

BAB II

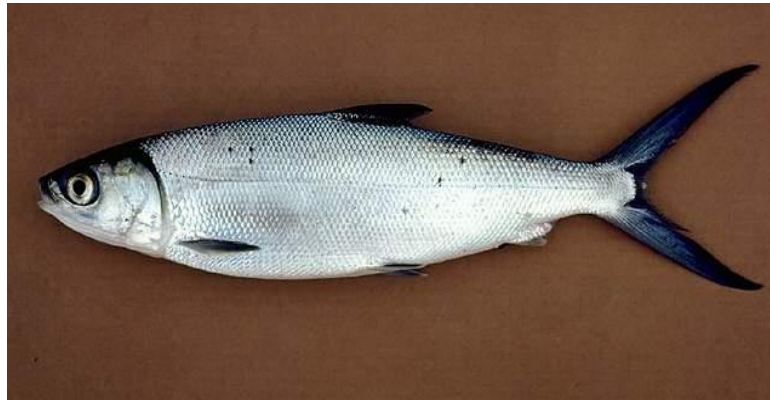
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Karakteristik Ikan Bandeng (*Chanos chanos*)

Ikan bandeng (*Chanos chanos*) sebagaimana disajikan pada gambar 2.1 merupakan ikan yang banyak dibudidayakan di Asia Tenggara, terutama di daerah pesisir khususnya Pantai Utara Pulau Jawa yaitu di daerah Pati dan Gresik (Muliawan et al. 2016).

Klasifikasi ikan bandeng Menurut Sudrajat (2008) Klasifikasi ikan bandeng (*Chanos chanos*) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Subfilum : Vertebrata
Kelas : Osteichthyes
Subkelas : Teleostei
Ordo : Malacopterygii
Famili : Chanidae
Genus : Chanos
Spesies : *Chanos chanos*



Sumber : Ikan Bandeng Pasar PT Ali Kertapati, 7 Mei 2020

Gambar 2.1 Ikan Bandeng

Pengolahan ikan bandeng selalu mengalami peningkatan, sehingga meningkatkan permintaan ikan bandeng dari tahun ke tahun. Produksi ikan bandeng di Indonesia pada tahun 2017 mencapai 537.845 ton (Soebjakto 2018). Tingkat konsumsi masyarakat terhadap ikan bandeng adalah 1,9 kg/kapitas (Muliawan et al. 2016). Ikan bandeng merupakan ikan yang digemari masyarakat karena harganya relatif murah dan mempunyai kandungan protein sekitar 20-24% yang terdiri dari asam amino glutamat 1,23% dan lisin 2,25% (Hafiludin 2015; Prasetyo et al. 2015), selain kandungan protein, ikan bandeng juga kaya akan kandungan asam lemak omega 3 yang mencapai 14,2% dari total lemak (Nusantari et al. 2016). Komposisi ikan bandeng segar dapat dilihat pada Tabel 2.1:

Tabel. 2.1 Komposisi Kandungan Ikan Bandeng

Kandungan gizi	Kadar (%)
Air	74,00
Protein	20,00
Lemak	4,80
Abu	1,19

Sumber : Saparinto *et al.* (2006)

2.2 Tulang Ikan Bandeng

Ikan bandeng (*Chanos chanos*) sebagaimana disajikan pada gambar 2.2 termasuk jenis ikan yang dapat hidup di daerah air tawar, air payau, maupun air laut dan dikenal sebagai jenis ikan yang mempunyai banyak tulang. Namun, pengolahan ikan bandeng sering kali hanya memanfaatkan daging tanpa memanfaatkan tulangnya.

Tulang merupakan komponen keras yang tidak mudah diuraikan oleh dekomposer sehingga menjadi limbah. Pada konsentrasi dan kuantitas tertentu, limbah dapat berdampak negatif terhadap lingkungan terutama bagi kesehatan manusia sehingga perlu dilakukan penanganan limbah. (Marzuki et al., 2011)



Sumber : Tulang Ikan Bandeng Nyai, 9 Juni 2020

Gambar 2.2 Tulang Ikan Bandeng

2.3 Kolagen

Kolagen ($C_{102}H_{149}N_{31}O_{38}$) merupakan komponen struktural utama dari jaringan ikat putih (*white connective tissue*) yang meliputi hampir 30 persen dari total protein pada jaringan dan organ tubuh vertebrata dan invertebrata. Pada ikan, kolagen terdapat di kulit, tendon, tulang rawan dan jaringan ikat. (Sumbono, 2011)

Kandungan kolagen pada ikan sangat bervariasi dan tergantung pada spesiesnya. (Hema et al. 2013). Kandungan kolagen pada tulang ikan bandeng memiliki kadar yang lebih tinggi dibandingkan dengan ikan nila dan tenggiri, yaitu sekitar 32,99 %. (Darmanto et al., 2013). Komposisi kolagen pada tulang ikan dapat dilihat pada tabel 2.2 :

Tabel 2.2 Komposisi Kolagen Tulang Ikan

Komposisi	Nila	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 : Darmanto et al., 2013

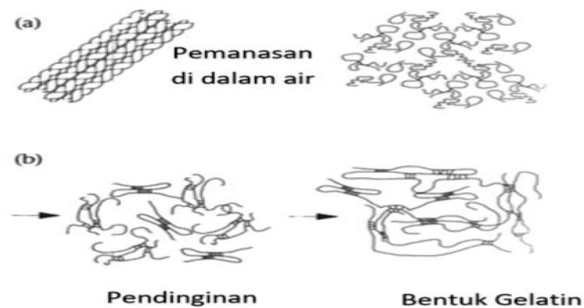
Menurut Ward and Courts (1997), jumlah kalsium dan fosfor tinggi harus dihindari untuk mendapatkan kolagen yang berkualitas baik.

Komposisi asam amino dari kolagen cenderung didominasi oleh glisin, prolin, hidroksiprolin dan alanin. Selain itu, komposisi asam amino dan karakteristik fisik dan kimia kolagen sangat bervariasi dan bergantung pada jaringan (Aberoumand, 2011). Unit struktural pembentuk kolagen adalah tropokolagen yang mempunyai struktur batang dengan BM 300.000 dengan didalamnya terdapat tiga rantai polipeptida yang sama panjang, bersama-sama membentuk struktur *triple heliks* 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. (Junianto, 2006).

Penggunaan larutan asam pada hidrolisis kolagen lebih menguntungkan dibandingkan menggunakan larutan basah. Hal ini dikarenakan larutan asam membutuhkan waktu yang lebih singkat dibandingkan dengan perendaman dalam larutan basa, karena asam mampu mengubah serat kolagen *triple heliks* menjadi rantai tunggal sedangkan larutan perendaman basa hanya mampu menghasilkan rantai ganda. Sehingga pada waktu yang sama kolagen yang dihidrolisis oleh larutan asam lebih banyak daripada larutan basa. Adapun tahapan perendaman harus dilakukan dengan waktu dan konsentrasi yang tepat karena hal ini dapat berpengaruh terhadap panjang rantai polipeptida dan sifat fungsional gelatin. (Junianto, 2006).

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. Hal ini disebabkan oleh kadar hidroksiprolin yang rendah (4-10%). Kandungan tropokolagen pada ikan akan terdegradasi dengan pemanasan atau perlakuan dengan zat seperti asam, basa, urea, dan *potassium permanganate*. Selain itu, serabut kolagen dapat mengalami penyusutan jika dipanaskan di atas suhu penyusutannya (T_s). Suhu penyusutan (T_s) kolagen ikan adalah 45°C . Jika kolagen dipanaskan pada $T > T_s$ (misalnya $65 - 70^{\circ}\text{C}$), serabut *triple heliks* yang dipecah

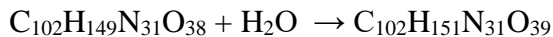
menjadi lebih panjang (Hema et al. 2013). Penyusutan serabut triple heliks yang disebabkan oleh pengaruh temperatur dapat terjadi dalam 2 tahap yang ditunjukkan pada gambar 2.3.



Sumber: Hema et al. 2013

Gambar 2.3. Perubahan Kolagen Menjadi Gelatin

Pada gambar 2.3 dapat dilihat bahwa pemecahan struktur tersebut menjadi lilitan acak yang larut dalam air inilah yang disebut gelatin. Adapun reaksi pemecahan kolagen menjadi gelatin dapat ditulis: (Miwada dan Simpen, 2018)



Kolagen

Gelatin

2.4 Gelatin

Gelatin berasal dari bahasa latin (*gelatos*) yang berarti pembekuan berupa protein yang diperoleh dari hidrolisis parsial kolagen dari kulit, jaringan ikat dan tulang hewan. Gelatin larut dalam air panas dan jika didinginkan akan membentuk gel. Sifat yang dimiliki gelatin bergantung pada jenis asam amino penyusunnya. Gelatin merupakan polipeptida dengan bobot molekul antara 20.000 g/mol-250.000 g/mol (Suryani dkk., 2009). 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. (Muyongga dkk.2004).

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

Secara lengkap komposisi asam amino gelatin disajikan pada tabel 2.3 :

Tabel 2.3 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	5,1	Phenilalanin	1,9
Leusin			

Sumber : *Eastone dan Leach (1977)*

2.4.1 Sifat Fisika-Kimia Gelatin

Sifat fisik gelatin berbentuk padat, kering, tidak berasa, tidak berbau, transparan dan berwarna kuning. Umumnya gelatin mempunyai BM 80.000 gr/mol. Gelatin dapat mengembang dalam air dingin, dapat membentuk film, mempengaruhi viskositas suatu bahan, dan dapat melindungi sistem koloid. Massa jenis gelatin adalah 1,35 gr/cm³. (Fatimah, 2008).

Sifat fungsional gelatin sangat penting dalam aplikasi suatu produk. Adapun sifat fungsional gelatin yaitu organoleptik meliputi warna, bau, viskositas, kekuatan gel, dan pH. Salah satu sifat fisik yang penting pada gelatin adalah kekuatan untuk membentuk gel yang disebut sebagai kekuatan gel . (Fatimah, 2008).

Pembentukan gel merupakan hasil pembentukan ikatan hydrogen antar molekul gelatin sehingga dihasilkan gel semi padat yang terikat dalam komponen air. Kekuatan

gel dipengaruhi oleh pH, adanya komponen elektrolit dan non elektrolit serta bahan tambahan lainnya. Pengaruh asam, alkali, panas dan enzim proteolitik sebagai zat penghidrolisis akan merusak struktur gelatin sehingga gel tidak terbentuk. Viskositas gelatin sebagai larutan merupakan salah satu sifat yang penting juga. Viskositas dipengaruhi oleh interaksi hidrodinamik antar molekul gelatin, suhu, pH dan konsentrasi. Sifat fisik lainnya adalah titik pembentukan gel, kekeruhan, warna, kapasitas emulsi, dan stabilitas emulsi (Glicksman, 1969). Berdasarkan Dewan Standarisasi Nasional No.06-3735-1995 (1995) dan *Gelatin Manufacturers Institute of America* (GMIA) (2001), karakteristik gelatin tertera pada Tabel 2.4.

Tabel 2.4 Standar Mutu Gelatin Berdasarkan SNI

Karakteristik	SNI No. 06-3735-1995 *
Warna	Tidak berwarna sampai kekuningan
Bau, rasa	Normal
Kadar air	Maksimum 16%
Kadar abu	Maksimum 3.25%
Kekuatan gel	50-300 bloom **
Viskositas	15-70 mps atau 1.5-7 cP **
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 : SNI No. 06-3735 -1995 dan GMIA 2001

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 juga mempengaruhi sifat gelatin tersebut. (Zhou dan Regenstein, 2006)

Sifat kimia dari gelatin dipengaruhi oleh komposisi asam amino, yang mirip dengan kolagen sehingga dipengaruhi oleh spesies dan jenis jaringan hewan sebagai bahan dasarnya. Sebelum diproses menjadi gelatin, kulit atau tulang harus diubah bentuk menjadi bentuk *ossein*. (Zhou dan Regenstein, 2006)

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 untuk menjadi gelatin . (Zhou dan Regenstein, 2006)

2.4.2 Kegunaan Gelatin

Gelatin secara luas banyak digunakan oleh industri pangan, antara lain berupa pembentuk busa (*whipping agent*), pengikat (*binder agent*), penstabil (*stabilizer*), pembentuk gel (*gelling agent*), perekat (*adhesive*), pengikat viskositas (*viscosity agent*), pengemulsi (*emulsifier*), dan pengental (*thickener*) (Poppe,1992). Sedangkan pada industri non-pangan secara luas banyak diaplikasikan pada bidang farmasi seperti sebagai bahan pembuat kapsul. Pada bidang fotografi, gelatin berbahan dasar ikan dapat digunakan untuk memperpanjang daya simpan dalam menyimpan foto, yakni sebagai *fotoresist* yang dapat menghindari (*coating*) dari adanya cahaya yang sensitif. Selanjutnya dikatakan bahwa gelatin ikan lebih baik digunakan pada bidang fotografi karena mempunyai kekuatan gel yang tinggi dan sensitive terhadap cahaya pada aplikasi foto yang di-*coating* secara aktif, oleh karena itu dengan gelatin dari ikan mempunyai keuntungan langsung dapat digunakan tanpa perlakuan yang rumit pada aplikasinya, serta dapat digunakan pada *container* yang sama untuk beberapa hari pemakaian. Adapun kegunaan gelatin lebih rinci menurut Fatimah dkk (2008) berdasarkan aplikasi produknya yakni sebagai berikut :

- Produk pangan secara umum :Sebagai zat pengental, penggumpal, membuat produk menjadi elastis, pengemulsi, 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 tesktur, konsistensi, dan stabilitas produk serta menghindari sineresis pada yoghurt, es krim, susu asam, keju cottage, dll.
- Minuman :Sebagai penjernih sari buah, bir, dan wine
- Farmasi :Pembungkus kapsul dan tablet obat
- Kosmetika (Khususnya produk-produk emulsi) :Digunakan untuk menstabilkan emulsi pada shampoo, penyegar dan pelindung kulit, sabun, *lipstick*, cat kuku, busa cukur, krim pelindung sinar matahari, dll.
- Film :Membuat film menjadi lebih sensitive
- *Bakery* :Untuk menjaga kelembaban produk, sebagai perekat bahan pengisi pada roti.
- Buah-buahan :Sebagai pelapis, 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*.

2.5 Laktoserum (*Whey Yoghurt*)

Yoghurt adalah produk fermentasi yang dihasilkan dari proses yang melibatkan aktivitas mikroba aerob maupun anaerob. *Yoghurt* adalah susu yang diinokulasikan dengan *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* atau *L. casei*. Fermentasi akan mempengaruhi keragaman cita rasa susu akibat perubahan komposisi kimia oleh mikroorganisme. Contohnya, *L. Casei* (Mipa et al., 2017)

Yoghurt telah dikenal dan disukai masyarakat karena memiliki dampak positif terhadap kesehatan antara lain dapat memperbaiki proses pencernaan protein dan lemak, merangsang sekresi cairan yang diperlukan untuk proses pencernaan seperti air liur serta mengurangi timbulnya reaksi alergi terhadap laktosa. *Yoghurt* mempunyai kekentalan dan rasa khas sehingga dapat dijadikan sebagai produk susu alternatif bagi konsumen. (Larasati et al., 2016). Kadar protein *yoghurt* lebih tinggi dibandingkan dengan susu kedelai dan susu kambing dengan nilai kadar protein sebesar 579,5 mg/ml sedangkan kadar protein susu kedelai 289,99 mg/ml dan kadar protein susu kambing sebesar 133,1 mg/ml (Mipa et al., 2017).

Whey merupakan hasil produk samping dari keju. Satu kg keju dihasilkan dari penggumpalan susu sebanyak 10 liter dan menghasilkan *whey* sebanyak 8-9 liter. Pada umumnya, *whey* dimanfaatkan sebagai tambahan dalam pembuatan beberapa produk pangan. Di Indonesia, *whey* belum banyak dimanfaatkan oleh industri pengolahan keju. Hal ini dikarenakan, industri tersebut lebih fokus pada produk utamanya yaitu keju. Padahal komposisi *whey* masih mengandung 50% dari nutrisi susu. (Rahman et al., 2014) sedangkan dalam 1 liter *yoghurt* menghasilkan sekitar 480 ml *whey*.

Komponen terbesar *whey* adalah laktosa (4,5-5%). Laktosa dapat dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi bagi bakteri asam laktat untuk menghasilkan berbagai senyawa metabolit seperti asam laktat dan anti mikroba (Rahman et al., 2014)

Whey dapat dibedakan menjadi 2 jenis yaitu *whey* yang berasal dari koagulasi susu pada pH 6.60 (misalnya pada *cheddar*) dan *whey* asam yang diperoleh dari produksi keju segar (misalnya *cream* keju). Dipasaran, *whey* dipasarkan dalam bentuk cair dan bubuk dengan komposisi yang berbeda. (Santoso & Estiasih, 2014).

Whey protein adalah campuran dari protein dengan sifat fungsioanal yang banyak dan juga beragam. Oleh karena itulah *whey* protein memiliki banyak potensi didalamnya. Protein utama dalam *whey* adalah β -actoglobulin dan α -lactalbumin. β -actoglobulin dan α -lactalbumin mewakili sekitar 70% dari total *whey* dan bertanggung jawab untuk sifat hidrasi, pembentuk gel, pengemulsi dan *foaming*. *Whey* protein juga digunakan sebagai penambah fungsi gizi dan terapi dalam diet rendah kalori. Beberapa penelitian praklinis menyebutkan bahwa *whey* protein dapat memiliki sifat anti-inflamasi atau anti kanker. Efek dari *whey* protein pada kesehatan manusia sangat menarik dan saat ini sedang diteliti sebagai cara untuk mengurangi resiko penyakit, serta pengobatan untuk beberapa penyakit. (Santoso & Estiasih, 2014)

Konsentrasi protein *whey* paling tinggi terdapat pada susu domba (23,36 mg/mL) dan paling sedikit pada susu sapi (11,79 mg/mL) dan konsentrasi sedang pada susu kambing (17,7mg/mL). (Santoso & Estiasih, 2014)

Whey dapat didenaturasi pada suhu 72 °C, denaturasi tersebut memicu interaksi hidrofobik dengan protein lain, dan pembentukan gel protein. Dalam beberapa kasus denaturasi ini dapat menyebabkan alergi pada beberapa orang. *Whey* protein merupakan protein butiran (*globular*). Beta-lactoglobulin, Alpha-lactalbumin, Immunoglobulin (Ig), dan Bovine Serum Albumin (BSA) adalah contoh dari *whey* protein. Alpha-lactalbumin merupakan protein penting dalam sintesis laktosa dan keberadaannya juga merupakan pokok dalam sintesis susu. (Santoso & Estiasih, 2014)

Sifat struktur protein *whey* tergantung pada beberapa faktor lingkungan (pH, adanya garam dan protein lain) dan juga teknologi pengolahan yang terapkan pada susu tersebut. Dalam *whey* protein terkandung pula beberapa enzim, hormon, antibodi, faktor pertumbuhan (*growth factor*), dan pembawa zat gizi (*nutrient transporter*). Sebagian besar *whey* protein kurang tercerna dalam usus. Ketika *whey* protein tidak tercerna secara lengkap dalam usus, maka beberapa protein utuh dapat menstimulasi reaksi kekebalan sistemik. Peristiwa ini dikenal dengan alergi protein susu (*milk protein allergy*). (Santoso & Estiasih, 2014)

Secara alamiah, *whey* protein memiliki sifat kelarutan yang tinggi, mampu menciptakan viskositas melalui pengikatan air, pembentuk gel, sebagai *emulsifier*, pengikat lemak, membantu pengocokan, pembusaan, serta meningkatkan warna, rasa, dan tekstur. Salah satu sifat fungsional yang tidak diharapkan pada *whey* protein adalah kemampuan dalam meningkatkan tekstur bahan pangan. Oleh karena itu, untuk meminimalkan sifat tersebut perlu dilakukan proses denaturasi. (Santoso & Estiasih, 2014)

Proses denaturasi protein disebabkan adanya pemanasan yang diikuti dengan pendekatan titik isoelektrik *whey* protein berkisar pada pH 4-6, di mana interaksi sesama komponen *whey* protein meningkat karena adanya gaya elektrostatik sehingga ikatan hidrofilik protein semakin berkurang. Proses pemanasan menyebabkan perubahan konformasi dari *whey* protein dan menyebabkan penurunan sifat-sifat alamiahnya. Adanya proses denaturasi menghasilkan *whey* protein *concentrate* yang mampu mengontrol tekstur pada produk pangan berprotein tinggi sehingga lebih mudah untuk diterima konsumen. (Santoso & Estiasih, 2014)

Tabel 2.5 Komposisi *Whey*

Komposisi	Whey (%)
Air	93,5
Protein	1
Lemak	0,4
Laktosa	5

(Sumber : de Wit 2001)

2.6 Ekstraksi Gelatin

Ekstraksi berasal dari bahasa latin “*extractio* atau *extrahere*” yang berarti menarik keluar. Komponen yang ditarik adalah senyawa-senyawa kimia dari tumbuhan dan atau hewan (Mipa et al., 2017)

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan satu atau lebih komponen dari suatu campuran homogen menggunakan pelarut cair (solven) sebagai *separating agent*. Pada proses ekstraksi gelatin, bahan baku yang digunakan sebagai *solute* dan solven masing-masing adalah padat dan cair. Berdasarkan bahan baku tersebut menunjukkan proses ekstraksi dengan prinsip *leaching* dimana terjadi pemisahan solute yang berada

dalam solid pembawanya menggunakan pelarut cair yang disesuaikan dengan sifat padatan tersebut. Berdasarkan metodenya, ekstraksi dibagi menjadi beberapa macam menurut Dirjen POM (1986) :

2.6.1 Ekstraksi secara Sokletasi

Ekstraksi dengan cara ini, pada dasarnya merupakan 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.

2.6.2 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 per menit, sehingga bahan tetap terendam. Filtrat dipindahkan ke dalam bejana, ditutup dan dibiarkan selama 2 hari pada tempat terlindung dari cahaya.

2.6.3 Metode Maserasi

Maserasi dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian bahan 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. Penyaringan diakhiri setelah pelarut tidak berwarna lagi, lalu dipindahkan ke dalam bejana tertutup, dibiarkan pada tempat yang tidak bercahaya, setelah dua hari lalu endapan dipisahkan.

2.6.4 Metode Refluks

Ekstraksi dengan metode ini merupakan ekstraksi yang 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.

2.6.5 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.

2.7 Pelarut Gelatin- Laktoserum (*Whey Yoghurt*)

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 yaitu asam asetat, trifluoroetanol, dan formamida. Gelatin tidak larut dalam pelarut organik yang kurang polar seperti benzena, aseton, alkohol primer dan dimetilformamida (GMIA, 2012). Sedangkan pada penelitian ini menggunakan asam sitrat yang merupakan pelarut organik yang bersifat polar (Seminar et al, 2015)

2.7.1 Asam Sitrat

Asam sitrat ialah asam organik lemah yang ditemukan pada buah dan daun tumbuhan *genus Citrus* atau jeruk jeruk . Senyawa ini menjadi bahan pengawet yang baik serta alami, selain digunakan sebagai penambah rasa asam pada makanan. Dalam pengetahuan biokimia, asam sitrat dikenal sebagai senyawa antara siklus asam sitrat yang terjadi dalam *mitokondria*. Zat ini juga bisa digunakan menjadi zat pembersih yang ramah lingkungan dan *antioksidan* (*Rumus Asam Sitrat Serta Pengertian Dan Kegunaan Nya*, n.d.)

Secara ilmu kimia, asam sitrat bersifat layaknya asam *karboksilat* lainnya. bila dipanaskan di atas 175 °C, asam sitrat akan terurai dengan melepaskan *karbon dioksida* dan air. Pada penelitian ini, asam sitrat digunakan pada saat perendaman tulang ikan bandeng. Adapun konsentrasi asam sitrat ($C_6H_8O_7$) yang digunakan yaitu 9 % dengan waktu perendaman selama 48 jam. Hal ini dikarenakan pada konsentrasi dan waktu perendaman tersebut, rendemen gelatin memiliki rendemen tertinggi sebesar 9,74 % (Fatimah & Jannah, 2012)

Setelah proses *demineralisasi*, tulang ikan direndam dalam asam sitrat 9% selama 48 jam. Larutan asam mampu mengubah serat kolagen triple heliks menjadi rantai tunggal dalam waktu singkat, sehingga pada waktu yang sama jumlah kolagen yang terhidrolisis lebih banyak (Marzuki et al., 2011)

2.7.2 Natrium Klorida (NaCl)

Natrium klorida merupakan senyawa kimia ionik yang mewakili perbandingan 1:1 ion natrium dan klorida. Natrium klorida memiliki sifat fisik yakni tidak berbau, berwujud padatan, tidak berbau, serta dapat larut dalam gliserol, etilen glikol, dan asam formiat, namun tidak larut dalam HCl. Pada umumnya natrium klorida digunakan sebagai sebagai bahan pengering yang murah dan aman karena memiliki sifat higroskopis, membuat penggaraman menjadi salah satu metoda yang efektif untuk pengawetan makanan. 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 (Aquilina, 2004).

Natrium klorida juga digunakan untuk penyerap debu yang aman dan murah dikarenakan sifatnya yang higroskopis, juga pada pembuatan garam sebagai salah satu metode pengawetan yang efektif (Aquilina, 2004). Selain itu juga Natrium klorida dalam pembuatan gelatin memiliki fungsi sebagai bahan tambahan dalam proses pencampuran gelatin dan *whey* sehingga menjadi produk berupa gel gelatin.

2.8 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. Dalam penilaian bahan pangan, faktor yang menentukan diterima atau tidak suatu produk adalah sifat indrawinya baik dari segi warna, bau, rasa, bentuk maupun penampilan.

2.9 Analisa Kimia

2.9.1 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 enzimatis sehingga menimbulkan perubahan sifat-sifat organoleptik dan nilai mutunya (Ulfah, 2011).

2.9.2 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.

2.9.3 Pangkat Hidrogen (pH)

pH adalah derajat keasaman yang digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman atau kebasaan yang dimiliki oleh suatu bahan. pH didefinisikan sebagai logaritma aktivitas ion hidrogen (H^+) yang terlarut. Nilai pH berkisar dari 0- 14. Suatu larutan netral apabila memiliki nilai pH 7. Nilai pH lebih dari 7 menunjukkan derajat kebasaan dan nilai dibawah 7 menunjukkan derajat keasaman. (Ulfah, 2011).

2.10 Analisa Fisik

2.10.1 Kekuatan Gel

Kekuatan gel dapat dilihat dari besarnya kekuatan yang diperlukan oleh *probe* untuk menekan gel sedalam 4 mm 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). Menurut 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.

2.10.2 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).

2.10.3 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. 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. Hasil penelitian Tabarestani (2010) diketahui bahwa ekstraksi enzimatik 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 (Tabarestani, 2010).

2.10.4 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 (Fatimah & Jannah, 2012).

