

DIFFRENSIASI GELATIN DARI KULIT BABI DAN SAPI DENGAN MENGGUNAKAN METODE *FOURIER TRANSFORM INFRARED* (FTIR) DAN *PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS* (PCA)

Khairun Nisah ^{1*}, Febrina Arfi ¹, Zuraida ¹.

¹Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Ar-Raniry

*E-mail: khairun.nisah@ar-raniry.ac.id

Abstract. *Gelatin Gel is a derivative of protein obtained from the hydrolysis of collagen in the bones and skin of vertebrate animals. This study aims to determine the differentiation of pork and cow skin gelatin. This study uses an acid immersion method of CH₃COOH as gelatin formation from pigskin and cattle then characterized using Fourier Transform Infrared (FTIR) in the Amide A, Amide I, Amide II and Amide III groups, then the area of the peak of the spectrum from the FTIR results was analyzed using Principal Component Analysis (PCA) in the form of groupings in quadrants I, II, III and IV. PCA results obtained in the form of score plots indicate that gelatin from cow leather is located in quadrant III while gelatin from pigskin is located in quadrant I. The conclusion of this study is that from the FTIR method the difference from pig and cow skin gelatin is shown through the peak spectral area while from the PCA method the difference between the two types of gelatin is distinguished from the quadrant location on the score plot.*

Keywords: *Gelatin, Polypeptide, Differentiation.*

Abstrak: Gelatin gel merupakan turunan dari protein yang diperoleh dari proses hidrolisis kolagen pada tulang dan kulit hewan vertebrata. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan differensiasi dari gelatin kulit babi dan sapi. Penelitian ini menggunakan metode perendaman dengan larutan asam yaitu CH₃COOH sebagai pembuatan gelatin dari kulit babi dan sapi kemudian dikarakterisasi menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR) pada gugus Amida A, Amida I, Amida II dan Amida III selanjutnya daerah dari puncak spektrum dari hasil FTIR dianalisis menggunakan *Principal Component Analysis* (PCA) yang berupa pengelompokan pada kuadran I, II, III dan IV. Hasil PCA yang diperoleh yaitu dalam bentuk score plot menunjukkan bahwa gelatin dari kulit sapi terletak pada kuadran III sedangkan gelatin dari kulit babi terletak pada kuadran I. Kesimpulan penelitian ini ialah dari metode FTIR perbedaan dari gelatin kulit babi dan sapi ditunjukkan melalui daerah puncak spektra sedangkan dari metode PCA perbedaan antara kedua jenis gelatin dibedakan dari letak kuadran pada *scoreplot*.

Kata Kunci: Gelatin, Polipeptida, Differensiasi.

PENDAHULUAN

Kebutuhan gelatin di Indonesia semakin bertambah. Dalam pembuatan gelatin bahan baku yang digunakan dapat diperoleh dari berbagai sumber antara lain yaitu ikan 1%, tulang sapi 27%, kulit sapi 28%, serta kulit babi 48% (Aisyah dkk, 2014). Penggunaan gelatin sangat banyak dipergunakan pada masyarakat luas, maka dari itu pengenalan gelatin untuk masyarakat menjadi sangat penting (Kriana & Miskiyah, 2017) Gelatin adalah suatu ikatan polipeptida yang berasal dari kulit maupun tulang hewan vertebrata dengan cara hidrolisis dari persial kolagen. Gelatin biasanya digunakan pada industri farmasi, pangan, dan kosmetik (Zihadia, 2018).

Proses pembuatan gelatin dilakukan dengan memanfaatkan kulit sapi dan babi sebagai sumber bahan baku. Kulit babi dan sapi mengandung banyak kolagen (Abdul, 2015). Maka dari itu pembuatan gelatin banyak digunakan dari bahan baku yang bersumber dari kulit babi dan sapi. Akan tetapi efisiensi proses dan nilai ekonomis menyebabkan sebagian besar gelatin yang beredar kebanyakan berasal dari kulit babi (Anida, 2016).

Gelatin diklasifikasikan sebagai turunan protein, dikarenakan diperoleh dari kolagen dengan mengontrol hidrolisis parsial dan tidak terdapat di alam. Gelatin tidak bisa didapatkan dari tumbuhan karena tidak ada hubungan kimia antara gelatin dengan bahan lainnya yang disebut sebagai gelatin nabati, seperti ekstrak rumput laut. Sumber alternatif lainnya adalah unggas dan ikan. Mineral (pada tulang), lemak, albuminoid (pada kulit) akan dihilangkan secara kimia dan perlakuan fisika untuk mendapatkan kolagen murni (Fathiyah, 2015).

Untuk melihat diferensiasi antara gelatin pada kulit babi dan sapi digunakan *Spektroskopi Infrared* (FTIR). FTIR merupakan salah satu teknik yang paling umum dan mudah digunakan oleh kimia organik. Pengukuran serapan *diferensiasi frekuensi infrared* bertujuan

untuk menentukan gugus-gugus fungsi molekul dari gelatin kulit babi dan sapi. Analisa dari FTIR dapat dilihat dari 4 daerah puncak spektrum yaitu Amida A ($3600-2900\text{ cm}^{-1}$), Amida I ($1656-1644\text{ cm}^{-1}$), Amida II ($1560-1335\text{ cm}^{-1}$), dan Amida III ($750-1240\text{ cm}^{-1}$). Dari puncak-puncak spektrum tersebut, *Principal Component Analysis* (PCA) dapat menyederhanakan hasil dari tampilan Spektrum FTIR sehingga menjadi tampilan *score plot* dalam kuadran yang berbeda-beda antara gelatin dari kulit babi dan sapi untuk memudahkan dalam membedakan kedua jenis gelatin. Perkembangan metode analisis dengan menggunakan FTIR sekarang telah digabungkan dengan teknik kemometrik yaitu PCA yang digunakan untuk menyederhanakan berupa data serapan spektrum hingga menjadi tampilan *score plot* (Putri, 2013).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh peneliti sebelumnya (Zihadia, 2018) yaitu tentang diferensiasi gelatin sapi dan gelatin babi pada *gummy vitamin C* menggunakan metode kombinasi *Spektroskopi Infrared* (FTIR) dan *Principal Component Analysis* (PCA), maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang diferensiasi gelatin dari kulit babi dan sapi dengan menggunakan metode *Spektroskopi Infrared* (FTIR) dan *Principal Component analysis* (PCA).

METODE

Proses Penyiapan Bahan Baku

- Kulit babi dan sapi mentah terlebih dahulu dibersihkan.
- Kemudian direndam dalam campuran aquades dan larutan teepol 1% dengan perbandingan 3:1 selama 3jam.
- selanjutnya, dilakukan pencucian sampel menggunakan air bersih.
- Daging yang masih ada pada kulit dibuang dan dicuci kembali dengan air bersih.

- e. Kemudian direndam dalam campuran aquades, natrium sulfida 3% dan kalsium hidroksida 2% dengan perbandingan 3:1:1.
- f. Bulu pada kulit dibuang dan dicuci kembali dengan air mengalir hingga bersih lalu dinetralkan dengan aquades dan asam format 2% dengan perbandingan 3:1 hingga pH netral 7 kemudian dipotong-potong kecil.

Pembuatan Gelatin Dari Kulit Babi dan Sapi

- a. Kulit babi ditimbang 539 gram dan kulit sapi 117gram diletakkan dalam Beaker glass 1000 mL yang berbeda.
- b. Masing-masing erlenmeyer yang berisi sampel direndam dengan CH_3COOH 9 %.
- c. Lalu dimasukkan dalam kulkas selama 4x 24 jam.
- d. Selanjutnya, pencucian sampel dengan H_2O sehingga pH netral.
- e. Setelah pencucian, sampel dimasukkan kembali dalam beaker glass
- f. Lalu ditambah dengan aquades hingga terendam dan ditutup dengan alumunium foil. Masing-masing erlenmeyer dimasukkan dalam shaker water bath selama 9 jam (3 jam) pada suhu 60° (3 jam) pada suhu 65° (3 jam) pada suhu 70° .
- g. Pada setiap tahap dilakukan penyaringan 2 kali dan filtrat yang dihasilkan ditampung dalam erlenmeyer lalu didinginkan dalam kulkas.
- h. Masing-masing gelatin cair yang dihasilkan dituang ke dalam wadah dan dimasukkan dalam oven selama 24 jam.

Penentuan Spektrum Dengan FTIR

- a. Nyalakan *spektrofotometer infrared* dan biarkan panas selama 15menit
- b. Letakkan sampel pada tempat sampel dan dilakukan pengukuran sampel.
- c. Spektrum yang diperoleh kemudian dianalisa sesuai dengan gugus

fungsionalnya.

Penentuan Score Plot Dengan Program PCA

Data serapan spektrum dari pengujian FTIR dimasukkan ke dalam program *minitab* 18. Data berupa serapan spektrum FTIR akan diubah menjadi tampilan *score plot* (Hadijah, 2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persiapan Bahan Baku

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk membedakan antara gelatin dari kulit babi dan sapi yang dibantu oleh *Spektroskopi Infrared* (FTIR) dan *Principal Component Analysis* (PCA). Pengambilan sampel kulit sapi diambil dari salah satu pedagang daging di sekitar Banda Aceh, sedangkan kulit babi didapatkan melalui pengiriman dari Medan. Pada tahap ini persiapan yang dilakukan dengan tahap pembersihan yaitu tahap penghilangan non kolagen dari sampel. Pembersihan kulit sampel dilakukan terlebih dahulu dengan cara pencucian dibawah air yang mengalir, sehingga darah yang tersisa pada kulit menjadi hilang.

Langkah selanjutnya yaitu tahapan perendaman, yang dilakukan dengan penambahan H_2O dan larutan teepol 1% ke dalam sampel selama 3 jam. Hal ini bertujuan untuk menghilangkan zat pengotor beserta lemak yang ada, karena larutan teepol memiliki sifat non polar sehingga dapat melarutkan lemak. Setelah berlangsung 3 jam maka sampel dicuci kembali dengan air mengalir, dan selanjutnya direndam dengan campuran Aquadest (H_2O), Natrium Sulfida (Na_2S) 3% dan Kalsium Hidroksida ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) 2% selama 2 hari yang bertujuan untuk menghilangkan bulu yang ada pada kulit.

Hal ini terjadi karena senyawa keratin yang terdapat pada bulu sampel akan diputuskan oleh senyawa sulfida dari jembatan sulfida. Karena sampel

bersifat basa pada saat proses pembuangan bulu maka dilakukan penetralan dengan campuran aquadest dan Asam Format (HCOOH). Setelah sampel netral, Sampel dipotong kecil-kecil yang bertujuan untuk memperluas permukaan supaya asam asetat pada saat proses perendaman asam dapat meresap dan prosesnya akan berlangsung dengan sempurna dan lebih cepat (Yolanda, 2016).

Dalam proses pembuatan gelatin dilakukan penimbangan terhadap sampel yaitu kulit babi dan sapi seperti yang terdapat pada tabel berikut:

Tabel 1. Berat Sampel

Jenis kulit gelatin (gram)	
Kulit Babi	539
Kulit Sapi	117

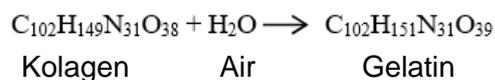
Berdasarkan Tabel 2 diperoleh berat nilai rendemen gelatin dari kulit babi dan sapi sebagai berikut:

Tabel 2. Berat nilai rendemen gelatin kulit babi dan sapi.

Jenis Gelatin	Nilai Rendemen (%)
Gelatin Kulit Babi	1,90
Gelatin Kulit Sapi	8,86

Hasil gelatin yang diperoleh selanjutnya dikarakterisasi dengan menggunakan FTIR dan PCA.

Nilai Rendemen adalah suatu berat hasil yang diperoleh dari suatu proses ekstraksi menggunakan sejumlah sampel yang diinginkan.



Nilai rendemen yang diperoleh pada tahap produksi gelatin merupakan hal yang penting untuk diketahui. Karena nilai rendemen dapat memperkirakan perbandingan hasil yang didapatkan dengan melihat jumlah bahan baku dalam suatu proses serta untuk mengetahui tingkat efisiensi dari suatu proses. Nilai rendemen yang didapatkan dari kulit babi

yaitu 1,90 sedangkan pada kulit sapi yaitu 8,86. Rendahnya perolehan nilai rendemen dipengaruhi oleh hilangnya kolagen pada saat pencucian atau hidrolisis kolagen yang tidak sempurna.

Proses Pembuatan Gelatin

Pada tahap selanjutnya dilakukan yaitu konversi kolagen menjadi gelatin melalui proses perendaman dengan asam asetat (CH₃COOH) 9% hingga sampel terendam selama 4x24 jam didalam freezer. Pada saat perendaman, ion H⁺ dari larutan asam yang akan berinteraksi dengan kolagen. Rantai-rantai tropokolagen akan kehilangan struktur tripel heliksnya, hal ini disebabkan oleh terhidrolisisnya ikatan hidrogen yang terdapat dalam tropokolagen.

Material seperti lemak yang tidak mengandung kolagen pada sampel dapat dibuang dengan proses perendaman yang akan menyebabkan terjadinya pengembunan. Setelah proses perendaman maka sampel dicuci dengan aquades yang bertujuan untuk menetralkan kembali sehingga pH 7, hal tersebut dikarekan pada pH 7 maka akan menyebabkan titik isoelektrik komponen dari non kolagen hilang (Anida, 2016).

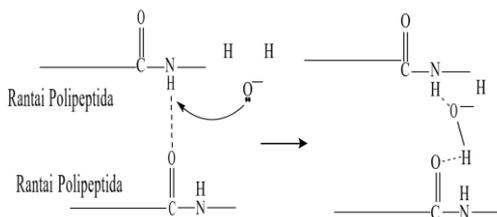
Tahap terakhir yaitu proses pemurnian gelatin yang dilakukan dengan proses pengeringan. Sebelum dilakukan pengeringan maka terlebih dahulu sampel dipanaskan dalam water bath pada suhu 60°-70°C selama 9 jam, bertujuan untuk memecah ikatan hidrogen dan serabut tripel heliks menjadi lebih panjang sehingga gelatin yang dihasilkan akan lebih banyak serta akan melanjutkan pemecahan ikatan-ikatan silang sehingga struktur kolagen akan stabil.



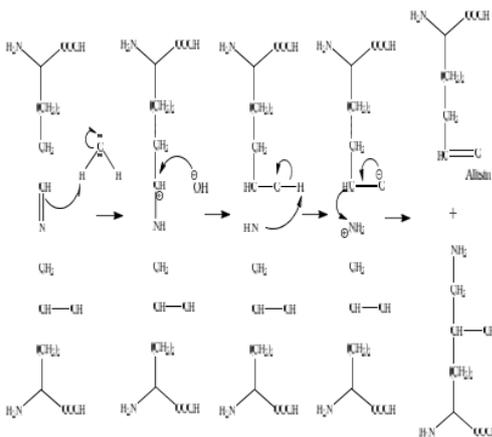
Gambar 1. Transisi rantai helix pada kolagen.

Tabel 3. Karakteristik serapan IR pada rantai peptida (Syafiqoh, 2014)

Rantai Peptida	Bilangan Gelombang cm ⁻¹	Keterangan
Amida A	3300	NH Stretching
Amida B	3100	NH Stretching
Amida I	1600-1690	C=O Stetching
Amida II	1480-1575	CN Stretching, NH Bending
Amida III	1229-1301	CN Stretching, NH Bending
Amida IV	625-767	OCN Bending
Amida V	640-800	Out-of-plane NH Bending
Amida VI	537-606	Out-of-plane C=O Bending
Amida VII	200	Skeletal torsion



Gambar 2. Reaksi pemutusan ikatan hydrogen tropokolagen



Gambar 3. Reaksi hidrolisis ikatan silang kovalen tropokolagen

Proses perendaman asam lebih banyak digunakan karena perendaman asam lebih mudah dibandingkan dengan perendaman basa.

Pengujian Dengan Menggunakan Metode *Fourier Transform InfraRed* (FTIR)

Tabel 4. Spektra FTIR gelatin kulit babi dan sapi

Jenis	Gugus Fungsional FTIR			
	Amida A	Amida I	Amida II	Amida III
Gelatin Babi	3460,03	1652,34	1450,47	1100
Gelatin Sapi	3444,87	1643,35	1450,47	1165

Setelah diperoleh hasil gelatin dari kulit babi dan sapi maka selanjutnya gelatin diuji dengan menggunakan instrument FTIR untuk menmbandingkan spektrum dari gelatin babi dan gelatin sapi. Gelatin babi dan gelatin sapi mempunyai kemiripan pola absorban. Analisa menggunakan FTIR dapat dilihat dari 4 daerah spektrum yang dimiliki oleh gelatin babi dan gelatin sapi Amida A, Amida I, Amida II dan Amida III.

Ikatan hidrogen pada gugus Amida ditandai dengan melebarnya daerah puncak 3444 dan 3460 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya ikatan N-H *stretching*. Ikatan karbonil C=O ditandai dengan adanya daerah puncak 1643-1652 cm⁻¹ dan disebut sebagai daerah puncak Amida I. Daerah puncak Amida II ditunjukkan dengan adanya serapan pada panjanggelombang 1450 cm⁻¹. Sedangkan frekuensi pada 1165-1100 cm⁻¹ merupakan daerah puncak Amida III , pada daerah ini terdapat kaitan antara turunan fosfat, polisakarida, protein, dan asam lemak dengan vibrasi (Zilhadia, 2018).

Data yang akan digunakan dalam uji FTIR adalah panjang gelombang dan transmitansi yang dihasilkan setiap sampel. Vibrasi dari struktur kimia yang mengandung gelatin dapat ditunjukkan oleh panjang gelombang yang diperoleh dari FTIR. Sedangkan transmitansi

menunjukkan korelasi linear dengan konsentrasi dari sampel.

Perubahan pada vibrasi dalam suatu molekul terjadi ketika molekul menyerap sinar inframerah pada frekuensi tertentu apabila terdapat transisi energi didalam molekul, transisi energi yang terjadi didalam sinar inframerah inilah yang menyebabkan perubahan vibrasi dalam suatu molekul. Spektroskopi FTIR mendeteksi secara cepat dari sampel gelatin yang diuji dan hasil yang didapat konsisten memberikan informasi yang terkandung dari hasil gelatin babi dan sapi (Inayah, 2018).

Pengujian Dengan Metode *Principal Component Analysis (PCA)*

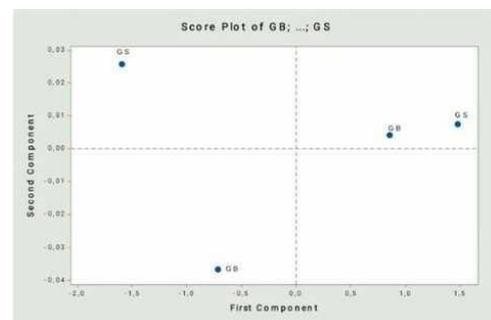
Walaupun kedua bentuk spektrum pada gelatin babi dan gelatin sapi sangat mirip, namun pada analisis yang akan digunakan melalui program minitab akan terlihat lebih jelas perbedaan antara keduanya. PCA dapat membedakan gelatin babi dan gelatin sapi berdasarkan intensitas serapan yang dimiliki oleh kedua gelatin pada spektrum FTIR. Program minitab bisa digunakan untuk input variabel untuk data *clustering*. Secara umum PCA juga dapat digunakan sebagai input variabel untuk analisa regresi dan analisa diskriminan.

Keuntungan menggunakan PCA yaitu variabel-variabel baru inididak saling berkorelasi sehingga masalah *multicolinearity* dapat dihindari. Program minitab bekerja mengubah dari variasi data menjadi dalam bentuk *score plot*. Pada kurva plot ditandai dengan singkatan GB yang berarti gelatin babi untuk menandakan terdapatnya gelatin babi, GS yang berarti gelatin sapi yang menunjukkan bahwa benar adanya gelatin sapi dalam kurva tersebut. Data yang akan dimasukkan dalam minitab adalah serapan sampel yang spesifik yaitu Amida A, Amida I, Amida II, dan Amida III.

Selanjutnya dari nilai puncak spektra tersebut dibaca dalam bentuk *score plot* gambar untuk mempermudah

dalam membedakan antara gelatin babi dan gelatin sapi. Nilai PCA dapat menunjukkan titik titik dari sampel disamping variabel panjang gelombang FTIR yang menjadi karakteristik sampel tersebut dalam grafik. Oleh karena itu penggunaan metode minitab ini juga dapat mengelompokkan gelatin babi dan gelatin sapi dalam lembaran cangkang kapsul (Putri, 2013).

Penggunaan PCA dilengkapi dengan beberapa komponen yaitu diantaranya *First component* atau biasa disebut komponent utama dan *second component* atau komponent berikutnya. Maka dari itu analisis komponent utama berguna untuk mereduksi data sehingga lebih mudah untuk mengintrepesikan data-data tersebut. Analisis komponent utama merupakan analisis antara dari suatu proses penelitian yang besar atau suatu awal dari analisis perikutnya yang disebut *second component* yang merupakan analisis yang berlangsung berakhir. Misalnya komponent utama bisa merupakan masukan untuk regresi berganda atau analisis faktor (Yanti, P.2014)



Gambar 4. Hasil score plot gelatin kulit babi dan Sapi

Hasil *score plot* menunjukkan bahwa gelatin sapi dengan daerah serapan spektra di 3444,87 dan 2924,09 berada pada kuadran I dan gelatin babi berada pada kuadran III dengan serapan 3460,3 dan 2927,94, gelatin sapi dan gelatin babi berada pada daerah yang berbeda yang mengindikasikan bahwa proses produksi menyebabkan konformasi gelatin mengalami perubahan. Perubahan konformasi disebabkan oleh proses

pemanasan dan pengadukan. Hal tersebut membuktikan bahwa *score plot* dapat membuat perbedaan berdasarkan intensitas serapan yang dimasukkan ke dalam software.

Dengan demikian PCA telah berhasil mengklasifikasikan gelatin berdasarkan sumbernya. Aturan pada kuadran scoreplot adalah bahwa semakin dekat letak titik (plot) dari sampel maka semakin baik hasil yang diperoleh. Pada penelitian ini serapan yang didapat yaitu masing-masing 2 daerah serapan yang menyebabkan dalam score plot terdapat dua jenis yaitu gelatin dari kulit babi dan sapi (Zilhadia,2018).

DAFTAR RUJUKAN

- Abdul, R. (2015). Analisis Derivat Babi Dalam Produk Makanan Dan Farmasi Dengan Metode Fisika-Kimia Dan Biologi molekuler Untuk Autentikasi Halal. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta
- Aisyah et.al.. (2014). Poultry as an Alternative Source of Gelatin. Malaysia: *Health and The Environment Journal* Vol 5 (1) : 27-49
- Anida. (2016). Pengaruh Variasi Konsentrasi Dan Lama Perendaman Asam Asetat (CH₃COOH) Terhadap Produksi Gelatin Dari Limbah Kulit Kuda (*Equus Caballus*). UIN Alauddin Makassar.
- Assifa Putri. (2013). Analisis Minyak Babi Pada Krim Pelembab Wajah Yang Mengandung Minyak Zaitun Dengan Menggunakan Spektroskopi Fourier Transform Infra Red (FTIR). UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta
- Fathiyah. (2015). Analisis Kandungan Gelatin Babi Dan Gelatin Sapi Pada Cangkang Kapsul Keras Yang Mengandung Vitamin A Menggunakan Real- Time Polymerase Chain Reaction. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Hadijah. (2013). Peramalan Operasional Reservasi Dengan Program Minitab Menggunakan Pendekatan Arima Pt Surindo Andalan. PT Kadir Property. Jakarta
- Inayah Athi. (2018). Analisis Kemometrik Menggunakan Lda (Linear Discriminant Analysis) Dan Pls (*Partial Least Square*) Dari Sampel Minyak Babi Dan Minyak Sawit Berbasis Data Ftir. UIN Maulana Malik Ibrahim. Malang
- Khopkar S.M. 2002. Konsep Dasar Kimia Analitik. UI press.
- Kirana S. , Miskiyah. (2017). Kajian Potensi Kulit Sapi Kering Sebagai Bahan Dasar Produksi Gelatin Halal. Vol. 41 (3)
- Puspitaningrum, Yanti. (2014). Deteksi DNA Gelatin Sapi dan Gelatin Babi Pada Simulasi Gummy

KESIMPULAN

Perbedaan gelatin dari kulit babi dan sapi terdapat pada serapan spektrum dan *score plot*. Serapan spektrum gelatin dari kulit babi yaitu (Amida A), (Amida I), (Amida II), (Amida III). Sedangkan serapan spektrum pada gelatin dari kulit sapi yaitu (Amida A), (Amida I), (Amida II), (Amida III). Metode PCA yaitu membedakan gelatin dari kulit babi dan sapi dalam bentuk *score plot* dengan letak dikuadran yang berbeda.

- Vitamin C Menggunakan Real-Time Polymerase Chain Reaction untuk Analisis Kehalalan. Fakultas Kedokteran dan Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta
- Yolanda Hana. (2016). Ekstraksi Dan Evaluasi Gelatin Dari Kulit Sapi Yang Telah Mengalami Proses Buang Bulu Menggunakan Hidrolisis Asam. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Zilhadia. (2018). Diferensiasi Gelatin Sapi Dan Babi Pada Gummy Vitamin C Menggunakan Metode Kombinasi Spektroskopi Fourier Transform Infra Red (FTIR) dan Principal Component Analysis (PCA). *Pharmaceutical sciences and Research*. 5(2)