

TUGAS AKHIR - SB184830

**PENGARUH PENAMBAHAN TRANSGLUTAMINASE
TERHADAP GUGUS FUNGSI DAN PROFIL ASAM
AMINO GELATIN KULIT IKAN PATIN (*Pangasius
hypophthalmus*)**

DETTAVIA FRIDA KRISNANENY
NRP 01311840000070

Dosen Pembimbing
Noor Nailis Sa'adah, S.Si., M.Sc.
NIP. 19880904 201504 2 001
Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si.
NIP. 19691121 199803 2 001

PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN ANALITIKA DATA
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2022



TUGAS AKHIR - SB184830

**PENGARUH PENAMBAHAN TRANSGLUTAMINASE
TERHADAP GUGUS FUNGSI DAN PROFIL ASAM
AMINO GELATIN KULIT IKAN PATIN (*Pangasius
hypophthalmus*)**

DETTAVIA FRIDA KRISNANENY
NRP 01311840000070

Dosen Pembimbing
Noor Nailis Sa'adah, S.Si., M.Sc.
NIP. 19880904 201504 2 001
Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si.
NIP. 19691121 199803 2 001

PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN ANALITIKA DATA
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2022



FINAL PROJECT - SB184830

**THE EFFECT OF TRANSGLUTAMINASE ON
FUNCTIONAL GROUPS AND AMINO ACID PROFILE
OF GELATIN EXTRACTED FROM STRIPED CATFISH
SKIN (*Pangasius hypophthalmus*)**

DETTAVIA FRIDA KRISNANENY
NRP 0131184000070

Advisor

Noor Nailis Sa'adah, S.Si., M.Sc.

NIP. 19880904 201504 2 001

Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si.

NIP. 19691121 199803 2 001

**STUDY PROGRAM BIOLOGY
BIOLOGY DEPARTMENT
FACULTY OF SCIENCE AND DATA ANALYTICS
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

PENGARUH PENAMBAHAN TRANSGLUTAMINASE TERHADAP GUGUS FUNGSI DAN PROFIL ASAM AMINO GELATIN KULIT IKAN PATIN (*Pangasius hypophthalmus*)

TUGAS AKHIR

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat
memperoleh gelar Sarjana Sains pada
Program Studi S-1 Biologi
Departemen Biologi
Fakultas Sains dan Analitika Data
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh: **DETTAVIA FRIDA KRISNANENY**
NRP. 0131184000070

Disetujui oleh Tim Penguji Tugas Akhir :

1. Noor Nailis Sa'adah, S.Si., M.Sc.



Pembimbing

2. Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si.



Ko-pembimbing

3. Dr. Nengah Dwianita Kuswytasari, S.Si., M.Si.



Penguji

4. Dr. Awik Puji Dyah Nurhayati, S.Si., M.Si.



Penguji

SURABAYA

Juli, 2022

APPROVAL SHEET





THE EFFECT OF TRANSGLUTAMINASE ON FUNCTIONAL GROUPS AND AMINO ACID PROFILE OF GELATIN EXTRACTED FROM STRIPED CATFISH SKIN (*Pangasius hypophthalmus*)

FINAL PROJECT

Submitted to fulfill one of the requirements
for obtaining a degree Bachelor of Science at
Undergraduate Study Program of Biology
Department of Biology
Faculty of Science and Data Analytics
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

By : **DETTAVIA FRIDA KRISNANENY**
NRP. 0131184000070

Approved by Final Project Examiner Team :

- | | | |
|--|--|------------|
| 1. Noor Nailis Sa'adah, S.Si., M.Sc. |  | Advisor |
| 2. Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si. |  | Co-Advisor |
| 3. Dr. Nengah Dwianita Kuswytasari, S.Si., M.Si. |  | Examiner |
| 4. Dr. Awik Puji Dyah Nurhayati, S.Si., M.Si. |  | Examiner |

SURABAYA

July, 2022

PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama mahasiswa / NRP : Dettavia Frida Krisnaneny / 01311840000070
Departemen : Biologi FSAD-ITS
Dosen Pembimbing / NIP : Noor Nailis Sa'adah, S.Si., M.Sc. / 19880904 201504 2 001
Dr. Dewi Hidayati, S.Si, M.Si. / 19691121 199803 2 001

dengan ini menyatakan bahwa Tugas Akhir dengan judul "**PENGARUH PENAMBAHAN TRANSGLUTAMINASE TERHADAP GUGUS FUNGSI DAN PROFIL ASAM AMINO GELATIN KULIT IKAN PATIN (*Pangasius hypophthalmus*)**" adalah hasil karya sendiri, bersifat orisinal, dan ditulis dengan mengikuti kaidah penulisan ilmiah.

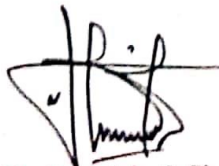
Bilamana di kemudian hari ditemukan ketidaksesuaian dengan pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan yang berlaku di Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

Surabaya, 28 Juli 2022
Mahasiswa,



(Dettavia Frida Krisnaneny)
NRP. 01311840000070

Mengetahui
Dosen Pembimbing I



(Noor Nailis Sa'adah, S.Si., M.Sc.)
NIP. 19880904 201504 2 001

Dosen Pembimbing II



(Dr. Dewi Hidayati, S.Si, M.Si.)
NIP. 19691121 199803 2 001

STATEMENT OF ORIGINALITY

The undersigned below :

Name of student / NRP : Dettavia Frida Krisnaneny / 01311840000070
Department : Biology FSAD-ITS
Advisor / NIP : Noor Nailis Sa'adah, S.Si., M.Sc. / 19880904 201504 2 001
Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si. / 19691121 199803 2 001

hereby declare that the Final Project with the title of **"THE EFFECT OF TRANSGLUTAMINASE ON FUNCTIONAL GROUPS AND AMINO ACID PROFILE OF GELATIN EXTRACTED FROM STRIPED CATFISH SKIN (*Pangasius hypophthalmus*)"** is the result of my own work, is original, and is written by following the rules of scientific writing.

If in the future there is a discrepancy with this statement, then I am willing to accept sanctions in accordance with the provisions that apply at Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

Surabaya, 28 July 2022

Student



(Dettavia Frida Krisnaneny)
NRP. 01311840000070

Acknowledged
Advisor



(Noor Nailis Sa'adah, S.Si., M.Sc.)
NIP. 19880904 201504 2 001

Co-Advisor



(Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si.)
NIP. 19691121 199803 2 001

**PENGARUH PENAMBAHAN TRANSGLUTAMINASE TERHADAP GUGUS
FUNGSI DAN PROFIL ASAM AMINO GELATIN KULIT IKAN PATIN
(*Pangasius hypophthalmus*)**

Nama Mahasiswa / NRP : Dettavia Frida Krisnaneny / 0131184000070
Departemen : Biologi FSAD - ITS
Dosen Pembimbing : Noor Nailis Sa'adah, S.Si., M.Sc
Dr. Dewi Hidayati, S.Si. M.Si

Abstrak

Gelatin adalah produk alami yang diperoleh dari hidrolisis parsial kolagen. Sifat gelatin dipengaruhi oleh *crosslink* pada kolagen, di mana perbedaan *crosslink* dipengaruhi oleh profil asam amino dan gugus fungsi. Gelatin dari kulit ikan patin (GKIP) berpotensi sebagai bahan baku gelatin halal. Namun, GKIP memiliki kandungan prolin dan hidroksiprolin yang rendah sehingga ikatan silang yang terbentuk sedikit dan mengakibatkan film gelatin mudah lembek. Penambahan Transglutaminase (TGA) dapat mengkatalis ikatan silang antara glutamin dan lisin dalam protein sehingga sifat fisik gelatin lebih baik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan TGA terhadap gugus fungsi dan profil asam amino pada gelatin kulit ikan patin. Kulit ikan patin diekstraksi dengan *pre-treatment* asam dan basa untuk memperoleh kolagen, kemudian didenaturasi menjadi gelatin, dan ditambahkan TGA 0,01, 0,05 gr dan tanpa TGA. Analisis gugus fungsi gelatin dilakukan dengan menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infrared*) dan profil asam amino dilakukan dengan TLC (*Thin Layer Chromatography*). Hasil menunjukkan bahwa analisis gugus fungsi GKIP tanpa TGA, dengan penambahan TGA 0,01 dan 0,05 gr memiliki bilangan gelombang pada daerah serapan Amida A, I, II, dan III, namun bilangan gelombang pada daerah serapan Amida B hanya dimiliki oleh gelatin dengan penambahan TGA 0,05. Selain itu, GKIP TGA 0,01 memiliki lebih banyak puncak serapan dengan amplitudo yang tinggi. Pada ketiga sampel GKIP mengandung gugus fungsi O-H, N-H, C=O, C-N. Analisis profil asam amino menunjukkan bahwa asam amino yang muncul pada GKIP kontrol (18 asam amino), GKIP TGA 0,01 (8 asam amino), sedangkan pada GKIP TGA 0,05 profil asam amino tidak teramati pada uji TLC.

Kata kunci: *Asam amino, FT-IR, Gelatin Kulit Ikan Patin, Gugus Fungsi, Transglutaminase.*

**THE EFFECT OF TRANSGLUTAMINASE ON FUNCTIONAL GROUPS AND
AMINO ACID PROFILE OF GELATIN EXTRACTED FROM STRIPED
CATFISH SKIN (*Pangasius hypophthalmus*)**

Student Name / NRP : Dettavia Frida Krisnaneny / 01311840000070
Department : Biology FSAD - ITS
Advisor : Noor Nailis Sa'adah, S.Si., M.Sc
Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si

Abstract

Gelatin is a natural product obtained from the partial hydrolysis of collagen. Gelatin properties are influenced by crosslinks in collagen, where the crosslinks differences are influenced by amino acid profiles and functional groups. Striped catfish skin gelatin (GKIP) has the potential as a raw material for halal gelatin. However, GKIP has a low content of proline and hydroxyproline so the cross-links formed are few and cause the gelatin film has a mushy texture. The addition of Transglutaminase (TGA) can catalyze cross-linking between glutamine and lysine so the physical properties of gelatin are better. This study aims to determine the effect of the addition of TGA on functional groups and amino acid profiles in striped catfish skin gelatin. Striped catfish skin was extracted with acid and base pre-treatment to obtain collagen, then denatured into gelatin, and added TGA 0.01, 0.05 g and without TGA. The functional group analysis of gelatin was performed using FTIR (Fourier Transform Infrared) and the amino acid profile was performed using TLC (Thin-Layer Chromatography). The results showed that the analysis of the GKIP functional group without TGA, with the addition of TGA 0.01 and 0.05 gr have wave numbers in the Amide A, I, II, and III absorption regions, but the wave number in the Amide B absorption region was only in gelatin TGA 0.05. In addition, GKIP TGA 0.01 has more absorption peaks with high amplitude. The three GKIP samples contained functional groups O-H, N-H, C=O, C-N. Amino acid profile analysis showed that the GKIP control had 18 amino acids, GKIP TGA 0.01 (8 amino acids), while for GKIP TGA 0.05, no amino acid profile was observed in the TLC assay.

Keywords: *Amino acids, FT-IR, Functional Groups, Striped Catfish Skin Gelatin, Transglutaminase.*

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, rasa syukur yang dalam penulis sampaikan kehadiran Tuhan Yang Maha Pemurah yang telah memberikan kelancaran dan berkat-Nya sehingga penulis dapat menyusun Tugas Akhir dengan judul “PENGARUH PENAMBAHAN TRANSGLUTAMINASE TERHADAP GUGUS FUNGSI DAN PROFIL ASAM AMINO GELATIN KULIT IKAN PATIN (*Pangasius hypophthalmus*)“, sebagai salah satu syarat kelulusan pada Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Analitika Data, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

Penulis melakukan penelitian, diskusi, dan penyusunan laporan tentunya mendapatkan bimbingan, arahan, dan pengetahuan dari berbagai pihak, untuk itu rasa terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Ibu Noor Nailis Sa’adah, S.Si., M.Sc. dan Ibu Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si. selaku pembimbing Tugas Akhir yang tidak lelah memberikan semangat, ilmu pengetahuan, waktu, dan bimbingan kepada penulis.
2. Ibu Dr. Nengah Dwianita Kuswytasari, S.Si., M.Si. sebagai ketua sidang dan Ibu Dr. Awik Puji Dyah N, S.Si., M.Si. sebagai penguji 2 yang telah memberikan masukan dan pengetahuannya untuk penyusunan Tugas Akhir.
3. Kedua orang tua dan keluarga, yang tiada hentinya dalam memberikan semangat dan doanya kepada penulis.
4. Teman-teman Laboratorium Zoologi dan Rekayasa Hewan, teman-teman Team Gelatin 2021, teman-teman B-21, serta rekan-rekan mahasiswa yang telah banyak memberikan masukan serta dukungan dalam penyelesaian Tugas Akhir ini.

Penulis sadar bahwa Tugas Akhir ini masih terdapat banyak kekurangan, untuk itu saran dan kritik akan sangat membangun guna memperbaiki Tugas Akhir ini. Demikian Tugas Akhir ini penulis buat semoga bermanfaat.

Surabaya, Juli 2022

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR JUDUL.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iv
<i>APPROVAL SHEET</i>	v
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS.....	vi
<i>STATEMENT OF ORIGINALITY</i>	vii
ABSTRAK.....	viii
<i>ABSTRACT</i>	ix
KATA PENGANTAR.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Batasan Masalah.....	2
1.4 Tujuan.....	2
1.5 Manfaat.....	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1 Ikan Patin (<i>Pangasius hypophthalmus</i>).....	3
2.1.1 Morfologi Ikan Patin.....	4
2.2 Kolagen.....	5
2.3 Gelatin.....	10
2.3.1 Gelatin Ikan.....	11
2.3.2 Gugus Fungsional Gelatin Kulit Ikan.....	12
2.3.3 Asam Amino Gelatin Kulit Ikan.....	12
2.3.4 Ekstraksi Kolagen.....	15
2.4 Transglutaminase.....	17
2.5 <i>Thin Layer Chromatography</i> (TLC).....	18
2.6 <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR).....	19
BAB III METODOLOGI.....	21
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	21
3.2 Alat dan Bahan.....	21
3.3 Metode yang Digunakan.....	21
3.3.1 Preparasi Kulit Ikan Patin.....	21
3.3.2 Ekstraksi Gelatin.....	22
3.3.3 Penambahan TGA pada Gelatin Ikan Patin dan Pembuatan Film Gelatin Ikan Patin.....	22
3.3.4 Analisis Gugus Fungsional Gelatin.....	22
3.3.5 Analisis Asam Amino Gelatin.....	22
3.4 Analisis Data.....	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	25
4.1 Analisis Gugus Fungsional Gelatin Kulit Ikan Patin dengan Penambahan Transglutaminase (TGA).....	25
4.2 Analisis Profil Asam Amino Gelatin Kulit Ikan Patin dengan Penambahan Transglutaminase (TGA).....	30

BAB V PENUTUP.....	35
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	45
Lampiran 1. Skema Kerja	45
Lampiran 2. Karakteristik Gugus Fungsi dengan FTIR	46
Lampiran 3. Gambar hasil uji <i>Thin Layer Chromatography</i> (TLC)	51
Lampiran 4. Dokumentasi Kegiatan.....	52
BIODATA PENULIS	59

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 (A) Pengukuran Morfometrik Tradisional untuk <i>Pangasianodon hypopthalmus</i> . (B) Morfologi <i>Pangasianodon hypopthalmus</i>	4
Gambar 2.2 (a) Histologi Kulit Secara Umum; (b) Histologi Kulit Ikan Patin.....	6
Gambar 2.3 Organisasi Fibril Kolagen menjadi Bundel Serat.....	8
Gambar 2.4 Pembentukan <i>Triple Helix</i> Kolagen.....	9
Gambar 2.5 Struktur Kimia Gelatin.....	10
Gambar 2.6 Ilustrasi Konversi Kolagen menjadi Gelatin.....	16
Gambar 2.7 Mekanisme Hidrolisis Ikatan Peptida dengan Asam.....	17
Gambar 2.8 Reaksi <i>Cross-linking</i> Protein dengan Bantuan <i>Microbial Transglutaminase</i>	18
Gambar 3.1 Diagram Metode TLC Asam Amino.....	23
Gambar 3.2 Gambaran Umum <i>Thin Layer Chromatography</i> (TLC)	23
Gambar 3.3 Cara Pengukuran Nilai Rf.....	23
Gambar 4.1 Spektrum Hasil Pengukuran Gelatin dari Gelatin Kulit Ikan Patin (A) Gelatin kontrol, (B) Gelatin TGA 0,01 dan (C) Gelatin TGA 0,05 dengan menggunakan Spektrofotometer FTIR.....	25
Gambar 4.2 Hasil Identifikasi Profil Asam Amino pada Sampel Gelatin Kulit Ikan Patin (GKIP)	32

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2. 1	Konsentrasi protein pada beberapa jenis ikan..... 5
Tabel 2. 2	Standar Mutu Gelatin Menurut SII..... 12
Tabel 2. 3	Komposisi asam amino dari kolagen FS, kolagen BAT, dan kolagen Tulang 13
Tabel 2.4	Komposisi Asam Amino (mg/g) dari Gelatin yang Diekstraksi dari Empat Spesies Ikan Air Tawar..... 14
Tabel 2.5	Jenis-Jenis Asam Amino berdasarkan Hidrofobilitasnya..... 15
Tabel 2.6	Komposisi Asam Amino Gelatin..... 15
Tabel 4.1	Karakteristik Gugus Fungsi GKIP Kontrol, TGA 0,01, dan TGA 0,05 dengan Menggunakan Spektrofotometer FTIR..... 26
Tabel 4.2	Perbandingan Profil Asam Amino GKIP dengan Literatur..... 30

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Gelatin adalah produk parsial hidrolisis kolagen yang larut dalam air, bersifat *thermo-reversible*, dan hidrokoloid multi fungsi (Said, 2020). Gelatin diturunkan dari kolagen pada tulang, kulit, dan jaringan lain dengan menggunakan asam, basa maupun enzimatik (Aprizal et al., 2019). Gelatin yang berasal dari kolagen, memiliki kandungan asam amino glisin sebesar 33% dan prolin sebesar 22% (Said, 2020). Gelatin banyak dimanfaatkan dalam industri farmasi (pembuatan kapsul), industri pangan, dan non pangan (Said et al., 2011).

Gelatin komersial yang dipasarkan didominasi oleh gelatin yang berasal dari kulit sapi (29,4%), tulang sapi (23,1%), kulit babi (46%), dan sumber lain (1,5%) (Apri et al., 2017; Huang et al., 2019), dikarenakan ada beberapa agama yang melarang konsumsi gelatin dari mamalia serta berkaitan dengan masalah kesehatan seperti penyakit *Bovine Spongiform Enchelopathy/ BSE* (yang umumnya dikenal dengan penyakit sapi gila yaitu gangguan neurologis progresif pada sapi yang disebabkan oleh infeksi) dan alergi pada produk babi dan sapi (Kamer et al., 2019). Sehingga diperlukan pengganti bahan dasar gelatin dari mamalia.

Gelatin dari ikan menjadi salah satu alternatif yang sedang dikembangkan dan memiliki prospek yang menjanjikan. Data Kementerian Kelautan dan Perikanan (2020) menyatakan bahwa konsumsi ikan nasional pada tahun 2020 sebesar 56,39 kg/kapita dan setiap tahun mengalami peningkatan. Salah satu ikan yang saat ini mengalami peningkatan dalam produksinya adalah ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*). Peningkatan konsumsi ikan patin sebagai ikan filet, menimbulkan banyaknya limbah misalnya kulit dan tulang. Kulit menyumbang 30% dari total limbah pengolahan ikan (Kumar et al., 2017; Sptijah et al., 2018). Kulit ikan patin dapat dijadikan bahan dasar pembuatan gelatin karena mengandung banyak kolagen. Konsentrasi protein pada ikan patin lebih tinggi dibandingkan dengan beberapa jenis ikan lainnya (Mahmud et al., 2009). Namun gelatin pada ikan memiliki keterbatasan yaitu kadar prolin dan hidrosiprolin yang lebih rendah daripada gelatin yang berasal dari mamalia, sehingga akan mempengaruhi struktur gelatin (Siburian et al., 2020).

Gelatin dengan kualitas rendah dapat diperbaiki dengan penambahan enzim Transglutaminase. Enzim ini terbukti yang paling efektif untuk meningkatkan karakteristik biopolimer gelatin dengan berperan sebagai katalis reaksi pertukaran gugus acyl membentuk ikatan silang kovalen antara grup amide dari glutamin dengan grup amino dari lisin (Erwanto et al., 2014). Penelitian yang dilakukan oleh Bertani et al. (2006); Kuwahara et al. (2010); dan Wulandari et al. (2016) menyebutkan bahwa penambahan TGA dapat meningkatkan kandungan protein dan memperbanyak ikatan silang sehingga dengan adanya penambahan TG-ase gelatin akan memiliki matriks yang padat daripada tanpa penambahan TG-ase sebagai hasil dari adanya ikatan silang protein serta akan memperbaiki sifat reologi dari gelatin tersebut.

Kandungan asam amino juga turut menentukan gugus fungsional gelatin, di mana gugus fungsi gelatin akan menunjukkan reaktivitas molekul-molekul serta struktur molekul asam amino yang sebagai penyusun gelatin (Amertaningtyas et al., 2017). Penambahan TGA dapat mengkatalis ikatan silang antara glutamin dan lisin dalam protein sehingga akan membentuk polimer yang lebih stabil. FTIR digunakan untuk melihat gugus fungsi yang ada pada sampel gelatin. Gelatin seperti pada umumnya protein memiliki struktur yang terdiri dari gugus hidroksil (-OH), gugus karbonil (C=O), gugus amina (N-H), gugus alkana (C-H),

dan gugus nitril (C-N). Gugus OH yang muncul pada spektrum FTIR menandakan adanya asam amino hidroksiprolin yang merupakan penyusun utama gelatin (Nurlela et al., 2021).

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi dan profil asam amino pada gelatin kulit ikan patin dengan penambahan TGA melalui metode *Fourier Transform Infrared* (FTIR) untuk gugus fungsi dan *Thin-Layer Chromatography* (TLC) untuk profil asam aminonya.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat disimpulkan bahwa rumusan masalah dari penelitian ini yaitu bagaimana pengaruh penambahan Transglutaminase terhadap gugus fungsi dan profil asam amino dengan menggunakan metode FTIR dan TLC pada gelatin kulit ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*).

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Ekstraksi kulit ikan patin menggunakan metode asam-basa menurut Hidayati et al. (2021)
2. Kulit ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) yang digunakan merupakan produk samping industri filet ikan patin
3. Analisis Gugus Fungsi menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infrared*) dan Analisis profil asam amino dilakukan dengan TLC (*Thin-Layer Chromatography*)

1.4 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan TGA terhadap gugus fungsi dan profil asam amino dengan menggunakan FTIR dan TLC pada gelatin kulit ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*).

1.5 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi dalam proses memaksimalkan produk gelatin halal dengan menyediakan formulasi bahan kimia, penambahan TGA yang optimal untuk gelatin kulit ikan patin, serta memberikan informasi tentang pengaruh penambahan TGA terhadap gugus fungsi dan profil asam amino dari kulit ikan patin bagi para peneliti dalam pengembangan studi selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*)

Ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) merupakan salah satu komoditas ikan konsumsi air tawar yang bernilai ekonomis penting karena memiliki pertumbuhan yang cepat, mudah dibudidayakan dan dapat dipelihara dengan kandungan oksigen yang rendah (Savitri et al., 2015).

Ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) merupakan ikan istimewa, karena selain sebagai ikan konsumsi yang tergolong mewah, ikan patin juga digunakan sebagai ikan hias. Pada saat masih berukuran kecil (5-12 cm), ikan patin banyak dipelihara sebagai ikan hias. Sebagai ikan konsumsi, ikan patin mempunyai nilai ekonomis yang termasuk tinggi. Ikan patin memiliki daging yang rendah sodium sehingga sangat cocok bagi orang yang diet garam mudah dicerna oleh usus serta mengandung kalsium, zat besi dan mineral yang sangat baik untuk kesehatan. Kandungan gizi ikan patin adalah kandungan 68,6% protein, 5,8% lemak, 3,5% abu dan 51,3% air (Komriyah et al., 2009). Dalam penelitian ini digunakan ikan patin jenis jambal siam atau *Pangasius hypophthalmus* atau punya nama lain yaitu *Pangasius sutchii* (FAO, 2009).

Klasifikasi dari ikan patin menurut Myers et al. (2020), adalah sebagai berikut,

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Kelas : Actinopterygii
Ordo : Siluriformes
Famili : Pangasiidae
Genus : *Pangasius*
Spesies : *Pangasius hypophthalmus*

Ikan patin bersifat nokturnal karena aktivitasnya dilakukan di malam hari. Selain itu, ikan patin suka bersembunyi di dalam liang-liang di tepi sungai (Suhara, 2019). Ikan Patin tergolong dalam ikan *catfish*. Ikan *catfish* (Siluriformes) kebanyakan hidup di perairan tawar tetapi beberapa famili (Plotosidae dan Ariidae) dapat ditemukan di muara-muara sungai dan laut. Ikan *catfish* merupakan ikan yang memiliki sungut di bagian mulutnya. Kelompok ikan ini terdiri dari 106 spesies yang dikelompokkan ke dalam 35 genus dan 12 famili, yaitu Bagridae, Siluridae, Schilbidae, Pangasiidae, Akysidae, Parakysidae, Sisoridae, Clariidae, Chacidae, Ariidae, Plotosidae dan Loricariidae. Spesies dari famili Bagridae yang memiliki nilai ekonomis tinggi seperti ikan baung (*Mystus nemurus*), baung pisang (*Mystus micracanthus*), ingir-ingir (*Mystus nigriceps*) dan baung geso (*Mystus wyckii*) (Nelson, 2006).

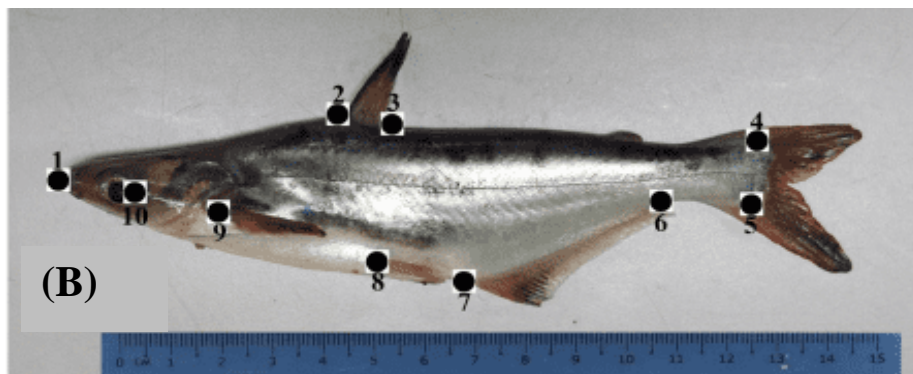
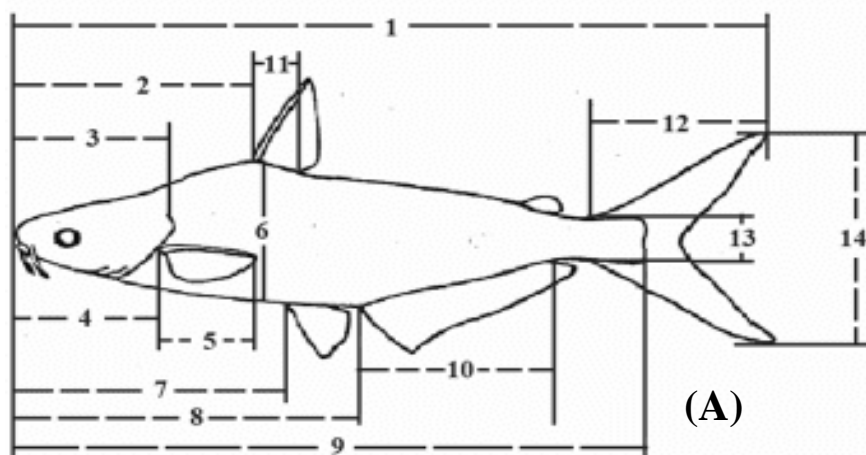
Perbedaan ikan patin dengan ikan *catfish* lainnya misalnya pada spesies dari famili Bagridae yang memiliki nilai ekonomis tinggi seperti ikan baung (*Mystus nemurus*), baung pisang (*Mystus micracanthus*), ingir-ingir (*Mystus nigriceps*) dan baung geso (*Mystus wyckii*) (Nelson, 2006) umumnya sifat ikan patin yang termasuk omnivora atau golongan ikan pemakan segalanya (Suhara, 2019). Benih patin di alam biasanya bergerombol dan sesekali muncul di permukaan air untuk menghirup oksigen langsung dari udara pada saat menjelang fajar. Untuk budidaya ikan patin, media atau lingkungan yang dibutuhkan tidaklah rumit, karena patin termasuk golongan ikan yang mampu bertahan pada lingkungan perairan yang buruk. Walaupun patin dikenal ikan yang mampu hidup pada lingkungan

perairan yang jelek, namun ikan ini lebih menyukai perairan dengan kondisi perairan baik (Suhara, 2019).

2.1.1 Morfologi Ikan Patin

Ikan patin mempunyai bentuk tubuh memanjang dan berwarna putih perak dengan punggung berwarna kebiruan. Ikan patin tidak memiliki sisik, kepala ikan relatif kecil dengan mulut terletak di ujung kepala agak ke bawah dan termasuk dalam ciri khas catfish (Suhara, 2019).

Ikan patin merupakan famili dari Pangasidae yang banyak ditemukan di Indonesia. Ikan patin memerlukan habitat dengan air yang mengalir. Morfologi ikan patin dicirikan dengan berwarna putih seperti perak dengan bagian punggung berwarna kebiru-biruan, dengan panjang tubuh mencapai 12 cm, dengan kepala ikan patin relatif kecil dengan bagian bukaan mulut di ujung kepala di bagian sebelah bawah. Di sudut mulut terdapat dua pasang kumis yang berfungsi sebagai peraba (Ghufran, 2010).



Gambar 2.1 (A) Pengukuran Morfometrik Tradisional untuk *Pangasius hypophthalmus*. 1 = Panjang keseluruhan; 2=Jarak pra punggung; 3 = panjang kepala; 4 = jarak pra-panggul; 5 = panggul tinggi; 6 = tinggi badan; 7 = jarak pra-pektoral; 8 = jarak pra-anal; 9 = panjang standar; 10 = Sirip dubur panjang; 11=Panjang sirip punggung; 12 = Tinggi sirip ekor; 13 = Kedalaman pangkal ekor; 14 = Panjang sirip ekor. (B) Morfologi *Pangasius hypophthalmus* : 1. moncong, 2. asal sirip punggung, 3. ujung belakang sirip punggung, 4. perlekatan punggung sirip ekor ke ekor, 5. perlekatan ventral sirip ekor ke ekor, 6. ujung posterior sirip dubur, 7. pangkal sirip dubur, 8. asal sirip panggul, 9. pangkal sirip dada dan 10. titik posterior mata (Okomoda et al., 2018).

2.1.2 Potensi Ikan Patin

Pada awalnya ikan patin hanya diperoleh dari hasil tangkapan di alam, lalu dengan adanya penangkapan secara terus menerus oleh masyarakat, maka akan berpengaruh terhadap kelestarian ikan patin. Untuk menjaga keberadaan ikan patin maka dilakukan upaya budidaya, dengan tujuan bisa memenuhi kebutuhan masyarakat. Saat ini ikan patin (*Pangasius* sp.) telah berhasil didomestikasi dan dibudidayakan secara intensif dengan penebaran yang tinggi dan penggunaan air yang minimal. Selama ini waktu reproduksi ikan patin di alam dipengaruhi oleh musim, umumnya terjadi pada musim hujan, sedangkan pada saat musim kemarau sulit di dapatkan induk betina ikan patin dengan gonad yang matang atau belum siap bereproduksi (Sipahutar, 2019).

Ikan patin merupakan ikan yang penting dalam budidaya perairan atau akuakultur dunia. Departemen Perikanan dan Akuakultur FAO (Food and Agriculture Organization) menempatkan patin di urutan keempat setelah udang, salmon, dan nila sebagai contoh sukses perikanan budidaya dunia. Ikan patin memiliki kandungan protein yang tinggi dan kolesterol yang rendah. Patin mengandung protein 68,6%, lemak 5,86%, abu 3,5%, dan air 59,3% (Ghufron dan Kordi, 2012).

Konsentrasi protein pada ikan patin lebih tinggi dibandingkan dengan beberapa jenis ikan lainnya, termasuk didalamnya ikan yang memiliki konsentrasi protein yang tinggi. Kandungan protein ikan patin jika dibandingkan dengan ikan lainnya dapat dilihat pada Tabel 2.1 :

Tabel 2. 1 Konsentrasi Protein pada Beberapa Jenis Ikan

Ikan	Protein (%)
Ikan Patin	17,0
Ikan Gabus	16,2
Ikan Mas	16,0
Ikan Tongkol	13,7
Ikan Sepat	15,2
Ikan Tuna	14,3
Ikan Teri	10,3

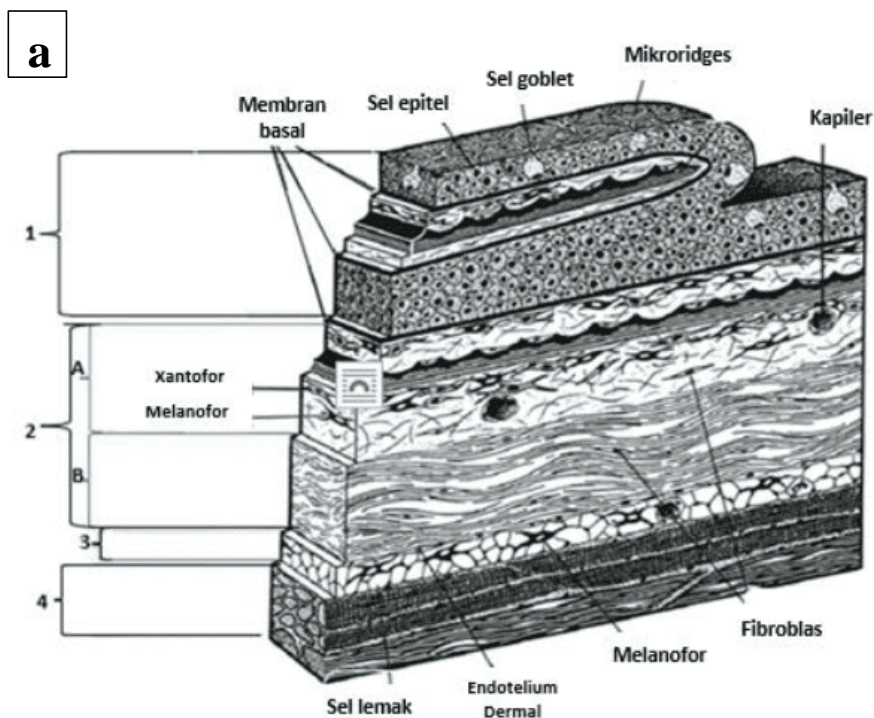
(Mahmud et al., 2009)

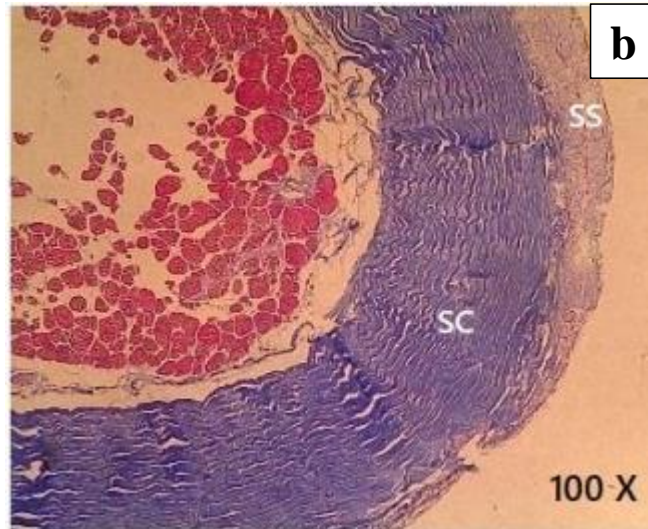
Selain itu sumber kolagen yang paling banyak di pasaran berasal dari kulit dan tulang sapi ataupun babi. Menurut Voutila (2009) kandungan kolagen dari sapi mengandung sedikit lebih banyak kolagen daripada babi, ayam, dan kalkun. Kandungan kolagen otot paling tinggi ada pada hewan muda (sapi dan babi) dan menurun seiring bertambahnya usia hewan. Kolagen pada sapi dengan umur 12-17 bulan sebesar 9,4 mg/g, untuk kolagen pada babi dengan umur 17-19 bulan memiliki kolagen sebesar 7,0 mg/g, untuk ayam dengan umur 1-2 tahun memiliki kandungan kolagen 6,5 mg/g, dan pada kalkun dengan dengan umur 112 hari memiliki kandungan kolagen 5,8 mg/g. Namun, untuk gelatin dengan bahan dasar mamalia masih diragukan keamanan dan kehalalannya, sehingga diperlukan alternatif sumber kolagen yang aman serta halal. Ikan merupakan salah satu biota perairan yang menjadi sumber kolagen, kulit ikan yang di *fillet* dari perusahaan industri atau pabrik *fillet* dianggap menjadi limbah. Kulit ikan memiliki 50% protein ekstra-seluler. Di mana kulit ikan patin menjadi salah satu sumber kolagen (Sptijah et al., 2018).

2.2 Kolagen

Kulit ikan patin merupakan salah satu limbah hasil perairan yang dapat digunakan sebagai sumber alternatif kolagen (Suptijah et al., 2018). Kulit atau integumen merupakan

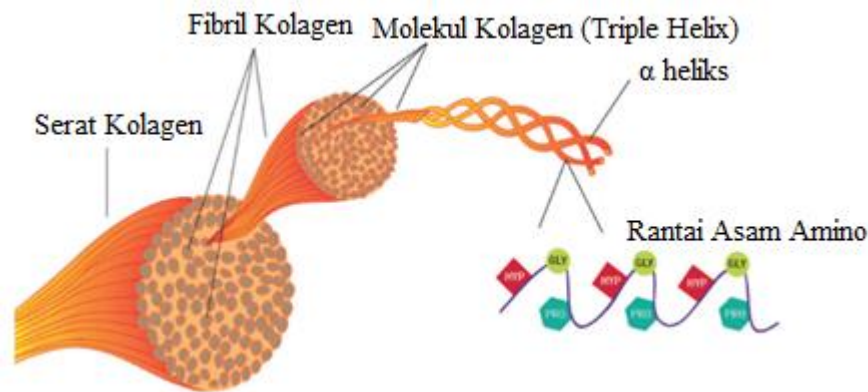
bagian yang menutupi bagian eksternal tubuh (Mescher, 2016). Kulit terdiri dari tiga lapisan, yaitu epidermis, dermis, dan hipodermis. Kulit tersusun dari beberapa lapisan, yang pertama adalah Epidermis di mana pada epidermis memiliki 5 lapisan yaitu *Stratum basal (germinativum)*, *Stratum spinosum*, *Stratum granulosum*, *Stratum lusidum*, dan *Stratum korneum*. *Stratum spongiosum* merupakan bagian yang lebih tebal dan berada pada basal epidermis, terdapat serat kolagen dan retikuler, sel saraf, kapiler, fibroblast, dan sel pigmen. *Stratum compactum* merupakan bagian yang lebih berkembang dibanding *stratum spongiosum* dan disusun oleh sekumpulan serat kolagen yang tersusun padat pada permukaan kulit. Lapisan yang kedua adalah Dermis, di mana terdapat sel-sel didalamnya meliputi Fibroblas, Sel mononuklear, Limfosit, Sel Langerhans dan sel dermal dendritik, Sel mast, Sel merkel. Lapisan ketiga ada Hipodermis atau Subkutis di mana pada lapisan ini tersusun oleh jaringan ikat dan jaringan adiposa yang membentuk fascia superficial yang tampak secara anatomis. Hipodermis ini terdiri dari sel-sel lemak, ujung saraf tepi, pembuluh darah dan pembuluh getah bening (Eroschenko, 2010). Kulit adalah organ yang dinamis yang terus mengalami perubahan dengan terlepasnya lapisan luar dan digantikan oleh lapisan dalam. Ketebalan kulit juga bermacam-macam antara berbagai lokasi anatomis, jenis kelamin, dan usia individu (Althwab et al., 2015). Kulit memiliki peran untuk mempertahankan keseimbangan fisiologis antara tubuh bagian internal dengan lingkungan eksternal (Genten et al., 2009). Selain itu kulit juga memiliki beberapa fungsi misalnya sebagai pelindung, sensorik, termoregulasi, dan metabolik (Mescher, 2016).





Gambar 2.2 (a) Histologi kulit secara umum (Elliot, 2011); (b) Histologi Penampang Jaringan Kulit Ikan Patin Perbesaran 100x (Hidayati et al., 2021). Keterangan gambar : SC : *Stratum Compactum* ; SS : *Stratum Spongiosum* ; warna biru menunjukkan adanya kolagen.

Kolagen yang terdapat pada kulit ikan patin ditunjukkan dengan adanya bagian yang berwarna biru (Gambar 2.1b) dikarenakan pada kulit ikan patin dilakukan pewarnaan histologi kulit dengan menggunakan Masson trichrome (Hidayati et al., 2021). Kolagen merupakan komponen utama dari lapisan dermis. Secara khusus, kolagen tipe I dan tipe III ditemukan melimpah pada dermis (Brown and Krishnamurthy, 2021). Di dermis atau pada lapisan kulit tengah, kolagen membantu dalam pembentukan jaringan fibrosa sel yang disebut fibroblas, di mana akan menumbuhkan sel-sel baru. Selain itu kolagen juga berperan dalam memulihkan dan menggantikan sel-sel kulit mati. Kolagen dan komponen ekstraseluler seperti asam hialuronat memperkuat kulit dan memfasilitasi jangkar untuk epidermis melalui hemidesmosom dan komponen zona membran dasar perekat lainnya (Brown and Krishnamurthy, 2021). Serabut kolagen menyebar di lapisan dermis kulit, sedangkan pada daerah *stratum spongiosum* serabut kolagen lebih longgar daripada *stratum compactum* yang memiliki serabut kolagen yang sangat rapat (Andriyani et al., 2017). Pada *stratum spongiosum* yang mengarah ke bagian epidermis lapisannya relatif longgar tersusun atas sel pigmen dan sedikit jaringan kolagen. *Stratum spongiosum* terlihat lebih tipis daripada *stratum compactum* baik pada kulit dorsal dan abdomen. Pada beberapa ikan *stratum spongiosum* tidak ada sehingga *stratum compactum* bersentuhan langsung dengan lapisan basal. *Stratum compactum* ditemukan jaringan ikat kolagen yang tersusun teratur dan lebih tebal. *Stratum compactum* kulit bagian dorsal terlihat lebih tebal daripada abdomen. *Stratum spongiosum* dengan serabut kolagen longgar akan memungkinkan terjadinya gerakan dari bagian-bagian yang saling berhubungan, sedangkan *stratum compactum* dengan serabut kolagen padat akan membentuk tendon sebagai tempat pelekatan otot dengan tulang (Afrizan et al., 2018).



Gambar 2. 3 Organisasi fibril kolagen menjadi bundel serat (Reilly and Lozano, 2021)

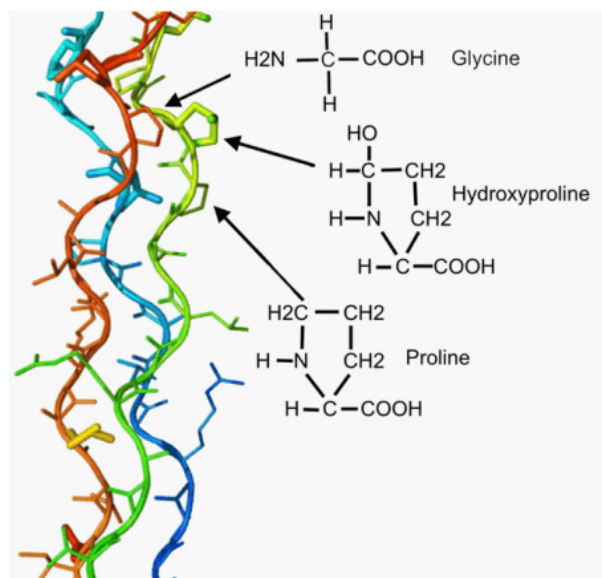
Kumpulan fibril kolagen menjadikannya bundel serat. Rantai individu dijalin menjadi triple heliks. Bundel heliks rangkap tiga membentuk fibril dan fibril ini digabungkan menjadi serat yang lebih besar. Serat kolagen membentuk jaringan yang luas dan kuat yang memberikan lapisan dermis kekuatan, kekencangan dan elastisitas. Seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.3, serat kolagen biasanya memiliki struktur melingkar yang khas. Serat kolagen pada dasarnya terdiri dari kumpulan fibril yang lebih kecil. Fibril kolagen berdiameter sekitar 10 hingga 300 nm dan panjangnya beberapa mikrometer. Interaksi proteoglikan-kolagen secara langsung mempengaruhi deposisi serat kolagen in situ, meskipun penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengklarifikasi mekanisme yang terlibat. Interaksi protein dan GAG dengan demikian menentukan sintesis, sekresi dan pembentukan matriks berbasis kolagen, sedangkan keseimbangan osmotik dalam jaringan ikat ditentukan oleh pergantian cepat dari GAG seperti HA dan dermatan sulfat (Reilly and Lozano, 2021).

Kolagen (C102H149N31O38) adalah protein struktural yang paling banyak tersedia, secara alami terjadi di jaringan ikat vertebrata. Kolagen merupakan salah satu biopolimer yang paling banyak digunakan pada formulasi nutraceuticals dan obat-obatan, karena memiliki beberapa asam amino dan terdiri dari beberapa peptida bio-aktif pada pencernaan enzimatik (Vijayan et al., 2018). Molekul kolagen dibentuk oleh tiga untai polipeptida yang dinamakan rantai alfa. Ketiga heliks itu akan dijadikan satu akan membentuk heliks rangkap tiga yang distabilkan oleh ikatan hidrogen. Kolagen memiliki kandungan hidroksiprolin yang tinggi dan komposisi asam aminonya sangat berbeda dari protein khas. Urutan asam amino yang paling umum dalam kolagen adalah Gly-Pro-X dan GlyX-Hyp, di mana X adalah asam amino selain glisin (Gly), prolin (Pro) atau hidroksiprolin (Hyp) ada juga sejumlah variabel ikatan silang kovalen antara kolagen helik pada molekul. Serat kolagen merupakan kumpulan fibril, di mana serat ini adalah komponen utama matriks ekstraseluler yang mendukung sebagian besar jaringan dan menyediakan struktur sel dari bagian luar. Kolagen tersebar banyak di seluruh tubuh, dan di deskripsikan dengan kolagen tipe I, II, III, dan IV (Berillis, 2015).

Kolagen tipe I adalah jenis protein kolagen yang paling melimpah di dalam tubuh. Ditemukan di hampir setiap jaringan misalnya pada tendon, kulit, tulang, tulang rawan, jaringan ikat, dan gigi. Kolagen tipe I ini merupakan kolagen yang sangat kuat dan dapat menahan banyak tekanan tanpa putus. Kolagen tipe II merupakan kolagen yang sebagian besar ditemukan di tulang rawan. Kesehatan persendian bergantung pada kolagen tipe II ini, sehingga kolagen ini bermanfaat untuk mencegah nyeri sendi terkait usia dan gejala artritis berbasis struktural. Sedangkan kolagen tipe III ditemukan di samping tipe I dan di otot, organ, arteri, dan jenis jaringan ikat khusus yang disebut serat retikuler (sejenis jaringan yang menyediakan struktur untuk hati, jaringan adiposa, sumsum tulang, limpa, dan lagi).

Kolagen tipe III memiliki kekurangan yang telah dikaitkan dengan risiko yang lebih tinggi untuk pecahnya pembuluh darah dan bahkan kematian dini (Hatchard, 2021).

Selain ketiga tipe kolagen tersebut ada tiga jenis kolagen lain yang umum ditemukan dalam tubuh (namun jumlahnya tidak sebanyak kolagen tipe I-III) adalah tipe IV, V, dan X. Kolagen tipe IV membentuk lamina basal, lapisan matriks ekstraseluler (jaringan yang mendukung sel) yang berada di bawah epitel. Kolagen tipe V dapat ditemukan di matriks tulang, kornea, dan di jaringan ikat yang ada di antara sel-sel otot, hati, paru-paru, dan plasenta. Kolagen Tipe X membantu pembentukan tulang baru dan tulang rawan artikular. Secara garis besar faktor utama yang membedakan jenis kolagen adalah peptida (rantai asam amino) yang digunakan untuk memproduksinya (Hatchard, 2021).



Gambar 2. 4 Pembentukan triple helix kolagen (Berillis, 2015)

Secara umum, kolagen banyak digunakan dalam bidang makanan, kosmetik, bio-medis, dan industri farmasi. Kolagen juga digunakan dalam makanan atau sebagai suplemen dalam produk nutraceutical, kolagen disini akan dihidrolisis dan akan menghasilkan ukuran peptida yang lebih kecil dengan berat molekul rendah. Hidrolisis enzimatik pada protein kulit ikan dapat meningkatkan sifat fungsional (Hartina et al., 2017).

Kolagen memiliki karakteristik fisikokimia, diantaranya mudah diserap dalam tubuh, sifat antigenitas rendah, afinitas dengan air tinggi, tidak beracun, *biocompatible* dan *biodegradable*, relatif stabil, dapat disiapkan dalam berbagai bentuk sesuai kebutuhan, dan mudah dilarutkan dalam air maupun asam (Suptijah et al., 2018).

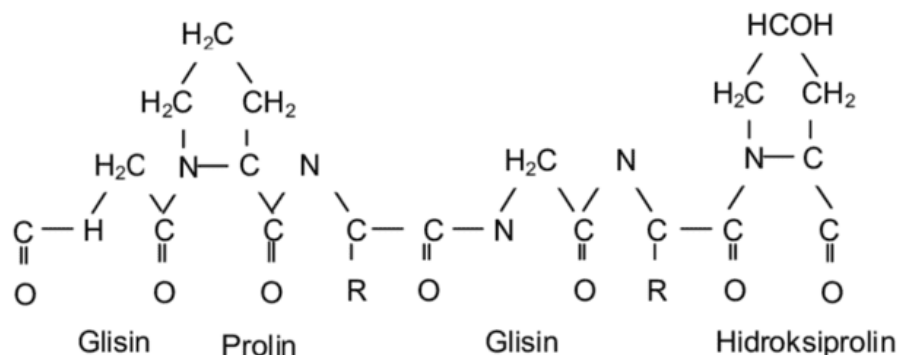
Sumber kolagen yang paling banyak dipasarkan umumnya adalah dari kulit dan tulang sapi bahkan babi dengan keamanan dan kehalalan yang perlu diwaspadai, sehingga ada alternatif baru yang aman dan halal yaitu kolagen dari biota perairan yaitu ikan. Kulit ikan yang di filet dari berbagai perusahaan industri atau pabrik filet ikan dianggap sebagai produk limbah, sehingga pemanfaatan kulit ikan sebagai sumber kolagen alternatif bisa mengurangi jumlah limbah industri yang dihasilkan oleh pabrik filet tersebut (Suptijah et al., 2018). Friess (1998) menyatakan bahwa lebih dari 50 % protein ekstra-seluler pada kulit merupakan kolagen.

Salah satu kulit ikan yang berpotensi sebagai sumber kolagen adalah kulit ikan patin. Dari data statistik Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP) menunjukkan bahwa

produksi nasional budidaya ikan patin meningkat dari tahun ke tahun. Hal ini menunjukkan potensi limbah kulit ikan patin (*Pangasius* sp.) sebagai sumber kolagen juga akan meningkat (Suptijah et al., 2018). Ikan patin merupakan salah satu ikan air tawar, kulit ikan patin, terdiri dari 6-8% dari berat ikan, telah digunakan untuk mengekstrak gelatin, bentuk terdenaturasi dari kolagen. Dengan demikian, kulit ikan patin dipercaya sebagai sumber dari kolagen terhidrolisis (Hartina et al., 2017).

2.3 Gelatin

Gelatin (gelatos) berasal dari bahasa latin yang berarti pembekuan (Siburian et al., 2020). Gelatin merupakan produk turunan dari ekstraksi kolagen, tulang, dan jaringan lain dengan menggunakan asam, basa, atau proses enzimatik. Gelatin bisa diperoleh dengan melakukan denaturasi pada kolagen. Di mana pemanasan kolagen secara bertahap akan menyebabkan struktur yang rusak dan rantai yang terpisah. Senyawa gelatin merupakan polimer linier asam amino yang rantai polimer umumnya merupakan pengulangan asam amino glisin prolin-prolin atau glisin-prolin-hidroksiprolin di mana komposisi asam amino hampir mirip dengan kolagen, berarti glisin sebagai asam amino utama dan sebagai 2/3 dari semua asam amino yang menyusunnya. Sisanya 1/3 asam amino terisi dengan prolin dan hidroksiprolin. Asam amino ini berikatan bersama melalui ikatan peptida dan membentuk gelatin (Aprizal et al., 2019). Asam glutamat dan asam aspartat, yang membentuk kolagen adalah sebagian besar dalam bentuk amida (sekitar 35%), yang disebut glutamin dan asparagin (Siburian et al., 2020).



Gambar 2. 5 Struktur Kimia Gelatin (Siburian et al., 2020)

Proses perendaman asam menghasilkan gelatin tipe A dan perendaman basa menghasilkan gelatin tipe B. Gelatin tipe A umumnya berasal dari kulit babi yang memiliki titik isoelektrik pada pH yang lebih tinggi, dari pH isoelektrik gelatin tipe B. Sedangkan gelatin ikan dikategorikan sebagai gelatin tipe A. Proses pembuatan gelatin yang berasal dari tulang dapat dilakukan juga dengan menggunakan cara asam yang lebih sederhana yang akhirnya juga menggeser pH isoelektrik pada sekitar 5,5 – 6,0 (Suryati et al., 2015). Dalam gelatin tipe B (basa), asparagin dan glutamin hampir semuanya diubah menjadi asam aspartat dan asam glutamat. Sementara itu, komposisi kolagen dan gelatin tipe A (asam) dari asam amino sangat berbeda. Ini dapat dijelaskan oleh perbedaan titik isoelektrik (IEP) dalam dua jenis gelatin. Titik isoelektriknya adalah pH nilai ketika molekul gelatin netral. isoelektrik titik gelatin tipe A pada pH 8-9, dan tipe B pada pH 4,8-5,5 (Siburian et al., 2020).

Gelatin tidak larut dalam alkohol, aseton, karbon tetraklorida, benzena, petroleum eter, dan pelarut organik lain tetapi akan larut dalam air, asam, dan pelarut alkohol seperti gliserol, propilen glikol, sorbitol, dan manitol. Dalam kondisi tertentu, juga larut dalam campuran aseton-air dan alkohol-air (Oktaviani et al., 2017). Kualitas gelatin ditentukan oleh sifat fisik, kimia, dan fungsional yang membuat gelatin memiliki keunikan terhadap karakternya. Sifat

fisik dan kimia gelatin dipengaruhi oleh bahan baku, usia hewan, jenis kolagen, jenis jaringan, karakteristik kolagen, spesies, dan metode pembuatan. Di mana jika semakin tua usia hewan maka akan meningkatkan rendemen, kadar abu, dan lemak gelatin yang diperoleh, sedangkan penggunaan suhu tinggi dan ekstraksi yang lama akan menurunkan nilai viskositas, kemampuan pembentukan gel, dan karakter fisik gelatin (Siburian et al., 2020; Oktaviani et al., 2017).

Gelatin memiliki banyak manfaat di beberapa bidang, misalnya pada industri farmasi, gelatin digunakan sebagai bahan pembuat kapsul keras dan lunak, bahan penyalut tablet, penstabil, pengikat, dan pengemulsi. Di industri kosmetik, gelatin digunakan sebagai bahan penstabil, pembentuk gel, pengental, dan pengemulsi. Begitu di industri makanan, gelatin digunakan sebagai bahan penstabil pada pembuatan coklat, susu, *marshmallow*, permen, dan *jelly* (Oktaviani et al., 2017).

Kebutuhan gelatin di Indonesia sangat luas dan sampai saat ini baru bisa terpenuhi oleh produk gelatin impor karena Indonesia belum mampu memproduksi gelatin dalam jumlah besar. Negara-negara yang memenuhi kebutuhan gelatin di Indonesia di antaranya Perancis, Jepang, India, Brazil, Jerman, Cina, Argentina, dan Australia (Gunawan et al., 2017).

2.3.1 Gelatin Ikan

Gelatin ikan merupakan protein yang diperoleh dari hidrolisis sebagian dari kolagen ikan (Abdelhedi et al., 2019). Pada ikan, kolagen biasanya diekstraksi dari daging, kulit, sirip, sisik dan limbah ikan, setelah kolagen ikan diekstraksi dapat dimurnikan untuk digunakan dalam kosmetik, medis, olahraga, nutrisi dan lainnya (Nining, 2020). Gelatin pada ikan adalah ikatan polipeptida yang dihasilkan dari hidrolisa kolagen tulang atau kulit yang ada turunan protein dari serta kolagen, secara fisik dan kimia sama. Dapat dikatakan juga bahwa gelatin adalah hasil dari denaturasi kolagen. Hidrolisa tergantung pada *cross-link* antara ikatan peptide dan grup-grup asam amino yang reaktif yang terbentuk (Agusin, 2013).

Gelatin mengandung protein yang sangat tinggi dan rendah kadar lemaknya. Gelatin kering dengan kadar air 8-12% mengandung protein sekitar 84-86% Protein, lemak hampir tidak ada dan 2-4% mineral. Dari 10 jenis asam amino essensial yang dibutuhkan tubuh, gelatin mengandung 9 jenis asam amino essensial, satu asam amino essensial yang hampir tidak terkandung dalam gelatin yaitu Treptophane (Hastuti et al., 2007).

Sebagian besar gelatin komersial yang dipasarkan berasal dari kulit sapi (29,4%), tulang (23,1%), kulit babi (46%), dan sumber lain (1,5%) (Huang et al., 2019; Apri et al., 2017). Masalah baru muncul karena tidak semua gelatin impor diproduksi dari bahan dasar yang halal, selain karena keagamaan kolagen yang berasal dari sapi beresiko terkontaminasi *Bovine Spongiform Encephalopathy* (BSE), *Transmissible Spongiform Encephalopathy* (TSE) dan *Foot And Mouth Disease* (FMD). Banyak peneliti mencari alternatif lain dalam memenuhi kebutuhan gelatin yang bersifat imunogenisitas rendah, *biokompatibel*, dan berpotensi rendah dalam penyebab transmisi penyakit. Bahan baku yang berpotensi digunakan sebagai sumber kolagen untuk gelatin adalah yang berasal dari sektor perikanan dan kelautan (Nining, 2020). Namun gelatin pada ikan memiliki keterbatasan yaitu kadar prolin dan hidroksiprolin yang lebih rendah daripada gelatin yang berasal dari mamalia (Siburian et al., 2020).

Gelatin yang baik harus memenuhi standar mutu yang diberikan oleh Standar Industri Indonesia (SII) (Hastuti et al., 2007)

Tabel 2. 2 Standar Mutu Gelatin Menurut SII (Hastuti et al., 2007)

Parameter	Keadaan
Warna	Tidak berwarna, kadang-kadang kuning pucat
Bau dan Rasa Larutan	Normal (dapat diterima konsumen)
Susut pengeringan	Maksimum 16%
Kadar Abu	Maksimum 3,25%
Logam Berat	Maksimum 50 mg/kg.gel
Arsen	Maksimum 2 mg/kg.gel
Tembaga	Maksimum 30 mg/kg.gel
Seng (Zn)	Maksimum 100 mg/kg bahan
Sulfit	Maksimum 1000mg/kg bahan

2.3.2 Gugus Fungsional Gelatin Kulit Ikan

Gugus fungsional dapat menunjukkan reaktivitas dan sifat-sifat suatu molekul. Gugus fungsional pada gelatin menunjukkan struktur dari molekul asam amino yang menyusun gelatin. Asam amino mengandung gugus fungsional. Gugus fungsional yang terdeteksi berasal dari struktur penyusun gelatin (asam amino) dan derivat materi yang digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsional pada gelatin kulit ikan patin menggunakan metode FTIR (*Fourier Transform Infrared*) dan menunjukkan bahwa pada gelatin kulit ikan patin terdapat gugus fungsi N-H, O-H, C=H, C-O, dan C-H. Gelatin diperoleh dari denaturasi kolagen. Spektrum yang menunjukkan denaturasi kolagen yaitu adanya perubahan daerah serapan amida A, amida I, amida II, dan amida III (Muyonga et al., 2004).

Daerah serapan Amida A ditentukan berdasarkan bilangan gelombang rentang 3200-3600 cm^{-1} dan menunjukkan vibrasi peregangan pada gugus O-H, C-H, dan N-H ketika sedang berikatan dengan ikatan H (Muyonga et al., 2004; Ahmad & Benjakul, 2011). Daerah serapan Amida B ditunjukkan dengan adanya bilangan gelombang rentang 2900-3100 cm^{-1} dan menunjukkan peregangan C-H simetris dan antisimetris (Muyonga et al., 2004; Andakke et al., 2020). Daerah serapan Amida I merupakan daerah dengan absorbansi protein yang kuat dan menunjukkan peregangan antara ikatan C=O dan N-H dan ditemukan pada bilangan gelombang 1600-1700 cm^{-1} (Muyonga et al., 2004; Fadlilmoula et al, 2022). Daerah serapan Amida II ditemukan pada panjang gelombang 1335-1570 cm^{-1} dan menunjukkan peregangan CH_2 dan pembengkokan N-H (Muyonga et al., 2004; Ahmad & Benjakul, 2011). Amida III merupakan kompleks yang ditentukan oleh rantai samping dan ikatan hidrogen, ditemukan pada rentang bilangan gelombang 1000-1300 cm^{-1} (Muyonga et al., 2004).

2.3.3 Asam Amino Gelatin Kulit Ikan

Asam amino merupakan senyawa organik yang mempunyai gugus fungsi amina dan karboksil, serta rantai samping yang spesifik untuk setiap jenis asam amino (Michael and Shamim, 2021). Asam amino adalah bagian terkecil dari struktur protein, di mana asam amino merupakan bentuk protein yang paling sederhana. Asam amino saling berikatan dengan ikatan peptida (Michael and Shamim, 2021). Ikatan peptida akan terjadi apabila atom nitrogen pada salah satu asam amino berikatan dengan gugus karboksil dari asam amino lainnya (Michael and Shamim, 2021). Gelatin adalah derivat protein dari serat kolagen yang ada pada kulit, tulang, dan tulang rawan. Susunan asam aminonya hampir mirip dengan kolagen, di mana glisin sebagai asam amino utama dan merupakan 2/3 dari seluruh asam amino yang menyusunnya, 1/3 asam amino yang tersisa diisi oleh prolin dan hidrosiprolin. Asam-asam amino saling terikat melalui ikatan peptida membentuk gelatin. Pada dibawah

dapat dilihat susunan asam amino gelatin berupa Gly-X-Y di mana X umumnya asam amino prolin dan Y umumnya asam amino hidroksiprolin. Tidak terdapatnya triptofan pada gelatin menyebabkan gelatin tidak dapat digolongkan sebagai protein lengkap (Grobben, et al. 2004) (Chaplin, 2005).

Komposisi asam amino akan menentukan kualitas suatu protein di dalam makronutrien yang paling penting dalam makanan manusia (Pratama et al., 2018). Pentingnya asam amino pada ikan telah ditetapkan dengan baik dari perspektif nutrisi dan rasa pada ikan tersebut. Analisis profil asam amino dapat memberikan informasi berharga mengenai komposisi asam amino esensial dan non-esensial yang terkandung dalam sampel yang akan dianalisis (Pratama et al., 2018).

Gauza-Włodarczyk et al. (2017) mengatakan bahwa kolagen terlepas dari asalnya mengandung 19 asam amino, termasuk hidroksiprolin yang tidak terdapat pada protein lain. Mereka juga melakukan penelitian dengan membandingkan 3 kolagen per 100 gram dan didapatkan hasil untuk kandungan protein total pada kolagen kulit ikan (KI) sebesar 65,66%, kolagen Bovine Achilles Tendon (BAT) 79,4%, dan kolagen tulang 20,51%. Pada Tabel 2.3 terdapat komposisi asam amino dari kolagen yang berasal dari kolagen kulit ikan (KI), kolagen Bovine Achilles Tendon (BAT) dan kolagen tulang.

Tabel 2. 3 Komposisi asam amino dari kolagen FS, kolagen BAT, dan kolagen Tulang

Asam Amino	Kolagen KI	Kolagen BAT	Kolagen Tulang
Asparagin	6,64	7,49	7,12
Treonin	2,84	2,19	2,22
Serin	3,44	3,39	2,99
Asam Glutamat	10,61	11,53	11,92
Prolin	13,55	13,92	11,95
Sistein	-	-	0,39
Glisin	21,83	19,22	22,82
Alanin	10,54	9,51	10,12
Valin	2,27	2,45	2,84
Metionin	2,25	0,71	1,07
Isoleusin	1,57	1,87	1,54
Leusin	2,95	3,67	3,26
Tirosin	1,32	2,02	1,24
Fenilalanin	3,03	4,38	2,28
Histidin	1,21	2,25	1,37
Lisin	3,38	3,11	3,44
Arginin	7,56	7,3	7,72
Hidroksiprolin	5,68	8,15	10,79

Keterangan: Kolagen Kulit Ikan (KI), Kolagen Bovine Achilles Tendon (BAT) dan Kolagen Tulang

Diketahui juga jika di dalam suatu kandungan pangan memiliki asam amino esensial yang rendah akan berpengaruh pada kualitas pangan tersebut. Namun rendahnya asam amino esensial tersebut dapat diperbaiki dengan penambahan asam amino esensial dari luar dan

selanjutnya akan diikat pada protein pangan yang dimaksudkan tadi. Begitu juga dengan adanya protein-protein yang memiliki sifat fungsional yang baik tetapi memiliki gizi yang rendah, dapat dilakukan peningkatan gizi dengan melakukan pengkayaan asam amino esensial yang akan diikat silang dengan menggunakan TG-ase (Mayasopha et al., 2015).

Tabel 2.4 Komposisi Asam Amino (mg/g) dari Gelatin yang Diekstraksi dari Empat Spesies Ikan Air Tawar

Asam amino (mg/g gelatin)	Ikan Patin	Lele Ekor Merah	Ikan Nila	Ikan Gabus	Gelatin Komersial
Asparagin	40.77	40.46	39.47	40.82	40.18
Treonin	9.46	8.90	8.42	11.09	9.67
Serin	30.85	32.78	28.12	33.93	35.49
Glutamat	83.81	77.66	79.03	77.66	70.51
Prolin	117.39	99.8	98.06	110.38	123.28
Glisin	167.31	151.41	154.80	150.76	147.75
Alanin	68.57	67.52	64.70	80.51	69.54
Valin	16.64	15.40	13.44	14.53	13.77
Metionin	9.04	6.44	8.52	7.144	5.64
Isoleusin	8.64	5.76	7.53	6.61	5.15
Leusin	26.52	24.32	21.17	29.15	23.43
Tirosin	4.83	4.00	3.58	4.24	3.88
Fenilalanin	18.24	18.08	15.72	19.61	16.85
Histidin	8.98	9.42	7.42	13.05	8.98
Lisin	35.23	22.47	28.06	29.12	24.04
Arginin	70.19	48.37	39.49	67.26	65.13
Triptofan	38.00	38.31	37.92	39.08	36.57
Total	754.47	671.1	655.45	734.94	699.86

(Ratnasari et al., 2013).

Dari data diatas dapat dilihat bahwa asam amino tertinggi didapatkan pada ikan patin, dengan kandungan glisin dan prolin masing-masing adalah 167,31 mg/g dan 117,39 mg/g. Kadar tersebut sedikit lebih rendah dari gelatin komersial (123,28 mg/g). Komposisi asam amino pada ikan biasanya juga dipengaruhi oleh berbagai faktor intrinsik (spesies, ukuran dan jenis kelamin) dan faktor ekstrinsik (sumber makanan, musim penangkapan, salinitas air dan suhu) (Begum et al., 2019).

Urutan asam amino yang menyusun rantai peptida dan protein akan menentukan fungsi dan karakteristik spesifik protein yang akan dibentuk. Asam amino yang menyusun peptida dan protein dibagi menjadi 2 yaitu asam amino hidrofobik dan asam amino hidrofilik, di mana sifat ini diatur oleh rantai samping yang menyusun asam amino (Yiswadinata dan Wathoni, 2021). Asam amino gelatin berdasarkan hidrofobilitasnya dapat dilihat pada tebal di bawah ini.

Tabel 2.5 Jenis-Jenis Asam Amino berdasarkan Hidrofobilitasnya

Jenis Asam Amino	Asam Amino	Jenis Asam Amino	Asam Amino
Hidrofilik	Tirosin	Hidrofobik	Glisin
	Serin		Alanin
	Treonin		Valin
	Sistein		Leusin
	Asam aspartat		Isoleusin
	Asparagin		Fenilalanin
	Asam Glutamat		Triptofan
	Glutamin		Metionin
	Lisin		Prolin
	Arginin		
	Histidin		

Komposisi asam amino sangat berperan penting dalam sifat fisik dan kimia gelatin. Komposisi asam amino gelatin ditunjukkan pada Tabel 2.6 dibawah ini.

Tabel 2.6 Komposisi Asam Amino Gelatin

No	Asam Amino	Hasil (%)
1	Asp	16.65
2	Glu	0.71
3	Ser	1.86
4	Gly	23.05
5	His	0.59
6	Thr	2.98
7	Ala	10.16
8	Pro	13.57
9	Arg	9.20
10	Tyr	1.13
11	Val	1.76
12	Met	2.30
13	Cys	0.13
14	Ile	0.13
15	Leu	2.74
16	Phe	2.73
17	Lys	4.25
18	Hyp	6.01

(Song et al., 2017)

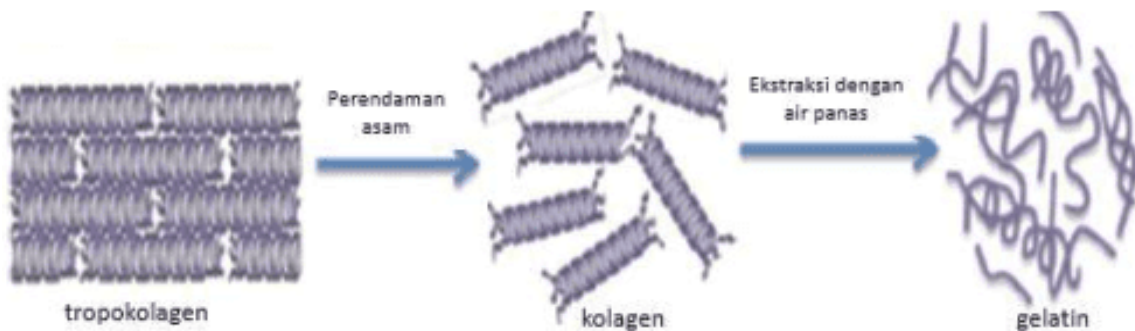
2.3.4 Ekstraksi Kolagen

Ekstraksi pada gelatin memiliki banyak metode, namun yang paling sering digunakan adalah ekstraksi asam dan basa. Di mana disetiap hasil akhir produk memiliki kualitas yang berbeda sehingga dapat digunakan untuk menentukan aplikasi penggunaan gelatin yang berbeda. Proses ekstraksi yang berbeda akan menghasilkan kolagen dengan karakteristik

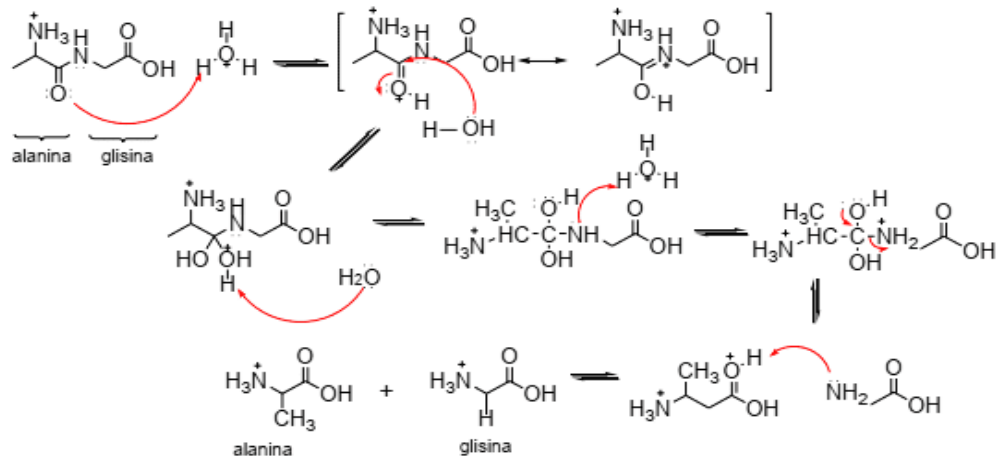
yang berbeda pula sesuai dengan kelarutannya. Perbedaan habitat dan spesies juga turut mempengaruhi proses pre-treatment dan ekstraksi untuk mendapatkan kolagen dengan kemurnian yang sesuai standar. Kelarutan kolagen dalam air dingin diketahui buruk karena adanya ikatan silang yang kuat dalam struktur tripel heliksnya. Di mana kelarutannya dapat ditingkatkan dengan pemanasan dan perlakuan kimiawi pada jaringan hewan sebelum ekstraksi untuk memutus hubungan silang dengan penambahan asam atau basa encer (Nining, 2020).

Metode ekstraksi kolagen yang umum digunakan adalah metode asam atau enzimatik menggunakan pepsin. Proses praperlakuan merupakan proses yang sangat berpengaruh terhadap kemurnian kolagen yang diisolasi, efisiensi waktu, dan biaya isolasi kolagen. Hidrolisis kolagen dengan asam dan dilanjutkan dengan ekstraksi gelatin dengan air panas (Gambar 2.6). Hidrolisis kolagen dengan asam akan menghasilkan gelatin tipe A. Hidrolisis ini menghasilkan rantai tropokolagen yang sudah kehilangan heliks ganda 3 nya. Proses perendaman juga dapat menurunkan kadar mineral seperti kalsium karbonat dan menyebabkan terjadinya pembungaan yang dapat melarutkan protein nonkolagen. Asam yang digunakan adalah HCl 5%, pemilihan konsentrasi ini akan memengaruhi seberapa banyak kolagen yang terkonversi menjadi gelatin. Asam yang ditambahkan akan terionisasi menjadi H_3O^+ dan Cl^- kemudian akan berikatan dengan ion karboksilat ($-COO^-$) dan $-NH_3^+$ sehingga dapat merusak jembatan garam dan terjadi hidrolisis ikatan peptida pada kolagen (Gambar 2.4). Ekstraksi kolagen dengan air panas akan melanjutkan rusaknya tautan silang dan ikatan hidrogen yang menjadi faktor penstabil struktur kolagen (Asih, 2018). Sedangkan untuk ekstraksi dengan menggunakan metode basa adalah suatu metode ekstraksi gelatin yang dalam proses pembuatannya menggunakan basa (Wardani et al., 2012). Ekstraksi basa dilakukan dengan menggunakan basa seperti KOH dan NaOH (Khirzin et al., 2019).

Pre-treatment pada kondisi asam akan memotong ikatan non-kovalen inter dan intra-molekul sementara pre-treatment basa menghilangkan protein non-kolagen tanpa menyebabkan modifikasi struktural pada rantai kolagen. Asam asetat adalah asam encer yang paling banyak digunakan untuk ekstraksi kolagen dari jaringan hewan laut, selain itu dapat juga digunakan asam sitrat dan asam laktat (Nining, 2020).



Gambar 2. 6 Ilustrasi Konversi Kolagen menjadi Gelatin (Asih, 2018)

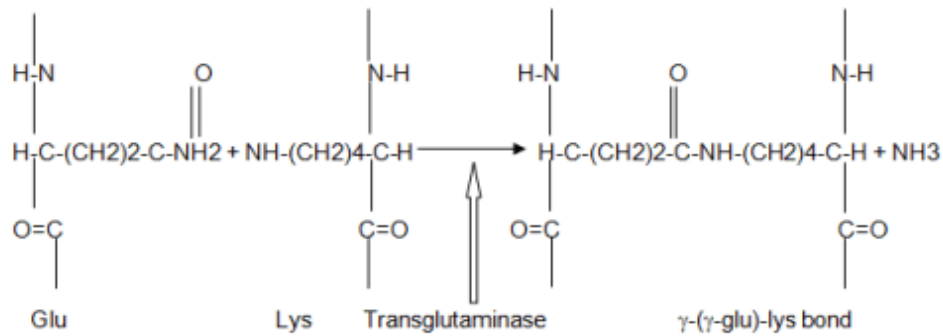


Gambar 2. 7 Mekanisme Hidrolisis Ikatan Peptida dengan Asam (Asih, 2018)

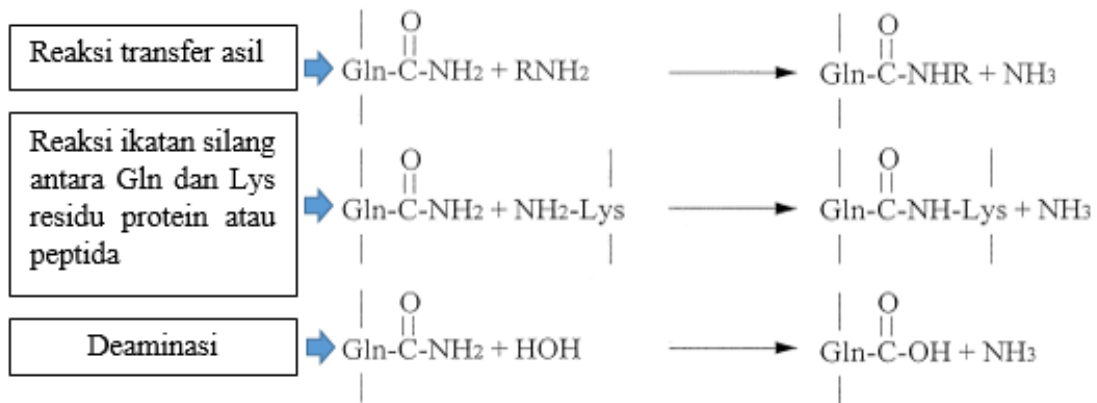
Pada penelitian Peng and Joe (2005), di mana mereka melakukan ekstraksi gelatin dari kulit Pollock Alaska. Pretreatment dengan alkali dan asam yang berbeda pada konsentrasi yang berbeda digunakan untuk menentukan efek pada ekstraksi gelatin dari kulit Pollock Alaska. Pretreatment basa dengan konsentrasi OH lebih rendah dari 0,5 mol/L menghilangkan protein nonkolagen tanpa kehilangan kolagen kulit yang signifikan. Pretreatment asam menyebabkan hilangnya kolagen, bahkan menggunakan asam lemah dengan konsentrasi H rendah pada suhu rendah. Adanya protease dapat menyebabkan degradasi ekstrak gelatin, tetapi perlakuan awal dengan NaOH atau Ca(OH)₂ pada konsentrasi 0,1 mol/L OH, atau asam asetat pada konsentrasi 0,05 mol/L H dapat menurunkan degradasi oleh protease secara signifikan. Kombinasi praperlakuan basa diikuti dengan praperlakuan asam tidak hanya menghilangkan protein nonkolagen, tetapi juga menyediakan kondisi pH yang tepat untuk ekstraksi, di mana beberapa ikatan silang dapat dihancurkan lebih lanjut tetapi dengan lebih sedikit pemutusan rantai polipeptida (Peng and Joe, 2005).

2.4 *Transglutaminase*

Transglutaminase (TGA) adalah enzim yang mengkatalis pembentukan ikatan silang antar molekul protein (pembentukan polimer antar molekul protein). Di mana pada awalnya TGA dikenal sebagai faktor XIIIa di bidang kedokteran, yang berperan dalam proses penggumpalan darah. Enzim Transglutaminase telah mampu memperbaiki sifat-sifat rheologis dari pangan (Mayasopha et al., 2015). Transglutaminase memiliki pH optimum antara 5-8, namun pada pH 4 atau 9, transglutaminase masih menunjukkan aktivitas enzimatis, suhu optimum untuk aktivitas enzimatis yaitu 50-55°C dan dapat melakukan aktivitas enzimatis secara terus menerus secara penuh meski berlangsung pada suhu 50°C selama waktu 10 menit. Transglutaminase kehilangan aktivitas enzimatis dalam beberapa menit pada pemanasan mencapai 70°C. Transglutaminase masih mengeluarkan aktivitas enzimatis pada suhu 10°C, dan masih menunjukkan beberapa aktivitas pada suhu sedikit di atas titik beku (Motoki et al., 1986).



Gambar 2.8 Reaksi cross-linking protein dengan bantuan microbial transglutaminase (Nielsen, 1995)



Gambar 2.9 Reaksi Katalis Transglutaminase (TGA) ε-(γ-glutamil) lisin (G-L)

TGA digunakan untuk mengkatalis reaksi pengikatan asam amino-asam amino yang ditambahkan pada molekul protein. Mekanisme kerja enzim transglutaminase adalah mengkatalis reaksi antara residu asam amino lisin dan residu asam amino glutamin sehingga membentuk ikatan ε-(γ-glutamil) lisin isopeptida di mana akan menghasilkan penggabungan ikatan kovalen inter atau intramolekuler yang akan berikatan silang dengan protein pada makanan. Sehingga hal tersebut dapat meningkatkan sifat fisika dan bentuk makanan (Nielsen, 1995; Mayasopha et al., 2015)

Di dalam perbaikan sifat gelatin dengan ditambahkan Enzim Transglutaminase, dapat mencegah penurunan mutu pangan melalui pengendalian transfer air, oksigen, karbondioksida, oksidasi lipid, dan hilangnya senyawa-senyawa aroma. Secara umum, film yang terbuat dari protein berfungsi sebagai penghalang oksigen dan aromayang sangat baik, namun dikarenakan sifa alamiah protein yang (bersifat hidrofilik), film tersebut cenderung menyerang sejumlah besar air sehingga akan menyebabkan sifat mekanik dan fungsinya sebagai penghalang akan diperlemah. Untuk itu digunakanlah TGA untuk memperbaiki strukturnya (Yildirim et al., 1996; Mayasopha et al., 2015).

2.5 Thin Layer Chromatography (TLC)

Pada kromatografi lapis tipis TLC (*Thin Layer Chromatography*), fase diam mempunyai peran penting pada analisis baik kuantitatif maupun kualitatif. Keseragaman dan ukuran partikel adsorben sangat menentukan keberulangan data analisis kuantitatif. Karakteristik kromatografi ditentukan terutama oleh parameter fisika. Oleh sebab itu lempeng TLC dengan ukuran partikel kecil dan keseragaman ukuran partikel baik, diperlukan untuk mendapatkan hasil analisis yang baik (Wulandari, 2006). TLC yang beredar di pasaran terdiri dari dua macam yaitu TLC konvensional dan HPTLC (*High-*

Performance Thin-Layer Chromatography). Perbedaan TLC konvensional dengan HPTLC berdasarkan parameter kerjanya adalah ukuran partikel TLC 20 μm HPTLC 5-15 μm , distribusi ukuran partikel TLC 10-60 μm HPTLC distribusinya sempit, volume sampel TLC 1-5 μL HPTLC 0,1-0,2 μL , diameter *starting spot* TLC 3-6 mm HPTLC 1,0-1,5 mm, jarak migrasi solven TLC 10-15 cm HPTLC 36 cm, waktu pengembangan TLC 30-200 menit HPTLC 3-20 menit, Limit deteksi (absorbansi) TLC 1-5 ng, HPTLC 0,1-0,5 ng. Mengingat kelebihan parameter-parameter kerja tersebut HPTLC memiliki efisiensi pemisahan yang lebih baik dibandingkan TLC konvensional. Kekurangan HPTLC adalah harganya lebih mahal dibandingkan TLC konvensional. Untuk memaksimalkan penggunaan HPTLC yang efisien dan ekonomis maka dilakukan daur ulang lempeng HPTLC kemudian lempeng hasil daur ulang dievaluasi untuk mengetahui sejauh mana lempeng daur ulang dapat digunakan untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif (Wulandari, 2006).

Ujung fase diam yang terdapat zona awal dicelupkan ke dalam fase gerak dalam chamber. Ketika fase gerak telah bergerak sampai jarak yang diinginkan, fase diam diambil, fase gerak yang terjebak dalam lempeng dikeringkan, dan zona yang dihasilkan dideteksi secara langsung atau di bawah sinar ultraviolet baik dengan atau tanpa penambahan pereaksi penampak noda yang cocok. Retensi dan selektivitas kromatografi juga ditentukan oleh interaksi antara fase diam, fase gerak dan komponen sampel yang berupa ikatan hidrogen, pasangan elektron donor atau pasangan elektron-akseptor, ikatan ion-ion, ikatan ion-dipol, dan ikatan van der Waals. Sebagai contoh, pengembangan KLT biasanya tidak sepenuhnya melarutkan kembali analit yang berada dalam lempeng kecuali dilakukan pemurnian sebelumnya. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan turunan senyawa yang lebih cocok untuk proses pemisahan, deteksi, dan / atau kuantifikasi. KLT dapat mengatasi sampel yang terkontaminasi, seluruh kromatogram dapat dievaluasi, mempersingkat proses perlakuan sampel sehingga hemat waktu dan biaya. Kehadiran pengotor atau partikel yang terperangkap dalam sorben fase diam tidak menjadi masalah, karena lempengnya digunakan sekali. Namun, perlakuan penambahan pereaksi penampak noda dengan penyemprotan atau pencelupan terkadang diperlukan untuk menghasilkan turunan senyawa yang berwarna atau berfluoresensi. Pada umumnya senyawa aromatik terkonjugasi dan beberapa senyawa tak jenuh dapat menyerap sinar UV. Senyawa-senyawa ini dapat dianalisis dengan KLT dengan fase diam yang diimpregnasi indikator fluoresensi dan deteksi dapat dilakukan hanya dengan pemeriksaan di bawah sinar UV 254 nm. Nilai R_f umumnya tidak sama dari laboratorium ke laboratorium bahkan pada waktu analisis yang berbeda dalam laboratorium yang sama, sehingga perlu dipertimbangkan penggunaan R_f relatif yaitu nilai R_f noda senyawa dibandingkan noda senyawa lain dalam lempeng yang sama. Faktor-faktor yang menyebabkan nilai R_f bervariasi meliputi dimensi dan jenis ruang, sifat dan ukuran lempeng, arah aliran fase gerak, volume dan komposisi fase gerak, kondisi kesetimbangan, kelembaban, dan metode persiapan sampel KLT sebelumnya (Wulandari, 2011).

2.6 Fourier Transform Infrared (FTIR)

Spektroskopi FT-IR (*Fourier Transform Infra Red*) merupakan spektroskopi inframerah yang dilengkapi dengan transformasi Fourier untuk deteksi dan analisis hasil spektrumnya. Inti spektroskopi FT-IR adalah interferometer Michelson yaitu alat untuk menganalisis frekuensi dalam sinyal gabungan. Spektrum inframerah tersebut dihasilkan dari transmisi cahaya yang melewati sampel, pengukuran intensitas cahaya dengan detektor dan dibandingkan dengan intensitas tanpa sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Spektrum inframerah yang diperoleh kemudian diplot sebagai intensitas fungsi energi, panjang gelombang (μm) atau bilangan gelombang (cm^{-1}) (Anam, 2007).

Berdasarkan panjang gelombang tersebut daerah inframerah dibagi menjadi tiga daerah, yaitu IR dekat ($14000-4000\text{ cm}^{-1}$) yang peka terhadap vibrasi overtone, IR sedang ($4000-400\text{ cm}^{-1}$) berkaitan dengan transisi energi vibrasi dari molekul yang memberikan informasi mengenai gugus-gugus fungsi dalam molekul tersebut, dan IR jauh ($400-10\text{ cm}^{-1}$) untuk menganalisis molekul yang mengandung atom-atom berat seperti senyawa anorganik tapi butuh teknik khusus. Biasanya analisis senyawa dilakukan pada daerah IR sedang. Prinsip kerja FTIR adalah interaksi antara energi dan materi. Infrared yang melewati celah ke sampel, di mana celah tersebut berfungsi mengontrol jumlah energi yang disampaikan kepada sampel. Kemudian beberapa infrared diserap oleh sampel dan yang lainnya di transmisikan melalui permukaan sampel sehingga sinar infrared lolos ke detektor dan sinyal yang terukur kemudian dikirim ke komputer dan direkam dalam bentuk puncak-puncak (Sari et al., 2018).

Spektrofotometer FTIR merupakan alat yang dapat digunakan untuk identifikasi senyawa, khususnya senyawa organik, baik secara kualitatif maupun kuantitatif.

- a. Analisis kualitatif dengan spektroskopi FTIR secara umum digunakan untuk identifikasi gugus-gugus fungsional yang terdapat dalam suatu senyawa yang dianalisis (Sari et al., 2018).
- b. Analisis kuantitatif dengan spektroskopi FTIR secara umum digunakan untuk menentukan konsentrasi analit dalam sampel (Sari et al., 2018).

BAB III METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2021 – April 2022. Ekstraksi gelatin dan analisis profil asam amino dengan menggunakan *Thin-layer chromatography* (TLC) di Laboratorium Zoologi dan Rekayasa Hewan, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Analitika Data, Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Analisis gugus fungsi gelatin dengan menggunakan metode *Fourier transform infrared* (FTIR) dilakukan di Laboratorium Kimia, Fakultas Sains dan Analitika Data, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

3.2 Alat dan Bahan

Peralatan yang akan digunakan dalam penelitian ini meliputi pisau, labu erlenmeyer, spatula, cawan petri, kain saring, neraca analitik, gelas ukur, pipa kapiler, gelas beaker, *Freeze Dryer*, kertas kromatografi dan *Spectroscopy*.

Bahan-bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini meliputi kulit ikan patin, akuades, CH_3COOH 0,12 mol, NaOH 0,2 mol, gelatin ikan patin, Transglutaminase, dan sorbitol 1%.

3.3 Metode yang Digunakan

3.3.1 Preparasi Kulit Ikan Patin

Kulit ikan patin dibersihkan dari sisa daging dan lemak dengan *scrap manual* menggunakan pisau. Kulit yang telah bersih dicuci dengan aquades dan diletakkan dalam air dingin kemudian dibekukan dan disimpan pada suhu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Hidayati et al., 2021).

3.3.2 Ekstraksi Gelatin

Sebelum dilakukan ekstraksi, dilakukan *pretreatment* terlebih dahulu terhadap kulit ikan patin yaitu dengan melakukan perendaman asam dan basa. Kulit ikan patin masing-masing sebanyak 10 gram dibungkus terlebih dahulu dengan kain saring dan direndam dalam CH_3COOH 0,12 M dengan rasio berat kulit/ larutan 1/10 (w/v) dan diaduk selama 60 menit pada suhu ruang. Kemudian kulit dibilas dengan air mengalir hingga pH netral (6,0-7,0). Selanjutnya kulit direndam menggunakan NaOH 0,2 M dengan rasio berat kulit/ larutan 1/10 (w/v) dan diaduk selama 40 menit pada suhu ruang. Kemudian kulit dibilas dengan air mengalir hingga pH netral (6,0-7,0) (Hidayati et al., 2021).

Kulit hasil *pretreatment* dimasukkan dalam aquades dengan rasio berat kulit/aquades 1/10 dan dipanaskan menggunakan *waterbath* dengan suhu 60°C selama 60 menit. Hasil ekstraksi kemudian disaring dan didiamkan selama ± 2 jam hingga membentuk gel pada suhu ruang. Gel kemudian didinginkan dalam freezer hingga membeku. Selanjutnya gel yang telah membeku dikeringkan menggunakan *Freeze dryer* dengan suhu -35°C dan vakum tekanan $\pm 0,3$ mbar hingga benar-benar kering. Gelatin yang telah kering kemudian disimpan dalam suhu ruang pada tempat yang kering dan tertutup rapat (Hidayati et al., 2021).

3.3.3 Penambahan TGA pada Gelatin Ikan Patin dan Pembuatan Film Gelatin Ikan Patin

Gelatin hasil *freeze dryer* diblender hingga halus. Setelah itu, dilakukan pembuatan larutan stok gelatin kulit ikan patin dengan konsentrasi 50 mg/ml. Gelatin dalam bentuk serbuk ditimbang seberat 1 gram dengan neraca analitik. Gelatin lalu dilarutkan pada 20 ml aquades dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 60°C selama 15 menit hingga gelatin larut. Larutan gelatin diangkat dari oven. Untuk perlakuan kontrol, sebanyak 9,90 ml larutan gelatin ditambahkan dengan sorbitol 0,1 ml lalu di *magnetic stirrer* selama 10 menit. Setelah selesai, gelatin dituang ke cawan petri dan ditunggu hingga kering. Selanjutnya untuk perlakuan gelatin dengan Transglutaminase 0,01 gram, diambil gelatin sebanyak 9,89 ml ditambahkan dengan sorbitol 0,1 ml dan transglutaminase sebanyak 0,01 gram lalu di *magnetic stirrer* dan dipanaskan. Setelah tercampur gelatin dituangkan ke cawan petri dan ditunggu hingga kering. Sedangkan untuk gelatin dengan penambahan Transglutaminase 0,05 gram yaitu dicampurkan 9,85 ml larutan gelatin ditambahkan dengan transglutaminase sebanyak 0,05 gram dan sorbitol 0,1 ml kemudian dilarutkan menggunakan *magnetic stirrer* selama 10 menit dan dipanaskan kemudian dituangkan ke dalam cawan petri.

3.3.4 Analisis Gugus Fungsional Gelatin

Analisis gugus fungsi film gelatin kulit ikan patin (GKIP) dilakukan dengan metode FTIR (*Fourier transform infrared*) di Laboratorium Kimia, Fakultas Sains dan Analitika Data, Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Film GKIP dengan perlakuan kontrol dan penambahan TGA dimasukkan kedalam cetakan (*Agilent Technologies Polystyrene Sample*). Cetakan dimasukkan ke dalam FTIR *Spectroscopy* untuk selanjutnya ditembak oleh *infra red* (metode tembak). Kemudian dilakukan *running* dan hasil akan keluar pada komputer. Film gelatin diuji dengan menggunakan FTIR *Spectroscopy* (Model FTIR IR Prestige - 21 SHIMADZU) menggunakan *Attenuated Total Reflection (ATR)*, pemindaian dilakukan dengan resolusi 1 cm⁻¹ dalam panjang gelombang 500 hingga 4000 cm⁻¹ (Baggio et al., 2021; Muyonga et al., 2004).

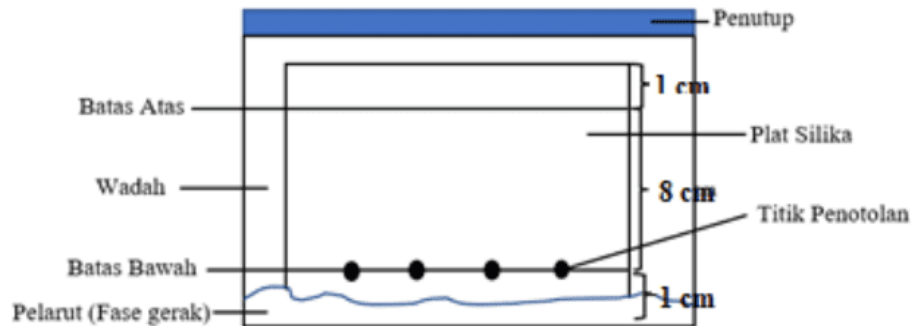
3.3.5 Analisis Asam Amino Gelatin

Analisis uji asam amino gelatin dilakukan dengan menggunakan uji *Thin Layer Chromatography (TLC)* atau Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Srivastava et al., 1972) dengan menggunakan standar asam amino yang diperoleh dari Sigma Aldrich.

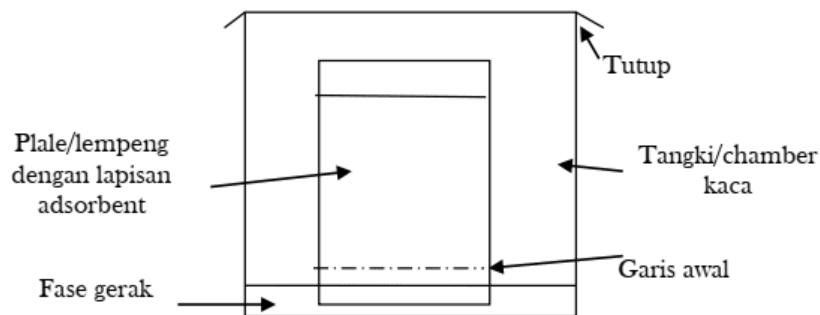
Pengujian asam amino dengan menggunakan *Thin Layer Chromatography (TLC)* atau Kromatografi Lapis Tipis (KLT) diawali dengan pembuatan sampel yang akan ditetaskan dengan melarutkan gelatin (dengan tambahan TGA 0,01, 0,05, dan tanpa TGA) dalam pelarut akuades dengan komposisi 1,5 gram gelatin dilarutkan dalam 10 ml akuades. Dilanjutkan dengan pembuatan fase gerak, di mana fase gerak dibuat dengan campuran n-butanol : asam asetat : akuades dengan perbandingan 6:2:2 (Modifikasi Giri et al., 2012; Ramakrishnan et al., 2013; Reach Devices TLC of Aminoacids). Kemudian dilanjutkan dengan pembuatan larutan ninhydrin yang akan digunakan untuk penyempurnanya, dengan mencampurkan 2 gr ninhydrin dengan 100 mL n-butanol (Giri et al., 2012).

Tahap selanjutnya adalah pembuatan kromatogram, di mana plat silika gel (KLT Silica gel 60 F254 dari Merck Jerman) dengan ukuran 5 x 10 cm, dengan diberi tanda menggunakan pensil dengan jarak posisi batas atas (1 cm dari atas) dan batas bawah (1 cm dari atas bawah) seperti pada Gambar ilustrasi 3.1. Larutan gelatin dan asam amino ditotolkan dengan menggunakan tabung kapiler pada silika gel dan ditunggu hingga kering (bisa menggunakan

hair dryer). Setelah kering silika gel dimasukan ke dalam wadah yang sebelumnya sudah diisi dengan larutan fase gerak, lalu wadah ditutup kembali dan ditunggu sampai fase gerak mencapai batas atas silika gel (Muchamad, 2019).



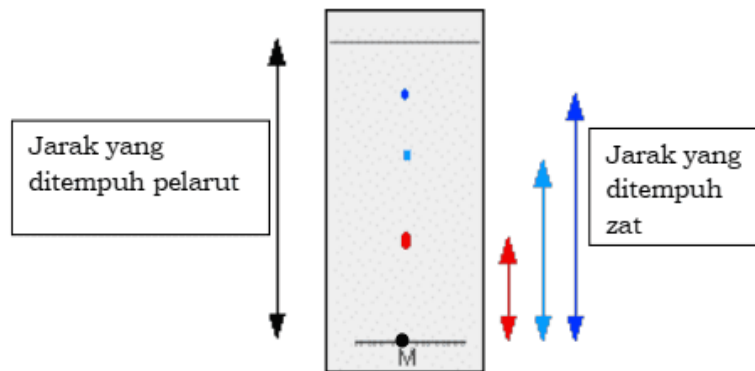
Gambar 3. 1 Diagram Metode *Thin Layer Chromatography* (TLC) Asam Amino



Gambar 3. 2 Gambaran Umum *Thin Layer Chromatography* (TLC)

Setelah fase gerak mencapai batas yang ditentukan, silika gel dikeluarkan dan dikeringkan dengan *hair dryer*. Kemudian disemprot dengan larutan Ninhidrin di atasnya. Hasil kromatogram difoto di samping penggaris dengan warna gelap. Untuk memperjelas noda, dapat disemprotkan kembali ninhidryn, lalu dikeringkan di dalam oven dengan suhu 80° selama 15 menit dan dapat difoto kembali hasilnya. Nilai *Retardation factor* (R_f) dapat ditentukan dari adanya noda-noda yang tampak pada kromatogram (Fauziah, 2012; Muchamad, 2019). Analisis asam amino dilakukan sebanyak 3 kali ulangan di setiap sampel penambahan TGA (kontrol, TGA 0,01 , dan TGA 0,05).

Jarak yang ditempuh spot-spot pada permukaan plat diukur dengan menggunakan persamaan dihitung besarnya nilai R_f , sebagai berikut :



Gambar 3. 3 Cara pengukuran nilai Rf (Rosamah, 2019)

$$\text{Nilai Rf} = \frac{\text{Jarak yang ditempuh zat}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}}$$

(Rosamah, 2019)

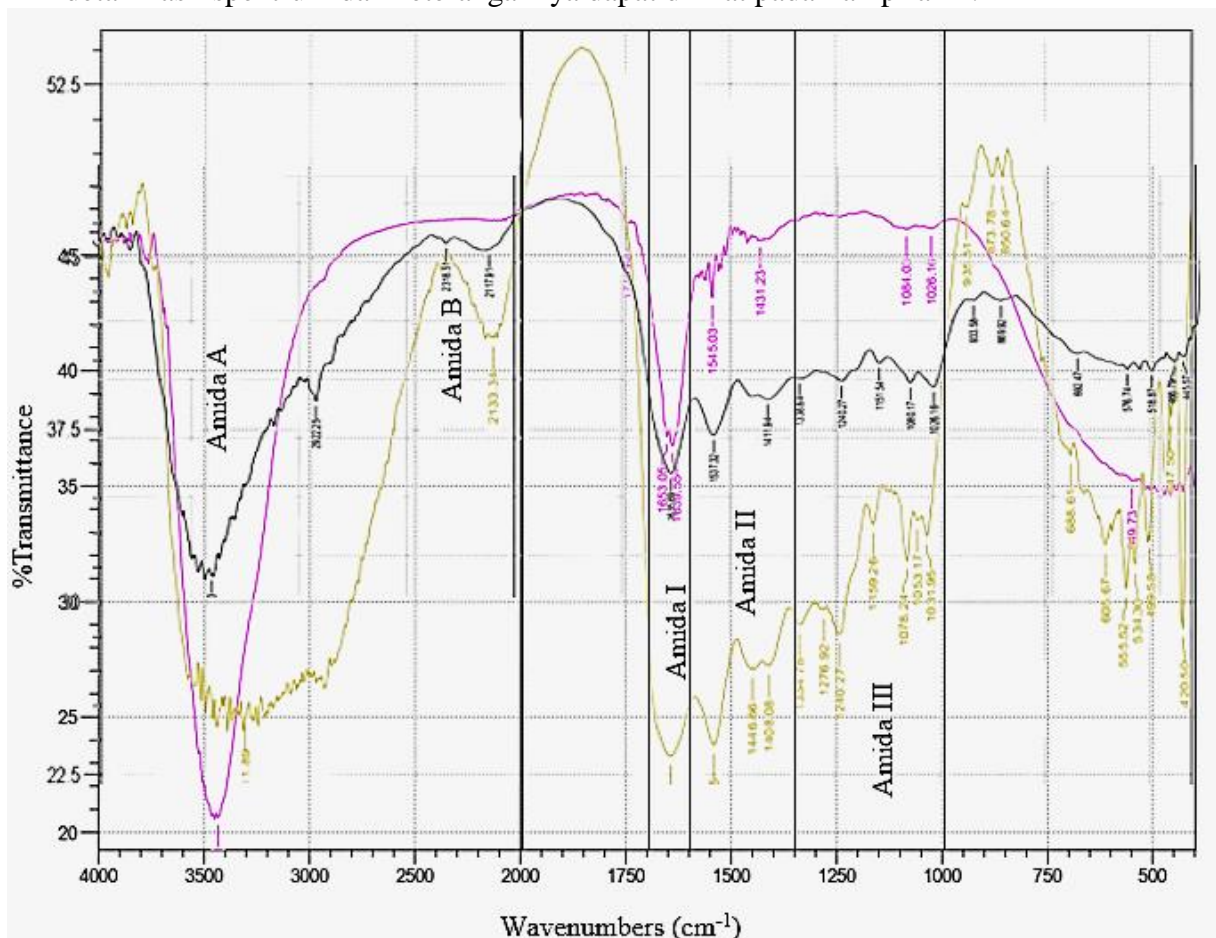
3.4 Analisis Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif kualitatif. Data profil asam amino dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan terhadap asam amino standar. Analisis gugus fungsi gelatin yang diperoleh dari FTIR akan dilakukan dengan memasukkan nilai bilangan gelombang (cm^{-1}) dan dianalisis secara kualitatif untuk menentukan gugus fungsi yang didasarkan pada nilai gelombang (cm^{-1}) yang akan dihasilkan.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Analisis *Fourier Transform Infrared* (FTIR) Gelatin Kulit Ikan Patin dengan Penambahan Transglutaminase (TGA)

Analisis *Fourier Transform Infrared* (FTIR) pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh penambahan TGA terhadap gugus fungsi molekul-molekul yang menyusun gelatin kulit ikan patin (GKIP). Pemilihan metode FTIR didasarkan pada kelebihanannya yaitu teknik analisis yang relatif cepat, preparasi sampel sederhana, serta penggunaan reagen kimia dan pelarut dalam jumlah sedikit (Li et al., 2018; Fadlilmoula et al., 2022). Hasil analisis FTIR sampel GKIP tanpa TGA (kontrol) dan GKIP yang ditambahkan TGA (TGA 0,01 dan TGA 0,05) disajikan dalam Gambar 4.1; Tabel 4.1; serta detail hasil spektrum dan keterangannya dapat dilihat pada Lampiran 2.



Gambar 4.1. Spektrum hasil pengukuran GKIP kontrol (spektrum jingga) = K0, GKIP TGA 0,01 (spektrum kuning) = K1, dan GKIP TGA 0,05 (spektrum hitam) = K2 dengan menggunakan spektrofotometer FTIR

Hasil analisis FTIR senyawa dalam GKIP (Gambar 4.1) secara keseluruhan baik Kontrol (tanpa TGA) maupun dengan penambahan TGA (TGA 0,01 dan 0,05) menunjukkan spektra inframerah dengan pola absorbansi yang berbeda-beda. Menurut Fadlilmoula et al. (2022) perbedaan pola absorbansi mengindikasikan perbedaan komposisi senyawa baik konformasi molekul, jenis ikatan, gugus fungsional, dan interaksi antarmolekul yang

membentuk sampel. Identifikasi jenis senyawa mengacu pada referensi dari Muyonga et al. (2004); Ahmad & Benjakul, (2011); Roberto et al., 2014; Derkach et al. (2019); ; Fadlelmoula et al. (2022), yaitu serapan bilangan gelombang pada kisaran 3600-3200 cm^{-1} digolongkan dalam daerah serapan Amida A; 2935-2915 cm^{-1} tergolong Amida B; 1700-1600 cm^{-1} tergolong Amida I; 1661-1335 cm^{-1} tergolong Amida II dan 1300-1000 cm^{-1} tergolong Amida III. Puncak serapan digunakan untuk mengkarakteristik gugus fungsi. Singh & Benjakul, (2017) menyatakan bahwa spektrum gelatin kulit ikan patin ditemukan pada Amida A (3264 cm^{-1}), Amida I (1628 cm^{-1}), Amida II (1550 cm^{-1}), dan Amida III (1240 cm^{-1}). Hasil analisis identifikasi senyawa dan karakteristik gugus fungsi GKIP disajikan pada tabel di bawah ini.

Tabel 4.1 Karakteristik Gugus Fungsi GKIP Kontrol, TGA 0,01, dan TGA 0,05 dengan Menggunakan Spektrofotometer FTIR

Daerah Serapan	Bilangan Gelombang (cm^{-1})			Keterangan
	K0	KI	KII	
Amida A	3433.41	3311.89	3408.33	Vibrasi regangan pada gugus O-H, N-H
Amida B	-	-	2922.25	Peregangan C-H asimetris dan simetris
Amida I	1745,64	1641.48	1635.69	Peregangan ikatan C=O; N-H Gugus O-H yang berpasangan dengan gugus karboksil (COOH)
	1653.05			
	1639.55			
Amida II	1545.03	1539.25	1537.32	Regangan CN dan deformasi NH dari kelompok peptida; Adanya gugus C-H; NH bending; peregangan CN; CH2 bending
	1431.23	1446.66	1411.94	
		1408.08		
		1334.78		
Amida III	1084.03	1276.92	1240.27	Rantai samping dan ikatan hidrogen.
	1026.16	1240.27	1151.54	Regangan CN, NH bending
		1159.26	1080.17	
		1078.24	1026.16	
		1053.17		
		1031.95		

Ket : K0 (GKIP tanpa TGA); KI (GKIP TGA 0,01); KII (GKIP TGA 0,05)

Ahmad & Benjakul, (2011) menyatakan bahwa bilangan gelombang pada daerah serapan Amida A berkisar antara 3200-3600 cm^{-1} , yang menunjukkan bahwa terjadinya vibrasi peregangan NH dan OH di dalamnya (Muyonga et al., 2004; Ahmad & Benjakul, 2011; Suptijak et al., 2018). Penelitian dari Muyonga et al. 2004; Suptijah et al. 2019; Andakke et al., 2020 juga menyatakan bahwa daerah serapan bilangan gelombang 3478-3310 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus N-H pada peptida gelatin yang berasosiasi dengan ikatan hidrogen gugus amida. Meskipun berada dalam area yang sama yaitu Amida A, namun puncak serapan bilangan gelombang pada tiap perlakuan menunjukkan perbedaan yaitu GKIP kontrol = 3433,41 cm^{-1} , TGA 0,01 = 3311,89 cm^{-1} dan TGA 0,05 = 3408,33 cm^{-1} . Berdasar hasil tersebut diketahui bahwa GKIP Kontrol dan TGA 0,05 menunjukkan bilangan gelombang kisaran yang sama yaitu diantara 3400-3440 cm^{-1} , sedangkan GKIP TGA 0,01 menunjukkan terjadinya peregangan dengan bilangan gelombang 3311,89 cm^{-1} . Peregangan dikarenakan gugus NH dari

suatu peptida yang berasosiasi dengan ikatan hidrogen menyebabkan daerah serapannya bergeser ke frekuensi yang lebih rendah dan memungkinkan adanya tumpang tindih ikatan NH dengan gugus OH di dekatnya pada daerah tersebut sehingga terbentuk daerah serapan dengan puncak yang melebar pada puncak Amida A GKIP TGA 0,01 (Muyonga et al., 2004). Hal ini kemungkinan terkait dengan perbedaan jumlah ikatan peptida yang terkandung dalam film GKIP. Menurut penelitian Zhao et al. (2022) penambahan TGase mempengaruhi struktur ikatan silang, mengubah struktur lanjutan protein dan melepaskan gugus amina (NH) pada residu asam amino Glutamin. Di mana semakin besar konsentrasi TGase dapat meningkatkan ikatan peptida yang dibentuk, namun peptida yang dibentuk berupa peptida pendek.

Pada daerah Amida A semakin rendah bilangan gelombang menunjukkan bahwa gugus NH dari peptida yang lebih pendek terlibat dalam ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen dapat menstabilkan struktur protein, dikarenakan ikatan hidrogen menurunkan frekuensi vibrasi regangan namun meningkatkan frekuensi tekukan (*banding*). Mekanisme kerja TGA adalah dengan membentuk ikatan isopeptida antara residu glisin dan lisin dari gelatin, di mana penurunan bilangan gelombang pada Amida B dan A terlihat jelas lebih tinggi pada GKIP kontrol yaitu 3433.41 ke 1745.64, dikarenakan kurang terbentuknya ikatan silang (Sabaghi et al., 2022), sedangkan pada GKIP TGA 0,05 dan TGA 0,01 penurunan bilangan gelombang relatif lebih rendah daripada GKIP kontrol. Selain itu, pita serapan pada GKIP penambahan TGA (TGA 0,01 dan TGA 0,05) lebih rendah dibandingkan GKIP kontrol. Menurut Yayli et al. (2017) rendahnya pita serapan dikaitkan dengan interaksi hidrogen yang tinggi antara air, *plasticizer*, protein, dan TGA. Daerah serapan diantara 3313.11, 3209.93, 3325.64, 3391.21, 3412.42, 3452.56, 3522.34, and 3527.17 cm^{-1} menunjukkan adanya senyawa hidroksil (gugus fungsional -OH) (Lingegowda et al., 2012; Wulandari et al., 2016). Daerah Amida A GKIP pada penelitian ini sama-sama memiliki senyawa hidroksil, namun bilangan gelombang paling besar ditemukan pada GKIP kontrol (3433.41 cm^{-1}). Gelatin kontrol memiliki bentuk puncak Amida A tajam ke bawah yang mengkarakterisasi adanya ikatan O-H gugus karboksilat pada asam amino prolin, hidrosiprolin, dan lisin di mana semua asam amino tersebut merupakan struktur dari pembentuk gel pada gelatin (Baggio et al., 2021). GKIP kontrol yang mengandung gugus OH mampu menyerap air dikarenakan permeabilitasnya yang tinggi yang akan mengikat molekul air sehingga akan menurunkan sifat fisiknya (Hidayati et al., 2015). Menurut Yi et al., (2006) permeabilitas film gelatin sangat bergantung pada ikatan silang yang dihasilkan dari TGA, di mana gelatin tanpa tambahan TGA memiliki polimer penyusun yang kurang kompak sehingga permeabilitas film akan meningkat dan mempengaruhi sifat fisik dari film tersebut. Gelatin TGA 0,01 memiliki bilangan gelombang terendah yang menunjukkan adanya ikatan hidrogen yang terlibat dalam gugus N-H pada rantai α (Nagarajan et al., 2012). Hal ini sesuai dengan penelitian Baggio et al., (2021) yang menyatakan bahwa penambahan TGA meningkatkan pembentukan ikatan hidrogen antara gugus -OH dan -NH, sehingga menyebabkan perubahan tingkat molekul. Gelatin dari kulit ikan patin dengan penambahan TGA 0,01 dan 0,05 memiliki banyak gugus NH sehingga lebih banyak terlibat dengan ikatan hidrogen.

Puncak serapan Amida B hanya dimiliki oleh sampel GKIP TGA 0,05 dengan bilangan gelombang 2922,25 cm^{-1} , sedangkan pada GKIP kontrol dan TGA 0,01 tidak ditemukan daerah serapan Amida B. Bilangan gelombang pada daerah serapan Amida B berkisar antara 2915–2935 cm^{-1} atau 2845–2865 cm^{-1} (Muyonga et al., 2004; Suptija et al., 2018; Andakke et al., 2020), sedangkan menurut penelitian Tu et al., (2015) Amida B berada pada kisaran 3100–3000 cm^{-1} . Pada gelombang tersebut mengindikasikan terbentuknya regangan asimetrikal = C-H dan regangan pada N-H (Tu et al., 2015; Suptija et al., 2018; Wahyuningtyas et al., 2019; Derkach et al., 2019). Bilangan gelombang yang lebih rendah pada daerah serapan Amida B

menunjukkan interaksi antar gugus $-NH_3$ pada rantai peptida. Sampel yang menunjukkan serapan pada $2922,25\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan vibrasi regangan asimetris C-H pada gugus C-H₂ (Nagarajan et al., 2012, Wahyuningtyas et al., 2019). Ikatan C-H (dengan hidrogen melekat pada karbon) ada pada hampir semua senyawa organik, sehingga interpretasi ikatan C-H tidak digunakan dalam identifikasi senyawa (Dachriyanus, 2004). Hidayati et al., (2021) dalam penelitiannya menyatakan bahwa adanya daerah Amida A dan B pada gelatin kulit ikan patin sub-dewasa dan dewasa menunjukkan adanya gugus OH, CH, dan NH. Gugus fungsi OH, CH, dan NH ditemukan pada daerah serapan dengan bilangan gelombang antara $2500-4000\text{ cm}^{-1}$.

Daerah serapan khas pada gelatin selanjutnya adalah Amida I yang memiliki bilangan gelombang antara $1636-1700\text{ cm}^{-1}$ yang disebabkan regangan ikatan ganda gugus karbonil C=O di sepanjang *backbone* polipeptida, *bending* ikatan NH, dan regangan CN (Muyonga et al., 2004; Sun et al., 2021; Fadlilmoula et al, 2022). Pada penelitian ini hasil spektra menunjukkan bilangan gelombang pada GKIP kontrol = $1639,55\text{ cm}^{-1} - 1745,64\text{ cm}^{-1}$, TGA 0,01 = $1641,48\text{ cm}^{-1}$ dan TGA 0,05 = $1635,69\text{ cm}^{-1}$. Amida I merupakan gugus fungsi khas yang menyusun kolagen sekaligus puncak yang paling berguna untuk analisis inframerah dari struktur sekunder protein termasuk gelatin (Singh & Benjakul, 2017). Hal tersebut sesuai dengan penelitian Ahmad & Benjakul (2011) yang menyatakan bahwa puncak serapan Amida I pada $1634,73\text{ cm}^{-1}$ merupakan karakteristik untuk struktur *coil* gelatin. Pada puncak ini juga menunjukkan regangan C=O dan O-H yang berpasangan dengan gugus karboksil (COOH) (Wulandari et al., 2016; Muyonga et al., 2004; Fadlilmoula et al, 2022). Muyonga et al. (2004) menyatakan bahwa Amida I terdiri dari empat komponen struktur sekunder protein, yaitu *α -heliks*, *β -sheet*, *β -turn*, dan *random coil*. Pada setiap komponen struktur sekunder protein memiliki wilayah serapan yang berbeda. Komponen *α -heliks* ditunjukkan pada wilayah serapan bilangan gelombang $1640-1650\text{ cm}^{-1}$; *β -sheet* pada $1610-1640\text{ cm}^{-1}$, *β -turn* pada $1650-1658\text{ cm}^{-1}$; dan *random coil* pada $1660-1690\text{ cm}^{-1}$ (Yang et al., 2022; Suptijah et al., 2018).

Berdasarkan hasil penelitian, di daerah Amida I pada GKIP kontrol terdapat struktur *random coils* ($1745,64\text{ cm}^{-1}$), *β -turn* ($1653,05\text{ cm}^{-1}$), dan *β -sheet* ($1639,55\text{ cm}^{-1}$). Sedangkan pada TGA 0,01 terdapat struktur *α -heliks* dan *β -sheets* pada TGA 0,05. Perbedaan yang terdapat pada spectrum di daerah Amida I diduga berkaitan dengan perbedaan konformasi rantai polipeptida (Ahmad & Benjakul, 2011). Menurut penelitian Yang et al. (2022) penambahan TGA berkontribusi secara signifikan pada pembentukan agregasi protein dengan ikatan kovalen, yang mengarah pada transformasi pada *β -turns* dan *random coils* menjadi *β -sheets*. *β -sheets* merupakan struktur dari dua atau lebih rantai polipeptida yang dihubungkan secara lateral oleh ikatan hidrogen antara rantai utama gugus C=O dan N-H, sedangkan *α -heliks* terbentuk ketika adanya rantai tunggal polipeptida membentuk struktur silinder yang kaku (Lodish et al., 2013). Wang et al., (2015) juga menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi TGA pada jaringan ikatan silang pada film gelatin dapat meningkatkan amplitudo atau bilangan gelombang pada Amida I. Hal ini dikarenakan perlakuan enzimatis dapat mempengaruhi struktur sekunder, gugus fungsi serta interaksi gelatin pada film tersebut. Secara umum, peningkatan konsentrasi TGA meningkatkan amplitudo pada Amida I dan penurunan pada Amida II (Wang et al., 2015). Perubahan ikatan pada Amida I dikarenakan penggunaan H_2O_2 yang dapat mempengaruhi struktur *helix coil* dari gelatin, selain itu hasil ini menunjukkan bahwa hidrogen peroksida kemungkinan menyebabkan struktur sekunder dan kelompok fungsional gelatin yang dihasilkan, yang berkaitan dengan peningkatan interaksi antarmolekul dan denaturasi pada gelatin (Singh & Benjakul, 2017). Amida I berguna dalam mempelajari materi kealamian dan perubahan konformasi pada protein (Muyonga et al., 2004; Wahyuningtyas et al., 2019).

Daerah Amida II pada GKIP kontrol menghasilkan rentang bilangan gelombang 1431,23-1545,03 cm^{-1} , TGA 0,01 = 1334,78-1539,25 cm^{-1} , dan 1338,64-1537,32 cm^{-1} pada TGA 0,05. Vibrasi Amida II disebabkan oleh adanya deformasi ikatan -NH dalam protein. Adanya gugus Amida II menunjukkan adanya gugus CN *stretching* dan NH *bending* (Muyonga et al., 2004; Ahmad & Benjakul, 2011; Suptijah et al., 2018). Pada GKIP kontrol bilangan gelombang diidentifikasi dengan adanya regangan CN dan deformasi NH dari kelompok peptida (Ahmad & Benjakul, 2011; Muyonga et al., 2004), sedangkan pada GKIP TGA 0,01 dan 0,05 menunjukkan adanya NH *bending*, ditambah dengan peregangan CN serta *bending* CH₂ (Jamili et al., 2019; Muyonga et al., 2004; Andakke et al., 2020; Ahmad & Benjakul, 2011). Gugus Amida II (N-H) menunjukkan adanya protein dan ikatan peptida, di mana protein terdiri dari rangkain asam amino yang saling dihubungkan dengan suatu ikatan peptida membentuk ikatan hidrogen dengan molekul air (Rahmawati et al., 2015; Said, 2020), sedangkan vibrasi Amida II sesuai dengan deformasi atau refleksi ikatan N-H. Karbonil dan gugus amida berpartisipasi dalam ikatan hidrogen yang digunakan untuk mempertahankan struktur sekunder protein (Baggio et al., 2021).

Daerah serapan Amida III pada GKIP kontrol menghasilkan bilangan gelombang 1026,16-1084,03 cm^{-1} , TGA 0,01 = 1276,92-1031,95 cm^{-1} , sedangkan TGA 0,05 = 1240,27 - 1026,16 cm^{-1} . Amida III merupakan kombinasi antara puncak *stretching*-CN dan *bending*-NH, vibrasi peregangan C-O dari rantai peptida pendek, serta merupakan signifikasi penyerapan wagging-CH₂ dari *backbone* glisin dan rantai samping prolin (Muyonga et al., 2004; Ahmad & Benjakul, 2011; Wahyuningtyas et al., 2019). Menurut Suptijah et al. (2018) bilangan gelombang 1239,46 cm^{-1} mengidentifikasi bahwa Amida III menunjukkan CH *stretching* dan NH *bending*. Intensitas Amida III berkaitan dengan adanya struktur *triple heliks*. Penelitian Benjakul et al. (2009) menyatakan bahwa pada bilangan gelombang 1237 cm^{-1} menunjukkan hilangnya struktur *triple heliks* pada molekul kolagen yang dikarenakan proses denaturasi menjadi gelatin. Pada penelitian ini bilangan gelombang yang mendekati adalah GKIP TGA 0,01 (1240,27 cm^{-1}) dan TGA 0,05 (1240,27 cm^{-1}). Bilangan gelombang rentang 1000-1300 cm^{-1} yang terdapat pada GKIP kontrol menunjukkan adanya vibrasi peregangan C-O dari rantai peptida pendek yang terjadi akibat adanya degradasi rantai peptida (Nagarajan et al., 2012; Wulandari et al., 2016). Amplitudo tertinggi pada Amida III menunjukkan perubahan yang lebih besar pada struktur molekul α -*heliks* ke struktur kumparan acak yang terjadi akibat hilangnya struktur *triple heliks* selama proses denaturasi kolagen menjadi gelatin (Nagarajan et al., 2012). Puncak pada Amida III juga menunjukkan adanya vibrasi peregangan C-N dan deformasi ikatan N-H dari amida, serta adanya penyerapan *wagging* dari gugus CH₂ dari *backbone* glisin dan rantai samping prolin (Nagarajan et al., 2012).

Menurut penelitian Xu et al. (2022) penambahan TGA tidak mengubah struktur sekunder gelatin, dikarenakan modifikasi TGA menginduksi penyisipan ikatan isopeptida ϵ -(γ -glutamyl)-lysine dan hilangnya gugus fungsi ϵ -amino, sehingga perubahan molekuler tidak terlalu mengubah struktur sekunder gelatin. Namun dengan adanya penambahan TGA dapat meningkatkan ikatan silang pada film gelatin, sehingga akan menyebabkan peningkatan kekuatan gel dan titik leleh, ketidaklarutan air yang lebih baik, permeabilitas uap air dan sifat mekanik yang baik, sehingga gelatin memiliki prospek aplikasi yang menjanjikan untuk pengemasan makanan atau obat (kapsul) dengan kelembaban tinggi (Peng et al., 2021; Xu et al., 2022). Pada Gambar 4.1 dapat dilihat bahwa puncak-puncak serapan paling banyak terdapat pada TGA 0,01, di mana banyaknya puncak serapan tersebut mengindikasikan banyaknya molekul di dalamnya. Pada daerah serapan Amida I dan II pada sampel GKIP dapat dilihat bahwa amplitudo GKIP TGA 0,01 lebih tinggi daripada sampel lain, yang mengindikasikan

bahwa jumlah *crosslink* intermolekuler yang lebih banyak pada GKIP TGA 0,01 (Muyonga et al., 2004).

Spektrum senyawa yang diperoleh dalam penelitian GKIP menunjukkan adanya kelompok fungsional yang sama pada struktur gelatin pada umumnya yaitu terdiri dari karbon, hidrogen, hidroksil (OH), gugus karbonil (C=O), dan gugus Amina (NH) (Triastuti et al. 2017). Penambahan TGA meningkatkan pembentukan ikatan kovalen antar peptida dan ikatan hidrogen dengan molekul air sehingga memberikan sifat fisik yang baik untuk GKIP. Pada penelitian ini GKIP TGA 0,01 merupakan sampel yang optimum, dikarenakan pada sampel tersebut memiliki banyak molekul di dalamnya ditandai dengan banyaknya puncak serapan dan tingginya amplitudo pada daerah serapan Amida I dan II dikarenakan adanya *crosslink* antar molekul.

4.2 Hasil Analisis *Thin Layer Chromatography* (TLC) Gelatin Kulit Ikan Patin dengan Penambahan Transglutaminase (TGA)

Analisis *Thin Layer Chromatography* (TLC) pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh penambahan TGA terhadap kandungan asam amino yang menyusun gelatin kulit ikan patin. Kromatografi merupakan teknik biofisik yang digunakan untuk identifikasi, pemisahan, dan pemurnian campuran komponen (molekul kecil sebagai asam amino, karbohidrat, dan lemak) untuk selanjutnya dianalisis secara kualitatif atau kuantitatif. Penelitian ini menggunakan *Thin Layer Chromatography* (TLC) dikarenakan memiliki kelebihan diantaranya dapat diaplikasikan untuk hampir semua senyawa, biaya yang tidak terlalu mahal serta pemisahan senyawa dalam waktu yang singkat (Coskum, 2016; Rosamah, 2019).

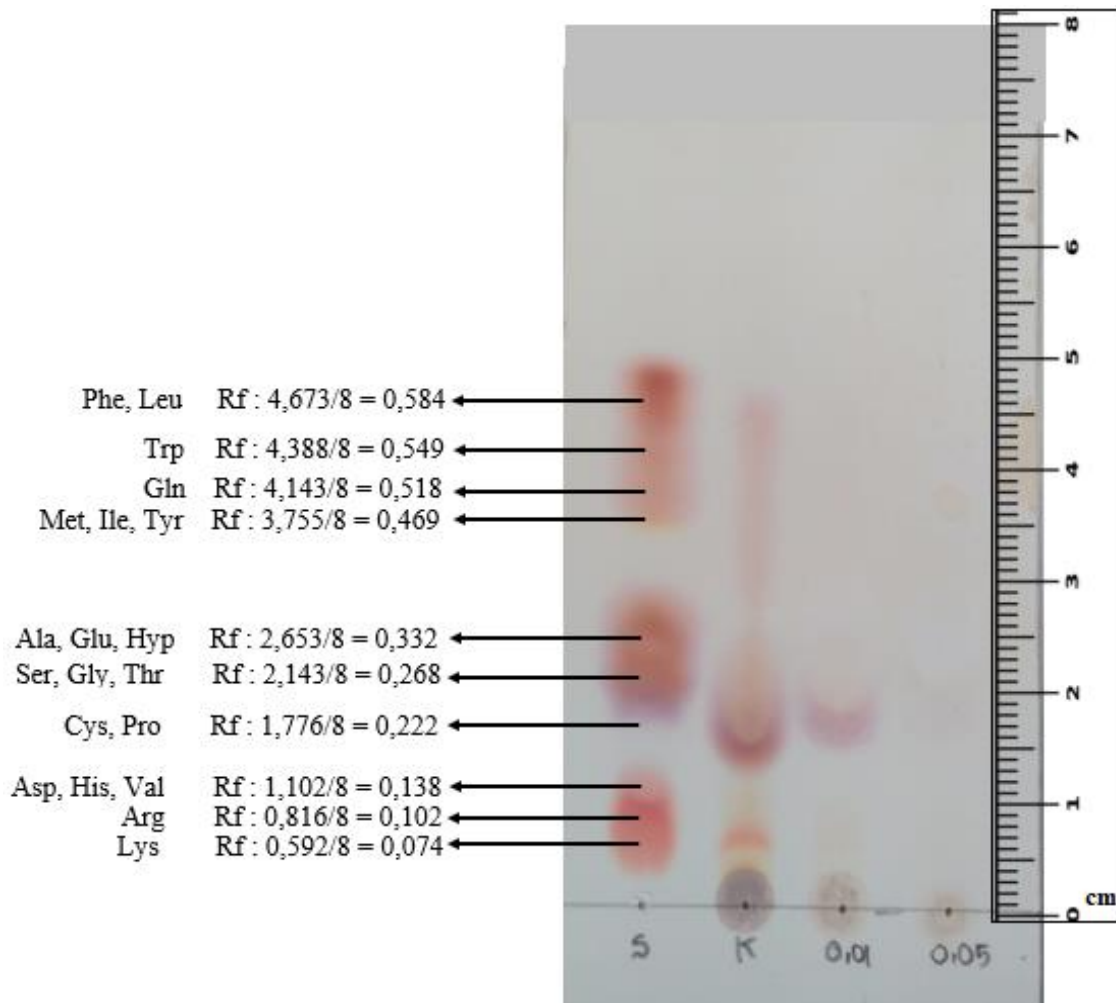
Hasil analisis TLC tersaji dalam bentuk nilai Rf (*Retention/retardation factor*) (Tabel 4.2) yang diukur dengan membandingkan jarak yang ditempuh susbtansi dan pelarut pada GKIP (Gelatin kulit ikan patin) kontrol (tanpa TGA) dan GKIP penambahan TGA (TGA 0,01 dan 0,05) untuk selanjutnya diidentifikasi secara deskriptif kualitatif dengan melihat nilai *Retardation Factor* (Rf) dan warna pada plat KLT. Standar Sigma Aldrich® AAS18 digunakan sebagai asam amino standar dalam penelitian ini. Jenis asam amino berdasarkan nilai Rf dan warna setelah diujikan selanjutnya diidentifikasi berdasarkan Sen et al. (2012); Ramakrishnan et al. (2013); REACH Device LLC; dan <https://www.socialcircleschools.com/userfiles/256/Classes/10195/macromolepics.pdf>. Hasil analisis dapat dilihat pada (Tabel 4.2; Gambar 4.2; Lampiran 3).

Tabel 4.2 Perbandingan Profil Asam Amino GKIP dengan Literatur

No.	Perlakuan	Asam amino GKIP		Referensi		Jenis aa
		Rf Perhitungan (cm)	Warna Profil Asam Amino	Kisaran Rf (cm)	Warna Asam Amino	
1	K0	0,074	Merah orange	0,08	Merah orange	Lisin
		0,102	Merah muda	0,16	Merah muda	Arginin
		0,138	Ungu keabu2an	0,12	Ungu keabu2an	Asam aspartat
		0,138	Pink kemerahan	0,14	Pink kemerahan	Valin

		0,222	Ungu keabu2an	0,37-0,41	Ungu keabu2an	Sistein
		0,222	Abu-abu krem	0,22	Abu-abu krem	Prolin
		0,268	Orange	0,248-0,26	Orange	Serin, Glisin
		0,268	Orange	0,28	Orange	Treonin
		0,332	Ungu kecoklatan	0,30-0,38	Ungu kecoklatan	Alanin, Asam glutamat
		0,332	Ungu kecoklatan	0,34	Ungu kecoklatan	Hidroksiprolin
		0,469	Kuning kemerahan	0,51	Kuning kemerahan	Metionin
		0,549	Kuning kemerahan	0,44-0,53	Kuning kemerahan	Isoleusin, Tirosin
		0,518	Ungu terang	0,51	Ungu terang	Glutamin
		0,584	Merah muda ungu	0,57-0,58	Merah muda ungu	Triptofan, Leusin
2	KI	0,064	Merah orange	0,08	Merah orange	Lisin
		0,468	Pink kemerahan	0,14	Pink kemerahan	Valin
		0,024	Ungu keabu2an	0,088	Ungu keabu2an	Sistein
		0,268	Abu-abu krem	0,22	Abu-abu krem	Prolin
		0,25	Orange	0,248	Orange	Glisin
		0,29	Orange	0,28	Orange	Treonin
		0,336	Ungu kecoklatan	0,34	Ungu kecoklatan	Hidroksiprolin
		0,518	Ungu terang	0,51	Ungu terang	Glutamin
3	KII	-	-	-	-	-

Ket : K0 (GKIP tanpa TGA); KI (GKIP TGA 0,01); KII (GKIP TGA 0,05)



Gambar 4.2 Hasil Identifikasi Profil Asam Amino pada Sampel Gelatin Kulit Ikan Patin (GKIP) Ket : S (Asam Amino Standar), K (GKIP kontrol), 0,01 (GKIP TGA 0,01) dan 0,05 (GKIP TGA 0,05)

Berdasarkan Tabel 4.2 dan Gambar 4.2 terlihat bahwa asam amino yang muncul pada standar sebanyak 20 asam amino (Lisin, Arginin, Asam aspartat, Histidin, Valin, Sistein, Prolin, Serin, Glisin, Treonin, Alanin, Asam glutamat, Hidroksiprolin, Metionin, Isoleusin, Tirosin, Glutamin, Triptofan dan Leusin.), pada GKIP kontrol muncul 18 asam amino (Lisin, Arginin, Asam aspartat, Valin, Sistein, Prolin, Serin, Glisin, Treonin, Alanin, Asam glutamat, Hidroksiprolin, Metionin, Tirosin, Glutamin, Triptofan, Fenilalanin dan Leusin), GKIP TGA 0,01 terlihat 8 asam amino (Lisin, Valin, Sistein, Prolin, Glisin, Treonin, Hidroksiprolin dan Glutamin), dan pada GKIP TGA 0,05 tidak teridentifikasi munculnya asam amino, namun terdapat noda pada daerah totolan dari GKIP TGA 0,05 yang menandakan bahwa sampel membentuk gumpalan sehingga asam amino tidak bisa terangkat ke atas oleh fase gerak. Tabel 4.2 juga menunjukkan bahwa kandungan asam amino glisin terdapat pada sampel. Hal ini dikarenakan susunan asam amino pada gelatin hampir sama dengan kolagen, di mana glisin merupakan asam amino yang utama. Hasil penelitian ini selaras dengan kandungan asam amino kolagen dari kulit ikan *striped catfish* (*P. hypophthalmus*) yang paling dominan, yaitu glisin 30,9 % dan prolin 12,0 % (*Acid Soluble Collagen/ ASC*); serta glisin 31,7 % dan prolin 12,6 % (*Pepsin Soluble Collagen/ PSC*) (Singh et al., 2011). Nasution et al. (2018) juga menyatakan

bahwa glisin dan prolin adalah dua asam amino utama dan hampir menempati seperempat dari total asam amino.

Gelatin mengandung 19 asam amino yang dihubungkan dengan ikatan peptida membentuk rantai polimer panjang. Senyawa pada gelatin merupakan suatu polimer linier yang tersusun oleh satuan berulang asam amino glisin-prolin atau glisin-hidroksiprolin (Peranginangin et al., 2005 dan Puspawati et al., 2017). Asam amino adalah bahan penyusun protein yang diklasifikasikan ke dalam asam amino esensial dan asam amino non-esensial. Asam amino esensial adalah asam amino yang tidak dapat disintesis oleh tubuh tetapi sangat diperlukan oleh tubuh. Asam amino esensial dalam kolagen diantaranya isoleusin, leusin, lisin, metionin, fenilalanin, treonin, valin dan arginin (Salman et al., 2021). Gelatin merupakan suatu protein yang memiliki nilai gizi yang rendah, dikarenakan di dalam gelatin tidak terkandung seluruh asam amino esensial pembentuk protein secara lengkap. Diketahui juga jika didalam suatu kandungan pangan memiliki asam amino esensial yang rendah akan berpengaruh pada kualitas pangan tersebut. Namun rendahnya asam amino esensial tersebut dapat diperbaiki dengan penambahan asam amino esensial dari luar dan selanjutnya akan diikat pada protein pangan yang dimaksudkan tadi. Begitu juga dengan adanya protein-protein yang memiliki sifat fungsional yang baik tetapi memiliki gizi yang rendah, dapat dilakukan peningkatan gizi dengan melakukan pengkayaan asam amino esensial yang akan diikat silang dengan menggunakan TGase (Mayaspopha et al., 2015). Terdapat beberapa persyaratan mutu gelatin yang biasanya ditentukan oleh industri tergantung pada kegunaan gelatin. Nilai komersial gelatin semakin tinggi dengan semakin tingginya kekuatan gel dan viskositasnya (Peranginangin et al., 2005; Said et al., 2011).

Sifat fisik utama gelatin adalah kekuatan gel dan titik leleh, yang diatur oleh komposisi asam amino (prolin dan hidroksiprolin), distribusi berat molekul dan rasio rantai/ β dalam gelatin. Di mana kandungan asam amino pada gelatin bergantung pada asal bahan baku (Ratnasari et al., 2013). Karakteristik kimia dan teknis dari gelatin merefleksikan suhu lingkungan di mana asal spesies tersebut tinggal. Di mana kolagen yang berasal dari spesies yang hidup di lingkungan dengan temperatur rendah memiliki kandungan asam amino (prolin dan hidroksiprolin) yang rendah pula. Gelatin yang diproduksi dari kolagen di temperatur rendah mempunyai sejumlah ikatan hidrogen yang rendah dalam larutan air dan titik leleh yang lebih rendah dibandingkan dengan gelatin yang berasal dari spesies ikan dari lingkungan dengan temperatur tinggi (Peranginangin et al., 2005). Hal ini sesuai dengan pernyataan Gudmundsson, (2002) bahwa kolagen yang diekstraksi dari spesies ikan air hangat mengandung lebih banyak asam amino dibandingkan dengan ikan air dingin. Namun, gelatin dari ikan memiliki kandungan prolin dan hidroksiprolin yang rendah dibandingkan dengan gelatin yang berasal dari gelatin sapi dan babi, di mana kandungan prolin dan hidroksiprolin memiliki fungsi yang penting dalam meningkatkan stabilitas kolagen. Berikut merupakan kandungan asam amino dari beberapa ikan air tawar sebagai alternatif sumber kolagen (Ratnasari et al., 2013).

Gelatin merupakan jenis protein hasil ekstraksi dari kolagen sehingga secara umum memiliki komposisi asam amino yang menyerupai kolagen (Said et al., 2011). Asam amino pada gelatin diproduksi melalui proses asam atau basa, yang akan memecah ikatan-ikatan intermolekuler rantai asam amino. Proses tersebut juga memungkinkan ada beberapa rantai asam amino mengalami proses denaturasi dan proses pelarutan sehingga akan berdampak pada terjadinya perubahan komposisi asam amino. Pada saat proses hidrolisis kolagen dengan cara asam juga dapat membuat asam amino hilang (Nasution et al., 2018). Menurut Muatatea et al. (2019) hingga saat ini, belum ada metode hidrolisis yang dapat sepenuhnya membebaskan semua asam amino dari substrat protein dan memulihkannya 100%. Asam amino yang merupakan komponen penyusun protein kolagen sangat peka terhadap aktivitas zat asam.

Pemberian zat asam dalam proses pembuatan gelatin menyebabkan terjadinya pemisahan struktur ikatan-ikatan dalam protein secara parsial hingga terbentuknya molekul kolagen yang bisa larut. Pada saat perlakuan asam menyebabkan fibril kolagen mengalami *swelling* (pembekakan) dan *cleavage* (pecah) menjadi satuan fibrilar yang dikenal sebagai makromolekul tropokolagen dan pada akhirnya mengalami proses denaturasi (Said et al., 2011).

Transglutaminase yang ditambahkan pada penelitian ini merupakan jenis enzim transferase yang memiliki nama sistematiknya protein-glutamin γ -glutamyltransferase (EC 2.3.2.13). Transglutaminase mengkatalisis reaksi transfer asil antara gugus γ -karboksiamida pada protein, ikatan peptida dan berbagai jenis asam amino primer. Pada gugus ϵ -amino asam amino berupa lisin berperan sebagai penerima asil yang nantinya membentuk polimer dan ikatan silang intramolekular atau intermolekular pada protein melalui pembentukan ikatan ϵ -(γ -glutamil)-lisin. Di mana ikatan tersebut akan mengakibatkan perubahan pada gugus ϵ -amino asam amino lisin dan akan menghasilkan amonia pada gugus karboksiamida di kelompok glutamin pada molekul protein. Air berperan penting sebagai penerima asil jika tidak ada gugus amino primer dan menghasilkan deaminasi gugus γ -karboksiamida kelompok glutamin membentuk asam glutamat (Sidauruk et al., 2017). Martins et al., (2014) menyatakan bahwa enzim Transglutaminase apabila digunakan untuk industri pangan akan meningkatkan kekuatan gel, stabilitas, viskositas, mengurangi sineresis (kehilangan air) dan meningkatkan sifat reologi. Penambahan Transglutaminase juga akan mengkatalis pembentukan ikatan silang (*cross-linking*) protein *myofibrillar* dan menghasilkan struktur jaringan yang lebih padat dan kompak (Nugroho et al., 2019). Dengan padat dan kompaknya jaringan tersebut maka membuat pori-pori film dari protein semakin kecil. Jika pori-pori semakin kecil maka akan menyebabkan daya serap air semakin rendah (Salimah et al., 2016). Semakin tinggi penambahan Transglutaminase maka pori-pori film gelatin akan semakin kecil.

Uji *Thin Layer Chromatography* (TLC) pada penelitian ini menggunakan film gelatin dari kulit ikan patin yang dilarutkan dalam air, di mana sebelumnya telah ditambahkan dengan Transglutaminase dan sorbitol. Saat proses pelarutan, film gelatin yang ditambahkan TGA sukar larut di dalam air, sehingga film tidak larut dengan sempurna, berbeda dengan film kontrol (tanpa TGA) yang mudah larut dalam air. Yi et al. (2006) menyatakan bahwa penambahan *plasticizer* seperti gliserol, sorbitol, sukrosa, polietilen glikol juga dapat meningkatkan sifat mekanik film atau gel Film Gelatin. Selain itu, penambahan Transglutaminase mikroba (MTGase) juga dapat meningkatkan sifat film gelatin, dengan cara menambah ikatan silang pada strukturnya. Hal ini sesuai dengan Tabel 4.2 yang menjelaskan bahwa ditemukan 18 asam amino pada GKIP kontrol, 8 asam amino pada GKIP TGA 0,01 dan tidak muncul asam amino pada GKIP TGA 0,05. Semakin tinggi konsentrasi TGA maka semakin sedikit asam amino yang muncul dikarenakan asam amino pada sampel dengan penambahan TGA akan saling berikatan membentuk polimer peptida dan saling berikatan satu sama lain yang akan mengakibatkan sampel tidak bisa melewati plat silika. Di mana plat silika ini hanya bisa dilewati oleh asam amino saja. Secara komposisi asam amino pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit ikan patin yang dihasilkan merupakan gelatin karena memiliki komposisi asam amino glisin, alanin dan prolin pada GKIP kontrol, namun untuk mengetahui asam amino pada GKIP TGA perlu dilakukan uji lanjutan lagi.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah:

1. Hasil pengujian FTIR pada gelatin kulit ikan patin (GKIP) didapatkan gugus fungsi yaitu O-H, N-H, C-H, C=O dan CN. Spektrum FTIR dari GKIP kontrol, TGA 0,01 dan TGA 0,05 memiliki daerah serapan pada Amida A, I, II, dan III. Sedangkan daerah serapan Amida B hanya terdapat pada GKIP TGA 0,05. Daerah serapan Amida I dan II pada GKIP TGA 0,01 memiliki amplitudo yang tinggi daripada sampel yang lain di mana hal ini berkaitan dengan jumlah crosslink intermolekuler yang lebih banyak atau dalam batas optimum, selain itu pada GKIP TGA 0,01 juga memiliki banyak puncak serapan yang menandakan banyaknya molekul yang ada di dalamnya.
2. GKIP kontrol mengandung jenis asam amino yang lebih banyak daripada GKIP dengan penambahan TGA. Asam amino yang terdapat pada GKIP kontrol diantaranya Lisin, Arginin, Asam aspartat, Valin, Sistein, Prolin, Serin, Glisin, Treonin, Alanin, Asam glutamat, Hidroksiprolin, Metionin, Tirosin, Glutamin, Triptofan, Fenilalanin dan Leusin. Asam amino pada GKIP TGA 0,01 adalah Lisin, Valin, Sistein, Prolin, Glisin, Treonin, Hidroksiprolin dan Glutamin, sedangkan pada gelatin TGA 0,05 tidak muncul asam amino dikarenakan asam amino telah membentuk polimer peptida yang saling berikatan satu sama lain sehingga tidak bisa melewati plat silika untuk diidentifikasi.

5.2 Saran

Saran dalam penelitian ini yaitu perlu diadakan penelitian lanjutan untuk mengetahui konsentrasi asam amino pada gelatin kulit ikan patin dengan penambahan TGA melalui prosedur dan analisis yang lebih detail sehingga dapat diketahui pengaruh adanya TGA pada sampel tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelhedi, O., Jridi, M., Nasri, R., Mora, L., Toldram F., Nasri, M. (2019). Rheological And Structural Properties Of *Hemiramphus Far* Skin Gelatin: Potential Use As An Active Fish Coating Agent. *Food Hydrocolloids*. Vol. 87 : 331–341.
- Abuine, R., A. U. Rathnayake, and H. G. Byun. (2019). Biological activity of peptides purified from fish skin hydrolysates. *Fisheries and Aquatic Sciences* 22:10. <https://doi.org/10.1186/s41240-019-0125-4>
- Afrizan, N., Zainuddin, C.D. Iskandar, D. Masyitha, Winaruddin, & U. Balqis. (2018). Struktur Histologi Kulit Belut Sawah (*Monopterus albus*). *JIMVET* 2(1):196-205.
- Agustin, A. T. (2013). Gelatin Ikan : Sumber, Komposisi Kimia Dan Potensi Pemanfaatannya. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*. Vol 1, No. 2.
- Ahmad, M. and Benjakul, S. (2011). Characteristics of Gelatin From the Skin of Unicorn Leatherjacket (*Aluterus monoceros*) as Influenced by Acid Pretreatment and Extraction Time. *Food Hydrocolloids*. Vol. 25 : 381-388.
- Akram, N., M. Saeed, and M. Usman. (2022). Role of Macrodiols in the Synthesis and Thermo-Mechanical Behavior of Anti-Tack Water Borne Polyurethane Dispersions. *Polymers*, 14, 572. <https://doi.org/10.3390/polym14030572>
- Althwab S., Carr T.P., Weller C.L., Dweikat I.M., And Schlegel V. (2015). Advances In Grain Sorghum And Its Coproducts As A Human Health.
- Amertaningtyas, D., Erwanto, Y., Bachruddin, Z., Jamhari. (2017). *Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectra, Amino Acid Profile And Microstructure Of Gelatin From Madura And Crossbres Ongole Cattle Hides*. The 7th International Seminar On Tropical Animal Production.
- Anam, Choirul. Sirojudin. (2007). Analisis Gugus Fungsi Pada Sampel Uji, Bensin Dan Spiritus Menggunakan Metode Spektroskopi Ft-Ir. *Berkala Fisika*. Vol 10 No.1. 79 – 85.
- Andakke, J.N., H.H.Y. Nainggolan, L.R.M.E. Parapat, I.F.M. Rumengan, E. Pandey, P. Suptijah, and A.H. Luntungan. (2020). Molecular Structure Of Gelatin Extracted From Parrot (*Scarus* sp.) FISH SCALES. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis* Volume 8 Nomor 1.
- Apri, N., Fahrizal, Novita, M. (2017). Isolation Of Fish Skin And Bone Gelatin From Tilapia (*Oreochromis Niloticus*): Response Surface Approach. *Iop Conf. Series: Materials Science And Engineering*. Vol. 334 : 1-8
- Aprizal, I. Mirdhayati, And Yendraliza. (2019). Physical And Chemical Characteristic Of Halal Gelatin Extracted From Buffalo Hide With Addition Of Pineapple Rind At Different Ratio. *Indonesian Journal Of Halal Research* 1(1): 1-4. Doi: 10.15575/Ijhar.4109
- Asih,I. D. (2018). Ekstraksi Gelatin Halal Dari Limbah Tulang Ikan Patin (*Pangasius Hypophthalmus*) Dengan Ultrasound Assisted Extraction. Departemen Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Baggio, B.S. Scopel, M. Rosseto, A. Dettmer, & C. Baldasso. (2021). Transglutaminase Effect on the Gelatin-Films Properties. *Research Square* <https://doi.org/10.1007/s00289-021-03858-9>

- Begum, M. A., N. J. Punom, M. E. Eshik, M. K. Begum, M. L. Saha, & M. S. Ragman. (2019). Proximate composition, fatty acid and amino acid profile of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878) cultured in Bangladesh. *Bioresearch Communications Volume 05, Issue 02*.
- Benjakul, S., K. Oungbho, W. Visessanguan, Y. Thiansilakul, and S. Roytrakul. (2009). Characteristics of gelatin from the skins of bigeye snapper, *Priacanthus tayenus* and *Priacanthus macracanthus*. *Food Chemistry* 116. 445–451.
- Bertani, F., N. Barbani, P. Giusti, G., Ciardelli. (2006). Transglutaminase Reactivity With Gelatine : Perspective Applications In Tissue Engineering. *Biotechnol Lett.* 28:697-702
- Berillis, P. (2015). Marine Collagen: Extraction And Applications. *Research Trends In Biochemistry, Molecular Biology And Microbiology*.
- Brown TM. and Krishnamurthy K. Histology, Dermis. [Updated 2021 May 10]. In: Stat Pearls [Internet]. Treasure Island (FL): Stat Pearls Publishing; 2021 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535346/>
- Burhanuddin, A.I. (2012). *Ikhtologi Ikan Dan Segala Aspek Kehidupannya*. Sleman : Deepublish
- Campiglio, C.E., Negrini, N.C., Fare, S., Draghi, L., (2019). Cross-Linking Strategies For Electrospun Gelatin Scaffold. *Materials*, 12, 2476
- Chaplin, M. (2005). Gelatin. [www//Isbuc.Ac.Uk](http://www.isbuc.ac.uk)
- Cheow, S.C., Norizah, M.S., Kyaw, Z.Y. And Howell, N.K. (2006). Preparation And Characterization Of Gelatins From The Skins Of Sin Craker (*Johnius Dussumieri*) And Shortfin Scad (*Decapterus Macrosoma*). *Food Chemistry (In Press)*
- Coskum, O. (2016). Separation techniques: Chromatography. *North Clin Istanbul*;3(2):156–60. doi: 10.14744/nci.2016.32757.
- Dachriyanus. (2004). *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskop*. Lembaga Pengembangan Teknologi Infomasi dan Komunikasi LPTIK Universitas Andalas.
- Derkach, S. R., Kuchina, Y. A., Baryshnikov, A. V., Kolotova, D. S., & Voron'ko, N. G. (2019). Tailoring Cod Gelatin Structure and Physical Properties with Acid and Alkaline Extraction. *Polymers*, 11(10), 1724. doi:10.3390/polym11101724
- Data Kementerian Kelautan dan Perikanan (2020). <https://databoks.katadata.co.id/datapublish/2021/10/18/konsumsi-ikan-nasional-naik-347-pada-2020>
- Elliott, D.G. (2011). *The skin: the many functions of fish integument*. USA: Elsevier.
- Eroschenko, V. P. (2010). *Atlas Histologi Di Fiore Dengan Korelasi Fungsional*, Egc, Jakarta.
- Erwanto, Y., M. Z. Abidin, E. Y. P. Muslim, S. Sugiyono, & A. Rohman. (2014). Identification Of Pork Contamination In Meatballs Of Indonesia Local Market 56 Using Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (Pcr-Rflp) Analysis. *Asian Australasian J. Anim. Sci.* 27:1487-1492.
- Fadlelmoula, A., Pinho, D., Carvalho, V.H., Catarino, S.O., Minas, G. (2022). *Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy to Analyse Human Blood over the Last 20 Years: A Review towards Lab-on-a-Chip Devices*. *Micromachines* 2022, 13, 187. <https://doi.org/10.3390/mi130201>

- Fauziyah, B. (2012). Analisis Kualitatif Fenilalanin Secara Chromatography Kertas Dan Chromatography Lapis Tipis (Studi Awal Pengembangan Metode Deteksi Penyakit Phenylketonuria). SAINSTIS. Volume 1, Nomor 2.
- Gauza-Włodarczyk, Marlena; Kubisz, Leszek; Włodarczyk, Dariusz (2017). Amino Acid Composition in Determination of Collagen Origin and Assessment of Physical Factors Effects. International Journal of Biological Macromolecules S0141813017315787–doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.07.013
- Gelatin Manufacturer Institute Of America (GMIA). (2012). Gelatin Hand Book. America
- Genten, F., Terwinghe, E., Danguy, A. (2009). Atlas Of Fish Histology. Science Publishers
- Ghufron, M. Dan H.K. Kordi. (2012). Akuakultur Di Perkotaan. Bandung: Cv Nuansa Aulia, Hlm. 268
- Giri, A., Nasu, M And Ohshima, T. (2012). Bioactive Properties Of Japanese Fermented Fish Paste, Fish Miso, Using Koji Inoculated With *Aspergillusoryzae*. International Journal Of Nutrition And Food Science. Vol.1(1):13-22.
- Gómez-Guillén, M.C., Turnay, J., ern nde - a , M.D., Ulmo, N., Lizarbe, M.A., & Montero, P. (2002). Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. Food Hydrocolloid, 16, 25-34
- Grobben, A.H.; P.J. Steele; R.A. Somerville; And D.M. Taylor. (2004). Inactivation Of The *Bovine-Spongiform-Encephalopathy* (BSE) Agent By The Acid And Alkali Processes Used The Manufacture Of Bone Gelatin. Biotechnology And Applied Biochemistry, 39: 329 – 338.
- Gudmundsson, M. (2002). Rheological properties of fish gelatin. Journal of Food Science 67: 2172-2176.
- Gunawan, F., P. Suptijah Dan Uju. (2017). Ekstraksi Dan Karakterisasi Gelatin Kulit Ikan Tenggiri (*Scomberomorus Commersonii*) Dari Provinsi Kepulauan Bangka Belitung. JPHPI 2017, Volume 20 Nomor 3.
- Hartina, M.R.U., A.Y.P. Kuan, P. Wolyna, J.S. Lee, And M.N.N.Q. Izzreen. (2017). Effects Of Different Enzymatic Treatment On The Properties Of Hydrolyzed Collagen From Pangasius Fish (*Pangasius Hypophthalmus*). International Conference On Food Science And Nutrition 2017.
- Hasdar, M., Dan M.J. Randi. (2020). Comparative Quality Of Proteins And Morphological Structures Of Gelatin From Sheepskin With Acid And Alkaline Treatment. Food Science And Technology Journal. Vol. 3 No. 2.
- Hastuti, D. Dan I. Sumpe. (2007). Pengenalan Dan Proses Pembuatan Gelatin. Mediagro Vol. 3. No. 1, 2007: Hal 39-48.
- Hatchard, J. (2021). Keto Living LLC. <https://www.ruled.me/what-is-collagen/>
- Hidayati, D., M.U. Alfarisy, Khairunissa, F.Kurniawan, E.N. Prasetyo, A. Luqman, and N.N. Sa'adah. (2021). Histological structure of striped catfish (*Pangasius Hypophthalmus*) skin from different body size (age) and its relation to the quality of gelatin based on the melting point. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 718 doi:10.1088/1755-1315/718/1/012075.
- Hidayati, S., A.S. Zuidar dan A. Ardiani. (2015). Aplikasi Sorbitol Pada Produksi Biodegradable Film Dari Nata De Cassava. Reaktor, Vol. 15 No. 3, Hal. 196-204.

- Huang, T., Tu, Z., Shangguan, X., Sha, X., Wang, H, M Zhang, L., Bansal, N. (2019). Fish Gelatin Modifications: A Comprehensive Review. Trends In Food Science And Technology. Vol. 86 : 260–269
- Jamili S., Sadeghi H., Rezayat S.M., Attar H., and Kaymaram F. (2019). Extraction and evaluation of gelatin from yellow fin tuna (*Thunnus albacares*) skin and prospect as an alternative to mammalian gelatin. Iranian Journal of Fisheries Sciences 18(4) 903-914, DOI: 10.22092/ijfs.2019.119072.
- Jongjareonrak, A., Benjakul, S., Visessanguan, W., Tanaka, M. (2006). Skin Gelatin From Big Eye Snapper And Brownstripe Red Snapper: Chemical Compositions And Effect Of Microbial Transglutaminase On Gel Properties. Food Hydrocolloids. Vol. 20(8) : 1216–1222.
- Kamer, D.D.A., Palabiyik, I., Isik, N.O., Akyuz, F., Demirci, A.S., Gumus, T. (2019). Effect Of Confectionery Solutes On The Rheological Properties Of Fish (*Oncorhynchus Mykiss*) Gelatin. Lwt-Food And Public Health. Vol. 101 : 499-505
- Khirzin, M.H., S. Ton, Dan Fatkhurrohman. (2019). Ekstraksi Dan Karakterisasi Gelatin Tulang Itik Menggunakan Metode Ekstraksi Asam. Jurnal Sain Peternakan Indonesia. Volume 14 Nomor 2.
- Komariyah Dan A. I. Setiawan. (2009). Pengaruh Penambahai Berbagai Dosis Minyak Ikan Yang Berbeda Pada Pakan Buatan Terhadap Pertumbuhan Benih Ikan Patin (*Pangasius Pangasius*). Pena Akuatika Volume 1 No 1.
- Kumar, D. P., Chandra, M.V., Elavarasan, K., Shamasundar, B.A. (2018). Structural Properties Of Gelatin Extracted From Croaker Fish (*Johnius Sp*) Skin Waste. International Journal Of Food Properties. Vol. 20(00) : S2612–S2625.
- Kuwahara K, Yang Z, Slack Gc, Nimni Me, Han B. (2010). Cell Delivery Using Aninjectable And Adhesive Transglutaminase-Gelatin Gel. Tissue Engineering Part C16 (4):609–618
- Lingegowda, D.C., J. K. Kumar, A. G. D. Prasad., M. Zarei, and S. Gopal. (2012). Ftir Spectroscopic Studies On Cleome Gynandra – Comparative Analysis Of Functional Group Before And After Extraction. ROMANIAN J. BIOPHYS., Vol. 22, Nos 3–4, P. 137–143.
- Li, Qi; Chen, Jia; Huyan, Zongyao; Kou, Yuxing; Xu, Lirong; Yu, Xiuzhu; Gao, Jin-Ming (2018). Application of Fourier Transform Infrared Spectroscopy for the Quality and Safety Analysis of Fats and Oils: A Review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1–57. doi:10.1080/10408398.2018.1500441
- Mahmud, M.K. Hermana. Zulfianto, N.A. Rozanna, R. Apriyantono, Ngadiarti, I. Hartati, B. Bernandus. Tinexcell. (2009). "Tabel Komposisi Pangan Indonesia". Pt. Flex Media Komputindo. Jakarta.
- Martins IM, Matos M, Costa R, Silva F, Pascoal A, Estevinho LM., Choupina AB. (2014). Transglutaminases: recent achievement and new sources. Applied Microbiology and Biotechnology. 98: 6957-6964.
- Maryam, N. Effendi, dan Kasmah. (2019). Produksi dan Karakterisasi Gelatin dari Limbah Tulang Ayam dengan Menggunakan Spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*). Majalah Farmaseutik. Vol. 15 No. 2: 96-104.
- Mayasopha A.Y., F.Herfianita, Dan A. Sutrisna. (2015). Aplikasi Enzim Transglutaminase Pada Produk Pangan : Kajian Pustaka. Jurnal Pangan Dan Agroindustri Vol. 3 No 3

P.1145-1151.

- Mescher, A.L. (2016). *Junqueira's Basic Histology Text And Atlas*. New York : Mcgraw-Hill Education.
- Meyer, V.R. (2009). *Practical High-Performance Liquid Chromatography*. London : John Wiley And Son
- Michael J. L. and Shamim S.M. (2021). *Biochemistry, Essential Amino Acids*. Stat Pearls Publishing LLC. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557845/>
- Mirzae, M. (2011). *Microbial Transglutaminase Application In Food Industry*. Islamic Azad University Of Shahr-E-Qods Branch : Iran
- Motoki, M., Seguro, K., Nio, N., & Takinami, K. (1986). Glutaminespecific Deamidation Of Jcasein By Transglutaminase. *Agricultural And Biological Chemistry*, 50, 3025–3030.
- Muatatea, G., E. L. Ungureanu, and E. Lorga. (2019). Protein Acidic Hydrolysis For Amino Acids Analysis In Food - Progress Over Time: A Short Review. *Journal of Hygienic Engineering and Design*. UDC 577.388:542.949.41]:641.12.
- Muchamad, L.S. (2019). *Optimasi Metode Ekstraksi Dan Skrining Antioksidan Dalam Ekstrak Ikan Gabus (Channa Striata Bloch) Berdasarkan Profil Asam Amino*. Thesis. Its : Surabaya.
- Muyonga, J. H., Cole, C. G. B. And Duodu, K. G. (2004). *Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopic Study Of Acid Soluble Collagen And Gelatin From Skins And Bones Of Young And Adult Nile Perch (Lates Niloticus)*. *Food Chemistry*. Vol. 86(3) : 325–332
- Nagarajan, M., Benjakul, S., Prodpran, T., Songtipya, P., & Kishimura, H. (2012). Characteristics and functional properties of gelatin from splendid squid (*Loligo formosana*) skin as affected by extraction temperatures. *Food Hydrocolloids*, 29(2), 389–397. doi:10.1016/j.foodhyd.2012.04.001
- Nasution, A. Y., Harmita, dan Y. Harahap. (2018). Karakterisasi Gelatin Hasil Ekstraksi dari Kulit Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) dengan Proses Asam dan Basa. *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)*, 5(3), 142 - 151.
- Nelson, J.S. (2006). *Fishes of the world*. Fourth Edition. John Wiley and Sons, Inc. Canada.
- Nielsen, Gs Et al. (1995). Impact Of Salt, Phosphate And Temperature On The Effect Of A Transglutaminase (F Xiiiia) On The Texture Of Restructured Meat. *Meat Science*. 41 : 293-299.
- Nining, N. (2020). Pemanfaatan Kolagen Laut Dalam Sistem Penghantaran Obat. *Majalah Farmasetika*, 5 (5), 245-256
- Nugroho, H. C., U. Amalia, dan L. Rianingsih. (2019). Karakteristik Fisiko Kimia Bakso Ikan Rucuh Dengan Penambahan Transglutaminase Pada Konsentrasi Yang Berbeda. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan Volume 1 No 2*.
- Nurlaela, N., L. Nurhayati, Dan E. Lindawati. (2021). Sifat Fisikokimia Gelatin Yang Diisolasi Dari Tulang Ikan Kembung (*Rasterelliger sp.*) Menggunakan Beberapa Jenis Larutan Asam. *Jurnal Litbang Industri - Vol. 11 No. 1, Juni 2021* : 49 – 58.
- Okomoda, T.V., I.C.C. Koh, A.Hassan, T.Amornsakun Dan S.M.Shahreza. (2018). Morphological Characterization Of The Progenies Of Pure And Reciprocal Crosses Of *Pangasianodon Hypophthalmus* (Sauvage, 1878) and *Clarias Gariepinus* (Burchell,

- 1822). Scientific Reports 8:3827. Doi:10.1038/S41598-018-22149-4
- Oktaviani, I.R.Z., F. Perdana, Dan A.Y.Nasution. (2017). Perbandingan Sifat Gelatin Yang Berasal Dari Kulit Ikan Patin (*Pangasius Hypophthalmus*) Dan Gelatin Yang Berasal Dari Kulit Ikan Komersil. Jops-Volume I
- Original content © University of Colorado at Boulder, Department of Chemistry and Biochemistry. The information on these pages is available for academic use without restriction. <https://www.orgchemboulder.com/Technique/Procedures/TLC/TLC.shtml>
- Peng, Z. Dan R. Joe. (2005). Effects Of Alkaline And Acid Pretreatments On Alaska Pollock Skin Gelatin Extraction. Journal Of Food Science Vol. 70. Doi 10.1111/J.1365-2621.2005.Tb11435.X
- Peng, L., H. Wang, H. Dai, Y. Fu, L. Ma, H. Zhu. (2021). Preparation and characterization of gelatin films by transglutaminase cross-linking combined with ethanol precipitation or Hofmeister effect Food Hydrocolloids, 113 Article 106421.
- Peranginangin, R., Mulyasari, A. Sari., dan Tazwir. (2005). Karakteristik Mutu Gelatin yang diproduksi dari Tulang Ikan Patin (*Pangasius Hypophthalmus*) secara Ekstraksi Asam. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia. Volume 11, Nomor 4, Tahun 2005.
- Puspawati, N.M., I. A. G. Widihati, dan I. N. Widana. (2017). Komposisi Asam Amino Dan Pola Pita Protein Gelatin Halal Dari Kulit Ayam Broiler. Jurnal Kimia 11 (1): 36-42.
- Pratama,R.I., I.Rostini, And E. Rochima. (2017). Amino Acid Profile And Volatile Flavour Compounds Of Raw And Steamed Patin Catfish (*Pangasius Hypophthalmus*) And Narrow-Barred Spanish Mackerel (*Scomberomorus Commerson*). Iop Conf. Series: Earth And Environmental Science 116 (2018) 012056 Doi :10.1088/1755-1315/116/1/012056
- Rahmawati, A., B. Kuswandi, dan Y. Retnaningtyas. (2015). Deteksi Gelatin Babi pada Sampel Permen Lunak Jelly Menggunakan Metode *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) dan Kemometri. e-Jurnal Pustaka Kesehatan, vol. 3 (no. 2).
- Ramakrishnan, V. Ghaly, A.E And Budge, S.M. (2013). "Enzymatic Extraction Of Asam Amino Acids From Fish Water For Possible Use As A Substrate For Production O Jadomyci". Journal Of Enzyme Engineering, VI. 2(20)
- Ratnasari, I.,Yuwono, S. S., Nusyam, H. and Widjanarko, S. B. (2013). Extraction and characterization of gelatin from different fresh water fishes as alternative sources of gelatin. International Food Research Journal 20(6): 3085-3091.
- Ray, S. Ahmed, M.I.Khatun, M.M. Sayeed, A.B. Shah, M.S And Sarower, M.G. (2014). Antioxidant Potential And Nutrient Content Of Selected Small Indigenous Species Of Fish. Pharmacology Online, Vol. 2:48-53
- REACH Devices. (2010-2017). Thin Layer Chromatography Of Aminoacids And Short Peptides. USA. http://www.reachdevices.com/TLC_aminoacids.html
- Reilly, D.M. And J. Lozano. (2021). Skin Collagen Through The Lifestages: Importance For Skin Health And Beauty. Plastic And Aesthetic Research ;8:2 Doi: 10.20517/2347-9264.2020.153.
- Rosamah, E. (2019). Kromatografi Lapis Tipis Metode Sederhana Dalam Analisis Kimia Tumbuhan Berkayu. Samarinda : Mulawarman University Press.
- Sabaghi, M., C. Joly, I. Adt, K. Ozturk, A. Cottaz, P.Degraeve. (2022). Effect of crosslinking

by microbial transglutaminase of gelatin films on lysozyme kinetics of release in food simulants. Food Bioscience. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101816>

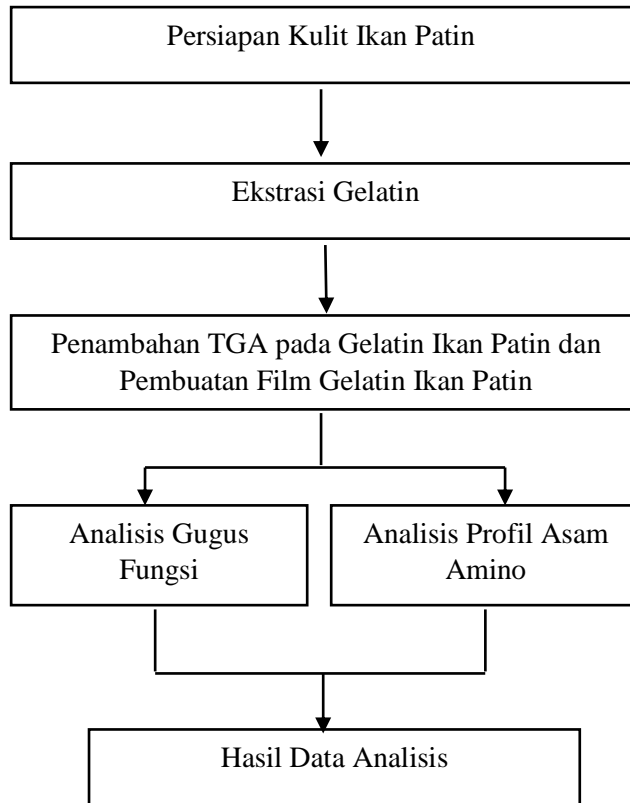
- Salman, Md., S.Suraiya, P. Das, M.A.Islam, and M. Haq. (2021). Variation in the Proximate Composition, Amino Acids Content and Fatty Acids of Thai Pangus (*Pangasianodon hypophthalmus*) Fish Depending on Size. Asian Food Science Journal 20(6): 35-49.
- Sari, N. W, M. Y. Fajri Dan Anjas W. (2018). Analisis Fitokimia Dan Gugus Fungsi Dari Ekstrak Etanol Pisang Goroho Merah (*Musa Acuminata* (L). IJOB Volume 2, Nomor 1
- Said, M. I. (2020). Role And Function Of Gelatin In The Development Of The Food And Non-Food Industry : A review. The 2nd International Conference Of Animal Science And Technology. Iop Conf. Series: Earth And Environmental Science 492.
- Said, M.I., S. Triatmojo, D. Erwanto, Dan A. Fudholi. (2011). Karakteristik Gelatin Kulit Kambing Yang Diproduksi Melalui Proses Asam Dan Basa. Agritech, Vol. 31, No. 3.
- Salimah, T., W. F. Ma'ruh, dan Romadhon. (2016). Pengaruh Transglutaminase Terhadap Mutu Edible Film Gelatin Kulit Ikan Kakap Putih (*Lates calcalifer*). J. Peng. & Biotek. Hasil Pi. Vol. 5 No. 1. Online
<http://www.ejournals1.undip.ac.id/index.php/jpbhp>
- Salman. Md., S. Suraiya, P. Das, M. A. Islam, and M. Haq. (2021). Variation in the Proximate Composition, Amino Acids Content and Fatty Acids of Thai Pangus (*Pangasianodon hypophthalmus*) Fish Depending on Size. Asian Food Science Journal. 20(6): 35-49.
- Savitri, A., Q. Hasani Dan Tarsim. (2015). Pertumbuhan Ikan Patin Siam (*Pangasianodon Hypophthalmus*) Yang Dipelihara Dengan Sistem Bioflok Pada Feeding Rate Yang Berbeda. E-Jurnal Rekrayasa Dan Teknologi Budidaya Perairan Volume Iv No 1.
- Sen, S., S. Sarkar, P. Kundu, and S. Laskar. (20 12). Separation of Amino Acids Based on *Thin-Layer Chromatography* by a Novel Quinazoline Based Anti-Microbial Agent. American Journal of Analytical Chemistry, 3, 669-674.
- Siburian, W.Z., E.Rochima, Y.Andriani And D.Praseptiangga. (2020). Fish Gelatin (Definition, Manufacture, Analysis Of Quality Characteristics, And Application). International Journal Of Fisheries And Aquatic Studies; 8(4): 90-95
- Sidauruk, S. W., T. Nurhayati, P. Suptijah, U. T. Laksono. (2017). Karakterisasi Enzim Transglutaminase Endogenous Dari Hati Ikan Cunang (*Congresox talabon*). JPHPI 2017, Volume 20 Nomor 3.
- Silva, R.S.G., S.F. Bandeira and L.A.A. Pinto. (2014). Characteristics and chemical composition of skins gelatin from cobia (*Rachycentron canadum*). Food Science and Technology 57, 580-585.
- Singh, P., Benjakul, S., Maqsood, S., & Kishimura, H. (2011). Isolation and characterisation of collagen extracted from the skin of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). Food Chemistry, 124, 97-105.
- Singh, P. and S. Benjakul. (2017). Extraction and characterisation of gelatin from the skin of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) and studies on its colour improvement. African Journal of Biotechnology. Vol. 16(1), pp. 1-9. DOI: 10.5897/AJB2013.13121.
- Sinthusamran, S., Benjakul, S. And Kishimura, H. (2015). Molecular Characteristics And Properties Of Gelatin From Skin Of Seabass With Different Sizes. International Journal

- Song, H., M. Meng, X. Cheng, B. Li, and C. Wang. (2017). The effect of collagen hydrolysates from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin on UV-induced photoaging in mice: molecular weight affects skin repair. *Food Funct.* 8, 1538–1546. DOI: 10.1039/c6fo01397j
- Sugiharsono, A. C., I. D. A. R. Dewanti, dan E. Sulistyani. (2014). Analisis Profil Protein Ekstrak Biji Mimba (*Azadirachta Indica A. Juzz*) dengan Pemanasan Basah sebelum Ekstraksi melalui Metode SDS-PAGE. *Artikel Ilmiah*. Hal: 1-7. Metode SDSPAGE. *Artikel Ilmiah*. Hal: 1-7
- Suhara, A. (2019). Teknik Budidaya Pembesaran Dan Pemilihan Bibit Ikan Patin (Studi Kasus Di Lahan Luas Desa Mekar Mulya, Kec. Teluk Jambe Barat, Kab. Karawang). *Jurnal Buana Pengabdian* Vol. 1 No 2.
- Sun, L., Du, H., Wen, J., Zhong, C., Liu, G., Miao, S., & Cao, M. (2021). Physicochemical properties of acid-soluble collagens from different tissues of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). *International Journal of Food Science & Technology*, 56(10), 5371–5381. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15172>
- Suparno, Rikastuti, Indratiningsih Dan Triatmojo. (2001). Diktat Kuliah Dasar Teknologi Hasil Ternak. Jurusan Peternakan. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Suptijah, P., D. Indriani, dan S. E. Wardoyo. (2018). Isolasi Dan Karakterisasi Kolagen Dari Kulit Ikan Patin (*Pangasius* sp.). *Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa* Vol. 8, No.1.
- Suryati, Nasrul, Z.A., Meriatna Dan Suryani. (2015). Pembuatan Dan Karakterisasi Gelatin Dari Ceker Ayam Dengan Proses Hidrolisis. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal* 4 : 2 (November 2015) 66-79.
- Tu, C.Z., T. Huang, H. Wang, X. M. Shi, X.G. Huang, Z.Z. Man, and D.J. Li. (2015) “Physicochemical properties of gelatin from bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*) scales by ultrasoundassisted extraction,” *J. Food Sci. Technol.*, vol. 52, no. 4, pp. 2166–2174.
- Triastuti, W. E., E. Agustiani, A. Surono, R. D. Cahyasani and Avidata. (2017). The Influence of Solvent Concentration and Long Soaking to Quality Gelatin Fish Scales Red Snapper (*Lutjanus campechanus* sp.). *Journal of Food Security and Agriculture*, Vol. 1 No. 2.
- Vijayan, D. K. Sreerekha, P. R., Tejpal, C.S., Asha, K.K., Suseela Mathew, Ravishankar, C.N. And Anandan, R. (2018) Extraction And Characterization Of Acid Soluble Collagen (Asc) From Airbladder Of Striped Cat Fish (*Pangasius Hypophthalmus*). *International Journal Of Fisheries And Aquatic Studies*. 6(4): 310-318.
- Voutila, L. (2009). Properties of intramuscular connective tissue in pork and poultry with reference to weakening of structure (dissertation). EKT series 1445. University of Helsinki. Department of Food Technology, 94 pp.
- Wahyuningtyas, M., N. Jadid, P. Burhan, and L. Atmaja. (2019). Physical and Chemical Properties of Gelatin from Red Snapper Scales : Temperature Effects. *JURNAL TEKNIK ITS* Vol. 8, No. 2.
- Wang, Yuemeng; Liu, Anjun; Ye, Ran; Wang, Wenhong; Li, Xin (2015). Transglutaminase-induced crosslinking of gelatin–calcium carbonate composite films. *Food Chemistry*, 166, 414–422. doi:10.1016/j.foodchem.2014.06.062

- Wardani, D. P., Suharyadi, E., & Abraha, K. (2012). Kajian Awal Identifikasi Perbedaan Gelatin Sapi Dan Gelatin Babi Menggunakan Biosensor Berbasis Surface Plasmon Resonance (SPR). Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Wulandari, L. (2006). Evaluasi Lempeng HPTLC Daur Ulang Untuk Analisis Kualitatif Dan Kuantitatif. *Indo. J. Chem.*, 2006, 6 (3), 338 – 340.
- Wulandari, L. (2011). *Kromatografi Lapis Tipis*. Jember : Pt. Taman Kampus Presindo. Cetakan Pertama.
- Wulandari, D., S. Triatmojo, Y. Erwanto, dan Y. Pranoto. (2016). Physicochemical Properties and Amino Acid and Functional Group Profiles of Gelatin Extracted from Bovine Split Hide Cured by Acid. *Pakistan Journal of Nutrition* 15 (7): 655-661.
- Wulandari, D., Erwanto, Y., Pranoto, Y., Rusman & Yuliatm, R., (2019). Improvement Of Bovine Split Hide Gelatin Quality By Addition Of Soy Protein Isolate Using Transglutaminase Enzyme. *Tropical Animal Science Journal*. 42(3):237-244.
- Xu, J., L. Yang, Y. Nie, M. Yang, W. Wu, Z. Wang, X. Wang, J. Zhong. (2022). Effect of Transglutaminase Crosslinking on the Structural, Physicochemical, Functional, and Emulsion Stabilization Properties of Three Types of Gelatins. *LWT*. Volume 163. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113543>
- Yang, Y.L., E. Guan, M. Li, N. Li, K. Bian, T. Wang, C. Lu, M. Chen, and F. Xu. (2022). Effect of Transglutaminase on the Quality and Protein Characteristics of Aleurone-Riched Fine Dried Noodles. *LWT* Volume 154, 112584. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S00>
- Yayli, D., S. Turhan and F.T. Saricaoglu. (2017). Edible Packaging Film Derived from Mechanically Deboned Chicken Meat Proteins: Effect of Transglutaminase on Physicochemical Properties. *Korean J. Food Sci. An.* 37(5): 635-645. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2017.37.5.635>
- Yi Jb, Kim Yt, Bae Hj, Whiteside Ws, Park Hj. (2006). Influence Of Transglutaminase-Induced Cross-Linking On Properties Of Fish Gelatin Film. *Journal Of Food Science* Vol 71, 9.
- Yildirim, M., Hettiarachchyn, S. And K. Alapathy, U. (1996). Properties Of Biopolymers From Cross-Linking Whey Protein Isolate And Soybean Ls Globulin. *JFS6 L* (6), 1129
- Yuswadinata, N. S. dan N. Wathoni. (2021). Tinjauan Bentuk Sediaan Farmasi Mengandung Peptida. *Majalah Farmasetika*, 6 (1), 121 – 128
- Zhao, D., Y. Wang, Q. Xin, Y. Miao, X. Zeng, X. Zeng, K. Shan, J. Wu, and C. Li. (2022). Influence of Transglutaminase Treatment on the Digestibility of Pork Longissimus Dorsi Proteins. *LWT-Food Science and Technology* 161. 113378. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113378>

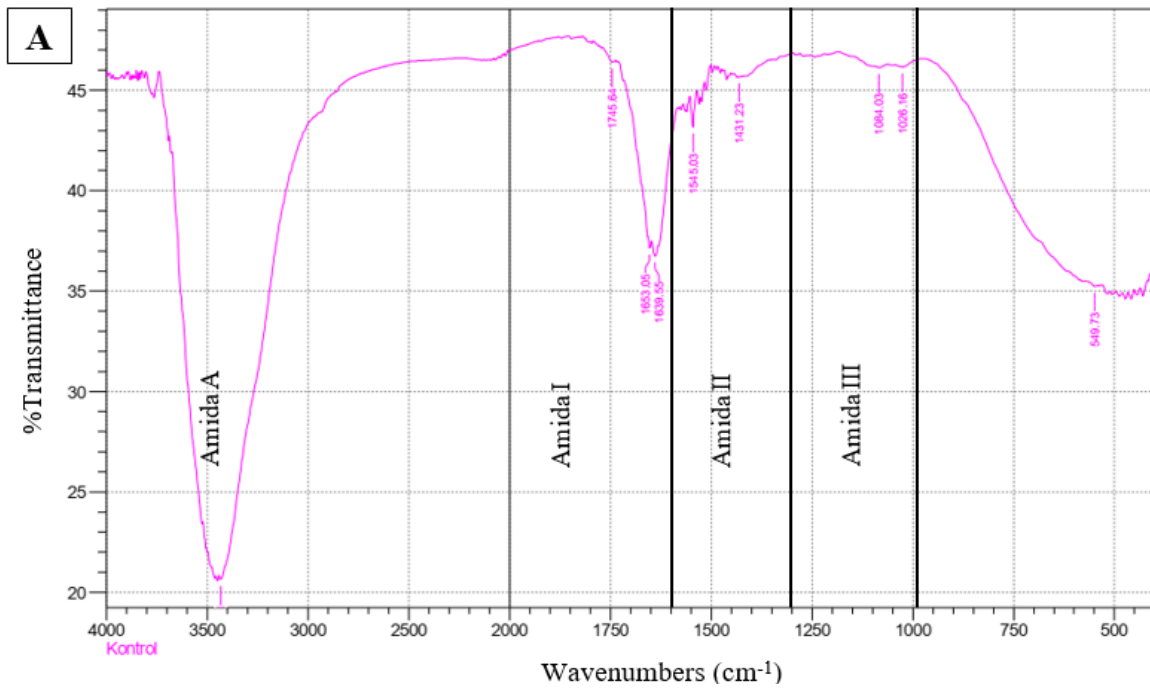
LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja



Lampiran 2. Karakteristik Gugus Fungsi pada GKIP dengan Menggunakan Spektrofotometer FTIR

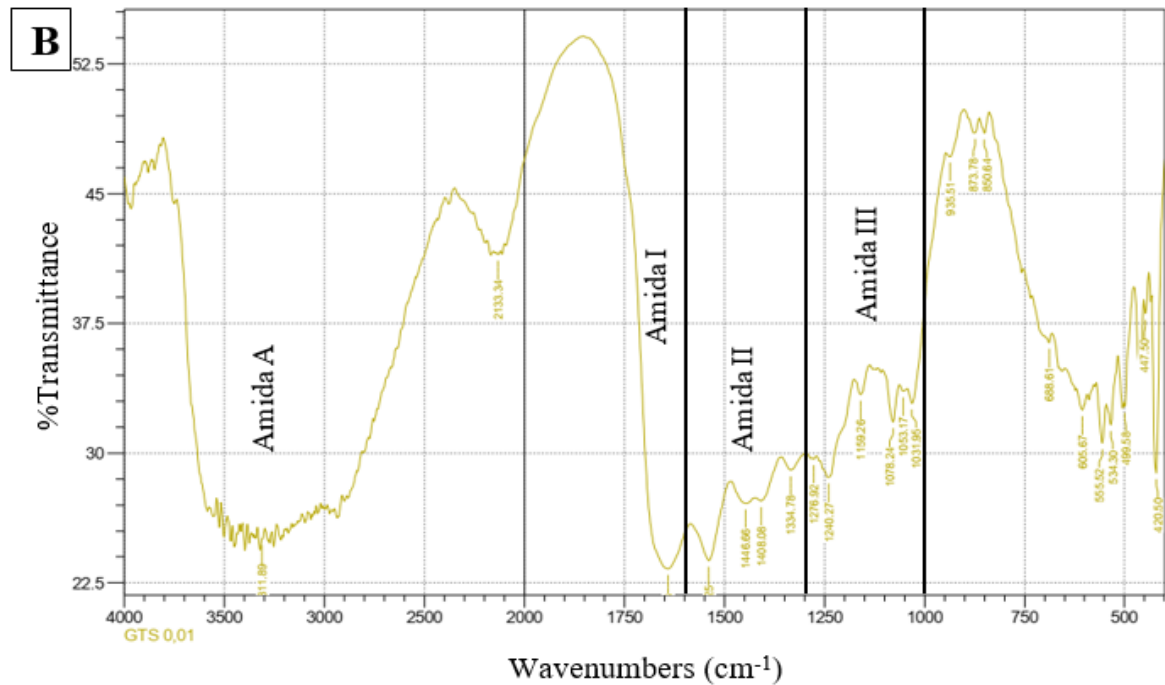
- Spektrum hasil pengukuran GKIP kontrol



Perlakuan	Kisaran Serapan Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Identifikasi Senyawa	Puncak	Keterangan Gugus Fungsi	Referensi
GKIP Kontrol (0 TGA)	3200-3600	Amida A	3433.41	Vibrasi peregangan N-H bebas	Nagarajan et al., 2012; Muyonga et al., 2004; Ahmad & Benjakul, 2011
	2915-1935	Amida B	-	-	Muyonga et al., 2004; Derkach et al., 2019; Andakke et al., 2020
	1600-1700	Amida I	1745,64	Peregangan ikatan karbonil C=O	Roberto et al., 2014; Muyonga et al., 2004; Fadlelmoula et al., 2022
			1653.05	Peregangan C=O atau ikatan hidrogen yang berpasangan dengan COO-	Jamili et al., 2019
			1639.55	Regangan C=O dan O-H yang berpasangan dengan gugus karboksil (COOH)	Wulandari et al., 2016

1335-1661	Amida II	1545.03	Regangan CN dan deformasi NH dari kelompok peptida	Ahmad & Benjakul, 2011; Muyonga et al., 2004
		1431.23	Adanya gugus C-H	Wulandari et al., 2016
1000-1300	Amida III	1084.03 1026.16	Vibrasi peregangan C-O dari rantai peptida pendek	Nagarajan et al., 2012; Ahmad & Benjakul, 2011; Muyonga et al., 2004

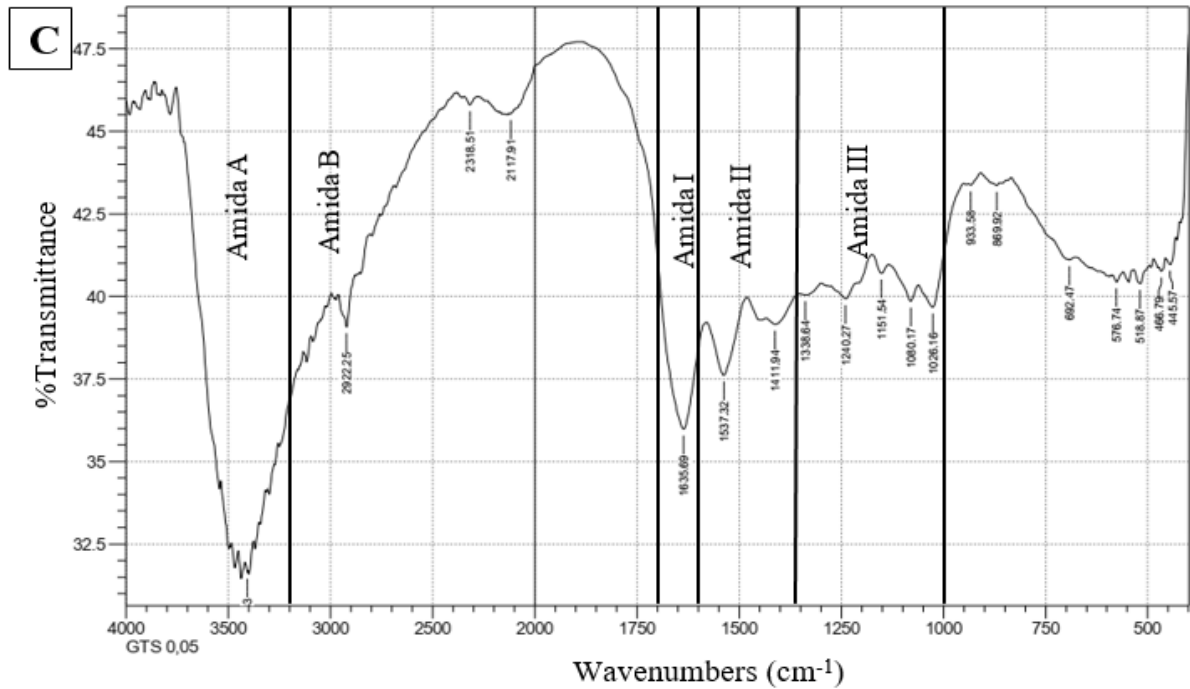
- Spektrum hasil pengukuran GKIP TGA 0,01



Perlakuan	Kisaran Serapan Bilangan Gelombang (cm-1)	Identifikasi Senyawa	Puncak	Keterangan Gugus Fungsi	Referensi
GKIP TGA 0,01	3200-3600	Amida A	3311.89	Vibrasi regangan pada gugus O-H	Muyonga et al., 2004; Ahmad & Benjakul, 2011; Arkam et al., 2022

	2915-1935	Amida B	-	-	Muyonga et al., 2004; Derkach et al., 2019; Andakke et al., 2020
	1600-1700	Amida I	1641.48	Regangan C=O dan O-H yang berpasangan dengan gugus karboksil (COOH)	Muyonga et al., 2004; Fadlemoula et al, 2022; Wulandari et al., 2016
	1661-1335	Amida II	1539.25	NH bending, ditambah dengan peregangan CN, bending CH2	Jamili et al., 2019; Muyonga et al., 2004; Ahmad & Benjakul, 2011; Andakke et al., 2020
1446.66					
1408.08					
1334.78					
	1000-1300	Amida III	1276.92	Regangan CN	Muyonga et al., 2004; Roberto et al., 2014
1240.27			NH bending	Jamili et al., 2019	
1159.26			Vibrasi peregangan C-O dari rantai peptida pendek	Ahmad & Benjakul, 2011	
1078.24			Vibrasi peregangan asimetris dari gugus fosfat protein yang digabungkan dengan -CH2 dari reaidu asam amino	Ahmad & Benjakul, 2011	
1053.17 1031.95			Vibrasi peregangan C-O dari rantai peptida pendek	Nagarajan et al., 2012; Ahmad & Benjakul, 2011	

- Spektrum hasil pengukuran GKIP TGA 0,05








Perlakuan	Kisaran Serapan Bilangan Gelombang (cm-1)	Identifikasi Senyawa	Puncak	Keterangan Gugus Fungsi	Referensi
GKIP TGA 0,05	3200-3600	Amida A	3408.33	Vibrasi peregangan N-H bebas	Muyonga et al., 2004; Ahmad & Benjakul, 2011; Nagarajan et al., 2012
	2915-2935	Amida B	2922.25	Vibrasi peregangan asimetris C-H dari -CH ₂	Nagarajan et al., 2012; Muyonga et al., 2004; Derkach et al., 2019; Andakke et al., 2020
	1600-1700	Amida I	1635.69	Regangan C=O dan O-H yang berpasangan dengan gugus karboksil (COOH)	Wulandari et al., 2016; Muyonga et al., 2004; Fadlelmoula et al., 2022





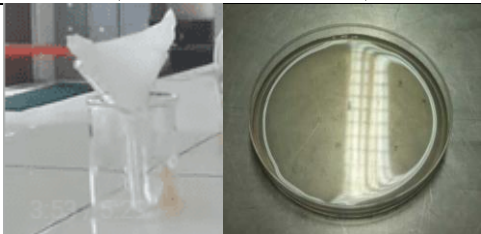

	1335-1661	Amida II	1537.32 1411.94	NH bending, ditambah dengan peregangan CN, bending CH ₂	Jamili et al., 2019; Muyonga et al., 2004; Andakke et al., 2020; Ahmad & Benjakul, 2011
	1000-1300	Amida III	1240.27	NH ₂ bending, Regangan CN	Andakke et al., 2020; Muyonga et al., 2004
1151.54			Vibrasi peregangan C-O dari rantai peptida pendek	Ahmad & Benjakul, 2011	
1080.17			Vibrasi peregangan asimetris dari gugus fosfat protein yang digabungkan dengan -CH ₂ dari reaidu asam amino	Ahmad & Benjakul, 2011	






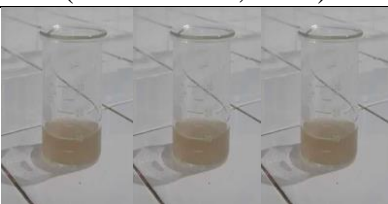
Lampiran 3. Tabel Identifikasi Hasil Analisis *Thin Layer Chromatography* (TLC) pada Asam Amino Standar dengan Menggunakan Image J


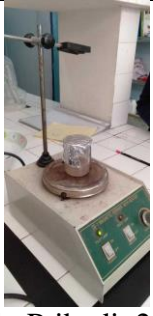

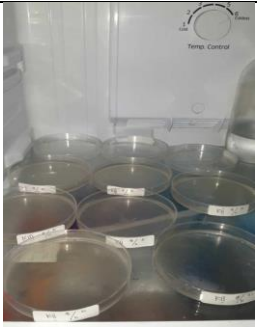
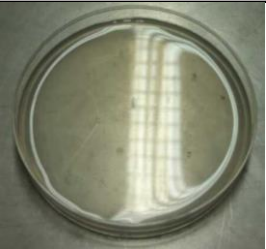
Asam Amino Standar									
	Area	Mean	Min	Max	Angle	Length	Jarak pelarut (cm)	Rf	Jenis Asam Amino
1	0.004	163.008	113.33 3	190	90	0,592	8	0,074	Lys
2	0.006	155.948	113.33 3	190	90	0,816	8	0,102	Arg
3	0.008	151.552	113.33 3	190	90	1,102	8	0,13775	Asp, His, Val
4	0.012	159.321	113.33 3	190	90	1,776	8	0,222	Cys, Pro
5	0.015	155.192	113.33 3	190	90	2,143	8	0,267875	Ser, Gly, Thr
6	0.018	149.984	113.33 3	190	90	2,653	8	0,331625	Ala, Glu, Hyp
7	0.026	154.917	113.33 3	190	90	3,755	8	0,469375	Met, Ile, Tyr
8	0.028	154.984	113.33 3	190	90	4,143	8	0,517875	Gln
9	0.030	154.881	113.33 3	190	90	4,388	8	0,5485	Trp
10	0.032	154.262	113.33 3	190	90	4,673	8	0,584125	Phe, Leu


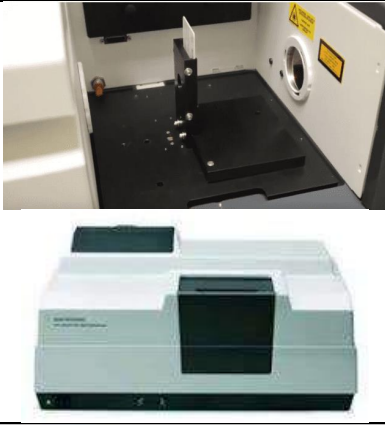




Lampiran 4. Dokumentasi Kegiatan


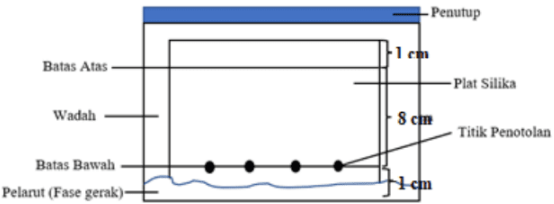




No.	Foto Kegiatan	Keterangan
Preparasi Kulit Ikan Patin		
1	Kulit ikan patin dibersihkan dari sisa daging dan lemak dengan scrap manual menggunakan pisau	 <p>(Dok. Pribadi, 2021)</p>
2	Dicuci dengan aquades	 <p>(Dok. Pribadi, 2021)</p>
3	Kulit ikan patin di simpan dalam <i>freezer</i>	 <p>(Dok. Pribadi, 2021)</p>
Ekstraksi Gelatin		
1	Kulit ikan patin ditimbang sebanyak 30 gram	 <p>(Dok. Pribadi, 2021)</p>
2	Direndam pada CH_3COOH 0,12 mol dan diaduk selama 60 menit	 <p>(Dok. Pribadi, 2021)</p>



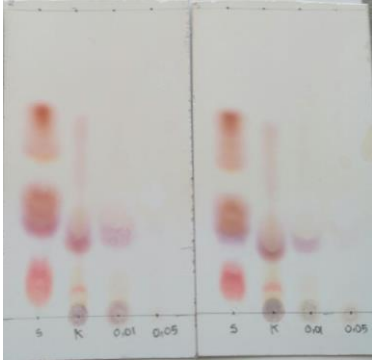
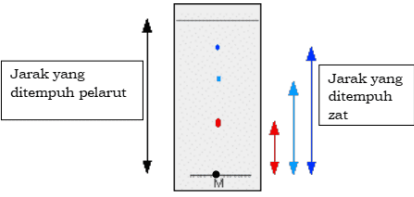
3	Dibilas dengan air mengalir hingga pH netral (pH 6 - 7)	 <p>(Dok. Pribadi, 2021)</p>
4	Kulit ikan patin direndam pada NaOH 0,2 mol dan diaduk selama 40 menit	 <p>(Dok. Pribadi, 2021)</p>
5	Dibilas dengan air mengalir hingga pH netral (pH 6 - 7)	 <p>(Dok. Pribadi, 2021)</p>
6	Dipanaskan dengan <i>waterbath</i> pada suhu 60°C selama 60 menit	 <p>(Dok. Pribadi, 2021)</p>
7	Hasil ekstraksi disaring dan didiamkan sebentar	 <p>(Dok. Pribadi, 2021)</p>
8	Gel gelatin disimpan pada <i>freezer</i> hingga membeku	 <p>(Dok. Pribadi, 2021)</p>

9	Pengeringan gel gelatin dilakukan dengan <i>Freeze dryer</i>	 <p>(Dok. Pribadi, 2021)</p>
10	Gelatin dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 60°C selama 15 menit	 <p>(Dok. Pribadi, 2021)</p>
Penambahan TGA dan Pembuatan Film Gelatin Ikan Patin		
1	Gelatin ditimbang sebanyak 1 gram	 <p>(Dok. Pribadi, 2021)</p>
2	Gelatin dilarutkan pada 20 ml aquades	 <p>(Dok. Pribadi, 2021)</p>
3	Gelatin dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 60°C selama 15 menit	 <p>(Dok. Pribadi, 2021)</p>
4	<ol style="list-style-type: none"> 1. Tanpa TGA : 9,90 ml larutan gelatin 2. TGA 0,01 gr : 9,89 ml larutan gelatin + 0,01 gr TGA 3. TGA 0,05 gr : 9,85 ml larutan gelatin + 0,05 gr TGA 	 <p>(Dok. Pribadi, 2021)</p>

5	Ditambahkan sorbitol sebanyak 0,1 ml pada setiap perlakuan	 <p>(Dok. Pribadi, 2021)</p>
6	Dihomogenkan dengan magnetic stirrer selama 10 menit dan pada suhu 50°C	 <p>(Dok. Pribadi, 2021)</p>
7	Dituangkan pada cawan petri	 <p>(Dok. Pribadi, 2021)</p>
8	Dikeringkan pada lemari pendingin, dan ditunggu sampai film gelatin benar-benar kering	 <p>(Dok. Pribadi, 2021)</p>
Analisis Gugus Fungsi		
1	Disiapkan film gelatin ikan patin yang telah dimodifikasi	 <p>(Dok. Pribadi, 2021)</p>

2	Film dimasukkan kedalam cetakan (<i>Agilent Technologies Polystyrene Sample</i>)	
3	Cetakan dimasukkan ke dalam FTIR (Model FTIR IR Prestige - 21 SHIMADZU) untuk dilakukan penembakan oleh <i>infra red</i>	
4	Dilakukan <i>running</i> dan hasil akan keluar pada komputer	
Analisis Profil Asam Amino : Preparasi		
1	1,5 gram gelatin dilarutkan dalam 10 ml akuades	 <p style="text-align: center;">(Dok. Pribadi, 2022)</p>
1	Fase gerak (Pelarut) n-butanol : asam asetat : akuades 6 : 2 : 2	 <p style="text-align: center;">(Dok. Pribadi, 2022)</p>
3	Penyemprot 2 gr Ninhydrin + 100 ml n-butanol	

4	Plat silika gel (KLT Silica gel 60 F254 dari Merck Jerman) dengan ukuran 25 x 25 dengan batas atas 1 cm dan bawah 1 cm	<p>(Dok. Pribadi, 2022)</p>  <p>(Dok. Pribadi, 2022)</p> 
Analisi Profil Asam Amino		
1	Sampel dan asam amino standar ditotolkan pada plat silika	  <p>(Dok. Pribadi, 2022)</p>
2	Plat silika dimasukkan ke dalam pelarut	 <p>(Dok. Pribadi, 2022)</p>
3	Plat silika dikeringkn dengan <i>hair dryer</i>	 <p>(Dok. Pribadi, 2022)</p>

4	Disempot larutan Ninhydrin	 <p>(Dok. Pribadi, 2022)</p>
5	Plat silika dimasukkan ke oven dengan suhu 80°C selama 15 menit	 <p>(Dok. Pribadi, 2022)</p>
6	Dihitung nilai Rf	 <p>(Dok. Pribadi, 2022)</p> <div style="text-align: center;">  </div> $\text{Nilai } R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh zat}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}}$

BIODATA PENULIS



Penulis dilahirkan di Nganjuk, pada tanggal 4 Mei 1999. Riwayat pendidikan penulis sebagai berikut : S1 Biologi Institut Teknologi Sepuluh Nopember (2018 – sekarang), SMA Negeri 1 Tanjunganom (2015 - 2018), SMP Negeri 1 Prambon (2012 - 2015), SD Negeri 4 Kampungbaru (2006 – 2012), TK Aisyiah Takat Kampungbaru (2004 - 2006).

Pengalaman organisasi yang pernah diikuti penulis selama menempuh pendidikan di Biologi ITS adalah Menjadi staff Himpunan Mahasiswa Biologi Institut Teknologi Sepuluh Nopember Departemen Sosial Masyarakat, setelah kepengurusan 1 tahun selesai, penulis diangkat menjadi Kepala Divisi Pengabdian Masyarakat pada tahun 2020 - 2021.

Selain itu pengalaman kepanitiaan yang pernah diikuti oleh penulis selama menempuh pendidikan di Biologi ITS adalah menjadi sie Dekorasi Fruit Night Festival pada Biological Opus Fair 2018, menjadi sie Konsumsi OKKBK 2019. Untuk pelatihan yang pernah diikuti selama menjadi mahasiswa Biologi ITS adalah Latihan Keterampilan Manajemen Mahasiswa Tingkat Pra Dasar (LKMM Pra TD) 2019 dan Latihan Keterampilan Dan Manajemen Wirausaha (LKMW-TD) 2019.

Penulis melaksanakan Kerja Praktek di Balai Penyuluhan Pertanian Kecamatan Tanjunganom di bawah bimbingan Bapak Aunurohim, S.Si., DEA (sebagai Dosen Internal) dan Ibu Sri Mulyani S.P. (Dosen Eksternal). Sebagai syarat dalam memperoleh gelar Sarjan Sains, penulis melaksanakan Tugas Akhir pada laboratorium Zoologi dan Rekayasa Hewan dengan judul **“PENGARUH PENAMBAHAN TRANSGLUTAMINASE TERHADAP GUGUS FUNGSI DAN PROFIL ASAM AMINO GELATIN KULIT IKAN PATIN (*Pangasius hypophthalmus*)”** dibawah bimbingan dari Ibu Noor Nailis Sa’adah, S.Si., M.Sc. (Pembimbing 1) dan Ibu Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si. (Pembimbing 2).