

**JURNAL**

**PENGARUH SUHU BERBEDA TERHADAP AKTIVITAS EKSTRAK  
KASAR ENZIM KOLAGENASE ORGAN DALAM  
IKAN NILA SALIN (*Oreochromis niloticus*)**

**OLEH**

**FEBRICO SIHOMBING**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN  
UNIVERSITAS RIAU  
PEKANBARU  
2022**

**PENGARUH SUHU BERBEDA TERHADAP AKTIVITAS EKSTRAK  
KASAR ENZIM KOLAGENASE ORGAN DALAM  
IKAN NILA SALIN (*Oreochromis niloticus*)**

**Oleh**

**Febrico Sihombing<sup>(1)</sup>, Edison<sup>(2)</sup>, Andarini Diharmi<sup>(2)</sup>**

*Email: [febrico.sihombing17@gmail.com](mailto:febrico.sihombing17@gmail.com)*

**ABSTRAK**

Enzim merupakan biokatalisator yang memiliki berfungsi untuk mempercepat laju suatu reaksi kimia tanpa ikut terlibat dalam reaksi tersebut. Kolagenase adalah enzim proteolitik yang mampu mendegradasi ikatan polipeptida. Aktivitas enzim menghidrolisis protein dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu suhu, pH, substrat, inhibitor, dan aktivator. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaruh perbedaan suhu terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim kolagenase dari organ dalam ikan nila salin (*Oreochromis niloticus*). Metode Penelitian ini metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial. Perlakuan yang digunakan adalah suhu yang berbeda 45°C, 55°C, dan 65°C. Parameter analisis yaitu aktivitas ekstrak kasar enzim kolagenase dari organ dalam nila salin (*Oreochromis niloticus*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa organ dalam ikan nila salin (*Oreochromis niloticus*) memiliki aktivitas ekstrak kasar enzim kolagenase pada suhu 45°C, 55°C, dan 65°C berturut-turut 0,297 U/mL, dan 0,272 U/mL. Aktivitas ekstrak kasar enzim kolagenase tertinggi 0,326 U/ml pada suhu 55°C.

Kata Kunci: aktivitas, enzim, ekstrak, kolagenase, suhu,

---

<sup>1)</sup> Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau

<sup>2)</sup> Dosen Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau

**THE EFFECT OF DIFFERENT TEMPERATURES ON THE ACTIVITY OF  
THE CRUDE EXTRACT OF THE COLLAGENASE ENZYME  
IN THE INTERNAL ORGANS OF SALINE  
TILAPIA (*Oreochromis niloticus*)**

**By**

**Febrico Sihombing<sup>(1)</sup>, Edison<sup>(2)</sup>, Andarini Diharmi<sup>(2)</sup>**

*Email: [febrico.sihombing17@gmail.com](mailto:febrico.sihombing17@gmail.com)*

**ABSTRACT**

Enzymes are biocatalysts that function to accelareta the rate of a chemical reaction without being involved in the reaction. Collagenase is a proteolytic enzyme capable of degrading polypeptide bonds. The activity of the enzyme hydrolyzing protein is influenced by several factors, namely temperature, pH, substrate, inhibitor, and activator. This study was aimed to determine the effect of temperature differences on the activity of the crude extract of the collagenase enzyme from the internal organs of saline tilapia (*Oreochromis niloticus*). This research method is a completely randomized design (CRD) non-factorial. The treatments used were different temperatures of 45°C, 55°C, and 65°C. The parameter of the analysis is the activity of crude extract of collagenase enzyme from the internal organs of saline tilapia (*Oreochromis niloticus*). The results showed that the internal organs of saline tilapia (*Oreochromis niloticus*) had crude extract activity of the collagenase enzyme at 45°C, 55°C, and 65°C 0.297 U/mL, and 0.272 U/mL, respectively. The highest crude extract activity of collagenase enzyme was 0.326 U/ml at 55°C

Keywords : activity, enzyme, extract, collagenase, temperature

---

<sup>1)</sup> **Student of the Faculty of Fisheries and Marine, Riau University**

<sup>2)</sup> **Lecturer of the Faculty of Fisheries and Marine, Riau University**

## 1. PENDAHULUAN

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan komoditas air tawar yang cukup banyak dibudidayakan saat ini. Ikan nila memiliki keunggulan dibandingkan dengan beberapa ikan tawar lainnya, yaitu pertumbuhan yang cepat, mudah untuk dikembangbiakkan, mudah dalam pemeliharaan dan adaptasi yang tinggi terhadap perubahan lingkungan (Masturi dan Arief 2008).

Nila salin Ikan nila salin (*Oreochromis niloticus*) merupakan strain dari ikan nila yang toleran terhadap perairan payau maupun laut dengan salinitas yang tinggi mencapai 15-20 ppt (BPPT, 2011). Ikan nila salin memiliki daya tahan tubuh yang tinggi terhadap serangan berbagai macam penyakit, toleran terhadap suhu rendah maupun tinggi, efisiensi terhadap pakan dan pertumbuhan yang cepat (Setiawati dan Suprayudi 2003).

Enzim merupakan katalisator pilihan yang diharapkan dapat mengurangi dampak pencemaran lingkungan dan pemborosan energi karena reaksinya. Tidak membutuhkan energi, bersifat spesifik dan tidak beracun. Enzim telah dimanfaatkan secara luas pada berbagai industri produk pangan, kimia dan obat-obatan (Akhdiya 2003), ekonomisnya manfaat enzim dewasa ini dapat menjadikan ikan nila salin sebagai sumber bahan baku enzim dan dapat memberikan pengetahuan terbaru mengenai produksi enzim dari produk hasil perikanan.

Enzim merupakan protein yang terdapat pada ikan nila salin dapat memberikan inovasi terbaru dari berbagai bahan baku yang mulanya tidak termanfaatkan seperti organ dalam ikan nila salin yang dapat dijadikan sebagai sumber bahan baku enzim protease salah satunya enzim kolagenase.

Enzim kolagenase mampu menghidrolisis protein yang terdapat pada

daging ikan (*Oreochromis niloticus*). Enzim kolagenase mendegradasi ikatan polipeptida terutama pada jaringan ikan ataupun kolagen pada ikan. Nurhayati (2010) mengatakan bahwa enzim kolagenase banyak di gunakan aplikasinya dalam industri, obat obatan dan riset. Enzim kolagenase ini digunakan dalam dunia perikanan sebagai penyamakan kulit ikan, penghilangan membran, dan hidrolisat protein, untuk dapat berkerja dengan optimal maka enzim kolagenase memiliki nilai protein terlarut yang dapat menunjang dalam produksi produk.

Aktivitas atau kesanggupan enzim untuk dapat melakukan hidrolisis khususnya protein dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti konsentrasi protein, suhu, substrat, inhibitor dan aktivator. Hal ini dikarenakan setiap enzim untuk dapat beroperasi memiliki suhu maksimum (Nurkhotimah, 2017).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Yuniarti (2010) mengatakan bahwa ekstrak kasar kolagenase yang diperoleh dari ikan bandeng memiliki suhu optimal 50°C. Sedangkan Nurhayati (2010) mengemukakan bahwa suhu optimal yang diperoleh dari ekstrak kolagenase ikan tuna adalah 60 °C. Organ dalam ikan nila salin (*Oreochromis niloticus*) dapat dimanfaatkan sebagai sumber enzim kolagenase. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas ekstrak kasar pada suhu optimal yang terdapat pada ekstrak kasar enzim kolagenase dari organ dalam ikan nila salin (*Oreochromis niloticus*)

## 2. METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-Mei 2022 di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan, Laboratorium Kimia Hasil Perikanan, dan Laboratorium Teknologi Budidaya Fakultas Perikanan

dan Kelautan, Universitas Riau.

### **Bahan dan Alat**

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah organ dalam atau jeroan ikan nila salin yang diperoleh dari daerah pesisir Bengkalis, Riau. Bahan-bahan kimia terdiri atas substrat kolagen,  $\text{CaCl}_2$ (Merck), Buffer Tris-HCL, TCA (*trychloroacetic acid*), tirosin (Sigma Aldrick), ninhydrin (Merck), 1-propanol (Merck), BSA (*Bovine Serum Albumine*).

Alat yang digunakan adalah Spektrofotometer UV Vis 570 nm (Shimadzu), sentrifuge regrigerator, inkubator, mikropipet, alat alat gelas, tip, timbangan analitik, homogenizer, kertas saring.

### **Metode Penelitian**

Metode penelitian ini menggunakan eksperimen yaitu melakukan percobaan secara langsung. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap non faktorial. Taraf perlakuan yang digunakan adalah suhu berbeda yaitu  $K_1 = 45^\circ\text{C}$ ,  $K_2 = 55^\circ\text{C}$ , dan  $K_3 = 65^\circ\text{C}$ . Ulangan yang dilakukan sebanyak 3 kali sehingga jumlah unit sebanyak 9 unit percobaan.

### **Prosedur Penelitian**

Prosedur penelitian ini terdiri atas 3 tahap, 1). Preparasi sampel. 2). ekstrak kasar enzim kolagenase, 3). Mengukur aktivitas pada ekstrak kasar enzim kolagenase berdasarkan suhu berbeda yang diperoleh dari organ dalam ikan nila salin (*Oreochromis niloticus*). Parameter yang diuji dalam penelitian ini adalah menghitung aktivitas ekstrak kasar enzim kolagenase berdasarkan suhu berbeda yang diperoleh dari organ dalam ikan nila salin (*Oreochromis niloticus*).

### **Preparasi bahan baku**

Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini adalah organ dalam atau jeroan ikan nila salin. Ikan nila salin mulai

disiangi dengan memisahkan jeroan ataupun organ dalam dari ikan. Lalu organ dalam ikan nila salin dicuci bersih dengan air yang mengalir untuk menghilangkan kotoran dan ditiriskan untuk menghilangkan kadar air. Kemudian organ dalam dipotong kecil-kecil untuk mempermudah tahap homogenisasi.

### **Ekstrak kasar enzim kolagenase dari organ dalam Ikan nila salin (Moore dan Stein (1954) dalam Kim et al. (2002)).**

Organ dalam segar yang sudah dipotong kecil-kecil siap untuk di homogenisasi, lalu ditambahkan dengan 100 mM buffer Tris-HCl (pH 8) yang terdiri dari 0,25% Triton-X 100 dan 10 mM  $\text{CaCl}_2$ , dengan perbandingan bahan baku : larutan buffer 1:5, campuran tersebut kemudian dihomogenkan dengan homogenizer. Kemudian organ dalam yang sudah homogen tadi, disentrifugasi dengan kecepatan 7.000 rpm selama 20 menit pada suhu ( $\pm 4^\circ\text{C}$ ) supernatan yang terbentuk disimpan untuk diuji aktivitas enzim kolagenasenya.

Selanjutnya supernatan yang telah dihasilkan ditambahkan larutan buffer yang sama, perbandingan antara bahan baku larutan buffer 1:3 disentrifugasi kembali dengan kecepatan 7000 rpm selama 20 menit. Selanjutnya supernatan yang dihasilkan ditambahkan dengan 20 mM Tris-HCl (pH 8) yang mengandung 0,36 mM  $\text{CaCl}_2$ , kemudian didiamkan pada suhu rendah ( $\pm 4^\circ\text{C}$ ) selama 48 jam. Larutan yang dihasilkan merupakan ekstrak kasar kolagenase yang akan digunakan untuk pengujian selanjutnya.

### **Parameter Analisis**

#### **Aktivitas enzim kolagenase (Moore dan Stein 1954 dalam Park et al. 2002).**

Aktivitas enzim kolagenase ini diukur dengan menggunakan metode (Moore dan Stein (1954) dalam Park (2002) dengan cara mereaksikan 5 mL kolagen ditambahkan 1 mL 0,05 M Tris-

HCL yang terkandung didalamnya 5 mM  $\text{CaCl}_2$  dan 0,1 mL larutan enzim tadi. Substrat kolagen yang digunakan dalam penelitian ini adalah kolagen yang sudah jadi diperoleh dari luar. Kemudian diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 60 menit. Seiring berjalannya waktu reaksi terus berjalan maka perlu dilakukan inaktivasi reaksi dari proses tersebut dengan cara menambahkan 0,2 mL 50% TCA (*trychloroacetic acid*). Mendinginkan pada suhu ruangan selama 10 menit dan dilakukan sentrifuse, supernatan yang terbentuk sebanyak 0,2 mL dicampurkan dengan 1 mL larutan ninhydrin 0,1% dan diinkubasi pada suhu perlakuan  $K_1 = 45^\circ\text{C}$ ,  $K_2 = 55^\circ\text{C}$ , dan  $K_3 = 65^\circ\text{C}$  selama 20 menit, kemudian didinginkan pada suhu kamar.

Untuk melakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV dengan panjang gelombang 570 nm, maka campuran tadi diencerkan dengan 5 mL 50% 1-propanol. Larutan buffer tris-HCL 50 mM (pH 7,5) yang mengandung 5 mM  $\text{CaCl}_2$  digunakan sebagai larutan blanko pengganti enzim dan larutan tirosin sebagai larutan standar enzim kolagenase.

### Analisis Data

Data yang diperoleh terlebih dahulu ditabulasi kedalam bentuk tabel dan dianalisis secara variansi. Setelah analisis variasi, maka diperoleh  $F_{hitung}$  dan  $F_{tabel}$ . Apabila  $F_{hitung} > F_{tabel}$  pada tingkat kepercayaan 95% berarti hipotesis ditolak dan selanjutnya dilakukan dengan uji lanjut yaitu uji beda nyata jujur (BNJ).

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Kolagenase

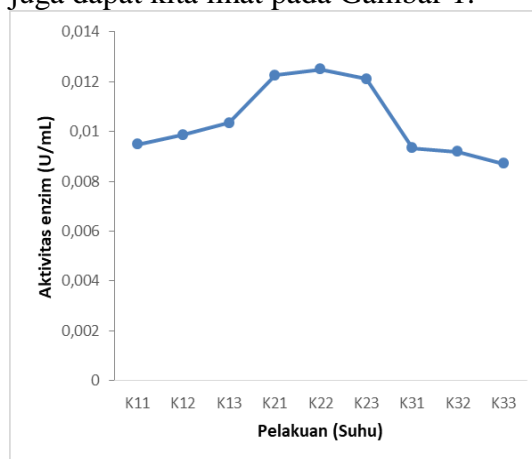
Hasil pengujian rata-rata aktivitas ekstrak kasar enzim kolagenase yang diperoleh dari organ dalam ikan nila salin pada suhu berbeda dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 1. Hasil Uji aktivitas spesifik enzim kolagenase

Perlakuan Suhu ( $^\circ\text{C}$ )	Ulangan			Rata-rata aktivitas enzim (U/mL)
	1	2	3	
45	0,285	0,296	0,310	$0,297^a \pm 0,0004$
55	0,317	0,340	0,322	$0,326^a \pm 0,0001$
65	0,280	0,275	0,262	$0,272^a \pm 0,0003$

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata pada tingkat kepercayaan 95%

Berdasarkan Tabel 1 diatas menunjukkan bahwa pada suhu  $45^\circ\text{C}$  sampai  $55^\circ\text{C}$  aktivitas ekstrak kasar enzim kolagenase mengalami peningkatan dalam menghidrolisis substrat kolagen. Dan mengalami penurunan nilai aktivitas pada suhu  $65^\circ\text{C}$ . Uji pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim dilakukan untuk mengetahui kondisi optimum enzim dalam mendegradasi substrat. Setiap enzim memiliki aktivitas maksimum pada suhu tertentu, aktivitas enzim akan semakin meningkat dengan bertambahnya suhu hingga suhu optimum tercapai. Kenaikan suhu diatas suhu optimum akan menyebabkan aktivitas enzim menurun (Baehaki 2008). Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim juga dapat kita lihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Aktivitas relatif enzim kolagenase pada suhu berbeda

Aktivitas enzim optimum pada suhu  $55^\circ\text{C}$  dan menurun pada pada suhu  $65^\circ\text{C}$  hal ini dikarenakan sebagian protein telah

mengalami kerusakan atau terdenaturasi. Suhu lingkungan yang meningkat disekitar enzim akan menyebabkan putusny ikatan hidrogen, ikatan ion atau interaksi hidrofobik sehingga struktur tersier enzim berubah yang menyebabkan struktur lipatan enzim membukan pada bagian permukaan sehingga sisi aktif enzim berubah mengakibatkan terjadi penurunan aktivitas enzim (Whitaker 1994). Aktivitas enzim dibawah suhu optimum yaitu pada suhu 45<sup>0</sup>C dan 65<sup>0</sup>C aktivitas enzim secara berurutan sebesar 0,297 dan 0,272 U/mL. Rendahnya aktivitas enzim pada kedua suhu tersebut dibandingkan suhu optimum disebabkan rendahnya energi aktivitas yang tersedia. Energi aktivitas dibutuhkan untuk menciptakan kondisi tingkat kompleks aktif, baik molekul enzim maupun molekul substrat.

Berdasarkan penelitian sebelumnya aktivitas optimum enzim kolagenase yang diperoleh dari organ dalam ikan patin dapat mencapai 0,038 U/ml dan beraktivitas secara optimum pada suhu 50<sup>0</sup>C (Nugraha *et al*, 2008), peningkatan energi molekul substrat akan meningkatkan laju reaksi enzim. Kenaikan suhu menyebabkan aktivitas enzim meningkat, karena suhu yang semakin tinggi akan meningkatkan energi kinetik yang mempercepat gerak vibrasi, translasi dan rotasi enzim dan substrat sehingga menambah intensitas tumbukan antara enzim dan substrat.

Tumbukan yang sering terjadi akan mempermudah pembentukan kompleks enzim substrat, sehingga produk yang terbentuk semakin banyak. Pada suhu optimum, tumbukan antara enzim dan substrat sangat efektif sehingga pembentukan kompleks enzim substrat semakin mudah dan produk yang terbentuk meningkat. Peningkatan suhu mengakibatkan enzim mengalami denaturasi dan substrat mengalami perubahan konformasi sehingga sisi aktif substrat tidak dapat lagi atau mengalami

hambatan dalam memasuki sisi aktif enzim dan menyebabkan turunnya aktivitas enzim (Kosim dan Surya 2010).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak kasar enzim kolagenase organ dalam ikan nila salin mencapai aktivitas optimum pada suhu 55<sup>0</sup>C yakni sebesar 0,326 U/mL

## DAFTAR PUSTAKA

- Akhdiya A. 2003. *Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease Alkalin Termotabil*. Bulletin Plasma Nuftah 9:98-102.
- Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi. 2011. Pengembangan Ikan Nila Salin untuk Memberdayakan 600.000 Hektar Tambak Terlantar. Artikel Teknologi Agroindustri dan Bioteknologi.
- Baehaki A, Suhartono T, Palupi NS, Nurhayati T. 2008, Purifikasi dan karakterisasi protease dari bakteri patogen *Pseudomonas aeruginosa*, *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, Vol. XIX No. 1 : 80-87.
- Kim SK, Park PJ, Kim JB, Shahidi F. 2002. Purification and characterization of a Collagenolytic Protease from the Filefish, *Novoden modestrus*. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 35(2): 165-171.
- Masturi dan Arief 2008. *Agribisnis Ikan Nila, Budidaya Usaha Pengolahan*. Pustaka Setia, Bandung.
- Nugraha R, Viruly L, Herliany NE, Suwarjoyowiratno, Hikmawati M, Trimo U, Syaputra D. 2008. Karakterisasi Enzim Kolagenase Organ Dalam Ikan Patin (*Pangasius pangasius*). Prosiding Seminar Nasional Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautandan Perikanan

## II.

- Nurhayati T. 2010. Aktivitas enzim katepsin dan kolagenase pada kulit ikan bandeng (*Chanos chanos*, Forskal) selama periode kemunduran mutu: AKUATIK-Jurnal Sumberdaya Perairan. 04(2). 13-17
- Nurkhotimah, Yulianti E, Rakhmawati A. 2017. Pengaruh Suhu dan PH Terhadap Aktivitas Enzim Fosfatase Bakteri termofilik Sungai Gendol Pasca Erupsi Merapi. Jurnal Prodi Biologi. 06 (8): 1-7. Terhadap Aktivitas Enzim Fosfatase Bakteri termofilik Sungai Gendol Pasca Erupsi Merapi. Jurnal Prodi Biologi. 06 (8): 1-7.
- Park PJ, Lee SH, Byun HG, Kim SH, Kim SK. 2002. Purification and characterization of a collagenase from the Mackerel, *Scomber japonicus*: Journal of Biochemistry and Molecular Biology. 35(6): 576-582.
- Setiawati M dan Suprayudi MA. 2003. Pertumbuhan dan Efisiensi Pakan Ikan Nila Merah (*Oreochromis* sp) yang Dipelihara pada Media Bersalinitas. Jurnal akuakultur Indonesia. 2(1): 27-30.
- Whitaker JR, 1994. Principle of Enzymology for the Food Science, Secon edition. New York: Marcel Deker.
- Yuniarti T. 2010. Semipurifikasi dan karakterisasi kolagenase dari organ dalam Ikan Bandeng (*Chanos chanos*, Forskal). IPB. 4(2): 106-11.