

### **3. METODOLOGI**

#### **3.1. Waktu & Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Ilmu Pangan mulai tanggal 21 Januari 2021 hingga 25 Februari 2022 untuk penelitian pendahuluan. Sedangkan untuk penelitian utama yaitu pembuatan gelatin, analisis fisik dan analisis proksimat mulai tanggal 1 Maret 2022 hingga 30 Agustus 2022.

#### **3.2. Desain Penelitian**

Penelitian ini adalah studi tentang hidrolisis kolagen dengan kombinasi asam dan waktu yang merupakan penelitian eksperimental yang terdiri dari 2 variabel yaitu konsentrasi asam asetat (1%, 2%, dan 3%) dan lama waktu perendaman (24 jam, 48 jam, dan 72 jam), disusun dalam desain faktorial  $3 \times 3$ , masing-masing kombinasi perlakuan dilakukan dengan 3x ulangan. Parameter yang diamati pada penelitian ini yaitu parameter fisik dan parameter kimia. Indikator-indikator dalam parameter fisik terdiri dari berat gel, pH gel, kekuatan gel, warna gel, dan berat tepung gelatin. Indikator-indikator dalam parameter kimia terdiri dari kadar air tepung gelatin, kadar protein tepung gelatin, pH tepung gelatin, dan rendemen tepung gelatin. Pengaruh variabel diuji dengan uji beda 2 arah sedangkan hubungan semua indikator diuji dengan korelasi.

#### **3.3. Variabel, Parameter, dan Indikator Penelitian**

##### **3.3.1. Variabel Penelitian**

Variabel penelitian yang digunakan terdiri dari variabel yaitu variabel bebas dan variabel kontrol. Variabel bebas yaitu varian konsentrasi asam asetat (1%, 2%, dan 3%) dan lama waktu perendaman (24 jam, 48 jam, dan 72 jam). Variabel kontrol yaitu suhu ekstraksi  $70^{\circ}\text{C}$  dan suhu pengeringan  $70^{\circ}\text{C}-90^{\circ}\text{C}$ .

##### **3.3.2. Parameter Penelitian**

Parameter yang diamati pada penelitian ini yaitu parameter fisik dan parameter kimia. Parameter fisik terdiri dari berat gel, pH gel, kekuatan gel, warna gel, dan

berat tepung gelatin. Parameter kimia terdiri dari kadar air tepung gelatin, kadar protein tepung gelatin, pH tepung gelatin, dan rendemen tepung gelatin.

### **3.3.3. Indikator Penelitian**

Indikator parameter yang diamati pada penelitian ini yaitu parameter fisik dan parameter kimia. Parameter fisik terdiri dari berat gel, pH gel, kekuatan gel, warna gel, dan berat tepung gelatin. Parameter kimia terdiri dari kadar air tepung gelatin, kadar protein tepung gelatin, pH tepung gelatin, dan rendemen tepung gelatin. Indikator penelitian yang digunakan pH gel, pH tepung gelatin, warna gel, kekuatan gel yang dilakukan dengan menggunakan pH meter, *magnetic stirrer*, *chromameter*, dan *texture analyzer* serta kadar protein dengan menggunakan metode Lowry dengan *Spectrophotometer uv-vis* untuk menentukan konsentrasi dan lama waktu perendaman pada proses hidrolisis yang terbaik dalam aplikasi pembuatan gelatin.

## **3.4. Materi**

### **3.4.1. Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah baskom, mortar, alu, timbangan analitik, oven, termometer, *beaker glass*, erlenmeyer, sendok, gelas ukur, gunting, pisau, *heater*, kertas saring, plastik bening, tabung reaksi, pH meter, pipet tetes, pipet volume, *magnetic stirrer*, water bath, *chromameter*, *texture analyzer*, *Spectrophotometer Uv-vis*.

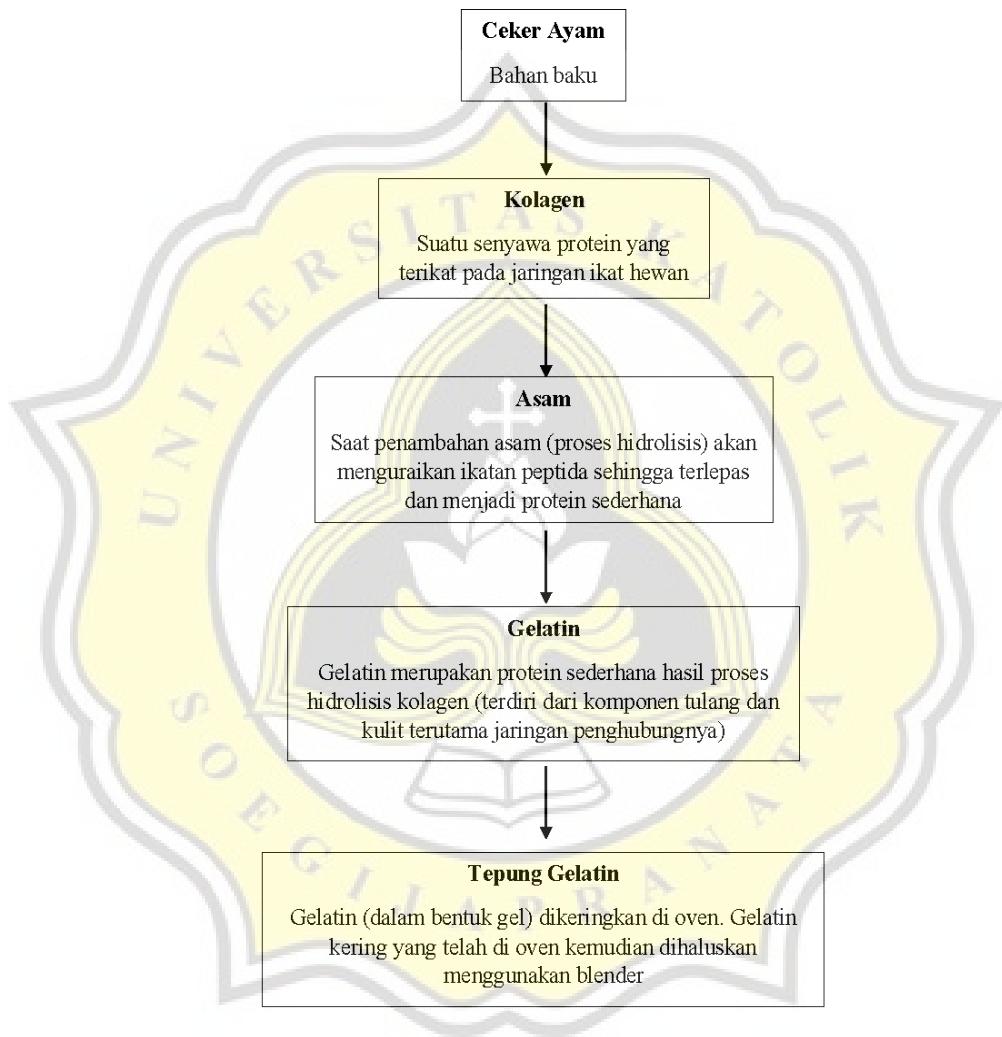
### **3.4.2. Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ceker ayam dari rumah potong ayam PT. CJDW dan Pasar Pedurungan Semarang. Ceker ayam yang digunakan yang dipotong pada hari itu juga, asam asetat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), aquadest,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{NaOH}$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , larutan Na/K tartarat, *Reagen Folin Cioceleau*, *Bovine Serum Albumine* (BSA).

### 3.5. Desain Konsep

#### 3.5.1. Kerangka Teoritis

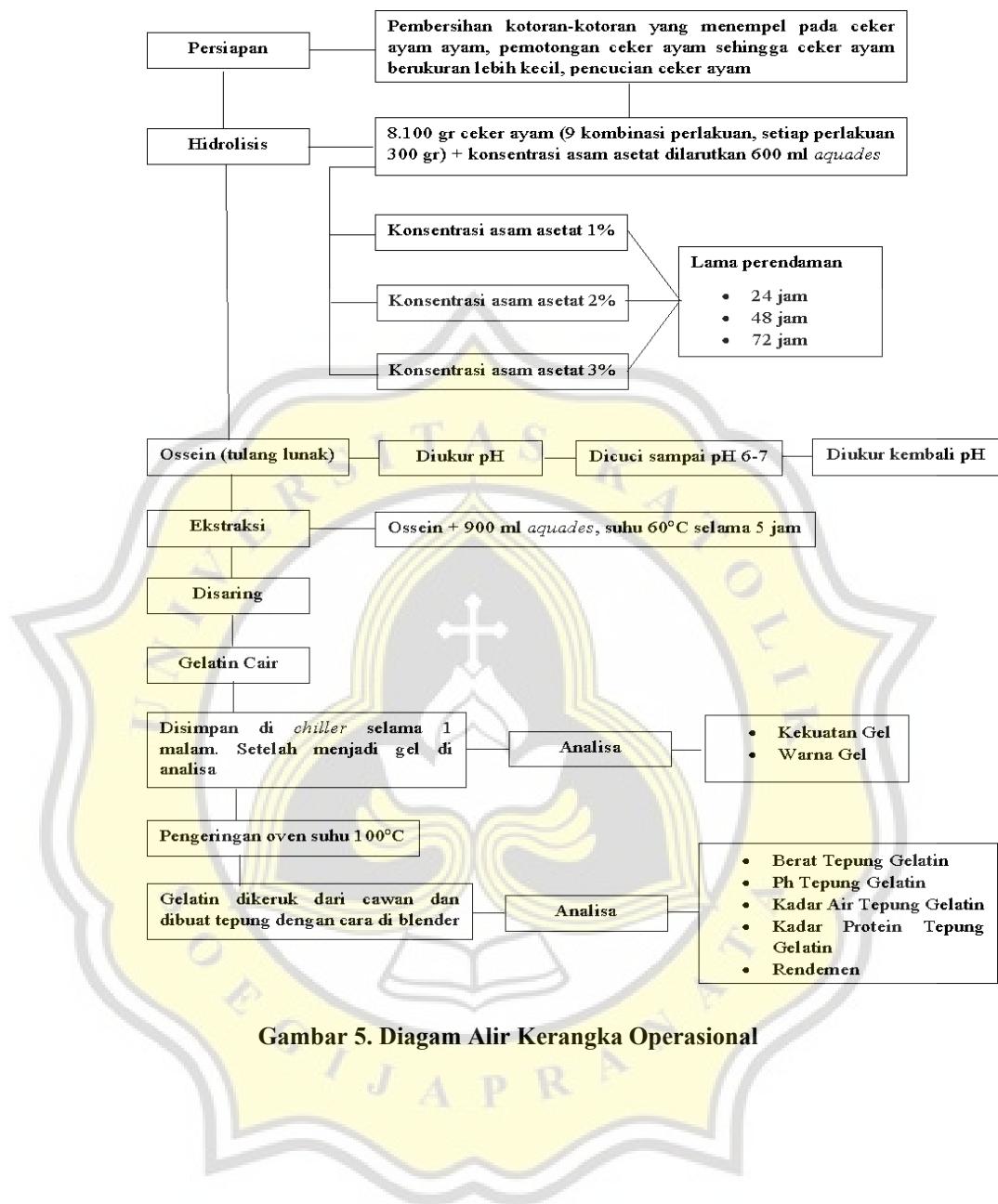
Berdasarkan desain penelitian di atas, maka kerangka teoritis dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 4. Kerangka Teoritis

#### 3.5.2. Kerangka Operasional Penelitian

Berdasarkan desain penelitian di atas, maka kerangka operasional (alur proses pembuatan) tepung gelatin dapat dilihat pada Gambar 4. di bawah ini:



Gambar 5. Diagram Alir Kerangka Operasional

## **3.6. Metode**

### **3.6.1. Tahap Persiapan**

Tahap persiapan dilakukan dengan pengumpulan bahan baku penelitian ini yaitu ceker ayam yang diperoleh dari tempat pemotongan ayam. Ceker ayam terlebih dahulu dicuci dengan air mengalir kemudian direndam air panas selama 15 menit. Ceker ayam kemudian dipotong kecil-kecil dan dibuang kuku serta bagian yang kotor. Setelah itu, dicuci lagi dengan air mengalir. Ceker ayam yang telah dipotong lalu ditiriskan serta ditimbang sebanyak 300 g untuk setiap perlakuan (Indrawan *et al.*, 2016).

### **3.6.2. Tahap Hidrolisis Gelatin**

Sebanyak 300 g ceker ayam yang telah dipotong-potong dimasukkan ke dalam *beaker glass* lalu ditambahkan larutan asam asetat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) 1%, 2%, dan 3% selama 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Rasio berat bahan terhadap larutan yang digunakan (1:2) dengan pengadukan dan ditutup menggunakan *plastic wrap*. Setelah hidrolisis dilakukan analisis pH saat setelah hidrolisis dan setelah penetralan. Ceker ayam yang telah menjadi *ossein* dilakukan penetralan dengan cara dicuci menggunakan air mengalir hingga pH netral (pH 6-7) (Hido *et al.*, 2021).

### **3.6.3. Tahap Ekstraksi dan Pengeringan Gelatin**

Ceker ayam hasil hidrolisis yang telah dinetralkan dilakukan ekstraksi dengan aquadest dengan menggunakan suhu 70°C selama 5 jam (Hido *et al.*, 2021). Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring dengan menggunakan saringan plastik kecil. Lalu hasil ekstrak yang telah disaring dimasukkan ke dalam kulkas selama 1 hari. Ekstrak akan menjadi gel. Gel tersebut diuji kekuatan gel dan warna. Setelah itu, ekstrak dikeringkan menggunakan cawan porselen di dalam oven suhu 70°C-90°C selama 24-72 jam. Kemudian, gelatin yang diperoleh di cawan porselen dikeruk. Gelatin yang sudah dikeruk kemudian di blender sehingga menghasilkan gelatin

bubuk. Gelatin bubuk yang didapat dilakukan analisis pH, kadar air, rendemen, kadar protein.

#### **3.6.4. Analisis Kekuatan Gel**

Gel yang didapat yang telah disimpan di dalam chiller kemudian dilakukan analisis kekuatan gel dengan menggunakan *texture analyzer*.

#### **3.6.5. Analisis Rendemen Tepung Gelatin**

Rendemen gelatin merupakan jumlah gelatin kering yang dihasilkan dari sejumlah bahan baku (ceker ayam) dalam keadaan bersih melalui proses ekstraksi (Rares *et al.*, 2017). Langkah-langkah perhitungan analisis rendemen sebagai berikut:

- a. Menimbang ceker ayam
- b. Menimbang produk gelatin yang dihasilkan
- c. Menghitung rendemen dengan rumus:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat gelatin}}{\text{Berat ceker ayam}} \times 100\%$$

#### **3.6.6. Analisis Kadar Air Tepung Gelatin**

Perhitungan kadar air dilakukan dengan melakukan perbandingan berat sebelum dan setelah dilakukan pengovenan dalam satuan persen (Pertiwi *et al.*, 2018).

Langkah-langkah perhitungan analisis kadar air sebagai berikut:

- a. Menimbang cawan kosong ( $W_0$ ).
- b. Memasukkan gelatin ke dalam cawan ( $W_1$ )
- c. Menimbang cawan yang berisi gelatin ke dalam oven dengan suhu 50°C selama 24 jam ( $W_2$ )
- d. Menghitung kadar air gelatin dengan rumus:

$$\text{Kadar air} = \frac{(W_1 - W_0) - (W_2 - W_0)}{(W_1 - W_0)} \times 100\%$$

### 3.6.7. Analisis pH Tepung Gelatin

Ditimbang 2 g gelatin kemudian dilarutkan dengan air bersuhu 25°C sebanyak 20 ml. Kemudian, dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* dengan cara dipanaskan hingga suhu 40-50°C. Lalu, diukur pH gelatin dengan menggunakan pH meter (Prihatiningsih *et al.*, 2014).

### 3.6.8. Analisis Kadar Protein Tepung Gelatin

**Persiapan sampel:** 0,5 g gelatin kering dihomogenkan dengan 30 mL natrium hidroksida (NaOH) 0,1 M dalam natrium klorida (NaCl) 3,5%. Kemudian dilakukan homogenisasi menggunakan *orbital shaker* selama 60 menit dengan 100 rpm. Setelah itu, diinkubasi di oven suhu 60°C selama 90 menit. Lalu disaring, menggunakan kertas saring kemudian hasil saringan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditutup dengan kertas aluminium lalu dimasukkan ke dalam kulkas selama 1 malam. Hasil ekstraksi yang telah didiamkan selama 1 malam di kulkas diambil 1 mL kemudian dilarutkan dengan 4 mL aquadest (larutan 1). Larutan 1 kemudian diambil 1 mL dilarutkan dengan 4 mL aquadest (larutan 2). Larutan 2 kemudian diambil 1 mL dilarutkan dengan 4 mL aquadest (larutan 3). Larutan 3 diambil 1 mL dilarutkan dengan 4 mL aquadest (larutan 4). Larutan 4 ini yang digunakan untuk uji kadar protein (Maehre *et al.*, 2018).

**Uji Kadar Protein:** Metode yang digunakan untuk uji kadar protein adalah metode *Lowry*. Beberapa pereaksi Metode *Lowry* yang harus disiapkan adalah sebagai berikut:

- Perekksi A: 2 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dilarutkan dalam 100 ml NaOH
- Perekksi B: 5 ml CuSO<sub>4</sub>.<sub>5</sub>H<sub>2</sub>O 1% ditambahkan ke dalam 3 ml larutan Na/K tartrat 1%
- Perekksi C: 2 ml perekksi B + 100 ml perekksi A
- Perekksi D: *reagen folin ciocleau* diencerkan dengan aquadest (1:1)

- Larutan standar: larutan BSA (*Bovine Serum Albumin*)

Larutan 3 diambil sebanyak 1 mL lalu ditambahkan aquadest hingga volumenya 4 mL. Kemudian, ditambahkan dengan 5 mL pereaksi C dan diaduk rata selanjurkan dibiarkan selama 15 menit pada suhu kamar. Lalu, ditambahkan dengan cepat 0,5 mL pereaksi D dan diaduk dengan sempurna, didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar. Serapannya diukur menggunakan *Spektrofotometer Uv-vis* pada panjang gelombang 650 nm. Untuk menentukan konsentrasi protein pada gelatin kering. Digunakan kurva standar BSA. Larutan standar BSA dibuat dengan konsentrasi 25; 50; 75; 100; 125; 150; 200 rpm (Muyassaroh *et al.*, 2020).

### 3.6.9. Analisis Data

Pada penelitian gelatin ini, data penelitian kolagen ditabulasi diuji kelayakan (normalitas), homogenitas varian, dan koefisien variasi. Data dari 3 tingkat konsentrasi asam asetat dengan 3 tingkat lama waktu hidrolisis diuji dengan menggunakan *two way ANOVA*. Data hasil *two way ANOVA*, sedangkan data pada setiap tingkat kombinasi perlakuan baik menurut konsentrasi asam asetat dan lama waktu perendaman diuji *one way ANOVA* kemudian disajikan dalam bentuk tabel dan gafik interaksi. Seluruh analisis data menggunakan alat bantu SPSS. Lalu, penyajian data dilakukan dalam bentuk tabel menggunakan perangkat lunak *Microsoft Office* dan *Microsoft Excel* 2021.