



TUGAS AKHIR - SB184830

**PENGARUH UKURAN TUBUH TERHADAP  
KEMURNIAN DAN GUGUS FUNGSI GELATIN  
KULIT IKAN PATIN (*Pangasius  
hypophthalmus*)**

**GINA RAASYIDATUS SABIYLA**  
0131164000039

**Dosen Pembimbing**  
Noor Nailis Sa`adah, S.Si., M.Sc

**DEPARTEMEN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN ANALITIKA DATA  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA 2020**





TUGAS AKHIR - SB184830

**PENGARUH UKURAN TUBUH TERHADAP  
KEMURNIAN DAN GUGUS FUNGSI GELATIN  
KULIT IKAN PATIN (*Pangasius  
hypophthalmus*)**

**GINA RAASYIDATUS SABIYLA  
0131164000039**

**Dosen Pembimbing  
Noor Nailis Sa`adah, S.Si., M.Sc.**

**DEPARTEMEN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN ANALITIKA DATA  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA 2020**





**FINAL PROJECT - SB184830**

**THE EFFECT OF SIZE IN PURITY AND  
FUNCTIONAL GROUP OF GELATIN  
EXTRACTED FROM STRIPED CATFISH SKIN  
(*Pangasius hypophthalmus*)**

**GINA RAASYIDATUS SABIYLA  
0131164000039**

**Supervisor  
Noor Nailis Sa`adah, S.Si., M.Sc**

**BIOLOGY DEPARTMENT  
FACULTY OF SCIENCE  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA 2020**



## LEMBAR PENGESAHAN

### PENGARUH UKURAN TUBUH TERHADAP KEMURNIAN DAN GUGUS FUNGSI GELATIN KULIT IKAN PATIN (*Pangasius hypophthalmus*)


#### TUGAS AKHIR

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar  
Sarjana Sains pada  
Departemen S-1 Biologi  
Fakultas Sains dan Analitika Data  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh :

**GINA RAASYIDATUS SABIYLA**  
**NRP. 0131164000039**

**Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir :**

Noor Nailis Sa`adah, S.Si., M.Sc. .........(Pembimbing)

Surabaya, 4 Agustus 2020

Mengetahui  
Ketua Departemen Biologi,



Dr. Dewi Hidayati, S.Si, M.Si.  
NIP. 19691121 199802 2 001





**PENGARUH UKURAN TUBUH TERHADAP  
KEMURNIAN DAN GUGUS FUNGSI GELATIN KULIT  
IKAN PATIN (*Pangasius hypophthalmus*)**

**Nama Mahasiswa : Gina Raasyidatus Sabiyla**  
**NRP : 0131164000039**  
**Departemen : Biologi**  
**Pembimbing : Noor Nailis Sa`adah, S.Si, M.Sc**

**Abstrak**

*Gelatin merupakan biopolimer produk denaturasi kolagen yang banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang. Sifat gelatin dipengaruhi oleh crosslink pada kolagen, dimana perbedaan crosslink kolagen dipengaruhi oleh ukuran atau usia hewan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ukuran tubuh terhadap kemurnian dan gugus fungsi gelatin kulit ikan patin (*P. hypophthalmus*). Kulit ikan patin dengan ukuran meliputi ikan kecil (total ukuran panjang tubuh  $38,9 \pm 0,5$  cm) dan ikan besar (total ukuran panjang tubuh  $48,6 \pm 1,9$  cm) diekstraksi dengan pretreatment asam dan basa untuk memperoleh kolagen, kemudian didenaturasi menjadi gelatin. Analisis kemurnian gelatin dilakukan dengan menggunakan RP-HPLC menghasilkan nilai kemurnian 34,36-86,24% untuk gelatin kulit ikan patin ukuran kecil dan 67,57-85,59% untuk gelatin kulit ikan patin ukuran besar. Analisis spektrum FTIR gelatin kulit ikan patin ukuran kecil dan besar menunjukkan bilangan gelombang yang hampir sama pada daerah serapan amida A, B, I, II, dan III. Pada kedua gelatin kulit ikan patin ukuran kecil dan besar terdapat gugus fungsi O-H, C-H, N-H, C=O, C=N, C=C, dan N=O.*

*Kata Kunci : gelatin, gugus fungsi, kemurnian, kulit ikan patin, ukuran tubuh*



# THE EFFECT OF SIZE IN PURITY AND FUNCTIONAL GROUP OF GELATIN EXTRACTED FROM STRIPED CATFISH SKIN (*Pangasius hypophthalmus*)

**Student Name** : Gina Raasyidatus Sabiyla  
**Number** : 0131164000039  
**Departement** : Biology  
**Supervisor** : Noor Nailis Sa`adah, S.Si, M.Sc

## Abstract

Gelatin is a biopolymer of collagen denaturation products that is widely used in various industry. The nature of gelatin is influenced by crosslinks on collagen, differences in collagen crosslinks are influenced by the size or age of the animal. The aim of this study were to determine the effect of body size on the purity and functional groups of striped catfish skin gelatin (*P. hypophthalmus*). Striped catfish skins of different sizes include small fish (total body length  $38.9 \pm 0.5$  cm) and large fish (total body length  $48.6 \pm 1.9$  cm) extracted with acid and base pretreatment to obtain collagen, then denatured to gelatin. Purity of gelatin were analysis by RP-HPLC and result purity values 34.36-86.24% for small size striped catfish skin gelatin and 67.57-85.59% for large striped catfish skin gelatin. FTIR spectra analysis of small and large striped catfish skin gelatin result wavenumbers that are almost same in amide A, B, I, II, and III region. In both striped catfish skin gelatin small and large sizes there are O-H, C-H, N-H, C = O, C = N, C = C, and N = O functional groups

Keyword : functional group, gelatin, purity, size, striped catfish skin



## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis haturkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat-Nya, sehingga penulis dapat menyusun naskah Tugas Akhir dengan judul “Pengaruh Ukuran Tubuh terhadap Kemurnian dan Gugus Fungsi Gelatin Kulit Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*)” sebagai salah satu syarat kelulusan pada Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Analitika Data, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

Penulis mendapatkan banyak sekali doa dan bantuan dari berbagai pihak dalam menyelesaikan naskah Tugas Akhir ini. Atas berbagai bantuan dan dukungan tersebut, pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Allah SWT, yang senantiasa memberikan perlindungan sehingga penulis berkesempatan mengerjakan tugas akhir.
2. Kedua Orang Tua dan keluarga, yang tiada henti-hentinya memberikan semangat dan kasih sayang serta doa kepada penulis.
3. Ibu Noor Nailis Saadah, S.Si, M.Sc selaku pembimbing tugas akhir yang tidak kenal lelah memberikan semangat, motivasi ilmu, waktu, dan bimbingan kepada penulis
4. Ibu Dr. Dewi Hidayati, S.Si, M.Si, Bapak Dr. Nurul Jadid, M.Sc, Bapak Dr.rer.nat Edwin Setiawan, M.Sc, dan Bapak Dr.rer.nat Arif Luqman yang memberikan masukan dalam penyusunan naskah Tugas Akhir ini
5. Teman-teman Laboratorium Zoologi dan Rekayasa Hewan, B-19, Tim Pemandu Peradaban, dan seluruh pihak yang memberikan dukungan dalam penyusunan naskah Tugas Akhir ini

Penulis menyadari bahwa penulisan naskah ini masih memiliki banyak kekurangan. Namun, besar harapan penulis agar naskah tugas ahir ini dapat bermanfaat.

Surabaya, 4 Agustus 2020

Penulis



## DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN.....	vii
ABSTRAK .....	ix
ABSTRACT .....	xi
KATA PENGANTAR.....	xiii
DAFTAR ISI .....	xv
DAFTAR TABEL .....	xvii
DAFTAR GAMBAR.....	xix
DAFTAR LAMPIRAN .....	xxi
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Batasan Masalah .....	4
1.4 Tujuan .....	4
1.5 Manfaat .....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	5
2.1 Ikan Patin ( <i>Pangasius hypophthalmus</i> ).....	5
2.1.1 Morfologi.....	7
2.1.2 Potensi Ikan Patin .....	8
2.2 Kulit Ikan .....	9
2.3 Kolagen.....	11
2.4 Gelatin.....	15
2.4.1 Gelatin Ikan .....	18
2.4.2 Asam Amino Gelatin Kulit Ikan.....	19
2.4.3 Gugus Fungsional Gelatin Kulit Ikan .....	22
2.5 Ekstraksi Gelatin .....	23
2.6 <i>High Performance Liquid Chromatography</i> (HPLC).....	26
2.7 <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR).....	28
BAB III METODE PENELITIAN .....	31
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	31
3.2 Alat dan Bahan.....	31
3.3 Metode yang Digunakan .....	31

3.3.1 Preparasi Kulit Ikan Patin.....	31
3.3.2 Ekstraksi Gelatin .....	32
3.3.5 Analisis Kemurnian Gelatin .....	33
3.3.4 Analisis Gugus Fungsional Gelatin .....	34
3.4 Analisis Data.....	34
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	37
4.1 Analisis Kemurnian Gelatin Kulit Ikan Patin.....	37
4.2 Analisis Spektrum FTIR Gelatin Kulit Ikan Patin .....	45
BAB V PENUTUP .....	57
5.1 Kesimpulan.....	57
5.2 Saran.....	57
DAFTAR PUSTAKA.....	59
LAMPIRAN .....	73
BIODATA PENULIS.....	81



## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Hubungan Usia dengan Panjang dan Berat Ikan Patin.....	6
Tabel 2.2 Tipe kolagen dan letaknya.....	13
Tabel 2.3 Penggunaan Gelatin .....	18
Tabel 2.4 Perbedaan kandungan asam amino pada gelatin ikan dan gelatin mamalia.....	21
Tabel 3.1 Perlakuan ekstraksi gelatin kulit ikan patin ukuran kecil.....	33
Tabel 3.2 Perlakuan ekstraksi gelatin kulit ikan patin ukuran besar.....	33
Tabel 4.1 Hasil kemurnian gelatin kulit ikan patin.....	40
Tabel 4.2 Hidrofobisitas asam amino gelatin.....	41
Tabel 4.3 Perbandingan komposisi asam amino gelatin kulit ikan patin dan gelatin mamalia.....	42
Tabel 4.4 Perbandingan kandungan asam amino gelatin kulit ikan patin.....	43
Tabel 4.5 Hasil Spektrum FTIR Gelatin Kulit Ikan Patin Ukuran Kecil.....	48
Tabel 4.6 Hasil Spektrum FTIR Gelatin Kulit Ikan Patin Ukuran Besar .....	49



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Morfologi Ikan Patin.....	7
Gambar 2.2 Histologi Kulit ikan.....	11
Gambar 2.3 Struktur triple heliks kolagen.....	12
Gambar 2.4 Konfigurasi kimia gelatin.....	16
Gambar 2.5 Denaturasi kolagen menjadi gelatin.....	24
Gambar 2.6 Gelatin terdiri dari berbagai rantai peptida...	26
Gambar 2.7 Komponen HPLC.....	27
Gambar 4.1 Kromatogram hasil purifikasi gelatin.....	38
Gambar 4.2 Spektrum FTIR gelatin kulit ikan patin.....	47



## DAFTAR LAMPIRAN

		Halaman
Lampiran 1	Kromatogram hasil purifikasi gelatin kulit ikan patin ukuran kecil .....	73
Lampiran 2	Kromatogram hasil purifikasi gelatin kulit ikan patin ukuran besar .....	75
Lampiran 3	Spektrum FTIR gelatin kulit ikan patin ukuran kecil.....	77
Lampiran 4	Spektrum FTIR gelatin kulit ikan patin ukuran besar.....	79



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Gelatin merupakan kumpulan beberapa polipeptida dengan berat molekul tinggi yang merupakan derivat dari kolagen. Bahan utama dari gelatin adalah kolagen dari tulang, kartilago, dan kulit binatang (Eryilmas *et al.*, 2017; Azilawati *et al.*, 2014). Gelatin tersusun atas protein (85-92%), garam mineral, dan air yang dihasilkan melalui hidrolisis parsial kolagen (Duconseille *et al.*, 2015). Hidrolisis parsial kolagen memecah ikatan silang (*cross-linked*) dan beberapa ikatan peptida menghasilkan produk hidrokoloid yang larut dalam air (Pradarameswari *et al.*, 2017; Brigham, 2018). Gelatin telah dimanfaatkan secara luas di berbagai bidang, diantaranya industri farmasi, kosmetik, dan makanan (Boran dan Regenstein, 2010; Jongjareonrak *et al.*, 2006).

Konsumsi gelatin di seluruh dunia mencapai 450,7 kiloton pada tahun 2018. Sebagian besar gelatin komersial berasal dari kulit babi (46%), kulit sapi (29,4%), tulang (23,1%), dan sumber lain (1,5%) (Huang *et al.*, 2019; Apri *et al.*, 2017). Beberapa bahan tersebut dihindari oleh beberapa keyakinan seperti Judaism dan Islam yang melarang konsumsi produk yang berbahan babi, serta umat Hindu yang tidak mengkonsumsi produk berbahan sapi. Selain itu, adanya wabah penyakit sapi gila atau *mad cow disease* (*bovine spongiform encephalopathy*/BSE) dan penyakit pada mulut dan kaki (*foot-and-mouth disease*/FMD) menyebabkan beberapa negara meningkatkan permintaan gelatin dari sumber lain (Karim dan Bhatt, 2009). Salah satu sumber alternatif yang telah banyak diteliti adalah ikan.

Berdasarkan data Kementerian Kelautan Perikanan (2018), jumlah produksi perikanan 23,26 juta ton yang terdiri 6,04 juta ton dari produksi perikanan tangkap dan 17,22 juta ton dari produksi budidaya. Limbah yang dihasilkan dari kegiatan perikanan sebesar 20-30% dari produksi ikan. Salah satu ikan yang produksinya terus meningkat adalah ikan patin

(*Pangasius hypophthalmus*). Dalam skala industri, ikan patin diproduksi dalam bentuk filet (daging ikan tanpa tulang), sehingga menghasilkan limbah yang terdiri dari kulit, tulang, kantung renang dan kepala. Sebanyak 30% dari total limbah pengolahan ikan adalah kulit ikan yang tinggi akan kandungan kolagen (Sudirman *et al.*, 2018; Kumar *et al.*, 2017). Kulit ikan patin telah terbukti dapat dijadikan sebagai bahan baku pembuatan gelatin yang diproduksi melalui ekstraksi dengan proses asam ataupun basa (Nasution *et al.*, 2018; Singh dan Benjakul, 2017; Alfariy, 2019; Asih *et al.*, 2019).

Karakteristik gelatin dipengaruhi beberapa faktor, diantaranya bahan baku (jenis spesies, kulit, tulang), umur hewan (mempengaruhi *crosslinking* pada kolagen), proses ekstraksi (pH, suhu) dll. (Gomez *et al.*, 2008). Selain itu, karakteristik gelatin juga ditentukan berdasarkan beberapa parameter seperti kekuatan gel, komposisi asam amino, viskositas, titik leleh, dan gugus fungsi gelatin. Salah satu faktor yang mempengaruhi kekuatan gel adalah konsentrasi gelatin (See *et al.*, 2010). Perbandingan antara konsentrasi gelatin sampel dengan gelatin komersial dapat digunakan untuk menentukan kemurnian gelatin. Konsentrasi komponen penyusun gelatin dapat diketahui melalui pemisahan senyawa berdasarkan polaritasnya. Polaritas atau hidrofobisitas gelatin dipengaruhi oleh rantai samping yang dimiliki gelatin. Gelatin merupakan protein yang memiliki gugus bermuatan tertentu pada asam amino hidrofilik ataupun hidrofobik (Schrieber dan Gareis, 2007). Abdelhedi *et al* (2019), menyatakan bahwa gelatin kaya akan kandungan asam amino hidrofobik atau non polar, seperti prolin, glisin, dan leusin, sehingga tidak mudah larut dalam air. Penelitian Sinthusamran *et al* (2015), membuktikan bahwa gelatin yang berasal dari kulit ikan kakap putih dengan ukuran atau usia yang berbeda memiliki komposisi kimia dan karakteristik yang berbeda. Hasil penelitian menunjukkan total asam amino prolin dan hidroksiprolin pada gelatin kulit ikan kakap putih ukuran 2 kg (23.36 g/100 g) dan 4 kg (23.12 g/100 g), lebih tinggi dibanding ikan kakap putih ukuran 6 kg (21.57 g/100 g).



Kandungan asam amino juga menentukan gugus fungsional gelatin. Gugus fungsi gelatin menunjukkan reaktivitas molekul-molekul serta struktur molekul asam amino yang menyusun gelatin (Solomon *et al.*, 2014; Amertaningtyas *et al.*, 2017). Hasil uji spektrum FTIR untuk mengetahui gugus fungsi gelatin, menunjukkan bahwa pada daerah serapan Amida B, menunjukkan nilai panjang gelombang yang lebih rendah pada gelatin kulit ikan ukuran 6 kg ( $2923\text{ cm}^{-1}$ ) dibanding ikan ukuran 2 kg dan 4 kg ( $2918\text{ cm}^{-1}$ ;  $2922\text{ cm}^{-1}$ ). Hal tersebut menunjukkan bahwa *crosslink* yang lebih tinggi pada gelatin kulit ikan ukuran 6 kg lebih tinggi dibanding ukuran 2 kg dan 4 kg (Sinthusamran *et al.*, 2015).

Ukuran ikan akan meningkat seiring dengan peningkatan usia. Penelitian Aida dan Utomo (2015), menunjukkan bahwa peningkatan usia pada ikan patin (*P. hypophthalmus*) mengakibatkan peningkatan ukuran tubuh ikan. Ikan patin berusia 6 bulan mencapai panjang 38,7 cm dan berat 583,3 gram dan pada usia 9 bulan mencapai 49,1 cm dan berat 1.252,8 gram. Peningkatan usia berpengaruh terhadap stabilitas kolagen, yakni meningkatkan jumlah dan stabilitas *crosslink*, sehingga berpengaruh terhadap stabilitas kolagen ketika didenaturasi. Kolagen dengan *crosslink* yang lebih luas seperti pada hewan yang dewasa, memerlukan proses pemecahan ikatan silang yang lebih untuk denaturasi menjadi gelatin (Muyonga *et al.*, 2004). Salah satu faktor yang mempengaruhi perbedaan *crosslinks* pada kolagen adalah komposisi asam amino (Kumar *et al.*, 2017)

Penelitian Alfarisy (2019), melaporkan bahwa ekstraksi gelatin dari kulit ikan patin menghasilkan gelatin dengan kekuatan gel 223-446 g dan viskositas 6,53-7,4 cp untuk ikan patin ukuran kecil. Sedangkan untuk ikan patin ukuran besar menghasilkan kekuatan gel 154-199 g dan viskositas 3,60-3,66 cp. Namun penelitian mengenai kemurnian dan gugus fungsi gelatin kulit ikan patin berdasarkan ukuran tubuh yang berbeda belum dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sifat gelatin yang diekstraksi dari kulit ikan patin dengan ukuran yang berbeda, meliputi kemurnian dan gugus fungsional gelatin.

## 1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian ini adalah bagaimana pengaruh ukuran tubuh terhadap kemurnian dan gugus fungsi gelatin kulit ikan patin (*P. hypophthalmus*).

## 1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi berdasarkan optimasi dari penelitian Alfarisy (2019), berdasarkan variabel perendaman asam, perendaman basa, dan suhu ekstraksi
2. Ukuran tubuh ikan patin (*P. hypophthalmus*) dikategorikan dalam 2 ukuran yaitu ikan kecil (total ukuran panjang tubuh  $38,9 \pm 0,5$  cm dengan rata-rata berat  $454,6 \pm 17,1$  gram) dan ikan besar (total ukuran panjang tubuh  $48,6 \pm 1,9$  cm dengan rata-rata berat  $1.194 \pm 27,0$  gram).
3. Kulit ikan patin (*P. hypophthalmus*) yang digunakan diambil dari pabrik fillet ikan patin yang dibudidayakan di Tulungagung, Jawa Timur.
4. Produksi gelatin kulit ikan patin (*P. hypophthalmus*) dilakukan dalam skala laboratorium.

## 1.4 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh perbedaan ukuran tubuh terhadap kemurnian dan gugus fungsi gelatin kulit ikan patin (*P. hypophthalmus*).

## 1.5 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi dalam pengolahan limbah kulit ikan patin menjadi gelatin serta dapat memberikan informasi data bahan baku yang optimal untuk gelatin ikan patin berdasarkan ukuran tubuh.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*)

Ikan patin merupakan kelompok ikan Pangasius atau Pangasiidae yaitu jenis ikan bersungut atau *catfish* yang hidup di air tawar. Ikan patin banyak dimanfaatkan sebagai komoditas akuakultur untuk konsumsi atau sebagai ikan hias (Gustiano, 2009; Anshary *et al.*, 2013). Ikan patin merupakan salah satu ikan air tawar yang potensial di Indonesia. Produksi ikan patin di Indonesia terus mengalami peningkatan setiap tahun yaitu mencapai 319.966 ton pada tahun 2017 dan 391.151 ton pada tahun 2018 (APCI, 2019). Ikan patin pada umumnya berada di pasaran sebagai ikan filet (daging ikan tanpa tulang) (Dambrosio *et al.*, 2016). Saat ini, spesies ikan patin yang paling banyak dibudidayakan di Indonesia adalah patin jambal (*Pangasius djambal*) dan patin siam atau jambal siam (*P. hypophthalmus*) (Ghufran, 2010). 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 : Pangasianodon  
Spesies : *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878)

Ikan patin (*P. hypophthalmus*) adalah ikan air tawar yang berhabitat di sungai-sungai besar. Ikan patin termasuk dalam ikan omnivora yang memakan ikan-ikan kecil, krustasea, dan potongan sayuran (Gustiano, 2009). Ikan patin merupakan ikan asli dari Sungai Mekong yang letaknya melintasi berbagai negara yaitu

China, Myanmar, Laos, Thailand, Kamboja, dan Vietnam. Ikan ini telah diintroduksi ke berbagai negara di Asia Tenggara, termasuk Indonesia sebagai komoditas akuakultur untuk konsumsi atau sebagai ikan hias. Ikan ini diperkirakan diintroduksi ke Indonesia sekitar tahun 1972 dari Thailand (Anshary *et al.*, 2013).

Ikan patin termasuk ikan yang beraktifitas pada malam hari atau nokturnal (Khairuman dan Suhendra, 2002). Ikan patin merupakan salah satu ikan yang telah berhasil didomestikasi dan dibudidayakan secara semi intensif dan intensif di Indonesia. Ikan patin yang dipelihara dalam kolam dapat tumbuh dengan baik pada kisaran suhu 26,5 °C – 28 °C dan pH pada rentang 6,5-8. Konsentrasi oksigen terlarut diatas 3 mg/L masih termasuk dalam batas toleransi ikan patin (Septimesy *et al.*, 2016). Pada pembudidayaan, dalam umur 6 bulan ikan patin dapat mencapai panjang 35-40 cm, dan dapat mencapai berat 1,5-2 kg pada umur 2-3 tahun (Khairuman dan Suhendra, 2002). Penelitian Aida dan Utomo (2015) pada ikan patin (*P. hypophthalmus*) yang hidup di Waduk Gajah Mungkur, Yogyakarta, menunjukkan bahwa peningkatan usia mengakibatkan peningkatan ukuran tubuh ikan (tabel 2.1).

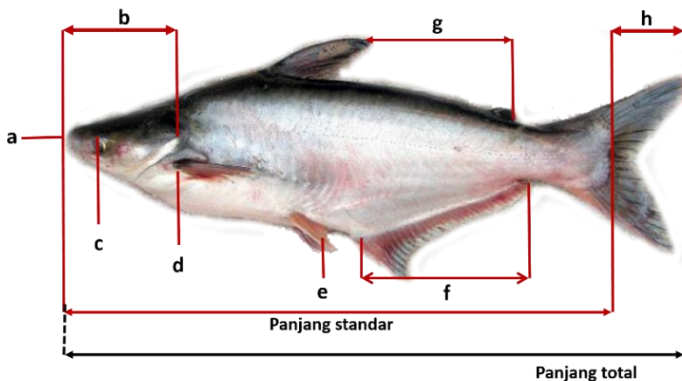
Tabel 2.1 Hubungan Usia dengan Panjang dan Berat Ikan Patin  
(Aida dan Utomo, 2015)

<b>Usia (bulan)</b>	<b>Panjang (cm)</b>	<b>Berat (gram)</b>
1	16,1	35,8
2	21,2	86
3	26,0	164,5
4	30,5	273,5
5	34,7	413,3
6	38,7	583,3
7	42,4	781,5
8	45,9	1.005,6
9	49,1	1.252,8
10	52,5	1.520
11	55,1	1.804,2
12	57,8	2.102,2

Namun, pertumbuhan ikan patin sangat dipengaruhi oleh faktor eksternal seperti faktor lingkungan dan pakan. Kedua faktor tersebut akan menyeimbangkan kondisi tubuh ikan selama dalam pemeliharaan. Ketersediaan pakan berpengaruh besar terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan. Jumlah pakan yang dibutuhkan oleh ikan setiap harinya berhubungan erat dengan ukuran berat dan umur ikan (Mahardika *et al.*, 2017).

### 2.1.1 Morfologi

Ikan patin (*P. hypophthalmus*) memiliki bentuk tubuh memanjang, ramping, agak pipih, dan tidak bersisik. Panjang tubuhnya dapat mencapai 150 cm. Warna tubuh ikan patin pada bagian punggung keabu-abuan atau kebiru-biruan dan bagian perut berwarna putih keperak-perakan. Ikan patin juvenile berwarna gelap, ketika semakin dewasa warnanya memudar menjadi abu-abu. Kepala ikan patin relatif kecil dengan mulut terletak dibagian ujung agak bawah ditunjukkan pada gambar 2.1 (Mahardika *et al.*, 2017; Gustiano, 2009)



Gambar 2.1 Morfologi Ikan Patin (Mahalder, 2005)

Keterangan gambar: (a) Mulut, (b) Kepala, (c) Mata, (d) Sirip dada (*pectoral fin*), (e) Sirip perut (*pelvic fin*), (f) Sirip anus (*anal fin*), (g) Sirip punggung (*dorsal fin*), (h) Sirip ekor (*caudal fin*)

Ikan patin memiliki dua pasang sungut (kumis) pendek pada sudut mulutnya yang berfungsi sebagai detektor. Sirip punggung berwarna abu-abu gelap atau hitam dan memiliki 1 jari-jari keras yang berubah menjadi patil yang besar dan bergerigi di belakangnya, dan terdapat pula jari-jari lunak sebanyak 6-7 buah. Pada permukaan punggung terdapat sirip lemak yang berukuran sangat kecil. Sirip dubur agak panjang dan mempunyai 30-33 jari-jari lunak dan terdapat garis-garis gelap di bagian tengah. Sirip dada terdapat 1 jari-jari keras yang berubah menjadi patil dan 12-13 jari-jari lunak serta sirip ekor berbentuk simetris. Ikan patin juga memiliki alat penyapu insang kecil yang secara teratur diselingsi dengan alat insang kecil (Ghufran, 2010; Mahardika *et al.*, 2017; Gustiano, 2009).

### **2.1.2 Potensi Ikan Patin**

Ikan patin (*P. hypophthalmus*) merupakan salah satu ikan konsumsi yang memiliki nilai jual dan diminati masyarakat (Mahardika *et al.*, 2017). Ikan patin (*P. hypophthalmus*) merupakan ikan air tawar dengan pertumbuhan tercepat di dunia dalam budidaya akuakultur. Pada tahun 2017, produksi ikan patin global mencapai 680,87 juta ton. Ikan patin dapat mencapai berat tubuh 1,2 – 1,3 kg dalam waktu 6 bulan, pada umumnya ikan patin dipanen pada umur 8 bulan tergantung dengan permintaan pasar. Ikan patin memiliki daging yang lunak dan berwarna putih, tidak berbau amis, serta memiliki nilai gizi yang tinggi (Rathod *et al.*, 2018). Ikan patin pada umumnya berada di pasaran sebagai ikan filet (daging ikan tanpa tulang), sehingga menghasilkan limbah yang terdiri dari kulit, tulang, kantung renang dan kepala. Sebanyak 30% dari total limbah hasil pengolahan ikan merupakan kulit ikan yang tinggi akan kandungan kolagen (Dambrosio *et al.*, 2016; Kumar *et al.*, 2017). Devi *et al* (2017), menyatakan bahwa aplikasi *zero waste* dalam pengolahan ikan dapat memberi nilai tambah pada ekonomi masyarakat. Salah satu implementasi dari *zero waste* dalam pengolahan ikan adalah penelitian mengenai

kolagen ikan air tawar dari perairan Indonesia khususnya ikan patin.

Kulit ikan merupakan bahan baku yang baik untuk mengisolasi kolagen karena kolagen merupakan penyusun 80% protein yang terdapat pada kulit ikan (Kolodziejska *et al.* 2008). Penelitian Nagai dan Suzuki (2000), menunjukkan ekstraksi kolagen pada kulit ikan menghasilkan *yield* yang lebih tinggi dibanding kolagen yang diekstraksi dari tulang ikan. Kolagen yang diekstraksi dari kulit ikan menunjukkan hasil sebesar 51,4% (ikan seabass jepang), 49,8% (ikan makarel), dan 50,1% (ikan hiu bullhead). Sedangkan kolagen yang diekstraksi dari tulang ikan menghasilkan kolagen sebesar 42,3% (ikan seabass jepang) dan 40,1% (ikan makarel). Tingginya kandungan kolagen pada kulit ikan menunjukkan potensi penggunaan kulit ikan sebagai bahan baku pembuatan gelatin (Kumar *et al.*, 2017). Salah satunya adalah kulit ikan patin yang telah terbukti dapat dijadikan sebagai bahan baku pembuatan gelatin (Nasution *et al.*, 2018; Pradarameswari *et al.*, 2017).

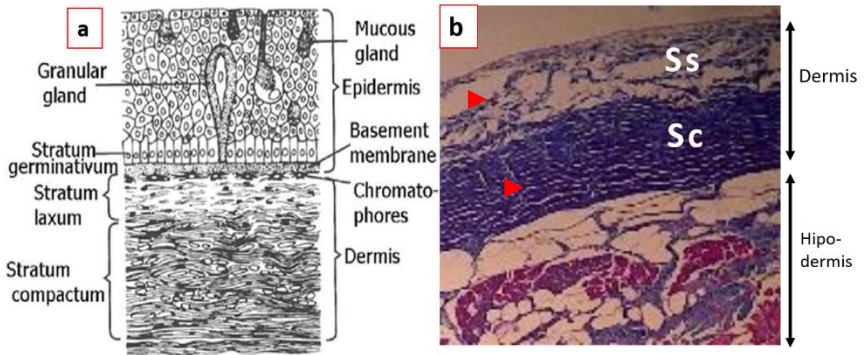
## 2.2 Kulit Ikan

Kulit atau integumen merupakan bagian yang menutupi bagian eksternal tubuh. Kulit berperan dalam mempertahankan keseimbangan fisiologis antara tubuh (internal) dengan lingkungan eksternal. Kulit merupakan proteksi pertama terhadap patogen dan luka mekanis (Genten *et al.*, 2009). Kulit pada ikan memiliki berbagai fungsi diantaranya sebagai organ sensoris, untuk lokomosi, respirasi, osmoregulasi, dan regulasi termal (Mokhtar, 2017). Beberapa alat lain yang terdapat dalam kulit berfungsi untuk mempertahankan diri ataupun menyerang mangsa seperti kelenjar racun, pewarnaan, sumber cahaya, serta kelenjar mukus yang menghasilkan lendir yang membuat tubuh ikan menjadi licin dan menghasilkan bau yang khas sebagai alat komunikasi kimiawi (Burhanuddin, 2012).

Terdapat perbedaan pada kulit ikan teleostei, beberapa spesies memiliki sisik, sedangkan pada spesies yang tidak memiliki

sisik terdapat sel khusus yang berukuran besar pada bagian epidermal disebut *club cell*. Lapisan pada kulit ikan teleostei terdiri dua lapisan utama yaitu lapisan epidermis dan dermis. Epidermis merupakan bagian yang berhubungan langsung dengan lingkungan dan sistem somatis. Epidermis merupakan epitel skuamosa berlapis dengan ketebalan 3-5 sel hingga 20-25 sel. Sel yang ditemukan dalam epidermis yaitu sel yang mengandung filamen atau sel malfigian sebagai penyusun utama dan sel-sel mukosa yang berperan dalam sekresi glikoprotein (lendir) membentuk lapisan pelindung berlendir. Pada bagian epidermis terdapat *stratum germinativum* (lapisan malphigi) yang terus melakukan pembelahan untuk menggantikan sel-sel di bagian luar yang lepas (Genten *et al.*, 2009). Pada bagian dermis terdapat pembuluh darah, saraf, dan jaringan pengikat yang tebal dan memiliki susunan sel yang lebih rapat dan kompak dibanding bagian epidermis (Burhanuddin, 2012). Dermis terdiri dari *stratum spongiosum* dan *stratum compactum*. *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. Pada bagian dibawah dermis, terdapat lapisan hipodermis yang lebih longgar dan mengandung banyak jaringan adiposa seperti pada gambar 2.2 (Andriani *et al.*, 2017; Genten *et al.*, 2009).





Gambar 2.2 (a) Histologi kulit ikan secara umum (Burhanuddin, 2012); (b) Histologi kulit ikan patin (*P. hypophthalmus*) (Alfarisy, 2019). Keterangan gambar: Ss : *Stratum spongiosum* ; Sc : *Stratum compactum* ; warna biru menunjukkan adanya kolagen (panah merah)

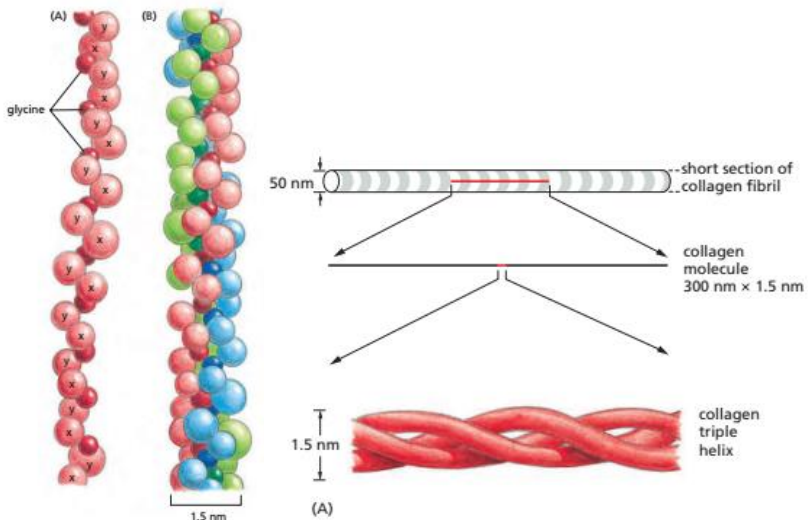
Kolagen pada kulit ikan patin ditunjukkan dengan adanya bagian yang berwarna biru (gambar 2.2b) akibat teknik pewarnaan histologi kulit menggunakan pewarna *Masson trichrome* (Alfarisy, 2019). Serabut kolagen tersebar pada lapisan dermis kulit, pada *stratum spongiosum* serabut kolagen lebih longgar sedangkan pada *stratum compactum* serabut kolagen tersusun sangat rapat (Andriyani *et al.*, 2017).

### 2.3 Kolagen

Kolagen merupakan protein fibrosa struktural dan merupakan komponen utama matriks ekstraseluler pada makhluk hidup. Kolagen merupakan bagian dari jaringan ikat pada otot dan beberapa bagian tubuh seperti kulit, tulang, gigi, tendon, dan kartilago. Kolagen mencapai 25-30 % dari total protein pada tubuh hewan. Kolagen berperan penting dalam mempertahankan struktural organ-organ pada tubuh beserta fungsinya pada berbagai jaringan. Selain itu, kolagen juga dimanfaatkan dalam berbagai bidang seperti dalam bidang industri, kosmetik, farmasi (sebagai

kolagen tipis untuk penyembuhan luka), dan bidang industri makanan (Schmidt *et al.*, 2016; Arumugam *et al.*, 2018).

Kolagen yang dibentuk oleh tiga polipeptida rantai- $\alpha$  membentuk struktur triple heliks. Tiap rantai- $\alpha$  mengandung sekuens asam amino berulang Glisin-X-Y, yang mana X kebanyakan adalah prolin dan Y kebanyakan adalah hidroksiprolin. Kolagen dicirikan dengan tingginya kandungan asam amino glisin, prolin, dan hidroksiprolin yang penting dalam membentuk struktur triple heliks. Ketiga rantai polipeptida tersebut akan melilit satu sama lain seperti tali dan akan berikatan satu sama lain melalui ikatan silang (*cross linked*), sehingga membentuk kesatuan yang saling menumpuk satu sama lain (*overlapping*) membentuk serabut kolagen ditunjukkan pada gambar 2.3. Struktur inilah yang memungkinkan serabut kolagen memiliki kekuatan meregang (daya regangan) (Schmidt *et al.*, 2016; Duconseille *et al.*, 2015; Albert *et al.*, 2014).



Gambar 2.3 Struktur triple helix kolagen (Albert *et al.*, 2014)

Kolagen dibagi menjadi 29 tipe dan diklasifikasikan berdasarkan struktur susunan supramolekulernya. Kolagen memiliki berbagai susunan supramolekuler meliputi, kolagen pembentuk fibril (*fibril-forming collagen/ FFF*), kolagen pembentuk jaringan (*network-forming collagen/NFC*), kolagen pembentuk filamen yang menyerupai manik-manik (*beaded filament-forming collagen/ BFFC*), kolagen yang berasosiasi dengan membrane (*membrane-associated collagen/MACIT*), kolagen yang berasosiasi dengan fibril (*fibril-associated collagen/ FACIT*), dan kolagen multipleksin (MPC) (Schmidt *et al.*, 2016; Chagnot *et al.*, 2012). Kolagen yang paling melimpah dalam kulit adalah kolagen dengan struktur molekul FFC dan FACIT (Tabel 2.1). Kolagen pembentuk fibril (FFC), memiliki struktur tripel heliks yang dihubungkan oleh ikatan kovalen yang membentuk fibril dan berikatan dengan fibril yang lain membentuk serat kolagen. (Duconseille *et al.*, 2015). Kolagen tipe I (FFC) merupakan kolagen utama yang menyusun komponen jaringan ikat, termasuk tulang dan kulit dan berfungsi untuk proteksi terhadap kerusakan mekanis pada jaringan maupun organ (Tabarestani *et al.*, 2012).

Tabel 2.2 Tipe kolagen dan letaknya (Duconseille *et al.*, 2015)

<b>Tipe</b>	<b>Tipe Struktural</b>	<b>Lokasi</b>	<b>Kelimpahan pada kulit</b>
I	FFC	Kulit, intramuscular, tendon, tulang, gigi, kornea	80-85%
II	FFC	Kartilago, vitreous humor	-
III	FFC	Kulit, intramuscular, vaskuler, intestinum, pembuluh, uterus	10-15%
IV	NFC	Neuromuscular junction, memberan basal	-
V	FFC	Kulit, intramuscular, jaringan embrionik, kornea, tulang	2-4%

VI	BFFC	Kulit (epidermis), sistem vaskuler, tulang, kartilago, kornea	Tidak diketahui
VII	BFFC	Kulit, membrane amniotic, kdanung kemih, oral mukosa, tali pusar, amnion	0.001%
VIII	Jaringan	Kulit, membrane basal, pembuluh, tulang, otak, jantung, ginjal, kartilago	Tidak diketahui
IX	FACIT	Kartilago artikuler, kornea, vitreous	-
X	NFC	Kartilago hipertropik	-
XI	FFC	Kartilago, invertebratal disc	-
XII	FACIT	Kulit, tendon, kartilago	Tidak diketahui
XIII	MACIT	Kulit, tulang, struktur neural, sel endotelia, jantung, mata, otot skeletal	Tidak diketahui
XIV	FACIT	Kulit, pembuluh, tulang, kartilago, mata, saraf, tendon, uterus	Tidak diketahui
XV	MPC	Kulit, kapiler, plasenta, ginjal, jantung, ovary, testis	Tidak diketahui
XVI	FACIT	Kulit, jantung, ginjal, otot halus	Tidak diketahui
XVII	MACIT	Struktur neural	Tidak diketahui
XVIII	MPC	Membran dasar perivaskuler, ginjal, paru-paru, hati	-
XIX	FACIT	Kulit, saraf pusat, membrane basal pada otot tulang, prostat, ginjal, hati, plasenta, kolon	-
XX	FACIT	Epitelium kornea	-
XXI	FACIT	Matriks ekstraseluler pada dinding pembuluh darah,	-

		pembuluh, jantung, lambung, ginjal, otot tulang, plasenta	
XXII	FACIT	Tissue junction	-
XIII	MACIT	Reina, jantung	-
XXIV	FFC	Tulang, kornea	-
XXV	MACIT	Struktur neural, otak, jantung, testis, mata	-
XXVI	BFFC	Testis dan ovarium	-
XXVII	FFC	Kartilago pada dewasa	-
XVIII	BFFC	Jaringan neural	-

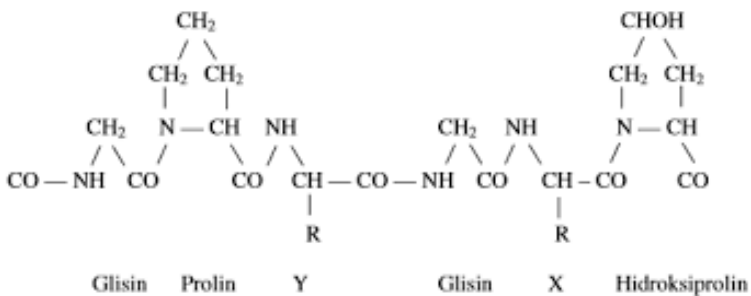
Kolagen memiliki ikatan silang (*crosslinkage*) yang berbeda berdasarkan fungsi dari tiap jaringan, sesuai dengan jenis dan usia hewan. Seperti tulang yang merupakan jaringan padat, memiliki kolagen dengan *crosslink* yang lebih banyak dibanding dengan jaringan longgar sehingga struktur matriks lebih kaku. Selain itu, *crosslink* pada kolagen hewan yang lebih tua lebih tinggi dibanding hewan yang muda, yang berdampak pada elastisitas kulit (Duconseille *et al.*, 2015). Peningkatan umur berpengaruh terhadap stabilitas kolagen, yakni meningkatkan jumlah dan stabilitas ikatan silang, sehingga berpengaruh terhadap stabilitas kolagen ketika didenaturasi. Kolagen dengan ikatan silang yang lebih luas seperti pada hewan yang dewasa, memerlukan proses pemecahan ikatan silang yang lebih untuk denaturasi kolagen hingga menjadi gelatin (Muyonga *et al.*, 2004).

## 2.4 Gelatin

Gelatin merupakan kumpulan beberapa protein dengan berat molekul tinggi yang merupakan derivat dari kolagen. Bahan utama dari gelatin adalah kolagen dari tulang, kartilago, dan kulit mamalia. Gelatin dihasilkan melalui hidrolisis parsial kolagen dengan asam atau basa yang memecah ikatan silang (*cross-linkage*) antara struktur polipeptida fibrosa sehingga menghasilkan gelatin (Eryilmas *et al.*, 2017; Azilawati *et al.*, 2014). Selama proses pemanasan, serat kolagen membentuk struktur heliks dan

kehilangan konformasinya dan sebagian terbentuk kembali akibat pendinginan. Gelatin memiliki struktur yang berbeda dengan kolagen sebab sebagian struktur heliksnya mengalami reformasi (Duconseille *et al.*, 2015). Ketika kolagen dipanaskan di atas suhu transisi, reaksi ketika pemanasan akan menghasilkan campuran protein dan potongan peptida dengan berbagai ukuran. Sehingga gelatin dapat didefinisikan sebagai kolagen yang terhidrolisis sebagian (Lv *et al.*, 2019).

Gelatin terdiri atas kombinasi polimer dengan berat molekul yang berbeda meliputi rantai- $\alpha$  (80-125 kDa) yang tersusun atas satu rantai polimer, rantai- $\beta$  (160-250 kDa) yang tersusun atas dua rantai- $\alpha$  yang secara kovalen berikatan silang, dan rantai -  $\gamma$  (240-375 kDa) yang tersusun atas tiga rantai- $\alpha$  yang secara kovalen berikatan silang. Komposisi asam amino dari gelatin sama dengan komposisi asam amino dari kolagen, yaitu disusun oleh pengulangan dari sekuens Glisin-X-Y, yang mana X merupakan prolin dan Y merupakan hidroksiprolin (gambar 2.4). Glisin terdapat sebesar 27-35%, prolin dan hidroksiprolin sebesar 20-24%, (Huang *et al.*, 2019; Karim dan Bhat, 2009).



Gambar 2.4 Konfigurasi kimia gelatin (Mariod dan Adam, 2013)

Gelatin memiliki suhu leleh (*melting point*) yang relatif lebih rendah dibanding dengan agen pembentuk gel yang lainnya. Gelatin pada umumnya memiliki suhu leleh dibawah 35°C yaitu dibawah suhu tubuh manusia, hal ini yang menyebabkan gel dari gelatin dapat meleleh dalam mulut dan terjadi pelepasan aroma

yang khas dari gelatin (Williams, 2007; Karim dan Bhatt, 2008). Agen pembentuk gel lain seperti pati, alginate, pectin, dan agar adalah karbohidrat dan kebanyakan memiliki suhu leleh yang lebih tinggi dibanding suhu tubuh, oleh sebab itu gel yang dihasilkan tidak dapat meleleh dalam tubuh (Williams, 2007). Selain suhu leleh, sifat fisik yang penting dari gelatin adalah viskositas dan *gel strength* atau kekuatan gel. Viskositas atau kekentalan menunjukkan stabilitas gel, dan gelatin dengan nilai viskositas yang rendah menunjukkan gel yang lemah sedangkan viskositas yang tinggi menghasilkan gel yang lebih konsisten dan kuat (Suryanti *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2014). Kekuatan gel (*gel strength*) adalah ukuran kekuatan dan kekakuan gelatin atau dinyatakan pula sebagai *bloom*. Kekuatan gel berkaitan dengan viskositas, yang menentukan gel yang baik dalam skala industri. Kekuatan gel dipengaruhi oleh berbagai faktor antara lain komposisi asam amino, ukuran rantai protein, konsentrasi gelatin, berat molekul, serta habitat hewan (See *et al.*, 2010; Mariod dan Adam, 2013; Sultana *et al.*, 2018). Kandungan asam amino khususnya prolin dan hidrosiprolin berpengaruh terhadap viskoelastisitas gelatin dan glisin berperan dalam stabilitas gelatin yang mempengaruhi kekuatan gel (Atma, 2017).

Gelatin bersifat padat, larut dalam air, tidak berwarna, tidak berasa, transparan, rapuh dalam kondisi kering, mampu membentuk kekentalan yang tinggi ketika dilarutkan dalam air hangat, dan membentuk gel setelah didinginkan (Lv *et al.*, 2019; Irwandi *et al.*, 2009; Boran dan Regenstein, 2010). Gelatin dapat dimanfaatkan untuk enkapsulasi, produksi kapsul, pembalut luka, dan pembentukan film, sehingga dapat dimanfaatkan dalam bidang farmasi, biomaterial untuk pengemasan makanan, serta dalam industri fotografi (tabel 2.2) (Jongjareonrak *et al.*, 2006).

Tabel 2.3 Penggunaan Gelatin

Bidang	Penggunaan	Referensi
Industri Makanan	Agen pembentuk gel, pembentuk <i>film</i> , emulsifier, stabilizer, pengental, dll.	Mariod dan Adam, 2013
Farmasi	Kapsul gelatin (keras dan lunak), lablet, pengemulsi, mikroenkapsulasi, pembalut luka, pengganti plasma, dan media pertumbuhan bakteri	Milovanovic dan Hayes, 2018
Fotografi	Untuk medium emulsi fotografi	Milovanovic dan Hayes, 2018
Lain-lain	Pembuatan kertas, proses <i>printing</i> , aplikasi koloid, perekat, film dan filter cahaya, dan kosmetik	Milovanovic dan Hayes, 2018

#### 2.4.1 Gelatin Ikan

Gelatin ikan merupakan protein yang diperoleh dari hidrolisis sebagian dari kolagen ikan (Abdelhedi *et al.*, 2019). Sumber utama pembuatan gelatin ikan adalah kulit dan tulang ikan, sebab tinggi kandungan kolagen. Selain itu, kulit dan tulang ikan merupakan limbah utama dari proses pengolahan ikan (Karim dan Bhat, 2009). Gelatin berbahan dasar ikan menjadi alternatif gelatin yang sebagian besar berasal dari kulit babi (46%), kulit sapi (29,4%), tulang (23,1%), dan sumber lain (1,5%) (Apri *et al.*, 2017). Gelatin ikan dapat diterima oleh penganut beberapa keyakinan seperti Judaism dan Islam yang melarang konsumsi produk yang berbahan babi, serta umat Hindu yang tidak mengkonsumsi produk berbahan sapi. Selain itu, gelatin berbahan ikan juga dapat menghindari penyakit sapi gila atau *mad cow disease (bovine spongiform encephalopathy/BSE)* dan penyakit pada mulut dan kaki (*foot-and-mouth disease/FMD*) yang berasal dari hewan mamalia (Karim dan Bhatt, 2009; Kamer *et al.*, 2019).

Produksi gelatin yang bersumber dari ikan telah dilakukan sejak tahun 1960 melalui ekstraksi asam ataupun basa. Gelatin



telah diekstraksi dari kulit dan tulang berbagai ikan air dingin (seperti ikan cod, salmon, hake, ikan Pollock Alaska) dan ikan air hangat (seperti ikan lele, tuna, patin, nila, hiu) (Karim dan Bhatt, 2009). Menurut Muyonga *et al* (2004), gelatin yang dihasilkan dari kulit ikan air hangat memiliki karakteristik fisik yang hampir menyerupai gelatin mamalia dibanding dengan gelatin yang berasal dari ikan air dingin. Gelatin yang berasal dari ikan memiliki kemampuan membentuk gel, suhu leleh (*melting point*), dan kekuatan gel (*gel strenght*) yang lebih rendah bila dibandingkan dengan gelatin mamalia, sebab kandungan asam imino (prolin dan hidroksiprolin) yang lebih rendah (See *et al.*, 2010). Mahmoodani *et al* (2014), menyatakan bahwa keterbatasan gelatin yang berasal dari ikan adalah gel yang dihasilkan cenderung kurang stabil dibanding dengan gelatin yang berasal dari mamalia.

#### **2.4.2 Asam Amino Gelatin Kulit Ikan**

Asam amino adalah komponen utama pembentuk protein atau monomer dari protein dan dibedakan menjadi asam amino esensial dan asam amino non esensial. Asam amino esensial tidak dapat diproduksi di dalam tubuh sehingga harus ditambahkan dalam bentuk asupan makanan, sedangkan asam amino non esensial dapat diproduksi dalam tubuh (Siregar dan Suprayitno, 2019). Asam amino merupakan substrat untuk sintesis protein memiliki peran penting dalam proses biokimia dalam tubuh dan merupakan prekursor penting untuk sintesis berbagai molekul yang diperlukan untuk regulasi berbagai metabolisme seperti reproduksi, pertumbuhan, perkembangan, dan homeostasis (Loo, 2009; Rosmawati *et al.*, 2018).

Asam amino disusun atas karbon  $\alpha$  pada bagian pusat, yang berikatan pada atom hidrogen, gugus amino ( $\text{NH}_2$ ), gugus karboksil ( $\text{COO}^-$ ), dan rantai samping yang memberikan sifat spesifik pada tiap asam amino. Rantai samping tersebut diklasifikasikan berdasarkan kepolaran, dan kandungan residu asam atau basa. (Ray dan Fry, 2015).

Gelatin tersusun atas sekuens asam amino yang khas, yaitu kandungan asam amino glisin, prolin, dan hidroksiprolin yang

tinggi. Kandungan prolin dan hidroksiprolin merupakan komponen penting yang berperan dalam pembentukan gel (Hanani *et al.*, 2012). Ketika protein kolagen mengalami denaturasi menjadi gelatin, struktur molekul asam amino akan menjadi bervariasi, seperti deaminasi glutamin menjadi asam glutamat akibat perlakuan basa, dan deaminasi asparagin menjadi asam aspartat (Duconseille *et al.*, 2015). Komposisi total asam amino mempengaruhi stabilitas dan karakteristik gelatin tergantung pada sumber kolagen (Milovanovic dan Hayes, 2018). Muyonga *et al* (2004), menyatakan bahwa komposisi asam amino pada gelatin bergantung pada jenis spesies yang diekstraksi menjadi gelatin. Tabel 2.3 menunjukkan perbedaan komposisi asam amino pada gelatin ikan dan gelatin komersial yang berasal dari sapi dan babi.

Gelatin yang berasal dari ikan memiliki berbagai asam amino, asam amino aromatik dan asam amino yang mengandung sulfur dalam jumlah yang kecil, tidak terdapat sistein dan triptofan, serta sepertiga residu asam aminonya disusun oleh glisin (Lv *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2017). Asam amino yang melimpah adalah glisin, prolin dan hidroksiprolin. Hidroksiprolin berperan dalam menstabilkan struktur triple heliks pada kolagen dengan membentuk ikatan hidrogen (Berg *et al.*, 2002). Selain prolin dan hidroksiprolin yang berperan signifikan terhadap struktur gelatin, asam glutamat, asam aspartat, lisin, hidroksilisin, arginine, dan histidin juga berperan penting dalam pembentukan *cross-link* dan interaksi elektrostatis (Boran dan Regenstein, 2010).

Penelitian Nasution *et al* (2018), menunjukkan bahwa gelatin kulit ikan patin yang diekstraksi dengan proses basa memiliki komposisi asam amino yang tersusun atas 15 asam amino dengan asam amino tertinggi adalah glisin (18,15%), prolin (12,30%), asam glutamat (10,73%), alanine (9,10%), arginine (8,39%), asam aspartate (5,01%), lisin (4,75%), leusin (2,59%), threonine (2,51%), valin (2,33%), serin (2,24%), fenilalanin (2,20%), isoleusin (1,46%), histidine (0,63%), dan tirosin (0,59%). Perbedaan komposisi asam amino disebabkan oleh perbedaan *cross-link* pada matriks kulit. Pertambahan usia pada ikan dapat

meningkatkan *cross-link* kolagen dalam kulit (Sinthusamran *et al.*, 2015). Silva *et al* (2014), menyatakan bahwa tingginya kandungan asam amino pada gelatin kulit ikan menyebabkan peningkatan pembentukan triple heliks dan stabilitas molekul gelatin, sehingga sifat fisik gelatin juga meningkat.

Tabel 2.4. Perbedaan kandungan asam amino pada gelatin ikan dan gelatin mamalia (residu/1000 total asam amino)

Asam amino	Kulit Ikan Tuna (Haddar <i>et al.</i> , 2012)	Kulit Ikan Nila (Sarabia <i>et al.</i> , 2000)	Gelatin sapi halal (Haddar <i>et al.</i> , 2012)	Gelatin Kulit Babi (Zhang <i>et al.</i> , 2011)
<b>Alanin</b>	<b>114</b>	<b>123</b>	<b>115</b>	<b>116</b>
Arginin	55	47	48	53
Asam aspartate	42.5	47	44	46
Asam glutamate	74	69	74	83
Fenilalanin	12	13	12	14
<b>Glisin</b>	<b>335</b>	<b>79</b>	<b>341</b>	<b>355</b>
Hidroksilisin	5	8	7	-
<b>Hidroksiprolin</b>	<b>83</b>	<b>79</b>	<b>96</b>	<b>86</b>
Histidin	6	6	5	5
Isoleusin	9	8	11	12
Leusin	21	23	25	25
Lisin	27	25	26	29
Metionin	11	9	5	5
<b>Prolin</b>	<b>117</b>	<b>119</b>	<b>123</b>	<b>90</b>
Serin	41	35	29	36
Sistein	0	0	0	1
Threonin	23	24	17	18
Tirosin	3	2	1	3
Valin	23	15	21	24
Asam Imino (Pro + Hyp)	200	198	219	176

### 2.4.3 Gugus Fungsional Gelatin Kulit Ikan

Gugus fungsional adalah gugus spesifik atom dalam suatu molekul yang memberikan kekhasan pada suatu molekul molekul (Chung *et al.*, 2017). Gugus fungsional dapat menunjukkan reaktivitas dan sifat-sifat suatu molekul (Solomon *et al.*, 2014). 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 (Amertaningtyas *et al.*, 2017). Pradarameswari *et al* (2017), 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 (Kumar *et al.*, 2017). 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  $3600-3200\text{ cm}^{-1}$  dan menunjukkan vibrasi peregangan gugus O-H, C-H, dan N-H ketika berikatan dengan ikatan H. Daerah serapan Amida B ditunjukkan dengan bilangan gelombang rentang  $3100-2900\text{ cm}^{-1}$  dan menunjukkan peregangan C-H antisimetris dan simetris. Daerah serapan Amida I merupakan daerah dengan absorbs protein yang paling kuat dan menunjukkan peregangan ikatan C=O dan N-H dan ditemukan pada bilangan gelombang  $1600-1700\text{ cm}^{-1}$  (Jongjareonrak *et al.*, 2008; Garidel dan Schott, 2006; Sinthusamran *et al.*, 2015). Daerah serapan Amida II ditemukan pada panjang gelombang  $1570-1335\text{ cm}^{-1}$  dan menunjukkan pembengkokan N-H dan peregangan  $\text{CH}_2$  (Yakimets *et al.*, 2005). Amida III merupakan kompleks yang ditentukan oleh rantai samping dan ikatan hidrogen, ditemukan pada rentang bilangan gelombang  $1300-1000\text{ cm}^{-1}$  (Li *et al.*, 2014). Analisa gugus fungsi gelatin kulit ikan patin berdasarkan spektrum FTIR (*fourier transform infrared*) yang dilakukan oleh Singh dan

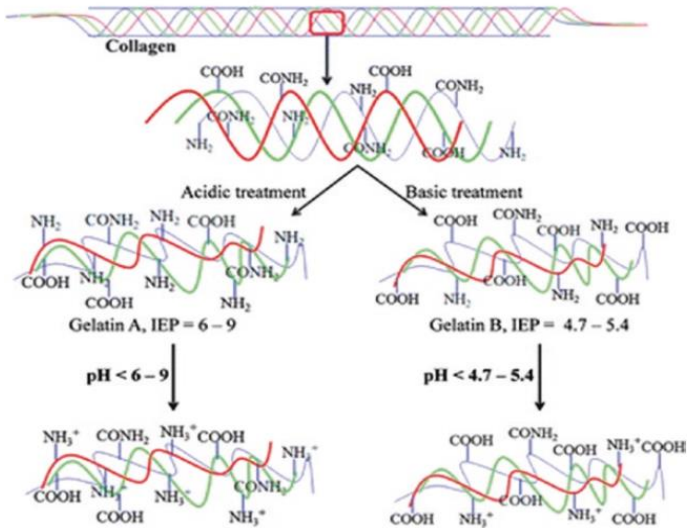
Benjakul (2017), menunjukkan bahwa gugus fungsi gelatin ikan patin berada pada daerah serapan dengan panjang gelombang  $3264\text{ cm}^{-1}$  (amida A),  $1628\text{ cm}^{-1}$  (amida I),  $1555\text{ cm}^{-1}$  (amida II), dan  $1240\text{ cm}^{-1}$  (amida III).

## 2.5 Ekstraksi Gelatin

Ekstraksi bertujuan untuk mengkonversi kolagen menjadi gelatin (Choi dan Regenstein, 2000). Secara umum, proses pembuatan gelatin terdiri dari tiga tahap, yaitu *pretreatment* bahan baku, ekstraksi gelatin, serta pemurnian dan pengeringan. Ekstraksi gelatin merupakan tahap yang paling menentukan kualitas gelatin. Proses ekstraksi dapat mempengaruhi panjang rantai polipeptida dan sifat fungsional dari gelatin. Selain itu, pH, waktu, dan suhu sangat mempengaruhi proses ekstraksi.. (Karim dan Bhat, 2009; See *et al.*, 2010; Mariod dan Adam, 2013).

Tahap *pretreatment* dilakukan dengan perlakuan asam atau basa pada bahan untuk melonggarkan struktur kolagen dengan memecah ikatan silang intramolekuler dan intermolekuler meliputi ikatan kovalen dan ikatan hidrogen. Selain itu, *pre-treatment* juga berfungsi untuk menghilangkan lemak dan bau pada kulit ikan (Boran dan Regenstein, 2010; Monsur *et al.*, 2014). Berdasarkan *pre-treatment* terhadap kolagen, terdapat dua tipe gelatin. Perlakuan asam (*acid treated*) akan menghasilkan gelatin tipe A yang memiliki titik isoelektrik pada pH 6-9, sedangkan perlakuan basa (*alkaline treated*) akan menghasilkan gelatin tipe B yang memiliki titik isoelektrik pada pH 5 (Ahmad dan Benjakul, 2011). Perlakuan asam berfungsi untuk destabilisasi dan memecah ikatan hidrogen pada kolagen yang berbentuk triple heliks. Selain itu, perlakuan asam menyebabkan ketidakstabilan pada *crosslink* dalam kulit ikan, sehingga menghasilkan pembengkakan kulit ikan dan rusaknya ikatan non-kovalen intra dan intermolekuler (Santiz-Gomez *et al.*, 2018; Karim dan Bhatt, 2009). Pada tahap ini terjadi perusakan *crosslink* sehingga terjadi hidrolisis ikatan peptida dan degradasi asam amino (Balti *et al.*, 2011).

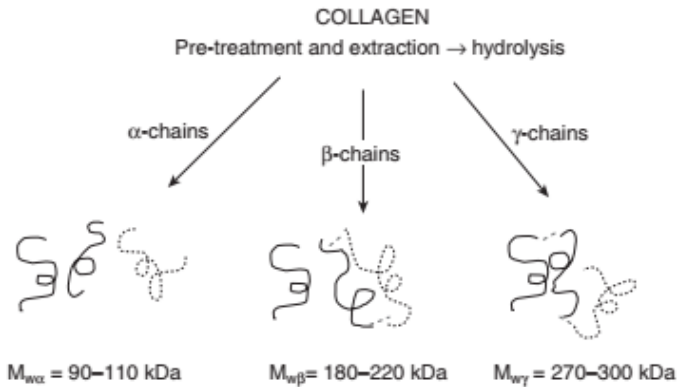
Perlakuan basa untuk menghilangkan protein non-kolagen seperti mukopolisakarida dan komponen yang mengandung sulfur serta untuk menghilangkan pigmen pada kulit (Balti *et al.*, 2011; Monsur *et al.*, 2014; Tinrat dan Asna, 2017). Baik perlakuan asam maupun basa, keduanya bertujuan untuk merusak atau melonggarkan *crosslink* antara rantai  $\alpha$  dan molekul tropokolagen yaitu unit dasar penyusun kolagen (Boran dan Regenstein, 2010). Selama proses *pretreatment* dengan basa seperti NaOH, elektrolit dari basa akan merangsang pemecahan beberapa ikatan pada kolagen dalam kulit, sehingga meningkatkan pelepasan kolagen selama ekstraksi (Monsur *et al.*, 2014). Kolagen hasil *pretreatment* asam dan basa yang kemudian didenaturasi menggunakan panas kemudian dapat larut dalam air dan menjadi gelatin (gambar 2.5) (Mariod, 2016).



Gambar 2.5 Denaturasi kolagen menjadi gelatin (Samal *et al.*, 2012)

Tahap selanjutnya adalah ekstraksi. ekstraksi dilakukan dengan menggunakan air panas pada suhu terkontrol, pada

umumnya lebih tinggi dari 40 °C sebab dibawah suhu tersebut belum terjadi hidrolisis kolagen (Boran dan Regenstein, 2010; Viro, 1992). Pemanasan dengan suhu 40 °C menyebabkan hancurnya ikatan hidrogen dan terpotongnya sejumlah ikatan kovalen yang menstabilkan struktur triple heliks menghasilkan konversi kolagen menjadi gelatin yang larut (Karim dan Bhatt, 2009). Haug dan Draget (2011), menyatakan bahwa suhu optimum untuk melakukan ekstraksi gelatin adalah 55-100 °C. Suhu yang lebih tinggi akan menyebabkan lebih banyak rantai asam amino terputus. Hal ini disebabkan hidrolisis kolagen yang terus menerus yang telah menjadi gelatin dan menyebabkan rantai pendek asam amino sehingga kekuatan gel menjadi rendah. Asam amino rantai pendek menyebabkan interaksi yang lebih rendah dengan molekul air dan tidak dapat terbentuk menjadi gel (Pradarameswari *et al.*, 2017). Selain suhu, waktu ekstraksi juga mempengaruhi kualitas gelatin. Penelitian Arnesen dan Gildberg (2007), menunjukkan bahwa peningkatan waktu ekstraksi menyebabkan peningkatan *yield* dari gelatin ikan salmon Atlantik. Ketika kolagen dipanaskan dalam periode dan suhu tertentu, struktur triple heliks akan terbuka (*unfold*) dan kolagen akan terpecah menjadi rantai polipeptida yang tidak beraturan (Mariod, 2016). Kombinasi antara *pretreatment* dan ekstraksi menghasilkan produk gelatin dengan komposisi dan berat molekul yang berbeda (gambar 2.7) (Haug dan Graget, 2011).

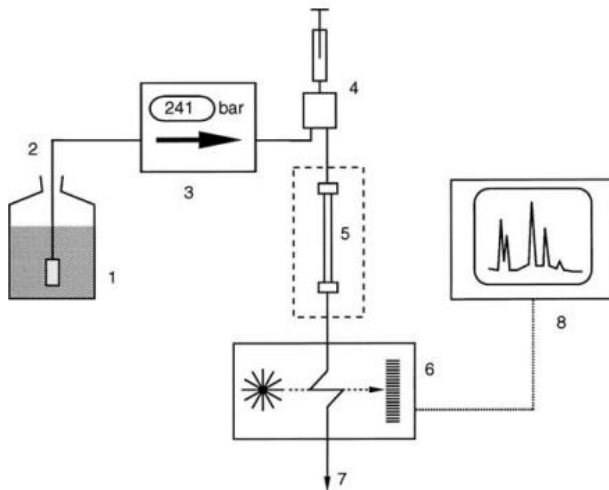


Gambar 2.6 Gelatin terdiri dari berbagai rantai peptida (Haug dan Draget, 2011)

## 2.6 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

*High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) merupakan instrument kromatografi cair yang digunakan untuk pemisahan partikel. HPLC dapat diterapkan untuk menganalisis senyawa dengan sifat yang berbeda dari massa molekul rendah hingga senyawa dengan massa molekul yang sangat tinggi. Pemisahan dengan HPLC dilakukan dengan melewati campuran yang dilarutkan dalam fase gerak melalui bahan lain yang disebut fase diam. Jenis kromatografi cair dapat ditentukan berdasarkan sifat, struktur kimia, dan berat molekul senyawa yang dianalisis (Sancez *et al.*, 2018; Aribas dan Polo, 2003). HPLC menggunakan kolom untuk menampung senyawa fase diam, pompa yang menggerakkan senyawa fase gerak melalui kolom, dan detektor yang menunjukkan waktu retensi molekul (Malviya *et al.*, 2010). Komponen HPLC ditunjukkan pada gambar 2.7 yang secara umum terdiri atas pompa, injector, kolom, detektor, dan sistem data.





Gambar 2.7 Komponen HPLC. 1 : resevoir pelarut; 2 : saluran transfer; 3 : pompa; 4 : perangkat injeksi sampel; 5 : kolom; 6 : detektor; 7 : limbah; 8 : akuisisi data (Meyer, 2009)

Prinsip kerja HPLC adalah pemisahan komponen analit berdasarkan kepolarannya, setiap campuran yang keluar akan dideteksi dengan detektor dan direkam dalam bentuk kromatogram. Dimana jumlah peak menyatakan jumlah komponen, sedangkan luas peak menyatakan konsentrasi komponen dalam campuran (Kusuma dan Ismanto, 2016). HPLC banyak diaplikasikan dalam berbagai bidang meliputi bidang farmasi, forensik, lingkungan, dan bidang kesehatan. Metode HPLC digunakan dalam pemisahan dan pemurnian senyawa, pengendalian stabilitas obat, kuantifikasi sampel biologis, analisis senyawa, dll (Thammana, 2016).

Berdasarkan fasenya HPLC dibedakan menjadi HPLC fase normal (*Normal phase HPLC/ NP-HPLC*) dan HPLC fase terbalik (*Reverse phase HPLC/ RP-HPLC* atau *RPC*). HPLC fase normal memisahkan analit berdasarkan polaritas. HPLC fase normal menggunakan senyawa polar sebagai fase diam dan senyawa non

polar sebagai fase gerak. Saat ini, HPLC fase normal banyak digunakan untuk analisa senyawa polifenol dari tanaman (Malviya *et al.*, 2010). HPLC fase terbalik (RP-HPLC atau RPC) memiliki fase stasioner non-polar dan fase mobile, agak polar. HPLC fase terbalik (RP-HPLC) memiliki fase diam non-polar dan fase gerak polar, sehingga senyawa non polar ditahan oleh fase diam lebih kuat dibanding senyawa polar. Hal ini menyebabkan senyawa yang lebih polar akan keluar dahulu dan memiliki waktu retensi yang lebih singkat. RP-HPLC atau HPLC fase terbalik telah banyak digunakan untuk pemisahan, pemurnian, dan analisis protein dan peptida, sebab mampu memisahkan berbagai sekuens polipeptida bahkan sekuens yang hampir identik (Bartos *et al.*, 2015).

## **2.7 Fourier Transform Infrared (FTIR)**

*Fourier transform infrared* (FTIR) *spectroscopy* merupakan metode identifikasi ikatan kimia menggunakan spektrum inframerah (IR) yang diserap oleh material dan dinyatakan sebagai bilangan gelombang. Spektroskopi FTIR menghasilkan spektrum yang mengkarakterisasi vibrasi (gerakan) pada ikatan dalam molekul untuk analisis struktur berbagai material. Tiap spektrum menunjukkan struktur kimia spesifik pada sampel tertentu yang dapat dijadikan informasi untuk identifikasi (Munajad *et al.*, 2018; Beasley *et al.*, 2014). Spektrum IR (*infrared*) memberikan informasi mengenai gugus fungsional yang ada dalam molekul. Pita-pita absorpsi spesifik yang menunjukkan adanya gugus fungsional tertentu. Jika tidak ada karakterisasi absorpsi, maka gugus fungsional tidak bisa diamati (Solomon *et al.*, 2008).

Spektrum FTIR menunjukkan pengukuran panjang gelombang dan intensitas absorpsi radiasi IR pada sampel (Kong dan Yu, 2007). Molekul-molekul selalu bergerak. Ikatan-ikatan antar atom bervibrasi (*stretch, bend, rock, wag, twist*). Senyawa organik menyerap radiasi IR. Tipe-tipe ikatan yang berbeda (dalam gugus fungsional yang berbeda) menyerap radiasi IR dalam frekuensi yang berbeda, menyebabkan meningkatnya amplitudo

vibrasi ikatan (Banwell dan McCash, 1994). Terdapat dua macam teknik preparasi sampel untuk FTIR, yaitu *attenuated total reflection* (ATR) dan *diffuse reflectance infrared Fourier transform* (DRIFT) yang digunakan untuk analisis spektrum pada sampel (Munajad *et al.*, 2018; Beasley *et al.*, 2014).

FTIR telah banyak digunakan dalam industri makanan, sebab memiliki sensitifitas tinggi terhadap kontaminan pada makanan, relatif murah, cepat, dan sederhana. Selain itu, FTIR merupakan metode non destruktif pada sampel dan tidak memerlukan *pretreatment* (Eryilmaz *et al.*, 2017; Zihadia *et al.*, 2018). FTIR dapat digunakan untuk karakterisasi sampel berupa cairan, larutan, serbuk, padatan, serat, film, maupun gas. (Nandiyanto *et al.*, 2019). Muyonga *et al* (2004), menggunakan metode FTIR untuk mengamati gugus fungsi pada kolagen dan gelatin, sebab spektroskopi inframerah sensitif terhadap gugus fungsi spesifik pada polimer.



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Maret 2020 – Juni 2020. Ekstraksi gelatin dilakukan di Laboratorium Zoologi dan Rekayasa Hewan, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Analitika Data. Analisis gugus fungsional gelatin dilakukan di Laboratorium Karakterisasi Material, Departemen Material dan Metalurgi, Fakultas Teknik Industri dan Rekayasa Sistem, Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Analisa kemurnian gelatin dilakukan di *Microbial Genetics Department*, University of Tuebingen.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

Peralatan yang akan digunakan dalam penelitian ini meliputi pisau, meteran, labu Erlenmeyer, spatula, cawan petri, kain saring, neraca analitik, gelas beaker, kaca arloji, *Freeze Dryer*, FTIR, dan HPLC.

Bahan-bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini meliputi kulit ikan patin, akuades,  $\text{CH}_3\text{COOH}$  0,12 mol,  $\text{NaOH}$  0,2 mol, gelatin komersial (halal), kalium bromide (Kbr).

#### **3.3 Metode yang Digunakan**

##### **3.3.1 Preparasi Kulit Ikan Patin**

Kulit ikan patin dengan ukuran yang berbeda meliputi ikan kecil (total ukuran panjang tubuh  $38,9 \pm 0,5$  cm dengan rata-rata berat  $454,6 \pm 17,1$  gram) dan ikan besar (total ukuran panjang tubuh  $48,6 \pm 1,9$  cm dengan rata-rata berat  $1.194 \pm 27,0$  gram) 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  $-20$  °C.

### 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  $\text{CH}_3\text{COOH}$  0,12 mol 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  $\text{NaOH}$  0,2 mol 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). Perlakuan untuk *pretreatment* dan ekstraksi gelatin dilakukan pada sampel berdasarkan penelitian Alfariy (2019) yang menghasilkan gelatin kulit ikan patin dengan nilai *yield* tertinggi (tabel 3.1 dan 3.2).

Kulit hasil *pretreatment* dimasukkan dalam aquades dengan rasio berat kulit/aquades 1/10 dan dipanaskan menggunakan *waterbath* dengan suhu  $40^{\circ}\text{C}$  -  $70^{\circ}\text{C}$  selama 60 menit untuk kulit ikan ukuran kecil dan 90 menit untuk kulit ikan ukuran besar. Hasil ekstraksi kemudian disaring dan didiamkan selama  $\pm 2$  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  $-35^{\circ}\text{C}$  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 (Alfariy, 2019).

Tabel 3.1 Perlakuan ekstraksi gelatin kulit ikan patin ukuran kecil

Kode sampel	X1	X2	X3
2K	60	60	70
3K	50	50	55
4K	60	60	40
8K	50	33	55
10K	60	40	70
17K	60	40	40

Keterangan : X1 : Waktu perendaman asam (menit); X2 : Waktu perendaman basa (menit); X3 : Suhu Ekstraksi ( $^{\circ}\text{C}$ )

Tabel 3.2 Perlakuan ekstraksi gelatin kulit ikan patin ukuran besar

Kode sampel	X1	X2	X3
2B	60	60	70
4B	60	60	40
5B	50	50	55
9B	66	50	55
10B	60	40	70
19B	40	40	70

Keterangan : X1 : Waktu perendaman asam (menit); X2 : Waktu perendaman basa (menit); X3 : Suhu Ekstraksi ( $^{\circ}\text{C}$ )

### 3.3.5 Analisis Kemurnian Gelatin

Gelatin yang telah dipurifikasi dianalisis menggunakan *reversed-phase preparative* HPLC (RP-HPLC) pada kolom Eclipse XDB-C18 (Agilent) dengan laju aliran 1.5 mL/menit dengan gradien linear dari 0,1% asam fosfat menjadi asetonitril selama 15 menit. Kemurnian dihitung dengan membandingkan gelatin yang telah dipurifikasi dengan gelatin komersial (Sigma Aldrich<sup>®</sup>).

### 3.3.4 Analisis Gugus Fungsional Gelatin

Analisis gugus fungsional gelatin dilakukan dengan uji FTIR (*Fourier transform infrared*) di Laboratorium Karakterisasi Material, Departemen Material dan Metalurgi, Fakultas Teknik Industri dan Rekayasa Sistem. Gelatin kulit ikan yang telah kering ( $\pm 30\text{-}40$  mg) dicampur dengan kalium bromida (KBr) ( $\pm 1.5$  mg) dan dihaluskan menggunakan alu dan mortar. Serbuk kemudian diletakkan pada cetakan berdiameter 13 mm dan dibuat menjadi pelet dengan menggunakan alat penempa hidrolik dengan tekanan 5000-10000 psi. Pelet hasil cetakan dilepas dengan hati-hati dan ditempatkan pada wadah sampel FTIR. Sampel dianalisis gugus fungsional dengan wilayah serapan gelombang  $4000 - 400\text{ cm}^{-1}$  dengan resolusi  $2\text{ cm}^{-1}$  (Kamer *et al.*, 2019).

### 3.4 Analisis Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari analisis kuantitatif dan kualitatif. Analisis kemurnian gelatin dengan metode HPLC dilakukan secara kualitatif dengan membandingkan kromatogram gelatin sampel dengan kromatogram gelatin komersial yang berfungsi sebagai standart berdasarkan waktu retensinya. Sedangkan untuk analisa kuantitatif dilakukan berdasarkan perbandingan pengukuran luas puncak dari sampel dengan luas puncak dan konsentrasi sampel pembanding (gelatin komersial). Rumus yang digunakan sebagai berikut:

$$C_x = \frac{A_x}{A_p} \times C_p$$

Keterangan :

A = *peak area* = luas puncak

C = konsentrasi

X = sampel

P = pembanding



Analisis gugus fungsi gelatin yang diperoleh dari uji FTIR dilakukan dengan memasukkan nilai bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ ) sesuai dengan daerah serapan amida A, B, I, II, dan III. Kemudian data akan dianalisis secara kualitatif untuk menentukan gugus fungsi gelatin berdasarkan nilai bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ ) yang dihasilkan.



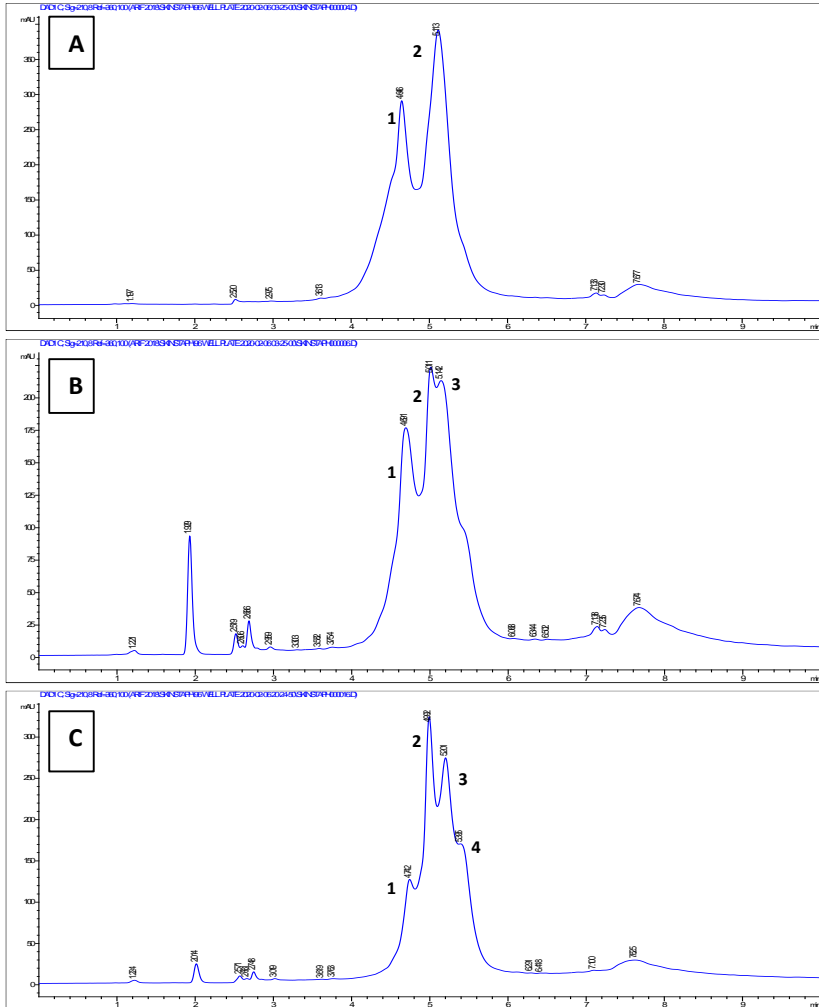
## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1 Analisis Kemurnian Gelatin Kulit Ikan Patin**

Kemurnian gelatin kulit ikan patin ukuran besar dan kecil diperoleh dari membandingkan luas area (*peak*) kromatogram gelatin sampel dengan gelatin komersial yang ditunjukkan pada gambar 4.1. Dimana pada kromatogram, sumbu X menunjukkan waktu retensi (*retention time*) dan sumbu Y menunjukkan intensitas absorbansi sampel yang dinyatakan dalam satuan mAU (*milli absorbance unit*). Gambar 4.1 (A) menunjukkan bahwa waktu retensi gelatin komersial berada pada rentang 4-6 menit yang ditunjukkan dengan area (*peak*) terluas pada kromatogram. Luas area (*peak*) tersebut kemudian dibandingkan dengan luas area kromatogram sampel gelatin kulit ikan patin ukuran kecil (gambar 4.1B) dan besar (gambar 4.1C). Detail perbandingan kromatogram gelatin kulit ikan patin ukuran kecil dan besar dapat dilihat pada lampiran 1 dan 2.

Prinsip kerja HPLC adalah pemisahan komponen analit berdasarkan kepolarannya, setiap campuran yang keluar akan dideteksi dengan detektor dan direkam dalam bentuk kromatogram. Dimana jumlah *peak* menyatakan jumlah komponen, sedangkan luas *peak* menyatakan konsentrasi komponen dalam campuran (Kusuma dan Ismanto, 2016). Pada HPLC fase terbalik, senyawa polar memiliki waktu retensi yang lebih singkat dibanding senyawa non polar (Bartos *et al.*, 2015). Waktu retensi ( $t_R$ ) menunjukkan selang waktu yang diperlukan analit melewati kolom setelah dilakukan injeksi. Semakin lama waktu retensi pada kromatogram HPLC fase terbalik menunjukkan senyawa penyusun yang semakin non-polar (Susanti dan Dachriyanus, 2017).



Gambar 4.8 Kromatogram hasil purifikasi gelatin standart (A) dan gelatin sampel (B;C) memiliki hidrofobisitas yang sama pada waktu retensi menit ke 4-6. Gelatin kulit ikan patin ukuran besar (C) memiliki jumlah *peak* pada waktu retensi menit ke 4-6 yang lebih banyak dibanding gelatin standart (A) dan gelatin kulit ikan patin ukuran kecil (B). Angka menunjukkan perbedaan jumlah *peak* pada waktu retensi 4-6 menit

Berdasarkan kromatogram hasil HPLC pada gambar 4.1 semua sampel gelatin memiliki luas area (*peak*) paling luas pada waktu retensi 4-6 menit. Kim *et al* (2005), menyatakan bahwa waktu retensi dari uji HPLC fase terbalik menunjukkan karakteristik hidrofobisitas atau polaritas senyawa yang diuji dalam penelitian ini adalah gelatin. Pada gelatin standart (gambar 4.1A) pada waktu retensi menit ke 4-6 terdapat 2 *peak*, sedangkan pada kromatogram sampel gelatin ukuran kecil terdapat 3 *peak* (gambar 4.1B) dan terdapat 4 *peak* pada sampel gelatin ukuran besar (gambar 4.1C). Hal tersebut menunjukkan bahwa pada gelatin standart dan sampel gelatin memiliki jumlah komponen penyusun yang berbeda. Sampel gelatin kulit ikan patin ukuran besar memiliki jumlah *peak* lebih banyak dibanding gelatin kulit ikan patin ukuran kecil. Perbedaan jumlah *peak* pada kromatogram gelatin menunjukkan perbedaan kompleksitas senyawa yang menyusun gelatin (Meyer, 2009). Konsentrasi komponen penyusun gelatin dapat diketahui melalui pemisahan senyawa berdasarkan polaritasnya. Dimana luas area *peak* menunjukkan konsentrasi dari komponen penyusun gelatin (Bottcher *et al.*, 2019).

Kemudian dilakukan perbandingan luas area (*peak*) kromatogram gelatin sampel dengan gelatin standart menggunakan *software* pada komputer HPLC. Luas *peak* menyatakan konsentrasi komponen dalam campuran (Kusuma dan Ismanto, 2016). Sehingga dalam menentukan kemurnian gelatin dilakukan perbandingan konsentrasi komponen pada sampel gelatin dengan gelatin standart. Hasil penghitungan kemurnian gelatin kulit ikan patin ukuran kecil dan besar ditampilkan pada tabel 4.1

Tabel 4.1 Hasil kemurnian gelatin kulit ikan patin ukuran besar cenderung memiliki nilai kemurnian lebih tinggi dibanding gelatin kulit ikan patin ukuran kecil

Sampel gelatin kulit ikan patin	Kode Sampel	Kemurnian (%)
Ukuran Kecil	2K	65,81
	3K	48,85
	4K	34,36
	8K	86,24
	10K	66,52
	17K	70,52
Ukuran Besar	<b>2B</b>	<b>71,38</b>
	<b>4B</b>	<b>68,17</b>
	<b>5B</b>	<b>82,65</b>
	<b>9B</b>	<b>85,59</b>
	<b>10B</b>	<b>85,18</b>
	<b>19B</b>	<b>67,57</b>

Berdasarkan hasil pengujian kemurnian gelatin pada tabel 4.1 diketahui bahwa kemurnian gelatin kulit ikan patin ukuran kecil berkisar antara 34,36-86,24%. Sampel 8K memiliki nilai kemurnian gelatin tertinggi dan nilai kemurnian gelatin terendah pada sampel 4K. Sedangkan pada tabel 4.2 diketahui bahwa kemurnian gelatin kulit ikan patin ukuran besar berkisar antara 67,57-85,59%. Nilai kemurnian gelatin kulit ikan patin ukuran besar terdapat pada sampel 9B dan nilai terendah pada sampel 19B. Kemurnian gelatin kulit ikan patin ukuran besar cenderung lebih tinggi dibanding gelatin kulit ikan patin ukuran kecil. Hasil pengujian kemurnian gelatin dipengaruhi oleh luas area *peak* pada kromatogram, yang mana dipengaruhi oleh perbedaan polaritas atau hidrofobisitas senyawa penyusun sampel (Zhang *et al.*, 2009). Hidrofobisitas atau polaritas gelatin menentukan karakteristik permukaan gelatin (Theerawitayaart *et al.*, 2019). Karakteristik permukaan gelatin berkaitan dengan rantai samping yang dimiliki gelatin. Seperti protein yang memiliki gugus bermuatan tertentu pada asam amino hidrofilik ataupun hidrofobik. Komposisi asam

amino gelatin berdasarkan hidrofobitasnya ditampilkan pada tabel 4.2

Tabel 4.2 Asam amino pada gelatin berdasarkan perbedaan hidrofobitas (Schrieber dan Gareis, 2007).

<b>Asam amino</b>	<b>Hidrofilik</b>	<b>Hidrofobik</b>	<b>Keterangan</b>
Alanin		+	Alifatik, rantai samping non-polar
Arginin	+		Basa
Asam aspartat	+		Asam
Asam Glutamat	+		Asam
Asparagin	+		Rantai samping sedikit polar
Fenilalanin		+	Aromatik, rantai samping non-polar
Glisin		+	Alifatik, rantai samping non-polar
Glutamin	+		Rantai samping sedikit polar
Hidroksilisin	+		Basa
Hidroksiprolin		+	Rantai samping sedikit polar
Histidin	+		Basa
Isoleusin		+	Rantai samping non-polar
Leusin		+	Rantai samping non-polar
Lisin	+		Basa
Metionin		+	Alifatik, rantai samping non-polar
Prolin		+	Rantai samping non-polar
Serin	+		Rantai samping sedikit polar
Threonin	+		Rantai samping sedikit polar
Tirosin	+		Aromatik, rantai samping non-polar
Valin		+	Rantai samping non-polar

Komposisi asam amino mengacu pada karakteristik tiap asam amino yang menunjukkan polaritas, hidrofobitas, residu, dan kecenderungan untuk membentuk struktur sekunder (Tsai, 2002). Selain itu, kandungan asam amino polar dan non-polar

mempengaruhi kelarutan gelatin dalam air (Kanwate dan Kudre, 2017). Perbandingan komposisi asam amino pada gelatin kulit ikan patin dan gelatin mamalia ditampilkan pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Perbandingan komposisi asam amino gelatin kulit ikan patin dan gelatin mamalia (mg/g) yang sebagian besar tersusun atas asam amino non polar

Asam amino	Gelatin Kulit Ikan Patin (Jamilah et al., 2011)	Gelatin sapi halal (Haddar et al., 2012)	Gelatin Kulit Babi (Zhang et al., 2011)
<b>Alanin<sup>a</sup></b>	<b>96</b>	<b>115</b>	<b>116</b>
Arginin	79	48	53
Asam aspartat	46	44	46
Asam Glutamat	78	74	83
Fenilalanin	26	12	14
<b>Glisin<sup>a</sup></b>	<b>209</b>	<b>341</b>	<b>355</b>
Hidroksilislin	-	7	-
Hidroksiprolin	-	96	86
Histidin	-	5	5
Isoleusin	16	11	12
Leusin	36	25	25
Lisin	25	26	29
Metionin	22	5	5
<b>Prolin<sup>a</sup></b>	<b>136</b>	<b>123</b>	<b>90</b>
Serin	30	29	36
Sistein	-	0	1
Threonin	36	17	18
Tirosin	6	1	3
Valin	23	21	24

Keterangan :

- : tidak terdeteksi

<sup>a</sup>Asam amino yang paling banyak dalam gelatin dan merupakan asam amino non polar (Schrieber dan Gareis, 2007)

Berdasarkan tabel 2.4 dan 4.3, asam amino yang paling banyak terdapat pada gelatin adalah glisin, prolin, alanin, dan hidroksiprolin. Glisin dan prolin adalah dua asam amino utama yaitu hampir seperempat dari total asam amino (Gomes-Guillen *et*



*al.*, 2009). Gelatin dibuat dari hidrolisis parsial kolagen. Rantai  $\alpha$  pada kolagen umumnya mempunyai sekuen berulang glisin-X-Y. Prolin sering terjadi pada posisi X dan hidroksiprolin hampir selalu pada posisi Y. Glisin menyusun hampir sepertiga struktur kolagen. Hal ini dikarenakan glisin hadir dalam tiap tiga residu asam amino pada kolagen dan berperan dalam pembentukan rantai tripel heliks kolagen. Sebagian besar asam amino pada kolagen merupakan asam amino non-polar (glisin, prolin, dan alanin), hal tersebut menyebabkan karakteristik dari kolagen yang sulit larut dalam air (Schrieber dan Gareis, 2007; Ardhani *et al.*, 2019). Perbedaan ukuran tubuh ikan menyebabkan perbedaan komposisi asam amino gelatin hasil ekstraksi (Sinthusamran *et al.*, 2015). Tabel 4.4 menunjukkan perbandingan komposisi asam amino gelatin kulit ikan patin yang diekstraksi dari ukuran yang berbeda.

Tabel 4.4 Perbandingan kandungan asam amino gelatin kulit ikan patin (g/100 gram protein)

Asam Amino	Ikan patin ukuran 1,2 – 1,5 kg (Mahmoodani <i>et al.</i> , 2014)	Ikan patin ukuran 400-500 g (Nasution <i>et al.</i> , 2018)
Alanin	-	9,10
Arginin	7,55	8,39
Asam aspartat	5,33	5,01
Asam Glutamat	7,94	10,73
Fenilalanin	1,85	2,20
<b>Glisin<sup>a</sup></b>	<b>23,34</b>	<b>18,15</b>
Hidroksiprolin	6,31	-
Histidin	0,75	0,63
Isoleusin	1,64	1,46
Leusin	2,74	2,59
Lisin	3,51	4,75
Metionin	7,48	-
<b>Prolin<sup>a</sup></b>	<b>11,7</b>	<b>12,30</b>
Serin	3,62	2,24
Sistein	0,01	-
Threonin	3,25	2,51

Tirosin	0,61	0,59
Valin	2,68	2,33

Keterangan :

- : tidak terdektesi

<sup>a</sup>Asam amino yang paling banyak dalam gelatin dan merupakan asam amino non polar (Schrieber dan Gareis, 2007)

Berdasarkan penelitian Mahmoodani *et al* (2014), melaporkan bahwa pada gelatin kulit ikan patin yang diekstraksi dari ikan ukuran 1,2-1,5 kg terdapat kandungan asam amino glisin dan prolin Penelitian Nasution *et al* (2018), juga melaporkan bahwa pada gelatin kulit ikan patin yang diekstraksi dari ikan dengan ukuran 400-500 gram, kandungan asam amino yang tertinggi adalah prolin dan glisin. Ukuran tubuh berkorelasi dengan usia ikan (FAO, 2009). Semakin bertambahnya umur, kandungan kolagen pada kulit ikan memiliki ikatan silang yang lebih banyak, sehingga komposisi asam amino juga akan meningkat (Devi *et al.*, 2017). Sehingga kemurnian gelatin pada ikan yang dewasa lebih tinggi.

Abdelhedi *et al* (2019), menyatakan bahwa gelatin kaya akan kandungan asam amino hidrofobik atau non polar, seperti prolin, glisin, dan leusin, sehingga tidak mudah larut dalam air. Selain itu asam amino non-polar atau hidrofilik juga berperan signifikan terhadap struktur gelatin, seperti asam glutamat, asam aspartat, lisin, hidroksilisin, arginin, dan histidin yang berperan penting dalam pembentukan *crosss-link* dan interaksi elektrostatik (Boran dan Regenstein, 2010). Komposisi asam amino yang khas pada gelatin adalah mengandung metionin, histidin, dan tirosin dalam jumlah sedikit dan tidak mengandung dan sistein, sebab sistein bukan penyusun dari kolagen tipe I seperti kulit (Balti *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2014). Kolagen mengandung asam amino aromatik dan asam amino mengandung sulfur dalam jumlah sedikit (0-0,6%), oleh karena itu pada gelatin ikan mengandung sedikit asam amino tirosin dan triptofan (Lv *et al.*, 2019). Residu lisin dan hidroksilisin membentuk derivat aldehid melalui deaminasi oksidatif yang bersifat responsif terhadap reaksi *cross-linking* kovalen intermolekuler, terutama pada daerah non-heliks. Hidroksilisiin

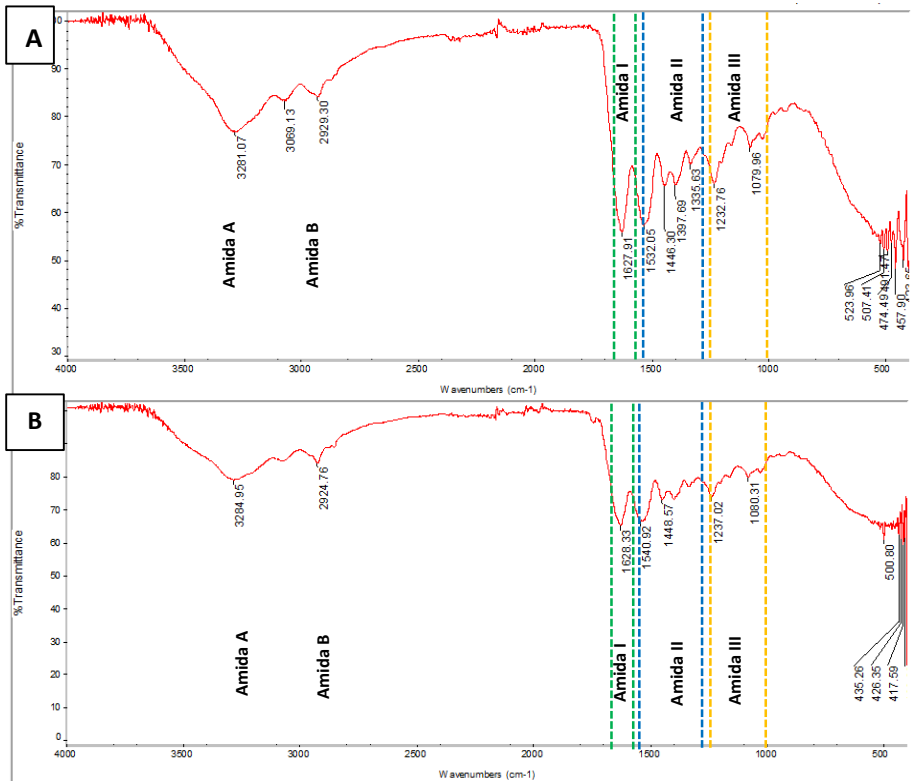
membentuk *crosslink* yang lebih stabil dibanding *crosslink* yang dibentuk oleh lisin (Balti *et al.*, 2011). Pembentukan *crosslink* dapat dimediasi oleh ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan ikatan elektrostatik (Kirti dan Khora, 2015).

Struktur tripel heliks pada gelatin mengalami renaturasi, yang mana melibatkan asam imino yang tersusun atas prolin dan hidroksiprolin. Kandungan asam imino mempengaruhi stabilitas kolagen. Hidroksiprolin berperan dalam stabilitas tripel heliks kolagen berkaitan dengan kemampuan membentuk ikatan hidrogen melalui gugus hidroksil (Balti *et al.*, 2011). Pembentukan ikatan hidrogen antara molekul air dan gugus hidroksil pada asam amino gelatin berpengaruh terhadap kekuatan gel. Selain itu, kekuatan gel juga dipengaruhi oleh kandungan asam imino, sebab makin tinggi asam imino makin banyak kandungan gugus hidroksil bebas pada asam amino penyusunnya (Jeyashakila *et al.*, 2012). Badii dan Howell (2006), melaporkan bahwa asam amino hidrofobik meliputi alanin, valin, leusin, prolin, fenilalanin, dan metionin berperan dalam meningkatkan kekuatan gel pada gelatin kulit ikan nila. Komposisi asam amino hidrofobik dipengaruhi oleh kondisi ekstraksi, yang mana mempengaruhi karakter fisik gelatin termasuk kandungan asam imino (Karim dan Bhatt, 2009). Perbedaan komposisi asam amino dapat berkaitan dengan perbedaan *crosslink* pada matriks kulit, yang mana jumlah *crosslink* dapat meningkat dengan peningkatan usia atau ukuran ikan (Sinthusamran *et al.*, 2015).

#### **4.2 Analisis Spektrum FTIR Gelatin Kulit Ikan Patin**

Analisis spektrum FTIR (*Fourier Transform Infrared*) dilakukan untuk memastikan produk yang dihasilkan adalah gelatin dengan melihat gugus fungsinya (Rosida *et al.*, 2018). Spektroskopi FTIR menghasilkan spektrum yang mengkarakterisasi vibrasi (gerakan meliputi *stretch*, *bend*, *rock*, *wag*, *twist*) pada ikatan dalam molekul untuk analisis struktur berbagai material (Munajad *et al.*, 2018; Banwell dan McCash, 1994). Kumar *et al* (2017), menyatakan bahwa spektrum FTIR

dapat digunakan untuk memperoleh informasi mengenai protein yang berkaitan dengan gugus fungsional dan struktur sekunder seperti  $\alpha$ -heliks dan  $\beta$ -sheet. Karakteristik absorpsi IR pada polipeptida dan protein adalah adanya pita-pita absorpsi yang dinamakan amida A, B dan amida I-VII (Kong dan Yu, 2007). Gelatin diperoleh dari ekstraksi protein yang berasal dari kolagen hewan (Duconseille *et al.*, 2015). Spektrum yang menunjukkan denaturasi kolagen yaitu adanya perubahan daerah serapan amida A, amida B, amida I, amida II, dan amida III (Muyonga *et al.*, 2004, Ahmad dan Benjakul, 2011, Sinthusamran *et al.*, 2015). Perbedaan spektrum FTIR gelatin kulit ikan patin berukuran besar dan kecil ditampilkan pada tabel 4.5 dan 4.6, gambar 4.2, serta detail hasil spektrum FTIR dapat dilihat pada Lampiran 3 dan 4.



Gambar 4.2 Spektrum FTIR gelatin kulit ikan patin ukuran besar (A) dan kecil (B) memiliki daerah serapan amida A, amida B, amida I, amida II, dan amida III (nilai bilangan gelombang ditampilkan pada tabel 4.5 dan 4.6)

Tabel 4.5 Hasil spektrum FTIR gelatin kulit ikan patin ukuran kecil memiliki nilai bilangan gelombang yang relatif sama dengan gelatin kulit ikan patin ukuran besar (lihat tabel 4.6)

Daerah serapan	Bilangan Gelombang (cm <sup>-1</sup> )						Keterangan
	2K	3K	4K	8K	10K	17K	
Amida A	3279,77	3281,38	3280,30	3282,27	3284,95	3275,91	Regangan NH; Gugus O-H
Amida B	2924,80	2924,63	2924,22	3069,13 2926,07	2924,76	2921,82	Regangan CH <sub>2</sub> antisimetris
Amida I	1633,49	1628,50	1631,15	1628,70	1628,33	1633,24	Regangan C=O; Gugus O-H yang berpasangan dengan COO
Amida II	1538,68	1535,39	1536,47	1541,27	1540,92	1538,76	Regangan CN; NH bending
	1447,18	1448,56	1450,02	1448,86	1448,57	1454,95	CH <sub>2</sub> bending
	1398,01	1389,26	1401,20	1399,82		1370,56	CH <sub>2</sub> wagging pada prolin
	1335,38		1336,05	1335,24			
Amida III	1237,94	1236,05	1237,66	1236,66	1237,02	1236,56	Regangan CN; NH bending
	1080,39	1079,96	1080,79	1079,93	1080,31	1079,93	

Tabel 4.6 Hasil spektrum FTIR gelatin kulit ikan patin ukuran besar memiliki nilai bilangan gelombang yang relatif sama dengan gelatin kulit ikan patin ukuran kecil (lihat tabel 4.5)

Daerah serapan	Bilangan Gelombang (cm <sup>-1</sup> )						Keterangan
	2B	4B	5B	9B	10B	19B	
Amida A	3275,93	3276,78	3270,32	3282,92	3281,07	3294,56	Regangan NH; Gugus O-H
Amida B	2924,08	2923,45	2923,57	3062,80 2923,50	3069,13 2929,30	2922,42	Regangan CH <sub>2</sub> asimetris
Amida I	1664,13 1636,86	1627,79	1626,58	1633,24	1627,91	1628,78	Regangan C=O; Gugus O-H yang berpasangan dengan COO
Amida II	1559,64 1541,36 1534,46 1448,81 1400,02	1537,01 1448,20 1393,42	1538,01 1448,01 1391,31	1538,57 1447,28 1393,63 1335,66	1532,05 1446,30 1397,69 1335,63	1541,38 1448,66 1388,56	Regangan CN; NH bending CH <sub>2</sub> bending CH <sub>2</sub> wagging pada prolin
Amida III	1236,88 1080,63	1236,61 1079,84	1237,78 1080,73	1237,40 1080,25	1232,76 1079,96	1235,65 1080,30	Regangan CN; NH bending

Berdasarkan hasil uji FTIR gelatin kulit ikan patin berukuran besar dan kecil pada tabel 4.5 dan 4.6 diperoleh daerah serapan gelombang amida A, amida B, amida I, amida II, dan amida III yang merupakan daerah serapan khas dari gelatin. Daerah Amida A pada gelatin kulit ikan patin ukuran kecil berada pada bilangan gelombang  $3275,91-3284,95 \text{ cm}^{-1}$  dan pada  $3270,32-3294,56 \text{ cm}^{-1}$  untuk ikan ukuran besar. Amplitudo yang lebih besar ditunjukkan pada gelatin kulit ikan patin ukuran besar. Menurut Ahmad dan Benjakul (2011), hal tersebut menunjukkan adanya potongan peptida pendek dari gugus N-H yang mengindikasikan degradasi molekul selama proses ekstraksi gelatin.

Daerah serapan  $3290-3280 \text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya vibrasi regangan gugus N-H akibat adanya ikatan hidrogen pada gugus amida dan vibrasi regangan gugus O-H (Hashim *et al.*, 2010). Ketika gugus N-H pada peptida terlibat dalam ikatan hidrogen maka daerah serapan akan bergeser ke frekuensi yang lebih rendah, biasanya  $3300 \text{ cm}^{-1}$  (Sinthusmaran *et al.*, 2015). Hasil penelitian menunjukkan bilangan gelombang yang mendekati  $3300 \text{ cm}^{-1}$  adalah  $3294,56 \text{ cm}^{-1}$ , yang terdapat pada gelatin kulit ikan patin ukuran besar (sampel 19B). Hal tersebut menunjukkan gelatin kulit ikan patin ukuran besar pada sampel 19B memiliki lebih banyak gugus N-H, sehingga lebih banyak terlibat dalam ikatan hidrogen. Pada daerah amida A, bilangan gelombang terendah ditemukan pada gelatin kulit ikan patin ukuran besar (sampel 5B), yakni pada  $3270,32 \text{ cm}^{-1}$ . Nagarajan *et al* (2012), menyatakan bahwa nilai bilangan gelombang yang paling rendah pada daerah amida A, menunjukkan adanya ikatan hidrogen yang terlibat dalam gugus N-H pada rantai  $\alpha$ .

Daerah serapan amida B ditemukan pada rentang bilangan gelombang  $2921,82-3069,13 \text{ cm}^{-1}$  pada gelatin kulit ikan patin ukuran kecil dan  $2922-3069,13 \text{ cm}^{-1}$  pada gelatin kulit ikan patin ukuran besar. Daerah tersebut menunjukkan vibrasi regangan asimetris gugus  $=\text{C}-\text{H}$  juga  $-\text{NH}_3^+$ . Bilangan gelombang yang lebih rendah pada puncak amida B menunjukkan interaksi antar gugus  $-\text{NH}_3$  pada rantai peptida. Sedangkan *peak* pada daerah



bilangan gelombang  $2920\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan vibrasi regangan asimetris C–H pada gugus C–H<sub>2</sub> (Nagarajan *et al.*, 2012). Berdasarkan hasil spektrum FTIR pada tabel 4.5 dan 4.6, pada daerah amida B, baik gelatin ikan patin ukuran besar maupun kecil keduanya memiliki *peak* pada bilangan gelombang yang tidak jauh berbeda, sehingga komposisi molekul pada kedua gelatin juga tidak jauh berbeda.

Adanya daerah serapan pada wilayah amida A dan B menunjukkan dari kedua sampel gelatin, baik gelatin kulit ikan patin ukuran besar maupun kecil terdapat gugus fungsional OH, CH, dan NH. Amertaningtyas *et al* (2017), menyatakan bahwa gugus fungsional OH, CH, dan NH ditemukan pada daerah serapan dengan bilangan gelombang  $4000\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$ .

Daerah amida I berada pada rentang bilangan gelombang  $1600\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$ , dan banyak digunakan untuk analisis struktur sekunder protein (Muyonga *et al.*, 2014). Pada penelitian ini, sampel gelatin kulit ikan patin ukuran kecil menunjukkan daerah serapan amida I pada bilangan gelombang  $1628,33\text{-}1633,49\text{ cm}^{-1}$ , sedangkan pada gelatin kulit ikan patin ukuran besar berada pada  $1626,58\text{-}1664,13\text{ cm}^{-1}$ . Hal tersebut sesuai dengan penelitian Singh dan Benjakul (2017), yang melaporkan bahwa daerah serapan amida I pada gelatin kulit ikan patin berada pada daerah bilangan gelombang  $1628\text{ cm}^{-1}$ , yang mana hal tersebut menunjukkan adanya vibrasi regangan C=O atau gugus OH (hidrogen) yang berpasangan dengan COO<sup>-</sup>. Selain itu pada gelatin kulit ikan patin ukuran kecil dan besar menunjukkan adanya gugus fungsional C=N, C=C, dan N=O. Amertaningtyas *et al* (2017), menyatakan bahwa gugus fungsional C=N, C=C, dan N=O ditemukan pada bilangan gelombang  $1650\text{-}1550\text{ cm}^{-1}$ .

Amida I menunjukkan struktur sekunder protein antara lain  $\alpha$ -heliks,  $\beta$ -sheet,  $\beta$ -turn, dan random coil (Safithri *et al.*, 2019). Ketika proses denaturasi kolagen, terjadi perubahan konformasi tripel heliks kolagen menjadi *random coil*. Proses pre-treatment menggunakan asam asetat mampu meningkatkan H<sup>+</sup>, sehingga air dapat dengan mudah memasuki serat kolagen dan membentuk

ikatan hidrogen antara gugus kolagen non-polar untuk merusak ikatan non-kovalen pada serat kolagen dan memudahkan proses pemutusan kolagen (Rabotyagova *et al.*, 2011; Ardhani *et al.*, 2019). Hilangnya ikatan non-kovalen menyebabkan peptida membentuk struktur *random coil*. Kondisi tersebut menyebabkan stabilisasi ikatan hidrogen dan terjadi pelipatan *backbone* polipeptida membentuk struktur  $\alpha$ -heliks,  $\beta$ -sheet, dan  $\beta$ -turn (Lodish *et al.*, 2013). Struktur  $\alpha$ -heliks memiliki bilangan gelombang antara 1660-1640  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\beta$ -sheet menunjukkan bilangan gelombang 1640-1620  $\text{cm}^{-1}$ , 1645-1657  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan struktur *random coil*, serta bilangan gelombang 1670, 1683, 1688, dan 1694  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan struktur  $\beta$ -turn (Hashim *et al.*, 2010; Kong dan Yu, 2007; Muyonga *et al.*, 2004).

Berdasarkan hasil penelitian, pada daerah amida I pada gelatin kulit ikan patin ukuran besar menunjukkan adanya struktur  $\beta$ -sheet pada semua sampel dan adanya struktur  $\alpha$ -heliks pada sampel 2B dengan bilangan gelombang 1664,13  $\text{cm}^{-1}$ . Sedangkan pada gelatin kulit ikan patin ukuran kecil, daerah serapan amida I berada pada rentang bilangan gelombang 1628,33-1633,49  $\text{cm}^{-1}$  yang menunjukkan adanya struktur  $\beta$ -sheet. Perbedaan spektrum daerah amida I pada sampel gelatin dengan perbedaan yang besar berkaitan dengan perbedaan konformasi rantai polipeptida (Ahmad dan Benjakul, 2011). Hal tersebut diduga berkaitan dengan perbedaan komposisi asam amino pada gelatin kulit ikan yang diekstraksi dari ukuran yang berbeda. Penelitian Sinthusamran *et al* (2015), menunjukkan bahwa komposisi asam amino glisin dan prolin cenderung meningkat pada gelatin dari ikan kakap putih yang diekstraksi dari kulit ikan ukuran yang berbeda (2kg, 4kg, dan 6kg). Menurut Shoulders dan Raines (2009), prolin dan glisin merupakan residu asam amino yang memiliki kecenderungan rendah untuk membentuk struktur  $\beta$ -sheet. Struktur  $\alpha$ -heliks dapat terbentuk ketika rantai tunggal polipeptida membelit dan membentuk struktur silinder yang kaku. Ikatan hidrogen terbentuk antara ikatan peptida ke empat, menghubungkan C=O pada satu

ikatan peptide dengan N-H pada ikatan peptida lain (Lodish *et al.*, 2013).

Daerah amida II memiliki bilangan gelombang pada rentang 1560-1335  $\text{cm}^{-1}$  (Hashim *et al.*, 2010). Berdasarkan tabel 4.5 dan 4.6, daerah amida II pada gelatin kulit ikan patin ukuran kecil berada pada bilangan gelombang 1535,39-1335,24  $\text{cm}^{-1}$ . Sedangkan pada gelatin kulit ikan patin ukuran besar, pita serapan amida II berada pada bilangan gelombang 1532,05-1335,63  $\text{cm}^{-1}$ . Adanya daerah amida II disebabkan oleh adanya deformasi ikatan N-H dalam protein dan vibrasi regangan C=N. Daerah serapan ini berkaitan dengan deformasi tropokolagen menjadi rantai- $\alpha$  (Rosida *et al.*, 2018; Muyonga *et al.*, 2004). Tropokolagen merupakan molekul penyusun fibril kolagen yang berbentuk batang. Tropokolagen terdiri dari tiga rantai polipeptida yang disebut rantai  $\alpha$ , yang membentuk tripel heliks. Tripel heliks pada kolagen distabilkan oleh ikatan silang kovalen, yang terletak pada bagian ujung rantai polipeptida yang disebut telopeptida. Selama proses denaturasi menggunakan panas, ikatan silang kovalen tersebut mengalami kerusakan sehingga tripel heliks pada kolagen terlepas dan menghasilkan polipeptida dengan rantai  $\alpha$  bebas, seperti pada gelatin (Derkach *et al.*, 2019).

Daerah amida II pada gelatin kulit ikan patin ukuran kecil menunjukkan adanya struktur  $\alpha$ -heliks pada sampel 8K (1541,27  $\text{cm}^{-1}$ ) dan 10K (1540,92  $\text{cm}^{-1}$ ), serta pada gelatin kulit ikan patin ukuran besar, struktur  $\alpha$ -heliks ditemukan pada sampel 2B (1541,36  $\text{cm}^{-1}$ ) dan 19B (1541,38  $\text{cm}^{-1}$ ). Selain itu, daerah amida II pada sampel gelatin kulit ikan kecil dan besar tidak menunjukkan adanya struktur  $\beta$ -sheet. Hashim *et al* (2010), menyatakan bahwa bilangan gelombang 1550-1540  $\text{cm}^{-1}$  pada daerah serapan amida II menunjukkan struktur  $\alpha$ -heliks dan  $\beta$ -sheet 1525-1520  $\text{cm}^{-1}$ . Pita serapan amida II pada gelatin kulit ikan patin ukuran kecil lebih rendah dibanding gelatin kulit ikan patin ukuran besar. Menurut Ahmad dan Benjakul (2011), hal tersebut menunjukkan bahwa gugus N-H lebih banyak terlibat dalam pengikatan rantai  $\alpha$  pada gelatin dengan serapan amida II yang lebih rendah. Muyonga *et al*

(2004), melaporkan bahwa puncak amida I dan II pada kolagen yang diekstraksi dari kulit ikan nila dewasa memiliki frekuensi yang lebih tinggi dibanding kolagen dari kulit ikan nila muda. Hal tersebut berkaitan dengan jumlah *crosslink* intermolekuler yang lebih banyak pada kolagen ikan dewasa dibanding ikan muda. Pergeseran puncak gugus fungsi pada bilangan gelombang yang lebih rendah berkaitan dengan susunan molekul yang lebih rendah (Payne dan Veis, 1988). Amida II juga mengindikasikan perubahan pada struktur sekunder gelatin (Barth, 2007).

Daerah serapan amida III memiliki intensitas yang rendah dan hampir tidak tampak. Hal tersebut berkaitan dengan hilangnya struktur triple heliks kolagen selama didenaturasi menjadi gelatin (Pradameswari *et al.*, 2017). Daerah serapan amida III ditunjukkan dengan bilangan gelombang 1300-1000  $\text{cm}^{-1}$  (Li *et al.*, 2014). Pada penelitian ini, daerah serapan amida III gelatin kulit ikan patin ukuran besar berada pada bilangan gelombang 1232,76-1079,84  $\text{cm}^{-1}$  dan 1237,94-1079,93  $\text{cm}^{-1}$  pada gelatin kulit ikan patin ukuran kecil. Berdasarkan tabel 4.5 dan 4.6, sebagian besar daerah serapan amida III pada gelatin ikan patin ukuran besar maupun kecil menunjukkan spektrum yang sama pada bilangan gelombang 1237  $\text{cm}^{-1}$  dan 1080  $\text{cm}^{-1}$ . Bilangan gelombang 1237  $\text{cm}^{-1}$  pada daerah amida III menunjukkan kerusakan sebagian besar molekul yang berkaitan dengan transformasi dari struktur triple heliks menjadi struktur koil yang berlangsung selama pemanasan, serta perubahan tersebut merupakan hasil dari denaturasi struktur triple heliks kolagen menjadi gelatin (Benjakul *et al.*, 2009). Daerah serapan 1080-1079  $\text{cm}^{-1}$  terdapat pada gelatin kulit ikan patin ukuran besar maupun kecil. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada gelatin kulit ikan patin ukuran besar dan kecil memiliki sedikit perbedaan pada gugus karbonilnya yang berkaitan dengan vibrasi CO pada 1000-1100  $\text{cm}^{-1}$  (Benjakul *et al.*, 2009; Jackson *et al.*, 1995). Daerah pada rentang bilangan gelombang 1083-1031  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan vibrasi regangan gugus C-O residu karbohidrat pada kolagen (Cebi *et al.*, 2016), yang mana ditemukan pada kedua sampel gelatin, baik gelatin kulit ikan patin ukuran besar maupun

kecil. Amida III menunjukkan kombinasi puncak antara vibrasi regangan gugus C-N dan deformasi gugus N-H dari *amide linkages* yang timbul akibat penyerapan dari vibrasi *wagging* dari gugus CH<sub>2</sub> dari *backbone* glisin dan rantai samping prolin (Jackson *et al.*, 1995).



## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa

1. Ukuran tubuh ikan patin berpengaruh terhadap kemurnian dan gugus fungsi gelatin kulit ikan patin (*P. hypophthalmus*). Analisis kemurnian gelatin menunjukkan nilai kemurnian gelatin kulit ikan patin ukuran kecil relatif lebih rendah (34,36-86,24%) dibanding gelatin kulit ikan patin ukuran besar (67,57-85,59%).
2. Hasil pengujian FTIR menunjukkan pada gelatin kulit ikan patin ukuran kecil dan besar terdapat gugus fungsi O-H, C-H, N-H, C=O, C=N, C=C, dan N=O. Gelatin kulit ikan patin ukuran besar dan kecil memiliki nilai bilangan gelombang yang hampir sama pada daerah serapan amida A, B, I, II, dan III. Namun, daerah serapan amida I dan II pada gelatin kulit ikan patin ukuran besar memiliki frekuensi yang lebih tinggi dibanding gelatin kulit ikan patin ukuran kecil dimana hal tersebut berkaitan dengan jumlah *crosslink* intermolekuler yang lebih banyak pada kolagen ikan dewasa dibanding ikan muda.

#### **5.2 Saran**

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah perlu dilakukan uji lebih lanjut untuk mengetahui perbedaan komposisi asam amino dan berat molekul pada gelatin kulit ikan patin ukuran besar dan kecil sehingga dapat diketahui perbedaan *crosslink* diantara keduanya.





## 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.

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

Aida, S.N. dan Utomo, A.D. 2015. Striped Catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) (Sauvage, 1878) Movement and Growth In Gajah Mungkur Reservoir, Central Java. **Indonesia Fish Research Journal**. Vol.21 (1) : 27-38

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. 2014. **Molecular Biology of Cell**. New York : Garland Science

Alfarisy, M.U. 2019. Optimasi Ekstraksi Gelatin Dari Kulit Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) pada Ukuran yang Berbeda Menggunakan *Response Surface Methodology*. **Thesis**. ITS : Surabaya

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 7<sup>th</sup> International Seminar on Tropical Animal Production**.

Andriani, D., Mastitha, D., Zainuddin, Fitriani. 2017. Struktur Histologi Kulit Ikan Gabus (*Channa striata*). **Jimvet**. Vol. 1 (3) : 283-290

APCI (Indonesian Catfish Industry Association), 2019. **Indonesian Pangasius First Export**. Diakses pada tanggal 13

April 2020 pukul 3.55 WIB di [www.indonesianpangasius.com](http://www.indonesianpangasius.com)

Ardhani, F.A.K., Safithri, M, Tarman, K., Husnawati, Setyaningsih, I, Meydia. 2019. Antioxidant activity of collagen from skin of parang-parang fish (*Chirocentrus dorab*) using DPPH and CUPRAC methods. **IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science**. Vol. 241 : 1-10

Arnesen, J.A. and Gildberg, A. 2007. Extraction and Characterisation of Gelatine from Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Skin. **Biosource Technology**. Vol. 98 : 53-57

Arpi, 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

Arribas, M. V. and Polo, M. C. 2003. Chromatography High-performance Liquid Chromatography. **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition**. doi:10.1016/b0-12-227055-x/00232-7 : 1274-1280

Arumugam, G.K.S., Sharma, D., Balakrishna, R.M., Ettiyappan, J.B.P. 2018. Extraction, Optimization and Characterization of Collagen From Sole Fish Skin. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**. Vol. 9 : 19-26

Asih, D., KE mala, T., Nurilmala, M. 2019. Halal gelatin extraction from Patin fish bone (*Pangasius hypophthalmus*) by-product with ultrasound-assisted extraction. **IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science**. Vol. 299: doi:10.1088/1755-1315/299/1/012061

Azilawati, M.I., Hashim, D.M., Amin, I. 2014. Validation of A Reverse-Phase High-Performance Liquid Chromatography Method For The Determination Of Amino Acids In Gelatins By Application Of 6-Aminoquinolyl-N-Hydroxysuccinimidyl Carbamate Reagent. **Journal of Chromatography**. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2014.04.050> : 49-56

- Badii, F., and Howell, N. K. 2006. Fish gelatin: Structure, gelling properties and interaction with egg albumen proteins. **Food Hydrocolloids**. Vol. 20:630–640
- Balti, R., Jridi, M., Sila, A., Souissi, N., Arroume, N.N, Guillochon D., Nasri, M. 2011. Extraction and Functional Properties of Gelatin From The Skin of Cuttle Fish (*Sepia officinalis*) Using Smooth Hound Crude Acid Protease-Aided Process. **Food Hydrocolloids**. Vol.25 : 943-950
- Barth, A. 2007. Infrared Spectroscopy of Protein. **Biochimica et Biophysica Acta**. Vol. 1767:1073–1101
- Bartos, P., Muranyi, A., Snauko, M. 2015. Comparison of Two RP-HPLC Methods For Determination of Recombinant Human Thrombin In Pharmaceutical Formulations. **Acta Facultatis Pharmaceuticae Universitatis Comenianae**. Vol. 1 : 31-39
- Beasley, M.M., Bartelink, E.J., Taylor, L., Miller, R.M. 2014. Comparison of Transmission FTIR, ATR, and DRIFT Spectra: Implications for Assessment of Bone Bioapatite Diagenesis. **Journal of Archaeological Science**. Vol. 46 : 16-22
- Benjakul, S., Oungbho, K., Visessanguan, W., Thiansilakul, Y., and Roytrakul, S. 2009. Characteristics of gelatin from the skins of bigeye snapper, *Priacanthus tayenus* and *Priacanthus macracanthus*. **Food Chemistry**. Vol. 116 : 445-451
- Boran, G. and Regenstein, J. M. 2010. Fish Gelatin. **Advances in Food and Nutrition Research**. doi:10.1016/s1043-4526(10)60005-8 : 119–143.
- Bottcher, J., Margraf, M., Monks, K. 2019. **HPLC Basics – Principles and Parameters**. Knauer
- Brigham, C. 2017. Biopolymers: Biodegradable Alternatives to Traditional Plastics. **Green Chemistry: An Inclusive Approach**. doi: 10.1016/B978-0-12-809270-5.00027-3.

Burhanuddin, A.I. 2012. **Ikhtologi Ikan dan Segala Aspek Kehidupannya**. Sleman : Deepublish

Cebi, N., Durak, M, Z., Toker, O.S., Sagdic, O., Arici, M. 2016. An evaluation of Fourier transforms infrared spectroscopy method for the classification and discrimination of bovine, porcine and fish gelatins. **Food Chemistry**. Vol. 190 : 1109-1115

Chagnot, C., Listrat, A., Astruc, T., Desvaux, M. 2012. Bacterial Adhesion to Animal Tissues: Protein Determinants For Recognition of Extracellular Matrix Components. **Cellular Microbiology**. Vol. 14 (11) : 1687-1696

Chung, D.D.L. 2017. Carbon Fibers, Nanofibers, and Nanotubes. **Carbon Composites**. doi:10.1016/b978-0-12-804459-9.00001-4: 1-87

Dambrosio, A., Normanno, G., Storelli, A., Barone, G., Ioanna, F., Errico, L., Centodicati, G., Storelli, M. 2016. Aspects of Vietnamese Sutchi Catfish (*Pangasius hypophthalmus*) Frozen Fillet Quality: Microbiological Profile and Chemical Residues. **Journal of Food Safety**. Vol. 36(4) : 532–536.

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**. Vol. 11 (1724):1-17

Devi, H.L.N.A., Suptijah, P., Nurilmala, M. 2017. Efektifitas Alkali dan Asam Terhadap Mutu Kolagen dari Kulit Ikan Patin. **Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia**. Vol. 20(2) : 255–265.

Duconseille, A., Astruc, T., Quintana, N., Meersman, F., Sante-Lhoutellier, V. 2015. Gelatin Structure and Composition Linked to Hard Capsule Dissolution: A review. **Food Hydrocolloids**. Vol. 43: 360–376.

Eryilmaz, H.S., Isuk, B.S., Demircan, E., Memeli, Z., Erdil, D.N., Capanoglu, E. 2017. Origin Determination and Differentiation of

Gelatin Species of Bovine, Porcine, and Piscine through Analytical Methods. **Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology**. Vol. 5 (5) : 507-517

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2009. **Cultured Aquatic Species Information Programme *Pangasius hypophthalmus* (Sauvage, 1878)**. Fisheries and Aquaculture Department

Genten, F., Terwinghe, E., Danguy, A. 2009. **Atlas of Fish Histology**. Science Publishers

Ghufran, K.K. 2010. **Budidaya Ikan Patin di Kolam Terpal**. Yogyakarta : Lily Publisher

Gomez-Estaca, J., Gimenez, B., Montero, P., Gomez-Gullen, M.C. 2008. Incorporation of Antioxidant Borage Extract Into Edible Films Based on Sole Skin Gelatin or A Commercial Fish Gelatin. **Journal of Food Engineering**. Vol. 92(1) : 78–85

Gómez-Guillén MC, Pérez-Mateos M, Gómez-Estaca J, López-Caballero E, Giménez B, and Montero P. 2009. Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films. **Trends in Food Science & Technology**. Vol. 20(1): 3-16

Gustiano, R. 2009. Pangasiid Catfishes of Indonesia. **Buletin Plasma Nutfah**. Vol. 15 (2) : 1-10

Haddar, A., Sellimi, S., Ghannouchi, R., Alvarez, O.M., Nasri, M., Bougatef, A. 2012. Functional, Antioxidant and Film-Forming Properties of Tuna-Skin Gelatin With A Brown Algae Extract. **International Journal of Biological Macromolecules**. Vol. 51 : 477-483

Hashim. D.M., Man, Y.B.C., Norakasha, R., Shuhaimi, M., Salmah, Y., Syahariza, Z.A. 2010. Potential use of Fourier transform infrared spectroscopy for differentiation of bovine and porcine gelatins . **Food Chemistry**. Vol.119 : 856-860.

Haug, I. J. and Draget, K. I. 2011. Gelatin. **Handbook of Food Proteins**. doi: 10.1533/9780857093639.92 : 92–115.

Huang, T., Tu, Z., Shangguan, X., Sha, X., Wang, H, Zhang, L., Bansal, N. 2019. Fish Gelatin Modifications: A Comprehensive Review. **Trends in Food Science and Technology**. Vol. 86 : 260–269

Irwandi, J., Faridayanti, S., Mohammed, E.S.M., Hamzah, M.S., Torla, H.H., Che Man, Y.B. 2009. Extraction and Characterization of Gelatin From Different Marine Fish Species In Malaysia. **International Food Research Journal**. Vol. 16(3) : 381–389.

Jackson, M., Choo, L.P., Watson, P.H., Halliday, W.C., Mantsch, H.M. 1995. Beware of connective tissue proteins: assignment and implications of collagen absorptions in infrared spectra of human tissues. **Biochimica et Biophysica Acta**. Vol. 1270 : 1-6

Jeyashakila, R. J., Jeevithan, E., Varatharajakmar, A., Jeyasekaran, G., Sukumar, D. 2012. Functional characterization of gelatin extracted from bones of red snapper and grouper in comparison with mammalian gelatin. **Food and Science Technology**. Vol. 48 : 30-36

Jongjareonrak, A., Benjakul, S., Visessanguan, W., Tanaka, M. 2006. Skin Gelatin from Bigeye 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

Kanwate, B.W. and Kudre, T.G. 2017. Effect of various acids on physicochemical and functional characteristics of gelatin from swim bladder of rohu (*Labeo rohita*). **Journal Food and Science Technology**. Vol. 54(8) : 2540-2550

- Karim, A. A. and Bhat, R. 2009. Fish Gelatin: Properties, Challenges, and Prospects As An Alternative to Mammalian Gelatins. **Food Hydrocolloids**. Vol. 23(3) : 563–576
- Kim, S., Kim, S.S., Lee, B.J. 2005. Correlation between the activities of  $\alpha$ -helical antimicrobial peptides and hydrophobicities represented as RP HPLC retention times. **Peptides**. Vol.26 : 2050-2060
- Kirti and Khora, S.S. 2015. Isolation and Characterization of Collagens extracted from the Skin of Pufferfish, *Lagocephalus wheeleri*. **Research Journal Pharmacy, Biological Chemical Science**. Vol. 6 (6) : 863-872
- Kong, J. and Yu, S. 2007. Fourier Transform Infrared Spectroscopic Analysis of Protein Secondary Structures. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*. Vol. 39 (8) : 549-559
- 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.
- Kusuma, A.S.W dan Ismanto, R.M.H. 2016. Penggunaan Instrumen *High-Performance Liquid Chromatography* Sebagai Metode Penentuan Kadar Kapsaisin Pada Bumbu Masak Kemasan “Bumbu Marinade Ayam Special” Merek *Sasa*. **Farmaka**. Vol.14(2) : 41 – 45
- Li, J.-H., Miao, J., Wu, J.-L., Chen, S.-F., & Zhang, Q.-Q. 2014. Preparation and characterization of active gelatin-based films incorporated with natural antioxidants. **Food Hydrocolloids**. Vol.37:166–173
- Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S.L., Matsudaira, P., Baltimore, D., Darnell, J. 2013. **Molecular Cell Biology**. New York : W.H Freeman
- Loo, M. 2009. Lifestyle Approaches. **Integrative Medicine for Children**. doi:10.1016/b978-141602299-2.10004-0 : 37–57

Ly, L.C, Huang, Q.Y., Ding, W., Xiao, X. H., Zhang, H. Y., Xiong, L. X. 2019. Fish gelatin: The novel potential applications. **J. Funct. Foods**. Vol. 63

Mahmoodani, F., Ardekani, V.S., Fern, S.S., Yusop, S.M., Babji, A.S. 2014. Optimization of Extraction and Physicochemical Properties of Gelatin from Pangasius Catfish (*Pangasius sutchi*) Skin. *Sains Malaysiana*. Vol. 43 (7) : 995-1002

Malviya, R., Bansal. V., Pal, O.P., Sharma, P.K. 2010. High Performance Liquid Chromatography : A Short Review. **Journal of Global Pharma Technology**. Vol. 2 (5) : 22-26

Mariod, A. A. and Adam, H. F. 2013. Review: Gelatin, Source, Extraction and Industrial Applications. **Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria**. Vol. 12(2) : 135–147

Mariod, A.A. 2016. Extraction, Purification, and Modification of Natural Polymers. **Natural Polymers Industry Techniques and Applications**. Springer

Meyer, V.R. 2009. **Practical High-Performance Liquid Chromatography**. London : John Wiley and Son

Milovanovic, I. dan Hayes, M. 2018. Marine Gelatine From Rest Raw Materials. **Applied Sciences**. Vol.8(12) : 1–20

Mokhtar, D.M. 2017. **Fish Histology From Cells to Organs**. Apple Academic Press

Monsur, H. A., Jaswir, I., Salleh, H.M., Alkahtani, A.H. 2014. Effects of Pretreatment on Properties of Gelatin From Perch (*Lates niloticus*) Skin. **International Journal of Food Properties**. Vol. 17(6) : 1224–1236

Munajad, A., Subroto, C., Suwarno. 2018. Fourier transform infrared (FTIR) Spectroscopy Analysis of Transformer Paper In Mineral Oil-Paper Composite Insulation Under Accelerated Thermal Aging. **Energies**. Vol. 11(2)

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

Myers, P., R. Espinosa, C. S. Parr, T. Jones, G. S. Hammond, and T. A. Dewey. 2020. **The Animal Diversity Web** (online). Diakses pada 20 Januari 2020 di <https://animaldiversity.org>.

Nagai, T. and Suzuki, N. 2000. Isolation of collagen from fish waste material—Skin, bone and fins. **Food Chemistry**. Vol. 68 : 277-281

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**. Vol. 29 : 389-397

Nandiyanto, A. B. D., Oktiani, R., Ragadhita, R. 2019. How to Read and Interpret FTIR Spectroscopy of Organic Material. **Indonesian Journal of Science and Technology**. Vol. 4(1) : 97–118

Nasution, A. Y., Harmita and Harahap, Y. 2018. Karakterisasi Gelatin Hasil Ekstraksi dari Kulit Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) dengan Proses Asam dan Basa. **Pharmaceutical Sciences and Research**. Vol 5(3):142–151

Payne K.J. and Veis A. 1988. Fourier transform IR spectroscopy of collagen and gelatin solutions: Deconvolution of the Amide I band for conformational studies. **Biopolymers** Vol. 27 : 1749-1760

Pradarameswari, K.A., Zaelani, K., Waluyo, E., Nurdiani, R. 2018. The Physico-Chemical Properties of Pangas Catfish (*Pangasius pangasius*) Skin Gelatin. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. Vol 137(1) : 1-8

Rabotyagova, O.S., Cebe, P., Kaplan, D.L. 2008. Collagen Structural Hierarchy and Susceptibility to Degradation

by Ultraviolet Radiation. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl**. Vol. 28 (8) : 1420-1429

Rathod, N.B., PAgarkar, A.U., Pujari, K.H., Shingare, P.E., Sata,, S.B., Phadke, G.G., Gaikwad, B.V. 2018. Status of Valuable Components from Pangasius : A Review. **International Journal of Current Microbiology and Applied Science**. Vo. 7 (4) : 2106-2120

Ratnasari, I., Sudarminto, S.Y., Nusyam, H., Widjanarko, S.B. 2014. Extraction Process Modification to Enhance Properties of Skin Gelatin of Pangas Catfish (*Pangasius pangasius*). **LWT-Food and Public Health**. Vol. 4(3) : 140–150

Ray, P. D. and Fry, R. C. 2015. The Cell. **Systems Biology in Toxicology and Environmental Health**. doi:10.1016/b978-0-12-801564-3.00002-x : 11–42

Rosida, R., Handayani, L., Apriliani, D. 2018. Pemanfaatan limbah tulang ikan kambing-kambing (*Abalistes stellaris*) sebagai gelatin menggunakan variasi konsentrasi CH<sub>3</sub>COOH. **Acta Aquatica: Aquatic Sciences Journal**. Vol. 5 (2) : 93-99

Rosmawati, Abustam, E., Tawaii, A.B., Said, M.I. 2018. Effect of Body Weight on The Chemical Composition and Collagen Content of Snakehead Fish Channa Striata Skin. **Fisheries Science**. Vol. 84(6) : 1081–1089.

Rouhi, J., Ooi, R., Mahmud, S., Rusop, M. 2013. Physical properties of fish gelatin-based bio-nanocomposite films incorporated with ZnO nanorods. **Nanoscale Research Letters**. Vol. 8 (364) : 1-6

Safithri, M., Tarman, K., Suptijah, P., Widowati, N. 2019. Karakteristik Fisikokimia Kolagen Larut Asam Dari Kulit Ikan Parang-Parang (*Chirocentrus dorab*). **Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia**. Vol. 22 (3) : 452

Samal, S.K., Dash, M., Van Vlierberghe, S., Kaplan, D.L., Chiellini, E., Van Blitterswijk, C., Moronid, L., Dubruel, P. 2012.

Cationic Polymers and Their Therapeutic Potential. *Chemical Society*. Vol. 41: 7147–7194

Schmidt, M. M., Dornolles, R.C.P., Kubota, E.H., Mazutti, M.A., Kempka, A.P., Demiate, I.M. 2016. Collagen Extraction Process. **International Food Research Journal**. Vol. 23(3) : 913–922.

Schrieber, R. dan Gareis, H. 2007. **Gelantine Handbook : Theory and Industrial Practice**. Weinheim : Willey-VCH Verlag GmbH & Co

See, S. F., Hong, P.K., Ng, K.L., Wan Aida, W.M., Babji, A.S. 2010. Physicochemical Properties of Gelatins Extracted From Skins of Different Freshwater Fish Species. **International Food Research Journal**. Vol. 17(3) : 809–816.

Septimesy, A., Jubaedah, D., Sasanti, A.D. 2016. Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Ikan Patin (*Pangasius* Sp.) di Sistem Resirkulasi dengan Padat Tebar Berbeda. **Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia**. Vol. 4 (1) : 1-8

Shoulders, M.D., Raines, R.T. 2009. Collagen Structure and Stability. **Annu Rev Biochem**. Vol. 78 : 929-958

Silva, R. S. G., Bandeira, S. F. and Pinto, L. A. A. 2014. Characteristics and Chemical Composition of Skins Gelatin From Cobia (*Rachycentron canadum*). **Food Science and Technology**. Vol. 57 (2) : 580–585.

Singh, P. dan Benjakul, S. 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):1-9

Sinthusamran, S., Benjakul, S. and Kishimura, H. 2015. Molecular Characteristics and Properties of Gelatin From Skin of Seabass With Different Sizes. **International Journal of Biological Macromolecules**. Vol. 73 (1) : 146–153

Solomon, G., Fryhle, C., Snyder, S. 2014. **Organic Chemistry**. New York : John Wiley & Sons, Inc.

Steed, R. 2010. **Analysis of Amino Acid by HPLC**. Agilent Technologies, Inc.

Sudirman, S., Herpandi, Lestari, S.D., Andayani, W. 2018. Effects of Weight and Body Parts of Siamese Catfish (*Pangasius hypophthalmus*) on the Nutritional Content. **Food Research**. Vol. 2 (4) : 307–313.

Sultana, S., Ali, M. E., Ahamad, M. N. U. 2018. Gelatine, Collagen, and Single Cell Proteins as A Natural and Newly Emerging Food Ingredients. **Preparation and Processing of Religious and Cultural Foods**. doi: 10.1016/b978-0-08-101892-7.00011-0

Suryanti, S., Marseno, D.W., Indrati, R., Irianto, H.E. 2018. Pengaruh Jenis Asam dalam Isolasi Gelatin dari Kulit Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) terhadap Karakteristik Emulsi. **Agritech**. Vol. 37(4): 410

Susanti, M dan Dachriyanus. 2017. **Kromatografi Cair Kinerja Tinggi**. Padang : Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi Universitas Andalas

Thammana, M. 2016. A Review on High Performance Liquid Chromatography (HPLC). **Journal of Pharmaceutical Analysis**. Vol. 5 (2) : 22-28

Theerawitayaart. W., Prodpran, T., Benjakul, S. 2019. Enhancement of Hydrophobicity of Fish Skin Gelatin via Molecular Modification with Oxidized Linoleic Acid. **Journal of Chemistry**. <https://doi.org/10.1155/2019/5462471> : 1-11

Tinrat, S. and Sila-Asna, M. 2017. Optimization of Gelatin Extraction and Physico-Chemical Properties of Fish Skin and Bone Gelatin: Its Application to Panna Cotta Formulas. **Current Research in Nutrition and Food Science**. Vol. 5(3) : 263–273.

Tsai, C.S. 2002. **An Introduction to Computational Biochemistry**. London : John Willey & Sons Inc. Publication

Wulandari, D., Erwanto, Y., Pranoto, Y., Triatmojo. 2016. Molecular Weight Distribution, Amino Acid and Functional Groups Profile of Gelatin Bovine Split Hide as Influenced by Acid Pre-Treatment. **International Conference on Technology, Innovation, and Society**. pp. 81–87. doi: 10.21063/ictis.2016.1014.

Zhang , G., Liu, T., Wang, Q., Chen, L., Lei, J., Luo, J., Ma, G., Su, Z. 2009. Mass spectrometric detection of marker peptides in tryptic digests of gelatin: A new method to differentiate between bovine and porcine gelatin. **Food Hydrocolloids**. Vol. 23 : 2001-2007.

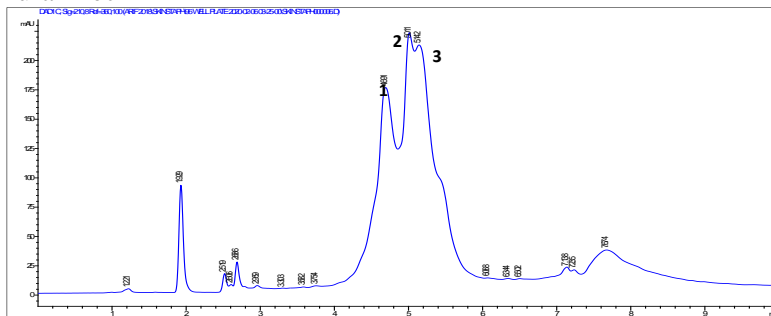
Zhang, F., Xu, S. and Wang, Z. 2011. Pre-treatment optimization and properties of gelatin from freshwater fish scales. **Food and Bioproducts Processing**. doi: 10.1016/j.fbp.2010.05.003.

Zihadia, Kusumaningrum, F., Betha, O., Supandi. 2018. Diferensiasi Gelatin Sapi dan Gelatin Babi pada *Gummy* Vitamin C Menggunakan Metode Kombinasi Spektroskopi *Fourier Transform Infrared* (FTIR) dan Principal Component Analysis (PCA). **Pharmaceutical Sciences and Research**. Vol. 5 (2) : 90-96

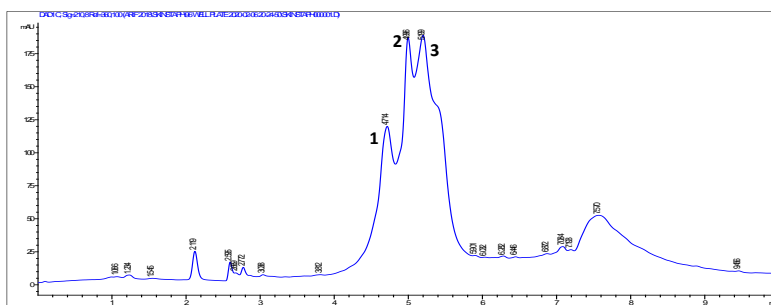


## LAMPIRAN

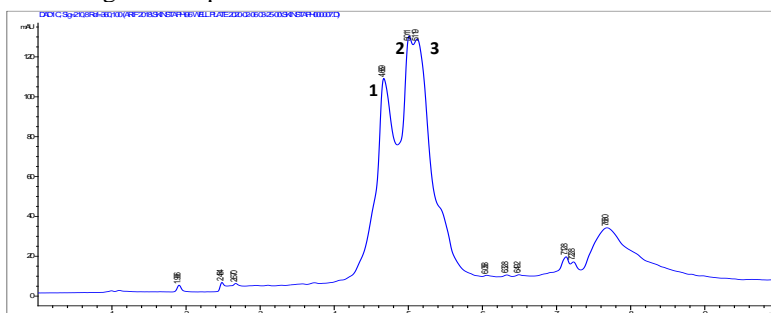
### Lampiran 1. Kromatogram hasil purifikasi gelatin kulit ikan patin ukuran kecil



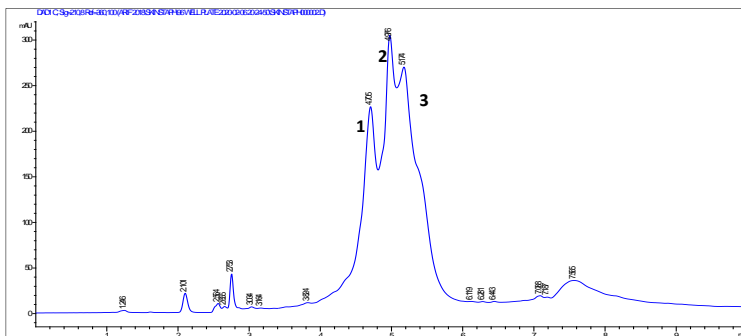
Kromatogram sampel 2K



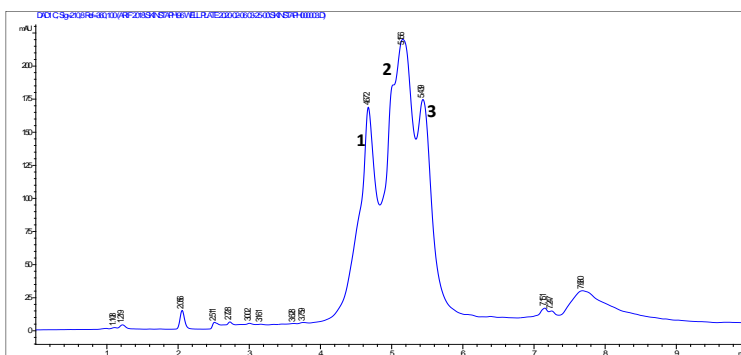
Kromatogram sampel 3K



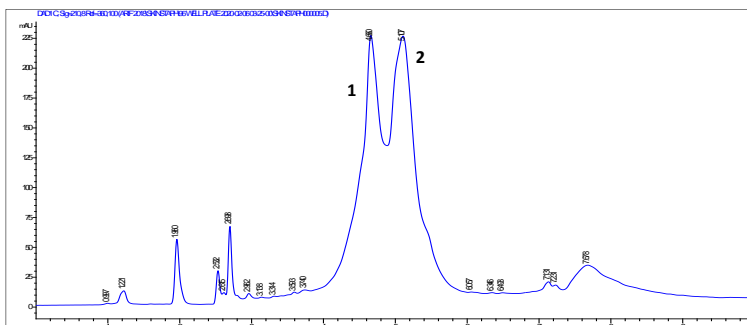
Kromatogram sampel 4K



Kromatogram sampel 8K



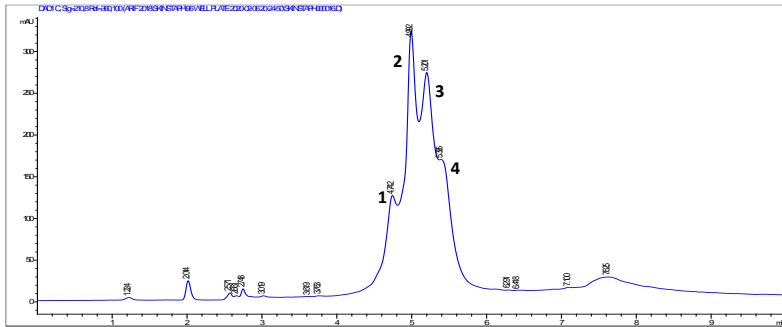
Kromatogram sampel 10K



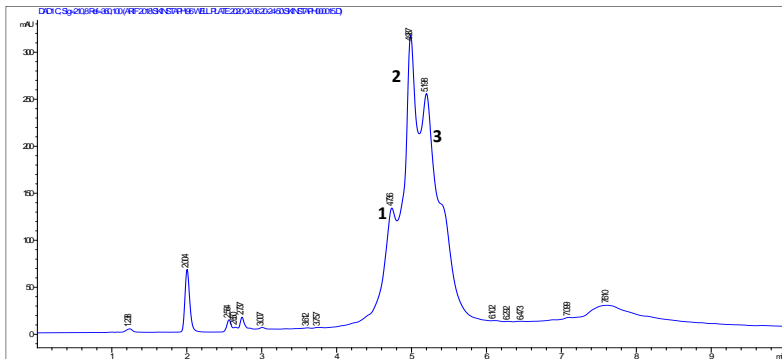
Kromatogram sampel 17K



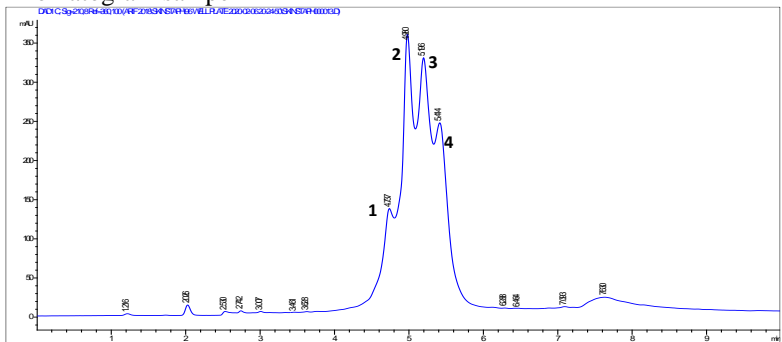
## Lampiran 2. Kromatogram hasil purifikasi gelatin kulit ikan patin ukuran besar



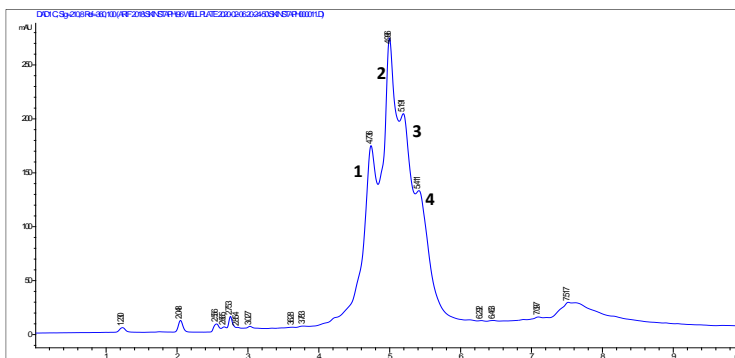
Kromatogram sampel 2B



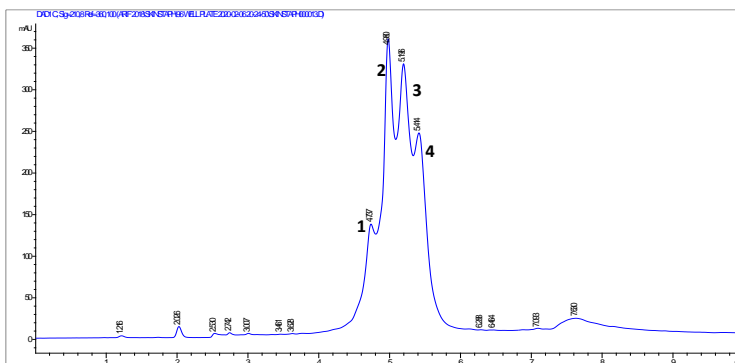
Kromatogram sampel 4B



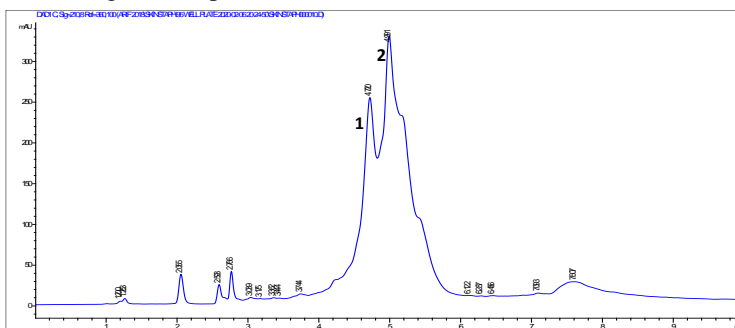
Kromatogram sampel 5B



Kromatogram sampel 9B

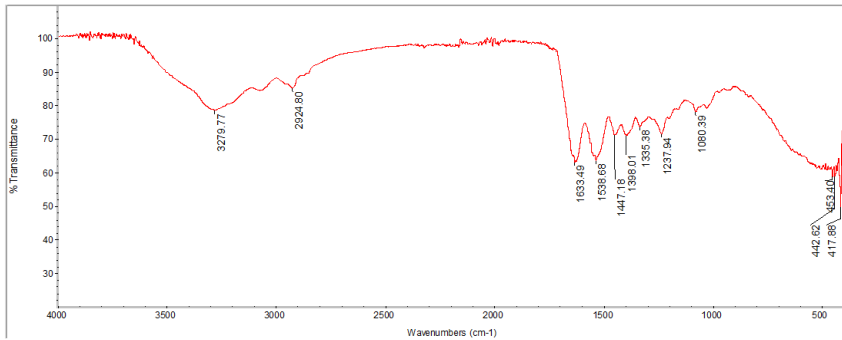


Kromatogram sampel 10B

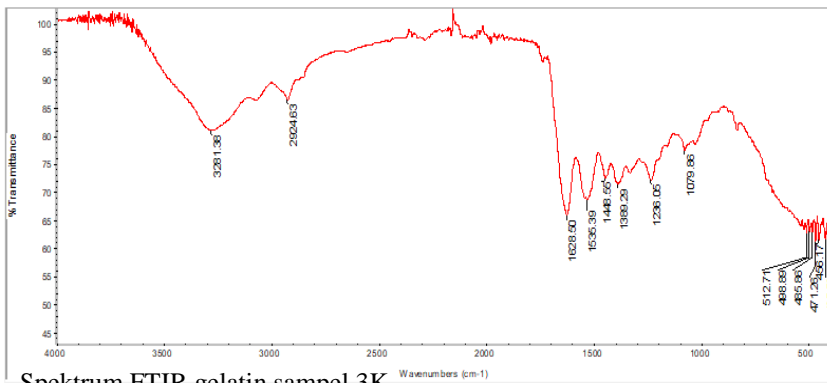


Kromatogram sampel 19B

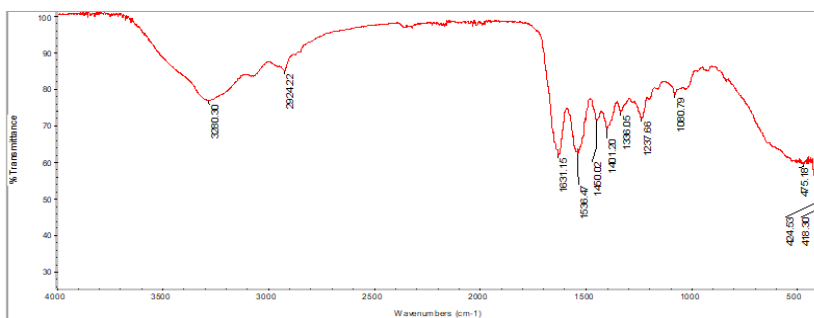
### Lampiran 3. Spektrum FTIR gelatin kulit ikan patin ukuran kecil



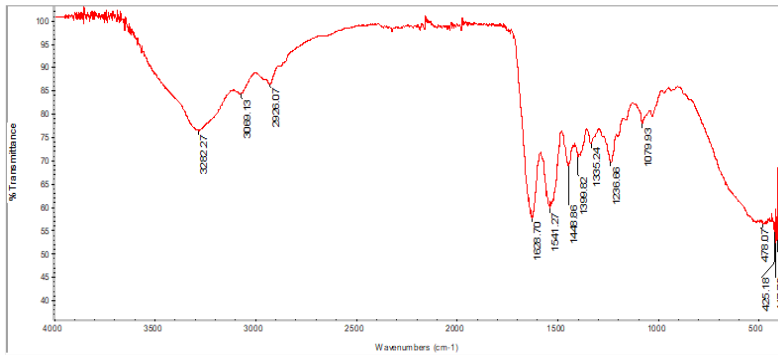
Spektrum FTIR gelatin sampel 2K



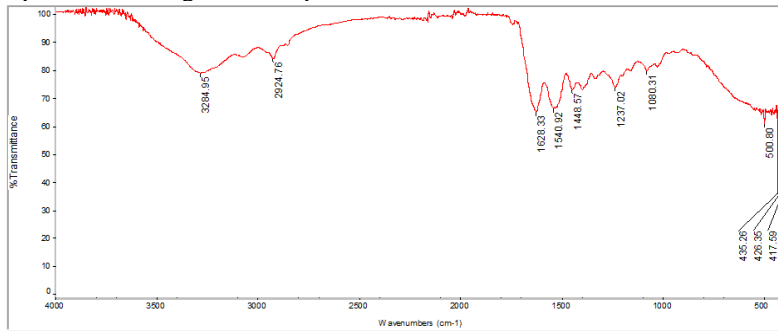
Spektrum FTIR gelatin sampel 3K



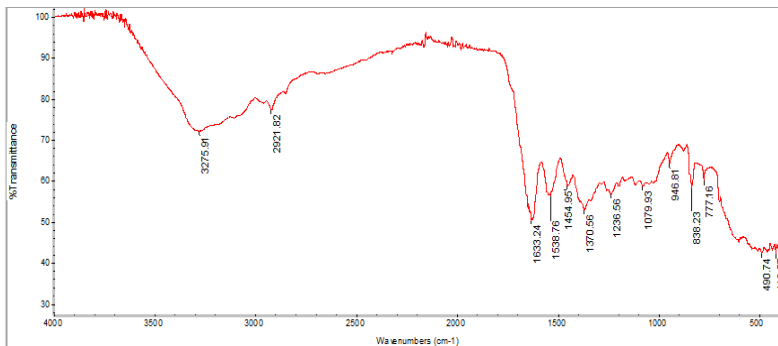
Spektrum FTIR gelatin sampel 4K



Spektrum FTIR gelatin sampel 8K

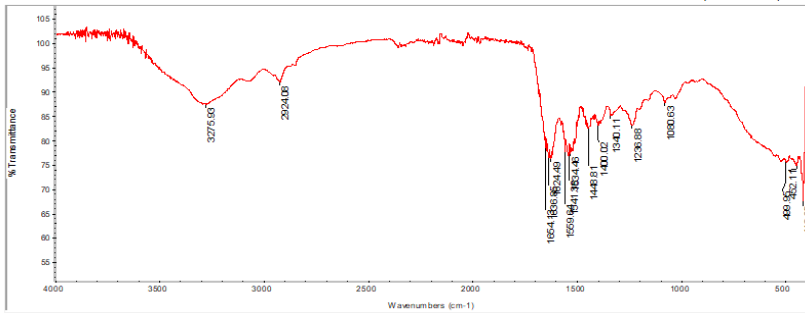


Spektrum FTIR gelatin sampel 10K

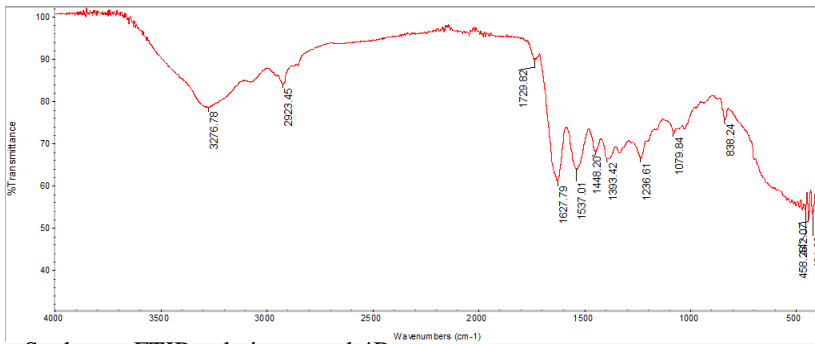


Spektrum FTIR gelatin sampel 17K

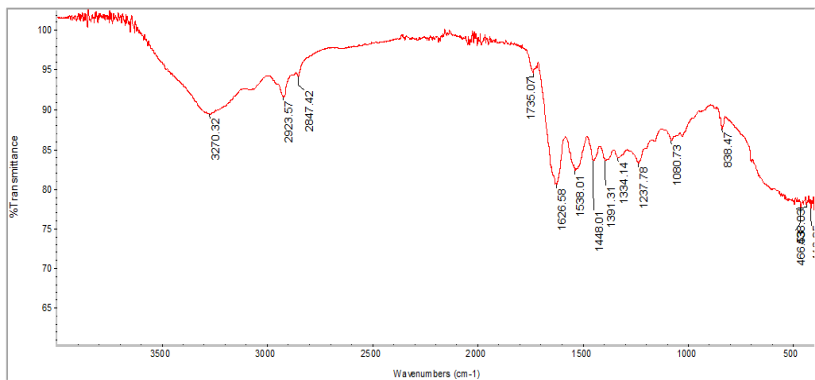
### Lampiran 4. Spektrum FTIR gelatin kulit ikan patin ukuran besar



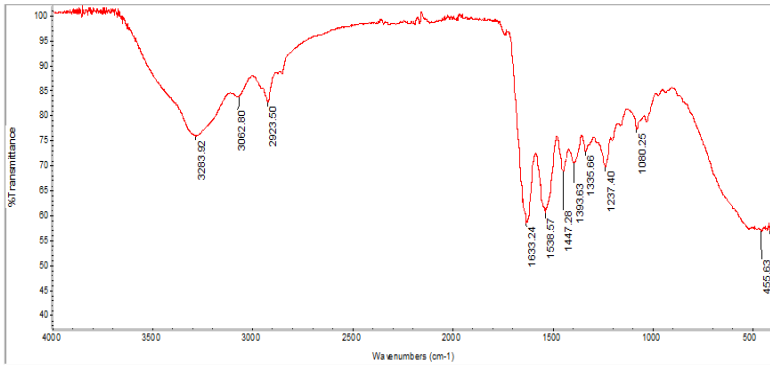
Spektrum FTIR gelatin sampel 2B



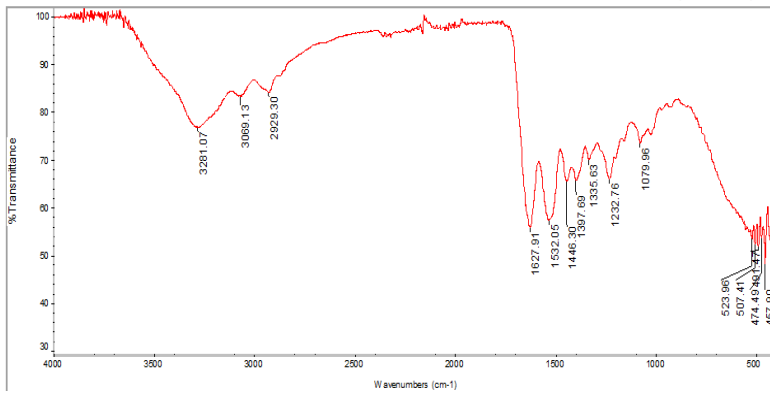
Spektrum FTIR gelatin sampel 4B



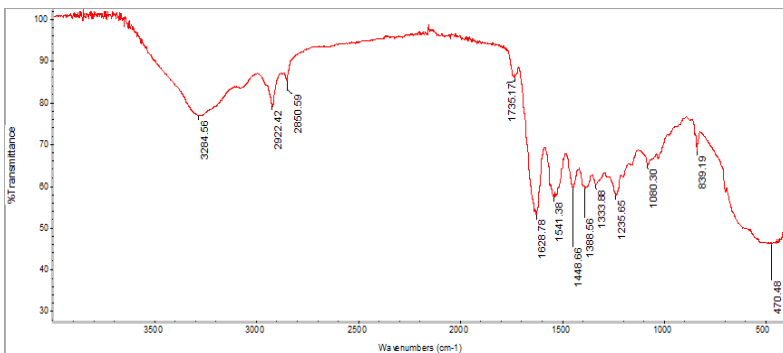
Spektrum FTIR gelatin sampel 5B



Spektrum FTIR gelatin sampel 9B



Spektrum FTIR gelatin sampel 10B



Spektrum FTIR gelatin sampel 19B

## BIODATA PENULIS



Penulis lahir di Bandung, 12 Januari 1998. Penulis merupakan anak kedua dari pasangan Ibnu Hisyam dan Ida Rusdiana. Penulis memulai pendidikan di SMP Negeri 1 Gurah (2009-2012), SMA Negeri 1 Kediri (2012-2015), dan S1 Biologi ITS (2016-2020).

Selama menempuh pendidikan di Biologi ITS, penulis mengikuti organisasi mahasiswa sebagai Staf Departemen Dalam Negeri Himpunan Mahasiswa Biologi ITS (2018) dan Ketua Departemen Dalam Negeri Himpunan Mahasiswa Biologi ITS (2019). Selain organisasi, penulis juga memiliki pengalaman kepanitiaan antara lain sebagai Tim Soal pada *event* BOF (*Biological Opus Fair*) X-XII (2016-2019). Penulis juga aktif dalam pelatihan mahasiswa seperti LKMM Pra TD FMIPA ITS (2016), LKMM TD HIMABITS (2017), Pelatihan Karya Tulis Ilmiah TD HIMABITS (2017), LKMW TD HIMABITS (2017), Pelatihan Pemandu LKMM FIA (2017), dan LKMM TM FS-FMKSD (2018). Selain itu, penulis juga aktif sebagai Pemandu LKMM TM ITS 2020.

Penulis memiliki ketertarikan pada ilmu biologi khususnya pada bidang Bioteknologi. Selama kuliah, penulis pernah menjadi Asisten Laboratorium mata kuliah Fisiologi Hewan (2019), Struktur Hewan (2019), Teknik Analisis Mikroba (2019), dan Perkembangan Hewan (2020). Penulis memiliki riwayat kerja praktik di Laboratorium *Molecular Breeding*, PT. BISI International, Tbk dan dapat dihubungi untuk penelitian melalui email : [ginarsabiyla12@gmail.com](mailto:ginarsabiyla12@gmail.com)