



**AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ENZIM KOLAGENASE DARI ORGAN DALAM IKAN MALONG  
(*Congresox talabon*) PADA pH BERBEDA**

**CRUDE COLLAGENASE ENZYME ACTIVITIES FROM INTERNAL ORGANS MALONG FISH  
(*Congresox talabon*) AT DIFFERENT pH**

Wikky Aditiya Putra, Rahman Karnila, Andarini Diharmi

**INFO ARTIKEL**

Submit: 11-11-2020  
Perbaikan: 30-1-2021  
Diterima: 12-2-2021

**Keywords:**

Ekstraksi, enzim, ikan malong, substrat

**ABSTRACT**

Enzymes are biocatalysts that function as catalysts in biological functions. Collagenase enzymes have activities that can support product production. Enzyme activity for protein hydrolysis is influenced by several factors such as protein concentration, pH, temperature, substrate, inhibitor and activator. This study was aimed to determine the effect of differences in pH on the crude extract activity of the collagenase enzyme from the internal organs of malong fish. The study used a non-factorial completely randomized design, the treatments used were different pH (6.5, 7.5, and 8.5). This research consisted of several stages, namely sample preparation, extraction of internal organs to produce crude extract of the collagenase enzyme and test the activity of crude extract of the collagenase enzyme based on different pH. The analysis parameters was consisted of the proportion of fish yield, and the enzyme crude extract activity test at different pH. The results showed that malong fish has a proportion of meat 7,2 parts, bone 3,8, internal organs 1, skin 2,1. The yields of crude extract of collagenase enzyme pH 6.5, 7.5, and 8.5 were 60.83%, 64.09%, and 83.15%, respectively. The crude extract activity of collagenase enzyme from the internal organs of malong fish at pH 6.5, 7.5 and 8.5 was resulted in 0.293 U/ml, 0.5877 U/ml, and 0.7767 U/mL. The highest collagenase enzyme crude extract activity was produced at pH 8.5.

**1. PENDAHULUAN**

Data statistik KKP (2019) menyebutkan bahwa jumlah produksi ikan malong (*Congresox talabon*) di Indonesia mencapai 26.737,54 kg. Tingginya data produksi ikan malong di Indonesia dapat menyebabkan bertambahnya limbah yang dihasilkan dari ikan malong seperti organ dalam ikan malong. Selain data produksi yang cukup tinggi di Indonesia ikan malong (*Congresox talabon*) juga mengandung kadar protein yang cukup tinggi mencapai 12,27% (Leksono, 2019), dengan kandungan protein yang cukup maka ikan ini berpotensi sebagai bahan baku enzim.

Enzim adalah biokatalisator yang berfungsi sebagai katalis dalam fungsi biologis. Secara umum, enzim menghasilkan kecepatan, spesifikasi, dan kendali pengaturan terhadap reaksi dalam

tubuh (Supriyatna, 2015). Enzim berfungsi sebagai katalisator yaitu senyawa yang meningkatkan reaksi kimia, suatu enzim dapat mempercepat laju reaksi  $10^8$  sampai  $10^{11}$  kali lebih cepat dibandingkan ketika reaksi tidak menggunakan katalis (Marks, 2014), dengan efisiensi kerja yang diakibatkan oleh enzim maka muncul suatu inovasi baru bernilai ekonomis berasal dari sumberdaya perairan.

Kebutuhan masyarakat dapat dilakukan dengan mulainya memanfaatkan bagian-bagian yang tidak termanfaatkan dari ikan ataupun yang biasanya disebut dengan limbah. Ikan malong (*Congresox talabon*) merupakan salah satu sumber protein juga sebagai sumber enzim protease dan enzim kolagenase.

Enzim kolagenase mampu menghidrolisis protein yang terdapat pada daging ikan (*Congresox talabon*). Enzim kolagenase mendegradasi ikatan polipeptida terutama pada jaringan ikan ataupun kolagen pada ikan. Nurhayati (2010) mengatakan bahwa enzim

Wikky Aditiya Putra, Rahman Karnila, Andarini Diharmi  
Jurusan Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau, Kampus Bina Widya Km 12,5 Simpang Baru, Pekanbaru, Riau, Indonesia  
\*E-mail: rini\_abrar@yahoo.com

kolagenase banyak diaplikasikan dalam industri, obat-obatan dan riset. Pemanfaatan enzim kolagenase dalam bidang perikanan sebagai penyamakan kulit ikan, penghilangan membran, dan hidrolisat protein.

Aktivitas atau kesanggupan enzim untuk dapat menghidrolisis khususnya protein dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti konsentrasi protein, pH, suhu, substrat, inhibitor dan aktivator. Hal ini dikarenakan setiap enzim untuk dapat beroperasi memiliki pH maksimum (Nurkhotimah, 2017). Berdasarkan penelitian sebelumnya aktivitas optimum enzim kolagenase yang diperoleh dari organ dalam ikan tuna mencapai 0,049 U/mL dan memiliki aktivitas optimum pada pH 8. Berdasarkan penelitian sebelumnya maka organ dalam ikan malong dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku enzim kolagenase (Kumaila, 2008). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas enzim kolagenase pada pH berbeda

## 2. BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah organ dalam ikan malong (*Congresox talabon*) diperoleh dari pasar Bengkalis, Riau. Bahan-bahan kimia terdiri atas substrat kolagen, CaCl<sub>2</sub> (Merck), Buffer Tris-HCL, TCA (*trychloroacetic acid*), tirosin (Sigma Aldrick), ninhydrin (Merck), 1-propanol (Merck), *Bovine Serum albumin* (BSA), Comasie brilliant, etanol, asam fosfat. Alat yang digunakan adalah Spektrofotometer UV-Vis 595 nm (Optima), sentrifuge regrigerator (Oregon), inkubator, mikropipet, alat-alat gelas, tip, timbangan analitik, *homogenizer*, dan oven.

### Metode Penelitian

Metode penelitian ini menggunakan metode eksperimen yaitu melakukan percobaan secara langsung dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang digunakan adalah pH berbeda (6,5; 7,5; 8,5) dengan 3 kali ulangan, sehingga total unit perlakuan menjadi 9 unit perlakuan. Prosedur penelitian ini terdiri atas 3 tahap, 1) preparasi sampel 2) ekstraksi enzim kolagenase, 3) uji aktivitas ekstrak kasar enzim kolagenase berdasarkan pH berbeda yang diperoleh dari organ dalam ikan malong (*Congresox talabon*). Parameter yang diuji dalam penelitian ini adalah analisis rendemen ekstrak kasar enzim kolagenase dan uji aktivitas ekstrak kasar enzim kolagenase.

### Preparasi sampel

Ikan malong disiangi dan dilakukan perhitungan

proporsi (daging, organ dalam, tulang, kulit) organ dalam dipotong kecil untuk mempermudah tahap homogenisasi.

### Ekstraksi enzim kolagenase (Moore dan Stein (1954) didalam kim *et al.* (2002)

Organ dalam ikan malong yang sudah dicuci dengan air mengalir dan setelah dikecilkan ukurannya dengan cara dipotong ditambahkan dengan 5 mM buffer Tris-HCl (pH 6,5; 7,5; 8,5) yang terdiri dari 0,5 mM CaCl<sub>2</sub>, dengan rasio bahan baku : larutan buffer 1 : 5, campuran tersebut kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *homogenizer*. Selanjutnya dilakukan proses sentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm selama 20 menit pada suhu ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ ) hingga terbentuk supernatan dan persipitat. Kemudian dilakukan pemisahan dengan menambahkan larutan buffer dengan rasio bahan baku : larutan buffer 1 : 1/3, dan kemudian dilakukan proses sentrifugasi kembali dengan kecepatan 7000 rpm selama 20 menit. Selanjutnya supernatan yang dihasilkan ditambahkan dengan 5 mM Tris-HCl (pH 6,5; 7,5; 8,5) yang mengandung 0,5 mM CaCl<sub>2</sub>, kemudian didiamkan pada suhu rendah ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ ) selama 24 jam. Larutan yang dihasilkan merupakan ekstrak kasar kolagenase yang akan digunakan untuk pengujian selanjutnya.

### Pengujian aktivitas enzim kolagenase pada pH maksimum (Moore dan Stein 1954 didalam Park *et al.* 2002).

Substrat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kolagen komersial. Aktivitas kolagenolitik ini diukur dengan menggunakan metode (Moore dan Stein (1954) didalam Park (2002), dengan cara mereaksikan 5 mL kolagen dan ditambahkan 1 mL 0,05 M Tris-HCL (pH 7,5) yang terkandung di dalamnya 5 mM CaCl<sub>2</sub> dan 0,1 mL larutan enzim. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit. Kemudian dilakukan inaktivasi reaksi dari proses tersebut dengan cara menambahkan 0,2 mL 50% TCA (*Trychloroacetic Acid*), lalu didiamkan pada suhu ruangan selama 10 menit dan dilakukan sentrifus. Supernatan yang terbentuk sebanyak 0,2 mL dicampurkan dengan 1 mL larutan ninhydrin 0,1 % dan diinkubasi pada suhu 100°C selama 20 menit dan didinginkan pada suhu kamar. Aktivitas enzim diukur menggunakan spektrofotometer UV-VIS dengan panjang gelombang 570 nm, larutan enzim dilakukan pengenceran dengan 5 mL 1-propanol 50%. Larutan tirosin digunakan sebagai standar enzim kolagenase.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Proporsi Ikan Malong (*Congresox talabon*)

Perbandingan bagian-bagian ikan malong dapat disajikan pada Tabel 1.

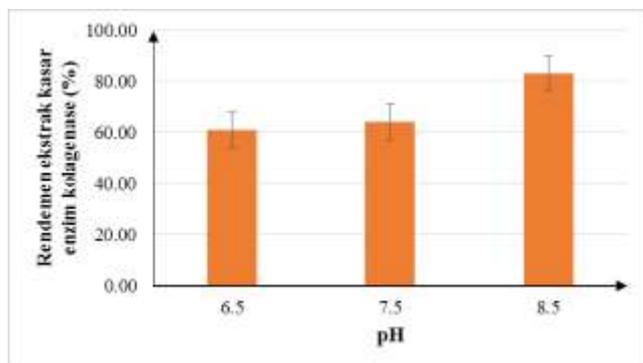
Tabel 1. Proporsi bagian-bagian ikan malong (*Congesox talabon*)

No	Bagian tubuh ikan	Bobot (g)	(%)
1	Daging	376	51
2	Tulang	199	27
3	Organ dalam(jeroan)	52	7
4	Kulit	110	15
Total		737	100

Daging (51%) merupakan bagian terbesar dari ikan malong (*Congresox talabon*). Area tubuh ikan malong yang memiliki daging putih tebal yang merupakan kumpulan otot-otot dan jaringan pengikat yang membentuk daging menjadi lebih padat menyebabkan persentase bagian yang paling tinggi pada tubuh ikan malong. Tulang (27%) terdiri atas bagian kepala yang terdiri dari insang, mulut dan mata. Jeroan mencapai 7% yang meliputi semua organ dalam usus, jantung, gelembung renang, pankreas, hati dan bagian kulit (15%) dari bagian tubuh ikan. Rasio bagian ikan malong (*Congresox talabon*) dalam 1 ekor ikan malong utuh yang memiliki berat 738 g dengan perbandingan daging : tulang : jeroan : kulit adalah 7,2 : 3,8 : 1 : 2,1.

#### Rendemen Ekstrak Kasar Enzim Kolagenase

Rendemen dari suatu bahan baku berfungsi untuk mengetahui seberapa efektif dan efisien perlakuan terhadap suatu produk. Semakin besar hasil rendemen maka semakin efisien perlakuan yang diberikan terhadap suatu produk tanpa mengesampingkan faktor-faktor lainnya. Rata-rata rendemen ekstrak kasar enzim kolagenase disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Rata-rata rendemen ekstrak kasar enzim kolagenase

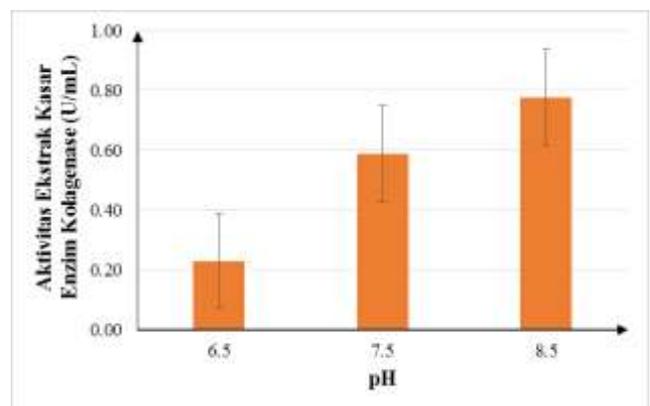
pH merupakan faktor yang dapat mempengaruhi rendemen, semakin tinggi pH yang

diberikan maka semakin tinggi rendemen ekstrak kasar enzim kolagenase yang diperoleh. Hasil analisis variansi (ANOVA) nilai rerata rendemen ekstrak kasar enzim kolagenase organ dalam ikan malong menunjukkan bahwa adanya peningkatan rendemen ekstrak kasar enzim kolagenase yang disebabkan oleh perbedaan pH. pH berpengaruh nyata terhadap rendemen ekstrak kasar enzim kolagenase yang dihasilkan dimana  $F_{hit}(27) > F_{tabel}(5,14)$  pada tingkat kepercayaan 95%. Hasil uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) rendemen ekstrak kasar enzim kolagenase menunjukkan setiap perlakuan berbeda nyata. Rendemen tertinggi terdapat pada perlakuan pH 8,5 sebesar 83,15%.

Hasil penelitian Nurhaeni (2017) menyatakan bahwa rendemen ekstrak enzim lipase yang diperoleh dari perbedaan pH mencapai nilai tertinggi 1,069%, hal ini menunjukkan bahwa perubahan pH akan menyebabkan ionisasi pada molekul protein akan berubah.

#### Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Kolagenase

Aktivitas ekstrak kasar enzim kolagenase dengan pH berbeda menunjukkan bahwa semakin tinggi pH maka semakin tinggi aktivitas ekstrak kasar enzim. Rata rata aktivitas enzim kolagenase disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Rata-rata aktivitas ekstrak kasar enzim kolagenase

Aktivitas ekstrak kasar enzim kolagenase meningkat dari pH 6,5 sampai pH 8,5. Rata-rata aktivitas tertinggi dari ekstrak kasar enzim kolagenase pada pH 8,5. Semakin tinggi pH yang digunakan untuk menghidrolisis protein kolagen maka semakin tinggi pula aktivitas enzim dalam menghidrolisis substrat kolagen.

Hasil analisis variansi (ANOVA) ekstrak kasar enzim kolagenase organ dalam ikan malong menunjukkan bahwa adanya peningkatan aktivitas ekstrak kasar enzim kolagenase yang disebabkan oleh perbedaan pH dan memberikan

dampak yang nyata terhadap nilai aktivitas ekstrak kasar enzim kolagenase yang dihasilkan. Hasil uji lanjut nilai aktivitas ekstrak kasar enzim kolagenase tertinggi terdapat pada perlakuan pH 8,5 sebesar 0,77 U/mL dan perbedaan dapat dilihat dari setiap perlakuan yang diberikan.

Berdasarkan penelitian Faizah (2017) mengatakan perlakuan pH 8 terdapat aktivitas enzim protease sebesar 0,766 U/mL pada suhu 45°C, hal ini masih tergolong rendah dikarenakan kecepatan reaksi kimia yang mempercepat gerak termal molekul, sehingga terjadi peningkatan energi untuk memasuki keadaan transisi.

pH berperan sangat penting terhadap aktivitas enzim. Enzim dapat memiliki grup yang dapat terionisasi sehingga perubahan pH akan merubah konformasi enzim, pengikatan substrat dan daya katalitik dari grup-grup pada sisi aktif enzim (Kumaila, 2008).

Derajat keasaman pH lingkungan juga berpengaruh terhadap kecepatan aktivitas enzim dalam mengkatalis suatu substrat yang disebabkan oleh ion H<sup>+</sup> dalam mempengaruhi struktur tiga dimensi enzim dan aktivitasnya. Ion H<sup>+</sup> berubah dari konsentrasi optimal, maka aktivitas enzim akan hilang secara progresif hingga akhirnya enzim menjadi tidak fungsional (Faizah, 2017).

Tingginya aktivitas enzim juga dapat dipengaruhi oleh tingginya protein yang terdapat pada substrat seperti gelatin mencapai 75,13%, selain itu juga karena adanya penambahan ion logam sebagai aktivator enzim pada perlakuan seperti CaCl<sub>2</sub> dan MnCl<sub>2</sub> serta adanya penambahan sumber nitrogen dan sumber karbon pada perlakuan (Prihardhani, 20016).

#### 4. KESIMPULAN

Rasio bagian tubuh ikan malong (*Congresox talabon*) dalam 1 ekor ikan malong utuh yang memiliki berat 738 gram dengan perbandingan daging : tulang : jeroan : kulit adalah 7,2 : 3,8 : 1 : 2,1. Rendemen ekstrak kasar enzim kolagenase menunjukkan perbedaan dari setiap perlakuan dari pH (6,5; 7,5; 8,5). Rendemen tertinggi terdapat pada perlakuan pH 8,5 sebesar 83,15%. Organ dalam dari ikan malong (*Congresox talabon*) dapat dimanfaatkan sebagai sumber bahan baku enzim kolagenase. Aktivitas ekstrak kasar enzim kolagenase yang diperoleh pada pH 8.5 sebesar

0,7767 U/mL

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih pada Laboratorium Genetika FMIPA Universitas Riau yang telah memfasilitasi penelitian ini. Terimakasih pada Universitas Riau melalui program Proyek AKSI ADB Tahun Anggaran 2020 yang telah mendanai sebagian penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP). 2019. Ekspor perdana Tanjung Balai Optimis Optimalkan Ekspor Hasil Perikanan. <http://www.kkp.go.id>. Diakses pada 1 November 2019.
- Faizah, M. 2017. Pengaruh Suhu dan pH Terhadap Aktivitas Enzim Protease *Bacillus subtilis* dari Daun Kenikir (*Cosmos sulphureus*) yang ditumbuk dalam Media Campuran Limbah Cair Tahu dan Dedak. Skripsi. Universitas Islam Negri Maulana Malik Ibrahim.
- Kumaila, R., Tati, N., Rosita, A. J. 2008. Ekstraksi dan Karakterisasi Enzim Kolagenase dari Organ Dalam Ikan Tuna (*Thunnus* sp). Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia 2(03): 409-415.
- Marks, D. B., Marks, A. D., Smith, C. M. 2014. Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah Pendekatan Klinis. EGC. Jakarta.
- Nurhaeni, Ahmad, R., Magfira. 2017. Pengaruh Ekstrak Metanol dan Daun Pepaya Terhadap Aktivitas Enzim Lipase. Kovalein 3(3): 211-222.
- Nurhayati, T. 2010. Aktivitas Enzim Katepsin dan Kolagenase pada Kulit Ikan Bandeng (*Chanos chanos, Forskal*) Selama Periode Kemunduran Mutu. Akuatik-Jurnal Sumberdaya Perairan 4(2): 13-17.
- Nurkhotimah., Evy, Y., Anna, R. 2017. Pengaruh Suhu dan pH Terhadap Aktivitas Enzim Fosfatase Bakteri termofilik Sungai Gendol Pasca Erupsi Merapi. Jurnal Prodi Biologi. 6(8): 1-7.
- Pyo-Jam, P., Lee, Sang-Hoon, L., Hee-Guk, B., Se-Kwon, K. 2002. Purification and Characterization of A Collagenase from The Mackerel, *Scomber japonicas*. Journal of Biochemistry and Molecular Biology 35(6): 576-582.
- Prihardhani, D. I., Yuniarta, Y. 2016. Ekstraksi Gelatin Kulit Ikan Lencam (*Lentrisus* Sp) dan Aplikasinya untuk Produk Permen Jeli. Jurnal Pangan Dan Agroindustri 4(1): 356-366.
- Supriyatna, A., Amalia, D., Jauhari, A. A., Holydaziah, D. 2015. Aktivitas Enzim Amilase, Lipase, dan Protease dari Larva yang Diberi Pakan Jerami Padi. Jurnal Istek 9(2): 18-32.