



**LAPORAN AKHIR PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA
BIDANG PENELITIAN**

**PENGEMBANGAN INDUSTRI BARU BAHAN SEDIAAN OBAT
OSTEOARTHRITIS BERBASIS KONDROITIN SULFAT DARI
TULANG RAWAN IKAN PARI TAWAR DAN LAUT TROPIKA
DENGAN TEKNOLOGI EKSTRAKSI ENZIMATIS
DAN MEMBRAN ULTRAFILTRASI**

Oleh :

Andri Dwi Pujiastuti	C34080003	(2008)
Prisca Sari Paramudhita	C34100004	(2010)
Bayu Irianto	C34100040	(2010)
Santoso Darmo Atmojo	C34100050	(2010)
Nur Hidayah	C34100088	(2010)

Dibiayai oleh:

Direktorat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat
Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi
Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan
sesuai dengan Surat Perjanjian Penugasan Program Kreativitas Mahasiswa
Nomor : 050/SP2H/KPM/Dit.Litabmas/V/2013, tanggal 13 Mei 2013

**INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2013**

LEMBAR PENGESAHAN

1. Judul Kegiatan : Pengembangan Industri Baru Bahan Sediaan Obat Osteoarthritis Berbasis Kondroitin Sulfat dari Tulang Rawan Ikan Pari Tawar dan Laut Tropika dengan Teknologi Ekstraksi Enzimatis dan Membran Ultrafiltrasi
2. Bidang Kegiatan : PKM-P
3. Ketua Pelaksana Kegiatan
- a. Nama Lengkap : Andri Dwi Pujastuti
- b. NIM : C34080003
- c. Jurusan : Teknologi Hasil Perairan
- d. Universitas : Institut Pertanian Bogor
- e. Alamat Rumah : Kost Shofira Jl Babakan Lebak Rt 002/006 Dramaga, Bogor 16680
- f. Nomor Telepon/HP : 02512773829/085214100870
- g. Alamat Email : andridwipujastuti@yahoo.co.id
4. Anggota Pelaksana : 4 orang
5. Dosen Pendamping
- a. Nama Lengkap : Bambang Riyanto, S.Pi, M.Si
- b. NIDN : 0003066903
- c. Alamat Rumah/No. : Jl. Katelia III/23 Taman Yasmin, Bogor/ 08128022114
6. Biaya Kegiatan Total
- a. Dikti : Rp 11.700.000,-
- b. Sumber lain : -
7. Jangka Waktu Pelaksanaan : 6 bulan

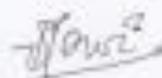
Bogor, 24 Juli 2013

Menyetujui,
Ketua Departemen
Teknologi Hasil Perairan



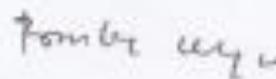
(Dr. Ir. Ruddy Suwardi, MS, MPhil)
NIP. 1958 198503 1 002

Ketua Pelaksana Kegiatan



(Andri Dwi Pujastuti)
NIM. C34080003

Dosen Pendamping



(Bambang Riyanto, S.Pi, M.Si)
NIDN. 0027115



(Prof. Dr. Ir. Yenny Koesmaryono, MS)
NIP. 19581230 198503 1 003

Development of New Industrial Drug Materials for Osteoarthritis-Based Chondroitin Sulfate From Skate Cartilage with Enzymatic Extraction and Ultrafiltration Membrane Technology

Andri Dwi Pujiastuti, Prisca Sari Paramudhita, Bayu Irianto, Santoso Darmo Atmojo, Nur Hidayah

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor

Email: andridwipujiastuti@yahoo.co.id

Abstract

*Skate is a great commodity of fisheries in Indonesia, however its utilization has been less explored. Skate cartilage tissue has been known to contain molecules of glycosaminoglycan, which has been widely utilized in therapy of osteoarthritis. The aim of this study was to characterize glycosaminoglycan derived from extraction of bluespotted stingray (*Neotrygon kuhlii*) and freshwater whipray (*Himantura signifer*) cartilage. Glycosaminoglycan derived from skate cartilages in this study meets the available standard. FTIR analysis showed a similar spectrum pattern with chondroitin sulfate, which indicated that the type of glycosaminoglycan was chondroitin sulfate. Concentration of glycosaminoglycan from bluespotted stingray cartilage was 74.767 mg/100 mL. This concentration was higher than that in freshwater whipray, which was 66.767 mg/100 mL.*

I PENDAHULUAN

LATAR BELAKANG MASALAH

Ikan pari merupakan komoditas hasil perairan yang jumlahnya cukup melimpah di Indonesia. Ikan ini merupakan kelompok ikan bertulang rawan kelas Chondrichthyes. Indonesia tercatat sebagai negara dengan pemanfaatan ikan bertulang rawan terbesar di dunia, dengan dugaan hasil tangkapan sebesar 118.000 ton. Saat ini dengan data tahun 2008, total tangkapan pari dunia mencapai 736.491 ton (FAO 2008). Ikan pari seringkali bukan merupakan ikan tangkapan utama. Sebagai hasil tangkapan samping, ikan pari seringkali terbuang atau dimanfaatkan secara tidak optimal, dimana tidak semua bagian tubuh ikan pari dimanfaatkan dengan baik. White *et al.* (2006) menyampaikan bahwa bagian tubuh yang umumnya dimanfaatkan dari ikan pari hanyalah dagingnya saja. Hal ini tentunya akan menyisakan kulit dan tulang yang perlu dikembangkan lebih lanjut.

Menurut Murado *et al.* (2010), sebanyak 80% dari tubuh ikan pari tersusun atas tulang rawan. Pearle *et al.* (2005) menyatakan bahwa tulang rawan terdiri dari kondrosit atau sel tulang rawan serta matriks ekstraseluler padat yang tersusun atas air, kolagen, dan proteoglikan. Proteoglikan merupakan hasil interaksi antara protein dan glikosaminoglikan. Lignot *et al.* (2003) turut memaparkan bahwa jaringan tulang rawan mengandung molekul glikosaminoglikan, salah satunya kondroitin sulfat, yang penting bagi kesehatan tulang rawan. Glikosaminoglikan pada tulang rawan ikan pari terikat secara kovalen dengan protein membentuk kompleks proteoglikan yang menempel pada jaringan fibril kolagen.

Glikosaminoglikan berinteraksi dengan ratusan protein. Bentuk yang umum dari glikosaminoglikan adalah heparan sulfat dan kondroitin sulfat. Murado *et al.* (2010) menyatakan bahwa glikosaminoglikan yang terdapat pada tulang rawan ikan hiu terdiri dari kondroitin sulfat dan keratan sulfat, sedangkan jenis glikosaminoglikan yang terdapat pada tulang rawan ikan pari umumnya hanyalah kondroitin sulfat. Hal ini menurut Murado *et al.* (2010) menyebabkan tulang rawan ikan pari menjadi sumber kondroitin sulfat yang potensial.

Glikosaminoglikan sangat penting untuk kesehatan sendi. Garnjanagoonchorn *et al.* (2007) menyatakan bahwa glikosaminoglikan, terutama kondroitin sulfat, secara luas telah dimanfaatkan dalam terapi osteoarthritis. Kondroitin sulfat mampu memperbaiki fungsi sendi serta mengurangi rasa sakit akibat nyeri sendi. Adebowale *et al.* (2000) menjelaskan osteoarthritis sebagai suatu penyakit yang diasosiasikan dengan adanya perubahan struktur dan fungsi persendian. Hal ini disebabkan oleh hilangnya keseimbangan antara sintesis dan degradasi makromolekul pada sendi. Penyakit ini telah menjangkit lebih dari 40 juta warga Amerika. Hal ini diperkuat oleh Pearle *et al.* (2005) yang menjelaskan bahwa sekitar 10% orang dewasa berumur lebih dari 50 tahun di Amerika mengalami osteoarthritis.

Schneider *et al.* (2012) menyatakan bahwa sodium kondroitin sulfat diproduksi dalam bentuk yang dapat dimakan oleh beberapa perusahaan. Kondroitin tersebut berasal dari trakea sapi atau tulang rawan unggas. Structum[®] merupakan contoh produk kondroitin sulfat yang telah diproduksi dan berbahan baku tulang rawan unggas. Produk ini telah diterima secara internasional sejak tahun 1993. Adebowale *et al.* (2000) menambahkan bahwa lebih dari lima tahun terakhir terdapat peningkatan jumlah suplemen makanan secara signifikan yang

telah diperkenalkan ke pasaran. Penjualan glukosamin dan kondroitin sulfat diduga telah lebih dari 500 juta pada Juli 1998 hingga Mei 1999.

Sebanyak 171 jenis ikan Elasmobranchii ditemukan di dunia berasal dari perairan tawar dan muara sungai, yang terdiri dari 68 genus dan 34 famili. Keanekaragaman dan kelimpahan ikan Elasmobranchii air tawar dan muara sungai tertinggi ditemukan di negara-negara tropis. Sungai Musi memiliki keanekaragaman ikan yang tinggi, sedikitnya lebih 234 jenis telah ditemukan di bagian hulu hingga hilir dari sungai ini (Husnah 2009). Sampai saat ini informasi mengenai pemanfaatan ikan pari air tawar masih terbatas. Adanya pemanfaatan tulang rawan pari tawar dalam industri obat memberikan peluang besar untuk pengembangan budidaya ikan pari air tawar. Oleh karena itu, Pengembangan industri baru Bahan Sediaan Obat Osteoarthritis Berbasis Kondroitin Sulfat dari Tulang Rawan Ikan Pari Tawar dan Laut Tropika dengan Teknologi Ekstraksi Enzimatis dan Membran Ultrafiltrasi menjadi sangat penting untuk diimplementasikan.

PERUMUSAN MASALAH

- Indonesia merupakan sumber daya penghasil ikan pari ke tiga terbesar di dunia, dengan total produksi dunia 736.491 ton pada tahun 2008. Akan tetapi ikan pari masih merupakan hasil tangkapan sampingan.
- Menurut Murado et al. (2010), tubuh ikan pari sekitar 80% merupakan tulang rawan. Lignot et al. (2003) memaparkan bahwa jaringan tulang rawan mengandung molekul glikosaminoglikan, salah satunya kondroitin sulfat, yang penting bagi kesehatan tulang rawan.
- Adebowale et al. (2000) memaparkan bahwa lebih dari lima tahun terakhir terdapat peningkatan jumlah suplemen makanan secara signifikan yang telah diperkenalkan ke pasaran. Penjualan glukosamin dan kondroitin sulfat diduga telah lebih dari 500 juta pada Juli 1998 hingga Mei 1999.
- Pengembangan industri baru bahan sediaan obat osteoarthritis berbasis kondroitin sulfat dari tulang rawan ikan pari tawar dan laut tropika dengan teknologi ekstraksi enzimatis dan membran ultrafiltrasi menjadi sangat penting untuk diimplementasikan.

TUJUAN PROGRAM

Tujuan penelitian ini adalah mengembangkan industri untuk menghasilkan bahan sediaan obat osteoarthritis berbasis kondroitin sulfat dari tulang rawan ikan pari tawar dan laut tropika dengan teknologi ekstraksi enzimatis dan membran ultrafiltrasi.

LUARAN YANG DIHARAPKAN

1. Bentuk industri baru bahan sediaan obat osteoarthritis berbasis kondroitin sulfat.
2. Model kondroitin sulfat dari tulang rawan ikan pari tawar dan laut tropika.
3. Tingkat konsentrasi kondroitin sulfat dari tulang rawan ikan pari tawar dan laut tropika, diharapkan akan berkisar 26 %.
4. Karakteristik kondroitin sulfat dari tulang rawan ikan pari tawar dan laut tropika, diantaranya berupa kandungan glikosaminoglikan.

KEGUNAAN PROGRAM

INDUSTRI FARMASI DAN KEDOKTERAN

1. Bentuk industri baru bahan sediaan obat osteoarthritis berbasis kondroitin sulfat alami.
2. Kondroitin sulfat dari tulang rawan ikan pari tawar dan laut tropika
3. Karakteristik kondroitin sulfat dari tulang rawan ikan pari tawar dan laut tropika

INDUSTRI PERIKANAN DAN NELAYAN INDONESIA

1. Nilai tambah baru hasil perikanan untuk obat-obatan
2. Kelestarian lingkungan laut, antisipasi cerdas illegal, unreported, unregulated fishing (IUU-fishing FAO) tentang buangan hasil tangkapan samping perikanan.
3. Industri budidaya (aquaculture) pari air tawar

POTENSI PATEN DAN KEBARUAN ILMIAH

1. Kondroitin sulfat dari tulang rawan ikan pari tawar dan laut tropika
2. Karakteristik kondroitin sulfat dari tulang rawan ikan pari tawar dan laut tropika
3. Teknologi baru penghasil kondroitin sulfat dengan menggunakan ekstraksi enzimatis dan ultrafiltrasi.

II TINJAUAN PUSTAKA

Osteoarthritis

Menurut Simanek *et al.* (2005), osteoarthritis merupakan gangguan yang paling sering muncul pada persendian orang berusia menengah dan tua. Osteoarthritis sebagian besar ditandai oleh rusaknya tulang rawan artikular, baik pada bagian inti maupun keseluruhan. Sebanyak kurang lebih satu per tiga masyarakat berusia di atas 45 tahun menderita gejala osteoarthritis. Gejala osteoarthritis diawali dengan rasa sakit, pegal, dan penurunan fungsi dari sendi yang terinfeksi. Perkembangan penyakit ini bervariasi mulai dari proses yang lambat hingga proses yang cepat, dimana sendi mulai terkikis dengan kondisi cukup parah selama beberapa bulan. Osteoarthritis disebut juga sebagai penyakit kompleks akibat adanya disposisi gen dengan struktur yang rumit.

Pearle *et al.* (2005) menjelaskan bahwa secara makroskopis, perubahan jaringan tulang rawan pada gejala osteoarthritis dapat berupa pelunakan jaringan (kondromalasia), pembentukan serabut-serabut (*fibrillation*), dan pengikisan tulang. Penampakan jaringan pada tulang rawan yang mengalami kerusakan dan tidak dapat diperbaiki oleh tubuh dapat berupa keretakan tulang rawan, berkurangnya lapisan-lapisan dalam tulang rawan, dan penggandaan kondrosit. Hal tersebut terjadi ketika osteoarthritis pertama kali menginfeksi zona superfisial.

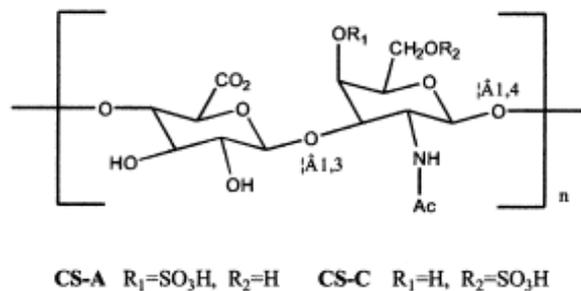
Pearle *et al.* (2005) juga menjelaskan bahwa proses osteoarthritis secara langsung terkait dengan berkurangnya kadar dan komposisi proteoglikan. Konsentrasi proteoglikan yang tinggi pada tulang rawan yang mengalami osteoarthritis terdapat dalam bentuk non-agregat, yaitu tidak terikat dengan hyaluronat. Hal tersebut menunjukkan bahwa degradasi proteolitik pada proteoglikan mengurangi panjang rantai proteoglikan sehingga menghambat pembentukan kompleks makromolekul normal. Degradasi proteoglikan ini mengawali terbentuknya matriks padat yang lebih permeabel. Meskipun terjadi peningkatan kadar air pada matriks, peningkatan permeabilitas matriks menyebabkan pengurangan tekanan hidrolis tulang secara signifikan. Hal ini dapat mengakibatkan berkurangnya kekakuan jaringan sehingga secara klinis

terjadi pelunakan jaringan tulang rawan yang sering dikenal sebagai kondromalasia.

Kondroitin Sulfat

Sim *et al.* (2005) menjelaskan bahwa kondroitin sulfat terdiri dari rangkaian asam D-glukuronat (GlcA) bersulfat atau tanpa gugus sulfat yang tersusun bergantian dengan residu N-asetil-D-galaktosamin (GalNAc) yang terhubung melalui ikatan β -1,3 dan β -1,4. Kondroitin sulfat merupakan komponen esensial matriks ekstraseluler pada jaringan ikat yang memiliki peranan penting dalam elastisitas serta fungsi tulang rawan artikular. Komponen ini terikat secara kovalen pada protein dalam bentuk proteoglikan. Kondroitin sulfat telah digunakan secara klinis untuk terapi penyakit kronis seperti arthritis dan penyakit hati. Struktur kimia dari kondroitin sulfat disajikan pada Gambar 1.

Menurut Zhou *et al.* (2002), kondroitin sulfat memiliki berbagai aktivitas biologi, seperti anti-koagulan, anti-tumor, anti-arthritis, serta anti-HIV. Kondroitin sulfat digunakan dalam terapi aterosklerosis, hiperlipemia, dan hiperkolesterolemia disebabkan oleh aktivitasnya yang mampu menurunkan kadar lemak dalam darah. Kondroitin sulfat juga digunakan sebagai bahan tambahan dalam obat-obatan dan kosmetik. Gugus sulfat dan atau gugus karboksil memiliki peranan yang penting dalam mempengaruhi aktivitas biologi kondroitin sulfat.



Gambar 1 Struktur kimia kondroitin sulfat

Sumber: Zhou *et al.* (2002)

III METODE PENDEKATAN

Metode pendekatan yang dilakukan adalah pengumpulan data dengan melakukan analisis di laboratorium, yang terdiri dari beberapa tahapan yaitu preparasi tulang rawan, karakterisasi tulang rawan, ekstraksi enzimatis, pemisahan protein, dan ultrafiltrasi.

IV PELAKSANAAN PROGRAM

Waktu dan Tempat

Kegiatan program dilaksanakan pada bulan Januari 2013 – Juni 2013. Laboratorium yang digunakan diantaranya Laboratorium Preservasi dan Pengolahan Hasil Perairan, Laboratorium Biokimia Hasil Perairan, Laboratorium Mikrobiologi Hasil Perairan, Laboratorium Bioteknologi Hasil Perairan, Laboratorium Karakteristik Bahan Baku, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Bioteknologi Hewan, Laboratorium Bilot Plant, Pusat Antar Universitas, Laboratorium Pusat Studi Biofarmaka, Institut Pertanian Bogor, dan Laboratorium Saraswanti Indo Genetech.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan, pisau, panci, oven merek Yamato DK 43, termometer, erlenmeyer, *magnetic stirrer*,

tabung reaksi, pipet volumetrik, bulb, blender, spektrofotometer UV-Vis RS *Spectrophotometer* UV-2500, Waters Breeze HPLC system, Bruker Tensor 37 FT-IR *spectrometer*, mesin ultrafiltrasi UF-system M3-PD, dan *beaker glass*.

Bahan-bahan utama yang digunakan adalah tulang rawan ikan pari air tawar (*Himantura signifer*) yang diperoleh di Sungai Rupit, Sumatera Selatan, tulang rawan ikan pari air laut (*Neotrygon kuhlii*) yang dibeli dari pasar Gunungbatu Bogor, enzim papain, aquades, asam trikloroasetat (TCA) yang dibeli dari Merck, aqua bidestilata, *methylene blue*, kondroitin sulfat yang dibeli dari Sigma Aldrich, kertas indikator pH, dan *aluminium foil*.

Prosedur Kerja

Penelitian ini terdiri dari lima tahap, yaitu preparasi tulang rawan ikan pari, karakterisasi tulang rawan, ekstraksi glikosaminoglikan, pemisahan protein, dan dilanjutkan dengan analisis tingkat konsentrasi glikosaminoglikan.

Preparasi Tulang Rawan

Preparasi tulang rawan ikan pari mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Mizuta *et al.* (2003) yang dimodifikasi. Ikan pari air tawar dibekukan lebih dari 24 jam setelah mati. Tulang rawan pada bagian sirip pektoral dipotong dengan menggunakan pisau. Daging selanjutnya dipisahkan dengan cara dikikis menggunakan pisau hingga didapatkan tulang rawan utuh. Daging yang masih tersisa pada tulang rawan dibersihkan dengan metode dari Murado *et al.* (2010). Tulang rawan tersebut dipanaskan selama 20 menit di dalam penangas air pada suhu 80 °C. Sisa daging dibersihkan dengan cara disikat dan dicuci dengan air mengalir. Tulang rawan yang telah bersih dari sisa-sisa lemak dan daging selanjutnya disimpan beku pada suhu ± 20 °C hingga siap digunakan untuk analisis. Preparasi tulang rawan ikan pari air laut juga dilakukan dengan cara yang sama dengan preparasi tulang rawan ikan pari air tawar.

Karakterisasi Tulang Rawan

Tahap kedua adalah karakterisasi tulang rawan. Karakterisasi tulang rawan dilakukan melalui analisis kadar air dan abu (AOAC 2007) serta analisis asam amino dengan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*).

Ekstraksi Enzimatis

Ekstraksi tulang rawan dilakukan dengan menggunakan enzim. Tulang rawan yang akan diekstrak dicacah dan dikeringkan terlebih dahulu dengan mengacu pada penelitian Ndife *et al.* (2010). Tulang rawan dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 44 °C selama 4 jam. Tulang rawan yang telah dikeringkan selanjutnya diekstraksi. Ekstraksi glikosaminoglikan mengacu pada penelitian Lignot *et al.* (2003). Sampel sebanyak 11,25 g disuspensikan dalam air hingga 125 ml dan ditambahkan enzim papain sebanyak 0,25 g. Ekstraksi berlangsung pada pH 6,5 dan suhu ± 65 °C selama 3 jam.

Pemisahan Protein

Pemisahan protein dilakukan dengan menggunakan metode ultrafiltrasi yang mengacu pada penelitian Lignot *et al.* (2003). Membran ultrafiltrasi polisulfon dipilih berdasarkan keamanan dan ketersediaannya. Membran ultrafiltrasi bekerja sesuai konsentrasi, energi yang digunakan sedikit dan merupakan alternatif proses evaporasi yang baik. Proses ini bertujuan untuk memisahkan glikosaminoglikan (GAGs) dari garam-garam yang masih tercampur dalam larutan. Tingkat konsentrasi glikosaminoglikan selanjutnya diuji dengan metode spektrofotometri menggunakan *sulfate GAGs assay* yang mengacu pada

penelitian Jong *et al.* (1989) yang dimodifikasi dengan penelitian Zhou *et al.* (2002) serta analisis *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR) (Garnjanagoonchorn *et al.* 2007).

REKAPITULASI PENGGUNAAN BIAYA

Barang	Harga satuan	Total
Pembuatan proposal (2 rangkap)	Rp 10.000	Rp 20.000
Pari Tawar		Rp 450.000
Pari laut		Rp 220.000
Peminjaman laboratorium THP	Rp 150.000	Rp 150.000
Enzim Papain	Rp 15.000	Rp 30.000
Akuades	Rp 2.000	Rp 10.000
TCA	Rp 3.600	Rp 916.000
Tabung Falcon	Rp 9.250	Rp. 110.000
Kantong Dialisis	Rp 150.000	Rp. 300.000
Kondroitin Sulfat A	Rp 320.000	Rp. 1.600.000
Analisis proksimat	Rp 125.000	Rp. 250.000
Analisis asam amino	Rp 400.000	Rp. 800.000
Analisis konsentrasi glikosaminoglikan	Rp 150.000	Rp 900.000
Analisis FTIR	Rp. 75.000	Rp 300.000
Komunikasi		Rp. 250.000
Transportasi		Rp. 838.000
Pengiriman ikan		Rp 320.000
Oven	Rp 60.000	Rp 60.000
Hot magnetis stirrer	Rp 2000	Rp 26.000
Sewa alat dialisis		Rp 50.000
Evaporasi	Rp 50.000	Rp 400.000
Sentrifugasi	Rp 50.000	Rp 100.000
Membran ultrafiltrasi		Rp 3.500.000
Perlengkapan ultrafiltrasi		Rp 100.000
Total		Rp 11.700.000

V HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Karakteristik tulang rawan ikan pari

Hasil analisis kadar air dan abu dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1 Hasil analisis kadar air dan abu tulang rawan ikan pari air laut (*N.kuhlii*) dan pari air tawar (*H. signifer*)

Parameter (%)	Tulang Rawan Ikan Pari Air Laut (<i>N. kuhlii</i>)	Tulang Rawan Ikan Pari Air Tawar (<i>H. signifer</i>)	Tulang Rawan Ikan Pari Jenis <i>Dasyatis zugei</i> (Garnjanagoonchorn <i>et al.</i> 2007)
Kadar Air	70,26 ± 0,453	72,905 ± 0,361	65,28
Kadar Abu	15,115 ± 0,573	11,255 ± 0,460	17,12

Perbedaan kadar abu pada tulang rawan ikan pari dalam penelitian ini diduga karena kondisi adaptasi dengan lingkungan hidupnya melalui pengaturan tekanan osmotik tubuhnya yang bersifat hiperosmotik (Ip *et al.* 2009). Dugaan ini

juga disampaikan Walker (2005) yang menyatakan bahwa nilai kadar abu yang lebih tinggi pada tulang rawan ikan pari air laut diduga sebagai akibat tingginya proses mineralisasi pada tulang rawan ikan pari air laut. Yamada *et al.* (2011) menjelaskan bahwa proses sulfatisasi pada tulang rawan dipengaruhi oleh habitat tempat hidup suatu organisme. Derajat sulfatisasi pada glikosaminoglikan meningkat dengan meningkatnya salinitas. Interaksi antar komponen matriks ekstraseluler terjadi pada habitat perairan dengan konsentrasi garam lebih tinggi.

b. Kandungan asam amino tulang rawan pari

Kadar asam amino pada tulang rawan ikan pari air tawar rata-rata lebih tinggi dibandingkan kadar asam amino tulang rawan ikan pari air laut, dengan kadar tertinggi pada jenis asam amino glisin. Komposisi dan besaran kadar asam amino tulang rawan ikan pari tersebut juga cenderung sama dengan ikan pari dari jenis *Raja Kenojei* (Mizuta *et al.* 2003) dan ikan hiu jenis *Carcharhinus limbatus* (Kittiphattanabawon *et al.* 2010) (Tabel 2). Kittiphattanabawon *et al.* (2010) menjelaskan bahwa kandungan asam amino bervariasi tergantung pada spesies, lingkungan, dan suhu tubuh ikan. Asam amino yang paling banyak terdapat pada tulang rawan pari air tawar maupun tulang rawan pari air laut adalah glisina. Semua jenis kolagen mengandung glisin sebagai asam amino utama serta kaya akan alanina, prolina, dan hidroksiprolina.

Tabel 2 Hasil analisis asam amino tulang rawan ikan pari air laut (*N. kuhlii*) dan pari air tawar (*H. signifer*)

Parameter (%)	Tulang Rawan Pari Air Laut (<i>N. kuhlii</i>)	Tulang Rawan Pari Air Tawar (<i>H. signifer</i>)	Tulang Rawan <i>Raja Kenojei</i> (Mizuta <i>et al.</i> 2003)	Tulang Rawan Hiu (<i>Carcharhinus</i> <i>limbatus</i>) Kittiphattanabawon <i>et al.</i> 2010)
Asam Aspartat	1,711	1,620	3,600	4,200
Serina	1,116	1,020	4,500	3,000
Asam Glutamat	3,099	3,288	7,800	7,700
Glisina	4,062	5,061	35,400	31,700
Histidina	0,591	0,668	0,800	0,800
Arginina	2,544	3,304	5,000	5,400
Treonina	1,074	1,280	3,700	2,100
Alanina	0,994	1,104	11,500	11,900
Prolina	1,182	1,407	8,300	10,500
Sisteina	0,000	0,000	0,000	0,100
Tirosina	0,847	1,048	0,200	0,300
Valina	0,905	1,003	2,500	2,600
Metionina	0,859	0,947	1,000	1,400
Lisina	1,035	0,924	2,600	2,700
Isoleusina	0,810	0,878	1,800	1,900
Leusina	1,284	1,449	2,200	2,500
Fenilalanina	0,967	1,166	1,200	1,400

c. Bentuk Fisik Glikosaminoglikan Pari Air Laut dan Pari Air Tawar

Bentuk visual tulang rawan dan padatan glikosaminoglikan pari air laut dan pari air tawar disajikan pada Gambar 1. Warna putih kekuningan yang dihasilkan diduga disebabkan oleh pengaruh panas dari proses evaporasi menggunakan evaporator vakum saat pengeringan sampel. Neville (2012) menjelaskan bahwa evaporator merupakan alat yang digunakan untuk

megevdaporasi pelarut yang bersifat volatil atau mudah menguap, biasanya air, dari sebuah larutan dengan bantuan panas.



Gambar 1 Bentuk visual tulang rawan ikan pari air laut (*N. kuhlii*) dan pari air tawar (*H. signifer*) beserta padatan glikosaminoglikan yang ada.

d. Konsentrasi Glikosaminoglikan Tulang Rawan Ikan Pari Air Laut dan Pari Air Tawar

Hasil analisis terhadap konsentrasi glikosaminoglikan tulang rawan ikan pari air laut adalah sebesar $74,767 \pm 6,35$ mg/100 mL dan pari air tawar adalah $66,767 \pm 6,11$ mg/100 mL. Hasil analisis terhadap konsentrasi glikosaminoglikan tersebut terlihat bahwa tulang rawan ikan pari air laut lebih tinggi dibandingkan konsentrasi glikosaminoglikan tulang rawan ikan pari air tawar. Perbedaan ini diduga dari pengaruh perbedaan habitat atau tempat hidup kedua spesies tersebut. Yamada *et al.* (2011) menjelaskan bahwa perbedaan tingkat salinitas perairan tempat hidup suatu spesies mempengaruhi jumlah dan komposisi glikosaminoglikan bersulfat dari spesies tersebut. Glikosaminoglikan yang berasal dari spesies yang hidup pada perairan dengan konsentrasi garam tinggi memiliki kadar sulfat yang lebih tinggi dibandingkan glikosaminoglikan yang terdapat pada spesies yang hidup di perairan dengan konsentrasi garam rendah. Jumlah glikosaminoglikan bersulfat meningkat sesuai derajat salinitas perairan. Hal ini diperkuat oleh Walker (2005) yang menyatakan bahwa proses mineralisasi berperan penting pada pembentukan tulang rawan suatu spesies.

e. Spektrum Glikosaminoglikan Tulang Rawan Ikan Pari Air Laut dan Pari Air Tawar

Hasil spektrum glikosaminoglikan pari pari air laut dan air tawar memperlihatkan bahwa secara keseluruhan spektrum tersebut mirip pada bagian puncak-puncaknya maupun pita serapannya (Tabel 3). Creswell *et al.* (2005) menyampaikan bahwa rentang bilangan gelombang yang disebabkan oleh frekuensi regang O-H adalah $3750-3000$ cm^{-1} . Regang O-H pada glikosaminoglikan ikan pari air laut dan pari air tawar menimbulkan pita absorpsi yang lebar dan kuat masing-masing pada bilangan gelombang $3430,99$ cm^{-1} dan $3417,27$ cm^{-1} .

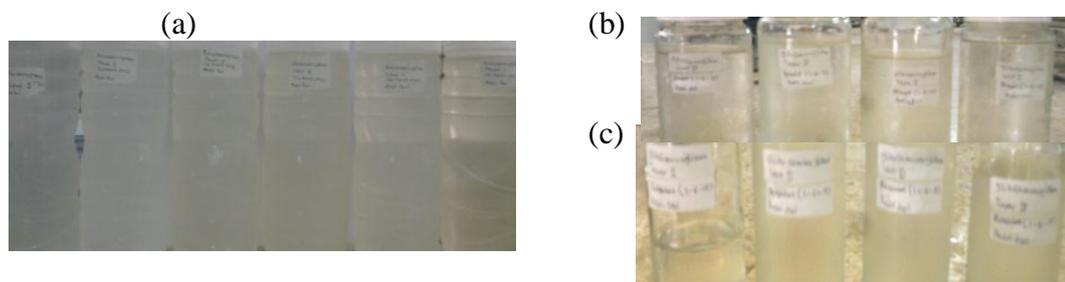
Tabel 3 Perbandingan nilai serapan FTIR glikosaminoglikan ikan pari air laut (*N. kuhlii*) dan ikan pari air tawar (*H. signifer*)

Sampel Glikosaminoglikan	Serapan daerah bilangan gelombang (cm^{-1})		
	Regang O-H	Regang amida	Galaktosa-6-sulfat
Pari air laut	3430,99	1657,91	833,03
Pari air tawar	3417,27	1653,83	833,86

Gugus amida diidentifikasi dengan adanya pita serapan yang terbentuk oleh gugus C=O. Creswell *et al.* (2005) menyatakan bahwa regang C=O menandakan adanya gugus asam, aldehida, keton, amida, ester, serta anhidrida dan menimbulkan pita serapan pada bilangan gelombang 1900–1650 cm^{-1} . Spektrum FTIR glikosaminoglikan ikan pari air laut dan pari air tawar menunjukkan adanya gugus amida masing-masing pada bilangan gelombang 1657,91 cm^{-1} dan 1653,83 cm^{-1} . Hasil tersebut tidak jauh berbeda dengan penelitian Cavalcanti *et al.* (2005) yang menunjukkan bahwa gugus amida kondroitin sulfat ditandai dengan adanya pita serapan pada bilangan gelombang 1644–1660 cm^{-1} . Gugus penting lain yang dapat diidentifikasi adalah galaktosa-6-sulfat yang menandakan adanya kemiripan struktur molekul sampel uji dengan kondroitin-6-sulfat. Garnjanagoonchorn *et al.* (2007) memaparkan bahwa gugus D-galaktosa-6-sulfat diidentifikasi melalui terbentuknya pita serapan yang kuat pada bilangan gelombang 826 cm^{-1} . Pita kuat di daerah 826 cm^{-1} pada spektrum inframerah suatu senyawa merupakan petunjuk kuat adanya gugus galaktosa-6-sulfat pada senyawa tersebut. Hasil analisis spektrum inframerah glikosaminoglikan ikan pari air laut dan pari air tawar menunjukkan adanya pita serapan pada bilangan gelombang masing-masing 833,03 cm^{-1} dan 833,86 cm^{-1} .

f. Ultrafiltrasi Larutan Glikosaminoglikan

Ultrafiltrasi dilakukan untuk memurnikan larutan glikosaminoglikan terpisah dari campuran lainnya. Dokumentasi hasil ultrafiltrasi disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2 Ultrafiltrasi glikosaminoglikan: a. sebelum ultrafiltrasi, b. fermeat, c. retentat

g. Konsentrasi Glikosaminoglikan setelah Ultrafiltrasi

Ultrafiltrasi dilakukan dengan menggunakan membran ultrafiltrasi dari jenis polisulfon. Hasil analisis terhadap konsentrasi glikosaminoglikan tulang rawan ikan pari air laut setelah ultrafiltrasi adalah sebesar $3,6 \pm 4,949$ mg/100 mL dan pari air tawar adalah $24,1 \pm 19,798$ mg/100 mL. Data tersebut menunjukkan bahwa pengotor (seperti garam) yang terbuang saat proses ultrafiltrasi adalah sekitar 40–60% dari larutan glikosaminoglikan. Data perbandingan yang diperoleh dari hasil penelitian Lignot *et al.* (2003) menunjukkan bahwa ultrafiltrasi yang dilakukan oleh Lignot *et al.* (2003) mampu mengurangi garam pada larutan glikosaminoglikan maksimal hingga 30%. Perbedaan tersebut dapat saja terjadi disebabkan oleh adanya perbedaan jenis membran yang digunakan. Dalam hal ini, penelitian ini menggunakan membran polisulfon untuk memisahkan glikosaminoglikan dengan garam-garam, sedangkan Lignot *et al.* (2003) dalam penelitiannya menggunakan membran Al_2O_3 (alumina) untuk memisahkan glikosaminoglikan dengan garam-garam. Perbedaan jenis membran ultrafiltrasi memberikan pengaruh terhadap efektifitas pemurnian, sehingga perlu diteliti lebih

lanjut mengenai jenis membran yang tepat untuk memisahkan garam dengan glikosaminoglikan.

VI KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Glikosaminoglikan berhasil diekstrak dari tulang rawan ikan pari air laut (*N. kuhlii*) dan tulang rawan ikan pari air tawar (*H. signifer*) melalui metode ekstraksi enzimatis. Konsentrasi glikosaminoglikan pari air laut ($74,767 \pm 6,35$ mg/100 mL) lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi glikosaminoglikan pari air tawar ($66,767 \pm 6,11$ mg/100 mL). Spektrum gugus fungsi glikosaminoglikan pari air tawar dan pari air laut menunjukkan pola pita serapan yang hampir mirip dengan spektrum gugus fungsi kondroitin sulfat yang menandakan bahwa jenis glikosaminoglikan pada tulang rawan ikan pari air tawar dan pari air laut adalah kondroitin sulfat.

Saran

1. Pemurnian kondroitin sulfat untuk mendapatkan tingkat kemurnian yang baik, antara lain berupa kombinasi metode terbaik untuk menghasilkan kondroitin sulfat dengan tingkat konsentrasi yang tinggi,
2. Kajian mengenai karakteristik fisik kondroitin sulfat tulang rawan ikan pari air tawar dan pari air laut

DAFTAR PUSTAKA

- Adebowale AO, Cox DS, Liang Z, Eddington ND. 2000. Analysis of glucosamine and kondroitin sulfate content in marketed products and the caco-2 permeability of kondroitin sulfate raw materials. *Journal of American Nutraceutical Association* 3(1): 37-44.
- [AOAC] Association of Official Analytical and Chemistry. 2005. *Official Methods of Analysis*. 18th Ed. Maryland: Association of Official Analytical and Chemistry Inc.
- [FAO] Food and Agriculture Organization. 2008. *Fishery and Aquaculture Statistic*. Food and Agriculture Organization of United Nations. Rome.
- Garnjanagoonchorn W, Wongekalak L, Engkagul A. 2007. Determination of kondroitin sulfat from different sources of cartilage. *Chemical Engineering and Processing Journal* 46: 465-471.
- Husnah. 2009. Sudahkah anda tahu? Jenis dan sebaran ikan elasmobranchii di perairan sungai Musi. Badan Riset Kelautan dan Perikanan. Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Jong JGN, Wevers RA, Laarakkers C, Poorthuis BJHM. 1989. Dimethylmethylene blue-based spectrophotometry of glycosaminoglycans in untreated urine: a rapid screening procedure for mucopolysaccharidoses. *Journal Clinical Chemistry* 35(7): 1472-1477.
- Lignot B, Lahogue V, Bourseau P. 2003. Enzymatic extraction of kondroitin sulfate from skate cartilage and concentration-desalting by ultrafiltration. *Journal of Biotechnology* 103: 281-284.
- Mizuta S, Hwang JH, Yoshinaka R. 2003. Molecular species of collagen in pectoral fin cartilage of skate (*Raja kenoei*). *Journal of Food Chemistry* 80: 1-7.
- Murado MA, Fraguas J, Montemayor MI, Vazquez JA, Gonzalez P. 2010. Preparation of highly purified kondroitin sulfate from skate (*Raja clavata*)

- cartilage by-products. Process optimization including a new procedure of alkaline hydroalcoholic hydrolysis. *Biochemical Engineering Journal* 49: 126-132.
- Ndife J, Udobi, Ejikeme C, Amaechi N. 2010. Effect of oven drying on the functional and nutritional properties of whole egg and its component. *African Journal of Food Science* 4(5): 254-257.
- Pearle AD, Warren RF, Rodeo SA. 2005. Basic science of articular cartilage and osteoarthritis. *Journal of Clinical Sports Medicine* 24: 1-12.
- Schneider H, Maheu E, Cucherat M. 2012. Symptom-modifying effect of chondroitin sulfate in knee osteoarthritis: a meta-analysis of randomized placebo-controlled trials performed with structum®. *The Open Rheumatology Journal* 6: 183-189.
- Sim JS, Jun G, Toida T, Cho SY, Choi DW, Chang SY, Linhardt RJ, Kim YS. 2005. Quantitative analysis of kondroitin sulfate in raw materials, ophthalmic solutions, soft capsules and liquid preparations. *Journal of Chromatography B* 818: 133-139.
- Simanek V, Kren V, Ulrichova J, Gallo J. 2005. The efficacy of glucosamine and kondroitin sulfate in the treatment of osteoarthritis: are these saccharides drugs or nutraceuticals?. *Biomedical Journal* 149(1): 51-56.
- White WT, Last PR, Stevens JD, Yearsley GK, Fahmi, Darmadi. 2006. *Economically Important Sharks & Rays*. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research.
- Zhou SG, Jiao QC, Chen L, Liu Q. 2002. Binding interaction between chondroitin sulfate and methylene blue by spectrophotometry. *Spectroscopy Letters* 35(1): 21-29.

LAMPIRAN

No. 030/13.118/KW-2013
 Telah terima dari: **Andri Dwi Pujiantoro**
 Uang sejumlah: [Blank]
 Untuk Pembayaran: Analisis EPRC1 sampel (Persiapan) dan CD D-10
 Bogor, 07 Februari 2013
 Rp. 178.000,-
 PT SARAWANTI INDO GENETIC
 (M. Agung Zaini A, M.Si)

PT SARAWANTI INDO GENETIC
 Jalan Raya P. Adipati No. 20 Bogor
 Bogor 16122-1112 (Telp. (0251) 8921 1114 Fax. (0251) 8921 1114 P2A
 Email: sarawanti@indo-genetic.com
 www.sarawanti.com
 Rp. 470.000
TANDA TERIMA
 Telah terima dari: **Andri Dwi Pujiantoro**
 Uang sejumlah: **Empat ratus tujuh puluh ribu**
 Untuk Pembayaran: **Analisa SSG N 900 VII 2012 1030**
 Bogor, 10 Agustus 2012
 Glatys Purba

Makaira
 CV & PRINTING
 DEPAT BENGKALIMAS
 Gedung Paluhara, Perumahan 1001-1002 KEMAS (PPK)
 LD 1001/4, Kampung 010 Damar, Bogor 16120
 Telp. (0251) 710194 (Pagi) HP. 081500822
 Email: makaira_bogor@yahoo.com
 Website: makaira.com, Print Works, Dina, Baring 02
 Bogor, 28.08.2013
 Karyala Yih

BANYAKNYA	NAMA BARANG	HARGA @	JUMLAH
56	PRIAL B/W	200	5.200
	Merno	-	5.200
			5
			TOTAL 10.400

 Murni Kurni

PT SARAWANTI INDO GENETIC
 Jalan Raya P. Adipati No. 20 Bogor
 Bogor 16122-1112 (Telp. (0251) 8921 1114 Fax. (0251) 8921 1114 P2A
 Email: sarawanti@indo-genetic.com
 www.sarawanti.com
 Rp. 300.000
TANDA TERIMA
 Telah terima dari: **Andri Dwi Pujiantoro**
 Uang sejumlah: **Tiga ratus ribu Rp/ribu**
 Untuk Pembayaran: **Uang muka analisa SSG M VII 2012 5102**
 Bogor, 20 Juli 2012
 Glatys Purba

PT SARAWANTI INDO GENETIC
 Jalan Raya P. Adipati No. 20 Bogor
 Bogor 16122-1112 (Telp. (0251) 8921 1114 Fax. (0251) 8921 1114 P2A
 Email: sarawanti@indo-genetic.com
 www.sarawanti.com
 Rp. 300.000
TANDA TERIMA
 Telah terima dari: **Andri Dwi Pujiantoro**
 Uang sejumlah: **Tiga ratus ribu Rp/ribu**
 Untuk Pembayaran: **Uang muka analisa SSG M VII 2012 5102**
 Bogor, 20 Juli 2012
 Glatys Purba