

Deteksi Gelatin Babi pada Sampel Permen Lunak Jelly Menggunakan Metode Fourier Transform Infra Red (FTIR) dan Kemometrik

(Detection of Porcine Gelatin in Jelly Soft Candy Sample Using Fourier Transform Infra Red and Chemometrics)

Annisa Rahmawati, Bambang Kuswandi, Yuni Retnaningtyas
Fakultas Farmasi Universitas Jember
Jln. Kalimantan No. 37 Jember 68121
e-mail korespondensi: annisa.er92@gmail.com

Abstract

Gelatin is widely used in some food products as gelling agent, including jelly soft candy. Most of commercial gelatin is derived from pork skin. Islam prohibits their followers to consume any food products containing pig derivatives, including porcine gelatin. Therefore, it is necessary to develop some rapid and reliable methods for detection of porcine gelatin in jelly soft candy. FTIR method combined with chemometrics were chosen because it is rapid, easy and reliable. The purpose of this study was to classify of porcine gelatin in jelly soft candy using FTIR method combined with multivariate statistical methods (chemometrics). The classification method of chemometrics used to test porcine gelatin in commercial product of jelly soft candy was successful and also in a good assessment with Xematest Pork.

Keywords: bovine gelatin, jelly soft candy, porcine gelatin, FTIR, chemometrics.

Abstrak

Gelatin banyak digunakan dalam makanan sebagai pembentuk jeli salah satu makanan yang menggunakan gelatin adalah permen lunak jelly. Sebagian besar gelatin komersial adalah berasal dari babi. Agama seperti Islam melarang untuk mengkonsumsi makanan yang berasal atau mengandung babi, termasuk juga gelatin babi. Berdasarkan hal tersebut maka diperlukan metode yang cepat dan dapat dipercaya untuk mendeteksi keberadaan gelatin babi pada sampel permen lunak jelly. Metode FTIR dikombinasikan dengan kemometrik dipilih karena cepat, mudah dan dapat dipercaya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengklasifikasi gelatin babi pada sampel permen lunak jelly menggunakan metode FTIR dikombinasikan dengan metode statistik multivariat (kemometrik). Metode klasifikasi kemometrik dapat digunakan untuk menguji keberadaan gelatin babi pada sampel permen lunak jelly yang beredar di pasaran yang juga memberikan hasil yang baik pada pengujian menggunakan *Xematest Pork*.

Kata kunci : gelatin sapi, permen lunak jelly, gelatin babi, FTIR, kemometrik.

Pendahuluan

Definisi permen lunak jelly menurut SNI 3547-2-2008 adalah permen bertekstur lunak, yang diproses dengan penambahan komponen hidrokoloid seperti agar, gum, pektin, pati, karegenan, gelatin, dan lain-lain yang digunakan untuk modifikasi tekstur sehingga menghasilkan

produk yang kenyal, harus dicetak dan diproses *aging* terlebih dahulu sebelum dikemas [1].

Komponen utama dalam permen lunak jelly adalah gelatin. Gelatin adalah suatu polipeptida larut berasal dari kolagen, yang merupakan konstituen utama dari kulit, tulang, dan jaringan ikat binatang. Gelatin diperoleh

melalui hidrolisis parsial dari kolagen [2]. Gelatin terdiri dari dua tipe ditinjau dari proses pembuatannya, yaitu tipe A dan tipe B. Gelatin tipe A merupakan gelatin yang diproduksi melalui proses asam, sedangkan gelatin tipe B diperoleh dari proses alkalin. Perbedaan proses produksi yang digunakan ini bergantung pada sumber gelatin yang digunakan. Tipe A untuk gelatin dari babi dan tipe B untuk gelatin dari sapi [3]. Ditinjau dari sumbernya, gelatin dapat berasal dari mamalia (kulit sapi, tulang sapi, kulit babi) maupun dari ikan. Sekitar 90% gelatin yang diproduksi berasal dari babi [13]. Sebagian besar gelatin komersial di Indonesia merupakan bahan impor, dimana pengeksport utamanya adalah Eropa dan Amerika [14], hal ini menjadi permasalahan tersendiri bagi pemeluk agama islam akan kehalalannya.

Ada beberapa metode yang dapat digunakan untuk membedakan gelatin sapi dan gelatin babi, diantaranya menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) fase terbalik dalam kombinasi dengan deteksi fluoresensi [15], pengembangan HPLC yang digabung dengan spektrometri massa untuk mengidentifikasi gelatin sapi dan gelatin babi [16] dan pengembangan metode dengan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) fase terbalik (RP) dengan deteksi fluoresensi dalam kombinasi dengan kemometrik dari analisis komponen utama untuk membedakan gelatin sapi dan gelatin babi dalam produk makanan (permen lunak) [4]. Sedangkan penelitian untuk mendeteksi dengan menggunakan Spektroskopi *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) dalam permen lunak jelly belum pernah dilakukan.

Dalam penelitian ini akan dilakukan pengembangan metode spektroskopi *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) untuk membedakan adanya kandungan gelatin babi pada permen lunak jelly yang selanjutnya dapat digunakan sebagai identifikasi kehalalan. Spektroskopi FTIR dipilih karena merupakan teknik analisis yang cepat dan nondestruktif, sensitif dan memerlukan preparasi sampel yang sederhana, serta penggunaan reagen kimia dan pelarut dalam jumlah sedikit [5].

Pengolahan data spektrum inframerah dilakukan menggunakan metode statistik multivariat. Manfaat dari metode statistik multivariat tersebut adalah kemampuannya dalam mengekstrak informasi spektrum yang diperlukan dari spektrum inframerah dan menggunakan informasi spektrum tersebut untuk aplikasi kualitatif dan kuantitatif. Metode

statistik multivariat sering disebut dengan metode kemometrik [6].

Analisis kemometrik dengan teknik *Partial Least Square* (PLS), *Linear Discriminant Analysis* (LDA), *Soft Independent Modelling of Class Analogies* (SIMCA) dan *Support Vector Machine* (SVM) merupakan teknik analisis multivariat yang bisa digunakan untuk penentuan multikomponen. Keuntungan teknik ini ialah dapat mengeliminasi spektrum pengganggu dalam kuantifikasi, meningkatkan selektivitas [7].

Metode Penelitian

Bahan yang digunakan adalah gelatin sapi (Brataco), gelatin babi (Sigma Alderich), gula, sirup glukosa, asam sitrat, akuades, dan sampel permen lunak di pasaran. Sedangkan Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah perangkat spektrofotometer infra merah (Bruker Alpha); perangkat lunak OPUS; perangkat lunak *The Unscrambler X 10.2*; strip *Xematest Pork Product number X.366.2*; timbangan analitik; lemari es dan alat gelas.

Tahap pertama adalah pembuatan sampel permen lunak jelly simulasi dengan komposisi (bobot \pm 3g) yaitu gelatin 10%, sirup glukosa 20%, gula 40%, asam sitrat 0,5%, perasa 0,1%, pewarna 0,01% dan air hingga 100%. Cara pembuatannya adalah pertama menimbang bahan-bahan yang dibutuhkan. Selanjutnya melarutkan gelatin dalam air panas pada suhu \pm 60-70°C, kemudian dilanjutkan dengan menambahkan sukrosa/gula, sirup glukosa, asam sitrat, pewarna dan perasa, pemasakan campuran ini dilakukan pada suhu 90-100 °C lalu dituang ke dalam cetakan, diamkan pada suhu kamar selama 30 menit lalu pindahkan suhu refrigerator sampai kenyal [8]. Sampel permen lunak jelly simulasi yang disiapkan berupa permen lunak jelly dengan gelatin sapi, permen lunak jelly dengan gelatin babi dan permen lunak jelly campuran. Permen lunak jelly campuran adalah permen lunak jelly yang mengandung gelatin babi dan gelatin sapi dimana gelatin babi yang ditambahkan di sini berfungsi sebagai pengganti gelatin sapi.

Sampel permen lunak jelly simulasi dibagi menjadi dua kelompok yaitu *training set* dan *test set*. *Training set* terdiri dari objek/sampel yang diketahui pengkategorianya dan digunakan untuk membentuk model klasifikasi kemometrik [9]. Sepuluh sampel permen lunak jelly simulasi murni gelatin sapi (konsentrasi 0% gelatin babi) dan sepuluh

sampel permen lunak jelly simulasi campuran disiapkan sebagai *training set*. Sepuluh sampel permen lunak jelly simulasi campuran disiapkan dengan rentang konsentrasi 10-100% gelatin babi (10%; 20%; 30%; 40%; 50%; 60%; 70%; 80%; 90%; 100%). *Test set* juga terdiri dari objek/sampel yang diketahui pengkategorianannya namun digunakan untuk mengevaluasi reliabilitas model yang telah dibentuk oleh *training set* [9]. Lima sampel permen lunak simulasi disiapkan sebagai *test set*, yaitu satu sampel permen lunak jelly simulasi murni babi (konsentrasi 100%), satu sampel permen lunak jelly simulasi murni sapi (konsentrasi 0%) dan tiga sampel permen lunak simulasi campuran (konsentrasi 10%, 50% dan 70%).

Tahap kedua adalah menguji permen lunak jelly simulasi yang sudah terbentuk dalam cetakan dengan ketebalan sama ($\pm 0,25\text{cm}$) menggunakan FTIR. Data spektrum yang diperoleh dibagi menjadi 2 set data yaitu set data 1 dan set data 2. Set data 1 adalah daerah serapan utuh $4000\text{-}700\text{ cm}^{-1}$ (tanpa dilakukan pemotongan spektra), sedangkan set data 2 adalah daerah serapan $1660\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ menurut Hashim [10] merupakan daerah serapan dimana menunjukkan perbedaan spektra gelatin sapi dan babi yang dapat digunakan untuk menentukan gelatin yang tidak diketahui. Data spektra tersebut kemudian dianalisis kemometrik dengan metode SIMCA, LDA, SVM dan PLS menggunakan perangkat lunak *The Unscrambler X* versi 10.2.

Hasil yang diperoleh dari analisis kemometrik tersebut kemudian dipilih yang terbaik dilihat dari kemampuan model dalam membedakan kedua jenis permen lunak jelly yang dapat dilihat berdasarkan nilai kemampuan pengenalan terhadap sampel dalam *training set* dan kemampuan prediksi terhadap sampel dalam *test set*. Kedua kemampuan tersebut juga digunakan dalam memilih model klasifikasi yang terbaik dimana memiliki nilai kemampuan pengenalan dan prediksi yang paling besar. Model yang ideal adalah model yang memiliki nilai kemampuan pengenalan dan prediksi sebesar 100% [9].

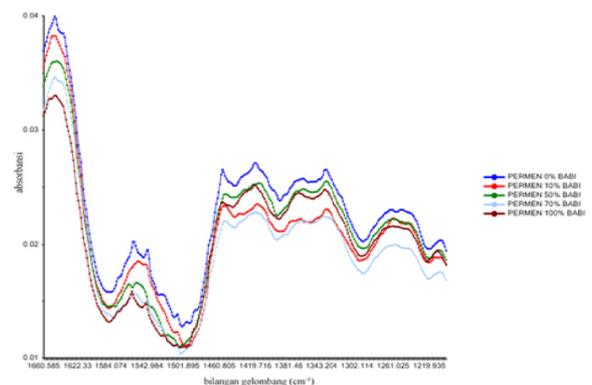
Tahap selanjutnya adalah melakukan adalah survei untuk pengambilan sampel di pasaran dimana survei dilakukan di beberapa supermarket yang ada di Kota Jember (meliputi Golden Market, Carefour dan Roxy Mall) yang kemudian dilanjutkan dengan sampling. Teknik sampling yang digunakan adalah *total sampling*. Setelah diperoleh sampel permen lunak jelly di pasaran yang dibutuhkan, sampel kemudian

dipreparasi seperti sampel simulasi kemudian dilakukan pengukuran menggunakan FTIR dan dianalisis secara kemometrik dengan software *The Unscrambler X.10.2*. Hasil data spektra diprediksi menggunakan model klasifikasi yang telah dipilih.

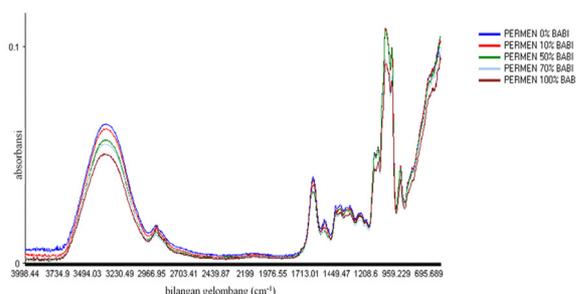
Kebenaran hasil aplikasi FTIR dan kemometrik terhadap sampel permen lunak jelly yang beredar di pasaran dapat diketahui dengan melibatkan metode perbandingan yang telah tervalidasi. Pada penelitian ini, metode perbandingan yang digunakan adalah *Xematest Pork*. Pengujian dengan metode *Xematest Pork* dilakukan dengan menggunakan tes strip yang direndam ke dalam larutan sampel.

Hasil Penelitian

Penelitian dilakukan *scanning* sampel simulasi dalam 11 konsentrasi. Kemudian dibagi menjadi 2 set data, yaitu set data asli pada daerah utuh $4000\text{-}700\text{ cm}^{-1}$ dan set data pada daerah serapan $1660\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$. Pola spektrum baik pada gelatin babi dan gelatin sapi tampak sama hanya berbeda pada intensitasnya. Pola spektrum pada daerah utuh $4000\text{-}700\text{ cm}^{-1}$ dapat dilihat pada Gambar 2, sedangkan pola spektrum pada daerah serapan $1660\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ dapat dilihat pada Gambar 1. Pada daerah daerah utuh $4000\text{-}700\text{ cm}^{-1}$ perbedaan lebih terlihat pada daerah serapan $3600\text{-}3200\text{cm}^{-1}$ dimana merupakan daerah pita absorpsi dari gugus O-H yang menunjukkan adanya kandungan air [12]. Pada daerah serapan $1660\text{-}1200\text{cm}^{-1}$ merupakan pita absorpsi gugus amida II (N-H) yang menunjukkan adanya protein dan ikatan peptida [10], dimana protein terdiri dari rangkaian asam amino yang dihubungkan oleh suatu ikatan peptida.



Gambar 1. Spektra utuh 1660-1200 cm-1



Gambar 2. Spektra utuh 4000-700 cm^{-1}

Tiap set data dilakukan analisis kemometrik multivariat sehingga diperoleh hasil yang dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil analisis kemometrik pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa set data 1 dengan metode klasifikasi LDA merupakan model klasifikasi terbaik sehingga dapat digunakan untuk menentukan adanya gelatin babi pada sampel permen lunak jelly.

Tabel 1. Hasil analisis kemometrik

SET DATA	PLS		LDA		SIMCA		SVM	
	Training set	Test set	% pengenalan	% prediksi	% pengenalan	% prediksi	% pengenalan	% prediksi
1	0.994	0.969	100%	100%	100%	20%	100%	100%
2	0.992	0.913	100%	100%	100%	0%	100%	100%

Teknik sampling menggunakan teknik *total sampling* karena jumlah sampel yang terdapat di pasaran khususnya Kota Jember hanya terdapat lima macam dimana jumlah ini memenuhi kebutuhan peneliti. Sampel permen lunak jelly yang digunakan pada penelitian ini sejumlah lima yaitu: A, B, C, D, dan E.

Pengujian dengan metode *Xematest Pork* memberikan hasil negatif mengandung gelatin babi pada kelima sampel permen lunak jelly yang digunakan. Sehingga dapat ditemukan kesamaan hasil antara metode FTIR dan Kemometrik dengan *Xematest Pork*. Perbandingan tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil kesamaan FTIR dengan *Xematest Pork*

Sampel	Hasil analisis dengan metode			
	FTIR dan kemometrik		<i>Xematest Pork</i>	
	Negatif babi (murni)	Positif babi (campuran)	Negatif babi (murni)	Positif babi (campuran)
A	✓		✓	
B	✓		✓	
C	✓		✓	
D	✓		✓	
E	✓		✓	

Pembahasan

Sebelum dilakukan pembentukan model kemometrik, terlebih dahulu dilakukan pengelompokan data spektrum menjadi dua set data. Pengelompokan dilakukan berdasarkan pada daerah serapan spektrum yang digunakan untuk melihat apakah ada perbedaan terhadap hasil. Set data 1 merupakan daerah serapan utuh tanpa pemotongan 4000-700 cm^{-1} . Set data 2 merupakan daerah serapan 1660-1200 cm^{-1} dimana merupakan daerah serapan yang dapat menunjukkan perbedaan spektra antara gelatin sapi dan babi [10].

Spektra yang diperoleh sesuai dengan karakteristik teoritis dimana pada spektra utuh 4000-700 cm^{-1} daerah serapan 3600-3200 cm^{-1} gelatin babi memiliki intensitas lebih rendah dari gelatin sapi, hal ini karena kelembaban gelatin babi lebih tinggi dari kelembaban gelatin sapi [13] yang menyebabkan kandungan air (O-H) dalam gelatin babi lebih tinggi daripada gelatin sapi, sedangkan pada daerah serapan 1660-1200 cm^{-1} yang merupakan daerah serapan protein dan ikatan peptida menunjukkan perbedaan intensitas hal ini karena kandungan asam amino dari gelatin sapi dan gelatin babi hampir sama hanya berbeda pada konsentrasi yang berpengaruh pada intensitas spektra.

Spektra *training set* yang telah dihasilkan untuk tiap set data digunakan untuk membentuk model kalibrasi dan klasifikasi. Pembentukan model klasifikasi menggunakan PLS yang ditampilkan dalam bentuk nilai regresi. Tujuan digunakannya model PLS adalah untuk mereduksi dampak dari banyaknya prediktor yang tidak relevan dengan keragaman data sehingga dapat mengestimasi kesalahan prediktor sehingga dapat meningkatkan kemampuan dari model [11].

Hasil PLS diperoleh nilai *R-square* dan RMSE dimana nilai *R-square* adalah menunjukkan seberapa dekat hubungan antara nilai real atau kenyataan dengan nilai prediksi dari instrumen yang digunakan [17]. Menurut harmonisasi internasional dalam Rohman *et al.*, (2011) [17] Apabila nilai *R-Square* semakin mendekati 1, maka hubungan yang diharapkan dari model akan semakin baik. Sedangkan nilai RMSE (*Root Mean Square Error*) adalah nilai kesalahan dalam model. Semakin kecil nilai RMSE, maka semakin baik model tersebut. Nilai *R-square* yang diperoleh pada kedua data adalah baik karena mendekati 1, namun nilai RMSE masih tinggi.

Spektrum *training set* tiap set data

kemudian diklasifikasikan menggunakan model klasifikasi kemometrik LDA, SIMCA, dan SVM. Ketiga model klasifikasi tersebut (LDA, SIMCA, SVM) menggunakan dua jenis kategori yaitu kategori permen lunak jelly murni dan permen lunak jelly campuran. Kategori permen lunak jelly murni dimaksudkan untuk menunjukkan kehalalan permen lunak jelly dimana permen lunak jelly pada kategori ini diprediksi hanya mengandung gelatin sapi, sedangkan kategori permen lunak jelly campuran dimaksudkan untuk menunjukkan adanya kecurigaan terhadap kehalalan permen lunak jelly dimana permen lunak jelly kemungkinan mengandung campuran gelatin babi. Pendiskriminasian tersebut ditampilkan dalam bentuk pemetaan ataupun tabel prediksi.

Kebenaran prediksi model kemometrik terhadap sampel yang beredar di pasaran, maka dilakukan pembuktian dengan menggunakan metode *Xematest Pork* yang telah tervalidasi. Hasil yang diperoleh dari pengujian *Xematest Pork* menunjukkan bahwa kelima sampel yang digunakan memberikan hasil negatif mengandung babi sehingga terdapat kesamaan pada hasil analisis sampel menggunakan FTIR dan menggunakan *Xematest Pork* yaitu tidak terdapat sampel yang mengandung gelatin babi sehingga halal untuk dikonsumsi.

Kesimpulan dan Saran

Metode FTIR dan kemometrik dapat diaplikasikan untuk mendeteksi gelatin babi dalam sampel permen lunak jelly sebagai identifikasi kehalalan. Penelitian ini masih memerlukan studi lebih lanjut mengenai karakteristik spektrum inframerah gelatin babi dan gelatin sapi dalam permen lunak jelly dan penambahan data yang bervariasi pada *training set* agar dapat diaplikasikan pada berbagai jenis permen lunak di pasaran.

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Chemo and Biosensor Group yang telah membantu dalam penelitian ini. Khususnya Ibu Wayan dan Ibu Hani.

Daftar Pustaka

- [1] Badan Standardisasi Nasional. SNI (Standar Nasional Indonesia). Jakarta: Badan Standardisasi Nasional; 2008.
- [2] Zhou P dan Regenstein MJ. Effects of alkaline and acid pretreatments on Alaska

- Pollock skin gelatin extraction. *Journal of Food Science*. 2006; 70: 392-396.
- [3] Wardani DP, Suharyadi E, dan Abraha K. Kajian awal identifikasi perbedaan gelatin sapi dan gelatin babi. *Prosiding Pertemuan Ilmiah XXVI HFI Jateng & DIY*: 153-157. Purworejo: Universitas Gadjah Mada; 2012.
- [4] Raraswati AM, Triyana K, Triwahyudi, dan Rohman A. Differentiation of bovine and porcine gelatins in soft candy based on amino acid profiles and chemometrics. *Journal of Food and Pharmaceutical Science*. 2013; 2: 1-6.
- [5] Che-Man YB dan Mirghani MES. Detection of lard mixed with body fats of chicken, lamb, and cow by fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of American Oil Chemists' Society*. 2001; 8: 753-761.
- [6] Ritz M, Vaculíková L, dan Plevová E. Application of infrared spectroscopy and chemometric methods to identification of selected minerals. *Acta Geodynamica et Geomaterialia*. 2011; 8(1): 47-58.
- [7] López-de-Alba PL, López-Martínez L, Cerdá V, dan Amador-Hernández J. Simultaneous determination and classification of riboflavin, thiamine, nicotinamide and pyridoxine in pharmaceutical formulations, by UV-visible spectrophotometry and multivariate analysis. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2006; 17(4): 715-722.
- [8] Kurniawan T. Aplikasi gelatin tulang ikan kakap merah (*Lutjanus sp*) pada pembuatan permen jelly. Skripsi. Bogor: IPB; 2006.
- [9] Berrueta LA, Alonso-Salces RM, & Héberger K. Supervised pattern recognition in food analysis. *Journal of Chromatography A*. 2007; 1158(1): 196-214.
- [10] Hashim DM, Man YB, Norakasha R, Shuhaimi M, Salmah Y, dan Syahariza ZA. Potential use of fourier transform infrared spectroscopy for differentiation of bovine and porcine gelatin. *Food chemistry*. 2010; 118(3): 856-860.
- [11] Amin MS. Pengkajian metode near infrared (NIR) untuk evaluasi mutu pakan ayam broiler secara cepat dan akurat. Bogor : IPB; 2011.
- [12] Stuart B. *Infrared spectroscopy: fundamental and applications*. Philadelphia: Saunders College Publishing; 2004.
- [13] GMIA. *Gelatin handbook*. USA: Gelatin Manufacture Institute of America; 2012.

- [14]Pusat Data dan Informasi Departemen Perindustrian dan Perdagangan. Data impor gelatin tahun 1999-2003. Jakarta; 2004.
- [15]Nemati M, Oveisi MR, Abdollahi H, Sabzevari O. Differentiation of bovine and porcine gelatin using principal component analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2004; 34: 485–492
- [16]Zhang GF, Liu T, Wang Q, Lei JD, Ma GH, and Su ZG. Identification of marker peptides in digested gelatins by high performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*. 2008; 36: 1499–504.
- [17]Rohman A., Sismindari, Erwanto Y, dan Che Man YB. Analysis of pork adulteration in beef meatball using fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Meat Science*. 2011; 88: 91-95.