gel* dan dielektroforesis pada arus konstan 15 mA/gel selama 3 jam. Setelah elektroforesis selesai, gel *distaining* dengan 0.05% (b/v) *coomassie blue* R-250 dalam metanol 15% (v/v) dan asam asetat 5% (v/v) selama 3 jam, kemudian sampel *destaining* dengan campuran 30% (v/v) metanol dan 10% (v/v) asam asetat selama 2 jam. Berat molekul protein sampel diperkirakan berdasarkan berat molekul marker. Marker yang digunakan adalah *Pre-stained Protein Markers (Broad Range) for SDS-PAGE* dari Nacalai Tesque dengan berat molekul 10 kDa sampai 260 kDa.

Antioksidan FRAP (Deachanty, 2017)

Pengujian aktivitas antioksidan kolagen ikan patin ekstraksi dengan enzim bromelin kasar dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) metode Kumar *et al.* (2014) yang telah dimodifikasi. Preparasi reagen FRAP dilakukan dengan cara buffer asetat 300 mM pH 3,6 (8 mL CH_3COONa dan 92 mL CH_3COOH), dan 10 mM larutan TPTZ (2,4,6-tripyridyl-striazine) dalam 40mM HCl dan FeCl_3 . Pengukuran absorbansi menggunakan 400 μ L sampel dan 2600 μ L reagen FRAP. sampel dan reagen FRAP dimasukkan kedalam tabung kemudian di vorteks agar homogen, kemudian diinkubasi menggunakan *waterbath* agar terkontrol dengan suhu 37°C selama 30 menit. Pengukuran absorbansi dilakukan di panjang gelombang 595 nm. Kurva standar dalam metode ini digunakan larutan Ferrous sulfat dengan beberapa konsentrasi.

Analisis Data

Proses ekstraksi menggunakan enzim bromelin kasar dengan variasi waktu dan konsentrasi yaitu waktu 3 jam (T1), 3,5 jam (T2) dan 4 jam (T3) dan konsentrasi enzim

bromelin kasar 0 (E1) ; 1,5 % (E2) ; 2 % (E3) dengan pengulangan sebanyak 3 kali ulangan, Data yang didapat akan di analisis menggunakan Analisis ragam (ANOVA) dan apabila ada perbedaan nyata maka akan dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi Kimia Kulit Ikan Patin

Sampel kulit ikan yang telah dilakukan proses pembersihan, selanjutnya dilakukan pengujian proksimat. Tujuan pengujian proksimat ini yaitu untuk mengetahui kandungan gizi untuk melihat potensi kulit ikan patin yang akan di gunakan sebagai bahan baku dalam menghasilkan kolagen.

Analisis karakteristik bahan baku dilakukan dengan menguji komposisi kimia. Adapun analisis komposisi kimia yang dilakukan pada penelitian ini meliputi kadar air, kadar abu, kadar protein dan kadar lemak. Karakteristik Kimia bahan baku kulit ikan patin dapat dilihat pada Table 1.

Table 1 Proximate composition of fish skin

Composition	Catfish ¹ (<i>Pangasius sp</i>) (%)	Catfish ² (<i>Chana striata</i>) (%)	Tuna ³ (<i>Thunnus albacares</i>) (%)	Catfish ⁴ (<i>Pangasius pangasius</i>) (%)
Water	67.22	77.18	59.31	66.80
Ash	0.16	0.47	5.73	0.14
Protein	27.19	20.36	27.32	19.48
Lipid	3.39	1.42	6.17	2.33

Note : ¹ Research data ; ² Wulandari 2016; ³Hadinoto and Idrus 2018 ; ⁴Devi *et al.* 2017

Hasil penelitian menunjukkan bahwa protein bahan baku kulit ikan patin lebih tinggi di bandingkan dengan komposisi lainnya. Kadungan protein kulit ikan patin lebih tinggi dibandingkan dengan ikan gabus (Wulandari 2016) dan dari ikan patin (Devi *et al.* 2017) akan tetapi mempunyai nilai sama dengan dengan ikan tuna (Hadinoto dan Idrus 2018).

Kandungan lemak kulit ikan patin lebih rendah bila dibandingkan dengan ikan tuna (*Thunnus albacore*) (Hadinoto dan Idrus 2018) dan lebih tinggi jika di bandingkan dengan ikan gabus dan ikan patin (Wulandari 2016, Devi *et al.* 2017). Sedangkan kadar abu hasil analisis lebih rendah bila dibandingkan ikan gabus (Wulandari 2016) dan ikan ikan tuna (Hadinoto dan Idrus 2018) dan lebih tinggi dibandingkan dengan ikan patin dari analisis (Devi *et al.* 2017).

Kelarutan

Hasil Analisis Varian menunjukkan bahwa Faktor T (waktu Perendaman) tidak berpengaruh nyata (0,138) ($P>0,01$) dan Faktor E (kosentrasi enzim bromelin kasar) Tidak berpengaruh nyata ($P>0,01$) terhadap kelarutan. Terdapat interaksi yang sangat nyata ($P<0,01$) antara faktor T dengan E terhadap kelarutan.

Nilai terbaik kelarutan dari kolagen yang diekstrak dengan menggunakan enzim bromelin kasar yaitu perlakuan T3.E2 mencapai 98,96%, nilai tersebut tinggi jika dibandingkan (Pertiwi 2016) yaitu 91,36% dan kelarutan kolagen yang baik akan sangat mempermudah pengaplikasiannya (Pertiwi 2016).

Viskositas

Hasil Analisis Varian menunjukkan bahwa antara Faktor T, Faktor E dan interaksi kedua nya tidak berpengaruh nyata ($P>0,01$) terhadap viskositas. Nilai terbaik Viskositas dari ekstraksi kolagen kulit ikan patin dengan enzim bromelin kasar yaitu 22,67 cP pada suhu ruang, nilai yang dihasilkan kecil jika dibandingkan dengan hasil penelitian dari Ahmad dan Benjakul (2010) yaitu kolagen PSC (*Pepsin Sololube Collagen*) dari tuna sirip kuning dengan nilai Viskositas 21,1 cP, tuna albakor 22,8 cP , viskositas akan turun apabila suhu dinaikkan menjadi 32°C, ini dikarenakan oleh ikatan hidrogen yang berperan untuk menjaga kestabilan struktur kolagen telah rusak.

Derajat Keasaman (pH)

Tabarestani *et al* (2012), nilai derajat keasamaan dari kolagen berkaitan dengan kelarutan, hal ini juga dapat disebabkan selama proses hidrolisis penggunaan jenis dan konsentrasi asam dan basa yang berbeda. Hasil pH berdasarkan Analisis Varian menunjukkan bahwa Faktor T tidak berpengaruh nyata (0,394) ($P>0,05$) dan Faktor E sangat berpengaruh nyata ($P<0,01$) terhadap pH. Faktor T dengan E memiliki interaksi yang sangat nyata ($P<0,01$) terhadap pH. Hasil uji DMRT Tidak ada perbedaan nyata antara perlakuan T1, T2 dan T3 akan tetapi Terdapat perbedaan nyata pada perlakuan E1 terhadap E2. terdapat perbedaan nyata antara perlakuan E1 dan E3. serta berbeda nyata antara perlakuan E2 dan E3.

Nilai pH terbaik yang diperoleh dari hasil ekstraksi kolagen dari kulit ikan patin dengan enzim bromelin kasar dari kulit Nanas yaitu pada T1.E2 6,73 , hasil ini sesuai jika dilihat dari syarat mutu kolagen SNI 8076:2014 yaitu 6,5-8. Nilai tersebut tinggi jika dibandingkan dengan kolagen oleh peng *et al*, (2004) yaitu berkisar antara 3,8-4,7, kolagen dari kulit ikan gabus sebesar 5,24 (wulandari 2016) dan dari kulit ikan patin yang diekstrak dengan suhu 40°C sebesar 5,53 (Devi *et all.* 2017).

Terdapat perbedaan nilai derajat keasaman (pH) kolagen dapat dikarenakan adanya jenis dan konsentrasi larutan berbeda yang ditambahkan baik asam atau basa serta proses untuk penetralan. Nilai pH rendah juga dapat diakibatkan oleh kandungan asam asetat yang masih tersisa sehingga konsentrasi ion hidrogen yang lebih tinggi (Lower 2013), dan nilai pH yang juga juga disebabkan oleh nilai pH yang rendah dari asam asetat yang digunakan yaitu 2,3 (Skierka dan Sadowska, 2007). di karenakan adanya proses hidro-ekstraksi sebelum proses ekstraksi dengan enzim bromelin kasar.

Aktivitas Antioksidan

Aktifitas antioksidan kolagen yang di ekstrak kulit ikan patin di tentukan dengan menggunakan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Metode pengujian

dengan FRAP adalah untuk menentukan aktifitas antioksidan yaitu dengan mengukur antioksidan dalam mereduksi Fe^{3+} yang kompleks $Fe^{3+}TPTZ$ menjadi $Fe^{2+}TPTZ$ dengan cara mendonorkan elektronnya.

Hasil pengamatan aktifitas antioksidan pada kolagen menunjukkan nilai tertinggi pada perlakuan T1.E3 memiliki nilai yaitu 20,45 ferrous sulfate/g, dan pada perlakuan T2.E3 dengan nilai 16,30 μmol ferrous sulfate/g dan pada perlakuan T3.E3 yaitu 15,08 μmol ferrous sulfate/g dan nilai terendah yaitu pada perlakuan T2.E2 yaitu 7,00 μmol ferrous sulfate /g dan sangat berbeda nyata dengan perlakuan kontrol tanpa penambahan enzim bromelin kasar yaitu 4,52 μmol ferrous sulfate /g. Hasil analisis sidik ragam perbedaan waktu tidak berbeda nyata dan jumlah enzim yang digunakan berpengaruh nyata, akan tetapi interaksi keduanya memberikan pengaruh sangat nyata ($p < 0,05$) terhadap aktivitas antioksidan. Hasil analisis antioksidan kalogen kulit ikan patin yang diekstrak dengan enzim bromelin kasar dapat dilihat pada figure 1.

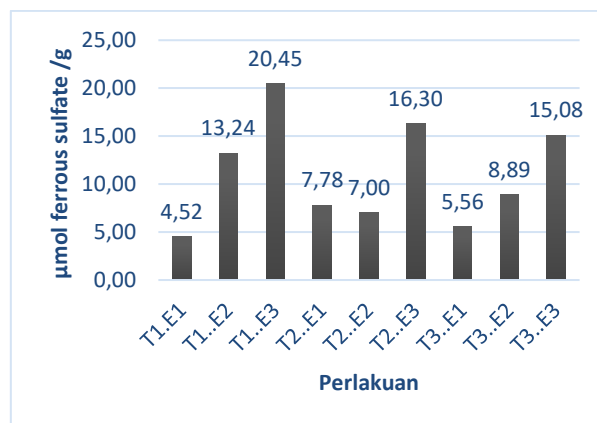


Figure 1 Antioxidant activity of pangas collagen

Sejumlah penelitian kolagen yang di ekstraksi dari ikan memiliki stabilitas antioksidan seperti hidrolisat kolagen dari kulit Pollack yang diekstraksi secara alcalase, (Sun *et al* 2016). Hidrolisat kolagen dari ikan tuna mempunyai aktivitas antioksidan dengan IC_{50} sebesar $66,28 \pm 0,12 \mu\text{g/mL}$ (Nurilmala *et al.* 2020). Aktifitas antioksidan juga telah dilaporkan dengan pengujian DPPH terhadap hidrolisat kolagen yang di ekstrak dengan enzim

papain dari kulit dan tulang ikan patin dengan aktivitas antioksidan dari tulang ikan sebaesar 71,55% dan dari kulit ikan 63,06% (Baehaki 2015).

Jumlah asam amino hidrofobik yang tinggi dalam urutan peptida, terutama jenis Glisin dan Prolin berkontribusi secara signifikan dalam aktifitas antioksidan karena secara tepat bereaksi oleh hidrofobik. Oleh karena itu, kolagen dari kulit ikan yang dihasilkan mengandung elektron peptida yang dapat bereaksi dengan radikal bebas untuk mengubahnya dan dapat digunakan sebagai bahan tambahan dan makanan fungsional dan obat-obatan sebagai sumber alternatif antioksidan alami.

Berat Molekul

Hasil SDS- Page dari kolagen kulit ikan patin yang di ekstraksi dengan menggunakan enzim bromelin kasar dapat di lihat pada gambar 1. Berat molekul kulit ikan patin menggunakan ekstraksi enzim bromelin kasar 1,0 U/g memiliki struktur yang identik dengan $\alpha 1$ dan $\alpha 2$. Rantai α menunjukkan bahwa kolagen kulit ikan patin termasuk kolagen tipe I. Hasil SDS-Page kolagen kulit ikan patin yang diekstrak dengan enzim bromelin kasar dapat dilihat pada figure 2.

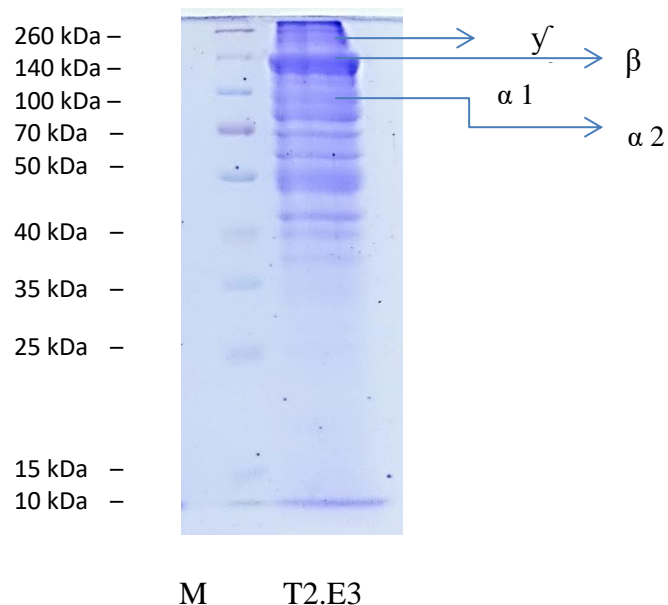


Figure 2. SDS-Page of catfish skin (M) marker, time of 4 hours and concentration of 2% (T2.E3) Collagen extraction with kasar bromelain enzyme

Table 2. Weight of Collagen Kasar Molecules of Bromelain Enzymes and several types of fish

Sumber Kolagen	α^1 (kDa)	α^2 (kDa)	β (KDa)	γ (kDa)
<i>Skin of Catfish</i> ¹	131,51	110,48	202,48	243,92
<i>Skin of Catfish</i> (Pangasianodon hypophthalmus) ²	>116	116	220	>220
Redbelly Yellowtail Fusilier Fish Skin (ASC)				
Redbelly Yellowtail Fusilier Fish Skin (PaSC) ³	122	112	186-203	251
Fish Skin <i>Siganus fuscescens</i> , <i>Kyphosus bigibbus</i> , <i>Myliobatis tobijei</i> , <i>Dasyatis akajei</i> , <i>Dasyatis Laevigata</i> ⁴	120	112-114		

Note: ¹ Research data ; ² Singh *et al.* (2011); ³ Astiana *et al.* (2016); ⁴ Bae *et al.* (2008)

Kolagen yang di ekstraksi dari kulit ikan memiliki struktur identik dengan $\alpha 1$ dan $\alpha 2$ yang termasuk dalam golongan kolagen tipe I. (Ogawa *et al.*, 2004) , kolagen tipe I mengandung 3 rantai polipeptida dengan masing-masing berat molekul 94 kDa dan banyak ditemukan pada jaringan ikat dan bagian tendon . Shoulder dan Raines, (2009) Polipeptida dari kolagen tipe I terdiri rantai α dengan struktur heliks yang melingkari rantai lainnya membentuk untaian tali. Gelse *et al.* (2003), kolagen tipe I mempunyai Struktur *triple helix* terbentuk atas heterotrimer dari dua rantai $\alpha 1$ dan satu rantai $\alpha 2$. Struktur β (*α chain dimers*) dan γ (*α chain trimers*) menunjukkan adanya ikatan silang kovalen pada molekul kolagen (Chi *et al.*2014).

Kolagen dari kulit ikan patin yang diekstrak menggunakan enzim bromelin kasar dari kulit nanas memiliki struktur kolagen tipe I yang mengandung struktur identik $\alpha 1$, $\alpha 2$, β , dan γ . Kolagen kulit ikan patin enzim bromelin kasar mempunyai Berat molekul $\alpha 1$, $\alpha 2$, β , dan γ ini terlihat bahwa setara dengan kolagen yang sumber bahan baku sama dari penelitian (Singh *et al.* 2011) dan beberapa ikan laut (Bae *et al.* 2008) (Tabel 1). Dari hasil berat molekul tersebut terlihat bahwa kolagen yang diekstraksi dengan enzim bromelin kasar belum berubah menjadi produk turunan kolagen yaitu gelatin. Karim dan Bhat (2009) Berat molekul dari gelatin lebih rendah dari kolagen yaitu dari 80-250 kDa. Hermanto *et al.* (2013)

juga menyampaikan bahwa gelatin babi mempunyai berat molekul sebesar 28.6 kDa -36.2 kDa.

Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah: Kolagen yang di ekstraksi dengan menggunakan enzim bromelin kasar dari kulit Nanas menghasilkan Aktivitas antioksidan terbaik pada perlakuan dengan waktu perendaman 3 jam dan konsentrasi enzim 2% (T1.E3), pH yang sesuai dengan SNI 8740:2014 yaitu pada perlakuan T1E2, Viskositas pada suhu ruang akan tetapi tingkat kelarutan kolagen dalam aquades terbaik pada perlakuan T3E2. Berat molekul dari kolagen ekstraksi enzim bromelin kasar di katagori kan Tipe I dengan nilai tersebut dapat dikatakan bahwa ekstraksi dapat di ekstraksi dengan enzim bromelin kasar kulit Nanas.

Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kementerian Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia / Badan Riset dan Sumberdaya Manusia Kelautan dan Perikanan atas dukungan pendanaan Magister Terapan dan Penulis mengucapkan terimakasih Atas bantuan dan dukungan selama penelitian kepada Ibu Pipih Suptijah.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad M, Benjakul S. 2010. Extraction and characterization of pepsin soluble collagen from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*). *Food Chemistry*. 120:817-824. Doi:10.1016/j.foodchem.2009.11.019.
- Ahmed R, Chun BS. 2018. Subcritical water hydrolysis for the production of bioactive peptides from tuna skin collagen. *The Journal of Supercritical Fluids*, 141 (1) : 1-35.
- Astiana I. 2016. Efektifitas Asam Dan Enzim Papain Dalam Menghasilkan Kolagen Dari Kulit Ikan Ekor Kuning (*Caesto cuning*). [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Astiana I, Nurjanah, Nurhayati T. 2016. Karakterisasi kolagen larut asam dari kulit ikan ekor kuning (*Caesto cuning*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 19(1): 79-93.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. Official Method of Analysis (18 Edn). Arlington, Virginia, USA : Published by The Association of Official Analytical Chemist. Inc.

- Baehaki A, Nopianti R, Anggraeni S. 2015. Antioxidant activity of skin and bone collagen hydrolyzed from striped catfish (*Pangasius pangasius*) with papain enzyme. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 7(11): 131-135.
- Baehaki A, Lestari SD, Desliani I. 2016. Collagen Hydrolysis from skin and bone of *Pangasius* catfish Prepared by Bromelain Enzyme and Antioxidant Activity of Hydrolysate. *Der Pharma Chemica*, 8 (4):155-158.
- Bae I, Osatomi K, Yoshida A, Osako K, Yamaguchi A, Hara K. 2008. Chemical properties of acid-soluble collagens extracted from the skins of underutilized fishes. *Food Chemistry* 108: 49-54.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. 2014. SNI 8076:2014. Standar Nasional Indonesia tentang kolagen kasar dari sisik ikan. Jakarta(ID): Badan Standarisasi Nasional.
- Chi C, Wang B, Li Z-R, Luo H-Y, Ding G-F, Wu C-W. 2014. Characterization of acid-soluble collagen from the skin hammerhead shark (*Sphyrna lewini*). *Journal of Food Biochemistry*. 38: 236–247.
- Devi HLNA, Suptijah P, Nurilmala M. 2017. Efektivitas alkali dan asam terhadap mutu kolagen dari kulit ikan patin. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(2): 255–265.
- Hadfi N.H. and Sarbon, N.M. 2019. Physicochemical properties of silver catfish (*Pangasius* sp.) skin collagen as influenced by acetic acid concentration. *Food Research* 3 (6) :783 – 790.
- Haditono S, Idrus S. 2018. Proporsi dan Kadar Proksimat Bagian Tubuh Ikan Tuna Ekor Kuning (*Thunnus albacares*) dari Perairan Maluku. *Majalah BIAM (Bahan Alam, Industri, Aneka Pangan, Minyak Atsiri)* 14: 51-57
- Hartina U, M. R., Qhairul Anuar, H., Nor Qhairul Izzreen, M. N., Hasmadi, M. 2019. Properties Of Hydrolysed Collagen From The Skin Of Milkfish (*Chanos chanos*) as Affected by Different Enzymatic Treatments.” *International Journal of Research Science & Management* 6 (2).
- Hastarini E, Fardiaz D, Irianto HE, Budijanto S. 2012. Karakteristik Minyak Ikan Dari Limbah Pengolahan Filet Ikan Patin Siam (*Pangasius hypophthalmus*) Dan Patin Jambal (*Pangasius djambal*). *AGRITECH*, , Vol. 32, No. 4
- [KKP] Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2018. *Produktivitas Perikanan Indonesia Pusat Data Statistika dan Informasi Kementerian Kelautan dan Perikanan Tahun 2018*. Jakarta: (ID) Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Murray BA, Fitzgerald RJ. 2007. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins: Biochemistry, bioactivity and production. *Current Pharmaceutical Design* 13(8): 773-791.

- Ogawa M, Portier RJ, Moody MW, Bell J, Schexnayder MA, Losso JN. 2004. Biochemical properties of bone and scale collagens isolated from the subtropical fish black drum (*Pogonias cromis*) and sheepshead seabream (*Archosargus probatocephalus*). *Food Chemistry* 88: 495-501.
- Peng Y, Glattauer V, Werkmeister JA, Ramshaw JAM. 2004. Evaluation for collagen products for cosmetic application. *Journal of Cosmetic Science*. 55:327-342. Doi10.1111/j.1467-2494.2004.00245.2.x.
- Pertiwi RM. 2016. Ekstraksi dan karakterisasi kolagen larut papain dari kulit ikan tuna sirip kuning [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Potaros T, Raksakhulthai N, Runglerdreangkrai j, Worawattanamateekul W. 2009. Characteristics of collagen from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin isolated by two different methods. *Natural Science*. 43(3):584-593.
- Prastyo DT, Trilaksana W, Nurjanah. 2020. Aktivitas Antioksidan Hidrolisat Kolagen Kulit Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *JPHPI*, Volume 23 (3): 423-433.
- Suptijah P, Indriani D, Wardoyo SE. 2018. Isolasi dan Karakterisasi Kolagen dari kulit Ikan Patin (*Pangsius sp*). *Sains Natural Universitas Nusa Bangsa*, vol 8,no 1 8-23.
- 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*. 124: 97–105.
- Sintusamran S, Benjakul S, Kishimura H. 2013. Comparative study on molecular characteristics of acid soluble collagens from skin and swim bladder of seabass (*Lateolabrax japonicus*). *Food Chemistry* 138:2435-2441
- Shon j, Ji-Hyun E, Hwang SJ, Jong Bang E. 2011. Effect of processing conditions on functional properties of collagen powder from Skate (*Raja kenoi*) skins. *The Journal of Food Science Biotechnology*. 20 (1):99-106.
- Tabarestani SH, Maghsoudlou Y, Motamedzadega A, Mahoonak SAR, Rostamzad H. 2012. Study on some properties of acid-soluble collagens isolated from fish skin and bones of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *International Food Research Journal* 19(1):251-257.
- Walters BD, Stagemann JP. 2014. Review: Strategies for directing the structure and function of three-dimensional collagen biomaterials across length scales. *Acta Biomaterialia*. 10(4): 1488-1501.
- Wulandari. 2016. Karakteristik fisikokimia kolagen yang diisolasi dengan metode hidroekstraksi dan stabilisasi nanokolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*) [tesis]. Bogor (ID) : Institut Pertanian Bogor.
- Wu RB, Wu CL, Liu D, Yang XH, Huang JF, Zhang J, Liao BQ. 2018. "and anti-freezing peptides from salmon collagen hydrolysate prepared by bacterial extracellular protease." *Food Chemistry* 248: 346-352.

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. 2007. "Free radical and antioxidant in normal physiological function and human disease." *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 39(1): 44-84.

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOLAGEN DARI KULIT IKAN PATIN (*Pangasius* sp.) DENGAN ENZIM BROMELIN KASAR KULIT NANAS (*Ananas comosus* L.)

Fitri Yanti^{1,4*}, Niken Dharmayanti², Suryanti³

¹Program Studi Pemanfaatan Sumberdaya Perikanan, Peminatan Industri Pengolahan Hasil Perikanan

²Politeknik AUP Jakarta, Jl.AUP No1 Pasar Minggu-Jakarta Selatan

³Peneliti BBRPB Kelautan dan Perikanan, Jl. KS Tubun, Petamburan VI,Slipi, Jakarta Pusat

⁴Politeknik Kelautan dan Perikanan Aceh, Jl. Laksamana Malahayati Aceh Besar

Diterima: 28 Juli 2021/Disetujui: 7 April 2022

*Korespondensi : fitri.adr06@gmail.com

Cara sitasi: Yanti F, Dharmayanti N, Suryanti. 2022. Aktivitas antioksidan kolagen dari kulit ikan patin (*Pangasius* sp.) dengan enzim bromelin kasar kulit nanas (*Ananas comosus* L.). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 25(1): 88-96.

Abstrak

Kulit patin merupakan salah satu hasil samping industri perikanan yang berpotensi sebagai sumber alternatif kolagen dan memiliki aktivitas antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah menentukan aktivitas antioksidan yang terkandung dalam kolagen dari kulit ikan patin yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin kasar dari kulit buah nanas. Kolagen dibuat menggunakan enzim bromelin kasar dari kulit nanas dengan aktivitas 1,0 U/g melalui beberapa tahapan yaitu *pretreatment*, *deproteinase*, *degreasing* dan ekstraksi. Data perlakuan dengan kombinasi waktu perendaman dan konsentrasi enzim bromelin kasar, dengan waktu perendaman 3; 3,5; dan 4 jam serta konsentrasi enzim bromelin kasar 0; 1,5%; 2%. Data dianalisis menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelarutan terbaik didapat pada perlakuan T3.E2 (waktu 4 jam, konsentrasi 1,5%) yaitu 98,96%, viskositas terbaik yaitu 22,67 cP, derajat keasaman (pH) terbaik pada T1.E2 (waktu 3 jam, konsentrasi 1,5%) yaitu 6,73, berat molekul α_1 , α_2 , β dan γ adalah : 131,51 kDa, 110,48 kDa, 202,48 kDa dan 243,93 kDa, aktivitas antioksidan terbaik pada perlakuan T1.E3 (waktu 3 jam, konsentrasi 2%) yaitu 20,45 fero sulfat/g.

Kata kunci: antioksidan, enzim bromelin kasar, ikan patin, kolagen

Antioxidant Activity of Collagen from the Skin of Pangas Catfish (*Pangasius* sp) with Crude Bromelain Enzyme of Pineapple Peel

Abstract

Pangas catfish skins is one of the fishery by-products containing certain compounds which have the potential to be used as an alternative source of collagen having antioxidant activity. The purpose of this study is to determine the antioxidant activity of collagen from the skin of pangas catfish that extracted with bromelain enzyme of pineapple peel. The collagen was made using crude bromelain enzyme from pineapple peel with an activity of 1.0 U/g in several stages, which were pretreatment, deproteinization, degreasing, and extraction, using data analysis a combination of 3; 3.5; and 4 hours with crude enzyme concentrations of 0; 1.5%; 2%. The data was analysed using completely randomized design (CRD). The results showed that the best solubility was obtained in the T3.E2 (4 hours, concentration 1.5%) treatment which was 98.96%. The best viscosity was 22.67 cP. The best acidity (pH) at T1.E2 (3 hours, concentration 1.5%) was 6.73. The molecular weights α_1 , α_2 , β and γ were: 131.51 kDa, 110.48 kDa, 202.48 kDa and 243.93 kDa. The best antioxidant activity was in the T1.E3 (3 hours, concentration 2%) treatment, which was 20.45 ferrous sulfate/g.

Keywords: antioxidant, catfish, collagen, crude bromelain enzyme

PENDAHULUAN

Ikan patin (*Pangasius sp*) merupakan komoditas air tawar Indonesia yang produksinya sangat meningkat seiring dengan permintaan pasar terhadap filet daging ikan patin. Laheng *et al.* (2016), permintaan pasar baik dari pasar domestik dan internasional meningkat pesat terhadap industri filet ikan patin. Data produksi ikan patin pada tahun 2016, mencapai 437.111 ton, dan meningkat sangat signifikan dari tahun sebelumnya sebesar 339.069 ton. Pada tahun 2018 produksi ikan patin meningkatkan mencapai 604.587 ton (KKP 2018). Dari data tersebut menunjukkan bahwa produksi patin meningkat setiap tahunnya. Oleh karena itu, dengan peningkatan produksi juga diikuti oleh peningkatan hasil samping yang terdiri dari kulit, kepala, tulang dan isi perut. Hasil samping yang dihasilkan dari industri pengolahan cukup signifikan mencapai 20-80% dari total bahan baku. Hasil samping tersebut dapat di olah menjadi produk yang bernilai tambah tinggi antara lain protein, minyak, asam amino, mineral, enzim, peptida bioaktif, gelatin dan kolagen (Gahly *et al.* 2013). Pengolahan patin menjadi produk filet akan menghasilkan hasil samping berupa kulit sebesar 5,12-6,14 % dari berat ikan (Hastarini 2012), sehingga dengan jumlah persentasi tersebut maka berpotensi untuk dapat dijadikan bahan baku kolagen.

Kolagen merupakan salah satu senyawa dari protein *fibrous* yang ada dalam jaringan ikat dan komponen yang menyusun komponen struktural utama, selain itu juga merupakan komponen bagian tubuh seperti gigi, otot tulang, kuku. Kolagen terdiri dari tiga rantai polipeptida yang merupakan konformasi *triple helix* (Walters dan Stegemann 2014; Pal *et al.* 2015) dan termasuk ke dalam kelompok protein yang larut dalam air. Kolagen yang terdapat pada gigi, tendon, kulit, kornea mata dan tulang mencapai 25-30% dari total protein hewani (Potaros *et al.* 2009; Sinthusamran *et al.* 2013). Saat ini kolagen komersial banyak yang diproduksi dari babi dan sapi, penelitian banyak dilakukan untuk menggantinya yaitu dari hasil samping produksi perikanan. Hal ini tentunya dapat meningkatkan nilai tambah hasil samping

produksi perikanan baik dari sisi fungsi dan ekonominya. Aktivitas biologi kolagen terus dilakukan penelitian untuk mengetahui manfaat yang penting bagi tubuh.

Kolagen yang diperoleh dari proses secara enzimatik menggunakan enzim protease akan menghasilkan hidrolisat protein kolagen yang diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis yang bermanfaat di bidang kesehatan. Aktifitas biologis dari protein dalam bentuk peptida masih rendah dan dapat ditingkatkan dengan proses hidrolisis oleh enzim yang dapat melepaskan dari ikatan panjang fragmen protein kompleks (Murray dan Fitzgerald 2007). Aktivitas biologis kolagen dapat dimanfaatkan di bidang kesehatan dan kecantikan. Murray dan Fitzgerald (2007) aktivitas biologis protein dalam bentuk kompleks polipeptida rendah dan untuk meningkatkan aktivitas biologisnya dapat melalui proses hidrolisis oleh enzim sehingga protein kompleks dapat terlepas dari ikatan fragmennya. Wu *et al.* (2018) melaporkan bahwa aktivitas antioksidan dan antibeku terdeteksi pada hidrolisat kolagen yang di ekstraksi dari ikan salmon. Ahmed dan Chun (2018) dalam penelitiannya melaporkan bahwa dalam hidrolisat kolagen kulit ikan tuna ditemukan adanya aktivitas antioksidan dan antimikroba.

Radikal bebas yang berasal dari pangan serta lingkungan yang dapat menyebabkan stres oksidatif pada tingkat sel dan apabila terjadi secara kontinu maka akan menyebabkan rusaknya sistem metabolisme yang berujung penyakit degradatif. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat untuk menghambat laju dari reaksi oksidasi (Valko *et al.* 2007). Hidrolisat protein telah diketahui mengandung aktivitas antioksidan dengan mekanisme donor atom hidrogen sehingga dapat menangkal laju oksidasi (Mendis *et al.* 2005).

Sejumlah penelitian telah dilakukan terkait dengan pemanfaatan hasil samping produksi perikanan dengan cara ekstraksi kolagen, di antaranya kolagen dari kulit ikan pollock (Sun *et al.* 2016), gelembung renang ikan patin (Simamora *et al.* 2019), dan hasil samping mata tuna (*Thunnus sp.*). Prastyo (2020) melaporkan bahwa aktivitas

antioksidan dari hidrolisat kolagen kulit ikan nila mencapai IC_{50} sebesar $93,32\mu\text{g}/\text{mL}$. Penelitian lebih lanjut untuk sediaan bioaktif antioksidan perlu dilakukan dari hasil samping produksi perikanan.

Jumlah dari hasil samping produksi perikanan yang melimpah, sehingga perlu adanya penanganan yang optimal untuk meningkatkan nilai ekonomi serta nilai fungsi yang dimiliki. Selain itu diketahui bahwa sediaan obat dari bahan alami lebih sedikit efek samping dibandingkan dengan sediaan obat yang disintesis secara kimiawi. Tujuan penelitian ini adalah menentukan aktivitas antioksidan kolagen kulit ikan patin yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin kasar dari kulit buah nanas.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan baku utama yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah kulit ikan patin yang diperoleh dari perusahaan PT Sumatera Food industri Lampung, bahan kimia yang digunakan adalah enzim bromelin kasar 1,0 U/g, NaOH (Merck, Jerman), CH_3COOH (Merk, Jerman), akuades, dan bahan analisis lainnya. Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kain saring 500 mesh, gelas ukur (pyrex), neraca digital Satorius, sentrifus (5810 R Jerman), pengaduk magnet dengan lempeng hangat, pH meter (Ionix, PH5S), *Rion Viscotester VT - 04F* (Rion, China).

Metode Penelitian

Penelitian ini diawali dengan proses preparasi bahan baku dan karakteristik kulit ikan patin berupa analisis kimia komposisi proksimat, praperlakuan menggunakan NaOH; *degreasing* dengan CH_3COOH dan ekstraksi menggunakan enzim bromelin kasar.

Preparasi Dan Ekstraksi Kulit Ikan Patin (Suptijah 2018, Hadfi dan Sarbon 2019, Baehaki 2016, Hartina *et al.* 2019) dengan Modifikasi

Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini menggunakan kulit ikan patin yang diperoleh dari industri pengolahan fillet dengan ukuran ikan patin ± 1 kg/ekor. Ikan dikirimkan ke laboratorium, dengan

cara kulit ikan sudah dibekukan terlebih dahulu kemudian dikemas dalam styrofoam agar kualitas kulit ikan patin tetap terjaga. Kemudian kulit ikan patin dilakukan preparasi dengan cara membersihkan kulit dari sisa daging yang menempel, dan dilakukan pengecilan ukuran $0,5 \times 0,5 \text{ cm}^2$, yang berfungsi untuk memperluas permukaan sehingga mempermudah dalam tahap *degreasing*.

Proses *degreasing* bertujuan untuk menghilangkan protein nonkolagen menggunakan NaOH. Kulit ikan patin direndam dalam larutan NaOH 0,05 M dengan perbandingan 1:10 (w/v) pada waktu perendaman selama 12 jam. Larutan alkali diganti setiap 2 jam pada suhu 4°C modifikasi (Hadfi dan Sarbon 2019). Sampel kemudian dicuci dengan air dingin mencapai pH netral dicapai.

Setelah *degreasing*, kemudian dihidrolisis menggunakan asam asetat (CH_3COOH). Hidrolis dengan larutan asam dilakukan dengan merendam sampel dengan asam asetat 1:6 (w/v) dengan konsentrasi 0,03; 0,05; 0,1 M selama 1,5 jam modifikasi (Suptijah 2018). Sampel disaring dengan menggunakan saringan kain ukuran 25 mikron.

Ekstraksi kolagen kulit ikan dilakukan menggunakan metode (Baehaki 2016 dan Hartina 2019) yang dimodifikasi, selanjutnya dilakukan proses ekstraksi menggunakan enzim bromelin kasar. Kulit ikan diberi perlakuan akuades disesuaikan dengan rasio 2:1 (b/v), kemudian enzim bromelin kasar ditambahkan pada konsentrasi rancangan beberapa konsentrasi 0; 1,5; 2 (% enzim/substrat) dengan lama waktu ekstraksi 2, 3, 4 jam dan kemudian diinkubasi dengan suhu 30°C . Setelah ekstraksi, sampel didinginkan pada suhu -20°C selama 10 menit untuk menonaktifkan enzim. Setelah ekstraksi, ekstrak disaring menggunakan kain dengan ukuran 25μ kemudian dikeringkan pada suhu ruang dingin $18-20^\circ\text{C}$.

Prosedur Pengujian

Analisis kelarutan (Shon *et al.* 2011)

Pengujian kelarutan kolagen dengan cara sampel seberat 0,5 g dilarutkan ke dalam akuades 5 mL hingga homogen pada suhu ruang. Kemudian sampel disentrifugasi pada

kecepatan 4.500 xg suhu 22°C selama 30 menit. Endapan yang dihasilkan kemudian dipisahkan dan dikeringkan dalam oven 130°C selama 20 menit kemudian ditimbang. Untuk menghitung kadar kelarutan menggunakan rumus:

$$\text{Ketidaklarutan (\%)} = \frac{\text{Berat Akhir}}{\text{Berat Awal}} \times 100$$

$$\text{Kelarutan (\%)} = 100 - \text{ketidaklarutan}$$

Viskositas

Pengukuran viskositas berdasarkan modifikasi (Ahmad dan Benjakul 2010), diukur menggunakan *Viscometer Brookfield*. Kolagen dilarutkan menggunakan asam asetat 0,1 M dengan konsentrasi 0,3% (b/v). Larutan diukur menggunakan spinder no 1 pada kecepatan 60 rpm.

pH (AOAC 2005)

Kolagen kering diambil sebanyak 1 g dilarutkan dengan akuades 20 mL. pH diukur menggunakan alat pH meter digital. Elektroda pada pH meter dicelupkan ke dalam sampel dan pada proyektor pH meter akan diperoleh angka yang stabil.

Berat Molekul (Astina 2016)

Pengujian berat molekul diperlukan sebanyak 2 mg sampel kering kemudian dilarutkan ke dalam *Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS) 5% sebanyak 1 mL, kemudian diinkubasi menggunakan penangas air agar dapat terkontrol selama 1 jam pada suhu 85°C. Campuran selanjutnya dimasukkan dalam sentrifugasi pada suhu kamar 4.000 xg selama 5 menit. Supernatan yang didapat dicampur dengan bufer (TrisHCl 60 mM, pH 6,8 mengandung 2% SDS dan 25% gliserol) dengan rasio 1:1 (v/v) dan mengandung 10% β-merkaptotanol (βME). Kemudian campuran tersebut dipanaskan dalam air mendidih selama 2 menit. Sampel sebanyak 5 μL dimasukkan ke dalam *gel polyacrylamide* yang terdiri dari 3% *stacking gel* dan 7,5% *running gel* dan dielektroforesis pada arus konstan 15 mA/gel selama 3 jam. Setelah elektroforesis selesai, gel diwarnai dengan 0,05% (b/v) *coomassie blue R-250* dalam metanol 15% (v/v) dan asam asetat 5% (v/v)

selama 3 jam, kemudian sampel *destaining* dengan campuran 30% (v/v) metanol dan 10% (v/v) asam asetat selama 2 jam. Berat molekul protein sampel diperkirakan berdasarkan berat molekul marker. Marker yang digunakan adalah *Pre-stained Protein Markers (Broad Range) for SDS-PAGE* dari Nacalai Tesque dengan berat molekul 10 kDa sampai 260 kDa.

Antioksidan FRAP

Pengujian aktivitas antioksidan kolagen ikan patin ekstraksi dengan enzim bromelin kasar dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) metode Kumar *et al.* (2014) yang telah dimodifikasi. Preparasi reagen FRAP dilakukan dengan cara bufer asetat 300 mM pH 3,6 (8 mL CH₃COONa dan 92 mL CH₃COOH), dan 10 mM larutan TPTZ (2,4,6-tripyridyl-striazine) dalam 40 mM HCl dan FeCl₃. Pengukuran absorbansi menggunakan 400 μL sampel dan 2.600 μL reagen FRAP. Sampel dan reagen FRAP dimasukkan ke dalam tabung kemudian di vorteks agar homogen, kemudian diinkubasi menggunakan penangas air agar terkontrol dengan suhu 37°C selama 30 menit. Pengukuran absorbansi dilakukan di panjang gelombang 595 nm. Kurva standar dalam metode ini digunakan larutan fero sulfat dengan beberapa konsentrasi.

Analisis Data

Proses ekstraksi menggunakan enzim bromelin kasar dengan variasi waktu dan konsentrasi yaitu waktu 3 jam (T1), 3,5 jam (T2) dan 4 jam (T3) dan konsentrasi enzim bromelin kasar 0 (E1); 1,5% (E2); 2% (E3) dengan pengulangan sebanyak 3 kali ulangan. Data yang didapat dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA) dan apabila ada perbedaan nyata maka akan dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi Kimia Kulit Ikan Patin

Sampel kulit ikan yang telah dilakukan proses pembersihan, selanjutnya dilakukan pengujian proksimat. Tujuan pengujian proksimat ini yaitu untuk mengetahui

kandungan gizi untuk melihat potensi kulit ikan patin yang akan di gunakan sebagai bahan baku dalam menghasilkan kolagen. Karakteristik kimia bahan baku kulit ikan patin dapat dilihat pada *Table 1*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa protein bahan baku kulit ikan patin lebih tinggi di bandingkan dengan komposisi lainnya. Kandungan protein kulit ikan patin lebih tinggi dibandingkan dengan ikan gabus (Wulandari 2016) dan dari ikan patin (Devi *et al.* 2017) akan tetapi mempunyai nilai sama dengan dengan ikan tuna (Hadinoto dan Idrus 2018).

Kandungan lemak kulit ikan patin lebih rendah bila dibandingkan dengan ikan tuna (*Thunnus albacore*) (Hadinoto dan Idrus 2018) dan lebih tinggi jika dibandingkan dengan ikan gabus dan ikan patin (Wulandari 2016, Devi *et al.* 2017). Sedangkan kadar abu hasil analilis lebih rendah bila dibandingkan ikan gabus (Wulandari 2016) dan ikan ikan tuna (Hadinoto dan Idrus 2018) dan lebih tinggi dibandingkan dengan ikan patin dari analisis (Devi *et al.* 2017).

Kelarutan

Hasil analisis varian menunjukkan bahwa faktor T (waktu perendaman) tidak berpengaruh nyata (0,138) ($p>0,01$) dan faktor E (konsentrasi enzim bromelin kasar) tidak berpengaruh nyata ($p>0,01$) terhadap kelarutan. Terdapat interaksi yang sangat nyata ($p<0,01$) antara faktor T dengan E terhadap kelarutan.

Nilai terbaik kelarutan dari kolagen yang diekstrak menggunakan enzim bromelin kasar yaitu perlakuan T3.E2 mencapai 98,96%, nilai tersebut lebih tinggi jika dibandingkan (Pertiwi 2016) yaitu 91,36% dan kelarutan

kolagen yang baik akan sangat mempermudah pengaplikasiannya (Pertiwi 2016).

Viskositas

Hasil analisis varian menunjukkan bahwa antara faktor T, faktor E dan interaksi keduanya tidak berpengaruh nyata ($p>0,01$) terhadap viskositas. Nilai terbaik viskositas dari ekstraksi kolagen kulit ikan patin dengan enzim bromelin kasar yaitu 22,67 cP pada suhu ruang, nilai yang dihasilkan kecil jika dibandingkan dengan hasil penelitian dari Ahmad dan Benjakul (2010) yaitu kolagen PSC (*Pepsin Soluble Collagen*) dari tuna sirip kuning dengan nilai viskositas 21,1 cP, tuna albakor 22,8 cP, viskositas akan turun apabila suhu dinaikkan menjadi 32°C, ini karena ikatan hidrogen yang berperan untuk menjaga kestabilan struktur kolagen telah rusak.

Derajat keasaman (pH)

Tabarestani *et al.* (2012) menyatakan bahwa nilai derajat keasaman dari kolagen berkaitan dengan kelarutan, hal ini juga dapat disebabkan penggunaan jenis dan konsentrasi asam dan basa yang berbeda selama proses hidrolisis. Hasil pH berdasarkan analisis varian menunjukkan bahwa faktor T tidak berpengaruh nyata (0,394) ($p>0,05$) dan faktor E sangat berpengaruh nyata ($p<0,01$) terhadap pH. Faktor T dengan E memiliki interaksi yang sangat nyata ($p<0,01$) terhadap pH. Hasil uji DMRT Tidak ada perbedaan nyata antara perlakuan T1, T2 dan T3 akan tetapi terdapat perbedaan nyata pada perlakuan E1 terhadap E2, antara perlakuan E1 dan E3, serta antara perlakuan E2 dan E3.

Nilai pH terbaik yang diperoleh dari hasil ekstraksi kolagen dari kulit ikan patin dengan

Table 1 Chemical composition of fish skin

Parameter	Catfish ¹ (<i>Pangasius</i> sp) (%)	Catfish ² (<i>Chana striata</i>) (%)	Tuna ³ (<i>Thunnus albacares</i>) (%)	Catfish ⁴ (<i>Pangasius pangasius</i>) (%)
Moisture	67.22	77.18	59.31	66.80
Ash	0.16	0.47	5.73	0.14
Protein	27.19	20.36	27.32	19.48
Lipid	3.39	1.42	6.17	2.33

Note : ¹Research data; ²Wulandari 2016; ³Hadinoto and Idrus 2018; ⁴Devi *et al.* 2017

enzim bromelin kasar dari kulit nanas yaitu pada T1.E2 6,73, hasil ini sesuai jika dilihat dari syarat mutu kolagen SNI 8076:2014 yaitu 6,5-8. Nilai tersebut lebih tinggi jika dibandingkan dengan kolagen oleh Peng *et al.* (2004) yaitu berkisar antara 3,8-4,7, kolagen dari kulit ikan gabus sebesar 5,24 (Wulandari 2016) dan dari kulit ikan patin yang diekstrak dengan suhu 40°C sebesar 5,53 (Devi *et al.* 2017).

Terdapat perbedaan nilai derajat keasaman (pH) kolagen dapat disebabkan adanya jenis dan konsentrasi larutan berbeda yang ditambahkan baik asam atau basa serta proses untuk penetralan. Nilai pH rendah juga dapat diakibatkan oleh kandungan asam asetat yang masih tersisa sehingga konsentrasi ion hidrogen yang lebih tinggi (Lower 2013), dan nilai pH yang juga disebabkan oleh nilai pH yang rendah dari asam asetat yang digunakan yaitu 2,3 (Skierka dan Sadowska 2007) karena adanya proses hidro-ekstraksi sebelum proses ekstraksi dengan enzim bromelin kasar.

Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan kolagen yang diekstrak kulit ikan patin ditentukan menggunakan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Metode pengujian dengan FRAP adalah untuk menentukan aktivitas antioksidan yaitu dengan mengukur antioksidan dalam mereduksi Fe^{3+} pada kompleks Fe^{3+} TPTZ menjadi Fe^{2+} TPTZ dengan cara mendonorkan elektronnya.

Hasil pengamatan aktivitas antioksidan pada kolagen menunjukkan nilai tertinggi pada perlakuan T1.E3 memiliki nilai yaitu 20,45 fero sulfat/g, dan pada perlakuan T2.E3 dengan nilai 16,30 μ mol fero sulfat/g dan pada perlakuan T3.E3 yaitu 15,08 μ mol fero sulfat/g dan nilai terendah yaitu pada perlakuan T2.E2 yaitu 7,00 μ mol fero sulfat/g dan sangat berbeda nyata dengan perlakuan kontrol tanpa penambahan enzim bromelin kasar yaitu 4,52 μ mol fero sulfat/g. Hasil analisis sidik ragam perbedaan waktu tidak berbeda nyata dan jumlah enzim yang digunakan berpengaruh nyata, akan tetapi interaksi keduanya memberikan pengaruh sangat nyata

($p < 0,05$) terhadap aktivitas antioksidan. Hasil analisis antioksidan kolagen kulit ikan patin yang diekstrak dengan enzim bromelin kasar dapat dilihat pada *Figure 1*.

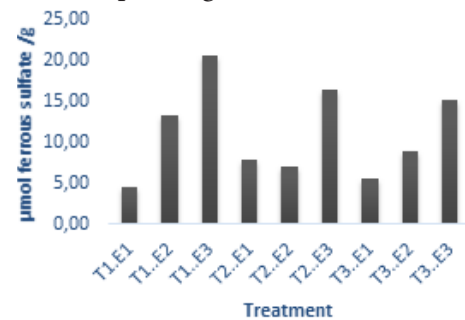


Figure 1 Antioxidant activity of pangas collagen

Sejumlah penelitian kolagen yang diekstraksi dari ikan memiliki stabilitas antioksidan misalnya hidrolisat kolagen dari kulit Pollack yang diekstraksi secara alkalase, (Sun *et al.* 2016). Hidrolisat kolagen dari ikan tuna mempunyai aktivitas antioksidan dengan IC_{50} sebesar $66,28 \pm 0,12 \mu$ g/mL (Nurilmala *et al.* 2020). Aktivitas antioksidan juga telah dilaporkan dengan pengujian DPPH terhadap hidrolisat kolagen yang diekstrak dengan enzim papain dari kulit dan tulang ikan patin dengan aktivitas antioksidan dari tulang ikan sebesar 71,55% dan dari kulit ikan 63,06% (Baehaki 2015).

Jumlah asam amino hidrofobik yang tinggi dalam urutan peptida, terutama jenis glisina dan prolina berkontribusi secara signifikan dalam aktivitas antioksidan karena secara tepat bereaksi oleh hidrofobik. Oleh karena itu, kolagen dari kulit ikan yang dihasilkan mengandung elektron peptida yang dapat bereaksi dengan radikal bebas untuk mengubahnya dan dapat digunakan sebagai bahan tambahan dan makanan fungsional dan obat-obatan sebagai sumber alternatif antioksidan alami.

Berat Molekul

Berat molekul kulit ikan patin menggunakan ekstraksi enzim bromelin kasar 1,0 U/g memiliki struktur yang identik dengan $\alpha 1$ dan $\alpha 2$. Rantai α menunjukkan bahwa kolagen kulit ikan patin termasuk kolagen tipe

I. Hasil *SDS-Page* kolagen kulit ikan patin yang diekstrak dengan enzim bromelin kasar dapat dilihat pada *Figure 2*.

Kolagen yang diekstraksi dari kulit ikan memiliki struktur identik dengan $\alpha 1$ dan $\alpha 2$ yang termasuk dalam golongan kolagen tipe I. (Ogawa *et al.* 2004), kolagen tipe I mengandung 3 rantai polipeptida dengan masing-masing berat molekul 94 kDa dan banyak ditemukan pada jaringan ikat dan tendon (Shoulder dan Raines 2009) Polipeptida dari kolagen tipe I terdiri rantai α dengan struktur heliks yang melingkari rantai lainnya membentuk untaian tali. Gelse *et al.* (2003) menyatakan bahwa kolagen tipe I mempunyai Struktur *triple helix* yang terbentuk atas heterotrimer dari dua rantai $\alpha 1$ dan satu rantai $\alpha 2$. Struktur β (α chain dimers) dan γ (α chain trimers) menunjukkan adanya ikatan silang kovalen pada molekul kolagen (Chi *et al.* 2014). Kulit ikan patin yang diekstrak menggunakan enzim bromelin kasar dari kulit nanas

memiliki struktur kolagen tipe I yang mengandung struktur identik $\alpha 1$, $\alpha 2$, β , dan γ . Kolagen kulit ikan patin enzim bromelin kasar mempunyai berat molekul $\alpha 1$, $\alpha 2$, β , dan γ yang setara dengan kolagen yang sumber bahan baku sama dari penelitian (Singh *et al.* 2011) dan beberapa ikan laut (Bae *et al.* 2008) (*Table 1*). Dari hasil berat molekul tersebut terlihat bahwa kolagen yang diekstraksi dengan enzim bromelin kasar belum berubah menjadi produk turunan kolagen yaitu gelatin. Karim dan Bhat (2009) menyatakan bahwa berat molekul dari gelatin lebih rendah dari kolagen yaitu dari 80-250 kDa. Hermanto *et al.* (2013) juga menyampaikan bahwa gelatin babi mempunyai berat molekul sebesar 28.6 kDa -36.2 kDa.

KESIMPULAN

Kolagen yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin kasar dari kulit nanas menghasilkan aktivitas antioksidan terbaik pada perlakuan dengan waktu perendaman

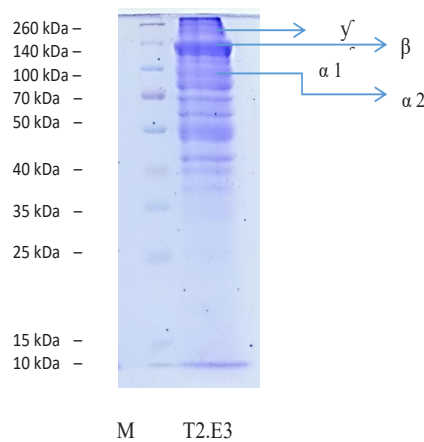


Figure 2 SDS-Page of catfish skin (M) marker, at 4 hours and 2% concentration (T2.E3) collagen extraction with crude bromelain enzyme

Table 2 Collagen molecules weight from several types of fish

Collagen Resources	α^1 (kDa)	α^2 (kDa)	β (kDa)	γ (kDa)
Skin of Catfish ¹	131.51	110.48	202.48	243.92
Skin of Catfish (<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>) ²	>116.00	116.00	220.00	>220.00
Redbelly Yellowtail Fusilier Fish Skin (PaSC) ³	122.00	112.00	186.00-203.00	251.00
Fish skin of <i>Siganus fuscescens</i> , <i>Kyphosus bigibbus</i> , <i>Myliobatis tobijei</i> , <i>Dasyatis akajei</i> , <i>Dasyatis laevigatas</i> ⁴	120.00	112.00-114.00		

Note : ¹Research data; ²Singh *et al.* (2011); ³Astiana *et al.* (2016); ⁴Bae *et al.* (2008)

3 jam dan konsentrasi enzim 2% (T1.E3), pH yang sesuai dengan SNI 8740:2014 yaitu pada perlakuan T1E2, viskositas pada suhu ruang akan tetapi tingkat kelarutan kolagen dalam akuades terbaik pada perlakuan T3E2. Berat molekul dari kolagen ekstraksi enzim bromelin kasar dikategorikan tipe I dan dapat dikatakan bahwa ekstraksi dapat dilakukan dengan enzim bromelin kasar kulit nanas.

Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kementerian Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia/Badan Riset dan Sumberdaya Manusia Kelautan dan Perikanan atas dukungan pendanaan Magister Terapan dan Penulis mengucapkan terimakasih Atas bantuan dan dukungan selama penelitian kepada Ibu Pipih Suptijah.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad M, Benjakul S. 2010. Extraction and characterization of pepsin soluble collagen from the skin of unicorn leather jacket (*Aluterus monoceros*). *Food Chemistry*. 120:817-824.
- Ahmed R, Chun BS. 2018. Subcritical water hydrolysis for the production of bioactive peptides from tuna skin collagen. *The Journal of Supercritical Fluids*. 141(1): 1-35.
- Astiana I. 2016. Efektifitas Asam Dan Enzim Papain Dalam Menghasilkan Kolagen Dari Kulit Ikan Ekor Kuning (*Caesto cuning*). [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Astiana I, Nurjanah, Nurhayati T. 2016. Karakterisasi kolagen larut asam dari kulit ikan ekor kuning (*Caesto cuning*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 19(1): 79-93.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. *Official Method of Analysis*. 18 Ed. The Association of Official Analytical Chemist. Inc.
- Baehaki A, Nopianti R, Anggraeni S. 2015. Antioxidant activity of skin and bone collagen hydrolyzed from striped catfish (*Pangasius pangasius*) with papain enzyme. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 7(11): 131-135.
- Baehaki A, Lestari SD, Desliani I. 2016. Collagen hydrolysis from skin and bone of Pangasius catfish Prepared by Bromelain Enzyme and Antioxidant Activity of Hydrolysate. *Der Pharma Chemica*, 8 (4):155-158.
- Bae I, Osatomi K, Yoshida A, Osako K, Yamaguchi A, Hara K. 2008. Chemical properties of acid-soluble collagens extracted from the skins of underutilized fishes. *Food Chemistry*. 108: 49-54.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2014. SNI 8076:2014. *Standar Nasional Indonesia tentang kolagen kasar dari sisik ikan*. Jakarta(ID):Badan Standardisasi Nasional.
- Chi C, Wang B, Li Z-R, Luo H-Y, Ding G-F, Wu C-W. 2014. Characterization of acid-soluble collagen from the skin hammerhead shark (*Sphyrna lewini*). *Journal of Food Biochemistry*. 38: 236-247.
- Devi HLNA, Suptijah P, Nurilmala M. 2017. Efektivitas alkali dan asam terhadap mutu kolagen dari kulit ikan patin. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(2): 255-265.
- Hadfi N.H. and Sarbon, N.M. 2019. Physicochemical properties of silver catfish (*Pangasius sp.*) skin collagen as influenced by acetic acid concentration. *Food Research*. 3(6) :783-790.
- Haditono S, Idrus S. 2018. Proporsi dan kadar proksimat bagian tubuh ikan tuna ekor kuning (*Thunnus albacares*) dari Perairan Maluku. *Majalah BIAM (Bahan Alam, Industri, Aneka Pangan, Minyak Atsiri)* 14:51-57
- Razali UHM, Qhairul A, Mamat H, Qhairul N. 2019. Properties of hydrolysed collagen from the skin of milkfish (*Chanos chanos*) as affected by different enzymatic treatments. *International Journal of Research Science & Management*. 6(2): 34-41.
- Hastarini E, Fardiaz D, Irianto HE, Budijanto S. 2012. Karakteristik minyak ikan dari limbah pengolahan filet ikan patin siam (*Pangasius hypophthalmus*) dan patin jambal (*Pangasius djambal*). *AGRITECH*.32(4):403-410.
- [KKP] Kementerian Kelautan dan Perikanan.

2018. *Produktivitas Perikanan Indonesia Pusat Data Statistika dan Informasi Kementerian Kelautan dan Perikanan Tahun 2018*. Jakarta (ID): Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Murray BA, Fitzgerald RJ. 2007. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins: Biochemistry, bioactivity and production. *Current Pharmaceutical Design*. 13(8): 773-791.
- Ogawa M, Portier RJ, Moody MW, Bell J, Schexnayder MA, Losso JN. 2004. Biochemical properties of bone and scale collagens isolated from the subtropical fish black drum (*Pogonias cromis*) and sheepshead seabream (*Archosargus probatocephalus*). *Food Chemistry*. 88: 495-501.
- Peng Y, Glattauer V, Werkmeister JA, Ramshaw JAM. 2004. Evaluation for collagen products for cosmetic application. *Journal of Cosmetic Science*. 55:327-342.
- Pertiwi RM. 2016. Ekstraksi dan karakterisasi kolagen larut papain dari kulit ikan tuna sirip kuning [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Potaros T, Raksakhulthai N, Runglerdreangkraj, Worawattanamateekul W. 2009. Characteristics of collagen from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin isolated by two different methods. *Natural Science*. 43(3):584-593.
- Prastyo DT, Trilaksana W, Nurjanah. 2020. Aktivitas antioksidan hidrolisat kolagen kulit ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 23(3):423-433.
- Suptijah P, Indriani D, Wardoyo SE. 2018. Isolasi dan karakterisasi kolagen dari kulit ikan patin (*Pangasius* sp.). *Sains Natural Universitas Nusa Bangsa*. 8(1): 8-23.
- 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*. 124: 97-105.
- Sintusamran S, Benjakul S, Kishimura H. 2013. Comparative study on molecular characteristics of acid soluble collagens from skin and swim bladder of seabass (*Lates calcarifer*). *Food Chemistry* 138:2435-2441.
- Shon j, Ji-Hyun E, Hwang SJ, Jong Bang E. 2011. Effect of processing conditions on functional properties of collagen powder from skate (*Raja kenoei*) skins. *The Journal of Food Science Biotechnology*. 20 (1):99-106.
- Tabarestani SH, Maghsoudlou Y, Motamedzadega A, Mahoonak SAR, Rostamzad H. 2012. Study on some properties of acid-soluble collagens isolated from fish skin and bones of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *International Food Research Journal*. 19(1):251-257.
- Walters BD, Stagemann JP. 2014. Review: Strategies for directing the structure and function of three-dimensional collagen biomaterials across length scales. *Acta Biomaterialia*. 10(4):1488-1501.
- Wulandari. 2016. Karakteristik fisikokimia kolagen yang diisolasi dengan metode hidroekstraksi dan stabilisasi nanokolagen kulit ikan gabus (*Channa Stiata*) [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Wu RB, Wu CL, Liu D, Yang XH, Huang JF, Zhang J, Liao BQ. 2018. Antioxidant and anti-freezing peptides from salmon collagen hydrolysate prepared by bacterial extracellular protease. *Food Chemistry*. 248: 346-352.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. 2007. Free radical and antioxidant in normal physiological function and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 39(1): 44-84.