

3. METODOLOGI

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

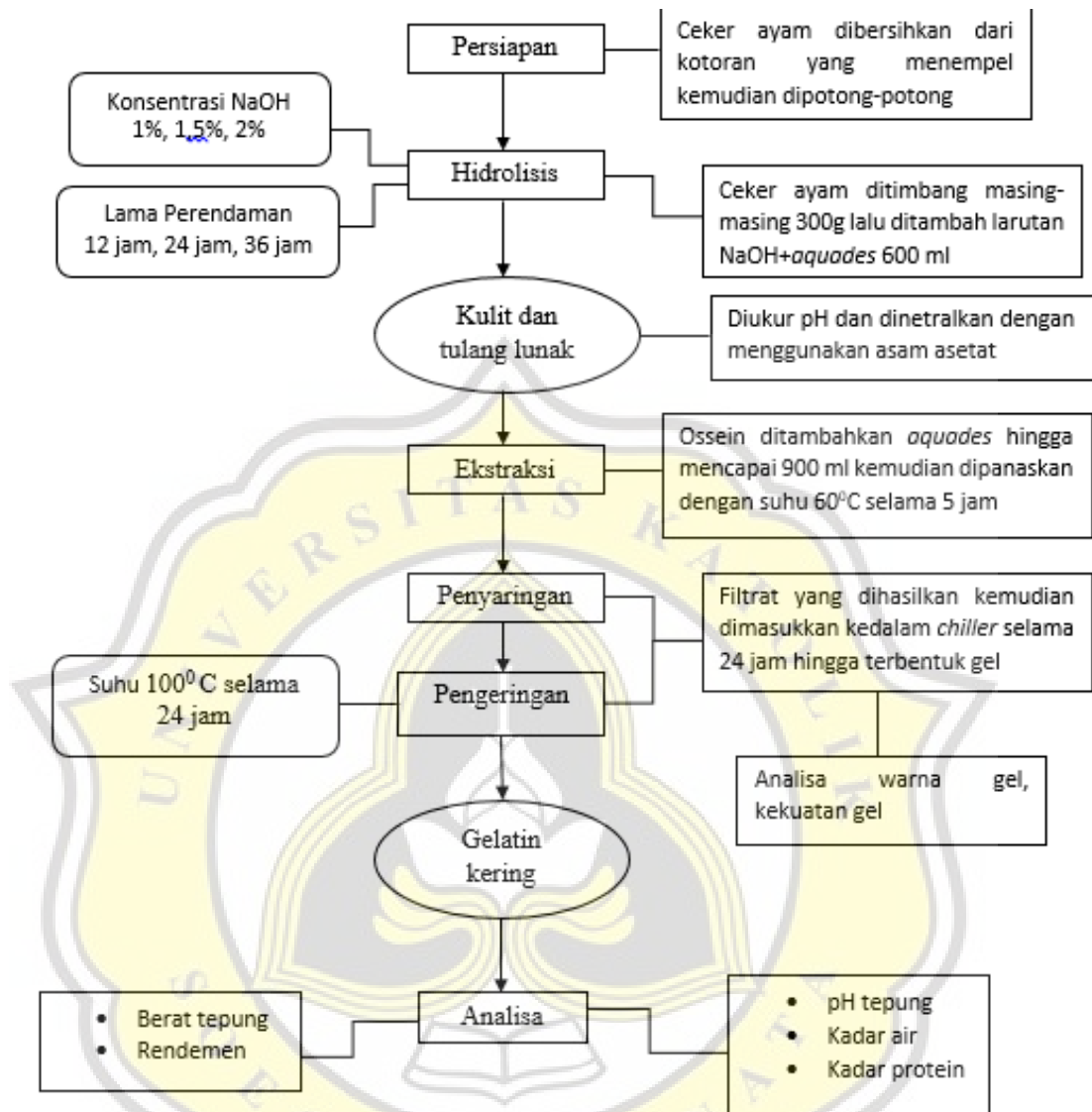
Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Ilmu Pangan, Kimia Dasar dan Laboratorium Experimen pada tanggal 5 Januari 2022 untuk melakukan uji pendahuluan kemudian pada tanggal 3 Juni 2022 hingga 22 September 2022 dilakukan uji utama untuk melakukan hidrolisis ceker ayam, analisis fisik dan analisis kimia.

3.2. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan eksperimental yang terdiri atas 2 variabel bebas yaitu konsentrasi NaOH dan lama perendaman, masing-masing dengan 3 tingkat; penelitian factorial 3x3. 3 tingkat konsentrasi NaOH 1%, 1,5%, dan 2% sedang 3 tingkat lama perendaman 12 jam, 24 jam, dan 36 jam. Dengan demikian diperoleh 9 kombinasi perlakuan yang masing-masing diulang sebanyak 3 kali; sehingga seluruh penelitian terdiri dari 27 unit penelitian. Parameter yang diamati pada penelitian ini yaitu parameter fisik dan kimia. Parameter fisik terdiri dari berat gel, kekuatan gel, berat tepung, rendemen, dan warna gel. Sedangkan parameter kimia terdiri dari kadar air, kadar protein, pH gel dan pH tepung. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji beda *Two Way Anova*, sedang hubungan antar indikator diuji dengan uji korelasi.

3.3. Desain Konsep

Berdasarkan desain penelitian diatas, maka dapat digambarkan desain konsep seperti pada Gambar 2. dibawah ini.



Keterangan:

- : proses
- ▭ : variabel
- : hasil

Gambar 3. Diagram Alir Kerangka Operasional

3.4. Variabel, Parameter dan Indikator

3.4.1. Variabel

Variabel penelitian yang digunakan adalah:

- **Variabel Kontrol:** suhu ekstraksi : 60°C dan suhu pengeringan : 100°C

- **Variabel Bebas:** konsentrasi larutan NaOH (1%, 1,5%, dan 2%) dan lama perendaman (12 jam, 24 jam, dan 36 jam)

3.4.2. Parameter dan Indikator Kualitas Gelatin Ceker Ayam

- **pH**

Nilai pH pada gelatin dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan, pH dapat mempengaruhi viskositas dan kekuatan gel. Standar nilai pH pada gelatin berada diantara 4,5-6,5 (GMIA, 2012).

- **Rendemen**

Rendemen merupakan parameter yang penting untuk mengetahui efektivitas dari proses pembuatan gelatin, semakin besar nilai rendemen yang dihasilkan maka perlakuan yang diberikan semakin efisien (Simpén *et al.*, 2016)

- **Kekuatan Gel**

Uji kekuatan merupakan faktor terpenting dalam menentukan kualitas gelatin tulang ceker ayam yang dihasilkan dan kemampuan gelatin dalam pembentukan gel (Simpén *et al.*, 2016). Nilai standar kekuatan gelatin yaitu 50-300g bloom (GMIA, 2012). Nilai kekuatan gel yang melebihi 300 bloom akan membuat gelatin menjadi lebih kaku, namun kekuatan gel yang kurang dari 50 bloom akan membuat gel pada gelatin menjadi sulit untuk terbentuk (Rahmawati & Hasdar, 2017).

- **Kadar Air**

Air merupakan komponen terpenting dalam suatu bahan pangan karena dapat mempengaruhi umur simpan produk. Menurut SNI (1995), kadar air maksimum dalam gelatin adalah 16%.

- **Kadar Protein**

Komponen utama gelatin adalah protein yang dihasilkan melalui hidrolisis kolagen. Kadar protein gelatin adalah 85-90% (SNI, 1995). Kadar protein yang tinggi pada gelatin dikarenakan gelatin merupakan salah satu jenis protein konversi yang dihasilkan melalui hidrolisis kolagen (Firawati, 2018)

3.5.Materi

3.5.1. Alat

Alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah oven, cawan, timbangan, bekker glass, Erlenmeyer, kertas saring, pipet tetes, pipet volume, tabung reaksi, spektrofotometer, chromameter

3.5.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ceker ayam, larutan NaOH 1%, 1,5% dan 2%, asam asetat, *aquades*, larutan standar BSA (*Bovine Serum Albumin*), NaCl, Na₂CO₃, CuSO₄, dan reagen folin cioceleau

3.6.Metode

3.6.1. Tahap Persiapan

Tahapan yang pertama adalah mengumpulkan sampel ceker ayam dari tempat pemotongan ayam. Ceker ayam dibersihkan dari kotoran, sisik dan daging yang masih menempel, kemudian dipotong-potong menjadi ukuran yang kecil. Ceker ayam yang telah dipotong-potong kemudian dicuci bersih dan dikeringkan hingga tidak ada lagi air yang menetes.

3.6.2. Tahap Hidrolisis

Dilakukan proses hidrolisis dengan larutan basa NaOH. Sebanyak ±300g ceker ayam yang sudah dipotong-potong ditambahkan larutan basa NaOH 1%, 1,5%, dan 2%. Rasio berat bahan terhadap larutan yang digunakan adalah 1:2 dengan pengadukan dan ditutup (Indrawan, Agustina, & Rijai, 2016). Proses hidrolisis dilakukan dengan variasi lama perendaman 12 jam, 24 jam dan 36 jam. Hasil hidrolisis kemudian dinetralkan dengan asam asetat 2% dan 3% dan diamati setiap 3 jam sekali hingga pH mencapai netral dan ditiriskan.

3.6.3. Tahap Ekstraksi dan Pengeringan

Ceker ayam hasil hidrolisis kemudian diekstraksi dengan menggunakan *aquades* dalam *waterbath* pada suhu 60⁰ C selama 5 jam dengan pengadukan. Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring dan didinginkan hingga terbentuk gel. Setelah

terbentuk gel kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 100⁰ C selama 24 jam hingga dihasilkan gelatin kering (Jannah *et al.*, 2013).

3.6.4. Analisis Rendemen

Ceker ayam ditimbang terlebih dahulu kemudian gelatin yang dihasilkan juga ditimbang dan dihitung rendemennya.

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

3.6.5. Analisis Kekuatan Gel

Gelatin diuji kekuatan gel nya menggunakan *Texture Analyzer* dengan satuan bloom (GMIA, 2012), prinsip kerja dari *Texture Analyzer* adalah kemampuan kembalinya bahan pangan yang ditekan ke kondisi awal setelah beban dihilangkan. Hasil pengujian akan terlihat dalam bentuk angka dan grafik.

3.6.6. Analisis Kadar Air

Sampel gelatin dimasukkan kedalam cawan porselin, kemudian dimasukkan dalam oven dan dikeringkan pada suhu 105⁰C selama 24 jam. Lalu didinginkan dalam desikator dan ditimbang hingga berat konstan. Dihitung kadar air dengan rumus:

$$\text{kadar air} = \frac{(b - c)}{(b - a)} \times 100\%$$

Keterangan:

a= berat cawan kosong

b= berat sampel+cawan sebelum dikeringkan

c= berat sampel+cawan setelah dikeringkan

3.6.7. Analisis Kadar Protein

Analisis kadar protein dilakukan dengan menggunakan Metode Lowry. Pertama-tama yang dilakukan adalah membuat larutan standart protein *Bovine Serum Albumine* (BSA) dengan berbagai tingkat konsentrasi dari 0 ppm hingga 100 ppm, kemudian masing-masing dilarutkan dengan aquades hingga 5ml lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan reagen. Kemudian dibaca

absorbansi pada panjang gelombang 650nm dengan menggunakan Spectrophotometer *uv-vis* dan setelahnya kurva standar dibuat. Pada sampel gelatin diambil 0,5 gr kemudian dihomogenkan dengan 30 ml larutan garam (NaOH+NaCl). Sampel yang sudah dihomogen kemudian diinkubasi pada suhu 60⁰ C selama 90 menit lalu di sentrifuge selama 10 menit. Supernatant yang dihasilkan dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian dimasukkan kedalam lemari pendingin selama 24 jam untuk kemudian dianalisis. Sampel yang sudah didinginkan lalu diambil sebanyak 1 ml dan dilakukan 125x pengenceran dengan ditambahkan aquades hingga volume mencapai 5ml. Kemudian diambil 1ml dan ditambahkan kedalam masing-masing tabung 0,9 ml reagen Lowry A dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 50⁰ C setelah itu biarkan pada suhu ruang. Kemudian ditambahkan 1 ml reagen Lowry B dan biarkan selama 10 menit. Setelah itu ditambahkan 3 ml reagen Lowry C dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 50⁰ C. Kemudian dibaca absorbansi pada panjang gelombang 650nm dengan menggunakan Spectrophotometer *uv-vis*.

3.6.8. Analisis pH gelatin

Sampel ditimbang sebanyak 2 gr dilarutkan dengan air bersuhu 25⁰ C sebanyak 20 ml kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* dengan cara dipanaskan hingga suhu 50⁰ C selama 10 menit. Lalu pH gelatin diukur dengan menggunakan pH meter.

3.6.9. Analisis Data

Data hasil penelitian kemudian diuji normalitas, homogenitas dan koefisien variasi kemudian dicari persamaannya. Data dari 3 tingkat konsentrasi basa dan waktu hidrolisis diuji secara faktorial dengan *Two Way Anova* pada tingkat kepercayaan 95%. Perbedaan antar rata-rata perlakuan diuji dengan prosedur sebagai berikut: jika koefisien variasi 10-20% diuji dengan Duncan Multiple Range Test, apabila mencapai 5-10% maka diuji dengan SNK (*Student Newman Keuls*). Hasil analisis *Two Way Anova* disajikan dalam bentuk tabel dan grafik interaksi, variasi pada setiap tingkat kombinasi perlakuan diuji dengan *One Way Anova* menurut

konsentrasi dan waktu. Seluruh analisis data dilakukan dengan alat bantu *SPSS for windows* versi 13.

