



Tesis - SB 185401

# **PENGARUH TRANSGLUTAMINASE TERHADAP KARAKTERISTIK GELATIN MAMALIA DAN IKAN: STUDI LITERATUR**

**FADINA YULIANA SARI**  
01311850010009

**DOSEN PEMBIMBING**  
Dr.Dewi Hidayati, M.Si

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



Tesis - SB 185401

# **PENGARUH TRANSGLUTAMINASE TERHADAP KARAKTERISTIK GELATIN MAMALIA DAN IKAN: STUDI LITERATUR**

FADINA YULIANA SARI  
01311850010009

DOSEN PEMBIMBING  
Dr. Dewi Hidayati, M. Si

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



Thesis - SB 185401

# **TRANSGLUTAMINASE EFFECT ON CHARACTERISTICS OF MAMMALIAN AND FISH GELATIN: LITERATURE STUDY**

FADINA YULIANA SARI  
01311850010009

SUPERVISOR:  
Dr. Dewi Hidayati, M. Si

MASTER PROGRAM  
DEPARTEMENT OF BIOLOGY  
FACULTY OF SCIENCE DAN DATA ANALYTICS  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA  
2020

*Halaman ini sengaja dikosongkan*

## LEMBAR PENGESAHAN

Pengaruh Transglutaminase Terhadap Karakteristik Gelatin Mamalia dan Ikan: Studi Literatur

Tesis disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Magister Sains (M.Si)

di

Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh

Fadina Yuliana Sari

01311850010009

Tanggal Ujian : 3 Juli 2020

Periode Wisuda : September 2020

Disetujui oleh:

### Pembimbing

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



### Penguji

1. Dr.rer.nat. Edwin Setiawan, M. Sc  
NIP. 19771224 200801 1 006
2. Dr. techn. Endry Nugroho Prasetyo, MT  
NIP. 19731014 200012 1 001



Kepala Departemen Biologi  
Fakultas Sains dan Analitika Data



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

*Halaman ini sengaja dikosongkan*

## **PENGARUH TRANSGLUTAMINASE TERHADAP KARAKTERISTIK GELATIN MAMALIA DAN IKAN: STUDI LITERATUR**

Student Name : Fadina Yuliana Sari  
NRP : 01311850010009  
Supervisor : Dr. Dewi Hidayati, M. Si.

### **ABSTRAK**

Gelatin merupakan polimer yang tersusun atas monomer yang saling berikatan dan berasal dari hidrolisis kolagen. Gelatin umumnya digunakan pada industri makanan dan biomedik yang memiliki kualitas berbeda dikarenakan perbedaan penggunaan bahan baku. Gelatin dengan kualitas rendah dapat dimodifikasi dengan penggunaan metode ikatan silang serta pemilihan metode ekstraksi yang tepat salah satunya penggunaan agen pengikat silang yang efektif yaitu Transglutaminase (TG-ase). TG-ase dapat mengkatalisis ikatan silang antara l-lisin dan l-glutamin pada suatu polimer sehingga terbentuk polimer yang lebih stabil. Oleh karena itu kajian literatur tentang karakteristik gelatin dengan modifikasi penambahan TG-ase sangat menarik untuk dikaji. Kajian literatur ini membahas tentang karakteristik gelatin dengan ikatan silang TG-ase. Karakteristik gelatin tersebut meliputi kekuatan gel, viskositas, pH, titik leleh, pola protein dan ultrastruktur. Kajian literatur ini diharapkan dapat digunakan pada penelitian selanjutnya dalam upaya meningkatkan karakteristik gelatin dengan penggunaan TG-ase.

**Kata kunci:** Gelatin, Karakteristik, TG-ase, Ikatan silang

*Halaman ini sengaja dikosongkan*



## **TRANSGLUTAMINASE EFFECT ON CHARACTERISTICS OF MAMMALIAN AND FISH GELATIN: LITERATURE STUDY**

Student Name : Fadina Yuliana Sari  
NRP : 01311850010009  
Supervisor : Dr. Dewi Hidayati, M. Si.

### **ABSTRACT**

Gelatin is a polymer composed of interlocking monomers and originating from collagen hydrolysis. Gelatin is generally used in the food and biomedical industries that have different qualities due to differences in raw materials. Low-quality gelatin can be modified by the use of cross-linking methods and the selection of appropriate extraction methods, one of effective modified method is used cross-linking agent (Transglutaminase/TG-ase). TG-ase can catalyze the cross-linking between l-lysine and l-glutamine in a polymer to form a stable polymer. Therefore the literature review on the characteristics of gelatin with TG-ase addition is very interesting to study. This literature review discusses the characteristics of gelatin with TG-ase crosslinking. The characteristics of the gelatin include gel strength, viscosity, pH, melting point, protein pattern and ultrastructure. This literature review is expected to be used in further research to improve the characteristics of gelatin by using TG-ase.

**Keywords:** Gelatin, TG-ase, Characteristic, Cross-linking

*Halaman ini sengaja dikosongkan*

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan segala rahmat dan hidayah-Nya yang tak terhingga sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis yang berjudul **Pengaruh Transglutaminase Terhadap Karakteristik Gelatin Mamalia dan Ikan: Studi Literatur**. Tesis ini disusun untuk memenuhi persyaratan dalam menyelesaikan Tesis di Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Analitika Data, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya. Dalam penyusunan Tesis ini penulis telah mendapatkan banyak masukan, bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada: Ibu Dr. Dewi Hidayati, M. Si selaku dosen pembimbing Tesis; Bapak Dr. rer. nat. Edwin Setiawan, M. Sc dan Bapak Dr. techn. Endry Nugroho Prasetyo, M.T selaku tim penguji Tesis. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada keluarga atas bantuan doa, semangat, dan dukungan materi, serta terima kasih kepada teman-teman pascasarjana angkatan 2018 dan anggota lab zoologi dan rekayasa hewan atas dukungannya. Dengan kerendahan hati penulis menyadari bahwa penyusunan Tesis ini masih belum sempurna. Oleh karena itu, masukan berupa saran dan kritik yang membangun dari para pembaca akan sangat membantu kesempurnaan dalam penulisan selanjutnya. Penulis berharap semoga Tesis ini dapat bermanfaat dan memberikan informasi bagi semua pihak.

Surabaya, 3 Juli 2020

Penulis

*Halaman ini sengaja dikosongkan*

## DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
ABSTRAK .....	vii
ABSTRACT .....	ix
KATA PENGANTAR .....	xi
DAFTAR ISI .....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xv
DAFTAR TABEL .....	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan masalah.....	2
1.3 Tujuan .....	3
1.4 Manfaat .....	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA DAN DASAR TEORI .....	5
2.1 Kolagen.....	5
2.2 Gelatin.....	7
2.2.1 Komposisi Gelatin.....	7
2.2.2 Struktur Gelatin.....	8
2.2.3 Ekstraksi Gelatin .....	14
2.3 Transglutaminase.....	16
2.4 Ikatan Silang Transglutaminase .....	19
BAB 3 METODE PENELITIAN .....	23
3.1 Jenis Penelitian .....	23
3.2 Sumber Data.....	23
3.3 Metode Pengumpulan .....	24
3.4 Teknik Analisis .....	24
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN .....	27
4.1 Pemanfaatan berbagai sumber bahan baku gelatin.....	27
4.2 Pemilihan Bahan baku gelatin.....	28
4.3 Gelatin dengan kualitas yang sesuai standar (SNI & GMIA) .....	30
4.4 Upaya mendapatkan kualitas gelatin sesuai standar.....	31
4.4.1 Metode ekstraksi gelatin sesuai bahan baku .....	31

4.4.2 Penggunaan metode ikatan silang untuk peningkatan kualitas gelatin .	33
4.5 Pengaruh TG-ase terhadap karakteristik gelatin .....	37
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN .....	48
5.1 Kesimpulan .....	48
5.2 Saran .....	48
DAFTAR PUSTAKA .....	50

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur <i>triple helix</i> kolagen.....	6
Gambar 2.2	Konfigurasi kimia gelatin.....	8
Gambar 2.3	Berbagai jenis rantai dalam struktur gelatin.....	11
Gambar 2.4	Skema struktur film gelatin.....	11
Gambar 2.5	Ikatan hidrogen pada struktur gelatin dan antara stuktur gelatin dengan molekul air.....	13
Gambar 2.6	Reaksi yang dikatalisis oleh TG-ase.....	18
Gambar 2.7	TG-ase mengkatalisis residu asam amino Glutamin.....	20
Gambar 2.8	Perbedaan struktur gelatin dengan penambahan enzim TG-ase pada suhu yang berbeda .....	21
Gambar 4.1	Presentase penggunaan bahan baku gelatin .....	28
Gambar 4.2	Perbandingan rendemen dengan bahan baku yang berbeda....	29
Gambar 4.3	Ilustrasi metode ikatan silang fisik.....	35
Gambar 4.4	Ilustrasi metode ikatan silang kimia menggunakan glutaraldehid.....	35
Gambar 4.5	Ilustrasi metode ikatan silang kimia menggunakan genipin....	36
Gambar 4.6	Ilustrasi metode ikatan silang enzimatik menggunakan mikrobial transglutaminase.....	37
Gambar 4.7	Pengaruh konsentrasi TG-ase terhadap titik leleh.....	40
Gambar 4.8	Reaksi antara 2 rantai polipeptida yang memiliki asam amino glutamin dan lisin yang dikatalis oleh TG-ase .....	41
Gambar 4.9	Contoh beberapa ikatan kovalen dan jarak nukleus antar molekul .....	42
Gambar 4.10	Pemindaian mikroskop elektron gelatin dengan TG-ase.....	43
Gambar 4.11	Struktur gelatin dengan pemindaian gelatin dengan TG-ase...	44
Gambar 4.12	Spektrum FTIR gelatin ikan cod .....	45
Gambar 4.13	Hasil SDS-PAGE pengaruh penambahan TG-ase.....	46

*Halaman ini sengaja dikosongkan*



## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.	Komposisi asam amino (%) beberapa bagian organ.....	9
Tabel 2.2	Transglutaminase dari berbagai sumber.....	17
Tabel 2.3	Fungsi transglutaminase pada berbagai industri makanan	19
Tabel 4.1	Standar mutu gelatin (SNI, 1995).....	30
Tabel 4.2	Standar mutu gelatin (GMIA, 2012).....	31
Tabel 4.3	Hasil rendemen dan kekuatan gel berdasarkan penggunaan beberapa bahan kimia dan suhu yang berbeda pada ekstraksi gelatin.....	32
Tabel 4.4	Beberapa metode ikatan silang yang digunakan untuk gelatin....	37
Tabel 4.5	Perbandingan karakteristik gelatin dan gelatin+TG-ase.....	41

*Halaman ini sengaja dikosongkan*

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Gelatin merupakan polimer yang tersusun atas monomer (asam amino dan polipeptida) yang saling berikatan dan berasal dari hidrolisis kolagen pada bagian tubuh hewan, antara lain kulit, jaringan ikat serta tulang (Yi *et al.*, 2006). Menurut (Karim & Bhat, 2009) hewan dan jaringan yang paling banyak digunakan sebagai sumber gelatin adalah mamalia seperti kulit babi (46%), kulit sapi (29,4%), tulang sapi (23,1%) dan kulit ikan (1,5%). Gelatin memiliki kemampuan untuk mengikat air dan lemak, sehingga banyak digunakan dalam berbagai industri sebagai pengemulsi dan penstabil (Calvaro *et al.*, 2016). Gelatin dapat digunakan sebagai formulasi film karena memiliki sifat pembentuk film yang sangat baik, biodegradabilitas, dan biaya produksi yang rendah (Liu *et al.*, 2017).

Gelatin yang diproduksi memiliki kualitas yang berbeda ditinjau dari karakteristik gelatin meliputi kekuatan gel, viskositas, titik leleh, rendemen dan ultrastruktur (Wulandari *et al.*, 2016; Yang *et al.*, 2016 ; Gomez-Guillen *et al.*, 2001). Hal ini disebabkan oleh perbedaan bahan baku yang digunakan meliputi spesies, umur dan organ. Masing-masing bahan baku tersebut memiliki komposisi kolagen yang berbeda sehingga berbeda pula jumlah kandungan asam amino prolin dan hidrosiprolin (Wojtysiak, 2013; Schrieber & Gareis, 2007; Yi *et al.*, 2006). Komposisi kolagen tersebut akan menentukan kualitas gelatin yang dihasilkan. Kualitas gelatin memiliki standar tersendiri untuk dapat digunakan sesuai peruntukannya. Sehingga pemilihan bahan baku merupakan hal yang penting dilakukan untuk mendapatkan gelatin dengan kualitas yang memenuhi standar (GMIA 2012; SNI, 1995).

Gelatin dengan kualitas rendah yang tidak memenuhi standar dapat ditingkatkan dengan penggunaan metode ekstraksi yang tepat dan penggunaan metode ikatan silang (See *et al.* 2015; Campiglio *et al.*, 2019). Metode ekstraksi merupakan salah satu metode yang dapat digunakan dalam upaya peningkatan kualitas gelatin. Penggunaan senyawa dan suhu ekstraksi harus disesuaikan dengan bahan baku yang digunakan. Ekstraksi gelatin dengan bahan baku tulang

sapi membutuhkan suhu ekstraksi yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstraksi gelatin menggunakan kulit sapi. Selain itu ekstraksi gelatin pada tulang sapi menggunakan kombinasi senyawa asam dan basa sedangkan ekstraksi pada kulit sapi hanya menggunakan senyawa basa (Amertaningtyas *et al.*, 2019 ; Bahar *et al.*, 2018).

Upaya lainnya untuk meningkatkan kualitas gelatin yaitu menggunakan metode ikatan silang (*cross-linking method*) (Al-Hassan & Norziah, 2017). Metode ikatan silang untuk peningkatan kualitas gelatin dapat dibedakan menjadi tiga kategori yaitu fisika, kimia dan enzimatik. Salah satu metode ikatan silang yang umum digunakan yaitu kategori enzimatik menggunakan Transglutaminase (TG-ase). Transglutaminase (TG-ase) telah terbukti sebagai enzim yang paling efektif untuk meningkatkan karakteristik biopolimer gelatin (Erwanto *et al.*, 2014). Fungsi enzim kelas transferase ini adalah untuk mengkatalisis ikatan silang antara l-lisin dan l-glutamin dalam gelatin. TG-ase bersifat tidak berbahaya dan umumnya digunakan dalam industri makanan. Penggunaan TG-ase juga menghasilkan gelatin dalam waktu yang singkat (20-180 menit) dan kekuatan gel yang stabil (tidak mudah hancur selama berminggu-minggu) (Yang, *et al.*, 2016; Yi *et al.*, 2006).

Penelitian peningkatan karakteristik biopolimer gelatin dengan penambahan TG-ase telah dilakukan oleh Kuwahara *et al.*, (2010), Bertani *et al.*, (2006) dan Wulandari *et al.*, (2016). Penelitian tersebut menunjukkan bahwa penambahan TG-ase pada gelatin dapat meningkatkan viskositas, kekuatan gel dan kandungan protein gelatin. Gomez-Guillen *et al.*, (2001) juga menunjukkan bahwa ultrastruktur gelatin dengan penambahan TG-ase memiliki matriks yang sangat padat, dibandingkan dengan gelatin tanpa TG-ase sebagai hasil dari adanya ikatan silang protein.

Studi literatur ini menyajikam gambaran tentang berbagai karakteristik gelatin yang telah dimodifikasi dengan penambahan TG-ase.

## **1.2 Rumusan masalah**

Rumusan masalah dari studi literatur ini adalah bagaimana karakteristik gelatin yang akan terbentuk setelah modifikasi penambahan TG-ase.

### **1.3 Tujuan**

Tujuan dari studi literatur ini adalah untuk menggambarkan karakteristik gelatin yang akan terbentuk setelah modifikasi penambahan TG-ase.

### **1.4 Manfaat**

Studi literatur ini merupakan tahapan awal gambaran mengenai karakteristik gelatin yang akan terbentuk setelah modifikasi penambahan TG-ase. Hasil gambaran ini diharapkan dapat digunakan pada penelitian di masa depan untuk meningkatkan karakteristik gelatin dengan penggunaan TG-ase.

*Halaman ini sengaja dikosongkan*

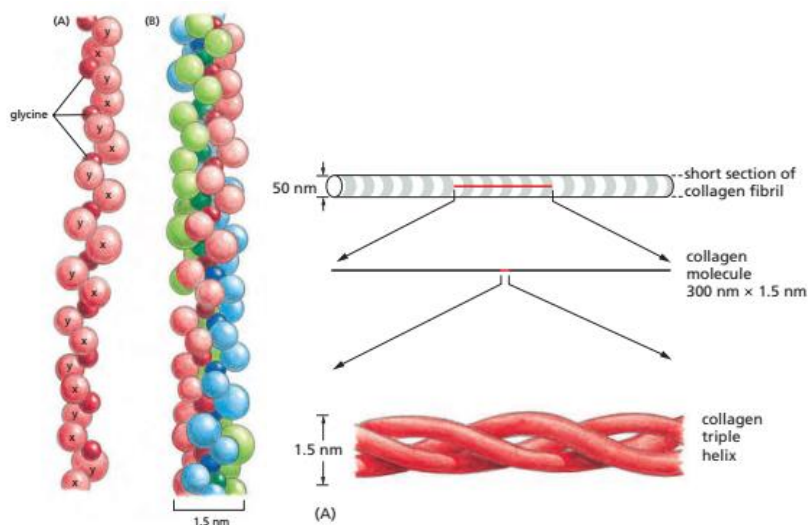
## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA DAN DASAR TEORI**

#### **2.1 Kolagen**

Kolagen adalah protein struktural utama dari jaringan ikat, seperti kulit, tulang, tulang rawan dan tendon, dan terdiri sekitar sepertiga dari total protein pada mamalia. Kolagen yang diekstrak dari bahan yang kaya kolagen dengan air panas dikenal sebagai gelatin. Bahan umum yang digunakan untuk mengekstraksi gelatin termasuk kulit babi (46%), kulit sapi (29,4%), tulang sapi (23,1%) dan sumber lainnya (kulit ikan) (1,5%) (Karim & Bhat, 2009). Gelatin dari bahan dasar ikan sekarang mulai diteliti dan diminati karena alasan agama, budaya dan kesehatan (Mad-Ali *et al.*, 2016). Menurut Suptijah *et al.*, (2018) kulit ikan patin memiliki kandungan kolagen yang cukup tinggi yaitu sebesar 2,75 mg/kg kulit ikan atau setara dengan 85,3 mg/kg ikan. Oleh karena itu gelatin dari kulit ikan patin dapat menjadi sumber gelatin yang menjanjikan.

Kolagen terdiri dari tiga rantai-  $\alpha$  yang membentuk struktur triple-helix. Rantai- $\alpha$  terdiri dari pengulangan sekuens asam amino Gly-X-Y di mana X sebagian besar adalah prolin dan Y sebagian besar adalah hidroksiprolin. Bentuk tripel-helix dipengaruhi oleh banyaknya kandungan prolin dan hidroksiprolin. Susunan Gly-Pro-Hyp pada rantai- $\alpha$  akan membentuk konformasi *left-handed helix* bersifat tidak stabil pada fase tunggal. Adanya cincin pada prolin dan hidroksiprolin akan memaksa helix rantai- $\alpha$  tunggal membentuk susunan triple-helix dengan helix rantai- $\alpha$  lainnya. Susunan *triple-helix* merupakan susunan dengan stabilitas yang tinggi dan susunan *triple-helix* yang terbentuk adalah konformasi *right-handed helix*. Stabilitas yang tinggi dari susunan *triple-helix* dikarenakan adanya ikatan intra dan inter-hidrogen. Residu asam amino glisin pada susunan tersebut terletak di tengah-tengah sedangkan gugus samping dari asam amino prolin dan hidroksiprolin terletak disebelah luar/pinggir (Gambar 2.1) (Schrieber & Gareis, 2007).



**Gambar 2.1** Struktur *triple helix* kolagen (Albert *et al.*, 2014)

Kolagen dapat memiliki beragam organisasi supramolekul seperti *Fibril-Forming Collagen* (FFC), *Network-Forming Collagen* (NFC), *Beaded Filament-Forming Collagen* (BFFC), *FibrilAssociated Collagens with Interrupted Triple-helices* (FACIT), *Membrane Associated Collagens with Interrupted Triple-Helices* (MACIT) and *Multi-Plexins Collagens* (MPC). 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). Dalam kasus FFC, struktur *triple-helix* dihubungkan bersama oleh ikatan kovalen untuk membentuk fibril yang terhubung ke fibril lain dan membentuk serat kolagen (Schrieber & Gareis, 2007). Kolagen bisa membentuk ikatan silang yang berbeda-beda sebagai fungsi dari jenis jaringan dan usia hewan. Sebagai contoh di jaringan seperti tulang, kolagen lebih banyak ikatan daripada di jaringan lain seperti kulit sehingga membuat matriks lebih kaku. Contoh lain yaitu kolagen lebih banyak memiliki ikatan silang pada hewan tua daripada pada hewan muda yang berakibat pada pengurangan elastisitas kulit (Eyre *et al.*, 2010; Schrieber & Gareis, 2007; Shoulders & Raines, 2009). Semakin meningkat umur akan berpengaruh terhadap stabilitas kolagen ketika didenaturasi. Kolagen dengan ikatan silang yang lebih luas seperti pada hewan yang dewasa, memerlukan proses pemecahan ikatan



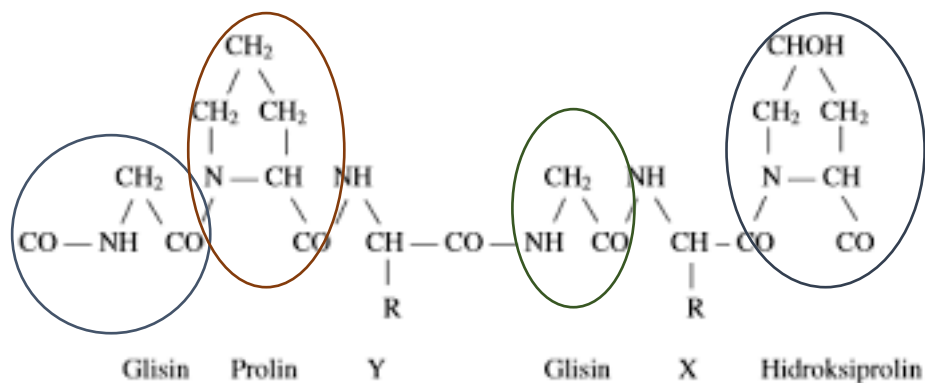
silang yang lebih untuk denaturasi kolagen hingga menjadi gelatin (Muyonga *et al.*, 2004).

## **2.2 Gelatin**

Gelatin adalah protein turunan dari kolagen yang dihasilkan melalui hidrolisis parsial kolagen dengan asam atau basa yang memecah ikatan silang (*cross-linkage*) antara struktur polipeptida fibrosa sehingga menghasilkan gelatin (Eryilmaz *et al.*, 2017). Gelatin memiliki struktur yang berbeda dengan kolagen sebab sebagian struktur heliksnya mengalami reformasi sehingga gelatin dapat didefinisikan sebagai kolagen yang terhidrolisis sebagian (Duconseille *et al.*, 2015). Gelatin memiliki sifat yakni padat, larut dalam air, tidak berwarna, transparan, tidak memiliki rasa, rapuh dalam kondisi kering, mampu membentuk kekentalan yang tinggi ketika dilarutkan dalam air hangat, dan membentuk gel setelah didinginkan (Irwandi *et al.*, 2009). Gelatin umumnya dimanfaatkan untuk produksi kapsul, enkapsulasi, pembentukan film, sehingga dapat dimanfaatkan dalam bidang farmasi, biomaterial untuk pengemasan makanan, serta dalam industri fotografi dan industri makanan (Jongjareonrak *et al.*, 2006).

### **2.2.1 Komposisi Gelatin**

Karakteristik yang dimiliki oleh gelatin tidak lepas dari komposisi dan struktur yang menyusun gelatin itu sendiri. Gelatin memiliki komposisi asam amino yang hampir mirip dengan kolagen karena gelatin didapatkan dari denaturasi kolagen, namun tetap saja ada beberapa perbedaan dalam komposisi asam amino tersebut. Perbedaan komposisi asam amino tersebut dikarenakan proses ekstraksi dari gelatin sangatlah berbeda dari proses pembuatan kolagen (Singh *et al.*, 2002; Taheri *et al.*, 2006). Komposisi asam amino utama dari gelatin adalah Glisin, Prolin dan Hidroksiprolin yang mencapai lebih dari 50% dalam gelatin mamalia begitu juga pada gelatin ikan sedangkan asam amino lain ditemukan dalam jumlah yang relatif kecil (Gambar 2.2).



**Gambar 2.2** Konfigurasi kimia gelatin (Mariod dan Adam, 2013)

Komposisi asam amino pada mamalia dan ikan dapat dilihat pada **Tabel 2.1** (Avena-Bustillos *et al.*, 2006; Farris *et al.*, 2009; Vijayan *et al.*, 2018). Komposisi prolin dan hidroksiprolin yang lebih sedikit dijumpai pada gelatin ikan dari pada gelatin mamalia membuat sifat-sifat gelatin ikan berbeda dengan mamalia. Gelatin ikan akan membentuk gel pada suhu yang jauh lebih rendah  $4-5^{\circ}\text{C}$  dan akan menjadi cairan pada suhu ( $12-13^{\circ}\text{C}$ ) dibandingkan dengan gelatin mamalia (Haug *et al.*, 2004).

### 2.2.2 Struktur Gelatin

Kolagen akan di denaturasi saat pembuatan gelatin sehingga kolagen akan kehilangan struktur aslinya. Protein kolagen yang membentuk helix akan kehilangan konformasinya selama proses pemanasan, kemudian saat proses pendinginan struktur helix tersebut akan memulihkan konformasinya ke keadaan seperti semula. Pada proses ini air akan terperangkap dan akan dihasilkan gelatin dalam bentuk gel. Gelatin yang terbentuk sudah tidak memiliki struktur yang sama dengan kolagen hal ini dikarenakan struktur helix dari kolagen sudah tidak bisa kembali lagi dan beberapa asam amino sudah berikatan dengan komponen-komponen yang lain seperti komponen karbohidrat, lipid dan protein lain (Guo *et al.*, 2003).

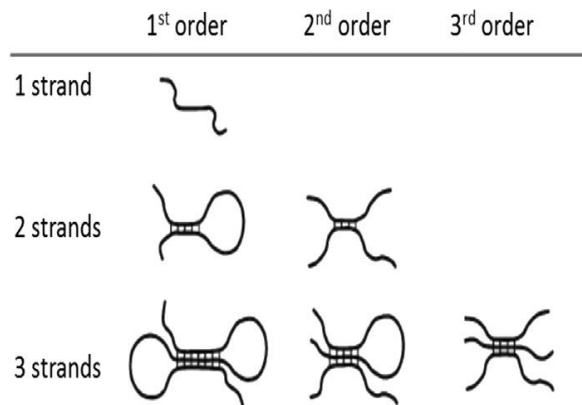
**Tabel 2.1.** Komposisi asam amino (%) pada beberapa bagian organ hewan menunjukkan bahwa kulit babi dan kulit sapi memiliki komposisi asam amino prolin dan hidrosiprolin lebih tinggi dibandingkan dengan ikan.

	Aln	Arg	Asp	Sis	Glu	Gli	His	Ile	Leu	Lis	Met	Fen	Pro	Ser	Tre	Tir	Val	Hsis	Hylis	Hypro	
<b>Kulit Ikan Salmon</b>	12,49	5,06	5,12	0,08	7,25	35,54	0,87	0,97	1,83	2,47	1	1,27	10,79	4,73	2,55	0,13	1,41	0,12	0,76	5,56	<b>(Avena-Bustillos et al., 2006)</b>
<b>Kantong udara Ikan Patin</b>	10,58	7,88	4,94	-	10,37	24,3	2,97	1,48	2,3	5,67	-	2,27	10,62	3,39	3,11	0,15	2,02	-	-	8,01	<b>(Vijayan et al., 2018)</b>
<b>Kulit Babi</b>	11,39	5,19	4,63	0,16	7,27	32,34	0,48	1,01	2,58	2,83	0,54	1,44	13,47	3,07	1,69	0,39	2,30	0,02	0,68	8,53	<b>(Avena-Bustillos et al., 2006)</b>
<b>Kulit Babi</b>	11,05	4,96	4,42	-	7,10	32,20	0,45	1,02	2,35	2,65	0,32	1,38	13,10	3,40	1,80	0,35	1,90	-	0,75	9,80	<b>(Farris et al., 2009)</b>
<b>Kulit sapi</b>	11,91	4,98	4,83	0,04	7,78	28,74	0,47	1,28	2,59	2,77	0,33	1,33	13,78	3,52	2,01	0,22	2,16	0,02	0,86	10,39	<b>(Avena-Bustillos et al., 2006)</b>

Gelatin yang telah diekstrak dari kolagen akan memiliki sifat dan karakteristik yang berbeda. Hal ini dikarenakan saat struktur helix memulihkan strukturnya (membentuk struktur sekunder) pada proses pendinginan terjadi perubahan susunan ruang dan interaksi ikatan. Perubahan susunan ruang dan interaksi ikatan pada struktur sekunder dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti suhu, konsentrasi gelatin dan energi yang diperlukan untuk membentuk struktur sekunder pada saat proses pendinginan (Guo *et al.*, 2003).

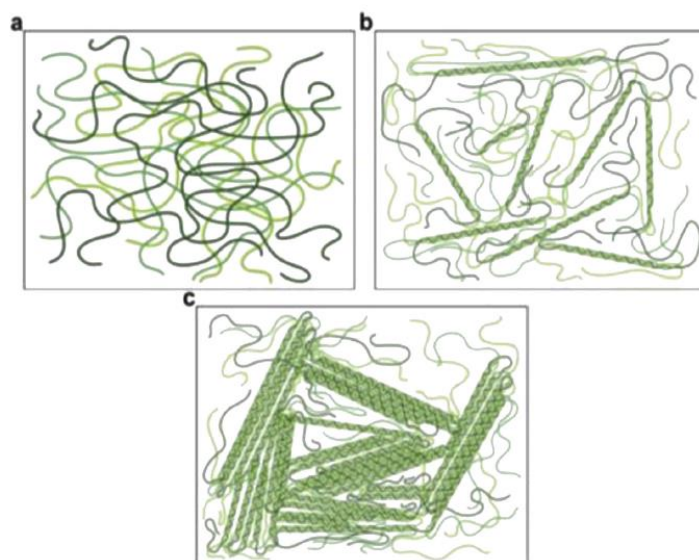
Struktur gelatin dapat dibentuk oleh 2 rangkap rantai- $\alpha$  atau 1 rangkap rantai- $\alpha$  dengan membentuk *loop* (lekukan). Struktur gelatin juga bisa terbentuk dari 3 rangkap rantai- $\alpha$  yang berbeda atau dua rantai- $\alpha$  yang salah satunya membentuk *loop* atau hanya satu rantai-dengan dua *loop*. Struktur gelatin bersifat *reversible* dan stabil hanya jika memiliki panjang minimum. Pembentukan struktur dengan *loop* membutuhkan lebih banyak energi daripada tanpa *loop*. Hal ini menunjukkan bahwa struktur tersebut terbuat dari ikatan yang lemah. Pembentukan struktur gelatin dari berbagai macam rantai- $\alpha$  dapat dilihat pada **Gambar 2.3** (Guo *et al.*, 2003).

Menurut Coppola *et al.* (2012), gelatin sapi memiliki tiga keadaan struktural yang berbeda, yaitu: Kondisi amorf berhubungan dengan struktur koil dengan rantai primer; Kondisi semi-kristal terdiri dari triple-helix dan struktur koil dan; Kondisi kristalisasi yang mana adanya pengemasan/pengelompokan struktur triple-helix serta adanya struktur koil (**Gambar. 2.4**). Deskripsi ini sesuai dengan penelitian Oakenfull dan Scott (2003) yang mengidentifikasi zona penyambungan dalam struktur gelatin yang disusun oleh triple-helix atau oleh triple-helix yang dikumpulkan bersama-sama/dikelompokkan.



**Gambar 2.3** Berbagai jenis rantai dalam struktur gelatin (Guo *et al.*, 2003).

Ketiga kondisi berbeda ini bergantung pada kecepatan pengeringan film gelatin. Keadaan amorf diperoleh dengan pengeringan yang cepat, sedangkan keadaan terkristalisasi dengan laju pengeringan lambat (Coppola *et al.*, 2012). Struktur gelatin juga dipengaruhi dengan tingkat kelembaban, suhu, konsentrasi dan kandungan berbagai zat dalam gelatin (Coppola *et al.*, 2012). Eysturskard *et al.*, (2009) menemukan bahwa jumlah struktur heliks dalam gelatin meningkat dengan meningkatnya konsentrasi.



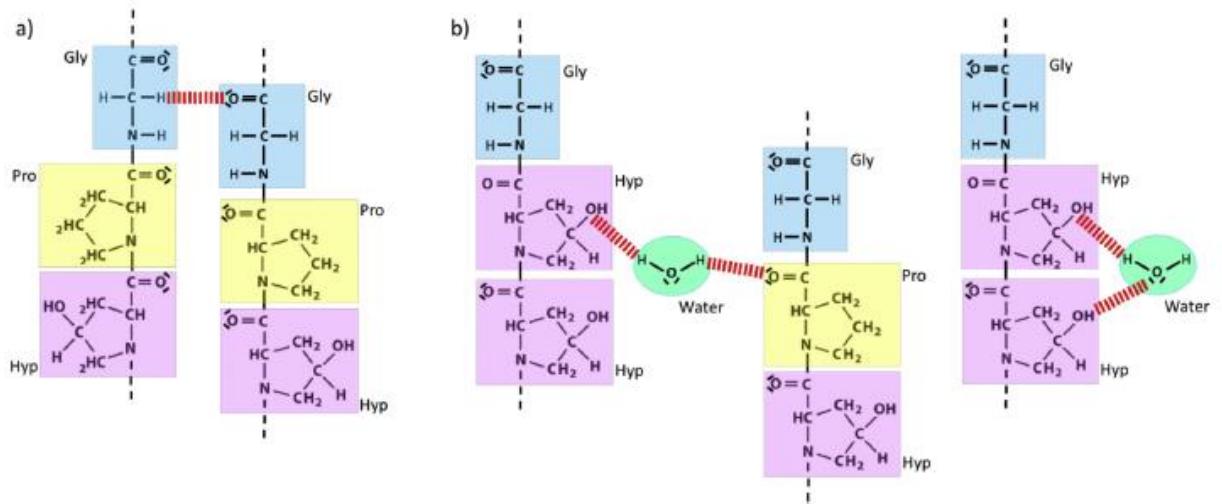
**Gambar 2.4** Skema struktur film gelatin. a) Kondisi amorf; b) Kondisi semi-kristal; c) Kondisi Kristalisasi (Coppola *et al.*, 2012).

Pendistribusian berat molekul pada rantai gelatin juga akan mempengaruhi strukturnya. Kolagen rantai- $\alpha$  memiliki berat molekul sekitar 110.000 g/mol. Dalam gelatin, selain rantai- $\alpha$  juga terdapat rantai  $\beta$  dan  $\gamma$  dengan berat molekul masing-masing 200.000 g/mol dan 300.000 g/mol (Díaz *et al.*, 2011). Menurut Guo *et al.* (2003), dua rantai- $\alpha$  yang dihubungkan secara kovalen dapat membentuk struktur untai ganda bernama rantai- $\beta$ , dan tiga rantai (*triple helix*) bernama rantai- $\gamma$  (Gomez-Guillen *et al.*, 2011; Taheri *et al.*, 2009). Distribusi berat molekul tergantung pada proses pembuatan gelatin yang menyebabkan degradasi molekul (Elharfaoui *et al.*, 2007). Bahan baku yang digunakan juga mempengaruhi kisaran berat molekul dalam produk. Kolagen dari tulang atau kulit sapi, babi dan ikan akan memberikan distribusi berat molekul yang berbeda. Usia hewan yang digunakan juga memiliki pengaruh karena kolagen hewan yang lebih tua memiliki lebih banyak ikatan silang daripada hewan muda (Wojtysiak, 2013; Sompie *et al.*, 2012 ; Amertaningtyas *et al.*, 2019; Muyonga, *et al.*, 2004; Binsi *et al.*, 2009).

Gelatin tersusun oleh asam amino yang berasal dari kolagen, struktur *triple helix* kolagen yang konformasinya berubah karena perlakuan, dapat kembali lagi namun tidak sama dengan struktur awal. Proses kembalinya konformasi ini juga diikuti pembentukan ikatan-ikatan baru, ikatan yang terbentuk tidak hanya berasal dari protein atau asam amino, tetapi juga berasal dari berbagai zat yang berada di bahan baku yang diekstrak tersebut. Ikatan tersebut antara lain ikatan hidrogen, ikatan kovalen, interaksi hidrofobik dan interaksi elektrostatis. Hal ini lah yang menyebabkan struktur gelatin akan berbeda dengan struktur kolagen (Taheri *et al.*, 2009).

Ikatan hidrogen adalah ikatan lemah yang terdapat pada struktur *double helix* atau *triple helix* gelatin. Ikatan ini dibentuk oleh residu asam amino glisin. Atom hidrogen glisin terletak di dalam *triple helix* dan membentuk ikatan lemah dengan atom oksigen dari gugus karboksil (Guo *et al.*, 2003; Oakenfull & Scott, 2003). Menurut Oakenfull dan Scott (2003), struktur gelatin tiga dimensi distabilkan oleh kedua kelompok amina (-NH) dari satu rantai gelatin yang membentuk ikatan hidrogen dengan gugus karboksil (-CO) dari rantai lain dan ikatan hidrogen yang dibentuk oleh molekul air dengan rantai gelatin. Sehingga disini molekul air juga

berperan dalam pembentukan ikatan hidrogen dalam menstabilkan struktur helix. Ikatan hidrogen yang terbentuk di struktur helix gelatin ditunjukkan pada **Gambar 2.5**.



**Gambar 2.5** Ikatan hidrogen (garis titik-titik merah) pada struktur gelatin (a) antara stuktur gelatin dengan molekul air (b) (Duconseille *et al.*, 2015).

Interaksi hidrofobik dapat memiliki efek besar pada pembentukan struktur  $\beta$ -sheet, Xu *et al.*, (2012) menunjukkan bahwa pembentukan agregat pada gelatin kulit babi yang dicangkokkan dengan glikidol meningkatkan konsentrasi dan ikatan hidrofobik. Interaksi hidrofobik, sebagai interaksi nonspesifik, merupakan kekuatan utama untuk terjadinya pelipatan protein dan menyebabkan agregasi rantai. Kekuatan elektrostatis antara residu yang bermuatan ditingkatkan di daerah hidrofobik dan mendukung pembentukan struktur  $\beta$ -sheet, menyebabkan perpanjangan rantai molekul.

Interaksi elektrostatis juga terjadi pada struktur gelatin karena 85-92% gelatin terdiri dari protein sehingga gelatin mengandung kelompok kationik dan anionik. Interaksi elektrostatis dalam gel polielektrolit ini dipengaruhi oleh pH dan konsentrasi garam. Yang *et al.* (1997), mempelajari perilaku pembengkakan gelatin menggunakan solusi dengan konsentrasi NaCl yang berbeda. Mereka mengamati bahwa tingkat pembengkakan dipengaruhi oleh tingkat ionisasi larutan

dan mengaitkannya dengan pembentukan pasangan ion antara muatan di jaringan. Miyawaki *et al.* (2003), meneliti pengaruh potensi air pada transisi sol-gel dan interaksi antar molekul gelatin kulit babi. Selama gelasi, pembentukan *triple helix* melibatkan interaksi elektrostatis dan hidrofobik, serta ikatan hidrogen. Penambahan garam dapat memodifikasi interaksi elektrostatis dan mempengaruhi stabilisasi gelatin. Menurut Haug *et al.* (2003), yang mengukur sifat mekanik gelatin ikan tipe A dengan pH dan konsentrasi garam yang bervariasi, menyimpulkan bahwa interaksi elektrostatis dapat berkontribusi pada stabilisasi gelatin.

Ikatan kovalen yang ditemukan dalam kolagen juga dapat ditemukan dalam gelatin dan mempengaruhi sifat mekaniknya. Pada kolagen terdapat berbagai macam ikatan kovalen; misalnya, pada kolagen kulit tipe III, VI, VII dan XVI yang dapat membentuk ikatan disulfida selain itu kolagen tipe I, III, V dan VII dapat membentuk N ( $\gamma$ -glutamyl) lisin isopeptida (Sjoberg & Bulterijs, 2009).

### 2.2.3 Ekstraksi Gelatin

Ekstraksi gelatin memiliki banyak metode namun yang paling sering digunakan adalah ekstraksi asam, basah dan menggunakan enzim. Setiap produk akhir proses berbeda dalam hal kualitas akhir dan menentukan aplikasi penggunaan gelatin yang berbeda.

**Ekstraksi Asam** adalah ekstraksi yang menggunakan larutan asam baik asam lemah ataupun asam kuat. Metode ini merupakan metode yang paling banyak digunakan dalam ekstraksi gelatin, biasanya produk gelatin ini menggunakan simbol gelatin "tipe A". Gudmundsson and Hafsteinsson (1997) menjelaskan mengenai ekstraksi gelatin dari ikan. Pertama kulit ikan dicuci dengan air mengalir kemudian direndam dalam 0,2% NaOH selama 40 menit. Larutan asam sulfat 0,2% (b/v) digunakan untuk menetralkan kulit yang diekstrak. Selanjutnya, asam sitrat (1%) digunakan untuk merendam bahan lagi. Asam dihilangkan menggunakan air mengalir untuk membuat bahan akhir netral. Pada langkah ekstraksi akhir, rasio kulit dengan air (1: 3) dipertahankan pada 40-50 °C selama 12 jam. Bahan yang diekstraksi disaring menggunakan kertas saring Whatman # 4 dan dikondensasi dalam vakum dan dibekukan hingga mengering.



Penelitian lain oleh Jamilah dan Harvinder (2002) yang mengekstraksi gelatin dari kulit nila merah dan hitam (*Oreochromis nilotica* dan *O. mossambicus*). Bahan baku yang dibersihkan direndam dalam larutan alkali encer (0,2% b/v) selama 40 menit. Kemudian, bahan itu direndam dalam asam sulfat dengan konsentrasi yang sama dan diikuti oleh perlakuan asam sitrat 1,0%. Kemudian, ekstraksi dilakukan dengan air suling pada suhu 45 ° C selama 12 jam.

**Ekstraksi Basa** memiliki perbedaan utama dalam prosesnya yaitu penggunaan perlakuan alkali atau basa yang kuat, dan gelatin yang dihasilkan memiliki di titik isoelektrik (pH presipitasi) yang berbeda. Variasi proses ini berakhir dengan sejumlah besar perubahan fungsional dan kimia pada produk akhir gelatin. Jamilah *et al.* (2011) melakukan ekstraksi gelatin menggunakan *Pangasius sutchi* Fowler, *Clarias batrachus* dan *Oreochromis nilotica*. Kulit ikan dibersihkan dengan air mengalir, dikeringkan dan diberi larutan Ca (OH)<sub>2</sub> jenuh dalam perbandingan 1: 2 selama 14 hari pada suhu 20 ° C. kemudiandicuci dengan mempertahankan pH~10. Kulit kemudian direndam dalam akuades selama satu malam untuk melarutkan gelatin pada suhu 48°C. Bahan disaring menggunakan Whatman No.#4 dan filtrat dilewatkan lagi melalui resin penukar kation untuk menurunkan pH ~ 5, diikuti oleh freeze drying.

Dalam penelitian lain, kulit dan sirip ikan mas perak (*Hypophthalmichthys molitrix*) diekstraksi pada suhu kamar. Kulit direndam dalam larutan basa setelah dikurangi ukurannya menjadi 10-30 cm pada 15-20 ° C. Larutan basa (8,25%) pada pH ~ 12 digunakan selama 4 minggu. Setelah waktu inkubasi, bahan dicuci dengan air dengan menjaga pH sekitar 10. Kemudian, larutan disaring dan dicampur dengan larutan asam klorida (HCl) 5% untuk menurunkan pH dan kemudian dibekukan hingga kering (Tavakolipour, 2011).

**Ekstraksi Enzim** menggunakan berbagai enzim penghidrolisa protein dengan tujuan untuk mengubah kolagen menjadi gelatin. Suatu penelitian menggunakan *Aristichthys nobilis* untuk diekstrak menjadi gelatin yang menggunakan: pepsin (547 U/g) pada pH 4 dan waktu proses serta suhu yaitu 1,27 jam dan 46,98°C. Proses ini menghasilkan gelatin dengan kekuatan gel yang lebih tinggi daripada metode ekstraksi lainnya, meskipun hasilnya sedikit lebih rendah (Tong dan Ying, 2013).

Feng *et al.* (2013) menggunakan ikan sturgeon *Acipenser sturio* Linnaeus. Kulit mentah diaduk selama 24 jam dengan NaCl (3,5%) untuk menghilangkan bahan non-kolagen. Kemudian, larutan 0,5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> digunakan untuk menghilangkan bahan larut lemak selama dua hari. Kulit yang dihilangkan lemaknya kemudian dicuci agar bersifat netral diikuti oleh ekstraksi gelatin menggunakan larutan enzim pepsin. Untuk menghilangkan bahan yang tidak larut, larutan gelatin kental disentrifugasi selama 20 menit pada 5.000 rpm. Presipitasi dilakukan dengan menggunakan ammonium sulfat (2,6 M). Sentrifugasi kedua dilakukan untuk mengumpulkan bahan yang diendapkan dan dibekukan. Konsentrasi enzim 2,42% dengan rasio padat terhadap cair 1: 11,88 serta waktu 6,45 jam adalah parameter yang paling berhasil.

### 2.3 Transglutaminase

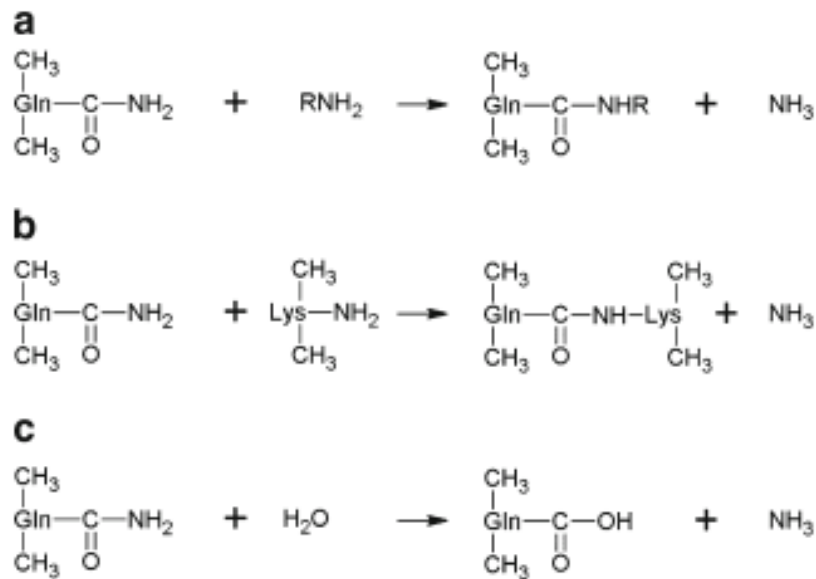
Transglutaminase (EC 2.3.2.13) merupakan enzim dalam kelas transferase yang dapat mengkatalis reaksi untuk mengubah protein dengan menggabungkan gugus amina, ikatan silang, dan deaminasi (Singh & Kumar, 2019). TG-ase tersebar luas di berbagai organisme termasuk vertebrata, invertebrata, tanaman, dan mikroorganisme, serta diketahui juga bertanggung jawab atas peristiwa biologis tertentu seperti keratinisasi epidermal, keratinisasi darah, pembekuan darah, dan regulasi membran eritrosit (Duarte *et al.*, 2020). TG-ase diekstraksi dari berbagai sumber seperti ditunjukkan pada **Tabel 2.2**.

TG-ase mengkatalis reaksi *acyl transfer* di mana gugus  $\gamma$ -karboksamida residu glutamin pada ikatan peptida bertindak sebagai donor *acyl* dan gugus  $\epsilon$ -amino residu lisin atau beberapa gugus amino primer adalah *acyl acceptor*. Dengan demikian polimerisasi protein dapat dicapai sebagai hasil dari pembentukan ikatan lisin  $\epsilon$ -( $\gamma$ -glutamyl) intermolekul atau intramolekul (Chen & Sheu, 2005). Selain itu, TG-ase mengkatalis reaksi deaminasi jika tidak ada kelompok amina bebas. Dalam hal ini, air bertindak sebagai *acyl acceptor* (**Gambar 2.6**). Reaksi yang dikatalis oleh enzim ini menghasilkan perubahan signifikan dalam sifat fisik dan kimia protein, seperti modifikasi dalam viskositas, stabilitas termal, elastisitas dan ketahanan protein (Kuraishi *et al.*, 2001). Erwanto *et al.*, (2014) menyatakan bahwa transglutaminase adalah bahan yang efektif

untuk meningkatkan sifat reologi protein dalam makanan. Selain itu TG-ase juga dapat menghubungkan berbagai protein secara silang dalam pembentukan film biopolimer (Lim, Mine & Tung, 1999).

**Tabel 2.2** TG-ase diekstraksi dari berbagai sumber organisme dengan suhu optimal, pH dan berat molekul.

<b>Organisme</b>	<b>Spesies</b>	<b>Suhu optimal, pH dan berat molekul (ekstraksi)</b>	<b>Referensi</b>
Ikan	<i>Red sea bream (Pagrus major)</i>	pH 9.0–9.5, 78 kDa	(Yasueda <i>et al.</i> , 1994)
	Ikan Nila ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	37–50 °C, pH 7.5, 85 kDa	(Worratao & Yongsawatdigul, 2005)
Invertebrata	Udang ( <i>Marsupenaeus japonicus</i> )	85 kDa	(Chen <i>et al.</i> , 2005)
	<i>Antarctic krill (Euphausia superba)</i>	0–10 °C, pH 8.0–9.0	(Zhang <i>et al.</i> , 2017)
Tanaman	Rosemary ( <i>Rosmarinus ofcinalis</i> )	55 °C, pH 7.0	(El-Hof <i>et al.</i> , 2014)
	Jagung ( <i>Zea mays</i> )	-	(Villalobos <i>et al.</i> , 2004)
Mikrobiologi	<i>Streptoverticillium mobaraensis</i> (strain S-S112)	50 °C, pH 6, 40 kDa	(Ando <i>et al.</i> , 1989)
	<i>Streptomyces lydicus</i>	37 °C, pH 6, 37 kDa	(Langston <i>et al.</i> , 2007)
	<i>Streptomyces platensis</i>	37 °C, pH 7–8, 38 kDa	(Langston <i>et al.</i> , 2007)



**Gambar 2.6** Reaksi yang dikatalis oleh TG-ase. (a). Reaksi *acyl transfer*; (b) reaksi ikatan silang antara residu protein Gln dan Lys. (c) deaminasi (Kieliszek & Misiewicz, 2014).

Saat ini TG-ase banyak diterapkan dalam industri makanan untuk meningkatkan kapasitas pengemulsi protein, gelatasi, viskositas, kelembutan, pembentukan busa, dan stabilitas produk makanan (Singh & Kumar, 2019). Selain itu TG-ase merupakan agen pengikat silang yang dikenal dalam aplikasi rekayasa jaringan karena tidak mengubah struktur *triple helix* pada kolagen, selain itu memudahkan perlekatan seluler tanpa adanya efek sitotoksik (Sheehy *et al.*, 2018).

TG-ase memiliki suhu dan pH optimal yakni 40° C pada pH 5,5 yang merupakan kondisi optimum untuk aktivitas katalitik transglutaminase. Enzim transglutaminase ini tidak stabil pada suhu 50°C (akan kehilangan 50% aktivitasnya ketika dipanaskan selama 30 menit) dan sangat rentan terhadap panas dengan adanya etanol. Penambahan karbohidrat, seperti maltodekstrin, sakarosa, manosa, trehalosa dan glutathione tereduksi (GSH), secara signifikan meningkatkan stabilitas termal enzim. TG-ase yang diisolasi dari sumber mikrobiologis banyak digunakan karena dapat menghemat energi juga bernilai ekonomis. Selain itu enzim ini aman bagi konsumen dan mudah terurai (Kieliszek

& Misiewicz, 2014). Fungsi TG-ase pada berbagai industri makanan dapat dilihat pada **Tabel 2.3**.

**Tabel 2.3** Fungsi TG-ase pada berbagai industri makanan (Kieliszek & Misiewicz, 2014)

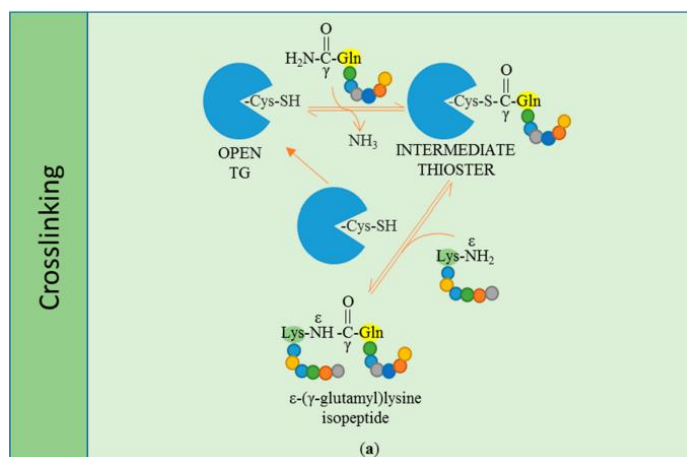
<b>Produk</b>	<b>Fungsi</b>
Daging (daging yang direstrukturisasi, hamburger, bakso, sosis)	Peningkatan sifat reologi, kapasitas penahan air, penampilan, struktur kekerasan
Susu (krim, minuman, makanan penutup)	Stabilitas lebih tinggi dan tekstur lebih baik
Ikan (Produk ikan kaleng, direstrukturisasi Produk)	Peningkatan sifat reologi, kapasitas penahan air, penampilan, struktur kekerasan
Yogurt	Pembentukan dan stabilitas gel yang lebih tinggi
Produk roti	Volume lebih tinggi dan tekstur lebih baik
Produk protein nabati	Pembentukan gel dengan tekstur yang mirip dengan protein hewani
Permen berbasis gelatin	Makanan penutup rendah kalori dengan tekstur dan elastisitas yang lebih baik

#### **2.4 Ikatan Silang Transglutaminase**

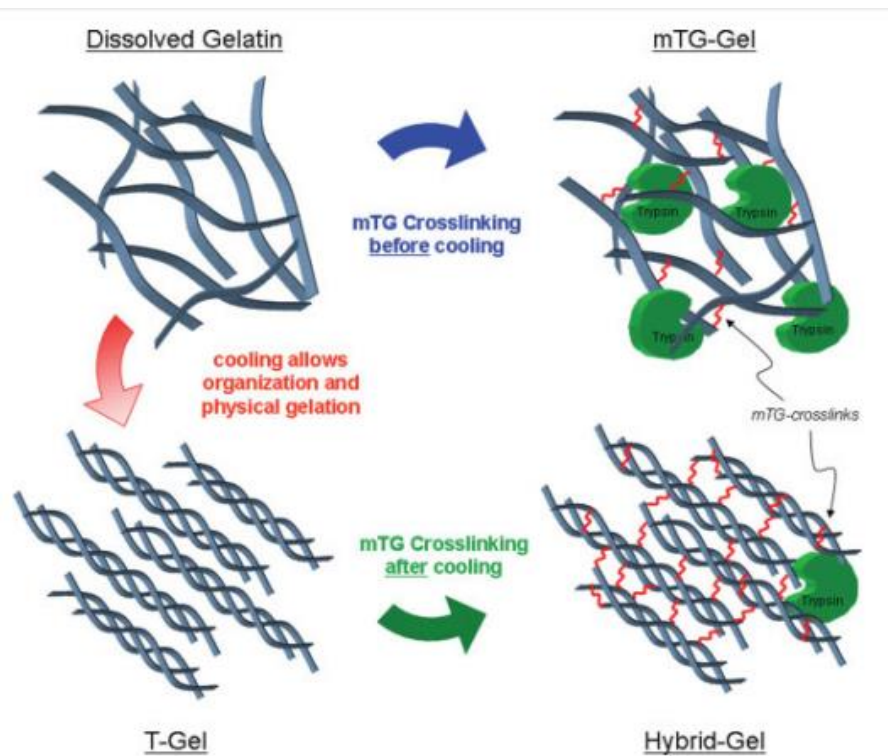
Transglutaminase (TG-ase) adalah enzim yang dikenal karena kemampuan untuk mengkatalis pembentukan ikatan kovalen intra-dan antar-molekul protein, atau disebut juga sebagai aktivitas ikatan silang (*Cross-linking*) (Folk, 1969). Reaksi ikatan silang terjadi dalam dua tahap berturut-turut yaitu, tahap pertama thioester akan terbentuk melalui serangan donor asil (kelompok  $\gamma$ -karboksamid dari residu ikatan peptida glutamin) oleh tiolat aktif nukleofilik (residu sistein), dengan adanya pelepasan amonia. Kedua, tiolat dipulihkan dengan serangan nukleofilik dari substrat asil aseptor (kelompok  $\epsilon$ -amino dari residu ikatan -

peptida lisin) (**Gambar 2.7**). Hal ini akan menghasilkan pembentukan ikatan kovalen lisin isopeptida  $\epsilon$ - ( $\gamma$ -glutamyl), yang tahan terhadap degradasi fisik dan kimia (Keillor *et al.*, 2014). Ikatan silang dalam kolagen dan gelatin ditemukan tidak hanya pada residu lisin tetapi juga arginin, histidin dan metionin (ikatan disulfida) serta gula. Ikatan silang terjadi di intra atau antar-molekul dan *triple helix* (Duconseille *et al.*, 2015).

Yung *et al.*, (2007) meneliti mengenai ikatan silang pada gelatin dengan menggunakan TG-ase. Salah satu metode yang digunakan adalah pemberian TG-ase pada kondisi yang berbeda yaitu pada saat gelatin masih dalam suhu panas (Gelatin A) dan yang kedua pada saat suhu gelatin telah dingin (Gelatin B). Hasil pencampuran tersebut kemudian diuji dengan tripsin atau enzim yang bersifat proteolitik. Hasil penelitian menunjukkan gelatin yang ditambahkan enzim TG-ase saat suhu telah dingin memiliki ikatan dan struktur yang lebih rapat dibandingkan dengan gelatin yang ditambahkan TG-ase saat suhu panas. Ikatan silang yang terbentuk juga lebih banyak pada Gelatin B dan tripsin yang dapat mendegradasi gelatin ditemukan lebih banyak pada Gelatin A. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan TG-ase pada gelatin suhu dingin akan memberikan kesempatan untuk membentuk ikatan silang yang lebih banyak dan membuat struktur gelatin lebih stabil. Ilustrasi penelitian diatas dapat dilihat pada **Gambar 2.8**.



**Gambar 2.7** Mekanisme TG-ase mengkatalisis residu asam amino glutamin (Keillor *et al.*, 2014)



**Gambar 2.8** Perbedaan struktur gelatin dengan penambahan enzim TG-ase pada suhu yang berbeda Yung *et al*, (2007).

*Halaman ini sengaja dikosongkan*



## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Penelitian ini adalah penelitian kualitatif yang bersifat studi pustaka (*library research*). Studi pustaka atau kepastakaan dapat diartikan sebagai serangkaian kegiatan yang berkenaan dengan metode pengumpulan data pustaka, membaca, dan mencatat serta mengolah bahan penelitian (Zed, 2004). Jenis penelitian yang digunakan adalah kualitatif, yaitu suatu prosedur pengambilan data yang menghasilkan data deskriptif berupa kata-kata tertulis dari teks yang diteliti, fenomena, atau perilaku tertentu (Tobing *et al.*, 2016). Dengan penelitian kualitatif, perlu dilakukan analisis deskriptif. Menurut Sugiyono (2005) menyatakan bahwa metode deskriptif adalah suatu metode yang digunakan untuk menggambarkan atau menganalisis suatu hasil penelitian tetapi tidak digunakan untuk membuat kesimpulan yang lebih luas. Menurut Whitney (1960) metode deskriptif adalah pencarian fakta dengan interpretasi yang tepat. Pendekatan kualitatif yang didasarkan pada langkah awal yang ditempuh dengan mengumpulkan data-data yang dibutuhkan, kemudian dilakukan klasifikasi dan deskripsi.

#### **3.2 Sumber Data**

Sebagai penelitian studi literatur, maka digunakan dua sumber sebagai berikut: (1). Sumber primer adalah referensi yang dijadikan sumber utama penelitian ini. Dalam penelitian ini, sumber primer yang digunakan adalah literatur mengenai karakteristik gelatin dari sapi, babi dan ikan sebelum ditambah TG-ase dan sesudah ditambah TG-ase.(2). Sumber sekunder adalah referensi pendukung dan pelengkap untuk sumber primer. Menurut Sugiyono (2012), sumber sekunder adalah sumber data yang diperoleh dengan cara membaca, mempelajari dan memahami melalui media lain yang bersumber dari literatur, buku-buku, serta dokumen. Dalam penelitian ini, sumber sekunder yang digunakan adalah sebagai berikut: a. Literatur mengenai standar SNI dari karakter

gelatin b. Literatur mengenai penggunaan TG-ase pada gelatin. c. Literatur mengenai sumber bahan baku gelatin.

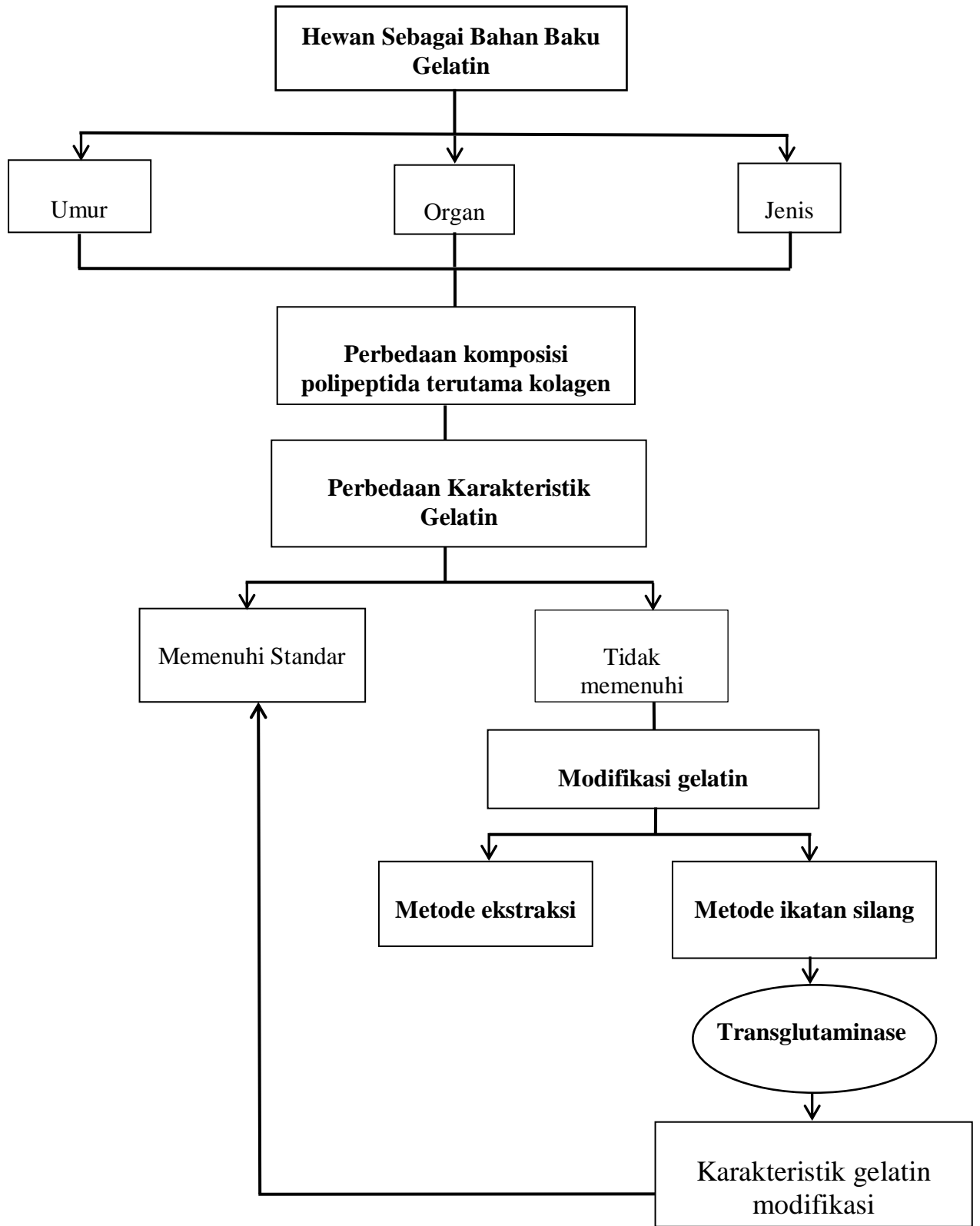
### **3.3 Metode Pengumpulan**

Data Penelitian ini bersifat deskriptif kualitatif dengan pendekatan studi literatur. Metode dilakukan dengan cara mengumpulkan data-data kepustakaan, menyusun, mendeskripsikan sehingga diperoleh hasil berupa gambaran yang jelas tentang perkembangan penelitian pada bidang produksi gelatin. Sumber data penelitian ini mencari data-data kepustakaan yang substansinya membutuhkan tindakan pengolahan secara filosofis dan teoritis. Studi pustaka di sini adalah studi pustaka tanpa disertai uji empirik (Muhadjir, 1998). Data yang disajikan adalah data yang berbentuk kata yang memerlukan pengolahan supaya ringkas dan sistematis (Muhadjir, 1998). Pengumpulan data-data yang dilakukan dalam penelitian ini adalah dengan mengumpulkan literatur dan buku tentang produksi gelatin serta modifikasinya. Pengumpulan data tersebut kemudian dipilih, disajikan, dan dianalisis serta diolah supaya ringkas dan sistematis.

### **3.4 Teknik Analisis**

Data Analisis adalah serangkaian upaya sederhana tentang bagaimana data penelitian pada gilirannya dikembangkan dan diolah ke dalam kerangka kerja sederhana (Zed, 2004). Data yang sudah terkumpul kemudian dianalisis untuk mendapatkan informasi, namun terlebih dahulu data tersebut diseleksi atas dasar reliabilitasnya. Dalam penelitian ini menggunakan teknik analisis berupa analisis isi (content analysis). Analisis ini merupakan analisis ilmiah tentang isi pesan suatu data. Teknik analisis penelitian kualitatif yaitu menggunakan analisis data induktif, bersifat deskriptif dengan mencari model, pola, dan tema yang spesifik (Muhadjir, 1998).

## KERANGKA KONSEP PENELITIAN



*Halaman ini sengaja dikosongkan*

## **BAB 4**

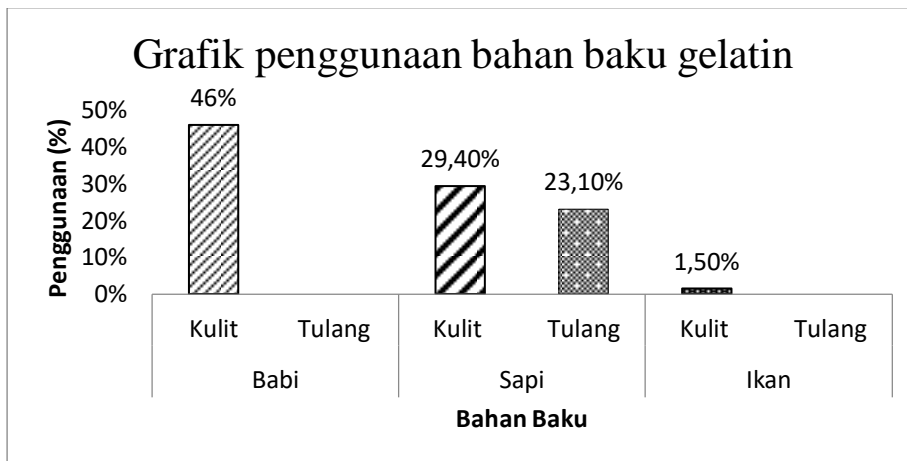
### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1 Pemanfaatan berbagai sumber bahan baku gelatin**

Gelatin merupakan protein turunan dari kolagen yang dihasilkan melalui hidrolisis parsial kolagen dengan asam atau basa serta suhu tertentu yang dapat memecah ikatan silang (*cross-link*) antara struktur polipeptida fibrosa sehingga menghasilkan gelatin (Eryilmaz *et al.*, 2017; Tan, J., & Chan, K.S., 2011). Gelatin dapat dihasilkan dari berbagai sumber kolagen. Sumber kolagen yang umumnya digunakan secara komersial untuk pembuatan gelatin adalah kulit babi, kulit sapi, tulang sapi dan ikan. Gelatin tidak ada yang berasal dari tumbuhan, meskipun ada bahan yang berasal dari ekstrak rumput laut dengan penampakan seperti gelatin tetapi memiliki struktur dan senyawa yang sangat berbeda (GMIA, 2012).

Saat ini produksi gelatin di dunia meningkat setiap tahunnya, pada tahun 2008 gelatin yang dihasilkan mencapai 326.000 ton. Kulit babi merupakan bahan baku pembuatan gelatin yang paling banyak digunakan di dunia, sekitar 46% produksi gelatin di dunia menggunakan kulit babi. Kulit sapi menempati urutan kedua bahan baku yang paling banyak digunakan, yaitu sekitar 29,4%. Kemudian diikuti oleh tulang sapi sebesar 23,1% dan bahan baku ikan mencapai 1,5% (**Gambar 4.1**). Gelatin babi dan sapi merupakan gelatin yang paling banyak digunakan karena alasan sosial budaya dan kesehatan (Karim & Bhat, 2009)..

Sumber gelatin mamalia adalah kolagen dari jaringan ikat dan tulang hewan vertebrata seperti sapi (tipe B) dan babi (tipe A). Kedua sumber gelatin tersebut mengandung komponen-komponen dan berat molekul yang berbeda berkisar antara 10 hingga 400 kDa. Komponen dan berat molekul yang berbeda menunjukkan korelasi kuat dengan kekuatan gel gelatin, titik isoelektrik serta titik leleh (Lim dan Mohammad, 2011). Gelatin dapat diekstraksi dengan proses asam (gelatin tipe A), atau dengan proses alkali (gelatin tipe B) (Mariod *et al.* 2011).



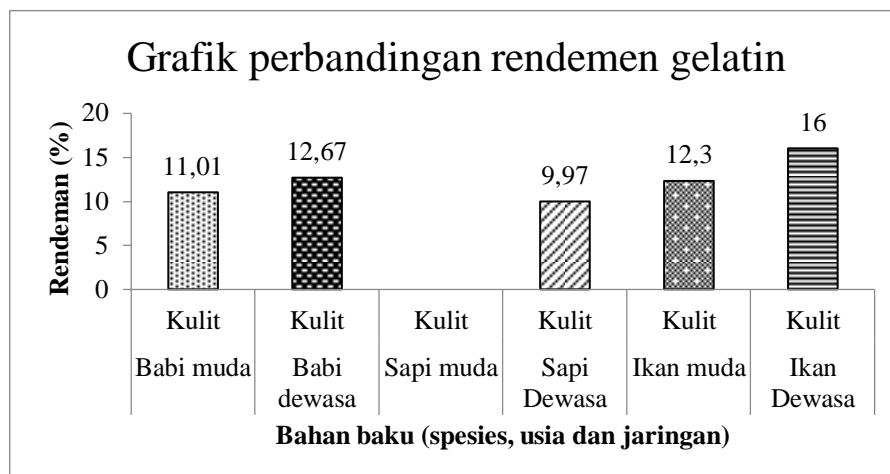
**Gambar 4.1** Presentase penggunaan bahan baku gelatin yang menunjukkan kulit babi memiliki presentase tertinggi (46%) dibandingkan sapi dan ikan (Karim & Bhat, 2009; (Bahar *et al.*, 2018)

Penggunaan ikan sebagai sumber gelatin berawal dari limbah hasil industri *fillet* ikan yang mencapai 75% dari total berat tangkapan (Shahidi, 2007). Sekitar 30% dari limbah tersebut terdiri dari kulit dan tulang dengan kandungan kolagen yang dapat digunakan untuk memproduksi gelatin (Gómez-Guillén *et al.*, 2002). Ekstraksi gelatin dari kulit ikan dapat menjadi sumber alternatif yang dapat diterima untuk produk halal dan berfungsi sebagai alternatif *bovine spongiform encephalopathy* (BSE). Hasil dan kualitas gelatin dipengaruhi oleh spesies atau bagian jaringan yang diekstraksi, proses ekstraksi, pH, suhu, dan waktu selama *pretreatment* dan ekstraksi (Montero dan Gómez-Guillén, 2000). Selain dari mamalia dan ikan, sumber lain yang dapat digunakan sebagai gelatin adalah serangga. Gelatin serangga dapat memberikan sumber alternatif lain sebagai gelatin halal. Gelatin ini dapat digunakan untuk pembuatan es krim (Mariod *et al.*, 2011).

#### 4.2 Pemilihan Bahan baku gelatin

Pemilihan bahan baku gelatin hewan merupakan faktor awal dalam terbentuknya gelatin dengan kualitas yang baik. Bahan baku yang digunakan dalam pembuatan gelatin memiliki kandungan yang berbeda-beda seperti kandungan kolagen dan susunan asam amino. Faktor-faktor yang mempengaruhi

kualitas gelatin antara lain, spesies, jaringan dan umur, sehingga pemilihan bahan baku bergantung pada tujuan pembuatan gelatin (**Gambar 4.2**) (Wojtysiak, 2013; Sompie *et al.*, 2012 ; Amertaningtyas *et al.*, 2019; Muyonga, *et al.*, 2004; Binsi *et al.*, 2009).



**Gambar 4.2** Perbandingan rendemen gelatin dengan bahan baku yang berbeda menunjukkan bahwa kulit hewan dewasa memiliki rendemen lebih tinggi dibandingkan hewan muda (Wojtysiak, 2013; Sompie *et al.*, 2012 ; Amertaningtyas *et al.*, 2019; Muyonga, *et al.*, 2004; Binsi *et al.*, 2009).

Gelatin pada spesies berbeda yakni sapi Bali dan sapi Madura memiliki kekuatan gel yang berbeda secara signifikan (Amertaningtyas *et al.*, 2019). Hal ini juga ditemukan pada jaringan yang berbeda yakni rendemen gelatin dengan bahan baku jaringan tulang ikan (6-11%) dengan jaringan kulit (4-16%) (Muyonga, *et al.*, 2004; Binsi *et al.*, 2009). Sedangkan faktor umur pada gelatin babi ditemukan juga mempengaruhi rendemen, kekuatan gel, viskositas dan protein total. Semakin tua umur babi (9 bulan) maka semakin tinggi kualitas gelatin dibandingkan dengan babi muda (5 bulan) (Sompie *et al.*, 2012). Namun kualitas gelatin juga tergantung pada metode ekstraksi pembuatan gelatin.

Spesies dan jaringan yang berbeda memiliki kandungan kolagen yang juga berbeda, dikarenakan setiap spesies memiliki kebutuhan jaringannya sendiri. Berdasarkan penelitian Wojtysiak (2013), kolagen pada babi akan bertambah seiring pertambahan usia. Pada babi muda (90 hari), lapisan endomesium pada

*Longissimus lumborum* terdiri dari fibril kolagen yang bergelombang serta membentuk struktur jaringan yang longgar. Semakin bertambah umur babi (210 hari) akan diikuti peningkatan tebalnya endomesium dan penambahan kerapatan serat kolagen. Orientasi serat kolagen pada endomesium menjadi lebih rapat dan mengarah ke ujung-ujungnya.

Menurut Schrieber dan Gareis (2007), jumlah kolagen secara umum dan kolagen tipe III sangat tergantung pada usia. Oleh karena itu, kulit dari hewan muda dapat mengandung hingga 50% kolagen tipe III akan tetapi seiring dengan bertambahnya usia jumlah ini berkurang hingga kisaran 5-10%. Kulit muda dibuat oleh 80% tipe I kolagen dan sekitar 15% kolagen tipe III. Dengan bertambahnya usia, kemampuan untuk membentuk kolagen secara alami berkurang sekitar 1,5% per tahun.

#### 4.3 Gelatin dengan kualitas yang sesuai standar (SNI & GMIA)

Gelatin memiliki kualitas standar untuk digunakan berbagai macam produk. Kualitas gelatin dapat dilihat pada beberapa parameter yaitu kekuatan gel, pH, viskositas, titik leleh, titik isoelektrik, warna dan kadar abu (SNI, 1995; GMIA, 2012). Standar mutu gelatin untuk industri berdasarkan Standar Nasional Indonesia/SNI (1995) dapat dilihat pada **Tabel 4.1**. Menurut *Gelatin Manufacturers Institute of America's/ GMIA* (2012) standar mutu gelatin berdasarkan tipenya disajikan pada **Tabel 4.2.**, sedangkan beberapa kualitas gelatin dari berbagai hewan disajikan pada **Tabel 4.3**.

**Tabel 4.1** Standar mutu gelatin dari beberapa karakteristik gelatin dengan perbedaan tipe gelatin menurut SNI (1995)

Sifat	Tipe A	Tipe B
Kekuatan Gel ( <i>Bloom</i> )	50-300	50-300
pH	3,8-5,5	4,7-5,4
Titik Isoelektrik	7-9	4,7-5,4
Viskositas (cps)	1,5-7,5	2,0-7,5
Kadar Abu (%)	0,3-2	0,5-2
Warna	Tidak berwarna sampai kekuningan	Tidak berwarna sampai kekuningan
Logam Berat	Maksimum 50 mg/kg	Maksimum 50 mg/kg



**Tabel 4.2** Standar mutu gelatin dari beberapa karakteristik gelatin dengan perbedaan tipe gelatin menurut GMIA (2012)

Sifat	Tipe A	Tipe B
Kekuatan Gel (Bloom)	50,0-300	50,0-300
Viskositas (cp)	1,50-7,50	2,00-7,50
Kadur Abu (%)	0,30-2,00	0,50-2,00
pH	3,80-6,00	5,00-7,10
Titik Isoelektrik	7,00-9,00	4,70-5,40

Gelatin pada dasarnya terdapat 2 tipe yaitu tipe A dan tipe B. Tipe A merupakan gelatin yang berasal dari proses ekstraksi menggunakan asam, sedangkan tipe B merupakan gelatin yang berasal dari proses ekstraksi menggunakan basa (Aramwit, *et al.*, 2015). Gelatin tipe A umumnya memiliki pH rendah dan tipe B memiliki pH tinggi sedangkan gelatin menggunakan kombinasi asam dan basa memiliki pH netral. Menurut Astawan *et al.*, (2002), nilai pH akan berpengaruh terhadap aplikasi gelatin. Gelatin dengan pH netral sangat baik untuk produk daging, farmasi, kromatografi, cat dan sebagainya. Sedangkan gelatin dengan pH rendah sangat baik untuk digunakan dalam produk juice, jelly, sirup dan sebagainya. Nilai pH gelatin ini sangat dipengaruhi oleh jenis larutan yang digunakan untuk mengekstrak gelatin tersebut.

#### **4.4 Upaya mendapatkan kualitas gelatin sesuai standar**

Gelatin dengan kualitas yang baik didapatkan dengan memperhatikan dua faktor berikut: menentukan metode ekstraksi yang tepat dan penggunaan metode ikatan silang.

##### **4.4.1 Metode ekstraksi gelatin sesuai bahan baku**

Penentuan metode ekstraksi yang tepat bertujuan untuk mendapatkan kualitas gelatin sesuai dengan bahan baku yang digunakan dan peruntukan gelatin yang akan di produksi. Ekstraksi gelatin merupakan penentu kualitas dari gelatin tersebut. Metode ekstraksi yang sesuai dengan bahan baku yang digunakan akan menghasilkan gelatin dengan kualitas terbaik. Beberapa penelitian mengenai penggunaan bahan kimia dan suhu dapat dilihat pada **Tabel 4.3**.

**Tabel 4.3** Hasil rendemen dan kekuatan gel berdasarkan penggunaan beberapa bahan kimia dan suhu yang berbeda menunjukkan bahwa setiap bahan baku memiliki metode ekstraksi yang berbeda untuk menghasilkan gelatin dengan kualitas baik.

Bahan baku	Metode ekstraksi			Rendemen	Kekuatan Gel (Bloom)	Referensi
	Asam	Basa	Suhu			
Kulit ikan kakap putih ( <i>Lates calcalifer</i> )	CH <sub>3</sub> CO OH 3%	-	80°C	16,35±2,45 %	198,59±2,45	(Salimah <i>et al.</i> , 2016)
Tulang ikan kakap ( <i>Lates niloticus</i> )	HCl 3%	-	70°C	11±5%	240	(Muyonga <i>et al.</i> , 2004)
Kulit babi ( <i>Sus scrofa domesticus</i> )	CH <sub>3</sub> CO OH 6%	-	70°C	12,67±0,10%	143.12 ±0.17	(Sompie <i>et al.</i> , 2012).
Kulit sapi Madura	-	NaOH 0,25M	55°C	7.06±0.63	42.26±7.32	(Amertani ngtyas <i>et al.</i> , 2019).
Kulit sapi Madura	HCl, 0.25 M	-	55°C	9.97±1.86	166.93±8.44	(Amertani ngtyas <i>et al.</i> , 2019).
Kulit Sapi Bali	HCl, 0.25 M	-	55°C	11.04±1.08	127.63±21.08	(Amertani ngtyas <i>et al.</i> , 2019).
Tulang sapi	HCl 2%	CaO 10%	60-100 °C	23,07%	49,75	(Bahar <i>et al.</i> , 2018)

Beberapa penelitian membuktikan bahwa pretreatment kombinasi asam dan basa menghasilkan gelatin dengan rendemen, kekuatan gel, viskositas, titik leleh dan suhu pembentukan gel yang lebih baik daripada tanpa *pretreatment* kombinasi. Tujuan dari proses perendaman asam adalah untuk memecah rantai *triple helix* serat kolagen menjadi rantai tunggal sedangkan basa untuk memecah

menjadi rantai ganda (Damodaran, 1997). Proses perendaman asam dan basa akan menyebabkan terjadinya hidrolisis kolagen dengan merusak ikatan hidrogen dan ikatan kovalen yang sebelumnya bersifat untuk menstabilkan struktur kolagen (Panayotis & Zotos, 2016). Perendaman dalam asam menyebabkan terjadinya pembengkakan kulit (*swelling*) yang diakibatkan masuknya air ke dalam serat kolagen. Masuknya air ke dalam serat kolagen disebabkan terjadinya gaya elektrostatis antara gugus polar pada serat kolagen dengan  $H^+$  dari asam, atau terbentuknya ikatan hidrogen antara gugus non polar pada serat kolagen dengan  $H^+$  dari asam (Jaswir et al., 2011).

Menurut See et al. (2015), peningkatan kualitas gelatin dijumpai pada ekstraksi kulit *African catfish* yang menggunakan *pretreatment* kombinasi asam dan basa. Penelitian lain yang telah dilakukan oleh Zhou & Regenstein (2005), ekstraksi gelatin kulit ikan *Alaskan Pollock* menggunakan *pretreatment* kombinasi asam dan basa juga menunjukkan hasil rendemen dan juga kekuatan gel yang lebih tinggi (14% nilai rendemen dan 400 g nilai kekuatan gel).

Penggunaan suhu juga mempengaruhi hasil ekstraksi dari gelatin. Suhu merupakan sumber energi dalam proses ekstraksi gelatin. Energi yang dihasilkan oleh suhu dapat memutus ikatan hidrogen pada jaringan, selain itu energi yang dihasilkan oleh suhu juga dapat mempercepat proses yang dilakukan oleh larutan asam maupun basa (Walsh et al., 2016). Perlakuan suhu dan *pretreatment* asam basa akan mempercepat proses denaturasi jaringan yaitu proses kinetik yang ireversibel dan menghasilkan rantai-rantai berbentuk coil/melingkar acak, disebut gelatin (Wright & Humphrey., 2002). Semakin tinggi suhu ekstraksi maka semakin banyak energi yang terdapat pada sistem dan akan meningkatkan gangguan pada struktur *triple helix* dari kolagen sehingga menjadi struktur berbentuk coil (Sinthusamran et al., 2014).

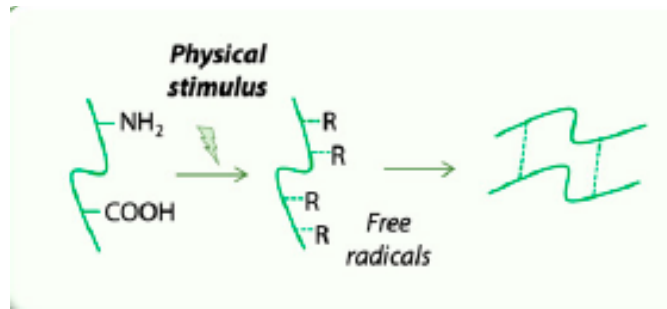
#### **4.4.2 Penggunaan metode ikatan silang untuk peningkatan kualitas gelatin**

Metode ikatan silang digunakan untuk menstabilkan struktur dan meningkatkan kualitas gelatin. Metode ikatan silang yang umumnya digunakan dapat dibagi menjadi tiga kategori utama yaitu fisik, kimia, dan enzimatis (**Tabel 4.4**). Metode ikatan silang secara fisika seperti penggunaan iradiasi (Wisotzki et

*al.*, 2014; Van Vlierberghe, 2016; Prasertsung *et al.*, 2013). Ketika berkas elektron berenergi tinggi digunakan untuk mengikat silang gelatin hidrogel, pemotongan rantai polimer dapat terjadi dengan terbentuknya radikal bebas yang akhirnya membentuk ikatan antara rantai polimer gelatin (**Gambar 4.3**) (Wisotzki *et al.*, 2014; Lee *et al.*, 2017). Metode plasma juga diterapkan sebagai metode ikatan silang, plasma yang ditambahkan pada larutan gelatin akan membentuk radikal bebas dari reaksi radikal oksigen dengan air hingga membentuk ikatan silang antara rantai polimer gelatin (Prasertsung *et al.*, 2013). Secara umum, ikatan silang secara fisik memungkinkan untuk menghindari penambahan senyawa yang berpotensi toksik dalam gelatin serta penggunaan pelarut selama persiapan hidrogel, yang akan mengakibatkan efek sitotoksik (Ratanavaraporn *et al.*, 2010).

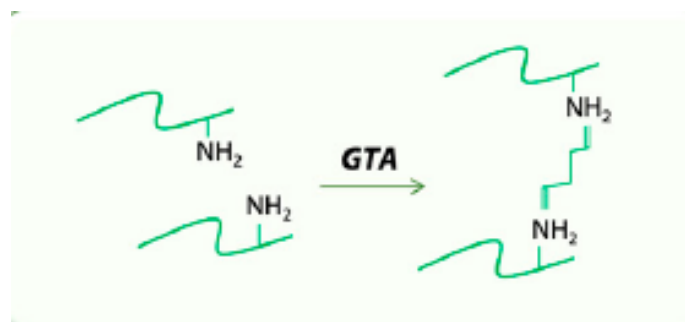
**Tabel 4.4** Beberapa metode ikatan silang yang digunakan untuk menstabilkan struktur dan meningkatkan kualitas gelatin yaitu metode fisik, metode kimia dan metode enzimatik

Metode ikatan silang	Tipe Gelatin	Konsentrasi gelatin w/v	Referensi
<b>Metode Fisik</b>			
Iradiasi	Tipe A	2-20%	(Wisotzki <i>et al.</i> , 2014)
	Tipe B	10%	(Van Vlierberghe, 2016)
Perlakuan Plasma	Tipe A	1,25-2,5%	Prasertsung <i>et al.</i> , 2013
<b>Metode Kimia</b>			
Glutaraldehid	Tipe B	20%	(Poursamar <i>et al.</i> , 2016)
	-	5%	(Fan <i>et al.</i> , 2018)
Genipin	Tipe A	2-10%	(Kirchmajer <i>et al.</i> , 2013)
	-	10%	(Wu <i>et al.</i> , 2013)
<b>Metode Enzimatik</b>			
Transglutaminase	Tipe A	10%	(Yung <i>et al.</i> , 2007)
	Tipe A	4%	(Broderick <i>et al.</i> , 2005)



**Gambar 4.3.** Ilustrasi metode ikatan silang fisik (Campiglio *et al.*, 2019)

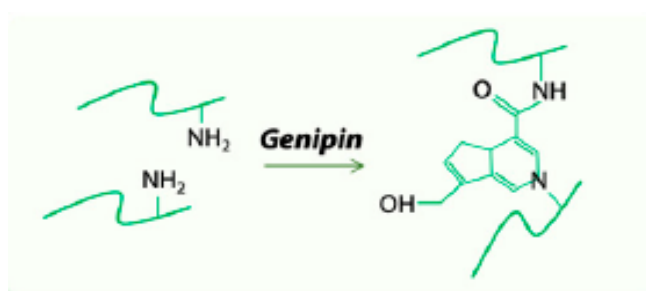
Ikatan silang secara kimia melibatkan pembentukan ikatan kovalen antara rantai gelatin, sehingga memungkinkan diperolehnya gelatin yang lebih stabil dengan sifat fisiko-mekanis yang terkontrol, dibandingkan dengan metode fisik. Penggunaan agen ikatan silang secara kimia yaitu menggunakan glutaraldehid. Glutaraldehid yang ditambahkan ke larutan gelatin akan terjadi reaksi ikatan silang antara gugus amina gelatin dengan gugus karbonil glutaraldehida yang akan bergabung membentuk gelatin (**Gambar 4.4**) (Kavoosi *et al.*, 2017). Meskipun glutaraldehid telah terbukti sebagai agen ikatan silang yang efisien untuk mendapatkan gelatin yang stabil, penggunaannya menimbulkan beberapa kekhawatiran dalam hal keamanan dan biokompatibilitas (Fan *et al.*, 2018; Cañas *et al.*, 2016). Molekul alternatif lainnya sebagai agen ikatan silang yang dapat menggantikan glutaraldehid adalah genipin (Manickam *et al.*, 2014).



**Gambar 4.4** Ilustrasi metode ikatan silang kimia menggunakan glutaraldehid (Campiglio *et al.*, 2019)

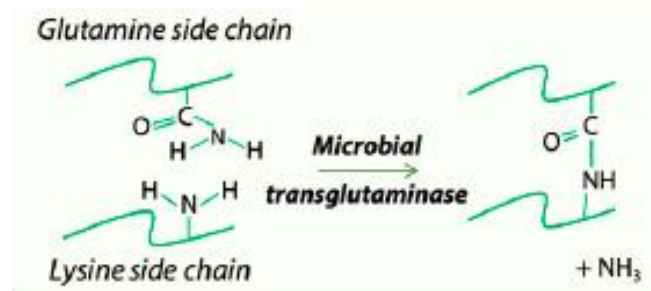
Genipin adalah senyawa aglikon alami yang diekstrak dari *Gardenia jasminoides Ellis*. Genipin telah dipelajari secara intensif sebagai agen pengikat silang untuk hidrogel berbasis protein, meskipun biayanya tinggi Manickam *et al.*,

2014). Reaksi ikatan silang genipin melibatkan pembukaan cincin molekul genipin oleh serangan nukleofilik kelompok amino; kemudian, secara kovalen mengikat genipin ke rantai polimerik gelatin (**Gambar 4.5**) (Pal *et al.*, 2009). Menurut Yao *et al.* (2004) genipin merupakan salah satu agen pengikat silang yang baik untuk gelatin. Tingkat degradasi dan tingkat ikatan silang dari gelatin dengan genipin tergantung pada konsentrasi genipin. Selain itu, peningkatan konsentrasi genipin secara bertahap menyebabkan peningkatan ikatan silang kovalen dibandingkan dengan ikatan hidrogen. Namun konsentrasi genipin harus melebihi 0,5% (b/v) dari berat keseluruhan bahan gelatin (25% (b / v)) untuk terjadi reaksi silang antara molekul gelatin dan genipin. Meningkatnya ikatan kovalen pada gelatin yang telah ditambahkan genipin maka meningkat pula kualitas gelatin tersebut (Simpson *et al.*, 2012).



**Gambar 4.5.** Ilustrasi metode ikatan silang kimia menggunakan genipin (Campiglio *et al.*, 2019)

Transglutaminase merupakan enzim yang umumnya digunakan untuk meningkatkan pembentukan ikatan silang kovalen antar rantai gelatin. Secara khusus, enzim ini mengkatalisis reaksi asil-transferase antara residu gelatin glutamin dan gugus amino primer gelatin (**Gambar 4.6**) (Broderick *et al.*, 2005). (Transglutaminase mikroba (mTG), bersifat tidak berbahaya dan biasa digunakan dalam industri makanan. Penggunaan mTG akan menghasilkan gelatin dalam waktu yang singkat (20-180 menit) dan kekuatan gel yang stabil (tidak mudah hancur selama berminggu-minggu) (Yang *et al.*, 2016). Alternatif lainnya yang dapat digunakan selain TG-ase adalah tirosinase, namun tirosinase kurang efektif untuk mengikat silang karena kandungan tirosin yang rendah dalam gelatin sehingga menghasilkan kualitas gelatin yang tidak lebih baik dari penggunaan TG-ase (Yung *et al.*, 2007 ; Yang *et al.*, 2016).



**Gambar 4.6.** Ilustrasi metode ikatan silang enzimatik menggunakan mikrobial transglutaminase (Campiglio *et al.*, 2019)

#### 4.5 Pengaruh TG-ase terhadap karakteristik gelatin

Rendahnya kualitas gelatin yang disebabkan oleh beberapa faktor seperti bahan yang digunakan dan proses ekstraksi yang dapat menurunkan optimalisasi produksi gelatin. Hal ini dapat dimodifikasi dengan menggunakan metode rekayasa biomaterial yaitu ikatan silang makromolekul gelatin (De Jong & Koppelman, 2002). TG-ase merupakan enzim yang sering digunakan untuk metode ikatan silang pada makromolekul gelatin. Perlakuan TG-ase ditujukan untuk membentuk ikatan isopeptida antara protein yang berada di gelatin, sehingga meningkatkan kualitas gelatin seperti kekuatan film, viskositas, elastisitas dan kapasitas mengikat air (**Tabel 4.5**) (Kieliszek & Misiewicz, 2014).

**Tabel 4.5** Perbandingan karakteristik gelatin dan gelatin+TG-ase dari berbagai jenis gelatin menunjukkan bahwa terjadi peningkatan karakteristik meliputi kekuatan gel, viskositas dan titik leleh pada gelatin+TG-ase, sedangkan nilai pH sesuai dengan senyawa saat ekstraksi.

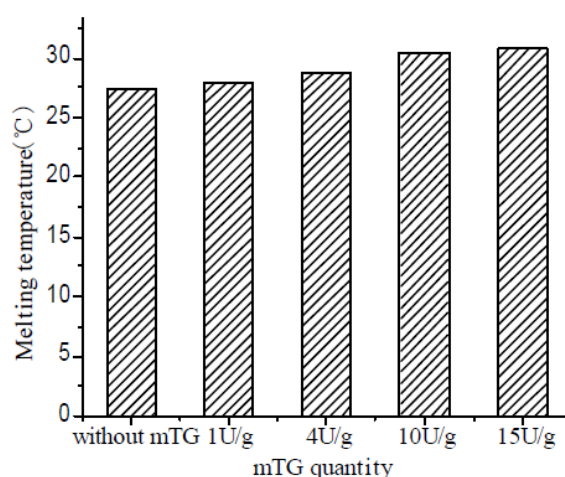
Jenis Gelatin	Kekuatan Gel (Bloom)	Viskositas (cP)	Titik Leleh	pH	Referensi
Gelatin sapi Madura	48.39±12.48	4,16	Data tidak tersedia	6.71±3.51	(Amertaningtyas <i>et al.</i> , 2019)
Gelatin sapi +TG-ase	187.94	4,55	Data tidak tersedia	7	(Wulandari <i>et al.</i> , 2019)
Gelatin Babi	141.88±1.06	7,15	Data tidak tersedia	5.22±0.13	(Sompie <i>et al.</i> , 2012)
Gelatin Babi	497,81±15,37	Data tidak tersedia	29,12 °C	Data tidak tersedia	(Huang <i>et al.</i> , 2019)
Gelatin Babi + TG-ase	-	Data tidak tersedia	Data tidak tersedia	Data tidak tersedia	(Huang <i>et al.</i> , 2019)
Gelatin Ikan <i>Pangasius hypophthalmus</i>	141,5	3,12	Data tidak tersedia	5,14	(Nasution <i>et al.</i> , 2018)
Gelatin Ikan <i>Bighead carp</i>	412,65±13,44	Data tidak tersedia	24,15 °C	Data tidak tersedia	(Huang <i>et al.</i> , 2019)



<b>Jenis Gelatin</b>	<b>Kekuatan Gel (Bloom)</b>	<b>Viskositas (cP)</b>	<b>Titik Leleh</b>	<b>pH</b>	<b>Referensi</b>
Gelatin Ikan <i>Bighead carp</i> + TG-ase	464,56±12,34	Data tidak tersedia	27,18 °C	Data tidak tersedia	(Huang <i>et al.</i> , 2019)
Gelatin Ikan <i>Lepidorhombus boscii</i>	210	Data tidak tersedia	Data tidak tersedia	Data tidak tersedia	(Gomez-Guillen <i>et al.</i> , 2001)
Gelatin Ikan <i>Lepidorhombus boscii</i> + TG-ase	320	Data tidak tersedia	Data tidak tersedia	Data tidak tersedia	(Gomez-Guillen <i>et al.</i> , 2001)
Gelatin Ikan Komersial	Data tidak tersedia	3	Data tidak tersedia	Data tidak tersedia	(Yi <i>et al.</i> , 2006)
Gelatin Ikan komersial + TG-ase	Data tidak tersedia	16	Data tidak tersedia	Data tidak tersedia	(Yi <i>et al.</i> , 2006)

Viskositas dan titik leleh merupakan salah satu sifat fisik gelatin yang penting. Pengujian viskositas dilakukan untuk mengetahui tingkat kekentalan gelatin sebagai larutan pada konsentrasi dan suhu tertentu (Ward & Courts, 1977). Jumlah rantai asam amino dan berat molekul berbanding lurus dengan viskositas, semakin panjang rantai asam amino dan berat molekul yang semakin besar, maka pergerakan molekul gelatin menjadi lambat sehingga viskositas yang dihasilkan tinggi (Restutiati, 2017). Sedangkan titik leleh juga berbanding lurus dengan berat molekul, interaksi dan komposisi asam amino serta rasio dari rantai  $\alpha$  dan  $\beta$  pada gelatin (Cho *et al.*, 2004).

Gelatin dari kulit sapi, babi dan ikan umumnya sudah memenuhi standar SNI yaitu sekitar 1,5-7,5, namun beberapa sumber alternatif untuk pembuatan gelatin, umumnya masih dibawah standar. Metode *cross-linking* menggunakan TG-ase menjadi metode yang banyak digunakan untuk modifikasi karakteristik gelatin. Menurut Wulandari *et al.*, (2019) dan Zhu *et al.* (2013), TG-ase berpengaruh terhadap viskositas gelatin kulit sapi yang telah disamak dan titik leleh kulit babi. Semakin tinggi konsentrasi TG-ase yang ditambahkan maka semakin tinggi pula viskositas dan titik leleh gelatin tersebut. Pengaruh TG-ase terhadap titik leleh gelatin ditunjukkan pada **Gambar 4.7**.



**Gambar 4.7** Pengaruh konsentrasi TG-ase terhadap titik leleh (Zhu *et al.* (2013)

TG-ase dapat menyebabkan *cross-linking* yang menghasilkan isopeptida N<sup>ε</sup>-(γ-L-glutamil)-L-lisin. *Cross-linking* ini mengakibatkan tersambungannya antar polipeptida sehingga didapatkan polipeptida yang semakin panjang dan menjadi struktur yang berbeda. Menurut Restutiati (2017) dan Weaver & Daniel (2003) semakin panjang rantai asam amino dan berat molekul yang semakin tinggi serta bentuk/struktur molekul yang semakin rapat, maka pergerakan molekul gelatin menjadi lambat sehingga viskositas yang dihasilkan besar. Selain itu struktur gelatin juga berpengaruh pada peningkatan titik leleh karena ikatan silang kovalen pada struktur gelatin lebih stabil daripada ikatan hidrogen yang menstabilkan struktur gelatin tersebut ( Eldridge & Ferry, 1954).Maka dari itu gelatin dengan penambahan TG-ase memiliki viskositas dan titik leleh yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa TG-ase.

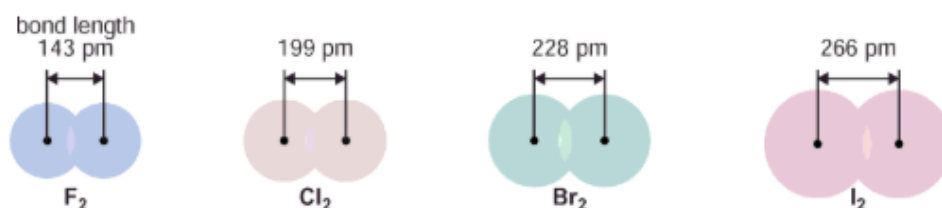
Kekuatan gel merupakan karakteristik gelatin yang menentukan kualitas gelatin selain viskositas dan titik leleh. Gelatin dengan modifikasi TG-ase memiliki kekuatan gel yang berbeda dibandingkan dengan gelatin tanpa modifikasi TG-ase. Menurut Gomez Guillen *et al.*, (2001) yang telah melakukan penelitian pengaruh TG-ase terhadap karakteristik gelatin kulit *Lepidorhombus boscii*. Hasil menunjukkan bahwa gelatin dengan penambahan TG-ase yang diinkubasi pada suhu 20 °C menunjukkan kekuatan gel yang lebih tinggi dibandingkan tanpa TG-ase. Hal ini juga disebabkan oleh adanya ikatan N<sup>ε</sup>-(γ-L-glutamil)-L-lisin yang merupakan bentuk ikatan kovalen hasil *cross-linking* TG-ase pada gelatin (**Gambar 4.8**).



**Gambar 4.8** Reaksi antara 2 rantai polipeptida yang memiliki asam amino glutamin dan lisin yang dikatalis oleh TG-ase (Dardelle *et al.*, 2011).

Ikatan kovalen merupakan ikatan yang paling kuat diantara ikatan lainnya (Vanmeter & Hubert., 2016). Kekuatan ikatan kovalen tersebut dipengaruhi oleh dua faktor yaitu energi ikatan dan panjang ikatan. Energi ikatan merupakan energi yang dibutuhkan untuk memutus setiap satu mol ikatan molekul. Semakin besar

energi menunjukkan semakin kuat ikatan tersebut (Tan & Chan, 2011). Pada umumnya ikatan kovalen memiliki energi ikatan sebesar 209-418 kJ/ mol (Madan & Chandel, 2020). Panjang ikatan merupakan jarak nukleus antar molekul. Semakin pendek jarak antar nukleus maka semakin kuat ikatan kovalen (**Gambar 4.9**) (Tan & Chan, 2011).



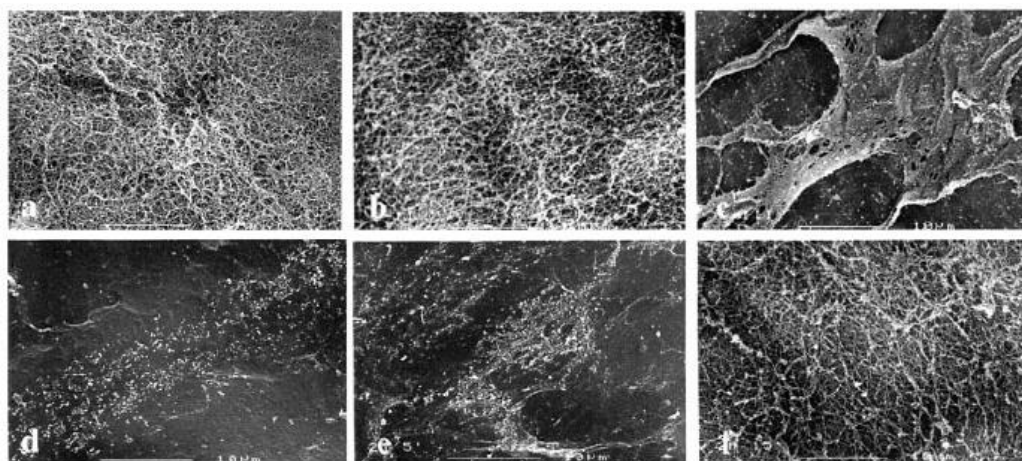
**Gambar 4.9** Contoh beberapa ikatan kovalen dan jarak nukleus antar molekul (Tan & Chan, 2011)

Fuchsbauer (1996) menemukan konsentrasi lisin lebih tinggi pada gelatin dengan penambahan TG-ase dibandingkan gelatin tanpa TG-ase. Konsentrasi lisin pada penelitian ini dihitung menggunakan metode modifikasi *irreversible* residu lisin dengan alat HPLC. Sehingga konsentrasi lisin tersebut dapat menunjukkan isopeptida N<sup>ε</sup>-( $\gamma$ -L-glutamil)-L-lisin. Oleh karena itu gelatin dengan penambahan TG-ase akan memiliki ikatan kovalen lebih tinggi dan mengubah struktur gelatin yang membuat gelatin memiliki kekuatan gel yang lebih tinggi dan tidak mudah leleh. Perubahan struktur dan ikatan kovalen pada gelatin yang menjadikan karakteristik gelatin tersebut berubah dapat dilihat menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) dan *Fourier Transform Infra-red Spectroscopy* (FTIR).

SEM memberikan informasi tentang bentuk dan perubahan permukaan dari suatu bahan yang diuji. Menurut Ahmadi, & Moztaezadeh (2017) hasil foto SEM memberi informasi tentang interkoneksi pori-pori dan juga ukurannya. Karakterisasi porositas didasarkan pada keberadaan pori-pori terbuka yang terkait dengan sifat-sifat seperti permeabilitas dan luas permukaan struktur berpori.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Gomez-Guillen *et al.*, (2001) menggunakan gelatin ikan *Lepidorhombus boscii* dengan penambahan transglutaminase komersial dari mikroba yang berasal dari Ajinomoto Europe

Sale, Jerman. Konsentrasi mTG komersial yang digunakan adalah 10 g/kg dengan penambahan 990 g/kg maltodextrin. Konsentrasi enzim (g/kg) diekspresikan sebagai gram enzim per kg gelatin kering. Dalam penelitian ini, uji SEM digunakan untuk menganalisis struktur jaringan gelatin yang terbentuk oleh reaksi TG-ase. Hasil uji SEM menunjukkan bahwa gelatin dengan penambahan TG-ase memiliki matriks yang sangat padat, dibandingkan dengan gelatin tanpa TG-ase sebagai hasil dari adanya ikatan silang protein (**Gambar 4.10**).

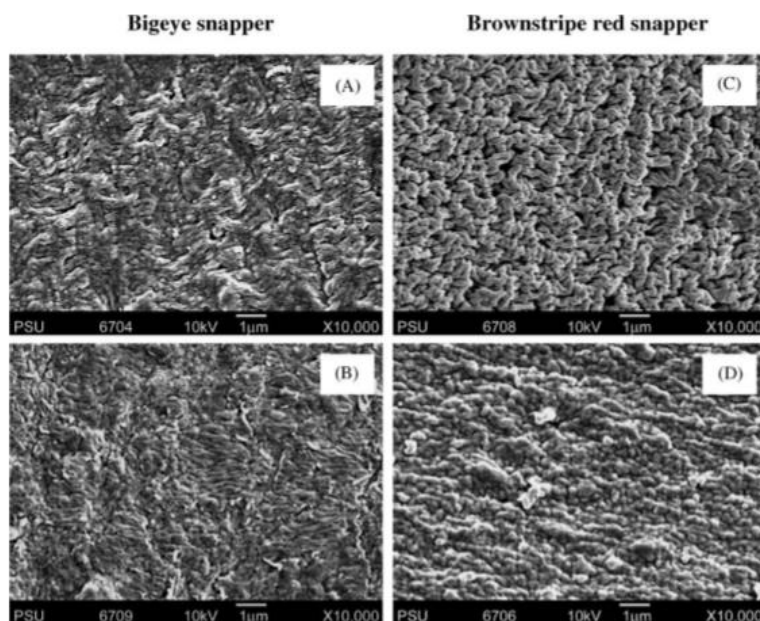


**Gambar 4.10** Struktur gelatin dengan pemindaian 3000x, gelatin tanpa TG-ase (a–c) dan (d–f) gelatin dengan TG-ase ( $0,25\text{ g kg}^{-1}$ ) Gomez-Guillen *et al.*, (2001).

Pengaruh penambahan mTG pada gelatin juga telah dilakukan oleh Jongjareonrak *et al.*, (2006). Pada penelitian ini digunakan gelatin dari ikan *Bigeye snapper (Priacanthus macracanthus)* dan *Brown stripe red snapper (Lutjanus vitta)* dan mTG bubuk 625 unit TG-ase/g dari Ajinomoto Co, Japan. Hasil menunjukkan bahwa penambahan mTG membentuk agregat yang lebih padat (**Gambar 4.11**). Hal ini dikarenakan terjadi ikatan silang kovalen non-disulfida, sehingga menghasilkan agregasi antar molekul yang lebih besar dengan komponen  $\alpha$  dan  $\beta$  yang lebih rendah. Ikatan silang ini juga berkaitan dengan kekuatan gel gelatin yang lebih tinggi ketika mTG ditambahkan.

Penambahan TG-ase pada gelatin ikan *Lepidorhombus boschii*, *Bigeye snapper (Priacanthus macracanthus)* dan *Brown stripe red snapper (Lutjanus vitta)* menyebabkan rendahnya porositas sehingga meningkatkan sifat reologinya. Karakterisasi porositas didasarkan pada keberadaan pori-pori terbuka yang terkait

dengan sifat-sifat seperti permeabilitas dan luas permukaan struktur berpori. Kerapatan yang lebih tinggi dari matriks biasanya mengarah ke kekuatan mekanik dan sifat reologi yang lebih tinggi (Jakir *et al.*, 2014).

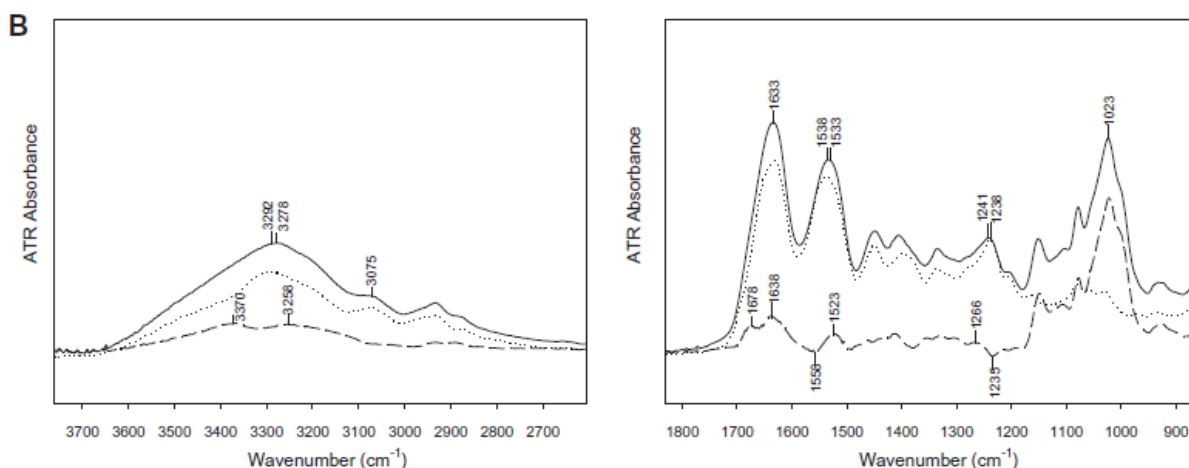


**Gambar 4.11** Struktur gelatin dengan pemindaian 10000x. (A dan B): gelatin kakap *bigeye* tanpa dan dengan 0,005% mTG (b / v). (C dan D): gelatin gel dari kulit kakap merah garis coklat tanpa dan dengan 0,01% mTG (b / v) (Jongjareonrak *et al.*, 2006).

Uji FTIR dilakukan untuk memastikan adanya ikatan silang pada gelatin yang dibandingkan dengan standar gelatin. FTIR merupakan suatu metode untuk mengenali gugus fungsi suatu senyawa melalui absorbansi inframerah terhadap senyawa tersebut. Pola absorbansi yang diserap oleh tiap-tiap senyawa berbeda-beda, sehingga senyawa-senyawa dapat dibedakan dan dikuantifikasikan (Sankari *et al.*, 2010)..

Menurut Staroszczyk *et al.*, (2012), film gelatin Ikan cod (*Gadus morhua*) yang dimodifikasi dengan TG-ase menunjukkan perubahan pada puncak gelombang dibandingkan dengan gelatin cod tanpa TG-ase yang disebabkan oleh modifikasi enzimatik setelah diuji dengan FTIR. Peningkatan absorbansi terjadi di puncak antara  $1633\text{ cm}^{-1}$  (amida I) dan  $1523\text{ cm}^{-1}$  (amida II) (**Gambar 4.12**). Ikatan silang film gelatin akan mengakibatkan perubahan dalam struktur protein

yang meningkatkan kemampuan hidrasi. Namun, puncak daerah pita amida II lebih rendah daripada puncak di daerah pita amida I. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya tentang hubungan silang kolagen dengan TG-ase (Garcia *et al.*, 2007) Dalam penelitian tersebut menunjukkan bahwa intensitas pita amida I akan meningkat sebagai hasil dari pembentukan ikatan kovalen antara kelompok  $\gamma$ -karbonil residu glutamin dan kelompok  $\epsilon$ -amino residu lisin, intensitas pita amida I meningkat karena kekuatan peregangan C=O dan N-H bending (dNH) dalam ikatan kovalen yang baru juga meningkat. Intensitas pita amida II lebih rendah karena kelompok -NH<sub>2</sub> bebas dalam molekul kolagen diubah menjadi kelompok N-H setelah ikatan silang terjadi, sedangkan intensitas pita -NH<sub>2</sub> dalam molekul kolagen lebih kuat daripada NH sehingga intensitas yang muncul lebih rendah (Wang *et al.*, 2003).

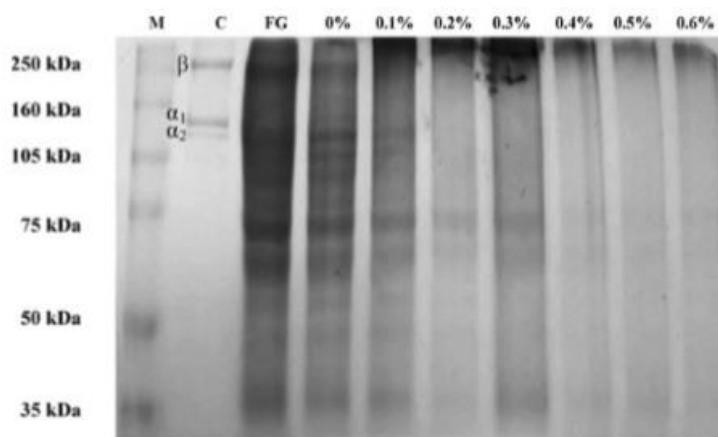


**Gambar 4.12** Spektrum FTIR gelatin ikan cod (*Gadus morhua*) + TG-ase (Staroszczyk *et al.*, (2012),

Pola protein juga menjadi salah satu hal yang dilihat untuk mengetahui perubahan karakteristik pada gelatin setelah modifikasi menggunakan TG-ase. Pola protein umumnya dapat diidentifikasi menggunakan *Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE). Protein akan dibedakan berdasarkan berat molekul dari protein tersebut (Sinthusamran *et al.*, 2014). Pada gelatin ikan *Sea Bass* dengan perlakuan suhu dan waktu mengandung rantai  $\beta$  dan  $\alpha$  dengan berat molekul 193 dan 125-113 kDa. Pola protein ini juga ditemukan pada jaringan kolagen dari ikan *Sea Bass*, hal ini menunjukkan bahwa protein

rantai  $\alpha$  dan  $\beta$  tetap dipertahankan dalam gelatin walaupun ada beberapa pengurangan (Sinthusamran *et al.*, 2013). Berkurangnya rantai  $\alpha$  dan  $\beta$  pada gelatin diakibatkan oleh perlakuan suhu yang tinggi dan waktu yang lama (Kittiphattanabawon *et al.*, 2010). Umumnya gelatin dengan kandungan rantai  $\alpha$  yang lebih tinggi akan memiliki karakteristik yang lebih baik dan gelatin dengan intensitas pita rantai  $\alpha$  lebih tinggi didapatkan pada ekstraksi dengan suhu rendah (Nagarajan *et al.*, 2012).

Penambahan TG-ase pada gelatin akan menyebabkan terjadinya ikatan silang kovalen pada gelatin tersebut sehingga menghasilkan berat molekul yang lebih besar pada gelatin (**Gambar 4.12**) (Gomez-Guillen *et al.*, 2001). Berdasarkan penelitian Wangtueai *et al.*, (2010) gelatin dari sisik ikan *lizardfish* yang ditambahkan TG-ase dengan konsentrasi yang berbeda-beda menunjukkan terjadinya penurunan intensitas pita SDS-PAGE sesuai dengan penambahan konsentrasi TG-ase. Penurunan intensitas pita pada SDS-PAGE diakibatkan oleh adanya pembentukan ikatan kovalen pada gelatin sehingga berat molekul gelatin menjadi semakin besar dan diikuti dengan peningkatan kekuatan gel. Tidak nampaknya pita rantai  $\alpha$ ,  $\beta$  dan  $\gamma$ , terjadi dikarenakan fraksi-fraksi rantai ini di polimerisasi dan tetap dalam endapan (Gomez-Guillen *et al.*, 2001; Jongjareonrak *et al.*, 2006).



**Gambar 4.13** Hasil SDS-PAGE pengaruh penambahan TG-ase (Wangtueai *et al.*, 2010)



*Halaman ini sengaja dikosongkan*

## **BAB 5**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan studi literatur yang telah dilakukan, dapat dirangkum dalam penulisan ini bahwa modifikasi penambahan TG-ase pada gelatin dapat mempengaruhi karakteristik gelatin yakni kekuatan gel, viskositas, titik leleh, ultrastruktur dan pola protein. Berdasarkan literatur yang dikaji, perbedaan karakteristik gelatin dengan adanya modifikasi TG-ase tersebut disebabkan adanya ikatan silang dari TG-ase.

#### **5.2 Saran**

Studi literatur ini diharapkan adanya studi yang lebih mendalam mengenai pengaruh modifikasi TG-ase terhadap semua karakteristik dan jenis gelatin, sehingga gelatin dengan kualitas rendah dapat memiliki kualitas yang sesuai dengan standar dan dapat digunakan sebagai gelatin komersial serta sesuai peruntukannya.

*Halaman ini sengaja dikosongkan*

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmadi, Z., & Moztarzadeh, F. (2017). Synthesizing and Characterizing of Gelatin-Chitosan-Bioactive Glass (58s) Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Silicon*, 10(4), 1393–1402.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. 2014. *Molecular Biology of Cell*. New York : Garland Science.
- Al-Hassan, A. A. & M. H. Norziah. 2017. Effect of transglutaminase induced crosslinking on the properties of starch/ gelatin films. *Food Packag. Shelf Life* 13:15-19.
- Amertaningtyas, D., Bachrudin, Z., Jamhari., Chin K.B., Erwanto, Y., (2019). Characteristics of Gelatin Extracted from Indonesian Local Cattle Hides Using Acid and Base Curing. *Pak. J. Nutr.*, 18 (5): 443-454.
- Ando H *et al.* (1989). Purification and characteristics of a novel transglutaminase derived from microorganisms. *Agric Biol Chem* 53:2613–2617.
- Aramwit, P., Jaichawa, N., Ratanavaraporn, J., and Srichana, T. (2015) A Comparative Study of Type A and Type B Gelatin Nanoparticles as The Controlled Release as Carriers for Different Model Compounds. *Materials Express*, 5 (3), 241-248.
- Astawan, M., Hariyadi, P., Mulyani, A. 2002. *Analisis Sifat Reologi Gelatin dari Kulit Ikan Cucut*. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan.
- Avena-Bustillos RJ, Olsen CW, Olson DA, Chiou B, Yee E, Bechtel PJ and Mchugh TH. (2006). Water vapor permeability of mammalian and fish gelatin films. *J Food Sci.*71, 202-207.
- Bahar, A., Rusijono, Kusumawati, N. (2018). Extraction and Characterization of The Base Halal Gelatin Based on Bovine Bone. *Advances in Engineering Research*. vol 171.

- Bertani, F., N. Barbani, P. Giusti, G., Ciardelli. (2006). Transglutaminase reactivity with gelatine: perspective applications in tissue engineering. *Biotechnol Lett.* 28:697-702
- Binsi, P.K, Shamasundar, B.A, Dileep, A.O, Badii, F, Howell, N.K. (2009) Rheological and functional properties of gelatin from the skin of Bigeye snapper (*Priacanthus hamrur*) fish: influence of gelatin on the gel-forming ability of fish mince. *Food Hydrocoll.* Vol. 23(1):132–145
- Broderick,E.P., O’Halloran, D.M., Rochev,Y.A., Griffin,M., Collighan,R.J., Pandit,A.S. Enzymatic stabilization of gelatin-based scaffolds.(2005). *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.* Vol. 72, 37–42
- Calvarro, J., Perez-Palacios, T., & Ruiz, J. (2016). Modification of gelatin functionality for culinary applications by using transglutaminase. *International Journal of Gastronomy and Food Science.* 5-6, 27–32.
- Campiglio, C.E., Negrini, N.C., Fare, S., Draghi, L., (2019). Cross-Linking Strategies for Electrospun Gelatin Scaffold. *Materials*, 12, 2476
- Cañas, A.I.; Delgado, J.P.; Gartner, C. Biocompatible scaffolds composed of chemically crosslinked chitosan and gelatin for tissue engineering. (2016). *J. Appl. Polym. Sci.* Vol. 133, 1–10
- Chen, R.N., Ho, H.O., & Sheu, M.T. (2005). Characterization of collagen matrices crosslinked using microbial transglutaminase. *Biomaterials*, 26(20), 4229–4235.
- Chen M-Y, Hu K-Y, Huang C-C, Song Y-L (2005) More than one type of transglutaminase in invertebrates? A second type of transglutaminase is involved in shrimp coagulation. *Dev Comp Immunol* 29:1003–1016.
- Cho, S., Kwak, K., Park, D., Gu, Y., Ji, C., Jang, D., Kim, S. (2004). Processing optimization and functional properties of gelatin from shark (*Isurus oxyrinchus*) cartilage. *Food Hydrocolloids.* Vol.18(4), 573–579.

- Coppola, M., Djabourov, M. and Ferrand, M., (2012). Unified phase diagram of gelatin films plasticized by hydrogen bonded liquids. *Polymer*, [online] 53(7), pp.1483-1493.
- Damodaran, S., (1997). Protein-stabilized foams and emulsions. In: S. Damodaran & A. Paraf (Eds.), *Food proteins and their applications*. New York: Marcel Dekker Inc. pp. 57-110.
- Dardelle, G., Subramaniam, A., & Normand, V. (2011). Determination of covalent cross-linker efficacy of gelatin strands using calorimetric analyses of the gel state. *Soft Matter*, 7(7), 3315. doi:10.1039/c0sm01374a
- DeJong, G. A. H., & Koppelman, S. J. (2002). Transglutaminase Catalyzed Reactions: Impact on Food Applications. *Journal of Food Science*, 67(8), 2798–2806.
- Díaz, P., López, D., Matiacevich, S., Osorio, F., & Enrione, J. (2011). State diagram of salmon (*Salmo salar*) gelatin films. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(14), 2558–2565.
- Duconseille, A., Astruc, T., Quintana, N., Meersman, F and Sante-Lhoutellier, (2015), Gelatin Structure and Composition Linked to Hard Capsule Dissolution: A review. *Journal of Food Hydrocolloids*, Vol. 43: 360-376.
- Eldridge, J. E., & Ferry, J. D. (1954). Studies of the Cross-linking Process in Gelatin Gels. III. Dependence of Melting Point on Concentration and Molecular Weight. *The Journal of Physical Chemistry*, 58(11), 992–995. doi:10.1021/j150521a013
- El-Hof M, Ismail A, Nour M, Ibrahim O. (2014). Isolation, purification and characterisation of transglutaminase from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) leaves. *Acta Sci Pol Technol Aliment* 13:267–278
- Erwanto, Y., M. Z. Abidin, E. Y. P. Muslim, S. Sugiyono, & A. Rohman. (2014). Identification of pork contamination in meatballs of Indonesia local market

using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) analysis. *Asian Australasian J. Anim. Sci.* 27:1487-1492.

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

Eyre, D. R., Weis, M. A and Wu, J. J. (2010). Maturation of Collagen Ketoimine Crosslinks by an Alternative Mechanism to Pyridinoline Formation in Cartilage. *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 285(22): 16675e16682. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M110.111534>.

Eysturskard, J., Ingvild J., Haug, Nadia Elharfaoui, Madeleine Djabourov, and Kurt I. Draget. (2009). Structural and Mechanical Properties of Fish Gelatin as a Function of Extraction Conditions. *Food Hydrocolloids* 23 (7): 02–11.

Fan, H.Y.; Duquette, D.; Dumont, M.J.; Simpson, B.K. Salmon skin gelatin-corn zein composite films produced via crosslinking with glutaraldehyde: Optimization using response surface methodology and characterization.(2018). *Int. J. Biol. Macromol.* Vol.120, 263–273

Farris, S., Song, J and Huang, Q. (2009). Alternative Reaction Mechanism for the Crosslinking of Gelatin with Glutaraldehyde. *Journal of Agricultural and food chemistry*, Vol.58: 998-1003.

Feng, W., Zhao, T., Zhou, Y., Li, F., Zou, Y., Bai, S., Wang, W., Yang, L and Wu, X. (2013), Optimization of Enzyme-Assisted Extraction and Characterization of Collagen from Chinese Sturgeon (*Acipenser sturio* Linnaeus) Skin. *Pharmacognosy Magazine*, Vol. 9(1): S32-37.

Folk, J.E. (1969), Mechanism of Action of Guinea Pig Liver Transglutaminase. VI. Order of Substrate Addition. *J. Biol. Chem*, Vol. 244: 3707–3713.

- Fuchsbauer, H. (1996). Influence of gelatin matrices cross-linked with transglutaminase on the properties of an enclosed bioactive material using  $\beta$ -galactosidase as model system. *Biomaterial*. Vol. 17(15), 1481–1488.
- Garcia, Y., Collighan, R., Griffin, M., & Pandit, A. (2007). Assessment of cell viability in a three-dimensional enzymatically cross-linked collagen scaffold. *Journal of Materials Science. Materials in Medicine*, 18, 1991–2001.
- Gelatin Manufacturer Institute of America (GMIA). 2012. *Gelatin Hand Book. America*
- Gomez-Guillen, M. C., Gimenez, B., Lopez-Caballero, M. E and Montero, M. P. (2011). Functional and Bioactive Properties of Collagen and Gelatin from Alternative Sources: a Review. *Food Hydrocolloids*, Vol. 25: 1813-1827.
- Gómez-Guillén, M. C., Sarabia, A. I., Solas, M. T., & Montero, P. (2001). Effect of microbial transglutaminase on the functional properties of megrim (*Lepidorhombus boscii*) skin gelatin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol. 81(7), 665–673.
- Gudmundsson, M and Hafsteinsson, H. (1997). Gelatin from Cod Skins as Affected by Chemical Treatments. *Journal of Food Science*, Vol. 62: 37–47.
- Guo, L., Colby, R. H., Lusignan, C. P and Whitesides, T. H. (2003). Kinetics of Triple Helix Formation in Semidilute Gelatin Solutions. *Macromolecules*, Vol. 36: 9999-10008.
- Haug, I. J., Draget, K. I and Smidsrød, O. (2004). Physical and Rheological Properties of Fish Gelatin Compared to Mammalian Gelatin. *Food Hydrocolloids*, Vol. 18: 203-213.
- 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.
- Jakir Hossana Md, Gafurb MA, Kadirb MR, Mohammad Mainul Karima. Preparation and characterization of gelatin hydroxyapatite composite for bone tissue engineering. (2014). *Int J Eng Techno*. Vol.14:24–32.
- Jamilah, B and Harvinder, K.G. (2002). Properties of Gelatins from Skins of Fish – Black Tilapia (*Oreochromismossambicus*) and Red Tilapia (*Oreochromis nilotica*). *Food Chemistry*, Vol. 77: 81-84.
- Jamilah, B., Tan, K.W., Umi Hartin, M.R and Azizah, A. (2011). Gelatins from Three Cultured Freshwater Fish Skins Obtained by Liming Process. *Food Hydrocolloids*, Vol. 25(5): 1256–1260.
- Jaswir, I, Monsur, H.A., Salleh, H.M. (2011). Nano-structural analysis of fish collagen extracts for new process development. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 10(81), pp. 18847-18854.
- 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.
- Karim, A. A. & R. Bhat. 2009. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *J. Food Hydrocolloids*. 23:563 - 576.
- Kavoosi, G.; Bordbar, Z.; Dadfar, S.M.; Dadfar, S.M.M. Preparation and characterization of a novel gelatin–poly(vinyl alcohol) hydrogel film loaded with *Zataria multiflora* essential oil for antibacterial–antioxidant wound-dressing applications.(2017). *J. Appl. Polym. Sci*. Vol. 134, 1–9.

- Keillor, J.W., Clouthier, C.M., Apperley, K.Y., Akbar, A and Mulani, A. (2014), Acyl Transfer Mechanisms of TissueTransglutaminase. *Bioorg. Chem.* 2014, Vol.57: 186–197.
- Kieliszek Marek, Misiewicz Anna (2014): Microbial transglutaminase and its application in the food industry. A review. *Folia Microbiologica*, 59, 241-250
- Kirchmajer, D.M.; Watson, C.A.; Ranson, M. (2012). Gelapin, a degradable genipin cross-linked gelatin hydrogel. *RSC Adv.*Vol. 3, 1073–1081.
- Kittiphattanabawon, P., Benjakul, S., Visessanguan, W., & Shahidi, F. (2010). Comparative study on characteristics of gelatin from the skins of brownbanded bamboo shark and blacktip shark as affected by extraction conditions. *Food Hydrocolloids*, 24(2-3), 164–171.
- Kuraishi C, Yamazaki K, Susa Y. (2001) Transglutaminase: its utilization in the food industry. *Food Rev Int* 17:221–246
- Kuwahara K, Yang Z, Slack GC, Nimni ME, Han B. (2010). Cell delivery using aninjectable and adhesive transglutaminase-gelatin gel. *Tissue Engineering Part C*16(4):609–618
- Langston J, Blinkovsky A, Byun T, Terribilini M, Ransbarger D, Xu F. (2007). Substrate specificity of Streptomyces transglutaminases. *Appl Biochem Biotechnol* 136:291–308
- Lee, J.B., Ko, Y.G., Cho, D., Park, W.H., Kwon, O.H. (2017). Modification and optimization of electrospun gelatin sheets by electronbeam irradiation for soft tissue engineering. *Biomater. Res.* Vol. 21, 1–9.
- Lim, L.T., Mine, Y. and Tung, M.A., (1999). Barrier and Tensile Properties of Transglutaminase Cross-linked Gelatin Films as Affected by Relative Humidity, Temperature and Glycerol Content. *JFS* 64(4):616-622.

- Lim, Y. P., & Mohammad, A. W. (2009). Physicochemical Properties of Mammalian Gelatin in Relation to Membrane Process Requirement. *Food and Bioprocess Technology*, 4(2), 304–311.
- Liu, F., Chiou, B.S., Avena-Bustillos, R. J., Zhang, Y., Li, Y., McHugh, T. H., & Zhong, F. (2017). Study of combined effects of glycerol and transglutaminase on properties of gelatin films. *Food Hydrocolloids*, 65, 1–9.
- Mad-Ali S, Benjakul S, Prodpran T, Maqsood S. (2016). Interfacial properties of gelatin from goat skin as influenced by drying methods. *Food Science Technology* 73: 102 – 107.
- Madan L.V. & Chandel, A. (2020). *Biotechnological Production of Bioactive Compounds*. Cambridge: Elsevier.
- Manickam, B., Sreedharan, R. Elumalai, M. ‘Genipin’–The Natural Water Soluble Cross-linking Agent and Its Importance in the Modified Drug Delivery Systems: An Overview. (2014). *Curr. Drug Deliv.* Vol.11,139–145.
- Mariod, A.A., Bushra, M., Abdel-Wahab S.I., Ain, N.M. 2011. Proximate, amino acid, fatty acid and mineral composition of two Sudanese edible insects. *Int. J. Trop. Insect.* 31 (3): 145-15.
- 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
- Miyawaki, O., Norimatsu, Y., Kumagai, H., Irimoto, Y., Kumagai, H and Sakurai, H. (2003). Effect of Water Potential on Sol-Gel Transition and Intermolecular Interaction of Gelatin Near The Transition Temperature. *Biopolymers*, 70: 482-491.

- Montero, P., & Gomez-Guillen, M. C. (2000). Extracting Conditions for Megrim (*Lepidorhombus boscii*) Skin Collagen Affect Functional Properties of the Resulting Gelatin. *Journal of Food Science*, 65(3), 434–438.
- Muhadjir, N., (1998), Metodologi Penelitian Kualitatif, Rake, Yogyakarta.
- 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*, 86(3) : 325–332
- Nagarajan, M., Benjakul, S., Prodpran, T., Songtipya, P., & Kishimura, H. (2012). Characteristics and functional properties of gelatin from splendid squid (*Loligo formosana*) skin as affected by extraction temperatures. *Food Hydrocolloids*, 29(2), 389–397.
- Oakenfull, D and Scott, A. (2003). Gelatin Gels in Deuterium Oxide. *Food Hydrocolloids*, 17: 207-210.
- Pal, K., Paulson, A.T., Rousseau, D. (2009). *Biopolymers in Controlled-Release Delivery Systems*; Academic Press: Cambridge, MA, USA ; ISBN 9780123741950.
- Panayotis, D. K and A. Zotos. (2016). Review: Fish Processing By-Product as a Potential Source of Gelatin. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. Vol. 25(1): 65-92.
- Poursamar, S.A.; Lehner, A.N.; Azami, M.; Ebrahimi-Barough, S.; Samadikuchaksaraei, A.; Antunes, A.P.M. (2016). The effects of crosslinkers on physical, mechanical, and cytotoxic properties of gelatin sponge prepared via in-situ gas foaming method as a tissue engineering scaffold. *Mater. Sci. Eng. C*. Vol. 63, 1–9.

- Prasertsung, I.; Damrongsakkul, S.; Saito, N. (2013). Crosslinking of a gelatin solutions induced by pulsed electrical discharges in solutions. *Plasma Process. Polym.* Vol. 10, 792–797
- Ratanavaraporn, J.; Rangkupan, R.; Jeeratawatchai, H.; Kanokpanont, S.; Damrongsakkul, S. (2010). Influences of physical and chemical crosslinking techniques on electrospun type A and B gelatin fiber mats. *Int. J. Biol. Macromol.* Vol. 47, 431–438.
- Restutiati, A.C. (2017). Pengaruh Penambahan Cakar Ayam Terhadap Karakteristik Gelatin Tulang Ikan Bandeng (*Channos Forsk*) Sebagai Bahan Baku Pembuatan Edible Film. *Tesis*, Unika Soegijapranata: Semarang.
- Sankari, G., E. Kriahnamoorthy, S. Jayakumaran, S. Gunaeakaran, V.V. Priya, S. Subramanlam, S. Subramanlam, and S.K. Mohan. (2010), Analysis of serum immunoglobulins using fourier transform infrared spectral measurements. *Biology and Medicine.* 2 (3): 42-48
- Schrieber, R. and Gareis, H. (2007). *Gelatin handbook e Theory and industrial practice.* Wiley-VCH.
- See, S. F., Hong, P.K. Ng, K.L., Wan Aida and., Babji. 2015. Physicochemical properties of gelatin extracted from skins of different freshwater fish species. *Int. Food Res. J.* Vol 17:809-816.
- Shahidi, F., (2007). *Maximising the Value of Marine By-Products.* Cambridge: CRC Press.
- Sheehy, E. J., Cunniffe, G. M., & O'Brien, F. J. (2018). *Collagen-based biomaterials for tissue regeneration and repair. Peptides and Proteins as Biomaterials for Tissue Regeneration and Repair, 127–150.* doi:10.1016/b978-0-08-100803-4.00005-x
- Shoulders, M. D and Raines, R. T. (2009). Collagen structure and stability. *Annual Review of Biochemistry*, Vol. 78.

- Simpson, B. K., Leo M. L. Nollet, Fidel Toldrá, Soottawat Benjakul, Gopinadhan Paliyath, Y. H. Hui, 2012. *Food Biochemistry and Food Processing*. John Wiley & Sons, Inc. United Kingdom.
- Singh, P., & Kumar, S. (2019). *Microbial Enzyme in Food Biotechnology. Enzymes in Food Biotechnology, 19–28*. doi:10.1016/b978-0-12-813280-7.00002-5
- Singh, S., Rama Rao, K. V., Venugopal, K., & Manikandan, R. (2002). Alteration in Dissolution Characteristics of Gelatin-Containing Formulations: a Review of the Problem, Test Methods, and Solutions. *Pharmaceutical Technology*. 36-58.
- Sinthusamran, S., Benjakul, S. & Kishimura, H. (2014). Characteristics and gel properties of gelatine from skin of seabass (*Lates calcarifer*) as influenced by extraction conditions. *Food Chem.*, 152, 276–284
- Sjoberg, J. S and Bulterijs, S. (2009). Characteristics, Formation, and Pathophysiology of Glucosepane: A Major Protein Cross-link. *Rejuvenation Research*, Vol. 12(2): 137-148.
- SNI (Standar Nasional Indonesia). (1995). *Gelatin*. Badan Standardisasi Nasional Indonesia.
- Sompie, M., Triatmojo, S.,Pertiwiningrum, A., Pranoto, Y., (2012). The Effects Of Animal Age And Acetic Acid Concentration On Pigskin Gelatin Characteristics. *J.Indonesian Trop.Anim.Agric.* 37(3).
- Sugiyono. (2012). *Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif dan R&D*. Bandung : Alfabeta.
- Staroszczyk, H., Pielichowska, J., Sztuka, K., Stangret, J., & Kołodziejska, I. (2012). Molecular and structural characteristics of cod gelatin films modified with EDC and TGase. *Food Chemistry*, 130(2), 335–343.

- Suptijah, P., Dini I., S. E. Wardoyo, (2018). Isolasi dan Karakterisasi Kolagen dari Kulit Ikan Patin (*Pangasius* sp.). Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Vol. 8, No.1.
- Tabarestani SH, Maghsoudlou Y, Motamedzadegan A, Mahoonak AR, and Rostamzad H. (2010). Study on some properties of acid soluble collagen isolated from fish skin and bones of rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*). *International Food Reseach Journal*. 19(1): 251-257.
- Taheri, A., bedian Kenari, A. M., Gildberg, A., & Behnam, S. (2009). Extraction and Physicochemical Characterization of Greater Lizardfish (*Saurida tumbil*) Skin and Bone Gelatin. *Journal of Food Science*, Vol. 74, E160-E165.
- Tan, J., & Chan, K.S., (2011). Understanding Advanced Physical Inorganic Chemistry: The Learner's Approach. Singapore: WS. Education
- Tavakolipour, H. (2011). Extraction and Evaluation of Gelatin from Silver Carp Waste. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, Vol. 3(1): 10-15.
- Tobing, D.H., Herdiyanto, Y.K., Astiti, D.P., Rustika, I.M., Indrawati, K.R., Susilawati, L.K.P.A., Suarya, L.M.K.S., Lestari, M.D., Vembriati, N., Wilani, N.M.A., Wulanyani, N.M.S., Widiasavitri, P.N., Budisetyani, P.W., Supriyadi, dan Marheni, A., (2016), *Metode Penelitian Kualitatif*, Bahan Ajar: Program Studi Psikologi, Universitas Udayana, Denpasar.
- Tong, Y., & Ying, T. (2013). Gelling Strength Improvement and Characterization of a Gelatin from Scales of Bighead carp (*Aristichthys nobilis*). *Journal of Food, Agriculture & Environment*, Vol. 11(1): 146-150.
- VanMeter, K. C. & Hubert, R.J. (2016). *Microbiology for the Healthcare Professional*. Missouri: Elsevier.

- Van Vlierberghe, S. (2016). Crosslinking Strategies For Porous Gelatin Scaffolds. *J. Mater. Sci*, vol. 51, 1–9.
- Vijayan, D.K., Sreerexha, P.R., Tejpal, C.S., Asha, K.K., Mathew, S., Ravishankar, C.N and Anandan, R. (2018). Extraction and Characterization of Acid Soluble Collagen (ASC) from Airbladder of Striped Cat Fish (*Pangasius hypophthalmus*). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, Vol. 6(4): 310-318.
- Villalobos E, Santos M, Talavera D, Rodríguez-Falcón M, Torné JM. (2004). Molecular cloning and characterization of a maize transglutaminase complementary DNA. *Gene* 336:93–104
- Walsh, P.S, Dean J. C., McBurney, C., Kang, H., S. H. Gellman and T. Zwieter. (2016). Conformation-specific spectroscopy of capped Glutamine-containing peptides: Role of a single glutamine residue on peptide backbone preferences. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 18
- Wang, X. H., Li, D. P., Wang, W. J., Feng, Q. L., Cui, F. Z., Xu, Y. X., *et al.* (2003). Crosslinked collagen/chitosan matrix for artificial livers. *Biomaterials*, 19, 3213–3220.
- Wangtueai, S., Noomhorm, A., & Regenstein, J. M. (2010). Effect of Microbial Transglutaminase on Gel Properties and Film Characteristics of Gelatin from Lizardfish (*Saurida* spp.) Scales. *Journal of Food Science*, 75(9), C731–C739.
- Ward AG & Courts A. (1977). *The Science and Technology of Gelatin*. London: Academic Press.
- Weaver, C.M. & Daniel, J. R. (2003). *The Food Chemistry Laboratory, a Manual for Experimental Foods, Dietetics and Food Scientists*. CRC Press, Boca Raton, FL.



- Whitney, F.L. 1960. *The Elements of Resert*. Asian Eds. Osaka : Overseas Book Co
- Wisotzki, E.I.; Hennes, M.; Schuldt, C.; Engert, F.; Knolle, W.; Decker, U.; Käs, J.A.; Zink, M.; Mayr, S.G. (2014). Tailoring the material properties of gelatin hydrogels by high energy electron irradiation. *J. Mater. Chem. B*. vol.2, 4297.
- Wojtysiak, D. (2013). Effect of Age on Structural Properties of Intramuscular Connective Tissue, Muscle Fibre, Collagen Content and Meat Tenderness in Pig longissimus lumborum muscle. *Folia Biologica*, 61(3), 221–226.
- Worratao A, Yongsawatdigul J.(2005). Purification and characterization of transglutaminase from Tropical tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Food Chem* 93:651–658
- Wright N.T., Humphrey J.D. (2002). Denaturation of collagen via heating: An irreversible rate process. *Ann. Rev. Biomed. Eng.* vol 4:109–128
- Wu, T.; Zhang, Q.; Ren, W.; Yi, X.; Zhou, Z.; Peng, X.; Yu, X.; Lang, M. (2013). Controlled release of gentamicin from gelatin/genipin reinforced beta-tricalcium phosphate scaffold for the treatment of osteomyelitis. *J. Mater. Chem. B*. Vol. 1, 3304.
- Wulandari, D., Erwanto, Y., Pranoto, Y., Rusman & Yuliatm, R., (2019). Improvement of Bovine Split Hide Gelatin Quality by Addition of Soy Protein Isolate Using Transglutaminase Enzyme. *Tropical Animal Science Journal*.42(3):237-244. *Tropical Animal Science Journal*. 42(3):237-244
- Xu, J., Li, T. D., Tang, X. L., Qiao, C. D and Jiang, Q. W. (2012). Effect of Aggregation Behavior of Gelatin in Aqueous Solution on The Grafting Density of Gelatin Modified With Glycidol. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, Vol. 95: 201-207.

- Yang, X. J., Zheng, P. J., Cui, Z. D., Zhao, N. Q. Wang, Y. F and De Yao, K. (1997). Swelling Behaviour and Elastic Properties of Gelatin Gels. *Polymer International*, Vol. 44: 448-452.
- Yang G, Xiao Z, Ren X, Long H, Qian H, Ma K, Guo Y.(2016). Enzymatically crosslinked gelatin hydrogel promotes the proliferation of adipose tissue-derived stromal cells *PeerJ* 4e2497
- Yasueda H, Kumazawa Y, Motoki M. (1994). Purification and characterization of a tissue-type transglutaminase from red sea bream (*Pagrus major*). *Biosci Biotechnol Biochem* 58:2041–2045
- Yi, J. B., Kim, Y. T., Bae, H. J., Whiteside, W. S., & Park, H. J. (2006). Influence of Transglutaminase-Induced Cross-Linking on Properties of Fish Gelatin Films. *Journal of Food Science*, 71(9), E376–E383.
- Yung, W.A., Wu, L.Q., Tullman, J.A., Payne, G.F., Bentley, W.E., Barbari, T.A. Transglutaminase crosslinked gelatin as a tissue engineering scaffold. (2007) *J. Biomed. Mater. Res. Part A*. Vol. 83, 1039–1046
- Zed, M., (2004). *Metode Penelitian Kepustakaan*. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta.
- Zhou, P., & Regenstein, J. M. (2006). Effects of Alkaline and Acid Pretreatments on Alaska Pollock Skin Gelatin Extraction. *Journal of Food Science*.70(6), c392–c396. doi:10.1111/j.1365-2621.2005.tb11435.x
- Zhang Y, He S, Simpson BK. (2017). A cold active transglutaminase from Antarctic krill (*Euphausia superba*): purification, characterization and application in the modification of cold-set gelatin gel. *Food Chem* 232:155–162.
- Zhu, D., Wang, C., Ren, H., Li, Y. (2013). Effect of Transglutaminase on the Functional Properties of Gelatin Obtained from Chrome-tanned Pigs skin.

## BIODATA PENULIS



**Fadina Yuliana Sari** lahir di Metro pada tanggal 02 Juli 1995 dari pasangan M. Agus Saleh dan Eriyanti. Pada tahun 2013 penulis lulus dari SMAK St. Louis 2 Surabaya dan pada tahun yang sama lulus seleksi masuk ITS melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri. Penulis menempuh pendidikan S1 di Departemen Biologi Fakultas Sains Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) Surabaya, kemudian melanjutkan pendidikan S2 di Pascasarjana ITS pada jurusan yang sama. Selama berkuliah di Institut Teknologi Sepuluh Nopember, penulis bergabung dalam Surveyor di Ecology laboratory Biologi ITS, menjadi asisten praktikum dan banyak menjadi panitia kegiatan-kegiatan yang diadakan di ITS maupun diluar ITS. Pada tahun 2016, penulis melakukan kerja praktik di PT. Semen Indonesia Tbk., Tuban. Selain itu penulis mendapatkan kesempatan melakukan *student exchange* ke Chulalongkorn University, Thailand selama 1 semester pada tahun 2019. Pada saat *student exchange* penulis dibimbing oleh Prof. Chanpen Chanchao, Ph.D. Ketertarikan penulis pada bidang bioteknologi juga sebagai syarat menempuh program S2, penulis melakukan tesis dengan judul “**Pengaruh Transglutaminase Terhadap Karakteristik Gelatin Mamalia dan Ikan: Studi Literatur**”. Semoga dengan penulisan tesis ini mampu memberikan kontribusi positif bagi dunia pendidikan. Apabila ada kepentingan penelitian penulis dapat dihubungi pada alamat email berikut [fadinayulianasari@gmail.com](mailto:fadinayulianasari@gmail.com).