

# Optimasi Kondisi Suhu dan Waktu Ekstraksi Gelatin Tulang Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) pada Karakteristik Fisik

Zulfatun Najah<sup>1\*</sup>  
Nurul Annazhifah<sup>2</sup>  
Nurul Qisti<sup>3</sup>

<sup>12</sup>Food Technology, Agricultural Faculty,  
Universitas Sultan Ageng Tirtayasa, Serang,  
Banten, Indonesia

<sup>3</sup>Program Studi Teknologi Rekayasa Pangan,  
Politeknik Dewantara, Palopo, Sulawesi Selatan,  
Indonesia

z.najah@untirta.ac.id<sup>1</sup>  
nurul.annazhifah@untirta.ac.id<sup>2</sup>  
nuqyss@gmail.com<sup>3</sup>

## Abstrak

Gelatin, yang umumnya diproduksi dari kulit atau tulang babi dan sapi, menghadapi tantangan kehalalan dan larangan suku tertentu. Produksi gelatin sudah mulai beralih dengan eksplorasi bahan dari limbah perikanan dan dengan rekayasa produksi berbasis enzim pada mild kondisi dan dengan bahan yang lebih ramah lingkungan. Optimasi suhu, waktu, dan jenis enzim menjadi hal utama pada rancangan optimasi proses produksi gelatin dengan hidrolisis enzimatis. Penelitian menggunakan metode box behnken design dengan tiga faktor yaitu suhu (25, 35, 45); waktu ekstraksi (12, 16, 20), dan jenis enzim (papain dan bromelin). respon yang akan diamati adalah rendemen, viskositas dan kejernihan. Hasil evaluasi menunjukkan bahwa model interaksi dua faktor (2FI) merupakan model yang direkomendasikan untuk ketiga respons fungsional tersebut. Rendemen tertinggi sebesar 1,460% diperoleh pada perlakuan enzim papain (suhu 45 °C, waktu 20 jam) dengan viskositas 227 cP, dan kejernihan 0,46% dengan nilai desirability 1.

**Kata kunci :** *Optimasi, ekstraksi, gelatin, suhu, waktu, enzim*

**Wanatani**

Vol. 5, No. 2, 2025

ISSN 2808-7704 (Online)

**Corresponding Email**

z.najah@untirta.ac.id

Copyright © 2025

The Author(s)

This article is licensed under  
CC BY-NC-SA 4.0 License



## Pendahuluan

Gelatin merupakan hidrokoloid fungsional yang diaplikasikan secara luas dalam industri pangan sebagai bahan penstabil, pembentuk gel, pengikat, pengemulsi, pengental, perekat, dan penyalut makanan. Secara konvensional, gelatin diproduksi dari hidrolisis parsial kolagen yang berasal dari kulit atau tulang hewan ternak seperti sapi dan babi. Namun, adanya batasan keagamaan terkait kehalalan sumber babi serta larangan konsumsi pada kelompok etnis tertentu menimbulkan kekhawatiran bagi konsumen spesifik (Nurilmala et al., 2021). Sebagai solusinya, eksplorasi beralih ke sumber alternatif yang aman dan berkelanjutan, salah satunya memanfaatkan limbah industri pengolahan perikanan berupa kulit dan tulang ikan (Nurilmala et al., 2021).

Di Provinsi Banten, khususnya Kota Serang, ikan bandeng (*Chanos chanos*) merupakan komoditas unggulan dengan hilirisasi industri lokal yang sangat masif, seperti pada industri sate bandeng dan pecak bandeng. Sayangnya, tulang ikan dari industri ini belum dimanfaatkan secara maksimal dan kerap terbuang sebagai hasil samping yang mencemari lingkungan. Padahal, limbah tulang ikan bandeng ini memiliki potensi besar sebagai bahan baku gelatin karena mengandung komponen proaktif berupa kalsium 4%, fosfor 3%, dan protein sebesar 32% (Adawiyah, 2014). Proses transformasi kolagen menjadi gelatin dapat dilakukan melalui beberapa teknik, seperti proses asam, basa, dan enzimatik (Al Hajj et al., 2024). Metode kimiawi menggunakan asam atau basa kuat dikenal sangat korosif, menghasilkan produk akhir dengan konsentrasi garam yang tinggi (Al Hajj et al., 2024), serta berisiko mendegradasi rantai peptida secara berlebihan akibat aplikasi senyawa pemutus ikatan hidrogen dalam durasi yang tidak terkontrol (Ardani & Sugiharto, 2022). Konsentrasi asam yang ekstrem juga memicu reaksi Maillard yang membuat warna gelatin menjadi lebih gelap.

Sebagai alternatif yang lebih hijau (*green technology*), hidrolisis enzimatik menggunakan protease menawarkan keunggulan berupa pengurangan penggunaan bahan kimia anorganik, proses pemurnian yang lebih mudah, serta operasional pada kondisi suhu dan pH yang lebih moderat. Dua jenis enzim protease tumbuhan yang potensial dan terjamin kehalalannya adalah bromelin (nanas) dan papain (pepaya). Kedua enzim ini memiliki aktivitas proteolitik dan lokasi pemutusan ikatan peptida yang berbeda pada molekul kolagen (Al Hajj et al., 2024), di mana papain menghidrolisis secara selektif untuk ekstraksi yang sempurna, sementara bromelin efektif memotong ikatan peptida menjadi bentuk yang lebih sederhana (Ilyas et al., 2020).

Keberhasilan hidrolisis enzimatik ini sangat dipengaruhi oleh parameter fisik proses, di antaranya suhu ekstraksi dan waktu perendaman yang berfungsi melonggarkan struktur kolagen agar tingkat kelarutannya meningkat (Putri et al., 2023). Beberapa riset terdahulu menunjukkan variasi kondisi optimum yang sangat spesifik, seperti waktu perendaman 12 jam untuk tulang ikan cakalang (Lamalelang et al., 2019) atau penggunaan papain selama 6 jam pada suhu 60°C (Ahmad et al., 2019). Namun, terdapat kekosongan penelitian (*research gap*) yang nyata di mana optimasi parameter-parameter ini umumnya masih dilakukan menggunakan satu faktor. Pendekatan konvensional tersebut belum memetakan efek interaksi simultan antara variasi suhu, durasi perendaman yang diperpanjang (hingga 20 jam), dan spesifisitas jenis enzim terhadap mutu gelatin yang dihasilkan. Akibatnya, model prediksi yang akurat untuk menghasilkan gelatin dengan karakteristik fisik (kejernihan dan viskositas) dan rendemen belum dipetakan.

Untuk mengisi celah ilmiah tersebut, penelitian ini menerapkan *Response Surface Methodology* (RSM) menggunakan *Box-Behnken Design* (BBD). Metode ini dipilih karena efisiensinya dalam mengoptimalkan interaksi multivariabel dengan

jumlah uji eksperimen yang minimal dan terstruktur. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis, memodelkan, dan mengoptimalkan pengaruh interaksi antara tiga faktor utama, yaitu suhu ekstraksi (25, 35, 45°C), waktu perendaman (12, 16, 20 jam), dan jenis enzim (papain dan bromelin) terhadap respons fungsional berupa rendemen dan kejernihan (*clarity*) gelatin. Penelitian ini akan memvisualisasi dan memformulasi model matematika prediktif berbasis BBD yang mengombinasikan 3 faktor, guna mengeksplorasi potensi limbah industri sate dan pecak bandeng khas Banten menjadi alternatif produk gelatin halal dengan rendemen dan profil kejernihan yang tinggi.

## Metode

### Bahan

Penelitian dilaksanakan pada Bulan April – Agustus 2024 di Laboratorium Teknologi Pangah, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa. Bahan utama yang digunakan adalah limbah tulang ikan bandeng (*Chanos chanos*) yang diperoleh dari industri sate dan pecak bandeng di Kota Serang, Banten serta bahan lain seperti enzim papain (99%) dengan aktivitas 100.000 U/gram dan bromelin (99%) dengan aktivitas 50.000 U/gram (Shanxi Fonde Biotech Co LTD (China), aquades, dan kertas saring. Peralatan utama yang digunakan meliputi *centrifuge* (Gemmy PL-025, Taiwan), *oven incubator* (B-ONE IO-65, China), vortex (Vortex DLAB MX-S, China), desikator, blender, neraca analitik (Excellent HZK 210, Indonesia), Viscometer (brokefield), serta perangkat lunak Design-Expert untuk pemodelan statistik.

### Metode Pelaksanaan

Tahapan pelaksanaan dilakukan dalam 3 tahap. Hal ini diawali dengan preparasi tulang ikan bandeng melalui pencucian, perebusan untuk menghilangkan sisa daging, pengecilan ukuran. Tahapan selanjutnya adalah ekstraksi secara enzimatik menggunakan larutan enzim 500Unit,/gram pada tiga factor (suhu, waktu, jenis enzim). Campuran tulang dan enzim diinkubasi dalam water bath sesuai matriks kombinasi, kemudian diinaktivasi pada suhu 70°C selama 4 jam dengan menggunakan hot plate, disaring, lalu disentrifuse. Filtrat yang diperoleh dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C hingga menghasilkan karakteristik gelatin kering. Tahapan ketiga adalah analisis karakteristik produk.

### Rancangan Penelitian

Proses ekstraksi dirancang menggunakan Response Surface Methodology (RSM) dengan pola *Box-Behnken Design* (BBD) tiga faktor. Variabel independen yang dievaluasi meliputi suhu ekstraksi ( $X_1$ ), waktu perendaman ( $X_2$ ), dan jenis enzim ( $X_3$ ) dengan batas atas dan batas bawah yang ditunjukkan pada Tabel 1. Matriks BBD menghasilkan 14 kombinasi perlakuan acak, termasuk titik pusat (center points) (Tabel 2).

**Tabel 1. Penentuan variabel bebas dan kode perlakuan pada penelitian**

| Faktor           | Batas bawah | Batas atas |
|------------------|-------------|------------|
| Suhu ekstraksi   | 25          | 45         |
| Waktu perendaman | 12          | 20         |
| Jenis enzim      | bromelin    | papain     |

**Tabel 2. Rancangan penelitian Response Surface Methodology**

| Run | X <sub>1</sub> | X <sub>2</sub> | X <sub>3</sub> |
|-----|----------------|----------------|----------------|
| 1   | 35             | 16             | papain         |
| 2   | 25             | 16             | papain         |
| 3   | 35             | 20             | bromelin       |
| 4   | 25             | 12             | papain         |
| 5   | 35             | 16             | papain         |
| 6   | 35             | 12             | papain         |
| 7   | 35             | 20             | papain         |
| 8   | 45             | 16             | papain         |
| 9   | 45             | 12             | papain         |
| 10  | 25             | 16             | bromelin       |
| 11  | 25             | 20             | papain         |
| 12  | 45             | 20             | bromelin       |
| 13  | 45             | 20             | papain         |
| 14  | 35             | 12             | bromelin       |

**Metode Analisis**

Target optimasi difokuskan pada dua respon fungsional utama, yaitu kuantitas (rendemen), viskositas, dan kualitas optik (kejernihan) gelatin.

**Rendemen (%)**: Ditentukan dengan membandingkan berat kering gelatin yang diperoleh terhadap berat kering tulang ikan bandeng awal sebelum demineralisasi, menggunakan rumus

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{bobot gelatin kering}}{\text{bobot tulang bandeng}} \times 100\%$$

**Kejernihan (%)**: Diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sampel gelatin dilarutkan dalam akuades hangat (60 °C) hingga konsentrasi 6,67% (b/v). Tingkat kejernihan ditentukan berdasarkan nilai transmitansi (%T) yang dibaca pada panjang gelombang  $\lambda = 620\text{nm}$  dengan akuades sebagai blanko.

**Viskositas (cP)**: Diukur menggunakan Viscometer brookfield. Larutan gelatin 6,67% (b/b) disiapkan dengan mencampur 7 g sampel gelatin dan 105 mL akuades. Nilai viskositas larutan diukur menggunakan alat viskometer Anton Paar tipe DC 300 pada suhu konstan 60 °C. Pengujian ini dioperasikan pada kecepatan 60 rpm dengan menggunakan spindel spesifik.

**Metode Analisis Data**

Sebagai dasar perhitungan model teoretis respon permukaan, data eksperimen dianalisis secara multivariat. Hubungan fungsional antara variabel bebas (X) dan respon prediktif (Y) didekati dengan analisis multiple regresi untuk mendapatkan model optimasi yang dipresentasikan dengan rumus:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{21} X_{21} + \beta_{22} X_{22} + \beta_{12} X_1 X_2 + \varepsilon$$

Di mana  $\beta_0$  adalah konstanta intersep, sedangkan  $\beta_i$ ,  $\beta_{ii}$ ,  $\beta_{iii}$  masing-masing melambangkan koefisien linear, kuadratik, dan interaksi antarvariabel. Analisis Varians (ANOVA) diterapkan pada tingkat kepercayaan 95% ( $\alpha=0,05$ ) untuk menguji signifikansi model matematika dan memeriksa ada tidaknya gejala *lack of fit*.

## Hasil

### Hasil Respon

Penggunaan *Response Surface Methodology* (RSM) diawali dengan perancangan dan pelaksanaan percobaan demi mendapatkan data respons yang valid. Data respons tersebut selanjutnya dianalisis secara bertahap menggunakan model polinomial dengan kompleksitas berjenjang, mulai dari model linear, kuadratik, hingga derajat tinggi seperti special cubic dan cubic. Model yang diperoleh kemudian divalidasi menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) untuk menguji signifikansi model dan memeriksa *lack of fit* (LOF). Model dengan kemampuan prediktif terbaik dipilih sebagai dasar untuk melanjutkan analisis ke fase optimasi (Widarsaputra et al., 2022). Kriteria seleksi model terbaik mengacu pada nilai  $R^2$  mendekati 1, signifikansi model, nilai *lack of fit* yang tidak signifikan, serta kedekatan nilai *adjusted*  $R^2$  dan *predicted*  $R^2$  dengan selisih di bawah 0,2 (Alfilaili et al., 2021). Data pengukuran dan perhitungan respons gelatin untuk setiap formulasi tercantum pada Tabel 3.

**Tabel 3. Hasil Pengukuran dan Perhitungan Respon**

| Run | X <sub>1</sub> | X <sub>2</sub> | X <sub>3</sub> | Rendemen<br>(Y <sub>1</sub> )<br>(%) | Kejernihan<br>(Y <sub>2</sub> )<br>(%) | Viskositas<br>(Y <sub>3</sub> )<br>cP |
|-----|----------------|----------------|----------------|--------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------|
|     | °C             | jam            |                |                                      |                                        |                                       |
| 1   | 35             | 16             | papain         | 1,130                                | 0,850                                  | 165                                   |
| 2   | 25             | 16             | papain         | 0,830                                | 1,160                                  | 180                                   |
| 3   | 35             | 20             | bromelin       | 1,438                                | 0,490                                  | 135                                   |
| 4   | 25             | 12             | papain         | 0,630                                | 1,480                                  | 195                                   |
| 5   | 35             | 16             | papain         | 1,180                                | 0,852                                  | 203                                   |
| 6   | 35             | 12             | papain         | 1,030                                | 1,140                                  | 255                                   |
| 7   | 35             | 20             | papain         | 1,190                                | 0,715                                  | 135                                   |
| 8   | 45             | 16             | papain         | 1,330                                | 0,266                                  | 195                                   |
| 9   | 45             | 12             | papain         | 1,220                                | 0,401                                  | 210                                   |
| 10  | 25             | 16             | bromelin       | 1,347                                | 0,290                                  | 230                                   |
| 11  | 25             | 20             | papain         | 0,900                                | 1,151                                  | 120                                   |
| 12  | 45             | 20             | bromelin       | 1,253                                | 0,290                                  | 120                                   |
| 13  | 45             | 20             | papain         | 1,460                                | 0,209                                  | 165                                   |
| 14  | 35             | 12             | bromelin       | 1,079                                | 0,200                                  | 240                                   |

### Analisis Respon Rendemen

Rendemen merupakan berat (bobot) gelatin yang dihasilkan terhadap bobot tulang bandeng. Analisis rendemen pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui persentase dan jumlah gelatin yang dihasilkan dari ekstraksi. Data hasil respon rendemen gelatin dapat dilihat pada Tabel 3. Berdasarkan hasil penelitian terlihat bahwa nilai rendemen tertinggi terdapat pada perlakuan perlakuan enzimatis papain pada suhu 45 °C, waktu 20 jam yaitu 1,460% sedangkan nilai rendemen terendah terdapat pada ekstraksi enzimatis papain dengan suhu 25 °C selama 12 jam yang menghasilkan rendemen 0,630%. Hasil analisis sidik ragam (ANOVA) untuk respon rendemen ditunjukkan pada Tabel 4.

**Tabel 4. Analisis sidik ragam (ANOVA) pada respon rendemen**

| Model matematika | R <sup>2</sup> | Adj R <sup>2</sup> | Pred-R <sup>2</sup> | Adeq-prec. | Keterangan |
|------------------|----------------|--------------------|---------------------|------------|------------|
| 2FI              | 0.9680         | 0.9406             | 0.8216              | 18,93      | Suggested  |
| Linear           | 0.7365         | 0.6574             | 0.3689              |            |            |
| Quadratic        | 0.9872         | 0.9667             | 0.7847              |            | aliased    |

| Model   |          |             | Lack of Fit |         |                 |
|---------|----------|-------------|-------------|---------|-----------------|
| f-value | p-value  | Ket.        | f-value     | p-value | Ket.            |
| 35.31   | < 0.0001 | significant | 2.99        | 0.4156  | not significant |

Berdasarkan hasil analisis ragam (ANOVA) terhadap data respon rendemen, model interaksi dua faktor (2F1) memiliki nilai *p-value* sebesar 35,31 yang menunjukkan bahwa faktor dalam model signifikan atau berpengaruh nyata terhadap respon rendemen pada taraf signifikansi 5%. *Lack of fit* model tersebut memiliki nilai *p-value* sebesar 2,99 yang menunjukkan bahwa model ini tidak signifikan terhadap *pure error* atau lebih dari nilai  $\alpha$  (5%). Nilai *lack of fit* yang tidak signifikan ini menunjukkan adanya kesesuaian data antara respon rendemen dengan model. Menurut Rahmawati *et al.* (2022) *lack of fit* menunjukkan ketidaksesuaian model dengan data. Jika nilai *lack of fit* kurang dari nilai  $\alpha$  (5%) atau signifikan maka model dinyatakan tidak sesuai dengan data yang ada. Model yang baik memiliki nilai *lack of fit* yang tidak signifikan atau lebih dari nilai  $\alpha$  (5%).

Pada respon rendemen diperoleh nilai *predicted R-squared* dan *adjusted R-squared* secara berturut-turut sebesar 0,8216 dan 0,9406. Hal tersebut menunjukkan bahwa data yang diprediksi dan data aktual pada respon rendemen tercakup ke dalam model sebesar 82,16% dan 94,06%. Nilai *predicted R-squared* yang diperoleh mendukung nilai *adjusted R-squared* yang dihasilkan karena selisih keduanya lebih kecil dari 0,2 yaitu sebesar 0,12. Nilai dengan selisih  $R^2$  yang lebih kecil dari 0,2 ini menandakan bahwa model yang diperoleh merupakan model yang sesuai (Subangkit, 2012). Jika nilai *R-square* atau  $R^2$  tinggi (mendekati 1) maka data tidak terlalu bervariasi atau sedikit pencilan (*outlier*). *Adjusted R-square* adalah *R-square* dihitung berdasarkan data yang diperoleh, sedangkan *predicted R-square* adalah *R-square* prediksi.

Program *Design Expert* memberikan toleransi selisih antara kedua  $R^2$  sebesar 0,2. Apabila selisih nilai kedua  $R^2$  kurang atau sama dengan 0,2 maka dinyatakan data *in reasonable agreement* yang artinya tidak banyak data pencilan atau nilai respon prediksi sesuai dengan nilai respon aktual, sehingga model yang diperoleh dapat memodelkan data dengan baik. Persamaan polinomial dari model yang terpilih berdasarkan analisis ragam ditunjukkan pada persamaan berikut.

$$Y_1 = 1.19 + 0.1100A + 0.1483B - 0.1000C - 0.0075AB + 0.1650AC - 0.0367BC... \quad (1)$$

Keterangan:

Y1= Respon Rendemen (%)

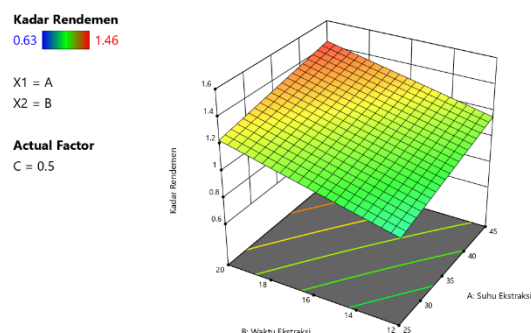
A= Suhu (°C)

B= Waktu (jam)

C= jenis enzim

Persamaan polinomial (1) digunakan untuk menganalisis pengaruh perlakuan suhu waktu, dan jenis enzim terhadap nilai rendemen gelatin. Melalui model matematika tersebut, koefisien positif mencerminkan adanya peningkatan respons, sementara koefisien negatif mengindikasikan penurunan respons seiring bertambahnya nilai variabel. Data model menunjukkan bahwa peningkatan suhu dan waktu memicu peningkatan rendemen gelatin dengan nilai koefisien +0,11A dan 0,19B. jenis enzim berkorelasi negatif pada rendemen (mendekati nilai 0) yang menunjukkan tidak berpengaruh pada rendemen. Meskipun demikian, interaksi antar-faktor fungsional dalam sistem ekstraksi memberikan dampak negatif

terhadap akumulasi rendemen, yang ditunjukkan oleh nilai koefisien berturut-turut sebesar -0,007 pada interaksi suhu dan waktu; -0,037 pada interaksi waktu dan jenis enzim. Tren interaktif dan titik kurvatur respons rendemen ini dapat dicermati pada grafik 3D yang tertera pada Gambar 1.



Gambar 1. Plot contour respon rendemen

### Analisis Respon kejernihan

Kejernihan gel gelatin penting untuk tujuan estetika. Tingkat transparansi gelatin berbanding lurus dengan nilai kejernihannya, di mana air murni digunakan sebagai standar acuan dengan nilai transmitansi (%T) 100% (Puspitasari et al., 2013).

Data hasil respon kejernihan gelatin dapat dilihat pada Tabel 3. Berdasarkan hasil penelitian terlihat bahwa nilai *clarity* /kejernihan tertinggi terdapat pada perlakuan perlakuan enzimatis papain pada suhu 25 °C, waktu 16 jam yaitu 1,160% sedangkan nilai kejernihan terendah terdapat pada ekstraksi enzimatis bromelin dengan suhu 35 oC selama 12 jam sebesar 0,2%. Hasil analisis sidik ragam (ANOVA) untuk respon kejernihan (*clarity*) ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Analisis sidik ragam (ANOVA) pada respon kejernihan

| Model matematika | R <sup>2</sup> | Adj R <sup>2</sup> | Pred-R <sup>2</sup> | Adeq-prec. | Keterangan |
|------------------|----------------|--------------------|---------------------|------------|------------|
| 2FI              | 0.9730         | 0.9499             | 0.9153              | 19.5107    | Suggested  |
| Linear           | 0.7668         | 0.6968             | 0.4463              |            |            |
| Quadratic        | 0.9890         | 0.9713             | 0.7666              |            | Aliased    |

| Model   |          |             | Lack of Fit |         |             |
|---------|----------|-------------|-------------|---------|-------------|
| f-value | p-value  | Ket.        | f-value     | p-value | Ket.        |
| 42,12   | < 0.0001 | significant | 5402,03     | 0.0104  | significant |

Berdasarkan hasil analisis ragam (ANOVA) terhadap data respon kejernihan, model interaksi dua faktor (2F1) memiliki nilai *p-value* sebesar 42,12 yang menunjukkan bahwa faktor dalam model signifikan atau berpengaruh nyata terhadap respon kejernihan pada taraf signifikansi 5%. *Lack of fit* model tersebut memiliki nilai *p-value* sebesar 5402 yang menunjukkan bahwa model ini signifikan terhadap *pure error*. Nilai *lack of fit* yang signifikan ini menunjukkan adanya tidak ada kesesuaian data antara respon kejernihan dengan model, atau tidak ada pengaruh faktor pada respon kejernihan. Pada respon kejernihan diperoleh nilai *predicted R-squared* dan *adjusted R-squared* secara berturut-turut sebesar 0,9153 dan 0,9499. Hal tersebut menunjukkan bahwa data yang diprediksi dan data aktual pada respon kejernihan tercakup ke dalam model sebesar 91,53% dan 94,99%. Nilai

*predicted R-squared* yang diperoleh mendukung nilai *adjusted R-squared* yang dihasilkan karena selisih keduanya lebih kecil dari 0,2 yaitu sebesar 0,03. Nilai dengan selisih  $R^2$  yang lebih kecil dari 0,2 ini menandakan bahwa model yang diperoleh merupakan model yang sesuai (Subangkit, 2012). Jika nilai *R-square* atau  $R^2$  tinggi (mendekati 1) maka data tidak terlalu bervariasi atau sedikit pencilan (*outlier*). Persamaan polinomial dari model yang terpilih berdasarkan analisis ragam ditunjukkan pada persamaan berikut.

$$Y_2 = 0.56995 - 0.2429A - 0.0063B + 0.2524C + 0.0343AB - 0.2429AC - 0.1513BC \dots \quad (2)$$

Keterangan:

$Y_2$  = Respon kejernihan/*clarity* (%)

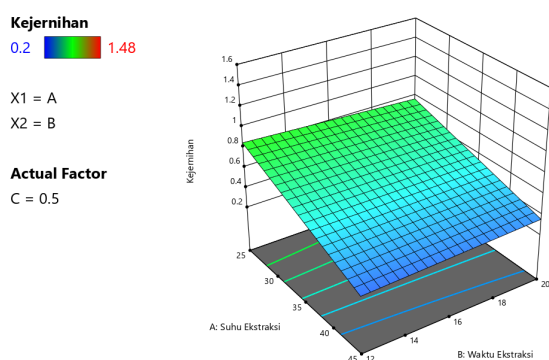
A = Suhu ( $^{\circ}\text{C}$ )

B = Waktu (jam)

C = jenis enzim

Persamaan polinomial (2) digunakan untuk menganalisis pengaruh perlakuan suhu waktu, dan jenis enzim terhadap nilai kejernihan gelatin. Melalui model matematika tersebut menunjukkan bahwa penurunan suhu dan waktu memicu peningkatan kejernihan gelatin dengan nilai koefisien  $-0,25A$  dan  $0,006B$ . jenis enzim berkorelasi positif pada kejernihan. Rahman et al. (2022) menyatakan tingginya nilai %T yang terukur mencerminkan tingkat kejernihan produk gelatin yang semakin optimal. Fenomena transmisi cahaya yang tinggi ini berkorelasi dengan rendahnya densitas partikel tidak larut dalam larutan koloid, sehingga meminimalkan hamburan cahaya yang menjadi penyebab utama kekeruhan. Karakteristik keruh pada gelatin sendiri dapat dipicu oleh interaksi beberapa faktor, seperti jenis material baku, karakteristik pelarut, serta kondisi lingkungan proses. Dalam konteks tersebut, Zarai et al. (2012) menambahkan bahwa kontaminasi senyawa pengotor (bahan inorganik dan kontaminan) mempengaruhi kekeruhan gelatin dan faktor kritis yang menyebabkan penurunan performa kualitas optik produk akhir.

Meskipun demikian, interaksi antar-faktor fungsional dalam sistem ekstraksi memberikan dampak positif terhadap nilai kejernihan, yang ditunjukkan oleh nilai koefisien 0,03 pada interaksi antara waktu dan suhu, sedangkan memberikan dampak negative pada interaksi enzim dengan suhu  $-0,24$ ; dan interaksi enzim dengan waktu sebesar  $-0,037$ . Tren interaktif dan titik kurvatur respons kejernihan ini dapat dicermati pada grafik 3D yang tertera pada Gambar 2.



Gambar 2. Plot contour respon kejernihan

### Analisis Respon Viskositas

Viskositas merupakan standar mutu gelatin (GMIA, 2019) dan mencerminkan tingkat kekentalan larutan gelatin pada kondisi konsentrasi dan suhu spesifik. Menurut Setiawati (2009), nilai viskositas gelatin berhubungan langsung dengan berat molekul (BM) rata-rata dan distribusi molekulnya. Dimensi bobot molekul ini berbanding lurus dengan panjang pendeknya rantai asam amino yang menyusun gelatin, sehingga semakin panjang rantai polipeptida yang dipertahankan, maka viskositas produk akan semakin meningkat. Data hasil respon viskositas gelatin dapat dilihat pada Tabel 3. Berdasarkan hasil penelitian terlihat bahwa nilai viskositas tertinggi terdapat pada perlakuan perlakuan enzimatis papain pada suhu 35 °C, waktu 12 jam yaitu 255 cP sedangkan nilai viskositas terendah terdapat pada ekstraksi enzimatis bromelin pada suhu 45 oC selama 20 jam sebesar 120 cP dan ekstraksi enzimatis papain pada suhu 25 oC selama 20 jam sebesar 120 cP. Hasil analisis sidik ragam (ANOVA) untuk respon viskositas ditunjukkan pada Tabel 6.

**Tabel 6. Analisis sidik ragam (ANOVA) pada respon viskositas**

| Model matematika | R <sup>2</sup> | Adj R <sup>2</sup> | Pred-R <sup>2</sup> | Adeq-prec. | Keterangan |
|------------------|----------------|--------------------|---------------------|------------|------------|
| 2FI              | 0.8844         | 0.7852             | 0.9153              | 7.8904     | Suggested  |
| Linear           | 0.5955         | 0.4741             | 0.0676              |            |            |
| Quadratic        | 0.9051         | 0.7533             | 0.3220              |            |            |

| Model   |         |             | Lack of Fit |         |                 |
|---------|---------|-------------|-------------|---------|-----------------|
| f-value | p-value | Ket.        | f-value     | p-value | Ket.            |
| 8,92    | 0,054   | significant | 0,5074      | 0,7901  | Not significant |

Berdasarkan hasil analisis ragam (ANOVA) terhadap data respon viskositas, model interaksi dua faktor (2F1) adalah model yang direkomendasikan karena memiliki nilai *p-value* sebesar 8,92 yang menunjukkan bahwa faktor dalam model signifikan atau berpengaruh nyata terhadap respon viskositas pada taraf signifikansi 5%. *Lack of fit* model tersebut memiliki nilai *p-value* sebesar 0,51 yang menunjukkan bahwa model ini tidak signifikan terhadap *pure error* pada  $\alpha=5\%$  dan terdapat kesesuaian data antara respon viskositas dengan model.

Pada respon tersebut diperoleh nilai *predicted R-squared* dan *adjusted R-squared* secara berturut-turut sebesar 0,7852 dan 0,9153. Hal tersebut menunjukkan bahwa data yang diprediksi dan data aktual pada respon viskositas tercakup ke dalam model sebesar 78,52% dan 91,52%. Nilai *predicted R-squared* yang diperoleh mendukung nilai *adjusted R-squared* yang dihasilkan karena selisih keduanya lebih kecil dari 0,2 yaitu sebesar 0,12. Nilai dengan selisih R<sup>2</sup> yang lebih kecil dari 0,2 ini menandakan bahwa model yang diperoleh merupakan model yang sesuai. Jika nilai *R-square* atau R<sup>2</sup> tinggi (mendekati 1) maka data tidak terlalu bervariasi atau sedikit pencilan (*outlier*). Persamaan polinomial dari model yang terpilih berdasarkan analisis ragam ditunjukkan pada persamaan berikut.

$$Y_3 = 181.775 - 21.25A - 46.25B + 0.5250C + 7.50AB + 33.75AC + 6.25BC... \quad (3)$$

Keterangan:

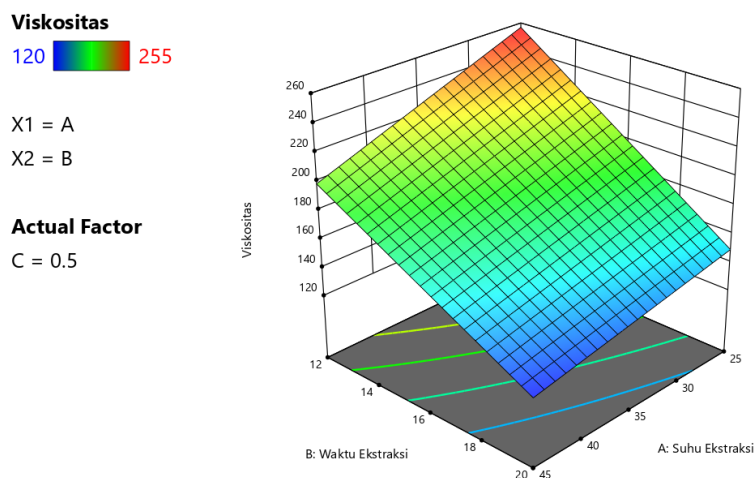
Y<sub>3</sub>= Respon viskositas (cP)

A= Suhu (°C)

B= Waktu (jam)

C= jenis enzim

Persamaan polinomial (3) digunakan untuk menganalisis pengaruh perlakuan suhu waktu, dan jenis enzim terhadap nilai viskositas gelatin. Melalui model matematika tersebut, koefisien positif mencerminkan adanya peningkatan respons, sementara koefisien negatif mengindikasikan penurunan respons seiring bertambahnya nilai variabel. Data model menunjukkan bahwa peningkatan suhu dan waktu memicu penurunan viskositas gelatin dengan nilai koefisien -21,25 A dan -46,259 B. Jenis enzim berkorelasi positif pada viskositas yang menunjukkan berpengaruh pada viskositas. Berdasarkan persamaan diketahui juga adanya interaksi antar-faktor fungsional dalam sistem ekstraksi yang memberikan dampak positif terhadap viskositas, yang ditunjukkan oleh nilai koefisien berturut-turut sebesar 7,5 AB; 33,75 AC, 6,25 BC. Proses hidrolisis yang berlanjut memicu degradasi rantai peptida menjadi lebih pendek serta menurunkan bobot molekulnya, yang pada gilirannya memengaruhi karakteristik reologi produk. Huda et al. (2013) menyatakan bahwa semakin pendek rantai asam amino yang terbentuk, maka nilai viskositas yang dihasilkan akan cenderung semakin rendah. Dalam konteks ekstraksi enzimatik, perpanjangan durasi perendaman matriks tulang di dalam larutan enzim mengintensifkan pemutusan ikatan peptida. Fenomena ini memperkecil ukuran molekul gelatin dan secara langsung menyebabkan penurunan nilai viskositas larutan yang diperoleh. Tren interaktif dan titik kurvatur respons viskositas ini dapat dicermati pada grafik 3D yang tertera pada Gambar 3.



Gambar 3. Plot contour respon viskositas

## Simpulan

Berdasarkan hasil analisis *Response Surface Methodology* (RSM) *Box-behnken* didapatkan formula optimum didapatkan kondisi optimum. Model interaksi dua faktor (2FI) menjadi model matematika prediktif terbaik yang disarankan untuk menggambarkan karakteristik fisik gelatin tulang ikan bandeng. Peningkatan parameter suhu dan waktu berbanding lurus terhadap akumulasi rendemen. Kondisi ekstraksi optimal untuk kuantitas produk tercapai pada penggunaan enzim papain dengan suhu tinggi (45 °C) dan waktu perendaman terlalu lama (20 jam) yang menghasilkan rendemen tertinggi 1,46% dengan viskositas 227 cP, dan kejernihan 0,46% dengan nilai desirability 1.

## Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Universitas Sultan Ageng Tirtayasa atas dukungan fasilitas serta bantuan pendanaan yang telah diberikan, sehingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik

## Daftar Pustaka

- Alfilaili, B., Hajrin, W., dan Juliantoni, Y. 2021. Optimasi Konsentrasi Vaseline Album dan Adeps Lanae pada Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.). Acta Pharm Indo. Vol 9 (2): 119- 127.
- Al Hajj, W., Salla, M., Krayem, M., Khaled, S., Hassan, H.F., & El Khatib, S. (2024). Hydrolyzed collagen: Exploring its applications in the food and beverage industries and assessing its impact on human health – A comprehensive review. Heliyon, 10(16), 1-15, <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e36433>.
- Ardani, M.N, & Sugiharto A. (2022). Pengaruh konsentrasi asam klorida dan waktu perendaman pada pembuatan gelatin dari tulang ikan nila (*Oreochromis niloticus*) sebagai Pengental Sirup Nanas . JITIPARI. 7 (2), 109-118. 10.33061/jitipari.v7i2.6887
- GMIA(Gelatin Manufacturers Institute of America). (2019). Gelatin Handbook. Gelatin Manufacturers Institute of America Members.
- Huda, W. N., Atmaka, W., Nurhartadi, E. (2013). Kajian karakteristik fisik dan kimia gelatin ekstrak tulang kaki ayam (*Gallus gallus bankiva*) dengan variasi lama perendaman dan konsentrasi asam. Jurnal Teknosains Pangan, 2(3), 70-75.
- Ilyas, N.M., Setiasihm, S & Hudiyono, S. (2020). Isolasi dan karakterisasi enzim bromelin dari bonggol dan daging buah nanas (*Ananas comosus*). JIKPK, 21(2), 133-144. 10.35580/chemica.v21i2.17983
- Nurilmala, M., Nasirullah, M., Nurhayati, T., & Darmawan, N. (2021). Karakteristik fisik-kimia gelatin dari kulit ikan patin, ikan nila, dan ikan tuna. Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada, 23(1), 71-77. <http://dx.doi.org/10.22146/jfs.59960>
- Puspitasari, D. A. P., Biantoro, V. P dan Bhakto, S.E. 2013. Kualitas Warna, Tingkat Kejernihan dan Ketebalan Film Gelatin Tulang Ceker Ayam sebagai Alternative Bahan Dasar Edible Film. Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan. Vol 2(3):144-147.
- Rahman, F.T., Bambang, D dan Sri, M. 2022. Total Padatan Terlarut dan Trnsmitansi Sari Buah Jeruk Manis dengan Penambahan Gelatin Tulang Ikan Bandeng. Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian. Vol 17 (2):10- 16.
- Rahmawati et al. (2022) . Ratnawati, S. E., Ekantari, N., Pradipta, R. W., dan Paramita, B. L. 2018. Aplikasi Response Surface Methodology (RSM) pada Optimasi Ekstraksi Kalsium Tulang Lele. Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada. Vol. 20(1): 41-48.
- Setiawati, I. H. 2009. Karakterisasi Mutu Fisika Kimia Gelatin Kulit Ikan Merah (*Lutjanus* sp.) Hasil Proses Perlakuan Asam. [Skripsi]. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Institut Pertanian Bogor. 80 hal.
- Zarai Z, Balti R, Mejdoub H, Gargouri Y, Sayari A. Process for extracting gelatin from marine snail (*Hexaplex trunculus*): chemical composition and functional properties. Process Biochem. 2012;47:1779–1784. doi: 10.1016/j.procbio.2012.06.007