

BAB II **TINJAUAN PUSTAKA**

2.1 Ikan Tenggiri

Ikan tenggiri adalah ikan pelagis dan merupakan ikan yang ekonomis di Indonesia bahkan dunia, karena kandungan protein yang tinggi dan bagus untuk pertumbuhan. Ikan tenggiri mempunyai bentuk memanjang, daging dan kulit yang licin, tidak bersisik kecuali sisik-sisik pada gurat sisi yang kecil-kecil, memiliki dua sirip punggung letaknya berdekatan sekali yang depan disokong oleh jari-jari keras yang lemah sebanyak 16-17 buah, yang belakang disokong oleh 3-4 jari-jari keras dan 13-14 jari-jari lunak (Djuhanda, 1981)



Gambar 1. Ikan Tenggiri

Ikan tenggiri memiliki sirip ekor yang sama besarnya dengan sirip punggung yang belakang, dan disebelah belakangnya terdapat sirip-sirip tambahan sebanyak 9-10 buah, sama seperti pada sirip punggung. Sirip ekor berlekuk dalam dengan kedua ujung sirip-siripnya yang panjang. Mulut nya lebar, rahang atas dan rahang bawah begerigi tajam dan kuat, langit-langit bergigi kecil-kecil. Warna punggungnya kebiru-biruan, pinggiran tubuh dan perut beawarna seperti perak. (Djuhanda, 1981).

Menurut Balai Bimbingan dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan (2005), hasil analisa proksimat ikan tenggiri memiliki kandungan air 76,5%, protein 21,4%, lemak 0,56%, karbohidrat 0,61% dan kadar abu 0,93% (Aditya Nugroho dkk, 2014)

Klasifikasi ikan tenggiri menurut Chaoesare (1981) dalam Sheedy (2006) adalah sebagai berikut :

- Kerajaan : *Animalia*
- Filum : *Chordata*
- Kelas : *Actinopterygii*
- Ordo : *Perciformes*
- Famili : *Scombridae*
- Genus : *Scomberomorus*
- Spesies : *Scomberomorus commerson*

2.2 Tulang Ikan

Tulang adalah material komposit yang terdiri dari bahan organik (terutama kolagen) dan anorganik (bioapatite, komponen $\text{Ca}_{10}(\text{PO})_4(\text{OH})_{32}^{+2}$), serta lipid dan air (Szipak, 2011 dalam Sudarminto, 2014), seperti ditunjukkan pada Gambar 2. 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 cm³ dari tulang yang mengandung 10.000 mg kalsium. Tulang juga digunakan untuk menampung mineral lainnya (Frandsen, 1992 dalam Umi, 2013).



Gambar 2. Tulang Ikan

Komposisi dalam beberapa tulang ikan secara umum ditunjukkan pada Tabel 1:

Tabel 1. Komposisi Tulang Ikan

Parameter	Jenis Ikan			
	COD	Salmon	Herring	Tenggiri
Protein (g/100g)	39	47	44	59
Kadar Abu (g/100g)	58	50	51	44
Kalsium (g/100g)	19	14	16	14
Zat Besi (g/100g)	5	3	6	7
Iodin (g/100g)	10	23	19	13
Kadar Air (%)	0,4	0,3	0,1	0,2
Kadar Lemak (%)	78-83	67-77	60-80	60-74
Kalori (Cal/lb)	0,1-0,9	3-14	4-22	1-23

Sumber : Irawan dkk, 2012

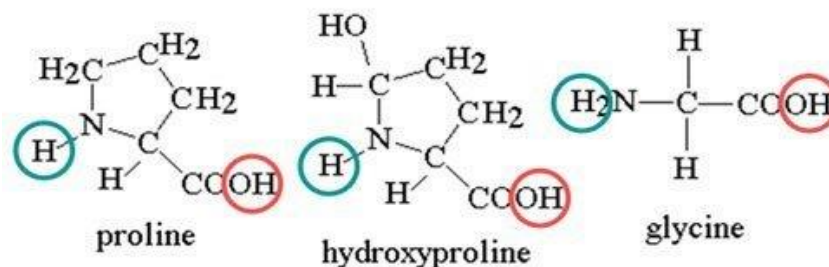
Tulang secara komersial dimanfaatkan sebagai bahan baku industri gelatin, sehingga dapat menambah penghasilan secara ekonomi dan memberi keuntungan bagi pengelolaan limbah industri perikanan karena bahan tersebut dihasilkan dalam jumlah yang banyak (Choi *and* Regenstein, 2000). Fahliwi (2009) melaporkan bahwa tulang ikan sangat potensial untuk digunakan sebagai bahan baku pembuatan gelatin, karena tulang menyumbang 15-20% dari total bobot tubuh ikan.

2.2.1 Kolagen Tulang Ikan

Kolagen merupakan komponen struktural utama dari jaringan pengikat putih (*white connective tissue*) yang meliputi hampir 30% dari total protein pada jaringan organ tubuh vertebrata dan invertebrata (Setiawati, 2009). Tipe kolagen yang teridentifikasi pada ikan hanya tipe I dan V. Kolagen tipe I terdapat pada kulit, tulang, dan sisik ikan (Nagai & Suzuki, 2000), sementara kolagen tipe V terdapat pada jaringan ikat dalam kulit, tendon dan otot ikan yang juga mengandung kolagen tipe I (Sato *et al.*, 1989 dalam Amirudin 2007).

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. (Chaplin, 2005 dalam Amirudin 2007).

Molekul dasar pembentuk struktur kolagen disebut tropokolagen yang mempunyai struktur batang dengan berat molekul 300.000 g/mol, dimana di dalamnya terdapat tiga rantai polipeptida yang sama panjang, bersama-sama membentuk struktur helik. 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 3 (Wong, 1989 dalam Amirudin, 2007).



Sumber : Bregg dkk, 1998

Gambar 3. Struktur Asam Amino Kolagen

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 (Lee *et al.*, 2001 dalam Nurhayati, 2013).

Komposisi kolagen dapat dilihat dari hasil penelitian Yudhomenggolo Sastro Darmanto dkk (UNDIP, 2012) yang melakukan uji efek kolagen dari berbagai jenis tulang ikan terhadap kualitas miofibril protein ikan selama proses dehidrasi, hasil tersebut ditunjukkan pada Tabel 2:

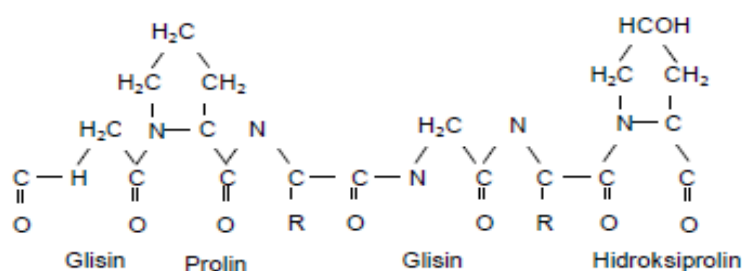
Tabel 2. Komposisi Kolagen Tulang Ikan

Komposisi	Jenis Ikan		
	Nilu	Bandeng	Tenggiri
Protein (%)	25,06	32,99	31,92
Lemak (%)	0,74	1,32	1,41
Abu (%)	50,75	53,41	54,63
Kadar Air (%)	7,46	8,48	5,29
Fosfor (%)	2,06	0,69	0,92
Kalsium (%)	18,33	1,91	3,39
Rendemen (%)	56,45	36,22	49,8

Sumber : Yudhomenggolo dkk, 2012

2.3 Gelatin

Gelatin merupakan salah satu produk turunan protein yang diperoleh dari hasil hidrolisis kolagen hewan yang terkandung dalam tulang dan kulit (Gomez-Guillen & Montero, 2001). Susunan amino gelatin hampir mirip dengan kolagen, dimana 2/3 penyusunnya adalah glisin dan sepertiganya disusun oleh prolin dan hidroksiprolin (Charley, 1982). Pada Gambar 4 dapat dilihat susunan asam amino gelatin berupa Gly-X-Y dimana X adalah asam amino prolin dan Y adalah amino hidroksiprolin (Poppe, 1992).



Sumber : Poppe, 1992

Gambar 4. Struktur Asam Amino Gelatin

Gelatin tersusun atas 18 asam amino yang saling terikat dan dihubungkan dengan ikatan peptida membentuk rantai polimer yang panjang (Amiruldin, 2007). Pada umumnya rantai polimer tersebut merupakan perulangan asam amino glisin-prolin-prolin atau glisin-prolin-hidroksiprolin. Dalam gelatin tidak terdapat asam amino triptofan, sehingga gelatin tidak dapat digolongkan sebagai protein yang lengkap (Junianto, dkk., 2006).

Tabel 3. Komposisi Asam Amino Gelatin

Asam Amino	Jumlah (%)	Asam Amino	Jumlah (%)
Alanin	11,0	Lisin	4,5
Arginin	8,8	Metionin	0,9
Asam Aspartat	6,7	Prolin	16,4
Asam Glutamat	11,4	Serin	4,2
Genilalanin	2,2	Sistin	0,07
Glisin	27,5	Theorin	2,2
Histidin	0,78	Tirosin	0,3
Hidroksiprolin	14,1	Valin	2,6
Leusin dan Iso-Leusin	5,1	Phenilalanin	1,9

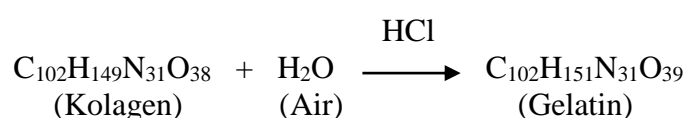
Sumber : Eastone dan Leach (1977) dalam Amiruludin (2007)

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 (Norland 1990, Osborne *et al.*, 1990). 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).

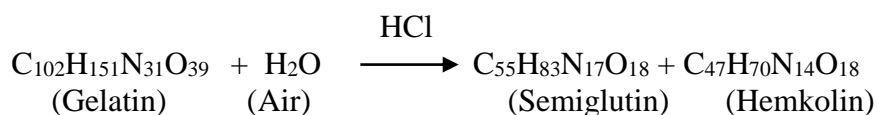
Sebelum diproses menjadi gelatin, kulit atau tulang harus diubah bentuk menjadi bentuk *ossein*. *Ossein* adalah kulit yang telah mengalami demineralisasi atau penghilangan kalsium fosfat agar terjadi pelunakan sehingga tulang maupun kulit lunak dan mudah untuk di proses lebih lanjut.

Reaksi kimia dari perubahan kolagen menjadi gelatin dengan jalan hidrolisis :



(Kirk & Othmer, 1996 dalam Suhenry, 2015)

Reaksi tersebut terjadi pada suhu 60°C-95°C, jika suhu lebih dari 95°C, maka terjadi pemecahan gelatin dengan reaksi sebagai berikut:



(Kirk & Othmer, 1996 dalam Suhenry, 2015)

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 tabel 4 (SNI, 1995):

Tabel 4. Standar Gelatin Menurut SNI No. 06-3735 Tahun 1995 dan British Standard : 757 Tahun 1975

Karakteristik	SNI	British Standart
Warna	Tidak Berwarna sampai Kekuningan	Kuning Pucat
Bau, Rasa	Normal	-
Kadar Abu	Maksimum 16%	-
Kadar Air	Maksimum 3,25%	-
Protein	87,25%	-
Kekuatan Gel	-	50-300 bloom
Viskositas	-	15-70 mps atau 1,5-7 cPs
pH	-	4,5-6,5
Logam Berat	Maksimum 50 mg/kg	-
Arsen	Maksimum 2 mg/kg	-
Tembaga	Maksimum 30 mg/kg	-
Seng	Maksimum 100 mg/kg	-
Sulfit	Maksimum 1000 mg/kg	-

Sumber : a) Dewan Standarisasi Nasional (SNI 06.3735-1995), 1995
b) British Standard:757, 1975

Sifat khas lainnya dari gelatin yang paling disukai oleh hampir seluruh industri makanan maupun farmasi yaitu *melting in the mouth* (meleleh dalam mulut), karena titik leleh gelatin antara 27-34°C, oleh sebab itu gelatin disebut *miracle food* (Poppe, 1992).

Gelatin juga mempunyai sifat bioadesif yang cukup baik sehingga dapat digunakan dalam sistem penghantaran mukoadesif (Chien, 1992). Sistem penghantaran mukoadesif adalah suatu sistem penghantaran obat dimana obat bersama polimer bioadesif didesain untuk dapat berkontak lebih lama dengan membran mukosa dalam saluran pencernaan (Agoes, 2001 dalam Rachmania, 2013). Sistem penghantaran mukoadesif ini bertujuan untuk meningkatkan konsentrasi obat di dalam saluran pencernaan sehingga memberikan keuntungan farmako kinetik dan farmako dinamik obat (Klausener dkk., 2003).

Gelatin dari kulit atau tulang sapi dan babi secara luas digunakan dalam pembuatan makanan karena sumber yang lebih tersedia dan cukup memadai. Gelatin dari kulit dan tulang sapi yang dihasilkan menggunakan perlakuan alkali atau basa dikenal sebagai gelatin jenis B, sementara gelatin dari tulang atau kulit babi yang dihasilkan menggunakan pengolahan asam dikenal sebagai gelatin tipe A. Kedua jenis gelatin ini memiliki karakteristik yang berbeda yang menentukan apakah salah satu dari keduanya yang akan dipilih oleh makanan pabrikan.

Beberapa produsen mempertimbangkan untuk menggunakan gelatin dari sumber sapi, sementara lainnya lebih suka gelatin babi dikarenakan berbagai hal dan alasan. Misalnya distribusi berat molekul dan sifat kimia dari gelatin kulit dan tulang sapi atau babi menunjukkan pentingnya gelatin tersebut dalam aplikasi makanan.

Gelatin banyak digunakan sebagai bahan 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*), dan pengental (*thickener*) (Poppe, 1992). Gelatin di dalam industri non pangan seperti industri farmasi, digunakan sebagai bahan pembuat kapsul, pengikat tablet, dan mikroenkapsulasi. Selain itu, gelatin juga digunakan dalam industri fotografi dan kosmetik. Dalam industri fotografi, gelatin berfungsi sebagai bahan peka cahaya, dan pada industri kosmetik, gelatin digunakan untuk menstabilkan emulsi pada produk shampo, lotion, sabun, lipstik, cat kuku, dan busa cukur (Hermanianto, 2000).

Tabel 5. Kegunaan Gelatin dalam Berbagai Macam Produk

Aplikasi	Kegunaan
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.
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, keju cottage, dll.
Minuman	Sebagai penjernih sari buah (juice), bir, dan wine
Farmasi	Pembungkus kapsul atau tablet obat
Kosmetika (khususnya produk-produk emulsi)	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.
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.
Bidang Kedokteran	Dapat digunakan untuk menghilangkan rasa nyeri pada lutut dan persendian serta digunakan untuk bahan-bahan pembedahan.
Fotografi	Sebagai medium pengikat dan koloid pelindung untuk bahan pembentuk image.

Sumber : Fatimah dkk, 2008

2.4 α -casein Susu Sapi

Susu sapi merupakan suatu emulsi lemak di dalam air yang mengandung gula, garam-garam, mineral dan protein dalam bentuk koloid (Buckle et al, 1987 dalam Susilo, 2013). Air dalam susu berfungsi sebagai pelarut dan membentuk emulsi, suspensi koloidal. *Flavour* pada susu sangat ditentukan oleh lemak susu. Lemak susu dalam bentuk butir-butir disebut globula, yang berada dalam fase dispersi. Masing-masing butir lemak dikelilingi oleh selaput protein yang sangat tipis atau serum susu yang terkumpul pada permukaan akibat adsorpsi (Muchtadi, 1992 dalam Susilo, 2013).

Susu memiliki warna putih kebiru-biruan sampai dengan kecoklatan. Selain itu, jenis sapi dan jenis makannya dapat mempengaruhi warna susu (Buckle, 1987 dalam Susilo, 2013). Warna putih pada susu akibat penyebaran butiran-butiran lemak, kalsium kaseinat, dan kalsium fosfat pada susu (Adnan, 1984 dalam Susilo, 2013). Warna kuning pada susu disebabkan terlarutnya vitamin A, kolesterol, dan pigmen karoten dalam globula lemak. Air susu memiliki sedikit rasa manis yang disebabkan oleh laktosa. Selain rasa manis, rasa asin juga terkadang pada susu karena kandungan klorida, sitrat dan garam-garam mineral lainnya (Buckle et al., 1987). Rasa gurih pada susu disebabkan oleh komponen lemak dan protein dalam susu (Mudjajanto, 1995 dalam Susilo, 2013).

Berikut komposisi susu secara garis besar :

Tabel 6. Komposisi Susu

Komponen	Rerata Kandungan dalam Susu (% b/b)	Kisaran (%b/b)	Rerata Kandungan dalam Berat Kering (%b/b)
Air	87,1	85,3-88,7	-
Padatan non lemak	8,9	7,9-10,0	-
Lemak dalam berat kering	31	22-38	-
Laktosa	4,6	3,8-5,3	36
Lemak	4,0	2,5-5,5	31
Protein	3,3	2,3-4,4	25
<i>Casein</i>	2,6	1,7-3,5	20
Mineral	0,7	0,57-0,83	5,4
Asam Organiik	0,17	0,12-0,21	1,3

Sumber : Walstra, et al., 2006 dalam Susilo, 2013

Susu identik dengan kandungan protein yang cukup tinggi, sekitar 95% dari nitrogen pada susu berada dalam bentuk protein. Protein susu sebagian besar adalah *casein* yang merupakan campuran tiga jenis protein yaitu : α -*casein*, (75 %), γ -*casein* (3 %) dan β -*casein* (22%). *Casein* merupakan kompleks senyawa protein dengan garam Ca, P dan sejumlah kecil Mg dan sitrat sebagai agregat makromolekul yang disebut kalsium fosfor kaseinat atau misel *casein* (Eskin *et al.*, 1990). *Casein* sering ditemukan pada susu, dikarenakan susu mengandung sejumlah protein yang jumlahnya berkisar antara 28-40% (Eckles *et al.*, 1957 dalam Susilo, 2013) dan menurut Soeparno *et al.* (2001) protein dalam susu terdiri atas *casein* (80%), laktalbumin (18%) dan laktoglobulin (0,05-0,07%).

Casein terdapat dalam susu sebagai suatu suspensi koloidal partikel-partikel kompleks yang disebut misel (Soeparno, 1992). *Casein* terdiri dari tiga komponen yaitu α -*casein*, β -*casein* dan δ -*casein*. α -*casein* dan β -*casein* terbentuk di dalam kelenjar susu atau ambing sedang δ -*casein* mula-mula ditemukan di dalam aliran darah kemudian masuk ambing lalu bergabung dengan kompleks α -*casein* dan dikenal sebagai κ -*casein* (Lampert, 1975 dalam Susilo, 2013).

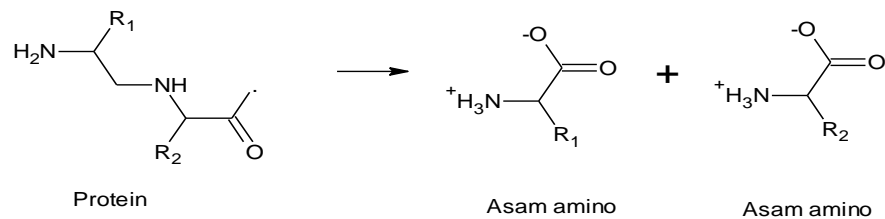
Casein bersifat hibrofobik dan memiliki banyak muatan. *Casein* tidak mudah mengalami denaturasi, namun pemanasan mendekati 120°C akan mendorong perubahan kimiawi *casein*, sehingga *casein* memiliki sifat insoluble. *Casein* akan mengalami presipitasi (pengendapan) pada pH 4,6 atau bila ada penambahan mineral kalsium (Walstra, *et al.*, 2006 dalam Susilo, 2013)

Cara lain partikel *casein* dalam susu dapat dipisahkan dengan sentrifugal dengan kecepatan tinggi atau dengan penambahan asam. Pengasaman susu oleh kegiatan bakteri yaitu juga menyebabkan mengendapnya *casein*. Bila terdapat cukup asam yang dapat mengubah pH susu menjadi kira-kira 5,2 – 5,3 akan terjadi pengendapan disertai dengan melarutnya garam-garam kalsium dan fosfor yang semula terikat pada protein secara berangsur-angsur. Sesudah pengendapan, *casein* dapat dilarutkan kembali dengan menambah alkali sampai pH 8,5. *Casein* itu sendiri terdiri dari campuran sekurang-kurangnya tiga komponen protein yang diberi istilah α -, β -, dan γ -*casein*. α -*casein* adalah komponen utama yang jumlahnya mencapai 40 – 60 % dari total protein susu.

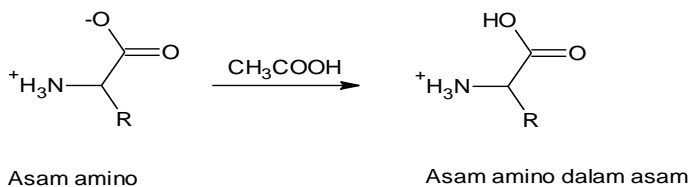
Dalam susu, *casein* banyak terdapat dalam bentuk *casein micelle* atau kumpulan *casein*. *Casein micelle* memiliki peran yang sangat penting dalam karakteristik susu, terutama sifat koloidal susu. Pada susu segar yang tidak didinginkan, *casein* akan nampak sebagai partikel bulat dengan ukuran diameter hingga 300 nm. Dengan mikroskop elektron, partikel-partikel *casein* dalam susu segar nampak sebagai bulatan-bulatan yang terpusat dengan garis tengah sekitar 10 – 200 milimikron. Banyak teori tentang struktur *casein micelle*. Salah satu model tentang *casein micelle* dapat dilihat pada Gambar 5. Model tersebut mengilustrasikan bahwa *micelle* terdiri atas campuran *submicelle*, dengan ukuran diameter 12-15 nm, dan setiap *submicelle* 20-25 molekul *casein*.

Berikut proses hidrolisis isolasi *casein* dari susu secara garis besar :

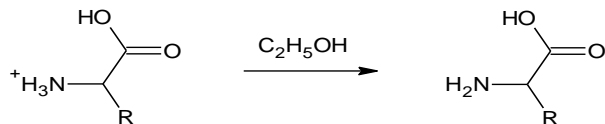
Hidrolisis Protein



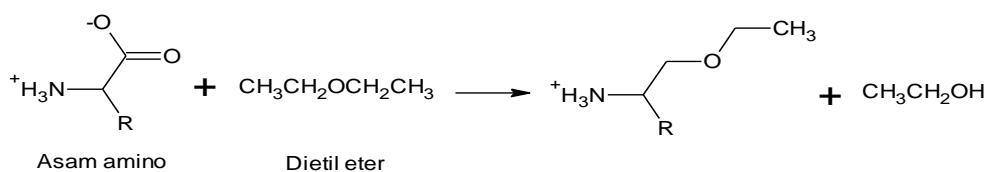
Dalam suasana asam



Penambahan etanol 95 %

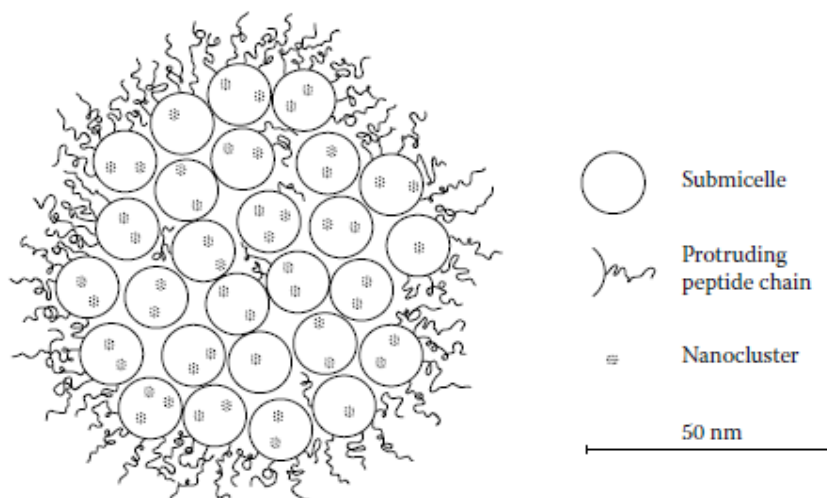


Penambahan Eter



Sumber : Nursa'id Fitria, 2012

Gambar 5. Mekanisme isolasi α -*casein*



Sumber : Walstra, 2006 dalam Susilo, 2013

Gambar 6. Struktur *casein micelle*

Casein penting dikonsumsi karena mengandung komposisi asam amino yang dibutuhkan tubuh. Dalam kondisi asam (pH rendah), *casein* akan mengendap karena memiliki kelarutan (*solubility*) rendah pada kondisi asam. Susu adalah bahan makanan penting, karena mengandung kasein yang merupakan protein berkualitas juga mudah dicerna (*digestible*) saluran pencernaan (Susilo, 2013)

Casein asam (*acid casein*) sangat ideal digunakan untuk kepentingan medis, nutrisi, dan produk-produk farmasi. Selain sebagai makanan, *acid casein* digunakan pula dalam industri pelapisan kertas (paper coating), cat, pabrik tekstil, perekat, dan kosmetik. Pemanasan, pemberian enzim proteolitik (rennin), dan pengasaman dapat memisahkan *casein* dengan whey protein. Selain itu, sentrifugasi pada susu dapat pula digunakan untuk memisahkan *casein* (Susilo, 2013)

Dalam isolasi, *casein* larut dalam air, alkohol dan eter namun tidak larut dalam etanol, senyawa alkali dan beberapa larutan asam. Setelah kasein dikeluarkan, maka protein lain yang tersisa dalam susu disebut whey protein. Protein serum terdiri dari β -laktoglobulin 50%, α -laktalbumin 20%, albumin, immunoglobulin, laktoferin, trasferin dan sebagian kecil protein dan enzim. Whey tidak mengandung fosfor tapi mengandung asam amino sulfur yang membentuk ikatan disulfide. Jika ikatan rusak maka protein mengalami denaturasi.

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 perkulator, ditambahkan pelarut.

Perkolator ditutup dibiarkan selama 24 jam, kemudian kran dibuka dengan kecepatan 1 ml per menit, 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 - α -Casein

Gelatin larut dalam larutan encer dari alkohol polihidrat seperti gliserol dan propilen glikol. Contoh dari larutan sangat polar yang memiliki ikatan hidrogen dan merupakan pelarut organik dimana gelatin akan larut dalam asam asetat, trifluoroetanol, dan formamida. Gelatin tidak larut dalam pelarut organik yang kurang polar seperti benzena, aseton, alkohol primer dan dimetilformamida (GMIA, 2012)

Protein susu yang dominan *casein* terbentuk dari polimerisasi peptida, sedangkan peptida merupakan polimerisasi dari asam amino yang berbeda-beda. Analisis yang dilakukan C Nick Pace dkk (2004) menunjukkan bahwa protein stabil pada kebanyakan pelarut polar seperti etanol dan bahkan lebih stabil dalam ruang hampa, tetapi tidak stabil dalam pelarut non-polar seperti sikloheksana. Namun dalam studi kelarutan menunjukkan bahwa kelarutan protein akan sangat rendah dalam pelarut polar seperti etanol dan bahwa protein pada dasarnya tidak larut dalam pelarut non-polar seperti sikloheksana.

2.6.1 Asam Asetat

Asam asetat adalah pelarut protik hidrofilik (polar), mirip seperti air dan etanol. Asam asetat bercampur dengan mudah dengan pelarut polar atau nonpolar lainnya seperti air, kloroform dan heksana. Sifat kelarutan dan kemudahan bercampur dari asam asetat ini membuatnya digunakan secara luas dalam industri kimia dan laboratorium (Hart, 2003)

Asam asetat termasuk golongan asam karboksilat, berwujud cairan tidak berwarna dengan bau tajam. Asam asetat yang menyusun sekitar 4-5% cuka, memberi ciri bau dan cita rasanya. Asam karboksilat tergolong polar dan dapat membentuk ikatan hidrogen dengan sesamanya atau dengan molekul 5 lain. Jadi asam karboksilat seperti asam asetat memiliki titik didih tinggi untuk bobot molekulnya. Asam karboksilat seperti asam asetat mengurai di dalam air, menghasilkan anion karboksilat dan ion hidronium. Atom hidrogen (H) pada gugus karboksil ($-\text{COOH}$) dalam asam karboksilat seperti asam asetat dapat dilepaskan sebagai ion H^+ (proton), sehingga memberikan sifat asam (Hart, 2003)

2.6.2 Natrium Klorida

Natrium klorida juga dikenal sebagai garam dapur yang merupakan senyawa ionik dengan rumus NaCl. Natrium klorida pada umumnya merupakan padatan bening dan tak berbau, serta dapat larut dalam gliserol, etilen glikol, dan asam formiat, namun tidak larut dalam HCl. Sebagai bahan utama dalam garam dapur, dan biasanya digunakan sebagai bumbu dan pengawet makanan. Natrium klorida juga digunakan sebagai bahan pengering yang murah dan aman karena memiliki sifat higroskopis, membuat penggaraman menjadi salah satu metoda yang efektif untuk pengawetan makanan (Aquilina, 2009)

Selain digunakan dalam memasak, natrium klorida juga digunakan dalam banyak aplikasi, seperti pada pembuatan pulp dan kertas, untuk mengatur kadar warna pada tekstil dan kain, dan untuk menghasilkan sabun, deterjen dan produk lainnya. Natrium klorida juga biasa digunakan sebagai penyerap debu yang aman dan murah dikarenakan sifatnya yang higroskopis, juga pada pembuatan garam sebagai salah satu metode pengawetan yang efektif dikarenakan sifatnya yang menarik air keluar dari bakteri melalui tekanan osmotik sehingga mencegah baktei tersebut bereproduksi dan membuat makanan basi (Aquilina, 2009)

2.7 Uji Organoleptik

Uji organoleptik adalah cara mengukur, menilai atau menguji mutu komoditas dengan menggunakan kepekaan alat indra manusia, yaitu mata, hidung, mulut, dan ujung jari tangan. Uji organoleptik juga disebut pengukuran subjektif karena didasarkan pada respon subjektif manusia sebagai alat ukur (Soekarto, 1990). Dalam penilaian bahan pangan, faktor yang menentukan diterima atau tidak suatu produk adalah sifat indrawinya baik dari segi warna, bau, rasa, bentuk maupun penampilan.

2.8 Analisa Kimia

2.8.1 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).

2.8.2 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, 1992).

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.

2.8.3 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 (Yunia, 2007 dalam Noorman, 2016).

2.9 Analisa Fisik

2.9.1 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.

2.9.2 Viskositas

Viskositas merupakan ukuran kekentalan yang menyatakan besar kecilnya gesekan dalam fluida. Semakin besar viskositas fluida, semakin sulit suatu benda bergerak dalam fluida tersebut. Viskositas suatu bahan berhubungan dengan bobot molekul (BM) rata-rata dan distribusi molekul bahan, sedangkan bobot molekul gelatin berhubungan langsung dengan panjang rantai asam aminonya. Semakin tinggi konsentrasi larutan yang dipakai dalam rangkaian proses, semakin kuat penetrasi larutan tersebut dalam memecah ikatan sekunder protein sehingga terjadi hidrolisis yang menghasilkan rantai lebih pendek dan BM rata-rata yang lebih kecil sehingga menghasilkan viskositas yang lebih kecil (Tabarestani 2010).

2.9.3 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 (Ngili, 2013).

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) dalam Noorman (2016) 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 dalam Noorman, 2016). 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.

2.9.4 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).