

**PENGARUH PERENDAMAN ASAM SITRAT DENGAN KONSENTRASI YANG
BERBEDA TERHADAP KARAKTERISTIK FISIKOKIMIA GELATIN KULIT
IKAN KERAPU (*Ephinephelus* sp.)**

SKRIPSI

Oleh:

GHEA REGITA MAHARANI SIREGAR

NIM. 155080301111050



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

**PENGARUH PERENDAMAN ASAM SITRAT DENGAN KONSENTRASI YANG
BERBEDA TERHADAP KARAKTERISTIK FISIKOKIMIA GELATIN KULIT
IKAN KERAPU (*Ephinephelus* sp.)**

SKRIPSI

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

Oleh:

GHEA REGITA MAHARANI SIREGAR

155080301111050



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2019

SKRIPSI
PENGARUH PERENDAMAN ASAM SITRAT DENGAN KONSENTRASI YANG BERBEDA TERHADAP KARAKTERISTIK FISIKOKIMIA GELATIN KULIT IKAN KERAPU (*Ephinephelus* sp.)

Oleh:
GHEA REGITA MAHARANI SIREGAR
155080301111050

Telah dipertahankan di depan penguji
Pada tanggal 29 Mei 2019
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP



Dr. Ir. M. Firdaus, MP
NIP. 19680919 200501 1 001

Tanggal: 29 MAY 2019

Menyetujui,
Dosen Pembimbing

Prof. Dr. Ir. Eddy Suprayitno, MS
NIP. 19591005 198503 1 004

Tanggal: 29 MAY 2019



IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : **PENGARUH PERENDAMAN ASAM SITRAT DENGAN KONSENTRASI YANG BERBEDA TERHADAP KARAKTERISTIK FISIKOKIMIA GELATIN KULIT IKAN KERAPU (*Ephinephelus sp.*)**

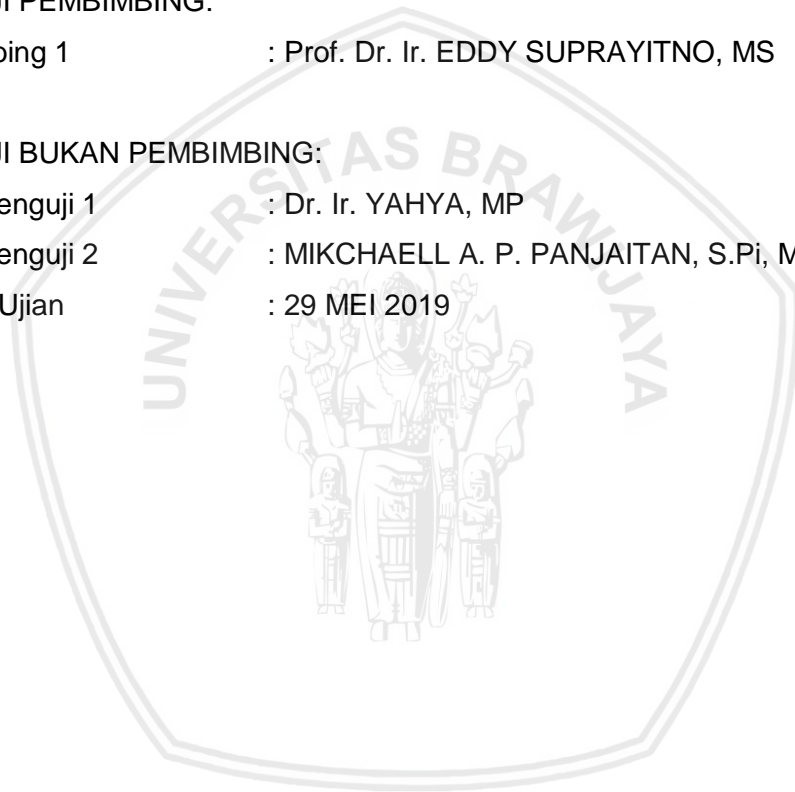
Nama Mahasiswa : GHEA REGITA MAHARANI SIREGAR
NIM : 155080301111050
Program Studi : Teknologi Hasil Perikanan

PENGUJI PEMBIMBING:

Pembimbing 1 : Prof. Dr. Ir. EDDY SUPRAYITNO, MS

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING:

Dosen Penguji 1 : Dr. Ir. YAHYA, MP
Dosen Penguji 2 : MIKCHAELL A. P. PANJAITAN, S.Pi, MP.
Tanggal Ujian : 29 MEI 2019



PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul Pengaruh Perendaman Asam Sitrat dengan Konsentrasi yang Berbeda Terhadap Karakteristik Fisikokimia Gelatin Kulit Ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.) adalah karya saya sendiri dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal dari atau kutipan dari karya yang saya terbitkan maupun yang tidak diterbitkan dari penulis telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka di bagian akhir skripsi ini.



Malang, 29 Mei 2019

Mahasiswa

Ghea Regita Maharani Siregar

NIM. 155080301111050

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT atas karunia yang diberikan kepada saya selama ini sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik
2. Prof. Dr. Ir. Eddy Suprayitno, MS. Selaku dosen pembimbing yang selalu membimbing saya dengan sabar dan baik sehingga skripsi ini dapat terselesaikan
3. Mama dan Papa yang tidak henti-hentinya selalu berjuang untuk kebahagiaan saya serta selalu mendoakan yang terbaik untuk setiap langkah saya
4. Sahabat Kuciang Widya Shakina, Bayu Pristanto dan Rifqi Muhlis yang selalu ada untuk membantu saya
5. Kak Rani Martalisa Taorina, M.Pd, Ishfina Faridatul dan Ledy Gessy rakyat 9C yang selalu mendukung saya secara psikologis, yang selalu menghibur saya dimanapun dan kapan pun
6. Sahabat tercinta Rebekha Ashari, Alifa Pangestika, Ummu Putriana, Hania Rizkieta, Arga Wijaya, Abdul latief, Tiara Wulandari dan Tamara Nurvidia yang selalu mendukung dan berdoa untuk saya
7. Teman-teman bimbingan maupun seperjuangan program studi Teknologi Hasil Perikanan dan pihak-pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terimakasih atas dukungan, bantuan, pengalaman serta doa hingga akhirnya skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik

Semoga arahan, motivasi serta bantuan yang diberikan menjadi amal ibadah bagi keluarga Bapak/Ibu, sahabat, teman dan rekan-rekan sehingga memperoleh balasan yang paling baik dari Allah SWT. Karya penulisan ini tentunya tidak luput dari kekurangan, untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun untuk kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi pembaca dan dapat digunakan dengan semestinya untuk perkembangan pendidikan khususnya dibidang perikanan dan kelautan.

Malang, 29 Mei 2019

Penulis



RINGKASAN

GHEA REGITA MAHARANI SIREGAR. 155080301111050. Pengaruh Perendaman Asam Sitrat dengan Konsentrasi yang Berbeda Terhadap Karakteristik Fisikokimia Gelatin Kulit Ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.). (dibawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Eddy Suprayitno, MS.**)

Gelatin adalah suatu polipeptida larut berasal dari kolagen yang merupakan konstituen utama dari kulit, tulang dan jaringan ikat binatang. Gelatin diperolehi melalui hidrolisis parsial dari kolagen ketika kolagen diperlakukan dengan asam atau basa dan diikuti dengan panas. Struktur fibrosa kolagen dipecah irreversibel dan menghasilkan gelatin. Gelatin adalah suatu jenis protein yang diekstraksi dari jaringan kolagen kulit, tulang atau ligament (jaringan ikat) hewan. Gelatin banyak digunakan dalam bidang industri makanan, farmasi, kosmetik, dan fotografi. Gelatin diperoleh dari kolagen melalui proses preperlakuan secara asam (gelatin tipe A) dengan titik isoelektrik pada pH 7–9 atau basa (gelatin tipe B) dengan titik isoelektrik pada pH 4,7–5,4. Larutan yang digunakan dalam penelitian ini adalah asam sitrat.). Larutan asam mampu mengubah serat kolagen *triple helix* menjadi rantai tunggal dalam waktu singkat, sehingga pada waktu yang sama jumlah kolagen yang terhidrolisis lebih banyak. Perendaman dalam larutan asam terhadap kolagen dapat menghasilkan polimer gelatin dengan glisin sebagai penyusun utama.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari konsentrasi asam sitrat yang berbeda terhadap karakteristik fisikokimia gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.). Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perikanan Divisi Perekrayasaan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang pada bulan Desember 2018 – Februari 2019.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu dengan metode eksperimen. Rancangan percobaan pada penelitian utama adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan 3 perlakuan dan 6 kali ulangan. Kemudian data dianalisa dengan menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang dilakukan dengan uji F pada taraf 5% dan jika didapatkan hasil yang berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji Tukey pada taraf 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi perendaman asam sitrat yang berbeda mempengaruhi karakteristik fisikokimia gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) yang meliputi rendemen, kadar protein, kadar lemak, kadar air, kadar abu, viskositas, kekuatan gel, derajat keasaman (pH) dan profil asam amino. Gelatin kulit ikan terbaik didapatkan dengan konsentrasi perendaman asam sitrat sebesar 1% meliputi kekuatan gel sebesar 12,12 N, viskositas sebesar 6,5 cP, rendemen sebesar 21,75%, pH sebesar 4,8; kadar protein sebesar 84,99%, kadar air sebesar 1,63%, kadar abu sebesar 0,33% dan kadar lemak sebesar 0,398%. Hasil uji profil asam amino didapatkan hasil tertinggi Glisin 21,07% dan terendah L-Tirosin 0,42%. Saran yang dapat diberikan adalah adanya penelitian lanjut untuk meningkatkan kadar protein dalam gelatin kulit ikan sehingga dapat memenuhi standar nasional maupun internasional.

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT karena berkat rahmat dan hidayah-Nya lah saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul “Pengaruh Perendaman Asam Sitrat dengan Konsentrasi yang Berbeda Terhadap Karakteristik Fisikokimia Gelatin Kulit Ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.)”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar sarjana di Fakultas perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Tidak lupa saya sebagai penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Eddy Suprayitno, MS selaku dosen pembimbing yang selalu sabar dalam membimbing dan menasehati saya.
2. Kedua Orangtua dan semua keluarga yang selalu mendukung dan mendoakan saya.
3. Pihak-pihak yang selalu ada dan memberi semangat baik secara langsung maupun tidak langsung.

Saya menyadari bahwa skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan. Oleh karena itu, saya selaku penulis sangat bersedia kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan dalam penyusunan skripsi ini sehingga tujuan yang diharapkan dapat tercapai.

Malang, 29 Mei 2019

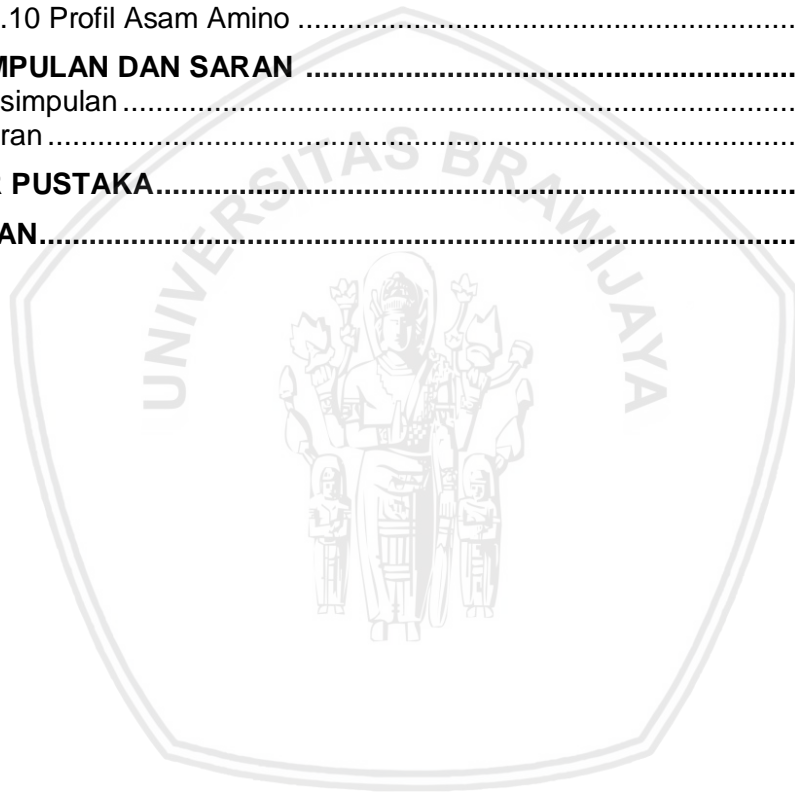
Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
UCAPAN TERIMAKASIH	iv
RINGKASAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Hipotesa.....	5
1.5 Waktu dan Tempat.....	6
2. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Ikan Kerapu (<i>Ephinephelus</i> sp.)	7
2.2 Kolagen.....	12
2.3 Gelatin	16
2.4 Asam Sitrat	20
2.5 Metode Ekstraksi	22
2.6 Sifat Fisik dan Kimia Gelatin	24
3. METODE PENELITIAN	32
3.1 Materi Penelitian	32
3.1.1 Bahan Penelitian.....	32
3.1.2 Alat Penelitian.....	32
3.2 Metode Penelitian	32
3.2.1 Bahan Penelitian.....	32
3.2.2 Penelitian Utama	33
3.2.3 Variabel Penelitian.....	33
3.2.4 Rancangan Percobaan	35
3.2 Prosedur Penelitian.....	36
3.4 Analisa Fisika Gelatin.....	40
3.4.1 Rendemen	40
3.4.2 Kekuatan Gel	41
3.4.3 Viskositas	42
3.5 Analisa Kimia Gelatin	43
3.5.1 Derajat Keasaman (pH)	43
3.5.2 Kadar Protein.....	44
3.5.3 Kadar Lemak	46
3.5.4 Kadar Air.....	48
3.5.5 Kadar Abu.....	50
3.5.6 Analisa Profil Asam Amino.....	51

4. HASIL DAN PEMBAHASAN	52
4.1 Hasil Pembahasan.....	52
4.1.1 Penelitian Pendahuluan.....	52
4.1.2 Penelitian Utama.....	53
4.2 Hasil Penelitian.....	53
4.2.1 Rendemen.....	54
4.2.2 Kadar Protein.....	57
4.2.3 Kadar Lemak.....	60
4.2.4 Kadar Air.....	62
4.2.5 Kadar Abu.....	65
4.2.6 Viskositas.....	66
4.2.7 Kekuatan Gel.....	69
4.2.8 pH.....	72
4.2.9 Perlakuan Terbaik.....	75
4.2.10 Profil Asam Amino.....	77
5. KESIMPULAN DAN SARAN	80
5.1 Kesimpulan.....	80
5.2 Saran.....	80
DAFTAR PUSTAKA	84
LAMPIRAN	93



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Kerapu (<i>Ephinephelus</i> sp.)	8
2. Struktur Kimia Gelatin	19
3. <i>Flow Chart</i> Pembuatan Gelatin Kulit Ikan Kerapu	38
4. Grafik Rata-rata Rendemen Gelatin Kulit Ikan Kerapu	55
5. Grafik Rata-rata Kadar Protein Gelatin Kulit Ikan Kerapu	58
6. Grafik Rata-rata Kadar Lemak Gelatin Kulit Ikan Kerapu	61
7. Grafik Rata-rata Kadar Air Gelatin Kulit Ikan Kerapu	63
8. Grafik Rata-rata Kadar Abu Gelatin Kulit Ikan Kerapu	65
9. Grafik Rata-rata Viskositas Gelatin Kulit Ikan Kerapu.....	67
10. Grafik Rata-rata Kekuatan Gel Gelatin Kulit Ikan Kerapu	70
11. Grafik Rata-rata pH Gelatin Kulit Ikan Kerapu	73



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Penelitian Pendahuluan	33
2. Rancangan Acak Lengkap (RAL)	36
3. Hasil Penelitian Pendahuluan	52
4. Hasil Pengujian Sifat Fisika dan Kimia Gelatin Ikan Kerapu	54
5. Hasil Perlakuan Terbaik Gelatin Kulit Ikan Kerapu	76
6. Asam Amino Pada Gelatin Ikan Kerapu (<i>Ephinephelus</i> sp.)	78



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Analisa Keragaman dan Uji Tukey Rendemen	90
2. Hasil Analisa Keragaman dan Uji Tukey Kadar Protein	91
3. Hasil Analisa Keragaman dan Uji Tukey Kadar Lemak	92
4. Hasil Analisa Keragaman dan Uji Tukey Kadar Air	93
5. Hasil Analisa Keragaman dan Uji Tukey Kadar Abu	94
6. Hasil Analisa Keragaman dan Uji Tukey Viskositas	95
7. Hasil Analisa Keragaman dan Uji Tukey Kekuatan Gel	96
8. Hasil Analisa Keragaman dan Uji Tukey pH	97
9. Hasil Analisa De Garmo	98
10. Dokumentasi Proses Pembuatan Gelatin	100
11. Prosedur Uji Kadar Protein	103
12. Prosedur Uji Kadar Lemak	105
13. Prosedur Uji Kadar Air	106
14. Prosedur Uji Kadar Abu	107
15. Prosedur Uji Viskositas	108
16. Prosedur Uji Kadar Kekuatan Gel	109
17. Prosedur Uji Kadar pH	110
18. Prosedur Uji Profil Asam Amino	111
19. Analisa Profil Asam Amino	113
20. Kurva Kromatogram Profil Asam Amino	117
21. Prosedur dan Kondisi Alat UHPLC Analisa Asam Amino	118
22. Alat UPLC Uji Profil Asam Amino	120

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia sebagai negara kepulauan kaya akan berbagai jenis ikan. Ikan kerapu di Indonesia cukup melimpah, menurut data statistik perikanan tangkap dalam kurun waktu tahun 2005 hingga 2010, volume produksi perikanan tangkap ikan kerapu mengalami peningkatan dari 28.577 ton pada tahun 2005 menjadi 48.035 ton pada tahun 2010 dengan rata-rata produksi per tahun sebesar 37.724 ton. Pada Industri, ikan kerapu banyak dimanfaatkan sebagai fillet yang menghasilkan limbah kulit ikan. Pemanfaatan limbah kulit ikan selama ini kurang optimal karena umumnya hanya digunakan sebagai tepung ikan untuk pakan ternak yang bermutu rendah, maka perlu dilakukan upaya untuk peningkatan pemanfaatan limbah kulit ikan dengan diolah menjadi gelatin (Azara, 2017). Limbah dari produk sampingan pengolahan ikan merupakan sumber gelatin yang paling potensial untuk dikembangkan. Pada industri pengolahan ikan, sekitar 75% merupakan produk sampingan (limbah). Diperkirakan hampir 7,3 juta ton limbah hasil samping pengolahan ikan dihasilkan per tahun. Sekitar sepertiga berat ikan berasal dari bagian kulit dan tulang ikan (Atma *et al.*, 2018).

Salah satu sumber bahan yang dapat dijadikan gelatin adalah ikan, baik tulang maupun kulitnya. Gelatin dari kulit ikan biasanya diperoleh dari hasil ekstraksi kulit ikan segar, tetapi kulit ikan segar sebagai bahan baku gelatin bersifat sangat mudah dan cepat rusak, mengalami perubahan bau (busuk menyengat), warna, tekstur, dan kenampakan (berulat). Hal tersebut menimbulkan permasalahan tersendiri jika kulit ikan akan didistribusikan ke tempat yang jauh dalam jumlah banyak atau disimpan dalam waktu yang lama.

Untuk itu perlu dicoba pengawetan pada kulit ikan yang diharapkan dapat dijadikan alternatif untuk mempertahankan kondisi kulit ikan sebagai bahan baku gelatin dan tidak berpengaruh negatif terhadap kualitas gelatin hasil ekstraksi (Rahmawati dan Yudi, 2012).

Gelatin dapat dibuat dari bahan yang mengandung kolagen, misalnya kulit, sisik, dan tulang. Kandungan kolagen pada kulit dan sisik lebih tinggi dibandingkan tulang. Kelebihan lain pembuatan gelatin dengan bahan baku kulit adalah proses lebih cepat yaitu dengan proses perendaman asam, sedangkan pembuatan gelatin dari bahan baku keras misalnya tulang dan sisik memiliki proses lebih lama dengan perendaman basa. Gelatin memiliki sifat khas, yaitu dapat berubah secara *reversible* dari bentuk sol ke gel, mengembang dalam air dingin, mempengaruhi viskositas suatu bahan serta dapat melindungi sistem koloid (Nurimala *et al.*, 2017). Larutan asam mampu mengubah serat kolagen *triple helix* menjadi rantai tunggal dalam waktu singkat, sehingga pada waktu yang sama jumlah kolagen yang terhidrolisis lebih banyak. Perendaman dalam larutan asam terhadap kolagen dapat menghasilkan polimer gelatin dengan glisin sebagai penyusun utama (Rapika *et al.*, 2016).

Gelatin adalah suatu polipeptida larut berasal dari kolagen yang merupakan konstituen utama dari kulit, tulang dan jaringan ikat binatang. Gelatin diperoleh melalui hidrolisis parsial dari kolagen ketika kolagen diperlakukan dengan asam atau basa dan diikuti dengan panas. Struktur fibrosa kolagen dipecah irreversible dan menghasilkan gelatin (Yenti *et al.*, 2016). Gelatin adalah suatu jenis protein yang di ekstraksi dari jaringan kolagen kulit, tulang atau ligament (jaringan ikat) hewan. Gelatin banyak digunakan dalam bidang industri makanan, farmasi, kosmetik, dan fotografi. Penggunaan gelatin dalam industri untuk meningkatkan

daya kembang, tekstur, dan kestabilan, contohnya dalam industri makanan yaitu produk daging, gelatin digunakan untuk meningkatkan daya ikat air. Dalam industri farmasi, gelatin digunakan untuk pembuatan *hard kapsule*. Dalam industri kosmetik, gelatin digunakan sebagai emulsifier dan bahan pelembut (*smoothing agent*) serta digunakan dalam produk krim dan lotion serta menjadi bahan utama “protein” untuk produk sampo serta “protein” *conditioners* rambut. Industri film fotografi, gelatin digunakan sebagai medium pengikat dan koloid pelindung untuk bahan pembentuk *image* (Saputra *et al.*, 2015).

Gelatin adalah biopolimer yang diperoleh dari proses hidrolisis protein kolagen yang terdapat dalam kulit, jaringan otot, dan tulang hewan. Gelatin diperoleh dari kolagen melalui proses pra-perlakuan secara asam (gelatin tipe A) dengan titik isoelektrik pada pH 7–9 atau basa (gelatin tipe B) dengan titik isoelektrik pada pH 4,7–5,4. Gelatin dari kulit ikan umumnya diperoleh dari pra-perlakuan asam karena jaringan kolagen pada kulit lebih lunak. Perlakuan asam menyebabkan terpotongnya ikatan antara gugus karboksil dan gugus amida dalam molekul kolagen. Struktur molekul berat molekul gelatin memiliki kisaran yang luas yaitu 90– 300 kD (Suryanti *et al.*, 2017).

Gelatin yang baik sangat dipengaruhi oleh sifat fisika dan kimiannya. Sifat fisika dan kimia gelatin yang sangat mempengaruhi kualitas gelatin antara lain rendemen, kekuatan gel, viskositas, pH dan kandungan proksimatnya. Sifat ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti konsentrasi larutan gelatin, waktu pemanasan gel, suhu pemanasan gel, pH dan kandungan garam. Selain itu faktor dalam proses ekstraksi gelatin sendiri, seperti keasaman larutan perendam, lama perendaman dan suhu ekstraksi diduga mempengaruhi sifat gelatin (Tazwir *et al.*, 2007).

Untuk mendapatkan gelatin dengan sifat fisika dan kimia yang terbaik, dibutuhkan larutan dan konsentrasi yang tepat agar menghasilkan kolagen yang selanjutnya akan dikonversi menjadi gelatin. Asam sitrat merupakan asam organik lemah yang terdapat pada daun dan buah tumbuhan tertentu. Senyawa ini merupakan bahan pengawet alami yang baik dan dapat juga dipakai untuk mengatur tingkat kemasaman pada berbagai pengolahan makanan dan minuman ringan. Penggunaan asam sitrat ke dalam makanan cenderung aman karena mudah dimetabolisme dan dikeluarkan oleh tubuh (Ovelando *et al.*, 2013). Menurut undang-undang yang dikeluarkan oleh Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 8 tahun 2013, penggunaan asam sitrat beserta garamnya sebagai Bahan Tambahan Pangan (BTP) pada produk *edible* tidak diberikan batasan maksimum untuk konsumsi harian pada tubuh manusia. Pada kajian penelitian Santoso *et al.*, (2015), penggunaan asam dengan konsentrasi tinggi dapat menyebabkan kolagen ikut terlarut dengan asam dan hilang saat proses pencucian sehingga kolagen tidak dapat dikonversi menjadi gelatin.

Oleh karena itu dilakukan suatu penelitian tentang pengaruh perendaman asam sitrat dengan konsentrasi 0,5%; 1% dan 1,5% terhadap kulit ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.) untuk mengetahui pengaruh pada karakteristik fisikokimia gelatin dan mengetahui konsentrasi asam sitrat yang tepat pada proses pembuatan gelatin kulit ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.).

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh perendaman asam sitrat pada konsentrasi yang berbeda terhadap karakteristik fisikokimia gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) ?
2. Berapa konsentrasi Asam Sitrat yang tepat untuk menghasilkan kualitas gelatin kulit ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.) yang terbaik?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh perendaman asam sitrat pada konsentrasi yang berbeda terhadap karakteristik fisikokimia gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.)
2. Mengetahui konsentrasi Asam Sitrat yang tepat untuk mendapatkan kualitas gelatin kulit ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.) yang terbaik

1.4 Hipotesa

1. Perendaman menggunakan larutan asam sitrat pada kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dengan konsentarsi berbeda mempengaruhi karakteristik fisikokimia gelatin
2. Konsentrasi asam sitrat sebesar 1% merupakan konsentrasi terbaik dalam pembuatan gelatin kulit ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.)

1.5 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2018 – Februari 2019 di Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perikanan Divisi Perekayasaan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu kelautan Universitas Brawijaya Malang.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.)

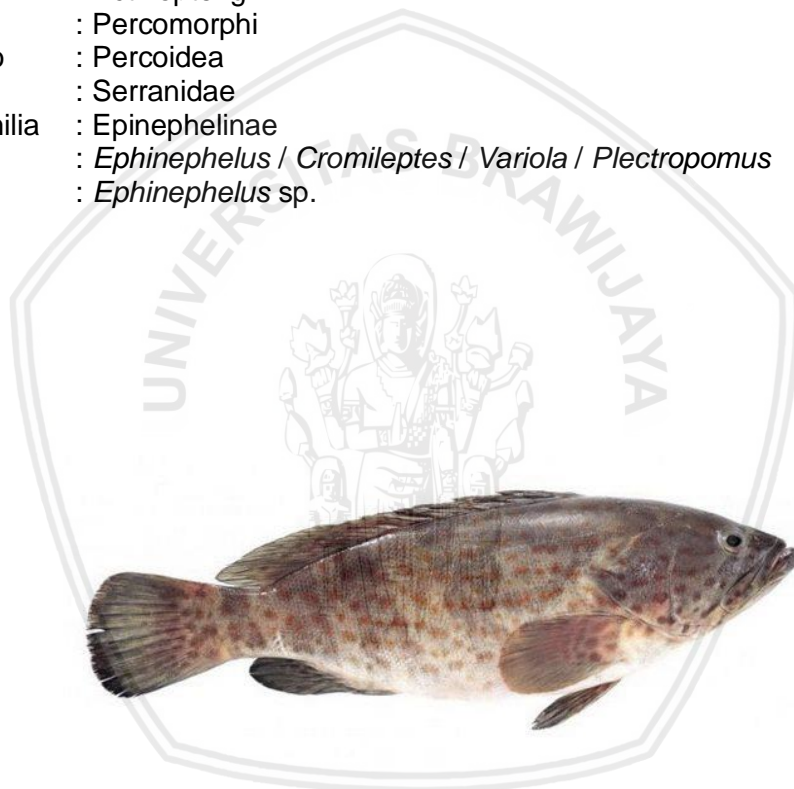
Ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) merupakan salah satu jenis ikan ekonomis tinggi yang hidupnya di perairan terumbu karang, serta penyebarannya hampir di seluruh perairan Indonesia. Kerapu dapat ditemukan hampir diseluruh perairan Indonesia, mulai perairan barat Sumatera sampai perairan Maluku dan Papua (Riyanto *et al.*, 2011). Kawasan Asia Pasifik merupakan tempat paling nyaman bagi ikan karang. Tahun 1997, kawasan ini memasok 90 persen total produksi ikan kerapu dunia atau sekitar 15.000 ton. Cina adalah merupakan produser terbesar dunia dengan suplai sekitar 8.000 ton ikan kerapu per tahun. Sementara itu, Indonesia berada di tempat kedua dengan pertumbuhan produksi 14,7 persen per tahun. Untuk memenuhi permintaan pasar dunia, nelayan Indonesia umumnya masih menangkap dari alam (Rochmady dan Susiana, 2014). Menurut Soedrijanto *et al.*, (2013), tujuan dari kode pelacak (*Traceability*) dikompilasi oleh jejak sistematis yang didefinisikan mengandung informasi yang terkait langsung dengan ketertelusuran data dalam dokumen penjualan.

Ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) merupakan salah satu jenis ikan yang paling populer di pasar lokal maupun manca negara. Ikan kerapu tergolong dalam famili Serranidae, tubuhnya tertutup oleh sisik-sisik kecil. Nama kerapu biasanya digunakan untuk empat genus anggota famili Serranidae yaitu *Epinephelus*, *Variola*, *Plectropomus* dan *Cromileptes*. Salah satu ikan kerapu yang diminati adalah ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*). Ikan kerapu

bebek merupakan jenis ikan yang memiliki harga jual paling tinggi diantara jenis ikan kerapu lainnya (Anggraini *et al.*,2018).

Menurut Saanin (1995), Klasifikasi Ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Phyllum : Chordata
Sub-phyllum : Vertebrata
Klas : Osteichtyes
Sub-klas : Actinopterigi
Ordo : Percomorphi
Sub-ordo : Percoidea
Familia : Serranidae
Sub-Familia : Epinephelinae
Genus : *Ephinephelus* / *Cromileptes* / *Variola* / *Plectropomus*
Spesies : *Ephinephelus* sp.



Gambar 1. Kerapu (*Ephinephelus* sp.) (Saanin, 1995)

Ciri-ciri morfologi ikan kerapu antara lain bentuk tubuh pipih, yaitu lebar tubuh lebih kecil dari pada panjang dan tinggi tubuh, rahang atas dan bawah dilengkapi dengan gigi yang lancip dan kuat, mulut lebar, serong ke atas dengan bibir bawah yang sedikit menonjol melebihi bibir atas, sirip ekor berbentuk bundar, sirip punggung tunggal dan memanjang dimana bagian yang berjari-jari

keras kurang lebih sama dengan yang berjari-jari lunak, posisi sirip perut berada di bawah sirip dada, serta badan ditutupi sirip kecil yang bersisik stenoid Ikan kerapu merupakan salah satu jenis ikan laut yang hidup di perairan dalam maupun payau yang bersalinitas 20-35 ppt. Kepala dan badan berwarna coklat kemerahan. Badan dengan enam strip tegak lebar coklat tua. Sirip-sirip kecoklatan. Sirip dada kemerahan Ikan demersal ini merupakan salah satu sumber daya ikan yang bernilai ekonomis dan penting karena memiliki daging yang tebal, lezat, dan berprotein tinggi, juga dapat dibudidayakan sebagai ikan hias. Musim pemijahan ikan kerapu di perairan tropis dapat terjadi pada setiap tahun atau sepanjang tahun. Musim pemijahan kerapu di Indonesia berlangsung dari bulan Januari sampai November. Ikan kerapu memiliki habitat di dasar perairan laut tropis dan subtropis. Pada umumnya kerapu bersifat soliter, tetapi saat akan memijah ikan bergerombol. Telur dan larva bersifat pelagis sedangkan ikan kerapu dari muda hingga dewasa bersifat demersal. Larva kerapu pada umumnya menghindari permukaan air pada siang hari. Sebaliknya pada malam hari lebih banyak ditemukan di permukaan air. Penyebaran vertikal tersebut sesuai dengan sifat ikan kerapu sebagai organisme yang pada siang hari lebih banyak bersembunyi di liang-liang karang sedangkan pada malam hari aktif bergerak di kolom air untuk mencari makan. Ikan kerapu termasuk dalam jenis ikan yang hermiprodit protogini. Hermiprodit protogini merupakan keadaan dimana proses diferensiasi gonadnya berjalan dari fase betina ke fase jantan. Ikan ini memulai siklus reproduksinya sebagai ikan betina yang berfungsi kemudian berubah menjadi ikan jantan yang berfungsi. Perubahan kelamin ini dipengaruhi ukuran, umur, dan jenisnya (Marishka dan Nurlita, 2012).

Ikan kerapu, tergolong ikan karang yang bersifat demersal dan dalam dunia perdagangan dikenal dengan istilah Grouper. Ikan kerapu terdiri atas 15

genera antara lain *Aethaloperca*, *Alpestes*, *Anyperodon*, *Cephalopholis*, *Cromileptis*, *Epinephelus*, *Plectropomus*, *Dermatolepis*, *Gomiopectus*, *Gracila*, *Mycteroperca*, *Paranthias*, *Salopita*, *Triso*, dan *Variola*. Di Asia Tenggara terdapat sekitar 46 spesies dan di perairan Kepulauan Spermonde, Sulawesi Selatan ditemukan 22 jenis ikan kerapu (Sitepu, 2014). Suprayitno (2013), Produk perikanan adalah komoditas yang cepat rusak, sehingga penanganan harus dimulai dari awal. Dengan menerapkan rantai dingin mulai dari ikan ditangkap sampai dikirim ke pasaran. Menurut Suprayitno (2017), Tujuan dari pengawetan yaitu menghambat atau mencegah terjadinya kerusakan, mempertahankan mutu, menghindari terjadinya keracunan sehingga dapat mempermudah penanganan dan penyimpanan.

Ikan kerapu, tergolong ikan karang yang bersifat demersal dan dalam dunia perdagangan dikenal dengan istilah Grouper. Menyatakan, ikan kerapu terdiri atas 15 genera antara lain *Aethaloperca*, *Alpestes*, *Anyperodon*, *Cephalopholis*, *Cromileptis*, *Epinephelus*, *Plectropomus*, *Dermatolepis*, *Gomiopectus*, *Gracila*, *Mycteroperca*, *Paranthias*, *Salopita*, *Triso*, dan *Variola*. Di Asia Tenggara terdapat sekitar 46 spesies dan di perairan Kepulauan Spermonde, Sulawesi Selatan ditemukan 22 jenis ikan kerapu (Ismi *et al.*, 2014).

Menurut Natsir dan Sofhia (2018), Dari hasil penelitian yang dilakukan bahwa ikan kerapu memiliki kandungan protein bermutu dikarenakan daging ikan kerapu mengandung semua jenis asam amino esensial terdapat pada daging ikan. Diantaranya terdapat 20 asam amino penyusun protein yang merupakan zat nutrisi esensial yang di perlukan tubuh. Kualitas protein didasarkan pada kemampuannya untuk menyediakan nitrogen dan asam amino bagi pertumbuhan, pertahanan dan memperbaiki jaringan tubuh. kualitas protein

daging ikan tergantung pada karakteristik berikut: (1) Digestibilitas protein (untuk dapat digunakan oleh tubuh, asam amino harus dilepaskan dari komponen lain makanan dan dibuat agar dapat diabsorpsi. Jika komponen yang tidak dapat dicerna mencegah proses ini asam amino yang penting hilang bersama feses). (2) Komposisi asam amino seluruh asam amino yang digunakan dalam sintesis protein tubuh harus tersedia pada saat yang sama agar jaringan yang baru dapat terbentuk. Dengan demikian makanan harus menyediakan setiap asam amino dalam jumlah yang mencukupi untuk membentuk asam amino lain yang dibutuhkan. Pada umumnya protein daging yaitu protein otot yang terdiri atas (1) sekitar 70% protein struktur (protein myofibril), protein myofibril mengandung sekitar 32 sampai 38% myosin, 13 sampai 17% aktin, 7% aktomyosin, (2) sekitar 30% protein larut air (protein sarkoplasma), (3) 6% protein stroma. Otot terdiri atas serat yang panjangnya beberapa cm dan berdiameter 0,01 sampai 0,1 mm. Serat terbungkus dalam membran yang disebut sarkolema dan disusun berbentuk ikatan yang menyelubungi lemak dan jaringan ikat. Konsumsi serat pangan dapat mengabsorpsi kolesterol dan membantu mencegah terjadinya kanker usus besar, menormalkan lemak darah, mengurangi resiko penyakit kardiovaskular, mencegah kanker usus dan protektif terhadap diabetes. Serat pangan dapat mengikat asam empedu, memberikan rasa kenyang, dan meningkatkan motilitas usus besar (Hardoko *et al.*,2017). Serat merupakan komponen bahan makanan nabati penting yang tahan terhadap proses hidrolisis oleh enzim-enzim pada sistem pencernaan manusia. Komponen yang terbanyak dari serat ditemukan pada dinding sel tanaman. Makanan dengan kandungan serat kasar yang tinggi dapat mengandung kalori rendah, kadar gula dan lemak rendah yang dapat membantu mengurangi terjadinya obesitas (Sulistiyati *et al.*, 2017).

Mengonsumsi ikan sangat baik untuk kesehatan. Para ahli menyarankan untuk lebih banyak mengonsumsi ikan dibandingkan daging merah. Ikan sudah tidak asing lagi bagi bangsa Indonesia, karena Indonesia kaya akan potensi ikan baik perikanan tangkap maupun perikanan budi daya, sayangnya kesadaran mengonsumsi ikan pada masyarakat masih rendah. Tingkat konsumsi ikan rata-rata perkapita di Indonesia beberapa tahun lalu yaitu hanya mengonsumsi 23 kg/orang/tahun. Sedangkan di Jepang mencapai 110 kg/orang/tahun. Padahal ikan merupakan sumber protein tinggi, bahkan untuk jenis tertentu kandungan proteinnya lebih tinggi dari daging (Setiawan *et al.*, 2013). Potensi perikanan sebagai bahan pangan bergizi tinggi dan memiliki manfaat besar bagi kesehatan telah diketahui (Firliyanti *et al.*, 2013).

2.2 Kolagen

Kolagen berasal dari bahasa Yunani yakni “cola” yang berarti lem (*glue*) dan “genno” yang berarti kelahiran (*birth*). Hal ini disebabkan karakteristik kolagen yang melekatkan sel untuk membentuk kerangka jaringan dan organ tubuh. Molekul kolagen berdiameter 1,5 nm dengan panjang 280 nm dan berat molekulnya 290.000 Dalton. Kandungan kolagen berupa tiga rantai polipeptida dengan lebih dari 1000 asam amino dimasing-masing rantainya. Senyawa ini merupakan komponen struktural utama jaringan ikat putih (*white connective tissue*) yang meliputi hampir 30% total protein pada tubuh. Terdapat 19 jenis kolagen, yaitu tipe I sampai XIX. Tipe I, II, III, dan V adalah kolagen fibrous. Kolagen tipe I ditemukan di semua jaringan ikat, termasuk kulit dan tulang. Strukturnya terdiri atas heteropolimer (rantai alfa-1 dan alfa-2) dan glycine (tanpa tryptophan dan cysteine). Peran kolagen tipe I yakni sebagai matrik protein ekstraselular dengan karakteristik peningkatan proliferasi sel sehingga secara

langsung mempengaruhi fisiologis dan morfologi sel. Tipe I ini banyak ditemukan pada kulit, tulang, dan sisik ikan, sementara kolagen tipe V terdapat pada jaringan ikat dalam kulit, tendon, dan otot ikan yang juga mengandung kolagen tipe I (Setyowati dan Wahyuning, 2015).

Sumber kolagen yang paling banyak di pasaran umumnya berasal dari kulit dan tulang sapi ataupun babi yang keamanan dan kehalalannya perlu diwaspadai, sehingga diperlukan alternatif sumber kolagen yang aman dan halal. Salah satu biota perairan yang berpotensi sebagai sumber kolagen adalah ikan. Kulit ikan yang di fillet dari berbagai perusahaan industri atau pabrik fillet ikan dianggap sebagai produk limbah, sehingga pemanfaatan kulit ikan sebagai sumber kolagen alternatif tidak hanya dapat mengurangi jumlah limbah industri pengolahan, tetapi sekaligus juga meningkatkan nilai tambah limbah tersebut. Lebih dari 50% protein ekstraseluler pada kulit merupakan kolagen (Suptijah *et al.*, 2018).

Kolagen komersial biasanya diperoleh dari kulit sapi, kulit babi, atau kulit ayam, tetapi penggunaannya kurang tepat mengingat pertimbangan agama dan kontaminasi biologis seperti BSE (*Mad Cow Disease*), TSE (*Transmissible Spongiform Encephalopathy*), FMD (*Foot and Mouth Disease*) dan sebagainya. Kandungan asam amino yang tinggi pada hewan yang hidup darat juga menyebabkan proses denaturasi lebih cepat sehingga kualitas kolagennya juga rendah. Di sisi lain, pendayagunaan kolagen yang berasal dari hewan yang hidup di air, seperti ikan dapat menjadi alternatif yang menjanjikan. Ekstrak kolagen dapat berperan sebagai kosmetik dan obat, serta residunya (*hydrolysate*) dapat dimanfaatkan dalam industri makanan sebagai pelembut makanan (Setyowati dan wahyuning, 2015).

Kolagen merupakan komponen struktural utama dari jaringan ikat putih (*white connective tissue*) yang meliputi hampir 30 persen dari total protein pada jaringan dan organ tubuh vertebrata dan invertebrata. Pada mamalia, kolagen terdapat di kulit, tendon, tulang rawan dan jaringan ikat. Demikian juga pada burung dan ikan, sedangkan pada avertebrata kolagen terdapat pada dinding sel. Molekul kolagen tersusun dari kira-kira dua puluh asam amino yang memiliki bentuk agak berbeda bergantung pada sumber bahan bakunya. Asam amino glisin, prolin dan hidroksiprolin merupakan asam amino utama kolagen. Molekul dasar pembentuk kolagen disebut tropokolagen yang mempunyai struktur batang dengan BM 300.000, dimana di dalamnya terdapat tiga rantai polipeptida yang sama panjang, bersama-sama membentuk struktur heliks. Tropokolagen akan terdenaturasi oleh pemanasan atau perlakuan dengan zat seperti asam, basa, urea, dan potassium permanganat. Selain itu, serabut kolagen dapat mengalami penyusutan jika dipanaskan di atas suhu penyusutannya (T_s). Suhu penyusutan (T_s) kolagen ikan adalah 45°C . Jika kolagen dipanaskan pada $T > T_s$ (misalnya $65 - 70^{\circ}\text{C}$), serabut triple heliks yang dipecah menjadi lebih panjang. Pemecahan struktur tersebut menjadi lilitan acak yang larut dalam air inilah yang disebut gelatin (Miskah *et al.*, 2010).

Kolagen merupakan protein jaringan ikat. Molekul dasar pembentuk kolagen adalah tiga unit rantai α polipeptida yang saling berpilin membentuk struktur triple heliks yang lebih dikenal dengan istilah tropokolagen. Komposisi asam amino dari kolagen cenderung didominasi oleh glisina, prolina, hidroksiprolina dan alanina. Komposisi asam amino dan karakteristik sikokimia kolagen sangat bervariasi dan bergantung pada jaringan. Kolagen memegang peranan penting dalam industri biomedis, farmasi, makanan, dan kosmetik. Kolagen memiliki fungsi biologis dalam pembentukan jaringan dan organ serta

terlibat dalam pembelahan, pertahanan, dan diferensiasi sel. Fungsi biologis tersebut yang menyebabkan penggunaan kolagen dalam industri. Kolagen memiliki karakteristik yang mudah diserap dalam tubuh, memiliki sifat antigenesis rendah, afinitas dengan air tinggi, tidak beracun, biocompatible dan biodegradable, relatif stabil, dapat disiapkan dalam berbagai bentuk sesuai kebutuhan, dan mudah dilarutkan dalam air maupun asam sehingga pemanfaatannya dalam bidang industri berkembang pesat. Penelitian mengenai kandungan kolagen larut asam dari kulit ikan telah banyak dilakukan antara lain kulit ikan catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) sebesar 5.1%, ikan rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) sebesar 9.48%, tuna (*thunnus alalunga*) sebesar 13.97%, Hiu (*Scoliodon sorrakowah*) sebesar 8.96%, ikan rohu (*Labeo rohita*) sebesar 4.13%, dan ikan kurisi (*Nemipterus hexodon*) sebesar 24.9% (Astiana *et al.*,2016).

Menurut Putra *et al.*,(2013), Penelitian isolasi rendemen kolagen dari beberapa spesies ikan dan bagian tubuh lainnya telah dilakukan. Ekstraksi kolagen kulit ikan perch Nil (usia muda) didapatkan rendemen sebesar 63,1% dan 58,7% pada usia dewasa; pada makarel chub, hiu bullhead, dan kakap Jepang didapatkan rendemen kolagen masing-masing: 49,8% ; 50,1% ; dan 51,4%. Pada ikan cod dan cod Baltic didapatkan kolagen masing-masing: 71,2% dan 74,4%. Sedangkan dari kulit sotong, diperoleh *Acid Soluble Collagen* (ASC) sebesar 2% dan *Pepsin Soluble Collagen* (PSC) sebesar 35%. Perbedaan spesies, habitat dan perlakuan pada proses ekstraksi sangat berpengaruh pada rendemen, karakter, dan komposisi molekul kolagen.

Kolagen merupakan komponen struktural utama dari jaringan ikat putih yang meliputi hampir 30% dari total protein pada jaringan dan organ tubuh vertebrata dan invertebrata. Pada mamalia kolagen terdapat di kulit, tendon,

tulang rawan dan jaringan ikat. Molekul dasar pembentuk kolagen disebut tropokolagen dimana di dalamnya terdapat tiga rantai polipeptida yang sama panjang, bersama-sama membentuk struktur heliks rantai. Terdapat beberapa cara mengkonversi kolagen menjadi bentuk yang sesuai untuk ekstraksi, di antaranya perlakuan dengan zat seperti asam, basa, urea, dan potasium permanganat. Proses hidrolisis kolagen dengan perendaman dalam larutan asam membutuhkan waktu yang lebih singkat dibanding dengan perendaman dalam larutan basa karena asam mampu mengubah serat kolagen triple heliks menjadi rantai tunggal sedangkan larutan perendam basa hanya mampu menghasilkan rantai ganda. Sehingga pada waktu yang sama kolagen yang dihidrolisis oleh larutan asam lebih banyak daripada larutan basa. Tahapan perendaman harus dilakukan dengan tepat (waktu dan konsentrasinya), agar tidak terjadi kelarutan kolagen dalam larutan dan menyebabkan penurunan rendemen yang dihasilkan (Minah *et al.*, 2016).

2.3 Gelatin

Menurut Atma (2016), Gelatin merupakan suatu polipeptida hasil hidrolisis kolagen. Hampir sekitar 3/4 dari total berat ikan merupakan limbahnya. Limbah ikan terdiri dari tulang, kulit, sirip, kepala, sisik dan jeroan. Sehingga, limbah ikan merupakan salah satu permasalahan terbesar dalam industri pengolahan ikan. Limbah ikan dapat mencemari lingkungan baik di darat maupun di perairan. Padahal, limbah ikan masih mengandung protein yang cukup tinggi. Oleh karena itu, pemanfaatan limbah ikan menjadi suatu produk akan mengurangi pencemaran lingkungan dan juga dapat meningkatkan nilai tambah hasil perikanan. Salah satu produk yang dapat dibuat dari limbah ikan adalah

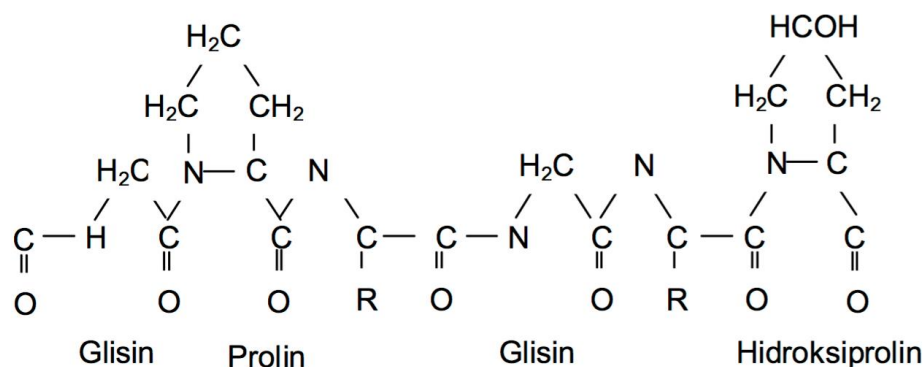
gelatin. Gelatin telah lama digunakan dalam industri pangan, farmasi, kosmetik dan fotografi. Gelatin digunakan sebagai bahan penstabil, pengental, emulsifier, pembentuk gel, edible coating, mikroenkapsulasi dan foaming agent, serta pembentuk film (film former). Gelatin digunakan pada pembuatan lem, lipstick, shampo dan sabun. Gelatin juga digunakan untuk pembentukan tekstur gummy pada produk permen dan jelly dengan penambahan pektin dan pati termodifikasi. Gelatin dapat pula digunakan sebagai pengikat pada fabrikasi katoda sulfur dalam baterai litium-sulfur. Permintaan gelatin terus mengalami peningkatan. Indonesia mengimpor gelatin 2000-3000 ton atau senilai USD 25.036,10 dari berbagai negara seperti Cina, Jepang, Prancis, Selandia Baru dan Australia. Namun sebagian besar gelatin saat ini diproduksi dari kulit babi, tulang sapi dan kulit sapi. Padahal gelatin dari kulit babi dilarang oleh agama Islam sedangkan gelatin dari kulit dan tulang sapi tidak diterima oleh masyarakat majusi. Selain itu adanya kasus sapi gila dan penyakit kuku mulut pada sapi semakin mendorong perlunya pencarian sumber alternatif untuk produksi gelatin penggunaan gelatin atau kolagen dari limbah ikan untuk menghasilkan derivat-derivat peptida bioaktif. Hal ini tentu saja menjadikan limbah sisa pengolahan ikan menjadi bahan yang potensial karena disamping dapat menjadi sumber gelatin alternatif (saat ini) juga dapat digunakan sebagai sumber peptida bioaktif yang akan dapat diterima semua kalangan terutama masyarakat Indonesia.

Gelatin merupakan produk alami yang diperoleh melalui hidrolisis parsial kolagen dari kulit dan tulang hewan. Pemanfaatan gelatin sudah sangat luas dan diperkirakan sekitar 59% gelatin yang diproduksi di seluruh dunia digunakan untuk industri makanan, 31% pada industri farmasi, 2% pada industri fotografi, dan sekitar 8% diaplikasikan dalam industri lainnya. Selama ini kebutuhan gelatin Indonesia diimpor dari beberapa negara seperti Prancis, Jepang, India, Brazil,

Jerman, Cina, Argentina dan Australia. Impor gelatin pada tahun 2014 mencapai 255.822 kg dengan nilai US\$ 2.059.329 (Sasmitaloka *et al.*,2017).

Gelatin merupakan salah satu jenis protein yang banyak diperoleh dari kolagen alami yang terdapat pada kulit dan tulang. Gelatin memiliki sifat khas, yaitu dapat berubah secara *reversible* dari bentuk sol ke gel, mengembang dalam air dingin, dapat membentuk film, mempengaruhi viskositas suatu bahan serta dapat melindungi sistem koloid. Sifat gelatin tersebut membuat kebutuhan gelatin dalam industri pangan maupun non pangan terus meningkat. Gelatin dalam produk pangan sering digunakan sebagai bahan penstabil, pembentuk gel, pengikat, pengental, pengemulsi, perekat dan pembungkus makanan yang bersifat dapat dimakan. Gelatin dalam produk non pangan digunakan dalam industri farmasi dan kedokteran, industri kosmetika dan industri fotografi. Gelatin dapat dibuat dari bahan yang mengandung kolagen, misalnya kulit dan tulang. Kandungan kolagen pada kulit lebih tinggi dibandingkan tulang. Kelebihan lain pembuatan gelatin dengan bahan baku kulit adalah proses lebih cepat yaitu dengan proses perendaman asam, sedangkan pembuatan gelatin dari bahan baku keras misalnya tulang dan sisik memiliki proses lebih lama dengan perendaman basa (Nurimala *et al.*,2017).

Menurut Tazwir *et al.*,(2007), Gelatin merupakan salah satu produk turunan protein yang diperoleh dari hasil hidrolisis kolagen hewan yang terkandung dalam tulang dan kulit. Susunan amino gelatin hampir mirip dengan kolagen, dimana 2/3 penyusunnya adalah glisin dan sepertiganya disusun oleh prolin dan hidroksiprolin. Susunan asam amino gelatin berupa Gly-X-Y dimana X adalah asam amino prolin dan Y adalah amino hidroksiprolin dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Kimia Gelatin (Tazwir *et al.*,2007).

Gelatin adalah produk alami yang diperoleh dari hidrolisis parsial kolagen. Gelatin merupakan protein yang larut yang bisa bersifat sebagai *gelling agent* (bahan pembuat gel) atau sebagai *non gelling agent*. Sumber bahan baku gelatin dapat berasal dari sapi (tulang dan kulit jangat), babi (hanya kulit) dan ikan (kulit). Karena gelatin merupakan produk alami, maka diklasifikasikan sebagai bahan pangan bukan bahan tambahan pangan. Untuk hewan besar seperti sapi, kerbau dan kuda, umumnya kulitnya digunakan sebagai bahan kerajinan dan casing, yaitu kulit bagian dalam (sisa dari penyamakan) umumnya dikumpulkan dan diproses lebih lanjut menjadi casing (selongsong sosis). Untuk hewan kecil, terutama kulit babi jarang yang disamak dan untuk kerajinan, oleh sebab itu dicari alternatif lain penggunaannya, yaitu umumnya diproses lebih lanjut menjadi gelatin. Cara pembuatan gelatin secara umum adalah : kulit atau tulang hewan yang kaya akan kolagen direndam dalam asam atau basa, kemudian diekstraksi dengan panas secara bertingkat, yaitu dilakukan pada evaporator atau tangki biasa. Hasil ekstrak yang mengandung gelatin dibersihkan dari kotoran halus dan mineral dengan cara penyaringan, sentrifugasi, demineralisasi dengan

ion exchanger. Filtrat disterilisasi UHT, dikeringkan, digiling dan terakhir dikemas dan siap dipasarkan. Proses lain yaitu filtrat hidrolisa lebih lanjut dengan enzim protease, sehingga dihasilkan peptida atau sampai ke tingkat asam amino yang disebut gelita sol (Hastuti dan Iriane, 2007).

Gelatin adalah derivat protein dari serat kolagen yang ada pada kulit, tulang, dan tulang rawan. Susunan asam aminonya hampir mirip dengan kolagen. Gelatin terbagi menjadi dua tipe berdasarkan perbedaan proses pengolahannya, yaitu tipe A dan tipe B. Dalam pembuatan gelatin tipe A, bahan baku diberi perlakuan perendaman dalam larutan asam sehingga proses ini dikenal dengan sebutan proses asam. Sedangkan dalam pembuatan gelatin tipe B, perlakuan yang diaplikasikan adalah perlakuan basa. Proses ini disebut proses alkali. Gelatin memiliki sifat dapat berubah secara reversible dari bentuk sol ke gel, membengkak atau mengembang dalam air dingin, dapat membentuk film, mempengaruhi viskositas suatu bahan, dan dapat melindungi sistem koloid (Miskah *et al.*, 2010).

2.4 Asam Sitrat

Asam sitrat adalah salah satu asam organik penting dalam kehidupan manusia, karena cukup banyak digunakan dalam dunia industri. Sekitar 70% dari asam sitrat yang dihasilkan digunakan dalam industri makanan dan minuman untuk berbagai keperluan, sedangkan 12% digunakan dalam industri obat-obatan dan sekitar 18% untuk kegunaan industri lainnya. Permintaan yang tinggi oleh banyak industri sehingga produksi asam sitrat menjadi meningkat dan diproduksi massal di seluruh dunia. Secara alami asam sitrat terdapat dalam buah-buahan seperti jeruk, nanas, pir dan sebagainya. Asam sitrat juga dapat dihasilkan

melalui proses kimia dan proses mikrobiologi. Indonesia mulai diproduksi asam sitrat pada tahun 1993 melalui proses fermentasi. Banyak mikroba yang dapat membentuk asam sitrat sebagai metabolit primer, antara lain adalah *Aspergillus niger*, *A. wentii*, *A. clavatus*, *Penicillium luteum*, *P. citrinum*, *Mucor piriformis*, *Paecilomyces divaricatum*, *Citromyces pfefferianus*, *Candida guilliermondii*, *Saccharomycopsis lipolytica*, *Trichoderma viride*, *Arthrobacter paraffineus*, dan *Corynebacterium* sp. Namun sampai saat ini, hanya *Aspergillus niger* yang paling sering digunakan untuk produksi asam sitrat. Penelitian dari National Chemical Laboratory, Pune, India juga menyatakan bahwa *Aspergillus wentii* dapat memproduksi asam sitrat (Puspawati *et al.*,2017). Asam sitrat (C₆H₈O₇) banyak digunakan dalam industri terutama industri makanan, minuman, dan obat-obatan. Asam sitrat digunakan dalam industri sebagai pengawet, pencegah rusaknya rasa dan aroma, sebagai antioksidan, pengatur pH dan sebagai pemberi kesan rasa dingin (Fajarwati *et al.*,2017).

Asam sitrat merupakan asam organik lemah yang terdapat pada daun dan buah tumbuhan tertentu. Senyawa ini merupakan bahan pengawet alami yang baik dan dapat juga dipakai untuk mengatur tingkat kemasaman pada berbagai pengolahan makanan dan minuman ringan. Penggunaan asam sitrat ke dalam makanan cenderung aman karena mudah dimetabolisme dan dikeluarkan oleh tubuh. Zat ini juga dapat digunakan sebagai zat pembersih yang ramah lingkungan dan sebagai antioksidan. Asam sitrat termasuk salah satu produk andalan yang di ekspor Indonesia ke berbagai negara. Termasuk negara-negara maju seperti Amerika Serikat, Jepang, Inggris, dan lain-lain. Kebutuhan dunia akan asam sitrat terus meningkat dari tahun ke tahun dan produksi asam sitrat setiap tahunnya meningkat sebesar 2-3%. Produksi asam sitrat nasional pada tahun 1991 adalah 3.063 ton/tahun dengan nilai Rp.5.055.444.000,00 dan

produksi tersebut diperkirakan akan meningkat seiring dengan perkembangan industri makanan, kosmetik, dan obat-obatan. Asam sitrat merupakan suatu senyawa organik, yang banyak ditemukan pada daun dan buah tumbuhan yang mempunyai rasa asam. Senyawa ini merupakan bahan pengawet alami yang baik, selain dipakai sebagai penambahan rasa masam pada makanan juga dapat digunakan untuk minuman ringan. Dalam biokimia, asam sitrat dikenal sebagai senyawa antara yang penting dalam metabolisme makhluk hidup, sehingga ditemukan pada hampir semua makhluk hidup. Zat ini juga dapat digunakan sebagai zat pembersih yang ramah lingkungan dan sebagai antioksidan. Asam sitrat terdapat pada berbagai jenis buah dan sayuran, namun ditemukan pada konsentrasi tinggi, yang dapat mencapai 8 % bobot kering. Rumus kimia asam sitrat adalah $C_6H_8O_7$ (strukturnya ditunjukkan pada tabel informasi di bawah). Struktur asam ini tercermin pada nama IUPAC nya asam 2-hidroksi-1,2,3-propanatrikarboksilat (Ovelando *et al.*, 2013).

Mekanisme larutan asam sitrat dalam proses hidrolisis kulit ikan diawali dengan proses awal hidrolisis kolagen menjadi gelatin. Kolagen adalah jenis protein fibril yang terbentuk atas tropokolagen dengan tiga rantai polipeptida. Tropokolagen dapat terdenaturasi dengan adanya asam, basa dan suhu pemanasan. Penggunaan asam sitrat akan memecah rantai triple helix serat kolagen menjadi rantai tunggal. Waktu yang dibutuhkan oleh pembuatan gelatin dengan proses asam sitrat juga lebih singkat dibandingkan dengan proses basa. Rantai tunggal asam amino yang dihasilkan dari hidrolisis kolagen adalah rangkaian asam amino Gly-X-Y (Gly-Pro-Hydro) (Damodaran dan Paraf, 1997). Suptijah *et al.*,(2013), juga menyatakan mekanisme selama proses perendaman dengan asam terjadi interaksi hidrolisis antara ion H^+ dari asam dengan kolagen sehingga struktur kolagen menjadi pecah dan jumlah kolagen pada bahan akan

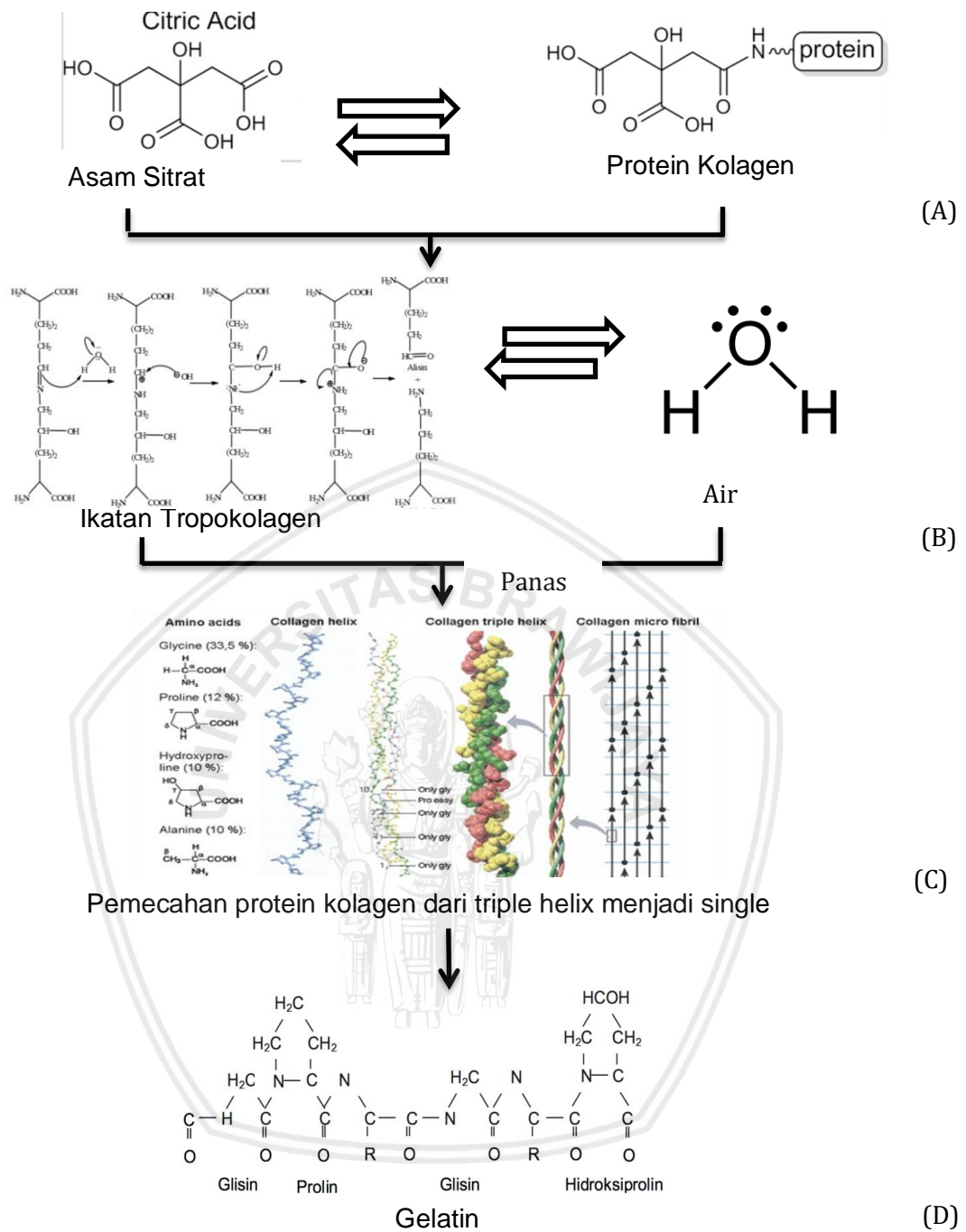
menurun. Menurut Rahmawati dan Muhammad (2017), Perbedaan karakteristik gelatin ini disebabkan oleh proses hidrolisis kolagen akibat perbedaan konsentrasi larutan yang digunakan. Perbedaan konsentrasi saat hidrolisis mengakibatkan perbedaan ukuran rantai peptida kolagen. Konsentrasi tertentu mampu mengkonversi kolagen menjadi gelatin secara efektif. Artinya ukuran rantai peptida kolagen gelatin yang dihidrolisis lebih panjang dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Ukuran panjang rantai peptida gelatin berkaitan dengan berat molekul produk gelatin tersebut. Semakin panjang rantai peptidanya, maka semakin besar pula berat molekulnya dan akan mempengaruhi karakteristik gelatin yang dihasilkan.

Dalam pembuatan gelatin dapat dilakukan dengan perendaman (demineralisasi) menggunakan asam kuat dan asam lemah. Asam kuat menurut Sekhu dan Paskalina (2018), merupakan asam mengacu pada jenis asam yang sepenuhnya berdisosiasi untuk membentuk ion dalam larutan. Penambahan asam akan menaikkan konsentrasi H^+ dan menurunkan OH^- . Asam kuat secara langsung mengikat semua OH^- dan dapat dikatakan larutan sepenuhnya berisi ion H^+ . Asam kuat memiliki ion H^+ yang banyak saat larut kedalam air sehingga kerjanya lebih menyeluruh dibandingkan dengan asam lemah. Dengan demikian, semakin banyak ion H^+ maka semakin kuat asam tersebut. Mekanisme kerja asam kuat menurut Laird (2009), yaitu mampu masuk langsung kedalam membran sel secara sempurna dan kemudian di dalam membran sel mengalami disosiasi. Sebaliknya, asam lemah hanya mengionisasi sebagian, dan reaksi ionisasi dapat dibalik. Dengan demikian, Asam lemah adalah asam yang tidak sepenuhnya terdisosiasi dalam larutan.

Kekuatan asam lemah tergantung pada seberapa banyak asam itu terlepas: semakin banyak terlepas, semakin kuat asam. Untuk mengukur

kekuatan relatif asam lemah, kita dapat melihat konstanta disosiasi asam sebagai konstanta kesetimbangan untuk reaksi disosiasi asam. Reaksi bolak balik menandakan disosiasi pada asam lemah tidak sempurna. dikatakan asam lemah karena ionisasi terjadi secara terbatas didalam air. Mekanisme dari kerja asam lemah adalah diluar sel dengan mengikutsertakan difusi dari molekul asam lipofilik melalui membran plasma ke sitoplasma. dimana adanya pertemuan dari nilai pH yang mendekati netral lalu dipaksa untuk menjadi ion yang bermuatan atau memiliki muatan. kemudian ion yang sudah bermuatan tidak dapat kembali melintasi membran dan dengan demikian anion akan terkonsentrasi didalam sel. disosiasi dari masing-masing molekul asam lemah akan melepas proton dan sitoplasma akan meningkat keasamaanya (Lambert dan Stratford, 1996).

Proses perendaman (demineralisasi) dengan asam sitrat bertujuan untuk mengkonversi kolagen menjadi bentuk yang sesuai untuk ekstraksi, yaitu dengan adanya interaksi ion H^+ dari larutan asam dengan kolagen. Sebagian ikatan hidrogen dalam tropokolagen serta ikatan-ikatan silang yang menghubungkan tropokolagen satu dengan tropokolagen yang lainnya dihidrolisis menghasilkan rantai-rantai tropokolagen yang mulai kehilangan struktur tripel heliksnya atau berubah menjadi rantai tunggal. Proses perendaman (demineralisasi) mengakibatkan terjadinya penggembungan (swelling) yang dapat membuang material-material yang tidak diinginkan, seperti lemak dan protein non-kolagen pada kulit dengan kehilangan kolagen yang minimum. Swelling merupakan penggembungan kulit akibat adanya proton yang masuk dalam struktur kulit yang kehilangan mineral atau adanya ruang kosong yang terdapat ditropokolagen. Adanya ruang kosong ini merupakan jalan masuk ion-ion H^+ dari asam. Ion H^+ akan berinteraksi dengan gugus karboksil sehingga dapat merubah ikatan inter dan antar molekul tropokolagen (Samosir et al., 2018). Proses hidrolisis kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dengan asam sitrat dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar3. Poses Hidrolisis Asam Sitrat

Gambar 3. Menunjukkan bahwa hidrolisis asam sitrat dengan protein kolagen kulit ikan (A), yang kemudian menghasilkan tropokolagen dan air (B), yang mengakibatkan terpecahnya protein kolagen triple helix menjadi single helix (C), untuk selanjutnya menghasilkan gelatin (D) (Chumsae *et al.*, 2014).

2.5 Metode Ekstraksi

Metode Ekstraksi gelatin di beberapa penelitian diekstrak dari kulit dan tulang ikan telah dilakukan, namun masih terbatas pada jenis ikan tertentu. Pada prinsipnya proses pembuatan gelatin dapat dibagi menjadi dua macam yaitu proses asam dan proses basa. Perbedaan kedua proses ini terletak pada proses perendamannya. Berdasarkan kekuatan ikatan kovalen silang protein dan jenis bahan yang diekstrak, maka penerapan jenis asam maupun basa organik dan metoda ekstraksi lainnya seperti lama hidrolisis, pH dan suhu akan berbeda-beda. Asam mampu mengubah serat kolagen triple heliks menjadi rantai tunggal, sedangkan larutan perendam basa hanya mampu menghasilkan rantai ganda. Hal ini menyebabkan pada waktu yang sama jumlah kolagen yang dihidrolisis oleh larutan asam lebih banyak dari pada larutan basa. Pembuatan gelatin dari kulit ikan menunjukkan bahwa pada tahap pengembangan kulit ikan, lama perendaman yang terbaik adalah 24 jam dengan konsentrasi asam asetat 4% (Tazwir *et al.*,2007).

Pada prinsipnya proses ekstraksi pembuatan gelatin dapat dibagi menjadi dua macam, yaitu proses asam dan proses basa. Perbedaan kedua proses ini terletak pada proses perendamannya. Berdasarkan kekuatan ikatan kovalen silang protein dan jenis bahan yang diekstrak, maka penerapan jenis asam maupun basa organik dan metode ekstraksi lainnya seperti lama hidrolisis, pH dan suhu akan berbeda-beda. Proses produksi utama gelatin dibagi dalam tiga tahap yaitu: tahap persiapan bahan baku antara lain penghilangan komponen non kolagen dari bahan baku, tahap konversi kolagen menjadi gelatin,tahap pemurnian gelatin dengan penyaringan dan pengeringan. Analisis proksimat adalah suatu metoda analisis kimia untuk mengidentifikasi kandungan nutrisi seperti protein, karbohidrat, lemak dan serat pada suatu zat makanan dari bahan

pakan atau pangan. Analisis proksimat memiliki manfaat sebagai penilaian kualitas pakan atau bahan pangan terutama pada standar zat makanan yang seharusnya terkandung di dalamnya (Minah *et al.*,2016).

Proses ekstraksi gelatin tulang ikan dikategorikan sebagai gelatin tipe A, sehingga pada penelitian ini digunakan larutan asam sebagai larutan perendam. Asam mampu mengubah serat kolagen *triple-helix* menjadi rantai tunggal. Perendaman tulang-tulang dengan larutan asam ini bertujuan untuk proses demineralisasi atau menghilangkan garam kalsium dan mineral lain yang terdapat dalam tulang (Rahayu dan Nurul, 2015). Pemanasan menyebabkan protein terdenaturasi. Pada saat pemanasan, panas akan menembus daging dan menurunkan sifat fungsional protein. Pemanasan dapat merusak asam amino dimana ketahanan protein oleh panas sangat terkait dengan asam amino penyusun protein tersebut sehingga hal ini yang menyebabkan kadar protein menurun dengan semakin meningkatnya suhu pemanasan (Yuniarti *et al.*,2013). menurut Talib *et al.*,(2014), Protein rendah karena proses pemasakan dilakukan berulang-ulang. Kandungan protein dalam setiap perlakuan menurun diduga, dipengaruhi oleh panjangnya waktu pemasakan.

2.6 Karakteristik Fisikokimia Gelatin

Karakteristik fisikokimia gelatin sangat mempengaruhi kualitas gelatin. Karakteristik fisika antara lain rendemen, kekuatan gel dan viskositas. Sedangkan karakteristik kimia antara lain pH, kadar protein, kadar air, kadar lemak dan kadar abu. Karakteristik fisikokimia dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti konsentrasi larutan gelatin, waktu pemanasan gel, suhu pemanasan gel, pH dan kandungan garam. Selain itu faktor dalam proses ekstraksi gelatin sendiri, seperti

keasaman larutan perendam, lama perendaman dan suhu ekstraksi diduga mempengaruhi sifat gelatin (Tazwir *et al.*,2007).

Karakteristik fisika gelatin terdiri dari kekuatan gel dan viskositas. Kekuatan gel sangat penting dalam penentuan perlakuan terbaik dalam proses ekstraksi gelatin karena merupakan salah satu sifat penting gelatin adalah mampu mengubah cairan menjadi padatan atau mengubah sol menjadi gel yang reversible. semakin tinggi konsentrasi asam dan lama peredaman mengakibatkan nilai kekuatan gel gelatin yang dihasilkan semakin tinggi sampai konsentrasi asam dan lama perendaman tertentu, kemudian akan turun kembali nilai kekuatan gel tersebut. Hal ini diduga karena konsentrasi asam yang semakin tinggi dan semakin lama waktu perendaman akan menyebabkan terjadinya hidrolisis lanjutan terhadap protein kolagen dan gelatin dan dihasilkan oligopeptida dan sebagian asam amino yang tertahan tidak terlarut saat pencucian sehingga menghasilkan kekuatan gel yang rendah (Trilaksani *et al.*, 2012).

Viskositas (kekentalan) gelatin merupakan salah satu sifat fisik gelatin selain kekuatan gel, pH dan rendemen yang cukup penting. Pengujian viskositas dilakukan untuk mengetahui tingkat kekentalan gelatin sebagai larutan pada konsentrasi dan suhu tertentu. Kekuatan gel gelatin atau dikenal dengan istilah bloom adalah salah satu parameter dari tekstur dan merupakan gaya untuk menghasilkan deformasi tertentu. Nilai pH (derajat keasaman) gelatin merupakan salah satu parameter yang penting dalam standar mutu gelatin. Rendemen merupakan persentase gelatin yang dihitung berdasarkan perbandingan antara gelatin serbuk yang dihasilkan dengan berat bahan baku yang telah dibersihkan. Semakin banyak rendemen yang dihasilkan maka semakin efisien perlakuan yang diterapkan (Rapika *et al.*,2016).

Karakteristik kimia gelatin terdiri dari pH, kadar protein, kadar air, kadar lemak dan kadar abu. Nilai pH merupakan salah satu sifat kimia gelatin yang penting, karena nilai pH dapat mempengaruhi sifat-sifat gelatin yang lainnya, sehingga menentukan aplikasi gelatin selanjutnya. Gelatin dengan pH netral sangat baik diaplikasikan untuk produk daging, farmasi, fotografi, dan cat. Sedangkan gelatin dengan nilai pH rendah, sangat baik diaplikasikan dalam produk juice, jelly, dan sirup. (Hasdar dan Yuniarti, 2016). Menurut Suprayitno (2014), Air adalah ukuran pH konsentrasi ion hydrogen. Dengan kata lain, nilai pH air akan menunjukkan bahwa airnya bereaksi asam atau basa. Menurut Sulitstiyati dan Suprayitno (2014), Nilai pH adalah salah satu indikator yang digunakan untuk menentukan tingkat kesegaran ikan. Pada proses pembusukan pH daging ikan perannya sangat besar karena berpengaruh pada proses autolisis dan serangan bakteri.

Protein merupakan salah satu makronutrisi yang memiliki peranan penting dalam pembentukan biomolekul. Protein merupakan makromolekul yang menyusun lebih dari separuh bagian sel. Protein menentukan ukuran dan struktur sel, komponen utama dari enzim yaitu biokatalisator berbagai reaksi metabolisme dalam tubuh. Protein sebagai sumber energi memberikan 4 Kkal per gramnya. Jumlah total protein tubuh adalah sekitar 19% dari berat daging, 45% dari protein tubuh adalah otot. Kebutuhan protein bagi seorang dewasa adalah 1 gram/kg berat badan setiap hari. Untuk anak-anak yang sedang tumbuh diperlukan protein yang lebih banyak, yaitu 3 gram/kg berat badan. Untuk menjamin agar tubuh benar-benar mendapatkan asam amino dalam jumlah dan jenis yang cukup, sebaiknya untuk orang dewasa seperlima dari protein yang diperlukan haruslah protein yang berasal dari hewan, sedangkan untuk anak-anak sepertiga dari jumlah protein yang diperlukan (Rosaini *et al.*,2015).

Lemak merupakan senyawa kimia yang mengandung unsur C, H dan O. Lemak atau lipid merupakan salah satu nutrisi diperlukan tubuh karena berfungsi menyediakan energi sebesar 9 kilokalori/gram, melarutkan vitamin A, D, E, K dan dapat menyediakan asam lemak esensial bagi tubuh manusia. Selama proses pencernaan, lemak dipecah menjadi molekul yang lebih kecil, yaitu asam lemak dan gliserol. Lemak merupakan unit penyimpanan yang baik untuk energi. Berdasarkan struktur kimianya, lemak dibedakan menjadi lemak jenuh dan lemak tak jenuh. Lemak tak jenuh biasanya cair pada suhu kamar, minyak nabati dan lemak yang ditemukan dalam biji merupakan contoh dari lemak tak jenuh sedangkan lemak jenuh biasanya padat pada suhu kamar dan ditemukan dalam daging, susu, keju, minyak kelapa, dan minyak kelapa sawit (Angelia, 2016). Menurut Setiawan *et al.*, (2013), Semakin banyak daging maka kadar lemak juga akan semakin meningkat. Adanya peningkatan kadar lemak diduga disebabkan oleh kandungan air yang mengalami perubahan. Semakin tinggi kadar air, maka kandungan lemaknya akan semakin rendah.

Air merupakan bahan alam yang diperlukan untuk kehidupan manusia, hewan dan tanaman yaitu sebagai media pengangkutan zat-zat makanan, juga merupakan sumber energi serta berbagai keperluan lainnya (Sasongko *et al.*,2014). Air merupakan komponen penting dalam bahan makanan. Semua bahan makanan mengandung air dalam jumlah yang berbeda-beda, baik itu bahan makanan hewani maupun nabati. Penentuan kadar air merupakan analisis paling penting dan paling luas dilakukan dalam pengolahan dan pengujian pangan. Kadar air berpengaruh secara langsung terhadap stabilitas dan kualitas pangan (Sundari *et al.*,2015). Menurut Yuniarti *et al.*,(2013), Berdasarkan derajat keterikatan air, air terikat dapat dibedakan menjadi 4 tipe:

1. Tipe I

Air tipe I (air terikat) yaitu molekul air yang terikat pada molekul-molekul lain melalui suatu ikatan hidrogen yang berenergi tinggi. Molekul air membentuk hidrat dengan molekul-molekul lain yang mengandung atom-atom O dan N, seperti karbohidrat, protein atau garam. Air tipe ini tidak dapat bertindak sebagai pelarut, dan tidak membeku pada suhu dibawah 0°C , tetapi sebagian dapat dihilangkan dengan cara pengeringan biasa.

2. Tipe II

Air tipe II (air kapiler) adalah molekul-molekul air membentuk ikatan hidrogen dengan molekul air lain, terdapat dalam mikrokapiler. Air jenis ini lebih sukar dihilangkan dan penghilangan air tipe ini akan mengakibatkan penurunan aW (water activity). Bila sebagian air tipe II dihilangkan, pertumbuhan mikroba dan reaksi-reaksi kimia yang merusak bahan makanan seperti browning, hidrolisis atau oksidasi lemak akan dikurangi. Jika air tipe II dihilangkan seluruhnya, kadar air bahan berkisar 3-7%, kestabilan optimum bahan makanan akan tercapai, kecuali pada produk-produk yang dapat mengalami oksidasi akibat adanya kandungan lemak tidak jenuh.

3. Tipe III

Air tipe ini atau lebih dikenal dengan air bebas adalah air yang secara fisik terikat dalam jaringan matriks bahan seperti membran, kapiler, serat dll. Air tipe ini mudah diuapkan dan dapat dimanfaatkan untuk pertumbuhan mikroba dan media bagi reaksi-reaksi kimiawi.

4. Tipe IV

Air yang tidak terikat dalam jaringan suatu bahan atau air murni, dengan sifat-sifat air biasa dan keaktifan penuh.

Kadar abu dalam bahan pangan menunjukkan jumlah mineral yang dikandung dalam bahan pangan tersebut. Prinsip kerja penentuan kadar abu diawali dengan cara membakar bahan pangan tersebut (Herman *et al.*,2011). Kadar abu suatu bahan pangan menunjukkan besarnya jumlah mineral yang terkandung dalam bahan pangan tersebut. Kadar abu adalah sisa yang tertinggal bila suatu sampel bahan pangan dibakar sempurna di dalam tungku pengabuan (Sulthoniyah *et al.*,2013).



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: Kulit ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.) sebanyak 100 g, Asam sitrat dengan konsentrasi 0,5%; 1% dan 1,5%, air mengalir, aquadest, kertas saring, kapas dan plastik pengemas.

3.1.2 Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: *water bath*, oven, *mixer*, timbangan analitik, gelas kimia, thermometer, corong gelas, gelas ukur, nampan, pisau, baskom dan telenan.

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan sebelum penelitian utama. Tujuan dari penelitian pendahuluan adalah untuk mencari konsentrasi asam sitrat yang tepat selama perendaman kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.). Konsentrasi asam sitrat yang digunakan selama penelitian pendahuluan adalah 1%, 2% dan 3% dengan lama perendaman selama 24 jam. Berdasarkan hasil uji kekuatan gel dan viskositas, didapatkan konsentrasi 1% memiliki nilai yang paling tinggi dengan kekuatan gel sebesar 4,8 N dan viskositas sebesar 5 cP. Sehingga pada

penelitian utama dilakukan pengecilan interval yaitu pada konsentrasi 0,5%, 1% dan 1,5% dengan lama perendaman selama 24 jam. Hasil uji kekuatan gel dan viskositas gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dalam penelitian pendahuluan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengujian Penelitian Pendahuluan

Konsentrasi	Viskositas (cP)	Kekuatan Gel (N)
1%	5	4,8
2%	3	4,5
3%	2	1,0

Sumber: Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang, (2019).

3.2.2 Penelitian Utama

Penelitian utama dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi asam sitrat terhadap sifat fisikokimia gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.). konsentrasi asam sitrat yang digunakan yaitu 0,5%, 1% dan 1,5% yang didapatkan dari pengecilan interval pada penelitian pendahuluan. Parameter penelitian utama meliputi rendemen, kekuatan gel, viskositas, pH, kadar protein, kadar lemak, kadar abu dan kadar air. Hasil uji gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dalam penelitian ini dibandingkan dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) Gelatin tahun 1995, *Gelatin Manufacturers Institute of America* (GMIA) tahun 2012 dan British Standard tahun 1975.

3.2.3 Variabel Penelitian

Variabel penelitian terdiri dari atas dua macam, yaitu variabel terikat (*dependent variable*) dan variabel bebas (*independent variable*) Variabel - variabel yang digunakan pada penelitian ini adalah : 1) Variabel Terikat adalah, Variabel yang dipengaruhi atau menjadi akibat karena adanya variable bebas 2)

Variabel Bebas adalah, Variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahannya, atau timbulnya variable terikat (Iskandar dan Risky, 2013).

Menurut Ridha (2017), Penelitian pada dasarnya adalah suatu kegiatan atau proses sistematis untuk memecahkan masalah yang dilakukan dengan menerapkan metode ilmiah. Tujuan dari semua usaha ilmiah adalah untuk menjelaskan, memprediksi, dan mengontrol fenomena. Tujuan ini di dasarkan pada asumsi bahwa semua perilaku dan kejadian adalah benturan dan bahwa semua akibat mempunyai penyebab yang dapat diketahui. Menurut hubungan antara satu dengan variabel yang lain, maka macam variabel penelitian yaitu:

1. Variabel Independen

Variabel ini sering disebut stimulus, dan prediktor bahasa Indonesia disebut sebagai bebas. Variabel bebas merupakan yang mempengaruhi atau yang sebab perubahannya atau timbulnya dependen (terikat). Variabel ini biasa disebut juga variabel eksogen.

2. Variabel Dependen

Variabel dependen disebut juga variabel output, kriteria, konsekuen. Dalam bahasa Indonesia disebut variabel terikat. Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat, karena adanya variabel bebas. Variabel terikat disebut juga variabel endogen.

Dalam penelitian ini yang menjadi variabel bebas yaitu variasi konsentrasi asam sitrat dalam ekstraksi yaitu 0,5%; 1% dan 1,5%. Serta variabel terikat yaitu rendemen, kekuatan gel, viskositas, pH, kadar protein, kadar lemak, kadar abu dan kadar air.

3.2.4 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan adalah sebagai pola atau tata cara penerapan tindakan-tindakan (perlakuan dan nonperlakuan) dalam suatu percobaan pada kondisi atau lingkungan tertentu yang kemudian menjadi dasar penataan dan metode analisa statistik terhadap data hasilnya disebut rancangan percobaan (*experimental design*). Selain itu rancangan percobaan juga merupakan langkah-langkah lengkap yang perlu diambil jauh sebelum eksperimen dilakukan agar data yang semestinya diperoleh sehingga akan membawa kepada analisa obyektif dan kesimpulan yang berlaku untuk persoalan yang sedang dibahas atau diteliti (Adinugraha dan Taswati 2017).

Rancangan Percobaan dibagi menjadi beberapa macam salah satunya adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan acak lengkap (RAL) merupakan rancangan yang paling sederhana diantara rancangan-rancangan percobaan yang lain. Dalam rancangan ini perlakuan dikenakan sepenuhnya secara acak terhadap satuan-satuan percobaan atau sebaliknya. Pola ini dikenal sebagai pengacakan lengkap atau pengacakan tanpa pembatasan. Penerapan percobaan satu faktor dalam RAL biasanya digunakan jika kondisi satuan-satuan percobaan relatif homogen. Dengan keterbatasan satuan-satuan percobaan yang bersifat homogen ini, rancangan percobaan ini digunakan untuk jumlah perlakuan dan jumlah satuan percobaan yang relatif tidak banyak (Muhammad *et al.*,2014).

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 6 kali ulangan. Perlakuan dan ulangan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rancangan Acak Lengkap

Perlakuan	Ulangan						Total	Rata-rata
	1	2	3	4	5	6		
A	A1	A2	A3	A4	A5	A6	AT	AR
B	B1	B2	B3	B4	B5	B6	BT	BR
C	C1	C2	C3	C4	C5	C6	CT	CR

Keterangan:

- A : Perlakuan konsentrasi ekstraksi 0,5%
- B : Perlakuan konsentrasi ekstraksi 1%
- C : Perlakuan konsentrasi ekstraksi 1,5%

Penelitian ini menggunakan analisa data statistik dengan metode *Analysis of Variance* (ANOVA), dengan model analisa sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

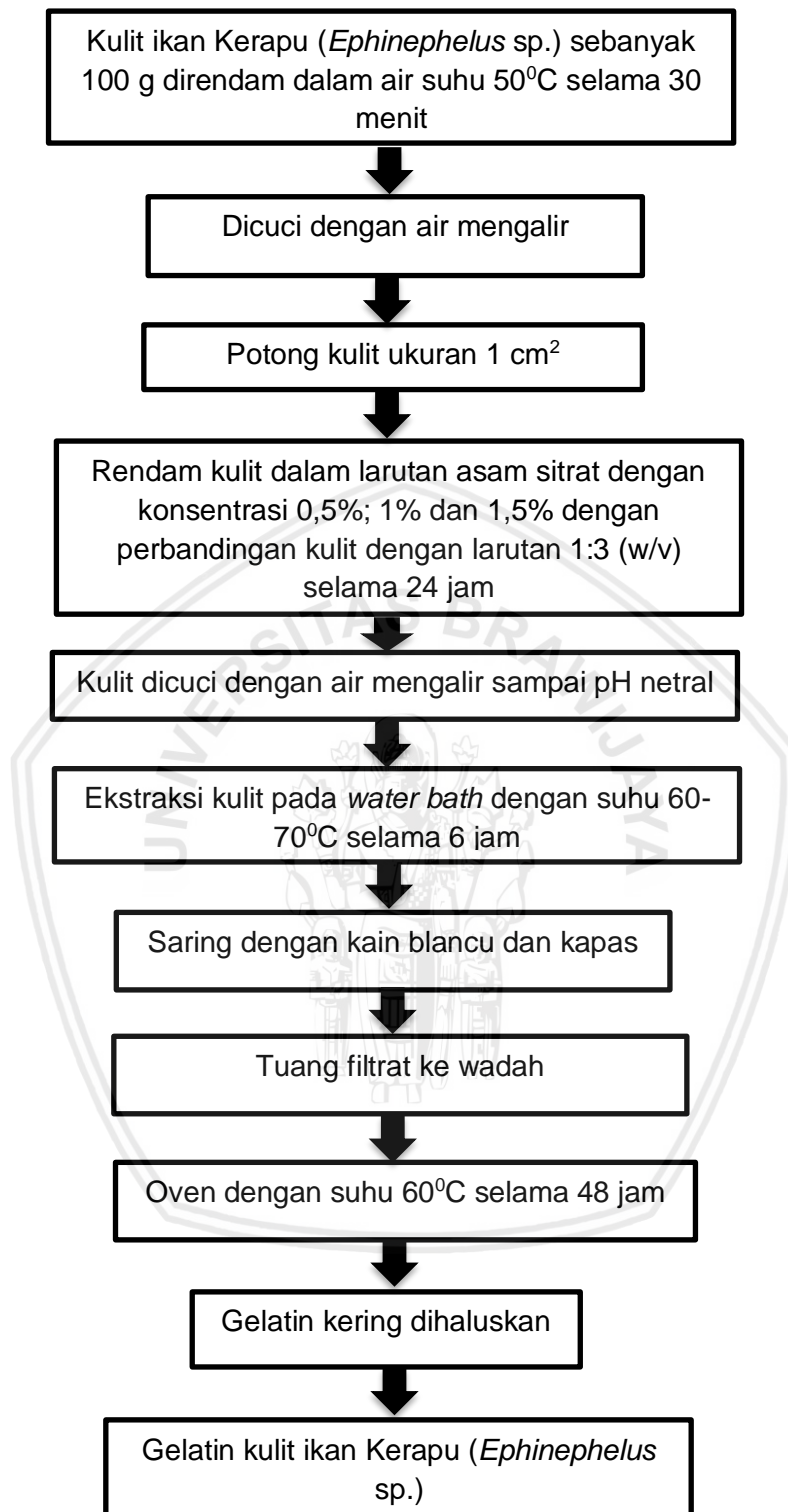
- Y_{ij} : Hasil Penelitian
- μ : Nilai tengah umum
- T_i : Pengaruh perlakuan ke-i
- ε_{ij} : Kesalahan percobaan pada perlakuan ke-I dan ulangan ke-j

Selang kepercayaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebesar 95%.

3.3 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian pembuatan gelatin kulit ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.) yaitu mengacu dan memodifikasi dari penelitian menurut Agustin dan Meity (2015), yaitu Kulit ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.) direndam dalam air suhu 50°C

selama 30 menit untuk menghilangkan Kotorannya. Selanjutnya dicuci, dipotong dengan ukuran $\pm 1 \text{ cm}^2$. Kulit ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.) yang sudah dipotong kemudian direndam dalam larutan asam sitrat 0,5%, 1% dan 1,5% sesuai perlakuan perbandingan kulit dengan larutan sebesar 1:3 (w/v) selama 24 jam. Setelah proses perendaman selesai, kulit dicuci dengan air mengalir sampai pH netral. Kulit yang sudah dicuci selanjutnya diekstraksi dalam *water bath* suhu 60-70°C selama 6 jam. Perbandingan kulit ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.) dengan aquadest sebesar 1: 3 (w/v) untuk masing-masing perlakuan. Proses berikutnya yaitu penyaringan larutan gelatin dengan menggunakan kain blacu dan kapas. Larutan gelatin yang diperoleh masing-masing sebanyak $\pm 300 \text{ ml}$ dituang ke dalam wadah berukuran 30,5 cm x 30,5 cm, kemudian dikeringkan dalam oven suhu 60°C selama 48 jam. Gelatin yang diperoleh kemudian dihaluskan menggunakan blender dan disimpan dalam desikator untuk analisa lebih lanjut. *Flow chart* prosedur pembuatan gelatin kulit ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.) dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. *Flow Chart* Prosedur Pembuatan Gelatin (Agustin dan Meity, 2015)

3.4 Analisa Fisika Gelatin

3.4.1 Rendemen

Rendemen merupakan salah satu parameter yang penting dalam menilai efektif tidaknya proses produksi gelatin. Semakin besar rendemen yang dihasilkan maka semakin efisien perlakuan yang diberikan. Rendemen dihitung berdasarkan perbandingan antara serbuk gelatin yang dihasilkan dengan bobot kulit ikan sebagai bahan baku (Yuliani, 2014). Rendemen merupakan salah satu parameter yang penting dalam pembuatan gelatin. Rendemen yang dihasilkan diduga karena pengaruh jumlah ion H^+ yang menghidrolisis kolagen dari rantai triple heliks menjadi rantai tunggal. Kecenderungan ini mencapai batasnya apabila ion H^+ yang berlebih menghidrolisis kolagen lebih jauh sehingga terjadi perubahan sifat fisika dan kimia (Trilaksani *et al.*,2012).

Rendemen diperoleh dari perbandingan berat kering gelatin yang dihasilkan dengan berat bahan segar. Peningkatan rendemen berkaitan dengan jumlah kolagen yang terkonversi menjadi gelatin. Penggunaan asam kuat menyebabkan peningkatan konsentrasi ion H^+ dalam larutan *curing* yang mempercepat proses hidrolisis. Laju hidrolisis yang semakin cepat cenderung meningkatkan konversi kolagen menjadi gelatin sehingga dapat meningkatkan nilai rendemen. apabila laju hidrolisis semakin besar maka pemecahan *triple helix* menjadi rantai α , β dan γ juga semakin besar yang menyebabkan konversi gelatin semakin banyak (Sasmitaloka *et al.*,2017).

Dalam penelitian ini, metode perhitungan rendemen gelatin diperoleh dari perbandingan berat kering gelatin yang dihasilkan dengan berat bahan segar yaitu kulit ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.) Menurut Zulkifli *et al.*,(2014), rendemen secara matematis dapat dirumuskan sebagai berikut:

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{Berat gelatin yang terbentuk}}{\text{Berat Kulit}} \times 100\%$$

3.4.2 Kekuatan Gel

Kekuatan gel dapat juga dipengaruhi oleh jumlah air yang terkandung di dalam bahan pangan tersebut. Adanya serat menyebabkan kandungan air bebas dalam bahan menjadi semakin sedikit, hal tersebut dikarenakan air terserap ke dalam struktur molekul serat. Air yang terkandung dalam bahan pangan berpengaruh terhadap tekstur, dan tingkat kekuatan gel (Suptijah *et al.*, 2013).

kekuatan gel dari masing-masing formula pengenceran. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa semakin tinggi volume pengenceran (konsentrasi larutan gelatin semakin rendah), maka kekuatan gel gelatin juga semakin rendah. Sebaliknya, semakin tinggi konsentrasi larutan gelatin maka kekuatan gelnya juga semakin besar. Dengan kata lain, konsentrasi larutan gelatin berbanding lurus dengan kekuatan gel yang dihasilkan (Suryani *et al.*, 2009).

Menurut Hardikawati *et al.*, (2016), Pengukuran kekuatan gel (*gel strength*) gelatin dengan cara larutan gelatin dengan konsentrasi 6,67% (b/v) disiapkan dengan akuademineral. Larutan diambil sebanyak 15 mL kemudian ditempatkan pada wadah dengan volume 20 mL. Sampel diinkubasi pada suhu 10°C selama 17 jam, kemudian diukur dengan menggunakan alat CT3 *Texture Analyzer*. Hasil dari pengukuran berupa grafik, selanjutnya dihitung dengan rumus :

Kekuatan gel (dyne/cm ²)	$= \frac{F}{g} \times 980$
Kekuatan Gel (Bloom)	$= 2.86 \times 10^{-3} G + 20$

Keterangan :

F : tinggi grafik sebelum patah

g : konstanta (0,07)

G : kekuatan gel (dyne/cm²)

3.4.3 Viskositas

Viskositas merupakan parameter lainnya yang juga penting dan menjadi standar penentu kualitas gelatin. Viskositas merupakan sifat fisik gelatin yang penting setelah kekuatan gel, karena viskositas mempengaruhi sifat fisik lainnya seperti titik leleh, titik gel, dan stabilitas emulsi. Viskositas gelatin yang tinggi menghasilkan laju pelelehan dan pembentukan gel yang lebih tinggi dibandingkan gelatin yang viskositasnya rendah, dan untuk stabilitas emulsi gelatin diperlukan viskositas yang tinggi (Hermanto *et al.*, 2014).

Viskositas merupakan salah satu sifat fisik gelatin yang cukup penting. Viskositas adalah derajat kekentalan suatu larutan. Pengujian viskositas dilakukan untuk mengetahui tingkat kekentalan gelatin (Santoso *et al.*, 2015). Menurut Ratnasari dan Firlyanti (2016), Metode pengujian viskositas gelatin dengan larutan gelatin dengan konsentrasi 6,67% direbus dalam waterbath sambil terus diaduk hingga 60°C. Viskositas diukur menggunakan viskometer brookfield. Sebuah spindle sebelumnya dipanaskan pada suhu 60°C dan kemudian dipasang ke viskometer brookfield. Posisi spindle dalam larutan panas

diatur secara akurat, kemudian viskometer dinyalakan dan suhu larutan diukur. Ketika suhu larutan mencapai 60°C, nilai viskositas diketahui melalui pembacaan viscometer pada skala 1-100. Pembacaan dilakukan setelah 1 menit rotasi penuh 2 kali untuk spindel no. 1.

Dalam penelitian ini, uji viskositas menggunakan metode dalam penelitian menurut Hermanto *et al.*,(2014), Larutan gelatin disiapkan dengan aquades kemudian larutan diukur viskositasnya dengan menggunakan alat *Viscometer*. Pengukuran dilakukan pada suhu 60°C dengan laju geser 60 rpm menggunakan spindel. Hasil pengukuran dikalikan dengan faktor konversi. Pengujian ini menggunakan spindle no.1 dengan faktor konversinya adalah 1, nilai viskositas dinyatakan dalam satuan centipoise (cP).

3.5 Analisa Kimia Gelatin

3.5.1 Derajat Keasaman (pH)

Derajat Keasaman (pH) merupakan salah satu sifat kimia gelatin yang mempengaruhi aplikasi gelatin dalam produk. Gelatin pH netral diaplikasikan untuk produk daging, farmasi, kromatografi, cat dan sebagainya. Gelatin pH rendah digunakan untuk industri pangan sedangkan Gelatin pH tinggi diaplikasikan untuk industri farmasi. pH gelatin berhubungan dengan jenis proses ekstraksi yang digunakan. Nilai pH yang dihasilkan pada tergantung pelarut yang digunakan pada saat perendaman untuk ekstraksi gelatin. Proses asam akan menghasilkan pH rendah, sedangkan proses basa akan menghasilkan gelatin dengan pH yang tinggi (Sasmitaloka *et al.*,2017).

Dalam penelitian ini derajat keasaman (pH) diukur mengacu dan memodifikasi pada metode menurut Hermanto *et al.*,(2014), Serbuk gelatin sebanyak 0.2 g didispersi dalam 20 ml aquades pada suhu 80°C. Lalu

dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*. Kemudian diukur derajat keasamannya (pH) pada suhu kamar dengan pH meter.

3.5.2 Kadar Protein

Kadar protein dalam suatu bahan pangan dapat dihitung. Protein merupakan salah satu makronutrisi yang memiliki peranan penting dalam pembentukan biomolekul. Protein merupakan makromolekul yang menyusun lebih dari separuh bagian sel. Protein menentukan ukuran dan struktur sel, komponen utama dari enzim yaitu biokatalisator berbagai reaksi metabolisme dalam tubuh. Protein sebagai sumber energi memberikan 4 Kkal per gramnya. Jumlah total protein tubuh adalah sekitar 19% dari berat daging, 45% dari protein tubuh adalah otot. Kebutuhan protein bagi seorang dewasa adalah 1 gram/kg berat badan setiap hari. Untuk anak-anak yang sedang tumbuh diperlukan protein yang lebih banyak, yaitu 3 gram/kg berat badan. Menurut Suprayitno (2017), protein mengandung berbagai asam amino. Asam amino dapat digolongkan dalam tiga kelompok yaitu asam amino esensial yaitu yang tidak dapat disintesis oleh tubuh, asam amino semi esensial dan asam amino non-esensial yang dapat disintesis oleh tubuh. Menurut Suprayitno dan Titik (2017), Struktur asam amino secara umum adalah satu atom C yang mengikat empat gugus: gugus amina (NH₂), gugus karboksil (COOH), atom hydrogen (H) dan satu gugus sisa (R, dari residue) atau disebut juga gugus atau rantai samping yang membedakan satu asam amino dengan asam amino lainnya. Menurut Rosaini *et al.*, (2015), Untuk menjamin agar tubuh benar-benar mendapatkan asam amino dalam jumlah dan jenis yang cukup, sebaiknya untuk orang dewasa seperlima dari protein yang diperlukan haruslah protein yang berasal dari hewan, sedangkan untuk anak-anak sepertiga dari jumlah protein yang diperlukan.

Menurut Munthe *et al.*, (2016), Metode Kjeldahl yang digunakan adalah metode Kjeldahl untuk menganalisa kadar protein kasar dalam bahan makanan secara tidak langsung, karena yang dianalisa adalah kadar nitrogennya. Kadar protein diperoleh dengan mengonversikan hasil analisa tersebut dengan faktor konversi bahan makanan. Prinsip analisa Kjeldahl adalah mula-mula bahan didestruksi dengan asam sulfat pekat menggunakan katalis selenium oksiklorida. Amonia yang terjadi ditampung dan dititrasi dengan bantuan indikator.

Dalam penelitian ini, kadar protein diukur dengan menggunakan metode Kjeldahl menurut penelitian Rosaini *et al.*,(2015), adalah metode Kjeldahl terdiri dari 3 tahap yaitu: tahap destruksi, tahap destilasi dan tahap titrasi.

1. Tahap Destruksi

Ditimbang 1 gram sampel yang telah diblender. Masukkan ke dalam labu Kjedahl 100 mL, kemudian pipet 10 mL asam sulfat pekat masukkan kedalam labu Kjedahl. Tambahkan katalisator (campuran selenium) untuk mempercepat destruksi. Kemudian labu Kjedahl tersebut di panaskan dimulai dengan api yang kecil setelah beberapa saat sedikit demi sedikit api dibesarkan sehingga suhu menjadi naik. Destruksi dapat dihentikan pada saat didapatkan larutan berwarna jernih kehijauan.

2. Tahap destilasi

Hasil destruksi yang didapatkan kemudian didinginkan, setelah itu diencerkan dengan aquadest sampai 100 mL. Setelah homogen dan dingin dipipet sebanyak 5 mL, masukkan ke dalam labu destilasi.

Tambahkan 10 mL larutan natrium hidroksida 30% melalui dinding dalam labu destilasi hingga terbentuk lapisan dibawah larutan asam. Labu destilat dipasang dan dihubungkan dengan kondensor, lalu ujung kondensor dibenamkan dalam cairan penampung. Uap dari cairan yang mendidih akan mengalir melalui kondensor menuju erlemeyer penampung. Erlenmeyer penampung diisi dengan 10 mL larutan asam klorida 0,1 N yang telah ditetesi indikator metil merah. Cek hasil destilasi dengan kertas lakmus, jika hasil sudah tidak bersifat basa lagi maka penyulingan dihentikan.

3. Tahap titrasi

Setelah proses destilasi, tahap selanjutnya adalah titrasi. Hasil destilasi yang ditampung dalam erlemeyer berisi asam klorida 0,1 N ditetesi indikator metil merah sebanyak 5 tetes langsung dititrasi dengan menggunakan larutan natrium hidroksida 0,1 N. Titik akhir titrasi ditandai dengan warna merah muda menjadi kuning. Perlakuan ini dilakukan sebanyak 3 kali untuk tiap sampel.

3.5.3 Kadar Lemak

Kadar lemak dapat dilakukan pengujian dengan beberapa metode. Lemak merupakan senyawa kimia yang mengandung unsur C, H dan O. Lemak atau lipid merupakan salah satu nutrisi diperlukan tubuh karena berfungsi menyediakan energi sebesar 9 kilokalori/gram, melarutkan vitamin A, D, E, K dan dapat menyediakan asam lemak esensial bagi tubuh manusia. Selama proses pencernaan, lemak dipecah menjadi molekul yang lebih kecil, yaitu asam lemak

dan gliserol. Lemak merupakan unit penyimpanan yang baik untuk energi. Berdasarkan struktur kimianya, lemak dibedakan menjadi lemak jenuh dan lemak tak jenuh. Lemak tak jenuh biasanya cair pada suhu kamar, minyak nabati dan lemak yang ditemukan dalam biji merupakan contoh dari lemak tak jenuh sedangkan lemak jenuh biasanya padat pada suhu kamar dan ditemukan dalam daging, susu, keju, minyak kelapa, dan minyak kelapa sawit (Angelia, 2016).

Ekstraksi dengan menggunakan pelarut merupakan proses pemisahan komponen zat terlarut berdasarkan sifat distribusinya dalam dua pelarut yang tidak saling melarut. Dengan memanfaatkan perbedaan kelarutannya senyawa yang diinginkan dapat dipisahkan secara selektif. Beberapa faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi yaitu perbedaan metode, pelarut, suhu, serta waktu ekstraksi akan berpengaruh terhadap jumlah rendemen serta kualitas ekstrak yang didapatkan. Menggunakan metode, pelarut serta waktu yang sesuai akan menghasilkan rendemen serta kualitas ekstrak yang maksimal. Ekstraksi dengan alat soxhlet merupakan cara ekstraksi yang efisien dan efektif untuk menentukan kadar minyak atau lemak suatu bahan, karena pelarut yang digunakan dapat diperoleh kembali dan waktu yang digunakan untuk ekstraksi relatif singkat. Proses ekstraksi dipengaruhi oleh metode, pelarut, suhu, serta waktu ekstraksi yang akan berpengaruh terhadap konsentrasi serta kualitas ekstrak minyak yang dihasilkan (Sahriawati, 2016).

Dalam penelitian ini, kadar lemak diukur menggunakan metode soxhlet menurut Angelia (2016), dengan prosedur kerja yang pertama adalah timbang seksama 1-2 g contoh, masukan ke dalam selongsong kertas yang dialasi dengan kapas. Sumbat selongsong kertas berisi contoh tersebut dengan kapas, keringkan dalam oven pada suhu tidak lebih dari 80°C selama lebih kurang satu

jam, kemudian masukan ke dalam alat soxhlet yang telah dihubungkan dengan labu lemak berisi batu didih yang telah dikeringkan dan telah diketahui bobotnya. Ekstrak dengan heksana atau pelarut lemak lainnya selama lebih kurang 6 jam. Sulingkan heksana dan keringkan ekstrak lemak dalam oven pengering pada suhu 105°C. Dinginkan dan timbang. Ulangi pengeringan ini hingga tercapai bobot tetap. SNI 01-2891-1992. Rumus yang digunakan dalam metode soxhlet adalah sebagai berikut:

$$\% \text{ Lemak} = \frac{W - W_1}{W_2} \times 100\%$$

Dimana :

W = Bobot contoh, dalam gram

W1 = Bobot lemak sebelum ekstraksi, dalam gram

W2 = Bobot labu lemak sesudah ekstraksi

3.5.4 Kadar Air

Kadar air dapat di uji dengan berbagai macam metode. Air merupakan bahan alam yang diperlukan untuk kehidupan manusia, hewan dan tanaman yaitu sebagai media pengangkutan zat-zat makanan, juga merupakan sumber energi serta berbagai keperluan lainnya (Sasongko *et al.*,2014). Air merupakan komponen penting dalam bahan makanan. Semua bahan makanan mengandung air dalam jumlah yang berbeda- beda, baik itu bahan makanan hewani maupun nabati. Penentuan kadar air merupakan analisa paling penting dan paling luas dilakukan dalam pengolahan dan pengujian pangan. Kadar air berpengaruh

secara langsung terhadap stabilitas dan kualitas pangan (Sundari *et al.*,2015). Menurut Aventi (2015), Prinsip dari metode oven pengering adalah bahwa air yang terkandung dalam suatu bahan akan menguap bila bahan tersebut dipanaskan pada suhu 105°C selama waktu tertentu. Perbedaan antara berat sebelum dan sesudah dipanaskan adalah kadar air.

Dalam penelitian ini, metode Penetapan kadar air dilakukan secara termogravimetri menurut Rachmania *et al.*,(2013), dengan prosedur yang pertama adalah cawan porselen dikeringkan di dalam oven pada suhu 100°C selama 1 jam, lalu didinginkan di dalam desikator. Cawan porselen tersebut kemudian ditimbang. Sebanyak 0,5 gram sampel dimasukkan dalam cawan porselen kering dan dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 24 jam hingga diperoleh berat konstan. Cawan berisi sampel tersebut didinginkan dalam desikator. Proses selanjutnya adalah penimbangan cawan yang berisi sampel setelah dikeringkan. Kadar air bahan dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Kadar Air} = \frac{B1-B2}{B} \times 100\%$$

Keterangan:

B = Berat sampel (g)

B1 = Berat (sampel+cawan) sebelum dikeringkan (g)

B2 = Berat (sampel+cawan) setelah dikeringkan (g)

3.5.5 Kadar Abu

Kadar abu dalam bahan pangan menunjukkan jumlah mineral yang dikandung dalam bahan pangan tersebut. Prinsip kerja penentuan kadar abu diawali dengan cara membakar bahan pangan tersebut (Herman *et al.*,2011). Kadar abu suatu bahan pangan menunjukkan besarnya jumlah mineral yang terkandung dalam bahan pangan tersebut. Kadar abu adalah sisa yang tertinggal bila suatu sampel bahan pangan dibakar sempurna di dalam tungku pengabuan (Sulthoniyah *et al.*,2013).

Dalam penelitian ini, metode pengabuan yang digunakan adalah dengan metode tanur menurut Yenrina (2015), dengan prosedur Kerja yang dilakukan adalah sebagai berikut: Siapkan cawan pengabuan, kemudian keringkan dalam tanur selama 15 menit, dinginkan dalam desikator, dan timbang (= W_0 gram). Timbang sebanyak 3 – 5 gram sampel dalam cawan tersebut (= W_1 gram), untuk sampel cairan diuapkan terlebih dahulu diatas penangas air sampai kering. Bakar di atas Hot plate sampai tidak berasap. Kemudian letakkan dalam tanur pengabuan, bakar sampai didapat abu berwarna abu-abu atau sampai beratnya tetap. Pengabuan dilakukan dalam dua tahap : pertama pada suhu sekitar 400°C dan kedua pada suhu 550°C . Lalu, Dinginkan dalam desikator, kemudian timbang (= W_2 gram). Perhitungan kadar abu dapat menggunakan rumus:

$$\text{Kadar abu} = \frac{(W_2 - W_0)}{(W_1 - W_0)} \times 100\%$$

3.5.6 Analisa Profil Asam Amino

Analisa profil asam amino dapat dilakukan dengan menggunakan metode UPLC (*Ultra Performance Liquid Chromatography*). Menurut Azka *et al.* (2015), untuk mengetahui kandungan asam amino dengan metode UPLC, terdapat 4 tahapan yang harus dilakukan. Tahap pertama yaitu pembuatan hidrolisat protein, yaitu sampel ditimbang sebanyak 0,1 g dan dihancurkan. Sampel yang telah hancur ditambahkan 6N HCL sebanyak 10 ml dan dipanaskan dalam oven dengan suhu 100 °C selama 24 jam. Tahap kedua yaitu penyaringan sampel, dimana sampel disaring dan diambil 30 µL dan ditambahkan 30 µL larutan pengering (campuran metanol, pikotiosianat dan trietilamin dengan perbandingan 4:4:3). Tahap ketiga yaitu derivatisasi, yaitu larutan derivatisasi (campuran metanol, natrium asetat dan trietilamin dengan perbandingan 3:3:4) sebanyak 30 µL. Hal ini dilakukan agar detektor dapat dengan mudah mendeteksi senyawa pada sampel. Setelah itu dilakukan pengenceran dengan menambahkan 20 ml asetonitril 60% atau buffer natrium asetat 1 M dan dibiarkan selama 20 menit. Tahap keempat yaitu injeksi ke UPLC, dimana hasil saringan diambil sebanyak 40 µL untuk diinjeksikan ke UPLC. Perhitungan konsentrasi asam amino yang terdapat pada bahan dapat dilakukan dengan membuat kromatografi standar menggunakan asam amino siap pakan yang telah mengalami perlakuan yang sama dengan sampel. Rumus untuk mengetahui kadar asam amino adalah sebagai berikut:

$$\% \text{ asam amino} = \frac{\text{luas area sampel} \times C \times F_p \times B_M}{\text{luas area sampel} \times C \times F_p \times B_M \text{ luas area standar} \times \text{bobot sampel}} \times 100\%$$

Keterangan:

C = Konsentrasi standar asam amino (µg/mL)

FP = Faktor pengenceran

BM = Bobot molekul dari masing-masing asam amino (g/mol)

Analisa dengan menggunakan metode UPLC merupakan suatu perkembangan dari kromatografi kolom. Prinsip kerja dari alat UPLC yaitu sampel yang akan diuji, diinjeksikan sampai sampel berada pada ketinggian puncak maksimum dari senyawa tersebut. Setiap senyawa memiliki waktu retensi yang berbeda-beda sesuai dengan tekanan yang digunakan, kondisi fase diam, komposisi pelarut maupun suhu kolom. Senyawa non polar akan sulit melekat pada silika polar jika dibandingkan dengan senyawa polar yang dapat melekat lebih lama. Hal ini menjadikan senyawa non polar akan lebih cepat melewati kolom (Wijayanti, 2017).



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Pembahasan

Hasil pembahasan yang didapatkan meliputi hasil penelitian pendahuluan sebagai tahap satu dan penelitian utama sebagai tahap dua.

4.1.1 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan sebelum penelitian utama. Tujuan dari penelitian pendahuluan adalah untuk mencari konsentrasi asam sitrat yang tepat selama perendaman kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.). konsentrasi asam sitrat yang digunakan selama penelitian pendahuluan adalah 1%, 2% dan 3% dengan lama perendaman selama 24 jam. Berdasarkan hasil uji kekuatan gel dan viskositas, didapatkan konsentrasi 1% memiliki nilai yang paling tinggi dengan kekuatan gel sebesar 4,8 N dan viskositas sebesar 5 cP. Sehingga pada penelitian utama dilakukan pengecilan interval yaitu pada konsentrasi 0,5%, 1% dan 1,5% dengan lama perendaman selama 24 jam. Hasil uji kekuatan gel dan viskositas gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dalam penelitian pendahuluan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengujian Penelitian Pendahuluan

Konsentrasi	Viskositas (cP)	Kekuatan Gel (N)
1%	5	4,8
2%	3	4,5
3%	2	1,0

Sumber: Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang, (2019).

4.1.2 Penelitian Utama

Penelitian utama dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi asam sitrat terhadap sifat fisikokimia gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.). konsentrasi asam sitrat yang digunakan yaitu 0,5%, 1% dan 1,5% yang didapatkan dari pengecilan interval pada penelitian pendahuluan. Parameter penelitian utama meliputi rendemen, kekuatan gel, viskositas, pH, kadar protein, kadar lemak, kadar abu dan kadar air. Hasil uji gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dalam penelitian ini dibandingkan dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) Gelatin tahun 1995, *Gelatin Manufacturers Institute of America* (GMIA) tahun 2012 dan British Standard tahun 1975.

4.2 Hasil Penelitian

Hasil penelitian dan pengujian sifat fisika dan kimia gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) yang dihasilkan melalui proses asam dengan perbedaan konsentrasi asam sitrat sebesar 0,5%; 1% dan 1,5%, kemudian hasil penelitian dibandingkan dengan gelatin standar SNI (Standar Nasional Indonesia), GMIA (*Gelatin Manufacturers Institute of America*) dan British standard. Hasil pengujian sifat fisika dan kimia gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Pengujian Sifat Fisika dan Kimia Gelatin Kulit Ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.)

Parameter	konsentrasi asam			gelatin standard (SNI, 1995)	British standard (1975)	GMIA, (2012)
	0.5%	1%	1.5%			
Rendemen (%)	17,13	21,75	19,45	-	-	-
kadar air (%)**	1.14	1,63	1,68	Maks. 16	-	-
kadar protein (%)**	76,05	84,99	82,66	-	-	-
kadar abu (%)**	0,40	0,33	0,34	Maks. 3.25	-	0.3
kadar lemak (%)**	0,335	0,395	0,398	-	-	-
kekuatan gel (N/bloom)*	0,83	12,12	10,80	-	50-300	50 - 300
Viskositas (cP)*	2,0	6,5	5,0	-	1.5 - 7	1.5 - 7.5
pH**	6,0	4,8	4,5	-	4.5 - 6.5	3.8 - 5.5

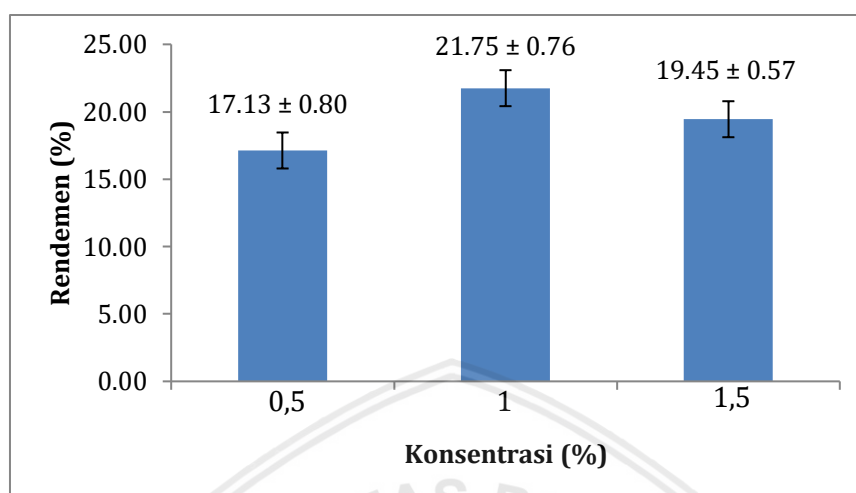
Sumber: * Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang, (2019).

** Laboraturium Ilmu Teknologi Hasil Perikanan Divisi Perencanaan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, (2019).

4.2.1 Rendemen

Rendemen gelatin adalah jumlah gelatin kering yang dihasilkan dari sejumlah bahan baku kulit dalam keadaan bersih melalui proses ekstraksi. Nilai rendemen dari suatu hasil olahan bahan pangan merupakan parameter yang penting diketahui untuk digunakan sebagai dasar perhitungan analisis finansial, memperkirakan jumlah bahan baku untuk memproduksi bahan tersebut dalam volume tertentu, dan mengetahui tingkat efisiensi dari suatu proses pengolahan. Rendemen suatu produk sangat penting dihitung untuk mengetahui seberapa besar pengaruh perlakuan maupun pengolahan terhadap hasil akhir produk (Finarti *et al.*, 2018). Rendemen yang dihasilkan didapatkan dari perhitungan perbandingan gelatin basis kering yang dihasilkan dengan bahan kulit setelah dibersihkan dan dikeringkan sebagai bahan baku (Gunawan *et al.*, 2017).

Hasil Penelitian diperoleh nilai rata rata rendemen gelatin dari kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Grafik rata-rata rendemen gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.)

Berdasarkan Gambar 4. Rata-rata rendemen gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) pada konsentrasi 0,5% sebesar 17,13%, pada konsentrasi 1% sebesar 21,75% dan pada konsentrasi 1,5% sebesar 19,45%. Nilai rata-rata rendemen tertinggi didapat pada perlakuan perendaman konsentrasi 1% yaitu sebesar 21,75% dan terendah diperoleh pada konsentrasi 0,5% sebesar 17,13%.

Berdasarkan hasil ANOVA, rata-rata rendemen gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) menunjukkan bahwa perlakuan perbedaan konsentrasi asam sitrat yang digunakan pada saat proses perendaman berpengaruh nyata terhadap rendemen gelatin yang dihasilkan ($P < 0,05$). Pada hasil uji lanjut Tukey, rendemen pada gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dengan perlakuan konsentrasi yang berbeda sebesar 0,5%; 1% dan 1,5% didapatkan hasil yang berbeda nyata dan berpengaruh terhadap perlakuan lainnya. Hasil uji ANOVA dan uji lanjut Tukey dapat dilihat pada Lampiran 1.

Berdasarkan Gambar 4. didapatkan rata-rata rendemen tertinggi dan terendah berturut turut yaitu pada konsentrasi 1%, 1,5% dan 0,5%. pada konsentrasi 0,5% didapatkan rata-rata rendemen terendah yaitu 17,13%. Hal ini dikarenakan konsentrasi asam sitrat yang terlalu rendah tidak mengubah serat kolagen *triple helix* menjadi rantai tunggal. Hal ini sesuai dengan penelitian menurut Peranginangin *et al.*, (2004), bahwa larutan asam mampu mengubah serat kolagen *triple helix* menjadi rantai tunggal, sementara larutan asam dengan konsentrasi yang rendah, diperoleh rendemen gelatin yang tidak terlalu tinggi. Hal ini disebabkan karena konsentrasi asam pada larutan tersebut tidak mampu mengubah serat kolagen kulit menjadi rantai tunggal sehingga tidak terjadi pengembangan selama perendaman. Sedangkan pada konsentrasi 1% didapatkan rendemen gelatin tertinggi sebesar 21,75% hal ini disebabkan karena pada perendaman konsentrasi 1%, kulit mengembang sebagaimana tujuan dari perendaman tersebut dan menunjukkan bahwa kolagen yang ada pada kulit tersebut ikatannya berubah menjadi ikatan rantai tunggal. Hal ini sesuai dengan Hermanto *et al.*, (2014), banyaknya ion H^+ yang berinteraksi dengan struktur tropokolagen. Struktur kolagen yang berbentuk tripel heliks akan kehilangan struktur tripel heliksnya karena ikatan hidrogen didalam kolagen dan ikatan antara tropokolagen melemah, sehingga kolagen terkonversi dan menjadi bentuk yang ideal untuk diekstraksi. Sedangkan pada konsentrasi 1,5% didapatkan rendemen gelatin sebesar 19,45%. Rendemen yang menurun dari konsentrasi 1% disebabkan oleh kerusakan pada kolagen dari kulit ikan akibat konsentrasi yang terlalu tinggi. Hal ini ditunjukkan dari hasil pengamatan bahwa kulit ikan kerapu yang direndam dalam larutan asam dengan konsentrasi 1,5% menjadi terurai. Hal ini sesuai dengan penelitian menurut Peranginangin *et al.*,(2004), bahwa protein akan rusak terdenaturasi bukan hanya oleh panas, tetapi juga oleh pengaruh konsentrasi asam atau pH yang akan mengubah struktur utama

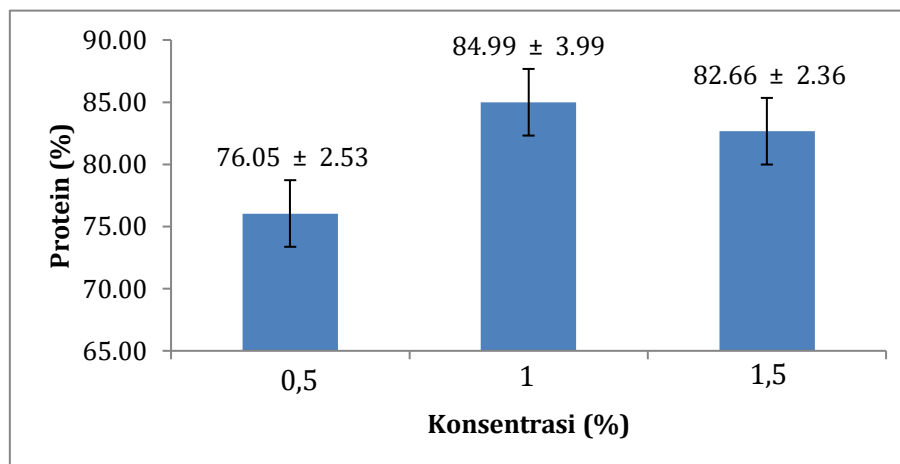
rantai peptida pada protein. Jika protein terdenaturasi, susunan ikatan rantai polipeptida terganggu dan molekul protein terbuka menjadi struktur acak dan selanjutnya terkoagulasi, sehingga jumlah kolagen yang terekstraksi lebih rendah.

Menurut Suptijah *et al.*, (2013), tingginya rendemen yang dihasilkan diduga karena pengaruh jumlah ion H^+ yang menghidrolisis kolagen dari rantai triple heliks menjadi rantai tunggal. Kecenderungan ini mencapai batasnya apabila ion H^+ yang berlebih menghidrolisis kolagen lebih jauh. Konsentrasi asam yang berlebih menimbulkan adanya hidrolisis lanjutan sehingga sebagian gelatin turut terdegradasi dan menyebabkan turunnya jumlah gelatin.

4.2.2 Kadar Protein

Gelatin merupakan salah satu jenis protein konversi yang dihasilkan melalui proses hidrolisis kolagen, pada dasarnya memiliki kadar protein yang tinggi. Gelatin merupakan suatu bahan tambahan makanan, berupa protein murni, yang diperoleh dari penguraian kolagen dengan menggunakan panas (Yenti *et al.*, 2016).

Hasil penelitian diperoleh nilai rata-rata kadar protein gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Grafik rata-rata protein gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.)

Berdasarkan Gambar 5. rata-rata kadar protein gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) pada konsentrasi 0,5% sebesar 76,05%, pada konsentrasi 1% sebesar 84,99% dan pada konsentrasi 1,5% sebesar 82,66%. Nilai rata-rata kadar protein tertinggi didapat pada perlakuan perendaman asam sitrat dengan konsentrasi 1% yaitu sebesar 84,99% dan terendah oleh konsentrasi perendaman asam sitrat sebesar 0,5% sebesar 76,05%.

Berdasarkan hasil ANOVA, rata-rata kadar protein gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) menunjukkan bahwa perlakuan perbedaan konsentrasi asam sitrat yang digunakan pada saat proses perendaman berpengaruh nyata terhadap kadar protein gelatin yang dihasilkan ($P < 0,05$). Pada hasil uji lanjut Tukey, kadar protein pada gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dengan perlakuan konsentrasi 0,5% didapatkan hasil yang berbeda nyata dan berpengaruh terhadap perlakuan lainnya. Sedangkan pada konsentrasi 1% dan 1,5% didapatkan hasil yang tidak berbeda nyata dan tidak berpengaruh terhadap perlakuan lainnya. Hasil uji ANOVA dan uji lanjut Tukey dapat dilihat pada Lampiran 2.

Berdasarkan Gambar 5. didapatkan hasil rata-rata kadar protein gelatin pada konsentrasi 1% yang telah memenuhi SNI (Standar Nasional Indonesia) sebesar 85-90%. Sedangkan pada konsentrasi 0,5% dan 1% belum memenuhi standar SNI (Standar Nasional Indonesia). Kadar protein yang rendah dapat disebabkan oleh perendaman kulit dengan larutan dan juga suhu ekstraksi. Larutan asam yang memiliki konsentrasi rendah, tidak dapat merombak ikatan triple helix menjadi rantai tunggal, sehingga jumlah protein yang terekstrak tidak banyak. Begitu juga dengan konsentrasi yang tinggi, akan menyebabkan hidrolisis lanjutan. Hal ini sesuai dengan penelitian menurut Trilaksani *et al.*,(2012), menyatakan bahwa kadar protein gelatin dipengaruhi oleh proses perendaman kulit dan proses ekstraksi. Proses perendaman terjadi reaksi pemutusan ikatan hidrogen dan pembukaan struktur koil kolagen yang terjadi secara optimum sehingga jumlah protein yang terekstrak pada suhu dan konsentrasi yang tepat menjadi banyak. Tingginya kadar protein yang terkandung dalam gelatin kulit ikan mengindikasikan bahwa gelatin tersebut memiliki mutu yang baik. Berdasarkan berat keringnya, gelatin terdiri dari 98-99% protein. Pada konsentrasi 1% didapat kadar protein yang paling tinggi dikarenakan konsentrasi yang tepat akan menghasilkan asam amino yang banyak pada saat ekstraksi. Hal ini sesuai dengan santoso *et al.*, (2015), dimana konsentrasi asam sitrat yang tepat, menyebabkan berat jumlah molekul asam sitrat dalam larutan tersebut bertambah sehingga kerapatan molekulnya semakin tinggi yang mengakibatkan berat molekul kolagen yang ada dalam tulang Pari menjadi mengembang dan akan pecah pada saat pemanasan, sehingga ikatan kovalen yang menghubungkan asam amino satu dengan yang lainnya terputus, menyebabkan banyaknya asam amino yang terkandung. Santoso *et al.*,(2015), juga menyatakan bahwa kekuatan gel juga dipengaruhi oleh kadar protein, semakin tinggi kadar protein semakin tinggi pula kekuatan gel gelatin.

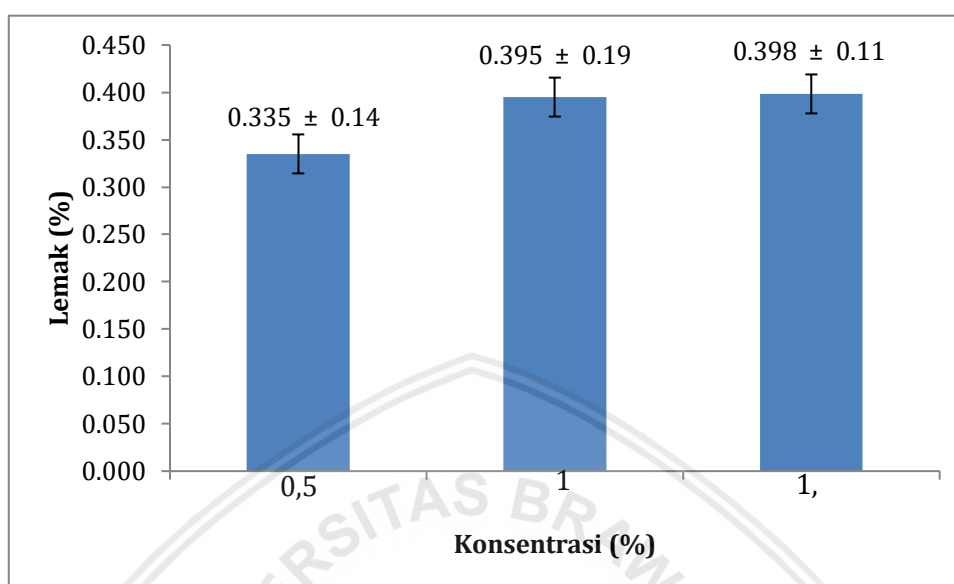
Pernyataan ini sesuai dengan hasil penelitian, dimana konsentrasi 1% memiliki kadar protein yang paling tinggi begitu pula dengan nilai kekuatan gel nya dibandingkan dengan konsentrasi 0,5% dan konsentrasi 1,5%.

Gelatin merupakan salah satu jenis protein konversi yang dihasilkan melalui proses hidrolisis kolagen, pada dasarnya memiliki kadar protein yang tinggi. Gelatin merupakan suatu bahan tambahan makanan, berupa protein murni, yang diperoleh dari penguraian kolagen dengan menggunakan panas. Tingginya kadar protein yang dihasilkan di duga akibat bahan baku yang digunakan berasal dari kulit ikan yang diketahui memiliki kandungan protein yang sangat tinggi (Yenti *et al.*,2016). Menurut Santoso *et al.*,(2015), gelatin merupakan polipeptida yang terdiri atas ikatan kovalen dan ikatan peptida antara asam-asam amino yang membentuknya. Polipeptida ini memiliki dua gugus atom, ujung sebelah kiri mengandung gugus amino dan ujung sebelah kanan mengandung gugus karboksil. Hidroksiprolin dan prolin dikatakan sebagai penstabil gel daripada gelatin.

4.2.3 Kadar Lemak

Kadar lemak merupakan parameter penentuan kualitas gelatin yang penting, karena berpengaruh terhadap mutu bahan selama penyimpanan. Gelatin yang bermutu tinggi diharapkan memiliki kandungan lemak yang rendah, bahkan diharapkan tidak memiliki kandungan lemak (Santoso *et al.*,2015). Penentuan kadar lemak cukup penting karena lemak berpengaruh terhadap perubahan mutu gelatin selama penyimpanan. Kerusakan lemak yang utama diakibatkan oleh proses oksidasi sehingga timbul bau dan rasa tengik yang disebut dengan proses ketengikan (Trilaksani *et al.*,2012).

Hasil penelitian diperoleh rata-rata kadar lemak gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Grafik hasil rata-rata kadar lemak gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.)

Berdasarkan Gambar 6. rata-rata kadar lemak gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) pada konsentrasi 0,5% sebesar 0,335%, pada konsentrasi 1% sebesar 0,395% dan pada konsentrasi 1,5% sebesar 0,398%. Nilai rata-rata kadar lemak tertinggi didapat pada perlakuan 1,5% sebesar 0,398% dan terendah pada konsentrasi 0,5% sebesar 0,335%.

Berdasarkan hasil ANOVA, rata-rata kadar lemak gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) menunjukkan bahwa perlakuan perbedaan konsentrasi asam sitrat yang digunakan pada saat proses perendaman tidak berpengaruh nyata terhadap kadar lemak yang dihasilkan ($P > 0,05$). Sedangkan pada uji lanjut Tukey, kadar lemak pada gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dengan konsentrasi 0,5%; 1% dan 1,5% didapatkan hasil yang tidak berbeda nyata dan

tidak berpengaruh terhadap perlakuan satu dengan yang lainnya. Hasil uji ANOVA dan uji lanjut Tukey dapat dilihat pada Lampiran 3.

Berdasarkan Gambar 6. rata-rata kadar lemak yang terkandung dalam gelatin pada konsentrasi perendaman 0,5%; 1% dan 1,5% tidak berbeda jauh. Hal ini disebabkan karena kadar lemak telah terikat dengan baik oleh asam sitrat. Hal ini sesuai dengan penelitian menurut Santoso *et al.*,(2015), yang menyatakan bahwa diketahui bahwa asam sitrat dapat mengikat lemak. Konsentrasi asam sitrat 4%, 5%, dan 6% tidak berbeda nyata diduga pada penambahan konsentrasi asam sitrat 4% merupakan konsentrasi yang sudah optimal pada proses pengikatan asam dengan lemak, sehingga pada konsentrasi 5% dan 6% memiliki nilai kadar lemak tidak jauh berbeda dengan konsentrasi 4%.

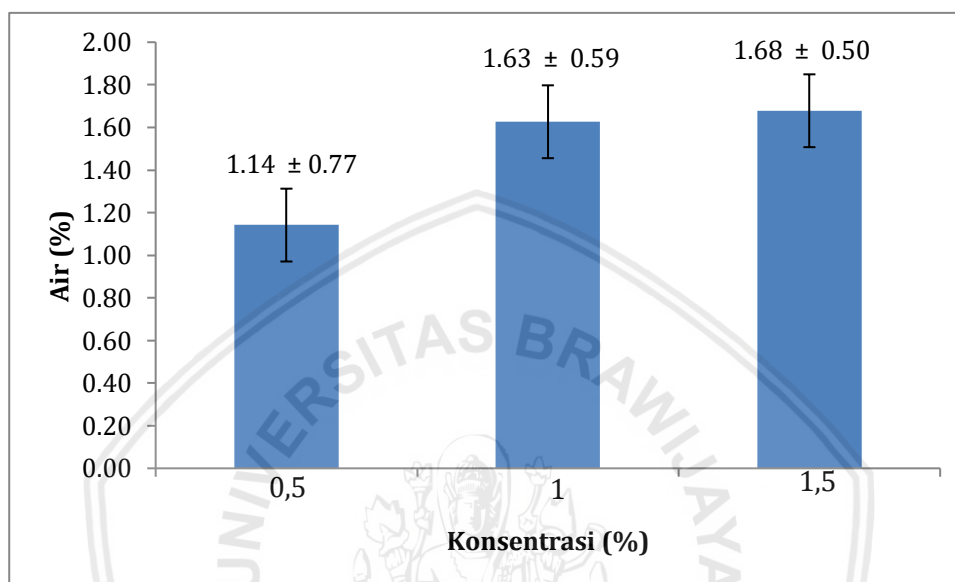
Kadar lemak juga dipengaruhi oleh proses pembuatan, baik pada tahap pembersihan kulit maupun *degreasing* sampai pada tahap penyaringan filtrat hasil ekstraksi. Perlakuan yang baik dari setiap proses akan mengurangi kandungan lemak yang terdapat dalam bahan baku sehingga produk yang dihasilkan memiliki kadar lemak yang rendah. Selain itu Tinggi rendahnya kadar lemak pada gelatin juga dipengaruhi oleh faktor bahan baku yang digunakan untuk membuat gelatin (Yenti, *et al.*, 2016).

4.2.4 Kadar Air

Kadar air suatu bahan sangat berpengaruh terhadap mutu atau kualitasnya. Air yang terkandung dalam bahan dapat mempengaruhi penampakan, tekstur, cita rasa, dan masa simpannya (Santoso *et al.*,2015). Menurut Pranoto *et al.* (2011) kadar air gelatin akan berpengaruh terhadap daya

simpan, karena erat kaitannya dengan aktivitas air yang terjadi selama gelatin tersebut disimpan.

Hasil penelitian diperoleh rata-rata kadar air gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Garfik rata-rata kadar air gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.)

Berdasarkan Gambar 7. rata-rata kadar air gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) pada konsentrasi 0,5% sebesar 1,14%, pada konsentrasi 1% sebesar 1.63% dan pada konsentrasi 1,5% sebesar 1,68%. Nilai rata-rata kadar air tertinggi didapat pada perlakuan konsentrasi perendaman 1,5% yaitu sebesar 1,68% dan terendah oleh konsentrasi perendaman 0,5% sebesar 1,14%.

Berdasarkan hasil ANOVA, rata-rata kadar air gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) menunjukkan bahwa perlakuan perbedaan konsentrasi asam sitrat yang digunakan pada saat proses perendaman tidak berpengaruh nyata terhadap kadar air yang dihasilkan ($P < 0,05$). Sedangkan pada uji lanjut Tukey, kadar air pada gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dengan perlakuan

konsentrasi 0,5%; 1% dan 1,5% didapatkan hasil yang tidak berbeda nyata dan tidak berpengaruh pada perlakuan satu dengan yang lainnya. Hasil uji ANOVA dan uji lanjut Tukey dapat dilihat pada Lampiran 4.

Berdasarkan Gambar 7. kadar air pada gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) yang dihasilkan dengan perendaman 0,5%; 1% dan 1,5% telah memenuhi standar SNI (Standar Nasional Indonesia) tahun 1995 dengan ketentuan maksimum kadar air gelatin sebesar 16%. Kadar air yang terkandung dalam gelatin dipengaruhi oleh lama perendaman dan konsentrasi larutan saat perendaman. Hal ini sesuai dengan penelitian menurut Yuliani dan Marwati (2015), Semakin banyak asam (ion H⁺) dalam larutan perendam dan semakin lama perendaman, menyebabkan struktur kolagen semakin terbuka, dengan demikian semakin sedikit air yang terperangkap secara fisik dalam struktur matriks kolagen yang menyebabkan kadar airnya semakin rendah. Semua interaksi perlakuan memiliki kadar air yang masih memenuhi standar mutu gelatin SNI yaitu maksimum 16 %.

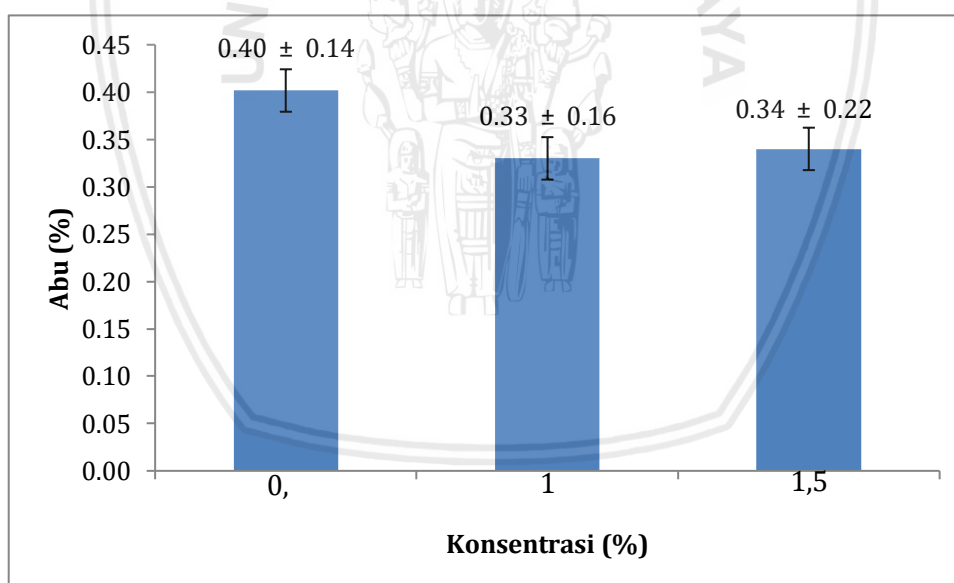
Menurut hasil penelitian Santoso *et al.*,(2015), Perbedaan nilai rata-rata kadar air pada setiap perlakuan dipengaruhi oleh banyaknya kolagen yang terbentuk pada gelatin, maka menyebabkan ikatan hidrogen yang berasal dari non kolagen akan berikatan dengan molekul air, sehingga pada proses pengeringan akan menguap bersamaan dengan air yang menyebabkan kadar air menurun. Diduga pada konsentrasi 4% memiliki kandungan kolagen lebih banyak dibandingkan dengan konsentrasi kontrol, 5% dan 6%. Terbukti dengan tingginya nilai kekuatan gel pada konsentrasi 4%. Hal ini yang menyebabkan nilai kadar air konsentrasi asam sitrat 4% mengalami penurunan. Hidrogen bersifat polar, sifat tersebut yang akan menyebabkan banyaknya air yang menguap pada saat pengeringan dalam oven sehingga kadar air akan menurun. Nilai kadar air

yang mensyaratkan oleh SNI kadar air gelatin maksimum 16%. Selain itu, kadar air gelatin hasil penelitian ini juga memenuhi standar gelatin untuk bahan pangan (14 %) maupun standar untuk bahan farmasi (14%).

4.2.5 Kadar Abu

Kadar abu adalah salah satu parameter yang digunakan untuk melihat kualitas dan tingkat keberhasilan dari proses ekstraksi pada gelatin (Pertwi *et al.*, 2018). Nilai kadar abu suatu bahan pangan menunjukkan besarnya jumlah mineral yang terkandung dalam suatu bahan pangan tersebut (Syahraeni *et al.*, 2017).

Hasil penelitian rata-rata kadar abu gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Grafik rata-rata kadar abu gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.)

Berdasarkan Gambar 8. rata-rata kadar abu gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) pada konsentrasi 0,5% sebesar 0,40%, pada konsentrasi 1% sebesar 0,33% dan pada konsentrasi 1,5% sebesar 0,34%. Nilai rata-rata kadar

abu tertinggi didapat pada perlakuan konsentrasi perendaman 0,5% sebesar 0,40% dan terendah oleh konsentrasi perendaman 1% sebesar 0,33%.

Berdasarkan hasil ANOVA, rata-rata kadar abu gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) menunjukkan bahwa perlakuan perendaman konsentrasi asam sitrat yang digunakan pada saat proses perendaman tidak berpengaruh nyata terhadap kadar abu ($P>0,05$). Pada hasil lanjut Tukey, kadar abu gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dengan perlakuan konsentrasi 0,5%; 1% dan 1,5% didapatkan hasil yang tidak berbeda nyata dan tidak berpengaruh pada perlakuan satu dengan yang lainnya. Hasil uji ANOVA dan uji lanjut Tukey dapat dilihat pada Lampiran 5.

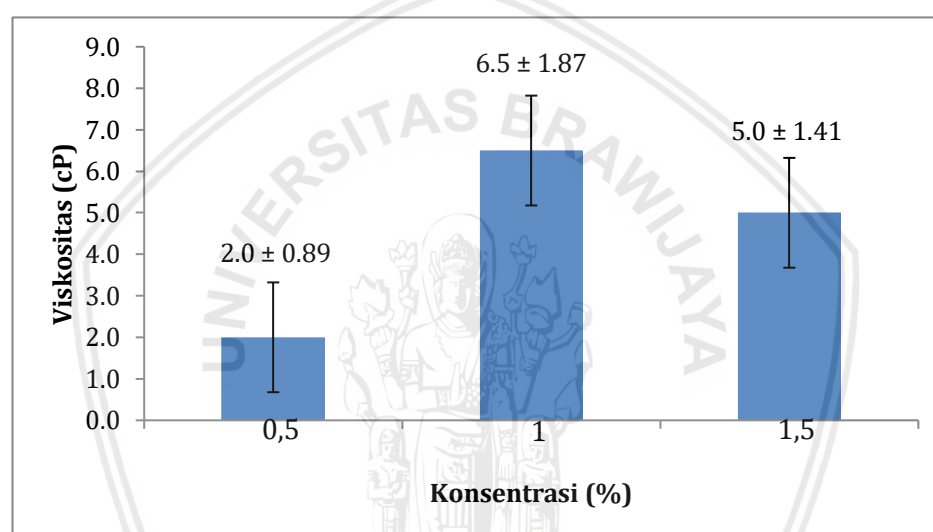
Berdasarkan Gambar 8. rata-rata kadar abu pada gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) yang dihasilkan pada perendaman dengan konsentrasi 0,5%; 1% dan 1,5% telah memenuhi SNI (Standar Nasional Indonesia) tahun 1995 sedangkan tidak memenuhi standar menurut GMIA (*Gelatin Manufacturers Institute of America*). Tinggi rendahnya kadar abu dipengaruhi oleh kadar mineral yang terkandung dalam gelatin. Nilai abu diduga pengaruhi oleh keberadaan mineral dari suatu bahan, semakin banyak mineral maka akan semakin banyak yang akan diuraikan dan tertinggal dalam larutan (ekstraksi) yang akan terukur menjadi kadar abu (Saputra *et al.*, 2015).

4.2.6 Viskositas

Viskositas berhubungan dengan bobot molekul (BM) rata-rata gelatin dan distribusi molekul, sedangkan bobot molekul gelatin berhubungan langsung dengan panjang rantai asam aminonya. Konsentrasi larutan asam yang berbeda

berpengaruh terhadap BM gelatin yang dihasilkan. Asam dapat memecah ikatan protein sampai pada ikatan sekunder sehingga rantai asam amino pada protein hasil perendaman semakin pendek sementara jumlah molekul protein yang dihasilkan semakin banyak. Hal ini akan berpengaruh kepada viskositas gelatin yang dihasilkan (Trilaksani *et al.*, 2012).

Hasil penelitian diperoleh rata-rata viskositas gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus sp.*) dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Grafik rata-rata viskositas gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus sp.*)

Berdasarkan Gambar 9. rata-rata viskositas gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus sp.*) pada konsentrasi 0,5% sebesar 2 cP, pada konsentrasi 1% sebesar 6,5 cP dan pada konsentrasi 1,5% sebesar 5 cP. Nilai rata-rata viskositas tertinggi didapat pada perlakuan 1% yaitu 6,5 cP dan terendah oleh konsentrasi 0,5% sebesar 2 cP. Nilai rata-rata tersebut sesuai dengan standar gelatin menurut GMIA sebesar 1,5 – 7,5 cP dan sesuai dengan British standar yaitu sebesar 1,5 – 7 cP.

Berdasarkan hasil ANOVA, rata-rata viskositas gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) menunjukkan bahwa perlakuan perbedaan konsentrasi asam sitrat yang digunakan pada saat proses perendaman berpengaruh nyata terhadap viskositas yang dihasilkan ($P < 0,05$). Sedangkan pada uji lanjut Tukey, viskositas pada gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dengan perlakuan konsentrasi 0,5% didapatkan hasil yang berbeda nyata dan berpengaruh terhadap perlakuan lainnya. Sedangkan pada perlakuan konsentrasi 1% dan 1,5% didapatkan hasil yang tidak berbeda nyata dan tidak berpengaruh terhadap perlakuan lainnya. Hasil uji ANOVA dan uji lanjut Tukey dapat dilihat pada Lampiran 6.

Pada hasil penelitian, konsentrasi 1% menghasilkan rata-rata viskositas tertinggi, sedangkan pada konsentrasi 1,5% nilai viskositas mengalami penurunan karena terjadinya proses hidrolisis lanjutan pada kolagen karena tingginya konsentrasi asam yang digunakan sehingga menyebabkan berat molekul kolagen menjadi kecil dan berakibat nilai viskositas mengalami penurunan. Hal ini sesuai dengan penelitian menurut Santoso *et al.*, (2015), semakin tinggi konsentrasi asam maka struktur rantai asam amino semakin terbuka yang menyebabkan pemotongan rantai asam amino semakin banyak sehingga dihasilkan rantai yang lebih pendek dan berat molekul kolagen akan menjadi berkurang yang berakibat rendahnya nilai viskositas. Viskositas gelatin dipengaruhi oleh kadar air. Nilai viskositas atau kekentalan larutan gelatin sangat erat kaitannya dengan kadar air gelatin kering. Semakin kecil kadar air gelatin kering maka kemampuannya untuk mengikat air (untuk membentuk gel) akan semakin tinggi. Semakin banyak jumlah air yang terikat oleh gelatin maka larutan akan menjadi semakin kental, yang secara langsung berpengaruh pada semakin tingginya nilai viskositas yang diukur. Sedangkan pada konsentrasi 0,5%,

didapatkan hasil viskositas yang rendah dikarenakan diduga adanya komponen non kolagen yang tinggi seperti mineral karena hidrolisis yang tidak sempurna akibat konsentrasi yang terlalu rendah. Hal ini sesuai dengan penelitian menurut Santoso *et al.*, (2015), Penurunan nilai viskositas diduga karena tingginya komponen non kolagen seperti kandungan mineral yang masih tinggi pada gelatin tulang rawan ikan Pari karena konsentrasi asam yang rendah saat perendaman. Keberadaan mineral yang tergolong jenis kalsium dalam jumlah yang terlalu banyak mempengaruhi karakteristik gel gelatin, seperti kekuatan gel, dan viskositas.

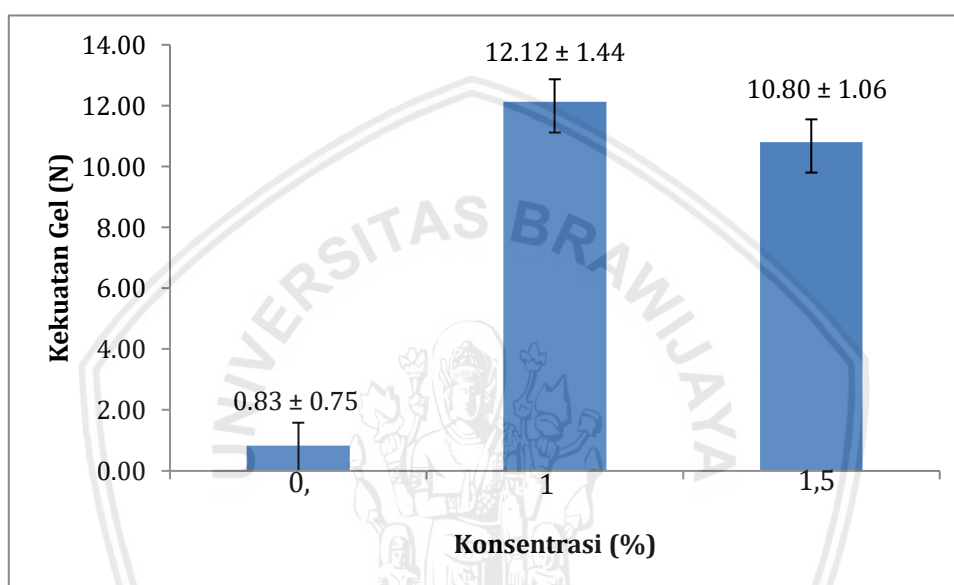
Perbedaan viskositas dapat dikarenakan oleh perbedaan kemampuan jenis asam didalam memutuskan ikatan-ikatan antar molekul. Rendahnya viskositas yang diperoleh, diakibatkan karena pendeknya rantai asam amino yang terkandung didalamnya. Lemahnya ikatan silang akan menyebabkan kolagen mudah terhidrolisis, hidrolisis ini dapat menurunkan berat molekul gelatin yang akan menurunkan viskositas larutan gelatin (Ridhay *et al.*, 2016). Menurut Prihardhani dan Yuniarta (2016), Tingginya nilai viskositas dipengaruhi oleh distribusi molekul gelatin dalam larutan serta berat molekul dari gelatin. Semakin besar berat molekul dari gelatin maka distribusi molekul gelatin dalam larutan semakin lambat sehingga menghasilkan nilai viskositas yang tinggi.

4.2.7 Kekuatan Gel

Kekuatan gel dikenal sebagai nilai bloom dan kemampuan pembentukan gel yang termoreversible didalam air adalah salah satu sifat gelatin yang paling penting. Ketika larutan gelatin dengan konsentrasi lebih dari 0,5% didinginkan, maka akan terjadi peningkatan viskositas, kemudian diikuti dengan pembentukan

gel. Kekuatan gel dipengaruhi oleh konsentrasi gelatin, faktor dari dalam (*intrinsic*), pH, suhu dan bahan tambahan (*Additive*). Faktor *intrinsic* merupakan fungsi dari struktur dan berat molekul (Sugihartono, 2014).

Hasil penelitian rata-rata kekuatan gel gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Grafik rata-rata kekuatan gel gelatin kulit kerapu (*Ephinephelus* sp.)

Berdasarkan Gambar 10. rata-rata kekuatan gel gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) pada konsentrasi 0,5% sebesar 0.83 N, pada konsentrasi 1% sebesar 12,12 N dan pada konsentrasi 1,5% sebesar 10,80 N. Nilai rata-rata kekuatan gel tertinggi didapat pada perlakuan konsentrasi perendaman 1% yaitu sebesar 12,12 N dan nilai terendah oleh konsentrasi perendaman 0,5% sebesar 0,83 N.

Berdasarkan hasil ANOVA, rata-rata kekuatan gel gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) menunjukkan bahwa perlakuan perendaman konsentrasi asam sitrat yang digunakan pada saat proses perendaman

berpengaruh nyata terhadap kekuatan gel gelatin yang dihasilkan ($P < 0,05$). Pada hasil lanjut Tukey, kekuatan gel gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dengan perlakuan konsentrasi 0,5% didapatkan hasil yang berbeda nyata dan berpengaruh terhadap perlakuan lainnya. Sedangkan pada perlakuan konsentrasi 1% dan 1,5% didapatkan hasil yang tidak berbeda nyata dan tidak berpengaruh terhadap perlakuan lainnya. Hasil uji ANOVA dan uji lanjut Tukey dapat dilihat pada Lampiran 7.

Pada hasil penelitian, didapatkan hasil kekuatan gel tertinggi pada konsentrasi 1%. Pada konsentrasi 1,5% dan 0,5%, nilai kekuatan gel mengalami penurunan disebabkan karena perbedaan konsentrasi asam sitrat yang digunakan. Penggunaan konsentrasi asam yang rendah tidak dapat menghidrolisis kolagen secara sempurna sedangkan konsentrasi asam yang tinggi dapat menyebabkan hidrolisis lanjutan. Hal ini sesuai dengan penelitian Menurut Rahmawati dan Muhammad (2017), Perbedaan kekuatan gel ini disebabkan oleh proses hidrolisis kolagen akibat perbedaan konsentrasi larutan yang digunakan. Perbedaan konsentrasi saat hidrolisis mengakibatkan perbedaan ukuran rantai peptida kolagen. Konsentrasi tertentu mampu mengkonversi kolagen menjadi gelatin secara efektif. Artinya ukuran rantai peptida kolagen gelatin yang dihidrolisis lebih panjang dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Ukuran panjang rantai peptida gelatin berkaitan dengan berat molekul produk gelatin tersebut. Semakin panjang rantai peptidanya, maka semakin besar pula berat molekulnya dan semakin tinggi pula nilai kekuatan gelnya. Pada penelitian ini, gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) yang dihasilkan dari perendaman asam sitrat konsentrasi 0,5%; 1% dan 1,5% telah memenuhi standar menurut GMIA (*Gelatin Manufacturers Institute of*

America) maupun menurut British Standard dengan nilai minimal kekuatan gel sebesar 0,3 N – 7 N.

Menurut Yenti *et al.*, (2016), Gelatin yang berasal dari mamalia memiliki kekuatan gel yang lebih tinggi dibandingkan bahan baku yang berasal dari ikan. Kekuatan gel yang dihasilkan dipengaruhi oleh bahan baku yang digunakan, jenis perlakuan awal (perendaman) dan kondisi ekstraksi. Kekuatan gel berkaitan dengan panjang rantai asam amino dimana rantai asam amino yang panjang akan menghasilkan kekuatan gel yang besar pula. Pada kondisi pH yang sesuai akan terjadi hidrolisa yang optimal dari kolagen menjadi gelatin. Semakin banyak kolagen yang terhidrolisa, maka susunan asam amino menjadi semakin rapat dan semakin panjang, sehingga daya serap air menjadi semakin kuat dan kekuatan gel yang dihasilkan juga lebih tinggi.

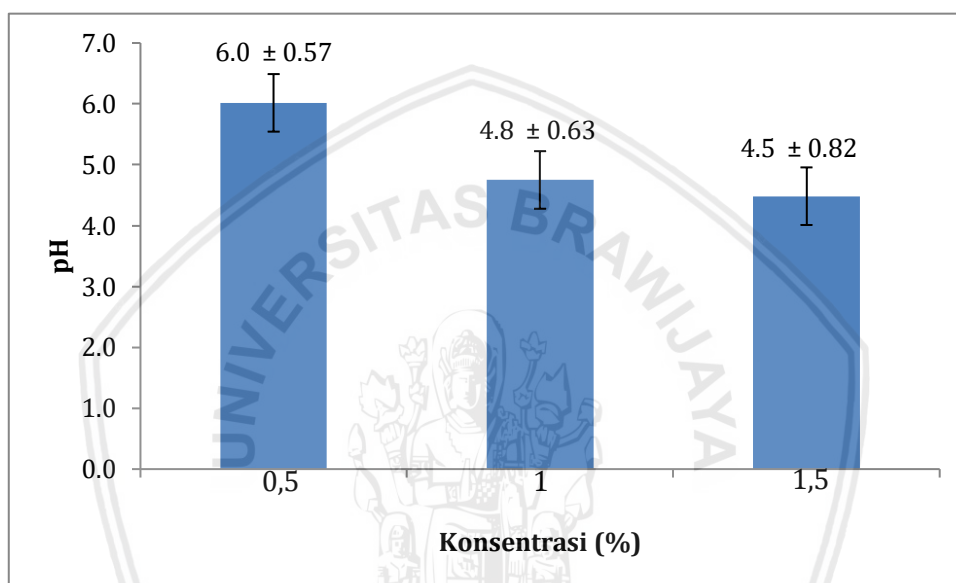
Kekuatan gel sangat penting dalam penentuan perlakuan yang terbaik dalam proses ekstraksi gelatin. Pembentukan gel (gelatinisasi) merupakan suatu fenomena penggabungan atau pengikatan silang rantai-rantai polimer membentuk jalinan tiga dimensi yang kontinyu, sehingga dapat menangkap air di dalamnya menjadi suatu struktur yang kompak dan kaku yang tahan terhadap aliran di bawah tekanan. Kemampuan inilah yang menyebabkan gelatin sangat luas penggunaannya, baik dalam bidang pangan, farmasi, dan bidang-bidang lainnya (Hermanto, 2014).

4.2.8 pH

pH yang dihasilkan akan berpengaruh terhadap aplikasi gelatin. Penggunaan gelatin pada produk pangan ditentukan oleh pH. Gelatin dengan pH netral sangat baik untuk produk daging, farmasi, kromatografi, cat, dan

sebagainya. Gelatin dengan pH rendah sangat baik untuk digunakan dalam produk juice, jelly, sirup dan sebagainya. Nilai pH gelatin ini sangat dipengaruhi oleh jenis larutan perendaman yang digunakan untuk mengekstrak gelatin tersebut (Agustin dan Meity, 2015).

Hasil rata-rata pH gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Grafik rata-rata pH gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.)

Berdasarkan Gambar 11. rata-rata nilai pH gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) pada konsentrasi 0,5% sebesar 6, pada konsentrasi 1% sebesar 4,8 dan pada konsentrasi 1,5% sebesar 4,5. Nilai rata-rata pH tertinggi didapat pada perlakuan konsentrasi perendaman 0,5% yaitu sebesar 6 dan terendah oleh konsentrasi perendaman 1,5% sebesar 4.5.

Berdasarkan hasil ANOVA, rata-rata nilai pH gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) menunjukkan bahwa perlakuan perendaman konsentrasi asam sitrat yang digunakan pada saat proses perendaman berpengaruh nyata

terhadap nilai pH yang dihasilkan ($P < 0,05$). Pada hasil lanjut Tukey, nilai pH gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dengan perlakuan konsentrasi 0,5% didapatkan hasil yang berbeda nyata dan berpengaruh terhadap perlakuan lainnya. Sedangkan pada perlakuan konsentrasi 1% dan 1,5% didapatkan hasil yang tidak berbeda nyata dan tidak berpengaruh terhadap perlakuan lainnya. Hasil uji ANOVA dan uji lanjut Tukey dapat dilihat pada Lampiran 8.

Berdasarkan Gambar 11. nilai pH menurun dengan meningkatnya konsentrasi hal ini sesuai dengan Santoso *et al.*, (2015), Terlihat kecenderungan semakin besar konsentrasi asam sitrat, maka nilai pH semakin rendah. Hal ini disebabkan semakin banyak asam yang digunakan maka semakin banyak pula asam yang tidak bereaksi pada jaringan fibril dikarenakan banyaknya asam yang tertinggal dan mengendap pada tulang Pari sehingga pada proses ekstraksi asam ikut terhidrolisis bersama kolagen dari tulang ikan Pari. Bahwa semakin tinggi pH larutan perendaman, maka konsentrasi larutan asam yang diserap selama perendaman semakin rendah, begitu pun sebaliknya, karena disebabkan jaringan fibril pada kolagen menjadi jenuh karena reaksi asam yang terlalu tinggi.

Pada penelitian ini, nilai pH pada konsentrasi 0,5%; 1% dan 1,5% telah memenuhi standar GMIA (*Gelatin Manufacturers Institute of America*) dan British Standard (1975). Menurut Ratnasari *et al.*, (2014), Nilai pH tinggi dan rendah ini dapat dihasilkan dari proses ekstraksi, pembengkakan kolagen kulit telah terjadi sehingga pada proses asam (asam sitrat) proses ekstraksi pembengkakan kulit berkembang, dan sebagai akibatnya, pada proses pencucian tidak tercuci dengan baik hingga mencapai pH netral. Perubahan pH diketahui mempengaruhi viskositas dan viskositas minimum untuk gelatin telah diamati pada kisaran pH 6-8. Berdasarkan standar GMIA, pH gelatin asam adalah 3,8-5,5 untuk food grade

dan 4,5-5,5 untuk kapsul keras, kapsul lunak, dan tablet. Sedangkan pH gelatin basa adalah 5-7,5 untuk food grade dan 5,3-6,5 untuk food grade kapsul keras, kapsul lunak dan tablet.

4.2.9 Perlakuan Terbaik

Perlakuan terbaik ditentukan dengan metode De Garmo. Penentuan perlakuan terbaik melibatkan beberapa parameter seperti kekuatan gel, viskositas, kadar protein, kadar lemak, kadar air, kadar abu dan pH. Hasil perlakuan terbaik ini kemudian digunakan untuk menguji profil asam amino. Menurut Diniyah *et al.* (2012), penentuan perlakuan terbaik dapat menggunakan indeks parameter dengan prinsip menentukan parameter pengamatan manakah yang sesuai prioritas pengamatan. Setelah itu bobot dapat dihitung dengan cara menentukan nilai terbaik (Ntb), nilai terjelek (Ntj) dan nilai perlakuan (Np) sehingga dapat dihitung dan didapatkan perlakuan terbaik. Rumus perhitungan perlakuan terbaik dapat menggunakan rumus:

$$NE = \frac{Np - Ntj}{Ntb - Ntj}$$

Dimana:

- NE = Nilai Efektivitas
- NP = Nilai Perlakuan
- Ntj = Nilai Terburuk
- Ntb = Nilai Terbaik

Berdasarkan uji De Garmo diketahui bahwa gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dengan perlakuan perendaman menggunakan konsentrasi

asam sitrat sebesar 1% adalah hasil terbaik. Hasil perlakuan terbaik dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Perlakuan Terbaik gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.)

Parameter	Satuan	Konsentrasi 1%
Kekuatan Gel	N	12,12
Viskositas	cP	6,5
Rendemen	%	21,75
pH	-	4,8
Kadar Protein	%	84,99
Kadar Air	%	1,63
Kadar Abu	%	0,33
Kadar Lemak	%	0,398

Berdasarkan Tabel 5, diketahui bahwa karakteristik fisika dan kimia gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dipengaruhi oleh konsentrasi asam sitrat yang tepat. Menurut Santoso *et al.*, (2015), dimana konsentrasi asam sitrat yang tepat, menyebabkan berat jumlah molekul asam sitrat dalam larutan tersebut bertambah sehingga kerapatan molekulnya semakin tinggi yang mengakibatkan berat molekul kolagen yang ada dalam tulang Pari menjadi mengembang dan akan pecah pada saat pemanasan, sehingga ikatan kovalen yang menghubungkan asam amino satu dengan yang lainnya terputus, menyebabkan banyaknya asam amino yang terkandung. Hasil uji perhitungan De Garmo dapat dilihat pada Lampiran 9.

4.2.10 Profil Asam Amino

Profil asam amino gelatin adalah kandungan asam amino yang merupakan perbedaan utama antara gelatin dari kulit ikan dan gelatin yang bersumber dari hewan mamalia. Hal ini dikarenakan asam amino dapat menstabilkan struktur selama proses pembentukan gel dan memberikan sifat viskoelastis lebih baik pada gelatin yang bersumber dari ikan (Foegeding *et al.*,

1996). Menurut Suprayitno dan Titik (2017), Struktur asam amino secara umum adalah satu atom C yang mengikat empat gugus: gugus amina (NH₂), gugus karboksil (COOH), atom hydrogen (H) dan satu gugus sisa (R, dari residue) atau disebut juga gugus atau rantai samping yang membedakan satu asam amino dengan asam amino lainnya.

Berdasarkan hasil perhitungan perlakuan terbaik, dilakukan pengujian terhadap 15 jenis asam amino. Hasil Analisa asam amino gelatin ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Asam Amino pada Gelatin ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) perlakuan terbaik pada konsentrasi 1%

Parameter	Unit	Result
L-Serin	%	2.63
L-Asam Glutamat	%	7.57
L-Fenilalanin	%	2.12
L-Isoleusin	%	0.79
L-Valin	%	1.67
L-Alanin	%	8.6
L-Arginin	%	8.06
Glisin	%	21.07
L-Lisin	%	2.58
L-Asam Aspartat	%	4.11
L-Leusin	%	1.92
L-Tirosin	%	0.42
L-Prolin	%	10.23
L-Threonin	%	2.37
L-Histidin	%	0.71

Sumber: PT. Saraswanti Indo Genetech Bogor, (2019).

Berdasarkan Tabel 6. Didapatkan 15 asam amino yang terkandung dalam gelatin ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.), L-Serin sebesar 2,63%; L-Asam Glutamat sebesar 7,57%; L-Fenilalanin sebesar 2,12%; L-Isoleusin sebesar 0,79%; L-Valin sebesar 1,67%; L-Alanin sebesar 8,6%; L-Arginin sebesar 8,06%;

Glisin sebesar 21,07%; L-Lisin sebesar 2,58%; L-Asam Aspartat sebesar 4,11%; L-Leusin sebesar 1,92%; L-Tirosin sebesar 0,42%; L-Prolin sebesar 10,23%; L-Theorine sebesar 2,37% dan L-Histidine sebesar 0,71%. Yang tergolong asam amino esensial terdiri dari L-Fenilalanin, L-Isoleusin, L-Valin, L-Arginin, L-Lisin, L-Leusin, L-Threonin dan L-Histidin. Sedangkan yang termasuk dalam golongan asam amino non esensial adalah L-Serin, L-Asam Glutamat, L-Alanin, Glisin, L-Asam Aspartat, L-Tirosin dan L-Prolin. Menurut Mandila dan Nurul (2013), Asam amino merupakan komponen utama penyusun protein dan dibagi dalam dua komponen yaitu asam amino esensial dan asam amino non esensial. Asam amino esensial tidak dapat diproduksi dalam tubuh sehingga harus ditambahkan dalam bentuk asupan makanan, sedangkan asam amino non esensial dapat diproduksi dalam tubuh. Asam amino umumnya berbentuk serbuk dan mudah larut dalam air, namun tidak larut dalam pelarut organik non polar. Pada hasil analisa profil asam amino esensial didapat hasil tertinggi pada L-Arginin 8,06% dan terendah pada L-Isoleusin 0,79%. Pada hasil analisa profil asam amino non esensial didapat hasil tertinggi oleh Glisin 21,07% dan terendah oleh L-Tirosin 0,42%. Menurut Said *et al.*, (2011), jumlah asam amino yang terkandung dalam gelatin dipengaruhi oleh jenis larutan yang digunakan. Bahan *curing* asam diketahui memiliki kinerja yang lebih kuat dalam memecah ikatan-ikatan intermolekuler rantai asam amino, sehingga memungkinkan beberapa rantai asam amino tertentu mengalami proses denaturasi dan proses pelarutan hingga akhirnya mengalami kerusakan secara permanen dan berdampak pada terjadinya perubahan komposisi dari asam amino itu sendiri. Saat proses pencucian dan netralisasi, kemungkinan sejumlah protein kolagen yang larut terbuang bersama sisa pencucian yang akhirnya akan mempengaruhi komposisi asam amino yang terkandung dalam suatu gelatin. Asam amino merupakan komponen utama penyusun protein kolagen yang peka terhadap zat asam,

dimana zat asam yang terkontaminasi secara langsung akan mempengaruhi struktur protein kolagen.

Menurut Santoso *et al.*,(2018), kandungan asam amino terbesar pada gelatin adalah asam amino glisin. Rantai polipeptida gelatin tersusun atas perulangan dari asam amino glisin-prolin-prolin atau glisin-hidroksiprolin-prolin. Kandungan asam amino lain yang jumlahnya cukup besar setelah glisin adalah prolin. Gelatin dengan kandungan asam amino glisin dan prolin tinggi akan mempunyai nilai kekuatan gel yang tinggi pula. Kandungan asam amino yang penting dalam memengaruhi karakteristik gelatin adalah asam amino prolin. Hasil penelitian Santoso *et al.*,(2013), menunjukkan bahwa gelatin yang mempunyai asam amino glisin dan prolin tinggi juga mempunyai kekuatan gel yang tinggi pula. Ketika gelatin diaplikasikan dalam pembuatan marshmallow, komposisi asam amino prolin dan glisin yang berperan dalam pembentukan gel. Dari perlakuan terbaik dengan konsentrasi perendaman asam sitrat sebesar 1%, Total glisin pada uji asam amino pada gelatin kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) sebesar 21,07% sedangkan prolin sebesar 10,23%. Jika dibandingkan dengan penelitian oleh Suryanti *et al.*,(2017), glisin yang dihasilkan dari gelatin kulit ikan nila (*Oreochromis niloticus*) sebesar 14,58% sedangkan pada prolin sebesar 3,84%. Sedangkan menurut penelitian Saputra *et al.*, (2015), glisin yang dihasilkan dari gelatin kulit ikan patin (*Pangasius pangasius*) sebesar 21,08% dan lisin yang dihasilkan sebesar 3,64%. Menurut Nasution *et al.*,(2018), Kadar asam amino gelatin pada cara asam lebih rendah dibanding dengan cara basa, perbedaan ini dapat terjadi karena hilangnya asam amino selama hidrolisis kolagen pada cara asam. Glisin dan prolin adalah dua asam amino utama yaitu hampir seperempat dari total asam amino Gelatin dibuat dari hidrolisis parsial kolagen. Rantai alfa pada kolagen umumnya mempunyai sekuen berulang glisin-

X-Y. Prolin sering terjadi pada posisi X Sehingga asam amino tersebut paling banyak terdapat pada gelatin. Kombinasi ini lebih disukai karena alasan sterik dan elektrostatis. Menurut Hue *et al.*, (2017), Glisin merupakan asam amino yang paling banyak ditemukan dalam gelatin Asam amino jenis ini menyumbang 23% dari total asam amino. Diketahui bahwa stabilitas termal dipengaruhi oleh jumlah asam amino. Selain itu, jumlah asam amino pada gelatin yang bersumber dari ikan bergantung pada habitat ikan. Kandungan asam amino gelatin dari ikan air dingin cenderung lebih rendah daripada jumlah asam amino dari gelatin yang diekstrak dari jenis ikan air hangat.

Karakteristik fisika dan kimia dari suatu gelatin dapat dipengaruhi oleh komposisi asam amino yang dimilikinya, yang mana sama dengan kolagen induk. Hal ini yang membedakan gelatin yang dihasilkan dari spesies hewan yang berbeda dan juga tipe jaringan yang dimilikinya. Salah satunya adalah karakteristik kekuatan gel dari gelatin. Nilai kekuatan gel yang tinggi berhubungan dengan jumlah glisin dan prolin yang dimilikinya. Adanya ikatan hidrogen antara molekul air dan gugus hidroksil bebas pada asam amino dapat mempengaruhi nilai kekuatan gel dari gelatin (Hafidz, *et al.*, 2011).

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah:

1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perendaman kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.) dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh nyata terhadap karakteristik fisika meliputi rendemen, kekuatan Gel dan Viskositas serta karakteristik kimia meliputi pH, kadar protein, kadar lemak, kadar air dan kadar kadar abu.
2. Konsentrasi terbaik didapatkan pada konsentrasi perendaman asam sitrat sebesar 1% meliputi nilai rata-rata kekuatan gel sebesar 12,12 N, nilai rata-rata viskositas sebesar 6,5 cP, nilai rata-rata rendemen sebesar 21,75%; nilai rata-rata pH sebesar 4,8; rata-rata kadar protein sebesar 84,99%; rata-rata kadar air sebesar 1,63%; rata-rata kadar abu sebesar 0,33% dan rata-rata kadar lemak sebesar 0,398%. Hasil analisa profil asam amino pada gelatin kulit ikan kerapu dengan glisin 21,07% dan prolin sebesar 10,23%.

5.2 Saran

Saran yang dapat saya berikan yaitu pada parameter kadar protein dalam penelitian ini masih mengandung kadar protein yang rendah dibandingkan dengan standar GMIA (*Gelatine Manufacturers Institute of America*) tahun 2007 yaitu sebesar 98-99%. Sehingga diharapkan pada penelitian selanjutnya dapat dilakukan penambahan bahan yang dapat meningkatkan kadar protein dalam gelatin ikan atau dilakukan perlakuan perendaman dengan larutan yang tepat maupun suhu yang tepat saat ekstraksi sehingga dapat menghasilkan gelatin dengan kualitas tinggi dalam parameter kadar protein menurut GMIA (*Gelatine Manufacturers Institute of America*) tahun 2007.



DAFTAR PUSTAKA

- Adinugraha, B.S dan T.N. Wijayaningrum. 2017. Rancangan acak lengkap dan rancangan acak kelompok pada bibit ikan. *Seminar Nasional Pendidikan, Sains dan Teknologi FMIPA UMS*. ISBN: 978-602-61599-6-0
- Agustin, A.T dan M. Sompie. 2015. Kajian gelatin kulit ikan tuna (*Thunnus albacares*) yang diproses menggunakan asam asetat. *PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON*. Vol. **1** (5): 1186-1189. ISSN: 2407-8050
- Angelia, I.O. 2016. Analisis kadar lemak pada tepung ampas kelapa. *Jurnal Tech*. Vol. **4** (1): 19-23
- Anggraini, D.R., A.A. Damai dan Q. Hasani. 2018. Analisis kesesuaian perairan untuk budidaya ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) di perairan Pulau Tegal Teluk Lampung. *E-Journal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. Vol. **6** (2): 719-728. ISSN: 2597-5315
- Astiana, I., Nurjanah dan T. Nurhayati. 2016. Karakteristik kolagen larut asam dari kulit ikan ekor kuning. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol. **19** (1): 79-93
- Atma, Y. 2016. Pemanfaatan limbah ikan sebagai sumber alternative produksi gelatin dan peptide bioaktif: review. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi*. ISSN: 2460-8416
- Aventi. 2015. Penelitian pengukuran kadar air buah. *Seminar Nasional Cendekiawan*. Hlm: 12-27. ISSN: 2460-8696
- Azara, R. 2017. Pembuatan dan analisis sifat fisikokimia gelatin dari limbah kulit ikan kerapu (*Ephinephelus* sp.). *Jurnal REKAPANGAN*. Vol. **11** (1): 62-69
- Azka, A., Nurjanah, A. M. Jacob. 2015. Profil Asam Lemak, Asam Amino, Total Karotenoid, dan α -tokoferol Telur Ikan Terbang. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol. **18**(3): 250-261.
- BPOM. 2013. Batas Maksimum Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Pengatur Keasaman No.8. Sekretariat Negara. Jakarta
- BS 757: 1975. *Gelatine. British Standard*
- Chumsae, C., L.L. Zhou., Y. Shen., J. Wohlgemuth., E. Fung., R. Burton., C. Radziejewski and Z.S. Zhou. 2014. Discovery of chemical modification by citric acid in a recombinant monoclonal antibody. *Journal of Analytical Chemistry*. Vol. **86**: 8932-8936

- Damodaran, S. and Paraf, A. 1997. Food Protein and Their Application. Marcel Dekker Inc, New York.
- Diniyah, N., S. B. Wijanarko, dan H. Purnomo. 2012. Teknologi Pengolahan Gula Coklat Cair Nira Siwalan (*iBorassus flabellifer*). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Vol. **23** (1): 53-57.
- Fajarwati, N.H., N.H.R. Parnanto dan G.J. Manuhara. 2017. Pengaruh konsentrasi asam sitrat dan suhu pengeringan terhadap karakteristik fisik, kimia dan sensoris manisan kering labu siam (*Sechium edule Sw.*) dengan pemanfaatan pewarna alami dari ekstrak rosella ungu. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*. Vol. **10** (1): 50-66.
- Finarti., Renol., D. Wahyudi., M. Akbar dan R. Ula. 2018. Rendemen dan pH gelatin kulit nila (*Oreochromis niloticus*) yang direndam pada berbagai konsentrasi HCl. *Jurnal Pengolahan Pangan*. Vol. **3** (1): 22-27. ISSN: 2621-6973
- Firlianty., E. Suprayitno., H. Nursyam., Hardoko and A. Mustafa. 2013. Chemical composition and amino acid profile of channidae collected from Central Kalimantan Indonesia. *IEESE International Journal of Science and Technology*. Vol. **2** (4): 25-31. ISSN: 2252-5297
- GMIA. 2012. Gelatin Handbook. *Gelatin Manufacturers Institute of America*
- Gunawan, F., P. Suptijah dan Uju. 2017. Ekstraksi dan Karakterisasi Gelatin Kulit Ikan Tenggiri (*Scomberomorus commersonii*) dari Provinsi Kepulauan Bangka Belitung. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol. **20** (3): 568-581
- Hafidz, R.M., C.M Yaakob., I. Amin and A. Noorfaizan. 2011. Chemical and functional properties of bovine and porcine skin gelatin. *International Food Research Journal*. Vol. **18**: 813-817
- Hardikawati, T., N.M. Puspawati dan K. Ratnayani. 2016. Kajian pengaruh variasi konsentrasi asam sitrat terhadap kekuatan gel produk gelatin kulit ayam broiler dikaitkan dengan pola proteinnya. *Jurnal Kimia*. Vol. **10** (1): 115-124. ISSN: 1907-9850
- Hardoko., E. Suprayitno., T.D. Sulistiyati dan A.A. Arifin. 2017. Karakterisasi nugget pindang ikan-ampas tahu yang ditambah tepung tulang ikan sebagai sumber kalsium. *Jurnal Sains dan Teknologi*. Vol. **1** (1): 68-84. ISSN: 2598-9596
- Hastuti, D dan I. Sumpe. 2007. Pengenalan dan proses pembuatan gelatin. *Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian*. Vol. **3** (1): 39-48
- Hasdar, M dan Y.D. Rahmawati. 2016. Nilai pH, titik leleh dan viskositas pada gelatin kulit domba asal brebes yang dikatalis berbagai konsentrasi NaOH. *E-Journal Politeknik Harapan Bersama Tegal*. Vol. **5** (2): 98-102

- Herman., R. Rusli., E. Ilimu., R. Hamid dan Haeruddin. 2011. Analisis kadar mineral dalam abu buah nipa (*Nypa fructicans*) Kaliwanggu Teluk Kendari Sulawesi Tenggara. *Journal Trop. Pharm. Chem.* Vol. 1 (2): 107-113. ISSN: 2087-7099
- Hermanto, S., M.R. Hudzaifah dan A. Muawanah. 2014. Karakteristik fisikokimia gelatin kulit ikan sapu-sapu (*Hyposarcus paradalis*) hasil ekstraksi asam. *Jurnal Kimia Valensi.* Vol. 4 (2): 109-120. ISSN: 1978-8193
- Ismi, S., Y.N. Asih dan D. Kusumawati. 2014. Peningkatan produksi dan kualitas benih kerapu dengan program hibridasi. *Jurnal Oseanologi Indonesia.* Vol. 1 (1): 1-5
- Iskandar, A.A dan R. Effendi. 2013. Pengaruh brand image produk terhadap kesetiaan pelanggan pengguna internet modem smartfren connex di Bandar Lampung. *Jurnal Manajemen dan Bisnis.* Vol. 4 (1): 24-42. ISSN: 2087-0701
- Lambert, R.J and M. Stratford. 1999. Weak-acid preservatives: modelling microbial inhibition and response. *Journal of Applied Microbiology.* Vol.86 (1): 157-164.
- Lasabuda, R. 2013. Pembangunan wilayah pesisir dan lautan dalam perspektif Negara Kepulauan Republik Indonesia. *Jurnal Ilmiah Platax.* Vol. 1 (2): 92-101. ISSN: 2302-3589
- Mariskha, P.R dan N. Abdulgani. 2012. Aspek reproduksi ikan kerapu macan (*Ephinephelus sexfasciatus*) di perairan Glondoggede Tuban. *Jurnal Sains dan Seni ITS.* Vol. 1 (1): 27-31. ISSN: 2301-928X
- Minah, F.N., M.D.W. Siga dan C. Pratiwi. 2016. Ekstraksi gelatin dari hidrolisa kolagen limbah tulang ikan tuna dengan variasi jenis asam dan waktu ekstraksi. *Seminar Nasional Inovasi dan Aplikasi Teknologi di Industri.* ISSN: 2058-4218
- Mandila, S.P dan N. Hidajati. 2013. Identifikasi asam amino pada cacing sutra (*Tubifex sp.*) yang diekstrak dengan pelarut asam asetat dan asam laktat. *UNESA Journal of Chemistry.* Vol. 2 (1): 103-108
- Miskah, S., I.M. Ramadiani dan A.F. Hanif. 2010. Pengaruh konsentrasi CH₃COOH & HCl sebagai pelarut dan waktu perendaman pada pembuatan gelatin berbahan baku tulang/ kulit kaki ayam. *Jurnal Teknik Kimia.* Vol. 17 (1): 1-6
- Muhammad, I., A. Rusgiyono dan M.A. Mukid. 2014. Penilaian cara mengajar menggunakan rancangan acak lengkap. *Jurnal Gaussian.* Vol. 3 (2): 183-192. ISSN: 2339-2541
- Munthe, I., M. Isa., Winaruddin., Sulasmi., Herrialfian dan Rusli. 2016. Analisa kadar protein ikan depik (*Rasbora tawarensis*) di danau laut tawar Kabupaten Aceh Tengah. *Jurnal Medika Veterinaria.* Vol. 10 (1): 67-69. ISSN: 0853-1943

- Nasution, A.Y., Harmita dan Y. Harahap. 2018. Karakterisasi gelatin hasil ekstraksi dari kulit ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) dengan proses asam dan basa. *Journal Pharmaceutical Sciences and Research*. Vol. **5** (3): 142-151. ISSN: 2407-2354
- Natsir, N.A dan S. Latifa. 2018. Analisis kandungan protein total ikan kakap merah dan ikan kerapu bebek. *Jurnal Biology Science dan Education*. Vol. **7** (1): 49-55. ISSN: 2541-1225
- Nugraha, W.C., Y.S. Ridwan dan E. Boes. 2015. Analisis proksimat pada produk daging olahan dan nilai ketidakpastiannya. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian dan PKM Sains dan Teknologi*. Vol. **5** (1): 1-8. ISSN: 2089-3582
- Nurilmala, M., A.M. Jacob dan R.A. Dzaky. 2017. Karakteristik gelatin kulit ikan tuna sirip kuning. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol. **20** (2): 339-350
- Ovelando, R., M.A. Nabilla dan A.H. Surest. 2014. Fermentasi buah markisa (*Passiflora*) menjadi asam sitrat. *Jurnal Ilmu Teknik Universitas Sriwijaya*. Vol. **1** (1): 1-7. ISSN: 2338-7459
- Peranginangin, R., N. Haq., W.F. Ma'ruf dan A. Rusli. 2004. Ekstraksi gelatin dari kulit ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) secara proses asam. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. Vol. **10** (3): 75-84
- Pertiwi, M., Y. Atma., A.Z. Mustopa dan R. Maisarah. 2018. Karakteristik Fisik dan Kimia Gelatin dari Tulang Ikan Patin dengan *Pre-Treatment* Asam Sitrat. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. Vol. **7** (2): 83-91
- Pranoto, Y., D.W. Marseno and H. Rahmawati. 2011. Characteristic of gelatins extracted from fresh and sun-dried seawater fish skin in Indonesia. *International Food Research Journal*. Vol. **18** (4): 1335-1341
- Prihardhani, D.I. dan Yunianta. 2016. Ekstraksi gelatin kulit ikan lele (*Lethrinus* sp.) dan aplikasinya untuk produk permen jeli. *Jurnal Pangan dan Argo Industri*. Vol. **4** (1): 356-366
- Puspadewi, R., R. Anugrah dan D. Sabila. 2017. Kemampuan *Aspergillus wentii* dalam menghasilkan asam sitrat. *Kartika-Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol. **5** (1): 15-20. ISSN: 2502-3438
- Putra, A.B.N., L. Sahubawa dan N. Ekantari. 2013. Ekstraksi dan karakterisasi kolagen dari kulit ikan nila hitam (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. Vol. **8** (2): 171-180
- Rachmania, R.A., F. Nisma dan E. Mayangsari. 2013. Ekstraksi gelatin dari tulang ikan tenggiri melalui hidrolisis menggunakan larutan basa. *Media Farmasi*. Vol. **10** (2): 18-28

- Rahayu, F dan N.H. Fithriyah. 2015. Pengaruh waktu ekstraksi terhadap rendemen gelatin dari tulang ikan nila merah. *Seminar Nasional Sains dan Teknologi*. ISSN: 2407-1846
- Rahmawati, H dan Y. Pranoto. 2012. Sifat fisiko-kimia gelatin kulit ikan belut dan lele pada keadaan segar dan kering. *Journal Fish Scientiae*. Vol. **2** (3): 18-30
- Rahmawati, Y.D dan M. Hasdar. 2017. Kualitas viskositas dan kekuatan gel gelatin kulit domba yang dihidrolisis menggunakan larutan NaOH. *Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian*. Vol. **1** (1): 70-74
- Rapika., Zulfikar dan Zumarni. 2016. Kualitas fisik gelatin hasil ekstraksi kulit sapi dengan lama perendaman dan konsentrasi asam klorida (HCl) yang berbeda. *Jurnal Peternakan*. Vol **13** (1): 26-32. ISSN: 1829-8729
- Ratnasari, I and Firlianty. 2016. Physico-chemical characterization and skin gelatin rheology of four freshwater fish as alternative gelatin source. *Journal ACCL Bioflux*. Vol. **9** (6): 1196-1207
- Ratnasari, I., S. Sudarminto., H. Nusyam and S.B. Widjanarko. 2014. Extraction process modification to enhance properties of skin gelatin of pangas catfish (*Pangasius pangasius*). *Journal of Food and Public Health*. Vol. **4** (3): 140-150
- Ridha, N. 2017. Proses penelitian, masalah, variable dan paradigm penelitian. *Jurnal Hikmah*. Vol. **14** (1): 62-70. ISSN: 1892-8419
- Ridhay, A., Musafira., Nurhaeni., Nurakhirawati dan N.B. Khasanah. 2016. Pengaruh variasi jenis asam terhadap rendemen gelatin dari tulang ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*). *Jurnal Riset Kimia Kovalen*. Vol. **2** (2): 44-53. ISSN: 2477-5398
- Riyanto, M., A. Purbayanto dan D.S.S. Natsir. 2011. Analisis indra penglihatan ikan kerapu macan (*Ephinephelus fuscoguttatus*) dan hubungannya dalam merespon umpan. *Jurnal Marine Fisheries*. Vol. **2** (1): 29-38. ISSN: 2087-4235
- Rochmady dan Susiana. 2014. Pendugaan stok ikan kerapu (*grouper*) di perairan selat Makassar Sulawesi Selatan periode tahun 1999-2007. *Jurnal Ilmiah Agribisnis dan Perikanan*. Vol. **7** (2): 60-67
- Rosaini, H., R. Rasyid dan V. Hagramida. 2015. Penetapan kadar protein secara kjeldahl beberapa makanan olahan kerang remis (*Coribiculla moltkiana Prime*) dari danau Singkarak. *Jurnal Farmasi Higea*. Vol. **7** (2): 120-12
- Saanin. 1995. Taksonomi dan kunci identifikasi ikan volume I dan II. Bina Rupa Aksara: Jakarta.
- Sahriawati dan A. Daud. 2016. Optimasi proses ekstraksi minyak ikan metode soxhletasi dengan variasi jenis pelarut dengan suhu berbeda. *Jurnal Galung Tropika*. Vol. **5** (3): 164-170. ISSN: 2302-4178

- Said, M.I., S. Triatmojo., Y. Erwanto dan A. Fudholi. 2011. Profil asam amino, gugus fungsional dan distribusi berat molekul gelatin kulit kambing yang diproduksi melalui proses asam. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak*. Vol. **6** (1): 18-27. ISSN: 1978-0303
- Santoso, C., T. Surti dan Sumardianto. 2015. Perbedaan penggunaan konsentrasi larutan asam sitrat dalam pembuatan gelatin tulang rawan ikan pari mondol (*Himantura gerradi*). *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. Vol. **4** (2): 106-114
- Santoso, J., J. Karina dan J.R. Wijaya. 2018. Karakteristik fisiko-kimiawi gelatin kulit ikan cucut (*Squalus acanthias*) dan aplikasinya dalam pembuatan marshmallow. *Prosiding Seminar Nasional Ikan ke 8*. Bogor: 12-15 Agustus 2018. Hal. 97-108
- Santoso, J., Shynie dan S.I. Manurung. 2013. Pemanfaatan hasil tangkapan sampingan ikan cucut dan ikan pari dalam pembuatan gelatin. *Marine Fisheries*. Vol. **4** (1): 75-83
- Saputra, R.H., I. Widiastuti dan A. Supriadi. 2015. Karakteristik fisika dan kimia gelatin kulit ikan patin (*Pangasius pangasius*) dengan kombinasi berbagai asam dan suhu. *Jurnal Teknologi Hasil Perikanan*. Vol. **4** (1): 29-36
- Sasmitaloka, K.S., Miskiyah dan Juniawati. 2017. Kajian potensi kulit sapi kering sebagai bahan dasar produksi gelatin halal. *Bulletin Peternakan*. Vol. **41** (3): 328-337. ISSN: 0126-4400
- Sasongko, E.B., E. Widyastuti dan R.E. Priyono. 2014. Kajian kualitas air dan penggunaan sumur gali oleh masyarakat di sekitar sungai kaliyasa Kabupaten Cilacap. *Jurnal Ilmu Lingkungan*. Vol. **12** (2): 72-82. ISSN 1829-8907
- Sekhu, A dan Paskalina. 2018. Chemistry. PT. Prima Ufuk Semesta. Jakarta. ISBN: 978-602-51971-1-6.
- Setiawan, D.W., T.D. Sulistiyati dan E. Suprayitno. 2013. Pemanfaatan residu daging ikan gabus (*Ophiocephalus striatus*) dalam pembuatan kerupuk ikan beralbumin. *THPi Student Journal*. Vol. **1** (1): 21-32
- Setyowati, H dan W. Setyani. 2015. Potensi nanokolagen limbah sisik ikan seebagai *cosmeceutical*. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*. Vol. **12** (1): 30-40. ISSN: 1693-5683
- Sitepu, F.G. 2014. Aspek biologi ikan kerapu ekor putih (*Ephinephelus areolatus* Forsskal, 1775) di perairan Desa Galesong Kota Kabupaten Takalar. *Jurnal Ilmu Kelautan dan Perikanan*. Vol. **24** (2): 9-19. ISSN: 0853-4489
- SNI 06.3735-1995. Mutu Gelatin. *Badan Standarisasi Nasional*. Jakarta

- Soedrijanto, A., M. Huseini., M. Setiawan dan E. Suprayitno. 2013. Strategy implementation traceability of breeding shrimp business in Indonesia. *Journal of Agricultural Studies*. Vol. 1 (1): 69-80. ISSN: 2166-0379
- Sugihartono. 2014. Kemampuan gelatin kulit ikan menggantikan gelatin mamalia berdasarkan sifat fisika-kimianya untuk industri pangan (*The Ability of Fish Skin Gelatin in Replacing of Mammalian Gelatin Base Ontheir Physico-Chemical Properties For Food Industry*). *Jurnal Riset Teknologi Industri*. Vol. 8 (16): 156-167. ISSN: 1978-6891
- Sulistiyati, T.D and E. Suprayitno. 2014. Influence of freezing and pasteurization of physical condition of the plastic (PE, PP and HDPE) as selar fish packaging (*Selaroides leptolepis*) in Sendang Biru Malang East Java Indonesia. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*. Vol. 5 (6): 282-288. ISSN: 2220-6663
- Sulistiyati, T.D., E. Suprayitno dan D.T. Anggita. 2017. Substitusi jantung pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca*) sebagai sumber serat terhadap karakteristik organoleptic dendeng giling ikan gabus (*Ophiocephalus striatus*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. Vol. 9 (2): 78-90. ISSN: 2085-5842
- Sulthoniyah, S.T.M., T.D. Sulistiyati dan E. Suprayitno. 2013. Pengaruh suhu pengukusan terhadap kandungan gizi dan organoleptic abon ikan gabus (*Ophiocephalus striatus*). *THPi Student Journal*. Vol. 1 (1): 33-45.
- Sundari, D., Almasyuhri dan A. Lamid. 2015. Pengaruh proses pemasakan terhadap komposisi zat gizi bahan pangan sumber protein. *Media Litbangkes*. Vol. 25 (4): 235-242
- Suprayitno, E. 2013. The influence of conditions of the hold in the port to the freshness of the fish in Mayangan Probolinggo and port of Sendang Biru East Java Indonesia. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*. Vol. 7 (2): 58-62. ISSN: 2319-2380
- Suprayitno, E. 2014. Profile albumin fish cork (*Ophicephalus striatus*) of different ecosystems. *International Journal of Current Research and Academic Review*. Vol. 2 (12): 201-208
- Suprayitno, E. 2017. Dasar Pengawetan. UB Press: Malang. ISBN: 978-602-432-083-6
- Suprayitno, E. 2017. Misteri ikan gabus. UB Press: Malang. ISBN: 978-602-432-143-7
- Suprayitno, E. dan T.D. Sulistiyati. 2017. Metabolisme Protein. UB Press: Malang. ISBN: 978-602-432-161-1
- Suptijah, P., D. Indriani dan S.E. Wardoyo. 2018. Isolasi dan karakterisasi kolagen dari kulit ikan patin (*Pangasius sp.*). *Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa*. Vol. 8 (1): 8-23. ISSN: 2086-3446

- Suptijah, P., S.H. Suseno dan C. Anwar. 2013. Analisis Kekuatan gel (*gel strength*) produk permen jelly dari gelatin kulit ikan cucut dengan penambahan karaginan dan rumput laut. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol. **16** (2): 183-191
- Suryani, N., F. Sulistiawati dan A. Fajriani. 2009. Kekuatan gel gelatin tipe b dalam formulasi granul terhadap kemampuan mukoadhesif. *MAKARA KESEHATAN*. Vol. **13** (1): 1-4
- Suryanti, S., D.W.Marseno., R. Indrati dan H.E. Irianto. 2017. Pengaruh jenis asam dan isolasi gelatin dari kulit ikan nila (*Oreochromis niloticus*) terhadap karakteristik emulsi. *Jurnal AGRITECH*. Vol. **37** (4): 410-419. ISSN: 2527-3825
- Syahaeni., M. Anwar dan Hasri. 2017. Pengaruh konsentrasi asam sitrat dan waktu demineralisasi pada perolehan gelatin dari tulang ikan kakap merah (*Lutjanus sp.*). *Journal Analytical and Environmental Chemistry*. Vol. **2** (1): 53-62. ISSN: 2540-8267
- Talib, A., E. Suprayitno., Aulani'am and Hardoko. 2014. Physico-chemical properties of *Madidihang* (*Thunus albacares* Bonnaterre) fish bone in Ternate North Moluccas. *International Journal of Biosciences*. Vol. **4** (10). ISSN: 2220-6655
- Tazwir., D.L. Ayudiarti dan R. Peranginangin. 2007. Optimasi pembuatan gelatin dari tulang ikan kaci-kaci (*Plectorhynchus chaetodonoides* Lac.) menggunakan berbagai konsentrasi asam dan waktu ekstraksi. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. Vol. **2** (1): 35-43
- Trilaksani, W., M. Nurimala dan I.H. Setiawati. 2012. Ekstraksi gelatin kulit ikan kakap merah (*Lutjanus sp.*) dengan proses perlakuan asam. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol. **15** (3): 240-251
- Wijayanti, I. E. 2017. Analisis Asam Amino Pada Minyak Kelapa dengan Proses Pengasaman Menggunakan HPLC. *Jurnal Kimia dan Pendidikan*. Vol. **2**(1): 40-51. E-ISSN: 2502-4787.
- Yenrina, R. 2015. Metode analisis bahan pangan dan komponen bioaktif. Andalas University Press: Padang. ISBN: 978-602-6953-05-6
- Yenti, R., D. Nofiandi dan R. Fithriyah. 2016. Pengaruh variasi konsentrasi asam asetat terhadap kuantitas gelatin dari kulit ikan sepat rawa (*Trichogaster trichopterus*) kering dan karakteristiknya. *Jurnal Scientia*. Vol. **6** (1): 36-43. ISSN: 2087-5045
- Yuliani. 2014. Analisis rendemen dan sifat fisika-kimia gelatin kulit ikan tenggiri (*Acanthocybium solandri*) yang diproduksi dengan asam. *Prosiding Seminar Nasional Kimia*. ISBN: 978-602-19421-0-9
- Yuliani dan Marwati. 2015. Ekstraksi dan Karakterisasi Gelatin Tulang Ikan Tenggiri (*Scomberomorus commerson*). *Jurnal Teknologi Pertanian Universitas Mulawarman*. Vol. **10** (1): 1-7. ISSN: 1858-2419

- Yuniarti, D.W., T.D. Sulistiyati dan E. Suprayitno. 2013. Pengaruh suhu pengeringan vakum terhadap kualitas serbuk albumin ikan gabus (*Ophiocephalus striatus*). *THPi Student Journal*. Vol. 1 (1): 1-9
- Zulkifli, M., A.S. Naini dan N. Yusuf. 2014. Rendemen, titik gel dan leleh gelatin tulang ikan tuna yang diproses dengan cuka aren. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. Vol. 2 (2): 73-77



Lampiran 1. Hasil Analisa Keragaman dan Uji Tukey Rendemen Gelatin Kulit Ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.)

Descriptives

rendemen

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A	6	17.1267	.80453	.32845	16.2824	17.9710	16.00	18.01
B	6	21.7400	.74833	.30551	20.9547	22.5253	20.84	22.60
C	6	19.4467	.57417	.23440	18.8441	20.0492	18.90	20.30
Total	18	19.4378	2.05131	.48350	18.4177	20.4579	16.00	22.60

ANOVA

rendemen

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	63.849	2	31.925	62.315	.000
Within Groups	7.685	15	.512		
Total	71.534	17			

rendemen

Tukey HSD^a

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
A	6	17.1267		
C	6		19.4467	
B	6			21.7400
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Lampiran 2. Hasil Analisa Keragaman dan Uji Tukey Kadar Protein Gelatin Kulit Ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.)

Descriptives

Protein

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A	6	76.0450	2.53348	1.03429	73.3863	78.7037	72.54	79.21
B	6	84.9900	3.99302	1.63014	80.7996	89.1804	80.20	91.35
C	6	82.6600	2.36337	.96484	80.1798	85.1402	79.11	85.55
Total	18	81.2317	4.83943	1.14066	78.8251	83.6383	72.54	91.35

ANOVA

Protein

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	258.400	2	129.200	13.869	.000
Within Groups	139.741	15	9.316		
Total	398.141	17			

Protein

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
A	6	76.0450	
C	6		82.6600
B	6		84.9900
Sig.		1.000	.405

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Lampiran 3. Hasil Analisa Keragaman dan Uji Tukey Kadar Lemak Gelatin Kulit Ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.)

Descriptives

Lemak

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					A	6		
B	6	.3950	.19378	.07911	.1916	.5984	.20	.67
C	6	.3983	.11017	.04498	.2827	.5139	.21	.50
Total	18	.3761	.14829	.03495	.3024	.4499	.10	.67

ANOVA

Lemak

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.015	2	.008	.319	.732
Within Groups	.359	15	.024		
Total	.374	17			

Lemak

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05
		1
A	6	.3350
B	6	.3950
C	6	.3983
Sig.		.762

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Lampiran 4. Hasil Analisa Keragaman dan Uji Tukey Kadar Air Gelatin Kulit Ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.)

Descriptives

Air

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A	6	1.1417	.77698	.31720	.3263	1.9571	.20	2.30
B	6	1.6267	.59180	.24160	1.0056	2.2477	.98	2.45
C	6	1.6783	.50082	.20446	1.1528	2.2039	1.21	2.34
Total	18	1.4822	.64514	.15206	1.1614	1.8030	.20	2.45

ANOVA

Air

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.052	2	.526	1.310	.299
Within Groups	6.024	15	.402		
Total	7.076	17			

Air

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05
		1
A	6	1.1417
B	6	1.6267
C	6	1.6783
Sig.		.334

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Lampiran 5. Hasil Analisa Keragaman dan Uji Tukey Kadar Abu Gelatin Kulit Ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.)

Descriptives

Abu

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					A	6		
B	6	.3300	.16492	.06733	.1569	.5031	.15	.58
C	6	.3400	.22847	.09327	.1002	.5798	.10	.66
Total	18	.3572	.17583	.04144	.2698	.4447	.10	.66

ANOVA

Abu

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.018	2	.009	.267	.769
Within Groups	.507	15	.034		
Total	.526	17			

Abu

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05
		1
B	6	.3300
C	6	.3400
A	6	.4017
Sig.		.781

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Lampiran 6. Hasil Analisa Keragaman dan Uji Tukey Viskositas Gelatin Kulit Ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.)

Descriptives

Viskositas

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					A	6		
B	6	6.5000	1.87083	.76376	4.5367	8.4633	4.00	9.00
C	6	5.0000	1.41421	.57735	3.5159	6.4841	3.00	7.00
Total	18	4.5000	2.35772	.55572	3.3275	5.6725	1.00	9.00

ANOVA

Viskositas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	63.000	2	31.500	15.000	.000
Within Groups	31.500	15	2.100		
Total	94.500	17			

Viskositas

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
A	6	2.0000	
C	6		5.0000
B	6		6.5000
Sig.		1.000	.206

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Lampiran 7. Hasil Analisa Keragaman dan Uji Tukey Kekuatan Gel Gelatin Kulit Ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.)

Descriptives

GS

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					A	6		
B	6	12.1167	1.44833	.59128	10.5967	13.6366	10.00	14.00
C	6	10.8000	1.06019	.43282	9.6874	11.9126	9.10	12.10
Total	18	7.9167	5.28975	1.24681	5.2861	10.5472	.00	14.00

ANOVA

GS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	456.763	2	228.382	181.048	.000
Within Groups	18.922	15	1.261		
Total	475.685	17			

GS

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
A	6	.8333	
C	6		10.8000
B	6		12.1167
Sig.		1.000	.139

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Lampiran 8. Hasil Analisa Keragaman dan Uji pH Gelatin Kulit Ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.)

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A	6	6.0167	.57067	.23298	5.4178	6.6156	5.00	6.50
B	6	4.7500	.63482	.25917	4.0838	5.4162	3.90	5.30
C	6	4.4833	.82805	.33805	3.6143	5.3523	3.00	5.10
Total	18	5.0833	.94324	.22232	4.6143	5.5524	3.00	6.50

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.053	2	4.027	8.541	.003
Within Groups	7.072	15	.471		
Total	15.125	17			

pH

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
C	6	4.4833	
B	6	4.7500	
A	6		6.0167
Sig.		.783	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.



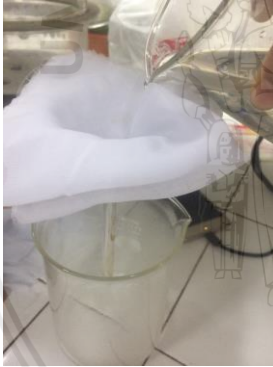

Lampiran 9. Hasil Analisa De Garmo (Perlakuan Terbaik)

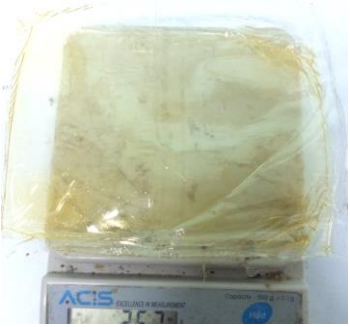
Parameter	konsentrasi			nilai terbaik	nilai terburuk	selisih
	0.5%	1.0%	1.5%			
kekuatan Gel	0.830	12.120	10.800	12.120	0.830	11.290
Viskositas	2.000	6.500	5.000	6.500	2.000	4.500
Rendemen	17.130	21.750	19.450	21.750	17.130	4.620
pH	6.000	4.800	4.500	4.800	6.000	1.200
kadar protein	76.050	84.990	82.660	84.990	76.050	8.940
kadar air	1.140	1.630	1.680	1.140	1.680	0.540
kadar abu	0.400	0.330	0.340	0.330	0.400	0.070
kadar lemak	0.335	0.395	0.398	0.335	0.398	0.063

PARAMETER	BV	BN	0.5%		1%		1.5%	
			NE	NH	NE	NH	NE	NH
kekuatan gel	1.000	0.200	0	0	1.116	0.223	0.883	0.177
viskositas	0.990	0.198	0	0	1.000	0.198	0.667	0.132
rendemen	0.890	0.178	0	0	1.000	0.178	0.502	0.089
pH	0.700	0.140	0	0	1.000	0.140	0.000	0.000
kadar protein	0.600	0.120	0	0	1.000	0.120	0.739	0.089
kadar air	0.500	0.100	1	0.1	0.093	0.009	0.000	0.000
kadar abu	0.220	0.044	0	0	1.000	0.044	0.857	0.038
kadar lemak	0.100	0.020	1	0.02	0.048	0.001	0.000	0.000
Total	5.000			0.12		0.913		0.524

Lampiran 10. Dokumentasi Proses Pembuatan Gelatin Kulit Ikan Kerapu (*Ephinephelus* sp.)

No	Gambar	Keterangan
1.		Ikan Kerapu (<i>Ephinephelus</i> sp.) direndam dengan air suhu 50°C selama 30 menit
2.		Dicuci dengan air mengalir
3.		Pengecilan ukuran 1 cm ²
4.		Perendaman dalam larutan asam sitrat konsentrasi 0,5%; 1% dan 1,5% dengan perbandingan larutan 1:3 (w/v) selama 24 jam

<p>5.</p>		<p>Pencucian hingga pH netral</p>
<p>6.</p>		<p>Ekstraksi dengan waterbath dengan suhu 60-700C selama 6 jam</p>
<p>7.</p>		<p>Penyaringan dengan kain blacu</p>
<p>8.</p>		<p>Pengovenan dengan suhu 600C selama 48 jam</p>

9.		Lembaran Gelatin kulit ikan kerapu (<i>Ephinephelus</i> sp.)
----	---	---



Lampiran 11. Prosedur Uji Kadar Protein

Penentuan kadar protein dilakukan dengan menggunakan metode Kjeldahl menurut penelitian Rosaini *et al.*,(2015), adalah metode Kjeldahl terdiri dari 3 tahap yaitu: tahap destruksi, tahap destilasi dan tahap titrasi.

4. Tahap Destruksi

Ditimbang 1 gram sampel yang telah diblender. Masukkan ke dalam labu Kjeldahl 100 mL, kemudian pipet 10 mL asam sulfat pekat masukkan kedalam labu Kjeldahl. Tambahkan katalisator (campuran selenium) untuk mempercepat destruksi. Kemudian labu Kjeldahl tersebut di panaskan dimulai dengan api yang kecil setelah beberapa saat sedikit demi sedikit api dibesarkan sehingga suhu menjadi naik. Destruksi dapat dihentikan pada saat didapatkan larutan berwarna jernih kehijauan.

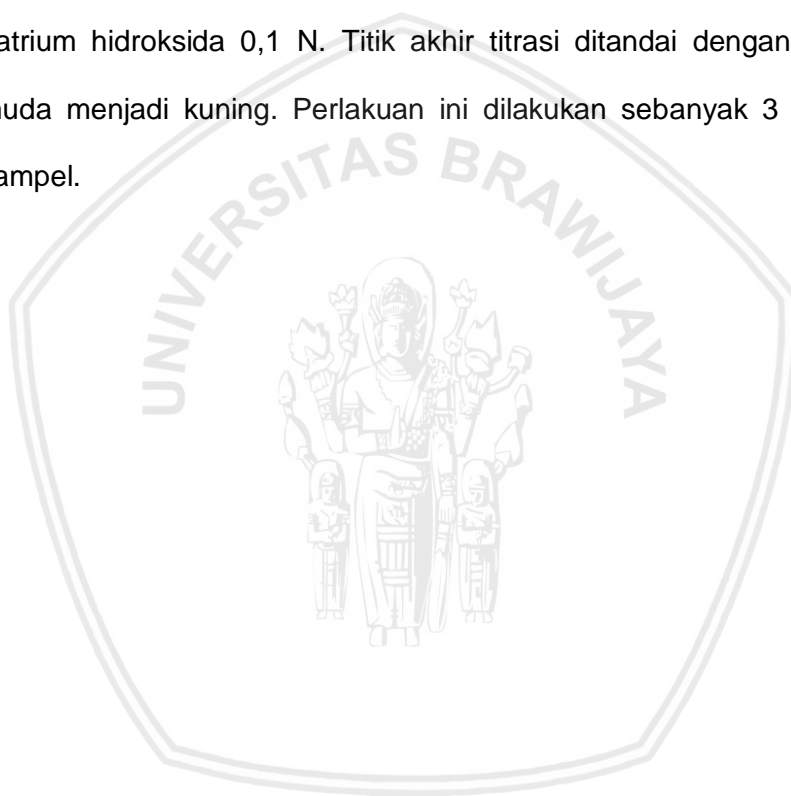
5. Tahap destilasi

Hasil destruksi yang didapatkan kemudian didinginkan, setelah itu diencerkan dengan aquadest sampai 100 mL. Setelah homogen dan dingin dipipet sebanyak 5 mL, masukkan ke dalam labu destilasi. Tambahkan 10 mL larutan natrium hidroksida 30% melalui dinding dalam labu destilasi hingga terbentuk lapisan dibawah larutan asam. Labu destilat dipasang dan dihubungkan dengan kondensor, lalu ujung kondensor dibenamkan dalam cairan penampung. Uap dari cairan yang mendidih akan mengalir melalui kondensor menuju erlemeyer penampung. Erlenmeyer penampung diisi dengan 10 mL larutan asam klorida 0,1 N yang telah ditetesi indikator metil

merah. Cek hasil destilasi dengan kertas lakmus, jika hasil sudah tidak bersifat basa lagi maka penyulingan dihentikan.

6. Tahap titrasi

Setelah proses destilasi, tahap selanjutnya adalah titrasi. Hasil destilasi yang ditampung dalam erlemeyer berisi asam klorida 0,1 N ditetesi indikator metil merah sebanyak 5 tetes langsung dititrasi dengan menggunakan larutan natrium hidroksida 0,1 N. Titik akhir titrasi ditandai dengan warna merah muda menjadi kuning. Perlakuan ini dilakukan sebanyak 3 kali untuk tiap sampel.



Lampiran 12. Prosedur Uji Kadar Lemak

Metode penentuan kadar lemak menggunakan metode soxhlet menurut Angelia (2016), dengan prosedur kerja yang pertama adalah timbang seksama 1-2 g contoh, masukan ke dalam selongsong kertas yang dialasi dengan kapas. Sumbat selongsong kertas berisi contoh tersebut dengan kapas, keringkan dalam oven pada suhu tidak lebih dari 80°C selama lebih kurang satu jam, kemudian masukan ke dalam alat soxhlet yang telah dihubungkan dengan labu lemak berisi batu didih yang telah dikeringkan dan telah diketahui bobotnya. Ekstrak dengan heksana atau pelarut lemak lainnya selama lebih kurang 6 jam. Sulingkan heksana dan keringkan ekstrak lemak dalam oven pengering pada suhu 105°C. Dinginkan dan timbang. Ulangi pengeringan ini hingga tercapai bobot tetap. SNI 01-2891-1992. Rumus yang digunakan dalam metode soxhlet adalah sebagai berikut:

$$\% \text{ Lemak} = \frac{W - W_1}{W_2} \times 100\%$$

Dimana :

W = Bobot contoh, dalam gram

W₁ = Bobot lemak sebelum ekstraksi, dalam gram

W₂ = Bobot labu lemak sesudah ekstraksi

Lampiran 13. Prosedur Uji Kadar Air

Metode Penetapan kadar air dilakukan secara termogravimetri menurut Rachmania *et al.*,(2013), dengan prosedur yang pertama adalah cawan porselen dikeringkan di dalam oven pada suhu 100°C selama 1 jam, lalu didinginkan di dalam desikator. Cawan porselen tersebut kemudian ditimbang. Sebanyak 0,5 gram sampel dimasukkan dalam cawan porselen kering dan dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 24 jam hingga diperoleh berat konstan. Cawan berisi sampel tersebut didinginkan dalam desikator. Proses selanjutnya adalah penimbangan cawan yang berisi sampel setelah dikeringkan. Kadar air bahan dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Kadar Air} = \frac{B_1 - B_2}{B} \times 100\%$$

Keterangan:

B = Berat sampel (g)

B1 = Berat (sampel+cawan) sebelum dikeringkan (g)

B2 = Berat (sampel+cawan) setelah dikeringkan (g)

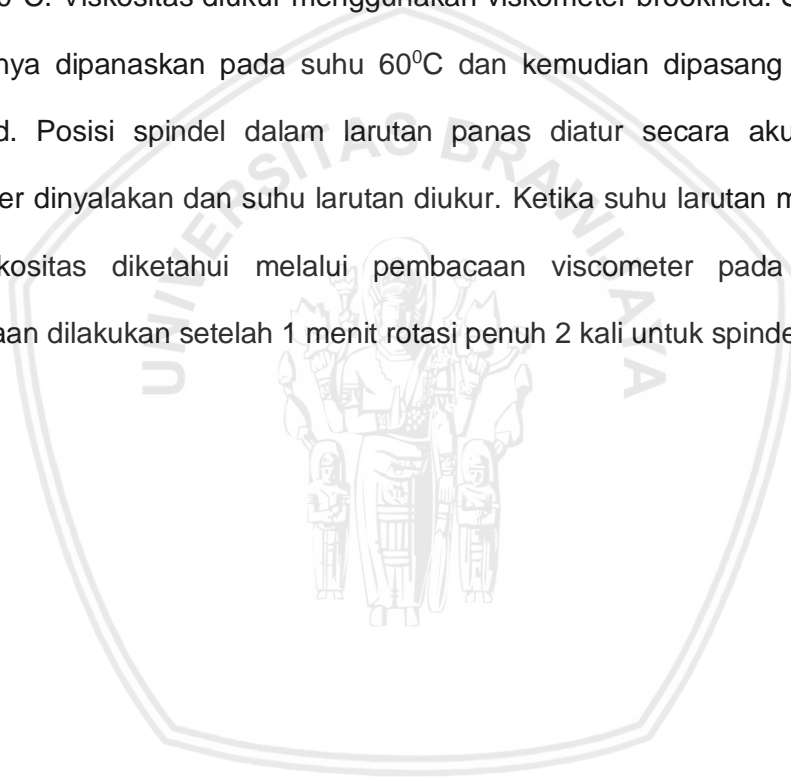
Lampiran 14. Prosedur Uji Kadar Abu

Metode pengabuan yang digunakan adalah dengan metode tanur menurut Yenrina (2015), dengan prosedur Kerja yang dilakukan adalah sebagai berikut: Siapkan cawan pengabuan, kemudian keringkan dalam tanur selama 15 menit, dinginkan dalam desikator, dan timbang (= W_0 gram). Timbang sebanyak 3 – 5 gram sampel dalam cawan tersebut (= W_1 gram), untuk sampel cairan diuapkan terlebih dahulu diatas penangas air sampai kering. Bakar di atas Hot plate sampai tidak berasap. Kemudian letakkan dalam tanur pengabuan, bakar sampai didapat abu berwarna abu-abu atau sampai beratnya tetap. Pengabuan dilakukan dalam dua tahap : pertama pada suhu sekitar 400°C dan kedua pada suhu 550°C . Lalu, Dinginkan dalam desikator, kemudian timbang (= W_2 gram). Perhitungan kadar abu dapat menggunakan rumus:

$$\text{Kadar abu} = \frac{(W_2 - W_0)}{(W_1 - W_0)} \times 100\%$$

Lampiran 15. Uji Viskositas

Viskositas merupakan salah satu sifat fisik gelatin yang cukup penting. Viskositas adalah derajat kekentalan suatu larutan. Pengujian viskositas dilakukan untuk mengetahui tingkat kekentalan gelatin (Santoso *et al.*,2015). Menurut Ratnasari dan Firlyanti (2016), Metode pengujian viskositas gelatin dengan larutan gelatin dengan konsentrasi 6,67% direbus dalam waterbath sambil terus diaduk hingga 60°C. Viskositas diukur menggunakan viskometer brookfield. Sebuah spindle sebelumnya dipanaskan pada suhu 60°C dan kemudian dipasang ke viskometer brookfield. Posisi spindle dalam larutan panas diatur secara akurat, kemudian viskometer dinyalakan dan suhu larutan diukur. Ketika suhu larutan mencapai 60°C, nilai viskositas diketahui melalui pembacaan viscometer pada skala 1-100. Pembacaan dilakukan setelah 1 menit rotasi penuh 2 kali untuk spindle no. 1.



Lampiran 16. Uji Kekuatan Gel

Menurut Hardikawati *et al.*,(2016), Pengukuran kekuatan gel (*gel strength*) gelatin dengan cara larutan gelatin dengan konsentrasi 6,67% (b/v) disiapkan dengan akuademineral. Larutan diambil sebanyak 15 mL kemudian ditempatkan pada wadah dengan volume 20 mL. Sampel diinkubasi pada suhu 10°C selama 17 jam, kemudian diukur dengan menggunakan alat CT3 *Texture Analyzer*. Hasil dari pengukuran berupa grafik, selanjutnya dihitung dengan rumus :

$$\text{Kekuatan gel (dyne/cm}^2\text{)} = \frac{F}{g} \times 980$$

$$\text{Kekuatan Gel (Bloom)} = 2.86 \times 10^{-3} G + 20$$

Keterangan :

F : tinggi grafik sebelum patah

g : konstanta (0,07)

G : kekuatan gel (dyne/cm²)

Lampiran 17. Uji pH

menurut Hermanto *et al.*,(2014), Serbuk gelatin sebanyak 0.2 g didispersi dalam 20 ml aquades pada suhu 80°C. Lalu dihomogenkan dengan *magnetic stirer*. Kemudian diukur derajat keasamannya (pH) pada suhu kamar dengan pH mete



Lampiran 18. Analisis Profil Asam Amino

Analisis profil asam amino dapat dilakukan dengan menggunakan metode UPLC. Menurut Azka *et al.* (2015), untuk mengetahui kandungan asam amino dengan metode UPLC, terdapat 4 tahapan yang harus dilakukan. Tahap pertama yaitu pembuatan hidrolisat protein, yaitu sampel ditimbang sebanyak 0,1 g dan dihancurkan. Sampel yang telah hancur ditambahkan 6N HCL sebanyak 10 ml dan dipanaskan dalam oven dengan suhu 100 °C selama 24 jam. Tahap kedua yaitu penyaringan sampel, dimana sampel disaring dan diambil 30 µL dan ditambahkan 30 µL larutan pengering (campuran metanol, pikotiosianat dan trietilamin dengan perbandingan 4:4:3). Tahap ketiga yaitu derivatisasi, yaitu larutan derivatisasi (campuran metanol, natrium asetat dan trietilamin dengan perbandingan 3:3:4) sebanyak 30 µL. Hal ini dilakukan agar detektor dapat dengan mudah mendeteksi senyawa pada sampel. Setelah itu dilakukan pengenceran dengan menambahkan 20 ml asetonitril 60% atau buffer natrium asetat 1 M dan dibiarkan selama 20 menit. Tahap keempat yaitu injeksi ke UPLC, dimana hasil saringan diambil sebanyak 40 µL untuk diinjeksikan ke UPLC. Perhitungan konsentrasi asam amino yang terdapat pada bahan dapat dilakukan dengan membuat kromatografi standar menggunakan asam amino siap pakan yang telah mengalami perlakuan yang sama dengan sampel. Rumus untuk mengetahui kadar asam amino adalah sebagai berikut:

$$\% \text{ asam amino} = \frac{\text{luas area sampel} \times C \times Fp \times BM}{\text{luas area sampel} \times C \times Fp \times BM \text{ luas area standar} \times \text{bobot sampel}} \times 100\%$$

Keterangan:

C = Konsentrasi standar asam amino (µg/mL)

FP = Faktor pengenceran

BM = Bobot molekul dari masing-masing asam amino (g/mol)

Analisis dengan metode UPLC ini merupakan suatu perkembangan dari kromatografi kolom. UPLC memiliki prinsip kerja yaitu sampel yang akan diuji diinjeksikan sampai sampel berada pada ketinggian puncak maksimum dari senyawa tersebut. Setiap senyawa memiliki waktu retensi yang berbeda-beda sesuai dengan tekanan yang digunakan, konsidi fase diam, komposisi pelarut maupun suhu kolom. Senyawa non polar akan sulit melekat pada silika polar jika dibandingkan dengan senyawa polar yang dapat melekat lebih lama. Hal ini menjadikan senyawa non polar akan lebih cepat melewati kolom (Wijayanti, 2017).



Lampiran 19. Analisis Profil Asam Amino

repository.ub.ac.id

 **PT. SARASWANTI INDO GENETECH**
The First Indonesian Molecular Biotechnology Company
GRAHA SIG Jl. Rasamala No. 20 Taman Yasmin Bogor 16113, INDONESIA.
Phone: +62-251-7532348 (hunting) - 082 111 516 516. Fax: +62-251-7540 927. http://www.siglaboratory.com

 **YKAN**
Komite Akreditasi Nasional
LABORATORIUM PENGUJI LIP-184-128

No : SIG.CL.II.2019.004058
Lamp. : 1 halaman
Perihal : **Laporan Hasil Uji Laboratorium**

Bogor, 15 Februari 2019

Kepada Yth.
Universitas Brawijaya Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Jl. Veteran No. 1 Malang

Dengan hormat,
Berdasarkan surat order marketing nomor : SIG.Mark.P.II.2019.000052 , maka bersama ini kami sampaikan hasil uji analisis laboratorium untuk sample produk :

Nama Sample : Gelatin Kulit Ikan
Keterangan : Terlampir

Demikian surat ini kami sampaikan semoga dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.
Atas kerjasama yang baik kami mengucapkan terima kasih.

Hormat kami,
PT Saraswanti Indo Genetech


Robertus B. Aryo
Manager Marketing

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



PT. SARASWANTI INDO GENETECH

The First Indonesian Molecular Biotechnology Company

GRAHA SIG Jl. Rasamala No. 20 Taman Yasmin Bogor 16113, INDONESIA.
Phone: +62-251-7532348 (hunting) - 082 111 516 516. Fax: +62-251-7540 927. http://www.siglaboratory.com

No. 28.1/F-PP/SMM-SIG
Revisi 3

RESULT OF ANALYSIS

Laporan Hasil Pengujian

No: SIG.LHP.II.2019.012509

- I. Number / Nomor
1.1. Order No. / No. Order : SIG.Mark.P.II.2019.000052
- II. Prinsipal / Pelanggan
2.1. Name / Name : Universitas Brawijaya Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
2.2. Address / Alamat : Jl. Veteran No. 1 Malang
2.3. Phone / Telepon : 085731530324
2.4. Contact Person / Personil Penghubung : Ghea Regita Maharani Siregar
- III. Sample / Contoh Uji
3.1. Sample Code / Kode Sample : -
3.2. Batch number / No Batch : -
3.3. Lot number / No Lot : -
3.4. Packaging / Kemasan : -
3.5. Production Date / Tanggal produksi : -
3.6. Expire Date / Tanggal kadaluarsa : -
3.7. Factory Name / Nama pabrik : -
3.8. Factory Address / Alamat pabrik : -
3.9. Trade Mark / Nama dagang : -
3.10. Sample Name / Nama Sample : Gelatin Kulit Ikan
3.11. Other Information / Keterangan lain : -
3.12. Date of Received / Diterima : February 06, 2019
3.13. Date of Analysis / Tanggal Uji : February 07, 2019 - February 14, 2019
3.14. Type of Analysis / Jenis Uji : Terlampir
- IV. Result / Hasil Uji

Result of analysis on page 2 / Hasil uji di halaman 2

Page 1 of 3

The results of these tests relate only to the sample(s) submitted. This report shall not be reproduced except in full context, without the written approval of PT. Saraswanti Indo Genetech





PT. SARASWANTI INDO GENETECH

The First Indonesian Molecular Biotechnology Company

GRAHA SIG Jl. Rasamala No. 20 Taman Yasmin Bogor 16113, INDONESIA.
Phone: +62-251-7532348 (hunting) - 082 111 516 516. Fax: +62-251-7540 927. http://www.siglaboratory.com

No. 28.1/F-PP/SMM-SIG
Revisi 3

Result of Analysis

No: SIG.LHP.II.2019.012509

No.	Parameter	Unit	Result	Limit of Detection	Method
1	L-Serin	%	2.63	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
2	L-Asam glutamat	%	7.57	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
3	L-Fenilalanin	%	2.12	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
4	L-Isoleusin	%	0.79	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
5	L-Valin	%	1.67	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
6	L-Alanin	%	8.60	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
7	L-Arginin	%	8.06	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
8	Glisin	%	21.07	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
9	L-Lisin	%	2.58	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC

The results of these tests relate only to the sample(s) submitted. This report shall not be reproduced except in full context, without the written approval of PT. Saraswanti Indo Genetech



PT. SARASWANTI INDO GENETECH
The First Indonesian Molecular Biotechnology Company

GRAHA SIG Jl. Rasamala No. 20 Taman Yasmin Bogor 16113, INDONESIA.
Phone: +62-251-7532348 (hunting) - 082 111 516 516. Fax: +62-251-7540 927. <http://www.siglaboratory.com>

No. 28.1/F-PP/SMM-SIG
Revisi 3

Result of Analysis

No: SIG.LHP.II.2019.012509

No.	Parameter	Unit	Result	Limit of Detection	Method
10	L-Asam Aspartat	%	4.11	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
11	L-Leusin	%	1.92	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
12	L-Tirosin	%	0.42	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
13	L-Prolin	%	10.23	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
14	L-Threonin	%	2.37	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
15	L-Histidin	%	0.71	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC

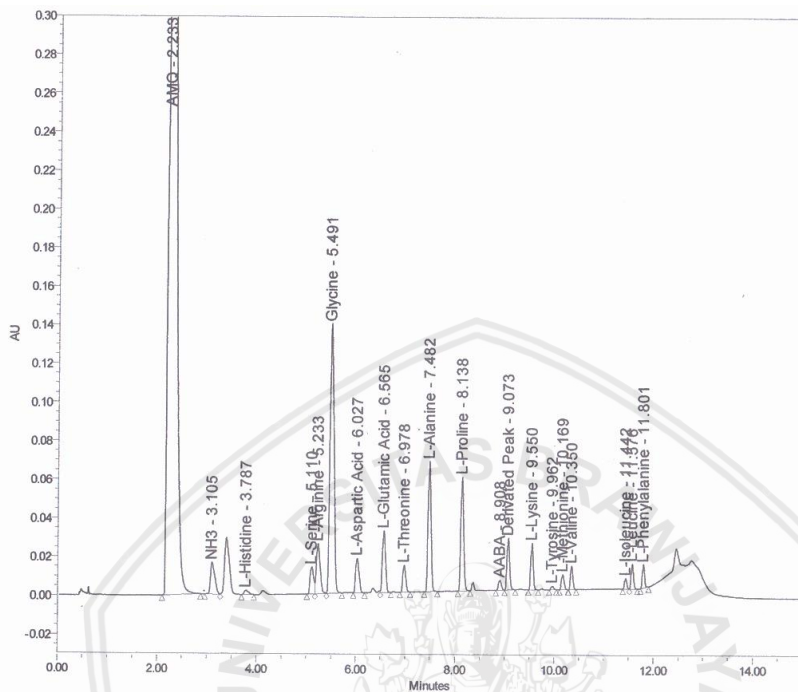
Bogor, 15 Februari 2019
PT Saraswanti Indo Genetech



Dwi Yulianto Laksono, S.Si
Manager Laboratorium

The results of these tests relate only to the sample(s) submitted. This report shall not be reproduced except in full **Page 3 of 3**
without the written approval of PT. Saraswanti Indo Genetech

Lampiran 20. Kurva Kromatogram Profil Asam Amino



Reported by User: Rizki Maysita (Rizki)
 Report Method: Default Individual Report
 Report Method ID: 1482
 Page: 1 of 2

Project Name: 2019 02 Februari\Asam Amino
 Date Printed: 2/21/2019
 4:39:45 PM Asia/Jakarta
 Instrument Name

	Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount
1	AMQ	2.233	5237248.09	69.71	590739	
2	NH3	3.105	97882.80	1.30	16308	
3	L-Histidine	3.787	12997.60	0.17	2219	
4	L-Serine	5.110	70121.73	0.93	13837	
5	L-Arginine	5.233	134916.99	1.80	25806	
6	Glycine	5.491	782603.65	10.42	139320	
7	L-Aspartic Acid	6.027	86423.11	1.15	17746	
8	L-Glutamic Acid	6.565	140049.01	1.86	31910	
9	L-Threonine	6.978	57166.01	0.76	13778	
10	L-Alanine	7.482	278686.59	3.71	67296	
11	L-Proline	8.138	235743.59	3.14	58961	
12	AABA	8.908	21295.89	0.28	5163	35.049
13	Derivated Peak	9.073	101417.04	1.35	26752	
14	L-Cystein	9.405				
15	L-Lysine	9.550	82910.32	1.10	24018	
16	L-Tyrosine	9.962	6772.04	0.09	1792	
17	L-Methionine	10.169	29451.91	0.39	7589	
18	L-Valine	10.350	41703.62	0.56	12001	
19	L-Isoleucine	11.442	17177.85	0.23	5402	
20	L-Leucine	11.576	41904.42	0.56	12783	
21	L-Phenylalanine	11.801	36855.26	0.49	11997	
Sum			7513327.51			

Lampiran 21. Prosedur dan Kondisi Alat UPLC (*Ultra Performance Liquid Chromatography*) untuk Analisa Profil Asam Amino

Analisis asam amino dengan menggunakan UPLC di Laboratorium PT. Saraswanti Indo Genetech Bogor terdiri atas 4 tahap, yaitu:

- (1) Tahap pembuatan hidrolisat protein : Hal yang dilakukan pada tahap pembuatan hidrolisat protein adalah sampel ditimbang sebanyak 0,15 g dan dihancurkan. Sampel yang telah hancur dihidrolisis asam menggunakan HCl 6 N sebanyak 10 mL yang kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 100 °C selama 24 jam. Pemanasan dalam oven dilakukan mempercepat reaksi hidrolisis.
- (2) Tahap pengeringan : Hasil saringan diambil sebanyak 30 μ L dan ditambah dengan 30 μ L larutan pengering. Larutan pengering dibuat dari campuran metanol, pikolotiosionat, dan triethylamin dengan perbandingan 2:2:1. Setelah ditambahkan dengan larutan pengering, dilakukan pengeringan dengan gas nitrogen untuk mempercepat pengeringan dan mencegah oksidasi.
- (3) Tahap derivatisasi : Larutan derivatisasi sebanyak 30 μ L ditambahkan pada hasil pengeringan, larutan derivatisasi dibuat dari campuran metanol, natrium asetat, dan triethylamin dengan perbandingan 3:3:4. Proses derivatisasi dilakukan agar detektor mudah untuk mendeteksi senyawa yang ada pada sampel. Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan cara menambahkan 20 mL buffer natrium asetat 1 M, lalu dibiarkan selama 20 menit. Kemudian disaring menggunakan kertas saring *Whatman*.
- (4) Injeksi ke UPLC : Hasil saringan diambil sebanyak 20 μ L untuk diinjeksikan ke dalam UPLC. Perhitungan konsentrasi asam amino yang ada pada bahan,

dilakukan pembuatan kromatogram standar dengan menggunakan asam amino yang telah siap pakai yang mengalami proses yang sama dengan sampel. Kondisi alat UPLC yang digunakan adalah :

Temperatur : 27 °C (suhu ruang)
Jenis kolom UPLC : *Ultra techspere* (Coloum C-18)
Kecepatan aliran eluen : 1 mL/menit
Tekanan :3000 psi
Fase Gerak (eluen) : Buffer Na-Asetat 0,5% dan methanol 95%
Volume injeksi : 20 µL
Detektor : Fluoresensi
Panjang Gelombang : 450 nm

Perhitungan % asam amino :

$$\% \text{ asam amino} = \frac{\text{luas area sampel} \times C \times F_p \times \text{BM}}{\text{luas area sampel} \times C \times F_p \times \text{BM} \text{ luas area standar} \times \text{bobot sampel}} \times 100\%$$

Keterangan:

C = Konsentrasi standar asam amino (µg/mL)

FP = Faktor pengenceran

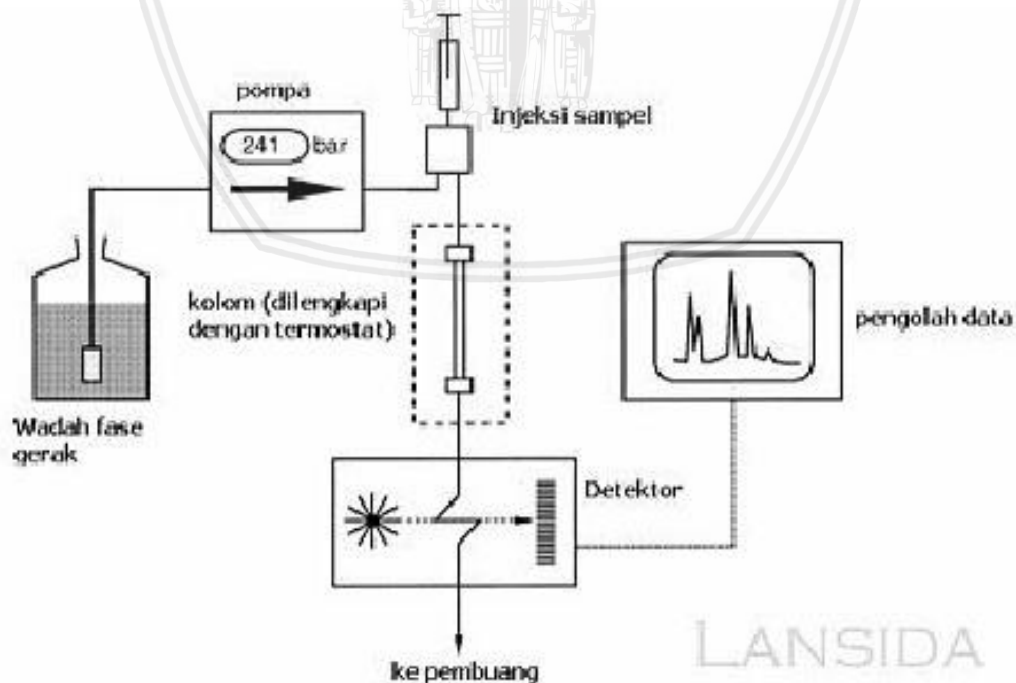
BM = Bobot molekul dari masing-masing asam amino (g/mol)

Lampiran 22. Alat UPLC (*Ultra Performance Liquid Chromatography*) untuk Analisa Profil Asam Amino

a. Alat UPLC dilihat dari luar



b. Alat UPLC dilihat dari dalam





IOSR Journals
International Organization
of Scientific Research

Australia | Qatar | India | New York | Malaysia

Certificate

Office Code :	M1867	Date :	2019-04-23
MIC No. :	2854	Status :	Published

Article Details

This is to certify that following paper has been published in IOSR Journals.

Article Title : Amino Acid Composition of Gelatin from Ephinephelus sp
 Author's Name : Ghea Regita Maharani Siregar , Eddy Suprayitno
 Journal Name : IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science
 ISSN : 2319-2380
 Publisher Name : International Organization of Scientific Research
 Journal Url : www.iosrjournals.org
 Publishing Model : Open Access Publishing
 Review Type : Blind Peer Review Process
 Journal Type : Indexed Refereed Journal
 Volume No. : 12
 Issue No. : 4
 Article DOI : 10.9790/2380-1204015154



Signature
Editorial Manager
IOSR Journals
support@iosrmail.org

International Organization of Scientific Research || www.iosrjournals.org

Amino Acid Composition of Gelatin from *Ephinephelus* sp.

Ghea Regita Maharani Siregar¹, Eddy Suprayitno²

¹(Departement of Fisheries and Marine Science, Brawijaya University, Indonesia)

²(Departement of Fisheries and Marine Science, Brawijaya University, Indonesia)

Corresponding Author: Ghea Regita Maharani Siregar

Abstract: gelatin source can be obtained from fish skin, scale or bone. Fish gelatin can be an alternative to mammalian gelatin for use in food, photography and pharmaceutical industries. The objective of this study is to know amino acid content of gelatin from *Ephinephelus* sp. (Carp). Gelatin extracted by citrid acid with concentration 0,5%; 1% and 1,5%, with physico-chemical characteristic were studied. Gelatin with 1% concentration has the best results based on physico-chemical characteristic which yield, proximate analysis, pH, viscosity, gel strength and amino acid content. Glycine and prolin being the most dominant component that are important for gelatin for gel strength as physical properties.

Keywords: Amino Acid, Collagen, *Ephinephelus* sp., Fish skin, Gelatin

Date of Submission: 06-04-2019

Date of acceptance: 22-04-2019

I. Introduction

Gelatin is a biopolymers obtained from collagen hydrolysis from skin, muscle tissue and mammals bones. Gelatin obtained from pre-treatment in acid (type A gelatin) with an isoelectric point between pH 4,7-5,4 or alkaline (type B gelatin) with an isoelectric point between pH 7-9. Gelatin from skin generally obtained from acid treatment wherefore collagen tissue in skin more soft. Gelatin can be made from source that contain collagen, such as skin and scale. Skin has the highest collagen content than bones and scale. Skins have a lot advantages as a gelatin source which can be faster when soaking in acid. While, using solid sources like bones and scales will take more time when soaking in alkaline solution. Molecular weight from gelatin which between 90-300 kD (1). In general, amino acid structure is an C atom binding four clusters: amine (NH₂), carboxyl (COOH), hydrogen atom (H) and residual clusters (R) (2). Amino acid content of fish gelatin and mammals gelatin have major different. Amino acid in mammals gelatin can give a stable structure and great viscoelastic than fish gelatin.

II. Materials and Methods

2.1 Sample Preparation

Fish skin samples *Ephinephelus* sp. (Carp) were purchased from PT. Alam Jaya in Surabaya, East Java Indonesia. The skin soaked in 60^oC water for 30 minutes to sparate meat and skin. After soaked, fish skin were dried and ready for soaked in acid.

2.2 Curing preparation

Curing solution using acetic acid in concentration 0,5%; 1% and 1,5%. Solution was made from 0,5g, 1g and 1,5g (w/v) acetic acid dissolved into a measuring flask 100ml which already contains 100ml aquadest.

2.3 Gelatin Extraction

The fish skin soaked in 0,5%; 1%, and 1,5% (w/v) acetic acid for 24 hours. After 24 hours, fish skin were washed with running tap water until neutral pH (6-7,5). The next step, fish skin were soaked completely in aquadest for next extraction in waterbath. Extraction of gelatin takes 6 hours in 70^oC. after extraction, residual water were filtered and ovened for 48 hours in 60^oC. The dried gelatin is smoothed by mixer and ready for next analisys.

2.4 Proximate analysis

For protein analysis, using Kjeldhal method. Fat analisys using soxhlet method. Water analysis using thermogravymetri method and ash analysis using furnace method.

2.5 Determination of Gel Strength

15 ml of gelatin samples was taken and incubated in 10^oC for 17 hours. Gel strength measured by CT3 Texture Analyzer.

DOI: 10.9790/2380-1204015154

www.iosrjournals.org

51 | Page

2.6 Determination of Viscosity

15 ml of gelatin samples was taken and measured in 60°C with Viscometer 60 rpm

2.7 Determination of pH

pH was determined using pH pen calibrated to a neutral pH range of 6

2.8 Amino acid Analysis

amino acid analysis were using UPLC (*Ultra-high Performance Liquid Chromatography*).

III. Results and Discussion

3.1 Gelatin Extraction

Average yield of gelatin from *Ephinephelus* sp. Are tabulated on (TABLE 1). The highest yield obtained from 1% soaked skin. The lower yield could be do because too low or too high concentration of acetic acid. The low concentration could not change the collagen tissue into collagen which not change triple helix collagen into single helix. Too high concentration could damaging protein structure leads to denaturation. Protein can be damage not just because high temperature, but also low pH (acid) will change main chain structure of peptide in protein (4).

Table 1: Yield of gelatin in percentage

Parameter	Concentration		
	0,5%	1%	1,5%
Yield average (%)	17,3	21,75	19,45

3.2 Proximate Analysis

Average of proximate analysis are tabulated on (TABLE 2). Highest protein obtained from 1% citric acid soaked skin. Protein content were influenced by soaked and extraction process. Immersion process breaks hydrogen bonds and opened collagen structure and when extraction in right temperature and time, protein will be extracted a lot. High protein content show that gelatin has the best quality. The higher the protein content, the stronger the strength of the gel (5).

Table 2: Proximate analysis of gelatin in percentage

Parameter	Concentration		
	0,5%	1%	1,5%
Protein (%)	76,05	84,99	82,66
Fat (%)	0,335	0,395	0,398
Water (%)	1,14	1,63	1,68
Ash (%)	0,40	0,33	0,34

The best fat content in gelatin were obtained from 0,5% citric acid soaked skin. Fat content in gelatin influenced by processing from start until the end of process. Best treatment from every process will reduce fat content in gelatin. High or low fat content in gelatin also influenced by sample source (Yenti *et al.*,2016). Fat content in gelatin is very important because being the determination of storage. Gelatin with lower fat content have the longest storage period (6).

The best water content in gelatin were obtained from 0,5% citric acid soaked skin. Water content take major role for gelatin quality in texture, taste and storage period. The difference of water content between each concentration could be because how much collagen were made, it cause hydrogen bound from non collagen will bound with water molecule, so that when dried process water will evaporate and reduce water content in gelatin.

The best ash content were obtained from 1% citric acid soaked skin. Ash content used to see quality and level of success from gelatin extraction process. Ash content caused by minerals in raw materials. The higher the minerals content in raw material, the higher the minerals content will be measured in gelatin (7).

3.3 determination of gel strength

Average of gel strength analysis are tabulated on (TABLE 3). The best gel strength were obtained from 1% citric acid soaked skin. Gel strength known as the ability of gelatin to forming a thermoreversible gel in water. Gel strength influenced by gelatin concentration, intrinsic factor, pH, temperature and additives.

Table 3: Gel strength of gelatin in newtown

Parameter	Concentration		
	0,5%	1%	1,5%
Gel Strength average (N)	0,83	12,12	10,80

3.4 determination of viscosity

Average of viscosity analysis are tabulated on (TABLE 4). The best viscosity were obtained from 1% citric acid soaked skin. Viscosity is influenced by water content in gelatin. The lower water content in gelatin, hence the ability to binding water (gelling) is high. The more amount of water bound by the gelatin, the solution will be thicker which results in a high value of viscosity.

Table 4: Viscosity of gelatin in centiPoise (cP)

Parameter	Concentration		
	0,5%	1%	1,5%
Viscosity average (cP)	2,0	6,5	5,0

3.5 determination of pH

Average of pH analysis are tabulated on (TABLE 5). All of the pH in all of concentration has met the standard from Gelatin Manufacturers Institute of America and British Standard (1975). High or low in pH values could be caused by extraction process, swelling of collagen or imperfect washing to make a neutral pH after soaked in acid. Based on GMIA pH gelatin for acid process were 3,8-5,5 for food application such as soft capsule for pharmacies.

Table 5: pH of gelatin

Parameter	Concentration		
	0,5%	1%	1,5%
pH average	6,0	4,8	4,5

3.6 Amino Acid Component

Amino acid component are tabulated on (TABLE 6). Amino acids are the main components of protein constituents and are divided into two components namely essential amino acids and non essential amino acids. Essential amino acids cannot be produced in the body so they must be added in the form of food intake, while non-essential amino acids can be produced in the body. Amino acids are generally in powder form and are easily soluble in water, but are not soluble in non-polar organic solvents (8)

Table 6: Amino Acid Component

Parameter	Unit	Result
L-Serin	%	2.63
L-Asam Glutamat	%	7.57
L-Fenilalanin	%	2.12
L-Isoleusin	%	0.79
L-Valin	%	1.67
L-Alanin	%	8.6
L-Arginin	%	8.06
Glisin	%	21.07
L-Lisin	%	2.58
L-Asam Aspartat	%	4.11
L-Leusin	%	1.92
L-Tirosin	%	0.42
L-Prolin	%	10.23
L-Threonin	%	2.37
L-Histidin	%	0.71

The amount of amino acids contained in gelatin is influenced by the type of solution used. Acid curing material is known to have a stronger performance in breaking down the molecular bond of amino acid chains, thus allowing certain chains of amino acids to undergo denaturation and dissolution processes until they are permanently damaged and result in changes in the composition of the amino acids themselves. During the washing and neutralization process, it is possible that a number of dissolved collagen proteins are wasted along with the rest of the washing which will ultimately affect the composition of amino acids contained in a gelatin. Amino acids are a major component of collagen protein that is sensitive to acids, where contaminated acids directly affect the structure of collagen proteins.

The largest amino acid content in gelatin is the amino acid glycine. The gelatin polypeptide chain is composed of repetitions of the amino acid glycine-proline-proline or glycine-hydroxyproline-proline. Another amino acid content which is quite large after glycine is proline. Gelatin with high amino acid glycine and proline content will also have high gel strength values. The amino acid content that is important in influencing the characteristics of gelatin is the amino acid proline (9).

The results of the study by Santoso et al. (2013), showed that gelatin which has high amino acid glycine and proline also has high gel strength. When gelatin is applied in making marshmallows, the

Amino Acid Composition of Gelatin from *Ephinephelus* sp.

composition of amino acids proline and glycine play a role in gel formation. From the best treatment with citric acid immersion concentration of 1%, total glycine in the amino acid test on the gelatin of grouper skin (*Ephinephelus* sp.) Was 21.07% while the proline was 10.23%. When compared with a study by Suryanti et al., (2017), glycine produced from tilapia skin gelatin (*Oreochromis niloticus*) was 14.58% while proline was 3.84%. Whereas according to research by Saputra et al., (2015), glycine produced from gelatin of catfish skin (*Pangasius pangasius*) was 21.08% and lysine produced was 3.64%.

The level of amino acid gelatin in an acidic way is lower than that of a base, this difference can occur due to the loss of amino acids during the hydrolysis of collagen in an acidic manner. Glycine and proline are the two main amino acids, which are almost a quarter of the total amino acid Gelatin made from the partial hydrolysis of collagen. The alpha chain in collagen generally has repeated sequences of glycine-X-Y. Proline often occurs at position X so that the amino acids are most abundant in gelatin. This combination is preferred for steric and electrostatic reasons (10)

Glycine is the most found amino acid in gelatin. This type of amino acid accounts for 23% of the total amino acids. It is known that thermal stability is influenced by the number of amino acids. In addition, the amount of amino acids in gelatin derived from fish depends on fish habitat. The amino acid content of gelatin from cold water fish tends to be lower than the number of amino acids from gelatin extracted from warm water fish species (11).

IV. Conclusion

Gelatin is a soluble polypeptide derived from collagen which is the main constituent of animal skin, bones and connective tissue. Gelatin is carried out through partial hydrolysis of collagen when collagen is treated with acid or base and followed by heat. The fibrous structure of collagen is broken irreversible and produces gelatin. Gelatin is a type of protein that is extracted from collagen tissue of skin, bones or animal ligaments. Gelatin is widely used in the fields of food, pharmaceutical, cosmetics and photography. The use of gelatin in the industry to increase flower power, texture and stability, for example in the food industry, namely meat products, gelatin is used to increase the binding capacity of water. In the pharmaceutical industry, gelatin is used for capsule hard manufacturing. In the cosmetics industry, gelatin is used as an emulsifier and softening agent and is used in cream and lotion products and is the main ingredient in "protein" for shampoo products and "protein" hair conditioners. The photographic film industry, gelatin is used as a binding medium and protective colloid for image forming materials.

References

- [1]. Suryanti, S., D.W.Marseno., R. Indrati and H.E. Irianto, *Pengaruh jenis asam dan isolasi gelatin dari kulit ikan nila (Oreochromis niloticus) terhadap karakteristik emulsi*, Jurnal AGRITECH, 37(4), 2017, 410-419.
- [2]. Suprayitno, E. and T.D. Sulistyati, *metabolisme protein* (UB Press, Malang, 2017).
- [3]. Peranginangin, R., N. Haq., W.F. Ma'ruf and A. Rusli, *Ekstraksi gelatin dari kulit ikan patin (Pangasius hypophthalmus) secara proses asam*, Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia, 10 (3), 2017, 75-84.
- [4]. Pertiwi, M., Y. Atma., A.Z. Mustopa and R. Maisarah, *Karakteristik Fisik dan Kimia Gelatin dari Tulang Ikan Patin dengan Pre-Treatment Asam Sitrat*, Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan, 7 (2), 2018, 83-91.
- [5]. Santoso, C., T. Surti and Sumardianto, *Perbedaan penggunaan konsentrasi larutan asam sitrat dalam pembuatan gelatin tulang rawan ikan pari mondol (Himantura gerradi)*, Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan, 4 (2), 2015, 106-114.
- [6]. Trilaksana, W., M. Nurimala and L.H. Setiawati., *Ekstraksi gelatin kulit ikan kakap merah (Lutjanus sp.) dengan proses perlakuan asam*, Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia, Vol. 13 (3), 2012, 240-251
- [7]. Saputra, R.H., I. Widiastuti and A. Supriadi, *Karakteristik fisika dan kimia gelatin kulit ikan patin (Pangasius pangasius) dengan kombinasi berbagai asam dan suhu*, Jurnal Teknologi Hasil Perikanan, 4 (1), 2015, 29-36
- [8]. Santoso, J., Shynic and S.I. Manurung, *Pemanfaatan hasil tangkapan sampingan ikan cucut dan ikan pari dalam pembuatan gelatin*, Marine Fisheries, 4 (1), 2013, 75-83
- [9]. Nasution, A.Y., Harmita and Y. Harahap, *Karakterisasi gelatin hasil ekstraksi dari kulit ikan patin (Pangasius hypophthalmus) dengan proses asam dan basa*, Journal Pharmaceutical Sciences and Research, 5 (3), 2018, 142-151
- [10]. Suryanti, S., D.W.Marseno., R. Indrati and H.E. Irianto, *Pengaruh jenis asam dan isolasi gelatin dari kulit ikan nila (Oreochromis niloticus) terhadap karakteristik emulsi*, Jurnal AGRITECH, 37 (4), 2017, 410-419
- [11]. Suptijah, P., S.H. Suseno and C. Anwar, *Analisis Kekuatan gel (gel strength) produk permen jelly dari gelatin kulit ikan cucut dengan penambahan karaginan dan rumput laut*, Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia, 16 (2), 2013, 183-191

Ghea Regita Maharani Siregar . " Amino Acid Composition of Gelatin from *Ephinephelus* sp. "IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS) 12.4 (2019): PP- 51-54.