**KARAKTERISTIK GELATIN TULANG IKAN PATIN (*Pangasius sp.*) YANG DIPENGARUHI KONSENTRASI DAN LAMA PERENDAMAN ENZIM PAPAIN**

|  |
| --- |
| **ARTIKEL** |

Diajukan untuk Memenuhi Syarat Sidang

Magister Teknologi Pangan

**Oleh :**

**Sweta Resti Yuannisa**

**158050001**

****

**PROGRAM STUDI MAGISTER TEKNOLOGI PANGAN**

**PROGRAM PASCASARJANA**

**UNIVERSITAS PASUNDAN**

**BANDUNG**

**2019**

**KARAKTERISTIK GELATIN TULANG IKAN PATIN (*Pangasius sp.*) YANG DIPENGARUHI KONSENTRASI DAN LAMA PERENDAMAN ENZIM PAPAIN**

Sweta Resti Yuannisa \*),

Willy Pranata Widjadja \*\*), dan Wisnu Cahyadi \*\*\*)

\*)Mahasiswa Magister Teknologi Pangan Universitas Pasundan, Bandung

\*\*)Dosen Pembimbing Utama, \*\*\*)Dosen Pembimbing Pendamping

Universitas Pasundan Bandung

Jalan Sumatera No. 41, Bandung 40117

ABSTRAK

Penelitian tentang pembuatan gelatin dari tulang ikan patin dengan bahan hidrolisis enzim papain belum banyak dilakukan. Enzim papain menghidrolisis protein kolagen secara selektif, sehingga enzim mampu mempertahankan bagian *triple-helix* protein kolagen. Tujuan penelitian untuk mengetahui konsentrasi dan lama perendaman enzim papain terhadap karakteristik gelatin cair tulang ikan patin serta bagaimana pengaruh interaksi antara keduanya. Manfaat penelitian yaitu memberikan pengetahuan tentang pemanfaatan limbah dari tulang ikan patin sebagai alternatif pembuatan gelatin.

Penelitian terdiri dari 3 tahap. Tahap pertama penentuan enzim papain terpilih dengan pengukuran aktivitas enzim, serta analisis data menggunakan *T-test Independent*. Tahap kedua penentuan konsentrasi H3PO4 untuk *demineralisasi* dengan variasi 3%, 5%, dan 7% menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Respon analisis meliputi kadar abu, pH, dan rendemen. Tahap ketiga penentuan karakteristik gelatin cair tulang ikan patin. Faktor yang diteliti yaitu konsentrasi enzim papain 0.5; 1; dan 1.5% serta lama perendaman 2; 4; dan 6 jam menggunakan Rancangan Acak Kelompok faktorial. Respon analisis meliputi kadar protein, kadar abu, pH, rendemen, kekuatan gel, dan viskositas.

Hasil penelitian tahap pertama yaitu nilai rata-rata aktivitas enzim papain komersial 0.4101 U/mL dan enzim papain kasar 0.2021 U/mL. Penelitian tahap kedua diperoleh hasil konsentrasi H3PO4 terpilih adalah 5% dengan nilai rata-rata pada rendemen 78.83%, kadar abu 0.94%, dan pH 3.71. Hasil penelitian tahap ketiga yaitu lama perendaman enzim papain berpengaruh nyata terhadap kadar abu, sedangkan interaksi antara konsentrasi dan lama perendaman enzim papain berpengaruh nyata terhadap kadar protein, rendemen, kekuatan gel, dan viskositas terhadap gelatin cair tulang ikan patin.

Kata kunci: gelatin tulang ikan patin, konsentrasi enzim papain, lama perendaman enzim papain

**KARAKTERISTIK GELATIN TULANG IKAN PATIN (*Pangasius sp.*) YANG DIPENGARUHI KONSENTRASI DAN LAMA PERENDAMAN ENZIM PAPAIN**

Sweta Resti Yuannisa,

Willy Pranata Widjadja, dan Wisnu Cahyadi

Departement Of Magister Food Technology

Pasundan University

Jl. Sumatera 41, Bandung 40117

*ABSTRACT*

Research on the manufacture of gelatin from catfish bones with the hydrolysis of the enzyme papain has not been done much. The papain enzyme hydrolyzes the collagen protein selectively so that the enzyme can maintain the triple-helix collagen protein. The purpose of this study was to determine the concentration and duration of immersion of the papain enzyme on the characteristics of liquid gelatin of catfish bones and how the interaction between the two affected. The benefit of this research is to provide knowledge about the utilization of waste from catfish bone as an alternative to making gelatin.

The study consisted of 3 stages. The first stage of determining the selected papain enzyme by measuring the enzyme activity, as well as analyzing data using an Independent T-test. The second stage of determining the concentration of H3PO4 for demineralization with variations of 3%, 5%, and 7% using a Complete Random Design. The response of the analysis included ash content, pH, and yield. The third stage of determining the characteristics of liquid gelatin of catfish bones. Factors studied were papain enzyme concentration of 0.5; 1; and 1.5% and duration of soaking 2; 4; and 6 hours using Factorial Randomized Block Design. The response of the analysis included protein content, ash content, pH, yield, gel strength, and viscosity.

The results of the first stage of the study were the average activity value of the commercial papain enzyme was 0.4101 U/mL and the crude papain enzyme was 0.2021 U/mL. The second stage of the study showed that the chosen concentration of H3PO4 was 5% with an average value of yield was 78.83, ash content was 0.94%, and the pH was 3.71. The results of the third stage of the study were the soaking time of the enzyme papain significantly affected the ash content, while the interaction between the concentration and soaking time of the enzyme papain significantly affected the protein content, yield, gel strength, and viscosity of the liquid gelatin of catfish bone.

*Keywords: gelatin of catfish, concentration of the enzyme papain, soaking time of the enzyme papain*

**PENDAHULUAN**

**Latar Belakang**

Gelatin merupakan produk yang diperoleh dari hasil hidrolisis kolagen (protein utama daging/tulang/kulit hewan), sedangkan kolagen diperoleh dari proses ekstraksi kulit, daging, atau tulang hewan segar. Pemanfaatan gelatin sangat luas seperti sebagai bahan kosmetik, produk farmasi, bahan tambahan pangan (es krim, permen karet, pengental, dan mayonaise), bahan film, material medis, dan bahan baku kultur jasad renik (Wulandari, 2006).

Penggunaan limbah ikan sebagai bahan alternatif pembuatan gelatin mulai diminati mengingat permintaan gelatin di Indonesia terus mengalami peningkatan. Potensi perikanan Indonesia diperkirakan mencapai 6,4 juta ton per tahun yang tersebar di perairan wilayah Indonesia dan Zona Ekonomi Eksklusif (Nurhayati, *et al.,* 2013). Limbah ikan dapat dimanfaatkan karena mempunyai kandungan protein yang tinggi, sehingga tidak mencemari lingkungan baik di darat maupun di perairan.

Haris (2008) dalam Khoerunnisa (2017), tulang ikan patin mengandung kadar protein yang cukup tinggi yaitu 84,85%, serta komponen kimia lainnya anatra lain: kadar air 7,03%, kadar abu 0,93%, dan kadar lemak 1,63%. Tulang ikan patin merupakan salah satu limbah ikan yang mempunyai persentase hasil ekstraksi gelatin lebih besar jika dibandingkan pada tulang ikan air tawar lainnya, seperti ikan lele, ikan baung, dan ikan nila (Atma, 2016).

Enzim protease (papain) menghidrolisis protein kolagen secara selektif, enzim hanya bekerja pada rantai peptide *non-helix* protein kolagen sehingga enzim mampu mempertahankan bagian *triple-helix* protein kolagen (Hartati, 2010). Guna meningkatkan ekstraksi gelatin, enzim papain diharapkan mampu mendegradasi protein non kolagen (mudah larut) sehingga kolagen yang tersisa akan terekstraksi lebih sempurna (Simanjuntak, 2013). Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai variasi konsentarsi enzim papain agar dapat memenuhi karakteristik gelatin.

Perendaman tulang ikan dalam larutan berfungsi untuk menghidrolisis kolagen sehingga mempermudah kelarutannya saat ekstraksi gelatin, hal ini terjadi karena struktur kolagen terbuka akibat beberapa ikatan dalam molekul proteinnya terlepas (Chamidah dan Elita, 2002). Lama perendaman yang berpengaruh terhadap karakteristik gelatin sehingga dapat menjadi variable penelitian, mengingat belum ada penelitian lebih lanjut mengenai lama perendaman enzim papain pada pembuatan gelatin.

**Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui konsentrasi dan lama perendaman enzim papain terhadap karakteristik gelatin cair tulang ikan patin serta bagaimana pengaruh interaksi antara keduanya.

**Manfaat Penelitian**

1. Memberikan pengetahuan tentang pemanfaatan limbah dari tulang ikan patin sebagai alternatif pembuatan gelatin.
2. Memberikan wawasan tentang pengaruh konsentrasi enzim papain dan lama perendaman enzim papain terhadap karakteristik gelatin cair tulang ikan patin.
3. Memberikan informasi mengenai interaksi antara pemanfaatan limbah dari tulang ikan patin terhadap konsentrasi enzim papain dan lama perendaman enzim papain terhadap karakteristik gelatin cair tulang ikan patin.

**BAHAN, ALAT, DAN METODE PENELITIAN**

**Bahan dan Alat Penelitian**

Bahan yang digunakan dalam peneitian ini adalah ikan patin (yang diperoleh dari perusahaan fillet ikan patin di Ciparay, Bandung Selatan), air, aquadest, enzim papain komersial merk *oxoid*, enzim papain kasar (penyadapan dari batang pohon papaya), dan H3PO4.

Bahan yang digunakan dalam analisis adalah kasein 1%, buffer phospat pH 7,0, tirosin 5Mm, TCA 0,1M, NaOH 1M, larutan folin, selenium black, HgO, Na2SO4 anhidrat, H2SO4 pekat, NaOH 30%, Na2S2O3, granula Zn, HCl 0,1N, *phenoptalein*, dan NaOH 0,1N.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Alat yang digunakan dalam penelitian adalah baskom, pisau, panci, neraca digital (Mettler Toledo), toples kaca, saringan, gelas kimia, gelas ukur, *juicer*, saringan nylon 500 mesh, waterbath, *rotary vacuum evaporator*.

Alat yang digunakan untuk analisis adalah freeze dryer, corong gelas, inkubator, centrifuge, spektrofotometer, tabung reaksi, labu kjeldahl, batu didih, erlenmeyer (pyrex), kondensor, buret, statif, labu destilasi, oven, desikator, cawan, bunsen, tanur listrik, labu ukur, batang pengaduk, pipet ukur, *Brookfield synchro-lectric viscometer*, *magnetic stirrer*, *Standard Bloom Jars*, dan *TA-XT plus texture analyzer*.

**Metode Penelitian**

Penelitian ini dilakukan melalui tiga tahap yaitu penelitian tahap pertama, penelitian tahap kedua, dan penelitian tahap ketiga.

1. **Penelitian Tahap Pertama**

Penelitian tahap pertama merupakan penentuan enzim papain terpilih antara enzim papain komersial dan enzim papain yang diperoleh dari penyadapan batang pohon pepaya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respon terbaik yang kemudian dilanjutkan pada penelitian tahap kedua.

Penelitian tahap pertama menggunakan *Independent sample t-test* yang merupakan jenis uji statistika yang bertujuan untuk membandingkan rata-rata dua grup yang tidak saling berpasangan atau tidak saling berkaitan. Dalam penelitian ini uji *T-test Independent* untuk mengidentifikasi perbedaan aktivitas enzim papain dari enzim papain komersial dan enzim papain kasar yang diperoleh dari penyadapan batang pohon pepaya.

Rancangan respon yang dilakukan pada penelitian tahap pertama adalah respon enzim papain dalam mengukur aktivitas enzim dengan metode Bergmeyer.

1. **Penelitian Tahap Kedua**

Penelitian tahap kedua ini dilakukan untuk penentuan konsentrasi demineralisasi H3PO4 dengan variasi konsentrasi 3%, 5%, dan 7% yang digunakan pada proses demineralisasi.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor, yaitu konsentrasi H3PO4 yang terdiri dari 3 taraf. Setiap perlakuan diulang sebanyak 6 kali sehingga diperoleh 18 satuan percobaan.

Rancangan respon yang dilakukan pada penelitian tahap kedua adalah respon kimia, meliputi: penentuan rendemen, kadar abu dengan metode gravimetri, dan pH menggunakan pH meter.

1. **Penelitian Tahap Ketiga**

Penelitian tahap ketiga ini merupakan kelanjutan dari penelitian tahap kedua yaitu setelah memperoleh konsentrasi demineralisasi dengan H3PO4 terpilih kemudian penentuan konsentrasi enzim papain dan lama perendaman enzim papain yang akan digunakan pada proses pembuatan gelatin cair tulang ikan patin.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak kelompok (RAK) faktorial dengan 2 faktor, masing-masing faktor terdiri dari 3 taraf, sehingga diperoleh 9 kombinasi perlakuan. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali, sehingga diperoleh jumlah 27 satuan percobaan. Model rancangan penelitian dapat dilihat pada tabel 1 dan *lay out* percobaan RAK faktorial 3x3 dengan 3 kali ulangan dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 1. Rancangan Acak Kelompok Penelitian Tahap Ketiga

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Konsentrasi Enzim Papain (A)** | **Lama Perendaman (B)** | **Ulangan** | | |
| **I** | **II** | **III** |
| a1 | b1  b2  b3 | a1b1  a1b2  a1b3 | a1b1  a1b2  a1b3 | a1b1  a1b2  a1b3 |
| a2 | b1  b2  b3 | a2b1  a2b2  a2b3 | a2b1  a2b2  a2b3 | a2b1  a2b2  a2b3 |
| a3 | b1  b2  b3 | a3b1  a3b2  a3b3 | a3b1  a3b2  a3b3 | a3b1  a3b2  a3b3 |

Tabel 2. *Lay Out* Percobaan dalam RAK Penelitian Tahap Ketiga

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Kelompok Ulangan 1 | a2b1 | a1b2 | a3b2 | a1b1 | a3b1 | a3b3 | a2b2 | a1b3 | a2b3 |
| Kelompok Ulangan 2 | a1b2 | a3b1 | a2b2 | a2b3 | a3b3 | a3b2 | a2b1 | a1b3 | a1b1 |
| Kelompok Ulangan 3 | a2b2 | a3b3 | a2b3 | a1b1 | a1b2 | a3b2 | a3b1 | a2b1 | a1b3 |

Tabel 3. Analisis Variansi (ANAVA) Penelitian Tahap Ketiga

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Sumber Keragaman** | **Derajat Bebas (DB)** | **Jumlah Kuadrat (JK)** | **Kuadrat Tengah (KT) (JK/DB)** | **F Hitung** | **F Tabel 5%** |
| Kelompok | r-1 | JKK | KTK | KT(A)/KTG  KT(B/KTG  KT(AB)/KTG | 3.63  3.63  3.01 |
| Perlakuan | ab-1 | JKP | KTP |
| Faktor (A) | a-1 | JK(A) | KT(A) |
| Faktor (B) | b-1 | JK(B) | KT(B) |
| Interaksi (AB) | (a-1)(b-1) | JK(AB) | KT(AB) |
| Galat | (r-1)(ab-1) | JKG | KTG |
| **Total** | **rlk-1** | **JKT** | **-** |

Sumber: Gasperz, 1995

Berdasarkan data yang telah diperoleh dengan menggunakan rumus yang ditunjukkan di atas maka didapatkan kaidah keputusan sebagai berikut:

1. Jika F hitung > F tabel pada taraf 5%, maka konsentrasi enzim papain dan lama perendaman, serta interaksinya berpengaruh terhadap karakteristik gelatin cair tulang ikan patin. Dengan demikian hipotesis penelitian diterima dan dilakukan uji lanjut *Duncan*.
2. Jika F hitung < F tabel pada taraf 5%, maka konsentrasi enzim papain dan lama perendaman, serta interaksinya tidak berpengaruh terhadap karakteristik gelatin cair tulang ikan patin, sehingga tidak diperlukan uji lanjut. Dengan demikian hipotesis penelitian ditolak.

Respon yang akan diuji pada penelitian ini adalah respon kimia, meliputi: kadar protein, pengujian menggunakan metode Kjehdal dan kadar abu, pengujian dengan metode gravimetri.

Respon yang akan diuji pada penelitian ini adalah respon fisik, meliputi: pH, rendemen, kekuatan gel, dan viskositas.

1. **Penentuan Perlakuan Terpilih**

Penentuan perlakuan terpilih pada tahap kedua dan ketiga dengan menggunakan metode statistika (skoring). Data yang digunakan adalah data yang telah dilakukan pengolahan data pada masing-masing respon (fisik dan kimia).

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Hasil Penelitian Tahap Pertama**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Enzim Papain | | |
| **Pengulangan** | **Papain Komersil (U/mL)** | **Papain Kasar**  **(U/mL)** |
| 1 | 0,3842 | 0,2353 |
| 2 | 0,4137 | 0,1676 |
| 3 | 0,4325 | 0,2034 |
| **Rata-rata** | **0,4101** | **0,2021** |

Hasil uji aktivitas enzim papain dapat dilihat pada Tabel 4 menunjukkan nilai rata-rata tertinggi hasil uji aktivitas enzim papain terdapat pada enzim papain komersial enzim papain komersial sehingga terpilih untuk tahap selanjutnya dengan nilai rata-rata 0,4101 U/mL. Hal ini berarti 1 mL enzim papain dapat melakukan katalis sehingga terjadi penambahan 0,4101 mikromol substrat permenit.

Data hasil uji aktivitas enzim papain selanjutnya dilakukan analisis data dengan uji *T-test Independent*. Hasil uji *T-test Independent* dapat dilihat pada Lampiran 8. dari hasil menunjukkan tidak terdapat perbedaan rata-rata kelompok satu dengan yang lain. Kesimpulan dari nilai aktivitas enzim papain komersil dengan enzim papain kasar (yang diperoleh dari penyadapan batang pohon) tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Nilai rata-rata aktivitas enzim papain komersial lebih besar daripada nilai rata-rata aktivitas enzim papain kasar sehingga enzim papain komersial terpilih untuk digunakan pada penelitian tahap kedua. Hal ini diduga karena enzim papain dalam bentuk ekstrak kasar memiliki aktivitas spesifik yang lebih rendah dibandingkan enzim papain murni. Metode pemurnian enzim papain yang telah banyak digunakan adalah metode pengendapan dan kromatografi (Wang, *et al*., 2008).

Penelitian ini tidak dilakukan pemisahan papain dari campuran senyawa-senyawa lain dengan pengendapan enzim yang diduga akan mempengaruhi hasil uji aktivitas enzim papain. Menurut Putri, *dkk*. (2013), penambahan ammonium sulfat mampu memisahkan enzim dari campuran senyawa-senyawa lainnya, seperti karbohidrat, vitamin, lemak, serat, dan campuran senyawa lainnya sehingga enzim dapat mengendap secara efektif. Menurut Daisa, *dkk*. (2017), kualitas papain ditentukan oleh tinggi rendahnya aktivitas protease (papain) yang dimiliki. Semakin tinggi aktivitas proteasenya maka semakin tinggi pula kualitasnya dan sebaliknya jika semakin rendah aktivitas proteasenya (papain) maka semakin rendah kualitasnya.

Kendala penelitian saat pemeriksaan uji aktivitas enzim yang memakan waktu kurang lebih 3 bulan dikarenakan adanya antrian uji laboratorium sehingga enzim papain perlu dilakukan penyimpanan dalam waktu yang cukup lama diduga dapat mempengaruhi penurunan aktivitas spesifik. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Salamah (2012), enzim papain dapat mengalami penurunan aktivitas sebesar 50% setelah 60 hari penyimpanan pada suhu 4°C dan menurun sebesar 95% setelah 24 hari penyimpanan pada suhu ruang. Aktivitas autolisis maupun gangguan stabilitas struktur protein enzim papain dapat menjadi penyebab terjadinya penurunan aktivitas enzim papain (Wang, *et al*., 2008).

**Hasil Penelitian Tahap Kedua**

**Rendemen**

Tabel 5. Hasil Uji Rendemen Penelitian Tahap Kedua

|  |  |
| --- | --- |
| **Konsentrasi** | **Rata-rata** |
| H3PO4 3% (A1) | 62,08% a |
| H3PO4 5% (A2) | 78,83% b |
| H3PO4 7% (A3) | 83,42% b |

Keterangan: Nilai rata-rata perlakuan yang ditandai notasi huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata dan notasi huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata menurut uji lanjut duncan pada taraf nyata 5%.

Berdasarkan data dari tabel diatas menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi H3PO4 nilai rendemen juga semakin tinggi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Zhou dan Joe (2005), bahwa peningkatan konsentrasi asam dapat meningkatkan rendemen. Karena semakin tinggi konsentrasi asam akan menyebabkan semakin banyaknya pemecahan ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik yang merupakan ikatan penstabil pada triple heliks menjadi gelatin (Courts dan John, 1977 *dalam* Noviana, *dkk*., 2015). Semakin besar rendemen yang dihasilkan maka semakin efisien perlakuan yang diterapkan dengan tidak mengesampingkan sifat-sifat lainnya (Fahrul, 2005).

Menurut Chamidah dan Elita (2002), larutan asam berfungsi untuk menghidrolisis kolagen sehingga mempermudah kelarutannya dalam air panas saat ekstraksi gelatin, hal ini terjadi karena struktur kolagen terbuka akibat beberapa ikatan dalam molekul proteinnya terlepas. Penelitian menunjukkan nilai rata-rata rendemen tertinggi terdapat pada konsentrasi H3PO4 7%, tingginya rendemen diduga akibat larutnya mineral lain seperti kalsium dan garam lainnya yang masih terdapat dalam *ossein*, sehingga meningkatkan kadar abu gelatin dan menurunkan mutu gelatin. Komponen abu yang utama dalam gelatin adalah kalsium fosfat, kalsium karbonat, dan magnesium fosfat. Mineral tersebut ikut larut bersama gelatin saat ekstraksi, sehingga mempengaruhi jumlah dari rendemen gelatin tulang ikan patin (Purnomo, 1991 *dalam* Tridhar, 2016).

**Kadar Abu**

Tabel 6. Hasil Uji Kadar Abu Penelitian Tahap Kedua

|  |  |
| --- | --- |
| **Konsentrasi** | **Rata-rata** |
| H3PO4 3% (A1) | 0,92% a |
| H3PO4 5% (A2) | 0,94% a |
| H3PO4 7% (A3) | 1,14% b |

Hasil penelitian kadar abu menunjukkan bahwa kadar abu akan semakin meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi H3PO4. Menurut Yuniarifin, *et al*. (2006), perlakuan perendaman H3PO4 menunjukkan adanya kenaikan kadar abu sesuai dengan kenaikan konsentrasi yang diberikan. Kenaikan kadar abu gelatin yang dihasilkan, berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi H3PO4. Hal ini disebabkan makin tinggi konsetrasi H3PO4 makin banyak PO43- (garam fosfat) yang terikat pada molekul kolagen selama proses asam dan ikut terekstrak bersama kolagen saat proses ekstraksi. Kandungan abu yang terdapat pada gelatin yang dihasilkan berasal dari garam-garam mineral yang terkandung pada tulang ikan yang digunakan.

Syahraeni, *dkk*. (2017), mengatakan besar kecilnya kadar abu ditentukan pada saat proses *demineralisasi*. Semakin tinggi konsentrasi asam maka semakin banyak pula kalsium yang larut pada proses *demineralisasi*, sehingga kadar abu akan semakin tinggi. Sebagaimana yang telah diketahui kadar abu pada proses *demineralisasi* H3PO4 memiliki nilai rata-rata kisaran antara 0,92-1,14%, kadar tersebut memenuhi syarat yang ditetapkan oleh GMIA (2013), yaitu dengan nilai standar kadar abu antara 0,30-2,00%. Courts & Johns (1977) *dalam* Ridhay, *dkk*. (2016), pembuatan gelatin secara proses asam dapat mengekstrak komponen non kolagen dan komponen tersebut terbawa dalam larutan.

Nilai rata-rata kadar abu tertinggi terdapat pada konsentrasi H3PO4 7%, menurut Suryati, (2015) tingginya kadar abu gelatin dapat dipengaruhi oleh kandungan mineral bahan baku, proses penyaringan, dan hidrolisis yang dilakukan. Penyaringan yang kurang sempurna menyebabkan banyak serbuk *ossein* yang terbawa dalam filtrate gelatin. Serbuk *ossein* yang halus lolos dari saringan, membentuk endapan pada saat gelatin diubah menjadi gel.

Tingginya rendemen juga diduga akibat larutnya mineral lain seperti kalsium dan garam lainnya yang masih terdapat dalam *ossein*, sehingga meningkatkan kadar abu gelatin dan menurunkan mutu gelatin (Suryanti, *dkk*., 2006).

**pH**

Tabel 7. Hasil Uji pH Penelitian Tahap Kedua

|  |  |
| --- | --- |
| **Konsentrasi** | **Rata-rata** |
| H3PO4 3% (A1) | 3,95 c |
| H3PO4 5% (A2) | 3,71 b |
| H3PO4 7% (A3) | 3,46 a |

Nilai pH ini sangat bergantung pada proses pencucian setelah proses demineralisasi. Rendahnya nilai pH gelatin cair tulang ikan patin diakibatkan oleh tingginya konsentrasi H3PO4 yang digunakan. Hal ini diduga karena masih ada sisa-sisa asam yang digunakan pada saat proses demineralisasi yang terbawa pada *ossein* saat proses ekstraksi, sehingga akan mempengaruhi tingkat keasaman (pH) gelatin yang dihasilkan (Nurilmala, *dkk*., 2006).

Menurut Ulfah (2011), konsentrasi larutan asam berpengaruh terhadap pH gelatin, semakin tinggi konsentrasi larutan asam maka pH gelatin semakin rendah. Hal ini dikarenakan konsentrasi asam yang tiggi lebih banyak terdifusi dalam jaringan ceker ayam. Nilai pH sangat dipengaruhi oleh jenis larutan perendam dan konsentrasinya (Tourtellote, 1980 *dalam* Ulfah, 2011).

Nilai pH pada gelatin cair tulang ikan patin dengan menggunakan H3PO4 sebagai larutan demineralisasi memiliki kisaran nilai pH antara 3,46-3,95, nilai tersebut termasuk dalam sifat gelatin tipe A yang ditetapkan oleh GMIA (2013), dengan nilai pH antara 3,80-5,50. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Wiyono (2001), bahwa gelatin ikan dikategorikan sebagai gelatin tipe A dengan mengacu pada sifat-sifat kimia dan fisika pada gelatin tersebut. Gelatin dengan pH rendah mempunyai keuntungan yaitu akan tahan terhadap kontaminasi mikroorganisme (Saepudin, 2003 *dalam* Hajrawati, 2006).

Menurut Lehninger (1982) *dalam* Peranginangin, *dkk*. (2004), protein akan rusak terdenaturasi tidak hanya oleh panas, tetapi juga oleh pengaruh pH, yang akan mengubah struktur utama rantai peptide pada protein. Jika protein terdenaturasi, susunan ikatan rantai polipeptida terganggu dan molekul protein terbuka menjadi struktur acak dan selanjutnya terkoagulasi, sehingga jumlah kolagen yang terekstraksi lebih rendah.

**Penentuan Sampel Terpiih Penelitian Tahap Kedua**

Tabel 8. Penentuan Sampel Terpilih Penelitian Tahap Kedua

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Sampel** | **Abu** | **pH** | **Rendemen** | **Total** |
|
| H3PO4 3% | 5 | 3 | 1 | 9 |
| **H3PO4 5%** | **5** | **2** | **3** | **10** |
| H3PO4 7% | 3 | 1 | 3 | 7 |

Keterangan: Jumah nilai tertinggi merupakan sampel terpilih

Bedasarkan tabel penentuan sampel terpilih penelitian tahap kedua diperoleh hasil bahwa konsentrasi H3PO4 terpilih dilihat dari skor pada respon rendemen, kadar abu, dan pH adalah H3PO4 konsentrasi 5% dengan nilai rata-rata rendemen 78,83%, kadar abu 0,94%, dan pH 3,71. Selanjutnya, konsentrasi H3PO4 5% digunakan sebagai larutan dalam proses demineralisasi pada penelitian tahap ketiga.

Penelitian dengan sampel terpilih yaitu H3PO4 5% sebelumnya juga telah dilakukakan oleh Ridhay, *dkk*. (2016) tentang pengaruh variasi jenis asam HCl, H2SO4, H3PO4, CH3COOH, H2C2O4, dan C6H8O7 terhadap rendemen gelatin dari tulang ikan cakalang konsentrasi masing-masing asam 5% (b/v). Bahan yang digunkan dalam penelitian berbeda namun konsentrasi H3PO4 yang diperoleh sama yaitu 5%, hal ini menunjukkan bahwa pada H3PO4 5% proses *demineralisasi* berlangsung maksimal, karena mampu mendegradasi mineral dalam tulang ikan patin dengan nilai sampel terpilih tertinggi.

Nilai rata-rata pada analisis rendemen H3PO4 konsentrasi 5% yaitu 78,83%, hal ini diduga karena banyaknya jumlah kolagen dipengaruhi oleh banyaknya H3PO4 yang dapat melarutkan garam kalsium dan menyebabkan kolagen di dalam *ossein* ikut mengalami peningkatan demikian pula terhadap peningkatan nilai rendemen gelatin yang dihasilkan setelah proses ekstraksi. Unit dasar penyusun kolagen adalah tropokolagen yang terdiri atas tiga rantai heliks polipeptida yang saling berpilin satu sama lain membentuk sebuah coil gulungan melalui ikatan hidrogen dan ikatan silang berupa ikatan antar residu lisin dari masing-masing rantai polipeptida (Lehninger, 1990 *dalam* Yuliani dan Marwati, 2015). Menurut Fatimah (2008), semakin banyak ion H+ semakin meningkat jumlah rendemen. Hal ini disebabkan oleh adanya proses pengikatan mineral kalsium dalam tulang ikan sehingga menyebabkan terbebasnya kolagen dalam tulang ikan. Hal tersebut yang dapat mempermudah proses konversi kolagen menjadi gelatin, oleh terurainya gulungan *triple helix* menjadi *mono helix* (Ridhay, *dkk*., 2016).

**Hasil Penelitian Tahap Ketiga**

**Kadar Protein**

Tabel 9. Hasil Analisis Kadar Protein

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Konsentrasi Enzim (A)** | **Lama Perendaman (B)** | | |
| **B1**  **(2 jam)** | **B2**  **(4 jam)** | **B3**  **(6 jam)** |
| **A1 (0,5%)** | A | A | A |
| 10,03% | 14,29% | 8,41% |
| b | c | a |
| **A2 (1%)** | B | B | B |
| 15,51% | 20,89% | 13,15% |
| b | c | a |
| **A3 (1,5%)** | C | C | C |
| 22,61% | 25,02% | 18,16% |
| b | c | a |

Keterangan: Nilai rata-rata perlakuan yang ditandai notasi huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata dan notasi huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata menurut uji lanjut duncan pada taraf nyata 5%. Notasi huruf kecil dibaca vertikal. Notasi huruf capital dibaca horizontal.

Hasil analisis kadar protein terhadap konsentrasi enzim dan lama perendaman menunjukan bahwa kadar protein tertinggi terdapat pada enzim papain konsentrasi 1,5% dan lama perendaman selama 4 jam. Kadar protein terendah terdapat pada konsentrasi enzim papain 0,5% dan lama perendaman selama 3 jam. Hasil analisis menunjukkan meningkatnya konsentrasi enzim papain akan meningkatkan kadar protein juga, tetapi kadar protein akan meningkat pada lama perendaman tertentu yaitu 4 jam yang kemudian akan mengalami penurunan pada lama perendaman 6 jam.

Penelitian analisis kadar protein pada tabel diketahui bahwa konsentrasi dan lama perendaman enzim papain serta interaksi keduanya berpengaruh terhadap kadar protein gelatin tulang ikan patin. Menurut Astawan dan Aviani (2003), kadar protein gelatin dipengaruhi oleh proses perendaman tulang dimana reaksi pemutusan ikatan hidrogen dan pembentukan struktur serabut kolagen terjadi secara optimal sehingga protein terekstrak dan terlepas dari gelatin akibatnya menurunkan kadar protein gelatin. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan bahwa lama perendaman tertentu kadar protein akan mengalami penurunan. Penelitian yang dilakukan Yuliani dan Marwati (2015), berdasarkan data rendemen yang menunjukkan menurunnya rendemen dengan peningkatan lama perendaman yang berarti pada saat proses ekstraksi semakin sedikit jumlah gelatin yang terekstrak, tetapi senyawa-senyawa lain selain gelatin juga ikut terekstrak dalam air panas, sehingga kemurnian gelatin menjadi lebih kecil, yang menyebabkan kadar proteinnya menurun.

Menurut Ulfah (2011), semakin lama waktu perendaman maka kadar protein semakin rendah, kerana semakin banyak asam yang terdifusi dalam jaringan sehingga proses hidrolisis kolagen lebih maksimal dan menyebabkan gelatin banyak yang terekstrak, namun terbawa bersama air cucian.

Konsentrasi enzim papain yang cenderung meningkat menghasilkan kadar protein yang juga meningkat. Menurut Wang, *et al*. (2013), peningkatan kadar protein berkaitan dengan perubahan jumlah struktur ikatan asam amino yang menyusun protein kolagen. Tingginya jumlah protein yang larut menyebabkan kadar protein dalam produk gelatin juga cenderung meningkat. Hasnaliza, *et al*. (2010), menyatakan bahwa konsentrasi enzim proteolitik yang semakin meningkat dalam proses hidrolisis akan menyebabkan peningkatan kandungan nitrogen terlarut dalam hidrolisat protein ikan. Penambahan konsentrasi enzim menyebabkan kadar protein meningkat hal ini disebabkan enzim itu sendiri adalah protein (Baehaki, 2015).

Penelitian yang dilakukan Cahyono, *dkk*. (2018), konsentrasi enzim papain yang tinggi mampu mendegradasi struktur protein menjadi gelatin tetapi pada konsentrasi tertentu (maksimal) enzim papain tidak lagi mendegradasi struktur protein melainkan mendenaturasi protein yang mengakibatkan penurunan kadar protein. Menurut Yuspita, *et al*. (2008) *dalam* Cahyono, *dkk*. (2018), kolagen cenderung stabil terhadap panas dan perlakuan asam. Semakin besar konsentrasi enzim papain yang ditambahkan diharapkan mampu memecah protein dan selangnya (*cross link*) menjadi gelatin.

Menurut Hidayat (2016), kadar protein gelatin yang dihasilkan oleh perlakuan dengan bahan enzim papain menghasilkan nilai kadar protein tertinggi dibandingkan dengan perlakuan bahan asam fosfat. Enzim papain mampu menghidrolisis protein kolagen secara selektif, berbeda dengan asam yang tidak mampu secara selektif dalam hidrolisis. Produk atau gelatin yang dihasilkan oleh hidrolisis enzim memilik tingkat kemurnian yang tinggi sehingga sifat dan kimia yang dihasilkan juga stabil.

**Kadar Abu**

Tabel 10. Hasil Kadar Abu Penelitian Tahap Ketiga

|  |  |
| --- | --- |
| **Lama Perendaman** | **Rata-rata** |
| 2 jam (B1) | 0,63% c |
| 4 jam (B2) | 0,57% b |
| 6 jam (B3) | 0,51% a |

Kadar abu pada penelitian tahap ketiga ini menunjukkan hasil berdasarkan Tabel 10 yaitu nilai rata-rata kadar abu berkisar antara 0,51-0,63% sedangkan standar GMIA (2013), pada kadar abu yaitu kisaran antara 0,30-2,00%, dilihat dari standar tersebut penelitian memenuhi syarat kadar abu pada gelatin cair tulang ikan patin. Penelitian analisis kadar abu pada tabel diketahui bahwa lama perendaman enzim papain berpengaruh terhadap kadar abu gelatin tulang ikan patin.

Lama perendaman mempengaruhi hasil kadar abu yaitu dengan lama perendaman yang meningkat akan menunjukkan hasil kadar abu yang menurun. Kadar abu tertinggi pada penelitian terdapat pada lama perendaman selama 2 jam dengan nilai 0,63%. Nilai kadar abu yang tinggi dapat disebabkan masih adanya komponen mineral yang terikat pada kolagen, yang belum terlepas saat proses pencucian sehingga ikut terekstraksi dan terbawa pada gelatin yang dihasilkan (Astawan dan Aviana, 2003). Sedangkan menurut Yuliani dan Marwati (2015), proses perendaman selain bertujuan untuk mengkonversi kolagen menjadi kolagen yang siap untuk diekstraksi dalam air, juga untuk melarutkan mineral seperti kalsium dan garam-garam lainnya sehingga tulang ikan menjadi lunak, dengan demikian semakin lama perendaman akan menyebabkan semakin banyak mineral yang terlarut, hal ini menyebabkan semakin rendahnya kandungan mineral dalam *ossein*, yang berarti semakin rendah pula kandungan mineral dalam gelatin yang dihasilkan.

Mineral yang terkandung di dalam gelatin ketika dilakukan proses pengabuan tidak akan hilang tetapi ikut menjadi abu sehingga akan menyumbang kadar abu gelatin. Beberapa mineral yang terkandung dalam gelatin antara lain kalsium fosfat, kalsium karbonat, dan magnesium fosfat (Ulfah, 2011).

Menurut Setiawati (2009), besar kecilnya nilai kadar abu ditentukan oleh proses pencucian atau *demineralisasi*, semakin banyak mineral yang luruh maka nilai kadar abu semakin rendah. Rendahnya kadar abu yang diduga karena banyaknya jumlah mineral yang ikut larut dalam proses pencucian. Sebagaimana yang telah dilakukan pada penelitian tahap kedua telah dilakukan *demineralisasi* yeng bertujuan untuk menghilangkan garam kasium dan garam lainnya dalam tulang. Penelitian tahap ketiga dengan ekstraksi dengan menggunakan enzim papain diduga kandungan mineral (garam kalsium dan garam lainnya) pada tulang ikan semakin rendah dan menyebabkan rendahnya kadar abu.

Kadar abu yang didapatkan dapat menunjukkan total mineral dalam bahan pangan, apabila dalam suatu bahan pangan memiliki total mineral yang tinggi maka kualitas bahan pangan tersebut tidak baik, dan sebaliknya apabila memiliki nilai kadar abu yang sedikit maka bahan pangan tersebut aman untuk digunakan (Tridhar, 2016).

**pH**

Analisis pH pada penelitian tahap ketiga ini menunjukkan hasil konsentrasi dan lama perendaman enzim papain serta interaksi keduanya tidak berbeda nyata terhadap nilai pH gelatin tulang ikan patin. Hal ini disebabkan pada proses pencucian dilakukan dengan benar yaitu mengacu dengan pengukuran nilai pH mendekati netral saat proses pencucian *ossein* sehingga nilai pH tidak berpengaruh nyata terhadap konsentrasi dan lama perendaman enzim papain. Hal ini sesuai dengan Hinterwaldner (1977) *dalam* Setawati (2009), bahwa nilai pH sangat tergantung pada proses pencucian setelah proses perendaman. Proses pencucian yang baik akan menyebabkan kandungan larutan yang terperangkap di dalam *ossein* semakin sedikit, sehigga nilai pH akan semakin mendekati netral.

Menurut Poedjiadi (2005), seperti pada protein pada umumnya, struktur enzim tergantung pada pH lingkungannya. Enzim dapat berbentuk ion positif, ion negatif, dan ion bermuatan ganda dapat disimpulkan bahwa pH berpengaruh terhadap efektivitas bagian aktif enzim dalam membentuk kompleks enzim substrat. pH rendah ataupun tinggi akan menyebabkan menurunnya aktifitas enzim dan pH optimum adalah pH yang bekerja secara maksimum pada substrat dan enzim tertentu.

Aktivitas enzim papain cukup spesifik karena papain hanya dapat mengkatalisis proses hidrolisis dengan baik pada kondisi pH serta suhu dalam kisaran waktu tertentu. Papain mempunyai pH optimum 5,0 pada gelatin (Muchtadi, *dkk.,* 1992 *dalam* Anggraini, 2015). Menurut GMIA (2013), nilai pH pada gelatin tipe A yaitu antara 3,80-5,50 sedangkan kisaran pH pada penelitian ini adalah antara 3,95-4,95 dengan nilai pH tertinggi yaitu 4,95 terdapat pada perlakuan konsentrasi enzim 1% dan 1,5% dengan lama perendaman selama 2 jam serta nilai pH terendah yaitu 3,95 pada perlakuan 0,5% dengan lama perendaman selama 6 jam. Hal tersebut menunjukkan bahwa gelatin cair tulang ikan patin termasuk gelatin tipe A. Nilai pH yang lebih rendah bila dibandingkan dengan pH optimum gelatin yaitu 5,0 hal tersebut diduga disebabakan karena asam pada proses *demineralisasi* masih menempel sehingga mempengaruhi nilai pH yang lebih rendah daripada standar nilai pH optimum enzim papain pada gelatin.

Setiap enzim membutuhkan pH optimum agar bisa berfungsi optimal. pH rendah maupun tinggi akan menyebabkan menurunnya aktifitas enzim dan pH optimum adalah pH yang bekerja secara maksimum pada substrat dan enzim tertentu. Pada tingkat pH optimum, enzim mampu mengkatalis reaksi pada tingkat tercepat dibandingkan pada tingkat pH lainnya. Sebagai contoh, enzim pepsin (enzim protease) yang mengkatalis protein, diketahui paling aktif pada pH asam. pH akan bekerja secara optimum pada substrat yang sesuai dengan enzimnya (Poedjiadi, 2005).

**Rendemen**

Tabel 11. Hasil Analisis Rendemen

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Konsentrasi Enzim (A)** | **Lama Perendaman (B)** | | |
| **B1**  **(2 jam)** | **B2**  **(4 jam)** | **B3**  **(6 jam)** |
| **A1 (0,5%)** | A | A | C |
| 78,33% | 53,44% | 41,11% |
| a | b | c |
| **A2 (1%)** | B | B | B |
| 75,33% | 56,22% | 51,56% |
| a | b | c |
| **A3 (1,5%)** | A | A | A |
| 62,67% | 53,56% | 39,33% |
| a | b | c |

Penelitian analisis rendemen pada Tabel 11 diketahui bahwa konsentrasi dan lama perendaman enzim papain serta interaksi keduanya berpengaruh terhadap rendemen gelatin tulang ikan patin. Berdasarkan hasil analisis memperlihatkan bahwa pada lama perendaman 2 jam rendemen menunjukan hasil tertinggi tetapi semakin lama perendaman meningkat maka hasil rendemen juga semakin menurun. Hal ini disebabkan banyak jaringan fibril kolagen yang rusak dengan peningkatan waktu perndaman sehingga jumlah komponen kolagen yang terlarut menjadi tinggi, yang berarti rendemen menjadi rendah (Suryati, 2015). Menurut Utama (1997) *dalam* Miskah, *dkk*. (2010), tidak tepatnya waktu perendaman akan menyebabkan kelarutan kolagen dalam pelarut yang menyebabkan penurunan gelatin. Lama perendaman enzim papain pada analisis rendemen gelatin cair tulang ikan patin menunjukkan waktu yang optimum yaitu kisaran 2 jam.

Semakin lama kontak kolagen dengan air menyebabkan kolagen yang menjadi gelatin juga semakin besar, sehingga reaksi semakin sempurna. Namun pada waktu reaksi yang terlalu lama akan menyebabkan hasil menjadi berkurang karena kandungan kolagen dalam kulit makin lama makin sedikit (Groggins, 1958 *dalam* Suhandana, 2010).

Menurut Fahrul (2005), penirisan kulit yang tidak sempurna setelah pencucian mengakibatkan kandungan air pada kulit menjadi tinggi sehingga pada saat penimbangan bobot yang terhitung bukan bobot murni kulit. Kandungan air yang tinggi dari bahan dapat mempengaruhi proses perendaman bahan, karena sifat dari air dapat mengencerkan konsentrasi larutan asam yang digunakan sehingga proses perendaman menjadi kurang efektif.

Konsentrasi enzim papain yang semakin meningkat menunjukkan rendemen yang cenderung semakin menurun, hal ini diduga karena meningkatnya konsentrasi enzim papain mempengaruhi jumlah kolagen yang terkonversi sedikit sehingga tranformasi menjadi gelatin juga rendah (Jamilah, *et al*., 2013). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Cahyono, *dkk*. (2018), yang menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi enzim papain, maka rendemen yang dihasilkan semakin rendah dan sebaliknya. Hal ini diduga bahwa konsentrasi enzim papain terendah mampu mendegradasi protein non kolagen sehingga kolagen akan terekstraksi secara maksimal dengan demikian kolagen yang terhidrolisis menjadi gelatin jauh lebih banyak.

Banyaknya rendemen gelatin tidak selalu berkolerasi positif dengan kekuatan gel. Terjadinya peningkatan kekuatan gel berhubungan dengan banyaknya jumlah kolagen yang terkonversi dan mengalami transformasi menjadi gelatin akibat ekstraksi. Faktor lain yang mempengaruhi nilai rendemen adalah perbedaan perlakuan selama proses termasuk bahan perendaman dan konsentrasi yang digunakan (Ledward, 2000 *dalam* Hidayat, *dkk*., 2016).

**Kekuatan Gel**

Tabel 12. Hasil Analisis Kekuatan Gel

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Konsentrasi Enzim (A)** | **Lama Perendaman (B)** | | |
| **B1**  **(2 jam)** | **B2**  **(4 jam)** | **B3**  **(6 jam)** |
| **A1 (0,5%)** | A | B | C |
| 41,69 bloom | 37,88 bloom | 25,24 bloom |
| c | b | a |
| **A2 (1%)** | B | B | B |
| 66,53 bloom | 36,79 bloom | 14,31 bloom |
| c | b | a |
| **A3 (1,5%)** | C | A | A |
| 75,74 bloom | 23,25 bloom | 7,15 bloom |
| c | b | a |

Hasil penelitian dari analisis kekuatan gel menunjukkan konsentrasi 1,5% dengan lama perendaman selama 2 jam memperlihatkan nilai kekuatan gel tertinggi yaitu sebesar 75,74 bloom dan konsentrasi 1,5% dengan lama perendaman selama 6 jam memperlihatkan nilai kekuatan gel terendah yaitu sebesar 7,15 bloom. Kekuatan gel yang ditetapkan oleh GMIA (2013) yaitu 50,0-300,0 bloom sedangkan pada hasil penelitian kekuatan gel yang tidak memenuhi syarat terdapat pada konsentrasi 1,5 dengan lama perendaman 4 dan 6 jam, konsentrasi 0,5% dengan lama perendaman 6 jam, serta konsentrasi 1% dengan lama perendaman 6 jam. Penelitian analisis kekuatan gel pada tabel diketahui bahwa konsentrasi dan lama perendaman enzim papain serta interaksi keduanya berpengaruh terhadap kekuatan gel gelatin tulang ikan patin.

Lama perendaman yang meningkat akan menyebabkan menurunnya kekuatan gel. Terjadinya penurunan nilai kekuatan gel dapat disebabkan terjadinya proses pemutusan rantai polimer asam amino secara berlebihan dengan meningkatnya lama perendaman enzim, sehingga ikatan antar molekul-molekul polimer penyusun protein yang terkonversi menjadi kolagen terpecah menjadi rantai yang sangat pendek hingga akhirnya mengalami kerusakan dan menyebabkan proses pembentukan gel menjadi terbatas (Arnesen dan Gildberg, 2002).

Menurut Stainsby (1977) *dalam* Munda (2013), bahwa pembentukkan gel gelatin terjadi karena pengembangan molekul gelatin pada waktu pembuatan sehingga akan membuka ikatan-ikatan pada molekul gelatin dan cairan yang semula bebas mengalir menjadi terperangkap di dalam struktur tersebut, sehingga terbentuk gel yang kental. Kategori gelatin kualitas baik bila diperoleh dari degradasi struktur *triple helix* protein kolagen menjadi campuran polipeptida yang bersifat mudah larut dalam air dan bila suhu didinginkan akan membentuk gelatin (Kurnianingsih, 2004).

Konsentrasi tertentu dan lama perendaman yang cenderung menurun akan menghasilkan kekuatan gel yang meningkat. Pada konsentrasi 1,5% dengan lama perendaman selama 2 jam memperlihatkan nilai kekuatan gel tertinggi yaitu sebesar 75,74 bloom sehingga pada konsentrasi dan lama perendaman tersebut terjadi pemutusan rantai yang optimum ketingkat yang lebih sederhana. Hal ini sesuai dengan peneltian yang dilakukan Huda, *et al*. (2013), kekuatan gel tergantung dari panjang rantai asam aminonya. Jika kondisi kolagennya telah terhidrolisis ketingkat yang lebih sederhana, maka kekuatan gel dapat meningkat. Kolagen yang telah terhidrolisis dapat menghasilkan rantai polipeptida yang panjang. Faktor lain yang mempengaruhi kekuatan gel yaitu ikatan hidrogen antara molekul air dengan kelompok hidroksil bebas dari kelompok asam amino dan konsentrasi serta distribusi berat molekul (Bhat dan Karim, 2009). Yoshimura, *et al*. (2000) *dalam* Hajrawati, (2006) menyatakan bahwa kekuatan gel bertambah secara linier dengan penambahan konsentrasi gelatin.

Konsentrasi enzim papain yang menghasilkan kekuatan gel cenderung menurun diduga mengalami hidrolisa lanjutan sehingga rantai polipeptida protein kolagen semakin pendek. Rantai polipeptida yang lebih pendek tidak hanya dapat meningkatkan sifat kelarutannya, tetapi juga dapat menurunkan kemampuan untuk mengental (Kusnandar, 2010).

Metode yang menggunakan metode enzim bisa mendapatkan struktur protein *triplehelix* yang utuh, selain itu sifat fisik dan kimia yang dihasilkan juga stabil. Hal ini diduga karena enzim dapat menghidrolisis protein kolagen secara selektif, enzim hanya bekerja pada rantai peptida *non-helik* protein kolagen sehingga enzim papain mampu mempertahankan bagian *triple-helix* protein kolagen (Hidayat, 2016).

**Viskositas**

Tabel 13. Hasil Analisis Viskositas

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Konsentrasi Enzim (A)** | **Lama Perendaman (B)** | | |
| **B1**  **(2 jam)** | **B2**  **(4 jam)** | **B3**  **(6 jam)** |
| **A1 (0,5%)** | B | B | B |
| 3,34 cP | 2,25 cP | 1,59 cP |
| c | b | a |
| **A2 (1%)** | A | B | A |
| 2,59 cP | 2,30 cP | 1,15 cP |
| c | b | a |
| **A3 (1,5%)** | C | A | A |
| 3,73 cP | 1,90 cP | 1,19 cP |
| c | b | a |

Hasil analisis viskositas pada tabel diatas menunjukkan bahwa nilai viskositas akan cenderung menurun dengan seiring lama perendaman yang meningkat. Nilai viskositas gelatin tipe A yang ditetapkan oleh GMIA (2013), yaitu 1,50-7,50 dan nilai viskositas pada penelitian gelatin cair tulang ikan patin yaitu 1,15-3,73 cP. Hasil tersebut menunjukan sebagian perlakuan tidak memenuhi syarat, hal tersebut diduga karena semakin meningkat lama perendaman enzim papain yang digunakan, maka rantai asam amino strukturnya semakin terbuka menyebabkan rantai tersebut semakin pendek dan terjadi penurunan viskositas (Hidayat, 2016).

Penelitian analisis viskositas pada tabel diketahui bahwa konsentrasi dan lama perendaman enzim papain serta interaksi keduanya berpengaruh terhadap viskositas gelatin tulang ikan patin. Berdasarkan hasil nilai viskositas terendah terdapat pada perlakuan dengan konsentrasi enzim papain 1% dengan lama perendaman selama 6 jam dengan nilai 1,15 cP. Menurut Lestari (2005), keberadaan mineral yang tergolong jenis abu dalam jumlah yang terlalu banyak mempengaruhi karakteristik gel gelatin, seperti kekuatan gel, titik leleh, dan viskositas. Rendahnya nilai viskositas juga dipengaruhi oleh distribusi molekul gelatin dalam larutan serta berat molekul gelatin. Apabila gugus dari gelatin berikatan dengan mineral maka akan menyebabkan ikatan molekul dari gelatin dengan larutan menjadi semakin sedikit sehingga distribusi molekul gelatin semakin cepat dan nilai viskositas menjadi turun (Munda, 2013).

Menurut Ridhay, *dkk*. (2016), rendahnya viskositas yang diperoleh, diakibatkan karena pendeknya rantai asam amino yang terkandung didalamnya. Hal ini didukung oleh Chamidah dan Elita (2002), lemahnya ikatan silang akan menyebabkan kolagen mudah terhidrolisis, hidrolisis ini dapat menurunkan berat molekul gelatin yang akan menurunkan viskositas larutan gelatin.

Nilai viskositas tertinggi terdapat pada perlakuan dengan konsentrasi enzim 1,5% dengan lama perendaman selama 2 jam dengan nilai 3,73 cP. Peningkatan nilai viskositas pada dasarnya dipengaruhi oleh struktur molekul asam amino yang menyusun protein. Susunan asam amino yang semakin panjang akan meningkatkan nilai viskositas kolagen (Leiner, 2006). Viskositas gelatin yang tinggi diduga rantai asam amino yang dihasilkan oleh bahan hidrolisis enzim papain panjang karena hidrolisis yang dilakukan oleh enzim dapat mempertahankan struktur protein kolagen *triple helix* berbeda dengan perlakuan asam yang mampu memotong atau memutus ikatan *triple helix* tersebut menjadi rantai tunggal, sehingga berat molekul yang dihasilkan kecil. Berat molekul berhubungan langsung dengan panjang rantai asam amino. Viskositas sangat berkaitan dengan berat molekul gelatin dan distribusi molekul (Hidayat, 2016).

Ward dan Courts (1977) *dalam* Setiawati (2009), menyatakan bahwa viskositas berhubungan dengan berat molekul (BM) rata-rata gelatin dan distribusi molekul, sedangkan berat molekul gelatin berhubungan langsung dengan panjang rantai asam aminonya, semakin panjang rantai asam amino maka nilai viskositas akan semakin tinggi. Konsentrasi larutan yang berbeda berpengaruh terhadap berat molekul (BM) gelatin yang dihasilkan.

**Penentuan Sampel Terpiih Penelitian Tahap Kedua**

Tabel 14. Penentuan Sampel Terpilih Penelitian Tahap Ketiga

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Sampel** | **Uji Skoring** | | | | | | **Total** |
| **Abu** | **Protein** | **Kekuatan Gel** | **Viskositas** | **pH** | **Rendemen** |
| a1b1 | 2 | 5 | 3 | 4 | 3 | 1 | 18 |
| a1b2 | 4 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 14 |
| a1b3 | 5 | 3 | 2 | 1 | 1 | 5 | 17 |
| a2b1 | 2 | 3 | 4 | 3 | 2 | 2 | 16 |
| a2b2 | 4 | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 | 15 |
| a2b3 | 5 | 2 | 1 | 1 | 1 | 4 | 14 |
| **a3b1** | **3** | **4** | **5** | **5** | **4** | **1** | **22** |
| a3b2 | 4 | 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | 11 |
| a3b3 | 5 | 1 | 1 | 1 | 4 | 3 | 15 |

Keterangan: Jumah nilai tertinggi merupakan sampel terpilih

Berdasarkan data dari tabel penentuan sampel terpilih penelitian tahap ketiga yaitu konsentrasi dan lama perendaman enzim papain terpilih yang memiliki jumlah skor tertinggi adalah konsentrasi enzim papain 1,5% dan lama perendaman 2 jam dengan nilai rata-rata kadar protein 22,61%, kadar abu 0,61%, pH 4,78, rendemen 39,33%, kekuatan gel 75,74 bloom, dan viskositas 3,73 cP. Hasil konsentrasi enzim papain 1,5% dan lama perendaman 2 jam merupakan sampel terpilih pada penelitian ini.

Pemilihan sampel terpilih yang dilakukan memiliki nilai tertinggi yang terdapat pada analisis kekuatan gel dan viskositas. Menurut Amiruldin, (2007) salah satu sifat fisik gelatin yang menentukan mutu gelatin adalah kemampuannya untuk membentuk gel yang disebut kekuatan gel. Kekuatan gel dipengaruhi oleh pH, adanya komponen elektrolit dan non elektrolit serta bahan tambahan lainnya. Sifat fisik lainnya adalah titik pembuatan gel, warna, kapasitas emulsi dan stabilitas emulsi. Ditambahkan oleh Poppe (1992) *dalam* Amiruldin (2007), sifat fisik penting lainnya adalah viskositas. Viskositas terutama dipengaruhi oleh interaksi hidrodinamik antar molekul gelatin, selain dipengaruhi suhu, pH dan konsentrasi. Pengukuran viskositas terhadap larutan gelatin sangat penting artinya untuk menentukan mutu dan penggunaan gelatin tersebut. Viskositas juga merupakan parameter untuk mengukur kemampuan suatu produk emulsifier untuk mengabsorpsi air dan untuk membentuk koloid. Semakin tinggi kemampuan produk emulsifier untuk mengentalkan dan membentuk koloid, maka nilai viskositasnya akan semakin tinggi dan kualitasnya juga akan semakin tinggi (Youlanda, 2016).

Enzim dapat menghidrolisis protein kolagen secara selektif. Menurut Hidayat (2016), enzim hanya bekerja pada rantai peptida *non-helik* protein kolagen sehingga enzim papain mampu mempertahankan bagian *triple-helix* protein kolagen. Menurut Yang dan Shu (2014), enzim dapat menghidrolis protein kolagen secara selektif, enzim kurang kuat dalam merusak protein. Metode yang menggunakan metode enzim bisa mendapatkan struktur protein triplehelix yang utuh, selain itu sifat fisik dan kimia yang dihasilkan juga stabil.

Uji kualitatif yang menunjukkan gelatin pada sampel, yaitu uji ninhidrin. Uji ninhidrin merupakan uji umum untuk identifikasi seluruh asam amino, karena larutan ninhidrin akan bereaksi dengan gugus utama asam amino. Asam amino akan bereaksi dengan ninhidrin membentuk aldehid dan membebaskan CO2, NH3, dan menghasilkan warna ungu atau kuning untuk prolin dan hidroksiprolin (Bintang, 2010). Gelatin tersusun atas asam amino prolin dan hidroksiprolin maka reaksi yang terbentuk berwarna kuning. Menurut Ratnayani, *dkk*. (2015), kompleks warna yang terbentuk mengandung dua molekul ninhidrin yang bereaksi dengan amonia setelah asam amino dioksidasi.

**KESIMPULAN DAN SARAN**

**Kesimpulan**

1. Berdasarkan penelitian tahap pertama menunjukkan rata-rata aktivitas enzim papain komersial adalah 0,4101 U/mL dan aktivitas enzim papain kasar (penyadapan batang pohon pepaya) adalah 0,2021 U/mL. Selanjutnya, rata-rata aktivitas enzim yang tertinggi yaitu enzim papain komesial digunakan pada proses penelitian tahap kedua.
2. Berdasarkan penelitian tahap kedua menunjukkan hasil bahwa larutan H3PO4 terpilih yang digunakan untuk proses demineralisasi berdasarkan metode skoring adalah konsentrasi H3PO4 5% dengan nilai rata-rata rendemen 78,83%, kadar abu 0,94%, dan pH 3,71.
3. Penelitian ini menunjukkan bahwa lama perendaman enzim papain berpengaruh nyata pada kadar abu terhadap gelatin cair tulang ikan patin.
4. Penelitian ini menunjukkan bahwa interaksi konsentrasi dan lama perendaman enzim papain berpengaruh nyata pada kadar protein, rendemen, kekuatan gel, dan viskositas terhadap gelatin cair tulang ikan patin.
5. Berdasarkan penelitian tahap ketiga menunjukkan hasil bahwa konsentrasi dan lama perendaman enzim papain terpilih yang digunakan berdasarkan metode skoring adalah konsentrasi enzim papain 1,5% dan lama perendaman 2 jam dengan nilai rata-rata kadar protein 22,61%, kadar abu 0,61%, pH 4,78, rendemen 39,33%, kekuatan gel 75,74 bloom, dan viskositas 3,73 cP.

**Saran**

1. Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan gelatin dari tulang ikan patin dalam bentuk kering sehingga dapat diaplikasikan dalam pembuatan produk es krim.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pemanfaatan enzim papain kasar yang diperoleh dari penyadapan batang pohon pepaya sebagai pembuatan gelatin karena aktivitas enzim yang tidak terlalu berbeda nyata dengan enzim papain komersial.
3. Konsentrasi enzim papain perlu ditingkatkan lagi untuk mengetahui konsentrasi optimum pada pembuatan gelatin cair tulang ikan patin.
4. Aplikasi gelatin dapat dikembangkan dengan menggunakan nano teknologi, seperti nano *edible film*, *edible packaging*, dan *edible coating*.

**DAFTAR PUSTAKA**

Amiruldin, M. 2007. **Pembuatan dan Analisis Karakteristik Gelatin dari Kulit Ikan Tuna (*Thunnus albacares*)**. [*Skripsi*]. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Arnesen, J. A. and A. Gildberg. 2002. **Preparation and Characterization of Gelatin from The Skin of Harp Seal (*Phoca groendlandica*)**. *Bioresource Tech*. 82; 191-194.

Anggraini, A., dan Yunianta. 2015. **Pengaruh Suhu dan Lama Hidrolisis Enzim Papain terhadap Sifat Kimia, Fisik, dan Organoleptik Sari *Edamame***. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Teknologi Hasil Pertanian. Universitas Brawijaya Malang. Malang.

Astawan, M., dan Aviani, T. 2003. **Pengaruh Jenis Larutan Perendaman serta Metode Pengeringan terhadap Sifat Fisik, Kimia, dan Fungsional Gelatin dari Kulit Cucut***. Jurnal Teknol. Dan Industri Pangan*. Vol. XIV. No. 1. Chaplin, M. 2005. Gelatin. http://www.Isbuc.ac.uk

Atma, Y. 2016. Review: **Pemanfaatan Limbah Ikan sebagai Sumber Alternatif Produksi Gelatin dan Peptida Bioaktif**. *Seminar Nasional Sains dan Teknologi*. Fakultas Teknik Universitas Muhammadiyah Jakarta. Jakarta.

Baehaki, A., Lestari S, D., dan Romadhoni, A, R. 2015. **Hidrolisis Protein Ikan Patin menggunakan Enzim Papain dan Aktivitas Antioksidan Hidrolisatnya**. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Universitas Sriwijaya. Indaralaya Ogan Ilir, Sumatera Selatan.

Bath, R. and A. A. Karim. 2009. *Review Fish Gelatin:* **Properties, Challenges and Prospects as an Alternative to Mammalian Gelatins***. Trends in Food Science and Technologi*. 19; 644-656.

Cahyono, E., Rahmatu, R., Ndobe, S., Mantung, A. 2018. **Ekstraksi dan Krakteristik Gelatin Tulangtuna pada Berbagai Konsentrasi Enzim Papain**. *Jurnal Teknologi Hasil Perikanan*. 7(2): 151.

Chamidah, A., dan Elita, C. 2002. **Pengaruh Pengolahan terhadap Kualitas Gelatin Kulit Ikan Hiu**. *Seminar* *Nasional PATPI.* ISBN: 979-95249-6-2. Malang.

Daisa, J., Rossi, E., dan Dini, I.R. 2017. **Pemanfaatan Ekstrak Kasar Enzim Papain pada Proses Dekafeinasi Kopi Robusta**. *Jom Faperta* 4(1).

Fahrul. 2005. **Kajian Ekstraksi Gelatin dari Kulit Ikan Tuna (Thunnus alalunga) dan Karakteristiknya sebagai Bahan Baku Industri Farmasi**. [*Tesis*]. Institusi Pertanian Bogor. Bogor.

Fatimah D. 2008. **Efektivitas Penggunaan Asam Sitrat dalam Pembuatan Gelatin Tulang Ikan Bandeng (*Chanos-Chanos furskal*)**. [*Skripsi*]. Malang: Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Malang.

Gaspersz, V. 1995. **Teknik Analisis dalam Penelitian Percobaan**. Edisi Pertama, Penerbit Tarsito, Bandung.

[GMIA] Gelatin Manufacturers Institute of America. 2012. **Gelatin Handbook**. http://gelatin-gmia.com

Hajrawati, 2006. **Sifat Fisik dan Kimia Gelatin Tulang Sapi dengan Perendaman Asam Klorida pada Konsentrasi dan Lama Perendaman yang Berbeda**. *Jurnal Agriplus*. 16 (3): 183 – 189.

Hartati, I. 2010. **Kajian Produksi Kolagen Dari Limbah Sisik Ikan Secara Enzimatis**. Teknik Kimia Universitas Wahid Hasyim. Semarang.

Hasnaliza, H., Maskat, M.Y., Wan, A.W.M., Mamot, S. 2010. **The Effect of Enzyme Concetration, Temperature and Incubation Time on Nitrogen Content and Degree of Hydrolysis of Protein Precipate from Cockle (*Anadara granosa*) Meat Wash Water**. *International Food Research Journal*. 17:147-152.

Hidayat, G., Dewi, E.N., dan Rianingsih, L. 2016. **Karakteristik Gelatin Tulang Ikan Nila dengan Hidrolisis menggunakan Asam Fosfat dan Enzim Papain**. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro. Semarang.

Huda, W.N., Atmaka, W., dan Nurhartadhi, E. 2013. **Kajian Karakteristik Fisik dan Kimia Gelatin Ekstrak Tulang Kaki Ayam dengan Variasi Lama Perendaman Konsentrasi Asam**. *Jurnal Teknosains Pangan* 2(3).

Jamilah, B., Umi H.M.R., Mat, H.D., and Sazili, A.Q. 2013. **Properties of Collagen from Barramundi (*Lates calcarifer*) Skin**. *International Food Research Journal*. 20(2): 835-842.

Khoerunnisa, G.S. 2017. **Pengaruh Konsentrasi Gelatin Tulang Ikan Patin (Pangasius, sp) dan Konsentrasi Putih Telur terhadap Karakteristik Es Krim Kacang Merah *(Phaseolus vulgaris* L*.)***. [*Tugas Akhir*]. Program Studi Teknologi Pangan, Universitas Pasundan. Bandung.

Kurnianingsih, N. 2004. **Kolagen Sang Pengisi Tubuh**. *Laporan Utama Cakrawala*. Edisi Kamis, 30 September 2004.

Kusnandar, F. 2010. **Kimia Pangan Komponen Makro**. Penerbit Dian Rakyat, Jakarta.

Leiner, P.B. 2006. ***The Physical and Chemical Properties of Gelatin****.* Tersedia pada: http://www.pbgelatins.com/aboutgelatin/physicalandchemicalproperties/viscosity

Lestari, S.D. 2005. **Analisis Sifat Fisika Kimia dan Rheologi Gelatin Kulit Hiu Gepeng (*Alopias sp*) dengan Penambahan MgSO4, Sukrosa, dan Gliserol**. [*Skripsi*]. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.

Miskah, S., Ramadianti, I, M., dan Hanif, A, F. 2010. **Pengaruh Konsentrasi CH3COOH & HCl sebagai Pelarut dan Waktu Perendaman pada Pembuatan Gelatin Berbahan Baku Tulang/Kulit Kaki Ayam**. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sriwijaya. Indaralaya Ogan Ilir, Sumatera Selatan.

Munda, M. 2013. **Pengaruh Asam Asetat dan Lama *Demineralisasi* terhadap Kuantitas dan Kualitas Gelatin Tulang Ayam**. [*Skripsi*]. Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin. Makassar.

Noviana, S., Suradi, K., dan Wulandari, E. 2015. **Pengaruh Berbagai Asam Fosfat pada Tulang Ayam Bbroiler terhadap Rendemen, Kekuatan Gel, dan Viskositas Gelatin**. [*Artikel*]. Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran. Bandung.

Nurhayati, T.E., Nurjanah., dan C.H, Sanapi. 2013. **Karakterisasi Hidrolisat Protein Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)**. *JPHPI*. 16 (3): 207-214.

Nurilmala M, Wahyuni M, Wiratmaja H. 2006. **Perbaikan Nilai Tambah Limbah Tulang Ikan Tuna (*Thunnus* sp.) menjadi Gelatin serta Analisis Fisika-Kimia**. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan.* 9(2): 22-33.

Peranginangin, R., Nurul, H., Widodo, F.M., dan Arham, R. 2004. **Ekstraksi Gelatin dari Kulit Ikan Patin (*Pangasius hypothalamus*) secara Proses Asam**. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia 11(3).

Poedjiadi, A. 2005. **Dasar-Dasar Bbiokimia**. Universitas Indonesia Press. Jakarta.

Putri, R.A., Kusrijadi A., dan Suryatna, A. 2013. **Kajian Penggunaan Amonium Sulfat pada Pengendapan Enzim Protease (Papain) dari Buah Pepaya sebagai Koagulan dalam Produksi Keju *Cottage***. *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia*. 4(2): 163-164.

Ratnayani, K., dan Laksmiwati, A.A.M. 2015. **Penuntun Praktikun Biokimia Jurusan Farmasi**. Universitas Udayana. Denpasar.

Ridhay, A., Musafira, Nurhaeni, Nurakhirawati, dan Khasanah, N.B. 2016. **Pengaruh Variasi Jenis Asam terhadap Rendemen Gelatin dari Tulang Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis*)**. Kovalen, 2(2): 44–53.

Salamah, E., Nurhayati, T., dan Widadi, I.R. 2012. **Pembuatan dan Karakterisasi Hidrolisat Protein dari Iikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) menggunakan Enzim Papain**. *JPHPI*. 15(1): 11.

Simanjuntak, B.R. 2013. **Pengolahan Kolagen Kulit Ikan Nila Merah. Balai Besar Penelitian Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan**. Jakarta.

Setiawati, I.H. 2009. **Karakterisasi Mutu Fisika Kimia Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah (*Lutjanus sp.*) Hasil Proses Perlakuan Asam**. [*Skripsi*]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Suhandana, M. 2010. **Pemanfaatan Jeroan Ikan Tongkol Sebagai Bahan Baku Pembuatan Pepton secara Enzimatis**. [*Skripsi*]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Suryanti, Susilo H., dan Peranginangin, R. 2006. **Ekstraksi dari Tulang Ikan Kakap Merah (*Lutjanus sp*) secara Asam**. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 1(1): 29-32.

Suryati, Nasrul Z.A., Meriatna, Suryani. 2015. **Pembuatan dan Karakterisasi Gelatin dari Ceker Ayam dengan Proses Hidrolisis**. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*. 4: 2 70-71.

Syahraeni, Anwar, M., dan Hasri. 2017. **Pengaruh Konsentrasi Asam Sitrat dan Waktu Demineralisasi pada Perolehan Gelatin dari Tulang Ikan Kakap Merah (*Lutjanus sp.*)**. Analit: Analytical and Environmental Chemistry. 2(1): 57-60.

Tridhar, N., A. 2016. **Perbandingan Produksi Kolagen dari Sisik dan Tulang Ikan Gurami (*Osphronemus gourami*) secara Kimia dan Enzimatis**. Artikel. Program Studi Teknologi Pangan, Universitas Pasundan. Bandung.

Ulfah, M. 2011. **Pengaruh Konsentrasi Larutan Asam Asetat dan Lama Waktu Perendaman Terhadap Sifat-Sifat Gelatin Ceker Ayam**. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian. INSTIPER. Yogyakarta.

Wang, A., Hua, W., Zhou, C., Du, Z., Zhu, S., Shen, S. 2008. **Ag-induced Efficient Immobilization of Papain on Silica Spheres**. *Chinese Journal of Chemical Engineering*. 16(4):612-619.

Wang, Wei., Li Z., Liu J., Wang Y., Liu S., Sun M. 2013. **Comparison between Thermal Hydrolysis and Enzymatic Proteolysis Processes for the Preparation of Tilapia Skin Collagen Hydrolysates.** *Czech Journal Food Science*. 31(1): 1–4.

Wulandari, D. 2006. **Ekstraksi dan Karakteristik Gelatin dari Kulit Kaki Ayam**.Program Studi Ilmu Peternakan. [*Thesis*]. Sekolah Pascasarjana UGM.Yogyakarta.

Yang, Hua., and Shu, Z. 2014. **The Extraction of Collagen Protein from Pigskin**. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 6(2):683-687.

Youlanda, H. 2016. **Ekstraksi dan Evaluasi Gelatin dari Kulit Sapi yang telah Mengalami Proses Buang Bulu menggunakan Hidrolisis Asam**. [*Skripsi*]. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi. Jakarta.

Yuliani, dan Marwati. 2015. **Ekstraksi dan Karakteristik Gelatin Tulang Ikan Tenggiri (*Scomberomorus commerson*)**. [Artikel]. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Universitas Mulawarman. Samarinda.

Yuniarifin, H., V. P. Bintoro, dan A. Suwarastuti. 2006. **Pengaruh Berbagai Konsentrasi Asam Fosfat pada Proses Perendaman Tulang Sapi terhadap Rendemen, Kadar Abu dan Viskositas Gelatin**. *J. Indon. Trop. Anim. Agric.* 31 (1): 55-61.

Zhou, P., and Joe, M.R 2005. **Effect of Alkaline and Acid Pretreatment on Alaska Pollock Skin Gelatin Extraction**. *Journal of Food Science*. 70 (6). C392-C396.