



# THE IMPACT OF SOAKING DURATION WITH PHOSPHORIC ACID ON THE CHARACTERISTICS OF HALAL GELATIN OBTAINED FROM NEW ZEALAND WHITE RABBIT BONES (*Oryctolagus cuniculus*)

PENGARUH DURASI PERENDAMAN MENGGUNAKAN ASAM FOSFAT TERHADAP KARAKTERISTIK GELATIN HALAL DARI TULANG KELINCI NEW ZEALAND WHITE (*Oryctolagus cuniculus*)

Received: 15/08/2024; Revised: 16/11/2024; Accepted: 01/12/2024; Published: 16/12/2024

Hanifiya Samha\*, Ika Qurrotul Afifah

Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Sunan Kalijaga, Yogyakarta

\*Corresponding author: hanifiya01samha@gmail.com

## ABSTRACT

The demands of Indonesia's numerous industrial sectors for gelatin still rely on imports. In general, gelatin produced using pork can cause serious problems for Hindus and Muslims. The product extracted from New Zealand White rabbit bones in this research has the potential to become halal gelatin. This research aimed to analyze the characteristic amide group absorption of gelatin in the Fourier Transform Infra-Red (FTIR) spectrum of the isolated gelatin from New Zealand White rabbit bones and to determine the effect of changing soaking time on the yield and gelatin characteristics. In the pre-treatment process, the sample was soaked using a 9% phosphoric acid solution for 48, 96, and 144 hours. The gelatin is then extracted at gradual temperatures for 12 hours. The characterization involved analyzing functional groups, water content, ash content, pH, and protein content. The typical absorption of gelatin functional groups in the form of amides A, I, II, and III was detected from FTIR spectrophotometric analysis. This study indicated that the soaking time significantly affected the yield, pH, ash content, and protein content of the gelatin produced, but did not significantly influence the water content. The yield of gelatin from New Zealand White rabbit bones ranges from 4.08-6.56%. The water content of the gelatin is between 6.96-7.05%, and the pH value is 3.61-3.98. Both parameters meet the gelatin quality standards. However, the ash content of gelatin from New Zealand White rabbit bones, which ranges from 6.86-9.29%, does not meet the gelatin quality standards according to SNI 06-3735-1995 and GMIA 2012. The protein content of the rabbit bone gelatin, which is not regulated by the quality standards, ranges from 75.46-83.37%. The longer the soaking time, the higher the yield and protein content of the gelatin produced, and the lower the ash content.

**Keywords:** Gelatin, New Zealand White Rabbit Bones, Soaking Time, Phosphoric Acid

## ABSTRAK

Permintaan gelatin dari berbagai sektor industri di Indonesia masih bergantung pada impor. Secara umum, gelatin yang diproduksi dengan menggunakan daging babi dapat menimbulkan masalah yang berat bagi umat Hindu dan Muslim. Produk yang diekstraksi dari tulang kelinci New Zealand White dalam riset ini berpotensi menjadi gelatin halal. Tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis keberadaan serapan gugus amida identik gelatin pada spektrum Fourier Transform Infra-Red (FTIR) produk hasil isolasi dari tulang kelinci New Zealand White serta menentukan pengaruh perubahan waktu perendaman terhadap rendemen dan karakteristik gelatin. Pada proses pre-treatment dilakukan perendaman menggunakan larutan asam fosfat 9% dengan durasi perendaman 48, 96, dan 144 jam. Gelatin selanjutnya diekstraksi dengan suhu bertingkat selama 12 jam. Karakterisasi yang dilakukan meliputi analisis gugus fungsi, kadar air, kadar abu, pH, dan kadar protein. Serapan identik gugus fungsi gelatin berupa amida A, I, II, dan III terdeteksi dari analisis spektrofotometri FTIR. Studi ini mengindikasikan bahwa lama waktu perendaman berdampak signifikan terhadap rendemen gelatin, pH, kadar abu, dan kandungan protein, namun tidak berpengaruh nyata terhadap kadar

airnya. Rendemen gelatin tulang kelinci New Zealand White berkisar antara 4,08-6,56%. Kadar air gelatin berkisar antara 6,96-7,05% dan nilai pH 3,61-3,98. Kedua parameter tersebut telah memenuhi standar mutu gelatin. Kadar abu gelatin dari tulang kelinci New Zealand White berkisar antara 6,86-9,29% yang belum mencapai standar mutu gelatin menurut SNI 06-3735-1995 dan GMIA 2012. Kadar protein gelatin tulang kelinci yang belum diatur dalam standar mutu berkisar antara 75,46-83,37%. Semakin lama waktu perendaman, maka rendemen dan kadar protein gelatin yang dihasilkan semakin tinggi, serta semakin rendah kadar abunya.

**Kata Kunci:** Gelatin, Tulang Kelinci New Zealand White, Lama Perendaman, Asam Fosfat

**How to cite:** Samha, H & Afifah, I. Q. 2024. THE impact of soaking duration with phosphoric acid on the characteristics of halal gelatin obtained from New Zealand white rabbit bones (*Oryctolagus cuniculus*). *Journal of Halal Product and Research*. 7(2), 125-136, <https://dx.doi.org/10.20473/jhpr.vol.7-issue.2.125-136>

## PENDAHULUAN

Gelatin adalah biopolimer yang dihasilkan melalui denaturasi sebagian struktur kolagen (El-Seedi *et al.* 2023). Biopolimer ini umumnya diterapkan di berbagai bidang seperti makanan, kosmetik, farmasi, kedokteran, dan fotografi (Nurilmala *et al.* 2017). Peningkatan konsumsi dan permintaan akan gelatin di Indonesia memerlukan pasokan dalam jumlah besar. Nilai impor gelatin Indonesia dari berbagai negara produsen gelatin mencapai 2000-3000 ton per tahun (Tuslinah *et al.* 2021). Umumnya gelatin dihasilkan dari bahan baku seperti tulang sapi atau babi (27,6%), kulit babi (42,4%), kulit sapi (29,3%), serta kulit ikan dan domba (0,7%) (Noviana *et al.* 2015). Pasokan gelatin masih didominasi dari bahan baku sapi dan babi yang dapat menimbulkan permasalahan bagi umat Islam yang diharamkan untuk mengonsumsi makanan yang mengandung babi dan turunannya, serta umat Hindu yang tidak mengonsumsi olahan sapi karena dianggap sebagai hewan suci (Putri *et al.* 2023). Gelatin sapi juga menimbulkan masalah kesehatan yaitu wabah sapi gila (*Bovine spongiform encephalopathy*/BSE) (Hamzah *et al.* 2019). Alternatif bahan baku gelatin yang menjanjikan perlu dieksplorasi untuk memenuhi kebutuhan gelatin halal.

Ekstraksi gelatin dari bahan baku tulang kelinci merupakan solusi alternatif yang dapat menyumbangkan pasokan gelatin halal dan *thoyyib*, serta dapat mengurangi tingkat impor gelatin di Indonesia. Berdasarkan klasifikasinya, kelinci termasuk ke dalam hewan kelas mamalia *phylum vertebrata* (Rinanto *et al.* 2018). Umumnya kolagen diisolasi dari sumber alami atau hewani seperti hewan mamalia veterbrata karena memiliki kandungan hidroksiprolin yang cukup besar (Rahman *et al.* 2021). Kandungan protein kelinci tergolong besar yaitu 20,7%, jika dibandingkan dengan kandungan protein sapi 19,3%, babi 19,7%, ayam 20,0%, domba 18,7%, dan itik 18,3% (Pakage *et al.* 2019), namun informasi spesifik mengenai kandungan kolagennya belum tersedia. Selain itu, kandungan lemak kelinci tergolong lebih rendah dibandingkan dengan sapi (18,3%) dan domba (17,5%) yaitu sebesar 6,2% (Rinanto *et al.* 2018). Sebagian besar limbah tulang kelinci hanya diolah dengan cara dikeringkan oleh pemasok daging kelinci untuk digunakan sebagai pakan anjing dan kucing sehingga perlu dikaji potensinya sebagai bahan baku alternatif gelatin (Khirzin *et al.* 2019). Angka pencemaran lingkungan akibat limbah biologis juga dapat berkurang melalui pemanfaatan tulang kelinci sebagai bahan baku alternatif gelatin.

Isolasi gelatin dapat dilakukan melalui metode perendaman asam, basa, enzim, atau kombinasinya (Rather *et al.* 2022). Penelitian terkait isolasi gelatin dengan metode asam-basa telah dilakukan Miskiyah *et al.* (2020) dengan bahan baku ceker ayam menggunakan pelarut basa NaOH dan pelarut asam CH<sub>3</sub>COOH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi asam dan basa menghasilkan gelatin yang memiliki karakteristik mutu fisikokimia yang memenuhi persyaratan SNI 06-3735-1995. Penelitian terkait isolasi gelatin dari tulang kelinci pernah dilakukan Wulandari *et al.* (2020) dengan bervariasi konsentrasi HCl (4, 5, dan 6%). Gelatin tulang kelinci yang diisolasi dengan perendaman menggunakan HCl 6% selama 4 hari memiliki karakteristik yang terbaik. Isolasi gelatin menggunakan asam fosfat selama 48 jam menghasilkan rendemen tertinggi dan karakteristik gelatin yang memenuhi standar mutu dibandingkan dengan perendaman menggunakan HCl, H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, dan CH<sub>3</sub>COOH (Ridhay *et al.* 2016). Selain itu, Fauziyyah (2017) telah mengisolasi gelatin dari menggunakan variasi H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 8, 9, 10% serta durasi demineralisasi 12 dan 24 jam dari tulang ayam



broiler. Pada penelitian tersebut gelatin dengan karakteristik terbaik diperoleh dari perlakuan perendaman menggunakan  $H_3PO_4$  9% dengan demineralisasi selama 24 jam. Penggunaan asam fosfat di tahap demineralisasi dianggap lebih hemat biaya dan aman untuk lingkungan dibandingkan pelarut HCl, karena bakteri pelarut fosfat dalam tanah mampu mendegradasi residu tersebut sehingga mengurangi dampak negatif terhadap lingkungan (Noviana *et al.* 2015).

Berdasarkan latar belakang tersebut isolasi dan karakterisasi gelatin dari tulang kelinci New Zealand White menggunakan metode basa-asam ( $NaOH-H_3PO_4$ ) dilakukan dengan variasi lama perendaman atau demineralisasi asam selama 48, 96, dan 144 jam. Analisis gugus fungsi menggunakan spektrofotometer FTIR kemudian dilakukan terhadap produk hasil isolasi. Selain itu, pengkajian pengaruh variasi lama perendaman menggunakan asam fosfat terhadap rendemen dan parameter kadar air, kadar abu, pH, dan kadar protein juga dilakukan.

## METODOLOGI

### Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang dibutuhkan yaitu gelas ukur, gelas beker, erlenmeyer, ember, panci aluminium, botol kaca, toples kaca, termometer alkohol, mortar, alu, spatula, kaca arloji, pisau, kertas saring, saringan plastik, *hot plate stirrer* Cimarec, *magnetic stirrer*, berbagai jenis pipet, botol semprot, corong kaca, labu ukur, pengaduk kaca, desikator, penjepit cawan porselen, cawan porselen, buret, statif, destilasi *kjeldhal*, kertas pH indikator universal Merck, pH meter Consort C6010, neraca analitik Ohaus, oven Memmert UN 55, *waterbath* Shel Lab, *muffle furnace* Thermolyne, dan spektrofotometer FTIR Agilent Cary 630.

Bahan baku yang digunakan adalah tulang kelinci *New Zealand White*. Bahan-bahan lain yang dibutuhkan yaitu asam fosfat ( $H_3PO_4$ ) teknis, natrium hidroksida ( $NaOH$ ) Merck, akuades, katalisator  $HgO.K_2SO_4$ , asam sulfat pekat ( $H_2SO_4$ ) Merck,  $NaOH-Na_2S_2O_3$ , asam borat ( $H_3BO_3$ ) Merck, asam klorida (HCl) Merck, dan indikator campuran metil merah-metilen biru atau metil merah-bromo cresol green (BCG-MR).

### Isolasi Gelatin

Tulang kelinci yang diperoleh dipisahkan dari dagingnya dan dibersihkan menggunakan air mengalir. Ekstraksi gelatin terbagi dalam beberapa tahap, yaitu *degreasing*, penghilangan protein non kolagen, demineralisasi, ekstraksi, dan *drying* berdasarkan modifikasi penelitian Nurilmala *et al.* (2017). Produksi gelatin diawali dengan *degreasing* yaitu perebusan tulang kelinci selama 30 menit dalam air suhu  $80^\circ C$ . Tulang kelinci ditiriskan dan dilakukan pengecilan ukuran tulang sebesar  $\pm 2-3$  cm. Tahap penghilangan protein non kolagen dilakukan melalui proses perendaman selama 2 jam menggunakan larutan  $NaOH$  0,2 M dengan perbandingan 1:5 (sampel: larutan) (b/v). Setelah itu, tulang kelinci dinetralsiasi dengan menggunakan akuades. Tahap demineralisasi atau penghilangan mineral dilakukan menggunakan larutan asam fosfat ( $H_3PO_4$ ) 9% (v/v) dengan perbandingan sampel tulang dan larutan  $H_3PO_4$  9% 1:4 (b/v) (Fasya *et al.* 2018) menggunakan variasi waktu 48 jam, 96 jam, dan 144 jam. Tahap ini menghasilkan *ossein* atau tulang lunak yang selanjutnya dinetralsiasi dengan akuades sampai netral ( $\pm$  pH 6-7).

Ekstraksi gelatin selanjutnya dilakukan berdasarkan penelitian Fasya *et al.* (2018). *Ossein* dimasukkan ke dalam botol kaca dan akuades ditambahkan menggunakan perbandingan tulang kelinci:akuades 1:3 (b/v). Sampel selanjutnya dipindahkan ke dalam *waterbath* untuk diekstraksi dengan suhu bertingkat  $55^\circ C$ ,  $65^\circ C$ , dan  $75^\circ C$  masing-masing selama 4 jam. Hasil ekstraksi dilewatkan ke kertas saring dan alat bantu corong, kemudian dipekatkan dengan bantuan oven selama 24 jam pada suhu  $50^\circ C$ . Tahapan terakhir dari pembuatan gelatin yaitu *drying* atau pengeringan. Filtrat yang sudah dipekatkan, kemudian dikeringkan dengan bantuan oven selama 48 jam pada suhu  $60^\circ C$  dan lembaran gelatin diperkecil ukurannya dengan alu dan mortar.

### Analisis FTIR

Analisis FTIR mengacu pada penelitian Aziz *et al.* (2017). Serbuk gelatin diletakkan di atas *diamond sampling window*, kemudian dikencangkan atau *press*, dan spektrum sampel ditampilkan pada perangkat lunak. Spektrofotometer FTIR Diamond ATR digunakan untuk karakterisasi pada panjang gelombang  $4000-650\text{ cm}^{-1}$ .



## Perhitungan Rendemen

Perhitungan rendemen mengacu pada AOAC (1995) dengan membandingkan massa gelatin yang telah dioven dengan massa bahan baku tulang kelinci sebelum diekstraksi dihitung berdasarkan persamaan:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{total massa gelatin kering}}{\text{massa bahan tulang kelinci}} \times 100\%$$

## Analisis Kadar Air

Cawan porselen dimasukkan ke oven dalam kurun waktu 1 jam pada suhu 100°C kemudian diletakkan di desikator dan dihitung beratnya. Sebanyak 2 gram gelatin tulang kelinci diletakkan di cawan yang sebelumnya telah dikeringkan, kemudian diletakkan dalam oven selama 5 jam pada suhu 105°C. Gelatin beserta cawan dipindahkan ke desikator dan didiamkan selama 15 menit kemudian diukur beratnya. Langkah tersebut diulang sampai berat konsisten tercapai (Pertiwi *et al.* 2018). Kadar air ditentukan dengan persamaan:

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{\text{berat awal} - \text{berat akhir}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

## Analisis Kadar Abu

Sebanyak 2 gram gelatin dalam cawan porselen diabukan di dalam *muffle furnace* dengan pengaturan suhu 600°C selama 6 jam. Abu sampel didiamkan di desikator selama 30 menit dan dihitung berat akhirnya (Nurilmala *et al.* 2021). Persamaan berikut ini digunakan untuk menentukan kadar abu:

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{\text{berat abu}}{\text{berat gelatin}} \times 100\%$$

## Pengukuran pH

Sebanyak 20 mL akuades bersuhu 80°C digunakan untuk melarutkan gelatin sebanyak 0,2 gram dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Derajat keasaman larutan kemudian diukur menggunakan pH meter pada suhu ruang (Hermanto 2014).

## Analisis Kadar Protein

Analisis kadar protein terbagi menjadi tahap destruksi, destilasi, dan titrasi (metode *kjeldahl*). Destruksi diawali dengan sampel sebanyak 100 mg ditambahkan 0,5-1 gram katalis  $\text{HgO.K}_2\text{SO}_4$ , dibungkus dengan kertas saring, dan dipindahkan ke dalam labu *kjeldahl*. Sebanyak 3 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat ditambahkan ke dalam labu tersebut dan didestruksi di lemari asam hingga larutan jernih. Sampel selanjutnya didinginkan dan diencerkan dengan akuades secukupnya dan dituangkan ke dalam rangkaian alat destilasi.  $\text{NaOH-Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  sebanyak 20 mL dimasukkan ke dalam rangkaian alat destilasi dan dibilas dengan akuades. Setelah itu, destilasi dilakukan dengan mikro *kjeldahl* serta destilat ditampung dalam erlenmeyer yang berisi asam borat 4% sebanyak 5 mL dan indikator metil-metilen biru atau metil merah-bromo cresol green (BCG-MR). Destilasi diakhiri ketika semua N terdestilasi yang ditandai dengan tetesan destilat tidak bersifat basa. Tahap titrasi kemudian dilakukan dengan menggunakan HCl 0,02 N hingga warna larutan menjadi merah jambu dan total N atau protein dalam bahan dihitung (AOAC, 2005).

## Teknik Analisis Data

Data gugus fungsi yang diperoleh dari analisis menggunakan metode spektrofotometri *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR) dibandingkan dengan serapan khas gelatin komersial. Data lain yang diperoleh dari perhitungan rendemen dan hasil karakterisasi gelatin dibandingkan dengan SNI No. 06-3735-1995 dan GMIA 2012. Hasil perhitungan dan karakterisasi diuji menggunakan analisis variansi (ANOVA) dengan asumsi data yang diperoleh homogen dan normal.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

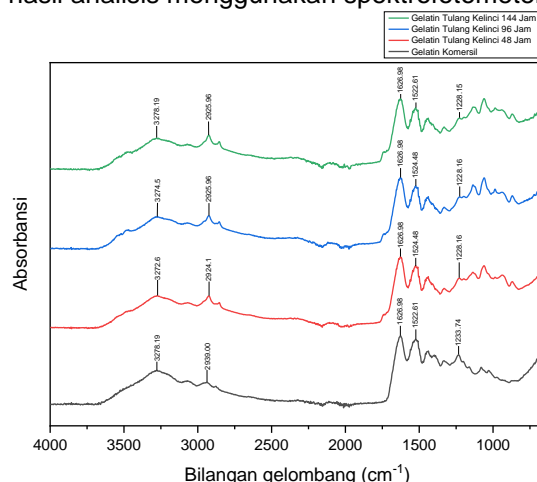
Kelinci *New Zealand White* merupakan jenis kelinci yang memiliki laju pertumbuhan yang cepat, sehingga sering dimanfaatkan sebagai kelinci pedaging dan hewan uji di laboratorium (Wahyono *et al.* 2021). Peningkatan produksi daging kelinci turut menghasilkan lebih banyak limbah berupa tulang. Gelatin dari tulang kelinci memiliki potensi sebagai alternatif gelatin halal, terutama untuk pasar negara



dengan mayoritas penduduk Muslim. Selain status kehalalannya, kelinci mengandung protein lebih tinggi dibandingkan dengan mamalia yang lain (Pakage *et al.* 2019). Lemak kelinci juga tergolong lebih rendah dibandingkan dengan sapi dan domba (Rinanto *et al.* 2018). Pada penelitian ini dilakukan isolasi dan karakterisasi gelatin dari tulang kelinci *New Zealand White* menggunakan metode basa-asam yaitu dengan NaOH dan H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 9% dengan variasi lama perendaman 48, 96, dan 144 jam. Tulang kelinci *New Zealand White* diharapkan mampu menjadi bahan baku alternatif gelatin halal pengganti hewan mamalia (sapi dan babi).

### Analisis Gugus Fungsi dengan Spektrofotometer FTIR

Analisis ini dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan pola sebaran ikatan molekul khas gelatin pada produk hasil isolasi kemudian membandingkannya dengan standar gelatin komersial (Tuslinah *et al.* 2021). Gambar 1 dan Tabel 1 menunjukkan spektra gelatin tulang kelinci *New Zealand White* dan gelatin komersil hasil analisis menggunakan spektrofotometer FTIR.



**Gambar 1.** Spektra FTIR Gelatin Tulang Kelinci *New Zealand White* yang Diisolasi Dengan Variasi Lama Demineralisasi dan Gelatin Komersil

**Tabel 1.** Daerah Serapan Dan Dugaan Gugus Fungsi Gelatin Tulang Kelinci *New Zealand White* Dan Gelatin Komersil

Daerah Serapan	Bilangan gelombang pada puncak serapan (cm <sup>-1</sup> )				Dugaan Gugus Fungsi
	Lama Perendaman (Jam)				
	48	96	144	Komersil	
Amida A (3600-2300 cm <sup>-1</sup> )	3272.6	3274.5	3278.19	3278.19	NH stretching, OH stretching (Niraputri <i>et al.</i> 2021)
	2924.1	2925.96	2925.96	2939.00	CH <sub>2</sub> stretching (Febryana, 2018)
Amida I (1661-1636 cm <sup>-1</sup> )	1628.98	1628.98	1628.98	1626.98	C=O stretching (Niraputri <i>et al.</i> 2021)



Daerah Serapan	Bilangan gelombang pada puncak serapan (cm <sup>-1</sup> )				Dugaan Gugus Fungsi
	Lama Perendaman (Jam)				
	48	96	144	Komersil	
Amida II (1560-1335 cm <sup>-1</sup> )	1524.48	1524.48	1522.61	1522.61	NH <i>bending</i> , CN <i>stretching</i> (Safithri <i>et al.</i> 2019)
Amida III (1300-1200 cm <sup>-1</sup> )	1228.16	1228.16	1228.15	1233.74	NH <i>bending</i> (Maryam <i>et al.</i> 2019)

Gelatin tulang kelinci *New Zealand White* memiliki puncak serapan pada wilayah amida A, I, II, dan III. Spektrum FTIR dari gelatin tulang kelinci *New Zealand White* dengan perendaman menggunakan larutan H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 9% selama 48, 96, dan 144 jam memunculkan puncak serapan amida A secara berurutan pada bilangan gelombang 3272.6; 3274.5; 3278.19 cm<sup>-1</sup>, serta gelatin komersil memunculkan puncak serapan amida A 3278.19 cm<sup>-1</sup>. Regangan ikatan NH dari gugus amida yang berinteraksi dengan ikatan hidrogen dan hidroksipolin memunculkan pita serapan amida A yang dapat menyebabkan pergeseran ke bilangan gelombang lebih kecil. Tumpang tindih yang mungkin terjadi antara ikatan NH dengan gugus OH yang dapat menyebabkan puncak serapan melebar (Niraputri *et al.* 2021). Puncak serapan amida A bagian kedua ditunjukkan dengan keberadaan serapan gugus fungsi CH<sub>2</sub> *stretching* dari gelatin dengan perendaman selama 48, 96, 144 jam berturut-turut pada bilangan gelombang 2924.1; 2925.96; 2925.96 cm<sup>-1</sup> serta gelatin komersil memunculkan puncak serapan amida A 2939.00.

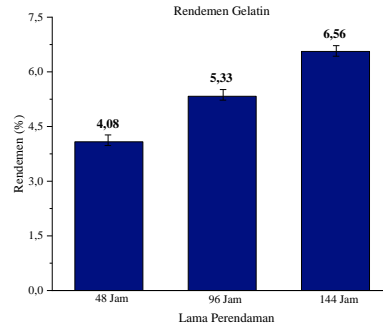
Daerah serapan amida I dari gelatin dengan perlakuan perendaman selama 48, 96, 144 jam, serta gelatin komersil ditunjukkan secara berturut-turut pada bilangan gelombang 1628.98; 1628.98; 1628.98; dan 1626.98 cm<sup>-1</sup>. Bentuk puncak serapan amida I yang melebar ke arah amida A merupakan gugus C=O *stretching* yang berpasangan dengan gugus karboksil (Niraputri *et al.* 2021).

Serapan amida II terletak pada interval bilangan gelombang 1560-1335 cm<sup>-1</sup> (Moranda *et al.* 2018). Wilayah serapan amida II memiliki karakteristik vibrasi CN *stretching* dan NH *bending* pada ikatan peptida (Safithri *et al.* 2019). Daerah serapan amida II dari gelatin dengan perlakuan perendaman selama 48, 96, 144 jam, serta gelatin komersil ditunjukkan secara berturut-turut pada bilangan gelombang 1524.48; 1524.48; 1522.61; dan 1522.61 cm<sup>-1</sup>.

Serapan amida III gelatin dengan lama perendaman 48, 96, 144 jam, dan gelatin komersil (pada interval 1300-1200 cm<sup>-1</sup>) secara berturut-turut terletak pada bilangan gelombang 1228.16; 1228.16; 1228.15; dan 1233.74 cm<sup>-1</sup>. Hasil ini mengindikasikan bahwa sebagian kolagen belum terdenaturasi menjadi gelatin karena masih dapat ditemukan struktur *triple helix* pada produk (Maryam *et al.* 2019).

## Rendemen

Rendemen merupakan salah satu indikator yang digunakan sebagai penentu efektivitas dari produksi gelatin (Suryati *et al.* 2017). Rendemen gelatin tulang kelinci *New Zealand White* tercantum pada **Gambar 2**.



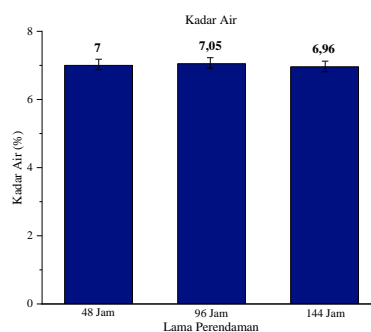
**Gambar 2.** Rendemen Gelatin Yang Diisolasi Dari Tulang Kelinci *New Zealand White* Dengan Variasi Lama Perendaman

Grafik tersebut menunjukkan bahwa perendaman dengan menggunakan  $H_3PO_4$  9% yang semakin lama akan meningkatkan nilai rendemen tulang kelinci yang didapatkan. Rendemen gelatin tulang kelinci *New Zealand White* ini lebih rendah dibandingkan gelatin tulang kelinci jenis rex dengan demineralisasi menggunakan HCl 6% selama 4 hari sebesar 8,42% pada penelitian Wulandari *et al.* (2020). Menurut Moranda *et al.* (2018), jenis bahan baku, pemilihan jenis *pre-treatment*, ekstraksi, konsentrasi atau jenis pelarut yang digunakan dapat memengaruhi nilai rendemen yang dihasilkan.

Hasil uji ANOVA menunjukkan nilai P kurang dari 0,05 (batas kritis) yaitu sebesar 0,023 sehingga dapat disimpulkan bahwa rendemen gelatin dipengaruhi oleh lama perendaman berdasarkan analisis ragam ( $p < 0,05$ ). Penelitian Gerungan *et al.* (2019) juga membuktikan durasi perendaman memengaruhi rendemen. Pembukaan struktur kolagen untuk dikonversi menjadi kolagen semakin sering terjadi ketika waktu demineralisasi atau perendaman semakin lama sehingga meningkatkan rendemen gelatin.

## Kadar Air

Analisis kadar air penting untuk dilakukan karena berpengaruh terhadap daya simpan atau daya tahan bahan. Keberadaan air dapat memfasilitasi terjadinya metabolisme mikroorganisme pada saat gelatin disimpan (Moranda *et al.* 2018). **Gambar 3** menunjukkan data kadar air gelatin tulang kelinci *New Zealand White*.



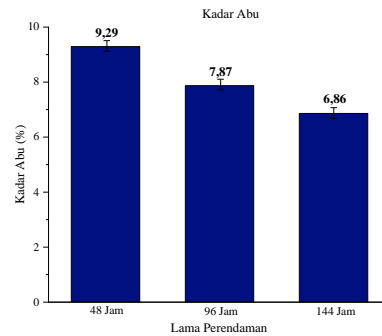
**Gambar 3.** Kadar Air Gelatin Yang Diisolasi Dari Tulang Kelinci *New Zealand White* Dengan Variasi Lama Perendaman

Kadar air dari gelatin tulang kelinci *New Zealand White* telah memenuhi SNI 06-3735-1995 (maksimum 16%) yang berkisar antara 6,96-7,05%. Hasil uji ANOVA menunjukkan P yang lebih besar dibandingkan dengan 0,05 (batas kritis) yaitu sebesar 0,98. Perbedaan lama perendaman menggunakan  $H_3PO_4$  9% selama 48, 96, dan 144 jam tidak berpengaruh nyata terhadap kadar air gelatin yang dihasilkan ( $p > 0,05$ ) berdasarkan analisis ragam. Jumlah olekul air yang lepas selama

proses pengeringan sangat memengaruhi kadar air gelatin (Moranda *et al.* 2018). Gelatin memiliki daya ikat terhadap air sehingga perendaman atau demineralisasi tidak mempengaruhi nilai kadar air di dalamnya (Singkuku *et al.* 2017)

### Kadar Abu

Kandungan mineral gelatin yang menandakan kemurniannya dapat dilihat dari hasil perhitungan kadar abu (Meilani *et al.* 2022). **Gambar 4** menunjukkan kadar abu gelatin tulang kelinci *New Zealand White*.



**Gambar 4.** Kadar Abu Gelatin Yang Diisolasi Dari Tulang Kelinci *New Zealand White* Dengan Variasi Lama Perendaman

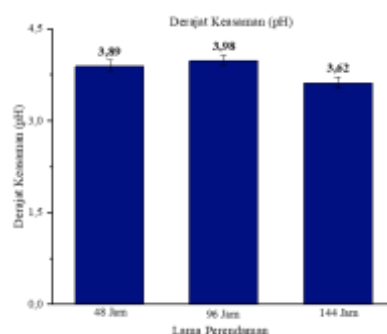
Perlakuan perendaman menggunakan  $H_3PO_4$  9% selama 48 jam menyebabkan kadar abu gelatin naik, sedangkan durasi perendaman 144 jam menghasilkan gelatin dengan kadar abu terendah. Kadar abu gelatin pada penelitian ini tergolong tinggi dan belum memenuhi batas maksimum 3,25% menurut SNI 06-3735-1995 dan 0,3-2% menurut GMIA (2012). Kadar abu yang tinggi menunjukkan bahwa metode ekstraksi yang digunakan belum optimal karena kandungan mineral dalam gelatin masih tinggi (Khirzin *et al.* 2019). Kadar abu juga dipengaruhi oleh konsentrasi dan jenis asam serta lama perendaman yang dipilih dalam proses sebelum tahap ekstraksi utama (Febriana *et al.* 2021).

Hasil uji ANOVA menunjukkan nilai P kurang dari 0,05 (batas kritis) yaitu sebesar 0,007. Analisis ragam membuktikan bahwa lama perendaman berimplikasi terhadap kadar abu gelatin tulang kelinci *New Zealand White* ( $p < 0,05$ ). Semakin lama durasi demineralisasi atau perendaman maka jumlah mineral yang terlarut meningkat sehingga kadar abu menurun. Miskiyah *et al.* (2022) juga menyimpulkan bahwa komponen mineral mudah larut dalam pelarut asam sehingga semakin lama waktu perendaman maka kadar abu akan menurun. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menghasilkan gelatin tulang kelinci *New Zealand White* yang memenuhi parameter kadar abu dalam standar mutu.

### Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman berpengaruh terhadap karakteristik gelatin yang berimplikasi pada aplikasinya dalam produk (Pertiwi *et al.* 2018). Nilai pH dapat mengindikasikan proses netralisasi sebelum tahap ekstraksi utama sangat penting untuk menghilangkan residu asam ataupun basa (Fasya *et al.* 2018). **Gambar 5** menunjukkan nilai pH gelatin tulang kelinci *New Zealand White*.





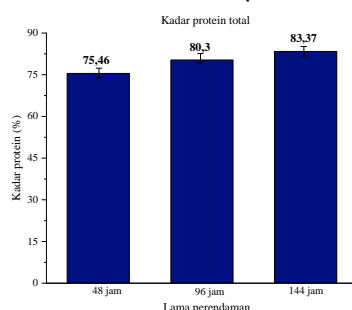
**Gambar 5.** Derajat Keasaman Gelatin Yang Diisolasi Dari Tulang Kelinci New Zealand White Dengan Variasi Lama Perendaman

Nilai pH gelatin tertinggi didapatkan dari perlakuan dengan lama perendaman atau demineralisasi menggunakan  $H_3PO_4$  9% selama 96 jam dan pH gelatin terendah didapatkan dari perlakuan dengan lama perendaman atau demineralisasi menggunakan  $H_3PO_4$  9% selama 144 jam. Nilai pH yang diperoleh menunjukkan bahwa gelatin memenuhi standar gelatin tipe A dari GMIA (2012) yaitu 3,8-5,5, kecuali perlakuan dengan lama perendaman 144 jam. Namun, nilai pH gelatin tulang kelinci *New Zealand White* yang diperoleh belum memenuhi standar dari SNI 06-3735-1995.

Hasil uji ANOVA menunjukkan nilai P kurang dari 0,05 (batas kritis) yaitu sebesar 0,00428. Analisis ragam mengindikasikan bahwa lama perendaman memiliki pengaruh terhadap derajat keasaman gelatin ( $p < 0,05$ ). Nilai pH yang dihasilkan beragam dan di bawah pH netral. Menurut Nugraheni *et al.* (2021), nilai pH yang beragam dan di bawah netral ini dikarenakan oleh proses pencucian setelah proses demineralisasi kurang maksimal sehingga dalam jaringan kolagen masih dapat ditemukan residu asam dan terbawa ketika proses ekstraksi.

### Kadar Protein

Bahan baku, jenis kolagen, dan kualitas *ossein* yang dihasilkan selama proses demineralisasi memengaruhi jumlah protein dalam gelatin (Syahputra *et al.* 2022). **Gambar 6** menunjukkan data kadar protein gelatin tulang kelinci *New Zealand White* dalam penelitian ini.



**Gambar 6.** Kadar Protein Gelatin Yang Diisolasi Dari Tulang Kelinci *New Zealand White* Dengan Variasi Lama Perendaman

Kadar protein gelatin tulang kelinci *New Zealand White* yaitu berkisar 75,46-83,37%. Gelatin dengan kandungan protein tertinggi diperoleh dari ekstraksi dengan *pre-treatment* perendaman menggunakan  $H_3PO_4$  9% dalam kurun 144 jam dan kadar protein terendah diperoleh dari perlakuan dengan perendaman selama 48 jam. Semakin lama perendaman maka semakin tinggi kadar proteinnya (Niraputri *et al.* 2021).

Hasil uji ANOVA menunjukkan nilai P kurang dari 0,05 (batas kritis) yaitu sebesar 0,00000003. Hal ini menunjukkan bahwa kadar protein gelatin sangat dipengaruhi oleh lama perendaman ( $p < 0,05$ ). Menurut Nurdiani *et al.* (2019), pemutusan ikatan dan perubahan struktur kolagen (koil) lebih banyak terjadi ketika perendaman dilakukan lebih lama sehingga jumlah ekstrak meningkat. Analisis kualitas gelatin berdasarkan kadar protein belum bisa dilakukan karena belum diatur dalam standar nasional (SNI) dan internasional (GMIA).

## KESIMPULAN

Perendaman asam fosfat 9% dengan variasi durasi yang berbeda berdampak besar terhadap rendemen, pH, kadar abu, dan kadar protein, namun memberikan perubahan signifikan terhadap kadar air gelatin yang dihasilkan. Keberadaan serapan gugus fungsi gelatin komersil pada wilayah amida A, I, II, dan III yang khas berhasil terdeteksi dari analisis FTIR. Kadar air dan pH gelatin tulang kelinci *New Zealand White* memenuhi SNI 06-3735-1995 dan GMIA 2012, sedangkan kadar abu dari gelatin penelitian ini belum memenuhi standar. Kadar protein belum diatur dalam SNI 06-3735-1995 dan GMIA 2012 sehingga tidak dapat ditentukan kualitasnya.

## REFERENSI

- AOAC. 1995. "Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemist." Virginia, USA: AOAC International.
- AOAC. 2005. "Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists." Washington, USA: Association of Official Analytical Chemists, Inc.
- Aziz, Azrul Hafiz Abdul, Nurul Asyikeen Ab Mutalib, Russly Abdul Rahman, Irwandi Jaswir, Mohamed Elwathig Saeed Mirghani, Fitri Octavianti, and Adi Rahmadsyah. 2017. "The Authentication of Halal Dental Materials Using Rapid Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy." *Advanced Science Letters* 23(5):4750–52. doi: 10.1166/asl.2017.8883.
- Badan Standardisasi Nasional. 1995. Standar Nasional Indonesia (SNI) 06-3735-1995: Standar Mutu Gelatin. Jakarta: BSN.
- El-Seedi, Hesham R., Noha S. Said, Nermeen Yosri, Hamada B. Hawash, Dina M. El-Sherif, Mohamed Abouzid, Mohamed M. Abdel-Daim, Mohammed Yaseen, Hany Omar, Qiyang Shou, Nour F. Attia, Xiaobo Zou, Zhiming Guo, and Shaden A. M. Khalifa. 2023. "Gelatin Nanofibers: Recent Insights in Synthesis, Bio-Medical Applications and Limitations." *Heliyon* 9(5):e16228. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e16228.
- Fasya, A. Ghanaim, Suci Amalia, M. Imamudin, Rizka Putri Nugraha, Nazilatun Ni'mah, and Dewi Yuliani. 2018. "Optimasi Produksi Gelatin Halal dari Tulang Ayam Broiler (*Gallus Domesticus*) dengan Variasi Lama Perendaman dan Konsentrasi Asam Klorida (HCl)." *Indonesia Journal of Halal* 1(2):102. doi: 10.14710/halal.v1i2.3665.
- Febriana, Lika Ginanti, Nyai Ayu Sylfia Stannia P.H, Anisa Nur Fitriani, and Norisca Aliza Putriana. 2021. "Potensi Gelatin dari Tulang Ikan sebagai Alternatif Cangkang Kapsul Berbahan Halal: Karakteristik dan Pra Formulasi." *Majalah Farmasetika* 6(3):223. doi: 10.24198/mfarmasetika.v6i3.33183.
- Febryana, Wahdafitri, Nora Idiawati, and Muhammad Agus Wibowo. 2018. "Ekstraksi Gelatin Dari Kulit Ikan Belida (*Chitala Lopis*) Pada Proses Perlakuan Asam Asetat." *Jurnal Kimia Khatulistiwa* 7(4):93–102.
- Gelatin Manufactures Institute of America (GMIA). 2012. *Gelatin Handbook*. USA: GMIA.
- Gerungan, Deysi, M. Sompie, J. M. Sopotan, and A. Dp. Mirah. 2019. "Pengaruh Perbedaan Suhu Ekstraksi Terhadap Kekuatan Gel, Viskositas, Rendemen, dan pH Gelatin Kulit Babi." *ZOOTEC* 39(1):93. doi: 10.35792/zot.39.1.2019.23761.
- Hamzah, Nursalam, Nurmi Nurmi, Mukhriani Mukhriani, and Asrul Ismail. 2019. "Karakter Indeks Pengembangan Gelatin Taut Silang dengan Sukrosa Teroksidasi dan Glutaraldehyd." *ad-Dawaa' Journal of Pharmaceutical Sciences* 2(1). doi: 10.24252/djps.v2i1.11520.
- Hermanto, Sandra. 2014. "Karakteristik Fisikokimia Gelatin Kulit Ikan Sapu-Sapu (*Hyposarcus pardalis*) Hasil Ekstraksi Asam." *Jurnal Kimia VALENSI* 109–20. doi: 10.15408/jkv.v0i0.3608.
- Khirzin, M. H., S. Ton, and Fatkhurrohman Fatkhurrohman. 2019. "Ekstraksi dan Karakterisasi Gelatin Tulang Itik Menggunakan Metode Ekstraksi Asam." *Jurnal Sain Peternakan Indonesia* 14(2):119–27. doi: 10.31186/jspi.id.14.2.119-127.
- Maryam, St., Nurmaya Effendi, and Kasmah Kasmah. 2019. "Produksi dan Karakterisasi Gelatin dari Limbah Tulang Ayam dengan Menggunakan Spektrofotometer Ftir (Fourier Transform Infra Red)." *Majalah Farmaseutik* 15(2):96. doi: 10.22146/farmaseutik.v15i2.47542.
- Meilani, Sophia Shanti, Elvi Kustiyah, Bungaran Saing, and Agus Muhammad Ridwan. 2022. "Pemanfaatan Kembali Limbah Tulang Ikan Tenggiri Sebagai Bahan Baku Pembuatan Gelatin



- Melalui Proses Hidrolisis Asam Fosfat." *Jurnal LEMURU: Jurnal Ilmu Perikanan dan Kelautan* 4(2):57–64.
- Miskiyah, Kirana Sanggrami Sasmitaloka, and Agus Budiyo. 2022. "Pengaruh lama waktu perendaman terhadap arakteristik gelatin ceker ayam." *Agrointek : Jurnal Teknologi Industri Pertanian* 16(2):186–92. doi: 10.21107/agrointek.v16i2.11846.
- Miskiyah, Kirana Sanggrami Sasmitaloka, Elmi Kamsiati, Juniawati Juniawati, and Agus Budiyo. 2020. "Karakterisasi Mutu Gelatin Ceker Ayam Sebagai Alternatif Gelatin Halal." *Jurnal Standardisasi* 22(3):239. doi: 10.31153/js.v22i3.850.
- Moranda, Dayva Putri, Lia Handayani, and Suraiya Nazlia. 2018. "Pemanfaatan limbah kulit ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*) sebagai gelatin: Hidrolisis menggunakan pelarut HCl dengan konsentrasi berbeda." *Acta Aquatica: Aquatic Sciences Journal* 5(2):81. doi: 10.29103/aa.v5i2.850.
- Niraputri, Viola, Romadhon Romadhon, and Slamet Suharto. 2021. "Pengaruh Lama Perendaman Asam Klorida Terhadap Kekuatan Gel Gelatin Teripang Hitam (*Holothuria leucospilota*)." *Pena Akuatika : Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* 20(1). doi: 10.31941/penaakuatika.v20i1.1326.
- Noviana, Santi, Kusmayadi Suradi, and Eka Wulandari. 2015. "Pengaruh Berbagai Asam Fosfat Pada Tulang Ayam Broiler Terhadap Rendemen, Kekuatan Gel, dan Viskositas Gelatin."
- Nugraheni, Adilla Wahyu, Apri Dwi Anggo, and Eko Nurcahya Dewi. 2021. "Pengaruh Jenis Asam Terhadap Karakteristik Gelatin Kulit Ikan Ayam-Ayam (*Abalistes stellaris*)." *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan* 3(2):78–85. doi: 10.14710/jitpi.2021.13144.
- Nurdiani, Rahmi, Hefti Salis Yufidasari, and Joys Sandralina Sherani. 2019. "Effect of Pectin on the Characteristics of Edible Film from Skin Gelatin of Red Snapper (*Lutjanus argentimaculatus*)." *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 22(1):174. doi: 10.17844/jphpi.v22i1.25896.
- Nurilmala, Mala, Agoes Mardiono Jacob, and Rofi Ahmad Dzaky. 2017. "Karakteristik Gelatin Kulit Ikan Tuna Sirip Kuning." *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 20(2):339. doi: 10.17844/jphpi.v20i2.18049.
- Nurilmala, Mala, Muh Tazri Nasirullah, Tati Nurhayati, and Noviyana Darmawan. 2021. "Karakteristik Fisik-Kimia Gelatin dari Kulit Ikan Patin, Ikan Nila, dan Ikan Tuna." *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada* 23(1):71. doi: 10.22146/jfs.59960.
- Pakage, S., B. W. I. Rahayu, and A. G. Murwanto. 2019. "Karakteristik Morfometri dan Pola Warna Tubuh Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) di Kabupaten Deiyai Papua." *Jurnal Peternakan Indonesia (Indonesian Journal of Animal Science)* 21(1):18. doi: 10.25077/jpi.21.1.18-26.2019.
- Pertiwi, Mega, Yoni Atma, Apon Mustopa, and Rizkia Maisarah. 2018. "Karakteristik Fisik dan Kimia Gelatin dari Tulang Ikan Patin dengan Pre-Treatment Asam Sitrat." *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 7(2):83–91. doi: 10.17728/jatp.2470.
- Putri, Erin Apriliani Wulandari, Joko Hermanianto, Dase Hunaefi, and Mala Nurilmala. 2023. "Pengaruh konsentrasi dan waktu perendaman NaOH terhadap karakteristik gelatin kulit ikan patin: The effect of NaOH concentration and soaking time on the characteristics of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) skin gelatin." *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 26(1):117–26. doi: 10.17844/jphpi.v26i1.45489.
- Rahman, Vicania Raisa, Marline Abdassah Bratadiredja, and Nyi Mekar Saptarini, M.Si, Apt. 2021. "Artikel Review: Potensi Kolagen sebagai Bahan Aktif Sediaan Farmasi." *Majalah Farmasetika* 6(3):253. doi: 10.24198/mfarmasetika.v6i3.33621.
- Rather, Jahangir A., Najmeenah Akhter, Qazi Showkat Ashraf, Shabir A. Mir, Hilal A. Makroo, Darakshan Majid, Francisco J. Barba, Amin Mousavi Khaneghah, and B. N. Dar. 2022. "A Comprehensive Review on Gelatin: Understanding Impact of the Sources, Extraction Methods, and Modifications on Potential Packaging Applications." *Food Packaging and Shelf Life* 34:100945. doi: 10.1016/j.fpsl.2022.100945.
- Ridhay, Ahmad, Musafira Musafira, Nurhaeni Nurhaeni, Nurakhirawati Nurakhirawati, and Nurul Bima Khasanah. 2016. "Pengaruh Variasi Jenis Asam Terhadap Rendemen Gelatin dari Tulang Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis*)." *KOVALEN* 2(2). doi: 10.22487/j24775398.2016.v2.i2.6725.
- Rinanto, Aldo Ulva, Nita Opi Ari Kustanti, and Anang Widigdyo. 2018. "Pengaruh Penggunaan Tepung Daun Belimbing Manis (*Averrhoa carambola* L.) Sebagai Substitusi Pakan Kelinci Terhadap Performa Kelinci *Hyla Hycole*." *AVES: Jurnal Ilmu Peternakan* 12(1):9–20. doi: 10.35457/aves.v12i1.1132.



- Safithri, Mega, Kustiariyah Tarman, Pipih Suptijah, and Neni Widowati. 2019. "Physicochemical characteristics of acid soluble collagen from the skin of Parang parang fish (*Chirocentrus dorab*).  
Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia 22(3):441–52. doi: 10.17844/jphpi.v22i3.28924.
- Singku, Febri Triani, Hens Onibala, and Agnes T. Agustin. 2017. "Ekstraksi Kolagen Tulang Ikan Cakalang (*Katsuwonus Pelamis*) Menjadi Gelatin dengan Asam Klorida." Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan 5(3):163–66. doi: doi.org/10.35800/mthp.5.3.2017.16846.
- Suryati, Suryati, Nasrul Za, Meriatna Meriatna, and Suryani Suryani. 2017. "Pembuatan dan Karakterisasi Gelatin dari Ceker Ayam dengan Proses Hidrolisis." Jurnal Teknologi Kimia Unimal 4(2):66. doi: 10.29103/jtku.v4i2.74.
- Syahputra, Dennis Eka, Agam Muarif, Suryati Suryati, Azhari Azhari, and Rizka Mulyawan. 2022. "Pembuatan Gelatin Dari Tulang Ikan Bandeng Dengan Metode Ekstraksi Dan Variasi Konsentrasi Asam Sitrat." Chemical Engineering Journal Storage (CEJS) 2(4):91. doi: 10.29103/cejs.v2i4.7842.
- Tuslinah, Lilis, Leli Rahmawati, Iis Nurjanah, Ummy Mardiana Ramdan, and Ade Yeni Aprilia. 2021. "Karakterisasi Gelatin dari Tulang Ikan Tongkol dan Tulang Ikan Gurame." Journal of Pharmacopolium 4(3):191–97.
- Wahyono, T., Sadarman Sadarman, T. Handayani, A. C. Trinugraha, and D. Priyoatmojo. 2021. "Evaluasi Performa Karkas Kelinci Lokal dan New Zealand White Jantan pada Berat Potong yang Berbeda." Jurnal Peternakan 18(1):51. doi: 10.24014/jupet.v18i1.11523.
- Wulandari, Dwi, and Indri Hermiayati. 2020. "Produksi dan Karakterisasi Gelatin Tulang Kelinci Sebagai Bahan Pembuatan Bioplastik." Laporan Penelitian Bantuan Penelitian Dosen Politeknik ATK Yogyakarta Tahun Anggaran 2020.

