PROFIL HISTOLOGIS SERABUT KOLAGEN PADA KULIT KAMBING *BLIGON* YANG DIRENDAM DALAM LARUTAN ASAM DAN BASA LEMAH PADA KONSENTRASI BERBEDA

Histological profile of collagen fibers on Bligon goat skin soaked in weak acids and bases solution at different concentration

Muhammad Irfan Said¹

¹⁾ Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin, Makassar, 90245, Indonesia

ABSTRACT

Strong acids and bases has been widely applied in commercial gelatin industry, but the application of weak acids and bases has not been much done. Application of a solution of strong acids and bases could be expected to affect human health and uneconomical, therefore it requires further study on the possibility of the their application in the production process of gelatin. Quantity and quality of gelatin associated with changes in their structure of collagen fibers. Research has been conducted on the histological profile of collagen fibers from Bligon goat skin soaked in weak acids and bases. Weak acid (CH_3COOH 0.5 M) and weak base ($\text{Ca}(\text{OH})_2$ 100 g/L) was used as a soak solution, each of which was made into three concentration levels (3, 6 and 9% v/v). Samples of skin composites made duplo size 3x3 cm and each soaked for 4 days and were then made histological preparations. Subsequent histological profiles were analyzed descriptively. Results showed that the changes in the structure of skin collagen fibers in CH_3COOH 0.5 M more significant than $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 100 g/L and control (without soaked) for the same level of concentration.

Key words: *Histological, collagen fibers, bligon goat skin, weak acids and bases*

PENDAHULUAN

Larutan asam dan basa kuat sebagai bahan perendam bahan baku kulit telah banyak diterapkan dalam industri pembuatan gelatin komersial. Perendaman bahan baku kulit dalam larutan asam dan basa dimanfaatkan sebagai perlakuan awal (*pre treatment*) dalam meningkatkan kuantitas maupun memperbaiki kualitas produk gelatin. Kulit ternak tersusun sebagian besar atas serabut kolagen (Sarkar, 1995). Proses hidrolisis serabut kolagen secara parsial selanjutnya akan menghasilkan produk gelatin Kolodziejska *et al.*, 2003). Larutan asam dan basa dimanfaatkan dalam memecah ikatan silang pada serabut kolagen sehingga serabut kolagen lebih mudah terkonversi dan tersolubilisasi menjadi gelatin

(Zeugolis *et al.*, 2008). Pemberian larutan asam dan basa pada proses produksi gelatin berpengaruh terhadap sifat-sifat fisik gelatin (Ockerman and Hansen, 2000). Perubahan terhadap sifat fisik gelatin adalah sebagai akibat adanya perubahan struktur tersier protein secara berlanjut (Lehninger, 2008). Pemberian larutan asam dan basa juga terkait dengan jumlah serabut kolagen yang terlarut (Wang *et al*, 2008^a).

Permasalahan yang terjadi bahwa penggunaan larutan asam dan basa kuat dianggap tidak ekonomis lagi karena harganya cukup mahal dan diduga dapat berpengaruh terhadap kesehatan manusia. Penggunaan larutan asam dan basa lemah sebagai bahan perendam bahan baku kulit dalam proses produksi gelatin belum banyak dipublikasikan.

Keunggulan penggunaan larutan asam dan basa lemah adalah disamping harganya yang murah dan mudah diperoleh juga relatif lebih aman bagi kesehatan manusia, namun demikian kajian tentang pengaruhnya terhadap perubahan struktur serabut kolagen yang terkait langsung dengan sifat-sifat gelatin secara kuantitatif maupun kualitatif belum banyak diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari profil histologi serabut kolagen kulit kambing Bligon yang direndam dalam larutan asam dan basa lemah pada berbagai level konsentrasi.

MATERI DAN METODE

Penelitian menggunakan kulit dari kambing Bligon jantan dengan umur potong pada kisaran 1,5-2,5 tahun yang telah diawetkan dengan garam. Larutan perendam menggunakan asam lemah jenis asam asetat (CH_3COOH 0,5 M) dan basa lemah jenis kalsium hidroksida ($\text{Ca}(\text{OH})_2$ 100 g/L). Kulit awetan garam tanpa perlakuan perendaman digunakan sebagai kontrol.

Bahan-bahan pendukung dalam proses pembuatan sediaan histologi antara lain: obyek glass, *deck glass*, alkohol 70%, *xylol*, parafin, albumin, aquades serta pewarna *Mallory*.

Peralatan utama yang digunakan antara lain: beker glass (*Pyrex*), tabung plastik, corong gelas (*Pyrex*), labu ukur (*Pyrex*), gelas ukur (*Pyrex*) dan timbangan analitik (*Sartorius TE 214S*). Peralatan-peralatan pendukung untuk proses pembuatan sediaan histologi antara lain : mikrotom dengan ketebalan potong 6 μ , mikroskop (*Nikon Eclipse E 600*) yang dilengkapi dengan kamera optilab (*Miconos Transdata Nusantara*).

Metode Penelitian yang digunakan adalah:

1. Proses Penyiapan Bahan Baku Kulit

Pertama-tama kulit kambing awetan garam ditimbang dan dicuci dengan air mengalir selama 30 menit. Kulit selanjutnya direndam di dalam larutan 1% *teepol*, diaduk dan dicuci dengan air mengalir selama 15 menit. Sisa daging dan lemak yang masih menempel pada kulit dibuang secara manual dengan mesin *fleshing*.

Proses buang bulu (*unhairing*) menggunakan larutan 2% kapur + 3% Na_2S dan selanjutnya kulit dicuci dengan air mengalir selama 15 menit. Tahap berikutnya adalah proses penetralan dalam larutan 2% HCOOH hingga kulit memiliki pH 7-7,5. Lembaran kulit tanpa bulu kemudian dipotong-potong dengan ukuran 3x3 cm. Potongan-potongan kulit tersebut digabung menjadi satu (komposit) untuk selanjutnya siap untuk direndam.

2. Proses Penyiapan Larutan Perendam

Larutan perendam yang terdiri atas larutan dasar asam asetat (CH_3COOH 0,5 M) dan kalsium hidroksida ($\text{Ca}(\text{OH})_2$ 100 g/L) masing-masing dibuat menjadi tiga level konsentrasi, yakni 3%, 6% dan 9%. Salah satu contoh yakni untuk level konsentrasi 3% dibuat dengan melarutkan 3 mL larutan dasar CH_3COOH 0,5 M maupun $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 100 g/L ke dalam labu ukur 100 mL yang berisi aquadest hingga batas volume 100 mL. Proses yang sama juga untuk membuat larutan perendam dengan level konsentrasi 6% dan 9%.

3. Proses Pperlakuan Perendaman

Sebanyak 6 buah tabung plastik yang tahan terhadap zat kimia disiapkan. Tiga buah tabung diisi dengan larutan dasar CH_3COOH 0,5 M masing-masing dengan level konsentrasi 3%, 6% dan 9% dan tiga buah tabung diisi dengan larutan dasar $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 100 g/L masing-masing dengan level konsentrasi 3%, 6% dan 9%. Ke dalam masing-masing tabung dimasukkan potongan sampel kulit berukuran 3x3 cm. Proses perlakuan perendaman dilakukan selama 4 hari (96 jam) untuk semua sampel kulit. Sampel kulit yang telah direndam selanjutnya dibilas dengan aquades dan dimasukkan ke dalam larutan formalin untuk selanjutnya dibuat sediaan histologisnya.

4. Metode analisis

Proses pembuatan sediaan histologis menggunakan metode Darmosumarto dan Dalimi (1992). Proses awal adalah sampel

kulit difiksasi dengan alkohol 70% untuk mencegah terjadinya proses autolisis. Tahap berikutnya adalah proses pengeluaran cairan dalam jaringan (dehidrasi) dengan alkohol dan proses penjernihan dengan *xylol* untuk memberikan bentuk transparan sehingga mudah diamati. Tahap berikutnya adalah proses impregnasi yakni memasukkan parafin ke dalam jaringan yang dilakukan pada suhu 58-60°C yang dilanjutkan dengan proses pemancangan (*embedding*), yaitu menempatkan sampel pada cetakan yang berisi parafin cair. Tahap berikutnya adalah *trimming*, yaitu membuat blok parafin hingga membentuk trapezium dengan ketebalan 3-5 cm dari sisi jaringan. Proses pengirisan dilakukan dengan mikrotom dengan ketebalan potong 6 μ . Potongan jaringan diletakkan pada obyek *glass* yang sebelumnya diberi dengan perekat albumin (*mounting*). Jaringan selanjutnya diwarnai dengan *Mallory* dan selanjutnya potongan jaringan ditutup dengan *deck glass*.

Penelitian ini dilaksanakan secara eksperimental dan dihasilkan selanjutnya ditampilkan dalam bentuk gambar yang menggambarkan profil serabut kolagen pada kulit kambing Bligon yang direndam dalam larutan asam lemah dan basa lemah dengan level konsentrasi berbeda. Tampilan data dalam bentuk gambar tersebut kemudian dianalisis secara deskriptif yang selanjutnya dibandingkan dengan profil histologis kulit kambing Bligon kontrol (tanpa proses perendaman).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Profil Histologis Serabut Kolagen Kulit Tanpa Perendaman (Kontrol)

Gelatin merupakan suatu produk hasil hidrolisis secara parsial dari serabut kolagen yang berasal dari tubuh ternak. Dalam proses pembuatan gelatin, penggunaan larutan asam dan basa sebagai larutan perendaman bertujuan untuk memecah struktur ikatan silang pada serabut kolagen secara parsial

(Hidayat, 2008). Larutan asam mampu mengubah serat kolagen dalam bentuk *triple heliks* menjadi *monoheliks* sedangkan larutan basa hanya mampu mengubah dari bentuk *triple heliks* menjadi *biheliks* (Ward and Court, 1977). Konsentrasi larutan perendam memberikan pengaruh yang nyata dalam melarutkan kolagen saat proses produksi (Wang *et al.*, 2008^b). Profil histologis serabut kolagen pada kulit kambing Bligon tanpa proses perendaman (kontrol) disajikan pada Gambar 1.

Profil Histologis Serabut Kolagen Kulit yang Menggunakan Larutan Perendam Asam Lemah (CH₃COOH 0,5M)

Berdasarkan Gambar 2 secara umum terlihat bahwa penggunaan asam lemah (CH₃COOH) dengan 3 jenis konsentrasi (3%, 6% dan 9%) menunjukkan adanya perubahan struktur jaringan serabut kolagen pada kulit kambing Bligon secara signifikan dibanding kontrol (Gambar 1). Pada konsentrasi 3% (Gambar 2a) perubahan struktur jaringan serabut kolagen belum memperlihatkan perubahan yang sangat signifikan, namun secara umum struktur jaringan serabut kolagen sudah mengalami proses pelonggaran.

Peningkatan konsentrasi sampai 6% (Gambar 2b) sudah menunjukkan adanya perubahan konformasi berupa pembengkakan (*swelling*) hingga mengalami proses denaturasi, akibatnya terbentuk rongga-rongga yang berukuran besar diantara jaringan serabut kolagen. Protein dapat mengalami perubahan sifat fisik dan kimia oleh pengaruh asam, basa, garam maupun suhu. Perubahan bentuk fisik dipandang sebagai akibat adanya perubahan struktur tersier protein yang berlanjut sehingga menyimpang dari bentuk alaminya. Penyimpangan yang dimaksud adalah proses denaturasi (Lehninger, 2008).

Peningkatan konsentrasi sampai 9% (Gambar 2c) menunjukkan perubahan struktur jaringan serabut kolagen sangat signifikan

Gambar 1. Profil Histologis Serabut Kolagen Kulit Kambing Bligon tanpa Proses Perendaman (Kontrol). (Pewarnaan *Mallory* ; Perbesaran 28x)

dibanding kontrol (Gambar 1). Perubahan tersebut terlihat dari struktur jaringan serabut kolagen bukan hanya berupa pembengkakan dan denaturasi, namun mengalami proses berlanjut berupa pelarutan atau solubilisasi.

Proses solubilisasi yang terjadi pada jaringan serabut kolagen disebabkan oleh terpecahnya sejumlah ikatan silang intramolekuler maupun intermolekuler dan beberapa rantai ikatan amida lainnya yang pada akhirnya akan menurunkan berat molekul protein kolagen tersebut dari keadaan aslinya (Kolodziejaska *et al.*, 2007).

Proses pelarutan yang terjadi pada serabut kolagen dengan pemberian larutan asam lemah hingga konsentrasi 9% kemungkinan berdampak pada terjadinya kerusakan serabut kolagen secara total, sehingga mempengaruhi sifat-sifat fisikokimia dari gelatin yang dihasilkan. Faktor konsentrasi maupun waktu proses berpengaruh nyata terhadap proses pelarutan kolagen. Peningkatan konsentrasi asam akan diikuti oleh meningkatnya kelarutan kolagen selama proses (Wang *et al.*, 2008^c). Reaksi serabut kolagen dengan larutan asam secara berlebihan dapat menyebabkan terjadinya kerusakan pada struktur jaringan ikat kolagen secara permanen berupa pemutusan rantai asam

a

b

c

Gambar 2. Profil Histologis Serabut Kolagen Kulit Kambing Bligon yang Direndam dalam Larutan Asam Lemah (CH_3COOH 0,5M) ; a = 3% ; b = 6% dan c = 9% (v/v). (Pewarnaan *Mallory* ; Perbesaran 28x)

amino sampai dengan batas yang sangat minimal yang pada akhirnya akan berpengaruh terhadap sifat fisik gelatin berupa menurunnya tingkat kekuatan gel maupun viskositas. Pemutusan rantai kolagen sampai pada batas misel atau polipeptida akan menghasilkan gelatin yang baik, namun pemutusan yang berlanjut hingga peptida atau asam amino

menyebabkan gelatin mengalami kerusakan (Abustam *et al.*, 2003).

Profil Histologis Serabut Kolagen Kulit yang Menggunakan Larutan Perendam Basa Lemah (Ca(OH)_2 100 g/L)

Gambar 3 menunjukkan bahwa penggunaan basa lemah (Ca(OH)_2) dengan tiga jenis konsentrasi (3%, 6% dan 9%) menunjukkan adanya perubahan struktur jaringan serabut kolagen pada kulit kambing dibanding kontrol, namun perubahan yang tampak belum terlalu signifikan seperti kulit yang direndam dalam larutan asam (Gambar 2).

Perendaman dalam larutan basa lemah (Ca(OH)_2) pada konsentrasi 3% (Gambar 3a) belum menunjukkan perubahan yang signifikan, namun secara umum struktur jaringan serabut kolagen sudah mengalami proses pelonggaran dibanding kontrol (Gambar 1). Tampak pula telah terbentuk rongga-rongga kecil diantara berkas serabut kolagen. Kolagen yang bereaksi dengan larutan basa dapat menyebabkan fibril kolagen membengkak dan pecah menjadi satuan fibril atau makromolekul tropokolagen (Leeson *et al.*, 1995).

Peningkatan konsentrasi bahan perendam Ca(OH)_2 sampai 6% (Gambar 3b) juga belum memperlihatkan perubahan struktur yang sangat signifikan dibanding kontrol (Gambar 1), namun tampak bahwa rongga yang terbentuk ukurannya lebih besar dibanding penggunaan larutan basa 3% (Gambar 3a) maupun kontrol (Gambar 1). Peningkatan konsentrasi sampai 9% secara umum belum memperlihatkan perubahan struktur secara signifikan dibanding pada penggunaan asam lemah 9% (Gambar 2c) maupun kontrol (Gambar 1). Proses denaturasi dan pelarutan serabut kolagen selama proses perendaman dalam larutan basa lemah (Ca(OH)_2) sudah tampak, namun tidak

Gambar 3. Profil Histologis Serabut Kolagen Kulit Kambing Bligon yang Direndam dalam Larutan Basa Lemah (Ca(OH)_2 100 g/L) ; a = 3% ; b = 6% dan c = 9% (v/v). (Pewarnaan Mallory ; Perbesaran 28x)

sebesar yang terjadi pada penggunaan asam lemah (CH_3COOH).

Serabut kolagen yang merupakan struktur utama penyusun kulit sangat peka terhadap larutan asam maupun basa (Sarkar, 1995). Reaksi larutan basa dengan kolagen dapat menyebabkan terjadinya pemecahan ikatan hidrogen pada struktur asam amino

hingga akhirnya terjadi proses konversi tropokolagen menjadi fibril kolagen (Ockerman dan Hansen, 2000), proses pemecahan pada serabut kolagen sepenuhnya dipengaruhi oleh konsentrasi, waktu dan jenis bahan baku yang digunakan (Kolodziejska *et al.*, 2003).

KESIMPULAN

Profil struktur histologis serabut kolagen kulit kambing Bligon yang direndam dalam larutan asam lemah (CH_3COOH 0,5 M) memperlihatkan perubahan paling signifikan dibanding kulit yang direndam dalam larutan basa lemah ($\text{Ca}(\text{OH})_2$ 100 g/L) pada kondisi level konsentrasi larutan yang sama maupun kontrol (tanpa perendaman).

DAFTAR PUSTAKA

- Abustam, E., M.I.Said, N.K. Sukendar dan E. Wahyuddin. 2003. Produksi Gelatin dan Produk Kapsul dari Kaki (shank) Ayam. Laporan Penelitian Hibah Bersaing. Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Darmosumarto, S dan Dalimi, L. 1995. Mikroteknik dan Fotomikrografi. Program Pascasarjana Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Hidayat, N. 2008. Gelatin. Pengembangan Produk dan Teknologi Proses. <http://ptp2007.wordpress.com/> [Diakses 28 Oktober 2008].
- Kołodziejska, I., Skierka, E., Sadowska, M., Kołodziejski, W. and Niecikowska, C. 2007. Effect of Extracting Time and Temperature on Yield of Gelatin from Different Fish Offal. *Food Chem.*, 107 (2): 700-706.
- Kolodziejska, I., Kaczorowski, K., Piotrowska, B. and Sadowska, M. 2003. Modification of the Properties of Gelatin From Skins of Baltic Cod (*Gadus morhua*) with Transglutaminase. *Food Chem.*, 86 (2): 203-209.
- Leeson, C.R., T.S.Leeson and A.A.Paparo. 1995. Buku Ajar Histologi (Textbook of Histology). Penerjemah : Siswojo, S.K., J.Tambajong, S. Wonodirekso, I.A.Suryono, R.Tanzil, H.Soeharto, S.Roewijoko, I.Goeritnoko dan M. Martoprawiro. Edisi V, Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.
- Lehninger, A.L. 2008. Principles of Biochemistry. Fifth ed. David L.Nelson and Michael M.Cox. W.H.Freeman and Company, NY.
- Ockerman, H. W and Hansen, C. L. 2000. Animal By Product Processing and Utilization. CRC Press, USA.
- Sarkar, K.T. 1995. Theory and Practice of Leather Manufacture. The Author 4. Second Avenue, Mahatma Gandhi Road, Madras 600 041.
- Wang, L., Auty, M. A. E., Rau, A., Kerry, J. F. and Kerry, J.P. 2008^a. Effect of pH and Addition of Corn Oil on the Properties of Gelatin Based Biopolymer Film. *J .of Food Engineering.*, 90 (1): 11-19.
- Wang, L., Yang, B., Wang, R. and Du, X. 2008^b. Extraction of Pepsin-soluble Collagen from Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*) Skin using an Artificial Neural Network. *Food Chem.*, 111 (3): 683-686.
- Wang, L., Yang, B., Du, X., Yang, Y. and Liu, J. 2008^c. Optimization of Conditions for Extraction of Acid-soluble Collagen from Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*) by Response Surface Methodology. *Innovative Food Sci & Emerging Techn*, 9 (4), 604-607.
- Ward, A.G and Courts, A. 1977. The Science and Technology of Gelatin. Academic Press, New York.
- Zeugolis, D. I., Khew, S. T., Yew, E. S. Y., Ekaputra, A. K., Tong, Y. W., Yung, L.L., Hutmacher, D.W., Sheppard, C. and Michael. 2008. Electro-spinning of Pure Collagen Nano-fibres – Just an Expensive Way to Make Gelatin? *Biomaterials*, 15: 2293-2305.