

Ekstraksi dan Karakterisasi Kolagen Larut Asam dan Pepsin Kulit Kambing Kacang Sebagai Agen Antihipertensi (Extraction and characterization of acid- and pepsin-soluble collagen of Kambing Kacang as Antihypertensive Agent)

Arby'in Pratiwi^{1*}, Asma Bio Kimestri¹, Putu Nara Kusuma Prasanjaya¹

¹Fakultas Peternakan Universitas Halu Oleo, Kampus Hijau Tridarma Jl. H. E. A. Mokodompit, Amdonohu, Kendari, Sulawesi Tenggara, Indonesia 93232.

*Corresponding author: arbyinpratiwiugm2019@uho.ac.id

Abstrak. Penelitian ini bertujuan untuk mengekstraksi dan mengkarakterisasi kolagen larut asam (KLA-SH) dan larut pepsin (KLP-SH) dari kulit kambing kacang. Metode ekstraksi yang digunakan melibatkan penggunaan asam asetat 0,5 M atau pepsin 0,1% sebagai agen ekstraksi, diikuti dengan karakterisasi komposisi dan struktur kolagen yang diekstraksi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa KLP-SH dalam berat kering adalah 13,56 %. Analisis spektrum FTIR menunjukkan bahwa proses ekstraksi kolagen dengan menggunakan asam asetat dan pepsin mampu mempertahankan struktur triple helix kolagen yang khas. Selain itu, Terdapat empat sinyal yang memiliki nilai pergeseran, nilai tersebut menunjukkan pada nilai aromatic, amida, fenol dan alkena serta alkil alhida. analisis SDS-PAGE mengidentifikasi profil protein dari KLA-SH dan KLP-SH sebagai kolagen tipe I, terdiri dari kolagen tipe I yang mengandung struktur identik $\alpha 1$, $\alpha 2$ dan β . Temuan ini mengindikasikan bahwa ekstraksi kolagen dari kolagen kulit kambing kacang menggunakan metode asam asetat atau pepsin menghasilkan kolagen dengan karakteristik yang sesuai dengan kolagen tipe I, yang memiliki potensi untuk agen antihipertensi.

Kata Kunci : Ekstraksi, kolagen, kulit kambing kacang, antihipertensi, pepsin

Abstract. This study aimed to extract and characterize acid-soluble (KLA-SH) and pepsin-soluble (KLP-SH) collagen from peanut goat skin. The extraction method used involved the use of 0.5 M acetic acid or 0.1% pepsin as extraction agents, followed by characterization of the composition and structure of the extracted collagen. The results showed that KLP-SH in dry weight was 13.56 %. FTIR spectrum analysis showed that the collagen extraction process using acetic acid and pepsin was able to maintain the typical triple helix structure of collagen. In addition, there are four signals that have shift values, these values indicate the aromatic, amide, phenol alkene and alkyl aldehyde values. SDS-PAGE analysis identified the protein profile of KLA-SH and KLP-SH as type I collagen, consisting of type I collagen containing identical structures of $\alpha 1$, $\alpha 2$ and β . These findings indicated that collagen extraction from peanut goat skin collagen using acetic acid or pepsin method produced collagen with characteristics corresponding to type I collagen, which has the potential for antihypertensive agents.

Keywords: Extraction, collagen, peanut goat skin, antihypertensive, pepsin

1. Pendahuluan

Hipertensi, atau tekanan darah tinggi, merupakan kondisi medis yang sering kali terkait dengan risiko penyakit kardiovaskular dan komplikasi kesehatan lainnya. Pengelolaan hipertensi melalui pengobatan farmakologis seringkali memerlukan penggunaan obat-obatan yang memiliki potensi efek samping dan biaya yang tinggi.

Kolagen, sebagai salah satu protein struktural utama dalam tubuh manusia dan hewan, telah menarik perhatian dalam penelitian terkait pengembangan bahan-bahan alami sebagai agen antihipertensi. Kulit kambing kacang dikenal sebagai salah satu sumber potensial untuk ekstraksi kolagen dengan aktivitas biologis yang bermanfaat, termasuk potensi sebagai agen yang dapat menurunkan tekanan darah.

Metode ekstraksi menggunakan larutan asam dan pepsin dipilih karena keefektifannya dalam mendapatkan kolagen yang larut dengan struktur yang sesuai untuk aktivitas biologis sebagai agen antihipertensi. Karakterisasi kolagen dari kulit kambing kacang akan memberikan pemahaman yang lebih mendalam tentang sifat-sifat protein ini dan bagaimana potensinya dalam pengembangan terapi atau suplemen yang dapat digunakan dalam pengelolaan hipertensi.

Penelitian ini tidak hanya penting dari segi medis dan kesehatan, tetapi juga memiliki implikasi ekonomis dan sosial yang signifikan, terutama dalam pengembangan produk-produk kesehatan alami yang berbasis bahan-bahan lokal dan berkelanjutan. Diharapkan penelitian ini dapat memberikan kontribusi yang berharga dalam pemahaman dan pengembangan solusi-solusi terapeutik baru untuk masalah kesehatan yang penting seperti hipertensi [1].

2. Materi dan Metode

2.1 Sampel dan Bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit kambing kacang segar yang diperoleh dari peternakan lokal. Bahan kimia yang digunakan meliputi larutan asam (asam asetat 0,5 M), pepsin (0,1%), larutan buffer dengan pH yang sesuai, larutan pengenceran, serta reagen kimia untuk analisis asam amino. Peralatan laboratorium yang digunakan antara lain blender untuk pra-pemrosesan sampel, alat ekstraksi seperti gelas pengukur dan corong pisah, sentrifuge untuk pemisahan, spektrofotometer UV-Vis untuk analisis komposisi asam amino, alat analisis spektrum FTIR untuk karakterisasi struktur molekuler, SDS-PAGE untuk analisis profil protein, dan peralatan standar laboratorium lainnya.

2.2 Ekstraksi Kolagen

Kulit kambing kacang direndam dalam larutan asam asetat 0,5 M atau larutan pepsin 0,1% selama periode waktu tertentu pada suhu yang diatur. Setelah perendaman, sampel dikocok menggunakan blender untuk mendapatkan ekstrak kolagen, yang kemudian dipisahkan dari residu menggunakan proses filtrasi. Kolagen yang diekstraksi kemudian dipurifikasi menggunakan teknik precipitasi atau filtrasi lanjutan untuk menghilangkan kontaminan dan memperoleh kolagen yang lebih murni.

2.3 Karakterisasi Kolagen

Kolagen yang diekstraksi kemudian dianalisis untuk menentukan komposisi asam amino menggunakan metode kromatografi dan spektrofotometri. Analisis struktur dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer FTIR untuk memastikan struktur triple helix kolagen terjaga. Profil protein dari kolagen dievaluasi menggunakan teknik SDS-PAGE untuk mengidentifikasi jenis kolagen yang diekstraksi dan memeriksa kemurnian hasil ekstraksi.

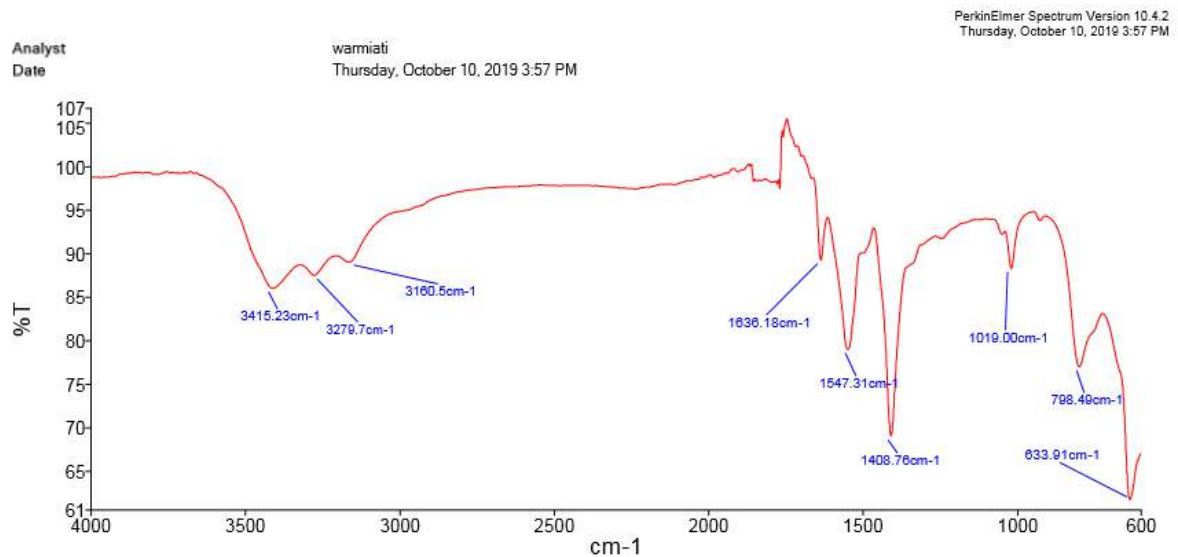
3. Hasil dan Pembahasan

Rendemen kolagen merupakan persentase banyaknya kolagen yang dihasilkan dari bahan baku mentah. Semakin tinggi rendemen, maka semakin tinggi pula nilai ekonomisnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kolagen yang diekstrak menggunakan asam dan enzim pepsin dapat menghasilkan rendemen kolagen yang lebih tinggi dibandingkan kolagen yang hanya diekstrak menggunakan asam saja. Hasil rendemen ASC yang rendah dikarenakan masih adanya ikatan silang pada bagian telopeptida kolagen antara aldehide dengan lisina dan hidrosilisina yang menyebabkan kolagen sulit larut [2]. Enzim pepsin merupakan salah satu enzim protease yang dapat memecah protein. Enzim mampu memutus ikatan silang pada bagian telopeptida kolagen dan melarutkannya sehingga dapat meningkatkan hasil ekstraksi kolagen [3].

Rendemen kolagen dari kulit kambing kacang dihitung berdasarkan basis kering dengan membandingkan berat kolagen setelah di-*freeze dry* dengan basis kering bobot awal kulit kambing sebelum diproses. Hasil rendemen kolagen ASC kombinasi PSC kulit Remen Kolagen Rendemen merupakan persentase kolagen yang dihasilkan dengan bahan baku awal [4]. Hasil penelitian menunjukkan kolagen kulit kambing kacang yang diisolasi dengan asam dan enzim pepsin memiliki rendemen dengan nilai sebesar 13,56%. Nilai tersebut berada di nilai tengah-tengah apabila dibandingkan dengan rendemen dari kulit lain seperti kulit teripang dan ikan patin yang diekstrak dengan asam atau enzim. Apabila dibandingkan dengan rendemen yang dihasilkan oleh isolasi kulit dari ikan

patin menggunakan Pepsin Soluble Collagen (PSC) [5], dan kulit ikan cobia (*Rachycentron canadum*) menyatakan bahwa perbedaan nilai rendemen pada kolagen yang dihasilkan dapat disebabkan oleh perbedaan metode ekstraksi [6], konsentrasi larutan untuk menghilangkan protein non kolagen, jenis bahan, suhu dan lama waktu produksi [7].

3.1. FTIR



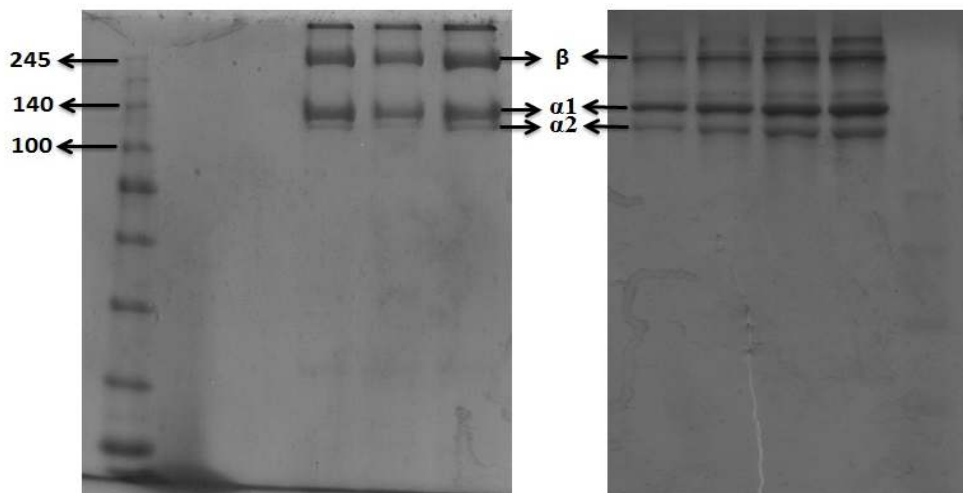
Gambar 1. Spektra Kolagen Kulit Kacang Kacang

Hasil spektra FTIR menunjukkan bahwa amida II kolagen hasil penelitian berturut-turut memiliki bilangan gelombang $1550,94\text{ cm}^{-1}$ dan terbentuk gugus fungsi NH bending dan CN stretching³. Selanjutnya adalah alkana dengan nilai serapan $1405,23\text{ cm}^{-1}$ dengan standar serapan wilayah $1340-1470\text{ cm}^{-1}$, sehingga nilai tersebut masih masuk kedalam standar serapan. Kemudian gugus senyawa yang terbentuk dalam serapan alkana ini adalah gugus C-H [8]. Senyawa selanjutnya adalah Amida III ditemukan pada bilangan gelombang $1334,74\text{ cm}^{-1}$ sementara pada standar kolagen wilayah serapan berada pada nilai yang sama yaitu $1334,74\text{ cm}^{-1}$, dan nilai serapan wilayah bisa dimulai dari nilai yang menunjukkan interaksi intermolekuler pada kolagen yang berkaitan dengan CN stretching dan NH bending [9]. Intensitas rasio antara band amida III dan band $1334,74\text{ cm}^{-1}$ adalah 1,17. Intensitas rasio tersebut menunjukkan struktur triple helix pada kolagen. Nilai rasio yang mendekati 1,0 menandakan bahwa kolagen tersebut memiliki struktur triple helix [10]. Kolagen yang dihasilkan tidak terdegradasi menjadi gelatin yang ditandai dengan masih terdapatnya struktur triple helix. Proses kerusakan ikatan hidrogen dan kovalen karena pemanasan $>45^{\circ}\text{C}$ mengakibatkan terganggunya stabilitas struktur triple helix kolagen sehingga terjadi perubahan bentuk menjadi gulungan dan akhirnya kolagen terdegradasi menjadi gelatin [11].

3.2. SDS PAGE

Kolagen dari kulit kacang yang diekstrak menggunakan asam maupun enzim pepsin dan di pre-treatment memiliki struktur kolagen tipe I yang mengandung struktur identik $\alpha 1$, $\alpha 2$ dan β . Berat molekul $\alpha 1$, $\alpha 2$ dan β . Hal ini menunjukkan bahwa kolagen yang dihasilkan belum berubah menjadi produk turunannya yaitu gelatin. Gelatin memiliki kisaran berat molekul lebih rendah daripada kolagen [12]. Gelatin mengandung campuran komponen dengan berat molekul berkisar dari 80-250 kDa [13]. Gelatin babi juga telah diuji dan memiliki protein dengan berat molekul 28.6 kDa dan 36.2 kDa [8]. Pada kolagen yang di ekstrak menggunakan asam dan pepsin bersama memberikan kemampuan memecah beberapa ikatan-ikatan peptida pada kolagen menjadi struktur yang lebih kecil. Akan tetapi ekstraksi kolagen dengan konsentrasi enzim yang terlalu tinggi akan merusak bagian telopeptida dan tropokolagennya sehingga memiliki berat molekul yang lebih rendah dibandingkan kolagen pada umumnya. Ekstraksi kolagen dari kulit kacang dengan nilai enzim pepsin 4288 U/mg kulit

mampu memecah molekul kolagen lebih kecil akan tetapi masih dapat mempertahankan struktur $\alpha 1$, $\alpha 2$, β kolagen. Komponen β menunjukkan adanya molekul kolagen yang mengalami *cross linking* dari rantai α yang membentuk dimers. Ketebalan intensitas pita protein struktur β 27 menunjukkan tingginya jumlah kolagen yang mengalami *cross linking* [14]. Struktur $\alpha 1$, $\alpha 2$, dan β pada kolagen tanpa *pre-treatment* memiliki pita lebih tebal dibandingkan pada kolagen yang di *treatment*. Penambahan enzim pepsin (PSC) akan menyebabkan komponen struktur γ kolagen yang mengandung telopeptida terdegradasi menjadi struktur $\alpha 1$ dan $\alpha 2$ sehingga intensitas pita $\alpha 1$ dan $\alpha 2$ meningkat pada PSC [15]. Selain itu, *cross linking* pada intra dan inter molekul kolagen pada ASC lebih tinggi dibanding PSC [16].



Gambar 4. Elektroforesis kolagen dari kulit kambing kacang 3A menunjukkan kolagen tanpa *pre-treatment*, 3B kolagen *pre-treatment*. 1: marker, 2: kolagen 10 mikromili, 3: kolagen, 4 : kolagen, 5: kolagen *pre-treatment*, 6:kolagen *pre-treatment*, 7: kolagen *pre-treatment*.

4. Kesimpulan

Kolagen yang diekstraksi dari kulit kambing kacang dengan metode ini memiliki sifat struktural yang sesuai dengan aktivitas biologis sebagai agen antihipertensi. Struktur yang terjaga dengan baik ini penting dalam memastikan bahwa kolagen dapat berinteraksi dengan target biologis yang relevan dalam menurunkan tekanan darah.

Dengan demikian, penelitian ini memberikan kontribusi penting dalam pemahaman tentang potensi kulit kambing kacang sebagai sumber kolagen berkualitas tinggi untuk pengembangan terapi antihipertensi baru. Langkah selanjutnya yang dapat diambil adalah melakukan uji aktivitas antihipertensi lebih lanjut untuk mengkonfirmasi efektivitas kolagen yang diekstraksi dalam menurunkan tekanan darah, serta memperluas penelitian ini ke dalam pengembangan produk kesehatan yang berbasis kolagen untuk manfaat kesehatan yang lebih luas.

5. Daftar Pustaka

- [1] Mirzaei, Mahta, Saeed Mirdamadi, Mohamad Reza Ehsani, and Mahmoud Aminlari. 2017. "ScienceDirect Production of Antioxidant and ACE-Inhibitory Peptides from *Kluyveromyces Marxianus* Protein Hydrolysates: Purification and Molecular Docking." *Journal of Food and Drug Analysis* (August): 1–10.
- [2] Muyonga, J. H., C. G. B. Cole. and K. G. Duodu.2016. Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chem.* 85: 81–89.

- [3] Nurdiantami, Yuri. 2018. "Efek Penghambatan Aktivitas Angiotensin Converting Enzyme Dari Beberapa Tanaman Di Indonesia Yang Digunakan Sebagai Terapi Hipertensi = Effects of Angiotensin Converting Enzyme Inhibition Activity of Some Plants in Indonesia Used as Hypertension Therapy.": 956.
- [4] Only, Registry. 2018. "Quality ID # 5 (NQF 0081): Heart Failure (HF): Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) Inhibitor or Angiotensin Receptor Blocker (ARB) Therapy for Left Ventricular Systolic Dysfunction (LVSD) – National Quality Strategy Domain : Effective Clinical Care." 5(Nqf 0081): 1–15.
- [5] Pamungkas, F. A., A. Batubara, M. Doloksaribu, E. Sihite. 2009. Petunjuk Teknis
- [6] Peng Y, Glattauer V, Werkmeister JA, Ramshaw JAM. 2004. Evaluation for collagen products for cosmetic application. *Journal of Cosmestic Science* 55(4):327-341.
- [7] Permadi, Edy. 2019. "The Potential of Hydrolysate from Rabbit Meat Protein as an Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor The Potential of Hydrolysate from Rabbit Meat Protein as an Angiotensin." (March).
- [8] Qian, Z.J., Jung, W.K., Byun, H.G., & Kim, S.K. (2008). Protective effect of an antioxidant peptide purified from gastrointestinal digest of oyster, *Crassostrea gigas* against free radical induced DNA damage. *Bioresource Technology*, 99, 3365–3371
- [9] Strippoli, Giovanni F.M. et al. 2006. "Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors and Angiotensin II Receptor Antagonists for Preventing the Progression of Diabetic Kidney Disease." *Cochrane Database of Systematic Reviews*.
- [10] Sugiharsono, A. C., L. D.A. R. Dewanti., dan E. Sulistyani. 2014. Analisis profil protein ekstrak biji mimba (*Azadirachta Indica* A. Juzz) dengan pemanasan basah sebelum ekstraksi melalui metode SDS-PAGE. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Jember.
- [11] Yuliatmo R, Fitriyanto N. A, Bachruddin Z, Supadmo, Jamhari, and Erwanto Y. 2017. "Increasing of Angiotensin Converting Enzyme Inhibitory Derived from Indonesian Native Chicken Leg Protein Using Bacillus Cereus Protease Enzyme." *International Food Research Journal* 24(4): 1799–1804.
- [12] Yusiati, L M et al. 2013. "Comparative Study On Angiotensin Converting Enzyme Inhibitory Activity Of Hydrolysate Of Meat Protein Of Indonesian Local Livestocks." : 27–33.
- [13] Zhang, J., Zhang, H., Wang, L., Ghuo, X., Wang, X., & Yao, H. (2009). Antioxidant activities of the rice endosperm protein hydrolysates identification of the active peptide. *European Food Research Technology*, 229, 709–719.
- [14] Zhong, M., Chen, T., Hu, C., & Ren, C. (2015). Isolation and characterization of collagen from body wall of sea cucumber *Stichopus monotuberculatus*. Paper accepted in *Journal of Food Science*.
- [15] Zhou, X., Wang, C. & Jiang, A. (2012). Antioxidant peptides isolated from sea cucumber *Stichopus japonicus*. *Eur Food Res Technol.*, 234, 441–447
- [16] Zou, Ping, Jin-ling Wang, Guo-qing He, and Jianping Wu. 2014. "Purification , Identification and In Vivo Activity of Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitory Peptide , from Ribbonfish (*Trichiurus Haumela*) Backbone." 79(1): 1–7.