

**PENGARUH LAMA EKSTRAKSI TERHADAP KARAKTERISTIK FISIKA KIMIA GELATIN
KULIT IKAN KAKAP MERAH (*Lutjanus argentimaculatus*) MENGGUNAKAN
PERENDAMAN ASAM ASKORBAT**

SKRIPSI

Oleh:

**RIZA QURROTA AYUNIN
NIM. 155080301111034**



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

**PENGARUH LAMA EKSTRAKSI TERHADAP KARAKTERISTIK FISIKA KIMIA
GELATIN KULIT IKAN KAKAP MERAH (*Lutjanus argentimaculatus*)
MENGUNAKAN PERENDAMAN ASAM ASKORBAT**

**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:

**RIZA QURROTA AYUNIN
NIM. 155080301111034**



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

SKRIPSI

PENGARUH LAMA EKSTRAKSI TERHADAP KARAKTERISTIK FISIKA KIMIA
GELATIN KULIT IKAN KAKAP MERAH (*Lutjanus argentimaculatus*)
MENGUNAKAN PERENDAMAN ASAM ASKORBAT

Oleh:

RIZA QURROTA AYUNIN
NIM. 155080301111034

Telah dipertahankan di Depan Penguji
Pada Tanggal 28 Juni 2019
dan Dinyatakan Telah Memenuhi Syarat

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP



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

Tanggal: 12 JUL 2019

Menyetujui,
Dosen Pembimbing



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

Tanggal: 12 JUL 2019



IDENTITAS PENGUJI

Judul : Pengaruh Lama Ekstraksi Terhadap Karakteristik Fisika Kimia Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah (*Lutjanus argentimaculatus*) Menggunakan Perendaman Asam Askorbat

Nama Mahasiswa : Riza Qurrota Ayunin
NIM : 155080301111034
Program Studi : Teknologi Hasil Perikanan

PENGUJI PEMBIMBING

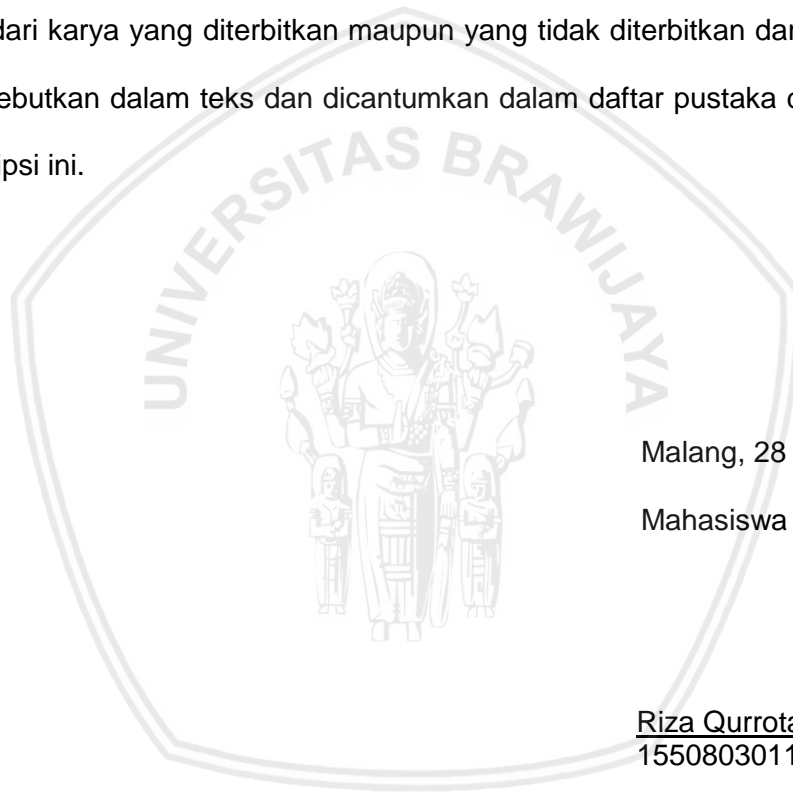
Pembimbing 1 : Prof. Dr. Ir. Eddy Suprayitno, MS

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING

Dosen Penguji 1 : Dr. Ir. Hartati K, MS.
Dosen Penguji 2 : Eko Waluyo, S.Pi, M.Sc
Tanggal Ujian : 28 Juni 2019

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul Pengaruh Lama Ekstraksi Terhadap Karakteristik Fisika Kimia Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah (*Lutjanus argentimaculatus*) Menggunakan Perendaman Asam Askorbat adalah 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, 28 Juni 2019

Mahasiswa

Riza Qurrota Ayunin
155080301111034

UCAPAN TERIMA KASIH

Tidak lupa saya sebagai penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu dan memberi semangat serta bimbingan sehingga laporan skripsi ini dapat diselesaikan. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Allah SWT berkat rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan proposal skripsi ini.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Eddy Suprayitno, MS. selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan pengarahan dan bimbingan.
3. Bapak Dr. Ir. M. Firdaus, MP selaku Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan
4. Ibu Rahmi Nurdiani, S.Pi, MApp.Sc, PhD selaku Ketua Program Studi Teknologi Hasil Perikanan
5. Ibu Dr. Ir. Hartati K, MS dan Bapak Eko Wluyo, S. Pi, M. Sc. Selaku dosen penguji skripsi
6. Orang tua dan semua keluarga yang selalu memberi dukungan dan doa.
7. Sahabat dan keluarga besar THP 2015 atas motivasi dan semangat yang diberikan.

Malang, 28 Juni 2019

Riza Qurrota Ayunin

RINGKASAN

RIZA QURROTA AYUNIN. 155080301111034. Pengaruh Lama Ekstraksi Terhadap Karakteristik Fisika Kimia Gelatin Kulit Kakap Merah (*Lutjanus argentimaculatus*) Menggunakan Perendaman Asam Askorbat (dibawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Eddy Suprayitno, MS**).

Gelatin merupakan protein yang diperoleh dari hasil hidrolisis parsial kulit, tulang, dan jaringan ikat putih. Gelatin didapatkan dari kolagen yang terdapat pada tulang dan kulit. Sifat gelatin yaitu tidak berbau, hampir tidak memiliki rasa, tidak berwarna atau tidak berwarna kuning kecoklatan, dan larut dalam air. Gelatin memiliki manfaat sebagai penstabil, pembentuk gel, pengikat, perekat, pengemulsi, dan edible coating. Tipe gelatin berdasarkan cara pembuatannya dibagi menjadi dua jenis gelatin yaitu gelatin tipe A dan gelatin tipe B. Gelatin tipe A diperoleh melalui perendaman bahan baku menggunakan asam encer. Pada gelatin tipe B diperoleh dengan pengkondisian menggunakan larutan basa. Aplikasi gelatin pada bahan makanan antara lain sebagai agen pembentuk gel, pengental, pengemulsi, pembentuk busa, *edible film* dan *stabilizer*, di bidang farmasi gelatin banyak digunakan untuk pembuatan kapsul lunak dan keras.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh lama ekstraksi terhadap karakteristik fisika kimia gelatin kulit kakap merah (*Lutjanus argentimaculatus*) menggunakan perendaman asam askorbat. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Perekayasa Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang pada bulan Desember 2018 – Februari 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 ekstraksi berpengaruh terhadap kualitas gelatin kulit ikan kakap merah mencakup nilai rendemen, kekuatan gel, viskositas, derajat keasaman (pH), kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak dan analisis profil asam amino. Gelatin kulit ikan terbaik didapatkan pada lama ekstraksi selama 7 jam dengan kualitas meliputi nilai rendemen sebesar 18,26; kekuatan gel 6,72 N; viskositas 5,64cP; pH 5,50%; kadar air 8,80 %; kadar abu 0,55%; kadar protein 89,72%; kadar karbohidrat 0,70% dan kadar lemak 0,42%. Hasil analisis profil amino diperoleh kandungan asam amino tertinggi *Glisin* 16,54% dan asam amino terendah *L-Tirosin* 0,37%. Saran yang dapat saya berikan yaitu perlu adanya penelitian lanjutan terhadap gelatin kulit ikan untuk memenuhi standar nasional kebutuhan konsumsi seperti uji kelarutan, uji mikrobiologi dan uji daya cerna.



KATA PENGANTAR

Segala puji dan ucapan syukur saya panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta karunia-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan laporan skripsi ini dengan judul “Pengaruh Lama Ekstraksi Terhadap Karakteristik Fisika Kimia Gelatin Kulit Kakap Merah (*Lutjanus argentimaculatus*) Menggunakan Perendaman Asam Askorbat”. Laporan ini disusun sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar sarjana di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Dalam penyusunan laporan skripsi ini penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan laporan skripsi ini. Saya menyadari bahwa laporan skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan. Oleh karena itu, saya selaku penulis sangat bersedia kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan dalam penyusunan laporan selanjutnya sehingga tujuan yang diharapkan dapat tercapai.

Malang, 28 Juni 2019

Penulis

DAFTAR ISI

COVER.....	i
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	vi
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vii
RINGKASAN.....	viii
KATA PENGANTAR.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan.....	6
1.4 Hipotesis.....	6
1.5 Kegunaan Penelitian.....	7
1.6 Waktu dan Tempat Pelaksanaan.....	7
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Ikan Kakap Merah (<i>Lutjanus argentimaculatus</i>).....	8
2.1.1 Klasifikasi Ikan Kakap Merah.....	8
2.1.2 Morfologi Ikan Kakap Merah.....	10
2.1.3 Habitat Ikan Kakap Merah.....	11
2.1.4 Kandungan Gizi Ikan Kakap Merah.....	12
2.2 Kulit Ikan.....	13
2.3 Kolagen.....	16
2.4 Gelatin.....	20
2.4.1 Kualitas Kimia Gelatin.....	24
2.4.2 Tipe Gelatin.....	25
2.4.3 Manfaat dan Fungsi Gelatin.....	27
2.5 Lama Ekstraksi.....	28
2.6 Asam Askorbat.....	29
2.7 Proses Pembuatan Gelatin.....	36
2.8 Karakteristik Fisika Kimia Gelatin.....	39
2.8.1 Viskositas.....	39



2.8.2	Kekuatan Gel	40
2.8.3	Derajat Keasaman (pH).....	40
2.8.4	Rendemen	41
2.8.5	Kadar Protein	41
2.8.6	Kadar Karbohidrat	42
2.8.7	Kadar air	43
2.8.8	Kadar lemak	43
2.8.9	Kadar abu	44
2.9	Asam Amino.....	44
3.	METODE PENELITIAN.....	46
3.1	Materi Penelitian.....	46
3.1.1	Waktu Penelitian.....	46
3.1.2	Alat Penelitian	46
3.1.3	Bahan Penelitian	46
3.2	Metode Penelitian.....	47
3.2.1	Metode	47
3.2.2	Variabel Penelitian	48
3.3	Prosedur Penelitian.....	49
3.3.1	Penelitian Pendahuluan	51
3.3.2	Penelitian Utama	56
3.4	Rancangan Percobaan.....	58
3.5	Parameter Uji Gelatin	58
3.5.1	Rendemen	59
3.5.2	Gel Strength (Kekuatan Gel)	60
3.5.3	Viskositas.....	61
3.5.4	Derajat Keasaman (pH).....	63
3.5.5	Kadar Protein	64
3.5.6	Kadar Karbohidrat	67
3.5.7	Kadar Lemak.....	68
3.5.8	Kadar Air.....	69
3.5.9	Kadar Abu.....	70
3.5.10	Kadar Asam Amino	71



4 ..HASIL DAN PEMBAHASAN	76
4.1 Hasil Penelitian	76
4.1.1 Penelitian Pendahuluan	76
4.1.2 Penelitian Utama	77
4.2 Parameter Uji	79
4.2.1 Rendemen	79
4.2.2 Viskositas.....	82
4.2.3 Gel Strength (Kekuatan Gel)	85
4.2.4 Derajat Keasaman (pH).....	88
4.2.5 Kadar Protein	90
4.2.7 Kadar Air.....	94
4.2.8 Kadar lemak	97
4.2.9 Kadar Abu.....	100
4.2.10. Perlakuan Terbaik	102
4.2.11 Kadar Asam Amino	102
5 ..KESIMPULAN DAN SARAN	108
5.1 Kesimpulan.....	108
5.2 Saran.....	108
DAFTAR PUSTAKA.....	109



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Ikan Kakap Merah (<i>Lutjanus argentimaculatus</i>)	9
Gambar 2. Kulit Ikan Kakap Merah	14
Gambar 3. Struktur Kulit Ikan	15
Gambar 4. Struktur Kolagen	17
Gambar 5. Struktur Monomer Gelatin	22
Gambar 6. Struktur Asam Askorbat	31
Gambar 7. Proses Hidrolisis Asam Askorbat	35
Gambar 8. Proses Pembuatan Gelatin	37
Gambar 9. Proses Pembuatan Larutan NaOH 0,1M	52
Gambar 10. Proses Pembuatan Larutan Asam Askorbat 2%	52
Gambar 11. Diagram Alir Pembuatan Gelatin Kulit Ikan	54
Gambar 12. Rendemen Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah	80
Gambar 13. Viskositas Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah	82
Gambar 14. Gell Strength Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah	86
Gambar 15. Derajat Keasaman Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah	88
Gambar 16. Kadar Protein Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah	91
Gambar 17. Kadar karbohidrat gelatin kulit ikan kakap merah	93
Gambar 18. Kadar Air Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah	95
Gambar 19. Kadar Lemak Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah	98
Gambar 20. Kadar Abu Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah	100



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Produksi Ikan Kakap Merah Indonesia Tahun 2009-2010.....	9
Tabel 2. Kandungan Gizi Ikan Kakap Merah	12
Tabel 3. Syarat Mutu Gelatin.....	23
Tabel 4. Persyaratan Gelatin.....	24
Tabel 5. Kandungan asam amino gelatin.....	25
Tabel 6. Persyaratan Mutu dan Keamanan Pangan Gelatin Ikan	26
Tabel 7. Hasil Uji Viskositas dan Gel Strength Kulit Ikan Kakap Merah.....	55
Tabel 8. Rancangan Acak Lengkap (RAL).....	58
Tabel 9. Hasil Uji Penelitian Pendahuluan	76
Tabel 10. Hasil Pengujian Karakteristik Fisika Kimia Gelatin.....	78
Tabel 11. Analisis Profil Asam Amino	104



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Analisis (ANOVA) Rendemen	121
Lampiran 2. Hasil Analisis (ANOVA) Gell Strength	122
Lampiran 3. Hasil Analisis (ANOVA) Viskositas	123
Lampiran 4. Hasil Analisis (ANOVA) pH.....	124
Lampiran 5. Hasil Analisis (ANOVA) Kadar Protein	125
Lampiran 6. Hasil Analisis (ANOVA) Kadar Karbohidrat	126
Lampiran 7. Hasil Analisis (ANOVA) Kadar Air	127
Lampiran 8. Hasil Analisis (ANOVA) Kadar Lemak	128
Lampiran 9. Hasil Analisis (ANOVA) Kadar Abu.....	129
Lampiran 10. Prosedur Uji Viskositas	130
Lampiran 11. Prosedur Uji Kekuatn Gel	131
Lampiran 12. Prosedur Uji pH.....	132
Lampiran 13. Prosedur Uji Kadar Protein.....	133
Lampiran 14. Prosedur Uji Kadar Lemak	135
Lampiran 15. Prosedur Uji Kadar Air	137
Lampiran 16. Prosedur Uji Kadar Abu	138
Lampiran 17. Prosedur Uji Kadar Karbohidrat.....	139
Lampiran 18. Hasil Analisis De Garmo Terbaik	140
Lampiran 19. Dokumentasi Proses Pembuatan Gelatin	141
Lampiran 20. Hasil Analisis Profil Asam Amino	143
Lampiran 21. Prosedur Analisis Asam Amino dengan UPLC.....	145
Lampiran 22. Alat UPLC (<i>Ultra Perfomance Liquid Chromatography</i>) untuk Analisis Asam Amino	147



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan kakap merah (*Lutjanus argentimaculatus*) termasuk ke dalam ikan demersal. Ikan kakap merah hidup pada perairan dengan iklim tropis dan sub tropis (Prihatiningsih *et al.*, 2017). Ditambahkan oleh Sahubawa (2018), Kakap merah adalah salah satu komoditas perikanan yang memiliki nilai ekonomis penting. Menurut Ghufron dan Kordi (2010), Kakap merah sering disebut dengan nama snapper. Terdapat tiga jenis kakap merah budidaya anatar lain kakap jenaha, kakap tambak, dan kakap jenis *L. altifrontalis*. Jenis kakap jenaha meliputi *golden snapper* dan *Lutjanus johni*. Sedangkan, jenis kakap tambak meliputi *mangrove snapper* dan *Lutjanus argentimaculatus*.

Limbah ikan kakap yang dihasilkan 10-30% dari jumlah total berat ikan. Limbah ikan merupakan salah satu permasalahan yang besar pada suatu industri pengolahan ikan. Adanya limbah ikan dapat mempengaruhi lingkungan baik di darat ataupun mencemari perairan. Limbah yang dihasilkan ikan mengandung protein, namun pemanfaatan limbah belum maksimal. Pemanfaatan limbah ikan menjadi suatu produk akan mengurangi adanya produksi limbah yang berlebihan serta dapat memberikan nilai tambah hasil perikanan. Salah satu limbah ikan yang dihasilkan yaitu berupa kulit ikan (Atma, 2016).

Kulit ikan merupakan hasil limbah yang cukup melimpah namun belum banyak dimanfaatkan. Kulit ikan menghasilkan limbah sebesar 6-7% dari berat ikan. Limbah industri perikanan belum banyak dimanfaatkan secara optimal menjadi suatu produk yang mempunyai nilai tambah yang tinggi (Agnes *et al.* 2015). Pada dasarnya kulit ikan mengandung air 69,6 %, protein 26,9 %, abu 2,5

% dan lemak 0,7 %. Protein pada kulit dapat dibagi dalam dua golongan besar, yaitu protein fibrilar protein dan globular. Protein fibrilar adalah protein berbentuk serabut yang tidak larut di dalam air. Protein globular adalah protein yang berbentuk bulat menyerupai bola yang banyak terdapat pada bahan pangan seperti susu, telur, dan daging. Protein ini larut dalam sistem larutan (air), juga lebih mudah berubah di bawah pengaruh suhu, konsentrasi garam, pelarut asam dan basa dibandingkan dengan protein fibrilar. Disamping itu protein globular lebih mudah terdenaturasi karena susunan molekulnya mudah mengalami perubahan yang diikuti dengan perubahan sifat fisik dan fisiologisnya seperti yang dialami oleh enzim dan hormon. Struktur kulit ikan relatif sederhana karena ikan hidup di air dan jaringan epidermis juga relatif tipis. Epidermis terdiri dari beberapa lapisan sel epitel dan jumlah lapisan bervariasi tergantung pada spesies, bagian tubuh dan umur ikan. Sel epitel bergabung bersama-sama secara melekat atau matriks (Pahlawan dan Emiliana, 2016).

Gelatin merupakan protein yang diperoleh dari hasil hidrolisis parsial dari kulit, tulang rawan, dan jaringan ikat putih. Gelatin memiliki banyak fungsi serta penggunaannya yang aplikatif dalam industri pangan. Dalam bidang non pangan, gelatin digunakan sebagai pembuatan film foto (Rachmania *et al.*, 2013). Ditambahkan oleh Hidayat *et al.*, (2016), gelatin merupakan produk yang diperoleh dari aktivitas basa, asam atau enzimatis dari kolagen. Gelatin merupakan produk alami yang diperoleh dari hidrolisis parsial kolagen. Gelatin mengandung protein yang sangat tinggi dan rendah kadar lemaknya. Gelatin kering dengan kadar air 8-12%, mengandung protein sekitar 84-86%, dan kandungan mineral 2-4%. Dari 10 jenis asam amin essensial yang dibutuhkan oleh tubuh, gelatin mengandung 9 jenis asam amino essensial. Satu asam amino yang hampir tidak terkandung dalam gelatin yaitu treptophane (Hastuti dan Sumpe, 2007). Gelatin merupakan produk yang diperoleh melalui aktivitas asam,

basa atau enzimatis dari kolagen (Hidayat *et al.*, 2016). Menurut Agustin (2013), gelatin adalah ikatan polipeptida yang dihasilkan dari hidrolisa kolagen tulang, kulit yang merupakan turunan protein dari kolagen, secara fisik dan kimia adalah sama.

Tipe gelatin berdasarkan cara pembuatannya dibagi menjadi dua jenis gelatin yaitu gelatin tipe A dan gelatin tipe B. Gelatin tipe A merupakan gelatin yang pada umumnya dilakukan secara cepat yaitu menggunakan perendaman dalam larutan asam. Gelatin tipe B merupakan gelatin yang diolah dengan menggunakan larutan basa (Hastuti dan Sumpe, 2007).

Asam askorbat (Vitamin c) merupakan lakton atau ester dalam asam hidroksikarboksilat yang memiliki ciri terdapat gugus enadiol dan . Asam askorbat termasuk ke dalam asam lemah dengan nilai pH sebesar 6,8. Pada pH tersebut akan mempengaruhi nilai pH akhir produk saat proses perendaman. Asam askorbat dapat ditemukan pada buah-buahan (Techinamuti dan Pratiwi, 2016). Sifat asam pada larutan asam askorbat mampu merubah serat kolagen *triple helix* menjadi rantai tunggal. Asam askorbat diperlukan dalam pembentukan hidroksilisin. Ditambahkan oleh Perricone (2007), Asam askorbat memiliki peran penting dalam pembuatan gelatin yaitu dapat mengaktifkan enzim prolyl hidroksilase yang berfungsi untuk mengubah residu prolin dalam kolagen menjadi hidroksiprolin. Menurut Aryani dan Ewnawefri, (2014), Asam askorbat memiliki fungsi sebagai antioksidan dan dapat dihasilkan secara sintetik. Asam askorbat dapat ditambahkan pada daging sebagai antioksidan tetapi tidak dapat menambah nilai vitaminnya karena asam askorbat akan rusak oleh pemanasan. Konsentrasi asam askorbat yang digunakan dalam proses perendaman yaitu 2%. Pada penggunaan asam askorbat dengan konsentrasi 2% dapat menurunkan kadar lemak. Kerja asam askorbat saat perendaman yaitu ion H^+ pada asam askorbat dan protein kolagen pada kulit berinteraksi sehingga menyebabkan

terjadinya pembengkakan pada kulit yang menimbulkan adanya ruang kosong akibat hidrolisis tropokolagen. Selanjutnya ion H^+ pada asam akan masuk ke dalam ruang tersebut dan menyebabkan pelarut terperangkap diantara ikatan tersebut dan menyebabkan perubahan pada pH. Kemudian struktur kolagen triple helix akan memecah menjadi single helix dimana protein non kolagen akan terbuang saat ekstraksi dengan panas.

Karakteristik dalam pembuatan gelatin kulit ikan kakap merah meliputi karakteristik fisika kimia. Menurut Rahmawati dan Pranoto (2016), yang termasuk karakteristik fisika meliputi viskositas dan kekuatan gel (gel strength). Menurut Gunawan *et al.*, (2017), karakteristi fisika lainnya yaitu derajat keasaman (pH). Ditambahkan oleh Saleh dan Syamsuar (2011), rendemen juga termasuk karakteristik fisika gelating kulit ikan. Ditambahkan oleh Leksono *et al.*, (2014), komposisi proksimat gelatin ditentukan dengan kadar protein, karbohidrat, lemak, dan abu. Karakteristik kimia digunakan untuk mengetahui kandungan yang ada di dalam produk. Pada pembuatan gelatin menurut Santoso *et al.*, (2015), Karakteristik kimia meliputi kadar air, kadar protein, dan kadar lemak. Menurut Atma *et al.*, (2018), Karakteristik kimia dilakukan menggunakan metode AOAC (*Association of Analytical Communities*). Karakteristik tersebut meliputi kadar air, kadar protein, kadar lemak, kadar abu, dan kadar karbohidrat. Ditambahkn oleh Sukasih dan Setyadjit (2016). pH merupakan karateristik kimia utama dalam pembuatan gelatin karena pH dapat menentukan aplikasi gelatin dalam produk. Menurut Tazwir *et al.*, (2007), Tinggi rendahnya nilai pH disebabkan karena penggunaan larutan asam. Saat perendaman dengan larian asam terjadi pengembangan sehingga ion H^+ masuk ke dalam rongga sehingga larutan asam yang tidak bereaksi terserap di dalam kolagen yang mengembang dan terperangkap dalam jaringan fibril kolagen sehingga sulit untuk dinetralkan. Larutan yang terperangkap akan terbawa saat proses ekstraksi sehingga nilai pH

menjadi rendah. Menurut Santoso *et al.*, (2015), Semakin tinggi nilai pH larutan perendaman maka konsentrasi larutan asam yang diserap selama perendaman mengalami penurunan karena tidak ada larutan yang terperangkap sehingga mudah saat dinetralkan.

Asam amino adalah penyusun protein yang dapat mengalami penurunan saat proses pencucian. Terdapat dua jenis asam amino yaitu essensial dan non essensial. Asam amino essensial meliputi lisin, leusin, isoleusin, fenilalanin, valin, treonin, histidin, metionin, triptopan, dan arginin. Asam amino non essensial meliputi asam glutamat, alanin, prolin, asam aspartat, tirosi, glisin, dan serin (Wijayanti *et al.*, 2014). Asam amino essensial menurut Suprayitno (2014), adalah metionin, leucin, isoleucin, valin, fenilalanin, lisin, arginin, dan histidin serta asam amino asam aspartat. Asam amino non essensial meliputi asam glutamat, glisin, alanin, prolin, tirosin, hidroksiprolin, dan ammonia. Ditambahkan oleh Agustina *et al.*, (2014), histidin merupakan asam amino yang bersifat toksik.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian pembuatan gelatin kulit ikan kakap merah yaitu:

1. Bagaimana pengaruh lama ekstraksi terhadap karakteristik fisika kimia gelatin kulit ikan kakap merah (*Lutjanus argentimaculatus*)?
2. Berapa lama ekstraksi untuk menghasilkan karakteristik fisika kimia gelatin kulit ikan kakap merah (*Lutjanus argentimaculatus*) terbaik?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian pembuatan gelatin kulit ikan kakap merah yaitu:

- a. Menganalisa pengaruh lama ekstraksi terhadap karakteristik fisika kimia gelatin kulit ikan kakap merah (*Lutjanus argentimaculatus*)
- b. Menganalisa lama ekstraksi untuk menghasilkan karakteristik fisika kimia gelatin kulit ikan kakap merah (*Lutjanus argentimaculatus*) terbaik

1.4 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian pembuatan gelatin kulit ikan kakap merah yaitu:

H₀ : Lama ekstraksi yang berbeda berpengaruh terhadap karakteristik fisika kimia gelatin kulit ikan kakap merah (*Lutjanus argentimaculatus*)

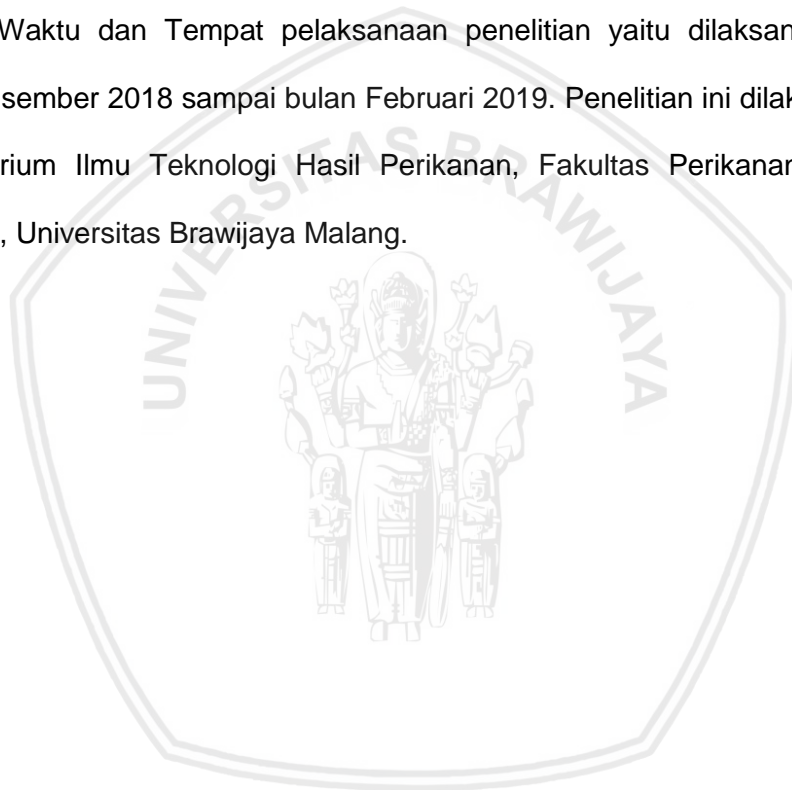
H₁ : Lama ekstraksi selama 7 jam menghasilkan karakteristik fisika kimia gelatin kulit ikan kakap merah (*Lutjanus argentimaculatus*) terbaik

1.5 Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai karakteristik fisika kimia gelatin dan lama ekstraksi yang tepat untuk menghasilkan gelatin kulit ikan kakap merah (*Lutjanus argentimaculatus*) yang sesuai.

1.6 Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Waktu dan Tempat pelaksanaan penelitian yaitu dilaksanakan pada bulan Desember 2018 sampai bulan Februari 2019. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Kakap Merah (*Lutjanus argentimaculatus*)

2.1.1 Klasifikasi Ikan Kakap Merah

Klasifikasi ikan kakap merah menurut Russel *et al.*, (2016), adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Klas : Actinopterygii
Ordo : Perciformes
Famili : Lutjanidae
Genus : Lutjanus

Kakap merah merupakan ikan yang dikenal dengan nama lain snapper (Prihatiningsih *et al.*, 2017). Ditambahkan oleh Sahubawa (2018), Kakap merah adalah salah satu komoditas perikanan yang memiliki nilai ekonomis penting. Menurut Ghufron dan Kordi (2010), Kakap merah sering disebut dengan nama snapper. Terdapat tiga jenis kakap merah budidaya anatar lain kakap jenaha, kakap tambak, dan kakap jenis *L. altifrontalis*. Jenis kakap jenaha meliputi *golden snapper* dan *Lutjanus johni*. Sedangkan, jenis kakap tambak meliputi *mangrove snapper* dan *Lutjanus argentimaculatus*. Gambar Ikan kakap merah dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Ikan Kakap Merah (*Lutjanus argentimaculatus*)
Sumber: Prisantoso dan Badrudin (2016)

Ikan kakap merah adalah salah satu jenis ikan demersal ekonomis penting yang cukup banyak tertangkap di perairan Indonesia. Seluruh jenis ikan kakap merah merupakan anggota famili *Lutjanidae*, namun hanya jenis-jenis ikan dari famili *Lutjanidae* yang berwarna merah kekuningan sampai merah gelap kehitaman yang disebut kakap merah (Prisantoso dan Badrudin, 2016). Data produksi ikan kakap merah Indonesia tahun 2006-2010 disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Produksi Ikan Kakap Merah Indonesia Tahun 2009-2010.

Tahun	Jumlah (ton)
2006	109.312
2007	116.994
2008	109.299
2009	115.523
2010	123.827
Kenaikan rata-rata 2009-2010	7,19 %

Sumber : Statistik Perikanan Tangkap Indonesia, (2010).

Ikan kakap merah merupakan salah satu ikan jenis demersal yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Sebagai ikan demersal, ikan ini memiliki aktifitas gerak yang relatif rendah, membentuk grombolan besar, migrasi tidak terlalu jauh, dan mempunyai daur hidup yang stabil dikarenakan habit di dasar laut relatif stabil (Sriati, 2017). Ditambahkan oleh Firliyanty *et al.*, (2014), ikan merupakan bahan yang memiliki kandungan protein tinggi sehingga memiliki peran sangat penting bagi manusia.

2.1.2 Morfologi Ikan Kakap Merah

Morfologi ikan kakap merah menurut Ghufron dan Khordi (2010), yaitu memiliki bentuk tubuh yang berwarna coklat tua kemerahan dengan bagian bawah berwarna keperakan. Memiliki sirip punggung berwarna coklat kemerahan dan memiliki warna sisik gelap dengan sedikit bintik. Pada bagian sisik berbentuk membujur secara berderet dibagian atas garis lateral line (rusuk) dan sejajar hingga bagian depan. sisik ini akan condong naik pada bagian belakang dibagian bawah sirip punggung paling belakang. Ekor agak bercabang dengan warna coklat kemerahan dan terdapat sebuah pita putih pada bagian tepi. Bagian ujung pada perut dan sirip dubur memiliki warna violet. Pada ikan kakap merah yang masih muda (memiliki panjang kurang dari 13 cm) terdapat 8 sampai 11 garis berwarna keperakan yang melintang dan terdapat garis coklat berkelok di bawah mata. Garis-garis ini akan hilang saat ikan semakin tua.

Ikan kakap merah (*Lutjanus argentimaculatus*) menurut Purba (2018), memiliki ciri-ciri bentuk tubuh agak pipih, punggung lebih tinggi, kepala lebih lancip, punggung sampai moncong lebih terjal, tulang rahang atas terbenam waktu mulut terbuka, deretan sisik di atas garis rusuk yang bagian depan sejajar dengan garis rusuk, sedangkan bagian yang dibawah sirip punggung keras bagian belakang miring ke arah punggung, deretan sisik dibawah garis rusuk sejajar dengan poros badan, sirip ekor agak bercabang, warna merah darah pada bagian atas, dan putih keperakan pada bagian bawah, sirip punggung terdiri dari 10 jari-jari keras dan 13-15 jari-jari lemah, sirip dubur terdiri dari 3 jari-jari keras dan 8-19 jari-jari lemah, sirip dada terdiri dari 14-15 jari-jari lemah, "*linnea lateralis*" atau garis rusuk 45-48, mulut besar dapat disembulkan, terdapat gerigi pada tulang mata bajak dan langit-langit sempurna, keping tutup insang depan berlekuk.

Ikan kakap dewasa memiliki ciri mata berwarna merah dan bening. Memiliki mulut yang lebar sebagai ciri ikan pemangsa. Tubuhnya ditutupi oleh sisik-sisik yang kasar berwarna perak. Bagian rahang atas maupun bawah pada ikan kakap bergerigi kecil dan tajam. Kakap dikenal sebagai ikan pemangsa yang memangsa berbagai ikan-ikan kecil seperti plankton, udang-udangan, cumi, dan hewan kecil lainnya (Ghufron dan Kordi, 2009).

2.1.3 Habitat Ikan Kakap Merah

Habitat ikan kakap merah tersebar di seluruh Indonesia. Kakap merupakan ikan yang termasuk dalam ikan demersal. Daerah penyebaran ikan kakap merah yaitu di seluruh perairan laut Jawa mulai dari Nusa Tenggara, Perairan Bawean, Kepulauan Riau, Kepulauan Karimun Jawa, Perairan Sulawesi, Selat Jawa, Selat Sunda, Perairan, Kalimantan, Selatan Jawa, Timur dan Barat Kalimantan (Sahubawa, 2018). Ditambahkan oleh Ghufron dan Khordi (2010), kakap merah dapat hidup pada daerah perairan yang dangkal hingga laut dalam.

Ikan kakap merah merupakan salah satu ikan jenis demersal yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Sebagai ikan demersal, ikan ini memiliki aktifitas gerak yang relatif rendah, membentuk grombolan besar, migrasi tidak terlalu jauh, dan mempunyai daur hidup yang stabil dikarenakan habit di dasar laut relatif stabil (Sriati, 2017). Ditambahkan oleh Russell *et al.*, (2016), habitat kakap merah dewasa terdapat pada hilir sungai air tawar dan daerah laut yang surut. Kakap merah tua hidup pada terumbu karang yang nantinya akan bermigrasi ke daerah terumbu karang yang lebih dalam dan terkadang ke daerah laut dengan kedalaman lebih dari 100m.

Kakap adalah ikan asli dari laut yang idup di berbagai habitat tergantung dari masing-masing jenis ikan kakap. Terdapat ikan kakap yang hidup pada terumbu karang, daerah yang berpasir, di daerah berlumpur, sekitar muara sungai, atau hidup pada ekosistem mangrove. Jenis kakap putih (*Lates calcelifer*) dapat masuk pada area sungai air tawar. Ikan kakao ini digolongkan sebagai ikan demersal (Ghufron dan Kordi, 2009).

2.1.4 Kandungan Gizi Ikan Kakap Merah

Kandungan gizi Ikan kakap merah antara lain protein, karbohidrat, lemak, abu dan air. Ikan kakap merah merupakan salah satu ikan yang memiliki nilai ekonomis penting. Komposisi kimia ikan kakap merah dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan Gizi Ikan Kakap Merah

No	Komposisi Kimia	Persentase
1	Air	77,53 %
2	Protein	20,55 %
3	Lemak	0,27 %
4	Abu	1,42 %
5	Karbohidrat	0,23 %

Sumber : Jacob et al., (2013)

Pada tabel diatas dapat diketahui bahwa kandungan protein dari ikan kakap merah 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. 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 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 non esensial, serin, asam glutamat, glisin, alanin, dari cyteine, 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 histamine oleh histidin dekarboksilase.

2.2 Kulit Ikan

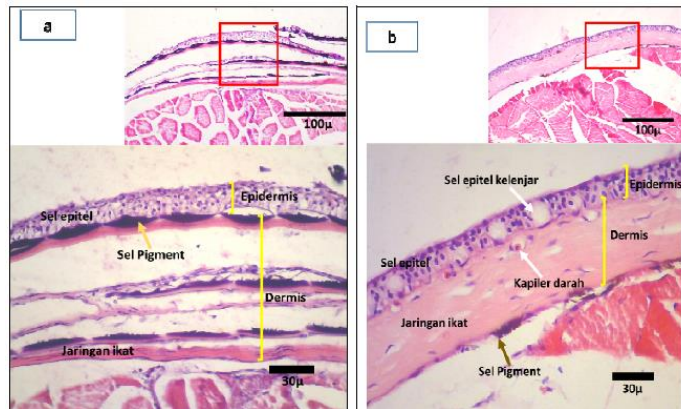
Kulit ikan mempunyai perbedaan dari kulit hewan lainnya karena kulit ikan memiliki sisik, tidak mempunyai kelenjar minyak dan serabut kutula tersusun secara mendatar serta bersilang secara horizontal (Pratiwi *et al.*, 2015). Namun setiap kulit hewan memiliki karakteristik atau struktur yang berbeda berdasarkan jenis hewan yang digunakan. Kulit ikan umumnya terdiri dari dua lapisan utama yaitu epidermis dan dermis. Lapisan dermis merupakan jaringan pengikat yang cukup tebal dan mengandung sejumlah serat-serat kolagen (Lagler *et al.*, 2018). Kulit ikan kakap merah dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kulit Ikan Kakap Merah
Sumber: Agnes *et al.* 2015

Perkembangan industri pengolahan ikan di Indonesia saat ini semakin meningkat, seperti industri fillet ikan beku yang menghasilkan pengolahan limbah dalam bentuk tulang ikan. Biasanya tulang ikan hanya digunakan sebagai pakan ternak, sehingga hanya meningkatkan nilai ekonomis. Namun, tulang ikan sering dibuang begitu saja. Berdasarkan hal ini, perlu dilakukan upaya untuk menggunakan tulang ikan agar lebih bermanfaat (Afrian dan Suprayitno, (2019).

Kulit ikan merupakan hasil limbah yang cukup melimpah namun belum banyak dimanfaatkan. Kulit ikan menghasilkan limbah sebesar 6-7% dari berat ikan. Limbah industri perikanan belum banyak dimanfaatkan secara optimal menjadi suatu produk yang mempunyai nilai tambah yang tinggi. Padahal limbah kulit tersusun dari kalogen yang apabila dihidrolisis akan menghasilkan gelatin. Dengan pemanfaatan limbah kulit ikan menjadi gelatin maka diharapkan dapat meningkatkan nilai ekonomis yang tinggi dan halal (Agnes *et al.* 2015). Menurut penelitian yang dilakukan Faishal *et al.*, (2017) kulit ikan kakap putih memiliki kualitas fisik yang cukup baik apabila dijadikan sebagai bahan baku utama kulit samak. Lapisan kulit ikan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur Kulit Ikan
Sumber: Sukiya dan Putri, 2016

Struktur kulit ikan seperti hewan vertebrata, terdiri dari dua lapisan utama. Lapisan luar adalah epidermis dan lapisan dalam adalah dermis atau *corium*. Lapisan ini sangat berbeda tidak hanya dalam posisinya, tetapi dalam struktur, karakter dan fungsinya. Struktur kulit ikan relatif sederhana karena ikan hidup di air dan jaringan epidermis juga relatif tipis. Epidermis terdiri dari beberapa lapisan sel epitel dan jumlah lapisan bervariasi tergantung pada spesies, bagian tubuh dan umur ikan. Sel epitel bergabung bersama-sama secara melekat atau matriks (Pahlawan dan Emiliana, 2016). Pada dasarnya kulit ikan mengandung air 69,6 %, protein 26,9 %, abu 2,5 % dan lemak 0,7 %. Protein pada kulit dapat dibagi dalam dua golongan besar, yaitu protein fibrilar protein dan globular. Protein fibrilar adalah protein berbentuk serabut yang tidak larut di dalam air. Protein globular adalah protein yang berbentuk bulat menyerupai bola yang banyak terdapat pada bahan pangan seperti susu, telur, dan daging. Protein ini larut dalam sistem larutan (air), juga lebih mudah berubah di bawah pengaruh suhu, konsentrasi garam, pelarut asam dan basa dibandingkan dengan protein fibrilar. Disamping itu protein globular lebih mudah terdenaturasi karena susunan molekulnya mudah mengalami perubahan yang

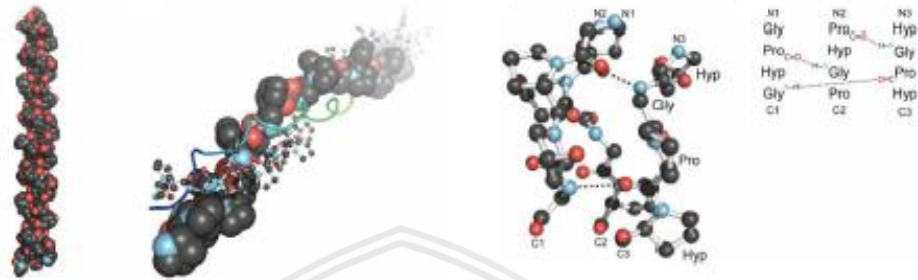
diikuti dengan perubahan sifat fisik dan fisiologisnya seperti yang dialami oleh enzim dan hormon.

2.3 Kolagen

Kolagen berasal dari bahasa Yunani, *kolla* yang artinya bersifat lekat atau menghasilkan pelekat. Sampai saat ini, terdapat sekitar 28 tipe kolagen yang teridentifikasi, yaitu tipe 1 sampai 28 dan lebih dari 90 % sebagai kolagen tipe I. Kolagen adalah protein alami yang terdapat pada hewan vertebrata dan invertebrata. Pada vertebrata, kolagen merupakan konstituen protein yang terdapat pada kulit, tendon, tulang (tulang rawan maupun tulang keras), dan jaringan lainnya. Pada hewan invertebrata kolagen merupakan bahan penyusun dinding tubuh. Kolagen termasuk protein fibril (protein berbentuk serabut) yang berperan dalam pembentukan struktur sel terbesar dalam matriks ekstra seluler yang mempertahankan bentuk jaringan. Secara umum, kandungan kolagen sekitar 25-35 % dari total protein pada tubuh. Kolagen juga merupakan 10 komponen organik pembangun tulang, gigi, sendi, otot dan kulit. Protein kolagen dibentuk oleh tiga rantai polipeptida yaitu berupa rantai α yang membentuk struktur *triple helix* yang stabil karena adanya ikatan hydrogen. Urutan asam amino berulang mengikuti pola Gly-X-Y, dimana Gly adalah glisin, X dan Y adalah residu asam amino lainnya. Kebanyakan urutan asam amino yang dijumpai adalah X untuk prolin dan Y untuk hidroksprolina Suhenry *et al.*, (2015).

Kolagen merupakan protein utama yang menyusun komponen matrik ekstraseluler. Kolagen tersusun atas *triple helix* dari tiga rantai α -polipeptida, mengandung dua jenis turunan asam amino yang tidak langsung dimasukkan selama proses translasi. Struktur *triple helix* kolagen berasal dari tiga asam

amino utama yaitu *glycine*, *proline*, dan *hydroxyproline* (Setyowati dan Wahyuning, 2015). Struktur kolagen dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur Kolagen
Sumber: Alhana *et al.*, 2015

Struktur kolagen tersusun atas tiga kerangka kovalen yang terdiri dari rantai-rantai protein individual. Asam amino yang paling berlimpah adalah glisin sebesar 33% dan prolin sebesar 12% dan sisanya adalah asam amino lain seperti hidrosipprolin. Selanjutnya tiga rantai asam amino akan bergabung untuk membentuk triple helix dalam struktur sekunder. Triple helix ini merupakan satuan struktural dasar kolagen dan disebut sebagai tropokolagen. Dalam rantai helix tropokolagen ketiga benang terikat hidrogen satu dengan yang lain dengan perantara gugus peptide. Kemudian satuan tropokolagen yang terangkai secara kovalen akan membentuk satu ikatan yaitu miofibril (Katili 2009).

Kolagen adalah salah satu dari jaringan ikat utama protein hewani. Kolagen banyak digunakan sebagai bahan biomedis. Kolagen merupakan protein yang paling berlimpah dalam jaringan hewan dengan jumlah proporsi 30% dari total protein tubuh sebagai komponen utama dari jaringan ikat, otot, kulit, dan gusi. Kolagen merupakan protein serabut yang memiliki sifat fleksibel dan memberikan kekuatan pada jaringan dan tulang (Ata *et al.*, 2016).

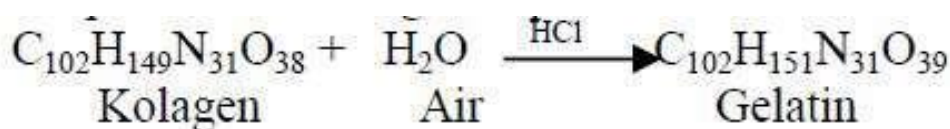
Kolagen merupakan protein struktural yang banyak terdapat pada semua hewan. Kolagen adalah protein fibrosa dan merupakan komponen utama jaringan ikat yang dijumpai di tulang, tendon, kulit, pembuluh darah, dan kornea mata. Kolagen mengandung kira-kira 35 persen glisin dan kira-kira 11 persen alanine. 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).

Kolagen merupakan salah satu kelompok protein yang tidak larut terhadap air. Keberadaan kolagen mencapai 30% dari seluruh penyusun protein tubuh. Secara alamiah 1% kolagen dalam tubuh manusia akan hilang setiap tahunnya sehingga pada usia 30 tahun manusia kehilangan 15-20% dan pada saat umur 40 tahun manusia tidak memproduksi kolagen. Kolagen dapat diekstrak dari kulit maupun tulang. Ekstraksi kolagen dapat dilakukan secara kimia dan enzimatis atau kombinasi keduanya (Alhana *et al.*, 2015). Ditambahkn oleh Harris *et al.*, (2016), kolagen mengandung 35% glisin dan 11% alanin. 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 ($C_{102}H_{149}N_{31}O_{38}$) menurut Gadi *et al.*, (2017), 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. Ditambahkan oleh (Astiana *et al.*, 2016), 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.

Pemecahan kolagen menjadi gelatin dapat terjadi melalui proses pemecahan protein *triple heliks* menjadi protein kumparan acak. Pemecahan protein kolagen dapat dilakukan dengan menggunakan asam atau basa serta enzim (Sugihartono, 2015). Ditambahkan oleh Panjaitan (2016), Hidrolisis kolagen menjadi gelatin adalah penguraian zat dengan cara penambahan H₂O dimana ion-ion hasil penguraian H₂O diikat oleh kolagen sehingga terbentuk gelatin. Perubahan kolagen menjadi gelatin terjadi dengan adanya perlakuan awal terhadap kolagen melalui ekstraksi asam atau basa. Pada proses ekstraksi asam dihasilkan gelatin tipe A dengan titik isoelektrik antara pH 7-9. Apabila dilakukan dengan proses ekstraksi basa dihasilkan gelatin tipe B dengan titik isoelektrik antara pH 4,7-5,2. Menurut Suhenry *et al.*, (2015), pemecahan kolagen menjadi gelatin yaitu sebagai berikut :



Kolagen memiliki sifat yaitu apabila dididihkan di dalam air, kolagen akan mengalami transformasi dari bentuk untaian, tidak larut dan tidak tercerna menjadi gelatin yaitu campuran polipeptida yang larut yang merupakan pembentuk gelatin. Perubahan tersebut melibatkan hidrolisis beberapa ikatan

kovalen pada kolagen karena kolagen pada jaringan pengikat dan pembuluh yang menjadikan daging berbentuk liat. Kolagen mengandung sekitar 35% glisin, 11% alanin dan 21% prolin dan hidroksiprolin. Prolin dan hidroksiprolin merupakan asam amino yang jarang ditemukan pada protein selain pada kolagen dan elastin.

2.4 Gelatin

Gelatin merupakan protein yang diperoleh dari hasil hidrolisis parsial dari kulit, tulang rawan, dan jaringan ikat putih. Gelatin menyerap air 5-10 kali beratnya. Gelatin memiliki sifat yaitu berubah secara reversible dari bentuk koloid ke bentuk gel, dapat membentuk fil, dapat mengembang dalam air dingin, dan mempengaruhi viskositas suatu bahan. Gelatin memiliki banyak fungsi serta penggunaannya yang aplikatif dalam industri pangan. Dalam bidang non pangan, gelatin digunakan sebagai pembuatan film foto (Rachmania *et al.*, 2013). Ditambahkan oleh Hidayat *et al.*, (2016), gelatin merupakan produk yang diperoleh dari aktivitas basa, asam atau enzimatis dari kolagen. Menurut Rera dan Suprayitno, (2019), Gelatin adalah polimer asam amino yang diperoleh melalui hidrolisis jaringan kulit dan tulang hewan. Gelatin dapat dihidrolisis menggunakan asam atau larutan basa yang akan didenaturasi. Gelatin terdiri dari 85-92% protein, sedangkan sisanya adalah air dan garam mineral yang tersisa setelah pengeringan.

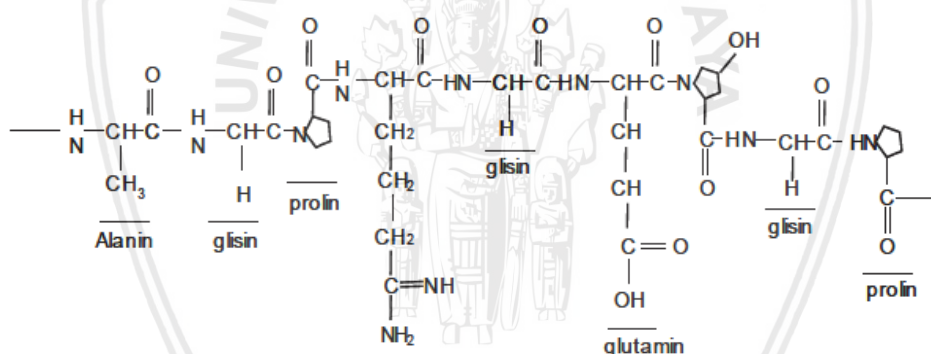
Gelatin disebut *miracle food*, karena gelatin memiliki fungsi yang masih sulit digantikan dalam industri makanan maupun farmasi. Penggunaan gelatin untuk kebutuhan sehari-hari tidak dapat dihindari karena lebih dari 60% total produksi gelatin digunakan oleh industri pangan, sekitar 20% industri fotografi, dan 10% oleh industri farmasi dan kosmetik. Belakangan ini,

dengan adanya pertimbangan dan ketakutan akan BSE (*Bovine Spongiform Encephalopathy*) dan pengaruh adanya penyakit sapi gila serta adanya prasyarat kehalalan dan produk gelatin bagi umat muslim, maka bahan baku alternatif dari berbagai jenis ikan sebagai sumber gelatin selain dari babi dan sapi terus dikembangkan (Prihatiningsih et al., 2014). Menurut Jeffriansah dan Suprayitno, (2019), Gelatin dari kulit babi adalah 46%, kulit sapi 29,4%, tulang sapi 23,1%, dan sumber lainnya 1,5%. Penggunaan kulit babi kurang dapat diterima karena status halal, sedangkan kualitas kulit sapi diragukan kualitasnya karena masalah penyakit sapi gila yang tersebar luas.

Gelatin merupakan produk alami yang diperoleh dari hidrolisis parsial kolagen. Gelatin mengandung protein yang sangat tinggi dan rendah kadar lemaknya. Gelatin kering dengan kadar air 8-12%, mengandung protein sekitar 84-86%, dan kandungan mineral 2-4%. Dari 10 jenis asam amin essential yang dibutuhkan oleh tubuh, gelatin mengandung 9 jenis asam amino essential. Satu asam amino yang hampir tidak terkandung dalam gelatin yaitu treptophane (Hastuti dan Sumpe, 2007). Menurut Puspawati *et al.*, (2017), Gelatin adalah biodegradable, edible, dan biocompatible polipeptida yang dihasilkan dari proses denaturasi kolagen yang terdapat pada kulit, tulang, cartilage, dan jaringan ikat hewan. Gelatin merupakan suatu protein yang larut dalam air dan disusun oleh hampir semua asam amino essential kecuali triptofan dengan kandungan asam amino metionin, tirosin, dan sistein yang sangat rendah karena terjadinya degradasi selama proses hidrolisis. Menurut Siregar dan Suprayitno, (2019), Kandungan asam amino terbesar dalam gelatin adalah asam amino glisin. Rantai polipeptida gelatin terdiri dari pengulangan asam amino glisin-prolin-prolin atau glisin-hidroksiprolin-prolin. Kandungan asam amino lain yang cukup besar setelah glisin adalah prolin. Gelatin dengan glisin asam amino tinggi dan

kandungan prolin juga akan memiliki nilai kekuatan gel yang tinggi. Kandungan asam amino yang penting dalam mempengaruhi karakteristik gelatin adalah asam amino prolin.

Gelatin merupakan produk yang diperoleh melalui aktivitas asam, basa atau enzimatis dari kolagen (Hidayat *et al.*, 2016). Menurut Agustin (2013), gelatin adalah ikatan polipeptida yang dihasilkan dari hidrolisa kolagen tulang, kulit yang merupakan turunan protein dari kolagen, secara fisik dan kimia adalah sama. Hidrolisa tergantung pada *cross-link* antara ikatan peptide dan grup-grup asam amino yang reaktif yang terbentuk. Menurut Suhenry *et al.*, (2015), Gelatin memiliki rumus molekul $C_{100}H_{151}N_{31}O_{39}$. Struktur monomer gelatin dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 5. Struktur Monomer Gelatin
Sumber : Suhenry *et al.*, (2015)

Karakteristik gelatin ditentukan oleh sifat fisik, kimia, dan fungsional yang menjadikan gelatin sebagai karakter yang unik. Sifat-sifat yang dapat dijadikan parameter dalam menentukan mutu gelatin antara lain kekuatan gel, viskositas, dan rendemen. Kekuatan gel dipengaruhi oleh pH, adanya komponen elektrolit dan non-elektrolit dan bahan tambahan lainnya, sedangkan viskositas dipengaruhi oleh interaksi hidrodinamik, suhu, pH, dan konsentrasi (Poppe, 2018).

Gelatin memiliki karakteristik berwarna kuning cerah atau transparan mendekati putih, berbentuk lembaran, bubuk atau seperti tepung, batang, seperti daun, larut dalam air panas, gliserol dan asam sitrat serta pelarut organik lainnya. Gelatin dapat mengembang dan menyerap air 5-10 kali bobot asalnya. (Gunawan *et al.* 2017). Menurut Pangke *et al.*, (2016). Gelatin memiliki sifat antara lain tidak berbau, hampir tidak memiliki rasa, tidak berwarna atau tidak berwarna kuning kecoklatan, larut dalam air, larut dalam asam asetat, dan larut dalam pelarut alkohol seperti gliserol, propilen, glikol, sorbitol, manitol tetapi tidak larut dalam air, dan pelarut organik lainnya. Menurut Malita dan Suprayitno, (2019), Kekuatan gel adalah salah satu aspek yang diperlukan untuk menentukan kualitas gelatin. Gelatin dapat dinilai dari berbagai aspek, termasuk kekuatan gel dan viskositas. Kekuatan gel dan viskositas gelatin yang lebih tinggi dapat meningkatkan kualitas gelatin. Syarat mutu gelatin berdasarkan SNI (1995) dan persyaratan gelatin berdasarkan JECFA dapat dilihat pada Tabel 3 dan 4.

Tabel 3. Syarat Mutu Gelatin

Karakteristik	Syarat
Warna	Tidak berwarna kuning pucat
Bau, rasa	Normal (dapat diterima konsumen)
Kadar air	Maksimum 16%
Kadar abu	Maksimum 3,25%
Logam berat	Maksimum 50 mg/kg
Arsen	Maksimum 2 mg/kg
Tembaga	Maksimum 30 mg/kg
Seng	Maksimum 100 mg/kg
Sulfit	Maksimum 100 mg/kg

Sumber SNI 06-3735-1995

Tabel 4. Persyaratan Gelatin

Parameter	Persyaratan
Kadar abu	Tidak lebih dari 2%
Kadar air	Tidak lebih dari 18%
Belerang dioksida	Tidak lebih dari 50 mg/kg
Arsen	Tidak lebih dari 1 mg/kg
Logam berat	Tidak lebih dari 50 mg/kg
Timah hitam	Tidak lebih dari 5 mg/kg
Batas cemaran mikroba :	
<i>Standart plate count</i>	Kurang dari 10 ⁴ /gr
<i>E. coli</i>	Kurang dari 10/gr
<i>Streptococci</i>	Kurang dari 10 ² /gr

Sumber : JECFA (2003).

2.4.1 Kualitas Kimia Gelatin

Kualitas kimia gelatin tersusun atas asam-asam amino penyusun yang saling terikat melalui ikatan peptide membentuk gelatin dengan susunan unit Gly-X-Y, dimana X prolin dan Y hidrosiprolin atau yang lainnya. Komposisi dan urutan asam amino gelatin berbeda satu dengan yang lainnya bergantung pada spesies dan jenis jaringannya tetapi selalu mengandung glisin, prolin, hidrosiprolin dengan persentase yang tinggi (Puspawati *et al.*, 2017),. Ditambahkan oleh Finarti *et al.*, (2018), Gelatin sangat kaya akan asam amino glisin (Gly). hampir sepertiga dari asam amino mengandung glisin.

Struktur kimia gelatin merupakan 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 $\frac{2}{3}$ dari seluruh asam amino yang menyusunnya, $\frac{1}{3}$ asam amino yang tersisa diisi oleh prolin dan hidrosiprolin (Hidayat *et al.*, 2016). Gelatin menurut Madani *et al.*, (2016) kaya akan asam amino glisin (Gly) (hampir sepertiga dari total asam amino), prolin (Pro), dan 4-hidrosiprolin (4Hyd). Struktur gelatin umumnya adalah Alanin-glysin-prolin-arginin-hidrosiprolin. Kandungan hidrosiprolin berpengaruh

terhadap kekuatan gel gelatin, dimana semakin tinggi asam amino, maka kekuatan gel juga semakin lebih baik. Menurut Suhenry et al., (2015), Gelatin adalah protein yang tersusun atas beberapa asam amino. Sedikitnya 18 asam amino penyusun gelatin antara lain alaine, phenylalanine, isoleusine, methyonine, dan lain-lain. Kandungan asam amino secara umum pada gelatin dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Kandungan asam amino gelatin

Kandungan asam amino	Persentase (%)
Glisin	21
Prolin	12
Hidroksiprolin	12
Asam glutamate	10
Alanin	9
Arginin	8
Asam aspartat	6
Lisin	4
Senin	4
Leusin	3
Valin	2
Phenilaloin	2
Treonin	2
Isoleusin	1
Hidroksilisin	1
Metionin	<1
Histidin	<1
Tyrosin	<0,5

Sumber : Finarti *et al.*, (2018)

2.4.2 Tipe Gelatin

Tipe gelatin berdasarkan cara pembuatannya dibagi menjadi dua jenis gelatin yaitu gelatin tipe A dan gelatin tipe B. Gelatin tipe A merupakan gelatin

yang pada umumnya dilakukan secara cepat yaitu menggunakan perendaman dalam larutan asam. Gelatin tipe B merupakan gelatin yang diolah dengan menggunakan larutan basa (Hastuti dan Sumpe, 2007). Ditambahkn oleh Suryati *et al.*, (2015), Gelatin tipe A memiliki titik isoelektrik (titik pengendapan protein) pada pH yang lebih tinggi yaitu 7,5-9,0. Gelatin tipe B memiliki titik isoelektrik 4,8-5,0. Menurut Suryanti *et al.*, (2017), Gelatin tipe A dapat menjadi alternatif bahan pembentuk dan penstabil emulsi dari protein dalam sistem emulsi minyak dalam air karena dapat membentuk droplet bermuatan kationik pada kisaran pH yang lebih luas.

Pada perinsip pembuatan gelatin dapat dibagi dua jenis yaitu gelatin tipe A dan gelatin tipe B. Gelatin tipe A diperoleh melalui perendaman bahan baku menggunakan asam encer. Metode ini cocok digunakan untuk bahan baku kolagen yang diperoleh dari hewan muda atau dari bahan kulit. Ikatan silang pada kolagen jenis ini masih lemah sehingga untuk memutuskan ikatan tersebut cukup dengan larutan asam encer. Pada gelatin tipe B diperoleh dengan pengkondisian menggunakan larutan basa. Bahan baku yang digunakan adalah dari tulang atau kolagen hewan yang sudah agak tua (Oktaviani *et al.*, 2017). Persyaratan mutu dan keamanan pangan gelatin ikan dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Persyaratan Mutu dan Keamanan Pangan Gelatin Ikan

Sifat	Tipe A	Tipe B
Kekuatan gel	50-300	50-300
Viskositas (Cp)	1,5-7,5	2,0-7,5
Kadar abu (%)	0,3-2,0	0,5-2,0
Ph	3,8-6,0	5,0-7,1
Titik isoelektrik	7,0-9,0	4,7-5,4
Susut kering (%)	<16,0	<16,0

Sumber : Pangke *et al.*, (2016)

2.4.3 Manfaat dan Fungsi Gelatin

Manfaat dan fungsi gelatin cukup beragam baik dalam dunia pangan maupun non pangan. Gelatin dapat digunakan dalam bidang pangan maupun non pangan. Aplikasi gelatin pada bahan makanan antara lain sebagai agen pembentuk gel, pengental, pengemulsi, pembentuk busa, *edible film* dan *stabilizer*, di bidang farmasi gelatin banyak digunakan untuk pembuatan kapsul lunak dan keras. Gelatin memiliki ciri-ciri yaitu berwarna transparan mendekati putih, berbentuk lembaran, dan dapat larut dalam air panas. Gelatin banyak digunakan untuk berbagai keperluan industri, baik industri pangan maupun non-pangan karena memiliki sifat yang khas, yaitu dapat berubah secara *reversible* dari bentuk sol ke gel, mengembang dalam air dingin, dapat membentuk *film*, mempengaruhi viskositas suatu bahan dan dapat melindungi sistem koloid. Industri yang paling banyak memanfaatkan gelatin adalah industri pangan (Gunawan *et al.*, 2017). Menurut Pangke *et al.*, (2016), Gelatin banyak dimanfaatkan sebagai bahan penstabil (*stabilizer*), pengikat (*binder*), pembentuk gel (*gelling agent*), perekat (*adhesive*), pengemulsi (*emulsifier*), dan edible

coating. Pemanfaatan gelatin pada produk non pangan yaitu sebagai industri teknik, kosmetika, industri farmasi, industri teknik, fotografi dan kedokteran.

Sebagai bahan makanan (*food additive*), gelatin berfungsi untuk pertumbuhan otot precursor dari keratin, sebagai penambah rasa enak dengan kandungan lemak yang bebas (rendah), sehingga dapat mengurangi energi yang dikonsumsi tubuh tanpa ada pengaruh yang negatif. Oleh karena itu dapat mengatasi penyakit yang disebabkan karena kegemukan, dengan cara membantu mengurangi energi karena kelebihan lemak, para pengolah industri pangan dapat mengkreasikan makanan dengan rendah kalori yaitu dengan menambahkan gelatin yang tidak ada kandungan lemak dan gula, karena gelatin dapat mengikat sejumlah besar air dan dapat membantu memberi rasa kenyang setelah mengkonsumsi. Gelatin juga dapat mengkreasikan makanan yang bergizi pada pasien, karena nutrisinya tinggi dan rendah untuk dicerna serta digunakan pada makanan cair dengan rasa enak juga mudah diabsorpsi, dengan demikian dapat dihubungkan dengan kesehatan masyarakat (Agustin, 2013).

Kegunaan gelatin sangat penting dalam diversifikasi bahan pangan karena mengandung nilai gizi yang tinggi terutama kadar protein khususnya asam amino dan rendahnya kadar lemak. Fungsi gelatin yaitu sebagai pengental, pengemulsi, penstabil, berfungsi menjaga kelembapan pada produk bakery, berfungsi sebagai pelapis pada produk buah-buahan, dan berfungsi sebagai pengatur konsistensi produk pada pembuatan permen.

2.5 Lama Ekstraksi

Lama ekstraksi yang digunakan bervariasi yaitu 1,5; 3; 5; 7; 9 jam. lama ekstraksi bertujuan untuk mengetahui hasil gelatin kulit ikan kakap. Suhu yang digunakan saat ekstraksi yaitu 40-50°C (Rahayu dan Fithriya, 2015).

Ditambahkan oleh Hidayat *et al.*, (2016), lama ekstraksi yang digunakan yaitu selama 4 jam. menurut Pertiwi *et al.*, (2018), lama ekstraksi yang digunakan dalam pembuatan gelatin yaitu selama 5 jam.

Ekstraksi berfungsi sebagai lanjutan untuk merusak ikatan hydrogen antar molekul tropokolagen yang pada saat tahap persiapan sebelumnya belum terurai oleh asam. Ikatan hydrogen pada tropokolagen didenaturasi oleh molekul air (H₂O). Tahap ekstraksi ini akan menyebabkan molekul triple helix kehilangan stabilitasnya dan akhirnya akan terurai menjadi rantai tunggal gelatin (Rahayu dan Fithriyah, 2015).

Lama ekstraksi yang digunakan dapat mempengaruhi hasil akhir suatu produk. Semakin lama proses ekstraksi maka hasil semakin baik (Wahyuni dan Widjanarko., 2015). Ekstraksi adalah proses penarikan komponen aktif dengan pelarut tertentu (Ciptaningtyas dan Suhardiyanto, 2016).

2.6 Asam Askorbat

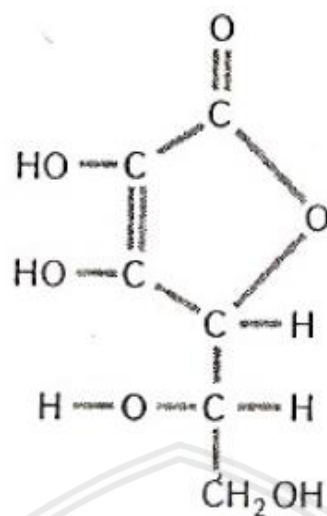
Asam askorbat (Vitamin c) merupakan lakton atau ester dalam asam hidroksikarboksilat yang memiliki ciri terdapat gugus enadiol. Asam askorbat termasuk ke dalam asam lemah dengan nilai pH sebesar 6,8. Pada pH tersebut akan mempengaruhi nilai pH akhir produk saat proses perendaman. Asam askorbat dapat ditemukan pada buah-buahan (Techinamuti dan Pratiwi, 2016). Ditambahkan oleh Wulandari (2017), fungsi asam askorbat yaitu sebagai biosintesis kolagen, sebagai antioksidan, hormon tirosin, dan peptida. Ditambahkan oleh Perricone (2007), bahwa asam askorbat memiliki manfaat dalam meningkatkan produksi kolagen. Asam askorbat diperlukan dalam pembentukan hidroksilisin. Asam askorbat memiliki peran penting dalam

pembuatan gelatin yaitu dapat mengaktifkan enzim prolyl hidroksilase yang berfungsi untuk mengubah residu prolin dalam kolagen menjadi hidroksiprolin.

Asam askorbat memiliki fungsi sebagai antioksidan dan dapat dihasilkan secara sintetik. Asam askorbat dapat ditambahkan pada daging sebagai antioksidan tetapi tidak dapat menambah nilai vitaminnya karena asam askorbat akan rusak oleh pemanasan. Konsentrasi asam askorbat yang digunakan dalam proses perendaman yaitu 2%. Pada penggunaan asam askorbat dengan konsentrasi 2% dapat menurunkan kadar lemak (Aryani dan Evnawari, 2014).

Peranan utama asam askorbat menurut (Winarno, 2004), adalah dalam pembentukan kolagen intraseluler. Asam askorbat memiliki peranan penting dalam hidroksilasi dua asam amino prolin dan lisin menjadi hidroksiprolin dan hidroksilisin. Konsumsi asam askorbat (vitamin C) per hari untuk anak-anak dan orang dewasa disarankan antara 20-30 mg. konsumsi asam skorbat untuk ibu hamil ditambahkan 20mg.

Kebutuhan harian asam askorbat biasa dikenal dengan RDA (*Recommended dietary allowance*) adalah 60mg. Jumlah maksimum cadangan asam askorbat (vitamin c) yang dapat dimetabolisis di dalam jaringan tubuh sebesar 1500mg, dengan kebutuhan tersebut diperkirakan kebutuhan asam askorbat yaitu 60mg/hari. Kebutuhan dalam konsumsi vitamin c dapat meningkat 300-500% pada penderita penyakit infeksi, neoplasma, pasca bedah atau trauma, hipertiroid, kehamilan dan laktasi maupun sebagai antioksidan (Pakaya, 2014). Struktur asam askorbat dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Struktur Asam Askorbat
Sumber: Nerdy, 2017

Sifat asam pada larutan asam askorbat mampu merubah serat kolagen *triple helix* menjadi rantai tunggal, sedangkan larutan perendaman basa hanya mampu menghasilkan rantai ganda. Hal tersebut menyebabkan pada waktu yang sama jumlah kolagen yang dihidrolisis oleh larutan asam lebih banyak daripada larutan basa. Pelarut basa dapat digunakan untuk menghidrolisis kolagen namun waktu yang digunakan lebih lama.

Mekanisme kerja asam askorbat pada proses pembuatan gelatin kulit ikan yaitu asam askorbat dapat mengakibatkan ion H^+ berinteraksi dengan struktur tropokolagen pada kulit ikan. Tropokolagen yaitu molekul dasar pembentuk kolagen yang mempunyai struktur batang dengan BM 300.000 g/mol. Struktur kolagen pada kulit ikan yang berbentuk triple heliks akan kehilangan struktur triple helikisnya karena ikatan hidrogen didalam kolagen dan ikatan antara tropokolagen melemah, sehingga kolagen terkonversi dan menjadi bentuk yang ideal untuk diekstraksi. Reaksi pemutusan ikatan kovalen pada struktur tropokolagen akan lebih mudah dilakukan dalam suasana asam dan dengan

kekuatan ionik yang lebih besar (Hermanto *et al.*, 2014). Asam askorbat dapat menghidrolisis kolagen pada kulit ikan sehingga mempermudah kelarutannya pada saat ekstraksi gelatin pada *waterbath*, hal ini mengakibatkan struktur kolagen terbuka yang mengakibatkan beberapa ikatan dalam molekul protein terlepas. Selain itu larutan asam askorbat menyebabkan protein struktural terutama kolagen akan mengalami pengembangan (*swelling*) sehingga struktur terbuka.

Pada proses pembuatan gelatin dapat dilakukan dengan cara ekstraksi asam. Asam yang dapat digunakan untuk ekstraksi gelatin yaitu asam askorbat. Larutan asam lemah akan berbeda dengan larutan asam kuat. Asam kuat akan mengalami penguraian atau disosiasi secara hampir keseluruhan (disosiasi sempurna), sedangkan untuk asam lemah hanya sebagian kecil molekul yang terurai. Penguraian asam lemah yang sangat sedikit menyebabkan setiap asam lemah memiliki K_a atau konstanta disosiasi yang khas. Setiap asam akan memiliki nilai K_a atau konstanta disosiasi yang berbeda-beda. Asam kuat memiliki nilai K_a yang lebih besar sedangkan asam lemah memiliki nilai K_a yang lebih kecil.

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

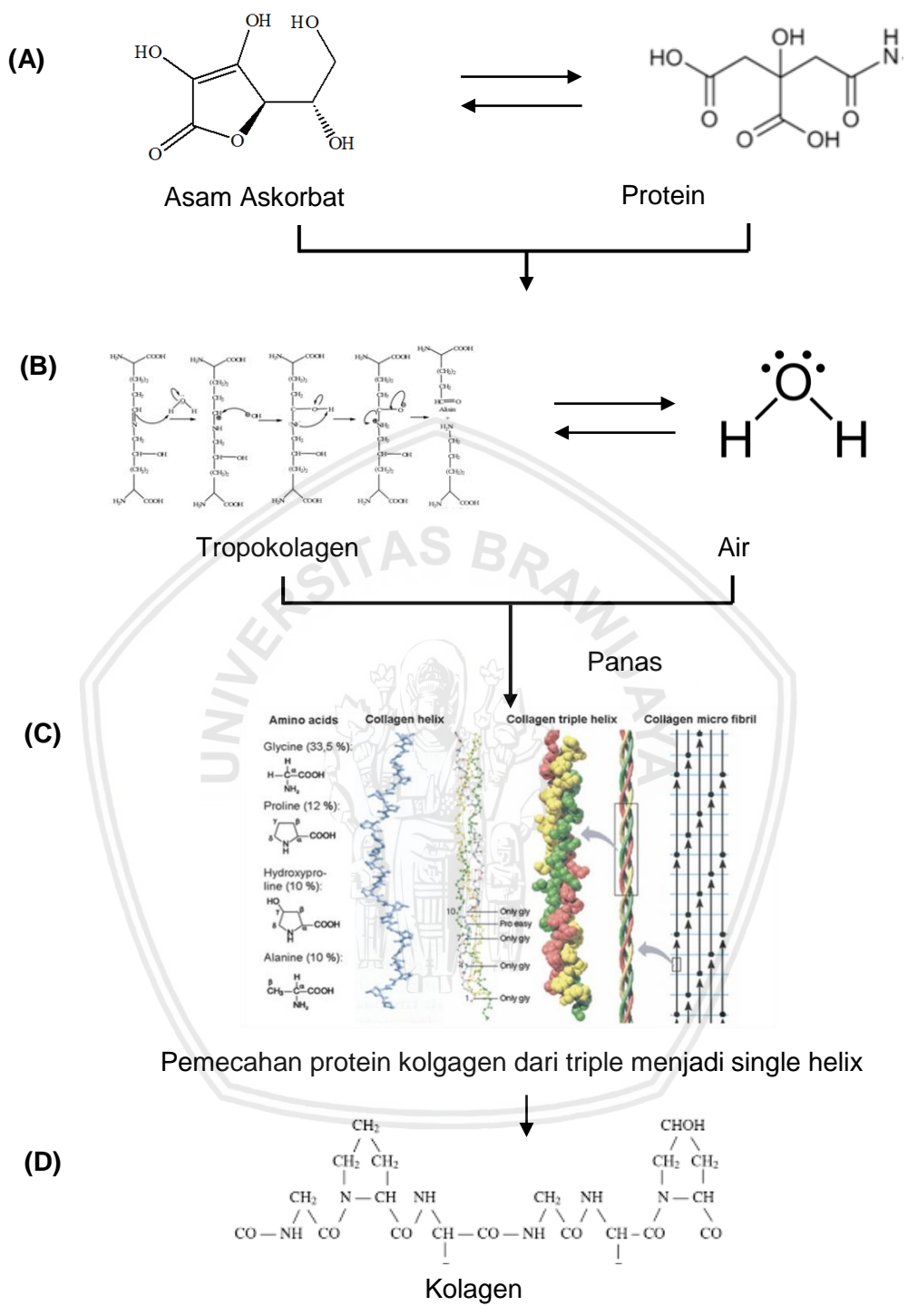
Sebaliknya, asam lemah hanya mengionisasi sebagian dan reaksi ionisasi dapat dibalik. Dengan demikian, asam lemah adalah asam yang tidak sepenuhnya terdisosiasi dalam larutan.

Kekuatan asam tergantung pada seberapa banyak asam itu terlepas: semakin banyak terlepas, menunjukkan 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 membrane plasma ke sitoplasma, dimana adanya pertemuan dari nilai pH yang mendekati netral lalu dipaksa untuk menjadi ion yang bermuatan atau memiliki muatan. Kemudian ion yang sudah bermuatan tidak dapat kembali melintasi membran dan dengan demikian anion akan terkonsentrasi didalam sel. Disosiasi dari masing-masing molekul asam lemah akan melepas proton dan sitoplasma akan meningkat keasamaanya (Lambert dan Stratford, 1996).

Proses perendaman dengan asam askorbat bertujuan untuk mengkonversi kolagen menjadi bentuk yang sesuai untuk ekstraksi, yaitu dengan adanya interaksi ion H^+ 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 penggembungan (swelling) yang dapat membuang material-material yang tidak diinginkan, seperti lemak dan protein non-kolagen pada kulit dengan kehilangan kolagen yang minimum. Swelling merupakan penggembungan kulit akibat adanya proton yang masuk dalam struktur kulit yang

kehilangan mineral atau adanya ruang kosong yang terdapat ditropokolagen. Adanya ruang kosong ini merupakan jalan masuk ion-ion H^+ dari asam. Ion H^+ akan berinteraksi dengan gugus karboksil sehingga dapat merubah ikatan inter dan antar molekul tropokolagen (Samosir *et al.*, 2018). Proses hidrolisis asam askorbat dapat dilihat pada Gambar 7.





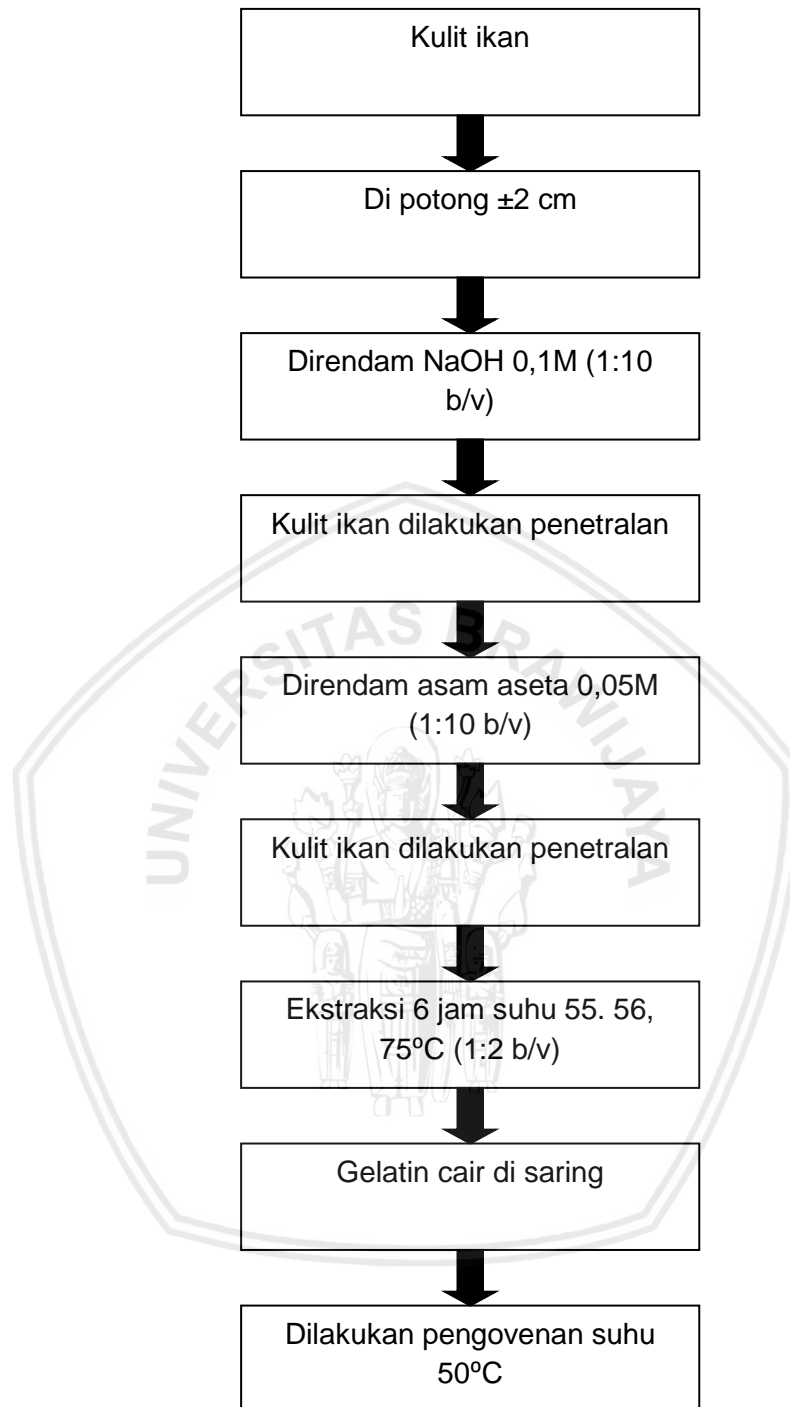
Gambar 7. Proses Hidrolisis Asam Askorbat

Gambar diatas menunjukkan bahwa hidrolisis asam askorbat dengan protein kolagen kulit ikan (A), Proses selanjutnya menghasilkan tropokolagen dan air (B), Kemudian dipecah saat ekstraksi dari triple helix menjadi single helix (C), Tahap akhir akan menghasilkan gelatin (D).

2.7 Proses Pembuatan Gelatin

Proses pembuatan gelatin dapat dibagi menjadi menjadi dua macam yaitu proses asam dan proses basa. Perbedaan kedua proses ini terletak pada proses perendamannya. Berdasarkan kekuatan kovalen silang protein dan jenis bahan yang diekstrak, maka penerapan jenis asam maupun basa organik dan metode ekstraksi lainnya seperti lama hidrolisis, pH, dan suhu akan berbeda-beda (Glisenan *et al.*,2017).





Gambar 8. Proses Pembuatan Gelatin
Sumber : Nurilmara *et al.* (2017)

Proses ekstraksi gelatin kulit ikan menurut Nurilmara *et al.* (2017) yaitu diawali dengan proses perendaman kulit ikan basah yang berukuran ± 2 cm dengan larutan NaOH 0,1 M untuk menghilangkan protein non-kolagen. Perbandingan sampel dengan larutan NaOH yaitu 1:10 (b/v). Perendaman

dilakukan selama 2 jam pada suhu ruangan dengan pengadukan, dimana larutan NaOH diganti setiap 40 menit sekali. Kulit ikan tersebut dinetralkan dengan akuades. Proses selanjutnya yaitu hidrolisis kulit menggunakan larutan asam asetat (CH_3COOH) 0,05 M selama 30 menit sambil diaduk dengan perbandingan sampel dan pelarut 1:10 (b/v). Sampel dinetralkan dengan akuades, kemudian diekstraksi menggunakan akuades selama 6 jam pada suhu 55°C, 65°C dan 75°C dengan perbandingan sampel dan pelarut 1:2 (b/v). Hasil ekstraksi yang diperoleh merupakan gelatin cair. Proses selanjutnya yaitu pengeringan dengan mesin evaporator pada suhu 50°C.

Proses pembuatan gelatin menurut Agustin dan Sompe, (2015), meliputi persiapan bahan, pembuatan gelatin, pencetakan gelatin dan pengujian gelatin. Bahan-bahan pendukung yang dibutuhkan antara lain: asam asetat CH_3COOH , aquades, kain panel, kertas saring dan indikator PP. Peralatan utama yang digunakan dalam proses produksi gelatin antara lain: *waterbath*, oven elektrik, timbangan analitik, gelas kimia, corong gelas, gelas ukur, termometer, ember dan pisau untuk proses buang bulu. Gelatin yang diperoleh dari kulit ikan dengan proses asam lebih baik dibandingkan dengan proses basa karena proses asam mampu mengubah serat kolagen triple heliks menjadi rantai tunggal. Kulit ikan tuna direndam dalam air suhu 50°C selama 30 menit untuk menghilangkan sisiknya. Selanjutnya dicuci, dipotong dengan ukuran $\pm 1 \text{ cm}^2$. Kulit ikan tuna yang sudah dipotong kecil-kecil direndam dalam larutan asam asetat 3%, 6% dan 9% sesuai perlakuan (b/v) selama 48 jam. Setelah proses perendaman selesai, kulit dicuci dengan air mengalir diulang sebanyak tiga kali sampai pH netral. Kulit yang sudah dicuci selanjutnya diekstraksi dalam *waterbath* suhu 55°C selama 5 jam dan selanjutnya dilakukan pemekatan dan pendinginan. Perbandingan kulit kaki ayam: larutan perendam 1 : 3 untuk masing-masing perlakuan. Proses berikutnya yaitu penyaringan larutan gelatin

dengan menggunakan kertas saring. Larutan gelatin yang diperoleh masing-masing sebanyak ± 300 ml dituang ke dalam wadah berukuran 30,5 cm x 30,5 cm, kemudian dikeringkan dalam oven suhu 60°C selama 48 jam. Gelatin yang diperoleh kemudian dihaluskan menggunakan blender dan disimpan dalam desikator untuk analisis lebih lanjut. Peralatan-peralatan pendukung untuk proses analisis antara lain: *Texture Analyser* model TAXT2 (*Stable Microsystem*, UK), *Viscometer Brookfield* RTV, pH meter 2 elektrode (Consort P901, ECC), dan peralatan untuk pengujian proksimat.

2.8 Karakteristik Fisika Kimia Gelatin

Karakteristik dalam pembuatan gelatin kulit ikan kakap merah meliputi karakteristik fisika kimia. Menurut Rahmawati dan Pranoto (2016), yang termasuk karakteristik fisika meliputi viskositas dan kekuatan gel (gel strength). Menurut Gunawan *et al.*, (2017), karakteristi fisika lainnya yaitu derajat keasaman (pH). Ditambahkan oleh Saleh dan Syamsuar (2011), rendemen juga termasuk karakteristik fisika gelating kulit ikan. Ditambahkan oleh Leksono *et al.*, (2014), komposisi proksimat gelatin ditentukan dengan kadar protein, karbohidrat, lemak, dan abu.

2.8.1 Viskositas

Viskositas menunjukkan kekentalan yang dihasilkan dari suatu bahan. Nilai viskositas yang tinggi menunjukkan stabilitas yang tinggi pula. Stabilitas yang tinggi disebabkan adanya interaksi antara muatan ion yang kuat antar asam amino yang bersifat lipofilik dengan fase minyak dan asam amino yang bersifat lipofilik dengan fase air (Suryanti *et al.*, 2017). Menurut (Hermanto *et al.*, 2014), Viskositas (kekentalan) merupakan parameter fisik gelatin yang sangat

berhubungan dengan kekuatan gel. Nilai viskositas dipengaruhi oleh beratmolekul dan panjang rantai asam amino gelatin. Perbedaan nilai viskositas dapat 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.

2.8.2 Kekuatan Gel

Kekuatan gel merupakan ukuran gel yang terbentuk dari larutan sesuai kondisi tertentu. Ukuran kekuatan gel dinyatakan dalam bloom. Bloom merupakan ukuran (berat) yang diperlukan untuk menekan area yang ditentukan dari permukaan sampel dengan jarak 4mm (Hidayat *et al.*, 2016). Menurut (Ulfah, 2013), Pembentukan gel gelatin terjadi karena pengembangan molekul gelatin pada waktu pemanasan. Panas akan membuka ikatan-ikatan pada molekul gelatin dan cairan yang semula bebas mengalir menjadi terperangkap di dalam struktur tersebut, sehingga terbentuk gel yang kental.

2.8.3 Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasam (pH) merupakan salah satu parameter untuk menentukan kemunduran mutu dengan cara mengukur banyaknya ion H^+ . pH larutan gelatin (1%) pada umumnya sekitar 5 tetapi pada dasarnya bisa berubah-ubah. Pengukuran ini dilakukan menggunakan alat pH meter. Besarnya nilai pH sampel adalah pembacaan jarum petunjuk pH setelah kedudukan skalanya konstan (Finarti *et al.*, 2018). Ditambahkan oleh (Hermanto *et al.*, 2014), Pengukuran nilai pH larutan gelatin penting dilakukan karena pH larutan gelatin mempengaruhi sifat-sifat yang lainya seperti viskositas dan kekuatan gel. Gelatin

dengan pH rendah mempunyai keuntungan yaitu tahan terhadap kontaminasi mikroorganisme. Menurut Tazwir *et al.*, (2007), Tinggi rendahnya nilai pH disebabkan karena penggunaan larutan asam. Saat perendaman dengan larutan asam terjadi pengembangan sehingga ion H^+ masuk ke dalam rongga sehingga larutan asam yang tidak bereaksi terserap di dalam kolagen yang mengembang dan terperangkap dalam jaringan fibril kolagen sehingga sulit untuk dinetralkan. Larutan yang terperangkap akan terbawa saat proses ekstraksi sehingga nilai pH menjadi rendah. Menurut Santoso *et al.*, (2015), Semakin tinggi nilai pH larutan perendaman maka konsentrasi larutan asam yang diserap selama perendaman mengalami penurunan karena tidak ada larutan yang terperangkap sehingga mudah saat dinetralkan.

2.8.4 Rendemen

Rendemen merupakan perbandingan adari jumlah gelatin kering yang dihasilkan. Rumus rendemen yaitu berat akhir dibagi dengan berat awal dan dikalikan seratus persen. Semakin tinggi nilai rendemen menunjukkan bahwa gelatin yang dihasilkan semakin baik (Hidayat *et al.*, 2016). Menurut Finarti *et al.*, (2018), Rendemen merupakan parameter yang digunakan sebagai dasar perhitungan analisis finansial, memperkirakan jumlah bahan baku untuk memproduksi bahan dalam volume tertentu dan mengetahui tingkat efisiensi dari suatu proses pengolahan

2.8.5 Kadar Protein

Kadar protein merupakan sumber asam-asam amino yang tersusun atas unsur C, H, O, dan N yang tidak dimiliki oleh lemak atau karbohidrat. Molekul protein juga mengandung fosfor, belerang, dan terdapat jenis protein yang

mengandung unsur seperti besi dan tembaga. Di dalam tubuh, protein akan dipecah menjadi komponen, komponen yang lebih kecil yaitu asam amino dan atau peptida. Protein dapat digolongkan berdasarkan struktur susunan molekulnya, kelarutannya, adanya senyawa lain dalam molekul, tingkat degradasi, dan fungsinya. Protein berdasarkan susunan molekulnya dibagi menjadi 2 yaitu protein fibriler atau skleroprotein dan protein globuler atau sferoprotein. Protein berdasarkan kelarutannya dapat dibagi menjadi beberapa grup yaitu albumin, globulin, glutelin, prolamin, histon, dan protamin. Protein berdasarkan senyawa lain yaitu protein konyugasi, sedangkan protein yang tidak mengandung senyawa non protein disebut protein sederhana. Protein berdasarkan tingkat degradasi dibagi menjadi 2 yaitu protein alami dan turunan protein. Protein memiliki berbagai macam fungsi bagi tubuh yaitu sebagai enzim, zat pengatur pergerakan, pertahanan tubuh, alat pengangkut, dan lain sebagainya. Kebutuhan protein pada laki-laki dewasa yaitu sebesar 0,57 g/kg berat badan perhari dan 0,54 g/kg berat badan per hari untuk wanita dewasa (Winarno, 2004).

2.8.6 Kadar Karbohidrat

Kadar karbohidrat merupakan sumber kalori dengan jumlah kalori yang dihasilkan dalam 1 gram karbohidrat yaitu 4 kal (kkal). Beberapa karbohidrat menghasilkan serat-serat (*dietary fiber*) yang berguna bagi pencernaan. Karbohidrat mempunyai peranan penting dalam menentukan karakteristik bahan makanan seperti rasa warna, tekstur, dan lain-lain. Pada umumnya karbohidrat dapat dikelompokkan menjadi beberapa jenis. Jenis-jenis karbohidrat yaitu monosakarida, oligosakarida, serta polisakarida. Monosakarida merupakan molekul yang terdiri dari lima atau enam atom C. Oligosakarida merupakan

polimer dengan derajat polimerisasi 2 sampai 10 dan memiliki sifat larut dalam air. Polisakarida adalah polimer yang terdiri lebih dari monomer monosakarida dimana molekul polisakarida dapat berantai lurus atau bercabang serta dapat dihidrolisis dengan enzim-enzim yang kerjanya spesifik (Winarno, 2004).

2.8.7 Kadar air

Kadar air merupakan komponen penting dalam bahan makanan karena air dapat mempengaruhi penampakan, tekstur, serta cita rasa makanan. Kandungan air dalam bahan pangan juga dapat menentukan acceptability, kesegaran, dan daya tahan suatu bahan. Molekul pada air terdiri atas atom oksigen yang berikatan kovalen dengan dua atom hydrogen. Hydrogen dan oksigen memiliki daya padu yang cukup besar. Semua atom dalam molekul air terjalin menjadi satu oleh ikatan yang kuat dimana hanya dapat dipecahkan oleh perantara yang paling agresif misalnya zat kimia seperti kalium. Sebuah atom oksigen mempunyai sebuah inti dengan 8 proton. Sedangkan atom hydrogen memiliki kulit tunggal di sekeliling intinya (Winarno, 2004).

2.8.8 Kadar lemak

Kadar lemak sangat berpengaruh terhadap mutu produk pangan selama penyimpanan. Gelatin yang bermutu tinggi diharapkan memiliki kandungan lemak yang rendah. Kadar lemak yang tidak melebihi batas 5% merupakan salah satu persyaratan mutu penting gelatin. Tinggi kadar lemak dapat menyebabkan kurang memungkinkan untuk menyimpan gelatin dalam waktu yang relative lama tanpa menimbulkan perubahan mutu yg berarti (Prihatiningsih *et al.*, 2014).

2.8.9 Kadar abu

Kadar abu sangat ditentukan oleh bahan baku yang digunakan dan metode pembuatan gelatin. Selain itu kadar abu juga dipengaruhi oleh keberadaan mineral dari suatu bahan, semakin banyak mineral maka akan semakin banyak yang akan diuraikan dan tertinggal dalam larutan (ekstraksi) yang akan terukur menjadi kadar abu (Saputra *et al.*, 2015).

2.9 Asam Amino

Asam amino adalah penyusun protein yang dapat mengalami penurunan saat proses pencucian. Terdapat dua jenis asam amino yaitu esensial dan non esensial. Asam amino esensial meliputi lisin, leusin, isoleusin, fenilalanin, valin, treonin, histidin, metionin, triptopan, dan arginin. Asam amino non esensial meliputi asam glutamat, alanin, prolin, asam aspartat, tirosi, glisin, dan serin (Wijayanti *et al.*, 2014).

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. Terdapat dua jenis asam amino yaitu esensial dan non esensial. Asam amino esensial menurut Suprayitno (2014), adalah metionin, leucin, isoleucin, valin, fenilalanin, lisin, arginin, dan histidin serta asam amino asam aspartat. Asam amino non esensial meliputi asam glutamat, glisin, alanin, prolin, tirosin, hidrosiprolin, dan ammonia. Ditambahkan oleh Agustina *et al.*, (2014), histidin merupakan asam amino yang bersifat toksik. Menurut Nurcahyanti dan Suprayitno, (2019), Asam amino adalah konstituen protein yang dibutuhkan oleh makhluk hidup. Asam

amino terbagi menjadi 2, yaitu asam amino esensial dan asam amino non-esensial. Asam amino dapat digunakan untuk memperbaiki sel-sel jaringan yang rusak, melindungi hati dari zat beracun, menurunkan tekanan darah, mengatur metabolisme, dan mengurangi kadar amonia dalam darah. Selain asam amino, asam lemak juga memiliki peran penting dalam tubuh.

Asam amino merupakan sebuah gugus yang terdiri dari gugus amino, sebuah gugus karboksil, sebuah atom hydrogen, dan gugus R yang terikat pada sebuah atom C. Gugus R merupakan rantai cabang sedangkan atom C merupakan karbon. Asam amino dalam kondisi netral berada dalam bentuk ion dipolar atau disebut ion zwitter. Pada asam amino yang polar, gusus amino mendapat tambahan sebuah proton dan gugus karboksil terdisosiasi. Molekul protein tersusun dari sejumlah asam amino sebagai bahan dasar yang saling berkaitan dengan satu sama lain. Terdapat 24 jenis rantai cabang yang berbeda ukuran, bentuk, reaktivitas, dan muatannya (Winarno, 2004). Menurut Firdayanti dan Suprayitno, (2019), Asam amino yang membentuk gelatin terikat satu sama lain melalui ikatan peptida untuk membentuk gelatin dengan unit penataan ulang Gly-X-Y, di mana X adalah prolin dan Y adalah hidroksiprolin. Komposisi dan urutan asam amino gelatin berbeda satu sama lain tergantung pada spesies dan jenis jaringan tetapi selalu mengandung kadar glisin, prolin, hidroksiprolin yang tinggi.

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2018 sampai Februari 2019 di Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perikanan Divisi Penanganan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

3.1.2 Alat Penelitian

Alat yang akan digunakan pada penelitian terdiri dari alat untuk pembuatan gelatin kulit ikan kakap merah (*Lutjanus argentimaculatus*) dan alat analisis.

Alat yang akan digunakan pada pembuatan gelatin kulit ikan kakap merah antara lain yaitu *waterbath*, beaker glass 1000 ml, beaker gelas 500 ml, nampan, oven, pisau, baskom, *thermometer*, bola hisap,, gunting, sendok, pipet volume, spatula, gelas ukur 100 ml, pH meter, corong, dan timbangan digital. Alat yang digunakan untuk analisis gelatin kulit ikan kakap merah diantaranya adalah oven, mortal dan alu, timbangan analitik, timbangan digital, spatula, gelas ukur, pH meter, *waterbath*, nampan, *sentrifuge*, gelas piala, tanur, cawan, *erlenmeyer*, tanur, tabung soxhlet, tabung reaksi, botol film, pipet volume, grinder, hot plate, desikator, *magnetic stirrer*, tabung reaksi, dan UPLC *Water Associates*.

3.1.3 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan terdiri dari bahan baku, bahan untuk ekstraksi gelatin ikan kakap merah, dan bahan pendukung. Bahan baku yang

digunakan diantaranya adalah, kulit ikan kakap merah (*Lutjanus argentimaculatus*) yang didapat dari PT. Alam Jaya Surabaya. Bahan-bahan yang digunakan dalam ekstraksi pembuatan gelatin kulit ikan kakap merah yaitu larutan asam askorbat dan larutan NaOH yang didapatkan dari toko Makmur. Bahan-bahan lain yang digunakan yaitu air, tissue, pH paper, plastik bening, kertas saring, kapas, kertas label, dan aquadest.

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Metode

Metode yang dilakukan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental. Menurut Nazir (2014), metode ekperimental merupakan suatu metode observasi di bawah kondisi buatan (*artificial condition*) dimana kondisi tersebut oleh peneliti diatur dan dibuatnya sehingga penelitian dilakukan dengan memanipulasi suatu objek yang akan diteliti serta adanya suatu kontrol terhadap obyek tersebut. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menyelidiki adanya hubungan sebab-akibat serta seberapa besar hubungan tersebut. Penelitian ini dilakukan dengan memberikan perlakuan-perlakuan tertentu pada obyek eksperimen dan menyediakan kontrol untuk perbandingan.

Penelitian secara ekperimental pada umumnya dilakukan dalam laboratorium atau suatu tempat dalam kondisi terkendali dan merupakan bagian dari penelitian kuantitatif. Penelitian dengan metode ini secara garis besar terdiri dari pra eksperimen (penelitian pendahuluan), eksperimen sesungguhnya dan eksperimen faktorial serta eksperimen kuasi (Kumalaningsih, 2017).

Metode pembuatan gelatin kulit ikan kakap merah dilakukan menggunakan perlakuan lama ekstraksi yang berbeda untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan gelatin yang dihasilkan. Pada pembuatan gelatin ini

dilakukan secara dua tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui berapa lama ekstraksi terbaik dalam pembuatan gelatin kulit ikan kakap merah. Penelitian utama yang dilakukan hampir sama dengan penelitian pendahuluan. Penelitian utama dilakukan untuk mengetahui nilai rendemen, viskositas, gel strength (kekuatan gel), derajat keasaman, kadar protein, kadar karbohidrat, kadar air, kadar lemak, kadar abu, dan analisis profil asam amino gelatin kulit ikan kakap merah.

3.2.2 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.

Pada penelitian ini yang terdapat dua variabel yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini yaitu lama ekstraksi yang berbeda yaitu pada penelitian pendahuluan menggunakan variasi lama ekstraksi selama 2 jam, 4 jam, dan 6 jam. Sedangkan pada penelitian utama variasi lama ekstraksi yang digunakan adalah 5 jam, 6 jam, dan 7 jam. Variabel terikat pada penelitian ini yaitu rendemen, viskositas, gel strength, kadar protein, kadar karbohidrat, kadar lemak, kadar abu, kadar air, dan profil asam amino (untuk perlakuan terbaik).

3.3 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian yang dilakukan terdiri dari dua tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Tahap pertama yang dilakukan yaitu penelitian pendahuluan . penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui lama ekstraksi terbaik pada pembuatan gelatin kulit ikan kakap merah. Perlakuan yang digunakan pada penelitian pendahuluan yaitu variasi lama ekstraksi selama 2 jam, 4 jam, dan 6 jam. Hal ini didasarkan pada penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Hidayat *et al.*, (2016) dan Trilaksani *et al.*, (2012), dengan

modifikasi perbedaan lama ekstraksi. Setelah dilakukan penelitian pendahuluan didapatkan lama ekstraksi terbaik yang kemudian akan dilanjutkan pada tahap penelitian utama. Penelitian utama yang dilakukan hampir sama dengan penelitian pendahuluan yaitu untuk mengetahui rendemen, viskositas, gel strength (kekuatan gel), kadar protein, kadar karbohidrat, kadar lemak, kadar abu, kadar air, dan analisis profil asam amino.

Prosedur penelitian pada proses pembuatan gelatin kulit ikan kakap merah (*Lutjanus argentimaculatus*) terdapat empat tahap yaitu tahap degreasing, demineralisasi, tahap ekstraksi, dan proses pengeringan.

a. Tahap Degreasing

Tahap degreasing dilakukan dengan membersihkan bahan baku. Bahan baku yang digunakan yaitu kulit ikan kakap merah. Kulit ikan kakap merah dibersihkan dari sisa-sisa daging, sisik, dan lapisan luar yang mengandung deposit lemak yang tinggi. Selanjutnya kulit ikan kakap merah di potong kecil-kecil menggunakan gunting dengan ukuran 2-3 cm tujuannya untuk memperluas permukaan. Proses selanjutnya yaitu kulit ikan direndam dalam larutan NaOH selama 2 jam untuk penghilangan lemak (degreasing). Selanjutnya dicuci dengan air mengalir hingga pH netral.

b. Tahap Demineralisasi

Tahap demineralisasi dilakukan setelah proses degreasing. Bahan baku yang telah melalui tahap degreasing kemudian direndam pada larutan asam askorbat dengan konsentrasi 2% selama 20 jam hingga terbentuk *ossein* (kulit lunak yang dihasilkan). Proses selanjutnya *ossein* yang terbentuk dilakukan pencucian dengan air mengalir hingga pH netral.

c. Tahap Ekstraksi

Tahap ekstraksi dilakukan dengan cara *ossein* yang dihasilkan setelah proses demineralisasi dimasukkan pada beaker glass dan ditambahkan dengan

aquades. Perbandingan yang digunakan antara kulit dan aquades yaitu 1:4 (b/v). Proses selanjutnya yaitu dilakukan ekstraksi dalam *waterbath* pada suhu 50°C dengan variasi lama ekstraksi yaitu 5 jam, 6 jam, dan 7 jam. Selanjutnya dilakukan penyaringan dengan kertas saring yang dilapisi menggunakan kapas untuk memisahkan filtrat dan residu.

d. Tahap Pengeringan

Tahap pengeringan merupakan tahap akhir dalam pembuatan gelatin kulit ikan kakap merah. Pada tahap ini cairan hasil penyaringan kemudian dituangkan ke dalam nampan yang sebelumnya telah dilapisi dengan plastik. Kemudian dilakukan pengeringan ke dalam oven menggunakan suhu 55°C selama 24 jam. Setelah kering akan membentuk lembaran gelatin yang kemudian dilakukan penimbangan untuk mengetahui berat gelatin yang dihasilkan. Selanjutnya dilakukan analisis terhadap nilai rendemen, viskositas, gel strength, derajat keasaman, kadar protein, kadar karbohidrat, kadar air, kadar lemak, kadar abu, dan profil asam amino.

3.3.1 Penelitian Pendahuluan

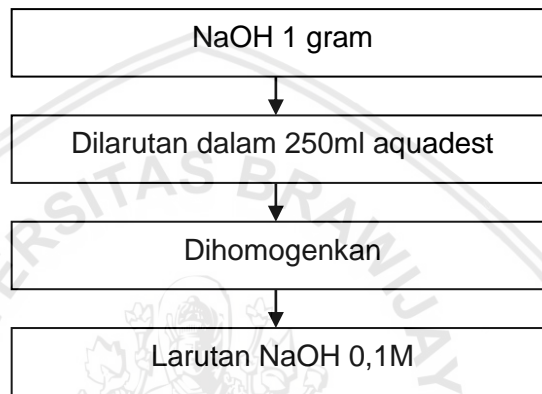
Penelitian pendahuluan dilakukan proses pembuatan gelatin untuk mengetahui lama ekstraksi yang terbaik. Proses pembuatan gelatin kulit ikan kakap merah terdiri dari tahap preparasi bahan dan pembuatan gelatin.

a. Tahap Preparasi Bahan

Tahap preparasi bahan diawali dengan memisahkan daging dari kulit yang menempel. Selanjutnya dilakukan proses pemotongan kulit 2-3 cm tujuannya untuk memperluas permukaan. Kemudian NaOH 0,1M dilakukan pengenceran yang dilarutkan dalam 1000 ml aquades dimana yang digunakan dalam pembuatan gelatin kulit ikan kakap merah sebanyak 1 gr dalam 250 ml

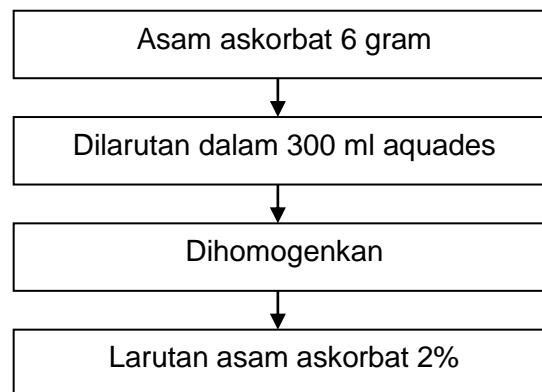
repository.ub.ac.id

aquades dan dihomogenkan menggunakan spatula. Tujuan dari perendaman NaOH menurut Wijaya *et al.*, (2015) untuk memaksimalkan proses *degreasing*, yaitu proses mengikis lemak pada bahan baku. Natrium hidroksida mampu mengikis lemak dikarenakan natrium hidroksida yang dilarutkan dalam air memiliki sifat panas sehingga dapat mengikis lemak. Pembuatan larutan NaOH dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 9. Proses Pembuatan Larutan NaOH 0,1M

Tahap preparasi larutan selanjutnya yaitu menggunakan asam. Larutan asam yang digunakan adalah asam askorbat dengan konsentrasi 2%. Tahap pertama asam askorbat diambil sebanyak 6 gram. Kemudian dilarutkan dalam 300 ml aquades dan dihomogenkan. Diagram alir pembuatan larutan asam askorbat dapat dilihat pada Gambar 9.

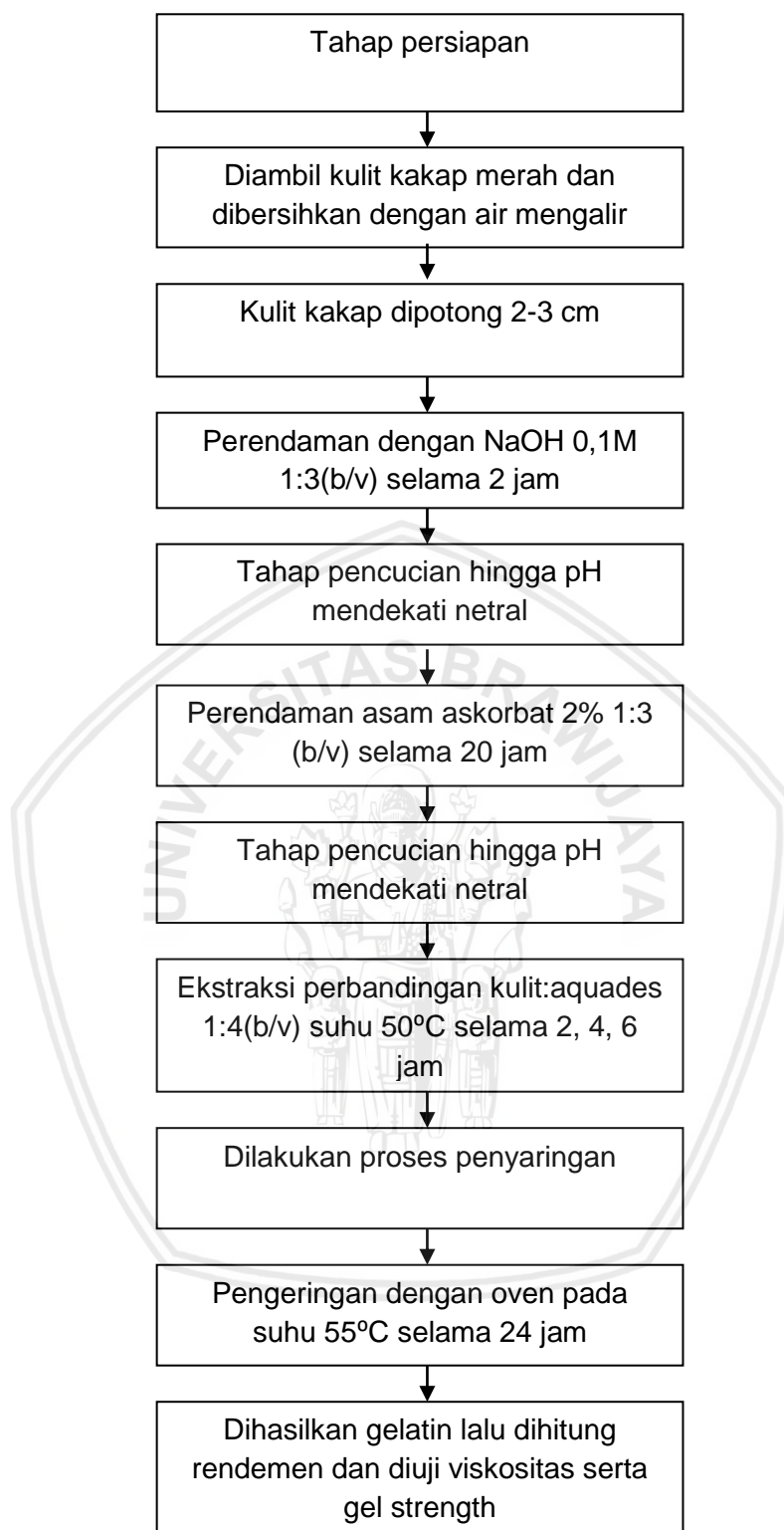


Gambar 10. Proses Pembuatan Larutan Asam Askorbat 2%

b. Pembuatan Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah

Pembuatan gelatin kulit ikan kakap mengacu pada Hidayat *et al.*, (2016) dan Trilaksani *et al.*, (2012), dengan modifikasi perbedaan lama ekstraksi.

Kulit ikan dibersihkan dari kotoran dengan air mengalir. Kemudian dihilangkan daging dan sisik yang menempel pada kulit ikan. Selanjutnya yaitu proses pengecilan ukuran kulit dengan ukuran 2-3 cm dan dicuci dengan air mengalir. Tujuan pengecilan ukuran yaitu untuk memperluas permukaan serta dapat mempermudah pelarutan protein kolagen yang terdapat pada kulit. Kulit ikan selanjutnya direndam dalam larutan NaOH 0,1M dengan perbandingan 1:3 (b/v) selama 2 jam. Tahap selanjutnya yaitu kulit ikan dilakukan proses penetralan hingga pH mendekati netral. Kulit ikan kemudian dilakukan perendaman dengan larutan asam askorbat dengan perbandingan 1:3 (b/v) selama 20 jam dan dinetralkan hingga pH mendekati netral. Kemudian dilakukan proses ekstraksi dengan perbandingan kulit : aquades 1:4 (b/v) dengan suhu 50°C dengan variasi waktu ekstraksi selama 2 jam, 4 jam, dan 6 jam. Tahap selanjutnya yaitu proses penyaringan yang dilakukan dengan kertas saring dan dilapisi kapas yang bertujuan untuk memisahkan filtrat dan residu. Hasil cairan yang telah dilakukan penyaringan kemudian diletakkan pada nampan. Selanjutnya dilakukan tahap pengeringan menggunakan oven dengan suhu 55°C selama 24 jam. Gelatin yang dihasilkan kemudian dilakukan penimbangan untuk mengetahui rendemen dan dilakukan uji viskositas serta gel strength. Diagram alir pembuatan gelatin kulit ikan kakap dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 11. Diagram Alir Pembuatan Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah (*Lutjanus argentimaculatus*)

Dari penelitian pendahuluan kemudian dilakukan uji viskositas dan gel strength untuk mengetahui hasil akhir gelatin yang didapatkan. Hasil uji viskositas dan gel strength gelatin kulit ikan kakap merah dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Uji Viskositas dan Gel Strength Kulit Ikan Kakap Merah

Perlakuan	Viskositas (cP)	Gel Strength (N)
A	2	1,2
B	3	1,8
C	3	2,3

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

Keterangan :

- A : Perlakuan lama ekstraksi selama 2 jam
- B : Perlakuan lama ekstraksi selama 4 jam
- C : Perlakuan lama ekstraksi selama 6 jam

Viskositas yang dihasilkan pada perlakuan lama ekstraksi 2 jam yaitu 2 (cP), pada lama ekstraksi 4 jam yaitu 3 (cP), dan pada lama ekstraksi 6 jam yaitu sebesar 3 (cP). Sedangkan kekuatan gel yang dihasilkan pada lama ekstraksi selama 2 jam yaitu sebesar 1,2N , pada lama ekstraksi selama 4 jam yaitu sebesar 1,8N dan lama ekstraksi selama 6 jam yaitu 2,3N. Hasil viskositas dan gel strength yang dihasilkan pada sampel menunjukkan bahwa semakin lama ekstraksi maka gelatin yang dihasilkan semakin baik.

Hasil penelitian pendahuluan akan didapatkan lama ekstraksi gelatin terbaik. Hasil terbaik yang didapatkan akan dilanjutkan sebagai penentu range pada penelitian utama. Penentuan hasil terbaik didasarkan pada parameter karakteristik gelatin kulit ikan kakap merah yang dihasilkan. Karakteristik yang digunakan sebagai parameter yaitu nilai rendemen, viskositas, dan gel strength (kekuatan gel). Dari penelitian pendahuluan didapatkan lama ekstraksi terbaik terdapat pada lama ekstraksi 6 jam. setelah didapatkan lama ekstraksi terbaik kemudian dilakukan pengecilan range pada penelitian utama yaitu 5 jam, 6 jam, dan 7 jam.

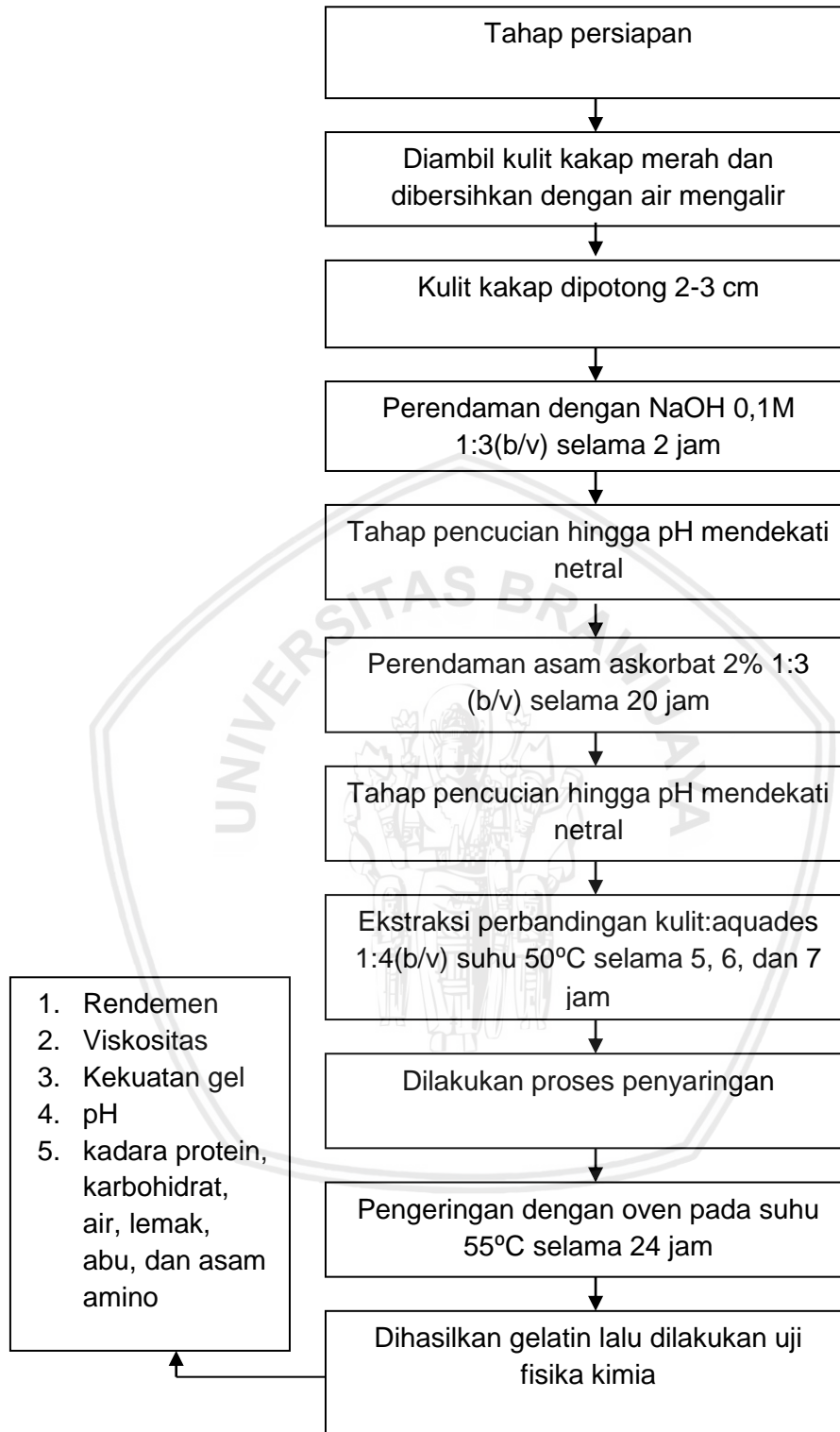
Menurut Hidayat *et al.*, (2016), nilai viskositas memiliki hubungan dengan berat molekul, distribusi molekul, dan rata-rata gelatin. Berat molekul berhubungan dengan rantai asam amino yang dihasilkan. Semakin panjang

rantai asam amino maka semakin tinggi nilai viskositas. Pada perlakuan lama ekstraksi selama 6 jam menghasilkan nilai gel strength tertinggi. Hal tersebut menunjukkan bahwa protein kolagen terhidrolisis secara sempurna.

Kekuatan gel memiliki kaitan dengan sifat gelatin sebagai pembentuk gel. Kekuatan gel sangat penting dalam penentuan perlakuan terbaik dalam proses ekstraksi. Gelatin memiliki sifat mampu mengubah cairan menjadi padatan atau membentuk sol menjadi gel yang bersifat reversible. Tingginya nilai kekuatan gel disebabkan oleh rendahnya komponen non kolagen pada gelatin sehingga dapat mempengaruhi kekuatan gel (Prihardhani dan Yunianta, 2016)

3.3.2 Penelitian Utama

Penelitian utama dilakukan setelah didapatkan lama ekstraksi terbaik pada penelitian pendahuluan. Tahap penelitian utama dilakukan hampir sama dengan penelitian pendahuluan. Perbedaan antara penelitian pendahuluan dan penelitian utama yaitu range yang digunakan pada lama ekstraksi dalam pembuatan gelatin. Penelitian pendahuluan menggunakan lama ekstraksi 2 jam, 4 jam, dan 6 jam. Pada penelitian utama menggunakan lama ekstraksi selama 5 jam, 6 jam, dan 7 jam. parameter uji yang digunakan pada penelitian utama meliputi nilai rendemen, viskositas, gel strength, derajat keasaman (pH), kadar protein, kadar karbohidrat, kadar air, kadar lemak, kadar abu, dan analisis profil asam amino. Prosedur pembuatan gelatin kulit ikan kakap merah dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Diagram Alir Pembuatan Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah (*Lutjanus argentimaculatus*)

3.4 Rancangan Percobaan

Perlakuan yang digunakan dalam pembuatan gelatin kulit ikan kakap merah adalah perbedaan lama ekstraksi dengan variasi 5 jam, 6 jam, dan 7 jam. berdasarkan perlakuan yang ditetapkan maka penelitian dirancang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan. Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Rancangan Acak Lengkap (RAL)

Perlakuan	Konsentrasi Larutan	Ulangan						Total	Rata-rata
		1	2	3	4	5	6		
A	5 Jam	A1	A2	A3	A4	A5	A6	AT	AR
B	6 Jam	B1	B2	B3	B4	B5	B6	BT	BR
C	7 Jam	C1	C2	C3	C4	C5	C6	CT	CR

Keterangan :

A : Perlakuan dengan lama ekstraksi selama 5 jam

B : Perlakuan dengan lama ekstraksi selama 6 jam

C : Perlakuan dengan lama ekstraksi selama 7 jam

Langkah selanjutnya yaitu membandingkan antara F hitung dengan F tabel

1. Jika $F_{hitung} > F_{tabel 1\%}$, maka perlakuan menyebabkan hasil sangat beda nyata
2. Jika $F_{hitung} < F_{tabel 5\%}$, maka perlakuan tidak berbeda nyata
3. Jika $F_{tabel 5\%} < F_{hitung} < F_{tabel 1\%}$, maka perlakuan menyebabkan hasil yang berbeda nyata.
4. Apabila dari hasil perhitungan didapatkan perbedaan yang nyata ($F_{hitung} > F_{tabel 5\%}$), maka dilanjutkan dengan uji BNT untuk menentukan yang terbaik.

3.5 Parameter Uji Gelatin

Parameter uji gelatin yang digunakan meliputi rendemen, gel strength (kekuatan gel), viskositas, pH, kadar protein, kadar karbohidrat, kadar lemak, kadar air, kadar abu, dan analisis profil asam amino.

3.5.1 Rendemen

Rendemen merupakan parameter untuk menilai efektivitas produksi gelatin tulang ikan. Gelatin cair yang telah melalui proses penyaringan dikeringkan menggunakan food dehydrator dengan suhu 60°C selama 3-4 menit. Gelatin yang telah mengering kemudian diambil dan dilakukan proses penimbangan untuk mengetahui hasil akhir rendemen tulang ikan (Pertiwi *et al.*, 2018). Ditambahkan oleh Darwin *et al.*, (2018), Penentuan rendemen gelatin memiliki tujuan untuk melihat keefektifandan efisiensi proses ekstraksi hingga proses pembuatan gelatin dilakukan. Tingginya nilai rendemen akan menunjukkan tingkat efisiensi yang tinggi selama proses pembuatan. 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 dihitung melalui presentase berat gelatin yang dihasilkan dari berat awal bahan baku yang digunakan. Semakin tinggi nilai rendemen pada suatu perlakuan maka semakin tinggi pula tingkat efektivitas perlakuan tersebut. Perbedaan rendemen yang dihasilkan dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain species, umur hewan, kandungan kolagen, dan metode ekstraksi yang digunakan (Hardikawati *et al.*, 2016). Ditambahkan oleh (Sani *et al.*, 2014), rendemen dihitung berdasarkan perbandingan berat akhir dengan berat awal dikalikan 100%. Rendemen merupakan persentase berat produk yang dihasilkan. Persen rendemen menurut Ali *et al.*, (2013), dapat dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{berat sebelum proses} - \text{berat sesudah proses}}{\text{berat sebelum proses}} \times 100\%$$

3.5.2 Gel Strength (Kekuatan Gel)

Gel strength (kekuatan gel) berhubungan dengan sifat khas gelatin sebagai pembentuk gel. Kekuatan gel sangat penting dalam penentuan perlakuan terbaik pada proses ekstraksi gelatin dikarenakan salah satu sifat penting gelatin adalah mampu mengubah cairan menjadi padatan atau mengubah bentuk sol menjadi gel yang bersifat reversible (Prihardhani dan Yunianta, 2016). Kekuatan gel gelatin merupakan parameter yang penting dalam penentuan perlakuan terbaik gelatin karena salah satu sifat penting gelatin adalah mampu mengubah cairan menjadi padatan atau mengubah sol menjadi gel yang reversibel. Pembentukan gel merupakan kemampuan suatu senyawa dalam mengikat air. Perbedaan keberadaan asam amino jenis prolin dan hidroksiprolin juga akan mempengaruhi kekuatan gel gelatin. Tinggi rendahnya kekuatan gel diduga karena terdapat perbedaan kandungan asam amino dan jenis kulit ikan yang digunakan (Aprilyani *et al.*, 2013). Uji gel strength gelatin bertujuan untuk mengetahui kekuatan gel yang terbentuk pada produk gelatin yang dihasilkan (Ananda *et al.*, 2018). Menurut Suptijah *et al.*, (2013), tingkat kekuatan gel dapat juga dipengaruhi oleh jumlah air yang terkandung di dalam bahan pangan tersebut. Adanya serat menyebabkan kandungan air bebas dalam bahan menjadi semakin sedikit, hal tersebut dikarenakan air terserap ke dalam struktur molekul serat.

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

Larutan gelatin dengan konsentrasi 6,67% (b/v) disiapkan dengan akuademineral. Kemudian larutan diambil sebanyak 15 mL. selanjutnya diletakkan pada wadah dengan volume 20 ml. lalu sampel dilakukan proses inkubasi pada suhu 10°C selama 17 jam. kemudian diukur dengan menggunakan alat CT3 Texture Analyzer (Hardikawati *et al.*, 2016).

3.5.3 Viskositas

Viskositas atau kekentalan merupakan sifat yang penting dalam penentuan gelatin. Viskositas sering dimanfaatkan di bidang pengolahan pangan emulsifier, stabilizer atau sebagai penjernih air pada sirup. Kualitas viskositas dipengaruhi oleh dua faktor yaitu perlakuan saat proses pengolahan gelatin dan bahan baku yang digunakan. Viskositas digunakan untuk mengetahui tingkat kekentalan (Rahmawati dan Hasdar, 2017). Ditambahkan oleh Wenno *et al.*, (2016), viskositas digunakan dalam pengujian kualitas, standarisasi kualitas dan proses control selama pemrosesan. Viskositas merupakan persyaratan dalam menentukan kelayakan penggunaan gelatin dalam keperluan industri.

Viskositas atau kekentalan gelatin merupakan salah satu karakteristik fisika gelatin yang cukup penting. Pengujian viskositas dilakukan untuk mengetahui tingkat kekentalan gelatin sebagai larutan pada konsentrasi tertentu. Kualitas viskositas dipengaruhi dua faktor seperti perlakuan saat pengolahan gelatin dan bahan baku gelatin. Kedua faktor ini mampu mempengaruhi panjang pendeknya rantai peptida kolagen gelatin. Faktor perlakuan saat pengolahan gelatin sangat menentukan kualitas fisik seperti perlakuan penggunaan larutan asam dan larutan basa, perlakuan lama perendaman, perlakuan metode ekstraksi. Tingginya rendahnya nilai viskositas sangat dipengaruhi oleh distribusi molekul peptida gelatin dalam larutan serta berat molekul dari peptida gelatin.

Semakin besar berat molekul dari gelatin maka distribusi molekul gelatin dalam larutan semakin lambat sehingga menghasilkan nilai viskositas yang tinggi (Rahmawati dan Hasdar, 2017).

Analisis viskositas dilakukan dengan menggunakan viscometer Brookfield. Larutan gelatin dengan konsentrasi 6,67% (b/b) disiapkan dengan aquadest (7 gram gelatin ditambah 105 ml aquades) kemudian larutan diukur viskositasnya dengan menggunakan alat viscometer Brookfield. Pengukuran dilakukan pada suhu 60°C dengan laju geser 60 rpm menggunakan spindle. Hasil pengukuran kemudian dikalikan dengan faktor konversi. Pengujian dilakukan dengan spindl SC4-31 dengan faktor konversinya adalah satu. Nilai viskositas dinyatakan dalam satuan centipoises (cP) (Pertiwi *et al.*, 2018).

Proses penentuan kekuatan gel berdasarkan British Standard (1975), yang pertama yaitu sampel dilarutkan dalam aquades sampai mencapai volume 100 ml dalam labu takar, kemudian dipindahkan dalam gelas piala 100 ml dipanaskan sebentar sampai gelatin larut kemudian didinginkan pada suhu 10°C selama 17 jam. Gel yang terbentuk selanjutnya dianalisis menggunakan Volland-Stevens LFRA Texture Analyzer dengan satuan bloom (menentukan berat dalam gram dengandiameter 0,5 inci). Hasil dari pengukuran berupa grafik dan diamati tinggi kurva sebelum pecah serta berat beban yang tercatat pada alat saat contoh pecah. Kekuatan gel ditentukan dari grafik yang diperoleh. Rumus untuk menentukan kekuatan gel adalah sebagai berikut:

$$\text{Kekuatan gel (Bloom)} = 20 + 2,86 \times 10^{-3} \times G$$

$$G = F/g$$

Keterangan:

G = Kekuatan Gel (dyne/cm²)

F = Gaya (N)

g = Konstanta (0,07)

3.5.4 Derajat Keasaman (pH)

Derajat Keasaman (pH) adalah salah satu parameter untuk menentukan kemunduran mutu dengan cara mengukur dengan banyaknya ion H^+ . pH larutan gelatin pada umumnya sekitar 5 tetapi dapat berubah-ubah. Pengukuran nilai pH pada gelatin sangat penting dimana akan berkaitan dengan sifat-sifat lain dari gelatin. Derajat keasaman akan berkaitan dengan kualitas viskositas yang dihasilkan, kekuatan gel, kemampuan dalam berikatan dengan air, pengemulsi gelatin serta penggunaan gelatin dalam produk lanjutan. Nilai pH pada gelatin menurut SNI yaitu maksimum 6 (Rahmawati dan Hasdar, 2017). Menurut (Rapika *et al.*, 2016), Tinggi-rendahnya nilai pH gelatin yang dihasilkan dapat disebabkan karena penambahan konsentrasi asam dan waktu perendaman, yang semakin lama semakin banyak asam yang masuk ke dalam jaringan fibril kolagen dan ikut diekstraksi. Semakin rendah konsentrasi dan semakin singkat waktu perendaman akan menghasilkan nilai pH yang baik karena larutan yang digunakan saat perendaman tidak terserap ke dalam jaringan fibril kolagen. 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. Gelatin dengan pH netral akan bersifat stabil dan penggunaannya akan menjadi lebih luas. Menurut (Sasmitaloka *et al.*, 2017), pH gelatin berhubungan dengan proses ekstraksi yang digunakan dan pH yang dihasilkan tergantung pelarut yang digunakan pada saat perendaman untuk ekstraksi gelatin. Proses asam menghasilkan pH rendah, sedangkan proses basa menghasilkan pH yang tinggi.

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, sirup dan

sebagainya. Nilai pH gelatin ini sangat dipengaruhi oleh jenis larutan perendam yang digunakan untuk mengekstrak gelatin tersebut (Agustin dan Sompie, 2015). Tinggi rendahnya nilai pH disebabkan karena penggunaan larutan asam. Saat perendaman dengan larutan asam terjadi pengembangan sehingga ion H^+ masuk ke dalam rongga sehingga larutan asam yang tidak bereaksi terserap di dalam kolagen yang mengembang dan terperangkap dalam jaringan fibril kolagen sehingga sulit untuk dinetralkan. Larutan yang terperangkap akan terbawa saat proses ekstraksi sehingga nilai pH menjadi rendah. Menurut Santoso *et al.*, (2015), Semakin tinggi nilai pH larutan perendaman maka konsentrasi larutan asam yang diserap selama perendaman mengalami penurunan karena tidak ada larutan yang terperangkap sehingga mudah saat dinetralkan.

Derajat Keasaman (pH) dapat dihitung dengan cara yaitu larutan gelatin dengan konsentrasi 6,67% (b/b) disiapkan dengan aquadest. Larutan sampel dipanaskan pada suhu $70^{\circ}C$ dan dihomogenkan dengan magnetic stirrer. Kemudian diukur derajat keasaman pada suhu kamar dengan pH meter (Yenti *et al.*, 2015).

3.5.5 Kadar Protein

Kadar protein merupakan komponen makro molekul utama yang dibutuhkan makhluk hidup. Fungsi protein lebih diutamakan sebagai sintesis protein-protein baru sesuai kebutuhan. Protein pada elemen makro dan mikro seperti vitamin dan mineral dapat berinteraksi untuk melakukan fungsi yang berbeda dalam tubuh (Susanti dan Hidayat, 2016). 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. Protein diklasifikasikan berdasarkan fungsi biologinya antara lain protein sebagai enzim, protein pembangun, protein pengangkut, protein hormon, protein kontraktil, protein bersifat racun, dan protein cadangan. Beberapa protein mengandung unsur belerang, fosfor, dan terdapat protein yang mengandung logam seperti tembaga dan besi. Protein berperan dalam jaringan otot tulang yaitu protein myofibril dan protein pengikat. Protein tersusun atas unsur karbon, hydrogen, dan oksigen serta ditambah dengan unsur lain yaitu nitrogen (Suprayitno dan Sulistiyati, 2017). Ditambahkan oleh Suprayitno (2017), protein pada organisme hidup dipengaruhi oleh penggantian protein. Proses tersebut terjadi degradasi pada protein sebagai akibatnya mensitesa protein baru.

Penentuan kadar protein dilakukan dengan menggunakan metode kjeldahl. Prinsip analisis metode kjeldahl adalah menetapkan protein berdasarkan oksidasi bahan berkarbon serta konversi nitrogen menjadi ammonia. Kemudian ammonia akan bereaksi dengan kelebihan asam yang akan membentuk amonium sulfat. Setelah larutan menjadi basa, amonium diuapkan untuk diserap dalam larutan asam borat. Kemudian jumlah nitrogen yang terkandung di dalamnya ditentukan dengan cara titrasi menggunakan HCl. Cara penentuannya yaitu dengan tahap destruksi, tahap destilasi, dan tahap titrasi (Hidayat *et al.*, 2016).

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

2. Tahap destilasi

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

3. Tahap titrasi

Setelah proses destilasi, tahap selanjutnya adalah titrasi. Hasil destilasi yang ditampung dalam erlemeyer berisi asam klorida 0,1 N ditetesi indikator metil merah

sebanyak 5 tetes langsung dititrasi dengan menggunakan larutan natrium hidroksida 0,1 N. Titik akhir titrasi ditandai dengan warna merah muda menjadi kuning. Perlakuan ini dilakukan sebanyak 3 kali untuk tiap sampel.

3.5.6 Kadar Karbohidrat

Kadar karbohidrat adalah komponen bahan pangan yang tersusun atas unsur karbon (C), hidrogen (H), dan oksigen (O). karbohidrat memiliki nilai penting dalam menentukan karakteristik bahan pangan misalnya rasa, warna, tekstur, dan lain sebagainya. Karbohidrat dikelompokkan menjadi beberapa jenis yaitu monosakarida, oligosakarida, dan polisakarida. Terdapat beberapa cara dalam analisis untuk mengetahui kandungan karbohidrat dalam makanan. Cara analisis yang paling mudah digunakan yaitu dengan cara *Carbohydrate by difference*. Perhitungan tersebut dilakukan dengan rumus : % karbohidrat = $100\% - \% (\text{protein} + \text{lemak} + \text{air} + \text{abu})$ (Winarno, 2004).

Karbohidrat mempunyai peranan penting dalam menentukan karakteristik bahan makanan, misalnya rasa, warna, tekstur, dan lain sebagainya. Banyak cara yang dapat digunakan untuk menentukan banyaknya karbohidrat dalam suatu bahan yaitu antara lain dengan cara kimiawi, cara fisik, cara enzimatik dan cara kromatografi. Analisa karbohidrat menurut Soputan *et al.*, (2016), menggunakan metode *by difference*. Analisa kadar karbohidrat dapat dihitung dengan menggunakan persamaan: % Kadar Karbohidrat = $100\% - (\text{kadar air} + \text{kadar abu} + \text{kadar lemak} + \text{kadar protein})$. Kadar karbohidrat yang dihitung secara *by difference* dipengaruhi oleh komponen nutrisi lain yaitu protein, lemak, air, dan abu, semakin tinggi komponen nutrisi lain maka kadar karbohidrat semakin rendah dan sebaliknya apabila komponen nutrisi lain semakin rendah maka kadar karbohidrat semakin tinggi. Karbohidrat merupakan

sumber kalori utama yang berperan dalam menentukan karakteristik bahan makanan seperti warna, rasa, dan tekstur.

3.5.7 Kadar Lemak

Kadar Lemak merupakan lipida yang banyak terdapat di alam, minyak merupakan senyawa turunan ester dari gliserol dan asam lemak. Lemak adalah suatu komponen yang larut dalam pelarut organik seperti kloroform, heksan, dan eter. Lemak yang terdapat pada ikan sangat mudah untuk dicerna oleh tubuh secara langsung dan sebagian besar terdiri asam lemak tak jenuh yang dibutuhkan dalam pertumbuhan. Lemak pada ikan berfungsi dalam menurunkan kolesterol dalam darah (Hafiluddin *et al.*, 2014). Menurut Setiawan *et al.*, (2013), Kadar lemak adalah salah satu kandungan dalam bahan pangan yang dibutuhkan manusia untuk menyimpan energi. Untuk 1g minyak atau lemak dapat menghasilkan 9 kkal, sedangkan karbohidrat dan protein hanya menghasilkan 4 kkal/g. Adanya peningkatan kadar lemak pada bahan pangan diduga disebabkan oleh kandungan air yang mengalami perubahan. Semakin tinggi kadar air, maka kandungan lemaknya akan semakin rendah.

Kadar lemak yang terkandung pada ikan 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 (Pratama *et al.*, 2014),

Penentuan kadar lemak menggunakan metode ekstraksi soxhet. Labu lemak yang akan digunakan dikeringkan ke dalam oven terlebih dahulu dengan temperatur 105°C. Kemudian dilakukan proses pendinginan dalam desikator dan ditimbang. Sebelum pengukuran kadar lemak, sampel 1 gram dilakukan proses hidrolisis terlebih dahulu. Hasil dari proses hidrolisis disaring dan dibungkus dengan selongsong lalu disumbat menggunakan kapas dan dimasukkan ke dalam alat ekstraktor (soxhlet) yang dihubungkan dengan kondensor dan labu lemak. Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi selama 4 jam. labu lemak yang berisi lemak hasil proses ekstraksi kemudian dikeringkan dalam oven dengan temperatur 105°C hingga 5 jam. lalu didinginkan kembali dalam desikator dan ditimbang. Berat lemak dihitung menggunakan rumus perbandingan berat awal dan berat akhir dalam satuan persen (Pertiwi *et al.*, 2018).

3.5.8 Kadar Air

Kadar air merupakan kandungan yang terbesar dalam ikan dan berfungsi sebagai media mikroorganisme untuk berkembang-biak sehingga proses pengasapan ditunjukkan untuk menghilangkan kadar air dalam ikan, dan diharapkan dapat menghambat pertumbuhan organisme tersebut sehingga dapat memperpanjang umur simpan (Hasanah dan Suyatna, 2015). Pengukuran kadar air dilakukan pada suatu produk pangan karena kadar air berhubungan secara langsung. Kadar air menentukan daya awet suatu produk. Kandungan air pada suatu makanan salah satunya dipengaruhi oleh lama waktu penggorengan dimana semakin lama proses penggorengan maka kadar air akan semakin berkurang (Syamsuar dan Ghaffar, 2013).

Metode yang digunakan dalam analisis kadar air yaitu metode oven kering (metode termogravimetri). Menurut Pundoko *et al.*, (2014), dilakukan

dengan menimbang 1-2 gram sampel kedalam cawan yang sudah ditimbang sebelumnya. Kemudian cawan yang berisi sampel tersebut ditutup dan dimasukkan kedalam 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:

$$\% \text{ Kadar Air Basis Kering} = \frac{W_1 - W_2}{W_2} \times 100\%$$

Keterangan:

W1 = berat sampel awal

W2 = berat sampel setelah dikeringkan

3.5.9 Kadar Abu

Kadar abu merupakan zat anorganik sisa hasil pembakaran suatu bahan organik. Kadar abu suatu bahan erat kaitannya dengan kandungan mineral bahan tersebut. Kadar abu merupakan penentuan yang bertujuan untuk mengetahui banyaknya kandungan mineral yang terdapat pada produk. Abu merupakan residu anorganik dari proses pembakaran atau oksidasi komponen organik bahan pangan (Ismed, 2016). Kadar abu menurut Darwin *et al.*, (2018) merupakan zat yang tidak akan habis setelah proses pembakaran zat organik yang meliputi unsur anorganik dan mineral. Kadar abu dapat digunakan sebagai salah satu indikator kemurnian dari gelatin.

Kadar abu dalam suatu bahan pangan merupakan zat anorganik sisa hasil pembakaran suatu bahan organik. Kandungan abu dan komposisinya tergantung pada macam bahan dan cara pengabuan nya. Kadar abu memiliki keterkaitan dengan kadar mineral pada suatu bahan. Tujuan dari penentuan abu total adalah untuk menentukan baik tidaknya suatu proses pengolahan, untuk mengetahui jenis bahan yang digunakan dan berguna sebagai parameter nilai gizi pada suatu bahan pangan (Sulthoniyah *et al.*, 2013). Ditambahkan oleh

(Sada dan Rahman, 2014). Kadar abu dari suatu bahan menunjukkan kandungan mineral yang terdapat dalam bahan tersebut, kemurnian serta kebersihan suatu bahan yang dihasilkan.

Metode yang digunakan dalam analisis kadar abu yaitu metode tanur. Prinsip penentuan kadar abu di dalam bahan pangan yaitu dengan menimbang berat sisa mineral hasil pembakaran bahan organik pada suhu sekitar 550°C. Langkah-langkah analisis kadar abu menurut Rachmania *et al.*, (2013), cawan pengabuan dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam lalu didinginkan selama 15 menit dalam desikator. Cawan porselin tersebut kemudian ditimbang. Sampel sebanyak 2 gram dimasukkan kedalam cawan pengabuan dan dipijarkan di atas nyala api hingga tidak berasap. Sampel dimasukkan dalam tanur pengabuan dengan suhu 600°C selama 6 jam. Cawan berisi sampel didinginkan dalam desikator kemudian ditimbang. Kadar abu dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar Abu} = \frac{\text{berat abu (g)}}{\text{berat sampel (g)}} \times 100 \%$$

3.5.10 Kadar Asam Amino

Kadar asam amino merupakan senyawa yang mengandung asam karboksilat (COOH), gugus amino (NH₂), dan salah satu gugus lainnya terutama dari kelompok 20 senyawa yang memiliki rumus dasar NH₂CHR₁COOH. Asam amino memiliki fungsi sebagai penyusun protein oleh ikatan peptide. Klasifikasi asam amino terdiri dari asam amino essential dan asam amino non essential. Asam amino essential merupakan asam amino yang tidak dapat disintesa oleh hewan atau disintesis dalam jumlah yang sedikit dalam mencukupi atau mendukung pertumbuhan maksimum. Asam amino ini tidak dapat diproduksi oleh tubuh tetapi memiliki peran penting bagi metabolisme protein. Sedangkan asam

amino non essential dapat disintesa dalam jumlah yang cukup di dalam jaringan. Asam amino non essential memiliki peran untuk fungsi sel normal dan dapat disintesis oleh asam amino lain di dalam tubuh. Struktur asam amino secara umum yaitu satu atom C yang mengikat empat gugus. Gugus amino yang diikat yaitu gugus amina (NH_2), atom hidrogen (H), gugus karboksil (COOH), dan satu gugus sisa (R) atau yang biasa disebut dengan gugus rantai samping (Suprayitno dan Sulistiyati, 2017).

Kadar 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 dan peptide berperan secara langsung terhadap flavor produk-produk olahan hasil perikanan. Analisis profil asam amino dapat dilakukan menggunakan HPLC dengan parameter alat: kolom Ultra Techsphere, laju aliran fase mobile 1 mL/menit dan detektor yang digunakan ialah fluorescence. 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).

Menurut Utami *et al.*, (2016), komposisi asam amino ditentukan dengan UPLC (*Ultra Performance Liquid Chromatography*). Sebelum digunakan, perangkat UPLC dan syringe harus dibilas dulu dengan eluen yang akan digunakan selama 2-3 jam dan akuades. Analisis asam amino dengan menggunakan UPLC 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 μ L dan ditambahkan 30 μ 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 μ L 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 UPLC

Hasil saringan diambil sebanyak 20 μ L untuk diinjeksikan ke dalam UPLC. 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:

$$\% \text{ Asam amino} = \frac{\text{luas area sampel}}{\text{luas daerah standar}} \times \frac{C \times Fp \times BM}{\text{Bobot sampel}} \times 100\%$$

Keterangan:

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

fp = faktor pengenceran

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

Kondisi alat UPLC saat berlangsung analisis asam amino sebagai berikut:

Temperatur	: 38°C
Jenis kolom UPLC	: Pico tag 3,9 x 150 nm colomn
Kecepatan alir eluen	: 1 ml/menit
Tekanan	: 3000 psi
Fase gerak	: asetonitril 60% dan natrium asetat 1M 40%
Detektor	: UV
Panjang gelombang	: 254 nm
Merk	: waters

Prinsip analisis asam amino dengan menggunakan Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) adalah memanfaatkan reaksi pra kolom gugus amino primer dalam suasana basa, mengandung merkaptoetanol membentuk senyawa yang berfluoresensi sehingga dapat dideteksi dengan detector fluoresensi (Sari *et al.*, 2017). Menurut Wijayanti (2017), salah satu perkembangan dari kromatografi kolom adalah analisis dengan metode UPLC atau High Performance Liquid Chromatography. UPLC memiliki prinsip kerja yaitu saat sampel yang akan diuji diinjeksikan sampai sampel berada pada ketinggian puncak maksimum dari senyawa tersebut. Setiap senyawa memiliki

waktu retensi yang berbeda-beda sesuai dengan tekanan yang digunakan, konsidi fase diam, komposisi pelarut maupun suhu kolom.



4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan sebelum penelitian utama. Penelitian pendahuluan memiliki tujuan yaitu untuk mencari lama ekstraksi terbaik pada proses pembuatan gelatin kulit ikan kakap merah (*Lutjanus argentimaculatus*) yang akan dilanjutkan pada penelitian utama. Lama ekstraksi yang digunakan pada penelitian pendahuluan yaitu 2 jam, 4 jam, dan 6 jam. pada penelitian pendahuluan parameter yang diujikan meliputi rendemen, gel strength (kekuatan gel), dan viskositas. Hasil perlakuan terbaik pada penelitian pendahuluan akan digunakan sebagai acuan untuk menentukan range lama ekstraksi pada penelitian utama. Hasil uji penelitian pendahuluan gelatin kulit ikan kakap merah dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil Uji Penelitian Pendahuluan

Perlakuan	Konsentrasi	Rendemen (g)	Kekuatan Gel (g/bloom)	Viskositas(Cp)
A	2 Jam	7,8	285,78	1,2
B	4 Jam	9,4	285,95	1,8
C	6 Jam	10,6	285,95	2,3

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

Keterangan :

A : Lama Ekstraksi 2 jam

B : Lama ekstraksi 4 jam

C : Lama ekstraksi 6 jam

Hasil pengujian penelitian pendahuluan menunjukkan nilai rendemen yang dihasilkan dengan lama ekstraksi 2 jam sebesar 7,8 g, rendemen dengan lama ekstraksi 4 jam sebesar 9,4, dan rendemen dengan lama ekstraksi 6 jam

sebesar 10, 6. Sedangkan kekuatan gel yang dihasilkan pada lama ekstraksi selama 2 jam yaitu sebesar 285,78 g/bloom, pada lama ekstraksi selama 4 jam yaitu sebesar 285,84 g/bloom dan lama ekstraksi selama 6 jam yaitu 285,84 g/bloom. Viskositas yang dihasilkan pada perlakuan lama ekstraksi 2 jam yaitu 2 (Cp), pada lama ekstraksi 4 jam yaitu 3 (Cp), dan pada lama ekstraksi 6 jam yaitu sebesar 3 (Cp). Hasil viskositas dan gel strength yang dihasilkan pada sampel menunjukkan bahwa semakin lama ekstraksi maka gelatin yang dihasilkan semakin baik. Penelitian pendahuluan didapatkan hasil terbaik yaitu pada lama ekstraksi 6 jam

Menurut Hidayat *et al.*, (2016), nilai viskositas memiliki hubungan dengan berat molekul, distribusi molekul, dan rata-rata gelatin. Berat molekul berhubungan dengan rantai asam amino yang dihasilkan. Semakin panjang rantai asam amino maka semakin tinggi nilai viskositas. Pada perlakuan lama ekstraksi selama 6 jam menghasilkan nilai gel strength tertinggi. Hal tersebut menunjukkan bahwa protein kolagen terhidrolisis secara sempurna.

4.1.2 Penelitian Utama

Penelitian utama dilakukan setelah didapatkan hasil lama ekstraksi terbaik pada penelitian pendahuluan dengan parameter yang digunakan yaitu rendemen, kekuatan gel (gel strength), dan viskositas. Tahap pembuatan gelatin kulit ikan kakap merah yang dilakukan hampir sama dengan penelitian pendahuluan. Penelitian utama dilakukan untuk mengetahui perbedaan lama ekstraksi terbaik terhadap karakteristik fisika kimia gelatin kulit ikan kakap merah. Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan didapatkan hasil terbaik yaitu lama waktu ekstraksi 6 jam. Penelitian utama pada perlakuan lama ekstraksi yang digunakan yaitu 5 jam, 6 jam, dan 7 jam. Hasil penelitian utama akan diujika

berdasarkan parameter fisika dan kimia. Parameter fisika yang digunakan meliputi rendemen, kekuatan gel (gel strength), viskositas, dan pH. Parameter kimia yang digunakan meliputi kadar protein, kadar karbohidrat, kadar lemak, kadar air, dan kadar abu. Hasil penelitian yang dilakukan akan dibandingkan dengan SNI (Standar Nasional Indonesia), GMIA (*Gelatine Manufacture Institute of America*), dan gelatin komersil. Hasil pengujian karakteristik fisika kimia gelatin kulit ikan kakap merah dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Hasil Pengujian Karakteristik Fisika Kimia Gelatin

Parameter	Perlakuan Lama Ekstraksi			Standar SNI (1995)	GMIA (2012)	Gelatin Komersil (Sasmitaloka <i>et al.</i> , 2017)
	5 jam	6 jam	7 jam			
*Rendemen (%)	8,64	11,75	18,26	-	-	9,78
**Kekuatan Gel	4,19	5,77	6,72	-	50-300	53,50
*pH	4,78	5,32	5,50	-	3,8-5,5	5,49
*Viskositas (cP)	3,15	4,63	5,64	-	1,5-7,5	7,75
***Kadar Protein (%)	87,19	88,43	89,72	-	-	88,63
***Kadar Karbohidrat (%)	0,23	0,49	0,70	-	-	1,83
***Kadar Lemak (%)	0,72	0,58	0,42	-	-	0,37
***Kadar Air (%)	10,71	9,38	8,80	Maks. 16	-	8,71
***Kadar Abu (%)	1,14	0,87	0,55	Maks. 3,25	0,3	0,46

Sumber :

- * Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perikanan Divisi Penanganan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya (2019).
- ** Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya (2019).
- *** Laboratorium Gizi Departemen Gizi Kesehatan Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga Surabaya (2019).

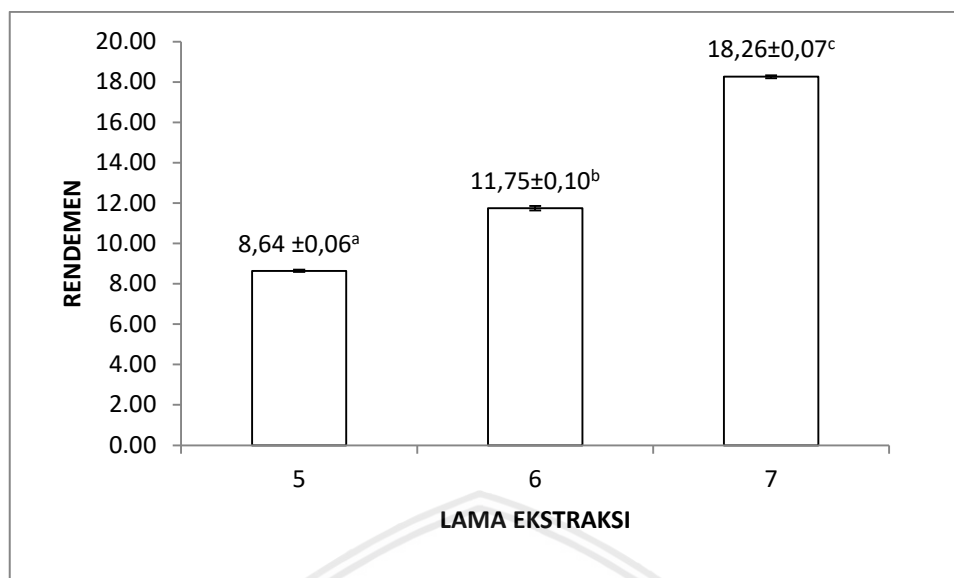
Dalam menentukan lama ekstraksi terhadap karakteristik fisika kimia gelatin kulit ikan kakap merah terbaik yaitu dilakukan dengan analisis *De Garmo*. Analisis ini mengurutkan parameter uji mulai dari yang paling penting hingga ke

penting. Parameter yang dianggap penting adalah viskositas dan kekuatan gel. Sedangkan parameter lainnya adalah data pendukung untuk mengetahui kualitas gelatin kulit ikan kakap merah yang dihasilkan. Tujuan dari menentukan perlakuan terbaik yaitu untuk pengujian profil asam amino yang terkandung pada gelatin kulit ikan kakap merah dengan lama ekstraksi yang berbeda. Perlakuan terbaik yang dihasilkan akan digunakan sebagai uji profil asam amino sebagai uji lanjutan.

4.2 Parameter Uji

4.2.1 Rendemen

Rendemen merupakan salah satu parameter yang sangat penting pada proses pembuatan gelatin. Semakin besar nilai yang dihasilkan menunjukkan semakin efisien perlakuan yang diterapkan. Rendemen juga merupakan suatu nilai penting dalam pembuatan produk. Rendemen dapat diartikan sebagai perbandingan berat produk akhir yang dihasilkan dengan berat bahan baku (Dewatisari *et al.*, 2018), Rendemen menggunakan satuan persen (%), dimana semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Perhitungan rendemen sangat penting karena kita dapat mengetahui keefektifan bahan dalam proses pengolahan (Wijaya *et al.*, 2018). Rendemen gelatin kulit ikan kakap merah dengan lama ekstraksi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Rendemen Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah

Berdasarkan hasil rendemen gelatin kulit ikan kakap merah menunjukkan perbedaan dari setiap perlakuan lama ekstraksi. Pada lama ekstraksi 5 jam menunjukkan rendemen sebesar 8,64; lama ekstraksi 6 jam sebesar 11,75; dan lama ekstraksi 7 jam sebesar 18,26. Semakin lama proses ekstraksi yang dilakukan akan menyebabkan nilai rendemen semakin tinggi. Hasil rendemen rata-rata yang didapatkan lebih besar dibandingkan hasil rendemen yang dilakukan oleh (Sasmitaloka *et al.*, 2017). Hal tersebut dikarenakan adanya ikatan hydrogen gelatin yang semakin banyak mengalami pemutusan dimana akan meningkatkan kelarutan kolagen dalam air panas sehingga rendemen gelatin yang dihasilkan semakin meningkat (Nurilmala *et al.*, 2017). Menurut Agustin *et al.*, (2015), rendemen gelatin adalah jumlah gelatin kering yang dihasilkan dari sejumlah bahan baku kulit dalam keadaan bersih melalui proses ekstraksi.

Berdasarkan hasil ANOVA, rendemen gelatin kulit ikan kakap merah didapatkan hasil ($P < 0,05$) yang artinya bahwa rendemen berbeda nyata. Perbedaan lama ekstraksi berpengaruh terhadap gelatin kulit ikan kakap merah.

Berdasarkan uji lanjut Tukey, rendemen gelatin kulit ikan kakap merah dengan lama ekstraksi 5 jam, 6 jam, dan 7 jam menunjukkan hasil berbeda nyata dan berpengaruh terhadap perlakuan lainnya. Hasil uji ANOVA dapat dilihat pada Lampiran 1.

Perlakuan lama ekstraksi yang berbeda didapatkan hasil yang menunjukkan berpengaruh nyata terhadap rendemen gelatin kulit ikan kakap merah. Data yang didapatkan menunjukkan hasil dimana semakin lama ekstraksi yang dilakukan menyebabkan semakin tinggi pula nilai rendemen yang dihasilkan. Hal ini menunjukkan bahwa asam yang digunakan saat perendaman juga mempengaruhi dimana jumlah ion H^+ yang menghidrolisis kolagen dari rantai triple helix menjadi rantai tunggal (Trilaksani *et al.*, 2012). Pelarut asam yang digunakan juga mempengaruhi hasil rendemen dimana larutan asam menyebabkan struktur protein kolagen pada kulit ikan mengembang dan terbuka. Proses pretreatment asam dan basa menghasilkan rendemen yang tinggi hal ini disebabkan oleh meningkatnya bukaan kulit *crosslink* pada pengembangan (Gunawan *et al.*, 2017).

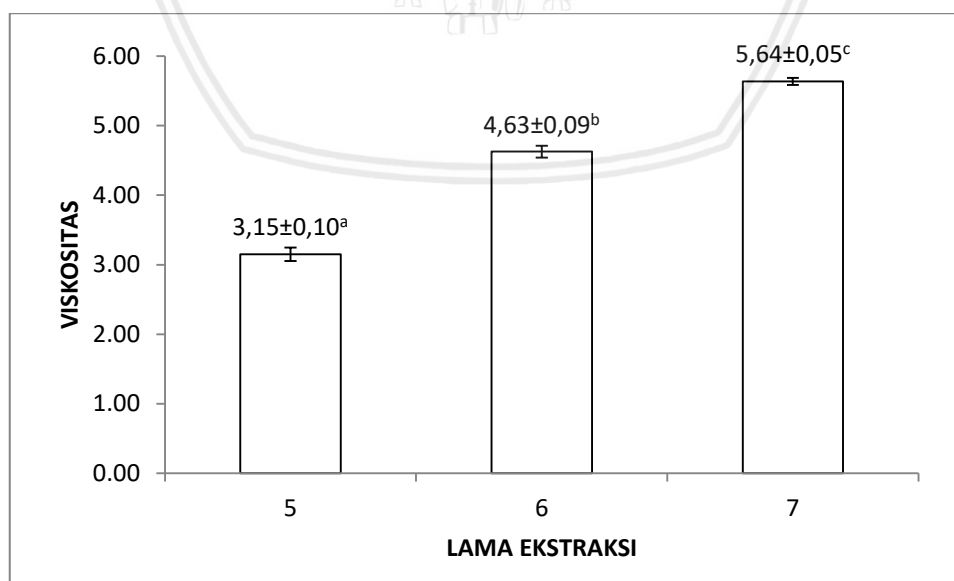
Konversi kolagen menjadi gelatin dipengaruhi oleh suhu, waktu pemanasan dan pH. Semakin lama waktu ekstraksi menyebabkan rendemen yang dihasilkan semakin meningkat. Hal tersebut dikarenakan jumlah ion H^+ yang menghidrolisis kolagen lebih banyak, sementara semakin lama ekstraksi menyebabkan kolagen terurai lebih banyak menjadi gelatin (Rahayu dan Fithriyah, 2015).

Jumlah rendemen terendah diperoleh gelatin kulit ikan lencam dengan lama ekstraksi sebesar 8,45. Proses leaching, pencucian, dan denaturasi saat ekstraksi dapat menyebabkan nilai rendemen menjadi rendah (Gunawan *et al.*, 2017). Menurut (Rahayu *et al.*, 2015), Jumlah rendemen gelatin yang cukup rendah dapat terjadi tergantung dari banyaknya kolagen yang terurai akibat dari

pemecahan ikatan hydrogen dengan ikatan peptida sehingga memudahkan asam amino terpisah untuk berikatan dengan air. Jumlah rendemen yang terekstraksi dapat dipengaruhi oleh suhu, waktu ekstraksi, lama perendaman dan pH.

4.2.2 Viskositas

Viskositas merupakan gaya hambat alir molekul dalam sistem larutan. Prinsip pengukuran viskositas adalah mengukur ketahanan gesekan antar dua lapisan molekul berdekatan. Besarnya viskositas dipengaruhi oleh zat yang terlarut dalam larutan tersebut. Jika zat yang terlarut semakin banyak dan larutan semakin kental maka nilai viskositas yang dihasilkan akan semakin tinggi (Aprilyani *et al.*, 2013). Viskositas merupakan salah satu persyaratan dalam menentukan kelayakan penggunaan gelatin untuk keperluan industri. Viskositas merupakan derajat kekentalan suatu larutan. Pengujian viskositas dilakukan untuk mengetahui tingkat kekentalan gelatin (Santoso *et al.*, 2015). Grafik viskositas gelatin kulit ikan kakap merah dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Viskositas Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah

Berdasarkan hasil viskositas gelatin kulit ikan kakap merah menunjukkan perbedaan dari setiap perlakuan lama ekstraksi. Pada lama ekstraksi 5 jam dihasilkan viskositas sebesar 3,15 cP, pada lama ekstraksi 6 jam sebesar 4,63 cP, dan lama ekstraksi 7 jam sebesar 5,62 cP. Hasil viskositas yang didapatkan lebih rendah dari hasil yang dilakukan oleh Sasmitaloka *et al.*, (2017). Nilai viskositas yang rendah dapat disebabkan oleh proses ekstraksi yang dilakukan dimana saat ekstraksi belum mampu menghidrolisis dan memecah struktur ikatan peptida pada kulit protein (Iqbal *et al.*, 2015).

Berdasarkan hasil ANOVA, viskositas gelatin kulit ikan kakap merah didapatkan hasil berbeda nyata ($P < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa lama ekstraksi berpengaruh terhadap viskositas gelatin kulit ikan kakap merah. Berdasarkan uji lanjut Tukey, viskositas gelatin kulit ikan kakap dengan lama ekstraksti 5 jam, 6 jam, dan 7 jam menunjukkan bahwa berbeda nyata dan berpengaruh terhadap perlakuan lainnya. Hasil uji ANOVA dapat dilihat pada Lampiran 2.

Menurut Trilaksan *et al.*, (2013), tingginya nilai viskositas dapat diakibatkan oleh konversi kolagen menjadi gelatin terjadi secara optimal sehingga rantai amino polipeptida atau oligopeptida yang terbentuk cukup panjang dan viskositasnya menjadi tinggi. Menurut Pangke *et al.*, (2016), peningkatan konsentrasi bahan curing dalam proses produksi gelatin dapat menurunkan atau menaikkan nilai viskositas. Turun nya nilai viskositas dapat disebabkan karena bahan curing telah memecah ikatan peptide asam amino menjadi rantai molekul yang sangat pendek sehingga viskositasnya menurun. Sedangkan, peningkatan konsentrasi bahan curing dapat pula meningkatkan nilai viskositas apabila bahan curing mampu memecah ikatan peptide pada ikatan yang tepat dengan molekul lebih panjang. Menurut Iqbal *et al.*, (2015), proses

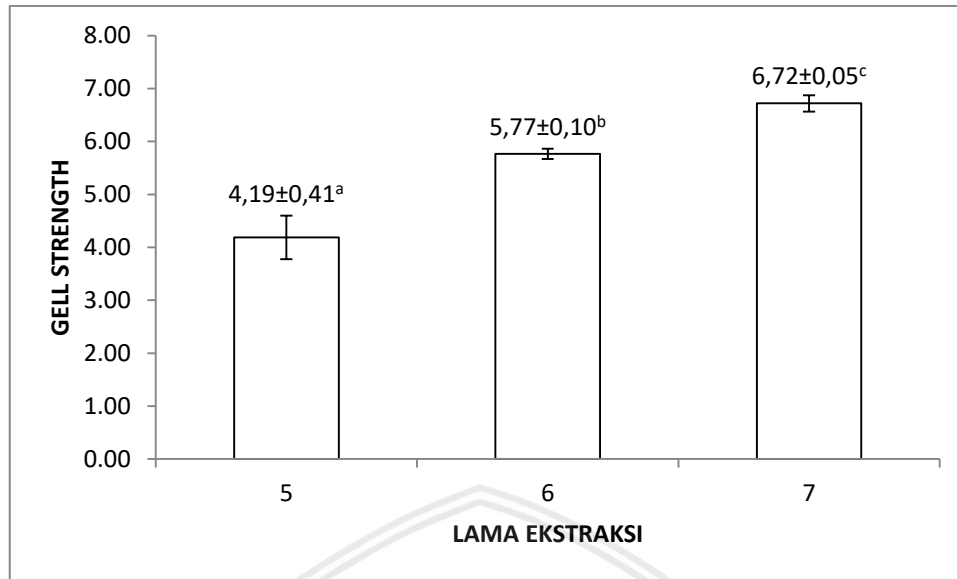
ekstraksi dapat meningkatkan nilai viskositas karena struktur molekul asam amino yang menyusun gelatin dapat terpecah dengan sempurna.

Viskositas berhubungan dengan bobot molekul (BM) rata-rata gelatin dan distribusi molekul, sedangkan bobot molekul gelatin berhubungan langsung dengan panjang rantai asam aminonya. Asam dapat memecah ikatan protein sampai pada ikatan sekunder sehingga rantai asam amino pada protein hasil perendaman semakin pendek sementara jumlah molekul protein yang dihasilkan semakin banyak. Hal ini akan berpengaruh kepada viskositas, semakin kuat penetrasi asam dalam memecah ikatan sekunder protein sehingga terjadi hidrolisis yang menghasilkan polipeptida atau oligopeptida dengan rantai lebih pendek dan BM yang lebih kecil sehingga menghasilkan viskositas yang lebih kecil (Trilaksan *et al.*, 2013).

Perbedaan nilai viskositas dapat disebabkan karena tingkat kekuatan ikatan silang tropokolagen yang berbeda-beda. Lemahnya ikatan silang menyebabkan kolagen mudah terhidrolisis, hidrolisis ini dapat menurunkan berat molekul gelatin yang pada akhirnya akan menurunkan viskositas larutan gelatin. Viskositas merupakan sifat fisik gelatin yang penting setelah kekuatan gel, karena viskositas mempengaruhi sifat fisik lainnya seperti titik leleh, titik gel, dan stabilitas emulsi. Viskositas gelatin yang tinggi menghasilkan laju pelelehan dan pembentukan gel yang lebih tinggi dibandingkan gelatin yang viskositasnya rendah dan untuk stabilitas emulsi gelatin diperlukan viskositas yang tinggi (Hermanto *et al.*, 2014). Menurut Gunawan *et al.*, (2017), Nilai viskositas yang rendah dapat disebabkan belum terjadinya hidrolisis yang sempurna sehingga rantai asam amino yang terbentuk belum cukup panjang dan viskositasnya menjadi rendah.

4.2.3 Gel Strength (Kekuatan Gel)

Gel strength (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 *et al.*, 2017). Karakteristik fisikokimia yang sangat berpengaruh untuk menentukan baik atau buruknya kualitas gelatin adalah kekuatan gel, hal ini penting karena berkaitan dengan fungsi utama gelatin sebagai pengemulsi selain itu kekuatan gel menunjukkan kemampuan gelatin dalam proses pembentukan gel (Iqbal *et al.*, 2015). Menurut Hermanto *et al.*, (2014), 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 biadang-bidang lainnya. Gel strength gelatin kulit ikan kakap merah dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Gell Strength Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah

Berdasarkan hasil kekuatan gel gelatin kulit ikan kakap merah menunjukkan perbedaan dari setiap perlakuan lama ekstraksi. Pada lama ekstraksi 5 jam dihasilkan kekuatan gel sebesar 4,19 N atau 285,88 g/bloom, lama ekstraksi 6 jam sebesar 5,77 N atau 285,95 g/boom, dan lama ekstraksi 7 jam sebesar 6,72 N atau 285,99 g/boom. Kekuatan gel mengalami peningkatan seiring dengan perlakuan lama ekstraksi yang digunakan. Kekuatan gel yang dihasilkan jauh lebih tinggi dibandingkan dengan nilai kekuatan gel gelatin komersil menurut Sasmitaloka *et al.*, (2017) yaitu sebesar 53,50 g/bloom. Kekuatan gel dengan lama ekstraksi 5 jam, 6 jam, dan 7 jam berturut-turut sebesar 285,88 g/bloom; 285,95 g/bloom dan 285,98 g/boom sesuai dengan standar yang ditetapkan oleh Gelatin *Manufactures Institute of America* (2012) yaitu sebesar 50-300 g/bloom.

Berdasarkan ANOVA, kekuatan gel gelatin kulit ikan kakap merah didapatkan hasil berbeda nyata ($P < 0,05$), sehingga dapat dikatakan perbedaan lama ekstraksi berpengaruh terhadap kekuatan gel gelatin kulit ikan kakap merah. Berdasarkan uji lanjut Tukey, kekuatan gel gelatin kulit ikan kakap merah

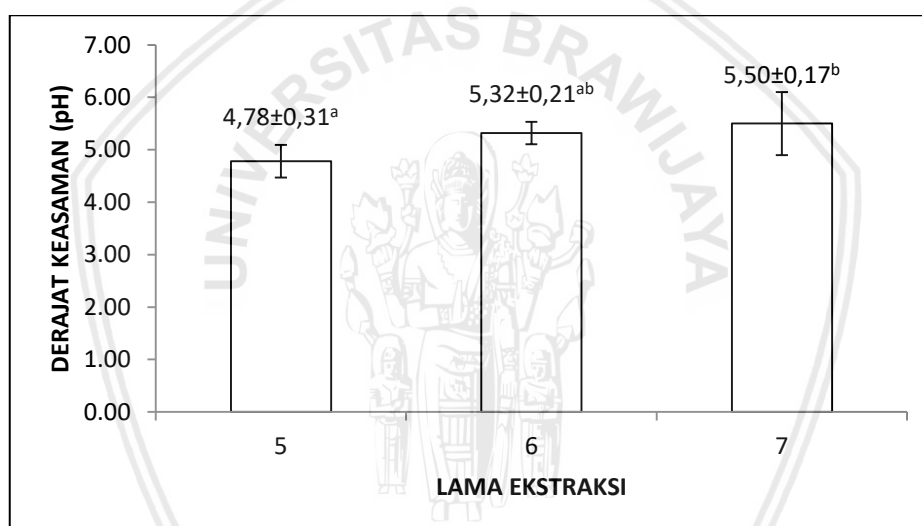
dengan perbedaan lama ekstraksi 5 jam, 6 jam, dan 7 jam menunjukkan hasil yang berbeda nyata dan berpengaruh terhadap perlakuan lainnya. Hasil uji ANOVA dapat dilihat pada Lampiran 3.

Kekuatan gel gelatin tergantung dari panjang rantai asam aminonya. Apabila proses hidrolisis kolagen berada pada fase yang tepat yakni pada rantai polipeptida dimana terjadi pemutusan ikatan hydrogen, ikatan kovalen silang serta sebagai ikatan peptida, maka dihasilkan struktur gelatin dengan rantai peptida yang panjang sehingga kekuatan gel yang dihasilkan juga semakin tinggi (Puspawati *et al.*, 2017). Menurut Ulfa (2013), kekuatan gel gelatin dipengaruhi oleh jenis bahan baku, jenis perlakuan awal (asam atau basa), dan kondisi ekstraksi. Menurut Aprilyani *et al.*, (2013), Rendahnya kekuatan gel ini disebabkan adanya perbedaan kandungan asam amino. Hidroksiprolin dan prolin merupakan penstabil gel gelatin, sehingga perbedaan keberadaan asam amino jenis prolin dan hidroksiprolin akan mempengaruhi kekuatan gel gelatin. Gelatin merupakan polipeptida yang terdiri atas ikatan kovalen dan ikatan peptida antara asam-asam amino yang membentuknya. Polipeptida ini memiliki dua atom terminal, ujung kiri mengandung gugus amino dan ujung kanan mengandung gugus karboksil. Kedua ujung itu memungkinkan untuk gelatin membentuk ikatan hidrogen dengan molekul gelatin lainnya, ataupun dengan molekul air.

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

4.2.4 Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) gelatin merupakan salah satu parameter penting dalam standar mutu gelatin. Nilai pH gelatin ini sangat dipengaruhi oleh jenis larutan perendam yang digunakan untuk mengekstrak gelatin tersebut. Pengukuran nilai pH larutan gelatin penting dilakukan karena pH larutan gelatin mempengaruhi sifat-sifat yang lainya seperti viskositas dan kekuatan gel. (Hermanto *et al.*, 2014). Derajat keasaman gelatin kulit ikan kakap merah dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Derajat Keasaman Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah

Berdasarkan hasil derajat keasaman gelatin kulit ikan kakap merah menunjukkan perbedaan dari setiap perlakuan lama ekstraksi. Pada lama ekstraksi 5 jam menunjukkan nilai derajat keasaman sebesar 4,78, lama ekstraksi 6 jam sebesar 5,32, dan lama ekstraksi 7 jam sebesar 5,50. Hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan nilai derajat keasaman semakin tinggi seiring dengan perbedaan lama ekstraksi yang dilakukan. Nilai pH dengan perbedaan lama ekstraksi selama 5 jam, 6 jam, dan 7 jam yang dihasilkan dalam penelitian dapat dikatakan memenuhi standar *Gelatin Manufactures Institute of*

Amerika (2012) yaitu kisaran 3,8-5,5. Hasil penelitian yang dilakukan lebih rendah dibandingkan dengan penelitian Sasmitaloka *et al.*, (2017) yaitu sebesar 5,49. Pada penelitian Sasmitaloka *et al.*, (2017) didapatkan nilai sebesar 5,49 karena penggunaan larutan yang digunakan yaitu larutan asam dimana apabila pelarut yang digunakan adalah asam akan menghasilkan nilai pH rendah. Saat proses perendaman dengan asam serabut kolagen kulit akan mengalami proses pembengkakan (*swelling*) yang menyebabkan struktur asam amino pada molekul kolagen terbuka dan ion H⁺ akan masuk ke dalam kolagen yang terbuka dan pelarut akan terperangkap diantara ikatan tersebut sehingga saat proses netralisasi tidak larut dan menyebabkan nilai pH asam dengan nilai sebesar 5,49. Menurut Gunawan *et al.*, (2017), Semakin lama ekstraksi yang dilakukan menunjukkan bahwa nilai pH yang dihasilkan semakin meningkat atau mendekati netral. Gelatin dengan pH netral akan bersifat lebih stabil dan penggunaannya akan lebih luas

Berdasarkan ANOVA, derajat keasaman gelatin kulit ikan kakap merah didapatkan hasil berbeda nyata ($P < 0,05$), sehingga dapat dikatakan perbedaan lama ekstraksi berpengaruh terhadap derajat keasaman gelatin kulit ikan kakap merah. Berdasarkan uji lanjut Tukey, derajat keasaman gelatin kulit ikan kakap merah dengan perbedaan lama ekstraksi 5 jam, 6 jam, dan 7 jam menunjukkan hasil yang berbeda nyata dan berpengaruh terhadap perlakuan lainnya. Hasil uji ANOVA dapat dilihat pada Lampiran 4.

Nilai derajat keasaman sangat tergantung pada proses pencucian setelah proses perendaman larutan asam. Proses pencucian yang baik akan menyebabkan kandungan asam yang terperangkap di dalam kulit semakin sedikit, sehingga nilai pH akan mendekati netral. Pembuatan gelatin dengan perendaman secara asam dan basa akan menghasilkan nilai pH yang mendekati netral (Gunawan *et al.*, 2017).

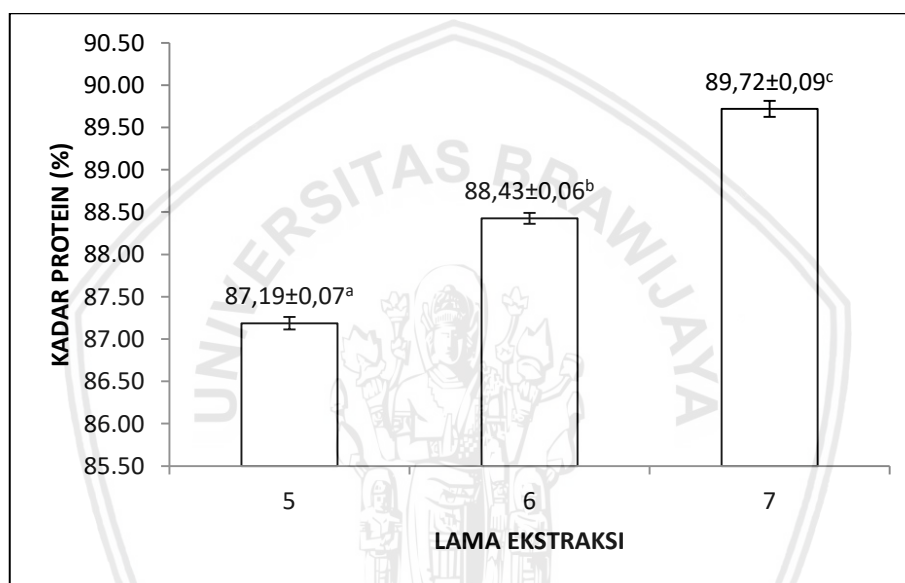
Pembuatan gelatin dengan metode asam basa akan menghasilkan nilai pH yang mendekati netral. Pada ekstraksi gelatin dengan campuran asam dan basa dapat memecah ikatan rantai polipeptida kolagen menjadi ikatan-ikatan dipeptida atau mono-peptida, sedangkan ekstraksi menggunakan larutan netral atau asam lemah dapat menjaga ikatan rantai polipeptida dari kerusakan (Nurilmala *et al.*, 2017). Menurut Trilaksani *et al.*, (2012), Nilai pH gelatin yang rendah disebabkan karena pencucian dengan air secara berulang setelah proses perendaman tidak dapat mengeluarkan semua asam di dalam jaringan kolagen kulit ikan sehingga terdapat sisa asam yang terbawa saat ekstraksi. Nilai pH yang rendah disebabkan saat proses demineralisasi asam yang masih terbawa ketika dilakukan proses ekstraksi sehingga mempengaruhi tingkat keasaman gelatin yang dihasilkan (Prihatiningsih *et al.*, 2014).

Tinggi rendahnya nilai pH disebabkan karena penggunaan larutan asam. Saat perendaman dengan larutan asam terjadi pengembangan sehingga ion H^+ masuk ke dalam rongga dan larutan asam yang tidak bereaksi terserap di dalam kolagen yang mengembang lalu terperangkap dalam jaringan fibril kolagen sehingga sulit untuk dinetralkan. Larutan yang terperangkap akan terbawa saat proses ekstraksi sehingga nilai pH menjadi rendah. Menurut Santoso *et al.*, (2015), Semakin tinggi nilai pH larutan perendaman maka konsentrasi larutan asam yang diserap selama perendaman mengalami penurunan karena tidak ada larutan yang terperangkap sehingga mudah saat dinetralkan.

4.2.5 Kadar Protein

Kadar protein pada gelatin menunjukkan tingkat kemurnian produk yang dihasilkan (Iqbal *et al.*, 2015). 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). Protein merupakan polimer dari sekitar 21 asam amino yang berlainan dan dihubungkan dengan ikatan peptida. Protein di dalam gelatin termasuk protein sederhana dalam kelompok *skleproprotein* dan mempunyai kadar protein yang tinggi karena gelatin diperoleh dari hidrolisis atau penguraian kalogen dengan panas (Adiningsih dan Purwanti, 2015). Kadar protein gelatin kulit ikan kakap merah dengan lama ekstraksi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 16.



Gambar 16. Kadar Protein Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah

Berdasarkan hasil kadar protein gelatin kulit ikan kakap merah menunjukkan perbedaan dari setiap perlakuan lama ekstraksi. Pada lama ekstraksi 5 jam menunjukkan kadar protein sebesar 87,19%, lama ekstraksi 6 jam sebesar 88,43%, dan lama ekstraksi 7 jam sebesar 89,72%. Hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan kadar protein semakin tinggi seiring dengan perbedaan lama ekstraksi yang dilakukan. Kadar protein hasil penelitian lebih rendah dibandingkan dengan hasil nilai protein yang dilakukan oleh Sasmitaloka *et al.*, (2017) yaitu sebesar 88,63%. Standar kadar protein tidak ditentukan

secara khusus karena gelatin sendiri merupakan derivat protein, namun hasil kadar protein menunjukkan tingkat kemurnian (Iqbal *et al.*, 2015).

Berdasarkan ANOVA, kadar protein gelatin kulit ikan kakap merah didapatkan hasil berbeda nyata ($P < 0,05$), sehingga dapat dikatakan perbedaan lama ekstraksi berpengaruh terhadap kadar protein gelatin kulit ikan kakap merah. Berdasarkan uji lanjut Tukey, kadar protein gelatin kulit ikan kakap merah dengan perbedaan lama ekstraksi 5 jam, 6 jam, dan 7 jam menunjukkan hasil yang berbeda nyata dan berpengaruh terhadap perlakuan lainnya. Hasil uji ANOVA dapat dilihat pada Lampiran 5.

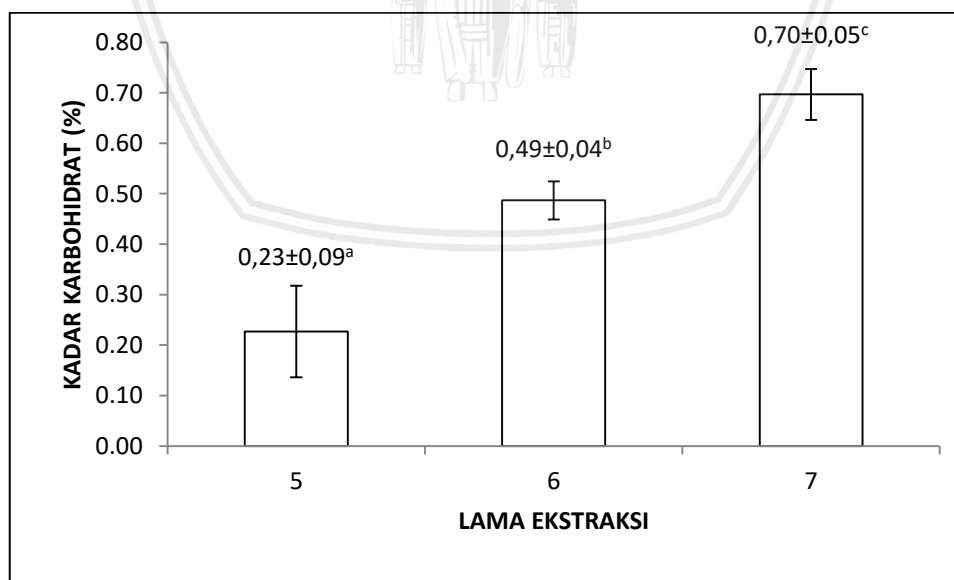
Kadar protein yang tinggi pada gelatin kulit ikan kakap merah disebabkan oleh bahan baku yang digunakan berasal dari kulit ikan yang memiliki kandungan protein yang tinggi (Gunawan *et al.*, 2017). Menurut Trilaksani *et al.*, (2017), tingginya kadar protein yang terkandung dalam gelatin mengindikasikan bahwa gelatin tersebut memiliki mutu yang baik. Kadar protein gelatin dipengaruhi oleh proses perendaman kulit dan proses ekstraksi. Pada saat proses perendaman terjadi reaksi pemutusan ikatan hidrogen dan pembukaan struktur koil kolagen yang terjadi secara optimum sehingga jumlah protein yang terekstrak pada suhu yang tepat menjadi banyak. Menurut Iqbal *et al.*, (2015), rendahnya kadar protein yang dihasilkan disebabkan karena kolagen dapat mengalami penyusutan jika dipanaskan di atas suhu penyusutan. Kondisi suhu akan memperpendek serat kolagen dimana penyusutan kolagen menyebabkan struktur kolagen pecah menjadi lilitan acak yang larut dalam air.

Peningkatan kadar protein berkaitan dengan perubahan jumlah struktur ikatan asam amino yang menyusun protein kolagen. Peningkatan konsentrasi menyebabkan semakin banyak ikatan asam amino yang terpecah sehingga semakin banyak protein yang larut pada saat dilakukan proses ekstraksi. Tingginya jumlah protein yang larut menyebabkan kadar protein dalam produk

gelatin juga cenderung meningkat. Peningkatan konsentrasi larutan akan meningkatkan kolagen yang terlarut (Said *et al.*, 2013).

4.2.6 Kadar Karbohidrat

Kadar karbohidrat adalah komponen bahan pangan yang tersusun oleh 3 unsur utama, yaitu karbon (C), hidrogen (H) dan oksigen (O). Susunan atom-atom tersebut dan ikatannya membedakan karbohidrat satu dengan yang lainnya, sehingga ada karbohidrat yang masuk kelompok struktur sederhana seperti monosakarida dan disakarida dan dengan struktur kompleks atau polisakarida seperti pati, glikogen, selulosa dan hemiselulosa (Siregar, 2017). Karbohidrat mempunyai peranan penting dalam menentukan karakteristik bahan makanan, misalnya rasa, warna, tekstur, dan lain sebagainya. Banyak cara yang dapat digunakan untuk menentukan banyaknya karbohidrat dalam suatu bahan yaitu antara lain dengan cara kimiawi, cara fisik, cara enzimatik dan cara kromatografi. Kadar Karbohidrat dapat dilihat pada Gambar 17.



Gambar 17. Kadar karbohidrat gelatin kulit ikan kakap merah

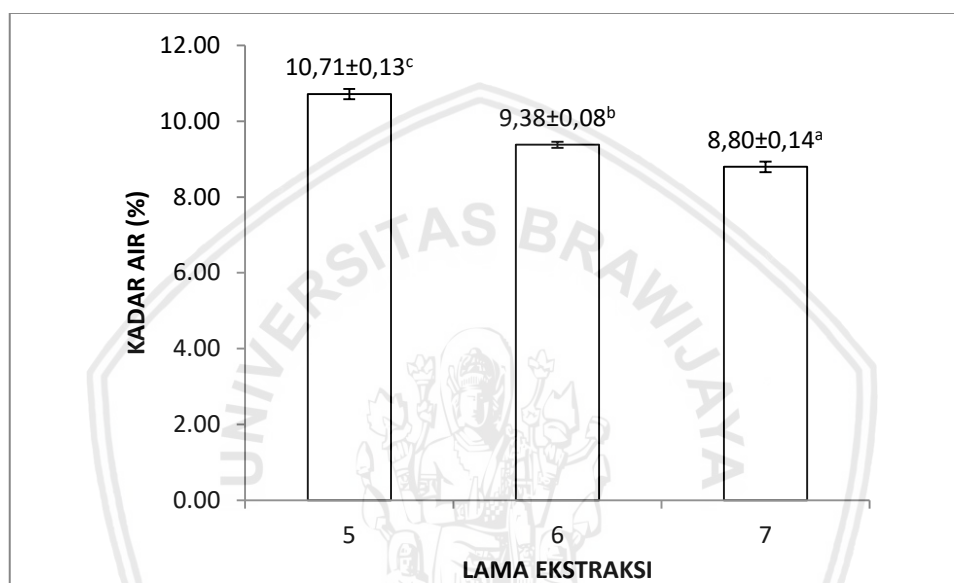
Berdasarkan hasil kadar karbohidrat gelatin kulit ikan kakap merah menunjukkan perbedaan dari setiap perlakuan lama ekstraksi. Pada lama ekstraksi 5 jam menunjukkan kadar karbohidrat sebesar 0,23%, lama ekstraksi 6 jam sebesar 0,49%, dan lama ekstraksi 7 jam sebesar 0,70%. Hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan kadar karbohidrat semakin tinggi seiring dengan perbedaan lama ekstraksi yang dilakukan. Nilai karbohidrat yang didapatkan lebih rendah dibandingkan penelitian yang dilakukan oleh Sasmitaloka *et al.*, (2017) yaitu sebesar 1,83%.

Berdasarkan ANOVA, kadar karbohidrat gelatin kulit ikan kakap merah didapatkan hasil berbeda nyata ($P < 0,05$), sehingga dapat dikatakan perbedaan lama ekstraksi berpengaruh terhadap kadar karbohidrat gelatin kulit ikan kakap merah. Berdasarkan uji lanjut Tukey, kadar karbohidrat gelatin kulit ikan kakap merah dengan perbedaan lama ekstraksi 5 jam, 6 jam, dan 7 jam menunjukkan hasil yang berbeda nyata dan berpengaruh terhadap perlakuan lainnya. Rendahnya kadar karbohidrat disebabkan adanya pembebasan lemak saat ekstraksi sehingga kadar karbohidrat yang dihasilkan rendah Purwitasari *et al.*, (2014). Hasil analisis ANOVA dapat dilihat pada Lampiran 6.

4.2.7 Kadar Air

Kadar air merupakan kandungan penting dalam suatu bahan pangan. Air dapat berupa komponen intraseluler atau ekstraseluler dari suatu produk. Air dapat mempengaruhi kenampakan, rasa, tekstur, serta mutu bahan pangan (Rahayu dan Fithriyah, 2015), Kadar air merupakan banyaknya air yang terkandung dalam bahan yang dinyatakan dalam persen. Kadar air juga merupakan karakteristik yang sangat penting pada bahan pangan karena air dapat mempengaruhi penampakan. Penentuan kadar air dapat dilakukan dengan

berbagai macam cara. Penentuan tersebut tergantung pada siklus bahannya. Pada umumnya penentuan kadar air dilakukan dengan mengeringkan bahan dalam oven 105-110°C selama 3 jam atau sampai didapat berat yang konstan. Selisih berat sebelum dan sesudah pengeringan adalah banyaknya air yang diuapkan (Syahbuddin *et al.*, 2014). Kadar air gelatin kulit ikan kakap merah dapat dilihat pada Gambar 18.



Gambar 18. Kadar Air Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah

Berdasarkan hasil kadar air gelatin kulit ikan kakap merah menunjukkan perbedaan dari setiap perlakuan lama ekstraksi. Pada lama ekstraksi 5 jam menunjukkan kadar air sebesar 10,71%, lama ekstraksi 6 jam sebesar 9,38%, dan lama ekstraksi 7 jam sebesar 8,80%. Hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan kadar air semakin rendah seiring dengan perbedaan lama ekstraksi yang dilakukan.

Berdasarkan ANOVA, kadar air gelatin kulit ikan kakap merah didapatkan hasil berbeda nyata ($P < 0,05$), sehingga dapat dikatakan perbedaan lama ekstraksi berpengaruh terhadap kadar protein gelatin kulit ikan kakap merah. Berdasarkan uji lanjut Tukey, kadar air gelatin kulit ikan kakap merah dengan perbedaan lama ekstraksi 5 jam, 6 jam, dan 7 jam menunjukkan hasil

yang berbeda nyata dan berpengaruh terhadap perlakuan lainnya. Kadar air dengan perlakuan lama ekstraksi yang berbeda masing-masing 5 jam, 6 jam, dan 7 jam menunjukkan hasil bahwa sesuai dengan standar yang ditetapkan oleh *Gelatin Manufacture Institute of America* (2012), yaitu maksimal 16%. Hasil penelitian kadar air gelatin kulit ikan kakap merah lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Sasmitaloka *et al.*, (2017), yaitu sebesar 8,71%. Hal ini disebabkan oleh bahan baku yang digunakan dan perlakuan yang berbeda (Hardikawati *et al.*, 2016) Hasil uji ANOVA dapat dilihat pada Lampiran 7.

Kadar air merupakan salah satu karakteristik yang sangat penting pada bahan pangan, karena menentukan kesegaran dan daya awet pada suatu bahan pangan, kadar air yang tinggi dapat mengakibatkan sangat mudahnya bakteri, kapang dan khamir untuk berkembang biak, sehingga akan terjadi perubahan pada bahan pangan (Lombu *et al.*, 2015). Menurut Said *et al.*, (2011), Kadar air dalam suatu produk berkaitan erat dengan daya simpan produk terutama dalam hal aktivitas metabolisme yang terjadi. Peranan air dalam bahan pangan merupakan salah satu faktor enzim, mikroba, kimiawi, reaksi enzimatik dan non-enzimatik sehingga dapat menimbulkan perubahan pada nilai gizi dan sifat organoleptiknya.

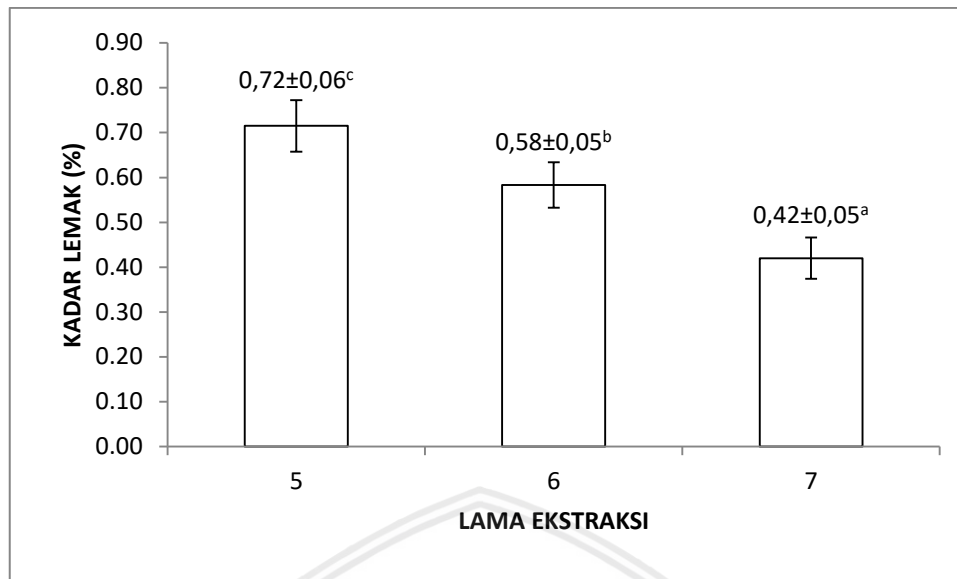
Kandungan air dalam bahan pangan dapat menentukan penerimaan, kesegaran, dan daya tahan bahan pangan Winarno (1997). Menurut Sompie *et al.*, (2015), menurunnya kadar air gelatin disebabkan karena proses denaturasi yang terjadi hal ini mengakibatkan perubahan molekul dan jumlah air yang terikat menjadi lebih lemah dan menurun. Struktur kolagen yang terbuka dan lemah menghasilkan gelatin dengan struktur yang lemah sehingga daya mengikat air pada gelatin kurang kuat. Daya ikat air yang lemah akan membuat air mudah menguap pada saat pengeringan gelatin dan kadar air gelatin kering menjadi

lebih rendah. Semakin lama ekstraksi yang dilakukan menyebabkan kadar air semakin rendah disebabkan oleh terjadinya jumlah air yang terikat lemah sehingga molekul air mudah lepas sehingga saat proses pengeringan nilai kadar air menjadi lebih rendah (Said *et al.*, 2011).

Menurut Rares (2017), penurunan kadar air gelatin dapat disebabkan oleh struktur kolagen yang semakin terbuka. Penurunan kadar air gelatin ini dapat juga disebabkan pada saat perendaman akan semakin banyak asam yang terdifusi dalam jaringan kulit ikan sehingga struktur kolagen semakin terbuka dan ikatannya lemah dan menghasilkan struktur gelatin dengan ikatan lemah, sehingga daya ikat air pada gelatin juga kurang kuat. Daya ikat air yang lemah pada gelatin akan membuat air mudah menguap pada saat pengeringan dalam oven. Menurut Prihatiningsih *et al.*, (2014), Tingginya kadar air disebabkan pengaruh proses pengeringan yang kurang merata.

4.2.8 Kadar lemak

Kadar lemak dalam bahan makanan pada umumnya dipisahkan dari komponen lain yang terdapat dalam bahan tersebut dengan cara ekstraksi dengan suatu pelarut (Winarno, 1980). Tujuan analisis kadar lemak yaitu untuk mengidentifikasi jenis dan penilaian mutu lemak yang meliputi kemurnian terutama pada pelarut organik, sifat penyabunan dan jumlah ikatan rangkap. Kadar lemak gelatin kulit ikan kakap merah dapat dilihat pada Gambar 19.



Gambar 19. Kadar Lemak Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah

Berdasarkan hasil kadar lemak gelatin kulit ikan kakap merah menunjukkan perbedaan dari setiap perlakuan lama ekstraksi. Pada lama ekstraksi 5 jam menunjukkan kadar lemak sebesar 0,72%, lama ekstraksi 6 jam sebesar 0,58%, dan lama ekstraksi 7 jam sebesar 0,42%. Hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan kadar lemak semakin menurun seiring dengan perbedaan lama ekstraksi yang dilakukan. Nilai kadar lemak pada pembuatan gelatin kulit ikan kakap merah lebih tinggi dibandingkan kadar lemak hasil penelitian Sasmitaloka et al., (2017) yaitu sebesar 0,37%. Hal ini disebabkan oleh lama ekstraksi yang dilakukan dimana semakin lama akan menyebabkan putusanya ikatan rangkap yang menyebabkan bilangan iod menurun. Bilangan iod merupakan besarnya jumlah iod yang diserap menunjukkan banyaknya ikatan rangkap atau ikatan tidak jenuh (Handajani et al., 2010).

Berdasarkan ANOVA, kadar lemak gelatin kulit ikan kakap merah didapatkan hasil berbeda nyata ($P < 0,05$), sehingga dapat dikatakan perbedaan lama ekstraksi berpengaruh terhadap kadar lemak gelatin kulit ikan kakap merah. Berdasarkan uji lanjut Tukey, kadar lemak gelatin kulit ikan kakap merah dengan perbedaan lama ekstraksi 5 jam, 6 jam, dan 7 jam menunjukkan hasil yang

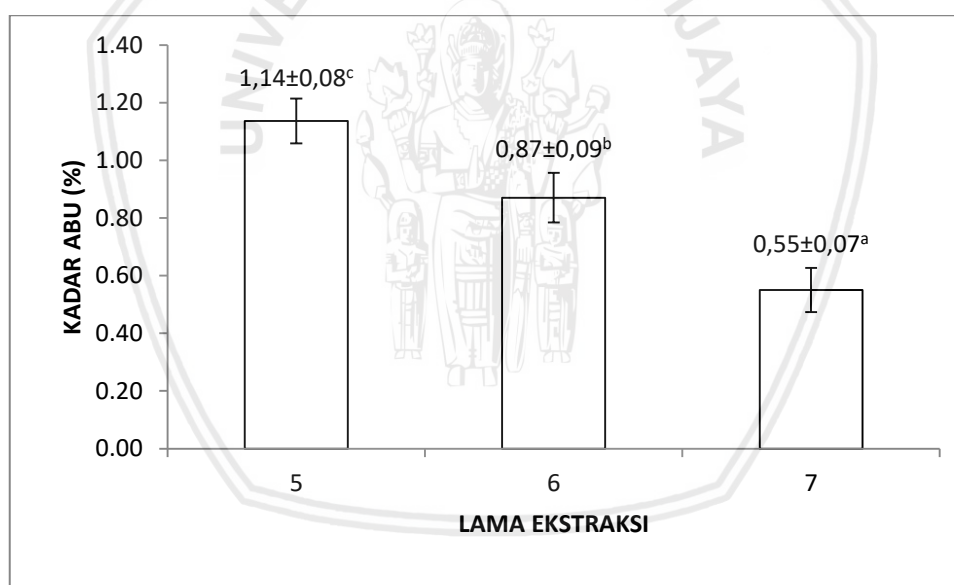
berbeda nyata dan berpengaruh terhadap perlakuan lainnya. Hasil Uji ANOVA kadar lemak dapat dilihat pada Lampiran 8.

Kadar lemak sangat berpengaruh terhadap mutu produk pangan selama penyimpanan. Kerusakan lemak yang utama biasanya disebabkan oleh proses oksidasi sehingga muncul bau busuk dan rasa yang tengik, inilah yang disebut sebagai proses ketengikan. Gelatin yang bermutu tinggi diharapkan memiliki kandungan lemak yang rendah bahkan diharapkan tidak mengandung lemak. Rendahnya kadar lemak memungkinkan gelatin dapat disimpan dalam waktu yang relatif lama tanpa menimbulkan bau dan rasa tengik (Prihatingsih *et al.*, 2014).

Kadar lemak yang tinggi diakibatkan oleh lemak yang terdapat di dalam kulit ikan masih terbawa ketika proses pembuatan gelatin dan kurang optimalnya proses pencucian serta pengambilan lemak saat proses ekstraksi berlangsung. Kadar lemak pada gelatin sangat bergantung pada perlakuan selama proses pembuatan gelatin, baik pada tahap pembersihan kulit, pencucian maupun proses degreasing hingga pada tahap penyaringan filtrat hasil ekstraksi, dimana setiap perlakuan yang baik akan mengurangi kandungan lemak yang ada dalam bahan baku sehingga produk yang dihasilkan memiliki kadar lemak yang rendah. Perlakuan yang baik pada tiap tahap proses pembuatan gelatin akan mengurangi kandungan lemak yang ada dalam bahan baku (Gunawan *et al.*, 2017). Menurut Trilaksan *et al.*, (2013), kadar lemak pada gelatin sangat tergantung pada perlakuan selama proses pembuatan gelatin, mulai dari tahap pembersihan kulit hingga tahap penyaringan filtrat hasil ekstraksi. Perlakuan yang baik pada tiap tahap proses pembuatan gelatin akan mengurangi kandungan lemak yang ada dalam bahan baku.

4.2.9 Kadar Abu

Kadar abu merupakan parameter nilai gizi bahan makanan. Abu adalah zat organik yang dihasilkan dari sisa pembakaran suatu bahan organik. Kandungan abu dan komposisinya tergantung dari jenis bahan. Mineral yang terdapat dalam bahan dibagi menjadi 2 yaitu garam organik dan garam anorganik. Komponen abu dalam bahan dapat ditentukan jumlahnya dengan cara menentukan sisa-sisa pembakaran garam mineral tersebut yang dikenal dengan pengabuan (Syahbuddin *et al.*, 2014). Penentuan kadar abu merupakan salah satu cara untuk mengetahui kemurnian suatu bahan. Abu merupakan residu anorganik dari hasil pembakaran bahan-bahan organik (Said *et al.*, 2011). Kadar abu gelatin kulit ikan kakap merah dapat dilihat pada Gambar 20.



Gambar 20. Kadar Abu Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah

Berdasarkan hasil kadar abu gelatin kulit ikan kakap merah menunjukkan perbedaan dari setiap perlakuan lama ekstraksi. Pada lama ekstraksi 5 jam menunjukkan kadar abu sebesar 1,14%, lama ekstraksi 6 jam sebesar 0,87%, dan lama ekstraksi 7 jam sebesar 0,55%. Hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan kadar abu semakin menurun seiring dengan perbedaan

lama ekstraksi yang dilakukan. Nilai kadar abu menunjukkan bahwa lebih tinggi dibandingkan kadar abu gelatin komersil.

Berdasarkan ANOVA, kadar abu gelatin kulit ikan kakap merah didapatkan hasil berbeda nyata ($P < 0,05$), sehingga dapat dikatakan perbedaan lama ekstraksi berpengaruh terhadap kadar abu gelatin kulit ikan kakap merah. Hasil uji ANOVA dapat dilihat pada Lampiran 10. Kadar abu gelatin kulit ikan kakap merah dengan perbedaan lama ekstraksi 5 jam, 6 jam, dan 7 jam menunjukkan hasil yang berbeda nyata dan berpengaruh terhadap perlakuan lainnya. Nilai kadar abu gelatin kulit ikan kakap merah dengan lam ekstraksi 5 jam, 6 jam, dan 7 jam yang dihasilkan dalam penelitian ini menunjukkan bahwa memenuhi Standar Nasional Indonesia yaitu nilai kadar abu maksimal 3,25%, tetapi tidak memenuhi standar yang ditetapkan *Gelatin Manufactures Institute of America* (2012), yaitu 0,3%.

Nilai kadar abu suatu bahan menggambarkan jumlah mineral yang terkandung dalam bahan tersebut. Proses demineralisasi sangat menentukan besar kecilnya kadar abu pada gelatin. Besar kecilnya kadar abu juga dipengaruhi oleh bahan kimia yang digunakan dimana bahan kimia dapat memungkinkan terjadinya hidrolisis yang berlebih yang menyebabkan hilangnya molekul protein dan mengendapkan mineral yang tidak dibutuhkan. Rendahnya kadar abu disebabkan oleh lama ekstraksi yang dilakukan dimana semakin lama kadar abu semakin berkurang (Febriansyah *et al.*, 2019).

Kadar abu dapat menjadi salah satu indikator kemurnian gelatin. Lama ekstraksi yang dilakukan akan mempengaruhi kadar abu yang dihasilkan dimana akan menyebabkan perbedaan garam-garam mineral yang akan dilepas. Semakin lama maka akan semakin banyak garam mineral yang akan dilepas dari kolagen sehingga akan mempengaruhi dan mengurangi kadar abu (Darwin *et al.*, 2018). Menurut Yenti *et al.*, (2015), Nilai kadar abu suatu bahan menunjukkan

besarnya jumlah mineral yang terkandung dalam bahan tersebut. Penghilangan mineral dalam proses ekstraksi gelatin terjadi pada saat demineralisasi. Besar kecilnya kadar abu gelatin sangat ditentukan pada saat demineralisasi.

4.2.10. Perlakuan Terbaik

Perlakuan terbaik gelatin kulit ikan kakap merah 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 kulit ikan kakap merah. Menurut Nur *et al.*, (2017), metode *de garmo* digunakan untuk pemilihan perlakuan terbaik menggunakan metode indeks efektivitas terhadap parameter fisik, organoleptik dan kimia. Data panelis yang telah diperoleh pembobotannya kemudian dilakukan perhitungan menggunakan metode indeks efektivitas.

4.2.11 Kadar Asam Amino

Kadar asam amino dapat memberikan informasi penting mengenai komposisi asam amino esensial dan non esensial yang terkandung pada gelatin. selain itu juga untuk menunjukkan komposisi asam amino secara keseluruhan yang dapat berpengaruh terhadap karakteristik sampel yang dianalisis. Profil asam amino utama penyusun gelatin adalah glisin, prolin dan hidroksiprolin. Gelatin mengandung 9 dari 10 jenis asam amino esensial yang dibutuhkan tubuh, satu asam amino essensial yang hampir tidak terkandung dalam gelatin yaitu triptopan. Komposisi asam amino tersebut menyebabkan gelatin sebagai bahan yang multi guna dalam berbagai industri. Pada bidang industry gelatin

bersifat multifungsi, dapat berfungsi sebagai bahan pengisi, pengemulsi (*emulsifier*), pengikat, pengendap, pemer kaya gizi, pengatur elastisitas, membentuk lapisan tipis yang elastis, membentuk film yang transparan dan kuat, dayacernanya yang tinggi dan dapat diatur, sebagai pengawet, humektan, penstabil, dan lain-lain (Nurilmala *et al.*, 2017).

Asam amino merupakan komponen penyusun protein yang terdiri atas satu atom C sentral yang mengikat secara kovalen. Asam amino dapat dikelompokkan ke dalam dua golongan utama yaitu asam amino esensial dan asam amino non esensial. Asam amino esensial merupakan asam amino yang tidak dapat dibuat oleh tubuh dan harus diperoleh dari makanan sumber protein. Asam amino non esensial adalah asam amino yang dapat dibuat oleh tubuh manusia. Tujuan analisis asam amino adalah untuk mengidentifikasi jenis asam amino serta pengaruh perlakuan pemanasan terhadap komposisi asam amino gelatin (Saputra *et al.*, 2015).

Berdasarkan perlakuan terbaik, profil asam amino dapat di deteksi pada gelatin kulit ikan kakap merah terdapat 15 profil asam amino. Hasil analisis profil asam amino gelatin kulit ikan lele dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Analisis Profil Asam Amino

No.	Parameter	Unit	Result
1	L-Serin	%	1,81
2	L-Asam Glutamat	%	6,68
3	L-Fenilalain	%	1,36
4	L-Isoleusin	%	0,53
5	L-Valin	%	1,20
6	L-Alanin	%	7,04
7	L-Arginin	%	3,47
8	Glisin	%	16,54
9	L-Lisin	%	2,85
10	L-Asam Aspartat	%	3,54
11	L-Leusin	%	1,46
12	L-Tirosin	%	0,37
13	L-Prolin	%	7,77
14	L-Threonin	%	1,70
15	L-Histidin	%	0,39
Total			46,33

Sumber : Laboratorium Saraswanti Indo Genetech Bogor (2019).

Berdasarkan Tabel didapatkan 15 asam amino yang terkandung di dalam gelatin kulit ikan kakap merah dengan perlakuan lama ekstraksi 7 jam. Kandungan asam amino yang terkandung memiliki nilai yang berbeda-beda dimana L-Serin memiliki nilai sebesar 1,81%, L-Asam Glutamat sebesar 6,68%, L-Fenilalain sebesar 1,36%, L-Isoleusin sebesar 0,53%, L-Valin sebesar 1,20%, L-Alanin sebesar 7,04%, L-Arginin sebesar 3,47%, Glisin sebesar 16,54%, L-Lisin sebesar 2,85%, L-Asam Aspartat sebesar 3,54%, L-Leusin sebesar 1,46%, L-Tirosin sebesar 0,37%, L-Prolin sebesar 7,77%, L-Threonin sebesar 1,70%, L-Histidin sebesar 0,39%.

Pada gelatin kulit ikan kakap merah kandungan asam amino 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. Asam amino esensial tertinggi yaitu L-alanin sebesar 7,04% dan terendah L-histidin sebesar 0,39%. Sedangkan asam amino non esensial tertinggi yaitu glisin sebesar 16,54% dan terendah L-tirosin sebesar 0,37%.

Asam amino merupakan komponen utama penyusun protein, dan dibagi menjadi dua kelompok yaitu asam amino esensial dan non-esensial. Asam amino esensial tidak dapat diproduksi dalam tubuh sehingga sering harus ditambahkan dalam bentuk makanan, sedangkan asam amino non-esensial dapat diproduksi dalam tubuh. Asam amino umumnya berbentuk serbuk dan mudah larut dalam air, namun tidak larut dalam pelarut organik nonpolar.

Dari hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa kadar asam amino tertinggi pada gelatin kulit ikan kakap merah perlakuan lama ekstraksi 7 jam adalah glisin sebesar 16,54% dan asam amino terendah adalah L-tirosin sebesar 0,37%. Hal ini karena glisin merupakan asam amino yang paling banyak ditemukan dalam gelatin. Asam amino jenis ini menyumbang 23% dari total asam amino. Diketahui bahwa stabilitas termal dipengaruhi oleh jumlah asam amino. Gelatin dibuat dari hidrolisis parsial kolagen. Rantai alfa pada kolagen umumnya mempunyai sekuen berulang glisin-X-Y. Prolin sering terjadi pada posisi X dan hidroksiprolin hampir selalu pada posisi Y. Sehingga asam amino tersebut paling banyak terdapat pada gelatin. Kombinasi ini lebih disukai karena alasan sterik dan elektrostatis (Oktaviani dan Nasution, 2017).

Kandungan asam amino glisin sebesar 16,54% dan L-prolin sebesar 7,77%. Menurut Puspawati *et al.*, (2017), asam-asam amino penyusun gelatin saling terikat melalui ikatan peptida membentuk gelatin dengan susunan unit ulang Gly-X-Y, dimana X prolin dan Y hidroksiprolin atau yang lainnya. Komposisi dan urutan asam amino gelatin berbeda satu dengan yang lainnya bergantung kepada spesies dan jenis jaringannya tetapi selalu mengandung glisin, prolin, hidroksiprolin dengan persentase yang tinggi. Senyawa gelatin merupakan suatu polimer linier asam-asam amino. Pada umumnya rantai polimer tersebut merupakan perulangan dari asam amino glisin-prolin-prolin atau glisin-prolin-

hidroksiprolin. Analisis asam amino ini bertujuan untuk mengetahui jenis dan komposisi asam amino produk gelatin dari kulit ayam dengan proses perendaman menggunakan jenis asam yang berbeda. Menurut Nasution *et al.*, (2018), kadar asam amino gelatin dengan ekstraksi asam dapat mengakibatkan hilangnya asam amino selama hidrolisis kolagen pada saat perendaman dengan asam.

Karakteristik fisika-kimia gelatin dapat dipengaruhi oleh komposisi asam amino yang terkandung di dalamnya. Kandungan asam amino pada gelatin dapat mempengaruhi kekuatan gel dan viskositas pada gelatin. Pada gelatin kulit ikan kakap merah asam amino jenis glisin dan prolin adalah dua asam amino utama yaitu hampir seperempat dari total asam amino yang terdapat pada gelatin. Menurut Puspawati *et al.*, (2017), kandungan asam amino glisin dan prolin memegang peran penting terhadap sifat fisik dan kimia gelatin. Kandungan glisin dan prolin yang tinggi berhubungan dengan kekuatan gel yang dihasilkan. Adanya ikatan hydrogen antara molekul air dan gugus hidroksil bebas pada asam amino akan mempengaruhi kekuatan gel pada gelatin. Sifat fisik dan kimia gelatin tidak hanya bergantung pada komposisi asam aminonya tetapi juga ditentukan oleh kandungan relatif dari komponen rantai protein β - atau γ – dan aggregates dengan berat molekul yang tinggi serta adanya kandungan fragmen protein dengan berat molekul yang rendah. Faktor lain yang juga berpengaruh terhadap sifat fisik dan kimia gelatin adalah sumber atau asal dari bahan awal yang digunakan dan proses pengawetan dari bahan mentah yang digunakan atau kesegaran dari bahan mentah yang digunakan.

Perubahan susunan asam amino pada gelatin dapat dipengaruhi pada saat ekstraksi yang mengakibatkan terjadi perubahan akibat

terdenaturasinya protein kolagen kulit dan beberapa asam amino tertentu berubah secara kimia (Miwada dan Sukada, 2017).



5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah

1. Hasil penelitian menunjukkan lama ekstraksi yang berbeda berpengaruh nyata terhadap karakteristik fisika kimia fisika kimia gelatin kulit ikan kakap merah yang meliputi nilai rendemen, nilai viskositas, derajat keasaman, kekuatan gel, kadar protein, kadar karbohidrat, kadar lemak, kadar air, dan kadar abu.
2. Gelatin kulit ikan kakap merah terbaik didapatkan pada lama ekstraksi 7 jam dengan hasil rendemen sebesar 18,26; kekuatan gel 6,72 N; viskositas 5,64cP; pH 5,50%; kadar air 8,80 %; kadar abu 0,55%; kadar protein 89,72%; kadar karbohidrat 0,70% dan kadar lemak 0,42%. Hasil analisis profil amino diperoleh kandungan asam amino tertinggi *Glisin* 16,54% dan asam amino terendah *L-Tirosin* 0,37%.

5.2 Saran

Saran yang dapat saya berikan untuk penelitian selanjutnya yaitu perlu adanya penelitian lanjutan terhadap gelatin kulit ikan untuk memenuhi standar nasional kebutuhan konsumsi seperti uji kelarutan, uji mikrobiologi dan uji daya cerna. Nilai pH sebagai standar pembuatan gelatin harus dijabarkan lebih mendalam mulai dari pH larutan hingga proses menjadi gelatin. Proses pembuatan mulai dari perendaman hingga hasil akhir harus lebih dipahami dan dijabarkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriani, D. dan 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*). *Journal of Agriculture and Veterinary Science*. Vol. **12** (5): 62-66. ISSN: 2319-2380.
- Agnes T., Agustin., dan Meity S. 2015. Kajian Gelatin Kulit Ikan Tuna (*Thunus albacares*) yang diproses Menggunakan Asam Asetat. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*. Vol. **1** (5): 1186-1189.
- Agustin, A. T. 2013. Gelatin Ikan: Sumber, Komposisi Kimia dan Potensi Pemanfaatannya. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*. Vol. **1** (2) : 44-46.
- Agustin., E. Suprayitno., and H. Nursyam. 2014. Chitosan inhibitability 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* sp). *International Journal of Bioscience (IJP)*. Vol. **5** (7): 281–287. ISSN 2220–6655.
- Agustin, A. T dan M. Sompe. 2015. Kajian Gelatin Kulit Ikan Tuna (*Thunus albacares*) yang diproses Menggunakan Asam Asetat. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*. Vol. **1** (5) : 1186-1189.
- Alhana., P. Suptijah dan K. Tarman. 2015. Ekstraksi dan karakterisasi kolagen dari daging teripang gamma. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol. **18** (2): 150-161.
- Ali, F., Ferawati., dan R. Arqomah. 2013. Ekstraksi Zat Warna Dari Kelopak Bunga Rosella (Study Pengaruh Konsentrasi Asam Asetat dan Asam Sitrat). *Jurnal Teknik Kimia*. Vol. **1** (19) : 30 hlm.
- Ananda, A. R., R. J. Triastuti., dan 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.
- Aprilyani, I. K., Y. S. Darmanto dan P. H. Riyadi. 2013. Aplikasi penambahan gelatin dari berbagai kulit ikan terhadap kualitas pasta ikan tunul (*Sphyræna picuda*). *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. Vol. **2** (3): 11-20.



- Aryani dan Ernaweri. 2014. Kajian pemberian asam askorbat (vitamin c) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap ketengikan abon ikan lele (*clarias batrachus*). *Fish Scientiae*. Vol. **4** (7): 1-11.
- 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.
- Ata, S. T. W., R. Yulianty., F. J. Sami dan N. Ramli. 2016. Isolasi kolagen dari kulit dan tulang ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*). *Journal of Pharmaceutical and Medical Science*. Vol. **1** (1): 27-30.
- Atma, Y., H. Ramadhani., A. Z. Mustopa., M. Pertiwi dan R. Maisarah. 2018. Karakteristik fisikokimia gelatin tulang ikan patin (*Pangasius sutchi*) hasil ekstraksi menggunakan limbah buah nanas. *Jurnal Agritech*. Vol. **38** (1): 56-63. ISSN: 0216-0455.
- Azara, R. 2017. Pembuatan dan analisis sifat fisikokimia gelatin dari limbah kulit ikan kerapu (*Ephinephelus sp.*). *Jurnal Rekapangan*. Vol. **11** (1): 62-69.
- Ciptaningtyas, D dan H. Suhardiyanto. 2016. Sifat thermo fisik arang sekam. *Jurnal Teknotan*. Vol. **10** (2): 8hlm. ISSN: 2528-6285.
- Darwin., A. Ridhay dan J. Hardi. 2018. Kajian ekstraksi gelatin dari tulang ikan mujair (*Oreochromis mossambicus*). *Jurnal Kovalen*. Vol. **4** (1): 1-15. ISSN: 2477-5398.
- De Garmo, Sullivan EDG, dan Canada JR. 1984. Engineering Economis Mc Milan Publishing Company. New York.
- Dewatisari, W. F., L. Rumiyaniti dan I. Rakhmawati. 2018. Rendemen dan skrining fitokimia pada ekstrak daun *Sansevieria sp.* *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. Vol. **17** (3): 197-202. ISSN: 1410-5020.
- 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.
- Faishal, I. F., Fronthea S., dan Apri DA. 2017. Pemanfaatan Kuning Telur Bebek Sebagai Bahan Peminyak Alami Terhadap Karakteristik Fisik dan Kimia Kulit Ikan Kakap Putih (*Lutjanus calcarifer*) Samak. *Jurnal Pengantar dan Nioteknologi Hasil Perikanan*. **6** (2): 8-16.
- Febriansyah, R., A. Pratama dan J. Gumilar. 2019. Pengaruh konsentrasi NaOH terhadap rendemen, kadar air dan kadar abu gelatin ceker itik (*Anas platyrhynchos Javanica*). Vol. **14** (1):1-10. ISSN: 1978-0303.

- Finarti., Renol., D. Wahyudi., M. Akbar., dan R. Ula. 2018. Rendemen dan pH gelatin kulit ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang direndam pada berbagai konsentrasi HCl. *Jurnal Pengolahan Pangan*. Vol. **3** (1): 22–27. ISSN 2621–6973.
- Firdayanti, W dan 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 Science and Research Publication*. Vol. **9** (4): 774-778. ISSN: 2250-3135.
- 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. ISSN 2220–6655.
- 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. 2012. How is gelatin made. *South America*.
- Ghufron, M. H dan K. Kordi. 2009. Budidaya perairan. *Penerbit Citra Aditya Bakti*. . ISBN: 978-979-414-968-3.
- Ghufron, H. M dan Khordi. K. 2010. Nikmat rasanya, nikmat untungnya pinter budidaya ikan di tambak secara intensif. Yogyakarta: *Penerbit Lily Publisher*. ISBN: 978-979-29-1335-4.
- Glisenan, P. M and S. B. Murphy. 2017. Extract mion of gelatins from mammalian and marine sourcces. *Food Hydrocolloida*. Vol. **14**: 191-195.
- 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., Y. Perwitasari., dan S. Budiarto. 2014. Analisis kandungan gizi dan bau lumpur ikan bandeng (*Chanos chanos*) dari dua lokasi yang berbeda. *Jurnal Kelautan*. Vol. **7** (1): 33-44. ISSN: 1907-9931.
- Handajani, S., G.J Manuhara dan R. B. K. Anandito. 2010. Pengaruh suhu ekstraksi terhadap karakteristik fisik, kimia, dan sensoris minyak wijen (*Sesamum Indicum L*). *Jurnal Agriculture Technology*. Vol. **30** (2): 116-122.

- Hardikawati, T., N. M. Puspawati dan K. Ratnayani. 2016. Kajian pengaruh variasi konsentrasi asam sitrat terhadap kekuatan gel produk gelatin kulit ayam broiler dikaitkan dengan pola proteinnya. *Jurnal Kimia*. Vol. **10** (1): 115-124. ISSN: 1907-9850.
- 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 Akuatika*. Vol. **6** (2): 170-176. ISSN 0853-2532.
- Hastuti, D dan I. Sumpe. 2007. Pengenalan dan proses pembuatan gelatin. *Jurnal Mediagro*. Vol. **3** (1): 39-8.
- 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.
- Iqbal, M., C. Anam dan A. A. Ridwan. 2015. Optimasi rendemen dan kekuatan gel gelatin ekstrak tulang ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus sp*). *Jurnal Teknosains Pangan*. Vol. **4** (4): 8-14. ISSN: 2302-0733.
- Ismed. 2016. Analisis proksimat keripik wortel (*Daucus carota L.*) pada suhu dan lama penggorengan yang berbeda menggunakan mesin vacuum frying. *Jurnal Teknologi Pertanian Andalas*. Vol. **20** (2): 8hlm. ISSN: 1410-1920.
- Jacob, A. M., Nurjannah dan A. Saraswati. 2013. Kandungan asam lemak dan kolesterol kakap merah (*Lutjanus bohar*) setelah pengukusan. *Jurnal Penanganan Hasil Perikanan Indonesia*. Vo. **16** (2): 168-176. ISSN: 2303-2111. 1
- Jeffriansah, D dan E. Suprayitno. 2019. The effect of addition different HCl concentrations on the physic-chemical properties of cork fish (*Ophiocephalus striatus*) skin gelatin. *International Journal of Science and Research Publication*. Vol. **9** (6): 396-400. ISSN: 2250-3135.
- Katili, A. S. 2009. Struktur dan fungsi kolagen. *Jurnal Pelangi Ilmu*. Vol. **2** (5): 18-29.

- Lagler, K. F., J. E. Bardach., R. R. Miller and D. R. M. Passiono. 2018. *Ichthyology 2th ed.* New York: John Wiley and Sons.
- Laird, B. B. 2009. University Chemistry. Dubuque, IA : McGraw-Hill.
- Lambert, R.J., and M. Stratford. 1999. Weak-acid preservatives: modelling microbial inhibition and response. *Journal of Applied Microbiology*. Vol. **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 Environmetal Sciences (JBES)*. Vol. **5** (1): 562-572. ISSN 2220-6663.
- Lombu, F. V., A. T. Agustin dan E. V. Panday. 2015. Pemberian konsentrasi asam asetat pada mutu gelatin kulit ikan tuna. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*. Vol. **3** (2): 25-28.
- Madani, S. N., N. Kurniaty, D. Herawati. 2016. Analisis komposisi asam amino dalam cangkang kapsul gelatin sapi dan yang diduga gelatin babi menggunakan metode *Ultrahigh Performance Liquid Chromatography* (UPLC). *Prosiding Farmasi*. Vol. **2** (1): 45-51.
- Malita, J. B. N dan E. Suprayitno. 2019. Effect of demineralization with sulfuric acid on yield, gel strength, viscosity, and amino acids of gelatin extracted from fish bones leucis (*Lethrinus lentjan*). *International Journal of Science and Research Publication*. Vol. **9** (6): 174-177. ISSN: 2250-3135.
- Nerdy. 2017. Determination of vitamin c in several varieties of melon fruit by titration method. *Jurnal Natural*. Vol. **17** (2): 118-121. ISSN:2541-4062.
- Nurchayanti, R dan 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 Science and Research Publication*. Vol. **9** (5): 169-174. ISSN: 2250-3135.
- Nurimala Mala., Agoes M J., dan Rofi A D. 2017. Karakteristik Gelatin Kulit Ikan Tuna Sirip Kuning. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol. **20** (2): 339-350.
- Oktaviani, I. R. Z., 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**: 1-8.

- Pahlawan I, F dan Emiliana. 2016. Pengaruh Jumlah Minyak Terhadap Fisis Kulit Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Untuk Bagian Atas Sepatu. *Majalah Kulit, Karet dan Plastik*. Vol. **28** (2): 105-111.
- Pakaya, D. 2014. Peranan vitamin c pada kulit. *Jurnal Ilmiah Kedokteran*. Vol. **1** (2): 45-54
- Pangke, R. B., H. J. Lohoo dan A. T. Agustin. 2016. Ekstraksi gelatin kulit ikan tuna dengan proses basa (NaOH). *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*. Vol. **4** (2): 92-94.
- Panjaitan, T. F. C. 2016. Optimasi ekstraksi gelatin dari tulang ikan tuna (*Thunnus albacares*). *Jurnal Wiyata*. Vol. **3** (1): 11-16. ISSN: 2355-6498.
- Perricone, N. 2007. The perricone prescription. *Harper Collins Publisher*. New York. ISBN: 979-1112-60-6.
- Pertiwi, M., Y. Atma., A. Z. Mustoa., 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.
- Poppe, J. 2018. Gelatin, Di Dalam Imeson A Red Thickenening and Gelling Agents For Food. London : Blackie Academic and Profesional.
- Pratama, M., M. Baits., dan N. A. A. R. Saman. 2014. Analisis kadar protein dan lemak pada ikan julung-julung asap (*Hemirhamphus far*) asal Kecamatan Kayoa Maluku Utara dengan metode kjeldahl dan gravimetri. *Jurnal As- Syifaa*. Vol. **6** (2): 178–186. ISSN 2085–4714.
- Pratiwi N D., Sumardianto., dan Romadhon. 2015. Pengaruh Penggunaan Asam Klorida (HCL) Sebagai Bahan Pengemasan Terhadap Kualitas Kulit Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Samak. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. Vol. **4** (2): 45-52.
- 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.
- Prihatiningsih, D., N. M. Puspawati dan J. Sibarani. 2014. Analisis sifat fisikokimia gelatin yang diekstraksi dari kulit ayam dengan variasi asam laktat dan lama ekstraksi. *Jurnal Cakra Kimia*. Vol. **2** (1): 31-45.
- Prihatiningsih., M. M. Kamal., R. Kurnia dan A. Suman. 2017. Hubungan panjang berat, kebiasaan, dan reproduksi kakap merah (*Lutjanus gibbus*: family *Lutjanidae*) di perairan selatan banten. *Jurnal Widya Riset Perikanan Tangkap*. Vol. **9** (1): 21-2. ISSN: 2502-6410.

- Pundoko, S. S., H. Onibala., dan A. T. Agustin. 2014. Perubahan Komposisi Zat Gizi Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis. L*) Selama Proses Pengolahan Ikan Kayu. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*. Vol. **2** (1). 6 Hlm.
- Purba R. 2018. Perkembangan Awal Ikan Kakap Merah (*Lutjanus argentimaculatus*). *Jurnal Oseana*. Vol. **19** (3) : 11-20.
- Purwitasari, A., Y. Hendrawan dan R. Yulianingsih. 2014. Pengaruh suhu dan waktu ekstraksi terhadap sifat fisika kimia dalam pembuatan konsentrasi protein kacang komak (*Lablab purpureus(L.) sweet*). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. Vol. **2** (1):42-53
- Puspawati, N. M., I. A. G. Widhati dan I. N. Widana. 2017. Komposisi asam amino dan pola pita protein gelatin halal dari kulit ayam broiler. *Jurnal Kimia*. Vol. **11** (1): 36-42. ISSN: 1907-9850.
- Rachmania, R. A., F. Nisma dan E. Mayangsari. 2013. Ekstraksi gelatin dari tulang ikan tenggiri melalui proses hidrolisis menggunakan larutan basa. *Jurnal Media Farmasi*. Vol. **10** (2): 18-28.
- Rahayu, F dan N. H. Fithriyah. 2015. Pengaruh waktu ekstraksi terhadap rendemen gelatin dari tulang ikan nila merah. *Seminar Nasional dan Sains*. 6hlm. ISSN: 2460-8416.
- Rahmawati, H dan Y. Pranoto. 2016. Sifat fisiko-imia gelatin ikan belut dan lele pada keadaan segar dan kering. *Fish Scientiae*. Vol. **2** (3): 18-30.
- 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.
- 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 (CH₃COOH) terhadap karakteristik fisik dan kimia gelatin ceke ayam. *Jurnal Zootek*. Vol. **37** (2): 268–275. ISSN: 0852–2626.
- Rera, D. L. dan E. Suprayitno. 2019. Gel strength, viscosity and amino acid profile of gelatin extracted from fish skin of lencam (*Lethrinus lentjan*). *International Journal of Science and Research Publication*. Vol. **9** (4): 768-771. ISSN: 2250-3153.

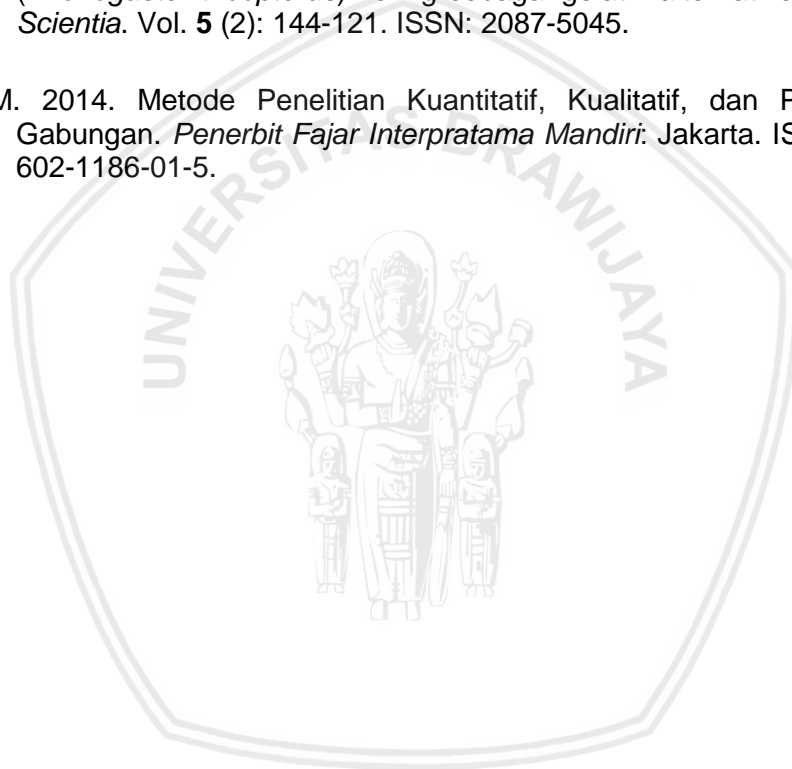
- Rosaini, H., R. Rasyid., dan V. Hagramida. 2015. Penetapan kadar protein secara kjeldahl beberapa makanan olahan kerang remis (*Corbiculla moltkiana Prime.*) dari danau singkarak. *Jurnal Farmasi Higea*. Vol 7 (2): 120–127.
- Russell, B., Carpenter, K. E., Smith. V. W.F., Lawrence. A and Spark. J. S. 2016. *Lutjanus argentimaculatus*. IUCN Red List of Threatened Species.
- 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.
- Sahubawa, L. 2018. Teknik penanganan hasil perikanan. Yogyakarta: *Penerbit Gadjah Mada University Press*. ISBN: 978-602-386-151-4.
- Said, M. I., S. Triatmojo., Y. Erwanto dan A. Fudholi. 2011. Karakteristik gelatin kulit kambing yang diproduksi melalui proses asam dan basa. *Jurnal Agriculture Technology*. Vol. 31 (3): 190-200.
- Saleh, R dan Syamsuar. 2011. Ekstraksi gelatin dari limbah tulang ikan kakap merah (*Lutjanus sp.*) dengan metode asam. *Jurnal Teknosains*. Vol. 5 (1): 33-42.
- Samosir, A. S. K., N. Idiawati., 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 *Skriming* 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.
- Saputra, R. H., I. Widiastuti dan A. Supriadi. 2015. Karakteristik fisik dan kimia gelatin kulit ikan patin (*Pangasius pangasius*) dengan kombinasi berbagai asam dan suhu. *Jurnal Teknologi Hasil Perikanan*. Vol. 4 (11): 29-36.
- Sari, E. M., E. Nurilmala dan S. Abdullah. 2017. Profil asam amino dan senyawa bioaktif kuda laut (*Hippocampus comes*). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. Vol. 9 (2): 605-617. ISSN: 2087-9423.

- Sasmitaloka, K. S., Miskiyah dan Juniawati. 2017. Kajian potensi kulit sapi kering bahan dasar produksi gelatin halal. *Jurnal Buletin Peternakan*. Vol. **41** (3): 328-337. ISSN: 0126-4400.
- Sekhu, A., dan Paskalina. 2018. Chemistry. Penerbit Prima Ufuk Semesta. Jakarta. ISBN 978-602-51971-1-6.
- Setiawan, D. W., T. D. Sulistiyati dan E. Suprayitno. 2013. Pemanfaatan residu daging ikan gabus (*Ophiocephalus striatus*) dalam pembuatan kerupuk ikan beralbumin. *Teknologi Hasil Perikanan Student Journal*. Vol. **1** (1): 21-32.
- 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 dan E. Suprayitno. 2019. Amino acid composition of gelatin from *Ephinephelus Sp.* *Journal of Agriculture and Veterinary Science*. Vol **12** (4): 51-54. ISSN: 2319-2380.
- Siregar, N. S. 2017. Karbohidrat. *Jurnal Ilmu Keolahragaan*. Vol **13** (2): 38–44.
- Siyoto, S., dan M. A. Sodik. 2015. Dasar Metodologi Penelitian. Penerbit Literasi Media Publishing. Yogyakarta: ISBN 978-602-1018-18-7.
- SNI 06-3735-1995. Mutu dan Cara Uji Gelatin. *Badan Standarisasi Nasional*.
- Soputan, D. D., C. F. Mamuja., dan T. F. Lolowang. 2016. Uji organoleptik dan karakteristik kimia produk klappertaart di kota manado selama penyimpanan organoleptik. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. Vol. **4** (1): 18–27.
- Sriati. 2017. Kajian Bio Ekonomi Sumberdaya Ikan Kakap Merah Yang Didaratkan di Pantai Selatan Tasikmalaya, Jawa Barat. *Jurnal Akuatika*. Vol. **2** (2): 79-92.
- Sugihartono. 2015. Aplikasi pendayagunaan asam in-situ pada kulit piket terbang untuk pembuatan gelatin pangan. *Jurnal Riset Teknologi Industri*. Vol. **9** (2): 187–197.
- Suhenry, S., T. W. Widayati., H. T. Hartarto dan R. Suprihadi. 2015. Proses pembuatan gelatin dari kulit kepala sapi dengan proses hidrolisis menggunakan katalis HCl. *Jurnal Teknik Kimia*. Vol. **10** (1): 1-7. ISSN: 1693-4393.

- Sukasih, E dan S. Setyadjit. 2016. Pengaruh perendaman asam askorbat dan natrium bisulfit pada dua varietas bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) terhadap sifat fisikokimia dan organoleptik tepungnya. *Jurnal Agriculture Technology*. Vol. **36** (3): 270-278. ISSN: 0216-0455.
- Sukiya dan. R. A .Putri. 2016.perbandingan struktur insang dan kulit tipe remainer (*Bathygobius fuscus*) dan skipper (*Blenniella cyanostigma*) zona intertidal pantai gunung kidul. *Jurnal Sains Dasar*. Vol. **5** (2):107-115.
- Sulthoniyah, S. T. M., T. D. Sulistiyati dan E. Suprayitno. 2013. Pengaruh suhu pengukusan terhadap kandungan gizi dan organoleptik abon ikan gabus (*Ophiocephalus striatus*). *Jurnal Teknologi Hasil Perikanan*. Vol. **1** (1): 33-45.
- Suprayitno, E. 2014. Profile albumin fish cork (*Ophicephalus striatus*) of different ecosystems. *International Journal of Current Research and Academic Review*. Vol. **2** (12): 201–208. ISSN 2347–3215.
- Suprayitno, E., S. S. Adi., and T. D. Sulistiyati. 2016. Diversification of mackerel tuna (*Euthynnus affinis*) 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. 2017. Dasar pengawetan. *Penerbit UB Press*: Malang. ISBN 978-602-432- 083-6.
- Suprayitno, E. 2017. Misteri ikan gabus. *Penerbit UB Press*: Malang. ISBN 978-602-432- 143-7.
- Suprayitno, E dan T. D. Sulistiyati. 2017. Metabolisme protein. *Penerbit UB Press*: Malang. ISBN: 978-602-432-361-1.
- Suptijah, P., S. H. Suseno dan C. Anwar. 2013. Analisis kekuatan gel (*gel strength*) produk permen jelly dari gelatin kulit ikan cucut dengan penambahan karaginan dan rumput laut. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol. **16** (2): 183-191.
- Suryaningrum, T. D., D. Ikasari., I. Mulya., dan A, H. Purnomo. 2016. Karakteristik kerupuk panggang ikan lele (*Clarias gariepinus*) dari beberapa perbandingan daging ikan dan tepung tapioka. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*. Vol. **11** (1): 25–40.
- Suryanti, S., D. W. Marseno, R. Indrati dan H. E. Irianto. 2017. Pengaruh jenis asam dan isolasi gelatin dari kulit ikan nila (*Oreochromis niloticus*) terhadap karakteristik emulsi. *Agricultural Technology*. Vol. **37** (4): 410-419. ISSN: 2527-3825.

- Suryati., Z. A. Nasrul., Meriatna dan Suryani. 2015. Pembuatan dan karakterisasi gelatin dari ceke ayam dengan proses hidrolisis. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*. Vol. 4 (2): 66-79.
- Syahbuddin, S., A. P. Hariyadi dan Romadhon. 2014. Pengaruh penambahan telur rajungan (*Portunus pelagicus*) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap mie basah. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. Vol. 3 (4): 65-70.
- Syamsuar dan M. A. Ghaffar. 2013. Analisis proksimat chips rumput laut *Eucaema cottoni* pada suhu penggorengan dan lama penggorengan berbeda. *Jurnal Galung Tropika*. Vol. 2 (3): 129-135. ISSN: 2302-4178.
- Tazwir., D. L. Ayudiarta dan R. Peranginangin. 2007. Optimasi pembuatan gelatin tulang ikan kaci-kaci (*Plectorhynchus chaetodonoides* Lac.) menggunakan berbagai konsentrasi asam dan waktu ekstraksi. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. Vol. 2 (1): 35-43.
- Techinamuti, N dan R. Pratiwi. 2016. Review: metode analisis kadar vitamin C. *Jurnal Farmaka*. Vol. 16 (2): 309-315.
- Trilaksani W., Mala N., dan Ima H. S. 2012. Ekstraksi Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah (*Lujanus sp.*) Dengan Proses Perlakuan Asam. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol. 15 (3): 240 -253.
- Ulfah, M. 2013. Pengaruh konsentrasi larutan asam asetat dan lama waktu perendaman terhadap sifat-sifat gelatin ceke ayam. *Jurnal Agritech*. Vol. 31(3): 161-167.
- Utami, S. L. P., 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.
- Wahyuni, D. T dan S. B. Widjanarko. 2015. Pengaruh jenis pelarut dan lama ekstraksi terhadap karotenoid labu kuning dengan metode gelombang ultrasonik. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol. 3 (2): 390-401.
- 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.
- Wijaya, O. A., T. Surti dan Sumardianto. 2015. Pengaruh Lama Perendaman NaOH Pada Proses Penghilangan Lemak Terhadap Kualitas Gelatin Tulang Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. 4 (2) :25-32.

- Wijayanti, I., T. Surti., T. W. Agustini dan Y. S. Darmanto. 2014. Perubahan asam amino surimi ikan lele dengan frekuensi pencucian yang berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan*. Vol. **17** (1): 29-41.
- Winarno, F. G.. 2004. Kimia pangan dan gizi. *Penerbit Gramedia Pustaka Utama*: Jakarta. ISBN: 212-84-013.
- Wulandari, W. T. 2017. Analisis kandungan asam askorbat dalam minuman kemasan yang mengandung vitamin c. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. Vol. **17** (1): 27-32.
- Yenti, R., D. Noviandi dan Rosmaini. 2015. Pengaruh beberapa jenis larutan asam pada pembuatan gelatin dari kulit ikan sepat rawa (*Trichogaster trichopterus*) kering sebagai gelatin alternative. *Journal Scientia*. Vol. **5** (2): 144-121. ISSN: 2087-5045.
- Yusuf, M. 2014. Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan Penelitian Gabungan. *Penerbit Fajar Interpratama Mandiri*: Jakarta. ISBN 978-602-1186-01-5.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Analisis (ANOVA) Rendemen

Descriptives

Rendemen

N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
				Lower Bound	Upper Bound			
				5 jam	6			8.6433
6 jam	6	11.7500	.10900	.04450	11.6356	11.8644	11.63	11.89
7 jam	6	18.2617	.07195	.02937	18.1862	18.3372	18.19	18.36
Total	18	12.8850	4.12477	.97222	10.8338	14.9362	8.57	18.36

ANOVA

Rendemen	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	289.131	2	144.566	21090.771	.000
Within Groups	.103	15	.007		
Total	289.234	17			

Rendemen

Tukey HSD

Lama Ekstraksi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
5	6	8.6433		
6	6		11.7500	
7	6			18.2617
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.



Lampiran 2. Hasil Analisis (ANOVA) Gell Strength

Descriptives

Gell Strength

N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
				Lower Bound	Upper Bound			
				5 jam	6			4.1883
6 jam	6	5.7667	.09543	.03896	5.6665	5.8668	5.66	5.89
7 jam	6	6.7167	.05203	.06238	6.5563	6.8770	6.53	6.89
Total	18	5.5572	1.05420	.25932	5.0101	6.1043	3.3	6.89

ANOVA

Gell Strength	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	19.572	2	9.786	146.069	.000
Within Groups	1.005	15	.067		
Total	20.577	17			

GellStrength

Tukey HSD

Lama Ekstraksi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
5	6	4.1883		
6	6		5.7667	
7	6			6.7167
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Lampiran 3. Hasil Analisis (ANOVA) Viskositas

Descriptives

Viskositas

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					5 jam	6		
6 jam	6	4.6267	.08571	.03499	4.5367	4.7166	4.52	4.73
7 jam	6	5.6367	.05203	.02124	5.5821	5.6913	5.58	5.71
Total	18	4.4706	1.05420	.24848	3.9463	4.9948	3.00	5.71

ANOVA

Viskositas	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	18.795	2	9.397	1439.108	.000
Within Groups	.098	15	.007		
Total	18.893	17			

Viskositas

Tukey HSD

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
5	6	3.1483		
6	6		4.6267	
7	6			5.6367
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Lampiran 4. Hasil Analisis (ANOVA) Derajat Keasaman (pH)

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					5 jam	6		
6 jam	6	5.3167	.21238	.08671	5.0938	5.5395	5.09	5.58
7 jam	6	5.5000	.17061	.06965	6.3743	6.7324	6.36	6.76
Total	18	5.2000	.79640	.18771	5.1540	5.1540	4.53	6.76

ANOVA

pH	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9.924	2	4.962	86.743	.000
Within Groups	.858	15	.057		
Total	10.782	17			

pH

Tukey HSD

Lama Ekstaksi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
5	6	4.7800		
6	6		5.3167	
7	6			6.5533
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Lampiran 5. Hasil Analisis (ANOVA) Kadar Protein

Descriptive

Kadar protein

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					5 jam	6		
6 jam	6	88.4267	.06377	.02603	88.3597	88.4936	88.35	88.51
7 jam	6	89.7200	.09487	.03873	89.6204	89.8196	89.61	89.84
Total	18	89.7200	1.06682	.25145	87.9139	88.9750	87.10	89.84

ANOVA

Kadar Protein	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	19.256	2	9.628	1575.505	.000
Within Groups	.092	15	.006		
Total	19.348	17			

Kadar Protein

Tukey HSD

Lama Ekstraksi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
5	6	87.1867		
6	6		88.4267	
7	6			89.7200
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Lampiran 6. Hasil Analisis (ANOVA) Kadar Karbohidrat

Descriptives

Kadar Karbohidrat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					5 jam	6		
6 jam	6	.4867	.03777	.01542	.4470	.5263	.44	.54
7 jam	6	.6967	.05046	.02060	.6437	.7496	.63	.76
Total	18	.4700	.20668	.04872	.3672	.5728	.11	.76

ANOVA

Kadar Karbohidrat	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.665	2	.333	81.787	.000
Within Groups	.061	15	.004		
Total	.726	17			

Kadar Karbohidrat

Tukey HSD

Lama Ekstraksi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
5	6	.2267		
6	6		.4867	
7	6			.6967
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.



Lampiran 7. Hasil Analisis (ANOVA) Kadar Air

Descriptives

Kadar Air

N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
				Lower Bound	Upper Bound			
5 jam	6	10.7133	.13471	.05499	10.5720	10.8547	10.55	8.61
6 jam	6	9.3767	.07685	.03138	9.2960	9.4573	9.28	9.47
7 jam	6	8.7967	.14081	.05748	8.6489	8.6489	8.61	8.93
Total	18	9.6289	.83359	.19648	9.2144	9.2144	8.61	10.87

ANOVA

Kadar Air	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11.593	2	5.797	396.310	.000
Within Groups	.219	15	.015		
Total	11.813	17			

Kadar Air

Tukey HSD

Lama Ekstraksi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
7	6	8.7967		
6	6		9.3767	
5	6			10.7133
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Lampiran 8. Hasil Analisis (ANOVA) Kadar Lemak

Descriptives

Kadar lemak

N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
				Lower Bound	Upper Bound			
5 jam	6	.7150	.05753	.02349	.6546	.7754	.64	.79
6 jam	6	.5833	.05046	.02060	.5304	.6363	.52	.65
7 jam	6	.4200	.04604	.01880	.3717	.4683	.36	.48
Total	18	.5728	.13328	.03141	.5065	.6391	.36	.79

ANOVA

Kadar Lemak	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.262	2	.131	49.283	.000
Within Groups	.040	15	.003		
Total	.302	17			

Kadar Lemak

Tukey HSD

Lama Ekstraksi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
7	6	.4200		
6	6		.5833	
5	6			.7150
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Lampiran 9. Hasil Analisis (ANOVA) Kadar Abu

Descriptives

Kadar abu

	N	Mean	Std.Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					5 jam	6		
6 jam	6	.8700	.08602	.03512	.7797	.9603	.77	.98
7 jam	6	.5467	.07257	.02963	.4705	.6228	.46	.64
Total	18	.8511	.25909	.06107	.7223	.9800	.46	1.24

ANOVA

Kadar Abu	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.048	2	.524	83.875	.000
Within Groups	.094	15	.006		
Total	1.141	17			

Kadar Abu

Tukey HSD

Lama Ekstraksi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
7	6	.5467		
6	6		.8700	
5	6			1.1367
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Lampiran 10. Prosedur Uji Viskositas

Prosedur uji viskositas berdasarkan British Standard (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°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:

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

Keterangan:

A= Nilai viskositas larutan pada suhu 28°C

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

Lampiran 11. Prosedur Uji Kekuatan Gel

Proses uji kekuatan gel berdasarkan British Standard (1975), yang pertama yaitu sampel dilarutkan dalam aquades sampai mencapai volume 100 ml dalam labu takar, kemudian dipindahkan dalam gelas piala 100 ml dipanaskan sebentar sampai gelatin larut kemudian didinginkan pada suhu 10°C selama 17 jam. Gel yang terbentuk selanjutnya dianalisis menggunakan Volland-Stevens LFRA Texture Analyzer dengan satuan bloom (menentukan berat dalam gram dengandiameter 0,5 inci). Hasil dari pengukuran berupa grafik dan diamati tinggi kurva sebelum pecah serta berat beban yang tercatat pada alat saat contoh pecah. Kekuatan gel ditentukan dari grafik yang diperoleh. Rumus untuk menentukan kekuatan gel adalah sebagai berikut:

$$\text{Kekuatan gel (Bloom)} = 20 + 2,86 \times 10^{-3} \times G$$

$$G = \frac{F}{g}$$

Keterangan:

F= Gaya (N)

g= Konstanta (0,07)

G= Kekuatan Gel (dyne/cm²)

Lampiran 12. Prosedur Uji pH

Prosedur uji pH berdasarkan British Standard (1975), proses pengukuran derajat keasaman gelatin yang pertama yaitu sebanyak 0,5 gram gelatin kering dilarutkan ke dalam 20 ml aquadest. Alat pH meter yang dihubungkan dengan 2 jenis elektroda (bundar dan datar) disiapkan. Sebelum dilakukan pengukuran, maka pH meter harus terlebih dahulu dikalibrasi pada pH 4,00 dan 7,00. Setelah dikalibrasi selanjutnya diukur derajat keasamannya dengan cara elektrode dicelup ke dalam larutan dan didapatkan hasilnya



Lampiran 13. Prosedur Uji Kadar Protein

Prosedur uji kadar protein metode yang digunakan adalah metode kjeldahl. Menurut Rosaini *et al.*, (2015), Metode kjeldahl 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. Metode kjeldahl dianggap cukup teliti digunakan sebagai penentu kadar protein. Untuk menentukan kadar protein dengan menggunakan metode kjeldahl menurut Rosaini *et al.*, (2015), terdiri dari 3 tahap yaitu:

1. Tahap Destruksi

Ditimbang 1 gram sampel yang telah di blender. 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 di pipet 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 erlenmeyer 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 erlenmeyer berisi asam klorida 0,1 N ditetesi indikator metil merah sebanyak 5 tetes langsung di titrasi 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.

Penentuan kadar protein:

- Penentuan kadar amonium klorida

$$\text{Kadar amonium klorida} = (V \text{ HCL} \times N \text{ HCL}) - (V \text{ NaOH} \times N \text{ NaOH})$$

- Penentuan kadar protein

$$\% \text{kadar Nitrogen} = \frac{\text{kadar amonium klorida} \times \text{BE nitrogen (14)}}{w} \times 100\%$$

$$\% \text{Kadar Protein} = \% \text{Kadar Nitrogen} \times \text{Faktor Konversi (6,25)}$$

Lampiran 14. Prosedur Uji Kadar Lemak

Prosedur uji kadar lemak yaitu menggunakan metode soxhlet. Menurut Pratama *et al.*, (2014), Prinsip soxhlet ialah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut konstan dengan adanya pendingin balik. Metode soxhlet ini dipilih karena pelarut yang digunakan lebih sedikit (efisiensi bahan) dan larutan sari yang dialirkan melalui sifon tetap tinggal dalam labu, sehingga pelarut yang digunakan untuk mengekstrak sampel selalu baru dan meningkatkan laju ekstraksi. Waktu yang digunakan lebih cepat. Kerugian metode ini ialah pelarut yang digunakan harus mudah menguap dan hanya digunakan untuk ekstraksi senyawa yang tahan panas.

Penentuan kadar lemak dengan metode soxhlet menurut Angelia (2016), Ekstraksi lemak bebas dengan metode soxhlet dengan pelarut non polar heksana atau pelarut lemak lainnya. Alat yang dibutuhkan dalam uji ini adalah kertas saring, labu lemak, soxhlet, pemanas listrik, oven, neraca analytik, kapas bebas lemak, desikator. Prosedur kerja yang dilakukan pertama-tama adalah timbang sampel sebanyak 1-2 gram. Masukkan ke dalam selongsong kertas yang dialasi dengan kapas. Selanjutnya sumbat selongsong kertas berisi sampel tersebut dengan kapas, keringkan dalam oven pada suhu tidak lebih dari 80°C selama lebih kurang satu jam, kemudian masukan ke dalam alat soxhlet yang telah dihubungkan dengan labu lemak berisi batu didih yang telah dikeringkan dan telah diketahui berat nya. Ekstrak dengan heksana atau pelarut lemak lainnya selama lebih kurang 6 jam. Lalu sulingkan heksana dan keringkan ekstrak lemak dalam oven pengering pada suhu 105°C. Dinginkan dan timbang. Ulangi

pengeringan ini hingga tercapai berat tetap. Lalu dilakukan perhitungan persen lemak dengan rumus:

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

Keterangan:

W = Berat sampel dalam gram

W1= Berat lemak sebelum diekstrasi

W2= Berat labu lemak sesudah diekstrasi



Lampiran 15. Prosedur Uji Kadar Air

Prosedur uji kadar air yang digunakan pada analisis gelatin yaitu menggunakan metode termogravimetri atau metode oven kering. Menurut Kartika (2013), Kadar air adalah perbedaan antara berat bahan sebelum dan sesudah dilakukan pemanasan. Metode oven biasa merupakan salah satu metode pemanasan langsung dalam penetapan kadar air suatu bahan pangan.

Langkah- langkah analisis kadar air menurut Winarno (2002), analisis kadar air dilakukan dengan langkah awal yaitu cawan porselen dikeringkan dalam oven selama 30 menit, lalu didinginkan dalam desikator selama 15 menit. Sampel ditimbang sebanyak 5 gram dalam cawan dan dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C dalam tekanan tidak lebih dari 10 mmHg selama 5 jam atau sampai beratnya konstan. Cawan beserta isinya kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Perhitungan kadar air sebagai berikut:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{B - C}{B - A} = x 100\%$$

Keterangan :

A = Berat cawan kosong (g)

B = Berat cawan + sampel awal (g)

C = Berat cawan + sampel kering (g)

Lampiran 16. Prosedur Uji Kadar Abu

Prosedur uji kadar abu pada gelatin kulit ikan lele yaitu menggunakan metode tanur. Prinsip penentuan kadar abu di dalam bahan pangan yaitu dengan menimbang berat sisa mineral hasil pembakaran bahan organik pada suhu sekitar 550°C. Menurut Susanto (2014), Pengujian kadar abu dengan metode tanur langkah pertama yang dilakukan adalah crusibel kosong atau cawan pengabuan dimasukkan dalam tanur pada suhu 550°C selama 1 jam, kemudian di dinginkan dalam desikator dan ditimbang (W1). Sampel ditimbang dengan bobot 2 gram (W) dimasukkan dalam crusibel kosong dan dibakar selama 45 menit, kemudian dimasukkan dalam tanur pada suhu 550°C selama 4 jam. Setelah waktu dalam tanur tercapai sampel didinginkan dalam desikator dan ditimbang (W2). Kadar abu ditentukan dengan rumus

$$\text{Kadar abu (\%)} = \frac{W2 - W1}{W} = x 100\%$$

Keterangan:

W = Berat sampel

W1= Berat cawan yang telah di oven

W2= Berat cawan dan sampel yang telah dioven

Lampiran 17. Prosedur Uji Kadar Karbohidrat

Prosedur uji kadar karbohidrat gelatin kulit ikan lele yaitu dengan metode *by different* dalam analisis proksimat. Metode ini dilakukan dengan cara mengurangi kadar air, kadar abu, kadar lemak, kadar protein, dan kadar serat kasar. Menurut Widhyasari *et al.*, (2017), Analisis kadar karbohidrat dapat dihitung berdasarkan rumus:

$$\text{Kadar karbohidrat (\%)} = 100\% - (A + B + C + D + E)$$

Keterangan :

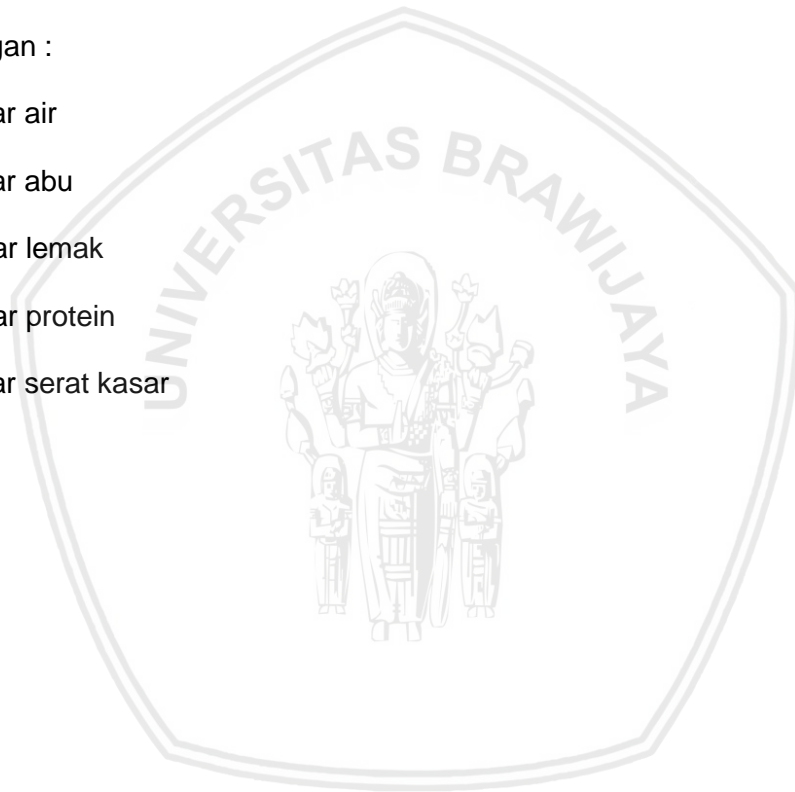
A = Kadar air

B = Kadar abu

C = Kadar lemak

D = Kadar protein

E = Kadar serat kasar

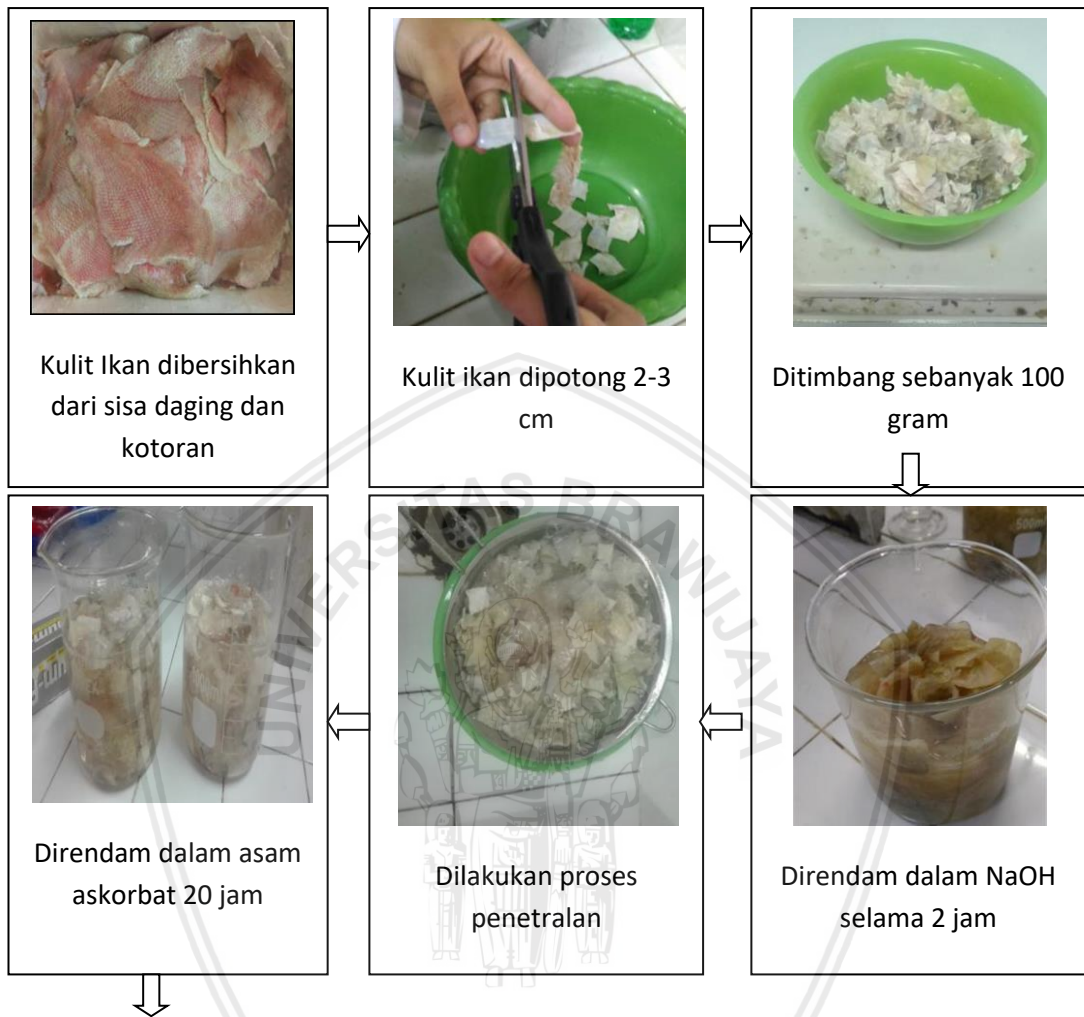


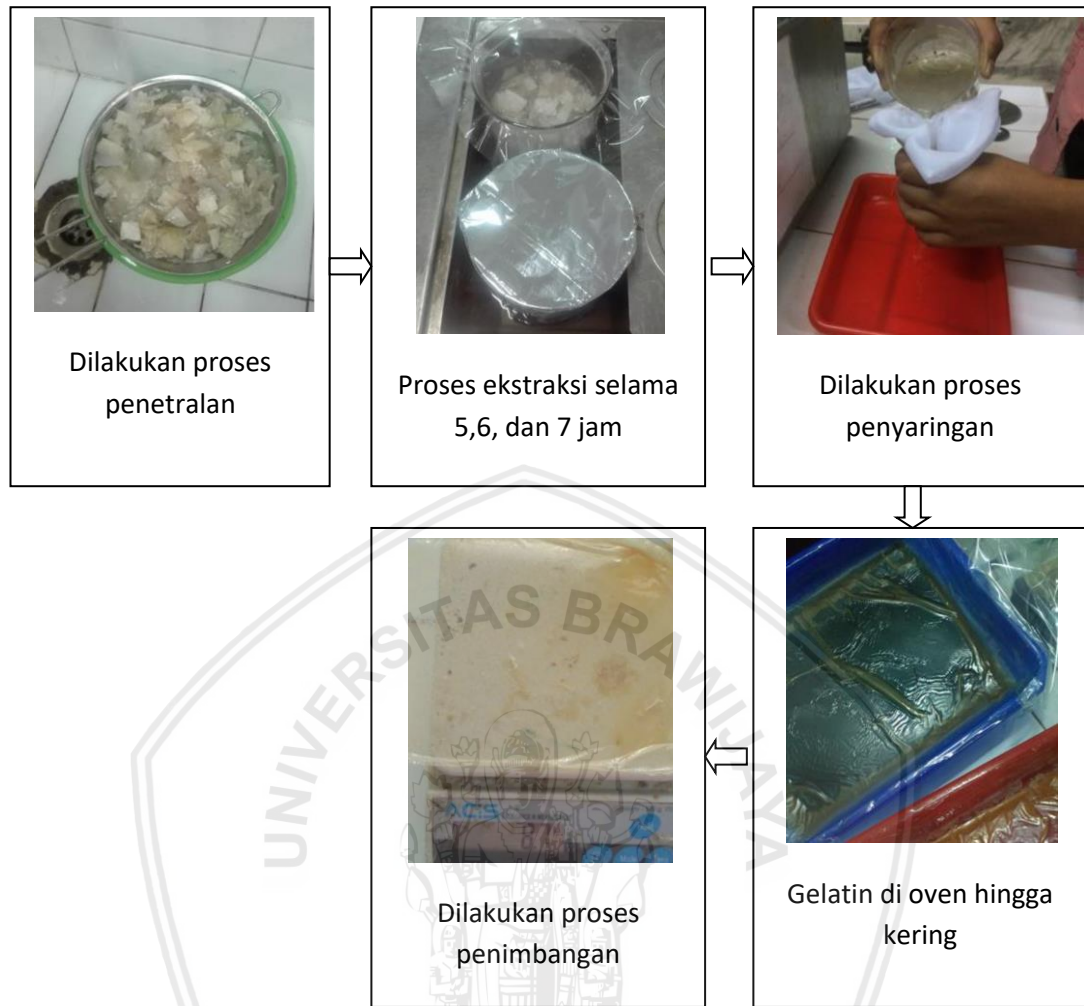
Lampiran 18. Hasil Analisis De Garmo Terbaik

Parameter	Lama Ekstraksi			Nilai Terbaik	Nilai Terendah	Selisih
	5 jam	6 jam	7 jam			
Kekuatan Gel	4,19	5,77	6,72	6,72	4,19	2,53
Viskositas	3,15	4,63	5,64	5,64	3,15	2,49
Rendemen	8,64	11,75	18,26	18,26	8,64	9,62
pH	4,78	5,32	5,50	5,50	4,78	0,72
Kadar Protein	87,19	88,43	88,89	88,89	87,19	2,53
Kadar Karbohidrat	0,23	0,49	0,7	0,7	0,23	0,47
Kadar Lemak	0,72	0,58	0,47	0,72	0,47	0,3
Kadar Air	10,71	9,38	8,8	10,71	8,8	1,91
Kadar Abu	1,14	0,87	0,55	1,14	0,55	0,59


Parameter	BV	BN	5 Jam		6 Jam		7 Jam	
			NE	NH	NE	NH	NE	NH
Kekuatan Gel	1,00	0,130	0,000	0,000	0,437	0,081	1,000	0,130
Viskositas	0,95	0,123	0,000	0,000	0,516	0,073	1,000	0,123
Rendemen	0,90	0,117	0,000	0,000	0,329	0,038	1,000	0,117
pH	0,90	0,117	0,000	0,000	0,875	0,088	1,000	0,117
Kadar Protein	0,85	0,110	0,000	0,000	0,736	0,054	1,000	0,110
Kadar Karbohidrat	0,85	0,110	0,000	0,000	0,400	0,061	1,000	0,110
Kadar Lemak	0,80	0,104	1,000	0,104	0,441	0,055	0,000	0,000
Kadar Air	0,75	0,097	1,000	0,097	0,134	0,030	0,000	0,000
Kadar Abu	0,70	0,091	1,000	0,091	0,357	0,049	0,000	0,000
Total	7,70			0,292		0,529		0,708

Lampiran 19. Dokumentasi Proses Pembuatan Gelatin





Lampiran 20. Hasil Analisis Profil Asam Amino



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

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

Result of Analysis
No: SIG.LHP.IV.2019.029965

No.	Parameter	Unit	Result	Limit of Detection	Method
1	L-Serin	%	1.81	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
2	L-Asam glutamat	%	6.68	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
3	L-Fenilalanin	%	1.36	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
4	L-Isoleusin	%	0.53	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
5	L-Valin	%	1.20	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
6	L-Alanin	%	7.04	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
7	L-Arginin	%	3.47	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
8	Glisin	%	16.54	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
9	L-Lisin	%	2.85	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC





PT. SARASWANTI INDO GENETECH
 The First Indonesian Molecular Biotechnology Company

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

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

Result of Analysis

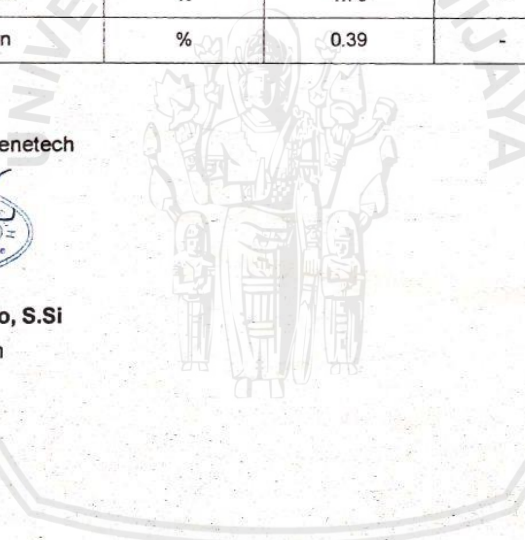
No: SIG.LHP.IV.2019.029965

No.	Parameter	Unit	Result	Limit of Detection	Method
10	L-Asam Aspartat	%	3.54	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
11	L-Leusin	%	1.46	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
12	L-Tirosin	%	0.37	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
13	L-Prolin	%	7.77	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
14	L-Threonin	%	1.70	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC
15	L-Histidin	%	0.39	-	18-5-17/MU/SMM-SIG, UPLC

Bogor, 22 April 2019
 PT Saraswanti Indo Genetech



Dwi Yulianto Laksono, S.Si
 Manager Laboratorium



Lampiran 21. Prosedur Analisis Asam Amino dengan UPLC

Analisis asam amino dengan menggunakan UPLC di Laboratorium Saraswanti Indo Genetech 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 μ L dan ditambahkan 30 μ 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 μ L 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 UPLC

Hasil saringan diambil sebanyak 20 μ L untuk diinjeksikan ke dalam UPLC. 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:

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

Keterangan:

C : konsentrasi standar asam amino (μ g/ml)

Fp : faktor pengenceran

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

Kondisi alat UPLC saat berlangsung analisis asam amino sebagai berikut:

Temperatur : 38 $^{\circ}$ C

Jenis kolom UPLC : Pico tag 3,9 x 150 nm colomn

Kecepatan alir eluen : 1 ml/menit

Tekanan : 3000 psi

Fase gerak : asetonitril 60% dan natrium asetat 1M 40%

Detektor : UV

Panjang gelombang : 254 nm

Merk : waters

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

