



Pengaruh Variasi Suhu dan Lama Waktu Penyimpanan terhadap Karakteristik Fisikokimia Kolagen Kulit Ikan Gabus (*Channa striata Bloch*)

(Effects of different temperatures and storage times on physicochemical characteristics of snakehead's skin collagen)

Rahmi Nofita*, Rini Agustin, & Mutiara Izmu Fajrin

Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Limau Manis, Pauh, Padang Sumatera Barat, Indonesia

ABSTRACT: Stability is one of the obstacles in the process of collagen production, the process of making preparations containing collagen, and the storage time of raw materials and preparations containing collagen, as there is a high demand for collagen in the pharmaceutical and cosmetic industry. Collagen is sensitive to temperature, above $\pm 40^{\circ}\text{C}$ the triple helical structure of collagen changes into linear chain decreasing its quality, changes in the arrangement of functional groups, absorption intensity, viscosity, changes in glass transition temperature, even changes in denaturation temperature. The purpose of this study was to determine to determine the effects of temperature variation and storage time on the physicochemical properties of Snakehead skin collagen. Collagen was stored and observed for 60 days at 80% RH in 5, 26, and 40°C as powders and dispersions. The glass transition temperature of collagen powder decreased. Characterization of the functional groups of collagen powder revealed a hypochromic change in the wave number of the amide A groups with increasing storage temperature. The intensity of UV absorption appears hyperchromic at a wavelength of ± 230 nm. Viscosity of collagen dispersion decreased with increasing temperature and storage time, and the denaturation temperature of collagen dispersion decreased to 28°C . During storage, the higher the temperature, the lower the physicochemical quality of collagen. It can be concluded that collagen powder is optimally stored at temperatures of 5, 26 and 40°C , while collagen dispersion is stored at temperatures of 5 and 26°C .

Keywords: collagen; physicochemical; storage; temperature; humidity.

ABSTRAK: Kebutuhan kolagen sebagai bahan baku untuk industri farmasi dan kosmetika pada saat ini sangat tinggi, namun stabilitas kolagen menjadi hambatan. Kolagen sangat rentan terhadap pengaruh perubahan suhu, diatas suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ kolagen akan berubah menjadi gelatin Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi suhu dan lama penyimpanan terhadap karakteristik fisikokimia kolagen kulit ikan gabus. Kolagen disimpan dan diamati sebagai serbuk dan dispersi pada kelembaban relatif 80% pada suhu 5, 26 dan 40°C selama 60 hari penyimpanan. Untuk serbuk kolagen, terdapat penurunan suhu transisi gelas dengan suhu terendah setelah penyimpanan adalah $55,05^{\circ}\text{C}$. Karakterisasi gugus fungsi serbuk kolagen menunjukkan perubahan hipsokromik pada bilangan gelombang gugus amida A seiring dengan peningkatan suhu penyimpanan. Pada dispersi kolagen, intensitas serapan UV tampak hiperkromik pada panjang gelombang ± 230 nm. Viskositas dispersi kolagen juga menurun seiring dengan peningkatan suhu dan waktu penyimpanan, serta terdapat penurunan suhu denaturasi dispersi kolagen menjadi $28,3^{\circ}\text{C}$. Selama penyimpanan, semakin tinggi suhu maka kualitas fisikokimia kolagen semakin rendah. Dari sini dapat disimpulkan bahwa serbuk kolagen disimpan secara optimal pada suhu 5, 26 dan 40°C , sedangkan dispersi kolagen pada suhu 5 dan 26°C .

Kata kunci: kolagen; fisikokimia; penyimpanan; suhu; kelembaban.

Pendahuluan

Kolagen merupakan protein yang sangat sensitif terhadap panas. Pada suhu yang cukup tinggi, ikatan rangkap tiga (*triple helix*) dari kolagen akan pecah menjadi rantai tunggal, dan kolagen akan bertransisi secara *irreversible* menjadi gelatin [1]. Denaturasi termal terjadi dalam kondisi ringan dengan memanaskan kolagen dalam kondisi netral atau sedikit asam hingga suhu sekitar 40°C . serbuk kolagen dan dispersi kolagen memiliki stabilitas terhadap panas yang berbeda [2].

Diantara banyaknya jenis kolagen, kolagen tipe 1 adalah jenis kolagen yang paling banyak digunakan dan paling menjanjikan digunakan dalam industri klinis dan kecantikan [3]. Aplikasi kolagen dalam bidang industri sangat berpengaruh pada kestabilan kolagen terhadap suhu serta ketersediaan kolagen sebagai bahan baku. Selain itu, sebelum diformulasikan menjadi suatu sediaan, kolagen secara umum didispersikan dalam larutan asam lemah seperti asam asetat

Article history

Received: 08 April 2023
Accepted: 11 April 2023
Published: 30 April 2023

Access this article



*Corresponding Author: Rahmi Nofita

Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Limau Manis, Pauh,
Padang Sumatera Barat, Indonesia, 255175 | Email: rahminofita1@gmail.com

dan asam sitrat [4]. Proses isolasi untuk mendapatkan bahan baku kolagen yang terstandarisasi cukup sulit untuk dilakukan dan memakan waktu serta proses yang panjang, dikarenakan sifat kolagen yang sangat sensitif terhadap panas. Untuk itu, perlu ditentukan kondisi khusus penyimpanan bahan baku kolagen agar stabilitas bahan baku kolagen sebelum diformulasikan menjadi suatu sediaan tetap terjaga [5].

Kolagen tipe I memiliki struktur *helix* rangkap tiga yang stabil dengan arah putaran *helix* ke kanan (*right-handed helix*) [6]. Pada kolagen terdapat lima pita amida yang memastikan gugus fungsi kolagen yaitu amida A, B, I, II, dan amida III. Amida A dan B menampilkan resonansi gugus N-H. Pita Amida II dan II adalah dua pita utama dari protein. Amida I dikaitkan dengan peregangan gugus C=O pada CO-NH, sedangkan amida II dihasilkan dari gugus C-N dan N-H. Pita amida I dan II pada protein ini sangat sensitif terhadap konformasi. Amida III dan IV adalah pita yang sangat kompleks dan dihasilkan dari campuran beberapa perpindahan koordinat [7].

Ikan merupakan sumber alternatif yang bagus untuk memproduksi kolagen secara komersial. Kolagen yang dihasilkan dari ikan memiliki proses denaturasi yang lebih kecil daripada kolagen yang dihasilkan dari mamalia darat [8]. Salah satu ikan yang dapat digunakan untuk isolasi kolagen adalah ikan gabus (*Channa striata* Bloch). Potensi kolagen dari kulit ikan gabus atau *C. striata* didukung dengan jumlah tangkapan ikan *C. striata* di Indonesia yang pada tahun 2015 mencapai 6.490 ton dan meningkat di tahun 2019 menjadi 21.987 ton [9].

Dikarenakan kolagen yang sangat sensitif terhadap panas, serta kebutuhan untuk menentukan kondisi penyimpanan bahan baku kolagen, maka perlu diperhatikan sifat fisikokimia kolagen selama penyimpanan. Untuk itu, peneliti merasa perlu untuk melakukan studi sistematis dalam memastikan apakah serbuk kolagen dan dispersi kolagen yang disimpan pada kondisi dengan variasi suhu dalam kelembaban nisbi tetap merupakan kolagen atau sudah bertransisi secara *irreversible* menjadi gelatin, dan bagaimana pengaruhnya terhadap karakteristik fisikokimia dari kolagen kulit ikan gabus (*Channa striata* Bloch).

Metode Penelitian

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Pot salep, Botol kaca 100 mL, Tabung Reaksi (Pyrex[®]), Erlenmeyer (Pyrex[®]), Gelas Beker (Pyrex[®]), Kertas Saring Whatman, Cawan, Selongsong Kertas, Kapas, Soxhlet, Penangas Air, Timbangan digital (OHAUS Analytical Balance

tipe EX224, USA), Oven, Furnace (Carbolite Gero CWF 1100), Labu *Kejldahl*, Labu Destilasi, Freeze-Dryer (CHRIST 23127), SDS-PAGE (Lab Bio-Rad), Spektrofotometer UV (Shimadzu UV-1900), Differential Scanning Calorimeter (Shimadzu DSC-60 Plus), Termogram Indium, Pan Aluminium, Spektrofotometer FTIR (Spectrophotometer Shimadzu Prestige-21), X-ray Diffractometer (PANanalytical X'Pert Pro), Software Origin Lab, Desikator, Inkubator, Climatic Chamber (Heraeus Instruments), Viskometer Brookfield DV2T-RV, Spindle no.3, Viskometer Ostwald, pH meter (Mettler Toledo).

Bahan

Kolagen hasil isolasi dari kulit ikan gabus (*Channa striata*) segar dengan nomor paten IDP000073332 sebanyak 5 gram, asam asetat *pro analysis*, aquadest, aquabidest, amonium sulfat teknis, asam sulfat, Kjeltabs, natrium hidroksida, asam borat, indikator metil merah, batu didih, heksana, SDS (Sodium Dodecyl Sulfate), acrylamide, ammonium persulfate, tetramethylethylenrdiamine, isopropanol, buffer Tris-HCl, gliserol, b-mercaptoethanol, gel poliakrilamida, coomassie blue R-250, Gangnam-Stain Prestained Protein Ladder (iNtRON Biotech, Korea) 245 kDa, buffer standar pH 4,01 dan 6,86, asam nitrat, asam perklorat, asam klorida, zinc selenide.

Isolasi Kolagen

Isolasi kolagen dari kulit ikan gabus dilakukan dengan menggunakan kombinasi asam asetat dan getah pepaya segar (*Carica papaya*) tanpa menggunakan sentrifugasi dengan kecepatan tinggi selama proses yang merujuk kepada metode yang sudah dilakukan dan dipatenkan oleh Dr. apt. Rahmi Nofita, M.Si. (2017), dengan nomor paten paten IDP000073332.

Pemeriksaan Bahan Baku

Pemeriksaan bahan baku serbuk kolagen hasil isolasi kulit ikan gabus (*Channa striata* Bloch, 1793) telah dilakukan berdasarkan nomor paten IDP000073332 dan pemeriksaan bahan tambahan yang dilakukan sesuai dengan *Handbook of Pharmaceutical Excipient 6th edition*. Pemeriksaan bahan kolagen yang dilakukan antara lain pemeriksaan rendemen kolagen, berat molekul, kandungan air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, kandungan logam berat, nilai pH, sifat termal, gugus fungsi, dan difraksi sinar X kolagen.

Penyimpanan Serbuk dan Dispersi Kolagen

Serbuk dan dispersi kolagen disimpan pada kelembaban relative (RH) 80% suhu 5, 26, dan 40°C selama 60 hari penyimpanan di dalam *climatic chamber*, desikator, dan inkubator. Penggunaan RH 80% mengikuti aturan uji

stabilitas dipercepat, yaitu RH $75 \pm 5\%$, dan suhu $40 \pm 2^\circ\text{C}$ [10]. Sampel kolagen diuji untuk sifat fisikokimianya segera setelah diperoleh (sebagai kontrol), kemudian setelah 24 jam, pada hari ke-7, pada hari ke-15, hari ke-30, hari ke-45 dan pada hari ke-60. Untuk dispersi kolagen, sampel kolagen terlebih dahulu dilarutkan dalam asam asetat 0,5 M dengan konsentrasi 0,025%.

Evaluasi Serbuk Kolagen Penyerapan Kelembaban

Penyerapan kelembaban kolagen dievaluasi berdasarkan persentase kenaikan berat sampel kering (Ra) yang diukur setelah 48 jam penyimpanan dan dibandingkan dengan berat sampel kering sebelum penyimpanan (12).

Pergeseran Bilangan Gelombang Spektrum FTIR

Analisis gugus fungsi serbuk kolagen menggunakan instrumen FTIR Spectrophotometer Shimadzu Prestige-21 dengan teknik Attenuated Total Reflectance (ATR). Frekuensi peregangan pelet kolagen diperiksa dan dicatat dalam kisaran $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$. Cuplikan sampel diletakkan pada permukaan kristal ATR. Kemudian spektrum FTIR diukur pada resolusi 2 cm^{-1} dan kecepatan scanning yaitu 20 scan/detik. Spektrum yang dihasilkan dianalisis menggunakan perangkat lunak Origin Lab [11].

Perubahan Suhu Transisi Kaca

Evaluasi perubahan suhu transisi kaca (T_g) dilakukan dengan menggunakan instrument DSC pada laju aliran $10^\circ\text{C}/\text{menit}$ dari suhu 20°C hingga 300°C [11]. Sampel kolagen yang dilihat karakteristiknya menggunakan DSC ini hanya pada sampel padatan sebanyak 5mg, untuk melihat pengaruh pola thermogram eksotermis dari kolagen. Evaluasi perubahan suhu transisi kaca (T_g) dilakukan pada sampel kontrol, penyimpanan hari ke-30, dan penyimpanan hari ke-60.

Evaluasi Dispersi Kolagen Perubahan Intensitas Serapan UV

Evaluasi perubahan intensitas serapan UV kolagen kulit ikan gabus dilakukan dan direkam dengan Spektrofotometer UV-Vis [11]. Serapan UV ditentukan pada panjang gelombang dari 200 hingga 400 nm. Sebelum pengukuran, garis dasar ditetapkan dengan asam asetat 0,5 M.

Perubahan Suhu Denaturasi

Penentuan suhu denaturasi kolagen dilakukan dengan penentuan viskositas fraksional dispersi kolagen menggunakan viskometer Ostwald yang diisi dengan larutan kolagen 0,025% (w/v) dalam asam asetat. Viskometer kemudian direndam dalam penangas air bersuhu 30°C dan didiamkan selama 30 menit, agar larutan kolagen seimbang dengan suhu penangas air. Suhu dinaikkan bertahap hingga 50°C dan dipertahankan pada setiap suhu selama 10 menit. Viskositas larutan kolagen diukur pada interval suhu 2°C dari suhu 30 hingga 50°C . Kurva denaturasi termal diperoleh dengan memplot viskositas fraksional terhadap suhu untuk kolagen. T_d diambil sebagai suhu dimana viskositas fraksional adalah 0,5 [12].

Perubahan Viskositas

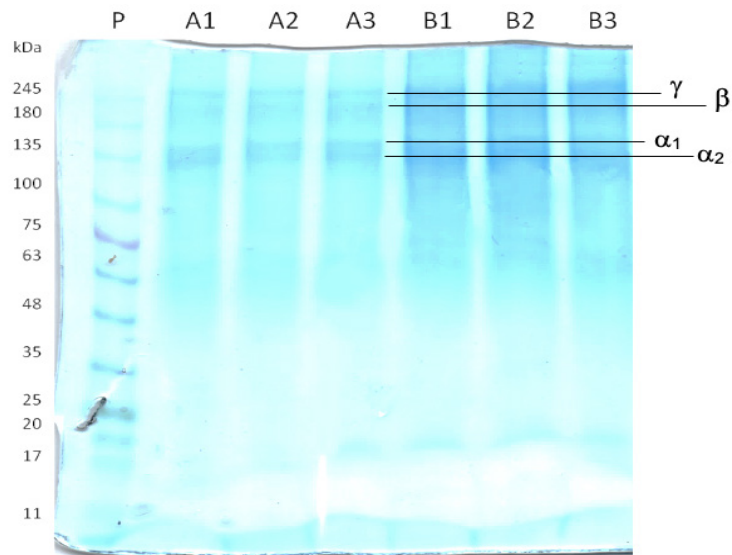
Pengukuran viskositas kolagen dilakukan dengan melarutkan kolagen dalam asam asetat 0,5 M untuk mendapatkan konsentrasi 0,025% (w/v). Larutan (100 mL) diukur viskositasnya menggunakan viskometer Brookfield Synchroelectric dengan spindel No. 3 dan kecepatan 100 rpm [13].

Hasil dan Diskusi

Pemeriksaan bahan baku kolagen hasil isolasi ditunjukkan oleh Tabel 1 dan dimulai dengan perhitungan

Tabel 1. Hasil pemeriksaan bahan baku rata-rata kolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*) (N=3)

No	Parameter	Persyaratan SNI [25]	ΔH Fusi (J/g)
1	Kandungan Air	$\leq 12\%$ (w/w)	$6,011 \pm 0,183\%$ (w/w)
2	Kadar Abu	$\leq 1\%$ (w/w)	$0,685 \pm 0,838\%$ (w/w)
3	Kadar Protein	$\geq 75\%$ (w/w)	92,410% (w/w)
4	Kadar Lemak	Serendah mungkin	$0,33 \pm 0,052\%$ (w/w)
5	Kandungan Logam Berat	Pb: maks. 0,4 mg/kg	Pb: 0,0015 mg/kg
		Cd: maks 0,1 mg/kg	Cd: $< 0,0953\text{ mg/kg}$
6	Nilai pH	6,5 – 8,0	$6,68 \pm 0,01$



Gambar 1. Hasil SDS-PAGE sampel kolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*).

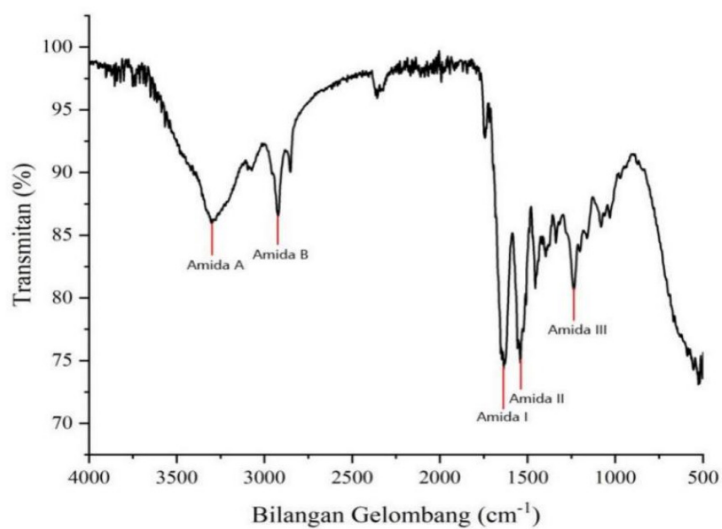
Keterangan:

- P = Gangnam-Stain Prestained Protein Ladder (iNtRON Biotech, Korea)
- A1-A3 = Sampel Kolagen 5 mg/mL
- B1-B3 = Sampel Kolagen 10 mg/mL

rendemen. Dari proses isolasi, didapatkan kolagen sejumlah 247,965 g dengan persentase rendemen kolagen 18,05% (w/w). Kandungan air dari kolagen kulit ikan gabus adalah senilai 6,011%. Kandungan air yang rendah dapat dikarenakan adanya perlakuan *freeze-drying* yang diberikan pada sampel. Metode *freeze-drying* untuk mengeringkan sampel dapat menghilangkan lebih banyak kandungan air yang terdapat dalam sampel kolagen kulit ikan gabus [14].

Selain kandungan air yang rendah, pemeriksaan bahan baku kolagen masih memenuhi persyaratan SNI.

Berat molekul kolagen kulit ikan gabus dianalisis dengan membandingkan protein standar dengan sampel kolagen. Protein standar yang digunakan memiliki rentang berat molekul dari 11 kDa – 245 kDa. Pita α kolagen hasil isolasi terlihat pada berat molekul 135 kDa. Jarak antara pita α yang identik pada kolagen kulit ikan gabus terlihat



Gambar 2. Spektrum Inframerah Kolagen Kulit Ikan Gabus (*Channa striata*)

Tabel 2. Analisis Puncak Serapan dan Gugus Fungsi Kolagen

Puncak Serapan	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Wilayah Rentang Puncak Serapan (cm ⁻¹)	Gugus Fungsi
Amida A	3304,06	3340 – 3550	Peregangan N-H (78)
Metilen yang terikat amida B	2922,16	2935- 2915	Peregangan CH ₂ asimetris (79)
Karbonil yang terikat amida I	1635,64	1600 – 1700	Peregangan C=O (80)
Amida II	1541,12	1480 – 1575	Ikatan NH (69)
Amida III	1236,37	1229- 1301	Peregangan C-N, Ikatan NH (69)

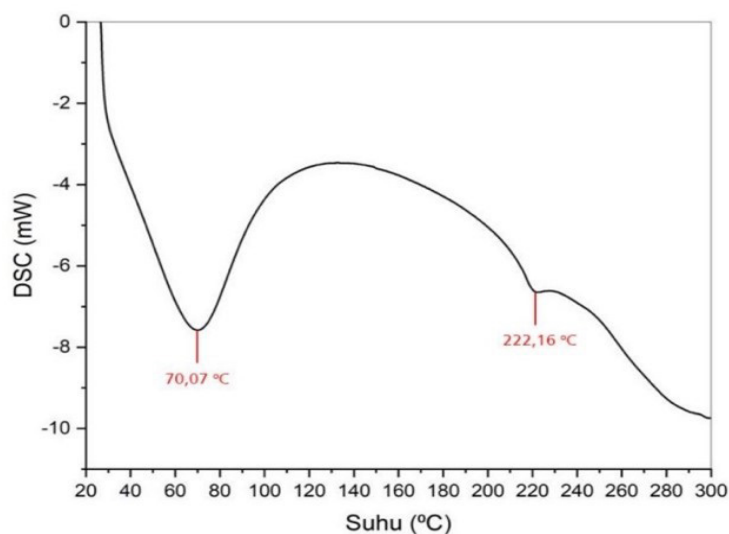
sama dan hampir tidak bisa dibedakan [14]. Pada daerah sedikit dibawah berat molekul 245 kDa, terlihat adanya pita tipis yang diperkirakan sebagai pita β (*dimer*) kolagen. Kemudian juga terdapat satu pita tipis yang terletak pada berat molekul diatas 245 kDa yang diperkirakan merupakan pita γ pada kolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*) sebagaimana yang terlihat pada Gambar 1.

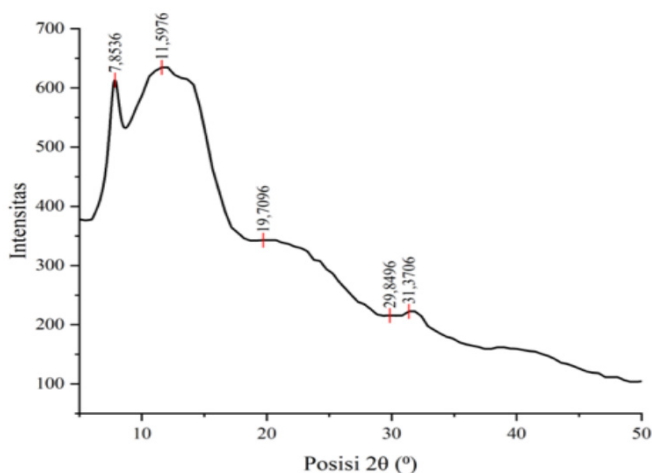
Struktur sekunder dan gugus fungsi molekul kolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*) diamati dari bilangan gelombang dalam spektrum FTIR seperti pada Gambar 2. Berdasarkan spektrum inframerah yang didapatkan, struktur sekunder kolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*) meliputi pita amida A, B, I, II, dan III dan masing-masingnya memberikan karakteristik gugus fungsi seperti yang tertera pada Tabel 2. Rasio antara bilangan gelombang pita amida III (1236,37 cm⁻¹) dan bilangan gelombang 1450 cm⁻¹ yang didapatkan adalah 1,17, dimana nilai ini mendekati angka 1. Oleh karena itu, dapat dikonfirmasi adanya *triple helix* serta keteraturan struktur intermolekuler yang masih tinggi dan terjaga dalam bahan baku kolagen [15].

Kurva *thermogram* hasil analisis termal bahan baku kolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*) seperti yang tertera pada Gambar 3 menunjukkan dua puncak endotermik yang terlihat pada titik 70,07 °C yang merupakan puncak transisi gelas / kaca (T_g) dari kolagen [16] dan Puncak endotermik yang kedua terlihat pada titik 222,16 °C yang merupakan titik leleh (T_{max}) dari kolagen. Transisi gelas / kaca sendiri merupakan perubahan kolagen dari keadaan gelas (kaca) menjadi keadaan karet yang terkait dengan transisi orde dua semu akibat lompatan panas yang spesifik dalam termogram DSC. Dengan kata lain, pada kolagen terdapat pemutusan ikatan hidrogen dan terjadi perubahan dari kolagen menjadi gelatin [16].

Identifikasi kolagen dari spektrum difratogram sinar-x yang dihasilkan ditunjukkan pada Gambar 4. Puncak yang tajam pada sudut 7,836° (sekitar $\pm 8^\circ$) mengindikasikan jarak terpanjang antara ikatan molekuler dari kolagen seperti jarak antara rantai *triple helix*. Sedangkan puncak yang luas pada sudut 19,7096° (antara sudut 16-25°) mengindikasikan pola amorf dari kolagen [17].

Penyerapan kelembaban kolagen dihitung setelah

**Gambar 3.** Hasil Analisis Termal Kolagen menggunakan DSC (*Differential Scanning Calorimetry*)



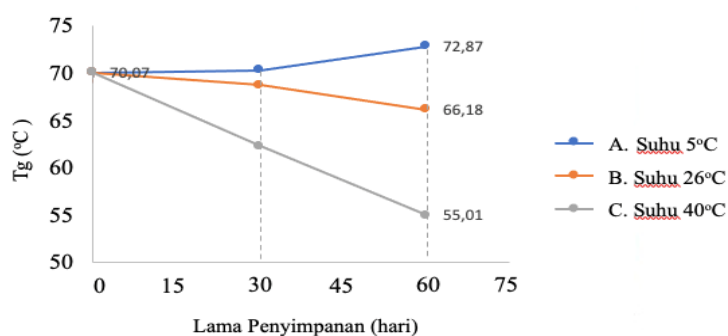
Gambar 4. Difraktogram XRD dari Kolagen Kulit Ikan Gabus

kolagen disimpan selama 48 jam. Untuk kolagen yang disimpan pada suhu 5°C, kenaikan berat (penyerapan kelembaban) dari sampel kering adalah sebanyak 56,35%. Persentase kenaikan berat dari kolagen yang disimpan pada suhu 26 °C adalah sebesar 45,04%. Sedangkan persentase kenaikan berat untuk kolagen yang disimpan pada suhu 40 °C adalah sebesar 19,9%. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Gonzalez, dimana peningkatan suhu pada RH yang sama akan menurunkan kandungan kelembaban dari protein kering [18]. Kandungan kelembaban pada kolagen sangat berpengaruh terhadap stabilitas dari kolagen. Terdapat peran penting dari air terhadap struktur *triple helix* kolagen. Hasil dari evaluasi penyerapan kelembaban pada kolagen yang disimpan pada tiga kondisi penyimpanan yang berbeda ini juga dapat dihubungkan dengan pengaruh yang ditimbulkan pada suhu transisi gelas/kaca (Tg) dari kolagen yang dihasilkan.

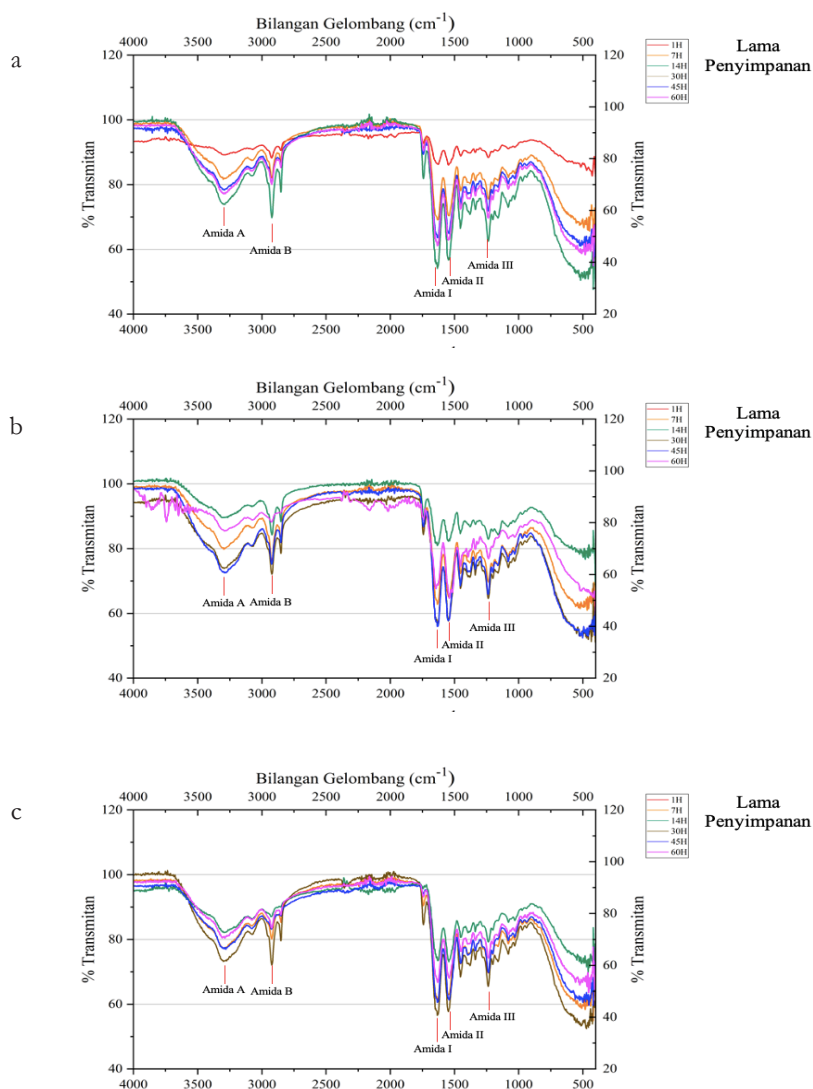
Suhu transisi kaca berkaitan erat dengan keadaan dimana kolagen dapat mengalami perubahan konformasi

menjadi gelatin akibat denaturasi yang terjadi pada serbuk kolagen [16]. Perubahan serta perbandingan suhu transisi kaca dari serbuk kolagen diamati pada kontrol (sebelum disimpan), hari ke-30 serta hari ke-60 selama penyimpanan. Hasil analisis stabilitas termal beserta perbandingan suhu transisi kaca setiap kondisi penyimpanan dapat dilihat pada Gambar 5.

Suhu awal transisi kaca dari kolagen adalah senilai 70,07 °C. Setelah disimpan pada suhu 5°C, terlihat suhu transisi kaca (Tg) dari kolagen meningkat menjadi 72,87 °C setelah 60 hari penyimpanan. Dapat diartikan bahwa penyimpanan pada suhu 5°C dapat mempertahankan stabilitas termal dari kolagen, karena suhu untuk kolagen bertransisi menjadi bentuk karet yang lebih lunak dan kurang stabil semakin meningkat, oleh karena itu kolagen dapat disimpan secara optimal pada suhu yang rendah. Pada penyimpanan suhu 26 °C, terjadi penurunan suhu transisi kaca (Tg) menjadi 66,18 °C. Hal serupa juga terjadi dengan kolagen yang disimpan pada suhu 40 °C, dimana



Gambar 5. Kurva Perubahan Suhu Transisi Kaca (Tg) Kolagen Kulit Ikan Gabus pada Hari Kontrol, Ke-30, dan Ke-60



Gambar 6. Spektrum FTIR Serbuk Kolagen Kulit Ikan Gabus (*Channa striata*) setelah dilakukan penyimpanan pada RH 80%. (a) Penyimpanan suhu 5°C, (b) Penyimpanan suhu 26°C, (c) Penyimpanan suhu 4 °C

penurunan suhu transisi kaca (T_g) menjadi 55,01 °C.

Penurunan suhu transisi kaca dari serbuk kolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*) menandakan terjadi gangguan stabilitas termal dari serbuk kolagen yang disimpan pada suhu tinggi. Serbuk kolagen kurang optimal jika disimpan pada suhu yang tinggi, karena akan mempercepat perubahan bentuk kolagen menjadi bentuk karet yang kurang stabil.

Seperti yang tertera pada Gambar 6, terdapat pergeseran bilangan gelombang serta penurunan intensitas transmittan pada analisis gugus fungsi kolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*) setelah dilakukan penyimpanan selama 60 hari. Pergeseran bilangan gelombang dan penurunan intensitas transmittan pada gugus fungsi kolagen yang sangat signifikan diamati pada pita Amida A.

Pergeseran bilangan gelombang amida A serbuk kolagen yang telah disimpan selama 60 hari pada RH 80% dengan suhu 5, 26, dan 40 °C mengalami penurunan secara berturut-turut sebesar 8,71; 13,5; dan 15,43 cm⁻¹, seperti yang tertera pada Tabel 3. Pergeseran ini merupakan pergeseran ke arah kanan dan disebut juga dengan pergeseran hipsokromik [19]. Pergeseran pita Amida A ke arah bilangan gelombang yang lebih kecil menandakan adanya kerusakan konformasi serta dapat dikaitkan dengan rusak dan hilangnya ikatan hidrogen dalam kolagen. Dalam penelitian ini, terjadi perpendekan ikatan hidrogen pada kolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*) setelah penyimpanan. Perpendekan ikatan hidrogen ini dapat menurunkan stabilitas kolagen terhadap suhu, karena ikatan hidrogen dalam kolagen berperan penting

Tabel 3. Analisis Pergeseran Bilangan Gelombang Amida A Serbuk Kolagen

Kondisi Penyimpanan	Amida A		
	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)		
	Kontrol	Hari 60	Selisih
Suhu 5oC	3304,06	3295,35	8,71
Suhu 26oC	3304,06	3290,56	13,5
Suhu 40oC	3304,06	3288,63	15,43

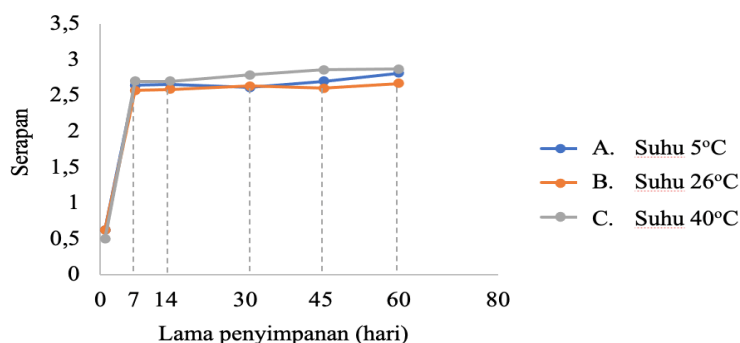
untuk menjaga stabilitas struktur kolagen [20].

Pita amida I dari kolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*) baik yang disimpan pada suhu 5, 26, maupun 40°C selama 60 hari penyimpanan masih menunjukkan serapan pada bilangan gelombang 1630 cm⁻¹, hal ini menandakan bahwa kolagen masih memiliki residu asam amino *β-sheet*, dan selama 60 hari penyimpanan belum terdapat pergeseran menjadi serapan residu asam amino *random coil* (1650 cm⁻¹) yang merupakan ciri khas dari struktur gelatin [12]. Teori lain untuk melihat apakah pada analisis gugus fungsi kolagen sudah terjadi konversi menjadi gelatin atau belum adalah dengan membandingkan bilangan gelombang 1450 cm⁻¹ dengan serapan pita Amida III. Rasio yang dihasilkan setelah 60 hari penyimpanan pada serbuk kolagen adalah 1,17 (mendekati 1). Hasil ini menunjukkan gugus fungsi yang ditampilkan merupakan gugus fungsi kolagen. Jika gugus fungsi yang ditampilkan sudah mengalami perubahan menjadi gugus fungsi gelatin, maka rasio antara pita Amida III dan serapan gelombang 1450 yang didapatkan akan mendekati angka 0,59 [20].

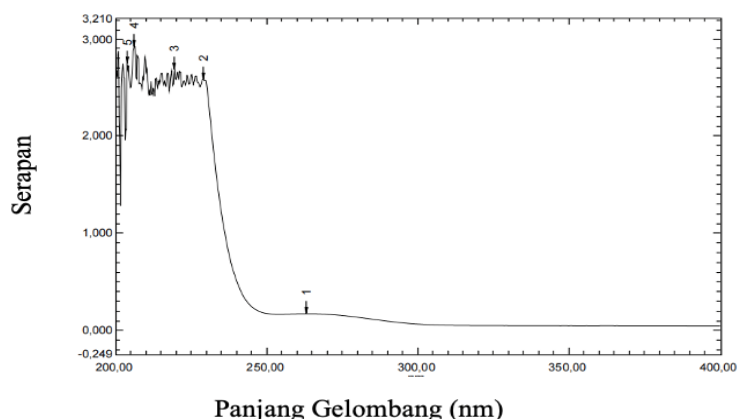
Intensitas serapan UV dari suatu bahan dapat berubah meningkat (efek hiperkromik) ataupun menurun (efek hipsokromik) dikarenakan beberapa faktor seperti konsentrasi analit, pH pelarut, suhu larutan, dan lainnya [19]. Sebagaimana yang terlihat pada Gambar 7, terdapat

perubahan intensitas serapan pada panjang gelombang di titik ±230 nm seiring dengan bertambahnya lama waktu penyimpanan dari kolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*). Peningkatan intensitas pada kontrol dan setelah dilakukan penyimpanan selama 60 hari pada penyimpanan suhu 5, 26, dan 40°C secara berurut adalah 2,441; 2,296; dan 2,505.

Peningkatan intensitas yang terjadi dapat disebut dengan efek hiperkromik [19]. Intensitas serapan yang meningkat drastis pada angka kisaran 2-3 juga dapat terjadi karena selama 60 hari penyimpanan, kolagen yang terdispersi dalam asam asetat 0,5 M dibuat dengan konsentrasi yang sangat rendah, yaitu 0,25 mg/mL. Dispersi kolagen juga merupakan dispersi koloidal (cairan yang mudah mengendap), sehingga saat dianalisis dengan spektrofotometer UV, serapan yang terlihat mungkin saja menunjukkan serapan dari asam asetat 0,5 M. Kesimpulan ini juga didapatkan karena berdasarkan literatur, asam asetat dengan konsentrasi 0,5 M memiliki serapan maksimum UV pada angka 2,5 [21]. Kemudian, berdasarkan hasil analisis UV terhadap asam asetat 0,5 M pada panjang gelombang 200 – 400 nm, didapatkan bahwa asam asetat 0,5 M memiliki serapan maksimum pada angka 2,922, dan serapan asam asetat pada panjang gelombang ±230 nm adalah senilai 2,587. Hasil analisis UV asam asetat 0,5 M dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 7. Perbandingan Intensitas Serapan UV Dispersi Kolagen Selama Penyimpanan Dengan RH 80%



Gambar 8. Spektrum UV/Vis dari Larutan Asam Asetat 0,5 M

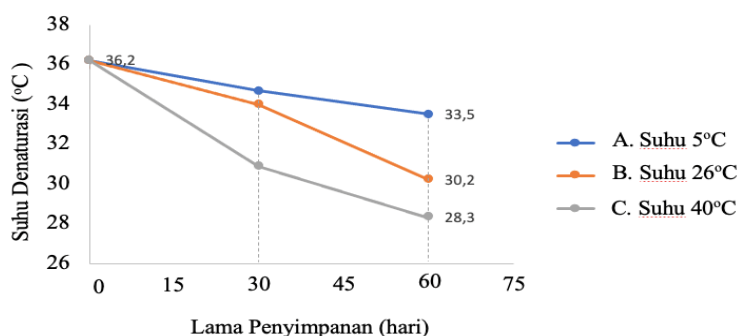
Penurunan suhu denaturasi kolagen dapat dikaitkan dengan pemotongan rantai atau polimer protein. Terdapat empat faktor yang dapat mempengaruhi pemotongan rantai polimer seperti suhu, waktu, jenis enzim, serta jenis larutan (asam dan basa kuat) [22]. Suhu denaturasi untuk kontrol kolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*) adalah 36,2 °C.

Untuk sampel dispersi kolagen yang disimpan pada suhu 5 °C, suhu denaturasi turun menjadi 33,5 °C setelah disimpan 60 hari. Penyimpanan pada suhu 26 °C menyebabkan penurunan suhu denaturasi menjadi 30,2 °C. Penurunan suhu denaturasi yang paling besar terjadi pada dispersi kolagen yang disimpan pada suhu 40 °C, yaitu turun menjadi 28,3 °C seperti yang ditunjukkan pada Gambar 9. Dapat dikatakan bahwa seiring dengan meningkatnya suhu penyimpanan serta lama penyimpanan dispersi kolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*), maka semakin turun suhu denaturasi dispersi kolagen. Hal ini berarti terjadi gangguan stabilitas dari dispersi kolagen selama penyimpanan. Secara eksperimental, suhu denaturasi untuk dispersi kolagen adalah 36,2°C, sehingga

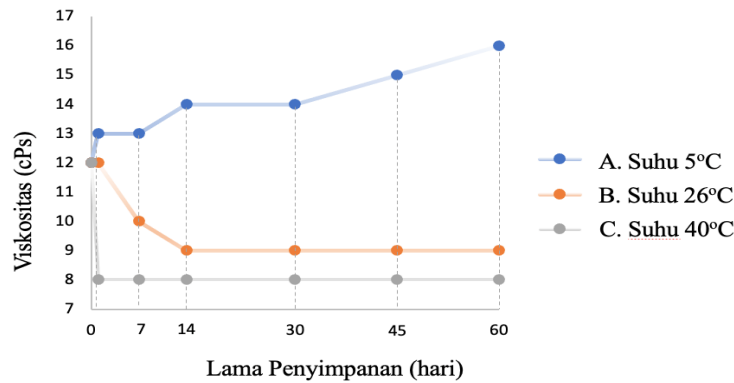
dapat dikatakan bahwa penyimpanan dispersi kolagen yang optimal adalah pada suhu 5 dan 26 °C.

Kurva perubahan viskositas dispersi kolagen setelah dilakukan penyimpanan dapat dilihat pada Gambar 10. Terlihat bahwa pada selama 60 hari penyimpanan pada suhu 5°C, viskositas dari dispersi kolagen terus mengalami peningkatan sebanyak 4 cPs. Viskositas kolagen yang meningkat selama penyimpanan pada suhu rendah dapat dikarenakan dispersi kolagen mengalami peristiwa *supercooled*, dimana seiring dengan menurunnya suhu maka viskositas dari cairan akan semakin meningkat [23].

Viskositas dispersi kolagen yang disimpan pada suhu 26°C dan 40 °C mengalami penurunan yang cukup signifikan. Setelah 60 hari penyimpanan, viskositas dispersi kolagen pada penyimpanan suhu 26 °C menurun sebanyak 3 cPs. Sedangkan untuk dispersi kolagen yang disimpan pada suhu 40 °C, viskositas menurun dari 12 cPs menjadi 8 cPs dan menetap hingga hari terakhir penyimpanan. Nilai viskositas yang menurun dapat disebabkan karena rusaknya ikatan hidrogen yang berperan dalam menjaga stabilitas struktur kolagen akibat paparan terhadap suhu



Gambar 9. Kurva Perubahan Suhu Denaturasi (Td) Dispersi Kolagen Kulit Ikan Gabus pada Hari Kontrol, Ke-30, dan Ke-60



Gambar 10. Perbandingan Viskositas Dispersi Kolagen Selama Penyimpanan Dengan RH 80%. (a) Suhu 5°C, (b) Suhu 26°C, (c) Suhu 40°C

yang tinggi. Nilai viskositas yang rendah pada dispersi kolagen kulit ikan gabus setelah disimpan pada suhu 26 °C dan 40 °C juga dapat disebabkan oleh proses denaturasi kolagen yang dapat terjadi karena temperatur yang tinggi [24].

Kemungkinan adanya peristiwa denaturasi pada dispersi kolagen juga dapat disimpulkan dari suhu denaturasi dispersi kolagen hasil penelitian, yaitu 36,2 °C, sehingga bisa dipastikan dispersi kolagen yang disimpan pada suhu 40 °C sudah terdenaturasi dan salah satu ciri fisiknya ditandai dengan penurunan viskositas yang signifikan dan tetap. Namun, penelitian ini memiliki keterbatasan evaluasi yang hanya dilakukan secara deskriptif - kualitatif, sehingga perlu penelitian lebih lanjut secara kuantitatif dengan menggunakan analisis statistika untuk mengetahui nilai signifikan pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap karakteristik fisikokimia kolagen kulit ikan gabus.

Kesimpulan

Semakin tinggi suhu dan semakin lama waktu penyimpanan pada RH 80%, kualitas karakteristik fisikokimia serbuk dan dispersi kolagen kulit ikan gabus (*Channa striata*) semakin mengalami penurunan. Selama 60 hari, serbuk kolagen dapat bertahan pada penyimpanan suhu 5, 26, dan 40 °C, sedangkan dispersi kolagen pada suhu 5 dan 26 °C. Setelah 60 hari penyimpanan, kolagen juga masih dapat mempertahankan struktur *triple helix*-nya dan belum terlihat adanya konversi menjadi gelatin.

Referensi

- [1]. Sionkowska A. Current research on the blends of natural and synthetic polymers as new biomaterials: Review. *Prog Polym Sci.* 2011;36(9):1254–76. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.05.003>
- [2]. Mariod AA, Adam HF. Review: Gelatin, source, extraction and industrial applications. *Acta Sci Pol Technol Aliment.* 2013;12(2):135–47.
- [3]. Chen J, Li L, Yi R, Gao R, He J. Release kinetics of Tilapia scale collagen I peptides during tryptic hydrolysis. *Food Hydrocoll.* 2018;77:931–6. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.11.040>
- [4]. Zhang X, Xu S, Shen L, Li G. Factors affecting thermal stability of collagen from the aspects of extraction, processing and modification. *J Leather Sci Eng.* 2020;2(1). <https://doi.org/10.1186/s42825-020-00033-0>
- [5]. Chen J, Li M, Yi R, Bai K, Wang G, Tan R, et al. Electrodialysis Extraction of Pufferfish Skin (*Takifugu flavidus*): A promising source of collagen. *Mar Drugs.* 2019;17(1):1–15. <https://doi.org/10.3390/md17010025>
- [6]. Chen J, Li J, Li Z, Yi R, Shi S, Wu K, et al. Physicochemical and functional properties of type I collagens in red stingray (*Dasyatis akajei*) Skin. *Mar Drugs.* 2019;17(10). <https://doi.org/10.3390/md17100558>
- [7]. Herwig J. Hilderson; Gregory B. Ralston. *Subcellular Biochemistry: Physicochemical Methods in the Study of Biomembranes.* Vol. 23. Springer Science+Business Media New York; 1994. 1–23 p.
- [8]. Shevkani K, Singh N, Kaur A, Rana JC. Structural and functional characterization of kidney bean and field pea protein isolates: A comparative study. *Food Hydrocoll.* 2015;43:679–89. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.07.024>
- [9]. PRL D. Kelautan dan Perikanan dalam Angka. [Online] Available at <https://kpk.go.id> [Accessed Desember 2021]. 2019;(Pusat Data, Statistik, dan Informasi Sekretariat Jenderal, Kementerian Perikanan dan Kelautan).
- [10]. Rismana, dkk. *Farmasi Fisik: Dasar Dasar Farmasi Fisik dalam Ilmu Farmasetika.* UI Press. 2015;17(1):27–37.
- [11]. Iswariya S, Velswamy P, Uma TS. Isolation and Characterization of Biocompatible Collagen from the Skin of Puffer Fish (*Lagocephalus inermis*). *J Polym Environ.* 2018;26(5):2086–95. <https://doi.org/10.1007/s10924-017-1107-1>
- [12]. Muyonga JH, Cole CGB, Duodu KG. Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chem.* 2004;85(1):81–9. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.06.006>
- [13]. Ahmad M, Benjakul S. Extraction and characterisation of pepsin-solubilised collagen from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*). *Food Chem.* 2010;120(3):817–24. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.019>

- [14]. Ramli AR, Annisa AR, Bahmid NA, Mustafa MD. Isolation of papain-soluble collagen from the skin of snake-head fish (*Channa striata*). *Canrea J Food Technol Nutr Culin J*. 2020;3(2):87–93. <https://doi.org/10.20956/canrea.v3i2.367>
- [15]. Moreno HM, Montero MP, Gómez-Guillén MC, Fernández-Martín F, Mørkøre T, Borderías J. Collagen characteristics of farmed Atlantic salmon with firm and soft fillet texture. *Food Chem*. 2012;134(2):678–85. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.160>
- [16]. Samouillan V, Delaunay F, Dandurand J, Merbahi N, Gardou J-P, Yousfi M, et al. The Use of Thermal Techniques for the Characterization and Selection of Natural Biomaterials. *J Funct Biomater*. 2011;2(3):230–48. <https://doi.org/10.3390/jfb2030230>
- [17]. Lee SW. Assessment of the Influence of Acetic Acid Residue and Characterization. 2018;(December). <https://doi.org/10.3390/ma11122518>
- [18]. Gonzalez LG, Wess TJ. The effects of hydration on the collagen and gelatine phases within parchment artefacts. *Herit Sci*. 2013;1(1):1–8. <https://doi.org/10.1186/2050-7445-1-14>
- [19]. Dachriyanus. Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi. PADang: Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LPTIK) Universitas Andalas; 2004. 1–27 p.
- [20]. Safithri M, Tarman K, Suptijah P, Novita Sagita S. Karakteristik Kolagen Larut Asam Teripang Gama (*Stichopus variegatus*). *Jurnal Pengolahan Has Perikanan Indonesia*. 2020;23(1):166–77. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v23i1.31063>
- [21]. Graciela Ruderman ERC, Ines G. Mogilner and EJT. Hydrogen Bonding of Carboxylic Acids in Aqueous Solutions—UV Spectroscopy, Viscosity, and Molecular Simulation of Acetic Acid. *J Solution Chem*. 1998; 27(10):935–48. <https://doi.org/10.1023/A>
- [22]. Putra ABN, Sahubawa L, Ekantari N. Ekstraksi dan Karakterisasi Kolagen dari Kulit Ikan Nila Hitam (*Oreochromis niloticus*). *J Pascapanen dan Bioteknologi Kelaut dan Perikanan*. 2013;8(2):171. <https://doi.org/10.15578/jpbkp.v8i2.61>
- [23]. Setiabudi ARHAM. Karakterisasi Material: Prinsip dan Aplikasinya dalam Penelitian Kimia. Vol. 1, UPI Press. 2012. 37–39 p.
- [24]. Wulandari W, Suptijah P. Effectiveness of Alkaline Pretreatment and Acetic Acid Hydrolysis on the Characteristics of Collagen from Fish Skin of Snakehead. *J Pengolah Has Perikanan Indonesia*. 2015;18(3). <https://doi.org/10.17844/jphpi.v18i3.11309>
- [25]. BSN. Kolagen Kasar dari Sisik Ikan – Syarat Mutu dan Pengolahan. 2014.



Copyright © 2023 The author(s). You are free to share (copy and redistribute the material in any medium or format) and adapt (remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially) under the following terms: Attribution — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; ShareAlike — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)