

Preparasi Gelatin Sapi Berbasis Tulang Femur untuk Aplikasi Cangkang Kapsul Obat Herbal melalui Hidrolisis Asam dan Karakterisasinya

Gelatin Extraction and Characterization from Femur Bones of Bovine and Porcine with Acid Process

Penulis Purwantiningsih Sugita^{1*}, Muhamad Rifai¹, Laksmi Ambarsari², Dyah Utami Cahyaning Rahayu³, Hanhan Dianhar⁴

Afiliasi ¹Departmen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB University, Bogor 16680, Indonesia
²Departmen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB University, Bogor 16680, Indonesia
³Departmen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok 16424, Indonesia
⁴Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta, Jakarta 13220, Indonesia

Kata Kunci

- Gelatin
- Tulang femur sapi
- Gugus fungsi
- Asam amino

Keywords

- *Gelatine*
- *Femur bones of bovine*
- *Functional group*
- *Amino acid*

Diterima 30 Mei 2020

Direvisi 22 November 2020

Disetujui 27 Maret 2021

*Penulis Koresponding

Purwantiningsih Sugita
email:
purwantiningsih@apps.ipb.ac.id

ABSTRAK

Gelatin telah banyak digunakan sebagai aditif dalam industri pangan, obat-obatan (farmasi) dan kosmetik. Penampilan fisik yang serupa antara gelatin sapi dan babi menyebabkan masalah bagi sebagian masyarakat khususnya muslim karena kesadaran pentingnya makanan halal. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji proses pembuatan gelatin dari tulang femur (paha) sapi dengan cara hidrolisis asam dan karakterisasinya dibandingkan terhadap standar gelatin sapi dan babi. Tulang sapi direndam HCl 5% selama 10 hari dan setiap 2 hari dilakukan penggantian larutan HCl untuk mendapatkan ossein. Ossein dihidrolisis dengan pemanasan bertahap pada suhu 65, 75, dan 85°C. Gelatin dikonfirmasi oleh karakter fisiko-kimia, FT-IR dan analisis asam amino dengan KCKT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rendemen gelatin sapi adalah 4,33%. Karakter fisiko-kimia gelatin sapi hasil isolasi dan standar gelatin sapi memiliki kesesuaian dengan standar gelatin babi dan memenuhi persyaratan SNI 06-3735-1995 dan GMIA. Oleh karenanya, gelatin sapi secara spesifik mampu mensubstitusi gelatin babi untuk aplikasi di bidang farmasi. Spektrum FTIR gelatin sapi menunjukkan adanya gugus amida A, amida I, amida II dan amida III. Karakter asam amino dari gelatin diidentifikasi sebagai glisin dan prolin dengan kadar baik glisin maupun prolin gelatin sapi lebih tinggi dibandingkan gelatin babi.

ABSTRACT

Gelatin has been widely used as an additive in food industry pharmaceutical, and cosmetic. The similar physical appearance between bovine and porcine gelatin causes an issue for some communities like a Muslim due to awareness of halal food. This study aims to produce gelatin from femur bones of bovines with acid hydrolysis and their characteristics compared to standard gelatin of bovine and porcine. Bovine and porcine bones were soaked in 5% HCl for 10 days and every 2 days a HCl solution was replaced to get ossein. Ossein is hydrolyzed by gradual heating at 65, 75, and 85°C. Gelatin confirmed by the physico-chemical characters, FT-IR and analysis amino acid with HPLC. The results showed that the yield of bovine gelatin was 4.33%. The physico-chemical characters of bovine gelatin resulting from isolation and bovine gelatin standards are in conformity with porcine gelatin standards and meet the requirements of SNI 06-3735-1995 and GMIA. Therefore, bovine gelatin is specifically capable of substituting porcine gelatin for application in the pharmaceutical field. The FTIR spectrum of bovine gelatin shows the presence of amide A, amide I, amide II and amide III groups. The amino acid characters of gelatin were identified as glycine (13.57%) and proline (1.62%) for bovine gelatin and glycine (0.51%) and proline (0.09%) for porcine gelatin.



PENDAHULUAN

Gelatin merupakan produk turunan protein yang berasal dari hidrolisis jaringan kolagen. Hidrolisis jaringan kolagen dapat dilakukan dengan alkali atau asam. Proses ini akan menyebabkan ikatan silang antar ikatan rantai polipeptida kolagen pecah dan menghasilkan gelatin (See *et al.* 2010). Sumber, jenis kolagen dan kondisi reaksi hidrolisis akan mempengaruhi sifat-sifat gelatin. Gelatin, zat larut dalam air dan merupakan polipeptida dengan berat molekul tinggi. Secara fisik gelatin berbentuk padat, hambar, tidak berwarna dan transparan (Mariod dan Adam 2013). Berbagai jenis gelatin memiliki sifat termal dan reologi yang bervariasi seperti *bloom strenght*, titik leleh dan suhu pembentuk gel. Sifat fisikokimianya bergantung dari panjang rantai atau distribusi berat molekul, komposisi asam amino dan hidrofobitasnya (Shyni *et al.* 2014). Ada dua tipe gelatin, gelatin tipe A berasal dari perlakuan asam dan memiliki titik isoionik pH 7,9 hingga 4 dan tipe B berasal dari perlakuan alkali dengan titik isoionik pH 4,8-5,5 (Aisyah *et al.* 2014). Gelatin tipe A umumnya berasal dari kulit babi yang memiliki titik isoelektrik (titik pengendapan protein) pada pH yang lebih tinggi (7,5–9,0), dari pH isoelektrik gelatin tipe B (4,8–5,0), sedangkan gelatin tipe B bersumber dari kulit jangat sapi dan tulang sapi. Gelatin ikan dikategorikan sebagai gelatin tipe A. Produksi gelatin Eropa pada tahun 2011 80% berasal dari kulit babi, 15% kulit sapi, 5% sumber lain seperti tulang sapi, babi, unggas, dan ikan (Jamaludin *et al.* 2011).

Menurut Saputra *et al.* (2015), sumber bahan baku industri gelatin biasanya berasal dari tulang dan kulit sapi dan babi. Produksi gelatin di dunia sebagian besar menggunakan bahan baku kulit babi dengan persentase 45,80%, sedangkan gelatin yang diproduksi dari kulit dan tulang sapi, berturut-turut 28,40% dan 24,20%. Pada tahun 2007, sumber gelatin di dunia yaitu berasal dari kulit babi 46%, kulit sapi 29,4%, tulang sapi dan babi 23,1%, dan sumber lain 1,5% (Gomez-Guillen *et al.* 2009). Berbagai sumber gelatin ini menjadi masalah penting untuk komunitas Muslim karena kesadaran mereka akan makanan halal. Hukum Islam mensyaratkan produk jenis apa pun (baik pangan maupun non-pangan) harus bebas dari daging babi dan turunannya (Amqizal *et al.* 2017). Indonesia mengimpor sekitar 2.000-3.000 ton gelatin per tahun. Data Badan Pusat Statistik (BPS) 2007 menyebutkan impor gelatin mencapai 2.715.782 kg dengan nilai sebesar 9.535.128 dolar AS dari berbagai negara

(Perancis, Jepang, India, Brazil, Jerman, Cina, Argentina, dan Australia) untuk kebutuhan dalam negeri.

Gelatin umumnya digunakan sebagai zat pembuat gel pada produk pangan, industri farmasi, fotografi dan kosmetik. Pada produk pangan gelatin dapat dimanfaatkan sebagai bahan penstabil (*stabilizer*), pembentuk gel (*gelling agent*), pengikat (*binder*), pengental (*thickener*), pengemulsi (*emulsifier*), perekat (*adhesive*), dan pembungkus makanan yang bersifat dapat dimakan (*edible coating*) (Gomez-Guillen *et al.* 2011). Dalam industri farmasi, gelatin digunakan sebagai bahan pembuat kapsul. Cangkang kapsul berguna untuk mewadahi berbagai bentuk obat mulai tepung atau serbuk, granula, pasta, cair, dan semi padat. Kapsul dapat melindungi konsumen obat dari rasa dan aroma yang ekstrim/tak enak seperti pahit, anyir, manis, dan bau. Kapsul juga melindungi pasien dari obat yang terlalu asam sehingga pasien dengan gangguan lambung akan aman. Kapsul dipakai karena kepraktisannya untuk kenyamanan konsumen obat.

Penelitian sebelumnya, untuk membedakan gelatin sapi dan babi berdasarkan komposisi asam aminonya menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Widyaninggar *et al.* (2012) melaporkan bahwa kadar asam amino glisina pada cangkang kapsul obat berbahan gelatin babi lebih tinggi dibandingkan berbasis gelatin sapi. Zihaldia *et al.* (2012) melaporkan bahwa cangkang kapsul berbasis gelatin sapi memiliki kadar asam amino glisina dan prolina lebih tinggi dibandingkan cangkang kapsul berbasis gelatin babi. Namun demikian, kedua penelitian tersebut tidak menyebutkan sumber gelatin yang digunakan (tulang atau kulit). Hafidz *et al.* (2011) melaporkan bahwa komposisi gelatin kulit babi memiliki jumlah asam amino glisina dan prolina lebih banyak dibandingkan dengan gelatin kulit sapi. Produk makanan atau obat yang mengandung gelatin dalam komposisinya perlu diketahui status kehalalannya, berdasarkan sumber gelatin yang digunakan.

Kulit dan tulang sapi adalah produk sisa dari pengolahan daging sapi konsumsi yang tidak terpakai sebagai produk pangan. Kulit merupakan organ tunggal tubuh paling berat pada ternak, pada sapi sekitar 6-8%, dan dapat dikatakan merupakan hasil ikutan ternak yang paling tinggi nilai ekonominya yaitu sekitar 59% dari nilai keseluruhan *by product* yang dihasilkan oleh seekor sapi. Kulit banyak dimanfaatkan untuk tujuan lain diantaranya sebagai produk barang gunaan seperti tas, dompet dan ikat pinggang. Limbah tulang sapi diperkirakan sekitar 16,6% (Faried 2016). Tujuan penelitian ini difokuskan untuk mengkaji sifat



fisikokimia gelatin sapi berbasis tulang femur (paha) yang diproses secara asam. Tahap pertama diawali ekstraksi gelatin, selanjutnya karakterisasi dan identifikasi sifat fisik dan kimianya. Sifat fisik yang diamati meliputi rendemen, viskositas, bobot molekul relatif (*Mr*), dan derajat keasaman (pH). Sementara sifat kimia meliputi analisis proksimat (kadar air, abu, dan protein), kandungan mineral Ca dan P, analisis gugus fungsi dengan spektrofotometri infra merah transformasi Fourier (FTIR) dan komposisi asam amino penciri gelatin dengan metode KCKT.

METODE

Bahan

Tulang femur (paha) sapi dibeli dari pasar Bogor, akuades, HCl 0,1 N, 0,01 N, 6 N dan 5%, H_3PO_4 5%, NaOH 0,1 N dan 40%, standar gelatin sapi dan babi diperoleh dari LPPOM MUI, H_2SO_4 pekat, katalis campuran selenium, H_3BO_3 2%, boraks, indikator bromokresol hijau (BKH) dan metil merah (MM) (5:1), HNO_3 pekat, campuran $HClO_4$ dan HNO_3 (2:1), HCl pekat, amonium molibdat 10%, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, KH_2PO_4 , serbuk KBr, larutan stok OPA (*orto-ftalaldehida*) (OPA, metanol, merkaptoetanol, brij-30 (polioksietilen-4-lauril eter) 30%, buffer borat 1 M (pH 10,4), standar asam amino (asam glutamat, asam aspartat, serina, histidina, glisina, treonina, arginina, alanina, tirosina, metionina, valina, fenilalanina, isoleusina, leusina, prolina dan lisina).

Alat

Toples kaca besar (2 L), saringan berpori besar, *spray dryer* Buchi-190, seperangkat radas destilasi Kjeldahl otomatis, viskometer Brookfield, viskometer Ostwald, pH meter, spektrofotometer serapan atom (AAS) dengan lampu katoda Ca, spektrofotometer UV-Vis, FTIR Spectrum-One, KCKT Shimadzu dengan kolom ODS-2 Hypersil 150×4,6 mm, dan detektor fluoresensi. Kondisi alat diatur dengan laju alir 1 mL/menit dengan pemisahan sistem gradien. Fase gerak menggunakan eluen campuran natrium asetat pH 6,5, NaEDTA (natrium-etilenadiaminatetraasetat), metanol, dan THF (tetrahidrofuran) dan eluen campuran metanol 95% dan air bebas ion.

Ekstraksi Gelatin dari Tulang

Ekstraksi gelatin tulang sapi dilakukan menggunakan metode perendaman asam (Yuniarifin *et al* 2006). Tulang dibersihkan dari daging dan lemak yang menempel. Tulang yang sudah bersih direndam HCl 5% (demineralisasi) selama 10 hari dan setiap 2 hari

larutan HCl diganti dengan yang baru. Setelah terbentuk ossein (tulang lunak), ossein dicuci dengan air yang mengalir untuk menghilangkan sisa HCl. Ossein yang bersih direndam H_3PO_4 5% selama 2 hari. Setelah 2 hari, ossein dicuci dari sisa asam dan dinetralkan dengan NaOH 5% sampai pH-nya berkisar antara 5–7. Ossein netral dihidrolisis menggunakan akuades dengan pemanasan bertahap pada 65, 75, dan 85°C. Ossein yang belum terhidrolisis pada suhu 65°C disaring dari larutan gelatin dan dipisahkan untuk kembali dihidrolisis pada suhu 75°C dan selanjutnya suhu 85°C. Ossein terhidrolisis dan larut dalam air dikumpulkan dan disaring dengan kertas saring. Larutan gelatin yang diperoleh dikeringkan dengan *spray dryer*.

Analisis Proksimat

Kadar air. Penentuan kadar air dilakukan berdasarkan metode AOAC (2005). Cawan porselin kosong dan bersih dikeringkan dalam oven lalu ditimbang bobot kosong. Gelatin ditimbang 0,5 g dimasukkan ke dalam oven selama 5 jam dengan suhu 105°C. Setelah 5 jam gelatin didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Gelatin kembali dimasukkan ke dalam oven selama 5 jam dan kembali ditimbang sampai diperoleh bobot yang konstan. Penentuan kadar air dilakukan triplo.

Kadar abu. Penentuan kadar abu dilakukan berdasarkan metode AOAC (2005). Cawan porselin bersih dimasukkan ke dalam tanur dengan suhu 600 °C. Cawan porselin didinginkan dan ditimbang untuk mengetahui bobot kosong. Gelatin ditimbang sebanyak 0,5 g lalu dipijarkan di atas nyala api pembakar sampai tidak berasap. Setelah itu gelatin dimasukkan ke dalam tanur selama 5 jam dengan suhu 600°C. Setelah 5 jam gelatin didinginkan dan dimasukkan ke dalam desikator. Gelatin selanjutnya ditimbang bobot abu lalu dimasukkan kembali ke dalam tanur. Pengabuan diulang dan gelatin kembali ditimbang sampai diperoleh bobot yang konstan. Penentuan kadar abu dilakukan triplo.

Kadar protein. Penentuan kadar protein dilakukan dengan metode Kjeldahl (AOAC 2005). Gelatin ditimbang sebanyak 0,5 g dan didestruksi dengan H_2SO_4 pekat dan tambahan katalis sampai berwarna hijau bening. Gelatin ditambahkan 40 mL NaOH 50% dan didestilasi. Uap amonia hasil destilasi ditampung dalam 20 mL larutan H_3BO_3 2% yang ditambahkan 2 tetes indikator BKH:MM (5:1). Selanjutnya, larutan H_3BO_3 dititrisasi dengan HCl 0,05 N yang sudah distandardisasi.



Penentuan kadar protein dilakukan duplo dan dilakukan juga penetapan blanko dan dihitung dengan Persamaan 1.

$$\text{Kadar protein} = \frac{(S - B) \times N \times 14,007 \times 6,25}{W} \times 100\% \quad \dots\dots (1)$$

Keterangan:

- S : volume titran contoh (mL)
- B : volume titran blanko (mL)
- N : normalitas HCl (N)
- W : berat gelatin (mg)

Analisis Fisiko-Kimia

Viskositas. Penentuan viskositas dilakukan terhadap larutan gelatin dengan konsentrasi 6,67% (b/v), viskositas ditentukan menggunakan viskometer Brookfield dengan laju putaran 60 rpm.

Bobot molekul relatif (Mv). Penentuan Mv dilakukan dengan pengukuran laju alir menggunakan viskometer Ostwald. Deret standar gelatin dibuat dengan konsentrasi 0,30; 0,35; 0,40; 0,45; dan 0,50 g/dL masing-masing sebanyak 10 mL. Dalam penentuan Mr dilakukan penentuan viskositas spesifik, viskositas tereduksi, dan viskositas interinsik serta laju alir akuades sebagai pelarut.

Derajat keasaman (pH). Penentuan pH dilakukan terhadap larutan gelatin sapi dan standar gelatin sapi dan babi dengan masing-masing konsentrasi 6,67% (b/v) menggunakan pH meter.

Mineral kalsium (Ca). Gelatin dipreparasi dengan metode pengabuan basah. Gelatin ditimbang sebanyak 1 g lalu ditambahkan 5 mL HNO₃ pekat dan didiamkan dalam ruang asam 60 menit. Gelatin kemudian dipanaskan selama 4–6 jam dalam ruang asam lalu dibiarkan semalam. Gelatin ditambahkan 0.4 mL H₂SO₄ pekat dan kembali dipanaskan selama 60 menit. Setelah itu ditambahkan 2–3 tetes HClO₄:HNO₃ (2:1) (sambil dipanaskan) sampai terjadi perubahan warna dari coklat menjadi kuning muda. Gelatin didinginkan dan ditambahkan 2 mL akuades dan 0.6 mL HCl dan kembali dipanaskan selama 15 menit. Larutan selanjutnya disaring dan diencerkan dalam labu takar 100 mL. Selanjutnya ditentukan kadar Ca dengan instrumen AAS.

Mineral fosfor (P). Kandungan P dalam gelatin dilakukan dengan metode Taussky dan Shorr (1953). Larutan standar P dibuat dari 4.394 g KH₂PO₄ dalam 1 L akuades kemudian diencerkan menjadi deret standar P pada konsentrasi 0; 2; 3; 4; dan 5 ppm. Masing-masing standar ditambahkan 2 mL larutan C dan akuades sampai volumenya 5 mL. Larutan gelatin hasil pengabuan basah dipipet dan ditambahkan 2 mL

larutan C. Jumlah larutan gelatin disesuaikan agar warna contoh berada dalam kisaran standar. Contoh ditentukan absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis. Larutan C dibuat dari campuran amonium molibdat 10%, H₂SO₄ pekat dan 5 g FeSO₄.7H₂O yang dilarutkan dalam 100 mL akuades.

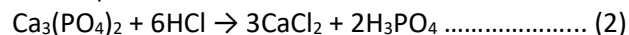
Gugus fungsi. Gelatin sebanyak 2 mg dicampur dengan 80 mg serbuk KBr dan ditumbuk hingga halus. Campuran tersebut dimampatkan dengan cetakan menggunakan pompa hidrolik sehingga membentuk kepingan pelet tipis. Karakterisasi terhadap kepingan contoh dilakukan dengan menggunakan FTIR Spectrum-One, dengan kisaran bilangan gelombang 400–4.500 cm⁻¹.

Asam amino. Gelatin ditimbang sebanyak 10 mg dan ditambahkan 1 mL HCl 6 N. Gas nitrogen ditambahkan ke dalam wadah tabung ulir. Gelatin selanjutnya dimasukkan ke dalam oven selama 24 jam pada suhu 110 °C. Setelah itu gelatin didinginkan dan disaring dengan kaca masir. Larutan gelatin ditera dalam labu takar 10 mL menggunakan HCl 0.01 N dan disaring menggunakan saringan 0.45 mikron. Larutan gelatin dipipet sebanyak 10 µL lalu ditambahkan 10 µL larutan buffer kalium borat pH 10.4 dan larutan stok OPA sebanyak 25 µL dan didiamkan selama 1 menit. Setelah itu larutan gelatin diinjeksikan ke dalam KCKT sebanyak 5 µL.

HASIL & PEMBAHASAN

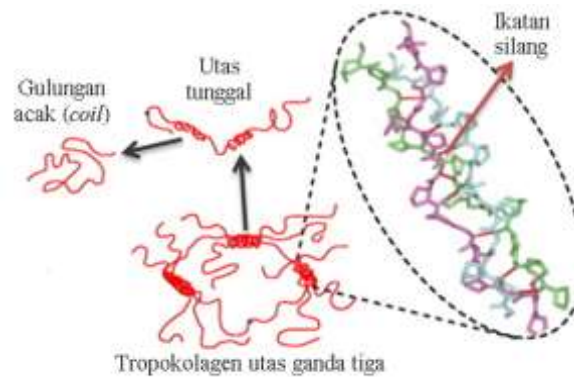
Gelatin Sapi

Tulang paha sapi yang digunakan untuk dibuat gelatin sebanyak 1.404,03 g dan hasil pengeringan gelatin sapi menghasilkan serbuk gelatin sebanyak 65,43 g (4,33%). Yuniarifin *et al.* (2006) melaporkan umumnya dengan metode perendaman asam rendemen gelatin dari tulang sekitar 8,32%. Tahap demineralisasi pada pembuatan gelatin bertujuan menghilangkan materi non kolagen (Ca dan P) dalam tulang (Karlina & Atmaja 2010). Struktur tulang tersusun atas kolagen yang dikelilingi mineral yang dalam bentuk Ca₃(PO₄)₂ (Yudiono 2003). Selama demineralisasi dengan HCl struktur tulang akan mengalami penggembungan dan kalsium dalam tulang terurai menjadi Ca²⁺ dan asam fosfat. Demineralisasi dituliskan pada Persamaan 2.



Struktur tulang menggembung, struktur tulang menjadi lebih renggang sehingga tulang menjadi lunak atau disebut (ossein). Tahap perendaman asam dilakukan selama 3 hari menggunakan H₃PO₄ 5%.





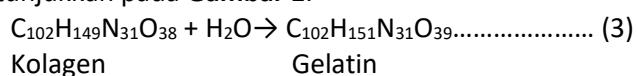
Gambar 1. Perubahan Struktur Kolagen

Tabel 1. Hasil Analisis Proksimat Gelatin Isolasi dan Standar

Sampel	Kadar (%)		
	Air	Abu	Protein
Gelatin tulang sapi	6,27	3,02	76,76
Standar gelatin sapi	11,33	0,45	87,90
Standar gelatin babi	11,11	0,05	86,45
*Literatur	8–13	0–3.2	85–92

*(GMIA 2012)

Proses perendaman ossein dalam asam merusak ikatan silang pada struktur utas ganda tiga tropokolagen sehingga strukturnya menjadi tidak stabil (Kusumawati *et al.* 2008). Ossein yang terbentuk berwarna kemerahan (pH 2) dan dicuci dengan air mengalir untuk membilas dan menghilangkan sisa asam dan dibantu dengan larutan NaOH 0.1 N untuk mempercepat peningkatan pH ossein menjadi 6 (Sopian 2002). Selanjutnya ossein dihidrolisis dengan kenaikan suhu bertahap dari 65, 75, dan 85 °C untuk mengubah kolagen dirubah menjadi gelatin. Reaksi hidrolisis kolagen menjadi gelatin terjadi dalam tiga tahap, yaitu: hidrolisis lateral, diikuti hidolisis ikatan peptida terutama pada glisin dan perusakan struktur heliks kolagen (Johns dan Courts, 1977). Saat hidrolisis struktur kolagen akan menyusut, hal ini disebabkan perubahan rantai utas ganda tiga kolagen berubah menjadi utas tunggal berbentuk gulungan acak (*coil*) yang terlarut dalam air (Hasan 2007). Persamaan rekasi hidrolisis kolagen ditampilkan pada persamaan 3 dan pPerubahan struktur kolagen pada tahap hidrolisis ditunjukkan pada **Gambar 1**.



Hasil Analisis Proksimat

Hasil analisis proksimat dapat dilihat pada **Tabel 1**. Kadar air gelatin sapi sebesar 6,27%, sedangkan untuk standar gelatin sapi dan babi berturut-turut sebesar 11,13% dan 11,1%. Kadar air pada sampel gelatin tulang sapi maupun standar gelatin sapi dan babi, ketiganya berada di bawah batas ditetapkan standar kualitas gelatin berdasarkan kadar air yaitu maksimum 16% (SNI 06-3735-1995) dan memenuhi standar untuk produk makanan karena berada pada rentang 8-15% (GMIA, 2012). Kadar abu gelatin sapi 3,02%, sedangkan standar gelatin sapi dan babi berturut-turut sebesar 0,45% dan 0,05%. Tingginya kadar abu gelatin sapi dapat diakibatkan proses demineralisasi tulang yang belum sempurna. Nilai kadar abu pada gelatin sapi maupun standar gelatin sapi dan babi telah memenuhi standar kualitas gelatin berdasarkan SNI 06-3735-1995 yaitu maksimal 3,25%. Menurut GMIA (2012), kadar abu gelatin berkisar antara 0–3,2% Kadar abu gelatin bervariasi tergantung jenis bahan baku dan metode pengolahannya. Perbedaan kadar abu dihubungkan adanya perbedaan kandungan mineral pada bahan baku gelatin (Jongjareonrak *et al.* 2006). Kadar protein gelatin sapi hasil isolasi sebesar 76,76%, sedangkan untuk standar gelatin sapi dan babi berturut-turut 87,90% dan 86,45%. Kadar protein gelatin menurut GMIA (2012) berkisar antara 85–92%, sementara Rusli (2004)



menyatakan bahwa gelatin terdiri dari 98-99 % protein berdasarkan berat keringnya. Rendahnya kadar protein gelatin sapi diduga karena proses perendaman asam yang terlalu lama. Menurut hasil penelitian Jannah dan Fatimah (2008), kadar protein gelatin menurun akibat perendaman asam lebih dari 60 jam. Tulang sapi direndam asam selama 3 hari (72 jam), sehingga sebagian kolagen terlarut dalam asam fosfat. Gelatin sapi hasil isolasi masih menunjukkan mutu yang sesuai dipersyaratkan oleh SNI 06-3735-1995 dan GMIA.

Hasil Analisis Fisiko-Kimia

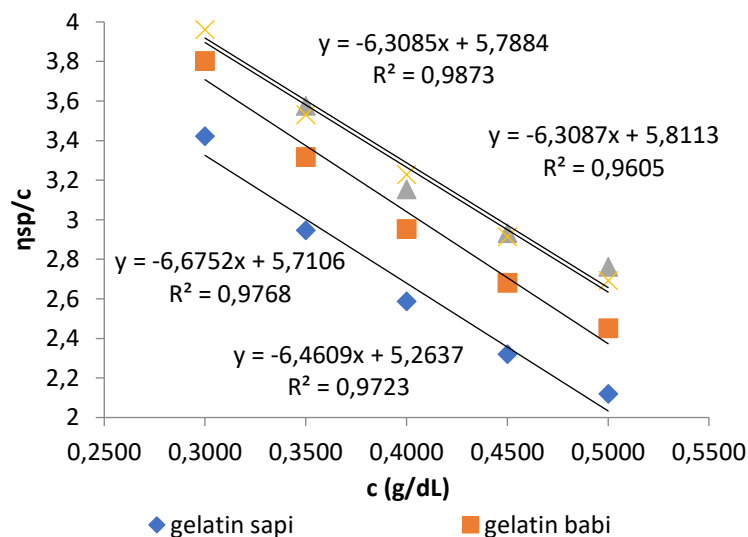
Sifat fisik viskositas, *Mv* dan pH gelatin hasil isolasi dan standar ditunjukkan pada **Tabel 2**. Viskositas gelatin dipengaruhi kadar protein gelatin, rendahnya kadar protein mengakibatkan viskositas gelatin ikut menurun (Yudiono 2003). Perhitungan *Mv* menggunakan Kurva hubungan η_{sp} dengan *c* (g/dL) (**Gambar 2**) untuk mendapatkan nilai viskositas interinsik ($[\eta]$) yang merupakan intersep dari persamaan garisnya. Melalui persamaan Mark-

Houwing-Sakurada $\eta = K \times (Mv)^\alpha$ dengan nilai *K* (konstanta Mark-Houwing-Sakurada) dan α untuk gelatin sapi berturut-turut $1,66 \times 10^{-5}$ dan 0,885, sedangkan untuk gelatin babi berturut-turut $1,00 \times 10^{-4}$ dan 0,74 (Karlina & Atmaja 2010). Gelatin tipe A (dari sapi) dan tipe B (dari babi) mengandung berbagai komponen dengan berat molekul bervariasi dari 10 hingga 400 kDa dan ada korelasi kuat antara berat molekul rata-rata dan kekuatan gel. Profil berat molekul gelatin tergantung pada proses ekstraksinya (Rehman *et al.* 2016). pH gelatin sapi yang asam (3,42), sementara standar gelatin sapi dan babi berada pada pH berturut-turut 5,50 dan 5,42. Masirah (2018) melaporkan nilai pH gelatin komersial sebesar 6,35, sedang menurut GMIA (2012), nilai pH berkisar 3,8-5,5. Nilai pH gelatin sangat dipengaruhi larutan perendam yang digunakan pada saat pembuatan gelatin (Kusumawati *et al.* 2008).

Gugus Fungsi Gelatin

Tabel 2. Sifat Fisik Viskositas, *Mv* dan pH Gelatin Isolasi dan Standar Gelatin Sapi dan Babi

Sampel	Viskositas		
	(cP)	<i>Mv</i> (g/mol)	pH
Gelatin tulang sapi	19	$1,64 \times 10^6$	3,42
Standar gelatin sapi	70	$1,84 \times 10^6$	5,50
Standar gelatin babi	91	$2,73 \times 10^6$	5,42
*Literatur	19	$1,64 \times 10^6$	3,42



Gambar 2. Kurva hubungan η_{sp} dengan *c* (g/dL)

Tabel 3. Komposisi Asam Amino Gelatin (%b/b)

Asam Amino	Gelatin Sapi Hasil Isolasi	Standar Gelatin	
		Sapi	Babi
Asam aspartat	4,22	4,77	4,93
Asam glutamat	7,90	9,29	9,43
Serin	2,59	2,96	3,23
Histidin	0,55	0,47	0,59
Glisin	13,57	15,09	15,37
Treonin	1,27	1,45	1,42
Arginin	5,97	7,12	7,37
Alanin	6,42	8,05	7,73
Tirosin	0,53	0,26	0,47
Metionin	0,62	0,63	0,76
Valin	1,65	2,00	2,02
Prolin	1,62	1,79	1,89
Isoleusin	1,03	1,22	1,06
Leusin	2,67	3,05	2,92
Lisin	2,74	3,18	3,14

Karakteristik gelatin diidentifikasi menggunakan spektroskopi Fourier transform infrared (FTIR). Karakterisasi ini bertujuan untuk mengidentifikasi gugus fungsional dari gelatin. Spektrum FTIR dari gelatin sapi hasil isolasi, gelatin sapi standar dan gelatin babi standar ditunjukkan masing-masing pada **Gambar 3a**, **3b** dan **3c**. Ketiga spektrum menunjukkan karakteristik hampir serupa. Ada empat puncak utama, yaitu bilangan gelombang $3.500-2.300\text{ cm}^{-1}$, $1.656-1.644\text{ cm}^{-1}$, $1.560-1.335\text{ cm}^{-1}$ dan $1.240-670\text{ cm}^{-1}$ yang sesuai dengan daerah berturut-turut amida A, amida I, amida II, dan amida III. Hasil serupa juga dilaporkan peneliti sebelumnya (Hashim *et al.* 2010; Puspawati *et al.* 2012; Cebi *et al.* 2016; Pradini *et al.* 2018). Amida A menunjukkan vibrasi regangan N-H dengan adanya kontribusi ikatan hidrogen dan O-H bebas, sementara amida I menunjukkan vibrasi regangan C=O dengan kontribusi vibrasi regangan ikatan C-N. Amida I merupakan serapan yang paling berguna untuk analisis FTIR dari struktur protein sekunder. Daerah serapan $1.660-1.650\text{ cm}^{-1}$ dikenal sebagai daerah serapan residu imida (struktur *random coil*) dan pada $1.635-1.645\text{ cm}^{-1}$ merupakan residu struktur β -sheet (Pradini *et al.* 2018). Amida II muncul dari vibrasi tekuk N-H dan vibrasi regangan C-N. Serapan gugus amida I dan II menunjukkan keberadaan struktur helai β pada residu amida dan struktur utas ganda tiga kolagen (Al-Saidi *et al.* 2012). Amida III menunjukkan vibrasi dari C-N dan N-H yang terikat pada amida atau merupakan vibrasi dari gugus CH_2 . Spektrum FTIR **Gambar 3a**, **3b** dan **3c** menunjukkan bahwa ketiga gelatin uji menunjukkan

gugus fungsional yang identik. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga gelatin tersebut tidak bisa dibedakan dengan teknik FTIR.

Identifikasi Asam Amino Pada Gelatin

Gelatin tersusun atas ulangan deret asam amino Gly-X-Y (**Gambar 4**), glisin dengan jumlah paling banyak sedangkan X dan Y sebagian besar diisi oleh asam amino prolina dan hidroksiprolina (Russel *et al.* 2007). Asam amino merupakan unit terkecil pembentuk gelatin. Jenis dan komposisi asam amino gelatin sapi dan babi hasil isolasi dan gelatin sapi dan babi standar disajikan pada **Tabel 3**. Secara umum terdapat perbedaan komposisi asam amino dari ketiga gelatin tersebut. Proporsi asam amino lebih dari 5,0% dibandingkan asam amino lainnya adalah asam glutamat, glisin, arginin, dan alanin. Asam amino prolin teridentifikasi rendah, yaitu kurang dari 5,0% (1,62%). Masirah (2018) melaporkan bahwa hasil analisis asam amino gelatin sapi komersial didominasi asam amino glisin (21,66%), prolin (11,23%), alanin (6,25%), asam glutamat (6,90%) dan arginin (7,19%). Hafidz *et al.* (2011) melaporkan gelatin bersumber dari kulit sapi mengandung asam amino alanin (3,3%), fenilalanin (2,7%), prolin (6,3%), glisin (10,8%), tirosin (2,6%), asam glutamat (3,4%) dan arginin (4,7%), sementara gelatin bersumber dari kulit babi mengandung asam amino alanin (8%), prolin (15,1%), glisin (23,9%), asam glutamat (8,3%), arginin (11,1%), valin (2,6%), leusin (2,9%), treonin (3,5%), lisin (2,7%) dan asam aspartat (4,1%).



Perbedaan komposisi asam amino tersebut disebabkan karena gelatin berasal dari bahan baku yang berbeda. Meskipun komposisi asam amino pasti dari gelatin tidak diketahui dengan jelas, tetapi asam amino glisin, prolin dan hiroksiprolin merupakan asam amino yang terbanyak yaitu 60% dari total residu asam amino pada kolagen dan gelatin. Komposisi dan proporsi asam amino keseluruhan pada gelatin bervariasi tergantung pada sumber bahan baku (Rehman *et al.* 2016; Hafidz *et al.* 2011). Perbedaan komposisi asam amino sangat berpengaruh pada sifat kimia dan fisik gelatin. Gelatin sapi memiliki titik isoelektrik antara pH 4,8-5, sedangkan gelatin babi memiliki titik isoelektrik pada kisaran pH 8,5-9. Hasil pengujian komposisi asam amino menunjukkan bahwa gelatin mengandung glisin dan prolin yang merupakan asam amino penyusun gelatin. Asam amino prolin dan hidroksiprolin dapat meningkatkan sifat reologi gelatin. Asam imino penting untuk mempertahankan stabilitas struktur *tripel heliks* kolagen (Ikoma *et al.*, 2003; Hwang *et al.*, 2007; Tong and Tiejin, 2013).

Secara keseluruhan hasil karakterisitik sifat fisiko-kimia gelatin sapi hasil isolasi dan standar gelatin sapi

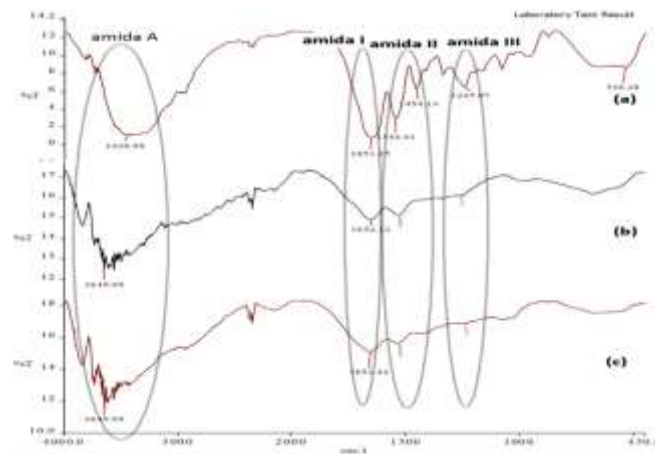
memiliki kesetaraan dengan standar gelatin babi dan memenuhi persyaratan SNI 06-3735-1995 dan GMIA. Komposisi asam amino khususnya rasio glisin terhadap prolin antara gelatin sapi dan standar gelatin babi memiliki rasio mirip sekitar 8,13. Oleh karenanya, gelatin sapi secara spesifik mampu mensubstitusi gelatin babi untuk aplikasi di bidang farmasi.

SIMPULAN

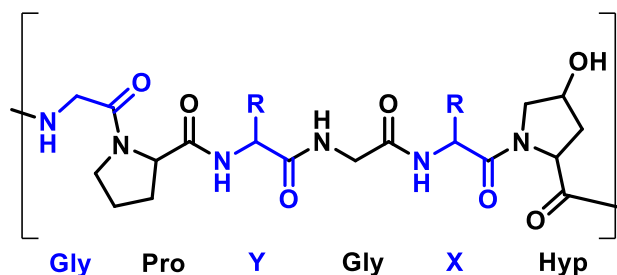
Rendemen gelatin sapi dari tulang femur dengan cara asam diperoleh 4,33%. Analisis fisikokimia gelatin sapi memiliki kesetaraan dengan standar gelatin babi dan memenuhi persyaratan SNI 06-3735-1995 dan GMIA. Spektrum FTIR membuktikan adanya serapan untuk gugus amida A, amida I, amida II, dan amida III pada gelatin sapi. Komposisi asam amino glisin pada gelatin sapi teridentifikasi lebih banyak dibandingkan gelatin babi, sementara asam amino prolin teridentifikasi sangat rendah untuk keduanya

DAFTAR PUSTAKA

[GMIA]. 2012. *Gelatin Handbook*. Gelatin Manufactures



Gambar 3. Spektrum IR Gelatin Sapi Hasil Isolasi (a), Standar Gelatin Sapi (b) dan Babi (c)



Gambar 4. Struktur Asam Amino Gelatin



- Institute of America.
- Aisyah NNM, Nurul H, Azhar ME and Fazilah A. 2014, 'Poultry as an Alternative of Gelatin Source'. *Health and the Environment Journal*, 5(1): 37-49 37.
- Al-Saidi GS, Al-Alawi A, Rahman MS, Guizani N. 2012. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of extracted gelatin from shaari (*Lithirinus microdon*) skin: effects of extraction conditions. *Internatioal Food Research Journal*. 19(3): 1167–1173.
- Amqizal A.H.I., Al-Kahtani H.A., Ismail E.A., Hayat K., Jaswir I., 2017. Identification and verification of porcine DNA in commercial gelatin and gelatin containing processed foods. *Food Control* 78, 297–303.
- AOAC. 2005. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists International, 18th ed. In Association of Official Analytical Chemists, Washington (D.C.)
- Badan Pusat Statistik (BPS). 2007, Statistik Perdagangan Luar Negeri Impor, Badan Pusat Statistik, Jakarta
- Cebi, N., Durak, M. Z., Toker, O. S., Sagdic, O., Arici, M. 2016. An evaluation of Fourier transforms infrared spectroscopy method for the classification and discrimination of bovine, porcine and fish gelatins. *Food Chem*, 190:1109–1115.
- Faried SM, Pemanfaatan Limbah Tulang Sapi Sebagai Adsorben Untuk Menyerap Logam Kadmium (Cd) dengan Menggunakan Aktivasi Na₂CO₃. [Laporan Tugas Akhir]. UII Yogyakarta, 2016
- Gómez-Guillén M.C., B. Giménez, M.E. López-Caballero, M.P. Montero. 2011. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocolloids*, 25: 1813-1827
- Gómez-Guillén MC, Pérez-Mateos M, Gómez-Estaca J, López-Caballero E, Giménez B, & Montero P. 2009. Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films. *Trends in Food Science & Technology*, 20(1): 3-16
- Hafidz RMRN, Yaakob CM, Amin I, & Noorfaizan A. 2011. Chemical and functional properties of bovine and porcine skin gelatin. *International Food Research Journal*, 18: 813-817
- Hasan. 2007. Studi ekstraksi dari pembuatan gelatin tipe B dari kulit sapi. [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Hashim, D. M., Man, Y. B. C., Norakasha, R., Shuhaimi, M., Salmah, Y. Syahariza, Z. A. 2010. Potential use of Fourier transform infrared spectroscopy for differentiation of bovine and porcine gelatins. *Food Chem*, 118, 856–860.
- Hwang, J-H., Mizuta, S., Yokoyama, Y. and Yoshinaka R. 2007. Purification and Characterization of Molecular Species of Collagen in the Skin of Skate (*Raja kenoeji*). *Food Chem*, 100: 921-925
- Ikoma, T., Kobayashi, H., Tanaka, J., Walsh, D. and Mann, S. 2003. Physical Properties of Type I Collagen Extracted from Fish scales of Pagrus major and Oreochromis niloticus. *Int J BiolMacromol*, 32: 199-204.
- Jamaludin MK, Zaki NM, Ramli MA, Hashim DM, Ab Rahman S. 2011. Istihalah: Analysis on the utilization of gelatin in food products.
- Jannah dan Fatimah. 2008. *Efektifitas Penggunaan Asam Sitrat dalam Pembuatan Gelatin Ikan Bandeng (Chanos chanos Forskal)*. [Skripsi]. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Johns. P. dan A. Courts. 1977. Relation Between Collagen and gelatin. dalam: Ward. A.G. dan A. Courts (ed.). 1977. The Science and Technology of Gelatin. Acedemic Press. London.
- Jongjareonrak, A., Benjakul, S., Visessanguan, W., Prodpran, T. and Tanaka, M. 2006. Characterization of Edible Films from Skin Gelatin of Brownstripe Red Snapper and Bigeye Snapper. *Food Hydrocolloids*, 20: 492-501.
- Karlina IR, Atmaja L. 2010. Ekstraksi gelatin dari tulang rawan ikan pari (*Himantura gerrardi*) pada variasi larutan asam untuk perendaman [skripsi]. Surabaya (ID): Institut Tekhnologi Sepulun November.
- Kusumawati R, Tazwir, Wawasto A. 2008. Pengaruh perendaman dalam asam klorida terhadap kualitas gelatin ikan kakap merah (*Lutjanus sp.*). *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Perikanan dan Kelautan*. 1(3): 63–68.
- Mariod A.A, Adam H. F. 2013, 'Review: Gelatin, Source, Extraction and Industrial, Applications', *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment*. 12(2): 135-147.
- Masirah. 2018. Perbandingan karakteristik sifat fisikokimia gelatin tulang ikan bandeng dan gelatin sapi komersial. *Prosiding Seminar Nasional Kelautan dan Perikanan IV*: 285-292
- Pradini D., H. Juwono, K. A. Madurani, F. Kurniawan. 2018. A preliminary study of identification halal gelatin using quartz crystal microbalance (QCM) sensor. *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences*. 14(3): 325-330
- Puspawati MN, Simpen IN, Miwada INS. 2012. Isolasi gelatin dari kulit kaki ayam broiler dan analisis gugus



- fungsinya menggunakan spektrofotometri FTIR. *J Chem.* 6(1): 79–87.
- Rehman W. Ul, A. Majeed, R. Mehra, S. Bhushan, P. Rani, K. C. Saini and F. Bast. *Gelatin: A comprehensive report covering its indispensable aspects*. In: Natural Polymers: Derivatives, Blends and Composites Vol. I ISBN: 978-1-63485-831-1 Editors: Saiqa Ikram and Shakeel Ahmed © 2016 Nova Science Publishers, Inc.
- Rusli A. 2004. *Kajian Proses Ekstraksi Gelatin dari Kulit Ikan Patin (Pangasius hypophthalmus) Segar* [Tesis]. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana. IPB.
- Russell JD, Dolphin JM, Koppang MD. 2007. Selective analysis of secondary amino acids in gelatin using pulsed electrochemical detection. *Analytical Chemistry.* 79: 6615-6621.
- Said, M.I., S Triatmojo., Y Erwanto., A. Fudholi. (2011). Karakteristik gelatin kulit kambing yang diproduksi melalui proses asam basa. *J. Agritech.* 31(3).
- Saputra, R.H., I. Widistuti & A. Supriadi. 2015. Karakteristik fisik dan kimia gelatin kulit ikan patin (*Pangasius pangasius*) dengan kombinasi berbagai asam dan suhu. *Jurnal Teknologi Hasil Perikanan.* 4 (1): 29-36.
- See, S. F., Hong, P. K., Ng, K. L., Wan Aida, W. M. and Babji, A. S. 2010, 'Physicochemical properties of gelatins extracted from skins of different freshwater fish species', *International Food Research Journal* 17: 809-816 .
- Shyni K., G.S. Hema, G. Ninan, S. Mathew, C.G. Joshy, P.T. Lakshmanan 2014, 'Isolation and characterization of gelatin from the skins of skipjack tuna (Katsuwonus pelamis), dog shark (Scoliodon sorrakowah), and rohu (Labeo rohita)'. *Food Hydrocolloids* 39: 68-76.
- SNI 06-3735-1995. *Mutu dan Cara Uji Gelatin*. Badan Standardisasi Nasional, Jakarta. p. 1–2.
- Sopian I. 2002. Analisis sifat fisik, kimia, dan fungsional gelatin yang diekstrak dari kulit dan tulang ikan pari [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Tong Y. and Tiejin Y. 2013. Gelling Strenght Improvement and Characterization of a Gelatin from Scales of Bighead Carp (*Aristichthys nobilis*). *Jurnal of Food, Agriculture and Environment*, 2(1), 146-150.
- Widyaninggar A, Triwahyudi, Triyana K, Rohman A. 2008. Differentiation between porcine and bovine gelatin in commercial capsule shells based on amino acid profiles and principal component analysis. *J Pharm Indonesia.* 23(2): 96–101.
- Yudiono H. 2003. Karakteristik fisikokimia gelatin hasil perendaman tulang sapi dalam campuran Ca(OH)_2 - CaCl_2 [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Yuiarifin H, Bintoro VP, Suwarasturi A. 2006. Pengaruh berbagai konsentrasi asam fosfat pada proses perendaman tulang sapi terhadap rendemen kadar abu dan viskositas gelatin. *J Indon Trop Anim Agric.* 31(1): 55–61.
- Zilhadia, Betha OS, Bayyinah. 2012. Analisis komposisi asam amino gelatin sapi dan gelatin babi pada produk kapsul lunak simulasi menggunakan teknik kombinasi *high performance liquid chromatography* (HPLC) dan *principal component analysis* (PCA). [Skripsi]. Universitas Islam Negeri Hidayatullah.

