AKTIVITAS *Bacillus subtilis* PADA MEDIA TULANG AYAM DALAM PEMBENTUKAN GELATIN

Sudrajat Harris Abdulloh¹, Bintang Iwhan Moehady¹, Irwan Hidayatulloh^{1,*}

¹Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Bandung, Indonesia

*E-mail: irwan.hidayatulloh@polban.ac.id

ABSTRAK

Gelatin merupakan bahan tambahan yang banyak terdapat pada industri makanan, minuman, dan tekstil. Gelatin terbentuk secara kimia melalui proses asam dan basa atau dengan bantuan aktivitas mikroorganisme. Proses kimia pembentukan gelatin membutuhkan waktu antara satu sampai lima minggu, sedangkan proses dengan aktivitas mikroorganisme terbentuk antara 12 sampai 24 jam. Penelitian ini bertujuan untuk membuat gelatin dengan menggunakan bakteri *Bacillus subtilis* ATCC No. 21228 serta bahan baku tulang ayam. Aktivitas bakteri *Bacillus subtilis* akan merombak kolagen dalam tulang ayam menjadi gelatin. Kondisi operasi yang digunakan yaitu: temperatur 45, 50, dan 55°C; pH 7, 8, dan 9; dan konsentrasi 120 g/L, 160 g/L, 200 g/L dan 240 g/L. Analisis terhadap produk yang diperoleh menggunakan uji kandungan protein dan uji pembentukan gelatin. Hasil penelitian menunjukkan kondisi optimum terjadi pada pH = 9, T = 45°C, konsentrasi (C) = 200 g/L, dan konversi rata-rata = 72,25%.

Kata kunci: Gelatin, *Bacillus subtilis*, limbah tulang ayam

ABSTRACT

Gelatin is an additive that is widely available in the food, beverage, and textile industries. It is formed chemically through acid and alkaline processes or with the help of microorganism activity. The chemical process for gelatin takes 1-5 weeks, while the process with microorganism activity occur only 12-24 hours. This study aims to make gelatin using the bacteria *Bacillus subtilis* ATCC No.21228 from raw material for chicken bones. The activity of the *Bacillus subtilis* bacteria will convert collagen in chicken bones into gelatin. The operating conditions used in this work were: temperature under 45, 50, and 55°C; pH between 7, 8, and 9; and concentrations of 120 g/L, 160 g/L, 200 g/L and 240 gr/l. The result tested to obtain the existing protein and gelatin content. The results showed that the optimum conditions occurred at pH = 9, T = 45°C, concentration = 200 g/L, and the average conversion = 72.25%.

Keywords: Gelatin, *Bacillus subtilis*, chicken bone waste

PENDAHULUAN

Perkembangan ilmu pengetahuan tentang kesehatan akan meningkatkan kesadaran manusia pentingnya kebutuhan gizi yang menunjang aktivitas hariannya. Daging merupakan salah satu sumber kebutuhan gizi yang banyak dikonsumsi oleh manusia, diantaranya adalah daging sapi, kambing, ayam dan lainnya. Konsumsi daging hewan ini selalu menghasilkan sisa-sisa yang terbuang sebagai limbah berupa kulit, dan tulang.

Kulit hewan banyak menghasilkan produk-produk asesori, kerajinan atau industri kreatif lainnya, sedangkan tulang kebanyakan terbuang sebagai limbah atau menjadi bahan baku produksi bahan lainnya (Rahmawati dkk., 2019). Pada tulang masih banyak mengandung protein yang berupa kolagen. Kolagen inilah yang bisa dikonversi oleh aktivitas mikroorganisme menjadi gelatin (da Silva dkk., 2011; Hidayat dkk., 2016; Nagai & Suzuki, 2000).

Gelatin merupakan bahan tambahan dalam industri-industri makanan dan minuman, kertas dan tekstil, farmasi, dan fotografi. Industri makanan dan minuman menggunakan gelatin sebagai *stabilizer* dalam es krim, koloid pelindung dan agen pengemulsi dalam pembuatan *marshmallows*, krim dan permen, serta sebagai makan tambahan. Industri kertas dan tekstil menggunakan gelatin sebagai agent sizing. Industri fotografi menggunakan gelatin sebagai emulsi yang sensitif terhadap cahaya, sedangkan industri farmasi menggunakan gelatin sebagai bahan pembuatan kapsul (Liu dkk., 2008; Puspawati dkk., 2012).

Pengolahan gelatin secara kimia pada kulit hewan memerlukan waktu yang lama yaitu berkisar 1–5 minggu yang melibatkan proses perendaman kulit pada larutan asam atau basa yang menyebabkan kadar kolagen dalam kulit turun. (Fatimah & Jannah, 2012) Pengolahan secara fermentasi memerlukan waktu 12-24 jam untuk menghidrolisis kolagen agar konversinya lebih tinggi. Enzim tersebut dapat dihasilkan sel mikroba yang pada umumnya berupa enzim ekstraselular. Penggunaan mikroba langsung dalam proses produksi ini yang perlu dikembangkan dalam penelitian ini agar perilaku proses dapat diketahui dan dipelajari.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan parameter-parameter kondisi optimum pada proses pengolahan tulang menjadi gelatin secara fermentasi. Parameter-parameter kondisi operasi yang menjadi lingkup penelitian ini adalah pH, temperatur, konsentrasi padatan. Kemudian mikroba yang digunakan adalah *Bacillus subtilis* ATCC 21228. Gelatin dari hasil penelitian ini diharapkan dapat diterapkan kondisi operasi untuk digunakan dalam kajian produksi berskala besar.

BAHAN DAN METODA

Bahan baku penelitian ini adalah limbah tulang ayam dan mikroba *Bacillus subtilis* ATCC 21228. Metoda yang digunakan adalah fermentasi secara batch dengan variasi pH, temperatur dan konsentrasi media.

Pre-treatment

Limbah tulang ayam melalui pengolahan awal dalam beberapa tahap, yaitu: pencucian, pengeringan pada oven (50–60°C), penghancuran (*grinding*), dan pengayakan (*sizing*), dengan diameter 0,3555 mm. Proses produksi gelatin melalui tahap fermentasi *starter* yang kemudian dipindahkan ke fermentor utama. Penggunaan media *starter* ini bertujuan untuk adaptasi awal dari mikroba *Bacillus subtilis* terhadap lingkungan yang mengandung tulang dan mempercepat waktu adaptasi ketika berada pada fermentor utama.

Pembentukan Gelatin (Fermentasi)

Limbah tulang ayam yang sudah melalui proses *pre-treatment* kemudian disterilisasi dengan pemanasan pada suhu 121°C selama 15 menit, bersamaan dengan inokulasi 20 ml media *starter* biakan murni *Bacillus subtilis* selama 12 jam. Selanjutnya, pada fermentor utama dilakukan proses fermentasi selama 24 dengan beberapa variasi kondisi operasi yaitu kondisi pH, suhu dan konsentrasi bahan baku terhadap media.

Analisis Metode Kjeldahl

Analisa dilakukan terhadap produk yang mencakup analisa protein untuk mengetahui kadar protein yang ada dalam tulang ayam dan kadar protein gelatin dengan metode Kjeldahl, Metode ini dilakukan melalui tahap destruksi, distilasi, dan titrasi. Metode destruksi bertujuan untuk menghancurkan sampel, sehingga larut dalam campuran dengan menambahkan H₂SO₄ dan garam

Kjeldahl. Garam Kjeldahl berfungsi sebagai katalis. H_2SO_4 berfungsi untuk memecahkan NH_3 yang terdapat dalam larutan. Distilasi bertujuan untuk menarik kembali NH_3 dengan menambahkan NaOH sebagai penetral H_2SO_4 . Pada proses distilasi uap NH_3 akan ditampung pada larutan asam borat. Larutan asam borat ini berfungsi untuk menangkap kembali uap NH_3 yang sudah terkondensasi. Setelah distilat terbentuk dilakukan titrasi dengan larutan asam (HCl) yang bertujuan untuk mengetahui

Proses pembuatan gelatin dilakukan secara fermentasi *batch* yang merupakan hasil perombakan protein dari tulang ayam oleh mikroorganisme *Bacillus subtilis*. Penelitian ini menggunakan media tulang ayam sebagai sumber protein yang bermanfaat bagi mikroba dalam pertumbuhannya. Sasaran penelitian ini untuk mengetahui kondisi

Kurva Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang ini dilakukan terhadap satu sampel larutan baku untuk kurva pertumbuhan dengan variasi panjang gelombang untuk mendapatkan persen absorbansinya. Variasi panjang gelombang tersebut menghasilkan panjang gelombang maksimum yang menunjukkan serapan cahaya maksimum seperti Gambar 1. Pada percobaan ini didapatkan panjang gelombang maksimum sebesar 540 nm pada absorbansi 17%. Nilai panjang gelombang ini digunakan sebagai panjang gelombang pada pembuatan kurva pertumbuhan.

kadar nitrogen yang terdapat dalam larutan.

Analisa kehadiran gelatin

Gelatin hasil fermentasi diketahui eksistensinya dengan metode pengendapan menggunakan bahan kimia (*detection of thickening*), adanya produk gelatin ditandai dengan terjadinya pengendapan gelatin yang berwarna kuning susu setelah ditambahkan larutan asam nitrat dan asam pikrat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

optimum pertumbuhan mikroba dalam menghasilkan produk gelatin yang optimum berdasarkan pada kondisi temperatur, pH, dan konsentrasi media. Parameter pengukuran keberhasilan proses fermentasi dilihat dari kinetika fermentasi yang meliputi penggunaan *substrat* yang dianalisis pada keadaan awal dan akhir.

Gambar 1. Kurva Panjang Gelombang Maksimum

Bakteri pada umumnya mengalami pertumbuhan secara bertahap dalam waktu tertentu sesuai dengan sifat masing-masing mikroorganisme tersebut, ada yang membutuhkan waktu yang lama dan ada juga membutuhkan waktu yang singkat. Hal ini dapat terlihat pada kurva pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*, yang pertumbuhannya sampai mencapai keadaan fase *stationer* membutuhkan waktu 18 jam dan dalam waktu tersebut biomassa tersebut telah mengalami beberapa fasa pertumbuhan.

Kurva pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.

Pada fasa awal (*lag phase*) diperkirakan dari kurva pertumbuhannya, biomassa ini cenderung tidak mengalami peningkatan jumlah set. Hal ini disebabkan mikroorganisme ini cenderung berusaha untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru, pada saat terjadi sintesa enzim oleh sel untuk kebutuhan metabolisme metabolitnya. Pada saat itu juga terjadi germinasi spora (spora tumbuh) dan metabolisme dari spora belum aktif sehingga selnya disebut set vegetatif. Fasa ini biasanya tidak berlangsung terlalu lama yang pada biomassa *Bacillus subtilis* ini berlangsung antara jam ke-0 sampai dengan jam ke-3, yang kemudian setelah fasa ini selesai maka dimulailah fasa pertumbuhan yang dipercepat pada jam ke-3 sampai dengan jam ke-5, pada fasa ini terjadi peningkatan konsentrasi biomassa perlahan-lahan dan semakin meningkat dengan laju pertumbuhan mengikuti persamaan dx/dt .

Gambar 2. Kurva Pertumbuhan *Bacillus subtilis*

Keadaan menyebabkan sel cenderung untuk memperbanyak diri dan ukuran selnya mencapai maksimum, sedang waktu populasi sel dalam melipatkan diri dalam jumlahnya menjadi dua kali lipat. Fasa ini hanya berlangsung beberapa saat saja untuk

mencapai maksimalnya, dan setelah itu langsung mengalami fasa logaritmik (eksponensial) dimana pada fasa ini terjadi pertumbuhan mikroba dengan cepat dan konstan mengikuti peningkatan waktu. Dari kurva pertumbuhan di atas ini terlihat bahwa pada fase eksponensial (jam ke-5 sampai dengan jam ke-14) laju pertumbuhan spesifiknya tetap dan mencapai nilai maksimal. Pada keadaan ini pertumbuhan dinyatakan :

$$\frac{dCx}{dt} = \mu \cdot Cx$$

$$f \frac{dCx}{Cx} = f \mu \cdot dt$$

$$\ln Cx = \mu \cdot t$$

$$\ln Cx - \ln Cx_0 = \mu$$

Mikroorganisme tumbuh dalam spektrum lingkungan fisik dan kimiawi yang sangat luas. Mikroorganisme bertumbuh artinya massa sel dan jumlah sel meningkat, ini terjadi hanya jika kondisi kimiawi dan fisik terpenuhi, diantaranya: suhu, pH, dan konsentrasi substrat yang sesuai dan tersedianya nutrien.

Laju pertumbuhan biomassa ini tidak hanya terus berada pada tahap/fase eksponensial tapi akan berubah. Sepanjang fermentasi, komposisi kimiawi cairan fermentasi berubah berubah *nutrien* terus menerus dikonsumsi oleh mikroorganisme dan pembentukan produk. *Nutrien* yang terus-menerus dikonsumsi dan bertambahnya biomassa akan menyebabkan berkurangnya *nutrien* dan terjadi persaingan antara biomassa dalam mengkonsumsi *nutrien*. Pada keadaan ini penumpukan produk akan terus meningkat sedangkan kebutuhan *nutrien* akan semakin banyak namun *nutrien* tidak cukup tersedia maka akan tercapai laju pertumbuhan nol, yaitu : fasa stationer (jam ke-18 sampai dengan jam ke-22), dimana jumlah mikroba

yang mati lama dengan jumlah mikroba yang hidup.

Masa sel total dapat tetap konstan, tetapi jumlah sel cenderung menurun. Pada saat ketahanan hidup menurun yaitu karena karena jumlah *nutrien* yang berkurang dan terjadi akumulasi produk yang menjadi racun dan merupakan penghambat pertumbuhan, maka terjadi penurunan laju pertumbuhan. Pada fase *stationer* ini, konsentrasi biomasa maksimal dan pertumbuhan berhenti dan menyebabkan terjadinya modifikasi struktur biokimiawi sel. Fase *stationer* ini ditandai dengan berkurangnya jumlah sel hidup dalam media akibat terjadinya kematian yang diikuti oleh autolisis oleh enzim selular. Kurva pertumbuhan akan memasuki fase kematian (jam ke-22 - ~) dimana jumlah set yang mati lebih banyak daripada yang hidup.

Nutrisi

Nutrisi merupakan unsur-unsur yang diperlukan oleh mikroorganisme untuk proses metabolisme. Secara spesifik unsur N berfungsi untuk pembentukan sel-sel baru mikroorganisme dan dalam pembentukan asam nukleat dan koenzim. Koenzim ini merupakan bagian vital dalam membuat suatu enzim menjadi lebih aktif dan enzim sendiri merupakan faktor penting dalam pendegradasian substrat. Peningkatkan aktivitas mikroorganisme dan perbaikan kualitas unsur hara mikroorganisme perlu ditambahkan pada media starter, berupa $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, yang bersifat tambahan namun merupakan faktor yang mempengaruhi aktivitas dari mikroorganisme. Unsur N yang menjadi sumber nutrisi mikroorganisme pada tulang ayam berbentuk molekul besar berupa protein, Gambar 3 menunjukkan persentase protein berdasarkan konsentrasi tulang ayam yang digunakan.

Gambar 3. Grafik Kandungan Protein dari Tulang Ayam (Protein Awal)

Pengaruh Perbedaan Temperatur

Variasi temperatur yang digunakan pada penelitian ini berkisar antara 45 – 55°C. Temperatur tersebut adalah temperatur pertumbuhan optimum bakteri *Bacillus Subtilis*, pada temperatur ini proses pertumbuhan *Bacillus Subtilis* adalah optimum dan pertumbuhannya tidak terhambat. Fermentasi bakteri *Bacillus subtilis* ini dilakukan dengan tiga variasi temperatur, yaitu pada suhu 45°C, 50°C, dan 55°C, yang mula-mula dilakukan fermentasi pada media *starter* dengan waktu 12 jam, kemudian dari media starter tersebut dipindahkan ke media fermentor utama untuk diinkubasikan selama 24 jam, dimana selama waktu inkubasi dilakukan pengadukan dengan menggunakan *shaker*.

Temperatur ini merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan proses fermentasi gelatin, karena temperatur ini memberikan indikasi cepat tidaknya proses fermentasi dan banyak produk gelatin yang terbentuk. Adapun produk gelatin yang terbentuk terhadap pengaruh temperatur ini dapat dilihat pada Grafik 4. Sebagai berikut.

Gambar 4. Grafik Kandungan Protein Pengaruh Temperatur (Protein sisa)

Dari Gambar 4 di atas terlihat bahwa kadar protein yang tersisa dalam larutan gelatin lebih sedikit pada kondisi suhu 45°C. Hal ini menunjukkan bahwa pembentukan gelatin secara fermentasi optimum pada suhu tersebut karena protein lebih banyak diubah menjadi gelatin.

Temperatur ini sangat mempengaruhi jumlah produk gelatin yang dihasilkan. Temperatur berbanding lurus nilainya dengan panas/energi yang berasal dari reaksi fermentasi oleh mikroorganisme. Jika panas yang dihasilkan dari reaksi cukup besar dan panas tersebut bertahan dalam media, maka temperature media akan naik dan jika panas yang dihasilkan dari hasil reaksi fermentasi kecil, maka temperature media akan kecil. Temperatur media ini menunjukkan tingkat aktivitas mikroorganisme dalam mendegradasi bahan organik.

Pengaruh Perbedaan pH Awal

Variasi kedua dilakukan terhadap variasi pH, yang dilakukan dengan tiga jenis variasi, yaitu pH 7, 8 dan 9. Adapun pemilihan pH ini adalah berdasarkan range pH pertumbuhan optimum dari bakteri *Bacillus Subtilis*, yaitu pada pH 7 – 8. Pengendalian pH disini dilakukan hanya pada saat awal sebelum fermentasi dimulai pada konsentrasi masing-masing media, baik media *starter* maupun media fermentasi. Dengan demikian setelah media *starter* mengalami proses fermentasi pH-nya

tidak dikendalikan lagi, tapi langsung dipindahkan pada media fermentasi yang memiliki pH yang telah diset sesuai kebutuhan.

Pengendalian pH disini dilakukan dengan penambahan NaOH/HCl pada media sebelum disterilisasi. Sedangkan temperatur yang digunakan pada saat fermentasi dengan variasi pH ini adalah temperatur optimum yang diperoleh berdasarkan variasi temperatur diatas, yaitu pada suhu 45°C. pH media fermentasi dalam reaktor fermentasi sangat berpengaruh dalam pertumbuhan mikroorganisme dan cara kerja enzim mengkonversi protein. Perubahan pH dalam media akan menyebabkan perubahan pada sistem kerja enzim dan substrat.

Adapun produk gelatin yang terbentuk terhadap pengaruh variasi pH ini dapat dilihat pada Gambar 5. di bawah ini.

Gambar 5. Grafik Kandungan Protein terhadap Pengaruh pH (Protein sisa)

Dilihat dari kurva tersebut, dimana pada pH yang berbeda, pembentukan produk gelatin juga berbeda. Kemudian terlihat bahwa kandungan protein sisa pada produk gelatin lebih kecil pada pH 9. Hal ini menandakan bahwa protein yang diubah membentuk gelatin secara fermentasi lebih banyak pada pH tersebut dan kondisi ini merupakan kondisi optimum untuk pH. Terjadinya penurunan pH pada proses fermentasi tersebut dikarenakan terbentuknya asam organik dari karbohidrat.

Pengaruh Perbedaan Konsentrasi

Variasi ketiga dilakukan terhadap variasi konsentrasi, yang dilakukan berdasarkan volume media yang digunakan dan disesuaikan dengan komposisi bahan baku. Pada variasi ini dilakukan dengan 4 jenis variasi konsentrasi, dengan batasan konsentrasi berdasarkan literatur yang diperoleh. Adapun variasi konsentrasi yang dilakukan yaitu 120 g/L, 160 g/L, 200 g/L, dan 240 g/L, dengan volume media fermentasi 100 ml. Konsentrasi media starter diberikan lebih kecil dari konsentrasi media fermentor utama, karena media starter ini berfungsi sebagai tempat adaptasi awal terhadap biomassa, sedangkan temperatur dan pH yang digunakan adalah berdasarkan temperatur dan pH optimum yang diperoleh berdasarkan variasi terdahulu.

Adapun produk gelatin yang terbentuk terhadap pengaruh variasi konsentrasi ini dapat dilihat pada gambar di bawah ini :

Gambar 6. Grafik Kandungan Protein terhadap Pengaruh Konsentrasi (Protein sisa)

Berdasarkan gambar grafik diatas terlihat bahwa kandungan protein pada konsentrasi 200 g/L diperoleh lebih kecil. Hal ini menandakan bahwa kandungan gelatin lebih banyak diperoleh pada konsentrasi tersebut, karena protein yang diubah lebih banyak dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Konsentrasi substrat ini sangat berpengaruh pada proses degradasi mikroorganisme membentuk produk

gelatin. Jika dilihat pada konsentrasi yang lebih tinggi yaitu pada konsentrasi 240 g/L terjadi penurunan kenaikan kandungan protein, hal ini disebabkan oleh jumlah substrat yang terkandung dalam media berlebih dibanding dengan mikroba yang digunakan. Penyebabnya karena dengan kelebihan substrat yang terdapat dalam larutan media fermentasi dapat menghambat proses pertumbuhan dari mikroorganisme yang terlibat, sehingga kelebihan *substrat* tersebut dapat menyebabkan bahan yang beracun (*toxic*) bagi mikroorganisme tersebut.

Konversi Pembentukan Gelatin

Konversi dari gelatin yang dihasilkan terhadap total kandungan protein yang terdapat dalam tulang ayam lebih banyak pada kondisi temperatur 45 °C, pH 9 dan konsentrasi 200 g/L. Hal ini dapat dilihat pada grafik berikut ini :

Gambar 7. Konversi Protein Terhadap Pengaruh Temperatur

Gambar 8. Konversi Protein Terhadap Pengaruh pH

Gambar 9. Konversi Protein terhadap Pengaruh Konsentrasi

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan kondisi optimum untuk mendapatkan konversi protein menjadi gelatin paling besar adalah pada kondisi.

- Temperatur : 45°C
- pH : 9
- Konsentrasi : 200g/L

KESIMPULAN

Melalui penelitian ini dapat disimpulkan bahwa uji kehadiran gelatin menunjukkan adanya kandungan gelatin yang ditandai dengan terbentuknya endapan kuning susu. Waktu maksimum yang dibutuhkan untuk mencapai pertumbuhan *Bacillus subtilis* untuk menghasilkan gelatin adalah 18 jam dan kondisi operasi optimum yang diperoleh pada penelitian ini adalah: temperatur 45°C, pH=9 dan konsentrasi media = 200 g/L

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami ucapkan terima kasih kepada Sdr. Rabin Handeni Saragih dan Sdr. Wahyu Setiawan yang telah berpartisipasi dalam penelitian ini.

Daftar Pustaka

- da Silva, R. S. G., Bandeira, S. ., Petry, F. ., & Pinto, L. a. . (2011). Effect of bone particle size of carp (*Cyprinus Carpio*) heads in gelatin extraction. *VETOR-Revista de Ciências Exatas e Engenharias*, 21(2), 34–43.
- Fatimah, D., & Jannah, A. (2012). Efektivitas Penggunaan Asam

Sitrat Dalam Pembuatan Gelatin Tulang Ikan Bandeng (*Chanos-Chanos Forskal*). *Alchemy*.

- Hidayat, G., Nurcahya Dewi, E., & Rianingsih, L. (2016). Characteristics of Bone Gelatin Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Processed by Using Hydrolysis With Phosphoric Acid and Papain Enzyme. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 19(1), 69–78.
- Liu, H., Li, D., & Guo, S. (2008). Rheological properties of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) gelatine from fish skins preserved by different methods. *LWT - Food Science and Technology*, 41(8), 1425–1430.
- Nagai, T., & Suzuki, N. (2000). Isolation of collagen from fish waste material - Skin, bone and fins. *Food Chemistry*, 68(3), 277–281.
- Puspawati, N., Simpen, I., & Sumerta Miwada, I. (2012). Isolasi Gelatin Dari Kulit Kaki Ayam Broiler Dan Karakterisasi Gugus Fungsinya Dengan Spektrofotometri Ftir. *Jurnal Kimia*, 6(1).
- Rahmawati, D., Setyadewi, N. M., & Sugihartono. (2019). Extraction and characterization of gelatin from skin trimming pickled waste of tannery. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 306(1).