II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Pengertian dan Karakteristik Ceker Ayam Broiler

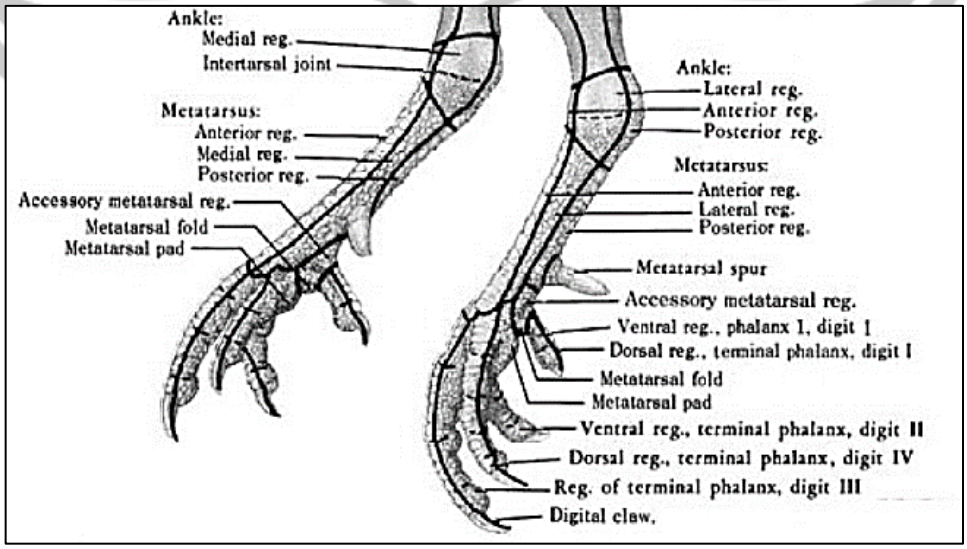
Ayam broiler merupakan ayam yang tergolong ke dalam ras pedaging yang memiliki pertumbuhan cepat dan dapat mengonversi pakan yang konsumsi secara optimal menjadi daging (Jayanata dan Harianto, 2011). Ayam broiler rata-rata dipanen pada usia yang masih muda yaitu 28 - 35 hari dengan bobot 1,4-2 kg per ekor (Tamalludin, 2014). Bagian-bagian karkas ayam yang umumnya dipasarkan diantaranya adalah kepala, leher, sayap, dada, paha, dan kaki/ ceker ayam (Santoso dan Sudaryani, 2015).

Ceker/kaki ayam adalah limbah sampingan dari rumah potong ayam yang pemanfaatannya terbatas karena kandungan tulang dan kulit yang tinggi, tetapi kandungan dagingnya sedikit. Bagian kaki ayam terdiri dari beberapa bagian seperti tulang, kulit, otot dan kolagen. Indonesia per tahunnya mampu memproduksi ceker ayam sebesar 1,9 juta pasang potongan atau sebesar 42,75 ribu ton ceker ayam. Nilai yang didapatkan ini dihitung berdasarkan produksi daging ayam ras sebesar 1.500,47 ribu ton dikalikan konversi karkas ayam 1,33 kg per ekor ayam dan konversi berat 45 gram/pasang ceker ayam (Susanto, 2019).

Ceker ayam memiliki kadar air sebesar 65,08 %, lemak sebesar 3,90 %, protein sebesar 20,10 %, dan kadar abu sebesar 8,16 % (Hasyim dkk., 2014). Ceker ayam diketahui mengandung 19 asam amino diantaranya yaitu asam aspartat, glutamin, hidroksiprolin, serin, glisin, histidin, arginin, treonin, alanine, prolin, tirosin, valin, metionin, sistin, ileusin, fenilalanin, triptofan dan

lisin (Sarbon dkk., 2013). Komponen terbesar penyusun ceker ayam adalah kolagen yaitu sebesar 5,64 % - 31,39 % atau sebesar 28,73 - 36,83 % dari total protein (Liu dkk., 2001). Ceker ayam diketahui memiliki 29 jenis kolagen yang berbeda dari kolagen dengan bentuk polimerik yang berbeda. Tipe kolagen yang menonjol dari kaki ayam yaitu kolegen tipe 1 yang memiliki 3 rantai polipeptida (Anal, 2018).

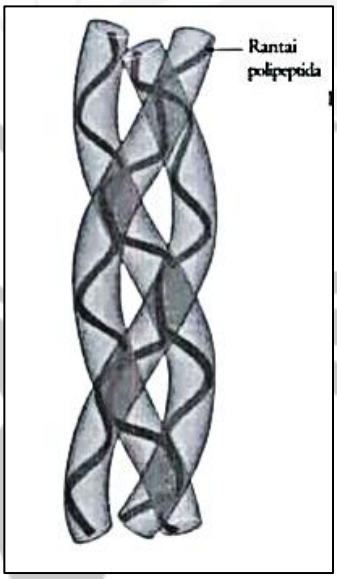
Ceker ayam diketahui memiliki komposisi kimia antara lain 62,05 % air, 5,98 % abu, 17,42 % protein, dan 12,04 % lemak (Liu dkk., 2001). Lain halnya dengan kulit ceker ayam apabila ditinjau dari komposisi kimianya mengandung 22, 98 % protein, 5,60 % lemak, 3,49 % abu, 65,90 % air, dan 2,30 % substansi lain (Purnomo, 1992). Kriteria ceker/kaki ayam broiler yang baik dan sehat yaitu umumnya gemuk/berisi, kokoh, ukurannya cenderung pendek, sisiknya berwarna kuning dan tidak memiliki bulu pada bagian cakarnya (Santoso dan Sudaryani, 2015). Bagian-bagian ceker ayam broiler dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Bagian-bagian ceker ayam broiler (Barbut, 2001).

B. Pengertian Kolagen

Kolagen adalah suatu protein serat yang terdiri atas tiga polipeptida heliks yang mengalami super lilitan untuk membentuk struktur yang serupa dengan untaian tali (Campbell dkk., 2002). Struktur heliks kolagen distabilkan oleh gabungan dari tiga heliks bersama-sama yang akan menjadi satu heliks tiga sepilin (tripel heliks kolagen) yang berputar kearah kanan (Susanti dan Fibriana, 2017). Dua hal penting yang menyebabkan pembentukan kolagen yaitu karena adanya kandungan hidroksiprolina dan hidroksilisina yang tinggi (DeMan, 1989). Kolagen memberikan pengaruh yang besar terhadap keempukan dengan jumlah sekitar 20-25 % dari total protein tubuh mamalia (Soeparno dkk., 2011). Struktur kolagen dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Kuartener Kolagen (Campbell dkk., 2002).

Kolagen tersedia dalam jumlah banyak di dalam tubuh, umumnya kolagen dapat ditemukan pada bagian tubuh hewan seperti kulit, tendon, tulang rawan, serta tulang keras hewan (Pearson dan Young, 1989). Kolagen mengandung 35 % glisin, 11 % alanin, dan prolin yang cukup tinggi,

kandungan protein ini menjadi dasar dari pembuatan gelatin (Lehniger, 1993). Kolagen memiliki urutan asam amino tertentu yang hanya dapat terjadi dalam *triple helix* yakni Gly-Pro-Hypro-Gly (deMan, 1989). Penambahan senyawa asam maupun basa dengan pemanasan akan menyebabkan struktur fibrosa kolagen terpecah secara ireversibel, sehingga menghasilkan gelatin (Schrieber dan Gareis, 2007).

Kolagen akan bertransformasi menjadi gelatin dengan adanya proses denaturasi kolagen. Pemanasan kolagen dapat menyebabkan komponen *triple helix* pada kolagen terpecah, sehingga terbentuk komponen rantai acak molekul gelatin yang lebih kecil. Perubahan yang terjadi ini hanya melibatkan ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik yang membantu struktur heliks kolagen tetap stabil (Ward dan Courts, 1977). Pemanasan serat kolagen dalam air dapat terjadi pada suhu 60-70 °C. Pada rentang suhu tersebut, serat kolagen akan mengalami pemendekan ukuran serat menjadi 1/3 atau ¼ dari panjang awal (DeMan, 1989)

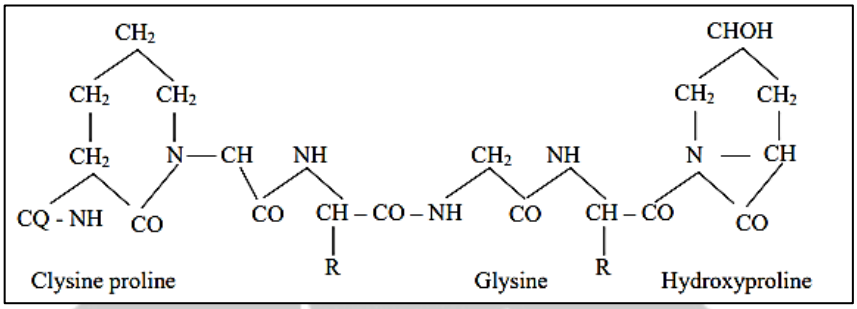
C. Pengertian dan Sifat Gelatin

Gelatin adalah suatu bentuk dari kolagen ireversibel yang diklasifikasikan sebagai bahan makanan yang memiliki sifat tembus warna, memiliki tekstur rapuh saat kering, tidak memiliki rasa, tidak berbau, dan berasal dari kolagen terutama dalam kulit babi dan tulang sapi (Praja, 2015). Istilah gelatin dipakai untuk produk yang didapatkan dari kolagen mamalia yang mampu didispersi dalam air dan menunjukkan perubahan sol-gel yang

bolak balik dengan perubahan suhu (deMan, 1989). Gelatin diproduksi dari kolagen yang berasal kulit, jaringan ikat putih, serta tulang hewan yang akan mengalami proses hidrolisis sebagian/parsial hingga menghasilkan gelatin (Anon, 1995).

Gelatin umumnya digunakan dalam keperluan industi pangan dan industri farmasetika terkait sifat khas yang dimiliki. Pemanfaatan gelatin dalam bidang pangan antara lain sebagai *thickening agent* (pengental), *gelling agent* (pembentuk gel), *emulsifier* (pengemulsi), *stabilizer* (penstabil), *water binder* (pengikat air), pelapis tipis, pemerkaya gizi, pengawet, menghindari sineresis dan memperbaiki konsistensi suatu produk pangan (Hastuti dan Sumpe, 2007). Kolagen dapat berubah menjadi gelatin dengan melibatkan 3 hal perubahan yaitu pemutusan sejumlah terbatas oleh ikatan peptida untuk memperpendek rantai, pemutusan/pengacauan sejumlah ikatan samping antar rantai, dan perubahan konfigurasi rantai (deMan, 1989).

Gelatin memiliki kandungan protein yang cukup tinggi, namun rendah lemak. Gelatin kering dengan kadar air 8-12 % umumnya memiliki kadar protein 84-86 % dan kadar mineral sebesar 2-4 %, sedangkan kadar lemak yang terdapat dalam gelatin tidak ada (Hastuti dan Sumpe, 2007). Gelatin memiliki susunan asam amino yang hampir mirip kolagen yaitu 2/3 seluruh asam amino penyusun utamanya diisi oleh glisin sedangkan sisanya diisi prolin dan hidroksiprolin (Junianto dkk., 2006). Struktur kimia dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur Kimia Gelatin (Imeson, 1992).

Gelatin dapat dibedakan menjadi dua tipe yaitu gelatin tipe A yang didapatkan dari proses perlakuan dengan asam dan gelatin tipe B yang didapatkan dari proses perlakuan dengan basa (Gelatine Manufacturers Institute of America, 2012). Gelatin dengan tipe A umumnya berasal dari hidrolisis kulit babi, berbeda dengan gelatin tipe B yang berasal dari hidrolisis kulit dan tulang/*ossein* sapi (Awwaly, 2017). Perbedaan sifat dari gelatin konsumsi tipe A dengan gelatin tipe B dapat di lihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Sifat Gelatin Konsumsi Tipe A dan Tipe B

Spesifikasi	Tipe A	Tipe B
Kekuatan gel (Bloom)	50 - 300	50 - 300
Viskositas (cP)	15 - 75	20 - 75
Kadar abu (%)	0,3 - 2	0,5 - 2
pH	3,8 – 5,5	5 – 7,5
Titik isoelektrik	7 - 9	4,7 – 5,4

(Sumber : Gelatine Manufacturers Institute of America, 2012).

Prinsip dasar pembuatan gelatin terdiri dari perlakuan awal bahan, proses ekstraksi, dan proses pemurnian gelatin (Ofori, 1999). Perlakuan awal bahan terdiri dari penggunaan larutan yang digunakan untuk menghidrolisis kolagen pada bahan baku. Proses ekstraksi dilakukan untuk memaksimalkan total rendemen gelatin yang diperoleh dan proses pemurnian yang terdiri dari tahapan deionisasi dengan proses dialisis dan filtrasi atau sentrifugasi. Salah

satu parameter penting yang perlu diperhatikan dalam pembuatan gelatin diantaranya adalah kekuatan gel. Kekuatan gel gelatin berdasarkan kualitasnya dapat dibagi menjadi 3 yaitu gelatin dengan kekuatan gel lemah (<150 g bloom), sedang (150-220 g bloom), dan tinggi (> 220 g bloom) (Williams dan Phillips, 2004).

Kadar protein yang umum ditemukan dalam gelatin yaitu memiliki kisaran nilai 85-90 % (Wahyuni dan Rosmawati, 2003). Gelatin yang baik dan memiliki mutu tinggi ditandai dengan kadar lemak yang rendah. Kadar lemak yang masih ditoleransi pada produk gelatin yakni tidak melebihi syarat mutu yang telah ditentukan yakni 5 % (Puspawati dkk., 2014). Syarat mutu gelatin dapat dilihat pada Tabel 2 dan syarat mutu mikrobiologi gelatin dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 2. Syarat Mutu Gelatin Menurut SNI No. 06-3735 tahun 1995 dan British Standard 757 tahun 1975

Karakteristik	SNI No. 06-3735- 1995	British Standard 757- 1975
Warna	Tidak berwarna	Kuning pucat
Bau, rasa	Normal	-
Kadar abu	Maksimum 16 %	-
Kadar air	Maksimum 3,25 %	-
Kekuatan gel	-	50-300 bloom
Viskositas	-	15-70 mps atau 1,5-7 cP
pH	-	4,5-6,5 (dilarutkan dalam air destilasi dengan suhu 45 ℃)
Logam berat	Maksimum 50 mg/kg	-
Arsen	Maksimum 2 mg/kg	-
Tembaga	Maksimum 30 mg/kg	-
Seng	Maksimum 100 mg/kg	-
Sulfit	Maksimum 100 mg/kg	-

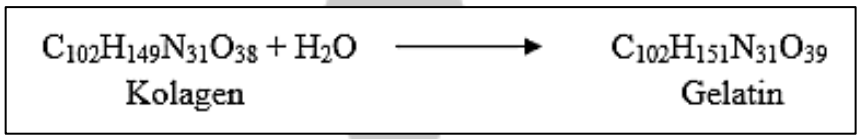
(Sumber : Badan Standardisasi Nasional, 1995 dan British Standar 757, 1975).

Tabel 3. Syarat Mutu Mikrobiologi Gelatin Menurut Kusumawati dkk. tahun 2008 dan FAO dalam JECFA tahun 2003

Parameter	Gelatin Komersial	Standard
Angka Lempeng Total (CFU/g)	$8{,}40 \times 10^4$ 1)	$\leq 10^4$ 2)
Escherichia coli	Negatif 1)	Negatif 3)

Keterangan : 1) Kusumawati dkk., 2008; 2) FAO JECFA, 2003; 3) Fahrul, 2004

Macam-macam larutan hidrolisis yang umum digunakan untuk perlakuan hidrolisis protein bahan baku adalah perlakuan dengan asam (hidrolisis kolagen pada tulang hewan), basa (hidrolisis kolagen pada kulit hewan), maupun enzim proteolitik. Larutan asam yang umum digunakan dalam proses ekstraksi gelatin antara lain adalah asam asetat (CH_3COOH), asam sitrat ($C_6H_8O_7$), asam klorida (HCl), asam fosfat (H_3PO_4), dan asam sulfat (H_2SO_4). Larutan basa yang biasa digunakan untuk proses ekstraksi gelatin antara lain natrium karbonat (Na_2CO_3), natrium hidroksida (NaOH), kalium karbonat (K_2CO_3), dan kalium hidroksida (KOH) (Choi dan Regnestein, 2000). Enzim proteolitik yang dapat digunakan dalam pembuatan gelatin diantaranya adalah enzim proteolitik yang ditemukan pada buah nanas segar (bromelin), buah pepaya (papain), buah kiwi (actinidan), dan buah ara (ficin) (Brown, 2008). Reaksi pembentukan gelatin dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Reaksi pembentukan gelatin (Miwada dan Simpen, 2007).

D. Pengertian dan Mekanisme Kerja Enzim Papain

Enzim papain adalah enzim proteolitik yang didapatkan dari getah pohon pepaya dan buah pepaya muda. Buah pepaya yang masih dalam keadaan muda,

umumnya memiliki kandungan enzim papain paling banyak dibandingkan buah pepaya yang setengah matang. Enzim papain bersifat proteolitik atau mampu memecah protein pada makanan menjadi peptida, dan selanjutnya peptida tersebut akan terpecah lagi menjadi bentuk paling sederhana yaitu asam amino (Warisno, 2003). Kerja enzim papain dapat dihambat dengan adanya senyawa oksidator, alkilator, dan logam berat (Winarno, 1982).

Enzim papain dapat dibagi menjadi dua macam yaitu enzim papain kasar dan enzim papain murni. Enzim papain kasar didapatkan dari proses pengeringan getah pepaya kemudian dihaluskan menjadi tepung, sedangkan enzim papain murni didapatkan melalui proses pemisahan serta proses pemurnian enzim papain kasar dengan pelarut organik seperti alkohol dan aseton (Suyanti dkk., 2012). Kandungan enzim papain kasar dan murni sekilas tidak jauh berbeda. Papain murni mengandung 1 mol sulfihidril per mol protein, sedangkan protein kasar tidak aktif secara penuh dan hanya mengandung 0,5 mol sulfihidril per mol protein (deMan, 1989). Papain kasar maksimal memiliki kadar abu sebesar 14 % sedangkan papain bersih memiliki kadar abu maksimal 5 % (Suprapti, 2005). Kadar abu yang terdapat pada enzim papain kasar yaitu sebesar 14 % (Permata dkk., 2016).

Enzim papain kasar mengandung enzim kimopapain, enzim peptidase, dan enzim glutamin siklotransferase (Cichoke, 2000). Lain halnya dengan enzim papain murni yang mengandung protein proteolitik lebih spesifik yaitu enzim kimopapain A, kimopapain B, dan enzim papaya peptidase A (Warisno,

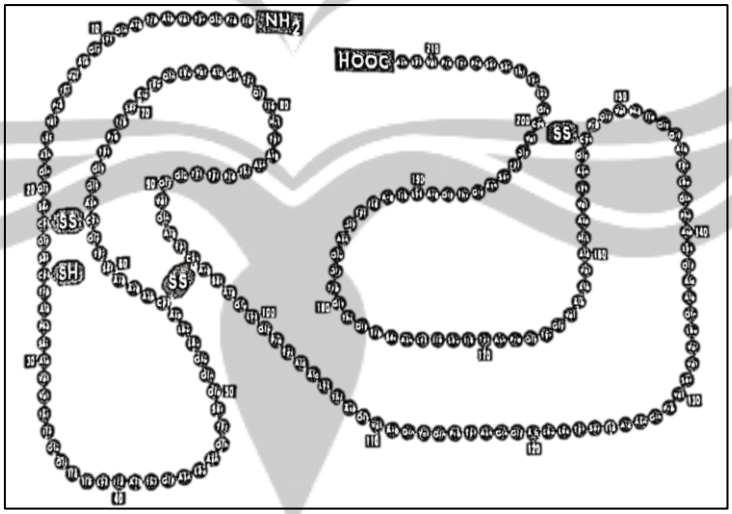
2003). Papain murni memiliki sifat polar yaitu sangat mudah larut dalam air (Menurut Merck Indeks, 2000).

Enzim papain terusun atas 212 asam amino yang termasuk ke dalam golongan protease sulfihidril yang memiliki residu sulfihidril pada rantainya (Koekoek, 1969). Bobot molekul dari enzim papain yaitu sebesar 23,900 (DeMan, 1989). Mekanisme kerja enzim papain dalam menghidrolisis protein yaitu enzim papain akan menyerang bagian karbon karbonil yang berada pada bagian tulang punggung rantai peptida, kemudian membebaskan amino yang berada pada bagian ujung/terminal pada seluruh rantai peptida protein, sehingga protein menjadi pecah (Amri dan Mamboya, 2012). Enzim papain dapat melakukan pemutusan ikatan peptida pada residu *asparagin-glutamin, glutamat-alanin, leusin-valin* dan *penilalanintirosin* (Nurhidayati, 2003).

Keunggulan dari enzim papain dibandingkan dengan enzim proteolitik lainnya adalah enzim ini tahan terhadap suhu, dimana pada suhu mendekati 75 ºC, enzim papain masih aktif dan tidak menunjukkan gejala hidrolisis (Suhartono, 1992). Enzim papain aktif dan stabil pada suhu pemanasan 40 – 60 ºC dan inaktif pada suhu pemanasan 80-90 °C (Fitriani, 2006; Walsh, 2004). Enzim papain memiliki pH optimum pada kisaran 5-7 (Smith dan Hong-Shum, 2003). Enzim papain dapat menghidrolisis substrat yang mengandung L-arginin, L-lisin, glisin dan L-Citrulin dengan efisiensi yang sama (Whitaker, 1972). Aktivitas enzim papain diketahui mencapai pH optimum dengan kondisi pH 6 pada substrat kasein (Kusumadjaja dan Dewi, 2005). Enzim papain juga

memiliki aktivitas pH optimum pada kondisi pH 7 untuk substrat albumin telur dan pH 5 untuk substrat gelatin (Reed, 1966).

Enzim papain diketahui memiliki sifat antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri karena mampu mencerna protein mikroorganisme tersebut dengan mengkatalisis ikatan peptida pada protein menjadi senyawa yang lebih sederhana seperti dipeptide dan asam amino (Pakki dkk., 2009). Enzim papain termasuk dalam golongan enzim protease sulfuhidril yang artinya mempunyai residu sulfuhidril pada lokasi aktifnya yang bekerja pada dinding sel dan membran sitoplasma bakteri (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Kelebihan lain dari enzim papain adalah kemampuannya dalam mendegradasi kolagen, sehingga diperoleh jaringan yang lebih lunak akibat adanya proses hidrolisis (Hidayat, 2005 dalam Briyani dkk., 2014). Struktur primer enzim papain dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur Primer Enzim Papain (Schwimmer, 1981).

Enzim papain komersial adalah enzim proteolitik dari getah papaya yang mengalami penambahan atau pencampuran dengan bahan lain seperti gula dan

garam yang menyebabkan kandungan enzim papain di dalamnya tidak terlalu kuat (Syamsuri, 2000). Aktivitas enzim yang terdapat dalam enzim papain komersial merk "PAYA" yaitu sebesar 1,0593 unit/g (Darwis dkk., 1995). Proses hidrolisis protein menggunakan enzim papain komersial diketahui akan bekerja dengan baik pada situasi pH 7 dengan suhu sebesar 75 °C (Pitpreecha dan Damrongsakkul, 2006).

Penggunaan enzim proteolitik seperti enzim papain dalam pembuatan gelatin akan menyebabkan kolagen yang terdapat dalam bahan baku terhidrolisis ke tingkat yang lebih sederhana, sehingga dapat menghasilkan rantai polipeptida yang panjang. Semakin panjang rantai asam amino yang dihasilkan, maka semakin tinggi kekuatan gel yang didapatkan (Huda dkk., 2013). Mekanisme hidrolisis enzim papain terhadap pembuatan gelatin yaitu enzim papain mampu menghidrolisis protein kolagen secara selektif, namun kurang kuat dalam merusak protein. Enzim papain hanya bekerja pada rantai peptida *non-helix* protein kolagen, sehingga enzim papain mampu mempertahankan bagian *triple-helix* protein kolagen tetap utuh (Hidayat dkk., 2016).

E. Hipotesis

1. Pemberian enzim papain dengan konsentrasi 0,75 %, 1,5 %, dan 2,25 % pada pH 5,5 dan pH 7,0 memberikan pengaruh terhadap kualitas fisika dan kimia gelatin kulit ceker ayam.
2. Enzim papain dengan konsentrasi 1,5 % dengan pH 5,5 merupakan konsentrasi enzim paling baik yang mampu menghasilkan gelatin kulit

ceker ayam terbaik berdasarkan hasil kadar protein dan kekuatan gel yang didapatkan.