

Characterization of Collagen from Skipjack Tuna (*Katsuwonus pelamis*) Bone Using Sodium Hydroxide-Assisted Hydrolysis

Nur Aini Abdul Rahman^{1*}, Wahdaniar¹, Nur Insani Amir¹

¹ Program Studi Sains Biomedis, Fakultas Teknologi Kesehatan, Universitas Megarezky, Manggala, Makassar, 90234, Indonesia.

*Correspondence: ainirahman1198@gmail.com

ABSTRACT

Background. Collagen is the main structural protein in vertebrate connective tissue, comprising 25–30% of total animal protein. Skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) bone is a promising alternative collagen source, available in large quantities as a fishery by-product in Indonesia. **Objective.** This study determined the extraction yield and characterized the collagen extract obtained from skipjack tuna bone via maceration with 5% sodium hydroxide (NaOH). **Methods.** Bone was macerated in 5% NaOH for three days, neutralized with 10% HCl to pH 7, and concentrated using a rotary evaporator. Characterization included yield, organoleptic properties, moisture, ash content, functional groups by FTIR, and protein content by the Lowry method with a BSA calibration curve. **Results.** Extraction yield was 29.85%, considerably higher than acid-based extraction of related tuna species (1.42–21.05%), indicating co-extraction of non-collagenous compounds by NaOH. Moisture (4.03%) and ash (0.18%) met the SNI 8076:2014 threshold. FTIR showed absorption peaks at 3450.65 cm⁻¹ (amide A), 2926.01 cm⁻¹ (amide B), and 1637.56 cm⁻¹ (amide I); the peak at 1408.04 cm⁻¹ fell outside the standard amide II range (1517–1560 cm⁻¹) and is more appropriately identified as a carboxylate vibration. The Lowry calibration curve yielded a protein concentration of 228.8 ppm and a protein content of 91.4%, meeting the SNI minimum standard (>75%). **Conclusion.** Skipjack tuna bone is a promising collagen source with proximate characteristics meeting national standards, though confirming collagen identity requires further analysis, including hydroxyproline content and SDS-PAGE profiling.

Keywords: Fish Bone Collagen; Skipjack Tuna (*Katsuwonus pelamis*); FTIR Spectroscopy; Lowry Method; Extraction Yield

Received: 21 Juli 2025 | Revised: 10 Agustus 2025 | Accepted: 21 Agustus 2025 | Published: 22 Agustus 2025

Cite this article: Rahman, N. A. A., Wahdaniar, & Amir, N. I. (2025). Characterization of collagen from skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) bone using sodium hydroxide-assisted hydrolysis. *Journal of Biomedical Sciences and Health*, 2(2), 100-109. <https://doi.org/10.34310/jbsh.v2.i2.231>

Karakteristik Kolagen Tulang Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis*) dengan Hidrolisis Berpelarut Natrium Hidroksida

ABSTRAK

Latar Belakang. Kolagen merupakan protein struktural utama pada jaringan ikat hewan vertebrata dan mencakup sekitar 25–30% dari total protein hewani. Tulang ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*) berpotensi menjadi sumber kolagen alternatif karena tersedia dalam jumlah besar sebagai limbah perikanan di Indonesia. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan menentukan rendemen dan mengkarakterisasi ekstrak kolagen tulang ikan cakalang hasil maserasi dengan pelarut natrium hidroksida (NaOH) 5%. **Metode.** Tulang ikan cakalang dimaserasi dalam NaOH 5% selama tiga hari, dinetralkan dengan HCl 10% hingga pH 7, lalu dipekatkan menggunakan rotary evaporator. Karakterisasi meliputi rendemen, organoleptik, kadar air, kadar abu, gugus fungsi (FTIR), dan kadar protein metode Lowry dengan kurva kalibrasi BSA. **Hasil.** Rendemen ekstrak 29,85%, jauh lebih tinggi daripada ekstraksi berpelarut asam pada tuna sejenis (1,42–21,05%), mengindikasikan ko-ekstraksi senyawa non-kolagen oleh NaOH. Kadar air (4,03%) dan kadar abu (0,18%) memenuhi ambang SNI 8076:2014. FTIR menunjukkan puncak serapan pada 3450,65 cm^{-1} (amida A), 2926,01 cm^{-1} (amida B), dan 1637,56 cm^{-1} (amida I); puncak 1408,04 cm^{-1} berada di luar rentang amida II baku (1517–1560 cm^{-1}) sehingga lebih tepat diidentifikasi sebagai vibrasi gugus karboksilat. Kurva kalibrasi Lowry menghasilkan konsentrasi protein 228,8 ppm dan kadar protein 91,4%, memenuhi standar minimum SNI (>75%). **Kesimpulan.** Tulang ikan cakalang berpotensi sebagai sumber kolagen dengan karakteristik proksimat yang memenuhi standar nasional, namun konfirmasi identitas kolagen memerlukan analisis lanjutan berupa kadar hidroksiprolina dan profil SDS-PAGE.

Kata Kunci: Kolagen Tulang Ikan; Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis*); Spektroskopi FTIR; Metode Lowry; Rendemen Ekstraksi

1. PENDAHULUAN

Indonesia memiliki wilayah perairan laut yang luas dan menyimpan keanekaragaman hayati laut yang tinggi. Perairan Selat Makassar membentang sepanjang 600 km dengan kedalaman lebih dari 2.000 meter dan menjadi salah satu kawasan dengan potensi sumber daya perikanan yang besar di kawasan timur Indonesia (Haiyqal et al., 2023). Ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*) merupakan salah satu komoditas perikanan pelagis utama yang banyak ditangkap di perairan tersebut dan umumnya diolah menjadi produk konsumsi berbasis daging. Ekstrak tulang ikan cakalang juga telah dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis*, yang menunjukkan bahwa bagian tubuh ikan ini memiliki nilai fungsional di luar pemanfaatan dagingnya (Syam et al., 2023).

Pengolahan ikan cakalang menyisakan bagian tubuh lain, seperti tulang, kepala, sirip, dan jeroan, yang selama ini belum

dimanfaatkan secara optimal. Tulang dan kulit ikan menyumbang sekitar 20% dari total berat tubuh ikan dan berpotensi diolah lebih lanjut menjadi kolagen (Sembiring et al., 2020). Kolagen pada tulang ikan umumnya tergolong kolagen tipe I, yaitu jenis kolagen yang juga ditemukan pada kulit dan jaringan ikat (Jafari et al., 2020; Song et al., 2019). Sifat kolagen berupa kekuatan tarik yang tinggi, antigenisitas rendah, dan biokompatibilitas yang baik menjadikan bahan ini banyak digunakan pada industri kosmetik, farmasi, dan pangan (Oslan et al., 2022).

Kolagen dapat diperoleh dari tulang ikan melalui ekstraksi menggunakan pelarut asam atau basa. Ekstraksi berpelarut asam, seperti asam klorida, telah banyak dilaporkan menghasilkan kolagen larut asam (*acid-soluble collagen*) dengan rendemen yang bervariasi antara 1% hingga 21% bergantung pada konsentrasi asam dan metode yang digunakan (Bhernama et al., 2020; Hanivia & Jariah, 2022; Sembiring et al., 2020). Pelarut basa, seperti

natrium hidroksida (NaOH), pada konsentrasi rendah umumnya digunakan pada tahap awal untuk menghilangkan lemak dan protein non-kolagen melalui proses *degreasing* dan deproteinisasi, sebelum ekstraksi dilanjutkan dengan pelarut asam atau enzim proteolitik (Jafari et al., 2020; Oslan et al., 2022). Penggunaan NaOH pada konsentrasi tinggi dan waktu kontak yang lama berpotensi menghidrolisis ikatan peptida pada rantai kolagen, sehingga produk yang dihasilkan dapat berupa peptida kolagen terhidrolisis dan bukan kolagen dalam struktur triple helix yang utuh. Pertimbangan ini menjadi dasar penting dalam menginterpretasikan karakteristik produk pada penelitian ini.

Penelitian ini bertujuan menentukan nilai rendemen dan mengkarakterisasi ekstrak yang diperoleh dari tulang ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*) melalui metode maserasi menggunakan pelarut NaOH 5%. Karakterisasi dilakukan melalui analisis proksimat berupa kadar air dan kadar abu, identifikasi gugus fungsi menggunakan FTIR, dan penentuan kadar protein menggunakan metode Lowry. Hasil penelitian ini diharapkan memberikan data dasar bagi pengembangan pemanfaatan limbah tulang ikan cakalang, sekaligus menjadi bahan evaluasi kritis terhadap penggunaan NaOH sebagai pelarut ekstraksi kolagen.

2. METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental kuantitatif. Tulang ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*) diekstraksi menggunakan pelarut basa natrium hidroksida (NaOH). Ekstrak yang diperoleh selanjutnya dianalisis secara fisik dan kimia.

2.1 Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tulang ikan cakalang yang diperoleh dari Pasar Ikan Poetere, Kota Makassar; natrium hidroksida (NaOH) 5%; asam klorida (HCl) 10%; pereaksi Lowry A; pereaksi Lowry B; akuades (H₂O); dan kertas saring. Alat yang digunakan meliputi spektrofotometer Ultraviolet-Visible (UV-Vis), spektrofotometer Fourier Transform Infrared (FTIR), rotary evaporator, desikator, tanur, neraca analitik, oven, cawan porselen, gelas kimia 250 mL, gelas ukur 50 mL, labu ukur 50 mL dan 10 mL,

pipet ukur, bulb, tabung reaksi, mortar, alu, blender, pH meter digital, dan pipet tetes.

2.2 Preparasi Sampel

Tulang ikan cakalang dipotong kecil, kemudian dipanaskan dengan api kecil selama 20 menit untuk menghilangkan sisa daging dan darah, lalu diangin-anginkan. Tulang selanjutnya dihaluskan dengan cara ditumbuk dan diblender, kemudian diayak hingga menjadi serbuk simplisia.

2.3 Proses Ekstraksi Kolagen Tulang Ikan Cakalang

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi karena merupakan teknik ekstraksi dingin yang meminimalkan risiko degradasi termal pada kolagen. Serbuk simplisia tulang ikan direndam dalam NaOH 5% dengan perbandingan 1:10 (b/v) hingga seluruh serbuk terendam. Konsentrasi NaOH 5% dipilih untuk mendukung proses *degreasing* dan demineralisasi pada tahap awal ekstraksi. Sampel disimpan dalam wadah tertutup pada suhu ruang selama tiga hari, dengan pengadukan sesekali dan penggantian pelarut setiap 24 jam menggunakan volume yang sama. Filtrat yang diperoleh dinetralkan dengan HCl 10% hingga mencapai pH 7, kemudian disaring dan diuapkan menggunakan rotary evaporator untuk memperoleh ekstrak kental.

Penggunaan NaOH 5% selama tiga hari merupakan kondisi hidrolisis basa yang relatif kuat. Produk yang dihasilkan pada kondisi ini berpotensi berupa campuran peptida kolagen terhidrolisis, bukan kolagen native dengan struktur triple helix yang utuh. Interpretasi hasil karakterisasi pada bagian selanjutnya mempertimbangkan kemungkinan ini.

2.4 Penentuan Rendemen Kolagen

Nilai rendemen dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Rendemen (\%)} = (\text{Bobot Ekstrak Kolagen} / \text{Bobot Simplisia}) \times 100$$

2.5 Uji Kadar Air

Cawan porselen dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C, kemudian didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang hingga diperoleh bobot konstan. Sampel sebanyak 1 g dimasukkan ke dalam cawan,

dipanaskan pada suhu 105°C selama 60 menit, didinginkan dalam desikator, kemudian ditimbang kembali hingga bobot konstan. Kadar air dihitung menggunakan persamaan berikut, mengacu pada prinsip gravimetri baku (Endah et al., 2023):

$$\text{Kadar Air (\%)} = ((W_1 - W_2) / W) \times 100$$

Keterangan: W = bobot sampel awal sebelum pengeringan (g); W_1 = bobot cawan + sampel sebelum pengeringan (g); W_2 = bobot cawan + sampel setelah pengeringan hingga konstan (g). Definisi W_2 mengikuti tahapan penimbangan yang telah dijelaskan sebelumnya, sehingga persamaan kadar air di atas valid secara matematis.

2.6 Uji Kadar Abu

Cawan porselen dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 60 menit, didinginkan dalam desikator selama 15 menit, dan ditimbang hingga bobot konstan. Sampel sebanyak 1,02 g ditimbang dalam cawan, dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C, kemudian diabukan dalam tanur pada suhu 600°C selama 120 menit hingga terbentuk abu. Abu didinginkan dalam desikator dan ditimbang berulang hingga bobot konstan. Kadar abu dihitung menggunakan persamaan berikut (Endah et al., 2023):

$$\text{Kadar Abu (\%)} = ((W_1 - W_2) / W) \times 100$$

Keterangan: W = bobot sampel awal (g); W_1 = bobot cawan + abu setelah pengabuan (g); W_2 = bobot cawan kosong (g).

2.7 Uji Organoleptik

Pengamatan organoleptik dilakukan secara deskriptif oleh panelis melalui panca indera, meliputi bentuk fisik, warna, dan bau ekstrak kolagen tulang ikan cakalang.

2.8 Identifikasi Gugus Fungsi dengan Fourier Transform Infrared (FTIR)

Identifikasi gugus fungsi dilakukan menggunakan spektrofotometer FTIR. Ekstrak kolagen tulang ikan cakalang sebanyak 0,02 g dicampur dengan 0,1 g kalium bromida (KBr) menggunakan mortar hingga homogen. Campuran dimasukkan ke dalam sample holder, kemudian spektrum serapan direkam pada rentang bilangan gelombang 4000–500 cm^{-1} . Spektrum yang diperoleh dianalisis untuk

menentukan gugus fungsi protein pada kolagen tulang ikan cakalang, dengan mengacu pada rentang serapan amida baku hasil verifikasi literatur (Song et al., 2019).

2.9 Uji Kadar Protein Menggunakan Metode Lowry

2.9.1 Preparasi sampel

Sampel ekstrak kolagen tulang ikan cakalang (Katsuwonus pelamis) ditimbang sebanyak 1 g, kemudian dilarutkan ke dalam 100 mL akuades di dalam gelas kimia. Sebanyak 0,5 mL larutan tersebut selanjutnya dipipet ke dalam labu takar 50 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas.

2.9.2 Larutan induk

Larutan induk BSA (bovine serum albumin) dibuat dengan menimbang 2,5 g BSA ke dalam gelas kimia, menambahkan sedikit akuades hingga homogen, kemudian memindahkan larutan ke dalam labu takar 50 mL dan menambahkan akuades hingga tanda batas sehingga diperoleh larutan induk berkonsentrasi 5000 ppm.

2.9.3 Pembuatan kalibrasi

Kurva kalibrasi dibuat menggunakan lima labu takar 50 mL yang masing-masing diberi label sesuai konsentrasi larutan standar. Larutan induk BSA dipipet ke dalam labu takar tersebut sesuai konsentrasi 0, 600, dan 900 ppm, kemudian ditambahkan akuades hingga tanda batas.

2.9.4 Pengukuran kadar protein pada sampel

Disiapkan empat tabung reaksi. Tabung pertama hingga ketiga berisi larutan standar dengan konsentrasi 0, 600, dan 900 ppm, dengan tabung 0 ppm berfungsi sebagai blanko. Tabung keempat berisi 2,5 mL sampel. Selanjutnya, masing-masing tabung direaksikan dengan 5 mL pereaksi Lowry B, divortex selama 5 menit, dan diinkubasi selama 10 menit. Setelah itu, ditambahkan 2,5 mL pereaksi Lowry A ke seluruh tabung, divortex kembali, dan diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 770,5 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

2.10 Analisis Data

Data kurva kalibrasi diolah menggunakan Microsoft Excel untuk menghitung persamaan regresi linear dan koefisien determinasi (R^2). Mengingat kurva kalibrasi pada penelitian ini hanya menggunakan tiga titik konsentrasi, nilai R^2 yang diperoleh memiliki derajat kebebasan yang terbatas dan sebaiknya diinterpretasikan secara hati-hati; penambahan titik konsentrasi pada rentang 100–800 ppm direkomendasikan untuk penelitian lanjutan guna memperkuat validitas kurva kalibrasi.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Rendemen

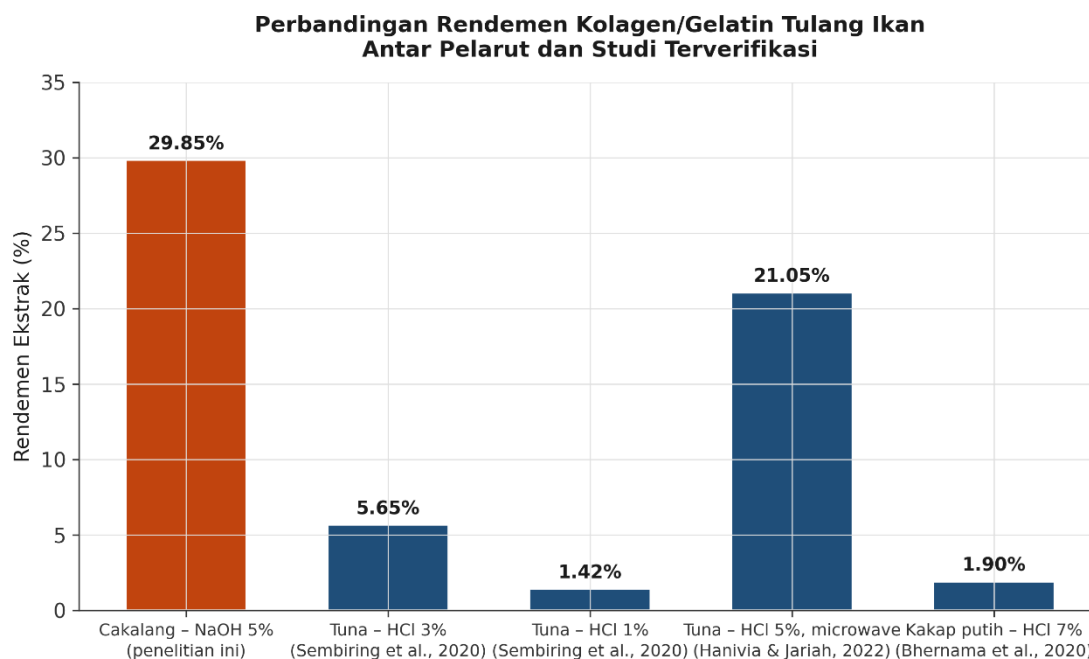
Nilai rendemen diperoleh dengan membandingkan bobot ekstrak kental hasil evaporasi terhadap bobot simplisia awal, sebagaimana disajikan pada Tabel 1. Perbandingan ini menggambarkan proporsi

bahan yang berhasil dipertahankan setelah proses ekstraksi berlangsung.

Tabel 1. Hasil rendemen ekstrak kolagen tulang ikan cakalang

Ekstrak	Berat Ekstrak (gram)	Berat Simplisia (gram)	Rendemen
NaOH	298,5	1.000	29,85%

Rendemen ekstrak kolagen tulang ikan cakalang yang diperoleh pada penelitian ini adalah 29,85%. Nilai ini menggambarkan proporsi ekstrak kental yang berhasil diperoleh terhadap bobot simplisia awal. Dibandingkan dengan beberapa penelitian ekstraksi kolagen atau gelatin tulang ikan yang menggunakan pelarut asam, rendemen pada penelitian ini tergolong jauh lebih tinggi, sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Perbandingan rendemen ekstrak kolagen/gelatin tulang ikan pada penelitian ini dengan penelitian terverifikasi yang menggunakan pelarut asam (Sembiring et al., 2020; Hanivia & Jariah, 2022; Bhernama et al., 2020).

Rendemen ekstraksi menggunakan pelarut basa (NaOH 5%) pada penelitian ini jauh melampaui rendemen ekstraksi tulang ikan menggunakan HCl konsentrasi rendah (Sembiring et al., 2020) maupun dengan bantuan microwave (Hanivia & Jariah, 2022). Selisih yang besar ini patut dicermati dengan

hati-hati. Rendemen tinggi pada ekstraksi basa tidak serta-merta menunjukkan efisiensi ekstraksi kolagen murni yang lebih baik, sebab natrium hidroksida bersifat sangat reaktif dan berpotensi ikut melarutkan komponen non-kolagen, seperti protein non-fibrilar dan senyawa organik lain dari matriks tulang.

Dengan kata lain, sebagian dari rendemen 29,85% yang terukur kemungkinan bukan murni kolagen, melainkan campuran kolagen dengan hasil samping degradasi basa. Konfirmasi kemurnian ekstrak melalui uji kadar protein spesifik, sebagaimana dibahas pada bagian 3.6, menjadi krusial untuk menafsirkan angka rendemen ini secara tepat.

Karakteristik proksimat ekstrak kolagen tulang ikan cakalang K. pelamis, mencakup organoleptik, kadar air, dan kadar abu, ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai analisis uji proksimat

No	Uji	Hasil	Standar SNI 8076:2014
1.	Organoleptik: Bentuk Warna Bau	Kental Coklat Kehitaman Amis	-
2.	Kadar Air	4,03%	Max 16 %
3.	Kadar Abu	0,18 %	Max 3,25%

3.2 Uji Organoleptik

Hasil uji organoleptik pada Tabel 2 menunjukkan ekstrak kolagen yang dihasilkan berbentuk kental, berwarna cokelat kehitaman, dan berbau amis. Warna cokelat kehitaman ini berbeda dari kolagen murni komersial yang umumnya berwarna putih hingga kekuningan pucat, dan kemungkinan besar berkaitan dengan penggunaan NaOH sebagai pelarut ekstraksi. NaOH dapat memicu reaksi pencokelatan non-enzimatis (reaksi Maillard

atau karamelisasi residu gula pereduksi pada suhu tinggi) serta denaturasi protein yang tidak terkendali, sehingga warna gelap pada ekstrak sebaiknya ditafsirkan sebagai indikasi adanya proses degradasi, bukan semata-mata ciri khas kolagen tulang ikan cakalang.

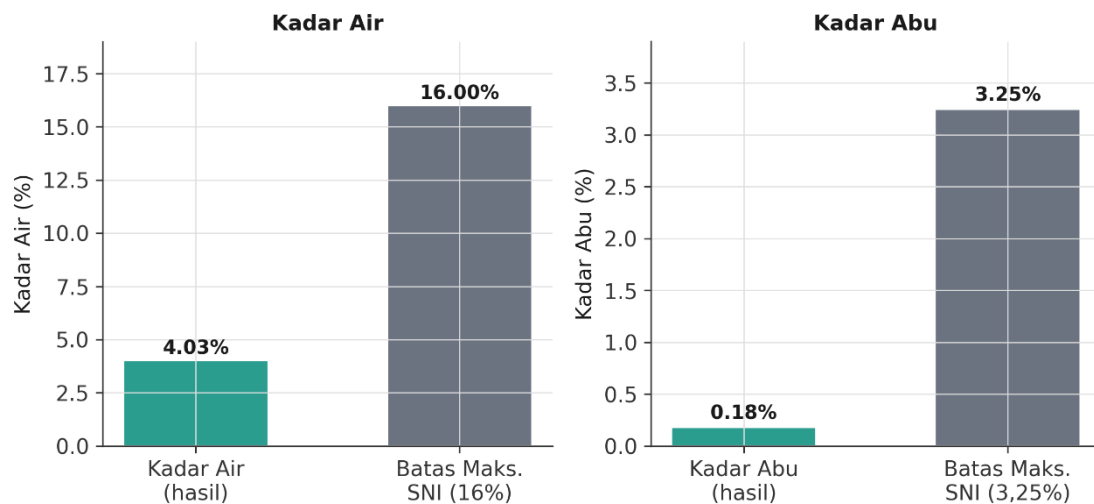
3.3 Uji Kadar Air

Kadar air ekstrak kolagen yang diperoleh sebesar 4,03%, memenuhi standar SNI 8076:2014 dengan batas maksimum 16%. Pengujian kadar air ini penting karena memengaruhi kualitas kolagen secara keseluruhan, termasuk tekstur, daya simpan, dan kerentanan terhadap pertumbuhan mikroba. Kadar air yang rendah pada penelitian ini mengindikasikan proses pengeringan yang berjalan efektif, sehingga risiko kerusakan produk akibat aktivitas air berlebih dapat diminimalkan.

3.4 Uji Kadar Abu

Kadar abu ekstrak kolagen tulang ikan cakalang K. pelamis pada Tabel 2 sebesar 0,18%, memenuhi Standar Nasional Indonesia (SNI) 8076:2014 yang menetapkan batas maksimum 3,25%. Nilai ini menunjukkan kandungan mineral anorganik dalam ekstrak tergolong rendah. Kadar abu yang rendah umumnya dikaitkan dengan tingkat kemurnian kolagen yang lebih tinggi, karena mineral residu (terutama kalsium fosfat dari matriks tulang) idealnya telah terpisah selama proses demineralisasi sebelum ekstraksi berlangsung. Proses hidrolisis, baik menggunakan asam maupun basa, diketahui dapat mengubah karakteristik kimia senyawa kalsium pada matriks berbahan dasar tulang atau cangkang, sehingga tingkat keberhasilan demineralisasi turut memengaruhi kadar abu akhir yang terukur (Sunarya et al., 2022).

Perbandingan Hasil Analisis Proksimat terhadap SNI 8076:2014



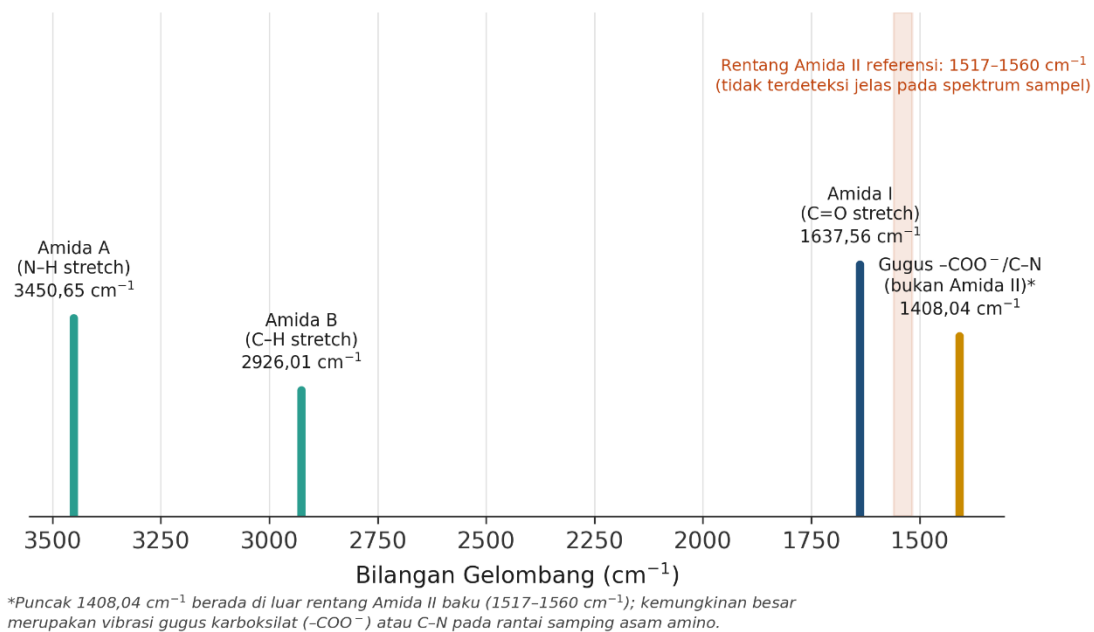
Gambar 2. Perbandingan kadar air dan kadar abu ekstrak kolagen tulang ikan cakalang terhadap ambang batas SNI 8076:2014.

3.5 Identifikasi Gugus Fungsi dengan Fourier Transform Infrared (FTIR)

Analisis FTIR digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi dan struktur

molekul kolagen hasil ekstraksi. Ekstrak kolagen tulang ikan cakalang (K. pelamis) yang dianalisis merupakan ekstrak yang diperoleh melalui perendaman menggunakan pelarut NaOH 5%.

Ringkasan Puncak Serapan FTIR Kolagen Tulang Ikan Cakalang (posisi puncak dilaporkan; interpretasi dikoreksi)



Gambar 3. Ringkasan posisi puncak serapan FTIR ekstrak kolagen tulang ikan cakalang K. pelamis pelarut NaOH 5% (posisi puncak sebagaimana dilaporkan; interpretasi gugus disesuaikan dengan rentang serapan amida baku).

Berdasarkan Gambar 3, spektrum FTIR ekstrak tulang ikan cakalang K. pelamis pada rentang bilangan gelombang 500–4000 cm^{-1} menunjukkan beberapa puncak serapan karakteristik yang mengindikasikan keberadaan senyawa organik kompleks, terutama protein. Puncak lebar pada bilangan gelombang 3450,65 cm^{-1} berkaitan dengan vibrasi ulur (stretching) gugus N–H dan O–H, yang lazim diidentifikasi sebagai pita Amida A pada kolagen (Song et al., 2019); posisi puncak ini juga selaras dengan keberadaan molekul air yang terperap dalam struktur fibril kolagen akibat proses preparasi sampel yang melibatkan air. Puncak lemah pada bilangan gelombang 2926,01 cm^{-1} merupakan ciri khas vibrasi ulur C–H, yang diidentifikasi sebagai pita Amida B. Puncak tajam pada bilangan gelombang 1637,56 cm^{-1} berkaitan dengan vibrasi ulur C=O pada ikatan peptida dan diidentifikasi sebagai pita Amida I, penanda utama keberadaan struktur protein pada kolagen.

Sementara itu, puncak pada bilangan gelombang 1408,04 cm^{-1} berada di luar rentang serapan Amida II yang baku (1517–1560 cm^{-1}), sehingga puncak ini lebih tepat diidentifikasi sebagai vibrasi gugus karboksilat ($-\text{COO}^-$) atau tekuk C–N pada rantai samping asam amino,

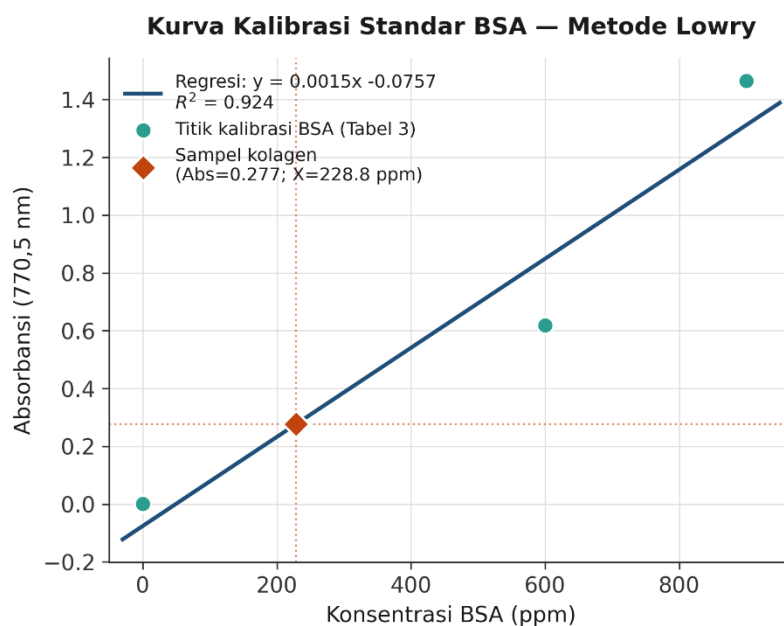
bukan sebagai pita Amida II. Kombinasi puncak Amida A, Amida B, dan Amida I yang terdeteksi tetap konsisten dengan keberadaan struktur kolagen tipe I, sebagaimana pola serapan yang dilaporkan pada kolagen tulang ikan lain (Song et al., 2019). Ketiadaan puncak Amida II yang jelas pada rentang bakunya perlu dicatat sebagai keterbatasan hasil karakterisasi ini dan sebaiknya dikonfirmasi lebih lanjut menggunakan teknik pelengkap, seperti SDS-PAGE untuk profil berat molekul.

3.6 Uji Kadar Protein menggunakan Metode Lowry

Tabel 3 menyajikan nilai absorbansi yang terukur pada setiap variasi konsentrasi larutan standar BSA.

Tabel 3. Pengukuran Absorbansi Larutan Standar BSA

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi 770,5 (nm)
0	0,001
600	0,619
900	1,465



Gambar 4. Kurva kalibrasi standar Bovine Serum Albumin (BSA) metode Lowry pada panjang gelombang 770,5 nm.

Kadar protein sampel dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Kadar protein (\%)} = (X \cdot \text{Faktor pengencer} \cdot \text{Volume} / \text{Berat sampel (mg)}) \times 100\%$$

Keterangan: X = konsentrasi protein (mg/mL); Faktor Pengencer = rasio pengenceran sampel; Volume = volume sampel awal (mL); Berat Sampel = bobot sampel yang diuji (mg).

Hasil pengukuran absorbansi larutan standar BSA pada Tabel 3 menunjukkan hubungan antara konsentrasi larutan standar dan nilai absorbansi yang terukur. Pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 770,5 nm. Berdasarkan Gambar 4, diperoleh persamaan regresi linear $y = 0,0015x - 0,0757$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,923. Nilai R^2 tersebut menunjukkan kesesuaian yang tinggi antara data pengamatan dan model regresi; meskipun demikian, kurva ini dibangun hanya dari tiga titik konsentrasi, sehingga hasil regresi memiliki derajat kebebasan yang terbatas dan idealnya diverifikasi dengan titik kalibrasi tambahan pada penelitian selanjutnya.

Tabel 4. Hasil Pengukuran Larutan Uji

Konsentrasi Sampel	Absorbansi 770,5 (nm)	Kadar protein (%)
Kolagen 228,8 ppm	0,277	91,4%

Konsentrasi protein sampel dihitung dengan memasukkan nilai absorbansi sampel (0,277) ke dalam persamaan garis regresi $Y = 0,0015X - 0,0757$ (Tabel 4): $X = (0,277 - (-0,0757)) / 0,0015 = 228,8$ ppm.

Dengan konsentrasi sampel sebesar 228,8 ppm, kadar protein ekstrak kolagen dihitung menggunakan persamaan pada bagian 3.6 dan diperoleh nilai 91,4%. Nilai ini melampaui standar minimum SNI 8076:2014 sebesar 75%.

Kadar protein hasil pengujian ini turut dipengaruhi oleh perbedaan metode dengan metode rujukan SNI. Standar SNI 8076:2014 menetapkan metode Kjeldahl sebagai acuan,

sedangkan penelitian ini menerapkan metode Lowry. Kedua metode memiliki prinsip kerja yang berbeda. Menurut Kisnawaty et al. (2024), metode Kjeldahl menentukan kadar protein melalui tiga tahap utama, yaitu destruksi, destilasi, dan titrasi, dengan mengukur kandungan nitrogen total pada sampel. Metode Lowry, sebaliknya, mengukur protein melalui reaksi kolorimetri terhadap gugus fenolik dan ikatan peptida menggunakan kurva kalibrasi standar BSA. Perbedaan prinsip ini dapat menghasilkan variasi nilai kadar protein antar metode, terutama apabila komposisi asam amino sampel uji tidak sepenuhnya menyerupai karakteristik protein standar yang digunakan sebagai acuan kalibrasi.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, ekstraksi kolagen dari tulang ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*) menggunakan pelarut NaOH 5% menghasilkan rendemen sebesar 29,85%, dengan kadar air 4,03% dan kadar abu 0,18% yang keduanya memenuhi Standar Nasional Indonesia (SNI) 8076:2014. Analisis FTIR mengidentifikasi puncak serapan Amida A, Amida B, dan Amida I yang konsisten dengan struktur kolagen, meskipun puncak pada rentang Amida II yang baku tidak terdeteksi secara jelas, sehingga karakterisasi struktur kolagen pada penelitian ini belum bersifat lengkap. Berdasarkan persamaan regresi kurva standar BSA, kadar protein ekstrak kolagen adalah 91,4% (setara konsentrasi 228,8 ppm), suatu nilai yang memenuhi standar minimum SNI sebesar 75%. Rendemen yang tinggi pada ekstraksi berbasis NaOH tetap perlu ditafsirkan secara hati-hati, mengingat kemungkinan ko-ekstraksi komponen non-kolagen oleh basa kuat. Penelitian lanjutan dengan kurva kalibrasi berjenjang lebih banyak, konfirmasi profil berat molekul melalui SDS-PAGE, dan perbandingan metode Lowry dengan metode Kjeldahl pada sampel yang sama diperlukan untuk memastikan validitas dan reproduibilitas temuan ini.

DAFTAR PUSTAKA

Bhernama, B. G., Nasution, Reni. S., & Nisa, Syarifah. U. (2020). Ekstraksi Gelatin Dari Tulang Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*) Dengan Asam HCl. Jurnal

- Sains Natural, 10(2), 43.
<https://doi.org/10.31938/jsn.v10i2.282>
- Endah, D., Munadi, R., & Farnatubun, M. W. (2023). Analisis Proksimat dan Kolagen pada Kulit Ikan Tawassang (*Naso thynnoides*). ILTEK : Jurnal Teknologi, 18(02), 103–107.
<https://doi.org/10.47398/iltek.v18i02.124>
- Haiyqal, S. V., Ismanto, A., Indrayanti, E., & Andrianto, R. (2023). Karakteristik Tinggi Gelombang Laut pada saat Periode Normal, El Niño dan La Niña di Selat Makassar. Jurnal Kelautan Tropis, 26(1), 190–202.
<https://doi.org/10.14710/jkt.v26i1.17003>
- Hanivia, M. R., & Jariah. (2022). Pengaruh Konsentrasi Asam Klorida Dan Metode Ekstraksi Microwave Terhadap Karakteristik Kolagen Tulang Ikan Tuna (*Thunnus* sp). Teknologi Pangan : Media Informasi Dan Komunikasi Ilmiah Teknologi Pertanian, 13(2), 156–165.
<https://doi.org/10.35891/tp.v13i2.3026>
- Jafari, H., Lista, A., Siekapen, M. M., Ghaffari-Bohlouli, P., Nie, L., Alimoradi, H., & Shavandi, A. (2020). Fish collagen: Extraction, characterization, and applications for biomaterials engineering. In Polymers (Vol. 12, Issue 10, pp. 1–37). MDPI AG.
<https://doi.org/10.3390/polym12102230>
- Kisnawaty, S. W., Sudana, F. P., Titik, D. N., & Muhammad, M. A. (2024). Analisis Kadar Protein dengan Metode Lowry pada Berbagai Jenis Produk Susu yang Beredar di Lingkungan Universitas Muhammadiyah Surakarta. Antigen : Jurnal Kesehatan Masyarakat Dan Ilmu Gizi, 2(3), 12–20.
<https://doi.org/10.57213/antigen.v2i3.277>
- Oslan, S. N. H., Li, C. X., Shapawi, R., Mokhtar, R. A. M., Noordin, W. N. M., & Huda, N. (2022). Extraction and Characterization of Bioactive Fish By-Product Collagen as Promising for Potential Wound Healing Agent in Pharmaceutical Applications: Current Trend and Future Perspective. International Journal of Food Science, 2022, 9437878.
<https://doi.org/10.1155/2022/9437878>
- Sembiring, T. E. S., Reo, A. R., Onibala, H., Montolalu, R. I., Taher, N., Mentang, F., & Damongilala, L. J. (2020). Ekstraksi Kolagen Tulang Ikan Tuna (*Thunnus* sp) Dengan Asam Klorida. Media Teknologi Hasil Perikanan, 8(3), 107.
<https://doi.org/10.35800/mthp.8.3.2020.29573>
- Song, W. K., Liu, D., Sun, L. L., Li, B. F., & Hou, H. (2019). Physicochemical and Biocompatibility Properties of Type I Collagen from the Skin of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) for Biomedical Applications. Marine Drugs, 17(3), 137.
<https://doi.org/10.3390/md17030137>
- Sunarya, Y. J. P. P., Kustiar, Y., Djenar, N. S., & Permanasari, A. R. (2022). Pengaruh Metode Hidrolisis Terhadap Karakteristik Kimia Senyawa Kalsium Hasil Ekstraksi dari Cangkang Telur Ayam. KOVALEN: Jurnal Riset Kimia, 8(1), 25–31.
<https://doi.org/10.22487/kovalen.2022.v8.i1.15803>
- Syam, S., Asmah, N., & Lestari, N. A. L. (2023). Efektivitas Antibakteri Ekstrak Tulang Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis*) terhadap *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* Antibacterial Effect of Skipjack Tuna (*Katsuwonus pelamis*) on *Streptococcus mutans* and *Porphyromonas gingivalis*. E-GiGi, 11(2), 306–312.
<https://doi.org/10.35790/eg.v11i2.46>