

NASKAH PUBLIKASI

**ANALISIS GELATIN BABI PADA PERMEN LUNAK BERBAGAI
MEREK MENGGUNAKAN *FOURIER TRANSFORM INFRARED*
(FTIR) DENGAN KOMBINASI KEMOMETRIKA**



Oleh :

Ananda Putri Sania Nurjanah
1900023229

**Skripsi ini Disusun Untuk Melengkapi Persyaratan dalam Memperoleh
Gelar Sarjana Farmasi**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN
YOGYAKARTA
2024**

**ANALISIS GELATIN BABI PADA PERMEN LUNAK BERBAGAI MEREK
MENGUNAKAN *FOURIER TRANSFORM INFRARED* (FTIR)
DENGAN KOMBINASI KEMOMETRIKA**

ANANDA PUTRI SANIA NURJANAH

ABSTRAK

Gelatin banyak digunakan dalam industri makanan, salah satunya adalah gelatin. Yang paling umum digunakan biasanya berasal dari sapi dan babi. Namun penggunaan gelatin babi menimbulkan permasalahan bagi masyarakat mayoritas Muslim karena keyakinan dan larangannya. Oleh sebab itu perlu dilakukan analisis permen lunak untuk mengetahui apakah FTIR kombinasi dengan kemometrika dapat digunakan untuk menganalisis perbedaan permen dari gelatin sapi maupun babi, mengetahui hasil analisis kuantitatif permen referensi dan permen berbagai merek.

Permen referensi dan permen pasar diisolasi dengan aseton dengan cara divortex dan disentrifugasi. Isolat larutan yang dihasilkan kemudian dianalisis menggunakan Spektrofotometer FTIR untuk mengetahui konfigurasi gugus fungsi permen lunak. Selanjutnya dilakukan kemometrika dengan analisis multivariat *Partial Least Square (PLS)* dan *Principal Component Analysis (PCA)* menggunakan *software Minitab 2*

Kalibrasi multivariat PLS (*Partial Least Square*) merupakan analisis kuantitatif yang meliputi hasil analisis FTIR yang didapatkan dengan kombinasi kemometrika. Panjang gelombang pada PLS yang digunakan yaitu antara rentang 1000-1350 & 1630-1800 cm^{-1} yang menunjukkan korelasi yang baik untuk mengetahui kadar gelatin yang diduga dengan konsentrasi gelatin sebenarnya, dengan nilai $R^2 = 0,9736$. Nilai RMSEC = 5,24%. Nilai RMSECV = 25,97% dan RMSEP = 9,84%. Berdasarkan hasil PCA menunjukkan bahwa proses klasifikasi antara gelatin babi dan gelatin sapi dapat terkelompokkan secara jelas. Selanjutnya model tersebut digunakan untuk klasifikasi sampel permen lunak berbagai merek. Hasil analisis menunjukkan bahwa sampel 2 & 3 diprediksi tidak menggunakan gelatin babi, tetapi gelatin sapi dan sampel 1 mengandung bahan gelatin lainnya selain babi dan sapi.

Dapat disimpulkan bahwa metode FTIR dan kombinasi kemometrika dapat mengidentifikasi adanya kandungan gelatin sapi dan gelatin babi pada permen lunak berbagai merek secara kualitatif dan kuantitatif.

Kata Kunci: gelatin babi, gelatin sapi, Kemometrika, permen lunak, FTIR

A. PENDAHULUAN

Gelatin banyak digunakan pada industri makanan seperti pada produk permen, kue, es krim, keju, agar-agar, dan coklat. Hal ini dikarenakan gelatin mempunyai fungsi yang unik dan menguntungkan. Fungsi gelatin pada umumnya sebagai pembentuk gel, pengental, dan penstabil. Selain itu, gelatin dapat berfungsi sebagai agen perekat, pengemulsi, dan melapisi tekstur makanan (Anonim, 2012).

Gelatin berasal dari protein pada kolagen dan jaringan ikat yang banyak ditemukan di tulang dan kulit binatang. Cara mendapatkan gelatin dengan proses hidrolisis (Ali dkk., 2018). Pada umumnya, gelatin yang digunakan berasal dari hewan ternak yaitu sapi dan babi dikarenakan mudah didapatkan dan kualitasnya bagus.

Pada tahun 2020, produksi gelatin dunia mencapai 516,8 metrik ton dan diperkirakan akan mencapai 696,1 metrik ton pada tahun 2027. Meningkat 4,3 persen setiap tahun dengan persentase terbesar dari kulit babi 42,9 %, didudul kulit sapi 28,7% dan tulang hewan sebesar 24,9 persen dan sisanya dari bahan lainnya (Grehenson, 2020).

Di Indonesia ada 5 provinsi yang menjadi produsen daging babi terbesar menurut data badan pusat statistik pada tahun 2022. Nomer 1 adalah Provinsi Bali, nomor 2 Sulawesi Utara, nomer 3 Nusa Tenggara Timur, nomor 4 Sumatera Utara, 5 Kalimantan Barat.

Lemak babi ada diposisi 8 dari 100 makanan paling tinggi nutrisi di dunia (Kim dkk., 2015). Peneliti telah menganalisis lebih dari 1000 makanan mentah dan babi berada di urutan 8 makanan paling tinggi nutrisi.

Gelatin babi sering digunakan untuk menggantikan gelatin sapi karena terdapat fungsinya dan biaya produksi lebih terjangkau (Hermanto dkk., 2015). Namun, hal ini akan bermasalah untuk masyarakat Muslim terkait larangan dalam keyakinannya. Apabila makanan mengandung komponen atau turunan babi seberapa pun jumlahnya akan menjadikan makanan tersebut haram dikonsumsi masyarakat Muslim (Prabawati & Fajriati, 2018).

Penelitian yang dilakukan (Cebi dkk., 2016) mengenai evaluasi penggunaan Spektroskopi FTIR dalam mengklasifikasikan perbedaan gelatin sapi dan babi yang dikombinasikan dengan analisis kualitatif kemometrika PCA. Sedangkan penelitian (Azira dkk., 2012) meninjau beberapa metode untuk menganalisis perbedaan gelatin diantaranya dengan metode *High- Performance Liquid Chromatography* (HPLC), *Sodium Dodecyl Sulphate– Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (SDS–PAGE), *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS), *Polymerase Chain Reaction* (PCR), *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR) dan *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA).

Spektrum IR akan memberikan informasi berupa gugus fungsi yang ditampilkan dalam bilangan gelombang dan absorbansi. Analisis FTIR dilakukan di daerah *finger print* atau daerah ciri khas dari sebuah senyawa (Rohman, 2014). Seringkali perubahan intensitas serapan serta pergeseran serapan FTIR tidak tampak jelas atau saling tumpah tindih (Prabawati & Fajriati, 2018). Dengan

demikian perlu dilakukan analisis multivariat menggunakan kemometrika untuk melihat lebih jelas pengelompokkan gelatin. Kalibrasi multivariat dilakukan menggunakan kemometrika *Partial Least Square* (PLS) dan *Principal Component Analysis* (PCA) untuk mengelompokkan senyawa secara spesifik(Siregar dkk., 2015).

Indonesia adalah negara yang mayoritas penduduknya beragama Islam. Menurut ajaran Islam, dilarang mengkonsumsi apapun yang mengandung daging babi karena haram. Tidak boleh memakan daging babi atau makanan yang mengandung bahan babi, sebagaimana tercantum dalam Surat Al-Baqarah (2): 173. *“Sesungguhnya Dia hanya mengharamkan atasmu bangkai, darah, daging babi, dan (daging) hewan yang disembelih dengan (menyebut nama) selain Allah. Tetapi barangsiapa terpaksa (memakannya), bukan karena menginginkannya dan tidak (pula) melampaui batas, maka tidak ada dosa baginya. Sungguh, Allah Maha Pengampun, Maha Penyayang” (Q.S Al- Baqarah(2):173)*

B. METODE PENELITIAN

1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini melibatkan pekerjaan eksperimental yang dilakukan di Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Laboratorium Inovasi Halal Center Yogyakarta.

2. Sampel

Sampel dipilih secara acak (*random sampling*), terdiri dari 3 jenis permen lunak berbagai merek dan tidak berlabel Halal.

3. Bahan dan Alat yang Digunakan

a. Bahan

Bahan yang digunakan yaitu gelatin sapi (*Sigma*), gelatin babi (*Sigma Alderich*), permen lunak berbagai merek, gula, pewarna tartrazin, asam sitrat, aseton (Merck), aquadest dan 3 sampel permen lunak berbagai merek.

b. Alat

Timbangan analitik, *beaker glass*, batang pengaduk, cawan porselin, cetakan jelly, termometer, tabung reaksi, pipet ukur, *waterbath*, lemari pendingin, vortex, alat sentrifuge, Spektrofotometer FTIR *Spectrum One Perkin Elmer USA* di Laboratorium Inovasi Halal Universitas Ahmad Dahlan.

4. Variabel Penelitian

a. Klasifikasi Variabel

1) Variabel bebas

Gelatin babi dan sapi, serta bahan-bahan dalam permen lunak yang tersedia di Yogyakarta, adalah variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini.

Variabel terikat

Dalam penelitian ini, variabel terikatnya meliputi hasil spektrum FTIR dari permen lunak berbagai merek yang bersumber dan permen lunak referensi.

2) Variabel terkontrol

Suhu, perubahan konsentrasi, dan jumlah gelombang adalah variabel terkontrol dalam penelitian ini.

5. Definisi Operasional

a. Suhu pada saat pemanasan yaitu 37⁰C sampai 60⁰C .

- b. Variasi konsentrasi gelatin babi dan sapi untuk validasi dibuat berbeda yaitu konsentrasi 10% - 100%.
- c. Bilangan gelombang yang digunakan yaitu 4000-400 cm^{-1}

6. Prosedur Penelitian

a. Pembuatan Permen Referensi

Serbuk gelatin sapi dan gelatin babi ditimbang sesuai dengan formulasi pada Tabel II kemudian dibasahi menggunakan air suling diaduk di atas *waterbath* pada suhu 50°- 60°C (Wulandari dkk., 2013).

Selanjutnya menimbang gula sebanyak 35 g dan dibasahi dengan aquades di tempat yang terpisah. Gelatin yang dibasahi perlahan dituangkan ke dalam bejana dengan larutan gula dan ditambahkan 1ml asam sitrat. Adonan tersebut diaduk, lalu tambahkan 1 tetes pewarna dan blender kembali hingga halus atau homogen. Kemudian adonan dituangkan ke dalam cetakan dan dibiarkan hingga terbentuk permen lunak (Schrieber & Gareis Herbert, 2007)

Tabel I. Formulasi Permen Lunak Referensi (Fatmawati, 2022).

Konsentrasi	Gelatin Sapi (gr)	Gelatin Babi (gr)	Gula (gr)	Asam Sitrat (ml)	Pewarna (tetes)
Gelatin Sapi 100%	3,5	-	35	1	1
Gelatin Babi 100%	-	3,5	35	1	1
Gelatin Babi 85%	0,525	2,975	35	1	1
Gelatin Babi 70%	1,05	2,45	35	1	1
Gelatin Babi 55%	1,575	1,925	35	1	1
Gelatin Babi 40%	2,1	1,4	35	1	1
Gelatin Babi 25%	2,625	0,875	35	1	1

b. Isolasi Gelatin dari Referensi dan Permen Lunak Berbagai Merek

Permen lunak ditimbang sebanyak 5 g dan dilarutkan dengan 5 mL aquades suhu 60°C. Kemudian diambil sebanyak 3 mL dan ditambahkan 12 mL aseton

bersuhu -20°C . Campuran tersebut divortex selama 5 menit. Setelah itu, campuran disimpan di *freezer* selama 24 jam pada suhu -20°C . Kemudian diambil 2 mL kemudian supernatan disentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 25 menit. Dan akan diperoleh endapan. Selanjutnya endapan dicuci 3 kali dengan 3 mL aseton suhu -20°C .

c. Analisis Gelatin Referensi dan Permen Lunak Berbagai Merek Dengan FTIR

Masing-masing larutan gelatin referensi dan permen lunak berbagai merek hasil isolasi dilakukan *scanning* menggunakan Spektrofotometer FTIR pada bilangan gelombang $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ (Salamah dkk., 2023).

7. Analisis Data

Analisis data yang dilakukan yaitu PLS dan PCA dengan aplikasi *Minitab 21*. Hasil spektrum yang didapat diubah ke dalam bentuk tabel hubungan antara absorbansi dari masing-masing sampel dengan panjang gelombang pengukuran $4000 - 400\text{ cm}^{-1}$ (Rohman & Salamah, 2018). Hal-hal yang dilakukan pada PLS diantaranya optimasi bilangan gelombang, kalibrasi, validasi (internal dan eksternal). Ketiganya mempunyai cara yang sama dalam mencari nilai sebenarnya dan nilai prediksi dalam aplikasi *Minitab 21*. Perbedaannya terletak pada perhitungan RMSE. Berikut langkah-langkahnya:

- a. Pemilihan beberapa range bilangan gelombang yang akan dioptimasi. Bilangan gelombang yang dipilih yaitu yang mengandung gugus fungsi yang diteliti.
- b. Selanjutnya memasukkan data bilangan gelombang dan absorbansi ke dalam aplikasi *Minitab 21*.

- c. Kemudian pilih menu *Stat*, pilih *Regression*, pilih *Partial Least Squares*.
- d. Jendela PLS akan muncul. Pada kolom *Responses* diisi dengan variabel terikat (y), kolom *Model* diisi dengan prediktor (x), kolom *Categorical predictors* diisi jumlah PC yang akan dihitung atau dibiarkan kosong. Selanjutnya klik *Options*, pilih *Leave-One-Out*, klik *OK*.
- e. Hasil akan muncul diantaranya nilai prediksi dan nilai sebenarnya (Rohman, 2014).
- f. Perhitungan nilai r, persamaan regresi, dan nilai RMSE dilakukan pada aplikasi Microsoft Excel
- g. Pilih menu *Data*, pilih *Data Analysis*, pilih *Regression*
- h. Masukkan x dan y pada kolom *Input X Range* dan *Input Y Range*. Centang pada *Standardized Residuals*. Klik *OK* maka akan muncul nilai r dan *intercept*.
- i. Perhitungan nilai RMSE diperoleh dengan kuadrat dari pengurangan nilai aktual dengan nilai prediksi yang dijumlahkan dan dibagi dengan banyaknya data (Gontijo dkk., 2014).

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n}}$$

(Danzer dkk., 2004)

Selanjutnya analisis PCA dilakukan pada aplikasi *Minitab 21* dengan memasukkan bilangan gelombang dan absorbansi yang telah dioptimasi sebelumnya. Kemudian klik menu *Stat*, pilih *Multivariate*, pilih *Principal Components*. Jendela PCA akan muncul. Pada kolom *Variables* diisi dengan rentang bilangan gelombang yang digunakan. *Type of Matrix* dipilih pada

Covariance. Kemudian klik *Graphs*, centang semuanya, dan hasilnya akan muncul berupa kurva *score-plot*, nilai *eigenvalue*, *proportion*, dan *cumulative* (Rohman, 2014).

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Analisis Spektrum FTIR Gelatin Sapi dan Gelatin Babi

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu permen lunak berbagai merek. Pada penelitian ini menggunakan 3 sampel Permen lunak berbagai merek dengan pemilihan secara acak namun terkontrol dengan melihat setiap komposisi dari permen lunak tersebut. Kemudian ada permen lunak referensi, yang merupakan permen yang diformulasikan untuk membuat permen yang mirip dengan permen lunak yang berada di pasaran sehingga diperoleh hasil yang tidak berbeda jauh. Pembuatan permen referensi ini memerlukan bahan dari gelatin sapi dan gelatin babi dengan merek SIGMA, sukrosa, asam sitrat, dan pewarna makanan atau tartrazine.

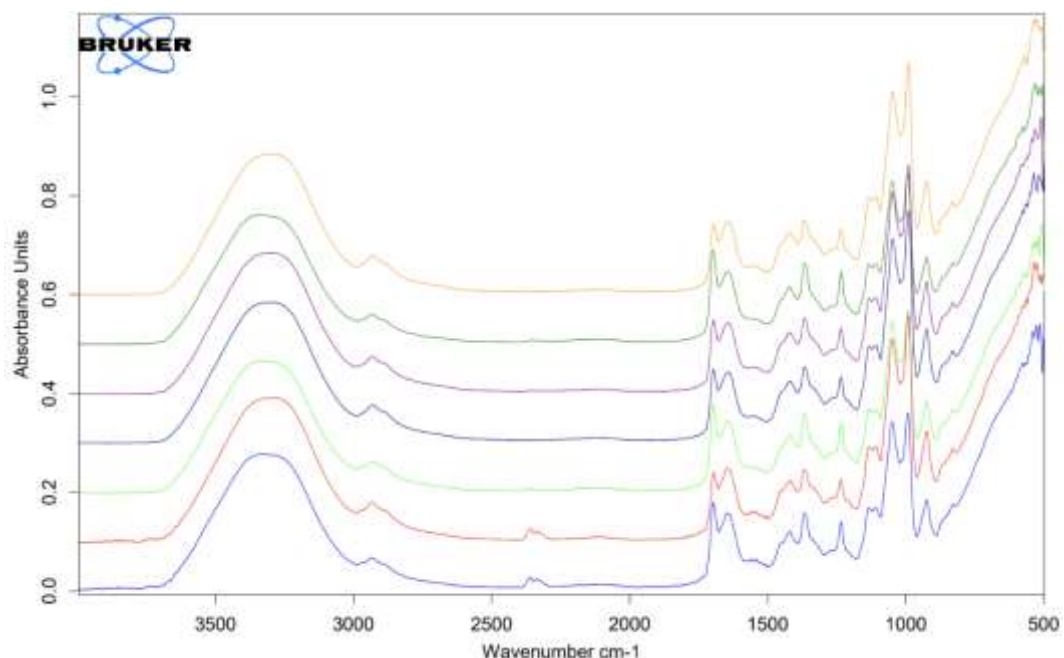
Dapat diketahui pada Tabel III secara organoleptis bahwa gelatin sapi berwarna kekuningan dan memiliki bau yang khas, sedangkan gelatin babi berwarna putih tulang dan memiliki bau yang khas dan lebih pekat dibandingkan dengan gelatin sapi. Bau pada gelatin akan lebih pekat ketika gelatin dibasahi dengan aquadest.

Tabel II. Perbedaan Gelatin Sapi dan Gelatin Babi

Gelatin Sapi	Gelatin Babi
Berwarna kekuningan	Berwarna putih tulang
Berbau khas	Berbau khas yang lebih pekat

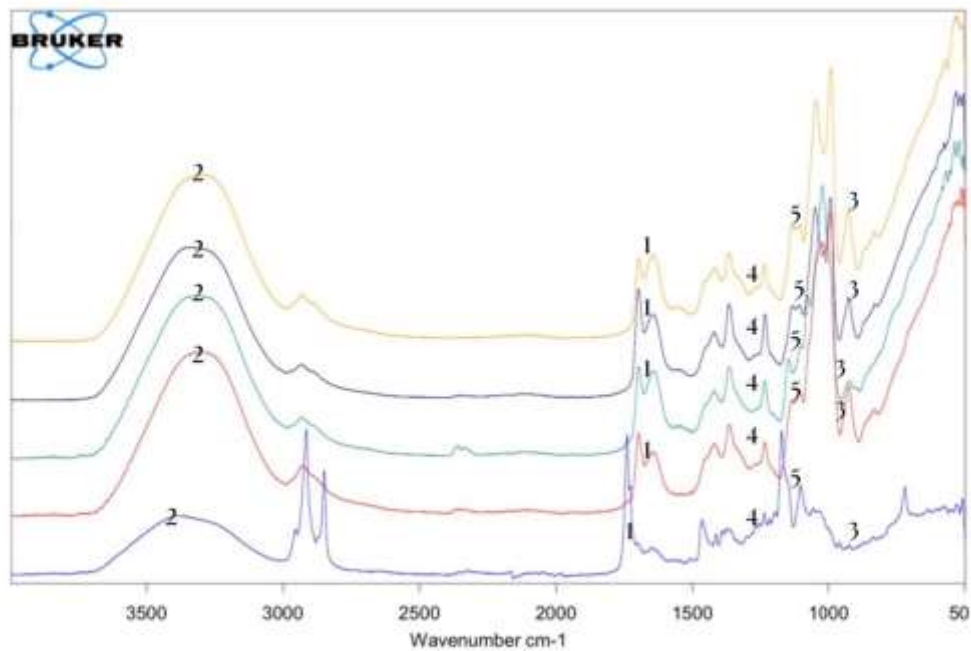
Pada proses pembuatan permen lunak referensi ditambahkan asam sitrat yang berfungsi sebagai pemberi rasa asam pada permen lunak referensi dan mencegah terjadinya kristalisasi pada gula. Kemudian ditambahkan pewarna makanan pada permen lunak referensi yang berfungsi sebagai pemberi warna pada permen supaya lebih menarik. Setelah semua bahan tersebut tercampur dengan rata dan telah dipadatkan akan menghasilkan permen referensi yang seperti kita inginkan. Secara visual tidak ada perbedaan yang signifikan antara permen referensi dari gelatin sapi maupun gelatin babi.

Proses selanjutnya setelah Gelatin Sapi dan Gelatin Babi diekstraksi yaitu dianalisis menggunakan FTIR yang mana dapat menghasilkan pola spektrum yang hampir sama. Perbedaan spektrum tersebut terletak pada tinggi dan rendahnya serapan gelombang.



Gambar 1. Spektra FTIR Permen Lunak Referensi Gelatin Babi dari Konsentrasi Rendah ke Konsentrasi Tinggi dan Gelatin Sapi 100%.

Berdasarkan Gambar 1 merupakan hasil dari spektrum FTIR Gelatin Sapi 100% (murni) dan Gelatin Babi dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi pada bilangan panjang gelombang 4000-500 cm^{-1} .



Gambar 2. Spektrum FTIR Gelatin Permen Lunak Berbagai Merek, Gelatin Sapi 100% dan Gelatin Babi 100% (Kuning Gelatin Sapi, Ungu Gelatin Babi, Hijau Sampel 3, Merah Sampel 2, dan Biru Sampel 1).

Permen lunak yang dipakai dalam penelitian ini menggunakan 3 permen lunak berbagai merek yang dibeli secara acak dan tidak memiliki label “HALAL”. Hasil isolasi yang diperoleh berupa endapan yang dibaca menggunakan alat FTIR pada bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} . Pada puncak gelatin yang terbaca pada permen lunak berbagai merek mirip dengan permen referensi yang dibuat, hanya saja memiliki absorbansi yang berbeda seperti pada Gambar 2.

Semua puncak yang muncul pada gelatin sapi, babi, dan permen lunak

berbagai merek memiliki puncak yang hampir mirip, namun memiliki serapan absorbansi yang berbeda. Oleh sebab itu harus dilakukan analisis lanjutan menggunakan PLS untuk mengetahui validasi, kalibrasi dan PCA untuk mengetahui perbedaan yang lebih spesifik dalam pengelompokan berdasarkan kuadran.

Tabel III. Perkiraan Gugus Fungsi pada Gelatin Babi 100% dan Gelatin Sapi 100%

Pita	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)						Gugus Fungsi	Bentuk Peak	Model Vibrasi
	Acuan (Pavia dkk., 2009)	Gelatin Sapi	Gelatin Babi	Sampel 1	Sampel 2	Sampel 3			
1	1800-1630	1702	1702	1832	1720	1726	C = O	Tajam	Kuat
2	3500-3100	3245	3245	3420	3247	3250	N – H	Tajam	Sedang
3	1000-650	897	897	876	885	885	C – H	Tajam	Kuat
4	1350-1000	1345	1345	1240	1247	1245	C – N	Tajam	Sedang
5	1300-1000	1221	1221	1266	1259	1263	C – O	Tajam	Kuat

Pada umumnya, gelatin merupakan protein yang memiliki gugus fungsi hidrogen (C – H), gugus amida (C – N), gugus karbon (C – O), gugus Hidroksil (O – H), gugus fungsi (N – H) dan gugus karbonil (C = O).

Perbedaan kekuatan antara gelatin babi dan gelatin sapi disebabkan karena gelatin babi memiliki kadar air yang lebih tinggi dibandingkan pada gelatin sapi, sehingga menyebabkan kandungan air (O–H) pada gelatin babi secara umum lebih tinggi daripada gelatin sapi. Pada bilangan gelombang 897 cm⁻¹ pada gelatin babi dan gelatin sapi mengalami *stretching* C – H yang mana mempunyai rentang 650 – 1000 cm⁻¹. Pada gugus amida (C – N) berada pada tentang 1000-1350 cm⁻¹. Dapat dilihat pada gambar bahwa yang mengalami *stretching* C – N terdapat pada bilangan gelombang 1345 cm⁻¹. Kemudian pada gugus karbonil (C = O) berada

pada rentang 1800-1630 cm^{-1} . Dapat dilihat pada gambar bahwa, *stretching* C = O terdapat pada bilangan gelombang 1702 cm^{-1} . Dapat dilihat bahwa pada Gambar 4 mengalami *stretching* pada bilangan gelombang 3387 cm^{-1} . Dan pada gugus N – H berada ppada rentang 3100-3500 cm^{-1} , dimana pada Gambar 3 mengalami *stretching* pada bilangan gelombang 3245 cm^{-1} yang dapat dilihat melalui Tabel IV.

Pada Gambar 3 dapat diketahui bahwa struktur gelatin sapi 100% jelas memiliki bilangan gelombang yang berbeda dibandingkan gelatin babi 100%, gelatin babi 85%, gelatin babi 70%, gelatin babi 55%, gelatin babi 40%, dan gelatin babi 25% yang dibuat sesuai dengan referensi.

2. Pengolahan Data Dengan Menggunakan PLS

Salah satu metode yang digunakan untuk analisis kuantitatif yaitu kalibrasi multivariat menggunakan PLS (*Partial Least Square*). Metode kalibrasi multivariat PLS diacukan pada kelebihanannya yang mampu memprediksi dengan lebih baik ketika terdapat spektra yang tumpang tindih. Perlunya melakukan optimasi bilangan gelombang sebelumnya karena, pemilihan panjang gelombang pada PLS digunakan agar kinerja model yang didapat menjadi optimal meskipun dalam metode ini dapat menghitung keseluruhan spektrum.

Berdasarkan Tabel V untuk menentukan analisis PLS dengan menentukan panjang gelombang yang akan di kalibrasi dan validasi dengan cara optimasi. Bilangan gelombang yang dipilih untuk optimasi merupakan daerah bilangan gelombang yang memiliki gugus fungsi (daerah *fingerprint*). Penentuan panjang gelombang dipilih supaya kalibrasi berjalan secara maksimal. Bilangan

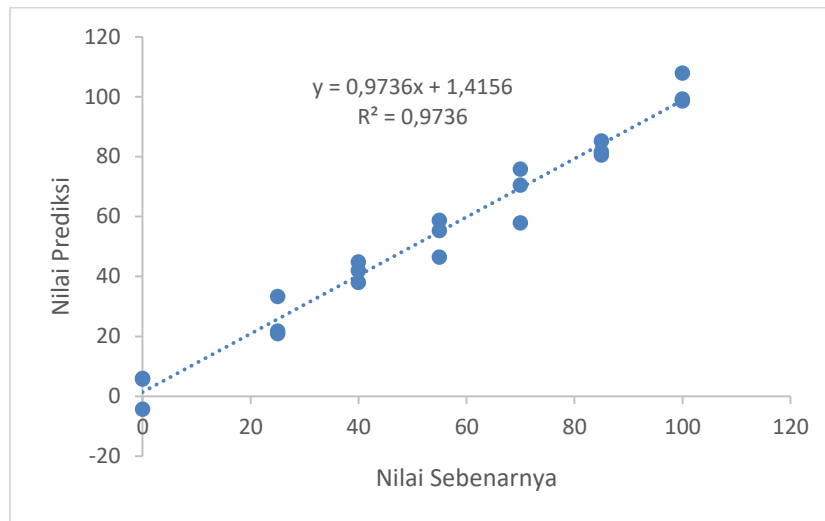
gelombang untuk kalibrasi dipilih berdasarkan koefisien determinasi (R^2) mendekati 1 dan nilai terendah dari RMSEC (Rohman, 2014).

Tabel IV. Optimasi Bilangan Gelombang Multivariat PLS (RMSEC)

Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Koefisien Determinasi (R^2)	RMSEC	RMSECV	RMSEP
1000-1350	0,1029	30,5566	3,7201	6,9120
1630-1800	0,6815	18,2065	10,7770	6,1943
2800-3100	0,8874	10,8251	19,7995	6,1943
3200-3500	0,1382	29,9499	3,6894	1,6304
(1000-1350) & (1630-1800)	0,9735	5,2446	25,9724	9,8424
(1000-1350) & (2800-3100)	0,8862	10,8842	75,5872	7,9379
(1630-1800) & (2800-3100)	0,8722	11,5322	63,0606	5,6355

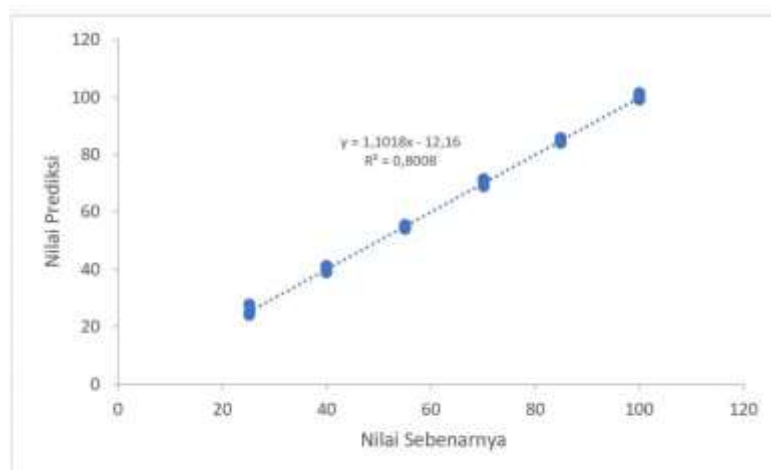
PLS menggunakan parameter yang berhubungan antara nilai prediksi (sumbu x) dan nilai sebenarnya (sumbu y), dengan menggunakan persamaan regresi linier $y = bx + a$. Dimana y adalah kadar terprediksi spektrofotometer FTIR, b merupakan kemiringan garis lurus, x merupakan kandungan analit, dan a merupakan perpotongan garis lurus sumbu y.

Kalibrasi PLS dan validasi PLS diberikan pada bilangan gelombang yang terpilih dan sudah dioptimasi. Berdasarkan Tabel V bilangan gelombang yang terpilih sebagai pemodelan yaitu pada rentang $1000\text{-}1350\text{ cm}^{-1}$ & $1630\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$, yang mana didapatkan persamaan $y = 0,9736x + 1,4156$ dengan koefisien determinasi (R^2) 0,9736. Nilai RMSEC yaitu 5,24%. Kurva antara sumbu x dan sumbu y model kalibrasi bilangan gelombang $1000\text{-}1350\text{ cm}^{-1}$ & $1630\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$ pada gambar 5.



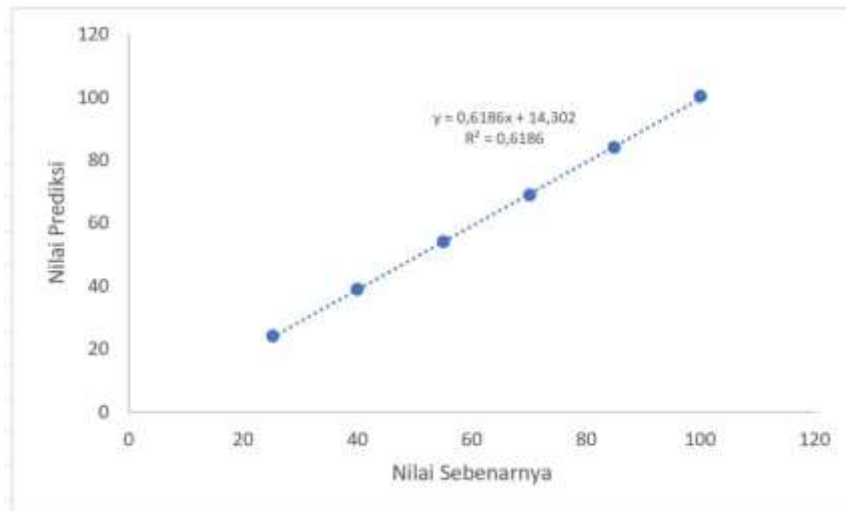
Gambar 3. Kurva RMSEC antara nilai sebenarnya dan nilai prediksi model kalibrasi pada bilangan gelombang 1000-1350 cm^{-1} & 1630-1800 cm^{-1}

Pada Gambar 3 perlu adanya evaluasi menggunakan metode validasi dengan cara mengeluarkan satu data dan membuat model baru dengan data yang tersisa. Parameter validasi yang digunakan yaitu dengan RMSECV (*Root Mean Square Error of Cross Validation*), yang umumnya dikenal sebagai validasi internal. Validasi dikatakan baik jika nilai RMSECV kecil dan nilai koefisien determinasi (R^2) mendekati 1 (Danzer dkk., 2004).



Gambar 4. Kurva RMSECV hubungan antara nilai sebenarnya dengan nilai prediksi model validasi internal pada bilangan gelombang 1000-1350 cm^{-1} & 1630-1800 cm^{-1}

Pada Gambar 4 didapatkan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,8008 dan nilai RMSECV sebesar 25,97%. Didapatkan persamaan $y = 1,1018x + 12,16$.



Gambar 5. Kurva RMSEP antara nilai prediksi dengan nilai sebenarnya model validasi eksternal pada bilangan gelombang 1000-1350 cm^{-1} & 1630-1800 cm^{-1}

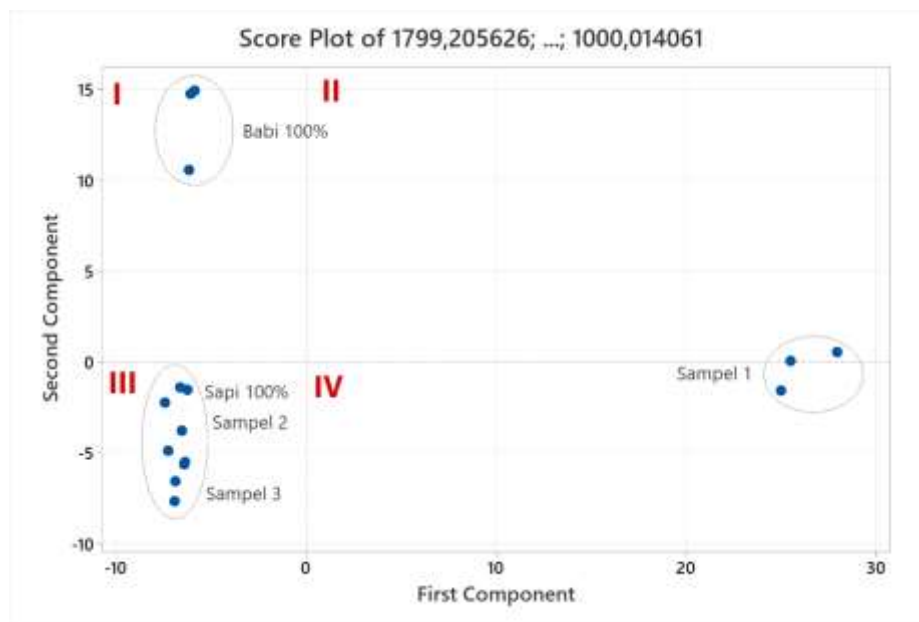
Kemudian dilakukan validasi secara eksternal menggunakan parameter RMSEP. Pada kurva Gambar 7 didapatkan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,6186 dan nilai RMSEP sebesar 9,84% dengan persamaan $y = 0,6186x + 14,302$.

3. Analisis Menggunakan Principal Component Analysis (PCA)

Analisis komponen utama yang biasa disingkat PCA merupakan teknik analisis yang menggunakan reduksi data multivariat ketika terjadi korelasi antar variabel (Rohman, 2014). Objek atau sampel dengan komponen utama PCA yang kurang lebih sama, oleh karena itu PCA dapat digunakan untuk pengelompokan (Rohman, 2014).

Analisis PCA dapat memisahkan data berdasarkan kesamaan. Selain itu, PCA berguna untuk memvisualisasikan pola dalam sampel dan untuk analisis korelasi (James N Miller & Jane C Miller, 2000).

Hasil analisis kemudian diolah menggunakan kemometri PCA dan digeneralisasikan menjadi grafik, dihasilkan untuk setiap jenis gelatin berdasarkan profil variabel komponen gelatin itu sendiri.



Gambar 6. Kurva *Score Plot* Permen Referensi Gelatin Sapi 100%, Permen Referensi Gelatin Babi 100%, dan Sampel Permen Lunak Berbagai Merek pada Panjang Gelombang $1000-1350\text{ cm}^{-1}$ & $1630-1800\text{ cm}^{-1}$

Dari hasil analisis akan menunjukkan pemisahan antara Gelatin Sapi, Gelatin Babi, dan ketiga sampel permen lunak berbagai merek yang menggunakan bahan utama gelatin. Pada Gambar 6 menunjukkan hasil dari analisis PCA berupa *score plot*. Dalam Gambar 6 tersebut terdapat IV kuadran pemisah yang dapat membedakan antara permen lunak yang menggunakan gelatin sapi dan gelatin babi.

Hasil dari analisis PCA dapat diketahui pada kuadran I terdapat permen referensi gelatin babi 100% yang berarti permen lunak referensi tersebut menggunakan gelatin babi 100%. Pada kuadran III terdapat hasil dari permen lunak referensi menggunakan gelatin sapi 100%. Pada kuadran III pada Gambar 6

juga terdapat permen lunak sampel 2 dan 3, yang dapat dipastikan pada permen lunak sampel 2 dan 3 menggunakan gelatin sapi. sedangkan pada sampel 1 tidak berada pada kuadran I dan III, yang menunjukkan bahwa sampel 1 tidak menggunakan gelatin dari sapi maupun babi.

Dapat disimpulkan bahwa pada sampel 2 dan 3 sudah dipastikan mengandung gelatin sapi. Sedangkan pada sampel 1 dapat dipastikan tidak mengandung gelatin sapi maupun babi. Kemudian kemungkinan adanya faktor eksternal pada sampel 1, sehingga tidak terdeteksi adanya gelatin babi maupun gelatin sapi.

Sampel 1 pada permen lunak berbagai merek yang digunakan dapat dipastikan menggunakan bahan utama gelatin ayam atau ikan atau bisa saja berasal dari rumput laut atau hal tersebut dapat terjadi karena adanya denaturasi protein, dimana suatu fenomena struktur protein terlipat diubah menjadi struktur terbuka.

Perubahan konformasi protein mempengaruhi sifat protein (Estiasih dkk., 2016). Selama proses denaturasi, ikatan hidrogen dan hidrofobik terputus, sehingga terjadi peningkatan entropi. Pemanasan protein dapat menyebabkan denaturasi dan menurunkan kelarutan protein.

Degenerasi dapat disebabkan oleh berbagai faktor, antara lain :pemanasan, tekanan, agitasi, pH, pelarut organik, senyawa organik, garam, deterjen (Fitriah Rais dkk., 2017).

Untuk menunjukkan kemurnian gelatin dalam penelitian ini, kemometri PCA merupakan langkah awal untuk mengevaluasi proses pengelompokan

komponen senyawa dan adanya faktor lain dalam pola yang diamati berdasarkan korelasi, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut sifat kimia dan fisiknya.

Eigenvalue	183,55	54,49
Proportion	0,720	0,214
Cumulative	0,720	0,934

Gambar 7. Hasil Analisis PCA Permen Referensi gelatin Sapi 100%, Permen referensi gelatin babi 100%, dan sampel Permen Lunak Berbagai Merek Pada Bilangan Gelombang 1000-1350 cm^{-1}

Hasil dari analisis PCA berupa kurva *score plot* dan nilai komponen utama (PC). Komponen utama disebut juga *eigenvector* dan teknik untuk mendapatkannya disebut *eigentanalysis* seperti pada gambar 7. Hasil dari *eigentanalysis* tersebut berupa *eigenvalue*, yang mana memberikan jumlah varian dalam kumpulan data yang dijelaskan oleh komponen utama (James N Miller & Jane C Miller, 2000). Seiring bertambahnya nilai pada komponen utama (PC) maka *eigenvalue* akan semakin kecil. Hal ini disebabkan karena ciri khas dari nilai komponen utama (PC) semakin berkurang. *Proportion* merupakan nilai tiap varian sebagai proporsi dari total. Berdasarkan Tabel 6. Informasi data dapat diperoleh sebanyak 93,4% hanya dengan mengambil 2 PC awal. Dapat diketahui bahwa sampai PC2 mampu mengekstraksi informasi sebesar 93,4%. Dapat dipastikan bahwa data yang diperoleh sudah akurat karena kesalahan yang dihasilkan sebesar 6,6% saja (Kantinit, 2023).

D. PENUTUP

1. Kesimpulan

- a. Metode FTIR belum bisa untuk membedakan gugus fungsi antara gelatin babi dan gelatin sapi pada permen lunak berbagai merek, sehingga diperoleh gugus fungsi yang sama dan pada permen referensi. Didapatkan senyawa kimia yaitu C–O, C–H, N–H, C=O dan C–N.
- b. Penggunaan FTIR dengan kombinasi Kemometrika dapat membedakan antara permen yang mengandung gelatin babi dan sapi pada panjang gelombang 1000-1350 & 1630-1800 cm^{-1} . Tetapi masih perlu dilakukan penelitian dan analisa data lebih lanjut.
- c. Metode FTIR dengan kombinasi Kemometrika bisa digunakan untuk pengelompokan gelatin dan sebagai analisis kualitatif dan kuantitatif gelatin dengan adanya klasifikasi perbedaan kuadran antara gelatin babi 100%, gelatin sapi 100% dan pada permen lunak sampel berbagai merek dengan mengambil 2 PC hasil analisa sebanyak 93,4%.

2. Saran

FTIR dapat mengidentifikasi senyawa protein tetapi tidak secara spesifik. Masih perlu dilakukan analisis lanjutan terhadap sampel seperti menggunakan instrumen *real-time* PCR. Selain itu pada metode kombinasi antara FTIR dan Kemometrika dapat digunakan untuk menganalisis kehalalan pada produk yang mengandung gelatin.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustin, T. A. (2013). Gelatin Ikan: Sumber, Komposisi Kimia dan Potensi Pemanfaatannya. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*, 1(2).
- Ali, M. E., Sultana, S., Bee, S., Hamid, A., Hossain, M. A. M., Yehya, W. A., Kader, A., Bhargava, S. K., & Ali, : M E. (2018). *Gelatin Controversies in Food, Pharmaceuticals and Personal Care Products: Authentication Methods, Current Status and Future Challenges*. 2–63.
- Anonim. (2012). Gelatin Manufacturers Istitute of America Gelatin Handbook (GMIA). Dalam *US Customer Service* (Vol. 563, Nomor 888).
- Azira, N., Amin, I., & Man, C. (2012). Differentiation of bovine and porcine gelatins in processed products via Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) and principal component analysis (PCA) techniques. *International Food Research Journal*, 19(3), 1175–1180.
- Beasley, M. M., Eric J, B., Lacy, T., & Randy M, M. (2014). Comparison of Transmission FT-IR, ATR, and DRIFT Spectra: Implications for Assessment of Bone Bioapatite Diagnessis. *Journal of Archaeological Science*, 46(1), 16–22.
- Cebi, N., Durak, M. Z., Toker, O. S., Sagdic, O., & Arici, M. (2016). An evaluation of Fourier transforms infrared spectroscopy method for the classification and discrimination of bovine, porcine and fish gelatins. *Food Chemistry*, 190, 1109–1115. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.065>
- Danzer, K., Otto, M., & Currie, L. A. (2004). Guidlines for Calibration in Analytical Chemistry Part.2 Multispecies Calibration (IUPAC Technical Report). Dalam *Pure Appl. Chem* (Vol. 76, Nomor 6).
- Estiasih, T., Harjiono, Waziroh, E., & Fibrianto, K. (2016). Kimia dan Fisik Pangan. *Bumi Aksara. Jakarta*, 37–163.
- Fathiyah. (2015). *Analisis Kandungan Gelatin Babi dan Gelatin Sapi Pada Cangkang Kapsul Keras yang Mengandung Vitamin A Menggunakan Real-Time Polymerase Chain Reaction*.
- Fatmawati, A. (2022). *Analisis Gelatin Pada Softcandy Produk Dalam Negeri Menggunakan Fourier Transform Infrared (FTIR) Dengan Kombinasi Kemometrika*.

- Fitriah Rais, A., Norma Ethica, S., & Rahmawati Sulistyningtyas, A. (2017). *Analysis Protein Profile of Nila Fish (Oreochromis niloticus) SDS-PAGE Method Based on Variations of Long Marination and Vinegar Concentration.*
- Gontijo, L. C., Guimarães, E., Mitsutake, H., De Santana, F. B., Santos, D. Q., & Neto, W. B. (2014). Development and validation of PLS models for quantification of biodiesels content from waste frying oil in diesel by HATR-MIR. *Revista Virtual de Química*, 6(5), 1517–1528. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20140098>
- Gunawan, B., & Dewi Azhari, C. (2017). *Karakterisasi Spektrofotometri IR dan Scanning Electron Microscopy (SEM) Sensor GAS dari Bahan Polimer Poly Ethelyn Glycol (PEG).*
- Hadijah. (2013). *Peramalan Operasional Reservasi Dengan Program Minitab Menggunakan Pendekatan Arima PT SURINDO ANDALAN.*
- Hassan, N., Ahmad, T., Zain, N. M., & Ashaari, A. (2020). A Novel Chemometrics Method For Halalauthentication Of Gelatin In Food Products. *Sains Malaysiana*, 49(9), 2083–2089. <https://doi.org/10.17576/jsm-2020-4909-06>
- Hayati, E. K. (2007). *Dasar - dasar analisis spektroskopi. Malang : Kantor Jaminan Mutu Universitas Is'am Negeri Malang.*
- Hermanto, S., Nurlily, A., & Heryanto, R. (2015). Diferensiasi Gelatin Asal Hewan Pada Produk Permen Jelly Komersil Menggunakan FTIR Dan Kalibrasi Multivariat. *World Academic and Research Congress*, 9–10.
- James N Miller & Jane C Miller. (2000). *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry.* www.pearsoned.co.uk
- Kantinit. (2023). *Principal Component Analysis (PCA): Konsep Dan Cara Kerja.* 1–3.
- Khopkar, S. M. (2002). *Konsep Dasar Kimia Analitik. UI Press.*
- Kim, S., Sung, J., Foo, M., Jin, Y. S., & Kim, P. J. (2015). Uncovering the nutritional landscape of food. *PLoS ONE*, 10(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118697>
- Kustian, N. (2016). Principal Component Analysis Untuk Sistem Pengenalan Wajah Dengan Menggunakan Metode Eigenface. *Jurnal String*, 1(2).
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., & Kriz, G. S. (2009). *Introduction To spectroscopy : A Guide For Students Of Organic Chemistry.*

- Prabawati, S. Y., & Fajriati, I. (2018). *Analisis Lemak Sapi dan Lemak Babi Menggunakan Gas Chromatography (GC) dan Fourier Transform Infrared Spectroscopy Derivative Second (FTIR-2D) Untuk Autentifikasi Halal*.
- Pratiwi, D. E., & Harjoko, A. (2013). Implementasi Pengenalan Wajah Menggunakan PCA (Principal Component Analysis). *IJEIS*, 3(2), 175–184.
- Puspitaningrum, Y. (2015). *Deteksi DNA Gelatin Dapi dan Gelatin Babi Pada Simulasi Gummy Vitamin C Menggunakan Real -Time PCR Untuk Analisis Kehalalan*.
- Rahmawati, A., Kuswandi, B., & Retnaningtyas, Y. (t.t.). *Deteksi Gelatin Babi pada Sampel Permen Lunak Jelly Menggunakan Metode Fourier Transform Infra Red (FTIR) dan Kemometrik*.
- Ramadani, D. (2014). *Pengaruh Perbedaan Jenis Asam dan Waktu Demineralisasi Pada Nilai Rendemen dan Sifat Fisiko Kimia Gelatin Tulang Sapi Bali*.
- Rizky, A., Rachmania, F., Nisma, M., Jurusan, F., & Uhamka, J. (2013). Ekstraksi Gelatin Dari Tulang Ikan Tenggiri Melalui Proses Hidrolisis Menggunakan Larutan Basa Gelatin. *Media Farmasi*, 10(2), 18–28.
- Rohman, A. (2014). *Spektroskopi Inframerah dan Kemometrika untuk Analisis Farmasi. Pustaka Pelajar, Yogyakarta*.
- Rohman, A., & Salamah, N. (2018). The employment of spectroscopic techniques coupled with chemometrics for authentication analysis of halal pharmaceuticals. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8(10), 63–068. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2018.81009>
- Salamah, N., Guntarti, A., & Nurani, L. H. (2023). Analysis of soft gelatin capsule with real-time polymerase chain reaction for halal authentication. *Pharmaciana*, 13(1), 16. <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v13i1.25694>
- Schrieber, R., & Gareis Herbert. (2007). *Gelatine Hand Book. Theory and Industrial Practice*.
- Siregar, Y. D. I., Heryanto, R., Lela, N., & Lestari, T. H. (2015). Karakterisasi Karbon Aktif Asal Tumbuhan dan Tulang Hewan Menggunakan FTIR dan Analisis Kemometrika. *Jurnal Kimia VALENSI*, 103–116. <https://doi.org/10.15408/jkv.v0i0.3146>
- Wulandari, Supriadi, A., & Purwanto, B. (2013). *Pengaruh Defatting dan Suhu Ekstraksi Terhadap Karakteristik Fisik Gelatin Tulang Ikan Gabus*

(*Channa striata*).

Youlanda, H. (2016). *Ekstraksi dan Evaluasi Gelatin Dari Kulit Sapi Yang Telah Mengalami Proses Buang Bulu Menggunakan Hidrolisis Asam*.

Zahra Shafirany, M., Susilawati, Y., & Musfiroh, I. (2018). *Aplikasi Kemometrik dalam Penentuan Mutu Tumbuhan Obat*. 4(2), 6.

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

Zilhada, Z., Syafiqoh, F., & Betha, O. S. (2022). Diferensiasi Gelatin Sapi dan Babi pada Cangkang Kapsul Keras Menggunakan metode Kombinasi Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dan Kemometrik. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 9(2), 88. <https://doi.org/10.25077/jsfk.9.2.88-94.2022>