

**KAJIAN PENGARUH VARIASI KONSENTRASI ASAM SITRAT TERHADAP
KEKUATAN GEL PRODUK GELATIN KULIT AYAM BROILER
DIKAITKAN DENGAN POLA PROTEINNYA**

Tutut Hardikawati*, Ni Made Puspawati, dan Ketut Ratnayani

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Bali

**E-mail : hardika_tutut@yahoo.com*

ABSTRAK

Gelatin adalah biopolimer yang dihasilkan dari hidrolisis parsial jaringan kolagen. Proses ekstraksi gelatin terdiri dari proses *pretreatment* dan hidrolisis termal. Proses hidrolisis dilakukan dengan menggunakan kombinasi basa NaOH dan asam sitrat. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh variasi konsentrasi asam sitrat pada proses hidrolisis terhadap kekuatan gel dan pola pita protein produk gelatin yang diekstrak dari kulit ayam broiler. Analisis kekuatan gel diukur menggunakan CT3 *Texture Analyzer*, sedangkan untuk mengetahui pola pita protein pada produk gelatin dilakukan dengan menggunakan metode SDS-PAGE. Variasi konsentrasi asam sitrat 0,7%(GA); 1,5%(GB); 3,0 % (GC) yang digunakan pada tahap hidrolisis berpengaruh terhadap kekuatan gel dan pola protein produk gelatin. Hasil pengukuran kekuatan gel produk gelatin kulit ayam broiler yaitu GA 265,81 g bloom, GB 196,05 g bloom dan GC 35,32 g bloom, sedangkan untuk elektroforegram produk gelatin menunjukkan bahwa sampel GA dan GB memiliki pola pita protein dengan ukuran yang sama, tetapi ketebalan pita masing – masing berbeda. GA menghasilkan pita protein dengan berat molekul tinggi yang lebih tebal daripada GB, sedangkan GB menghasilkan pita protein yang tebal pada berat molekul yang rendah (posisi lebih di bawah). Sampel GC tidak menunjukkan adanya pita protein yang terbentuk. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa produk gelatin terbaik diperoleh pada perlakuan konsentrasi asam sitrat 0,7 % (GA) berdasarkan kekuatan gel tertinggi. Produk gelatin GA memiliki karakteristik yaitu rendemen 15,73%; kadar air 7,30%; kadar abu 0,51%; kadar protein 97,95%; kadar lemak 0,62%; kekuatan gel 265, 81 g bloom; dan pola pita protein dengan ukuran lebih panjang daripada yang lain.

Kata kunci : kulit ayam broiler, gelatin, asam sitrat, pola protein, dan kekuatan gel

ABSTRACT

Gelatin is a biopolymer that can be generated from partially hydrolysis of collagen tissue. Extraction of gelatin consists of pretreatment and thermal extraction steps. Pretreatment process used sodium hydroxide to remove non collagen protein in matrix sample, sulfuric acid to demineralize, and citric acid to hydrolyse. The aim of this research was to study the effect of variation in concentrations of citric acid used in hydrolysis process on the gel strength and protein profile of gelatin products extracted from broiler chicken skin. The variation of the concentration citric acid used was 0.7 % (GA); 1.5% (GB); and 3.0% b/v (GC) respectively. The gel strength was measured using CT3 Texture Analyzer and protein profile of gelatin product was analyzed by SDS-PAGE method. The result showed that variation in concentration of citric acid used in the pretreatment process affected the gel strength and protein profile of gelatin product. Increasing the concentration of citric acid used in pretreatment process decreased the gel strength and molecular weight of gelatin product. Gel strength of each gelatin product was 265.81 g bloom for GA ; 196.05 g bloom for GB (1.5%), and 35.32 g bloom for GC (3.0 %) respectively. The electropherogram of both GA (0.7%) and GB (1.5%) revealed similar pattern of protein bands but the thickness of each bands was different. On the other hands, GC (3.0%) did not show any protein bands on the eletropherogram. The best gelatin product obtained in this experiment was found by using 0.7 % b/v citric acid (GA) in the pretreatment process. The gelatin product (GA) had characteristics as follows: yield 15.73%; moisture 7.30%; ash 0.51%; protein content 97.95%; fat content 0.62%; gel strength 265. 81 g bloom and thicker protein bands than others.

Keywords : broiler chicken skin, gelatin, citric acid, protein profile, and gel strength

PENDAHULUAN

Gelatin adalah biopolimer yang dihasilkan dari hidrolisis parsial jaringan kolagen yang ada pada kulit, tulang rawan, dan jaringan ikat hewan. Di Indonesia, untuk memenuhi kebutuhan industri gelatin diimpor dari beberapa negara setiap tahunnya (Peranginangin, 2007). Penggunaan gelatin impor ini menimbulkan keraguan di kalangan masyarakat tentang kehalalan bahan baku pembuatan gelatin tersebut. Hal tersebut disebabkan oleh sebagian besar bahan baku gelatin impor diduga berasal dari kulit atau tulang babi (Apriyantono, 2003). Kulit ayam mengandung kolagen 38,9% (Cliche, 2003), sehingga sangat potensial untuk dikembangkan menjadi bahan baku alternatif gelatin halal.

Norizah (2012) telah berhasil mengekstrak gelatin dari kulit ayam dengan metode perendaman campuran basa NaOH dan asam (asam sulfat dan asam sitrat) masing-masing selama 2 jam, dan dilanjutkan dengan ekstraksi *waterbath* yang dilakukan pada suhu 45 °C selama 24 jam, menghasilkan gelatin dengan rendemen 16% dan kekuatan gelatin yang tinggi yaitu 355 g bloom. Namun pada penelitian lainnya oleh Puspawati (2014), melaporkan ekstraksi gelatin dari kulit ayam broiler melalui perendaman campuran basa NaOH 0,15 % dan asam (H₂SO₄ 0,15% dan asam sitrat 0,7%) pada optimasi suhu 40, 45, dan 50 °C dan variasi waktu ekstraksi ekstraksi 12, 24, dan 48 jam, dihasilkan kekuatan gel tertinggi pada suhu 40 °C dengan waktu ekstraksi 12 jam yaitu 145,95 g bloom.

Pada penelitian terdahulu, belum dilakukan penelitian yang mengkaji tentang pengaruh variasi konsentrasi asam sitrat terhadap sifat mekanik (kekuatan gel) gelatin dikaitkan dengan pola proteinnya. Konsentrasi asam yang digunakan untuk ekstraksi gelatin merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi nilai kekuatan gel. Asam sitrat merupakan asam organik lemah yang dapat melepas proton dalam larutan. Proton dari asam sitrat akan berinteraksi dengan gugus karboksil dari kolagen dan dapat mengacaukan ikatan intra dan antar molekul tropokolagen sehingga mudah dikonversi menjadi gelatin (Puspawati, 2014). Norizah (2012) melaporkan bahwa konsentrasi pelarut asam sitrat

(0,7 %) yang digunakan pada penelitiannya menghasilkan kekuatan gel yang tinggi 355 g bloom. Sedangkan Fatimah (2008) melaporkan asam sitrat 9 % yang digunakan pada ekstraksi gelatin dari tulang ikan bandeng menghasilkan kekuatan gel 46,68 mm/g.dt.

Parameter lain yang juga berpengaruh pada nilai kekuatan gel produk gelatin yaitu ukuran panjang rantai protein. Ukuran panjang rantai protein gelatin berkaitan dengan berat molekul produk gelatin tersebut. Semakin panjang rantai proteinnya, maka semakin besar pula berat molekulnya dan semakin tinggi pula nilai kekuatan gelnya (Junianto, 2006). Hal tersebut disebabkan oleh kolagen yang telah terhidrolisis berkaitan dengan pemutusan ikatan peptida antar rantai protein dan putusannya ikatan hidrogen pada rantai tripel helik menjadi rantai tunggal. Pemutusan ikatan hidrogen ini dapat menghasilkan pola protein (ukuran panjang rantai protein) yang bervariasi. Menurut Sukkwai, *et al* (2011), denaturasi kolagen menjadi gelatin menghasilkan rantai protein yang lebih pendek (pola protein pendek) sehingga berat molekul menjadi rendah dan mengakibatkan penurunan kualitas gelatin yaitu kekuatan gelnya. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengkajian tentang pengaruh variasi konsentrasi asam sitrat terhadap pola pita protein dan kekuatan gel produk gelatin dari kulit ayam. Untuk mengetahui pola pita protein pada produk gelatin dilakukan dengan menggunakan metode SDS-PAGE, sedangkan untuk analisis kekuatan gel akan diukur menggunakan CT3 *Texture Analyzer*.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit ayam broiler yang diperoleh dari RPA UD. Eka Prasetya, asam sitrat, NaOH, asam sulfat (H₂SO₄), *n*-heksana, dan akuademineral.

Peralatan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *waterbath*, *freeze drier*, satu set alat soxhlet, termometer, kertas pH indikator, kain

kasa, kertas saring *Whatman* No.4, penyaring, batang pengaduk, desikator, pisau, gelas ukur 100 mL, gelas beker 500 mL, gelas beker 50 mL, oven, neraca analitik, furnace, pengaduk magnet (stirrer), CT3 *Texture Analyzer*, *hot plate*, FTIR Shimadzu Prestige 21, erlenmeyer 500 mL, pH meter, piknometer, kjeldahl dan Viskometer Ostwald.

Cara Kerja

Proses isolasi gelatin dari kulit ayam broiler pada penelitian ini mengikuti prosedur Norizah (2012), dengan modifikasi yaitu dilakukan variasi pada konsentrasi asam sitrat untuk proses ekstraksi, dan karakterisasi produk gelatin pada parameter kekuatan gel dikaitkan dengan pola pita proteinnya.

Preparasi Sampel Kulit ayam Broiler

Sampel kulit ayam broiler sebanyak 6 kg dipotong hingga berukuran kecil – kecil (± 2 cm), lalu dicuci dengan air mengalir sampai bersih. Setelah kulit ayam broiler bersih lalu dikeringkan menggunakan *freeze drier*. Kemudian sampel kulit ayam yang telah kering beku diblender sehingga diperoleh serbuk kulit ayam. Selanjutnya serbuk kulit ayam hasil preparasi dianalisis proksimatnya yang meliputi kadar air, lemak, protein dan abu.

Ekstraksi Lemak

Serbuk kulit ayam ± 120 gram dibungkus dalam kertas saring dan dimasukkan ke dalam tabung ekstraktor. Dimasukkan pelarut *n*-heksana 300 mL ke dalam labu alas bulat (labu sebelumnya dikeringkan dalam oven, lalu dimasukkan ke dalam desikator), kemudian dilakukan soxhletasi selama 6 jam. Selanjutnya residu serbuk kulit ayam dikeringkan di oven pada suhu 35 °C selama 4 jam untuk menguapkan sisa – sisa pelarut.

Tahap Ekstraksi Gelatin

Proses ekstraksi gelatin meliputi tahap hidrolisis secara kimia (perendaman basa dan asam) dan hidrolisis termal dengan *waterbath*. Pada tahap perendaman dengan basa digunakan basa NaOH 0,15% (b/v). Sebanyak 10 g serbuk kulit ayam yang telah dihilangkan lemaknya, dimasukkan ke dalam beker gelas 500 mL, kemudian ditambahkan 200 mL NaOH 0,15% (b/v) dan diaduk dengan *magnetic stirrer* selama 3x40 menit, dimana setiap 40 menit diganti dengan larutan NaOH yang baru (perlakuan ini dilakukan sebanyak 3x perendaman). Selanjutnya, sampel

dicuci dengan air sambil disaring hingga pH hasil pencucian mendekati netral. Kemudian sampel hasil perendaman dengan NaOH direndam dengan 200 mL H₂SO₄ 0,15% (v/v) selama 3x40 menit, dimana setiap 40 menit diganti dengan larutan H₂SO₄ yang baru (perlakuan ini dilakukan sebanyak 3x perendaman). Kemudian sampel dicuci dengan air sambil disaring hingga pH mendekati netral. Sampel hasil demineralisasi (perendaman H₂SO₄) direndam kembali dengan 200 mL asam sitrat dengan variasi pada konsentrasi 0,7 ; 1,5 ; 3,0 % (b/v) selama 3x40 menit, dimana setiap 40 menit diganti dengan larutan asam sitrat yang baru (perlakuan ini dilakukan sebanyak 3x perendaman). Kulit ayam hasil perendaman asam sitrat kemudian dicuci dengan akuademineral sampai menunjukkan pH hasil pencucian 4 - 5. Proses hidrolisis termal dilakukan pada sistem *waterbath* dengan perbandingan sampel kulit ayam dan akuademineral (1:1), pada suhu 45 °C selama 24 jam. Hasil hidrolisis kemudian disaring menggunakan kertas saring *Whatman* No.4, lalu diukur volume filtratnya dan ditempatkan pada tempat sampel. Kemudian filtrat didinginkan di lemari pendingin pada suhu 4 - 10 °C selama 24 jam sampai mengental dan berbentuk gel. Selanjutnya gel yang terbentuk diletakkan dalam teflon dan dikeringkan dalam oven pada suhu 50 °C sampai gelatin menjadi kering, lalu didinginkan dalam desikator dan beratnya ditimbang untuk menentukan rendemennya.

Analisis Berat Molekul Gelatin Dengan Metode SDS-PAGE

Sebanyak 50 miligram sampel dilarutkan dalam 1,0 mL larutan buffer (250 mM Tris-Cl pH 7,5; 5 mM EDTA; 2% SDS), kemudian dipanaskan pada suhu 85°C selama 1 jam. Setelah itu larutan dicampur dengan buffer sampel 0,5 M tris-HCl, pH 6,8 (yang mengandung 4% (b/v) SDS, 20% (v/v) gliserol, dan 10% (v/v) ME) dengan perbandingan 1: 1 (v/v). Kemudian campuran dipanaskan dengan suhu 100 °C selama 3 menit. Sampel sebanyak 5 μ L dimasukkan ke dalam gel poliakrilamida yang dibuat dengan 7,5% (v/v) *running gel* dan 4% (v/v) *stacking gel*. Elektroforesis dilakukan pada arus konstan 15 mA, kemudian gel diwarnai dengan buffer *staining* 0,1% (b/v) *Coomassie biru R-250* dalam 15% (v/v) metanol dan 5% (v/v) asam asetat dan *destaining*

dengan 30% (v/v) metanol dan 10% (v/v) asam asetat.

Pengukuran Kekuatan Gel

Larutan gelatin dengan konsentrasi 6,67% (b/v) disiapkan dengan akuademineral. Larutan diambil sebanyak 15 mL kemudian ditempatkan pada wadah dengan volume 20 mL. Sampel diinkubasi pada suhu 10⁰C selama 17 jam, kemudian diukur dengan menggunakan alat CT3 *Texture Analyzer*. Hasil dari pengukuran berupa grafik, selanjutnya dihitung dengan rumus :

$$\text{Kekuatan Gel (dyne/cm}^2\text{)} = \frac{F}{g} \times 980$$

$$\text{Kekuatan Gel (bloom)} = 2.86 \times 10^{-3} G + 20$$

Keterangan :

F = tinggi grafik sebelum patah

g = konstanta (0,07)

G = kekuatan gel (dyne/cm²)

Karakterisasi Gugus Fungsi

Sampel gelatin diambil secukupnya dan ditambahkan KBr kemudian digerus hingga tercampur dengan sempurna. Selanjutnya campuran ditekan hingga diperoleh pelet KBr dan dianalisis dengan FTIR pada rentang bilangan gelombang 4000-400 cm⁻¹.

Analisis Fisikokimia

Setelah didapatkan produk gelatin terbaik (kekuatan gel yang tinggi) dilanjutkan dengan analisis sifat fisikokimianya yang meliputi kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, pH, dan viskositas dan dibandingkan dengan gelatin komersial.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis proksimat kulit ayam broiler

Sampel kulit ayam broiler yang sudah dibersihkan dan dikeringkan dengan *freeze drier*, selanjutnya dilakukan analisis proksimat untuk mengetahui komposisi kimia yang meliputi kadar air, kadar lemak, kadar protein, dan kadar abu. Kandungan air pada sampel kulit ayam mencapai 1,83% (Tabel 1). Kadar abu dari kulit ayam cukup rendah yaitu 1,40%. Kadar abu pada kulit ayam lebih rendah dibandingkan dengan kadar abu pada ceker ayam. Kadar abu pada ceker ayam sebesar 3,49 % (Purnomo, 1992). Perbedaan jumlah kandungan mineral pada kulit dan ceker ayam ini dapat dipengaruhi oleh sumber pakan dan

lingkungan hidup dari ayam tersebut. Kandungan protein pada sampel kulit ayam sebesar 18,07% sedangkan pada ceker ayam sebesar 22,98% (Purnomo, 1992), sehingga kulit ayam ini masih berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan baku dalam pembuatan gelatin, mengingat gelatin merupakan hasil hidrolisis dari protein kolagen. Pada sampel kulit ayam kadar lemaknya mencapai 67,85%. Hal ini menunjukkan bahwa kadar lemak pada kulit ayam sangat tinggi, sehingga diperlukan adanya penghilangan lemak sebelum proses perendaman basa dan asam. Pada penelitian ini ekstraksi lemak dilakukan dengan metode soxhletasi menggunakan pelarut n-heksana.

Tabel 1. Komposisi kimia serbuk kulit ayam broiler kering beku

Komposisi Kimia	Serbuk Kulit Ayam Broiler Kering Beku
Kadar Air (%)	1,83
Kadar Lemak (%)	67,85
Kadar Protein (%)	18,07
Kadar Abu (%)	1,40

Rendemen Gelatin

Tahap *pretreatment* dan hidrolisis perlu dilakukan dengan tepat (waktu, suhu dan konsentrasinya), untuk menilai tingkat efektivitas produksi gelatin. Salah satu parameter untuk menilai tingkat efektivitas produksi gelatin dari proses perendaman basa (deproteinasi) dan asam (demineralisasi), dan hidrolisis termal hingga pengeringan adalah dengan menghitung rendemen gelatin yang dihasilkan. Rendemen dihitung melalui persentase berat gelatin yang dihasilkan dari berat awal bahan baku yang digunakan. Semakin tinggi nilai rendemen pada suatu perlakuan maka semakin tinggi pula tingkat efektivitas perlakuan tersebut. Rendemen produk gelatin hasil ekstraksi kulit ayam broiler ditunjukkan pada Tabel 2, dimana semakin tinggi konsentrasi asam sitrat yang digunakan maka rendemen yang dihasilkan semakin tinggi pula (GA 15,73%; GB 16,73% ; dan GC 29,47%). Hal ini menunjukkan bahwa variasi konsentrasi asam sitrat yang digunakan berpengaruh terhadap rendemen produk gelatin karena laju rekasi hidrolisis berjalan cepat seiring meningkatnya konsentrasi asam sitrat (3,0%) yang digunakan, sehingga hal tersebut menyebabkan jumlah ion H⁺

yang menghidrolisis kolagen lebih banyak. Selain itu perbedaan rendemen gelatin yang dihasilkan juga dipengaruhi oleh spesies, umur hewan, komposisi proksimat, kandungan kolagen dan metode ekstraksi yang digunakan.

Tabel 2. Rendemen produk gelatin hasil ekstraksi kulit ayam broiler

Sampel	Rendemen (%)
GA	15,73 ± 0,31
GB	16,73 ± 0,67
GC	29,47 ± 0,83

Keterangan :

GA = gelatin dengan perlakuan asam sitrat 0,7%

GB = gelatin dengan perlakuan asam sitrat 1,5%

GC = gelatin dengan perlakuan asam sitrat 3,0%

Hasil Penentuan Pola Protein Produk Gelatin Kulit Ayam Broiler dengan Metode SDS PAGE

Pada penelitian ini, fragmen pita protein produk gelatin kulit ayam broiler dianalisa menggunakan teknik elektroforesis SDS gel poliakrilamida (SDS PAGE). Hasil yang didapatkan dari elektroforesis yaitu berupa pita – pita protein yang terpisahkan berdasarkan perbedaan berat molekulnya yang setara dengan panjang rantai protein (Bintang, 2010). Migrasi pita protein dalam SDS PAGE berbanding terbalik dengan berat molekulnya (panjang pita), maka semakin besar berat molekul produk gelatin semakin lambat migrasinya sehingga posisinya pada elektroforegram semakin di atas. Berdasarkan elektroforegram hasil SDS PAGE yang disajikan pada Gambar 1 terlihat bahwa pada sampel 1 gelatin komersial (GK), pita protein tidak tampak jelas terpisah dikarenakan pita – pita yang terbentuk terlalu tipis. Pada sampel 2 gelatin 0,7%(GA) pita protein yang terbentuk pada ulangan pertama yaitu terdapat 5 pita dengan berat molekul 100 kDa, 85 kDa, 60 kDa, 50 kDa, dan 40 kDa, untuk ulangan yang kedua terdapat 6 pita yaitu 120 kDa, 100 kDa, 70 kDa, 60 kDa, 50 kDa, dan 40 kDa. Pada sampel 3 gelatin 1,5%(GB) terdapat 5 pita pada ulangan pertama dengan berat molekul 100 kDa, 85 kDa, 60 kDa, 50 kDa, dan 40 kDa dan ulangan kedua terdapat empat pita dengan berat molekul 120 kDa, 70 kDa, 50 kDa, dan 40 kDa. Hasil elektroforegram pada sampel keempat yaitu gelatin 3,0%(GC) tidak

menunjukkan adanya pita protein pada ulangan 1 maupun ulangan 2. Hal ini kemungkinan disebabkan fragmen protein yang dihasilkan memiliki berat molekul yang rendah (berat molekul lebih rendah daripada berat molekul protein marker yang terpendek), sehingga tidak terdeteksi dengan metode SDS PAGE. Fragmen protein dengan berat molekul rendah kemungkinan dikarenakan pengaruh konsentrasi asam sitrat yang tinggi (3,0%) terhadap kolagen yang menimbulkan adanya proses degradasi yang terlalu kuat sehingga ikatan peptida pada kolagen terputus menjadi lebih pendek.

Berdasarkan hasil elektroforegram terlihat bahwa produk gelatin kulit ayam broiler yang memiliki pola protein dengan berat molekul yang besar adalah sampel 2 (GA), hal ini ditunjukkan dengan pita protein yang terbentuk lebih tebal bila dibandingkan dengan pita protein produk gelatin GB. GA dan GB menghasilkan pola pita protein dengan ukuran yang sama, akan tetapi memiliki ketebalan pita masing – masing yang berbeda. Elektroforegram GA menghasilkan pita protein dengan berat molekul tinggi(120,100,dan 85 kDa) yang lebih tebal daripada GB, sedangkan GB menghasilkan pita protein yang tebal pada berat molekul yang rendah yaitu 60, 50, dan 40 kDa (posisi lebih di bawah). Dengan demikian dapat dikatakan bahwa variasi pada konsentrasi asam sitrat yang digunakan dalam ekstraksi berpengaruh terhadap pola pita protein produk gelatin yang dihasilkan, semakin tinggi konsentrasi asam sitrat (3,0%) maka akan menghasilkan produk gelatin dengan pola pita protein yang lebih pendek (berat molekul kecil) dan semakin kecil konsentrasi asam sitrat (0,7%) yang digunakan akan menghasilkan produk gelatin dengan pola pita protein yang lebih panjang(berat molekul besar).

Kekuatan Gel Gelatin

Parameter yang digunakan dalam menentukan kualitas dan kelayakan produk gelatin untuk keperluan industri, salah satunya adalah kekuatan gel. Pengukuran kekuatan gel sangat penting dilakukan dalam menentukan perlakuan yang terbaik dalam proses ekstraksi gelatin, hal ini dikarenakan salah satu sifat gelatin yaitu mampu mengubah bentuk sol menjadi gel yang bersifat reversibel. Pada Tabel 3 terlihat bahwa kekuatan gel produk gelatin hasil ekstraksi kulit ayam

broiler dipengaruhi oleh variasi konsentrasi asam sitrat. Hal ini terlihat pada sampel GA kekuatan gel yang diperoleh sebesar 265,81 g bloom; GB 196,05 g bloom; dan GC memiliki kekuatan gel yang paling rendah yaitu 35,32 g bloom. Rendahnya kekuatan gel pada sampel GC dikarenakan konsentrasi yang tinggi (3,0%) dapat memutuskan semua ikatan hidrogen dan ikatan samping antar rantai pada kolagen menjadi lebih pendek. Perbedaan kekuatan gel ini disebabkan oleh perbedaan ukuran rantai peptida yang terputus saat hidrolis kolagen. Pada penelitian ini didapatkan produk gelatin dengan perlakuan asam sitrat 0,7% memiliki kekuatan gel paling tinggi yaitu 265,81 g bloom, namun dengan perlakuan yang sama nilai kekuatan gel yang diperoleh pada penelitian ini masih rendah bila dibandingkan dengan nilai kekuatan gel yang diperoleh pada penelitian Norizah (2012) yaitu sebesar 355 g bloom. Disamping itu kekuatan gel GA lebih tinggi bila dibandingkan dengan gelatin komersial GK (124,25 g bloom). Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi asam sitrat 0,7% mampu mengkonversi kolagen menjadi gelatin secara efektif. Nilai kekuatan gel berbanding lurus dengan berat molekul (panjang pita protein), dimana semakin tinggi nilai kekuatan gel maka semakin besar pula berat molekul (panjang pita

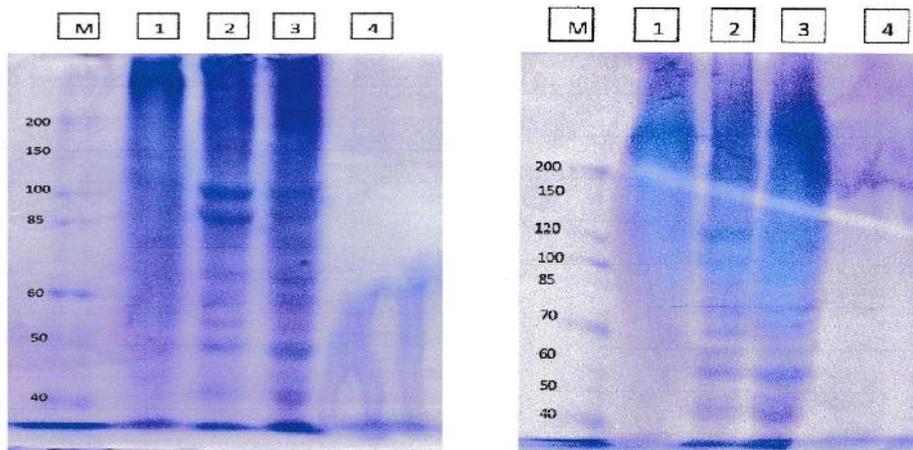
protein) dari produk gelatin. Hal ini terlihat pada produk gelatin dengan perlakuan asam sitrat 0,7% memiliki kekuatan gel paling tinggi dan berat molekul (panjang pita protein) yang besar pula. Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa semakin rendah konsentrasi asam sitrat (0,7%), maka kekuatan gel produk gelatin akan semakin tinggi. Hal ini didukung pula oleh hasil SDS PAGE, dimana pada konsentrasi asam sitrat 0,7% pola protein yang dihasilkan memiliki rantai peptida lebih panjang dibandingkan dengan hasil produk gelatin dengan perlakuan asam sitrat 1,5 % dan 3,0%.

Tabel 3. Kekuatan Gel produk gelatin hasil ekstraksi kulit ayam broiler

Sampel	Kekuatan Gel (g bloom)
GA	265,81
GB	196,05
GC	35,32
GK	124,25

Keterangan :

- GA = gelatin dengan perlakuan asam sitrat 0,7%
- GB = gelatin dengan perlakuan asam sitrat 1,5%
- GC = gelatin dengan perlakuan asam sitrat 3,0%
- GK = gelatin komersial



Gambar 1. Elektroforegram produk gelatin

Keterangan :

- M = marker protein
- 1 = gelatin komersial (GK)
- 2 = gelatin dengan perlakuan asam sitrat 0,7% (GA)
- 3 = gelatin dengan perlakuan asam sitrat 1,5% (GB)
- 4 = gelatin dengan perlakuan asam sitrat 3,0% (GC)

Tabel 4. Hasil analisis FTIR produk gelatin kulit ayam broiler

Daerah Serapan	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)				Keterangan
	GA	GB	GC	GK	
Amida A	3651,25	3651,25	3442,94	3660,89	Regangan N-H ikatan hidrogen intermolekuler, regangan OH
	2983,88	2995,45	2949,16	2985,81	Regangan C-H asimetri dari CH ₃
	2877,79	2879,72	2879,72	2879,72	Regangan C-H asimetri dari CH ₂ asiklik
	2357,01	2320,37	2121,70	2339,65	Regangan N-H ⁺ dari C=NH ⁺
Amida I	1699,29	1697,36	-	1708,93	Regangan C=O dari amida sekunder, ikatan hidrogen dengan COO ⁻
Amida II	1564,27	1581,63	1508,33	1566,20	Tekukan N-H dari amida sekunder dan regangan CN
	-	-	1448,54	1487,12	Regangan =CH aromatik
	1340,53	1352,10	1336,67	-	Goyangan CH ₂ dari proline
Amida III	1282,66	1292,31	1244,09	1278,81	Tekukan NH
	1182,36	1136,07	1083,99	1136,07	Regangan C-O dari alkohol sekunder
	950,91	943,19	972,12	966,34	Goyangan C-C dari CH ₂
	748,38	844,82	661,58	817,82	Tekukan NH keluar bidang dari amina sekunder
	673,16	-	619,15	677,01	Tekukan OH keluar bidang
	574,79	584,43	559,36	-	Tekukan dari NCO amida sekunder

Keterangan :

GA = gelatin dengan perlakuan asam sitrat 0,7%

GB = gelatin dengan perlakuan asam sitrat 1,5%

GC = gelatin dengan perlakuan asam sitrat 3,0%

GK = gelatin komersial

Karakterisasi Gugus Fungsi

Analisa FTIR bertujuan untuk mengkonfirmasi bahwa gugus fungsi yang diperoleh dari penelitian ini adalah benar gelatin. Puncak serapan khas gelatin dikelompokkan menjadi 4 bagian, yaitu daerah serapan amida A pada bilangan gelombang 3600-2300 cm⁻¹, amida I pada bilangan gelombang 1636-1661 cm⁻¹, amida II pada bilangan gelombang 1560-1335 cm⁻¹, dan amida III pada bilangan gelombang 1300-1200 cm⁻¹ (Muyonga., *et al*, 2004). Hasil yang diperoleh dari analisis FTIR produk gelatin ditunjukkan pada Tabel 4.

Serapan spektra pada daerah amida A produk gelatin kulit ayam broiler dengan perlakuan asam sitrat 0,7 %; 1,5%; dan 3,0% dan gelatin komersial menunjukkan adanya pita serapan kuat pada bilangan gelombang 3651,25 cm⁻¹; 3651,25 cm⁻¹; 3442,94 cm⁻¹; dan 3660,89 cm⁻¹. Serapan ini terjadi akibat adanya ikatan regangan N-H dari gugus amida yang berasosiasi dengan ikatan

hidrogen, dan adanya gugus OH. Puncak serapan amida I ditunjukkan pada serapan bilangan gelombang 1636-1661 cm⁻¹ (Muyonga., *et al*, 2004). Sampel GA, GB, dan GK masing – masing menghasilkan serapan pada bilangan gelombang 1699,29 cm⁻¹; 1697,36 cm⁻¹; 1708,93 cm⁻¹. Sedangkan GC tidak memperlihatkan serapan. Serapan ini dikarenakan adanya regangan ikatan ganda gugus karbonil C=O, *bending* ikatan NH, dan regangan CN. Pada serapan daerah amida I ini menunjukkan adanya regangan C=O dan gugus OH yang berpasangan dengan gugus karboksil.

Puncak serapan khas gelatin pada kurva amida II yaitu pada bilangan gelombang 1560-1335 cm⁻¹ (Muyonga., *et al*, 2004). Daerah gugus fungsi amida II produk gelatin kulit ayam broiler untuk sampel GA, GB, GC dan GK secara berturut – turut terdapat pada daerah serapan 1564,27 cm⁻¹; 1581,63cm⁻¹; 1508,33 cm⁻¹; dan 1566,20 cm⁻¹. Vibrasi amida II ini disebabkan oleh deformasi ikatan N-H dalam protein. Pada daerah serapan ini

berkaitan dengan deformasi tropokolagen menjadi rantai -helik. Pada daerah serapan amida III, puncak serapannya adalah pada 1200-1300 cm^{-1} (Fries and Lee, 1996). Puncak serapan ini menunjukkan regangan CN dan deformasi NH, serta serapan yang berasal dari goyangan CH_2 . Daerah serapan ini juga berhubungan dengan struktur tripel-helik dari kolagen. Pada sampel GA, GB, GC dan GK secara berturut – turut terjadi serapan pada bilangan gelombang 1282,66 cm^{-1} ; 1292,31 cm^{-1} ; 1244,09 cm^{-1} ; dan 1278,81 cm^{-1} . Hal ini mengindikasikan bahwa pada masing – masing sampel masih ada sebagian kecil struktur kolagen yang belum terdenaturasi menjadi gelatin dan lolos dalam proses penyaringan ekstrak gelatin, atau dapat dikatakan bahwa struktur dari masing – masing sampel banyak mengandung ikatan hidrogen intermolekuler.

Analisis Fisikokimia Produk Gelatin

Setelah didapatkan produk gelatin terbaik hasil ekstraksi kulit ayam broiler berdasarkan kekuatan gel tertinggi (produk gelatin perlakuan asam sitrat 0,7%) dilanjutkan dengan analisis sifat fisikokimia yang meliputi kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, pH, dan viskositas dan dibandingkan dengan gelatin komersial. Kadar air pada GA mencapai 7,30% (Tabel 5), dimana nilai ini lebih rendah bila dibandingkan dengan gelatin komersial (11,83%). Perbedaan kadar air tersebut dapat disebabkan oleh bahan baku yang digunakan berbeda dan perlakuan yang berbeda pula (pembekuan, pengeringan, proses *pretreatment*, hidrolisis). Hasil pengukuran kadar abu produk gelatin yang disajikan pada Tabel 5 menunjukkan bahwa produk gelatin GA memiliki kadar abu sebesar 0,51%, sedangkan GK kadar abunya mencapai 0,69%. Kadar protein GA sebesar 97,95% dan kadar protein GK sebesar 92,46%. Hal ini menunjukkan bahwa produk gelatin dari kulit ayam broiler memiliki kadar protein yang lebih tinggi dibanding gelatin komersial, dimana gelatin sendiri merupakan protein hasil konversi kolagen.

Hasil analisis kadar lemak GA dan GK berturut-turut sebesar 0,62% dan 0,33%. Rendahnya kadar lemak produk gelatin kulit ayam broiler yang dihasilkan menunjukkan bahwa proses ekstraksi lemak pada serbuk kulit ayam yang dilakukan dengan cara soxhletasi menggunakan

pelarut n-heksana cukup efektif dalam mengurangi kandungan lemak dari sampel kulit ayam broiler. Kadar lemak dari kedua produk gelatin masih berada di bawah nilai ambang batas baku mutu kadar lemak gelatin (maksimum 5%), sehingga hal ini menunjukkan bahwa kedua produk gelatin memenuhi persyaratan sebagai gelatin yang bagus. Penentuan nilai pH dari produk gelatin akan memudahkan dalam aplikasi produk gelatin tersebut, misalnya gelatin dengan pH netral akan sangat baik bila digunakan untuk produk farmasi, Sedangkan gelatin dengan pH rendah akan sangat baik digunakan dalam bidang pangan (Fahrul, 2005). Hasil pengukuran nilai pH pada GA menunjukkan pH rendah (asam) yaitu 4,84 dan nilainya lebih kecil dibandingkan dengan nilai pH GK yaitu 4,91. Berdasarkan Tabel 5 nilai viskositas GA sebesar 4,34 cP lebih tinggi daripada GK 3,18 cP. Hal ini menunjukkan bahwa kekentalan dari produk gelatin dari kulit ayam broiler lebih tinggi dibandingkan dengan gelatin komersial.

Tabel 5. Analisis fisikokimia produk gelatin kulit ayam broiler

Karakterisasi	GA	GK
Kadar Air (%)	7,30	11,83
Kadar Abu (%)	0,51	0,69
Kadar Protein (%)	97,95	92,46
Kadar Lemak (%)	0,62	0,33
pH	4,84	4,91
Viskositas (cP)	4,34	3,18

Keterangan :

GK = gelatin komersial

GA = gelatin dengan perlakuan asam sitrat 0,7%

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Variasi konsentrasi asam sitrat berpengaruh terhadap produk gelatin hasil ekstraksi dari kulit ayam broiler. Semakin rendah konsentrasi asam sitrat maka menghasilkan produk gelatin dengan kekuatan gel yang semakin tinggi dan

ukuran pola pita protein yang semakin panjang pula.

2. Produk gelatin dengan kekuatan gel tertinggi yaitu pada perlakuan konsentrasi asam sitrat 0,7% (GA) memiliki karakteristik yang memenuhi standar SNI (1955) dan British Standard 757b (1975) yaitu rendemen 15,73%; kekuatan gel 265, 81 g bloom; kadar air 7,30%; kadar abu 0,51%; kadar protein 97,95%; kadar lemak 0,62%; viskositas 4,34 cP; pH 4,84; dan analisis FTIR menunjukkan adanya serapan khas gugus fungsi gelatin pada daerah gugus amida A, amida I, amida II, dan amida III.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk membandingkan produk gelatin kulit ayam broiler dengan produk gelatin sapi (*bovine gelatin*).
2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk aplikasi produk gelatin kulit ayam broiler ke bidang industri pangan dan farmasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Bapak Drs. I Wayan Suirta, M.Si, Ibu Ir. Wahyu Dwijani Sulihingtyas, M.Kes dan Bapak I Nengah Simpen, S.Si., M.Si yang telah memberikan saran selama penyelesaian penelitian ini serta seluruh pihak yang telah membantu selama proses penyelesaian serangkaian penelitian dan penulisan jurnal ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Apriyantono, H.A., 2003, Makalah Halal: Kaitan Antara Syar'i, Teknologi, dan Sertifikasi, <www.indohalal.com/doc-halal2.html>, Diakses pada tanggal 16 Juli 2014
- Bintang, Maria, M.S., 2010, *Biokimia Teknik Penelitian*, Departemen Biokimia, FMIPA, IPB, Bogor
- British Standard 757. 1975. Sampling and Testing of Gelatin. Di dalam : Imeson, editor. *Thickening and Gelling Agents For Food*, Academic Press, New York
- Cliche, S., Amiot, J., Avezard, C., dan Garlepy, C., 2003, Extraction and Characterization of Collagen with or without Telopeptides from Chicken Skin, *Poul Sci.*, 82 (3) : 503-509.
- Fahrul., 2005, Kajian Ekstraksi Gelatin Dari Kulit Ikan Tuna (*Thunnus alalunga*) Dan Karakteristiknya Sebagai Bahan Baku Industri Farmasi, *Tesis*, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Fatimah, D., 2008, Efektivitas Penggunaan Asam Sitrat Dalam Pembuatan Gelatin Tulang Ikan Bandeng (*Chanos-Chanos Forskal*) (Kajian Variasi Konsentrasi Dan Lama Perendaman), *Skripsi*, Universitas Islam Negeri Malang, Malang
- Friess, W. and Lee, G., 1996, Basic thermoanalytical studies of insoluble collagen matrices, *Biomaterials*, 17 (23) : 2289-2294
- Junianto., Kiki, H., dan Ine, M., 2006, Produksi Gelatin Dari Tulang Ikan Dan Pemanfaatannya Sebagai Bahan Dasar Pembuatan Cangkang Kapsul, *Laporan Penelitian Hibah Bersaing*, Bandung
- Muyonga, J. H , Cole, C. G. B., and Duodu, K. G., 2004, Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of acid soluble collagen and gelatin from skins and bones of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*), *Food Chemistry*, 86 (3) : 325-332
- Norizah, M. S., Farah, B., dan Nazlin, K. H., 2012, Preparation and Characterisation of Chicken Skin Gelatin as an Alternative to Mammalian Gelatin, Faculty of Health and Medical Sciences, University of Surrey, Guildford, Surrey, *Food Hydrocolloids*, 143-151
- Peranginangin R., 2007, Teknologi Ekstraksi Gelatin Secara Asam Dari Kulit Ikan Sebagai Bahan Pangan Dan Farmasi, *Laporan penelitian*, Disampaikan dalam simposium Nasional riset Kelautan dan Perikanan, Hotel Bumiaksara, Bidakara ,7 Agustus 2007
- Purnomo, E., 1992, *Penyamakan Kulit Kaki Ayam*, Kanisius, Yogyakarta
- Puspawati, N.M, Simpen, I.N dan Suciptawati, N.L.P., 2014, Optimasi Proses Isolasi

Gelatin Dari Kulit Ayam Broiler Melalui Variasi Suhu Dan Waktu Ekstraksi, *Jurnal Kimia*, 8 (1) : 127-136

Sukkwai, S., Kijroongrojana, K dan Benjakul,S., 2011, Extraction of Gelatin From Bigeye Snapper (*Priacanthus tayenus*) Skin For

Gelatin Hydrolysate Production, *International Food Research Journal.*, 18 (3) : 1129-1134

SNI 06-3735, 1995, Mutu dan Cara Uji Gelatin, Dewan Standarisasi Nasional, Jakarta