

**KUALITAS GELATIN TULANG IKAN LENCAM ( *Lethrinus lentjan* ) DENGAN  
LAMA PERENDAMAN H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> YANG BERBEDA**

**SKRIPSI**

Oleh:

**JANET BELA NOR MALITA  
NIM. 155080300111053**



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

**KUALITAS GELATIN TULANG IKAN LENCAM ( *Lethrinus lentjan* ) DENGAN  
LAMA PERENDAMAN H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> YANG BERBEDA**

**SKRIPSI  
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN**

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

**Oleh:**

**JANET BELA NOR MALITA  
NIM. 155080300111053**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2019**

SKRIPSI

KUALITAS GELATIN TULANG IKAN LENCAM ( *Lethrinus lentjan* ) DENGAN  
LAMA PERENDAMAN H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> YANG BERBEDA

Oleh:

JANET BELA NOR MALITA  
NIM. 155080300111053

telah dipertahankan di depan penguji  
pada tanggal 27 Juli 2019  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Mengetahui,  
Ketua Jurusan MSP



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

Tanggal: 08 JUL 2019

Menyetujui,  
Dosen Pembimbing

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

Tanggal: 08 JUL 2019



## IDENTITAS PENGUJI

Judul: **KUALITAS GELATIN TULANG IKAN LENCAM (*Lethinus lentjan*)  
DENGAN LAMA PERENDAMAN H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> YANG BERBEDA**

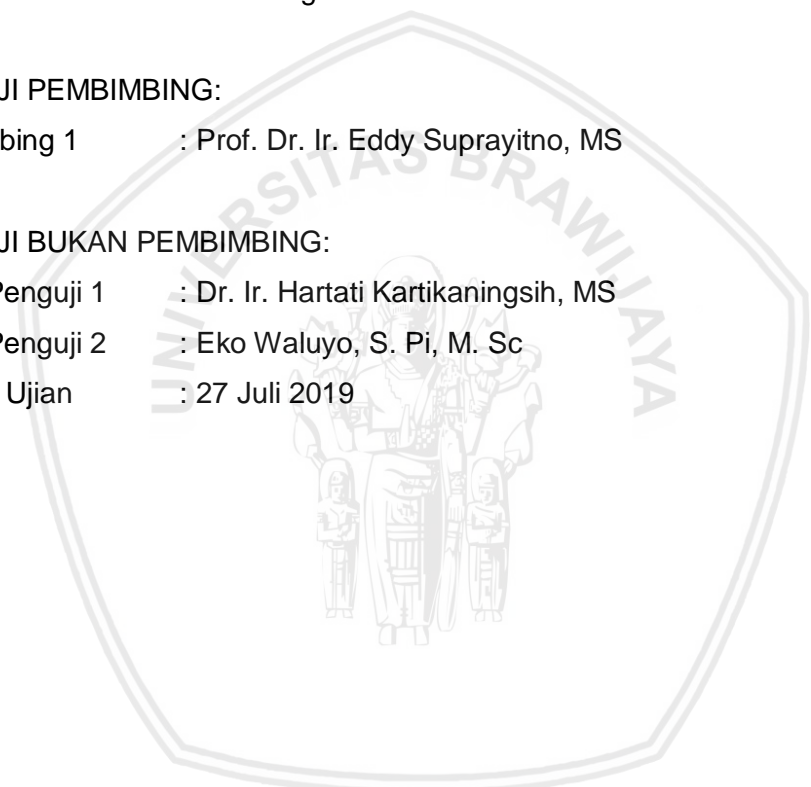
Nama Mahasiswa : Janet Bela Nor Malita  
Nim : 155080300111053  
Program Studi : Teknologi Hasil Perikanan

### PENGUJI PEMBIMBING:

Pembimbing 1 : Prof. Dr. Ir. Eddy Suprayitno, MS

### PENGUJI BUKAN PEMBIMBING:

Dosen Penguji 1 : Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS  
Dosen Penguji 2 : Eko Waluyo, S. Pi, M. Sc  
Tanggal Ujian : 27 Juli 2019



## PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul Kualitas Gelatin Tulang Ikan Lencam (*Lethrinus lentjan*) Dengan Lama Perendaman  $H_2SO_4$  yang berbeda karya saya sendiri dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal dari atau kutipan dari karya yang diterbitkan maupun yang tidak diterbitkan dari penulis telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka di bagian akhir skripsi ini.



Malang, Juni 2019

Mahasiswa

Janet Bela Nor Malita

155080300111053

## UCAPAN TERIMAKASIH

Dalam penyelesaian penyusunan laporan penelitian skripsi ini penulis mendapatkan banyak bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Allah SWT berkat rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan kegiatan penelitian Skripsi dan penyusunan laporan.
2. Prof. Dr. Ir. Eddy Suprayitno, MS selaku dosen pembimbing yang selalu memberikan bimbingan dan masukan terhadap keberhasilan usulan penelitian skripsi ini.
3. Dr. Ir Hartati Kartikaningsih, MS dan Eko Waluyo, S. Pi, M. Sc yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan evaluasi atas hasil penelitian saya.
4. Kedua orang tua dan semua keluarga yang selalu mendukung dan mendoakan kelancaran penelitian dan penyusunan skripsi ini.
5. Terimakasih kepada Faizatus Sholihah, Arif Yusuf Julionarta, Abdi Nugroho, Riza Qurrota Ayunin, Kholifatul Zahro, Jefri Nurman Faizi, dan Restu Baihaqi yang telah memberikan dukungan dan bantuan langsung maupun tidak langsung selama penyusunan skripsi ini.
6. Terimakasih kepada seluruh team bimbingan Prof Eddy yang telah mendukung satu sama lain hingga akhir.
7. Teman-teman THP 2015 yang telah memberikan dukungan baik secara langsung maupun tidak langsung.

Malang, Juni 2019

Janet Bela Nor Malita

## RINGKASAN

**JANET BELA NOR MALITA.** 155080300111053. Kualitas Gelatin Tulang Ikan Lencam ( *Lethrinus lentjan* ) Dengan Lama perendaman yang berbeda. (dibawah bimbingan (**Prof. Dr. Ir. Eddy Suprayitno, MS**))

Gelatin adalah salah satu protein yang dihidrolisis dari kolagen. Gelatin merupakan protein mudah dicerna, mengandung semua asam-asam amino esensial kecuali triptofan. Gelatin bisa didapatkan dari kulit dan tulang hewan. Produksi gelatin yang paling tinggi adalah bersumber dari sapi dan babi. Dikarenakan beberapa agama melarang konsumsi makanan yang berasal dari sapi maupun babi. Untuk itu perlu adanya alternatif sumber gelatin yang halal dan bisa di konsumsi oleh semua masyarakat. Salah satu alternatif sumber gelatin halal adalah limbah tulang ikan lencam (*Lethrinus lentjan*) sisa pabrik fillet. Pembuatan gelatin dari tulang ikan lencam ini dapat dilakukan dengan melakukan perendaman (*demineralisasi*) menggunakan asam. Larutan asam yang dapat digunakan salah satunya adalah asam sulfat ( $H_2SO_4$ ). Perendaman larutan asam ini untuk menguraikan struktur triple helix menjadi single helix pada tropokolagen dalam tulang. Selanjutnya dalam ekstraksi nantinya diharapkan kolagen yang telah dikonversi menjadi gelatin larut dalam cairan hasil ekstraksi yang nantinya akan dikeringkan untuk menjadi lembaran gelatin.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh lama perendaman asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) terhadap kualitas gelatin tulang ikan lencam (*Lethrinus lentjan*). Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Perekayasaan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang pada bulan Desember 2018 – Maret 2019.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode eksperimen. Rancangan percobaan dalam penelitian utama adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan 3 perlakuan dan 6 kali ulangan. Kemudian untuk data hasil penelitian dianalisis 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 uji Tukey pada taraf 5%.

Hasil penelitian menunjukkan lama perendaman asam sulfat berpengaruh terhadap kualitas gelatin tulang ikan lencam yaitu rendemen, kekuatan gel, viskositas, derajat keasaman (pH), kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak dan analisis profil asam amino. Gelatin tulang ikan lencam terbaik didapatkan pada lama *demineralisasi* (Perendaman) selama 36 jam dengan kualitas meliputi nilai rendemen sebesar 13,83%; kekuatan gel 367,19 bloom; viskositas 6,28 cP; pH 3,48; kadar air 6,37%; kadar abu 0,67%; kadar protein 87,42%; dan kadar lemak 0,85%. Hasil analisis profil amino diperoleh kandungan asam amino tertinggi *Glisin* 18,294% dan asam amino terendah *L-Tirosin* 0,48%. Saran yang dapat saya berikan yaitu perlu adanya penelitian lanjutan terhadap gelatin tulang ikan lencam dengan *demineralisasi* (Perendaman) menggunakan larutan asam yang lain untuk mengetahui larutan asam mana yang terbaik untuk mendapatkan gelatin dari tulang dengan kualitas yang baik.



## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan atas berkat, rahmat, dan hidayahnya sehingga penulis bisa menyelesaikan laporan skripsi ini. Laporan skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

Ucapan terimakasih sebesar – besarnya penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Eddy Suprayitno, MS sebagai dosen pembimbing Skripsi.
2. Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan kemudahan dalam menyusun Laporan Penelitian Skripsi.
3. Kedua orang tua beserta seluruh keluarga atas doa dan dukungannya terhadap terlaksananya Penelitian Skripsi.
4. Teman – teman, sahabat, dan saudara yang telah membantu dan memberikan dukungan sehingga laporan ini bisa terselesaikan.

Penulis menyadari laporan ini jauh dari kesempurnaan, semoga laporan ini bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Malang, Juni 2019

Penyusun



## DAFTAR ISI

Halaman

<b>COVER</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>IDENTITAS PENGUJI</b> .....	<b>iv</b>
<b>PERNYATAAN ORISINALITAS</b> .....	<b>v</b>
<b>UCAPAN TERIMAKASIH</b> .....	<b>vi</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>vii</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xiii</b>
<b>1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan .....	3
1.4 Hipotesis.....	4
1.5 Tempat Dan Waktu.....	4
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
2.1 Klasifikasi Ikan Lencam .....	5
2.1.1 Morfologi Ikan Lencam .....	5
2.1.2 Kandungan Gizi Ikan Lencam.....	6
2.1.3 Limbah Ikan.....	8
2.2 Kolagen .....	9
2.2.1 Kualitas Kolagen.....	10
2.2.2 Pemecahan Kolagen .....	11
2.3 Gelatin .....	12
2.3.1 Tipe Gelatin .....	14
2.3.2 Kegunaan Gelatin.....	15
2.3.3 Kualitas Gelatin .....	16
2.3.4 Cara Ekstraksi .....	21
2.4 Perendaman Tulang Ikan Lencam .....	23
2.5 <i>Pre-Treatment</i> Gelatin Tulang Ikan.....	24
2.4.1 <i>Demineralisasi</i> .....	24
2.4.2 <i>Deproteinasi</i> .....	26
2.5 Asam Sulfat (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ).....	27
2.6 Pengaruh Asam Terhadap Proses <i>Demineralisasi</i> .....	31
<b>3. METODE PENELITIAN</b> .....	<b>32</b>
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 Variabel Penelitian.....	34
3.3 Prosedur Penelitian .....	35



3.3.1	Penelitian Pendahuluan.....	35
3.3.2	Penelitian Utama .....	37
3.3	Rancangan Penelitian.....	37
3.4	Parameter Kualitas Gelatin .....	38
3.4.1	Rendemen.....	38
3.4.2	Kekuatan Gel.....	39
3.4.3	Viskositas .....	40
3.4.4	pH.....	42
3.4.5	Kadar Protein.....	43
3.4.6	Kadar Air .....	45
3.4.7	Kadar Lemak .....	46
3.4.8	Kadar Abu .....	47
3.4.9	Analisa Profil Asam Amino.....	48
<b>4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>52</b>
4.1	Hasil Penelitian.....	52
4.1.1	Penelitian Pendahuluan.....	52
4.1.2	Penelitian Utama .....	53
4.2	Parameter Uji.....	54
4.2.1	Rendemen.....	54
4.2.2	Kekuatan Gel.....	58
4.2.3	Viskositas .....	61
4.2.4	pH (Derajat Keasaman) .....	63
4.2.5	Kadar Protein.....	65
4.2.6	Kadar Lemak .....	69
4.2.7	Kadar Air .....	71
4.2.8	Kadar Abu .....	73
4.2.9	Perlakuan Terbaik .....	75
4.2.10	Analisis Profil Asam Amino.....	76
<b>5.</b>	<b>PENUTUP .....</b>	<b>79</b>
5.1	Kesimpulan.....	79
5.2	Saran.....	79
	<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>80</b>
	<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>89</b>



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan Gizi Ikan Lencam .....	6
2. Kandungan Asam Amino Gelatin .....	20
3. Standar Gelatin SNI 06-3735-1995 .....	21
4. Rancangan Acak Lengkap (RAL).....	37
5. Hasil Uji Penelitian Pendahuluan .....	52
6. Hasil Penelitian Utama Kualitas Gelatin Tulang Ikan Lencam .....	53
7. Profil Asam Amino Gelatin Tulang Ikan Lencam Demineralisasi Asam Sulfat.....	76



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Lencam .....	5
2. Struktur Kolagen Triple Helix .....	10
3. Struktur Monomer Gelatin .....	13
4. Proses Hidrolisis Asam Sulfat .....	30
5. Flowchart Ekstraksi Gelatin Dengan Asam Sulfat .....	36
6. Rendemen Gelatin Tulang Ikan Lencam Dengan Lama Demineralisasi Asam Sulfat Yang Berbeda .....	55
7. Kekuatan Gel Gelatin Tulang Ikan Lencam Dengan Lama Demineralisasi Asam Sulfat Yang Berbeda .....	58
8. Viskositas Gelatin Tulang Ikan Lencam Dengan Lama Demineralisasi Asam Sulfat Yang Berbeda .....	61
9. pH Gelatin Tulang Ikan Lencam Dengan Lama Demineralisasi Asam Sulfat Yang Berbeda .....	64
10. Kadar Protein Gelatin Tulang Ikan Lencam Dengan Lama Demineralisasi Asam Sulfat Yang Berbeda .....	66
11. Kadar Lemak Gelatin Tulang Ikan Lencam Dengan Lama Demineralisasi Asam Sulfat Yang Berbeda .....	69
12. Kadar Air Gelatin Tulang Ikan Lencam Dengan Lama Demineralisasi Asam Sulfat Yang Berbeda .....	71
13. Kadar Abu Gelatin Tulang Ikan Lencam Dengan Lama Demineralisasi Asam Sulfat Yang Berbeda .....	74



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Analisis Ragam ANOVA dan Uji Lanjut Tukey Rendemen Gelatin Tulang Ikan Lencam.....	89
2. Hasil Analisis Ragam ANOVA dan Uji Lanjut Tukey Kekuatan Gel Gelatin Tulang Ikan Lencam.....	90
3. Hasil Analisis Ragam ANOVA dan Uji Lanjut Tukey Viskositas Gelatin Tulang Ikan Lencam.....	91
4. Hasil Analisis Ragam ANOVA dan Uji Lanjut Tukey Ph Gelatin Tulang Ikan Lencam.....	92
5. Hasil Analisis Ragam ANOVA dan Uji Lanjut Tukey Protein Gelatin Tulang Ikan Lencam.....	93
6. Hasil Analisis Ragam ANOVA dan Uji Lanjut Tukey Lemak Gelatin Tulang Ikan Lencam.....	94
7. Hasil Analisis Ragam ANOVA dan Uji Lanjut Tukey Abu Gelatin Tulang Ikan Lencam.....	95
8. Hasil Analisis Ragam ANOVA dan Uji Lanjut Tukey Air Gelatin Tulang Ikan Lencam.....	96
9. Prosedur Uji Kekuatan Gel.....	97
10. Prosedur Uji Viskositas .....	98
11. Prosedur Uji pH .....	99
12. Prosedur Uji Kadar Protein .....	100
13. Prosedur Uji Kadar Lemak .....	102
14. Prosedur Uji Kadar Air .....	103
15. Prosedur Pengujian Kadar Abu.....	104
16. Hasil Analisis Degarmo Perlakuan Terbaik .....	105
17. Dokumentasi Pembuatan Gelatin Tulang Ikan Lencam (Lethrinus Lentjan) .....	106
18. Hasil Analisis Profil Asam Amino Gelatin Tulang Ikan Lencam .....	109
19. Prosedur Pengujian Asam Amino Menggunakan HPLC (High Performance Liquid Chromatography) .....	111
20. Alat UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography) .....	113



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Sebagian besar wilayah Indonesia menurut Aisyah (2018), berbatasan dengan laut dan memiliki potensi perikanan yang besar, diantaranya kaya akan ikan pelagis dan ikan demersal termasuk didalamnya adalah Ikan Lencam (*Lethrinus lentjan*). Ikan lencam menurut Pratiwi *et al.*, (2018), tergolong dalam famili lethriniidae yang dikelompokkan dalam ikan target yang lebih dikenal sebagai ikan konsumsi. Ikan lencam ini termasuk dalam famili utama ikan karang konsumsi dan menjadi salah satu penyumbang produksi terbesar di ekosistem terumbu karang. Ikan lencam merupakan salah satu ikan konsumsi yang saat ini sudah masuk dalam komoditas ekspor dan pengolahannya sangat tinggi, salah satunya adalah dengan pembuatan fillet. Hal tersebut menimbulkan peningkatan jumlah limbah tulang ikan lencam. Limbah sisa pengolahan ikan setiap tahunan diperkirakan sekitar 25% dari total tangkapan (Haiyee *et al.*, 2016). Sehingga perlu dilakukan pengolahan limbah tulang ikan lencam yang tepat dan bernilai ekonomis tinggi. Salah satu produk pengolahan limbah tulang ikan lencam adalah dengan pembuatan gelatin. Ditambahkan Firdayanti dan Suprayitno (2019), saat ini sumber utama pembuatan gelatin di pabrik adalah kulit babi, bovine dan tulang.

Gelatin merupakan suatu jenis protein yang didapatkan dari mengekstraksi jaringan kolagen hewan yang ada pada kulit, tulang dan ligamen hewan atau jaringan ikat (Pantow *et al.*, 2016). Namun dengan adanya indikasi penyakit *Bovine Spongiform Encephalopathy* (BSE) pada hewan seperti sapi yang dapat menyerang otak manusia hingga dapat menimbulkan kematian sehingga gelatin dari *bovine* (sapi) tidak disarankan. Selain itu beberapa agama melarang konsumsi gelatin dari sapi maupun babi, sehingga perlu adanya alternatif pembuatan gelatin yang dapat dikonsumsi oleh semua kalangan masyarakat.

Setiap tahunnya permintaan akan gelatin meningkat, sumber utama gelatin yang ada di pasaran adalah gelatin yang berasal dari babi dan sapi. Sumber gelatin yang berasal dari hewan lain seperti dari unggas dan ikan hanya sekitar 1%. Untuk itu, gelatin dari ikan dapat menjadi prospek yang bagus untuk dikembangkan. Gelatin dari ikan dapat diperoleh dari kulit, tulang, maupun sirip ikan (Oktaviani *et al.*, 2017). Oleh karena itu pembuatan gelatin halal yang sangat prospektif untuk dikembangkan adalah yang berasal dari hasil samping pengolahan ikan, yaitu tulang-tulang ikan lele karena mencakup 10 – 20 % dari total berat tubuh ikan.

Kualitas gelatin tulang ikan menurut Wulandari *et al.*, (2013), dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu metode persiapan (*pretreatment*) dan sifat intrinsik dari bahan. Metode *pretreatment* yang telah banyak dilakukan yaitu dengan menghilangkan kalsium (*demineralisasi*), menghilangkan protein non kolagen (*deproteinasi*), dan penghilangan lemak (*defatting*). Tujuan dari proses *demineralisasi* adalah untuk menghilangkan garam posfor, garam kalsium serta garam-garam lainnya yang nantinya akan diperoleh ossein. Ossein merupakan tulang lunak hasil proses *demineralisasi*. Sedangkan tujuan dari *deproteinasi* adalah untuk menghilangkan protein non kolagen yang masih terdapat pada tulang setelah dibersihkan. Pada pembuatan gelatin tulang ikan sangat penting untuk dilakukan *demineralisasi* dan *deproteinasi* karena untuk menghilangkan garam kalsium yang terdapat dalam tulang serta protein non kolagen yang masih terikat dalam tulang ikan. Ditambahkan Gunawan *et al.*, (2017), tahap *deproteinasi* dapat dilakukan dengan larutan NaOH dan proses hidrolisis dengan asam untuk *demineralisasi*. Pada penelitian ini digunakan proses *pre-treatment* pembuatan gelatin dengan *demineralisasi* yaitu hanya menggunakan asam sebagai bahan untuk hidrolisis dan tidak dilakukan proses *deproteinasi* menggunakan basa. Perlakuan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah lama waktu perendaman

tulang ikan lele dalam larutan asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) 5%. Penggunaan lama waktu perendaman yang berbeda saat *demineralisasi* menurut Syahraeni *et al.*, (2017), berpengaruh terhadap kualitas gelatin yang dihasilkan. Oleh karena itu, untuk mengetahui lama perendaman dalam asam sulfat mampu mempengaruhi kualitas gelatin yang baik maka perlu dilakukan penelitian ini. Proses *pre-treatment* yaitu, *demineralisasi* juga berperan dalam proses pembuatan gelatin ini dikarenakan proses *demineralisasi* ini mampu mempercepat proses hidrolisis menjadi gelatin yang diakibatkan dari terbukanya struktur tropokolagen dalam tulang selama proses *pre treatment*. Proses perendaman asam menurut Samosir *et al.*, (2018) dengan *pre treatment demineralisasi* mengakibatkan terjadinya pengembangan (swelling) yang dapat membuang material-material yang tidak diinginkan, seperti lemak dan protein non-kolagen pada tulang dengan kehilangan kolagen yang minimum. Penggunaan larutan asam dalam proses *demineralisasi* dipertimbangkan bahwa dengan adanya larutan asam dapat memecah mineral, kalsium, dan posfor yang merupakan unsur penyusun tulang.

## 1.2 Rumusan Masalah

Dari latar belakang tersebut dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh lama *demineralisasi* (Perendaman) yang berbeda terhadap kualitas gelatin tulang ikan lele?
2. Berapa lama *demineralisasi* (Perendaman) optimal yang menghasilkan kualitas gelatin tulang ikan lele terbaik?

## 1.3 Tujuan

Dari permasalahan tersebut tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui pengaruh lama *demineralisasi* (Perendaman) yang berbeda terhadap kualitas gelatin tulang ikan lele yang dihasilkan.



2. Untuk mengetahui perlakuan lama *demineralisasi* (Perendaman) optimal terhadap kualitas gelatin tulang ikan lele terbaik.

#### 1.4 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Dengan penggunaan lama *demineralisasi* (Perendaman) yang berbeda akan mempengaruhi kualitas gelatin tulang ikan lele yang dihasilkan.
2. Semakin lama *demineralisasi* (Perendaman) kualitas gelatin tulang ikan lele yang dihasilkan semakin baik.

#### 1.5 Tempat Dan Waktu

Tempat dan waktu penelitian ini yaitu, dilaksanakan pada Bulan Desember 2018 sampai Maret 2019. Untuk proses pembuatan gelatin dilakukan di Laboratorium Perekayasaan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Klasifikasi Ikan Lencam

Klasifikasi ikan lencam (*Lethrinus lentjan*) menurut Carpenter *et al.*, (2016), adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Actinopterygii
Ordo	: Perciformes
Famili	: Lethrinidae
Spesies	: <i>Lethrinus lentjan</i>



Gambar 1. Ikan Lencam  
Sumber: (Assa *et al.*, 2015)

#### 2.1.1 Morfologi Ikan Lencam

Morfologi ikan Lencam (*Lethrinus sp*) merupakan salah satu jenis ikan laut yang bernilai ekonomis penting dan mempunyai prospek yang sangat baik sebagai alternatif untuk ikan budidaya laut. Beberapa jenis yang bisa mencapai ukuran besar merupakan sumber makanan penting dan permintaan pasar untuk jenis ikan ini sangat besar. Besarnya potensi lestari untuk ikan Lencam adalah sebesar 642.29 ton pertahun yang didasarkan data Dinas Kelautan dan Perikanan Kabupaten Selayar (Prihardhani dan Yunianta, 2016).

Lethrinus memiliki badan memanjang, agak lonjong, dan gepeng. Moncong agak meruncing. Memiliki sisik ctenoid dan memiliki operculum bersisik. Sisik

transversal diatas garis rusuk berjumlah 5-6, sedangkan dibawah garis rusuk berjumlah 14-15. Jari-jari keras sirip punggung terdapat 10 dan 9 sirip punggung lemah. Sirip dubur berjari-jari keras 3 dan 8 berjari-jari lemah. Ikan ini termasuk ikan buas, makanannya umumnya crustacea, cacing dan ikan-ikan kecil. Hidup di perairan pantai dan dasar pasir. Dapat mencapai panjang 40 cm dan umumnya 25-35 cm. Warna bagian atas kehijauan dan agak keputihan bagian bawah. Sisik-sisik pada bagian atas badan di tengah-tengahnya berwarna putih seakan-akan membentuk totol-totol. Sirip-sirip berwarna kuning ungu kemerahan (Assa *et al.*, 2015).

Habitat ikan lencam umumnya di daerah terumbu karang, lamun, mangrove, di perairan pantai yang dangkal dengan dasar berpasir hingga perairan dengan kedalaman 50 meter. Biasanya menempati daerah laguna dan dekat terumbu karang. Juvenil biasa ditemukan di padang lamun dan mangrove, saat dewasa umumnya soliter dan mencari perairan yang lebih dalam.

### 2.1.2 Kandungan Gizi Ikan Lencam

Kandungan gizi ikan lencam menurut Younis *et al.*, (2011), secara umum dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Gizi Ikan Lencam

Komponen Gizi	Kandungan (%)
Protein	18,56
Lemak	0,45
Abu	1,18
Air	79,59

Sumber: Younis *et al.*, (2011)

Seperti yang dijelaskan pada Tabel 1 dapat diketahui bahwa kandungan protein dari ikan lencam (*Lethrinus lentjan*) lebih tinggi dibandingkan dengan kandungan lemaknya. Sehingga ikan ini baik untuk digunakan sebagai bahan dalam pembuatan gelatin. Ditambahkan Suryaningrum *et al.*, (2016) protein mengandung asam amino esensial seperti isoleusin, leusin, lisin, fenilalanin, dan

glutamat dalam jumlah yang cukup, bahkan kandungannya lebih tinggi dibandingkan dengan standar asam amino esensial yang dikeluarkan oleh FAO untuk kebutuhan tubuh. Menurut Suprayitno dan Sulistiyati, (2017), asam amino adalah suatu komponen organik yang mengandung gugus amino dan karboksil. Susunan kandungan asam amino dapat menentukan kualitas protein. Apabila suatu protein mengandung semua asam amino yang penting dalam jumlah yang diperlukan tubuh, maka protein ini mempunyai mutu yang tinggi.

Profil protein dan komposisi asam amino adalah indikator nilai gizi penting untuk menentukan kualitas bahan makanan untuk membuat produk bergizi tinggi bermanfaat bagi kesehatan manusia. Ikan adalah salah satu bahan makanan yang memiliki kandungan protein tinggi, dan oleh karena itu sangat bermanfaat bagi manusia (Firlianty *et al.*, 2014).

Salah satu faktor yang mempengaruhi kualitas protein adalah kandungan asam amino di dalamnya. Kandungan asam amino yang tinggi akan menyebabkan nutrisi protein tinggi. Asam amino ada yang termasuk esensial dan non esensial. Asam amino esensial adalah asam amino yang tidak bisa diproduksi dalam tubuh namun dibutuhkan keberadaannya. Sedangkan asam amino non esensial merupakan asam amino yang bisa disintesis langsung oleh tubuh. Asam amino esensial menurut Suprayitno, (2014), adalah valin, metionin, isoleusin, leucin, fenilalanin, lisin, histidin dan arginin, serta asam amino asam aspartat. Untuk asam amino non esensial, serin, asam glutamat, glisin, alanin, sistein, tirosin, hidroksilisin, amonia, hidroksiprolin dan prolin. Ada asam amino yang memiliki sifat toksik menurut Agustina *et al.*, (2014), adalah histidin. Histidin ini dapat berubah menjadi histamin oleh histidin dekarboksilase.

### 2.1.3 Limbah Ikan

Limbah ikan meningkat akibat semakin banyaknya pemanfaatan yang cukup beragam, misalnya saja diolah menjadi produk seperti fillet, siomay, nugget, rambak kulit, keripik sirip, bakso, bakso tahu, otak-otak ikan, dan masih banyak produk lainnya. Pada pengolahan ini bagian ikan yang digunakan hanya daging, sirip dan kulitnya. Untuk tulangnya tidak dimanfaatkan kembali sehingga menjadi limbah. Limbah tulang ini biasanya langsung dibuang disekitar sungai. Jika tidak ada pemanfaatan yang tepat maka limbah ini semakin lama akan semakin menumpuk menjadi sampah dan mencemari lingkungan.

Limbah industri hasil perikanan menurut Ramdany *et al.*, (2014), adalah seperti kepala, tulang, sisik dan kulit kebanyakan pemanfaatannya masih kurang dan menjadi limbah. Pada pengolahan maupun pemanfaatan ikan skala rumah tangga, bagian dari ikan yang dibuang dan menjadi limbah adalah kepala, ekor sirip, tulang dan jeroan. Ditambahkan Atma (2016), hampir sekitar  $\frac{3}{4}$  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. Tulang ikan terdiri dari senyawa organik dan senyawa anorganik (mineral). Ditambahkan Suprayitno, (2017), ikan banyak mengandung unsur organik dan anorganik diantaranya sangat berguna bagi manusia.

Pemanfaatan limbah tulang dari hasil perikanan untuk saat ini yang sudah diketahui adalah dengan dilakukan pengolahan untuk pembuatan tepung tulang ikan. Tepung tulang ikan ini dibuat dari tulang ikan dan tulang rawan ikan laut. Tulang ikan ini merupakan sumber mineral tinggi terutama Ca dan P berasal dari sumber laut yang saat ini belum dikenal dan dimanfaatkan secara optimal. Tepung

tulang ikan saat ini dimanfaatkan untuk membuat produk makanan, pakan ternak atau sebagai suplemen (Talib *et al.*, 2017).

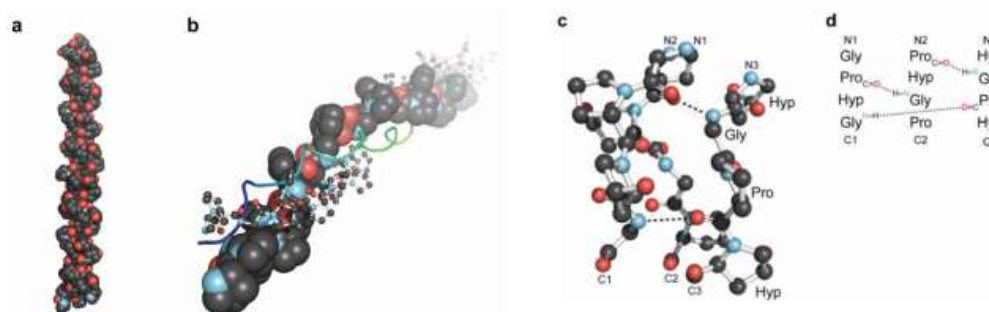
## 2.2 Kolagen

Kolagen adalah salah satu dari jaringan ikat utama protein hewani dan telah banyak digunakan sebagai bahan biomedis. Kolagen merupakan protein struktural utama yang membentuk kabel molekul, yang dapat memperkuat urat daging dan lapisan elastis yang memberikan dukungan pada kulit serta organ-organ internal hewan dan ikan. Kolagen adalah protein yang paling berlimpah dalam jaringan hewan. Kolagen menyumbang 30% dari protein tubuh total. Kolagen adalah komponen utama dari jaringan ikat, otot, gigi dan kulit (Tambunan *et al.*, 2017).

Kolagen merupakan salah satu bentuk protein dan biasa dimanfaatkan sebagai bahan baku produk gelatin. Gelatin merupakan protein sederhana hasil hidrolisis kolagen. Kolagen merupakan komponen struktural utama pada serat-serat jaringan pengikat, berwarna putih dan terdapat di dalam semua jaringan dan organ hewan dan berperan penting dalam penyusunan bentuk tubuh. Pada mamalia, kolagen terdapat pada kulit, tendon, tulang rawan dan jaringan ikat lainnya (Suhenry *et al.*, 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 Spiralinga *et al.*, (2017). Ditambahkan Safithri *et al.*, (2018), kolagen merupakan protein struktural yang banyak terdapat pada semua hewan. Kolagen adalah protein fibrosa dan merupakan komponen utama jaringan ikat yang dijumpai di tulang, tendon, kulit, pembuluh darah, dan kornea mata Kolagen mengandung kira-kira 35 persen glisin dan kira-kira 11 persen alanine. Persentase asam amino ini agak luar biasa tinggi, dimana yang lebih menonjol adalah kandungan prolin dan 4-hidroksiprolin yang

tinggi, yaitu asam amino yang jarang ditemukan pada protein selain pada kolagen dan elastin (Harris *et al.*, 2016). Struktur kolagen dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Kolagen *Triple Helix*

(a): struktur kristal resolusi tinggi pertama kolagen, tersusun dari (*ProHypGly*)-(*ProHypAla*)-(*ProHypGly*); (b) Tampilan melintang dari satu (*ProProGly*) *triple helix* dengan 3 helaian pada ruang kosong yang digambarkan sebagai bola, tongkat, dan pita; (c) gambar bola dan tongkat dari segmen kolagen triple helix; (d) ikatan tiga helai pada segmen panel c (Setyowati dan Wahyuning, 2015).

### 2.2.1 Kualitas Kolagen

Kualitas kolagen antara lain adalah tidak larut dalam larutan asam maupun alkali, tahan terhadap enzim *trypsin* dan *chymotrypsin*. Kolagen juga dapat mengkerut apabila dipanaskan, dan apabila pemanasannya sampai berada di atas suhu pengkerutannya 52°C maka kolagen akan berubah menjadi gelatin (Suhenny *et al.*, 2015). Ditambahkan Gadi *et al.*, (2017), kolagen ( $C_{102}H_{149}N_{31}O_{38}$ ) merupakan protein *fibrilar*, terdiri dari tiga rantai polipeptida (*triple helix*) sebagai komponen utama penyusun kulit dan tulang yang mewakili sekitar 25% dari total berat kering mamalia dan sangat dibutuhkan pada industri makanan, kosmetik, biomedis dan farmasi

Kolagen adalah salah satu jenis protein komponen utama dari kulit dan *connective tissue* (jaringan penghubung) pada organisme yang terdiri dari rantai

$\alpha$ - 3- polipeptida terikat satu dengan lainnya dalam bentuk stuktur batang *helix*. Setiap molekul kolagen panjangnya 300 nm, diameter 1,5 nm disertai berat molekul sekitar 300.000 dalton. Residu asam amino dalam setiap rangkaiannya sangat spesifik misalnya glisin (Gly) terdapat pada setiap ujung ketiga bagian residu kolagen dalam rantai berulang Gly-X-Y masing-masing adalah prolin (X) dan asam amino hidroksi prolin (Y) dengan tingkat probabilitas yang tinggi (Erizal *et al.*, 2014).

Kolagen menurut Safithri *et al.*, (2018), memiliki sifat yang dapat mengontrol penguapan cairan, menjaga fleksibilitas, membantu pengembangan jaringan granulasi, melindungi dari efek radiasi UV, serta sebagai perlindungan dari serangan fisik dan bakteri. Ditambahkan Fabella *et al.*, (2018), kolagen mengandung asam amino prolin, glisin, alanin, asam glutamat dan hidroksiprolin dalam jumlah besar. Kolagen juga mengandung metionin, tirosin, dan histidin tetapi dalam jumlah kecil serta tidak mempunyai triptofan atau sistein

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 antigenis 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 (Astiana *et al.*, 2016).

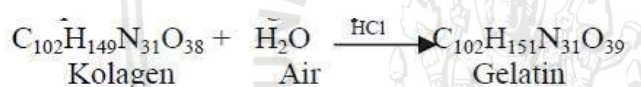
### 2.2.2 Pemecahan Kolagen

Pemecahan kolagen menjadi gelatin dapat terjadi melalui proses pemecahan protein *triple heliks* menjadi protein kumaran acak. Pemecahan



protein kolagen dapat dilakukan dengan menggunakan asam atau basa serta enzim. Pemecahan dengan asam akan dihasilkan gelatin tipe A, sedangkan dengan basa akan dihasilkan gelatin tipe B (Sugihartono, 2015).

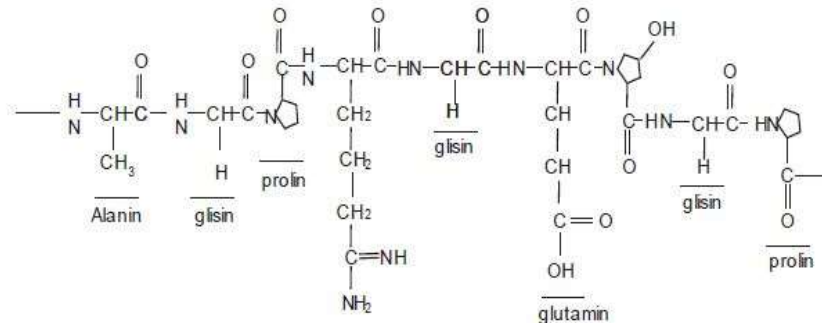
Komponen utama dari gelatin adalah protein, kandungan protein berkisar antara 85 sampai 95 %. Gelatin dihasilkan melalui hidrolisis parsial dan kolagen. Kolagen protein yang terdapat pada binatang dan manusia, berbeda dengan protein yang umumnya spiral maka kolagen memiliki struktur linier seperti serat. Dalam pembuatan gelatin perlakuan terhadap bahan baku adalah dengan melarutkan pada larutan asam atau alkali sehingga terjadi pemecahan parsial pada ikatan silangnya. Struktur yang pecah ini disebut sebagai kolagen yang larut air dan dikenal sebagai gelatin (Finarti *et al.*, 2018). Proses pemecahan kolagen menjadi gelatin menurut Suhenry *et al.*, (2015), adalah sebagai berikut.



### 2.3 Gelatin

Gelatin adalah turunan protein yang berasal dari serat kolagen yang terdapat pada tulang rawan (Minah *et al.*, 2016). Ditambahkan Rahayu dan Fithriyah (2015), gelatin adalah sejenis derivat protein yang berasal dari serat kolagen yang bisa didapatkan dari ekstraksi dari tulang. Karakter gelatin sangat unik seperti memiliki kemampuan untuk berbalik bentuk dari sol menjadi gel, bersifat amfoter dan menjaga sifat koloid. Gelatin ini biasanya digunakan untuk pengolahan pangan, media mikrobiologis, dan kosmetika. Menurut Sasmitaloka *et al.*, (2017), gelatin adalah sebuah produk yang alami karena dapat diperoleh melalui hidrolisis parsial kolagen dari kulit dan tulang hewan. Ditambahkan Suhenry *et al.*, (2015), gelatin mempunyai rumus molekul  $\text{C}_{102}\text{H}_{151}\text{N}_{31}\text{O}_{39}$ , gelatin adalah protein yang tersusun atas beberapa asam amino. Sedikitnya terdapat 18 asam amino penyusun gelatin,

antara lain : alanine, phenylalanine, isoleusine, methyonine, dan lain-lain. Struktur monomer gelatin dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur Monomer Gelatin  
Sumber: Suhenry *et al.*, (2015)

Gelatin merupakan derivat protein yang berasal dari serat kolagen dan terdapat pada kulit, tulang dan tulang rawan. Gelatin tersusun atas beberapa asam amino. Asam amino yang menyusun gelatin ini terdiri dari glisin sebagai asam amino utama dan merupakan 2/3 dari seluruh asam amino yang menyusunnya, sedangkan 1/3 asam amino yang tersisa diisi oleh prolin dan hidroksiprolin. Gelatin ini dapat diperoleh melalui ekstraksi asam, basa atau enzimatis dari kolagen. Dimana kolagen sendiri merupakan komponen protein utama dari kulit, tulang, dan jaringan ikat hewan, termasuk ikan dan unggas (Hidayat *et al.*, 2016)

Gelatin termasuk polipeptida yang memiliki berat molekul tinggi dan merupakan hidrokoloid penting. Gelatin secara luas dapat digunakan untuk meningkatkan stabilitas, elastisitas dan konsistensi dalam produk makanan. Gelatin dapat juga dikatakan sebagai kolagen terdenaturasi dan sebagian terhidrolisis yang diperoleh dari kulit, jaringan ikat dan tulang hewan. Produksi gelatin di seluruh dunia jumlahnya sekitar 300.000 ton per tahun dan permintaan dari gelatin sendiri didunia mengalami peningkatan setiap tahunnya (Mahmoodani *et al.*, 2014).

### 2.3.1 Tipe Gelatin

Tipe gelatin menurut Santoso *et al.*, (2015), dapat dibagi menjadi dua macam, yaitu gelatin dengan proses asam dan proses basa. Perbedaan kedua proses ini terletak pada proses perendamannya. Penerapan jenis asam maupun basa organik dan metode ekstraksi lainnya seperti lama hidrolisis, pH dan suhu akan berbeda-beda. Salah satu metode yang digunakan pembuatan gelatin tulang ikan Pari menggunakan proses asam yaitu menggunakan asam lemah berjenis asam sitrat. Secara ekonomis, proses asam lebih disukai dibandingkan proses basa. Hal ini karena perendaman yang dilakukan dalam proses asam relatif lebih singkat dibandingkan proses basa. Ditambahkan Jeffriansah dan Suprayitno (2019), gelatin yang memiliki kualitas yang baik dapat dibuat dengan menggunakan metode ekstraksi asam maupun basa yang tepat.

Menurut Oktaviani *et al.*, (2017), pada pembuatan gelatin, perlakuan bahan baku berupa kolagen hewan dengan asam encer atau dengan basa menyebabkan pemotongan ikatan silang protein, strukturnya menjadi putus dan potongan-potongan tersebut larut dalam air. Potongan-potongan rantai protein yang larut air ini disebut gelatin. Kualitas gelatin yang dihasilkan bergantung pada konsentrasi asam atau basa yang digunakan, temperatur dan lamanya waktu perendaman. Pada prinsipnya proses pembuatan gelatin dapat dibagi menjadi dua jenis yaitu proses asam dan proses basa. Berdasarkan hal tersebut gelatin digolongkan ke dalam dua tipe, yaitu gelatin tipe A dan tipe B.

#### 1. Gelatin tipe A (*Acid*)

Gelatin tipe A diperoleh melalui perendaman bahan baku menggunakan asam encer. Metode ini cocok untuk bahan baku kolagen yang diperoleh dari hewan yang masih muda atau dari bahan kulit. Ikatan silang pada kolagen masih lemah sehingga untuk memutuskan ikatan tersebut cukup dengan larutan asam

encer. Perendaman dapat dilakukan menggunakan asam klorida 2-6% selama 24-72 jam pada suhu kamar

## 2. Gelatin tipe B (*Base*)

Gelatin tipe B diperoleh dengan proses pengkondisian menggunakan larutan basa. Bahan bakunya adalah dari tulang atau kolagen hewan yang sudah agak tua. Tergantung pada konsentrasi alkali dan temperatur yang digunakan, proses perendaman bisa beberapa hari sampai berbulan-bulan. Jika menggunakan larutan NaOH 1% pada temperatur 20°C, maka proses pengkondisian bisa beberapa hari. Namun jika menggunakan larutan kapur bisa lebih dari 1 bulan. Walaupun proses ini sangat lama, tetapi dihasilkan gelatin dengan kemurnian tinggi.

### 2.3.2 Kegunaan Gelatin

Kegunaan gelatin cukup luas dalam berbagai industri, baik industri pangan maupun industri non-pangan. Pemanfaatan gelatin di industri pangan digunakan sebagai bahan pengikat (*binder agent*), penstabil (*stabilizer*), pembentuk gel (*gelling agent*), perekat (*adhesive*), peningkat viskositas (*viscosity agent*) dan pengemulsi (*emulsifier*). Industri non-pangan yang menggunakan gelatin meliputi industri farmasi (sebagai pembuat kapsul, pengikat tablet dan *pastilles*, *surgical powder*, *plasma expander*, dan mikroenkapsulasi), industri fotografi (sebagai pengikat bahan peka cahaya) dan industri kertas (sebagai *sizing paper*). Gelatin memiliki aplikasi yang sangat luas dalam berbagai industri seperti industri makanan, farmasi, kosmetik dan fotografi. Dalam industri makanan, gelatin secara luas digunakan sebagai pengemulsi, penstabil dalam sistem emulsi (Minah *et al.*, 2016).

Gelatin merupakan biopolimer yang memiliki aplikasi yang sangat luas di industri pangan, farmasi, maupun di industri fotografi. Gelatin memiliki kekhasan

dibandingkan dengan agen gelling yang lain yaitu memiliki viskositas dan kekuatan gel yang sangat baik untuk berbagai produk pangan maupun produk non pangan. Viskositas atau kekentalan gelatin sering dimanfaatkan di bidang pengolahan pangan emulsifier, stabilizer atau sebagai penjernih air pada sirup. Pengembangan aplikasi gelatin juga dilakukan sebagai pengemas bahan pangan misalnya edible coating atau edible film yang dikombinasikan dengan protein nabati. Pada bidang fotografi gelatin digunakan untuk memperpanjang daya simpan foto, karena gelatin dapat berfungsi sebagai pelindung cahaya yang sensitif. Gelatin yang memiliki kekuatan gel yang tinggi akan mampu melindungi penyimpanan foto dari cahaya sensitif yang akan merusak daya simpan foto. Kualitas viskositas atau kekentalan gelatin dipengaruhi dua faktor seperti perlakuan saat pengolahan gelatin dan bahan baku gelatin (Rahmawati dan Hasdar, 2017).

Penggunaan gelatin cukup luas dan permintaannya setiap tahun meningkat. Dalam produk pangan gelatin sering digunakan sebagai bahan pengental, pengemulsi, penstabil, pembentuk gel, pengikat, perekat, dan pembungkus makanan yang bersifat dapat dimakan. Sedangkan gelatin pada produk non pangan digunakan dalam industri farmasi dan kedokteran, industri kosmetika dan industri fotografi (Nurilmala *et al.*, 2017).

### 2.3.3 Kualitas Gelatin

Kualitas gelatin menurut Pertiwi *et al.*, (2018), dapat dilihat dari analisis fisika kimianya. Analisis fisika meliputi, kekuatan gel, viskositas dan pH, sedangkan analisis sifat kimia meliputi kadar abu, kadar air, kadar protein, kadar lemak dan profil asam amino. Ditambahkan Ayunin dan Suprayitno (2019), karakteristik gelatin dapat dilihat dari rendemen, viskositas, kekuatan gel, dan profil asam amino.

Gelatin menurut Oktaviani *et al.*, (2017), sangat dipengaruhi oleh sifat fisika dan kimianya, selain itu sifat fungsional gelatin juga merupakan parameter yang penting. Parameter-parameter fungsional ini adalah:

1. Kekuatan gel (nilai Bloom)

Sifat utama gelatin yang digunakan di industri adalah mampu membentuk gel (*gelling agent*). Kekuatan gel adalah parameter utama dan sangat berpengaruh terhadap harga gelatin yang dipasarkan. Kekuatan gel diukur dengan alat yang disebut alat uji Bloom. Sebelum diukur, gelatin dikondisikan pada suhu 10°C selama 17 jam dengan konsentrasi 6,67% b/v. Suatu kekuatan yang digunakan untuk menekan permukaan suatu massa gel disebut sebagai gram Bloom atau disingkat Bloom. Nilai Bloom gelatin berkisar antara 50-300 Bloom. nilai tersebut dibagi ke dalam 3 klasifikasi yaitu bloom rendah untuk nilai 50-100 Bloom, bloom sedang untuk nilai 100-200 Bloom dan bloom tinggi untuk nilai 200-300 Bloom (Ahmad dan Benjakul, 2011).

2. Viskositas

Gelatin dengan viskositas yang tinggi diperlukan untuk menghasilkan kestabilan produk makanan, sediaan farmasi, dan industri fotografi. Pengukuran viskositas dilakukan terhadap larutan gelatin dengan konsentrasi 6,67% b/v yang dilarutkan pada suhu 60°C, lalu dibiarkan hingga suhu 30°C.

3. pH

pH gelatin berpengaruh terhadap pembentukan busa pada proses pembentukan gel dan interaksinya dengan komponen lain pada proses formulasi. pH larutan gelatin diukur menggunakan pH meter.

4. Kadar air

Kadar air gelatin yang dipersyaratkan adalah 9-11% pada kondisi normal. Kadar air ini dipengaruhi oleh udara di sekelilingnya, gelatin dapat mengabsorpsi atau melepaskan air yang dikandungnya. Jika kandungan air lebih dari 16%, maka

gelatin akan mudah ditumbuhi mikroba dan resiko terbentuknya gumpalan semakin besar. Untuk mengukur kadar air dapat dilakukan pengeringan pada suhu  $105\pm 2^{\circ}\text{C}$  selama 16-18 jam.

#### 5. Kadar abu

Kadar abu adalah salah satu parameter yang digunakan untuk melihat kualitas dan tingkat keberhasilan dari proses ekstraksi pada gelatin. Tahapan proses *pre-treatment* gelatin yang dilakukan adalah untuk menghilangkan mineral dalam tulang ikan patin, sehingga menghasilkan *ossein* yang selanjutnya diekstraksi menjadi gelatin.

#### 6. Kadar protein

Kadar protein gelatin merupakan salah satu jenis protein konversi yang dihasilkan melalui proses hidrolisis kolagen, tentunya memiliki kadar protein yang tinggi. Kadar protein menunjukkan seberapa besar kandungan protein yang terdapat dalam suatu bahan pangan.

#### 7. Kadar lemak

Kadar lemak berpengaruh terhadap mutu bahan selama penyimpanan. Gelatin yang bermutu tinggi diharapkan memiliki kandungan lemak yang rendah. Kadar lemak yang cukup tinggi memungkinkan akan mempengaruhi mutu gelatin selama penyimpanan. Kandungan lemak akan lepas pada saat proses perendaman dengan asam dan pada saat ekstraksi. Pemanasan akan mengakibatkan kerusakan lemak sehingga lemak akan terpisah dengan tulang dan terapung dipermukaan. Hal ini diakibatkan juga semakin besarnya suhu, maka berat jenis lemak akan semakin menurun sehingga lemak akan melayang di permukaan.

#### 8. Profil asam amino

Profil asam amino sangat penting dilakukan, karena kualitas protein suatu bahan pangan sangat ditentukan oleh kadar asam amino yang dikandungnya.

Dalam suatu bahan pangan, sekurang-kurangnya terdapat lima belas macam asam amino esensial yang harus tersedia, yaitu fenilalanin, tirosin, isoleusin, lisin, metionin, sistin, treonin, valin, triptofan, arginin, histidin, glisin, serin, asparagin, dan prolin (Elfita, 2014).

Kualitas kimia gelatin menurut Asmoro *et al.*, (2018), yaitu merupakan protein yang tersusun atas asam amino prolin, glisin dan hidroksiprolin. Ditambahkan Suryati *et al.*, (2015), gelatin seperti umumnya protein memiliki struktur terdiri dari karbon, hidrogen, gugus hidroksil (OH), gugus karbonil (C=O) dan gugus amina (NH). Protein menurut Puspawati *et al.*, (2014), merupakan polimer dari 21 asam amino yang berlainan dan dihubungkan oleh ikatan peptide. Protein di dalam gelatin termasuk protein sederhana dalam kelompok skleroprotein dan mempunyai kadar protein yang tinggi karena protein diperoleh dari hasil hidrolisis atau penguraian kolagen dengan panas

Gelatin menurut Finarti *et al.*, (2018), sangat kaya akan asam amino glisin ( Gly ) hampir sepertiga dari asam amino. Makin tinggi asam amino, kekuatan gel akan lebih baik. Kandungan asam amino secara umum pada gelatin dapat dilihat pada Tabel 2.



Tabel 2. Kandungan Asam Amino Gelatin

Kandungan asam amino	Persentase (%)
Glisin	21
Prolin	12
Hydroxyprolin	12
Asam glutamat	10
Alanin	9
Arginin	8
Asam aspartat	6
Lysin	4
Senin	4
Leusin	3
Valin	2
Phenilalanin	2
Treonin	2
Isoleusin	1
Hidroxylysin	1
Metionin	<1
Histidin	<1
Tyrosin	<0,5

Sumber: Suhenry *et al.*, (2015)

Kualitas gelatin menurut Rahayu dan Fithriyah, (2015), yaitu larut dalam air, asam asetat dan pelarut alkohol seperti gliserol, propilen glycol, sorbitol dan manitol, tetapi tidak larut dalam alkohol, aseton, karbon tetraklorida, benzen, petroleum eter dan pelarut organik lainnya. Gelatin mudah larut pada suhu 71,1°C dan cenderung membentuk gel pada suhu 48,9 °C. Pemanasan yang dilakukan untuk melarutkan gelatin sekurang-kurangnya 49°C atau biasanya pada suhu 60 – 70°C.

Menurut Panjaitan (2017), gelatin mempunyai sifat khas antara lain kekuatan gel, viskositas dan titik leleh yang sangat penting untuk penggunaan bahan pangan. Gelatin mengandung protein yang tinggi antara 22,6-26,2%. Ditambahkan Nurilmala *et al.*, (2017), 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. Ciri spesifik dari gelatin adalah tidak berbau dan tidak berasa. Sedangkan menurut

Ami *et al*, (2015), keberadaan senyawa metil keton, butilaldehid, asam amino, dan senyawa lainnya mampu mempengaruhi aroma suatu makanan. Karakteristik gelatin menurut SNI 06-3735-1995 dan GMIA (*Gelatin Manufactures Institute of America*) dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Standar Gelatin SNI 06-3735-1995

Karakteristik	SNI	GMIA
Warna	Tidak berwarna hingga kekuningan	Tidak berwarna sampai kekuningan
Bau, rasa	Normal	-
Abu	Maks 16%	Maks 16%
Air	Maks 3,25%	Maks 3,25%
Protein	-	87,25%
Kekuatan gel	-	50-300 bloom
Viskositas	-	-
pH	-	4,5-6,5
Logam berat	Maks 50 mg/kg	-
Arsen	Maks 2 mg/kg	-
Tembaga	Maks 30 mg/kg	-
Seng	Maks 100 mg/kg	-
Sulfit	Maks 1000 mg/kg	-

Sumber: SNI 06-3735-1995 dan GMIA, (2012)

#### 2.3.4 Cara Ekstraksi

Cara ekstraksi gelatin dari tulang ikan menurut metode Rahayu dan Fithriyah, (2015), dapat dilakukan melalui beberapa proses pendahuluan diantaranya yaitu tahap *degreasing*, *demineralisasi*, ekstraksi dan pengeringan. Tahap ekstraksinya adalah sebagai berikut:

1. Pada tahap *degeasing* dilakukan pencucian pada tulang. Tulang dibersihkan dari sisa-sisa daging, sisik dan lapisan luar yang mengandung deposit-deposit lemak yang tinggi. Untuk memudahkan pembersihan maka sebelumnya dilakukan pemanasan pada air mendidih selama 1- 2 menit. Proses penghilangan lemak dari jaringan tulang yang biasa disebut *degreasing*, dilakukan pada suhu antara titik cair lemak dan suhu koagulasi albumin tulang yaitu antara 32 – 80°C sehingga dihasilkan kelarutan lemak yang optimum. Tulang-tulang tersebut dibersihkan dari sisa-sisa daging dan

- lemak yang masih menempel (*degreasing*) dengan direndam dalam air mendidih selama 10 menit. Selanjutnya tulang ditiriskan dan dipotong kecil-kecil (2 x 2 cm) untuk memperluas permukaan.
2. Sebelum dilakukan pengembangan terlebih dahulu dilakukan proses *demineralisasi* yang bertujuan untuk menghilangkan garam kalsium dan garam lainnya dalam tulang, sehingga diperoleh tulang yang sudah lumer disebut *ossein*. Asam yang biasa digunakan dalam proses *demineralisasi* adalah asam klorida dengan konsentrasi 4 – 7 %. Proses *demineralisasi* ini sebaiknya dilakukan dalam wadah tahan asam selama beberapa hari sampai dua minggu. *Ossein* dicuci dengan menggunakan aquadest sampai pH nya (4 – 5).
  3. Tahapan selanjutnya, *Ossein* yang ber-pH 4-5 tersebut dimasukkan ke dalam *beaker glass* dan ditambahkan *aquadest*. Perbandingan *ossein* dengan *aquadest* adalah 1 : 3 (b/v). Setelah itu diekstraksi dalam *waterbath* pada suhu 55°C selama variasi waktu tertentu. Ekstraksi bertujuan untuk mengkonversi kolagen menjadi gelatin. Suhu minimum dalam proses ekstraksi adalah 40 – 50°C hingga suhu 100°C. Ekstraksi kolagen tulang dilakukan dalam suasana asam pada pH 4 – 5 karena umumnya pH tersebut merupakan titik isoelektrik dari komponen-komponen protein non kolagen, sehingga mudah terkoagulasi dan dihilangkan. Apabila pH lebih rendah perlu penanganan cepat untuk mencegah denaturasi lanjutan.
  4. Cairan gelatin yang diperoleh dimasukan dalam *beaker glass* untuk dikeringkan dalam oven pada suhu 55 °C selama 24 jam, setelah kering kemudian dikerok dan dianalis. Pengecilan ukuran dilakukan untuk lebih memperluas permukaan bahan sehingga proses dapat berlangsung lebih cepat dan sempurna. Dengan demikian gelatin yang dihasilkan lebih reaktif dan lebih mudah digunakan.

Secara umum ekstraksi gelatin tulang ikan menggunakan metode asam menurut metode Ridhay *et al.*, (2016), tulang ikan dibersihkan dari sisa-sisa daging dan lemak yang masih menempel (*degreasing*) yaitu dengan direndam dalam air panas suhu  $\pm 90-100^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit sambil diaduk-aduk dan disikat (karena daging ikan yang sukar lepas). Selanjutnya tulang ditiriskan dan dipotong kecil-kecil ( $\pm 3-5$  cm) untuk memperluas permukaan. Bahan baku yang telah bersih itu kemudian direndam dengan larutan asam ( $\text{HCl}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ,  $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ,  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ ) dengan konsentrasi 5% (perbandingan tulang dan larutan asam = 1 : 8) dalam gelas kimia selama 48 jam sampai terbentuk *ossein* (tulang yang lunak). *Ossein* kemudian dicuci dengan menggunakan air mengalir sampai pHnya netral ( $\text{pH} = \pm 6-7$ ). *Ossein* yang ber-pH netral tersebut dimasukkan ke dalam beaker glass dan ditambahkan aquadest, perbandingan *ossein* dengan aquadest adalah 1 : 6 (b/v). Setelah itu diekstraksi dalam waterbath pada suhu  $80^{\circ}\text{C} - 85^{\circ}\text{C}$  selama 7 jam. Kemudian disaring dengan kertas saring whatman. Hasil saringan dituang ke dalam wadah yang dialasi plastik untuk dikeringkan dalam oven pada suhu  $60^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam, dan didinginkan dalam desikator. Setelah kering kemudian dihaluskan dan dianalisis.

#### 2.4 Perendaman Tulang Ikan Lencam

Perendaman tulang ikan lencam dilakukan untuk membuat gelatin yang memakai bahan baku tulang ikan. Pembuatan gelatin tulang menurut Yuliani dan Marwati (2015), dapat dilakukan dengan cara ekstraksi kolagen dengan air panas setelah melalui perlakuan perendaman dalam asam atau basa. Masing-masing menghasilkan gelatin tipe A dan gelatin tipe B. Larutan asam maupun basa pada saat perendaman berfungsi untuk menghidrolisis kolagen dengan memecah ikatan intramolekul dalam molekul *triplehelix* kolagen yang hasilnya kemudian membentuk tiga rantai alpha bebas, atau pembentukan rantai beta dan rantai

gama. Dalam hal ini mampu melarutkan mineral yang ada pada tulang ikan. Tulang pada saat perendaman menggunakan asam mengalami proses *demineralisasi* (penghilangan mineral) dan saat direndam menggunakan basa mengalami *deproteinasi* (penghilangan protein). Pada pembuatan gelatin dengan bahan dasar tulang ini perlu dilakukan dua metode ini untuk mengurangi partikel yang masih terikat di dalam tulang, sehingga hasilnya berupa gelatin murni.

## 2.5 *Pre-Treatment* Gelatin Tulang Ikan

*Pre-Treatment* Gelatin Tulang ikan ini perlu dilakukan untuk mengurangi partikel yang masih terikat dalam tulang. Metode *pre-treatment* yang harus dilakukan saat melakukan pembuatan ngelatin dengan bahan dasar tulang ikan adalah proses *demineralisasi* dan *deproteinasi*.

### 2.4.1 *Demineralisasi*

*Demineralisasi* bertujuan untuk menghilangkan kalsium dan garam-garam lainnya sehingga diperoleh *ossein* (tulang yang telah mengalami *demineralisasi* yaitu penghilangan kalsium). Tulang hasil perendaman asam kemudian dihidrolisis. Proses ini disebut juga sebagai proses denaturasi untuk merubah serat kolagen yang tidak larut dalam air menjadi larut dan mudah dicerna, yang disebut sebagai gelatin. Proses *demineralisasi* adalah proses perendaman dalam larutan asam untuk melanjutkan pembengkakan tulang sehingga kolagen yang ada dalam tulang mudah keluar. Penggunaan konsentrasi asam yang terlalu tinggi akan menyebabkan kolagen yang telah menjadi rantai tunggal ikut terlarut di dalam larutan asam pada saat pembilasan, sehingga kolagen akan ikut terbuang. (Santoso *et al.*, 2015). Beberapa faktor yang paling berpengaruh dalam pembuatan gelatin adalah perendaman, pengadukan, suhu, dan lama waktu ekstraksi (Axiomawan dan Suprayitno, 2019).

Salah satu tahapan penting dalam pembuatan gelatin adalah *demineralisasi*. Proses *demineralisasi* bertujuan untuk menghilangkan garam kalsium, garam posfor, serta garam-garam lainnya yang nantinya akan diperoleh ossein. Pada proses *demineralisasi*, ikatan-ikatan kalsium akan mengalami pelonggaran sehingga diharapkan komponen molekul kolagen akan lebih mudah terekstrak. Penggunaan larutan asam dalam proses *demineralisasi* dipertimbangkan bahwa dengan adanya larutan asam dapat memecah mineral, kalsium, dan posfor yang merupakan unsur penyusun tulang. Dengan demikian, molekul protein kolagen yang sebelumnya terikat-ikat dengan mineral tersebut akan lebih mudah terlepas. Pada penelitian ini demineralisasi menggunakan asam sulfat ( $H_2SO_4$ ), asam sulfat merupakan asam kuat yang mampu mempengaruhi proses demineralisasi dan berpengaruh langsung terhadap rendemen gelatin. Mekanisme asam sulfat melakukan demineralisasi pada tulang menurut Adiningsih dan Purwanti (2015), dipengaruhi adanya proton dari asam yang masuk dalam struktur tulang yang kehilangan mineral atau adanya ruang kosong yang terdapat di *tropokolagen*. Ion  $H^+$  dari asam yang digunakan akan berinteraksi dengan gugus karboksil sehingga dapat mengacaukan ikatan intra dan antar molekul *tropokolagen* yang dapat mempengaruhi proses *demineralisasi*. Tropokolagen adalah molekul kolagen yang merupakan unit struktural dasar kolagen yang terdiri dari rantai  $\alpha$ .

Pada tulang sebelum dilakukan pengembangan menurut Arima dan Fithriyah, (2015) terlebih dahulu dilakukan proses *demineralisasi* yang bertujuan untuk menghilangkan garam kalsium dan garam lainnya dalam tulang sehingga diperoleh tulang yang sudah lumer disebut *ossein*. Proses *demineralisasi* ini sebaiknya dilakukan dalam wadah tahan asam selama beberapa hari sampai dua minggu. Pada penelitian ini proses *demineralisasi* dilakukan untuk membuka struktur tropokolagen dalam tulang sehingga memudahkan dalam hidrolisis. Kalsium merupakan mineral dalam tulang rawan yang jumlahnya paling banyak,

sekitar 24%. Maka dari itu, perendaman tulang-tulang ikan pada pembuatan gelatin dengan larutan asam ini bertujuan untuk proses demineralisasi atau menghilangkan garam kalsium dan mineral lain yang terdapat dalam tulang rawan. Tulang yang telah direndam dalam asam menurut Retno (2012), dapat disebut dengan tulang lunak (*Ossein*)

#### 2.4.2 *Deproteinasi*

*Deproteinasi*, yaitu penghilangan protein non kolagen menggunakan larutan alkali. Contoh dari larutan alkali yang dapat digunakan untuk menghilangkan protein non kolagen, yaitu NaOH dan  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . Ekstraksi kolagen menjadi gelatin dilakukan dengan tiga tahap, yaitu *deproteinasi* menggunakan larutan natrium hidroksida (NaOH), perendaman dalam larutan asam, dan ekstraksi dengan air. Tahap pertama adalah proses *deproteinasi*, yaitu perendaman tulang dalam larutan NaOH dengan tujuan untuk menghilangkan protein non kolagen (Suptijah *et al.*, 2018).

Salah satu parameter untuk menilai tingkat efektivitas produksi gelatin adalah dari proses perendaman basa (*deproteinasi*) dan asam (*demineralisasi*), dan hidrolisis termal hingga pengeringan (Hardikawati *et al.*, 2016). Larutan yang digunakan pada proses *demineralisasi* salah satunya adalah NaOH. Penambahan NaOH pada proses *deproteinasi* dimaksudkan untuk melepaskan protein setelah proses demineralisasi, yang diharapkan dengan perubahan dari pH NaOH (basa kuat) dapat mengendapkan protein yang tidak diharapkan (Zulfikar dan Ratnadewi, 2006). *Deproteinasi* atau penghilangan protein non kolagen pada tulang ikan disebabkan oleh larutan NaOH yang mampu memecah sebagian besar telopeptida molekul kolagen pada proses praperlakuan sehingga terjadi swelling pada kulit ikan. NaOH dipilih untuk proses *deproteinasi* karena sifat protein yang

larut dalam NaOH serta menyebabkan pengembangan pada tulang ikan dibandingkan dengan larutan alkali lain (Devi *et al.*, 2017).

## 2.5 Asam Sulfat ( $H_2SO_4$ )

Asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) memiliki jumlah ion  $H^+$  yang lebih banyak daripada asam klorida sehingga pemutusan ikatan menjadi monomer-monomer berlangsung lebih baik (Mardina *et al.*, 2014). Untuk itu, penggunaan asam sulfat dalam pembuatan gelatin dapat dilakukan dengan baik pula. Proses pembuatan gelatin dapat dibedakan berdasarkan tipenya, yang dikenal dengan tipe A dan tipe B. Gelatin dengan tipe A yaitu proses pembuatan menggunakan asam sedangkan proses basa dikenal dengan tipe B. Pada proses asam bahan direndam didalam larutan asam organik seperti asam sulfat, asam klorida, asam sulfit atau asam fosfat. Sedangkan pada proses basa menggunakan larutan alkali misalnya air kapur. Pembuatan gelatin tulang biasanya menggunakan asam karena mampu menguraikan serat kolagen lebih banyak tanpa merusak kualitas gelatin yang dihasilkan, perendaman tulang menggunakan asam akan mempercepat *ossein* dari pada menggunakan proses basa. Waktu yang dibutuhkan dalam proses asam umumnya 10-48 jam sedangkan menggunakan larutan basa memerlukan waktu (6-20 minggu), dan buangan air yang dihasilkan lebih sedikit, serta mampu mengubah serat *tripel-heliks* kolagen menjadi rantai tunggal (Juliasti *et al.*, 2015).

Pada penelitian ini menggunakan asam sulfat karena hidrolisis yang cepat dan hasil yang didapatkan optimal. Dimana menurut Rapika *et al.*, (2016), penggunaan asam akan menghasilkan laju hidrolisis protein yang cepat. Proses asam yang bisa digunakan adalah asam sulfat, asam fosfat, dan asam klorida. Waktu yang dibutuhkan dalam proses asam umumnya 2-48 jam jauh lebih cepat dibandingkan dengan proses basa yaitu sekitar 3 bulan. Batas penggunaan asam sulfat menurut World Health Organization (WHO) (2004), menyatakan bahwa



konsumsi asam sulfat yang ditambahkan pada bahan makanan adalah sekitar 453mg.

Dalam pembuatan gelatin dapat dilakukan dengan perendaman (*demineralisasi*) menggunakan asam kuat dan asam lemah. Asam kuat menurut Sekhu and Paskalina, (2018), merupakan asam mengacu pada jenis asam yang sepenuhnya berdisosiasi untuk membentuk ion dalam larutan. Jika terdapat penambahan asam, maka akan menaikkan konsentrasi  $H^+$  dan menurunkan  $OH^-$ . Dimana 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.

Kuat tidaknya asam 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 and Stratford., 1999)

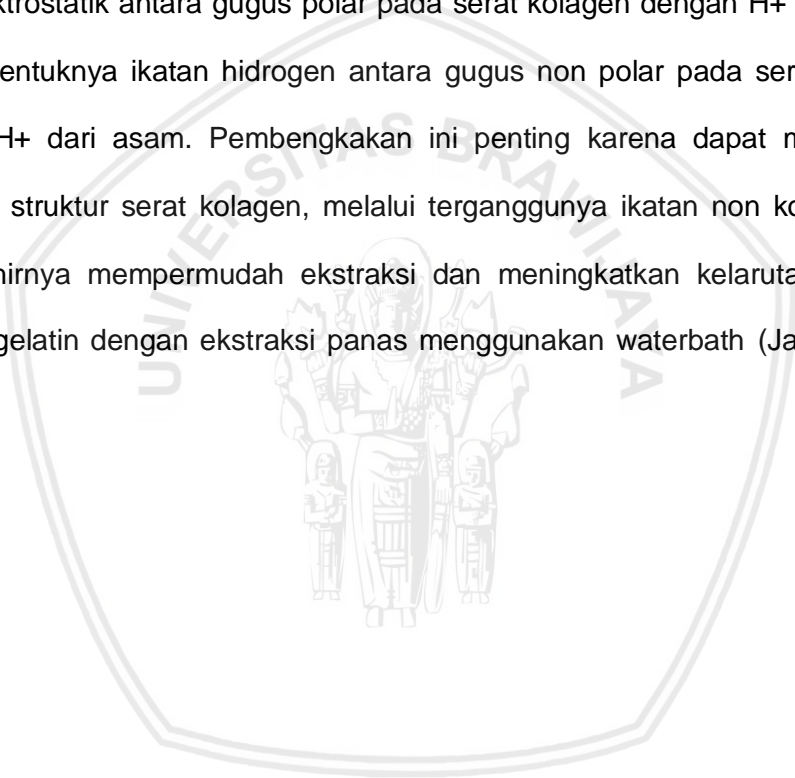
Proses perendaman (*demineralisasi*) dengan asam sulfat bertujuan untuk mengkonversi kolagen menjadi bentuk yang sesuai untuk ekstraksi, yaitu dengan adanya interaksi ion H<sup>+</sup> dari larutan asam dengan protein kolagen. Sebagian ikatan hidrogen dalam tropokolagen serta ikatan-ikatan silang yang menghubungkan tropokolagen satu dengan tropokolagen yang lainnya dihidrolisis menghasilkan rantai-rantai tropokolagen yang mulai kehilangan struktur triple heliksnya atau berubah menjadi rantai tunggal.

Proses perendaman mengakibatkan terjadinya pengembangan (*swelling*) yang dapat membuang material-material yang tidak diinginkan, seperti lemak dan protein non-kolagen pada tulang dengan kehilangan kolagen yang minimum. Swelling merupakan pengembangan tulang akibat adanya proton yang masuk dalam struktur tulang yang kehilangan mineral atau adanya ruang kosong yang terdapat ditropokolagen. Adanya ruang kosong ini merupakan jalan masuk ion-ion H<sup>+</sup> dari asam. Ion H<sup>+</sup> akan berinteraksi dengan gugus karboksil sehingga dapat merubah ikatan inter dan antar molekul tropokolagen (Samosir *et al.*, 2018). Proses pembuatan gelatin setiap prosesnya dapat dilihat pada Gambar 4.



## 2.6 Pengaruh Asam Terhadap Proses *Demineralisasi*

Pengaruh asam terhadap proses demineralisasi yaitu asam merupakan larutan yang digunakan untuk *pre-treatment* proses *demineralisasi* yang mengubah struktur serat kolagen, sehingga akan mempermudah proses ekstraksi pada tahap selanjutnya. Perendaman dalam asam menyebabkan terjadinya pengembangan tulang (*swelling*) yang diakibatkan masuknya asam ke dalam serat kolagen. Masuknya asam ke dalam serat kolagen disebabkan terjadinya gaya elektrostatik antara gugus polar pada serat kolagen dengan H<sup>+</sup> dari asam, atau terbentuknya ikatan hidrogen antara gugus non polar pada serat kolagen dengan H<sup>+</sup> dari asam. Pembengkakan ini penting karena dapat mendukung rusaknya struktur serat kolagen, melalui terganggunya ikatan non kovalen dan pada akhirnya mempermudah ekstraksi dan meningkatkan kelarutan kolagen menjadi gelatin dengan ekstraksi panas menggunakan waterbath (Jaswir *et al.*, 2011).



### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan penelitian utama yang digunakan penelitian adalah tulang ikan lele (*Lethrinus lentjan*) yang diperoleh dari pasar tradisional di Malang, Jawa Timur. Bahan lain yang digunakan adalah larutan asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) 5% dan akuades. Sedangkan bahan yang digunakan analisa adalah NaOH, asam sulfat, HCl, Indikator metil merah.

##### 3.1.2 Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan untuk ekstraksi gelatin tulang ikan lele (*Lethrinus lentjan*) antara lain adalah beaker glass, gelas ukur, pipet volume, bola hisap, *waterbath*, *thermometer*, spatula, timbangan digital, pisau, nampan, loyang, *grinder*, ph meter, dan kertas saring.

Alat yang digunakan untuk analisa gelatin adalah mortar dan alu, spatula, timbangan digital, erlenmeyer, ph meter, gelas ukur, loyang, *waterbath*, pipet volume, *viskometer*, *kjeldahl system*, *Texture Analyzer Brookfield*, oven, tanur, cawan porselen, desikator, dan soxhlet.

#### 3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian atau desain penelitian menurut Siyoto dan Sodik, (2015), merupakan bagian dari metodologi. Metodologi penelitian bisa digunakan ke berbagai macam riset desain. Ada beberapa macam desain penelitian yang bisa kita pilih sesuai dengan penelitian yang ingin kita lakukan. Metode penelitian antara lain metode correlational, metode causal comparative, metode experimental, metode ethnographic yang biasanya digunakan dalam bidang

sosial. Metode *historica research*, metode *survey* dan ada juga *action research* dimana penelitian ini para penelitiannya terlibat langsung di dalamnya. Penelitian yang menggunakan metode tersebut biasanya digunakan dalam penelitian bidang sosial. Dalam bidang ilmu teknologi informasi desain penelitian yang paling banyak digunakan adalah desain eksperimental dan studi kasus (*case study*).

Pada penelitian ini menggunakan metode eksperimen. Penelitian eksperimen menurut Putri dan Puspitorini, (2017), adalah suatu cara untuk menghubungkan sebab akibat (hubungan kausal) antara dua faktor yang sengaja ditimbulkan oleh peneliti dengan mengeliminasi atau mengurangi atau menyisihkan faktor-faktor lain yang mengganggu. Ditambahkan Romadlon *et al.*, (2019), metode eksperimen merupakan metode penelitian yang digunakan untuk menentukan variabel apa saja dan bagaimana hubungannya satu sama lain.

Penelitian eksperimen merupakan satu-satunya tipe penelitian yang lebih akurat atau teliti dibandingkan dengan tipe penelitian yang lain dalam menentukan relasi hubungan sebab akibat. Penelitian eksperimental merupakan suatu bentuk penelitian dimana variabel dimanipulasi sehingga dapat dipastikan pengaruh dan efek variabel tersebut terhadap variabel lain yang diselidiki atau diobservasi (Yusuf, 2014). Ditambahkan metode eksperimen adalah metode penelitian yang bertujuan untuk menjelaskan hubungan sebab-akibat (kausalitas) antara satu variabel dengan lainnya (variabel X dan variabel Y). Untuk menjelaskan hubungan kausalitas ini, peneliti harus melakukan kontrol dan pengukuran yang sangat cermat terhadap variabel-variabel penelitiannya.

Perlakuan yang digunakan pada penelitian ini adalah lama waktu *demineralisasi* atau waktu perendaman asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) terhadap kualitas gelatin tulang ikan lele. Penelitian ini dilakukan dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui lama waktu perendaman asam terbaik dalam pembuatan gelatin

tulang ikan lele. Sedangkan untuk penelitian utama bertujuan untuk mengetahui kualitas fisika-kimia dari gelatin tulang ikan lele dengan lama perendaman asam sulfat yang berbeda.

### 3.2.1 Variabel Penelitian

Variabel penelitian menurut Siyoto dan Sodik, (2015), merupakan sesuatu yang menjadi objek pengamatan penelitian, sering juga disebut sebagai faktor yang berperan dalam penelitian atau gejala yang akan diteliti. Variabel adalah konstruk atau sifat yang akan dipelajari yang mempunyai nilai yang bervariasi. Variabel adalah segala sesuatu yang berbentuk apa saja yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi tentang hal tersebut, kemudian ditarik kesimpulannya. Ada beberapa jenis variabel dalam penelitian. Variabel-variabel dimaksud antara lain: variabel bebas dan variabel terikat, variabel aktif dan variabel atribut, variabel kontinu dan variabel kategori termasuk juga variabel laten. Selain itu kriteria atau syarat suatu variabel yang baik dalam pengembangannya harus dipahami dan dimengerti dengan baik sehingga menjadi dasar identifikasi dan pengembangan variabel-variabel penelitian .

Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi, menjelaskan, atau menerangkan variabel yang lain. Variabel bebas ini mampu mempengaruhi variabel terikat (Yusuf, 2014). Ditambahkan Siyoto dan Sodik, (2015), variabel bebas sering disebut independent, variabel stimulus, prediktor, antecedent. Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahannya atau timbulnya variabel terikat.

Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi atau diterangkan oleh variabel lain tetapi tidak dapat mempengaruhi variabel yang lain (Yusuf, 2014). Variabel terikat menurut Siyoto dan Sodik, (2015), Variabel terikat atau dependen atau disebut variabel output, kriteria, konsekuen, adalah variabel yang dipengaruhi

atau yang menjadi akibat, karena adanya variabel bebas. Variabel terikat tidak dimanipulasi, melainkan diamati variasinya sebagai hasil yang dipradugakan berasal dari variabel bebas. Biasanya variabel terikat adalah kondisi yang hendak kita jelaskan

Dalam penelitian ini yang menjadi variabel bebas yaitu variasi waktu *demineralisasi* (Perendaman) yaitu 12 jam, 24 jam, dan 36 jam. Sedangkan variabel terikat yaitu rendemen, analisa protein, lemak, air, abu, profil asam amino, kekuatan gel, pH, viskositas.

### **3.3 Prosedur Penelitian**

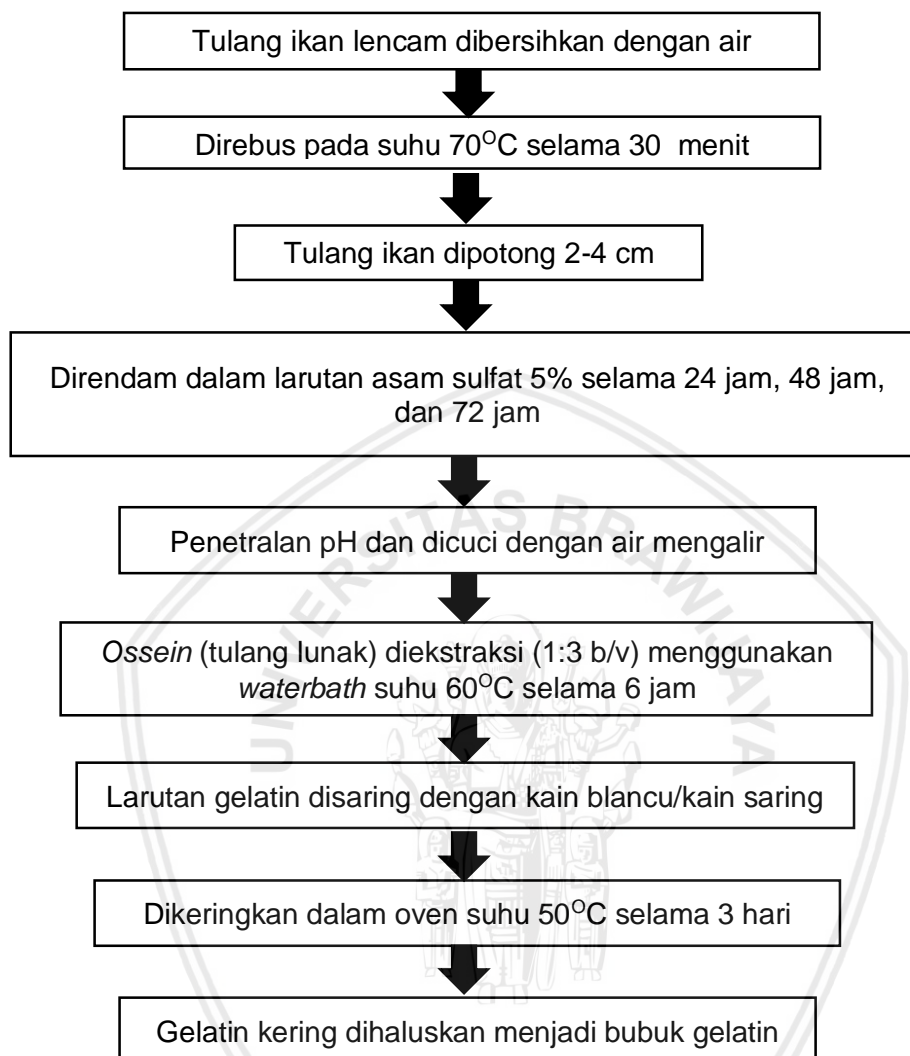
Prosedur penelitian ini dibagi menjadi dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Pada tahap penelitian pendahuluan dilakukan perlakuan perendaman asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) selama 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Tujuan dari penelitian pendahuluan ini adalah untuk mengetahui lama waktu perendaman (*demineralisasi*) terbaik pada pembuatan tulang ikan lele. Kemudian dilanjutkan dengan penelitian utama yaitu dengan mempersempit perlakuan dengan mempertimbangkan hasil terbaik dari penelitian pendahuluan dan dilakukan pengujian mengetahui kekuatan gel, viskositas, phrendemen, proksimat, dan profil asam amino dari gelatin tulang ikan lele.

#### **3.3.1 Penelitian Pendahuluan**

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui lama waktu perendaman (*demineralisasi*) asam sulfat terbaik pada pembuatan gelatin tulang ikan lele. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian pendahuluan yaitu lama perendaman asam sulfat 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Penelitian pendahuluan ini mengacu pada metode penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Adiningsih dan



Purwanti, (2015). Diagram alir pembuatan gelatin tulang ikan lele dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Flowchart Ekstraksi Gelatin Dengan Asam Sulfat

Pada penelitian pendahuluan ini didapatkan konsentrasi larutan asam sulfat terbaik untuk dilanjutkan pada penelitian utama. Penentuan kualitas dari gelatin dari hasil penelitian pendahuluan yaitu berdasarkan pada rendemen, uji viskositas dan kekuatan gel nya. Dari hasil penelitian pendahuluan didapatkan hasil rendemen terbaik pada lama perendaman 24 jam sebesar 10,8 g, viskositas sebesar 7,2 N atau 308 g/bloom, dan kekuatan gel sebesar 6 cP. Setelah diketahui konsentrasi terbaik selanjutnya dilakukan penelitian utama dengan mempersempit perlakuan dengan perbedaan lama waktu *demineralisasi*, yaitu 12, 24, dan 36 jam.

### 3.3.2 Penelitian Utama

Penelitian utama ini dilakukan setelah didapatkan konsentrasi larutan asam sulfat pada penelitian pendahuluan. Penelitian ini berdasarkan pada penelitian pendahuluan. Metode dan tahapan penelitian utama selaras dengan penelitian pendahuluan, namun hasil lama perendaman (*demineralisasi*) terbaik penelitian pendahuluan kemudian dilanjutkan untuk mengetahui kekuatan gel, viskositas, pH, rendemen, proksimat dan profil asam amino dari gelatin tulang ikan lele.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 6 kali ulangan. Perlakuan dan ulangan dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rancangan Acak Lengkap (RAL)

Perlakuan	Lama perendaman ( <i>demineralisasi</i> )	Ulangan						Total	Rata-rata
		1	2	3	4	5	6		
A	12 jam	A1	A2	A3	A4	A5	A6	AT	AR
B	24 jam	B1	B2	B3	B4	B5	B6	BT	BR
C	36 jam	C1	C2	C3	C4	C5	C6	CT	CR

Keterangan:

- A : Perlakuan lama waktu *demineralisasi* (Perendaman)12 jam
- B : Perlakuan lama waktu *demineralisasi* (Perendaman)24 jam
- C : Perlakuan lama waktu *demineralisasi* (Perendaman)36 jam

Selanjutnya kemudian membandingkan antara F hitung dengan F tabel.

- Jika F hitung > dari F tabel 1%, maka perlakuan menyebabkan hasil sangat beda nyata.
- Jika F hitung < F tabel 5%, maka perlakuan tidak beda nyata.
- Jika F tabel 5% < F hitung < F tabel 1%, maka perlakuan menyebabkan hasil berbeda nyata.

- Apabila dari hasil perhitungan didapatkan perbedaan yang nyata ( $F_{hitung} > F_{tabel 5\%}$ ), maka dilanjutkan dengan uji BNT untuk menentukan yang terbaik.

### 3.4 Parameter Kualitas Gelatin

Parameter kualitas gelatin meliputi rendemen, kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, profil asam amino, dan keasaman (pH). Kualitas gelatin antara lain ditentukan oleh bahan baku dan teknik produksi yang digunakan. Sebagai upaya untuk memperluas penggunaan atau pemanfaatan gelatin hewani, maka perlu dilakukan percobaan atau penelitian untuk mengetahui kemampuan gelatin yang dihasilkan (Sugihartono *et al.*, 2015). Ditambahkan (Leksono *et al.*, 2014), kualitas gelatin dievaluasi untuk menentukan komposisi proksimat, termasuk kandungan kelembaban, protein, lemak, karbohidrat, dan abu.

#### 3.4.1 Rendemen

Rendemen adalah persentase bagian tubuh yang dapat dimanfaatkan yang kemudian ditimbang beratnya. Rendemen menurut Lerebulan *et al.*, (2018), adalah perbandingan jumlah (kuantitas) produk yang dihasilkan dari ekstraksi sampel. Rendemen menggunakan satuan persen (%). Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai produk yang dihasilkan semakin banyak. Nilai rendemen gelatin menurut Hidayat *et al.*, (2016), merupakan perbandingan dari jumlah gelatin kering yang dihasilkan dengan berat total tulang ikan yang digunakan. Rendemen gelatin menurut Rares *et al.*, (2017), adalah jumlah gelatin kering yang dihasilkan dari sejumlah bahan baku dalam keadaan bersih melalui proses ekstraksi. Rendemen yang dihasilkan dari suatu proses produksi gelatin sangat dipengaruhi oleh proses ekstraksi terhadap protein kolagen.

Rendemen menurut Sani *et al.*, (2014), dihitung berdasarkan perbandingan berat akhir dengan berat awal dikalikan 100%. Ditambahkan Hafiluddin *et al.*, (2014), perhitungan rendemen dapat diketahui dari persamaan:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat bagian yang digunakan (gram)}}{\text{berat utuh ikan (gram)}} \times 100\%$$

Rendemen merupakan jumlah gelatin kering (*dry gelatin*) yang dihasilkan dari beberapa perlakuan dalam keadaan bersih melalui proses ekstraksi. Perhitungan rendemen diperoleh melalui:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bubuk gelatin}}{\text{bahan baku gelatin}} \times 100\%$$

### 3.4.2 Kekuatan Gel

Kekuatan gel merupakan salah satu parameter untuk mengetahui kualitas fisik pada suatu produk gelatin. Jika kekuatan gel terjadi penurunan nilai dapat disebabkan oleh terjadinya proses pemutusan rantai polimer asam amino secara berlebihan dengan meningkatnya konsentrasi asam, sehingga ikatan antar molekul-molekul polimer penyusun kolagen yang terkonversi menjadi gelatin terpecah menjadi rantai monomer yang sangat pendek hingga akhirnya mengalami kerusakan dan menyebabkan proses pembentukan gel menjadi terbatas. Kekuatan gel sangat tergantung pada ikatan hidrogen antara molekul air dengan kelompok hidroksil bebas dari kelompok asam amino, ukuran rantai protein, konsentrasi serta distribusi berat molekul kolagen (Said *et al.*, 2014).

Kekuatan gel gelatin adalah ukuran kekuatan gel yang terbentuk dari larutan 6,67% yang dipersiapkan sesuai kondisi tertentu. Ukuran kekuatan gel dinyatakan dengan bloom. Bloom adalah ukuran kekuatan (berat) yang diperlukan untuk menekan area yang ditentukan dari permukaan sampel jarak 4mm. Pengujian kekuatan gel menggunakan alat TA.TX2 *texture analyzer* (Hidayat *et al.*, 2016).

Kekuatan gel sangat penting dalam penentuan perlakuan terbaik dalam proses ekstraksi gelatin karena salah satu sifat penting gelatin adalah mampu mengubah cairan menjadi padatan atau mengubah sol menjadi gel yang *reversible* (Rahmawati dan Hasdar, 2017). Uji gel strength gelatin bertujuan untuk mengetahui kekuatan gel yang terbentuk pada produk gelatin yang dihasilkan. Uji gel strength dilakukan dengan menggunakan TA-XT *teksture analyzer*. Satuan nilai gel strength yaitu bloom (Ananda *et al.*, 2018).

Pengujian kekuatan gel pada gelatin menurut Pertiwi *et al.*, (2018), dilakukan dengan menggunakan *texture analyzer*. Gelatin cair yang telah melalui proses ekstraksi dan penyaringan dengan kertas saring dimasukkan dalam *refrigerator* pada suhu 10°C selama 17±2 jam (gelatin cair telah membentuk gel), kemudian diukur kekuatan gel. Kekuatan gel diukur dengan menggunakan alat *Texture Analyzer Brookfield*. Alat ini menggunakan probe dengan luas 0,1923 cm<sup>2</sup>. Sampel diletakkan dibawah probe dan dilakukan penekanan dengan beban 97 g. Tinggi kurva kemudian diukur dengan menggunakan jangka sorong. Perhitungan kekuatan gel (bloom) didapat dari penambahan 20 dengan 2,98x10<sup>-3</sup> yang kemudian dikalikan dengan nilai G. Rumus kekuatan gel adalah sebagai berikut:

$$\text{Kekuatan gel (Bloom)} = 20 + 2,98 \times 10^{-3} \times G$$

$$G = F/g$$

Keterangan:

F= Gaya (N)

G= Kekuatan Gel (Dyne/cm<sup>2</sup>)

g= Konstanta (0,07)

### 3.4.3 Viskositas

Viskositas adalah kemampuan menahan dari suatu cairan untuk mengalir. Proses alir dari suatu zat cair dipengaruhi oleh kekentalan atau viskositas yang

terjadi akibat adanya adsorpsi dan pengembangan koloid. Peningkatan nilai viskositas dapat dipengaruhi oleh struktur molekul asam amino yang menyusun protein gelatin. Susunan asam amino yang semakin panjang akan meningkatkan nilai viskositas gelatin (Said *et al.*, 2014). Viskositas merupakan salah satu persyaratan dalam menentukan kelayakan penggunaan gelatin untuk keperluan industri. Viskositas adalah salah satu sifat reologi yang penting dalam produk makanan. Viskositas diperlukan untuk pengujian kualitas, standardisasi kualitas dan proses kontrol selama pemrosesan (Wenno *et al.*, 2016).

Uji viskositas gelatin menurut Ananda *et al.*, (2018), bertujuan untuk mengetahui daya aliran dalam suatu larutan. Pengujian viskositas gelatin menggunakan viskometer. Satuan nilai viskositas gelatin yaitu centipoise (cP). Menurut Nurilmala *et al.*, (2017), pengujian viskositas menggunakan viskometer dilakukan dengan melarutkan gelatin kering dalam akuades suhu 60 °C sambil diaduk selama 20 menit hingga menjadi larutan gelatin 6,67%; ukur viskositasnya dengan Viskometer TV-10. Pengukuran dilakukan pada suhu 60 °C dengan laju geser 60 rpm. Hasil pengukuran dikalikan dengan faktor konversi pada spindel yang mengacu pada Brookfield.

Pengujian viskositas menggunakan larutan gelatin 6,67% pada suhu 60°C dengan mengukur waktu yang dibutuhkan untuk 100 mL larutan untuk mengalir melalui pipet standar. Pengukuran viskositas menggunakan alat viskometer (Hidayat *et al.*, 2016). Ditambahkan Nain dan Yusuf (2018), viskositas yang semakin tinggi menandakan tahanan cairan yang diujikan semakin besar. Viskositas diukur menggunakan *Viscometer Brookfield*. Spindel terlebih dahulu dipanaskan pada suhu 75°C kemudian dipasang ke alat ukur *Viscometer Brookfield*. Posisi spindel dalam larutan panas diatur sampai tepat, *viscometer* dihidupkan dan suhu larutan diukur, ketika suhu larutan mencapai 75°C, nilai viskositas dapat diketahui dengan pembacaan *viscometer* pada skala 1 sampai

100. Pembacaan dilakukan setelah satu menit putaran penuh sebanyak 2 kali menggunakan spindel no. 7 dengan nilai/tetapan, yaitu 400. Kecepatan alat yang digunakan adalah 50 rpm dan nilai FSR adalah 80.000.

#### 3.4.4 pH

pH (Nilai derajat keasaman) gelatin merupakan salah satu parameter penting dalam standar mutu gelatin. Pengukuran nilai pH larutan gelatin penting dilakukan karena pH larutan gelatin mempengaruhi sifat-sifat yang lainnya, misalnya viskositas dan kekuatan gel, serta akan berpengaruh juga pada aplikasi gelatin dalam produk. Gelatin dengan pH netral akan bersifat stabil dan penggunaannya akan menjadi lebih luas. Nilai pH atau derajat keasaman menurut Nurjannah *et al.*, (2016), digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman atau basa yang dimiliki oleh suatu zat, larutan atau benda.

Pengukuran pH menurut Harris *et al.*, (2016), sebelum dilakukan pengukuran, pH meter dikalibrasi dengan menggunakan buffer pH. Setelah itu, elektroda dibersihkan dengan air suling dan dikeringkan. Kemudian elektroda dimasukkan ke dalam sampel yang akan diperiksa. Selanjutnya pH meter dibiarkan selama beberapa menit sampai nilai pada monitor pH meter stabil. Setelah stabil, nilai yang ditunjukkan dicatat sebagai pH sampel.

Pengukuran pH gelatin sampel gelatin kering dilarutkan dalam akuades hingga menjadi larutan gelatin 6,67%; dihomogenkan dengan magnetic stirrer; hidupkan pH meter HI 2211 dan dibiarkan hingga stabil; elektroda dicelupkan ke dalam sampel selama beberapa saat sampai tercatat angka yang stabil pada monitor pH meter (Nurilmala *et al.*, 2017). Ditambahkan Hermanto *et al.*, (2014), pengujian pH dilakukan dengan menyiapkan serbuk gelatin sebanyak 0.2 gram didispersi dalam 20 ml aquades pada suhu 80 °C. Contoh dihomogenkan dengan

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

Nilai pH berpengaruh terhadap gelatin. Gelatin dengan pH netral diaplikasikan untuk produk daging, farmasi, kromatografi, cat dan sebagainya. Gelatin dengan pH rendah digunakan untuk produk juice, jelly, sirop dan sebagainya. Nilai pH gelatin ini sangat dipengaruhi oleh jenis larutan perendam yang digunakan untuk mengekstrak gelatin tersebut (Agustin dan Sompie, 2015).

#### **3.4.5 Kadar Protein**

Kadar protein umumnya dilakukan pengujian untuk mengetahui kandungan protein dalam bahan makanan, menentukan tingkat kualitas protein dipandang dari sudut gizi dan menelaah protein sebagai salah satu bahan kimia. kandungan protein yang bertindak sebagai komponen utama daging atau ikan (Suprayitno *et al.*, 2016). Protein pada organisme hidup selalu diperbaharui oleh penggantian protein. Proses tersebut terjadi degradasi pada protein sebagai akibatnya mensintesa protein baru (Suprayitno, 2017).

Menurut Suprayitno dan Sulistiyati (2017), protein adalah asam amino rantai panjang yang dirangkai dengan banyak ikatan yang disebut ikatan peptida. Protein dibutuhkan untuk memperbaiki atau mempertahankan jaringan, pertumbuhan, dan membentuk berbagai persenyawaan biologis aktif tertentu. Protein juga dapat berfungsi sebagai sumber energi. Sehingga pengujian kadar protein dalam suatu bahan makanan sangat penting untuk dilakukan. Untuk melakukan pengujian kadar protein metode yang biasanya digunakan adalah metode kjeldahl. Metode kjeldahl ini digunakan secara luas di seluruh dunia dan masih merupakan metode standar yang digunakan untuk penetapan kadar protein. Sifatnya yang universal, presisi tinggi dan reproduibilitas baik membuat metode ini banyak digunakan



untuk penetapan kadar protein. Cara ini masih digunakan dan dianggap cukup teliti digunakan sebagai penentu kadar protein.

Penentuan kadar protein menurut Rosaini *et al.*, (2015), dilakukan dengan menggunakan metode Kjeldahl, 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 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.

#### 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.

Menurut Salim *et al.*, (2017), data yang diperoleh dari hasil titrasi pada pengujian protein menggunakan metode kjeldahl diolah menggunakan persamaan:

1. Penentuan Kadar Amonium Klorida

$$\text{Kadar Amonium Klorida} = (V \text{ H}_3\text{BO}_3 \times N \text{ H}_3\text{BO}_3) - (V \text{ HCl} \times N \text{ HCl})$$

2. Penentuan kadar protein

$$\% \text{ Kadar Nitrogen} = \frac{\text{kadar amonium klorida} \times \text{bobot atom nitrogen}}{w} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar Protein} = \% \text{ Kadar Nitrogen} \times \text{Faktor Konversi (5,75)}$$

Keterangan:

V = volume (mL)

N = Normalitas

w = berat sampel (g)

BA = berat atom dari Nitogen

F = Faktor Konversi (5,75)

#### 3.4.6 Kadar Air

Kadar air merupakan kandungan yang terbesar dalam ikan dan berfungsi sebagai media mikroorganisme untuk berkembang-biak sehingga proses pengasapan ditunjukan untuk meghilangkan kadar air dalam ikan, dan diharapkan dapat menghambat pertumbuhan organisme tersebut sehingga dapat memperpanjang umur simpan (Hasanah dan Suyatna, 2015). Metode yang digunakan dalam analisa kadar air yaitu metode oven kering (metode termogravimetri) (Hidayat dan Suprayitno, 2019). Penentuan kadar air dapat dilakukan dengan beberapa cara. Hal ini tergantung dengan sifat bahannya. Pada

umumnya penentuan kadar air dilakukan dengan mengeringkan bahan dalam oven pada suhu 105-110°C selama 3 jam atau sampai didapatkan berat konstan.

Pengujian kadar air menurut Pundoko *et al.*, (2014), dilakukan dengan menimbang 1-2 gram sampel ke dalam cawan yang sudah ditimbang sebelumnya. Kemudian cawan yang berisi sampel tersebut ditutup dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105°C selama 3 jam. Cawan lalu didinginkan di dalam eksikator dan setelah dingin cawan ditimbang sampai bobot tetap. Kadar air kemudian dapat

dihitung dengan rumus: % Kadar Air Basis Kering =  $\frac{W_1 - W_2}{W_2} \times 100\%$

Keterangan:

W1 = berat sampel awal

W2 = berat sampel setelah dikeringkan

### 3.4.7 Kadar Lemak

Kadar lemak dalam makanan memegang peranan penting yang menentukan karakteristik fisik keseluruhan, seperti aroma, tekstur, rasa dan penampilan. Lemak berasal dari kata Yunani yang berarti *Lipos* yang merupakan penyusun tumbuhan atau hewan yang diberikan oleh sifat kelarutannya. Terutama lipid tidak bisa larut dalam air tetapi larut dalam larutan non polar seperti eter. Lemak merupakan lipida yang banyak terdapat di alam, minyak merupakan senyawa turunan ester dari gliserol dan asam lemak. Struktur umum lemak adalah : R1, R2, R3 adalah gugus alkil mungkin saja sama atau juga beda. Gugus alkil tersebut dibedakan sebagai gugus alkil jenuh (tidak terdapat ikatan rangkap) dan tidak jenuh (terdapat ikatan rangkap).

Kadar lemak yang terkandung pada ikan menurut Pratama *et al.*, (2014), didasarkan pada prinsip pengujian metode ekstraksi yang bertujuan untuk menarik komponen-komponen yang terkandung di dalam sampel ikan dengan menggunakan pelarut kloroform dimana kloroform digunakan karena lemak

merupakan senyawa non polar sehingga untuk melarutkan lemak digunakan juga pelarut non polar. Selanjutnya, untuk mendapatkan lemaknya maka pelarut kloroform diuapkan dengan cara diovenkan. Analisa perhitungan kadar lemak menggunakan metode gravimetri berdasarkan perbandingan berat lemak kasar dengan berat sampel awal.

Kadar lemak menurut Angelia, (2016), prosedur pengujiannya adalah dengan menimbang sampel sebanyak 1-2 gram dan masukkan dalam selongsong kertas. Selanjutnya sumbat selongsong kertas yang berisi sampel dengan kapas. Kemudian keringkan dalam oven pada suhu  $<80^{\circ}\text{C}$  selama lebih kurang 1 jam. Kemudian masukkan dalam soxhlet yang telah dihubungkan dengan labu lemak berisi batu didih yang telah dikeringkan dan telah diketahui bobotnya. Lalu ekstrak dengan heksana atau pelarut lemak lainnya selama kurang lebih 6 jam. Suling heksana dan keringkan ekstrak lemak dalam oven pengering pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$ . Dinginkan dan timbang sampel, ulangi pengeringan hingga bobot konstan. Kemudian hitung dengan rumus:

$$\% \text{ Lemak} = \frac{W - W1}{W2} \times 100\%$$

Dimana:

W : bobot contoh

W1 : bobot lemak sebelum ekstraksi

W2 : bobot labu lemak setelah ekstraksi

### 3.4.8 Kadar Abu

Kadar abu dari suatu bahan menunjukkan kandungan mineral yang terdapat dalam bahan tersebut, kemurnian serta kebersihan suatu bahan yang dihasilkan (Sada dan Rahman, 2014). Prosedur pengujian kadar abu menurut SNI 01-2354-

1-2006 adalah dengan memasukkan cawan abu porselein kosong dalam tungku pengabuan. Suhu dinaikan secara bertahap sampai mencapai suhu 550°C.

Pengujian kadar abu menurut Damayanti *et al.*, (2017), dilakukan dengan memanaskan cawan porselen dalam oven selama 30 menit pada suhu 100-105 °C. Kemudian cawan didinginkan dalam desikator untuk menghilangkan uap air dan ditimbang (A). Lalu sampel ditimbang sebanyak 2 g dalam cawan yang sudah dikeringkan (B). Dilanjutkan dengan sampel dibakar di atas nyala pembakar sampai tidak berasap. Kemudian pengabuan dilakukan di dalam tanur bersuhu 550-600°C sampai pengabuan sempurna. Sampel yang sudah diabukan didinginkan dalam desikator dan ditimbang (C). Perhitungan prosentase kadar abu dapat dilakukan dengan rumus:

$$\% \text{ kadar abu} = \frac{C-A}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan:

A sebagai berat cawan kosong (gram)

B sebagai berat cawan + sampel awal (gram)

C sebagai berat cawan + sampel kering (gram).

### 3.4.9 Analisa Profil Asam Amino

Analisa mengenai profil asam amino dapat memberikan informasi penting mengenai komposisi asam amino esensial dan non esensial selain itu juga untuk menunjukkan komposisi asam amino secara keseluruhan yang dapat berpengaruh terhadap karakteristik rasa pada sampel yang dianalisis. Asam amino merupakan kandungan dari protein. Protein yang mengandung jumlah asam amino esensial yang dibutuhkan tubuh merupakan protein yang lengkap (Afrian dan Suprayitno, 2019). Asam amino dan peptida berperan secara langsung terhadap flavor produk-produk olahan hasil perikanan. Analisis profil asam amino dapat dilakukan menggunakan HPLC (Rasyid *et al.*, 2019). Komposisi asam amino akan

menentukan kualitas suatu protein, protein merupakan salah satu nutrisi makro paling penting bagi manusia yang didapatkan dari makanan. Informasi mengenai komposisi asam amino esensial dan non esensial yang terkandung dalam sampel dapat diketahui dengan melakukan analisis profil asam amino ini (Pratama *et al.*, 2018).

Identifikasi asam amino dengan HPLC atau dalam bahasa Indonesia disebut Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dilakukan dengan preparasi 60 mg sampel ditambah 4 ml HCl 6 M kemudian dipanaskan selama 24 jam dengan suhu 110°C. Selanjutnya hasil hidrolisis dinetralkan dengan NaOH 6M hingga 10 ml dan disaring dengan kertas saring Whatman 0,2C. Sebanyak 25 µL sampel dimasukkan ke dalam tabung uji ditambah larutan OPA (Ortophalaldehid) sebanyak 300 µL dan diaduk selama 5 menit. Selanjutnya 20 µL sampel dimasukkan ke dalam injektor KCKT. Sampel dianalisis dengan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Shimadzu LC 10) pada fase diam kolom Licrospher® 100 RP18 (125 x 4 mm, 5µm). Sebagai fase gerak adalah eluent A: metanol 50 mM, natrium asetat, teterahidrofuran (THF) dan eluent B: 65% metanol. Analisa ini dilakukan pada suhu 27°C dengan kecepatan alir 1 mL/menit serta dideteksi dengan detektor fluoresen pada  $\lambda$  360 dan 460 nm. Standar asam amino yang digunakan sebagai pembanding adalah asam aspartat, glutamat, serin, histidin, glisin, arginin, alanin, tirosin, metionin, valin, isoleusin, leusin, lisin, dan fenilalanin (Soeka dan Sulistiani, 2017). Teknik HPLC menurut Sitorus *et al.*, (2015), dibedakan atas fase normal (menggunakan pelarut nonpolar sebagai fase gerak), fase terbalik (menggunakan pelarut polar sebagai fase gerak) dan penukar ion (menggunakan gradien konsentrasi ion dalam fase geraknya).

Prinsip dari HPLC ini adalah pemisahan analit - analit berdasarkan kepolarannya. Dengan menggunakan fase gerak yang terdiri dari methanol, aquabidest dan asam asetat glasial dialirkan melalui kolom ke detektor. Sampel

dimaksudkan ke dalam aliran fase gerak dengan cara penyuntikan. Di dalam kolom terjadi pemisahan senyawa-senyawa kimia (analit) sesuai dengan perbedaan afinitasnya karena adanya perbedaan interaksi antara senyawa - senyawa terhadap fase diam. Senyawa yang kuat berinteraksi dengan fase diam maka akan keluar kolom dideteksi oleh detektor kemudian direkam dalam bentuk kromatogram. Komputer digunakan untuk mengontrol kerjasistem HPLC dan mengumpulkan serta mengolah hasil pengukuran HPLC (Suwandi *et al.*, 2018).

Komposisi asam amino menurut Utami *et al.*, (2016), ditentukan dengan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Sebelum digunakan, perangkat HPLC dan *syringe* harus dibilas dulu dengan eluen yang akan digunakan selama 2-3 jam dan akuades. Analisis asam amino dengan menggunakan HPLC terdiri atas 4 tahap, yaitu: (1) tahap pembuatan hidrolisat protein; (2) tahap pengeringan; (3) tahap derivatisasi; (4) tahap injeksi serta analisis asam amino.

#### 1) Tahap pembuatan hidrolisat protein

Sampel sebanyak 0,1 gram ditimbang dan dihancurkan. Sampel yang telah hancur dihidrolisis asam menggunakan HCl 6 N sebanyak 5-10 mL yang kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 100 oC selama 24 jam. Pemanasan dalam oven dilakukan untuk menghilangkan gas atau udara yang ada pada sampel agar tidak mengganggu kromatogram yang dihasilkan. Setelah pemanasan selesai, hidrolisat protein disaring menggunakan milipore berukuran 45 mikron.

#### 2) Tahap pengeringan

Hasil saringan diambil sebanyak 10  $\mu$ L dan ditambahkan 30  $\mu$ L larutan pengering. Larutan pengering dibuat dari campuran antara metanol, natrium asetat, dan trimetilamin dengan perbandingan 2:2:1. Penambahan larutan pengering dengan pompa vakum untuk mempercepat proses dan mencegah oksidasi.

### 3) Tahap derivatisasi

Larutan derivatisasi sebanyak 30 µL ditambahkan pada hasil pengeringan. Larutan derivatisasi dibuat dari campuran antara larutan metanol, pikoiodotiosianat, dan trimetilamin dengan perbandingan 3:3:4. Proses derivatisasi dilakukan agar detektor mudah untuk mendeteksi senyawa yang ada pada sampel. Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan cara menambahkan 10 mL asetonitril 60% dan natrium asetat 1 M lalu dibiarkan selama 20 menit. Hasil pengenceran disaring kembali dengan menggunakan milipore berukuran 45 mikron.

### 4) Injeksi ke HPLC

Hasil saringan diambil sebanyak 20 µL untuk diinjeksikan ke dalam HPLC. Untuk perhitungan konsentrasi asam amino pada bahan, dilakukan pembuatan kromatogram standar dengan menggunakan asam amino standar yang telah siap pakai yang mengalami perlakuan sama dengan sampel.

Kandungan asam amino dalam 100 gram bahan dapat dihitung dengan rumus :

$$= \frac{\text{luas daerah sampel}}{\text{luas daerah standar}} \times \frac{C \times fp \times BM}{\text{bobotsampel } (\mu\text{g})} \times 100 \%$$

Keterangan :

C = konsentrasi standar asam amino (µg/ml)

fp = faktor pengenceran

BM = bobot molekul dari masing-masing asam amino (g/ml)



## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Penelitian

#### 4.1.1 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan merupakan penelitian yang dilakukan sebelum dilakukannya penelitian utama. Penelitian pendahuluan ini bertujuan untuk mengetahui perlakuan lama waktu perendaman (*demineralisas*) asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) dalam proses pembuatan gelatin tulang ikan lele. Lama waktu perendaman pada penelitian pendahuluan yang digunakan adalah 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Kemudian hasil dari penelitian pendahuluan ini dilakukan uji, yaitu rendemen, pH, kekuatan gel, dan viskositas. Dari hasil pengujian ini, yang terbaik nantinya akan dipersempit perlakuannya untuk diteruskan pada penelitian utama. Hasil dari penelitian pendahuluan gelatin tulang ikan lele dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji Penelitian Pendahuluan

Lama Perendaman	Rendemen (g)	Kekuatan Gel (N)	Viskositas (cP)
24 jam	10,8	7,2	6
48 jam	8,5	4,5	6
72 jam	11,6	6,0	3

Sumber: Laboratorium Pengujian Mutu Dan Keamanan Pangan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya (2019).

Berdasarkan tabel 5, didapatkan hasil pengujian penelitian pendahuluan dengan perlakuan lama perendaman (*demineralisas*) selama 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Hasil terbaik pada perlakuan tersebut yaitu, rendemen terbaik pada konsentrasi 24 jam sebesar 10,8 g, viskositas sebesar 7,2 N atau 308 g/bloom, dan kekuatan gel sebesar 6 cP. Selanjutnya hasil terbaik ini, yaitu dengan perendaman asam selama 24 jam dilakukan penyempitan range perlakuan untuk penelitian utama.

#### 4.1.2 Penelitian Utama

Penelitian utama dilakukan setelah diketahui lama waktu perendaman (*demineralisasi*) gelatin tulang ikan lele menggunakan asam sulfat terbaik pada penelitian pendahuluan. Prosedur penelitian utama ini hampir sama dengan penelitian pendahuluan. Untuk penelitian utama ini dilakukan untuk mengetahui perlakuan perendaman (*demineralisasi*) terbaik dalam pembuatan gelatin tulang ikan lele kekuatan gel, viskositas, ph, proksimat dan profil asam amino yang terkandung di dalamnya. Berdasarkan Tabel 6 dapat diketahui bahwa perlakuan terbaik pada penelitian pendahuluan adalah pada lama waktu perendaman asam sulfat 24 jam. Hasil terbaik penelitian pendahuluan ini kemudian digunakan untuk mempersempit range perlakuan pada penelitian utama. Sehingga, untuk penelitian utama ini range penelitian yang digunakan yaitu 12 jam, 24 jam, dan 36 jam. Hasil dari penelitian utama ini kemudian di ujikan untuk mengetahui kualitas gelatin tulang ikan lele yang meliputi, uji viskositas, kekuatan gel, ph, proksimat, dan profil asam amino. Hasil pengujian gelatin tulang ikan lele yang di dapatkan pada penelitian utama ini jika dibandingkan dengan standart gelatin komersil menurut SNI (Standart Nasional Indonesia) dan GMIA (*Gelatin Manufactures Institute of America*) dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Penelitian Utama Kualitas Gelatin Tulang Ikan Lele

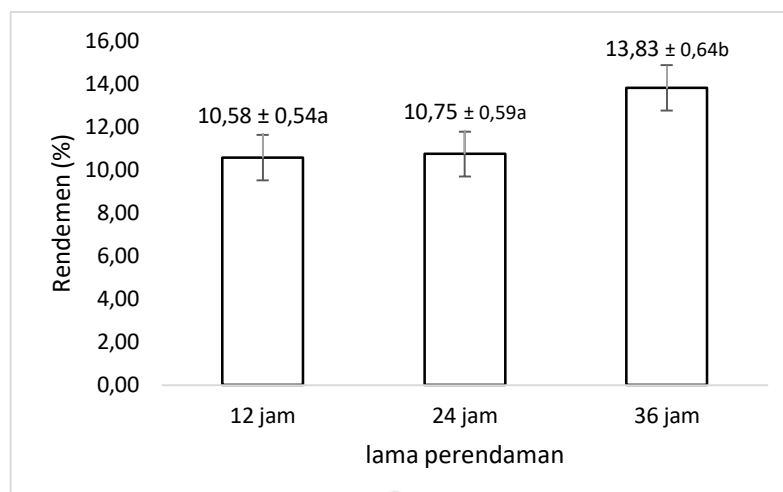
Parameter	Lama perendaman			Gelatin standart (SNI, 1995)	Gelatin (GMIA, 2012)	Gelatin komersial (Pertiwi <i>et al.</i> , 2018)
	12 jam	24 jam	36 jam			
Rendemen (g)	10,58	10,75	13,83			8,68
Kekuatan gel (bloom)	256,67	315,17	367,19		50-300	364
Viskositas (cP)	3,22	5,30	6,28		1,5-7,5	3,83
Ph	4,47	3,93	3,48		3,8-5,5	4,46
Kadar protein (%)	82,84	85,07	87,42			58,70
Kadar lemak (%)	1,09	0,88	0,85			2,79
Kadar abu (%)	1,03	0,67	0,74	Maks 3,25	0,3	0,38
Kadar air (%)	8,27	7,19	6,37	Maks 16		7,72

Penentuan lama perendaman (*demineralisasi*) menggunakan asam sulfat terhadap kualitas gelatin tulang ikan lele yang terbaik dilakukan analisis *De Garmo*. Analisis ini dilakukan dengan mengurutkan parameter uji dari yang paling penting hingga ke penting. Dalam pembuatan gelatin parameter yang paling penting adalah kekuatan gel dan viskositas, untuk data pengujiannya lainnya digunakan sebagai data pendukung untuk mengetahui kualitas gelatin tulang ikan lele hasil penelitian. Penentuan perlakuan terbaik ini digunakan untuk menentukan perlakuan mana yang selanjutnya akan diuji lanjutan, yaitu uji profil asam amino untuk menentukan kualitas gelatin tulang ikan lele terbaik dengan lama perendaman (*demineralisasi*) menggunakan asam sulfat.

## **4.2 Parameter Uji**

### **4.2.1 Rendemen**

Rendemen merupakan salah satu parameter dan sifat penting dalam pembuatan gelatin. Nilai rendemen yang dihasilkan sangat menentukan efisien dan efektif tidaknya proses ekstraksi bahan baku dalam pembuatan gelatin. Rendemen gelatin tersebut dihitung berdasarkan berat lembaran gelatin per berat awal tulang ikan cakalang yang telah dibersihkan (Ridhay *et al.*, 2016). Perhitungan nilai rendemen didasarkan atas perbandingan antara berat hasil yang diperoleh dengan berat bahan baku yang diolah (Adiningsih dan Purwanti, 2015). Nilai rendemen dari suatu hasil olahan 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 (Finarti *et al.*, 2018). Rendemen gelatin tulang ikan lele dengan lama perendaman asam sulfat yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Rendemen Gelatin Tulang Ikan Lencam Dengan Lama Perendaman Asam Sulfat Yang Berbeda

Berdasarkan Gambar 6, rendemen gelatin tulang ikan lencam dengan lama perendaman asam sulfat yang berbeda menunjukkan hasil yang berbeda. Pada lama perendaman 12 jam menghasilkan rata-rata rendemen 10,58%, perendaman 24 jam sebesar 11,75%, dan perendaman 36 jam sebesar 13,83%. Hasil rendemen yang didapatkan mengalami peningkatan seiring lamanya waktu perendaman asam sulfat. Hasil yang di dapatkan ini lebih baik dibandingkan dengan gelatin komersial pada penelitian Pertiwi *et al.*, (2018), yaitu sebesar 8,68%. Rendemen merupakan jumlah gelatin kering (*dry gelatin*) yang dihasilkan dari sejumlah sumber bahan baku dalam keadaan bersih melalui proses ekstraksi (Ananda *et al.*, 2018).

Berdasarkan hasil ANOVA, rendemen gelatin tulang ikan lencam didapatkan hasil berbeda nyata ( $P < 0,05$ ). Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa lama perendaman (*demineralisasi*) menggunakan asam sulfat pada pembuatan gelatin berpengaruh terhadap rendemen gelatin tulang ikan lencam. Berdasarkan uji lanjut Tukey, rendemen galatin tulang ikan lencam dengan lama perendaman (*demineralisasi*) selama 12 jam, 24 jam, dan 36 jam data yang

dihasilkan adalah berbeda nyata dan berpengaruh terhadap perlakuan lainnya. Hasil uji ANOVA rendemen dapat dilihat pada lampiran 1.

Lama *demineralisasi* dengan asam sulfat pada pembuatan gelatin tulang ikan lele berpengaruh nyata terhadap rendemen gelatin. Pada Gambar 6. dapat diketahui semakin lama *demineralisasi* (Perendaman) dengan asam sulfat, maka rendemen mengalami kenaikan. Menurut Adiningsih dan Purwanti, (2015), asam sulfat merupakan asam kuat sehingga dapat meningkatkan rendemen gelatin dibanding dengan menggunakan asam lemah. Pemilihan asam untuk proses *demineralisasi* (Perendaman) dapat mempengaruhi rendemen yang diperoleh. Disamping itu dalam proses *swelling* atau pengembangan tulang rawan dipengaruhi adanya proton dari asam yang masuk dalam struktur tulang rawan yang kehilangan mineral atau adanya ruang kosong yang terdapat di tropokolagen. Ion  $H^+$  dari asam yang digunakan akan berinteraksi dengan gugus karboksil sehingga dapat mengacaukan ikatan intra dan antar molekul tropokolagen yang dapat mempengaruhi tingkat rendemen yang dihasilkan.

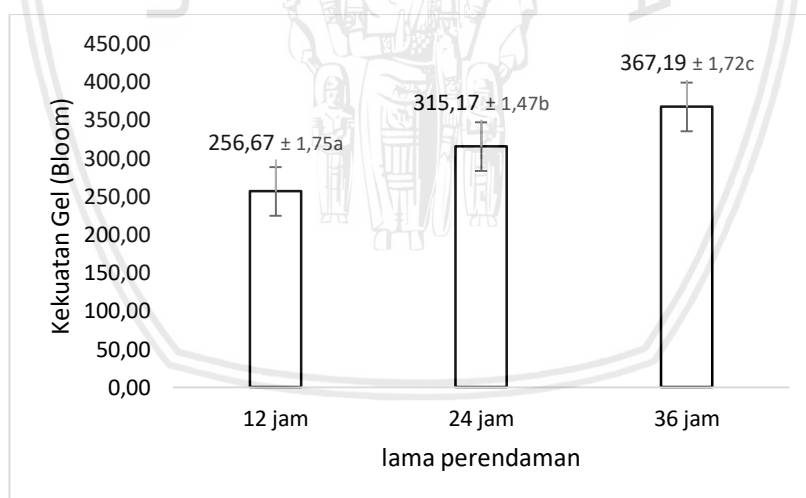
Berdasarkan Gambar 6. Dapat diketahui bahwa rendemen tertinggi terdapat pada perlakuan *demineralisasi* selama 36 jam sebesar 13,83%. Hal ini disebabkan karena lama *demineralisasi* (Perendaman) menyebabkan larutan asam banyak melepaskan ion  $H^+$ . Dengan banyaknya ikatan  $H^+$  dalam asam yang dilepaskan akan mampu berinteraksi dengan tropokolagen dalam tulang, sehingga mempermudah proses konversi kolagen menjadi gelatin saat proses ekstraksi karena struktur *triple helix* terurai menjadi *single helix*. Hal tersebut berdampak langsung pada rendemen gelatin yang dihasilkan. Menurut Arima dan Fithriyah, (2015), rendemen gelatin optimum dihasilkan ketika waktu perendaman tulang dalam asam selama 36 jam. Perendaman melebihi waktu optimum tidak meningkatkan hasil rendemen yang signifikan. Ditambahkan Ridhay *et al.*, (2016), bahwa jumlah ion  $H^+$  yang menghidrolisis kolagen tulang ikan berbeda-beda

tergantung jenis asam yang digunakan, semakin banyak ion H<sup>+</sup> semakin meningkat jumlah rendemen. Hal ini disebabkan oleh adanya proses pengikatan mineral kalsium dalam tulang ikan cakalang sehingga menyebabkan terbebasnya kolagen dalam tulang ikan cakalang. Hal tersebut yang dapat mempermudah proses konversi kolagen menjadi gelatin, oleh terurainya gulungan *triple helix* menjadi *single helix*. Ditambahkan Juliasti *et al.*, (2015), bahwa proses perendaman menggunakan asam dapat menyebabkan struktur kolagen akan mengembang dan terbuka sehingga kolagen yang yang terekstrak semakin tinggi menyebabkan jumlah gelatin yang dihasilkan semakin banyak.

Jumlah rendemen terendah yang didapatkan dari hasil penelitian adalah pada perlakuan lama *demineralisasi* 12 jam. Hal ini dikarenakan pemecahan struktur triple helix menjadi single helix pada tropokolagen tidak sempurna karena singkatnya waktu *demineralisasi* (Perendaman). Singkatnya waktu *demineralisasi* (Perendaman) ini menyebabkan proses penggembungan tulang belum sempurna sehingga kadar kalsium yang terlarut sedikit. Jika kadar kalsium selama perendaman banyak terlarut, maka dapat mempermudah proses ekstraksi serta rendemen gelatin yang didapatkan semakin banyak. Hal ini sesuai dengan pendapat Arima dan Fithriyah, (2015), proses *demineralisasi* (Perendaman) tulang menjadi *ossein* mempengaruhi tingkat keberhasilan (rendemen) ekstraksi kolagen pada *ossein*. Kolagen ini selanjutnya akan dikonversi menjadi gelatin. Semakin tinggi kadar kalsium yang dapat larut pada proses *demineralisasi* tulang menjadi *ossein*, maka semakin cepat proses ekstraksi kolagen dari *ossein* dan semakin tinggi rendemen gelatin yang dihasilkan. Faktor yang mempengaruhi proses *demineralisasi* adalah konsentrasi larutan asam dan waktu perendaman tulang dalam asam

#### 4.2.2 Kekuatan Gel

Kekuatan gel merupakan salah satu aspek yang dibutuhkan untuk menentukan kualitas gelatin. Gelatin dapat dinilai dari berbagai aspek, antara lain kekuatan gel dan viskositasnya. Semakin tinggi nilai kekuatan gel dan viskositas gelatin, maka semakin tinggi mutu gelatin tersebut (Nurilmala *et al.*, 2017). Kekuatan gel tergantung dari panjang rantai asam aminonya. Jika kondisi kolagennya telah terhidrolisis ketinggian yang lebih sederhana, maka kekuatan gel dapat meningkat. Kolagen yang telah terhidrolisis dapat menghasilkan rantai polipeptida yang panjang. Kekuatan gel menunjukkan kemampuan gelatin untuk berubah dari fase gel menjadi sol dan sebaliknya, atau bersifat reversible. Sifat ini yang menyebabkan gelatin sangat luas penggunaannya, baik dalam bidang pangan maupun non pangan (Hidayat *et al.*, 2016). Kekuatan gel gelatin tulang ikan lele dengan lama perendaman berbeda dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Kekuatan Gel Gelatin Tulang Ikan Lele Dengan Lama Perendaman Asam Sulfat Yang Berbeda

Pada Gambar 7, dapat dilihat bahwa kekuatan gelatin pada masing-masing perlakuan menunjukkan perbedaan. Pada perendaman 12 jam rata-rata kekuatan gel yang dihasilkan 256,67 bloom, perendaman 24 jam sebesar 315,17 bloom, dan perendaman 36 jam sebesar 367,19 bloom. Kekuatan gel pada Perendaman

selama 36 jam lebih tinggi dibandingkan standart gelatin komersil menurut Pertiwi *et al.*, (2018), yaitu sebesar 364 bloom. Pada perlakuan Perendaman 12 jam nilai kekuatan gel didapatkan hasil yang memenuhi standart gelatin komersial menurut *Gelatin Manufacturing Institute of America*, (2012), sebesar 50-300 g/bloom. Sedangkan untuk hasil kekuatan gel pada perlakuan *demineralisasi* 24 jam dan 36 jam data yang dihasilkan lebih tinggi dari standart GMIA, 2012 yang telah ditetapkan.

Berdasarkan hasil ANOVA, kekuatan gel gelatin tulang ikan lele dengan lama *demineralisasi* (Perendaman) yang berbeda didapatkan hasil berbeda nyata ( $P < 0,05$ ). Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa perlakuan lama *demineralisasi* berbeda berpengaruh nyata pada kekuatan gel gelatin yang dihasilkan. Berdasarkan uji lanjut Tukey, kekuatan gel gelatin tulang ikan lele dengan lama *demineralisasi* 12 jam, 24 jam, dan 36 jam menggunakan asam sulfat hasilnya berbeda nyata dan berpengaruh pada perlakuan lainnya. Hasil uji ANOVA dapat dilihat pada Lampiran 2.

Lama *demineralisasi* (Perendaman) yang berbeda didapatkan hasil berbeda nyata terhadap kekuatan gel gelatin tulang ikan lele. Pada Gambar 7, dapat diketahui bahwa semakin lama perendaman kekuatan gel gelatin tulang ikan lele dengan lama *demineralisasi* (Perendaman) yang berbeda menghasilkan nilai yang semakin meningkat. Hal ini dikarenakan dengan *demineralisasi* (Perendaman) menggunakan asam sulfat mampu mengubah struktur *triple helix* menjadi struktur yang lebih sederhana, sehingga rantai asam amino semakin panjang. Dapat diketahui bahwa rantai asam amino yang panjang memiliki berat molekul yang besar dan nilai kekuatan gel nya akan semakin tinggi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ananda *et al.*, (2018), Metode ekstraksi asam memiliki nilai rata-rata *gel strength* lebih tinggi diduga diakibatkan komposisi metode ekstraksi meliputi jenis pelarut, konsentrasi asam, lama perendaman, suhu pemanasan, dan



lama pemanasan pada komposisi yang tepat. Komposisi metode ekstraksi asam yang tepat mampu menghidrolisis molekul tropokolagen (*triple heliks*) menjadi bentuk ( $\alpha$ -*heliks*) dalam bentuk yang panjang. Rantai asam amino panjang akan membentuk suatu ikatan silang yang kuat. Ikatan silang yang kuat antara asam amino rantai panjang akan membentuk suatu jaringan yang bersifat kaku dan tahan terhadap tekanan yang lebih tinggi.

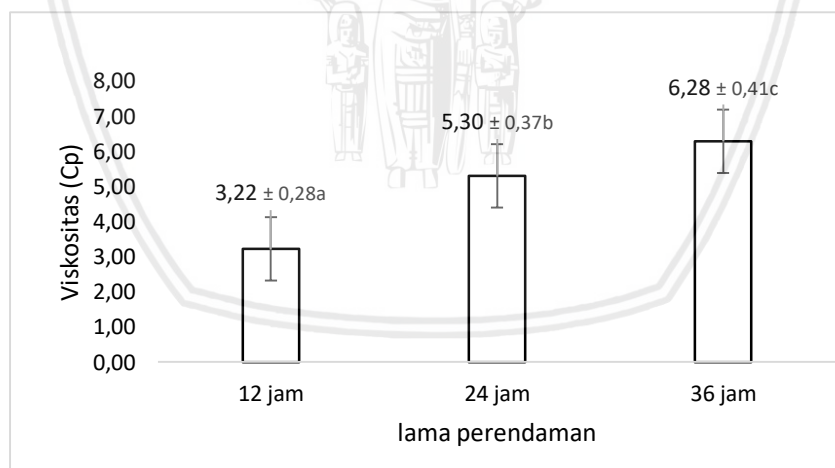
Pada Gambar 7, diketahui bahwa kekuatan gel tertinggi terdapat pada perlakuan *demineralisasi* (Perendaman) selama 36 jam sebesar 367,19 bloom. Sedangkan untuk kekuatan gel terendah terdapat pada perlakuan *demineralisasi* (Perendaman) asam sulfat selama 12 jam yaitu sebesar 256,67 bloom. Kekuatan gel 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 *et al.*, 2014). Tinggi rendahnya kekuatan gel disebabkan karena perbedaan komponen asam aminodan jenis dari ikan nya (Rera dan Suprayitno, 2019).

Rendahnya kekuatan gel disebabkan karena pada perlakuan belum mampu menghidrolisis secara selektif dan juga belum mampu mendegradasi protein kolagen secara baik, sehingga pada saat ekstraksi protein kolagen belum dapat memutus ataupun merusak ikatan struktur triple-helix. Perlakuan asam mampu mendegradasi molekul kolagen ke tingkat yg lebih sederhana, mampu mengubah struktur protein triple-helix menjadi rantai tunggal. Kekuatan gel tergantung dari panjang rantai asam aminonya. Jika kondisi kolagennya telah

terhidrolisis ketinggian yang lebih sederhana, maka kekuatan gel dapat meningkat. Kolagen yang telah terhidrolisis dapat menghasilkan rantai polipeptida yang panjang (Hidayat *et al.*, 2016).

#### 4.2.3 Viskositas

Viskositas pada pembuatan gelatin dengan metode asam memiliki nilai yang lebih tinggi dikarenakan berkaitan dengan penggunaan metode ekstraksi yang tepat. Metode ekstraksi yang tepat akan mempengaruhi panjang pendek rantai asam amino  $\alpha$ -heliks yang dibentuk. Jika rantai asam amino  $\alpha$ -heliks dalam bentuk panjang dapat menyebabkan berat molekul gelatin meningkat sehingga kelajuan aliran akan terhambat. Jika kelajuan aliran semakin terhambat maka nilai viskositas gelatin semakin besar (Ananda *et al.*, 2018). Nilai viskositas dari gelatin tulang ikan lele dengan lama perendaman yang berbeda menggunakan asam sulfat dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Viskositas Gelatin Tulang Ikan Lele Dengan Lama Perendaman Asam Sulfat Yang Berbeda

Dapat dilihat pada Gambar 8, bahwa nilai viskositas pada gelatin tulang ikan lele menunjukkan perbedaan nyata pada setiap perlakuan. Perlakuan lama *demineralisasi* (Perendaman) 12 jam menghasilkan nilai rata-rata viskositas sebesar 3,22cP, 24 jam sebesar 5,30cP, dan 36 jam sebesar 6,28cP. Nilai

viskositas pada semua perlakuan sesuai dengan standart *Gelatin Manufacturing Institute of America* (GMIA), (2012), yaitu sebesar 1,5-7,5 cP. Hasil viskositas pada perlakuan *demineralisasi* (Perendaman) 24 jam dan 36 jam memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan standart gelatin komersial menurut Pertiwi *et al.*, (2018), yaitu sebesar 3,83. Perbedaan nilai viskositas bisa disebabkan oleh karena proses ekstraksi dan komposisi bahan baku yang digunakan dimana masing-masing bahan memiliki tingkat kekuatan ikatan silang tropokolagen yang berbeda-beda selain juga faktor usia, genetik dan faktor lingkungan. Lemahnya ikatan silang menyebabkan kolagen mudah terhidrolisis, hidrolisis ini dapat menurunkan berat molekul gelatin yang pada akhirnya akan menurunkan viskositas larutan gelatin (Hermanto *et al.*, 2014).

Berdasarkan hasil ANOVA, dapat diketahui bahwa viskositas gelatin tulang ikan lencam dengan lama *demineralisasi* (Perendaman) berbeda didapatkan hasil berbeda nyata ( $P < 0,05$ ). Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa dengan lama *demineralisasi* (Perendaman) yang berbeda berpengaruh terhadap viskositas dari gelatin tulang ikan lencam yang dihasilkan. Berdasarkan uji lanjut Tukey, didapatkan hasil bahwa *demineralisasi* asam sulfat 12 jam, 24 jam, dan 36 jam berbeda nyata dan berpengaruh terhadap perlakuan yang lain. Hasil uji ANOVA dapat dilihat pada Lampiran 3.

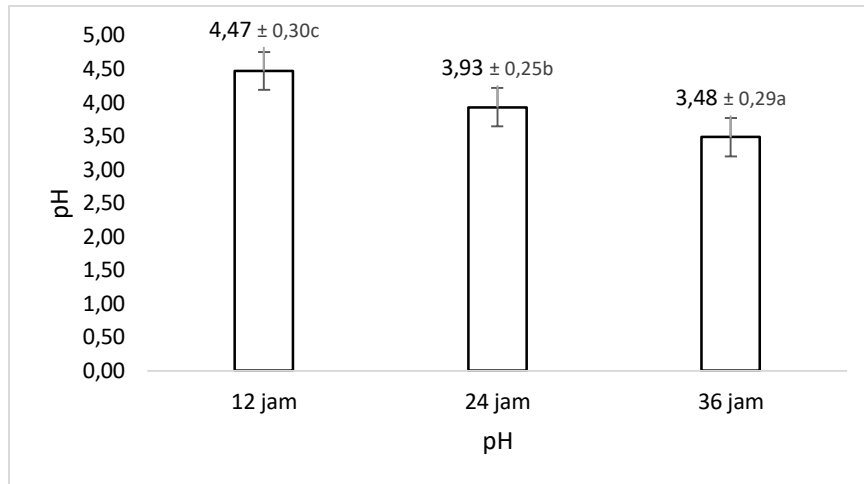
Lama *demineralisasi* (Perendaman) dengan asam sulfat didapatkan hasil berpengaruh nyata terhadap viskositas gelatin tulang ikan lencam. Pada Gambar 8, dapat diketahui dengan lama *demineralisasi* (Perendaman) semakin meningkatkan nilai viskositas gelatin tulang ikan lencam. Viskositas gelatin yang tinggi 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). Faktor yang mempengaruhi viskositas adalah kadar air. Viskositas juga erat kaitannya dengan

kadar air. Semakin kecil kadar air gelatin maka kemampuan untuk mengikat air (membentuk gel) akan semakin tinggi. Semakin banyak jumlah air yang terikat oleh gelatin maka gel akan menjadi semakin kental (Hidayat *et al.*, 2016).

Berdasarkan pada Gambar 8, dapat dilihat nilai viskositas gelatin tulang ikan lele dengan lama *demineralisasi* (Perendaman) yang berbeda menggunakan asam sulfat didapatkan nilai tertinggi pada perlakuan 36 jam sebesar 6,28cp. Sedangkan untuk nilai viskositas terendah pada perlakuan 12 jam sebesar 3,22cp. Suhu ekstraksi semakin tinggi menyebabkan penurunan nilai viskositas yang menggambarkan berkurangnya hambatan fluida. Hal ini diduga karena tingginya suhu ekstraksi mengakibatkan terjadinya hidrolisis lanjutan pada gelatin. Hidrolisis lanjutan akan memutuskan rangkaian asam amino yang berdampak pada rendahnya viskositas. Pemutusan rangkaian asam amino menjadi unit-unit yang lebih kecil menyebabkan gaya yang diperlukan untuk menimbulkan laju geser akan menjadi lebih kecil, sehingga fluida lebih mudah mengalir (Nurilmala *et al.*, 2017).

#### 4.2.4 pH (Derajat Keasaman)

pH (derajat keasaman) merupakan salah satu parameter yang ditetapkan dalam penentuan standar mutu gelatin. Pengukuran nilai pH larutan gelatin penting dilakukan, karena pH larutan gelatin mempengaruhi sifat-sifat gelatin lainnya seperti viskositas, kekuatan gel, dan berpengaruh juga terhadap aplikasi gelatin dalam produk (Finarti *et al.*, 2018). Nilai pH pada gelatin tulang ikan lele dengan lama Perendaman yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. pH Gelatin Tulang Ikan Lencam Dengan Lama Perendaman Asam Sulfat Yang Berbeda

Pada Gambar 9, dapat diketahui bahwa perlakuan lama Perendaman dengan asam sulfat pada pembuatan gelatin tulang ikan lencam menunjukkan perbedaan pada tiap perlakuan. Nilai pH rata-rata pada lama Perendaman 12 jam sebesar 4,47, 24 jam sebesar 3,93, dan 36 jam sebesar 3,48. Nilai pH yang dihasilkan pada perlakuan Perendaman 12 jam, dan 24 jam telah memenuhi standar *Gelatin Manufacturing Institute of America* (GMIA), (2012), yaitu sebesar 3,8-5,5. Sedangkan hasil yang didapatkan pada perlakuan 12 jam melebihi standart gelatin komersial menurut Pertiwi *et al.*, (2018), yaitu sebesar 4,46. Semakin singkat waktu Perendaman dalam pembuatan gelatin menyebabkan ion  $H^+$  yang berikatan dengan jaringan tropokolagen dalam tulang ikan lencam sedikit, sehingga pH yang dihasilkan juga tinggi.

Berdasarkan hasil ANOVA, nilai pH gelatin tulang ikan lencam yang dihasilkan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ). Sehingga dapat disimpulkan bahwa lama Perendaman berpengaruh nyata terhadap nilai pH yang dihasilkan. Berdasarkan uji lanjut Tukey, dapat diketahui lama Perendaman 12 jam, 24 jam, dan 36 jam berpengaruh nyata terhadap perlakuan lainnya. Hasil ANOVA dapat dilihat pada Lampiran 4.

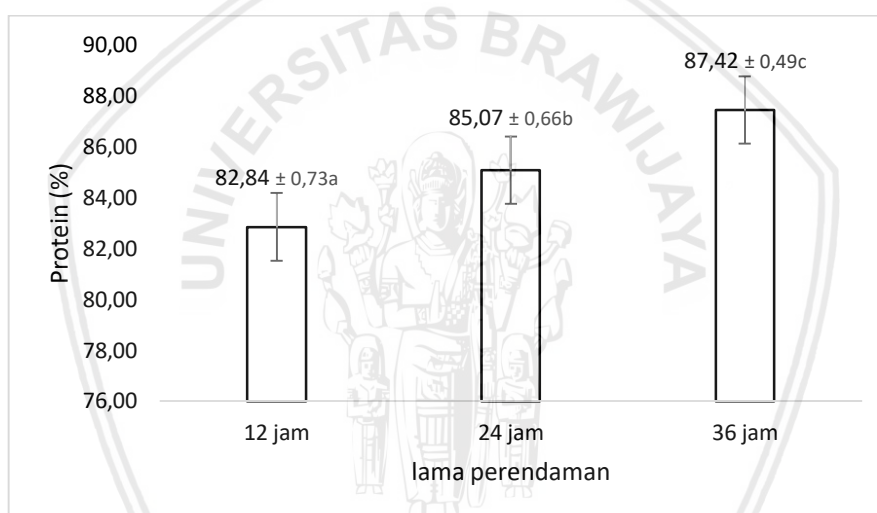
Lama Perendaman pada pembuatan gelatin tulang ikan bermacam-macam menggunakan asam sulfat didapatkan hasil, yaitu berpengaruh terhadap nilai pH yang dihasilkan. Dari Gambar 9, dapat diketahui bahwa semakin lama Perendaman menggunakan asam sulfat menyebabkan nilai pH semakin menurun. Penyebab rendahnya pH pada perlakuan asam kuat adalah dikarenakan terjadinya pengembangan kolagen pada waktu perendaman, sehingga banyak sisa asam yang tidak bereaksi terserap dalam kolagen yang mengembang dan terperangkap dalam jaringan fibril kolagen sehingga sulit dinetralkan pada saat pencucian yang akhirnya ikut mempengaruhi tingkat keasaman (Finarti *et al.*, 2018). Ditambahkan (Rapika *et al.*, 2016), rendahnya pH gelatin yang dihasilkan disebabkan konsentrasi asam kuat (HCl) dan waktu perendaman yang semakin lama semakin banyak asam yang masuk ke dalam jaringan fibril kolagen dan ikut diekstraksi.

Berdasarkan pada Gambar 9, dapat diketahui bahwa nilai pH tertinggi terdapat pada perlakuan 12 jam sebesar 4,47. Sedangkan nilai pH terendah pada perlakuan 36jam sebesar 3,48. Rendahnya nilai pH pada gelatin tulang ikan diakibatkan oleh penggunaan asam kuat. Asam kuat yang digunakan ketika proses *demineralisasi* (Perendaman) masih terbawa ketika proses ekstraksi, sehingga mempengaruhi tingkat keasaman pada gelatin yang dihasilkan (Minah *et al.*, 2016). Nilai pH yang rendah ini memiliki keuntungan, salah satunya tahan terhadap mikroorganisme. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hermanto *et al.*, (2014), yang menyatakan bahwa gelatin dengan pH rendah mempunyai keuntungan yaitu tahan terhadap kontaminasi mikroorganisme.

#### **4.2.5 Kadar Protein**

Kadar protein gelatin penting untuk diketahui. Gelatin sebagai salah satu jenis protein konversi yang dihasilkan melalui proses hidrolisis kolagen, tentunya

memiliki kadar protein yang tinggi. Kadar protein menunjukkan seberapa besar kandungan protein yang terdapat dalam suatu bahan pangan (Pertiwi *et al.*, 2018). Protein merupakan polimer dari 21 asam amino yang berlainan dan dihubungkan oleh ikatan peptide. Protein di dalam gelatin termasuk protein sederhana dalam kelompok skleroprotein dan mempunyai kadar protein yang tinggi karena protein diperoleh dari hasil hidrolisis atau penguraian kolagen dengan panas (Puspawati *et al.*, 2014). Kadar protein gelatin tulang ikan lele dengan perlakuan lama *demineralisasi* yang berbeda menggunakan asam sulfat dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Kadar Protein Gelatin Tulang Ikan Lele Dengan Lama Perendaman Asam Sulfat Yang Berbeda

Pada Gambar 10, dapat dilihat bahwa setiap perlakuan menunjukkan perbedaan kadar protein yang dihasilkan dari gelatin tulang ikan lele dengan perlakuan lama (Perendaman) *demineralisasi* yang berbeda asam sulfat. Rata-rata kadar protein pada perlakuan (Perendaman) *demineralisasi* selama 12 jam sebesar 82,84%, 24 jam sebesar 85,07% dan 36 jam sebesar 87,42%. Hasil kadar protein gelatin tulang ikan lele dengan lama (Perendaman) *demineralisasi* yang berbeda menggunakan asam sulfat pada penelitian ini memiliki nilai lebih tinggi dibandingkan dengan kadar protein menurut Pertiwi *et al.*, (2018), sebesar

58,70%. Kadar protein gelatin yang dihasilkan mengalami peningkatan seiring dengan lamanya waktu *demineralisasi* yang dilakukan.

Berdasarkan hasil ANOVA, kadar protein yang dihasilkan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ). Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa lama (Perendaman) *demineralisasi* yang berbeda berpengaruh terhadap kadar protein dari gelatin tulang ikan lele. Berdasarkan uji lanjut Tukey, kadar protein gelatin tulang ikan lele dengan lama (Perendaman) *demineralisasi* menggunakan asam sulfat selama 12 jam, 24 jam, dan 36 jam hasilnya berbeda nyata dan berpengaruh terhadap perlakuan lainnya. Hasil uji ANOVA dapat dilihat pada lampiran 5.

Lama *demineralisasi* (Perendaman) yang berbeda menggunakan asam sulfat didapatkan hasil berpengaruh nyata terhadap kadar protein gelatin tulang ikan lele. Berdasarkan data pada Gambar 10, menunjukkan bahwa semakin lama (Perendaman) *demineralisasi* semakin tinggi kadar protein gelatin tulang ikan lele yang dihasilkan. Kandungan utama gelatin adalah protein. Tingginya kadar protein menunjukkan kualitas gelatin yang baik (Oktaviani et al., 2017). Peningkatan kadar protein berkaitan dengan perubahan jumlah struktur ikatan asam amino yang menyusun protein kolagen. Tingginya jumlah protein yang larut menyebabkan kadar protein dalam produk gelatin juga cenderung meningkat (Hidayat et al., 2016).

Berdasarkan hasil pada Gambar 10, kadar protein tertinggi diperoleh pada perlakuan lama *demineralisasi* (Perendaman) selama 36 sebesar 87,42%. Sedangkan untuk kadar protein terendah pada perlakuan lama *demineralisasi* (Perendaman) selama 12 jam sebesar 82,84%. Kadar protein yang tinggi berkaitan langsung dengan sifat fisik gelatin seperti kekuatan gel dan viskositas. Gelatin yang memiliki kadar protein tinggi mengindikasikan bahwa gelatin tersebut memiliki mutu yang baik. Gelatin dengan kadar protein tinggi diharapkan dapat



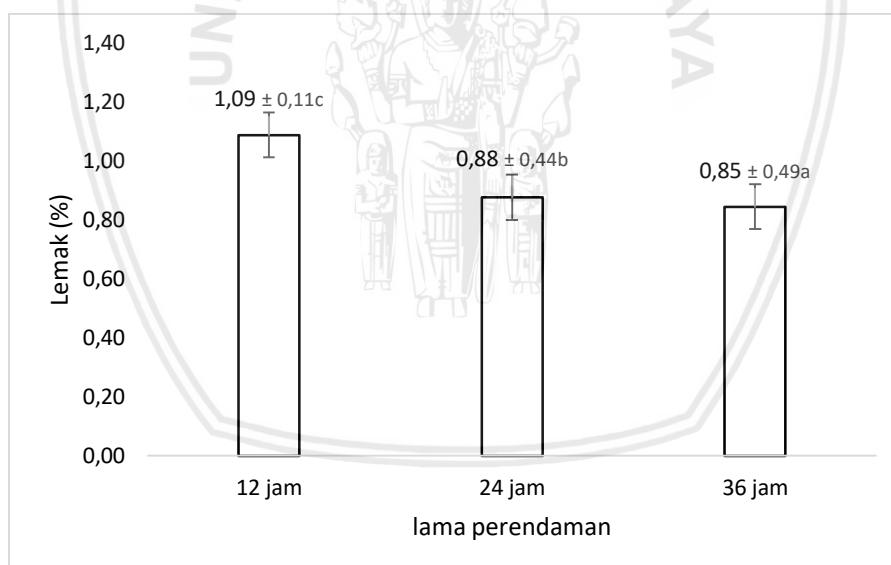
memberikan tambahan zat gizi terhadap produk pangan olahan selanjutnya (Sasmitaloka *et al.*, 2017).

Semakin meningkat suhu ekstraksi, semakin tinggi kadar protein yang dihasilkan. Kolagen mengalami denaturasi ketika dipanaskan dalam larutan pada suhu 30-40°C. Pada saat protein mengalami denaturasi, tidak ada ikatan kovalen pada kerangka rantai polipeptida yang rusak sehingga deret asam amino khas protein tetap utuh setelah denaturasi. Konversi tropokolagen menjadi gelatin menyebabkan terputusnya ikatan hidrogen yang membuat stabil ikatan triplet dan berubah menjadi ikatan konfigurasi ikatan acak gelatin. Kadar protein gelatin menunjukkan kemurnian gelatin yang diperoleh. Gelatin sebagai salah satu jenis protein konversi yang dihasilkan melalui proses hidrolisis kolagen sehingga kadar protein yang terkandung di dalamnya sangat tinggi (Sompie *et al.*, 2015).

Tingginya kandungan protein pada penelitian ini juga dipengaruhi oleh proses pembuatan gelatin. Pada penelitian ini metode yang digunakan hanya asam saja, tidak menggunakan asam basa. Pada pembuatan gelatin dengan bahan dasar tulang ikan, lebih baik menggunakan metode asam basa agar kandungan gelatin yang dihasilkan baik. Larutan asam sulfat yang digunakan pada penelitian ini hanya mampu untuk menghilangkan garam kalsium atau untuk proses *demineralisasi* (Perendaman) saja. Dalam tulang ikan masih terdapat banyak protein non kolagen yang terikat dalam struktur kolagen tulang sehingga perlu dilakukan metode *pre treatment deproteinasi* menggunakan larutan basa sehingga mampu memaksimalkan proses pembuatan gelatin karena proses *deproteinasi* mampu mengurangi atau menghilangkan protein non kolagen sehingga didapatkan protein gelatin murni. Pada penelitian ini tidak dilakukan proses *deproteinasi* sehingga protein yang dihasilkan sangat tinggi.

#### 4.2.6 Kadar Lemak

Kadar lemak menjadi salah satu parameter penting penentu kualitas gelatin. Penentuan kadar lemak perlu dilakukan 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. Lemak berhubungan dengan mutu karena kerusakan lemak dapat menurunkan nilai gizi serta menyebabkan penyimpangan rasa dan bau. Gelatin yang bermutu tinggi diharapkan memiliki kandungan lemak yang rendah bahkan diharapkan tidak mengandung lemak (Hermanto *et al.*, 2014). Kadar lemak yang dihasilkan pada gelatin tulang ikan lencam dengan lama *demineralisasi* (Perendaman) yang berbeda menggunakan asam sulfat dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Kadar Lemak Gelatin Tulang Ikan Lencam Dengan Lama Perendaman Asam Sulfat Yang Berbeda

Berdasarkan Gambar 11, dapat dilihat bahwa kadar lemak gelatin tulang ikan lencam menunjukkan perbedaan nyata pada masing-masing perlakuan lama *demineralisasi* (Perendaman) menggunakan asam sulfat. Kadar lemak rata-rata gelatin dengan *demineralisasi* 12 jam sebesar 1,09%, 24 jam sebesar 0,88% dan

36 jam sebesar 0,85%. Kadar lemak yang dihasilkan pada penelitian ini memenuhi standart gelatin komersial menurut Pertiwi *et al.*, (2018), sebesar 2,79%. Hasil ini dapat diketahui bahwa lama *demineralisasi* (Perendaman) menggunakan asam sulfat mempengaruhi nilai kadar lemak gelatin tulang ikan lele.

Berdasarkan hasil ANOVA, kadar lemak gelatin tulang ikan lele didapatkan hasil berbeda nyata ( $P < 0,05$ ). Sehingga dapat disimpulkan bahwa lama *demineralisasi* (Perendaman) menggunakan asam sulfat berpengaruh terhadap kadar lemak gelatin tulang ikan lele. Berdasarkan uji lanjut Tukey, kadar lemak gelatin tulang ikan lele dengan lama *demineralisasi* 12 jam, 24 jam, dan 36 jam hasilnya berbeda nyata dan berpengaruh terhadap perlakuan lainnya. Hasil uji ANOVA dapat dilihat pada Lampiran 6.

Lama *demineralisasi* (Perendaman) asam sulfat yang berbeda didapatkan hasil berpengaruh nyata terhadap kadar lemak gelatin tulang ikan lele. Pada data Gambar 11, menunjukkan bahwa semakin lama perendaman menyebabkan kadar lemak gelatin tulang ikan lele semakin menurun. Larutan asam yang sifatnya cenderung lebih kuat dalam membuka struktur ikatan pada protein, dengan perendaman menggunakan asam akan terlarut lebih banyak protein non kolagen yang akan mengikat lemak dan pada penetralan, lemak tersebut akan terbuang bersama dengan protein sehingga kadar lemak akan menjadi lebih rendah (Juliasti *et al.*, 2015).

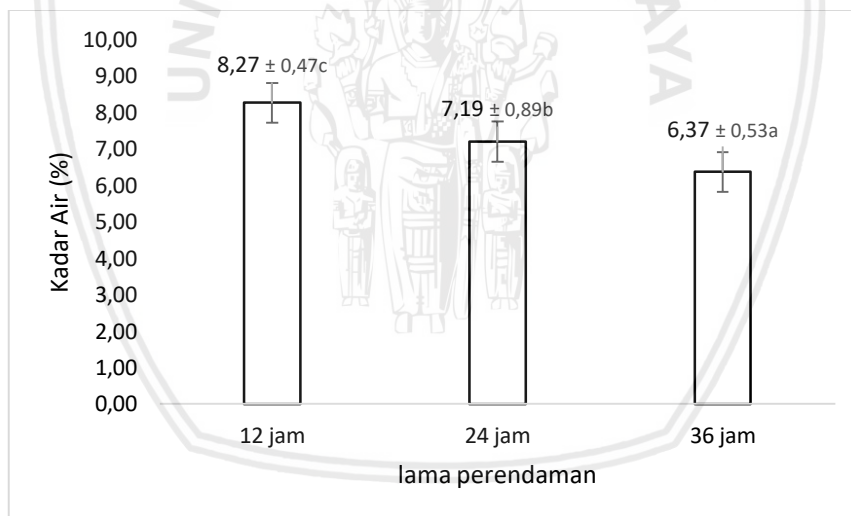
Berdasarkan hasil kadar lemak pada Gambar 11, dapat diketahui bahwa kadar lemak tertinggi terdapat pada perlakuan lama *demineralisasi* 12 jam sebesar 1,09%. Sedangkan kadar lemak terendah terdapat pada perlakuan *demineralisasi* selama 36 jam sebesar 0,85%. Kadar lemak pada gelatin sangat tergantung pada perlakuan selama proses pembuatan gelatin, mulai dari tahap pembersihan bahan hingga tahap penyaringan filtrat hasil ekstraksi. Perlakuan yang baik pada tiap

repository.ub.ac.id

tahap proses pembuatan gelatin akan mengurangi kandungan lemak yang ada dalam bahan baku (Trilaksani *et al* , 2012).

#### 4.2.7 Kadar Air

Kadar air dilakukan pengujian bertujuan untuk mengetahui kandungan air dalam gelatin tulang ikan. Kadar air merupakan parameter penting dari suatu produk pangan, karena kadar air sangat erat hubungannya dengan waktu simpan gelatin. Kualitas dan mutu suatu bahan tergantung pada kadar airnya. Air yang terkandung dalam suatu bahan dapat mempengaruhi sifat fisikokimianya seperti penampakan, tekstur, cita rasa dan lama penyimpanannya (Pertiwi *et al.*, 2018). Kadar air gelatin tulang ikan lencam dengan lama *demineralisasi* (Perendaman) asam sulfat berbeda dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Kadar Air Gelatin Tulang Ikan Lencam Dengan Lama Perendaman Asam Sulfat Yang Berbeda

Berdasarkan Gambar 12, kadar air gelatin tulang ikan lencam dengan lama *demineralisasi* (Perendaman) yang berbeda menggunakan asam sulfat menunjukkan perbedaan dari setiap perlakuan. Nilai rata-rata kadar air gelatin pada *demineralisasi* 12 jam sebesar 8,27%, 24 jam sebesar 7,19%, dan 36 jam sebesar 6,37%. Nilai kadar air gelatin pada penelitian ini memenuhi SNI Gelatin

(1995), yaitu maksimal sebesar 16%. Kadar air penelitian ini juga sesuai dengan standart gelatin komersial menurut Pertiwi *et al.*, (2018), sebesar 7,72%. Nilai kadar air yang dihasilkan mengalami penurunan seiring lamanya *demineralisasi*.

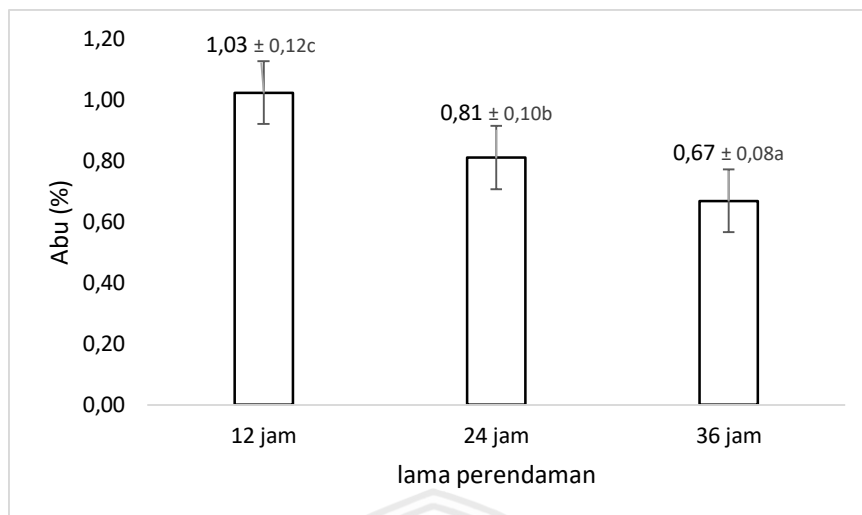
Berdasarkan uji ANOVA, kadar air gelatin tulang ikan lele dengan lama *demineralisasi* (Perendaman) asam sulfat yang berbeda didapatkan hasil berbeda nyata ( $P < 0,05$ ). Sehingga dapat disimpulkan bahwa lama *demineralisasi* menggunakan asam sulfat dalam pembuatan gelatin tulang ikan lele berpengaruh terhadap kadar air gelatin yang dihasilkan. Berdasarkan uji lanjut Tukey, kadar air gelatin tulang ikan lele dengan *demineralisasi* 12 jam, 24 jam, dan 36 jam didapatkan hasil berbeda nyata dan berpengaruh terhadap perlakuan lainnya. Hasil uji ANOVA dapat dilihat pada Lampiran 8.

Lama *demineralisasi* (Perendaman) asam sulfat yang berbeda didapatkan hasil berpengaruh nyata terhadap kadar air gelatin tulang ikan lele. Dari data pada Gambar 12, menunjukkan bahwa semakin lama *demineralisasi* (Perendaman) asam sulfat menyebabkan kadar air pada gelatin semakin menurun. Air merupakan kandungan penting dalam suatu bahan, terutama pada bahan pangan. Air dapat berupa komponen intraseluler dan atau ekstraseluler dari suatu produk. Kadar air ini dipengaruhi oleh udara di sekelilingnya, gelatin dapat mengabsorpsi atau melepaskan air yang dikandungnya. Tinggi rendahnya kadar air pada gelatin dipengaruhi oleh proses pengeringannya. Pada umumnya gelatin komersial dikeringkan dengan *freeze dryer* sehingga pada proses pengeringan gelatin komersial jumlah air yang menguap lebih sedikit daripada gelatin yang dikeringkan dengan oven (Permata *et al.*, 2016). Perbedaan kadar air pada masing-masing perlakuan dapat disebabkan dari banyaknya gelatin yang dihasilkan, karena hidrogen dalam kolagen akan berikatan dengan molekul air. Sehingga pada saat pengeringan, air akan menguap dan mengurangi kadar air dalam gelatin (Siregar dan Suprayitno, 2019).

Alat dan suhu pengeringan merupakan factor yang mempengaruhi nilai kadar air dari bahan pengeringan. Dengan demikian perbedaan nilai kadar air gelatin yang diekstrak pada suhu yang berbeda dapat disebabkan oleh alat dan suhu pengeringan yang berbeda. Untuk mendapatkan hasil pengeringan yang maksimal biasanya dilakukan dengan *freez drier*. Pada penelitian ini pengeringan dilakukan dengan oven (Puspawati *et al.*, 2014).

#### 4.2.8 Kadar Abu

Kadar abu adalah zat mineral organik yang tidak ikut terbakar dalam proses pembakaran zat organik. Mineral tersebut diantaranya adalah natrium, klor, kalsium, fosfor, magnesium, belerang dan logam berat. Nilai kadar abu suatu bahan pangan menunjukkan besarnya jumlah mineral yang terkandung dalam suatu bahan pangan tersebut (Hermanto *et al.*, 2014). Kadar abu suatu bahan menunjukkan kuantitas keberadaan mineral dalam bahan tersebut. Umumnya mineral yang terdapat dalam gelatin yang diekstrak dari tulang terdiri dari kalsium, klor, fosfor, magnesium, dan belerang. Penghilangan mineral pada proses ekstraksi gelatin dilakukan saat *demineralisasi* (Puspawati *et al.*, 2014). Hasil pengujian kadar abu gelatin tulang ikan lele dengan lama *demineralisasi* (Perendaman) asam sulfat yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Kadar Abu Gelatin Tulang Ikan Lencam Dengan Lama Perendaman Asam Sulfat Yang Berbeda

Berdasarkan Gambar 13, dapat diketahui bahwa kadar abu gelatin tulang ikan lencam dengan lama *demineralisasi* asam sulfat yang berbeda menunjukkan perbedaan dari setiap perlakuan. Nilai kadar abu rata-rata pada *demineralisasi* 12 jam sebesar 1,03%, 24 jam sebesar 0,81%, dan 36 jam sebesar 0,67%. Kadar abu gelatin pada penelitian ini mengalami penurunan seiring dengan lamanya *demineralisasi* (Perendaman) yang dilakukan. Nilai kadar abu pada semua perlakuan, yaitu 12 jam, 24 jam, dan 36 jam memenuhi standart SNI Gelatin (1995), yaitu sebesar 3,25%. Namun, hasil ini tidak memenuhi standart gelatin yang ditetapkan Gelatin Manufacturing Institute of America (GMIA), (2012), yaitu sebesar 0,3%. Hasil kadar abu ini juga lebih tinggi dibandingkan dengan standart gelatin komersial menurut Pertiwi *et al.*, (2018), yaitu sebesar 0,38%. Tingginya kadar abu gelatin yang dihasilkan dipengaruhi oleh kandungan mineral bahan baku, tergantung pada proses penyaringan dan hidrolisis yang dilakukan. Penyaringan yang kurang sempurna menyebabkan banyak serbuk ossein yang terbawa dalam filtrat gelatin. Serbuk ossein yang halus lolos dari saringan, membentuk endapan pada saat gelatin diubah menjadi gel (Suryati *et al.*, 2015).

Berdasarkan hasil ANOVA, kadar abu gelatin tulang ikan lele didapatkan hasil berbeda nyata ( $P < 0,05$ ). Sehingga dapat disimpulkan bahwa perlakuan lama *demineralisasi* (Perendaman) berpengaruh terhadap kadar abu gelatin tulang ikan lele yang dihasilkan. Berdasarkan uji lanjut Tukey, lama *demineralisasi* gelatin tulang ikan lele 12 jam, 24 jam, dan 36 jam hasilnya berbeda nyata dan berpengaruh terhadap perlakuan lainnya. Hasil uji ANOVA dapat dilihat pada Lampiran 7.

Kadar abu gelatin tulang ikan lele dengan lama *demineralisasi* (Perendaman) asam sulfat yang berbeda tertinggi terdapat pada perlakuan *demineralisasi* 13 jam sebesar 1,03%. Sedangkan kadar abu terendah pada perlakuan *demineralisasi* 36 jam sebesar 0,67%. Tingginya kadar abu gelatin kemungkinan disebabkan oleh keberadaan logam-logam berat seperti Cd, Pb, Cu dan Zn dan logam lainnya seperti Mg dan Ca yang merupakan mineral yang banyak ditemukan dalam daging ikan yang memiliki titik didih di atas 550°C (Hermanto *et al.*, 2014). Besar kecilnya nilai kadar abu dipengaruhi oleh proses *demineralisasi* dan pencucian, semakin banyak mineral yang hilang maka nilai kadar abu semakin rendah. Rendahnya kadar abu yang dimiliki oleh gelatin diduga karena banyaknya jumlah mineral yang ikut larut dalam proses pencucian. Adanya komponen mineral yang terikat pada kolagen yang belum terlepas saat proses pencucian dan penyaringan sehingga terbawa saat proses pengabuan (Febryana *et al.*, 2018).

#### 4.2.9 Perlakuan Terbaik

Perlakuan terbaik gelatin tulang ikan lele ditentukan dengan metode *De Garmo*. Penentuan perlakuan terbaik ini melibatkan beberapa parameter uji seperti rendemen, kekuatan gel, viskositas, pH, kadar air, kadar abu, kadar protein dan kadar lemak. Hasil perlakuan terbaik akan digunakan untuk uji kimia selanjutnya



yaitu uji profil asam amino yang bertujuan untuk mengetahui asam amino apa saja yang terkandung dalam gelatin tulang ikan lele. Penentuan perlakuan terbaik ini menggunakan metode *De Garmo*. Menurut Fitriyani, (2018), metode *de Garmo* digunakan untuk menentukan perlakuan terbaik yang selanjutnya akan diuji lanjutan.

#### 4.2.10 Analisis Profil Asam Amino

Analisis profil asam amino dapat memberikan informasi penting mengenai komposisi asam amino esensial dan non esensial selain itu juga untuk menunjukkan komposisi asam amino secara keseluruhan yang dapat berpengaruh terhadap karakteristik rasa pada sampel yang dianalisis (Pratama et al., 2018). Gelatin sangat kaya akan asam amino glisin ( Gly ) hampir sepertiga dari asam amino. Makin tinggi asam amino, kekuatan gel akan lebih baik. Salah satu ciri gelatin adalah akan tingginya kadar protein khususnya asam amino dan rendahnya kadar lemak. Gelatin kering mengandung kira-kira 84 – 86 % protei, 8 – 12 % air dan 2 – 4 % mineral. Dari 10 asam amino esensial yang dibutuhkan tubuh, gelatin mengandung 9 asam amino esensial, satu asam amino esensial yang hampir tidak terkandung dalam gelatin yaitu triptofan (Finarti et al., 2018).

Bedasarkan hasil perlakuan terbaik, profil asam amino yang terdeteksi pada gelatin tulang ikan lele terdapat 15 profil asam amino. Hasil pengujian profil asam amino dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Profil Asam Amino Gelatin Tulang Ikan Lele Perendaman Asam Sulfat

No	Parameter	Unit	Result
1	L-Serin	%	2,86
2	L-Asam Glutamat	%	6,70
3	L-Fenilalanin	%	1,94
4	L-Isoleusin	%	0,85
5	L-Valin	%	1,61
6	L-Alanin	%	6,99
7	L-Arginin	%	6,25
8	Glisin	%	18,29

9	L-Lisin	%	2,52
10	L-Asam Aspartat	%	3,46
11	L-Leusin	%	1,90
12	L-Tirosin	%	0,48
13	L-Prolin	%	8,31
14	L-Threonin	%	1,99
15	L-Histidin	%	0,67

Sumber: Laboratorium Saraswanti Indo Genetech Bogor, (2019)

Berdasarkan Tabel 7, didapatkan 15 asam amino yang terkandung didalam gelatin tulang ikan lele dengan perlakuan lama *demineralisasi* (Perendaman) asam selama 36 jam. Kandungan setiap asam amino dalam gelatin tulang ikan lele ini berbeda-beda, yaitu pada asam amino L-serin sebesar 2,86%, L-Asam glutamate sebesar 6,70%, L-fenilalanin sebesar 1,94%, L-Isoleusin sebesar 0,85%, L-Valin sebesar 1,61%, L-Alanin sebesar 6,99%, L-Arginin sebesar 6,25%, Glisin sebesar 18,29%, L-Lisin 2,52%, L-Asam Aspartat sebesar 3,46%, L-Leusin sebesar 1,90%, L-Tirosin sebesar 0,48%, L-Prolin sebesar 8,31%, L-Threonin sebesar 1,99% dan L-Histidin sebesar 0,67%.

Kandungan asam amino gelatin tulang ikan lele yang termasuk asam amino esensial yaitu L-Fenilalanin, L-Isoleusin, L-Valin, L-Arginin, L-Lisin, L-Leusin, L-Threonin, dan L-Histidin. Sedangkan asam amino non-esensial yaitu L-Serin, L-Asam glutamate, L-Alanin, Glisin, L-Asam Aspartat, L-Tirosin dan L-Prolin. Kandungan asam amino esensial yang tertinggi pada gelatin tulang ikan lele penelitian ini adalah L-Arginin sebesar 8,31% dan terendah pada L-Histidin sebesar 0,67%. Sedangkan untuk kandungan asam amino non-esensial tertinggi adalah Glisin sebesar 18,29%, dan terendah pada asam amino L-Tirosin 0,48%. Komposisi asam amino akan menentukan kualitas suatu protein, protein merupakan salah satu nutrisi makro paling penting bagi manusia yang didapatkan dari makanan. Informasi mengenai komposisi asam amino esensial dan non esensial yang terkandung dalam sampel dapat diketahui dengan melakukan analisis profil asam amino ini (Pratama *et al.*, 2018). Asam amino merupakan

komponen penting yang dibutuhkan makhluk hidup. Asam amino terbagi menjadi dua, yaitu asam amino esensial dan non esensial (Nurchayanti dan Suprayitno, 2019).

Berdasarkan data pada Tabel 7, diketahui bahwa kadar asam amino tertinggi pada gelatin tulang ikan lencam perlakuan *demineralisasi* 36jam adalah glisin sebesar 18,29% dan asam amino terendah adalah *L-Tirosin* sebesar 0,48%. Hal ini karena glisin merupakan asam amino yang paling banyak ditemukan dalam gelatin. Asam amino utama penyusun gelatin adalah glisina, prolina dan hidroksiprolina. Glisina dan prolina adalah asam amino utama penyusun gelatin. Gelatin mengandung 9 dari 10 jenis asam amino esensial yang dibutuhkan tubuh, satu asam amino esensial yang hampir tidak terkandung dalam gelatin yaitu triptopan. Komposisi asam amino tersebut menyebabkan gelatin sebagai bahan yang multi guna dalam berbagai industri (Nurilmala *et al.*, 2017).

Kandungan gelatin yang paling besar adalah glisin dan prolin. Pada penelitian ini, kadar asam amino glisin sebesar 18,29% dan prolin sebesar 8,31%. Gelatin adalah derivat protein dari serat kolagen yang ada pada kulit, tulang dan tulang rawan. Struktur gelatin tersusun atas asam amino dimana glisin sebagai asam amino utama dan merupakan 2/3 dari seluruh asam amino yang menyusunnya, 1/3 asam amino yang tersisa diisi oleh prolin dan hidroksiprolin (Hidayat *et al.*, 2016). Kualitas atau sifat fisika kimia gelatin pada dasarnya ditentukan oleh asam amino penyusun molekul gelatin (Oktaviani *et al.*, 2017). Ditambahkan Ismail dan Suprayitno (2019), gelatin mengandung tiga asam amino yang sangat tinggi glisin 26% (salah satu dari tiga asam asam amino terpenting dalam gelatin), prolin 16%, dan hidroksiprolin 14%.

## 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Hasil penelitian menunjukkan lama *demineralisasi* (Perendaman) yang berbeda berpengaruh nyata terhadap kualitas gelatin tulang ikan lele meliputi rendemen, kekuatan gel, viskositas, pH, kadar air, kadar protein, kadar lemak, dan kadar abu.
2. Gelatin tulang ikan lele terbaik didapatkan pada lama *demineralisasi* (Perendaman) asam sulfat 36 jam dengan kualitas meliputi nilai rendemen sebesar 13,83%; kekuatan gel 367,19 Bloom; viskositas 6,28cP; pH 3,48; kadar air 6,37%; kadar abu 0,67%; kadar protein 87,42%; dan kadar lemak 0,85%. Selain itu dengan kandungan asam amino tertinggi *Glisin* sebesar 18,29% dan asam amino terendah *L-Tirosin* sebesar 0,48%.

### 5.2 Saran

Saran yang dapat saya berikan adalah perlu adanya penelitian lanjutan terhadap pengaplikasian gelatin tulang ikan lele dengan *demineralisasi* (perendaman) menggunakan larutan asam sulfat pada berbagai bidang. Selain itu perlu dilakukan metode *pre treatment demineralisasi* dan *deproteinasi* pada proses pembuatan gelatin tulang ikan untuk mendapatkan gelatin tulang ikan lele dengan kualitas yang baik. Untuk mengetahui apakah perlakuan *demineralisasi* mampu mempengaruhi kualitas gelatin tulang ikan lele perlu dilakukan pengujian jumlah mineral larutan dan bahan baku sebelum perlakuan maupun sesudah perlakuan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adiningsih, Y., dan Purwanti, T. 2015. Karakterisasi mutu gelatin ikan tenggiri (*Scomberomorus commersonii*) dengan perendaman menggunakan asam sitrat dan asam sulfat. *Jurnal Riset Teknologi Industri*. Vol 9 (2): 149–156.
- Afrian, D., and E. Suprayitno. 2019. The effect of the long time of naoh seeding in the loss process fat to the quality of gelatin tiger grouper fish bone (*Epinephelus fuscoguttatus*). *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)*. Vol 12 (5): 62-66. ISSN: 2319-2380
- Agustin, A. T., dan M. Sompie. 2015. Kajian gelatin kulit ikan tuna (*thunnus albacares*) yang diproses menggunakan asam asetat. *Jurnal Biodiversiti Indonesia*. Vol 1 (5): 1186–1189. Issn 2407–8050.
- Agustina., E. Suprayitno., and H. Nursyam. 2014. Chitosan inhibibility of mangrove crab (*Scylla Sp*), giant shrimp (*Macrobrachium rosenbergii de man*) and penaeid shrimp (*Penaeus merguensis de man*) against the histidine decarboxylase producing bacterial isolate activity of fresh tuna (*Euthynnus*). *International Journal Of Bioscience (IJP)*. Vol 5 (7): 281–287. ISSN 2220–6655.
- Aisyah, S. 2018. Studi Morfometrik dan penentuan umur ikan lele (*Lethrinus lentjan*) di tempat pelelangan ikan (TPI) Ketapang Kota Pangkalpinang. *Jurnal Sumberdaya Perairan*. Vol 12 (1) 61–64. ISSN 1978 1652.
- Amir, N., E. Suprayitno., dan H. Nursyam. 2015. Pengaruh sipermetrin pada jambal roti terhadap kadar ureum dan kreatinin tikus wistar (*Rattus Norvegicus*). *Jurnal Ipteks Pemanfaatan Sumberdaya Perikanan*. Vol 2 (3): 283–293. ISSN 2355–729x.
- Ananda, A. R., R. J. Triastuti., S. Andriyono. 2018. Isolasi dan karakterisasi gelatin dari teripang (*Phyllophorus Sp.*) Dengan metode ekstraksi berbeda. *Journal Of Marine and Coastal Science*. Vol 7 (1): 1–11.
- Angelia, I. O. 2016. Analisis Kadar lemak pada tepung ampas kelapa. *Journal Technology*. Vol 4 (1): 19–23.
- Arima, I. N., dan N. H. Fithriyah. 2015. Pengaruh waktu perendaman dalam asam terhadap rendemen gelatin dari tulang ikan nila merah. *Journal Nasional Sains dan Teknologi*. 6 Hlm. ISSN : 2407 – 1846.
- Asmoro, N. W., C. B. Handayani., Afriyanti., B. Hanggara., dan B. Nugroho. 2018. Karakteristik fisik edible film dari gelatin limbah tulang ayam dengan perbedaan konsentrasi plastisizer. *Jurnal Pemanfaatan Sumber Daya Lokal Menuju Kemandirian Pangan Nasional*. 8 hlm.
- Assa, J. D., B. T. Wagey., dan F. B. Boneka. 2015. Jenis-Jenis ikan di padang lamun pantai tongkaina. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. Vol 2 (1): 53–61.
- 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 alternatif produksi gelatin dan peptida bioaktif. *Jurnal Nasional Sains dan Teknologi*. 6 Hlm. ISSN 2407-1846.
- Axiomawan, F. Y., and Eddy Suprayitno. 2019. The influence of acid type and extraction temperature on amino acid profiles and chemical physical characteristics of gelatin snapper fish bone. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)*. Vol **12** (5): 57-61. ISSN: 2319-2380.
- Ayunin, R. Q., And E. Suprayitno. 2019. Characteristics of Gelatin Extracted From Red Snapper Skin (*Lutjanus argentimaculatus*) in difference time extraction. *International Journal of Scientific and Research Publications*. Vol **9** (6): 178-181. ISSN 2250-3153
- British Standard 757. 1975. Sampling and testing of gelatin, thickening and gelling agend for food. *New York: Academic Press*.
- Carpenter, K. E., A. Lawrence., and R. Myers. 2016. Lethrinus Lentjan. *Journal Red List Of Threatened Species*. 11 Hlm. ISSN 2307 8235.
- Damayanti, R., N. Lusiana., dan J. Prasetyo. 2017. Studi pengaruh ukuran partikel dan penambahan peekat tapioka terhadap karakteristik biopellet dari kulit coklat (*Theobroma cacao L.*) Sebagai Bahan Bakar Alternatif Terbarukan. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*. Vol **11** (1): 51-60. ISSN :1978-1067.
- Devi, H. L. N. A., P. Suptijah., dan M. Nurilmala. 2017. Efektifitas alkali dan asam terhadap mutu kolagen dari kulit ikan patin. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol **20** (2): 255-265.
- Elfita, L. 2014. Analisis Profil protein dan asam amino sarang burung walet (*Collocalia Fuchiphaga*) asal painan. *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*. Vol **1** (1): 27-37. ISSN 2407-7062.
- Erizal., B. Abbas., R.A.K. Setyo., G.S. Sulistioso., dan Sudirman. 2014. Pengaruh iradiasi gamma pada sifat fisiko-kimia kolagen dalam larutan. *Jurnal Sains Materi Indonesia*. Vol **15** (4): 221-225. ISSN 1411-1098.
- Fabella, N., Herpandi., dan I. Widiastuti. 2018. Pengaruh metode ekstraksi terhadap karakteristik kolagen dari kulit ikan patin (*Pangasius Pangasius*). *Jurnal Teknologi Hasil Perikanan*. Vol **7** (1): 69–75. ISSN 2302–6936.
- Febryana, W., N. Idiawati., dan M. A. Wibowo. 2018. Ekstraksi gelatin dari kulit ikan belida (*Chitala lopis*) pada proses perlakuan asam asetat. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 7(4), 93–102. ISSN 2303–1077.
- Finarti, Renol., D. Wahyudi., M. Akbar., dan R. Ula. 2018. Rendemen Dan ph gelatin kulit ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang direndam pada berbagai kosentrasi HCL. *Jurnal Pengolahan Pangan*. Vol **3** (1): 22–27. ISSN 2621–6973.
- Firdayanti, W., and E. Suprayitno. 2019. Amino acid profile of gelatin extracted from the skin of starry triggerfish (*Abalistes stellaris*) and determination of its physical properties. *International Journal of Scientific and Research Publication.*, Vol **9** (4): 774-778. ISSN 2250-3153.

- Firlianty., E. Suprayitno., Hardoko., and H. Nursyam. 2014. Protein Profile and amino acid profile of vacuum drying and freeze-drying of family channidae collected from Central Kalimantan , Indonesia. *International Journal Of Bioscience (IJP)*. Vol **5** (8): 75–83. ISSN2220–6655.
- Fitriyani, E. 2018. Pengaruh Suhu dan waktu ekstraksi ikan toman (*Channa micropeltes*) menjadi serbuk albumin. *Jurnal Galung Tropika*. Vol **7** (2): 102–114. ISSN 2407–6279.
- Gadi, D. S., W. Trilaksani., dan T. Nurhayati. 2017. Histologi, ekstraksi dan karakterisasi kolagen gelembung renang ikan cunang muarenesox talabon. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis*. Vol **9** (2): 665-684. ISSN 2087-9423.
- Gelatin Manufactures Institute Of America (GMIA). 2012. How Is gelatin made. *South 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.
- Hafiluddin, Perwitasari, Y., dan Budiarto, S. 2014. Analisis Kandungan Gizi Dan Bau Lumpur Ikan Bandeng ( *Chanos*. *Jurnal Kelautan*, 7(1), 33-44. Issn: 1907-9931.
- Haiyee, Z A., N. I. A. Yahya., N. A. Rashid., and D. M. Hashim. 2016. Characterisation Of catfish (*Clarias batrachus*) oil:  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex. *Malaysian Journal Of Analytical Science*. Vol **20** (4): 838-843. ISSN 1394-2506.
- 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*. Volume **10** (1): 115-124. ISSN 1907-9850.
- Harris, M. V., Y. S. Darmanto., dan P. H. Riyadi. 2016. Pengaruh kolagen tulang ikan air tawar yang berbeda terhadap karakteristik fisik dan kimia sabun mandi padat. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. Vol **5** (1): 118-124. ISSN 2442-4145.
- Hasanah, R., dan I. Suyatna. 2015. Karakteristik Mutu produk ikan baung ( *Mystus nemurus* ) asap industri. *Jurnal Akuatik*. Vol **6** (2): 170-176. ISSN 0853-2532.
- Hermanto, S., M. R. Hudzaifah., dan A. Muawanah. 2014. Karakteristik Fisikokimia Gelatin Kulit Ikan Sapu-Sapu ( *Hyposarcus Pardalis* ) Hasil Ekstraksi Asam. *Jurnal Kimia Valensi*. Vol **4** (2): 109–120. ISSN 1978–8193.
- Hidayat, G., E. N. Dewi., dan L. Rianingsih. 2016. Karakteristik Gelatin tulang ikan nila dengan hidrolisis menggunakan asam fosfat dan enzim papain. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol **19** (1): 69–78.
- Hidayat, M. I., and E. Suprayitno. 2019. The effect of addition of skim milk and natriumalginate to the quality of crude albumin fish cork (*Ophiocephalus striata*) (drying with vacuum drying). *International Journal of Scientific and Research Publications*. Vol **9** (5): 202-209. ISSN 2250-3153

- Ismail, S., and E. Suprayitno. 2019. The effect of variation of acetic acid concentration on characteristics of gelatin from milkfishskin (*Chanoschanos*). *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)*. Vol 12 (5): 52-56. ISSN: 2319-2380.
- Jaswir, I., H. A. Monsur and H. M. Salleh. 2011. Nano-structural analysis of fish collagen extracts for new process development. *African Journal of Biotechnology*. Vol 10 (81): 18847-18854. ISSN 1684-5315.
- Jeffriansah, D., and E. Suprayitno. 2019. The effect of addition different hcl concentrations on the physico-chemical properties of cork fish (*Ophiocephalus striatus*) Skin Gelatin. *International Journal of Scientific and Research Publications*. Vol 9 (6): 396-400. ISSN 2250-3153
- Juliasti, R., A. M. Legowo., dan Y. B. Pramono. 2015. Pemanfaatan limbah tulang kaki kambing sebagai sumber gelatin dengan perendaman menggunakan asam klorida. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. Vol 4 (1): 5-10.
- Laird, B. B. 2009. *University Chemistry. Dubuque, Ia : Mcgraw-Hill*.
- Lambert, R., and M. Stratford. 1999. Weak-acid preservatives: modelling microbial inhibition and response. *Journal Of Applied Microbiology*, 86(1), 157-164.
- Leksono, T., E. Suprayitno., H. Purnomo., and Hardoko. 2014. Profile of traditional smoking striped catfish (*Pangasius hypophthalmus sauvage* 1878 ) and firewood used in Province Of Riau , Indonesia. *Journal Biodiversity And Environmental Sciences (Jbes)*. Vol 5 (1): 562-572. ISSN 2220-6663.
- Lerebulan, C., F. Fatimah., dan J. Pontoh. 2018. Rendemen dan total fenolik santan kelapa dalam pada berbagai tingkat kematangan. *Jurnal Mipa Unsrat*. Vol 7 (1): 44-46.
- Mahmoodani, F., V. S. Ardekani., S. S. Fern., S. M. Yusop., and A. S, Babji. 2014. Optimization of extraction and physicochemical properties of gelatin from pangasius catfish (*Pangasius sutchi* ) Skin. *Journal Sains Malaysia*. Vol 43 (7): 995-1002.
- Mardina, P., H. A. Prathama., dan D. M. Hayat. 2014. Pengaruh waktu hidrolisis dan konsentrasi katalisator asam sulfat terhadap sintesis furfural dari jerami padi. *Jurnal Konversi*. Vol 3 (2): 1-8.
- Minah, F. N., M. Drira., W. Siga., dan S, C. Pratiwi. 2016. Ekstraksi gelatin dari hidrolisa kolagen limbah tulang ikan tuna dengan variasi jenis asam dan waktu ekstraksi. *Jurnal Seminar Nasional Inovasi Dan Aplikasi Teknologi Di Industri (Seniati)*. 7 Hlm. ISSN 2058-4218.
- Naiu, A. S., dan N. Yusuf. 2018. Nilai sensoris dan viskositas skin cream menggunakan gelatin. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol 21 (2): 119-207.
- Nurchayanti, R., and E. Suprayitno. 2019. The effect of addition of sorbitol and dextrin to amino acid profile and fatty acid profil of albumin powder cork fish (*Ophiocephalus striata*). *International Journal of Scientific and Research Publication*. Vol 9 (5): 169-174. ISSN 2250-3153



- 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.
- Nurjannah, A., Darmanto, dan I. Wijayanti. 2016. Optimasi pembuatan glukosamin hidroklorida (glcn hcl) dari limbah cangkang rajungan melalui hidrolisis kimiawi. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol **19** (1): 26–35.
- Oktaviani, I., F. Perdana., dan A. Y. Nasution. 2017. Perbandingan sifat gelatin yang berasal dari kulit ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) dan gelatin yang berasal dari kulit ikan komersil. *Journal Of Pharmacy And Science*. Vol **1** (1): 1–8.
- Panjaitan, T. F. C. 2017. Karakterisasi beras artifisial sagu papua dengan penambahan gelatin tulang ikan tuna. *Jurnal Ilmu Perikanan*. Vol **8** (1): 19-23. ISSN 2086-3861.
- Pantow, I. M., M. Sompie., A. D. Mirah., dan L. C. M. Karisoh. 2016. Pengaruh perbedaan konsentrasi larutan asam asetat (CH<sub>3</sub>COOH) terhadap karakteristik gelatin kulit kaki ayam. *Jurnal Zootek*. Vol **36** (1): 23–32. ISSN 0852–2626.
- Permata, Y. W., F. Widiastri., Y. Sudaryanto., dan A. A. Adriana. 2016. Gelatin Dari tulang ikan lele (*Clarias batrachus*): pembuatan dengan metode asam, karakterisasi dan aplikasinya sebagai thickener pada industri sirup. Vol **15** (2): 146–152. ISSN. 1412–7350.
- 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.
- Pramita .U, S. L., dan S. D. Lestari. 2016. Pengaruh metode pemasakan terhadap komposisi kimia dan asam amino ikan seluang (*Rasbora argyrotaenia*.) *Jurnal Teknologi Hasil Perikanan* Vol. **5** (1), 73–84. ISSN 2302 6936.
- Pratama, M., M. Baits., dan N. A. A. R. Saman. 2014. Analisis kadar protein dan lemak pada ikan julung-julung asap (*Hemirhampus far*) asal Kecamatan Kayoa Maluku Utara dengan metode kjeldahl dan gravimetri. *Jurnal As-Syifaa*. Vol **6** (2): 178–186. ISSN 2085–4714.
- Pratama, R. I., I. Rostini., dan E. Rochim. 2018. Profil asam amino, asam lemak dan komponen volatil ikan gurame segar (*Osphronemus gouramy*) dan kukus. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol **21** (2): 218–231.
- Pratiwi, I., Halili., dan A. Mustafa. 2018. Studi beberapa aspek biologi reproduksi ikan lele (*Lethrinus lentjan*) di perairan Tanjung Tiram Kecamatan Moramo Utara Kabupaten Konawe Selatan. *Jurnal Manajemen Sumberdaya Perairan*. Vol **3**(4): 299–307.
- Prihardhani, D. I., dan Yunianta. 2016. Ekstraksi gelatin kulit ikan lele (*Lethrinus sp*) dan aplikasinya untuk produk permen jeli. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol **4** (1): 356–366.
- Pundoko, S. S., O. Hens., dan A. T. Agustin. 2014. Perubahan komposisi zat gizi ikan cakalang katsuwonos pelamis selama proses pengolahan ikan kayu. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*. Vol **2** (1): 9–14.

- Puspawati, N. M., I. N. Simpen., dan N. L. P. Suciptawati. 2014. Karakteristik sifat fisiko kimia gelatin halal yang diekstrak dari kulit ayam broiler melalui variasi suhu. *Jurnal Kimia*. Vol 8 (1): 127–136.
- Putri, D. F., dan A. Puspitorini. 2017. Perbandingan hasil jadi efek luka bakar pada tangan menggunakan kosmetik masker gel ( *peel-off* ) dan gelatin crystal gel defti febrion putri. *Jurnal Tata Rias*. Vol 6 (2): 41–47.
- Rahayu, F., dan N. H. Fithriyah. 2015. Pengaruh waktu ekstraksi terhadap rendemen gelatin. *Jurnal Seminar Nasional Sains Dan Teknologi*. 6 Hlm. ISSN : 2407 – 1846.
- Rahmawati, Y. D., dan M. Hasdar. 2017. Kualitas viskositas dan kekutan gel gelatin kulit domba yang dihidrolisis menggunakan larutan NaOH. *Jurnal Ilmu Ilmu Pertanian*. Vol 1 (1): 70–74.
- Ramdany, G., I. Kusumaningrum., dan F. Pamungkas. 2014. Karakteristik kimiawi kerupuk tulang ikan belida (*Chitala sp.*). *Jurnal Ilmu Perikanan Tropis*. Vol 19 (2): 68-74. ISSN 1402-2006.
- 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.
- Rares, R. C., M. Sompie., A. D. Mirah., dan J. A. D. Kalele. 2017. Pengaruh waktu perendaman dalam larutan asam asetat (CH<sub>3</sub>COOH) terhadap karakteristik fisik dan kimia gelatin ceke ayam. *Jurnal Zootek*. Vol 37 (2): 268–275. ISSN 0852–2626.
- Rasyid, R. P., E. Suprayitno., And T. D. Sulistiyati. 2019. The effect of addition of arabic gum to amino acid profile and fatty acid profile of albumin powder cork fish (*Channa striata*). *International Journal of Scientific and Research Publications*. Vol 9 (5): 657-662. ISSN 2250-3153 .
- Rera, D. L. And E. Suprayitno. 2019. Gel strength, viscosity and amino acid profile of gelatin extracted from fish skin of lencam (*Lethrinus lentjan*). *International Journal of Scientific and Research Publications*. Vol 9 (4): 768 -771. ISSN 2250-3153.
- Retno, D. T. 20112. Pembuatan gelatin dari tulang ayam boiler dengan proses hidrolisa. *jurnal Aplikasi Sains dan Teknologi*. 7 Hlm. ISSN: 1979-911X.
- Ridhay, A., Musafira., Nurhaeni., Nurakhirawati., dan N. B. Khasanah. 2016. Pengaruh variasi jenis asam terhadap rendemen gelatin dari tulang ikan cakalang (*katsuwonus pelamis*). *Jurnal Kovalen*. Vol 2 (2): 44–53. ISSN 2477 5398.
- Romadlon, S., E. Suprayitno and T. D. Sulistiyati. 2019. The effect of addition of sweetwood extract (*Cinnamomum burmanii*) and saving time on fat levels, ffa levels and tba of brownies cork fish (*Ophiocephalus striatus*). *International Journal of Scientific and Research Publications*. Vol 9 (6): 346-352. ISSN 2250-3153.
- Rosaini, H., R. Rasyid., dan V. Hagramida. 2015. Penetapan kadar protein secara kjeldahl beberapa makanan olahan kerang remis (*Corbiculla moltkiana prime*.) dari Danau Singkarak. *Jurnal Farmasi Higea*, 7(2), 120–127.



- Sada, N. A., dan N. Rahman. 2014. Analisis kadar mineral natrium dan kalium pada daging buah nanas ( *Ananas comosus (l) merr* ) di kota palu. *Jurnal Akademika Kimia*. Vol 3 (2): 93-97. ISSN 2302-6030.
- Safithri, M., I. Setyaningsih., K. Tarman., P. Suptijah., V. M. Yuhendri., dan Meydia. 2018. Potensi kolagen teripang emas sebagai inhibitor tirosinase. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol 21 (2): 295–303.
- Said, M. I., S. Triatmojo., Y. Erwanto., dan A. Fudholi. 2014. Pengaruh perendaman kulit dalam larutan asam asetat terhadap sifat-sifat gelatin berbahan baku kulit kambing bligon. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Peternakan*. Vol 3 (2): 108–113.
- Salim, R., E. T. Zebua., dan T. Taslim. 2017. Analisis jenis kemasan terhadap kadar protein dan kadar air pada tempe. *Jurnal Katalisator*. Vol 2 (2): 106-111. ISSN : 2502-0943.
- Samosir, A. S. K., N. diawatil., dan L. Destiarti. 2018. Ekstraksi gelatin dari kulit ikan toman (*Channa micropelthes*) dengan variasi konsentrasi dari asam asetat. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. Vol 7 (3): 104–108. ISSN: 2303–1077.
- Sani, R. N., F. C. Nisa., R. D. Andriani., dan J. M. Maligan. 2014. Analisis rendemen dan skrining fitokimia ekstrak etanol mikroalga laut tetraselmis chuii. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*. Vol 2 (2): 121–126.
- Santoso, C., T. Surti., dan Sumardianto. 2015. Perbedaan penggunaan konsentrasi larutan asam sitrat dalam pembuatan gelatin tulang rawan ikan pari mondol (*Himantura gerrardi*). *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. Vol 4 (2): 106–114.
- Sasmitaloka, K. S., Miskiyah., dan Juniawati. 2017. Kajian potensi kulit sapi kering sebagai bahan dasar produksi gelatin halal. *Jurnal Buletin Peternakan*. Vol 41 (3): 328-337. ISSN -0126-4400.
- Sekhu, A., dan Paskalina. 2018. Chemistry. PT. Prima Ufuk Semesta. Jakarta. ISBN: 978-602-51971-1-6.
- Setyowati, H dan W. Setyani. 2015. Potensi nanokolagen limbah sisik ikan sebagai *cosmeceutical*. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*. Vol. 12 (1): 30-40. ISSN: 1693-5683.
- Siregar, G. R. M., And E. Suprayitno. 2019. Amino acid composition of gelatin from *Ephinephelus* sp. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)*. Vol 12 (4): 51-54. ISSN: 2319-2380.
- Sitorus, L., J. Pontoh., dan V. Kamu. 2015. Analisis beberapa asam organik dengan metode high performance liquid chromatography ( HPLC ) grace smart Rp 18 5 $\mu$ . *Jurnal Kimia Unsrat*. Vol 4 (2): 148–152.
- 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.
- Siyoto, S., dan M. A. Sodik. 2015. Dasar Metodologi Penelitian. Yogyakarta: Literasi Media Publishing. ISBN 978-602-1018-18-7.
- SNI 01-2354-1-2006. Cara uji kimia-bagian 2: penentuan kadar air pada produk perikanan. *Badan Standarisasi Nasional*. Jakarta). 4 Hlm.

- SNI 06-3735-1995. Mutu dan cara uji gelatin. *Badan Standarisasi Nasional, Jakarta.*
- Soeka, Y. S., dan Sulistiani. 2017. Profil Vitamin , kalsium , asam amino dan asam lemak tepung jiwawut ( *Setaria italica L .* ) fermentasi. *Jurnal Biologi Indonesia*. Vol **13** (1): 85–96.
- Sompie, M., A. D. Mirah., dan C. H. M. Karisoh. 2015. Pengaruh perbedaan suhu ekstraksi terhadap karakteristik gelatin kulit kaki ayam. *Jurnal Masyarakat Biodiversiti Indonesia*. Vol **1** (4): 792–795. ISSN 2407–8050.
- Spiraliga, R. R., Y.S, Darmanto., dan U. Amalia. 2017. Karakteristik nasi analog tepung mocaf dengan penambahan tepung rumput laut *gracilaria verrucosa* dan tiga jenis kolagen tulang ikan. *Jurnal Pengolahan Dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. Vol **6** (1): 1-10. Issn 2442-4145.
- Sugihartono. 2015. Aplikasi pendayagunaan asam in-situ pada kulit piket terbuang untuk pembuatan gelatin pangan. *Jurnal Riset Teknologi Industri*. Vol **9** (2): 187–197.
- Sugihartono., S. Sutyasmi., dan Prayitno. 2015. Pemanfaatan trimming kulit piket sebagai flokulan melalui hidrolisis kolagen menggunakan basa untuk penjernihan air. *Jurnal Kulit Karet dan Plastik*. Vol **31** (1): 37–44.
- Suhenry, S., T. W. Widayati., H. T. Hartarto., dan R. Supriyadi. 2015. Proses pembuatan gelatin dari kulit kepala sapi dengan proses hidrolisis menggunakan katalis HCLl. *Jurnal Nasional Kimia*. 7 Hlm. ISSN1693-4393.
- 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., S. S. Adi., and T. D. Sulistiyati. 2016. Diversification of mackerel tuna ( *euthynnusaffinis* ) products as processed fishcake , nugget , cracker , meatball , and meat floss products at the tpi tempursari beach tourism site , Lumajang. *Journal of Humanities and Social Science (Iosr-Jhss)*. Vol **21** (11): 14–17. ISSN 2279–0837.
- Suprayitno, E., dan T. D. Sulistiyati. 2017. Metabolisme Protein. Ub Press: Malang. ISBN978-602-432-161-1.
- Surayitno, E. 2014. Profile Albumin fish cork (*Ophicephalus striatus*) of different ecosystems. *International Journal Oo Current Research and Academic Review*. Vol **2** (12): 201–208. Issn 2347–3215.
- Suryaningrum, T. D., D. Ikasari., I. S. Mulya., dan A. H. Purnomo. 2016. Karakteristik Kerupukpanggang ikan lele (*Claria Ggriepinus*) Dari Beberapa Perbandingan Daging Ikan Dan Tepung Tapioka. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikana*. Vol **11** (1): 25–40d
- Suryati, Za., N., Meriatna, dan Suryani. 2015. Pembuatan Dan Karakterisasi Gelatin Dari Ceker Ayam Dengan Proses Hidrolisis. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 4(2), 66–79.



- Suwandi, N. D., C. Abrori, C., dan M. Hasan. 2018. Kadar Puncak ( C Max ), Waktu Puncak ( T Max ), Waktu Paruh ( T  $\frac{1}{2}$  ) Dan Bersihan Teobromin Pada Sukarelawan Sehat Setelah Pemberian Dark Chocolate Bar Per Oral. *Jurnal Pustaka Kesehatan*, 6(2), 257–261.
- Syahrani., M. Anwar., H. 2017. Pengaruh Konsentrasi Asam Sitrat Dan Waktu Demineraliasi Pada Perolehan Gelatin Dari Tulang Ikan Kakap Merah (Lutjanus Sp.). *Jurnal Analytical And Environmental Chemistry*, 2(1), 53-62. Issn 2540-8267.
- Talib, A., E.Suprayitno., Aulaniám, and Hardoko. 2017. Therapeutic dose of madidihang fish bone flour and caco 3 towards calcium and phosphorus content in blood serum and bones of ovariectomy rat. *International Journal of Chemical Technology Research*. Vol 6 (14): 5529–5534. ISSN 0974–4290.
- Tambunan, V. R., Y. S. Darmanto., dan A. D. Anggo. 2017. Pengaruh Dari berbagai jenis kulit ikan terhadap keteguhan rekat, kerusakan permukaan kayu, dan viskositas pada lem ikan. *Jurnal Pengolahan Dan Bioteknologi Hasil Perikanan*., Vol 6 (3): 15-19. ISSN 2442-4145.
- Trilaksani, W., M. Nurilmala., danl. H. Setiawati. 2012. Ekstraksi gelatin kulit ikan kakap merah (lutjanus sp.) dengan proses perlakuan asam. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 15 Hlm. 240–251.
- Wenno, M. R., E. Suprayitno., Aulanniám., and Hardoko. 2016. The physicochemical characteristics and angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activity of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) " Bakasang ". *Jurnal Teknologi*. Vol 78 (4): 119-124. ISSN 2180-3722.
- World Health Organization (WHO). 2004.. Sulfate in drinking water. *World Health Organization. United States Of America*.
- Wulandari., A. Supriadi., dan B.Purwanto. 2013. Pengaruh *defatting* dan suhu ekstraksi terhadap karakteristik fisik gelatin tulang ikan gabus (*Channa striata*). *Jurnal Fishtech*. Vol 2 (1): 38-45.
- Yuliani., dan Marwati. 2016. Ekstraksi dan karakterisasi gelatin tulang ikan tenggiri (*Scomberomorus commerson*). *Jurnal Teknologi Pertanian Universitas Mulawarman*. Vol 10 (1):1-7. ISSN 1858-2419.
- Younis, E. M., A. A. A. Warith., A. Ali., N. A. Asgah., dan A. El-Shayia. 2011. Chemical Composition and mineral contents of six commercial fish species from the arabian gulf coast Of saudi arabia. *Journal Of Animal And Veterinary Advances*. Vol 10 (23): 3052–3059. ISSN 1680 5593.
- Yusuf, M. 2014. Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan Penelitian Gabungan. PT Fajar Interpratama Mandiri..Jakarta. ISBN 978-602-1186-01-5.
- Zulfikar., dan A. G. I. Ratnadewi. 2006. Isolasi dan karakterisasi fisiko kimia-fungsional kitosan udang air tawar (*Macrobrachium sintangense de Man*).*Jurnal Proses Teknologi*. Vol 5 (2): 129-137. ISSN 1412-7814.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Analisis Ragam ANOVA dan Uji Lanjut Tukey Rendemen Gelatin

Tulang Ikan Lencam

Rendemen		Descriptives							
Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
12 jam	6	10.5833	.54559	.22274	10.0108	11.1559	9.80	11.20	
24 jam	6	10.7500	.59582	.24324	10.1247	11.3753	9.90	11.40	
36 jam	6	13.8250	.64634	.26387	13.1467	14.5033	12.80	14.60	
Total	18	11.7194	1.63304	.38491	10.9074	12.5315	9.80	14.60	

Rendemen		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups		39.984	2	19.992	56.030	.000
Within Groups		5.352	15	.357		
Total		45.336	17			

Tukey		Rendemen	
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
12 jam	6	10,5833	
24 jam	6	10,7500	
36 jam	6		13,8250
Sig.		,880	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 2. Hasil Analisis Ragam ANOVA dan Uji Lanjut Tukey Kekuatan Gel

Gelatin Tulang Ikan Lencam

Kekuatan gel		Descriptives						
Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
12 jam	6	256.6667	1.75119	.71492	254.8289	258.5044	254	259
24 jam	6	315.1683	1.47310	.60139	313.6224	316.7143	313	317
36 jam	6	367.1967	1.72048	.70238	365.3911	369.0022	365	370
Total	18	313.0106	46.48436	10.95647	289.8944	336.1267	254	370

Kekuatan gel		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups		36692.547	2	18346.273	6714.713	.000
Within Groups		40.984	15	2.732		
Total		36733.530	17			

Tukey		Kekuatan gel		
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
12 jam	6	256,6667		
24 jam	6		315,1683	
36 jam	6			367,1967
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



Lampiran 3. Hasil Analisis Ragam ANOVA dan Uji Lanjut Tukey Viskositas Gelatin

Tulang Ikan Lencam

Viskositas		Descriptives						
Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
12 jam	6	3.2167	.28577	.11667	2.9168	3.5166	2,80	3,60
24 jam	6	5.3000	.37417	.15275	4.9073	5.6927	4,30	5,80
36 jam	6	6.2833	.41191	.16816	5.8511	6.7156	5,80	7,00
Total	18	4.9333	1.35863	.32023	4.2577	5.6090	2,80	7,00

Viskositas		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups		29.423	2	14.712	112.781	.000
Within Groups		1.957	15	.130		
Total		31.380	17			

Tukey		Viskositas		
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
12 jam	6	3,2167		
24 jam	6		5,3000	
36 jam	6			6,2833
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



Lampiran 4. Hasil Analisis Ragam ANOVA dan Uji Lanjut Tukey Ph Gelatin

Tulang Ikan Lencam

pH		Descriptives						
Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
12 jam	6	4.4683	.30792	.12571	4.1452	4.7915	4.00	4.80
24 jam	6	3.9283	.24612	.10048	3.6700	4.1866	3.50	4.20
36 jam	6	3.4817	.29802	.12167	3.1689	3.7944	3.00	3.81
Total	18	3.9594	.49410	.11646	3.7137	4.2052	3.00	4.80

pH		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups		2.929	2	1.465	17.992	.000
Within Groups		1.221	15	.081		
Total		4.150	17			

Tukey		pH		
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
36 jam	6	3,4817		
24 jam	6		3,9283	
12 jam	6			4,4683
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 5. Hasil Analisis Ragam ANOVA dan Uji Lanjut Tukey Protein Gelatin

Tulang Ikan Lencam

Protein		Descriptives						
Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
12 jam	6	82.8417	.73790	.30125	82.0673	83.6160	81.64	83.74
24 jam	6	85.0745	.66068	.26972	84.3812	85.7678	83.98	85.89
36 jam	6	87.4217	.49499	.20208	86.9022	87.9411	86.73	87.92
Total	18	85.1126	2.01571	.47511	84.1102	86.1150	81.64	87.92

Protein		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups		62.942	2	31.471	77.009	.000
Within Groups		6.130	15	.409		
Total		69.072	17			

Tukey		Protein		
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
12 jam	6	82,8417		
24 jam	6		85,0745	
36 jam	6			87,4217
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



Lampiran 6. Hasil Analisis Ragam ANOVA dan Uji Lanjut Tukey Lemak Gelatin

Tulang Ikan Lencam

Lemak		Descriptives						
Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
12 jam	6	1.0883	.11427	.04665	.9684	1.2082	.98	1.30
24 jam	6	.8767	.04457	.01820	.8299	.9234	.79	.91
36 jam	6	.8450	.04970	.02029	.7928	.8972	.80	.92
Total	18	.9367	.13231	.03119	.8709	1.0025	.79	1.30

Lemak		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups		.210	2	.105	17.989	.000
Within Groups		.088	15	.006		
Total		.298	17			

Tukey		Lemak	
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
36 jam	6	.8450	
24 jam	6	.8767	
12 jam	6		1,0883
Sig.		.757	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 7. Hasil Analisis Ragam ANOVA dan Uji Lanjut Tukey Abu Gelatin

Tulang Ikan Lencam

Abu		Descriptives						
Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
12 jam	6	1.0250	.11912	.04863	.9000	1.1500	.90	1.22
24 jam	6	.8117	.10685	.04362	.6995	.9238	.62	.92
36 jam	6	.6700	.08390	.03425	.5819	.7581	.59	.80
Total	18	.8356	.17929	.04226	.7464	.9247	.59	1.22

Abu		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups		,383	2	,192	17,607	,000
Within Groups		,163	15	,011		
Total		,546	17			

Tukey		Abu	
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
36 jam	6	,6700	
24 jam	6	,8117	
12 jam	6		1,0250
Sig.		,079	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



Lampiran 8. Hasil Analisis Ragam ANOVA dan Uji Lanjut Tukey Air Gelatin

Tulang Ikan Lencam

Air		Descriptives						
Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
12 jam	6	8.2667	.47580	.19424	7.7673	8.7660	7.58	8.83
24 jam	6	7.1967	.89757	.36643	6.2547	8.1386	6.11	8.48
36 jam	6	6.3700	.53126	.21689	5.8125	6.9275	5.82	7.01
Total	18	7.2778	1.01235	.23861	6.7743	7.7812	5.82	8.83

Air		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups		10.851	2	5.426	12.385	.001
Within Groups		6.571	15	.438		
Total		17.423	17			

Tukey		Air	
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
36 jam	6	6,3700	
24 jam	6	7,1967	
12 jam	6		8,2667
Sig.		,111	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

#### Lampiran 9. Prosedur Uji Kekuatan Gel

Pengujian kekuatan gel pada gelatin menurut Pertiwi *et al.*, (2018), dilakukan dengan menggunakan *texture analyzer*. Gelatin cair yang telah melalui proses ekstraksi dan penyaringan dengan kertas saring dimasukkan dalam *refrigerator* pada suhu 10°C selama 17±2 jam (gelatin cair telah membentuk gel), kemudian diukur kekuatan gel. Kekuatan gel diukur dengan menggunakan alat *Texture Analyzer Brookfield*. Alat ini menggunakan probe dengan luas 0,1923 cm<sup>2</sup>. Sampel diletakkan dibawah probe dan dilakukan penekanan dengan beban 97 g. Tinggi kurva kemudian diukur dengan menggunakan jangka sorong. Perhitungan kekuatan gel (bloom) didapat dari penambahan 20 dengan 2,98x10<sup>-3</sup> yang kemudian dikalikan dengan nilai G. Rumus kekuatan gel adalah sebagai berikut:

$$\text{Kekuatan gel (Bloom)} = 20 + 2,98 \times 10^{-3} \times G$$

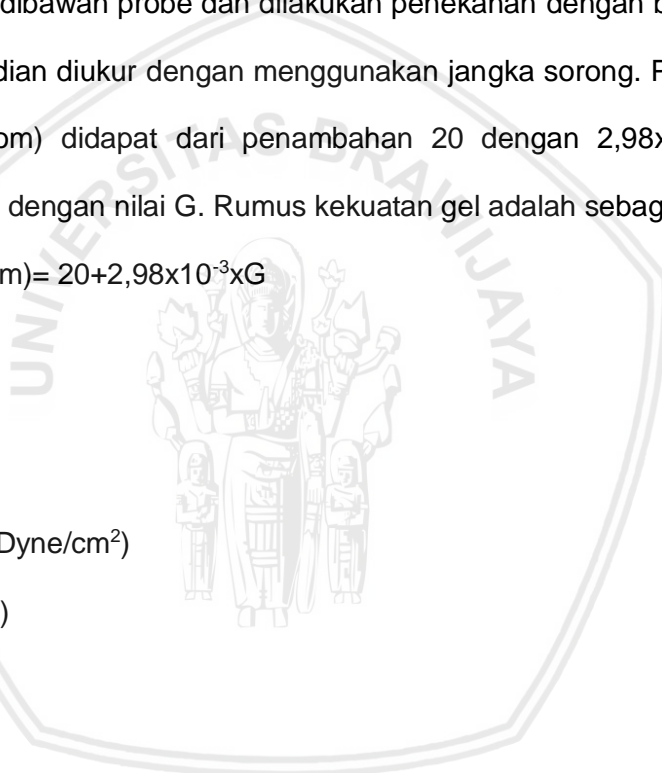
$$G = F/g$$

Keterangan:

F= Gaya (N)

G= Kekuatan Gel (Dyne/cm<sup>2</sup>)

g= Konstanta (0,07)



#### Lampiran 10. Prosedur Uji Viskositas

Prosedur uji viskositas berdasarkan British Standart, (1975), viskositas sampel diukur dengan alat Stromer Viscometer Coulette. Larutan gelatin dibuat dengan konsentrasi 6,67% w/v (6,67 gram sampai aquadest 100 ml) dipanaskan pada suhu  $\pm 60^{\circ}\text{C}$  hingga partikel gelatin larut secara sempurna. Larutan gelatin dituang ke dalam mangkuk bagian dalam alat yang sebelumnya diberi dengan air pada bagian mangkuk bagian luar untuk mengontrol pergerakan suhu sampel. Pengukuran nilai viskositas gelatin dilakukan pada suhu kamar ( $28^{\circ}\text{C}$ ). Pencatatan waktu yang ditempuh spindle dalam 1 kali putaran dilakukan sebanyak 3 kali untuk selanjutnya dirata-ratakan. Hasil rata-rata (detik) kemudian dikonversi ke dalam persamaan:

$$\text{Viskositas} = \frac{A \times \text{waktu putar rata-rata sampel (detik)}}{B}$$

Keterangan:

A= Nilai viskositas larutan pada suhu  $28^{\circ}\text{C}$

B= waktu putar larutan rata-rata hasil kalibrasi (detik)

#### Lampiran 11. Prosedur Uji pH

Pengukuran pH gelatin sampel gelatin kering dilarutkan dalam akuades hingga menjadi larutan gelatin 6,67%; dihomogenkan dengan magnetic stirrer; hidupkan pH meter HI 2211 dan dibiarkan hingga stabil; elektroda dicelupkan ke dalam sampel selama beberapa saat sampai tercatat angka yang stabil pada monitor pH meter (Nurilmala *et al.*, 2017).





## Lampiran 12. Prosedur Uji Kadar Protein

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

### 2. 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.

### 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.

Menurut Salim *et al.*, (2017), data yang diperoleh dari hasil titrasi pada pengujian protein menggunakan metode kjeldahl diolah menggunakan persamaan:

3. Penentuan Kadar Amonium Klorida

$$\text{Kadar Amonium Klorida} = (V \text{ H}_3\text{BO}_3 \times N \text{ H}_3\text{BO}_3) - (V \text{ HCl} \times N \text{ HCl})$$

4. Penentuan kadar protein

$$\% \text{ Kadar Nitrogen} = \frac{\text{kadar amonium klorida} \times \text{bobot atom nitrogen}}{w} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar Protein} = \% \text{ Kadar Nitrogen} \times \text{Faktor Konversi (5,75)}$$

Keterangan:

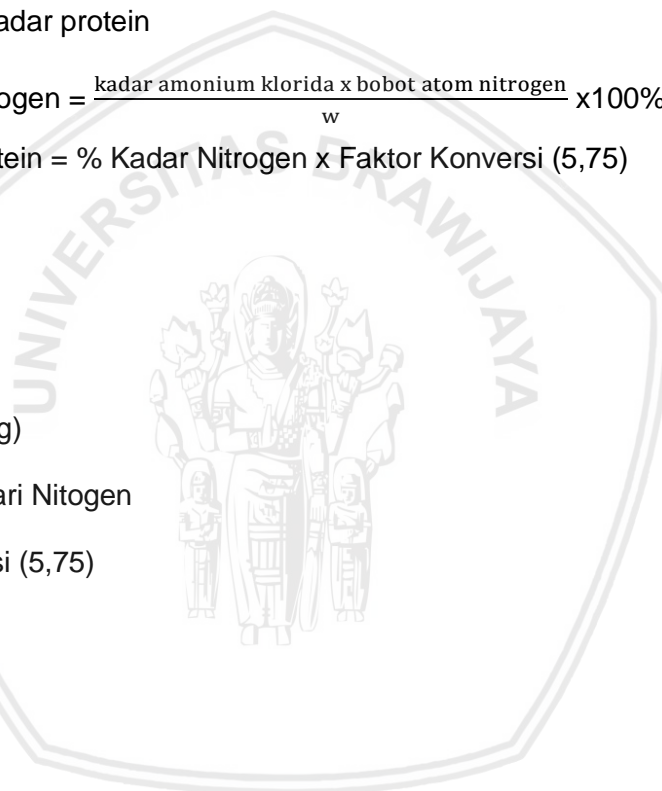
V = volume (mL)

N = Normalitas

w = berat sampel (g)

BA = berat atom dari Nitrogen

F = Faktor Konversi (5,75)



### Lampiran 13. Prosedur Uji Kadar Lemak

Kadar lemak menurut Angelia, (2016), prosedur pengujiannya adalah dengan menimbang sampel sebanyak 1-2 gram dan masukkan dalam selongsong kertas. Selanjutnya sumbat selongsong kertas yang berisi sampel dengan kapas. Kemudian keringkan dalam oven pada suhu  $<80^{\circ}\text{C}$  selama lebih kurang 1 jam. Kemudian masukkan dalam soxhlet yang telah dihubungkan dengan labu lemak berisi batu didih yang telah dikeringkan dan telah diketahui bobotnya. Lalu ekstrak dengan heksana atau pelarut lemak lainnya selama kurang lebih 6 jam. Suling heksana dan keringkan ekstrak lemak dalam oven pengering pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$ . Dinginkan dan timbang sampel, ulangi pengeringan hingga bobot konstan. Kemudian hitung dengan rumus:

$$\% \text{ Lemak} = \frac{W - W1}{W2} \times 100\%$$

Dimana:

W : bobot contoh

W1 : bobot lemak sebelum ekstraksi

W2 : bobot labu lemak setelah ekstraksi

#### Lampiran 14. Prosedur Uji Kadar Air

Pengujian kadar air menurut Pundoko *et al.*, (2014), dilakukan dengan menimbang 1-2 gram sampel ke dalam cawan yang sudah ditimbang sebelumnya. Kemudian cawan yang berisi sampel tersebut ditutup dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105°C selama 3 jam. Cawan lalu didinginkan di dalam eksikator dan setelah dingin cawan ditimbang sampai bobot tetap. Kadar air kemudian dapat

dihitung dengan rumus: % Kadar Air Basis Kering =  $\frac{W_1 - W_2}{W_2} \times 100\%$

Keterangan:

W1 = berat sampel awal

W2 = berat sampel setelah dikeringkan



#### Lampiran 15. Prosedur Pengujian Kadar Abu

Pengujian kadar abu menurut Damayanti *et al.*, (2017), dilakukan dengan memanaskan cawan porselen dalam oven selama 30 menit pada suhu 100-105 °C. Kemudian cawan didinginkan dalam desikator untuk menghilangkan uap air dan ditimbang (A). Lalu sampel ditimbang sebanyak 2 g dalam cawan yang sudah dikeringkan (B). Dilanjutkan dengan sampel dibakar di atas nyala pembakar sampai tidak berasap. Kemudian pengabuan dilakukan di dalam tanur bersuhu 550-600°C sampai pengabuan sempurna. Sampel yang sudah diabukan didinginkan dalam desikator dan ditimbang (C). Perhitungan prosentase kadar abu dapat dilakukan dengan rumus:

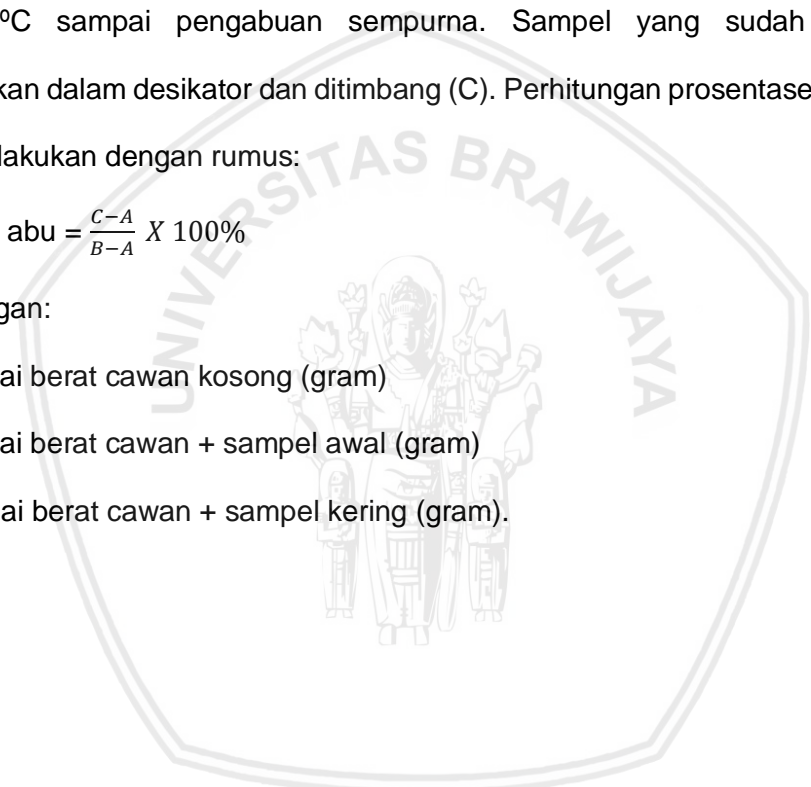
$$\% \text{ kadar abu} = \frac{C-A}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan:

A sebagai berat cawan kosong (gram)

B sebagai berat cawan + sampel awal (gram)

C sebagai berat cawan + sampel kering (gram).








Lampiran 16. Hasil Analisis Degarmo Perlakuan Terbaik

parameter	BV	BN	12 JAM		24 JAM			
			NE	NH	NE	NH	NE	NH
Rendemen	1	0,18	0,000	0,000	0,220	0,039	1,000	0,175
Kekuatan Gel	1	0,18	0,000	0,000	0,528	0,093	1,000	0,175
Viskositas	1	0,18	1,000	0,175	0,632	0,111	1,000	0,175
Protein	0,8	0,14	1,000	0,140	0,595	0,084	1,000	0,140
Lemak	0,6	0,11	1,000	0,105	0,371	0,039	0,000	0,000
Ph	0,5	0,09	1,000	0,088	0,415	0,036	0,000	0,000
Air	0,4	0,07	1,000	0,070	0,384	0,027	0,000	0,000
Abu	0,4	0,07	1,000	0,070	0,470	0,033	0,000	0,000
<b>Total</b>	<b>5,7</b>			<b>0,649</b>		<b>0,461</b>		

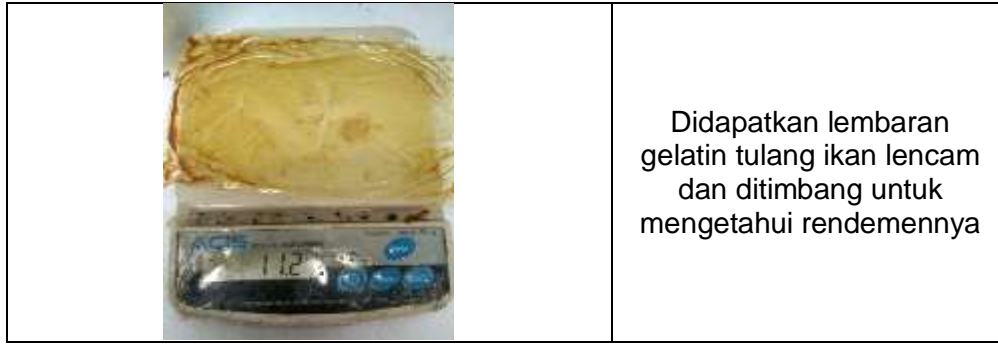


Lampiran 17. Dokumentasi Pembuatan Gelatin Tulang Ikan Lencam (Lethrinus Lentjan)

	<p>Tulang ikan lencam segar direbus</p>
	<p>Tulang setelah direbus dibersihkan dari daging yang masih menempel</p>
	<p>Tulang kemudian ditimbang 100 gram dan direndam dengan asam sulfat</p>
	<p>Tulang ikan lencam di direndam sesuai perlakuan yaitu 12 jam, 24 jam, dan 36 jam. Saat proses demineralisasi (Perendaman) ditutup menggunakan alfo untuk mencegah reaksi dengan lingkungan luar</p>

	<p>Tulang ikan mengalami <i>swelling</i></p>
	<p>Tulang ikan yang telah mengalami <i>swelling</i> kemudian dicuci dengan air mengalir sampai pH netral</p>
	<p>Tulang yang telah netral kemudian ditambahkan aquades dan diekstraksi menggunakan <i>waterbath</i> dengan suhu 70°C selama 6 jam</p>
	<p>Larutan gelatin setelah diekstraksi kemudian disaring menggunakan kain blacu</p>
	<p>Kemudian larutan gelatin dituangkan ke nampan dan di oven selama 72 jam pada suhu 50 °C</p>





Lampiran 18. Hasil Analisis Profil Asam Amino Gelatin Tulang Ikan Lencam

**Result of Analysis**  
No: SIG LHP.IV.2019.030137

No	Parameter	Unit	Result	Limit of Detection	Method
1	L-Serin	%	2.65	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
2	L-Asam glutamat	%	6.70	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
3	L-Fenilalanin	%	1.94	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
4	L-Isoleusin	%	0.85	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
5	L-Valin	%	1.61	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
6	L-Alanin	%	6.99	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
7	L-Arginin	%	6.25	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
8	Glisin	%	18.29	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
9	L-Lisin	%	2.52	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC





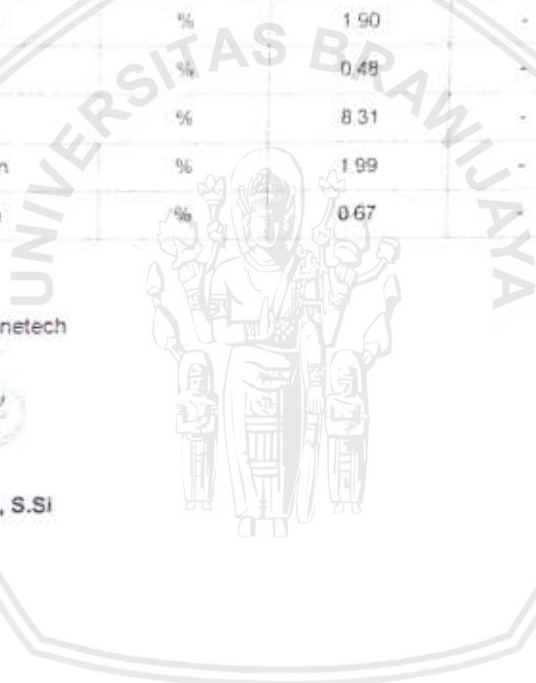
No. 28 1/P-PP/DMM-SIG  
Revisi 3

**Result of Analysis**  
No: SIG LHP IV.2019.030137

No	Parameter	Unit	Result	Limit of Detection	Method
10	L-Asam Aspartat	%	3.45	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
11	L-Leusin	%	1.90	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
12	L-Tirosin	%	0.48	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
13	L-Prolin	%	8.31	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
14	L-Threonin	%	1.99	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
15	L-Histidin	%	0.67	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC

Bogor, 22 April 2019  
PT Saraswanti Indo Genetech

**Dwi Yulianto Laksono, S.Si**  
Manager Laboratorium



## Lampiran 19. Prosedur Pengujian Asam Amino Menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*)

Komposisi asam amino menurut Utami *et al.*, (2016), ditentukan dengan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Sebelum digunakan, perangkat HPLC dan *syringe* harus dibilas dulu dengan eluen yang akan digunakan selama 2-3 jam dan akuades. Analisis asam amino di Laboratorium Saraswanti Indo Genetech Bogor dilakukan menggunakan HPLC terdiri atas 4 tahap, yaitu: (1) tahap pembuatan hidrolisat protein; (2) tahap pengeringan; (3) tahap derivatisasi; (4) tahap injeksi serta analisis asam amino.

### 1) Tahap pembuatan hidrolisat protein

Sampel sebanyak 0,1 gram ditimbang dan dihancurkan. Sampel yang telah hancur dihidrolisis asam menggunakan HCl 6 N sebanyak 5-10 mL yang kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 100 °C selama 24 jam. Pemanasan dalam oven dilakukan untuk menghilangkan gas atau udara yang ada pada sampel agar tidak mengganggu kromatogram yang dihasilkan. Setelah pemanasan selesai, hidrolisat protein disaring menggunakan milipore berukuran 45 mikron.

### 2) Tahap pengeringan

Hasil saringan diambil sebanyak 10 µL dan ditambahkan 30 µL larutan pengering. Larutan pengering dibuat dari campuran antara metanol, natrium asetat, dan trimetilamin dengan perbandingan 2:2:1. Penambahan larutan pengering dengan pompa vakum untuk mempercepat proses dan mencegah oksidasi.

### 3) Tahap derivatisasi

Larutan derivatisasi sebanyak 30 µL ditambahkan pada hasil pengeringan. Larutan derivatisasi dibuat dari campuran antara larutan metanol, pikoiidotiosianat, dan trimetilamin dengan perbandingan 3:3:4. Proses derivatisasi dilakukan agar detektor mudah untuk mendeteksi senyawa yang ada pada sampel. Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan cara menambahkan 10 mL asetonitril 60% dan natrium

asetat 1 M lalu dibiarkan selama 20 menit. Hasil pengenceran disaring kembali dengan menggunakan milipore berukuran 45 mikron.

#### 4) Injeksi ke HPLC

Hasil saringan diambil sebanyak 20  $\mu$ L untuk diinjeksikan ke dalam HPLC. Untuk perhitungan konsentrasi asam amino pada bahan, dilakukan pembuatan kromatogram standar dengan menggunakan asam amino standar yang telah siap pakai yang mengalami perlakuan sama dengan sampel.

Kandungan asam amino dalam 100 gram bahan dapat dihitung dengan rumus :

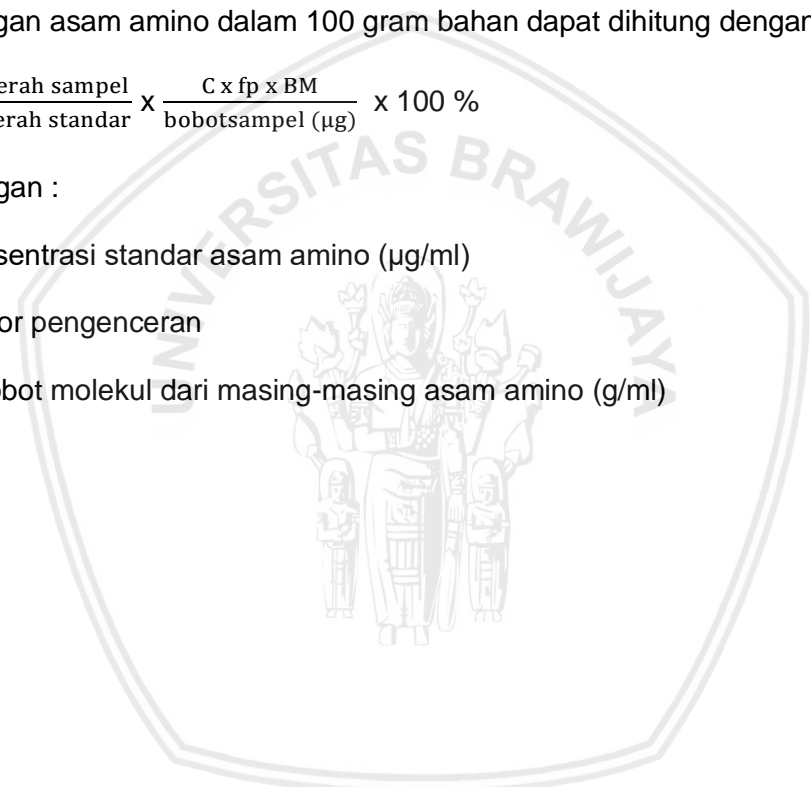
$$= \frac{\text{luas daerah sampel}}{\text{luas daerah standar}} \times \frac{C \times fp \times BM}{\text{bobotsampel } (\mu\text{g})} \times 100 \%$$

Keterangan :

C = konsentrasi standar asam amino ( $\mu\text{g/ml}$ )

fp = faktor pengenceran

BM = bobot molekul dari masing-masing asam amino (g/ml)



Lampiran 20. Alat HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*)

1. Alat HPLC



2. Skema Alat HPLC

