

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Ikan Patin

Ikan patin (*Pangasius sp*) merupakan salah satu komoditas perikanan tawar yang bernilai ekonomis tinggi. Ikan ini (*catfish*) termasuk famili Pangasidae umumnya banyak ditemukan disungai-sungai besar utamanya di daerah Sumatera, Kalimantan dan sebagian di Jawa. Dengan rasa dagingnya yang lezat karena mengandung komposisi gizi yaitu protein yang cukup tinggi terutama asam-asam amino dan asam lemak tak jenuh. Daging ikan patin juga rendah sodium sehingga sangat cocok bagi orang yang diet garam mudah dicerna oleh usus serta mengandung kalsium, zat besi dan mineral yang sangat baik untuk kesehatan.

Terdapat 14 jenis ikan patin termasuk jenis ikan patin siam. Selain di Indonesia, ikan patin juga banyak ditemukan di kawasan Asia seperti di Vietnam, Thailand, dan China. Diantara beberapa jenis patin tersebut yang telah berhasil dibudidayakan, baik dalam pembenihan maupun pembesaran dalam skala usaha mikro kecil dan menengah adalah 2 spesies, yakni ikan patin siam (*Pangasius hypophthalmus*; nama latin sebelumnya adalah *P.sutelti*) dan patin jambal (*Pangasius djumbal*). Patin siam mulai berhasil dipijahkan di Indonesia pada tahun 1981, sedangkan patin jambal pada tahun 1997 Di samping itu terdapat patin hasil persilangan (*hibrida*) antara patin siam betina dengan patin jambal jantan, yang dilakukan oleh Loka Risel Pemuliaan dan Teknologi Budidaya Perikanan Air Tawar (LRPTBPAT) dan dikenal dengan “patin pasupati” (*Pangasius SP*) Ikan patin selain dikonsumsi juga digunakan sebagai ikan hias pada saat ikan berukuran kecil 5 – 12 cm. (M.Harman and Dali, 2017)



(Sumber : Baheramsyah, 2021)

Gambar 2.1 Ikan Patin

Klasifikasi Ikan Patin (*Pangasius Hypopthaimus*) menurut Saanin (1984) dalam M.Harmain and Dali (2017) adalah sebagai berikut :

Phylum	: Chordata
Sub Phylum	: Vertebrata
Kelas	: Pisces
Sub kelas	: Teleostei
Ordo	: Ostaroiphysi
Sub ordo	: Siluroidea
Family	: Pangasidea
Genus	: <i>Pangasius</i>
Spesies	: <i>Pangasius Hypopthaimus</i>

## 2.2 Tulang Ikan

Tulang adalah material komposit yang terdiri dari bahan organik (terutama kolagen) dan anorganik, serta lipid dan air. Tulang ikan bisa dijadikan sebagai sumber tambahan kolagen di samping kulit ikan. Selain itu tulang ikan mengandung sel-sel hidup dan matrik intraseluler dalam bentuk garam mineral. Garam mineral tersebut terdiri dari kalsium fosfat sebanyak 80% dan sisa sebagian besar terdiri dari kalsium karbonat dan magnesium fosfat. 100 cm<sup>3</sup> dari tulang yang mengandung 10.000 mg kalsium. Tulang juga digunakan untuk menampung mineral lainnya.

Tulang secara komersial dimanfaatkan sebagai bahan baku industri gelatin, sehingga dapat menambah penghasilan secara ekonomi dan memberi keuntungan bagi pengelolaan limbah industri perikanan karena bahan tersebut dihasilkan dalam jumlah yang banyak, tulang ikan sangat potensial untuk digunakan sebagai bahan baku pembuatan gelatin, karena tulang menyumbang 15-20% dari total bobot tubuh ikan. (Choi and Regenstein, 2000).

## 2.3 Kolagen

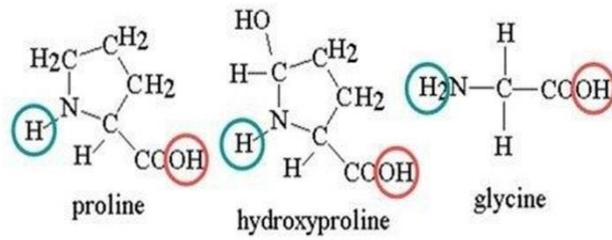
Kolagen adalah protein yang paling melimpah dalam tubuh hewan. Kolagen adalah bagian dari jaringan ikat di otot dan banyak lainnya organ, termasuk kulit, tulang, gigi, dan tendon. Kandungan kolagen pada ikan sangat

bervariasi dan tergantung pada spesiesnya (Hema dkk, 2013). Kandungan kolagen pada tulang ikan keras (teleostei) seperti tulang ikan patin memiliki berkisaran 15-17% kolagen, sedangkan pada tulang ikan rawan (*elasmobranch*) berkisaran 22-24% (Purwadi,1999). Komposisi asam amino dari kolagen cenderung didominasi oleh glisin, prolin, hidroksiprolin dan alanin. Selain itu, komposisi asam amino dan karakteristik fisikokimia kolagen sangat bervariasi dan bergantung pada jaringan.

Karakteristik dari kolagen diantaranya adalah memiliki daya tarik kuat, sifat antigenitas rendah, bioresorbability, kompatibilitas yang baik, mampu menginduksi proses koagulasi darah, memiliki efek terhadap penyembuhan luka, dan mudah dimurnikan. Kolagen merupakan komponen struktural utama dari jaringan ikat putih (*white connective tissue*) yang meliputi hampir 30% dari total protein pada jaringan dan organ tubuh *vertebrata* dan *invertebrate*.

Molekul kolagen tersusun dari kurang lebih dua puluh asam amino yang memiliki bentuk agak berbeda bergantung pada sumber bahan bakunya. Asam amino glisin, prolin dan hidroksiprolin merupakan asam amino utama kolagen. Asam amino aromatik dan sulfur terdapat dalam jumlah yang sedikit. Hidroksiprolin merupakan salah satu asam amino pembatas dalam berbagai protein (Chaplin, 2005)

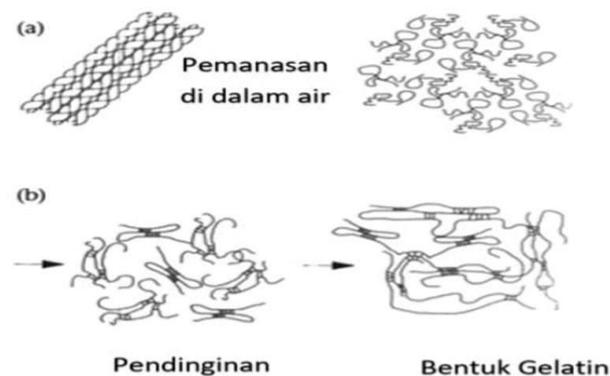
Molekul dasar pembentuk kolagen disebut tropokolagen yang mempunyai struktur batang dengan BM 300.000, dimana di dalamnya terdapat tiga rantai polipeptida yang sama panjang, bersama-sama membentuk struktur heliks. Tiap tiga rantai polipeptida dalam unit tropokolagen membentuk struktur kolagen helik tersendiri, menahan bersama-sama dengan ikatan hydrogen antara gugus NH dari residu glisin pada rantai yang satu dengan gugus CO pada rantai lainnya. Cincin pirolidin, prolin, dan hidroksiprolin membantu pembentukan rantai polipeptida dan memperkuat tripel helik, seperti ditunjukkan pada Gambar 2.2 (Amirudin, 2007).



(Sumber : Bregg dkk,1998)

Gambar 2.2. Struktur Asam Amino Kolagen

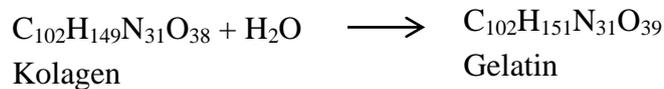
Prinsip utama dalam transformasi kolagen menjadi gelatin adalah dengan cara mendenaturasi kolagen yang terlarut melalui proses pemanasan. Kolagen pada ikan sangat sensitif terhadap panas jika dibandingkan dengan kolagen yang berasal dari mamalia disebabkan oleh kadar hidroksiprolin yang rendah (4-10%) dan sangat mudah mengalami cross linking (Hema dkk, 2013). Oleh karena itu, denaturasi dapat dilakukan dengan cara memanaskan kolagen dalam kondisi netral atau sedikit asam pada suhu 40°C (Poppe, 1992). Kadungan *Tropokolagen* pada ikan akan terdenaturasi oleh pemanasan atau perlakuan dengan zat seperti asam, basa, urea, dan *potassium permanganat*. Selain itu, serabut kolagen dapat mengalami penyusutan jika dipanaskan di atas suhu penyusutannya (Ts). Suhu penyusutan (Ts) kolagen ikan adalah 45°C. Jika kolagen dipanaskan pada T>Ts (misalnya 65 - 70°C), serabut triple heliks yang dipecah menjadi lebih panjang. Dimana penyusutan triple heliks yang disebabkan oleh pengaruh temperature dapat terjadi 2 tahap yang ditunjukkan pada gambar 2.3.



(Sumber : Azwar dkk,2008)

Gambar 2.3. Perubahan Kolagen menjadi Gelatin

Pada gambar 2.3 terjadi Pemecahan struktur tersebut menjadi lilitan acak yang larut dalam air inilah yang disebut gelatin. Adapun reaksi pemecahan kolagen menjadi gelatin dapat ditulis :

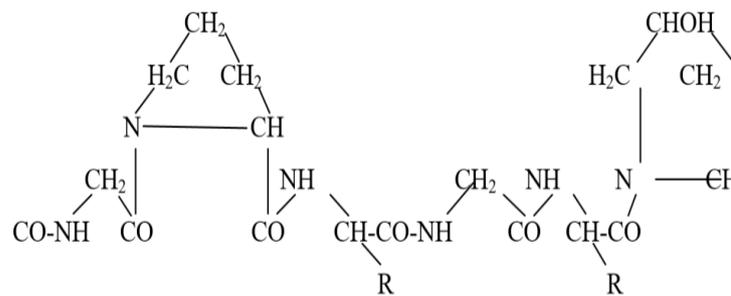


Kolagen dapat diaplikasikan pada industri makanan, kosmetik, biomedis dan industri farmasi. Pada kosmetik, kolagen digunakan untuk mengurangi keriput pada wajah atau dapat disuntikkan ke dalam kulit untuk menggantikan jaringan kulit yang telah hilang. Pada biomedis, kolagen digunakan sebagai sponges untuk luka bakar, benang bedah, agen hemostatik, penggantian atau substitusi pada pembuluh darah dan katup jantung tiruan. Pada industri farmasi kolagen digunakan sebagai drug carrier yaitu: mini-pellet dan tablet untuk penghantaran protein, formulasi gel pada kombinasi dengan liposom untuk sistem penghantaran terkontrol, bahan pengontrol untuk penghantaran transdermal, dan nanopartikel untuk penghantaran gen (Nurhayati, 2013).

## 2.4 Gelatin

Gelatin merupakan salah satu produk turunan protein yang diperoleh dari hasil hidrolisis kolagen hewan yang terkandung dalam tulang dan kulit, dan merupakan senyawa yang tidak pernah terjadi secara alamiah. Gelatin mempunyai titik leleh 35°C, di bawah suhu tubuh manusia. Titik leleh inilah yang membuat produk gelatin mempunyai karakteristik yang unik bila dibandingkan dengan bahan pembentuk gel lainnya seperti pati, alginat, pektin, agar-agar dan karaginan yang merupakan senyawa karbohidrat (Gómez-Guillén and Montero, 2001).

Menurut Imeson (1985), gelatin merupakan salah satu hidrokoloid yang dapat digunakan sebagai *gelifying agent*, bahan pengental (*thickening agent*), atau bahan penstabil (*stabilizer*). Gelatin berbeda dari hidrokoloid lainnya karena pada umumnya hidrokoloid merupakan polisakarida sedangkan gelatin sendiri adalah senyawa protein. Pada gelatin proteinnya tersusun dari senyawa karbon, hidrogen, gugus hidroksil (OH), gugus karbonil (C=O), dan gugus amina (NH), susunannya seperti ditunjukkan pada gambar 2.4.



(Sumber : *Muyongga, dkk., 2004*)

Gambar 2.4 Struktur Kimia Gelatin

Susunan asam amino dari gelatin hamper mirip dengan kolagen, dimana glisin sebagai asam amino utama dan merupakan 2/3 dari seluruh asam amino yang menyusunnya, 1/3 asam amino yang tersisa diisi oleh prolin dan hidroksiprolin (Chaplin, 2005). Komposisi asam amino dalam gelatin dapat dilihat pada Table 2.1 dibawah ini.

Table 2.1 Komposisi asam amino dalam gelatin

Jenis asam amino	Jumlah %
Glisin	26,4 – 30,5
Prolin	14,0 – 18,0
Hidroksiprolin	13,3 – 14,5
Asam Glutamat	11,1 – 11,7
Alanin	8,6 – 11,3

(Sumber : *Chaplin, 2005*)

Berdasarkan proses pembuatannya terdapat dua jenis gelatin yaitu Tipe A dan Tipe B. Gelatin Tipe A diproduksi melalui proses asam sedangkan Tipe B diproduksi melalui proses basa. Pada proses pembuatan gelatin Tipe A melalui proses asam, bahan baku diberi perlakuan perendaman dalam larutan asam organik seperti asam klorida, asam sulfat, asam sulfit atau asam fosfat, sedangkan proses produksi gelatin Tipe B melalui proses basa, perlakuan yang diberikan adalah perendaman dalam air kapur, proses ini sering dikenal sebagai proses alkali (Utama, 1997).

Gelatin Tipe A biasanya berasal dari kulit babi, sedangkan gelatin Tipe B terutama berasal dari kulit dan tulang ruminansia (Imeson, 1985). Sifat gelatin berdasarkan tipenya disajikan pada Tabel 2.2.

Table 2.2 Sifat Gelatin Berdasarkan Jenisnya

<b>Sifat</b>	<b>Tipe A</b>	<b>Tipe B</b>
Kekuatan Gel (Bloom)	50,0 – 300,0	50,0 – 300,0
Viskositas (cP)	1,50 – 7,50	2,00 – 7,50
Kadar Abu (%)	0,30 – 2,00	0,50 – 2,00
pH	3,80 – 6,00	5,00 – 7,10
Titik Isoelektrik	7,00 – 9,00	4,70 – 5,40

(Sumber : Amiruldin 2007)

Gelatin tipe A dihasilkan dari proses asam, yang umumnya dihasilkan dari kulit babi, dimana molekul kolagennya muda, sedangkan gelatin tipe B dihasilkan dari proses asam dan basa, yang umumnya diperoleh dari tulang dan kulit sapi, dimana molekul kolagen helix ulir tiga (*triple helix*) lebih tua, ikatan silangnya lebih padat dan kompleks. Pada umumnya proses asam digunakan untuk bahan baku yang relatif lunak, sedangkan proses alkali diterapkan pada bahan baku yang relatif keras (Amiruldin,2007).

Sifat fisik yang sangat mempengaruhi kualitas gelatin antara lain kekuatan gel, viskositas dan titik leleh. Sifat-sifat ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti konsentrasi larutan gelatin, waktu pemanasan gel, suhu pemanasan gel, pH dan kandungan garam. Selain itu faktor dalam proses ekstraksi gelatin sendiri, seperti keasaman larutan perendam, lama perendaman dan suhu ekstraksi diduga juga mempengaruhi sifat gelatin tersebut.

Sifat kimia dari gelatin dipengaruhi oleh komposisi asam amino, yang mirip dengan kolagen sehingga dipengaruhi oleh spesies dan jenis jaringan hewan sebagai bahan dasarnya. Perbedaan dalam distribusi berat molekul juga dipengaruhi sifat kimianya yang hasil dari variasi dalam sifat atau kondisi ekstraksi (Zhou dan Regenstein, 2006).

Gelatin digunakan sebagai bahan makanan (food aditif), yang berfungsi sebagai penambah rasa enak, dengan kandungan lemak yang bebas (rendah), sehingga dapat mengurangi energi yang dikonsumsi tubuh tanpa ada pengaruh

yang negatif . Gelatin juga banyak digunakan sebagai baku industri pangan, gelatin digunakan sebagai pembentuk busa (*whipping agent*), pengikat (*binder agent*), penstabil (*stabilizer*), pembentuk gel (*gelling agent*), perekat (*adhesive*), peningkat viskositas (*viscosity agent*), pengemulsi (emulsifier), *finning agent*, *crystal modifier*, *thickener*. Dalam bidang farmasi, gelatin dapat digunakan dalam bahan pembuat kapsul, pengikat tablet dan *pastilles*, gelatin *dressing*, gelatin *sponge*, *surgical powder*, *suppositories*, *medical research*, *plasma expander*, dan mikroenkapsulasi. Dalam industri fotografi, gelatin digunakan sebagai pengikat bahan peka cahaya dan dalam industri kertas, gelatin digunakan sebagai *sizing paper* (Ismeri dkk, 2009). Beberapa contoh kegunaan gelatin dapat dilihat dari table 2.3.

Table 2.3 Beberapa Kegunaan Gelatin dalam berbagai macam produk

<b>Aplikasi</b> (1)	<b>Kegunaan</b> (2)
Produk Pangan Secara Umum	Sebagai zat pengental, penggumpal, membuat produk menjadi elastis, pengemulsi, penstabil, pembentuk busa, menghindari sineresis, pengikat air, memperbaiki konsistensi, pelapis tipis, pemer kaya gizi dan menghindari sintesis. Seperti yang sering digunakan pada produk pudding, sirup, dan permen.
Farmasi	Pembungkus kapsul atau sebagai tablet obat.
Daging Olahan	Untuk meningkatkan daya ikat air, konsistensi dan stabilitas produk, sosis, kornet, ham, dll.
Susu Olahan	Untuk memperbaiki tekstur, konsistensi, dan stabilitas produk serta menghindari sineresis pada yoghurt, es krim, susu asam, dan keju cottage.
Minuman	Sebagai penjernih sari buah ( <i>juice</i> ), bir dan wine. Penambahan gelatin pada sari buah akan membentuk kompleks gelatin yang dapat diendapkan kemudian dipisahkan.
Kosmetika	Digunakan untuk menstabilkan emulsi pada shampo, penyegar dan pelindung kulit (lotion/cream), sabun (terutama yang cair), lipstik, cat kuku, busa cukur, krim pelindung sinar matahari, dll.
Film	Membuat film menjadi lebih sensitif, sebagai pembawa dan pelapis zat warna film.

Lanjutan Table 2.3 Beberapa Kegunaan Gelatin dalam berbagai macam produk

(1)	(2)
Fotografi	Sebagai medium pengikat dan koloid pelindung untuk bahan pembentuk image.
Bidang Kedokteran	Dapat digunakan untuk menghilangkan rasa nyeri pada lutut dan persendian serta digunakan untuk bahan-bahan pembedahan.
Bakery	Untuk menjaga kelembaban produk, sebagai perekat bahan pengisi pada roti.
Buah-buahan	Sebagai pelapis (melapisi pori-pori buah sehingga terhindar dari kekeringan dan kerusakan buah dari mikroba), untuk menjaga kesegaran dan keawetan buah, pengganti lilin pada pengawet buah.

(Sumber : Fatimah dkk, 2008)

Gelatin memiliki sifat yang khas yaitu mempunyai pembentukan gel yang cukup tinggi dan bersifat reversible artinya gel yang sudah terbentuk akan dapat larut kembali dalam pemanasan. Sifat secara umum dan kandungan unsur-unsur mineral tertentu dalam gelatin dapat digunakan untuk menilai mutu gelatin dan standar mutu menurut SNI (Standard Nasional Indonesia) dapat dilihat pada table 2.4 (SNI, 1995):

Table 2.4. Standar Mutu Gelatin menurut SNI (1995) dan GMIA (2012)

Karakteristik	SNI	GMIA
Warna	Tidak Berwarna sampai kekuningan	-
Bau, Rasa	Normal	-
Kadar Air	Maks. 16%	Maks. 11,45%
Kadar Abu	Maks. 3,25%	0,3-2 %
Kadar Protein	-	Maks. 87,26%
Kekuatan Gel	-	50 – 300 bloom
Viskositas	-	6 cP
pH	-	3,8-5,5
Logam Berat	Maks. 50 mg/kg	-
Arsen	Maks. 2 mg/kg	-
Tembaga	Maks. 30 mg/kg	-
Seng	Maks. 100 mg/kg	-
Sulfit	Maks. 1000 mg/kg	-

(Sumber : a) Dewan Standarisasi Nasional (SNI 06.3735-1995)

b) GMIA, (2012)

## Pembuatan Gelatin

Pada prinsipnya proses pembuatan gelatin dapat dibagi menjadi dua macam, yaitu proses asam dan proses basa. Perbedaan kedua proses ini terletak pada proses perendamannya. Berdasarkan kekuatan ikatan kovalen silang dan jenis bahan yang diekstrak, maka penerapan jenis asam maupun basa organik dan metode ekstraksi lainnya seperti lama hidrolisa, pH dan suhu akan berbeda-beda. Proses produksi utama gelatin dalam tiga tahap :

1. Tahap persiapan bahan baku antara lain penghilangan komponen non kolagen dari bahan baku.
2. Tahap konversi kolagen dari gelatin.
3. Tahap pemurnian gelatin dengan penyaringan dan pengeringan.  
(Pelu dkk, 2017).

Penggunaan asam lebih menguntungkan untuk produksi gelatin bila dilihat dari segi waktu perendaman yang lebih singkat dan biaya lebih murah. Hal ini diakibatkan karena pada perendaman asam yang singkat sudah dapat melakukan pemutusan ikatan dan struktur koil kolagen dengan lebih baik sehingga jumlah kolagen yang terekstrak hampir mendekati jumlah kolagen untuk proses basa pada perendaman tulang selama delapan minggu (Astawan dkk, 2002).

Proses produksi utama gelatin dapat dibagi menjadi tiga tahapan, yaitu persiapan bahan baku, konversi kolagen menjadi gelatin dan yang terakhir perolehan gelatin dalam bentuk kering. Persiapan dilakukan dengan pencucian pada tulang ikan. Tulang dibersihkan dari sisa-sisa daging dan kotoran lain yang mengandung deposit-deposit lemak yang tinggi. Untuk memudahkan pembersihan maka sebelumnya dilakukan pemanasan pada air mendidih selama 1-2 menit. Proses penghilangan lemak dari jaringan tulang disebut *degreasing*, dilakukan pada suhu antara titik cair lemak dan suhu koagulasi albumin tulang yaitu antara 32°C – 80°C sehingga dihasilkan kelarutan lemak yang optimum. Konversi kolagen menjadi gelatin biasanya didasarkan pada pengaturan suhu ekstraksi, yaitu untuk mencegah kerusakan protein pada suhu tinggi. Kisaran suhu yang digunakan antara 50°C dan 100°C atau lebih rendah, pada selang pH dapat bervariasi untuk tiap metode ( Hinterwaldner, 1977).

Pada proses pembuatan gelatin berbahan baku tulang dan kulit, terdapat proses yang penting dilakukan pada bahan sebelum diproses menjadi gelatin, yaitu proses *liming* dan *degreasing*. Proses *degreasing* bertujuan untuk menghilangkan lemak-lemak yang masih terdapat dalam jaringan kulit dan tulang dengan proses pemasakan. Penghilangan lemak pada kulit dan tulang yang paling efektif dilakukan pada suhu antara titik cair lemak dan suhu koagulasi protein, yaitu sekitar 28 – 32°C. *Liming* bertujuan untuk melarutkan komponen non-kolagen dan untuk melunakkan kulit dan tulang dengan perendaman larutan basa, selain itu bertujuan pula untuk merusak atau memutuskan ikatan kimia tertentu yang masih ada dalam kolagen dan untuk menghilangkan atau mengurangi material lain yang tidak diinginkan, seperti protein lain dan karbohidrat. Selama proses *liming*, lemak dikonversi menjadi sabun-sabun basa terlarut (Amiruldin, 2007).

Metode pengkonversian kolagen menjadi gelatin adalah dengan denaturasi kolagen. Proses denaturasi terjadi dengan pemanasan kolagen pada suhu 40°C atau lebih dengan penambahan senyawa pemecah ikatan hydrogen pada suhu kamar atau lebih rendah, berupa pemecahan struktur koil kolagen menjadi satu, dua atau tiga rantai polipeptida secara acak (Gómez-Guillén and Montero, 2001)

Konversi kolagen menjadi gelatin terjadi dalam tiga tahap, yaitu hidrolisis lateral, hidrolisis ikatan polipeptida terutama glisin, dan penghancuran struktur kolagen. Produksi gelatin meliputi tahap-tahap pengecilan ukuran bahan baku, perendaman, pencucian, pemanasan, pemekatan, pendinginan, dan pengeringan. Pengecilan ukuran disini menurutnya diperlukan untuk lebih memperluas permukaan bahan sehingga proses dapat berlangsung lebih cepat dan sempurna.

Ekstraksi adalah proses denaturasi untuk mengubah kolagen menjadi gelatin dengan penambahan senyawa pemecah ikatan hydrogen pada suhu kamar atau suhu yang lebih rendah. Ekstraksi juga dapat dilakukan dengan menggunakan air panas, dimana pada proses ini terjadi denaturasi, peningkatan hidrolisis dan kelarutan gelatin. Waktu yang diperlukan untuk ekstraksi adalah 4-8 jam dengan suhu antara 55-100°C. Setelah diperoleh ekstrak bersih, dilakukan pengeringan untuk mengurangi kadar air sebanyak 85-90%. Hal ini dapat dilakukan dengan menggunakan evaporator vakum dengan suhu 43-45°C dan dilanjutkan dengan menggunakan *freeze dryer* atau oven pada suhu antara 30-60°C (Viro, 1992).

Larutan gelatin yang diperoleh selanjutnya mengalami proses pendinginan untuk memadatkan larutan gelatin. Selanjutnya adalah pengeringan gelatin pekat yang telah padat dengan sinar matahari atau menggunakan mesin pengering yang bersuhu 32– 60°C, sampai diperoleh gelatin kering.

## **2.5 Ekstraksi Gelatin**

Ekstraksi adalah proses pemisahan satu atau lebih komponen dari suatu campuran homogen menggunakan pelarut cair (solven) sebagai separating agent. Bila dilihat dari bahan baku, ekstraksi pada gelatin sendiri menggunakan prinsip dari proses leaching atau ekstraksi padat-cair yang merupakan pemisahan solute yang berada dalam solid pembawanya menggunakan pelarut cair yang disesuaikan dengan sifat padatan tersebut.

Proses leaching yang digunakan juga memakai cara refluks. Pada metode refluks, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu. Jenis ekstraksi sendiri pada proses pangan yang sering dilakukan adalah ekstraksi secara panas dengan cara refluks dan penyulingan uap air dan ekstraksi secara dingin dengan cara maserasi, perkolasi dan alat soxhlet yang tergantung pada efektivitas kerja alat dan bahan yang digunakan. Berikut cara-cara ekstraksi menurut Dirjen POM (1986) dalam Mukhriani (2007).

### **2.5.1 Ekstraksi secara Sokletasi**

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya ekstraksi secara berkesinambungan. Pelarut dipanaskan sampai mendidih. Uap pelarut akan naik melalui pipa samping, kemudian diembunkan lagi oleh pendingin tegak. Cairan pelarut lalu turun untuk mengekstrak zat aktif dalam bahan. Selanjutnya bila pelarut mencapai sifon, maka seluruh cairan akan turun ke labu alas bulat dan terjadi proses sirkulasi ekstraksi. Demikian seterusnya sampai zat aktif yang terdapat dalam bahan tersaring seluruhnya yang ditandai jernihnya cairan yang lewat pada tabung sifon.

### 2.5.2 Ekstraksi secara Perkolasi

Perkolasi dilakukan dengan cara dibasahkan 10 bagian bahan dengan derajat halus yang cocok, dan menggunakan 2,5 bagian sampai 5 bagian pelarut yang dimasukkan dalam bejana tertutup sekurang-kurangnya 3 jam. Kemudian massa bahan setelah ekstraksi dipindahkan sedikit demi sedikit ke dalam perkolator, ditambahkan pelarut. Perkolator ditutup dibiarkan selama 24 jam, kemudian kran dibuka dengan kecepatan 1 ml permenit, sehingga bahan tetap terendam. Filtrat dipindahkan ke dalam bejana, ditutup dan dibiarkan selama 2 hari pada tempat terlindung dari cahaya.

### 2.5.3 Ekstraksi secara Maserasi

Maserasi dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian bahan dengan yang telah halus ke dalam bejana, kemudian dituangi dengan pelarut 75 bagian, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari, terlindung dari cahaya sambil diaduk sekali-kali setiap hari lalu diperas dan ampasnya dimaserasi kembali dengan pelarut. Penyarian diakhiri setelah pelarut tidak berwarna lagi, lalu dipindahkan ke dalam bejana tertutup, dibiarkan pada tempat yang tidak bercahaya, setelah dua hari lalu endapan dipisahkan.

### 2.5.4 Ekstraksi secara Refluks

Ekstraksi dengan cara ini secara umum adalah ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan pelarut dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin tegak, lalu dipanaskan sampai mendidih. pelarut akan menguap, uap tersebut akan diembunkan dengan pendingin tegak dan akan kembali untuk mengekstrak zat aktif dalam bahan padatan tersebut, demikian seterusnya. Ekstraksi ini biasanya dilakukan 3 kali dan setiap kali diekstraksi selama 4 jam.

### 2.5.5 Ekstraksi secara Penyulingan

Penyulingan dapat dipertimbangkan untuk mengekstrak serbuk atau padatan bahan dimana bahan yang digunakan biasanya mengandung komponen kimia yang mempunyai titik didih yang tinggi pada tekanan udara normal, yang

pada pemanasan biasanya terjadi kerusakan zat aktifnya. Untuk mencegah hal tersebut, maka ekstraksi yang dilakukan dengan penyulingan.

## 2.6 Pelarut Gelatin

Pelarut dalam proses ekstraksi sangat berperan penting sebagai pengikat kandungan dalam solid atau liquid yang akan diekstraksi. gelatin dapat larut dalam larutan encer seperti dari alcohol polihidrat dan juga larutan sangat polar yang memiliki ikatan hidrogen dan merupakan pelarut organik dimana gelatin akan larut dalam asam asetat, trifluoroetanol, dan formamida. Namun sebaliknya, gelatin tidak dapat larut dalam pelarut organik yang kurang polar seperti benzena, aseton, alkohol primer dan dimetilformamida, GMIA (2012).

Asam fosfat ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) (juga dikenal sebagai asam ortofosfat atau asam fosfat (V) (phosphoric acid, orthophosphoric acid, phosphoric (V) acid) merupakan asam mineral (anorganik) yang memiliki rumus kimia  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . Asam ortofosfat mengacu pada asam fosfat, yang merupakan nama IUPAC untuk senyawa ini. Awalan orto digunakan untuk membedakan asam ini dari asam fosfat yang terkait, yang disebut asam polifosfat. Asam ortofosfat adalah asam non-toksik, yang dalam bentuk murni adalah padat. Basa konjugat dari asam fosfat adalah ion dihidrogen fosfat,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ , yang pada gilirannya memiliki basa konjugat hidrogen fosfat,  $\text{HPO}_4^{2-}$ , yang memiliki basa konjugat fosfat,  $\text{PO}_4^{3-}$ . Fosfat bergizi untuk semua bentuk kehidupan. Selain menjadi reagen kimia, asam fosfat memiliki berbagai macam kegunaan, termasuk sebagai inhibitor karat, aditif makanan, etchant gigi dan ortopedik, elektrolit, fluks, pendispersi, etchant industri, bahan baku pupuk, dan komponen produk pembersih rumah.

Asam fosfat memiliki rumus molekul  $\text{H}_3\text{PO}_4$  dengan berat molekul 98 g/mol dan memiliki titik didih  $135^\circ\text{C}$ , merupakan suatu senyawa kimia dalam bentuk cairan yang memiliki sifat tidak berwarna, tidak berbau, dan tidak mudah menguap. Komposisi utama yang terkandung dalam asam fosfat adalah fosfor yang dapat diperoleh dari batuan fosfat. Pada industri, asam fosfat banyak digunakan sebagai bahan baku pembuatan pupuk. Selain itu, asam fosfat juga dapat digunakan sebagai bahan pembuatan detergen, pembersih lantai, insektisida,

industri makanan (pembuatan lysine dan MSG), industri tekstil, dan lain sebagainya.

## **2.7 Analisis Kimia**

### **2.7.1 Kadar Air**

Air merupakan salah satu unsur yang penting didalam makanan. Kadar air merupakan komponen yang sangat penting dalam bahan pangan karena dapat mempengaruhi penampakan, tekstur, dan cita rasa. Semakin tinggi kadar air dalam bahan pangan maka tekstur bahan semakin lembab, dan juga sebaliknya jika kadar air dalam bahan pangan sedikit, maka bahan pangan akan semakin keras (Winarno, 2004).

Kadar air pada bahan pangan akan berpengaruh terhadap daya simpan, karena erat kaitannya dengan aktivitas metabolisme yang terjadi selama bahan pangan tersebut disimpan seperti aktivitas enzim, aktivitas mikroba dan aktivitas kimiawi, yaitu terjadinya ketengikan dan reaksi-reaksi non enzimatik sehingga menimbulkan perubahan sifat-sifat organoleptik dan nilai mutunya (Ulfah, 2011).

### **2.7.2 Kadar Abu**

Abu adalah zat anorganik sisa hasil pembakaran suatu bahan organik. Kadar abu merupakan campuran dari komponen anorganik atau mineral yang terdapat pada suatu bahan pangan. Bahan pangan terdiri dari 96% bahan anorganik dan air, sedangkan sisanya merupakan unsur-unsur mineral. Kadar abu tersebut dapat menunjukkan total mineral dalam suatu bahan pangan. Bahan-bahan organik dalam proses pembakaran akan terbakar tetapi komponen anorganiknya tidak, karena itulah disebut sebagai kadar abu. Produk perikanan memiliki kadar abu yang berbeda-beda (Winarno, 2004).

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. Semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka nilai kadar abu akan semakin kecil, karena konsentrasi tersebut berpengaruh terhadap kadar abu.

### 2.7.3 Tingkat Keasaman (pH)

pH adalah derajat keasaman yang digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman atau kebasaan yang dimiliki oleh suatu bahan. Ia didefinisikan sebagai kologaritma aktivitas ion hidrogen ( $H^+$ ) yang terlarut. Nilai pH berkisar dari 0 sampai dengan 14. Suatu larutan netral apabila memiliki nilai pH 7. Nilai pH lebih dari 7 menunjukkan derajat kebasaan dan nilai dibawah 7 menunjukkan derajat keasaman.

## 2.8 Analisa Fisik

### 2.8.1 Kekuatan Gel

Kekuatan gel dapat dilihat dari besarnya kekuatan yang diperlukan oleh probe untuk menekan gel sedalam 4mm sampai gel tersebut pecah. Satuan untuk menunjukkan kekuatan gel yang dihasilkan dari konsentrasi tertentu disebut Gram Bloom (Hermanianto dkk, 2000). Kekuatan gel sendiri merupakan sifat fisik gelatin yang utama, karena kekuatan gel menunjukkan kemampuan gelatin dalam pembentukan gel (Rusli, 2004). Stainsby (1977) dalam Astawan (2003) menyatakan bahwa pembentukan gel 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 menjadi kental. Setelah semua cairan terperangkap menjadi larutan kental, larutan tersebut akan menjadi gel secara sempurna jika disimpan pada suhu dingin. Kekuatan gel juga sangat berhubungan dengan pengaplikasian produk.

### 2.8.2 Kadar Protein

Protein adalah polipeptida yang memiliki berat molekul lebih dari 5.000 makromolekul ini berbeda beda sifat fisiknya mulai dari enzim yang larut dalam air sampai keratin yang tak larut. Di dalam protein terdapat kolagen, kolagen merupakan komponen struktural utama jaringan ikat putih yang meliputi hampir 30 % total protein pada tubuh. Protein ini mempunyai struktur tripel helix terdiri dari 25 %, glisin dan 25 % prolin (Nagai dan Suzuki, 2000).

Hasil penelitian Hartati (2010) diketahui bahwa ekstraksi enzimatis lebih tinggi kadar proteinnya dibandingkan dengan ekstraksi kimia, hal ini disebabkan karena enzim yang digunakan adalah enzim protease yaitu enzim yang berfungsi untuk memecah suatu protein dengan cara memutus ikatan peptida. Enzim protease berfungsi memecah protein dengan cara merusak asam amino yang berada diujung rantai dengan asam amino yang ada didalam protein (Hartati, 2010). Sedangkan menurut Sahubawa (2008), enzim memiliki aktivitas tinggi dan karakteristik khusus dalam pemotongan atau penguraian secara sempurna asam amino pembentuk rantai peptide, protein dan kolagen.

### 2.8.3 Rendemen

Rendemen merupakan salah satu parameter dalam pembuatan kolagen. Efisien dan efektifnya proses ekstraksi bahan baku yang dapat dilihat dari nilai rendemen yang dihasilkan. Rendemen diperoleh dengan perbandingan antara berat produk yang dihasilkan dengan berat bahan baku. Semakin besar rendemen yang dihasilkan, maka semakin efisien perlakuan yang diterapkan dengan tidak mengesampingkan sifat sifat lainnya (Fahrul, 2005).