

## WAR 41 DIFERENSIASI GELATIN ASAL HEWAN PADA PRODUK PERMEN JELLY KOMERSIL MENGGUNAKAN FTIR DAN KALIBRASI MULTIVARIAT

Sandra Hermanto<sup>\*1</sup>, Annisa Nurlely<sup>1</sup>, Rudi Heryanto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Kimia FST UIN Syarif Hidayatullah Jakarta

<sup>2</sup>Pusat Studi Biofarmaka, Institut Pertanian Bogor

Email : hermantokimia@uinjkt.ac.id

### ABSTRAK

Gelatin merupakan salah satu bahan tambahan pangan yang status kehalalannya perlu dicermati. Hal ini dimungkinkan karena masih banyaknya produsen pangan yang menggunakan gelatin impor yang belum jelas status kehalalannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode identifikasi sumber asal gelatin yang digunakan dalam permen jelly dengan menggunakan teknik FTIR dan analisis multivariat. Sampel permen buatan yang mengandung gelatin halal dan gelatin babi digunakan sebagai model untuk mengidentifikasi gelatin yang berasal dari permen jelly komersil. Gelatin diekstrak dengan menggunakan metode asam pikrat kemudian dianalisis dengan FTIR dan spektrum yang dihasilkan dievaluasi dengan analisis multivariat. Informasi spektrum FTIR (spektrum asli dan spektrum hasil proses optimasi dengan dan tanpa segmentasi) diolah dengan teknik kemometrika melalui metode analisis komponen utama (*principal component analysis*, PCA) dan proyeksi struktur laten (*partial least square*, PLS). PCA digunakan untuk mengelompokkan spektrum gelatin berdasarkan perbedaan asal hewan yang digunakan, sedangkan PLS digunakan untuk membangun model prediksi sumber asal gelatin. Berdasarkan hasil analisis PCA diperoleh total variasi 92% yang menggambarkan tingkat perbedaan masing-masing sumber asal gelatin. Pengelompokan dan pembentukan model prediksi sumber asal hewan gelatin yang cukup baik dihasilkan dari data spektrum hasil proses optimasi pada kisaran bilangan gelombang 3984-2686  $\text{cm}^{-1}$  dan 2027-410  $\text{cm}^{-1}$ . Model regresi PLS dari segmen menghasilkan validasi data yang cukup baik ( $r$  kalibrasi = 0.959,  $r$  validasi = 0.9456 RMSEC = 0.101053, RMSEP = 0.122845). Model ini juga dapat digunakan untuk memprediksi sumber asal gelatin pada produk permen komersil yang diduga mengandung gelatin babi berdasarkan kemiripan spektrumnya melalui pendekatan kalibrasi multivariat.

**Kata Kunci** : gelatin, FTIR, Kemometrika, PCA, PLS

### PENDAHULUAN

Penggunaan gelatin di bidang pangan diantaranya pada produk permen, coklat, serta produk hasil olahan susu telah banyak dilakukan karena fungsinya yang belum tergantikan dengan bahan yang lain. Penggunaan gelatin sebagai *confectionery agents* dimungkinkan karena sifatnya yang khas dan multifungsi (*emulsifier, texturizer, surface activity, gelling agent*) serta karakteristik molekulnya yang *thermoreversible* (Kareem and Bhat, 2008). Gelatin yang digunakan di pasaran umumnya diproduksi dari kulit sapi atau babi. Gelatin yang berasal dari kulit babi menempati urutan terbesar, yaitu 46%, kulit sapi 29,4%, tulang sapi 23,1%, dan sumber lainnya hanya 1,5% (GME, 2008) Penggunaan gelatin babi yang cukup dominan dimungkinkan karena sifatnya yang lebih stabil dan biaya produksi yang lebih ekonomis (menghasilkan lebih sedikit limbah dan waktu pre-treatment yang lebih cepat) dibandingkan dengan gelatin sapi. Pada tahun 2011 produksi gelatin dunia mencapai 300.000 ton dan

diperkirakan akan meningkat hingga 360.000 ton pada tahun 2015 (Yetim, 2011). Berdasarkan data ini dapat dilihat bahwa penggunaan bagian tubuh babi sebagai sumber gelatin merupakan hal yang harus diwaspadai.

Permen jelly termasuk permen lunak yang memiliki tekstur kenyal/elastis. Permen jelly merupakan permen yang teksturnya lebih lembut atau kenyal dan dimakan dengan cara mengunyahnya terlebih dahulu. Permen jenis ini terbuat dari campuran kristal-kristal sukrosa, sirup glukosa, air dan penambahan bahan pembentuk gel (*gelling agent*) yang dapat membentuk gel lunak dan meleleh pada saat dikunyah di mulut serta bahan tambahan seperti flavour dan zat pewarna. Bahan pembentuk gel yang biasanya digunakan adalah gelatin. Beberapa metode telah dilaporkan untuk membedakan sumber asal gelatin terutama yang berasal dari sapi dan babi. Hikada dan Liu (2002) membedakan gelatin sapi dan gelatin babi berdasarkan pengendapan kimia dengan kalsium fosfat. Kelemahan metode tersebut dibutuhkan banyak bahan kimia serta membutuhkan waktu yang cukup lama. Perbedaan gelatin sapi dan gelatin babi dapat juga dianalisis berdasarkan komposisi asam aminonya. Komposisi asam amino dari gelatin berbeda dari satu sumber yang lain tetapi selalu terdiri dari sejumlah besar glisin, prolin dan hidrosiprolin (Gilsenan, dan Ross-Murphy, 2000). Hafidz (2011) melakukan analisis komposisi asam amino dengan menggunakan HPLC dan juga dilanjutkan dengan menggunakan *Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrilamide Gel Electroforesis* (SDS-PAGE) untuk menentukan perbedasan profil polipeptida dari gelatin. Hermanto *et.al*, (2013) juga telah melakukan analisis gelatin murni dengan menggunakan SDS-PAGE yang dikombinasikan dengan metode spektroskopi (UV-Vis dan FTIR) melalui pendekatan hidrolisis enzimatis menggunakan pepsin. Namun demikian, dari semua metode di atas belum diaplikasikan pada sampel makanan yang mengandung gelatin.

Penggunaan metode FTIR yang dikombinasikan dengan kemometrika dalam menganalisis sumber asal gelatin sebelumnya telah dilakukan (Hasyim, *et.al.*, 2010) (Hiyatullah, 2013). Namun demikian aplikasinya dalam produk permen komersil yang mengandung gelatin belum menghasilkan data yang signifikan. Hal ini dikarenakan sampel yang dianalisis masih berupa senyawa murni. Oleh karena itu dalam penelitian ini akan dilakukan optimasi proses ekstraksi gelatin untuk memisahkan gelatin dari pengotor/zat lain yang ada di dalam sampel. Proses ekstraksi gelatin dilakukan dengan metode pengendapan asam pikrat dan pemisahan dengan metode oven.

FTIR adalah teknik analisis cepat, tepat dan alat ramah lingkungan yang memiliki potensi untuk membedakan spektrum antara dua sampel. Spektroskopi Fourier Transform infra merah (FTIR) telah terbukti menjadi teknik yang sangat berguna untuk menentukan berbagai pemalsuan produk makanan seperti lemak babi dalam kue dan coklat (Che Man *et al*, 2005), lemak babi dalam campuran lemak hewani (Syahariza *et al*, 2005). Penggabungan metode FTIR dengan kemometrika melalui pemodelan PCA dan PLS dapat memberikan gambaran umum dalam mengelompokkan profil gelatin sapi dan gelatin babi (Marlene Mörtzell and Mårten Gulliksson, 2001). Komponen Utama Analisis (PCA) dan Proyeksi Struktur Laten (PLS) adalah dua analisis multivariat yang dapat digunakan untuk analisis spektrum IR (Peiqiang Yu, 2005). Pemodelan dengan menggunakan PCA dan PLS juga sudah pernah digunakan untuk memprediksi kadar total flavonoid pada tempuyung (Rohaeti *et al*, 2006). Dari hasil analisis FTIR yang digabungkan dengan pengolahan data kemometri (PCA dan PLS) diharapkan akan diperoleh suatu model yang bisa digunakan untuk memprediksi sumber asal gelatin yang terdapat pada produk permen jelly komersil.

## METODE PENELITIAN

### Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah standar gelatin halal (Al-Amin Biotech), standar gelatin babi tipe A (No. Katalog G1393 Sigma Co.), plat KBr, asam pikrat jenuh, asam asetat 10%, gula, asam sitrat, agar-agar, aquades, Kalium Bromida (KBr) untuk spektroskopi dari Sigma–Aldrich (St Louis, USA). Sampel permen jelly yang digunakan adalah 3 jenis permen jelly dengan merk yang berbeda yang diperoleh dari supermarket di daerah Gading Serpong Kabupaten Tangerang. Peralatan yang akan digunakan dalam penelitian ini terdiri dari alat-alat gelas, pemanas, *thermometer*, gunting, lumpang, oven, *magnetic stirrer*, *Spektrofotometer FTIR Spectrum One Perkin Elmer USA*, dan Seperangkat komputer yang dilengkapi dengan sistem operasi Microsoft Windows XP Professional dan *software The Unscrambler versi 10.2* untuk analisis kemometri.

### Simulasi pembuatan Permen Jelly (model permen halal/non halal)

Simulasi permen jelly halal/non halal dibuat dengan cara mendidihkan campuran gula, air dan bahan pembentuk gel dengan komposisi sebagaimana terlihat pada Tabel 1. Campuran diaduk pada suhu 90-100°C, setelah merata ditambahkan asam sitrat, kemudian diaduk dengan perlahan lalu diangkat dan dituangkan ke dalam cetakan (pembentukan gel terjadi pada suhu 50 dan didinginkan pada suhu ruang selama 24 jam) (Muawanah *et al*, 2012). Untuk permen non halal digunakan standar gelatin babi (Sigma).

Tabel 1. Formulasi Pembuatan Permen Gelatin

Bahan	Jumlah
Gelatin	3 gr
Air	10 mL
Agar-Agar	100 mg
Asam sitrat	10 mg
Gula	3 gr

### Isolasi gelatin dari produk permen jelly komersil dan hasil simulasi

Sampel permen jelly yang terdiri dari permen jelly komersil (P1, P2, P3) serta permen jelly simulasi dari gelatin babi dan gelatin halal (GSB dan GSH) dipotong kecil-kecil sebanyak 15 gram kemudian dimasukkan ke gelas beacker 100 mL yang sudah diisi aquades sebanyak 10 mL. Kemudian campuran tersebut dipanaskan dengan *hot plate* pada suhu 37°C sambil diaduk sampai larut. Campuran gelatin tersebut kemudian ditambahkan 3 mL asam asetat 10% dan 30 mL asam pikrat jenuh. Selanjutnya campuran tersebut diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama 1 jam. Endapan yang didapat kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring. Selanjutnya endapan dicuci dengan menggunakan aquades sampai warna kuning menghilang kemudian dilakukan pengeringan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C (Ferris, 1996).

### Analisis Gelatin Dengan FTIR (Hasyim, *et.al*, 2010)

Sebanyak 2 mg gelatin (gelatin standar/gelatin hasil ekstraksi) dicampurkan dengan 200 mg KBr dihomogenisasi, lalu dibentuk pelet menggunakan *hand press* Shimadzu (tekanan 8 ton selama 10 menit). Pengukuran spektrum FTIR dilakukan pada daerah IR tengah (4000- 400  $\text{cm}^{-1}$ ) dengan melibatkan pengontrol kerja berupa personal komputer yang dilengkapi perangkat lunak OPUS versi 4.2. Spektrum dihasilkan dengan kecepatan 32 detik dan resolusi 4  $\text{cm}^{-1}$ . Hasil *scanning* data spektrum yang mengandung 1866 titik kemudian diolah nilai

absorbansinya dengan program Unscrambler X (Camo Inc.) yang dijalankan dengan sistem operasi Microsoft Windows XP Professional (Rohaeti *et al*, 2006).

### Pengelompokkan Sampel dengan PCA

Spektrum gelatin yang diperoleh dari hasil analisis FTIR diubah kedalam bentuk data tabel hubungan antara absorbansi dari tiap-tiap sampel (ekstrak gelatin dari permen hasil simulasi dari gelatin babi dan halal,serta permen komersil) dengan bilangan gelombang pada range pengukuran 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  yang digunakan untuk pemodelan PCA seperti yang terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Tabel hubungan antara absorbansi dari tiap-tiap sampel

Sampel	Bilangan Gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ )			
	1	2	3	dst
Sampel 1	A1	A2	A3	...
Sampel 2	A4	A4	A5	...
Sampel 3	A6	A7	A8	....
Dst	...	...	....	....

Data yang diolah dengan PCA adalah data absorbansi spektrum asli dan spektrum dengan proses pendahuluan (prapemrosesan) yang melibatkan seluruh fitur serapan maupun sebagian data serapan (sesuai daerah segmentasi spektrum). Proses pendahuluan dilakukan dengan cara penghalusan (*smoothing*) spektrum menggunakan metode *Savitsky Golay*, normalisasi (SNV) serta koreksi garis dasar (Darusman, *et al*, 2007). (Tabel 3)

Tabel 3. Perlakuan Spektrum FTIR pada *Software The Unscrambler* versi 10.2.

	Smoothing	Baseline	SNV (Standard Normal Variate)	Data Seluruh Bilangan Gelombang	Data Segmentasi ( $\text{cm}^{-1}$ ) Bilangan gelombang 2684-2028
Perlakuan (a)	–	–	–	√	–
Perlakuan (b)	√	√	√	√	–
Perlakuan (c)	√	√	√	–	√

Kalibrasi dan validasi model analisis multivariat dilakukan dengan teknik validasi silang. Keberhasilan pengelompokan gelatin dilihat pada jumlah komponen utama yang terlibat, total variasi yang terwakili (jumlah varians dari komponen utama satu ( $KU_1$ ) dan dua ( $KU_2$ ) lebih besar dari 70 %) dan visualisasi plot skor (pemisahan yang baik).

### Pembuatan Model Prediksi melalui Metode Regresi PLS

Hasil pemisahan yang paling baik dan jumlah varians komponen utama yang paling besar dari analisis PCA digunakan sebagai model prediksi sumber gelatin. Model kalibrasi multivariat dibuat dengan metode regresi PLS menggunakan *The Unscrambler* versi 10.2.

Pembentukan model prediksi gelatin halal dan non-halal dilakukan dengan melibatkan variabel  $x$  (hasil pengukuran FTIR) dan variabel  $y$  (data prediksi). Keakuratan model dapat dilihat pada nilai korelasi atau koefisien determinasi dan nilai kesalahan yang dihasilkan. Model dapat digunakan bila memiliki nilai kesalahan (*standar error calibration SEC*, *standar error of cross validation SECV* atau *standard error of prediction SEP*) rendah dan nilai korelasi atau koefisien determinasinya mendekati 1. (Rohaeti *et al*, 2006).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Ekstraksi gelatin

Proses ekstraksi dengan asam pikrat pada masing-masing sampel menghasilkan rendemen seperti pada tabel 4.

Tabel 4. Total rendemen ekstraksi gelatin dari permen jelly

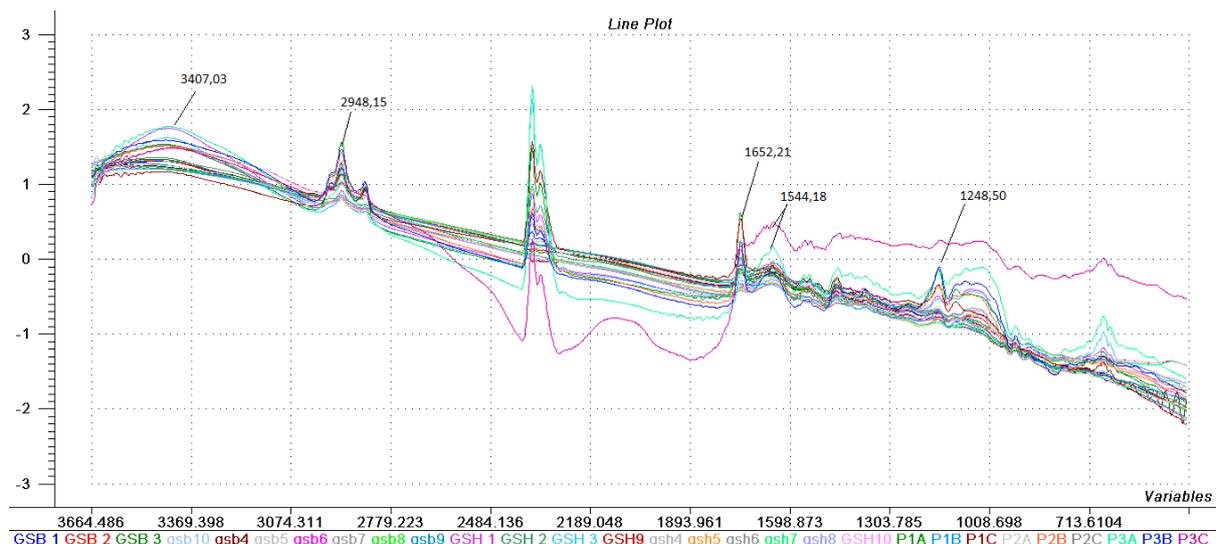
No	Sampel	Rendemen
1	P1	0,553 %
2	P2	0,4 %
3	P3	0,53 %
4	GSB	0,4%
5	GSH	0,8 %

Nilai rendemen gelatin hasil ekstraksi berkisar 0,4%-0,8% . Nilai rendemen terbesar terdapat pada ekstrak gelatin dari permen hasil simulasi dengan gelatin halal sebesar 0,8 % dan nilai rendemen terkecil terdapat pada sampel P2 dan ekstrak gelatin dari hasil simulasi dengan menggunakan gelatin babi sebesar 0,4%. Gelatin yang terekstraksi dari sampel permen hasil simulasi sebesar 0,12 gr dari 3 gr. Sehingga nilai recovery dari ekstrak gelatin sebesar 4%. Secara visual gelatin hasil ekstraksi memiliki warna yang relatif berbeda dengan gelatin standar. Hal ini kemungkinan karena masih danya beberapa senyawa pengotor yang tertinggal di dalam sampel.

Penambahan asam pikrat yang bersifat asam kuat mengakibatkan terdapat ion  $H^+$  yang berlebih, yang menunjukkan adanya kekeruhan dan adanya endapan lebih banyak. Penambahan asam asetat juga akan mengakibatkan terbentuknya endapan. Namun dikarenakan asam asetat merupakan tergolong dalam asam lemah sehingga endapan yang dihasilkan jumlahnya sedikit.

### Spektrum FTIR Ekstrak Gelatin

Analisis perbedaaan sumber asal gelatin ditentukan melalui kombinasi analisis spektroskopi FTIR dan kemometri. Analisis gugus fungsional dan profil struktur sekunder dari gelatin dilakukan dengan alat FTIR dimana scanning sampel dilakukan pada daerah IR sedang ( $400-450\text{ cm}^{-1}$ ). Spektrum IR yang dihasilkan merupakan serapan dari berbagai komponen kimia yang terdapat dalam ekstrak gelatin. Berdasarkan hasil scanning masing-masing ekstrak gelatin terlihat bahwa srapan IR pada masing-masing sampel tidak berbeda secara visual (Gambar 1). Puncak-puncak serapan gelatin berada pada daerah bilangan gelombang yang hampir identik, namun absorbansi pada masing-masing bilangan gelombang secara kuantitatif relatif berbeda.



Gambar 1. Spektra FTIR kelima sampel dengan menggunakan The Unscrambler X.2

Puncak yang pertama terdapat pada bilangan gelombang  $3407,03 \text{ cm}^{-1}$  yang diduga merupakan stretching gugus fungsi N-H. Menurut Jeevithan, *et al* (2014) puncak pada bilangan gelombang tersebut merupakan puncak Amida-A yang dikaitkan dengan N-H stretching ditambah dengan ikatan hidrogen dari gugus karbonil dalam rantai peptida. Hal tersebut juga di dukung oleh Hashim, *et al.* (2010), yang menyatakan daerah Amida A berada di daerah bilangan gelombang  $3600\text{-}2300 \text{ cm}^{-1}$ . Puncak yang kedua terdapat pada bilangan gelombang  $2948,15 \text{ cm}^{-1}$  yang diduga merupakan gugus fungsi C-H. Menurut Jeevithan,*et al* (2014) puncak tersebut merupakan puncak Amida-B yang dikaitkan dengan getaran peregangan asimetris alkanil C-H serta  $\text{NH}_3^+$ .

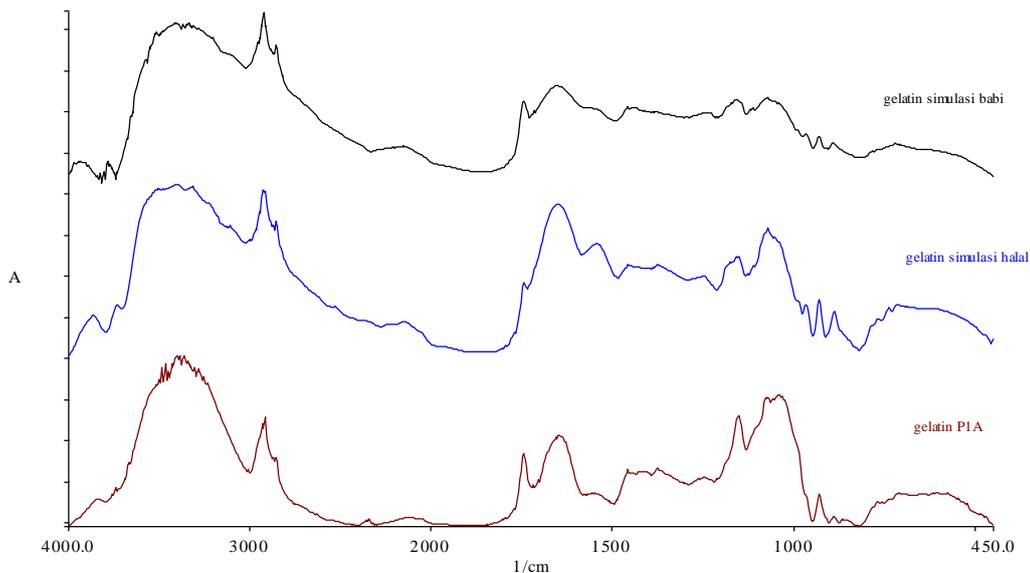
Puncak ketiga diamati di bilangan gelombang  $1652,21 \text{ cm}^{-1}$ . Puncak pada bilangan gelombang tersebut merupakan mode vibrasi amida-I disebabkan oleh peregangan  $\text{C} = \text{O}$  yang ada keterkaitan dengan ikatan peptida (Jeevithan, *et al* 2014). Hal tersebut juga di dukung oleh Nurhayati, *et al* (2012) yang menyatakan daerah Amida-I berada pada daerah bilangan gelombang  $1659 \text{ cm}^{-1}$ . Pergeseran bilangan gelombang dari bilangan gelombang  $1657,77 \text{ cm}^{-1}$  ke bilangan gelombang  $1652,21 \text{ cm}^{-1}$ , atau pergeseran dari puncak amida-I ke bilangan gelombang yang lebih rendah dikaitkan dengan struktur melingkar dari gelatin yang dihasilkan dari denaturasi panas selama proses ekstraksi.

Puncak keempat diamati pada daerah  $1544,18 \text{ cm}^{-1}$  yang di duga merupakan daerah Amida-II. Menurut Jeevithan, *et al* (2014) mode getaran amida-II dikaitkan dengan N-H bending dan peregangan getaran C-N. Intensitas puncak amida dikaitkan dengan struktur triple heliks kolagen. Menurut Hashim, *et al* (2010) bilangan gelombang daerah Amida-II berada pada range  $1560 \text{ cm}^{-1} - 1335 \text{ cm}^{-1}$ . Pada bilangan gelombang amida tersebut pada gelatin melalui proses pemanasan memiliki intensitas yang lebih rendah dibandingkan dengan standar gelatin tanpa proses pemanasan, hal tersebut dikarenakan hilangnya struktur triple helix dari struktur kolagen selama proses ekstraksi gelatin (Jeevithan *et al*, 2014).

Puncak kelima diamati diamati pada bilangan gelombang  $1248,50 \text{ cm}^{-1}$  yang diduga merupakan pita daerah Amida-III yang terdapat ikatan gugus N-H . Menurut Jeevithan, *et al* (2014) daerah Amida-III berada pada bilangan gelombang  $1237,81 \text{ cm}^{-1}$  dan menurut

Nurhayati, *et al* (2012) daerah Amida-III berada didaerah bilangan gelombang  $1242\text{ cm}^{-1}$ . Pada bilangan gelombang tersebut menunjukkan adanya denaturasi kolagen untuk gelatin. Sebuah intensitas yang sangat rendah pada wilayah Amida III terkait dengan hilangnya struktur triple helix selama suhu tinggi ekstraksi gelatin (Muyonga *et al.*, 2004).

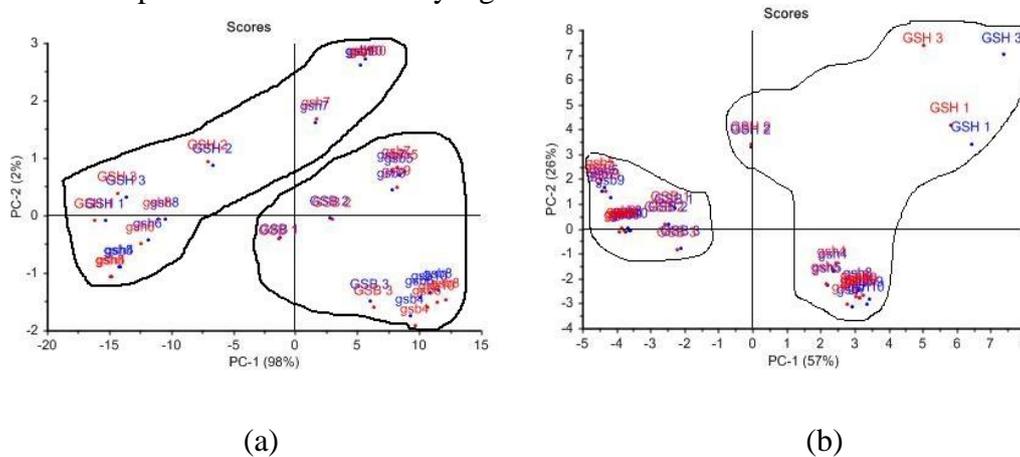
Spektrum FTIR hasil ekstraksi gelatin dari masing-masing sampel permen komersil memiliki spektrum yang hampir sama dengan spektrum FTIR gelatin dari permen buatan (simulasi) seperti yang terlihat pada Gambar 2. Hal tersebut dimungkinkan karena adanya proses pengolahan permen jelly yang juga menggunakan pemanasan sehingga menyebabkan perubahan struktur gelatin di dalamnya (Martianingsih & Lukman, 2009).

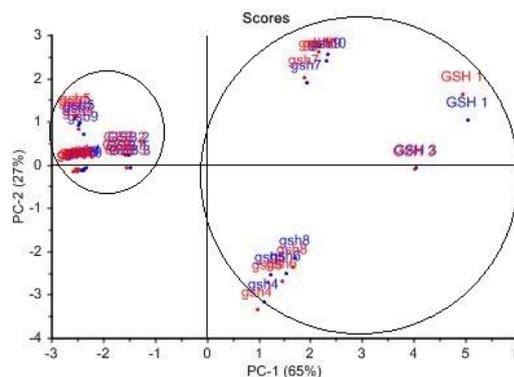


Gambar 2. Spektrum FTIR gelatin hasil simulasi dengan sampel permen (P1A)

### Pengelompokkan Data Spektrum dengan PCA

Analisis PCA 2 *score plot* dibuat menggunakan nilai komponen utama pertama (KU 1) dan komponen utama kedua (KU 2). Menurut Brereton 2003, *score plot* dengan menggunakan dua buah KU yang pertama biasanya paling berguna karena kedua KU ini menggambarkan varians yang terbesar dari data. Hal ini mengindikasikan bahwa hanya dengan dua KU pertama sudah dapat dibuat model PCA yang terbaik.





(c)

Gambar 3. *Score Plot* PCA (a) Spektra Gelatin (Tanpa prapemrosesan), (b) Spektra dengan Prapemrosesan (Data Seluruh Bilangan Gelombang), (c) Spektra dengan Prapemrosesan dan Segmentasi 2684-2028  $\text{cm}^{-1}$ ,

Hasil analisis PCA dengan menggunakan mode *score plot* diperoleh gelatin babi hasil ekstrak simulasi menempati kuadran I dan kuadran IV, sedangkan gelatin halal dari hasil ekstrak simulasi menempati kuadran II dan kuadran III (Gambar 3b). Teknik prapemrosesan ini dapat meningkatkan kemampuan PCA untuk mengelompokkan sampel tanpa kehilangan informasi yang besar dengan total variasi yang diperoleh adalah 83 %. Selain menggunakan seluruh data absorbans spektrum IR ekstrak gelatin, analisis PCA juga dilakukan terhadap spektrum pada kisaran bilangan gelombang tertentu pada spektrum dengan proses pendahuluan yang disebut dengan segmentasi. Segmentasi ini dilakukan untuk melihat keberadaan konstituen-konstituen kunci yang berperan secara signifikan dalam analisis kemometrika. Berdasarkan hasil analisis PCA dengan segmentasi, pengelompokkan antara gelatin babi dan gelatin sapi menjadi lebih baik bila dibandingkan dengan hanya menggunakan prapemrosesan saja seperti yang terlihat pada gambar 3c.

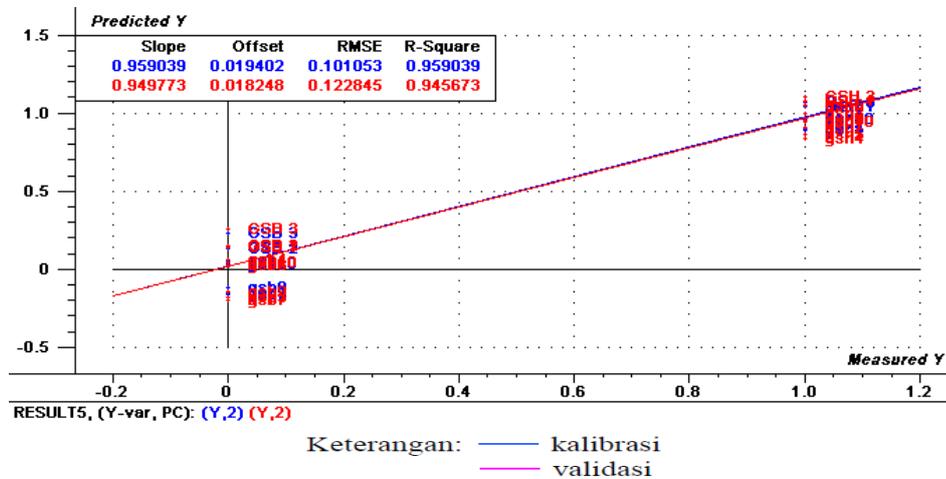
Pengelompokkan ekstrak gelatin tampak dengan jelas pada plot skor dua dimensi data segmentasi dengan total variasi 92%. Hal ini dapat terjadi karena proses pendahuluan menyebabkan karakter khas dari spektrum menjadi lebih terkuantisasi sehingga faktor-faktor penciri menjadi semakin spesifik. Spesifikasi ini ditandai dengan meningkatnya jumlah komponen utama yang terlibat. Hasil analisis PCA dikatakan baik bila dengan jumlah komponen utama yang sedikit mampu menggambarkan total variasi yang banyak.

### **Kalibrasi Model Prediksi Gelatin Halal dan Gelatin Babi**

Pemisahan yang paling baik dan total variasi yang paling tinggi dari analisis PCA digunakan sebagai model PLS. Hasil dari *score plot* pada gambar 3c yang akan digunakan untuk kalibrasi model prediksi. Pengelompokkan sampel dengan PLS dilakukan terhadap 2 matriks, yaitu data absorbansi hasil analisis FTIR sebagai matriks X dan matriks respon untuk setiap sampel sebagai matriks Y. Respon 1 untuk sampel anggota kelompok (gelatin halal) dan 0 untuk sampel bukan anggota kelompok (gelatin babi).

Keabsahan model yang terbentuk diuji dengan validasi silang. Validasi silang digunakan untuk menentukan seberapa kuat model prediksi yang dibuat untuk dapat diimplementasikan (Naes, *et.al.* 2002). Teknik yang dipakai dalam penelitian ini adalah *Leave One Out*, yaitu dengan cara nilai sampel pertama dikeluarkan dari serangkaian data dan nilai sampel sisanya digunakan untuk membuat persamaan terprediksi, lalu sampel yang pertama diujikan pada

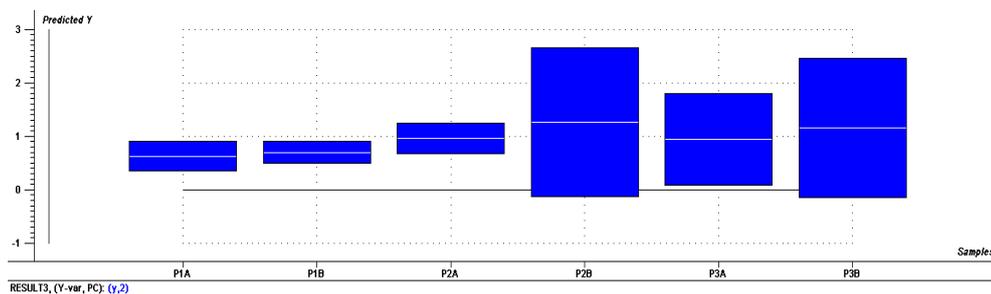
persamaan terprediksi yang baru dan diperoleh nilai terprediksi untuk sampel pertama. Nilai terprediksi diperoleh untuk seluruh nilai sampel yang ada, kemudian didapat selisih dari nilai sampel sebenarnya dengan nilai terprediksi untuk tiap sampel. (Miller dan Miller, 2010).



Gambar 4. Model kalibrasi dan prediksi menggunakan PLS

Hasil analisis PLS menunjukkan bahwa nilai  $r$  kalibrasi (0,959) dengan nilai yang lebih tinggi dibandingkan nilai  $r$  validasi (0,945) (Gambar 4), serta memiliki nilai RMSEP lebih besar dari RMSEC, hal tersebut menunjukkan bahwa model tidak mengalami *Overfitting*. *Overfitting* adalah suatu keadaan di mana jumlah parameter yang masuk ke dalam model terlalu besar dibandingkan dengan ukuran data yang digunakan untuk membangun model. (Naes *et al.* 2002).

Model kalibrasi yang dihasilkan pada Gambar 4 sangat baik karena  $R^2$  mendekati 1, dan RMSE (*Root Mean Square Error*) mendekati 0. Hal tersebut karena model regresi yang baik dapat dilihat dari nilai  $R^2$ , RMSE, dan kemiringan garis regresi pada hasil kalibrasi dan prediksi. Model regresi semakin bagus jika nilai  $R^2$  besar, RMSE kecil, dan kemiringan garis (*slope*) mendekati 1 ( $45^\circ$ ) Serta nilai  $R^2$  dari kalibrasi dan validasi silang tidak berjauhan. Maka dari itu model PLS dengan nilai tersebut dapat digunakan sebagai prediksi untuk sampel yang belum diketahui asal gelatinnya. (Naes *et al.* 2002).



Gambar 5. Nilai prediksi sampel.

Hasil analisis prediksi pada model PLS gelatin telah dikalibrasi sebelum diaplikasikan pada produk permen komersil (Gambar 4). Hasil analisis PLS diperoleh bahwa sampel permen yang ada dipasaran memiliki nilai prediksi mendekati 1 atau lebih dari 0,5 (mendekati nilai referensi gelatin halal) (Gambar 5). Nilai tersebut menandakan bahwa gelatin yang digunakan dalam proses produksi diduga merupakan gelatin halal. Nilai referensi adalah nilai yang digunakan sebagai respon untuk membangun model. Nilai referensi yang digunakan

merupakan Y matriks yang terdiri dari variabel kategoris buatan atau fiktif (dummy). Variabel tersebut dibuat dengan menetapkan nilai 0 untuk sampel dari kategori A (gelatin non halal) dan nilai 1 untuk sampel kategori B (Gelatin halal) (Piazolla *et al*, 2013).

## **KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan :

1. Metode kombinasi FTIR dan kemometrik mampu membedakan sumber asal gelatin pada produk permen jelly komersil dengan tingkat perbedaan yang cukup signifikan.
2. Melalui pendekatan model regresi dan prediksi PLS diperoleh informasi bahwa semua ekstrak gelatin yang terdapat pada sampel permen jelly komersil diduga mengandung gelatin yang bersumber dari gelatin halal dengan nilai prediksi yang mendekati 1 dengan nilai  $r$  kalibrasi = 0.959,  $r$  validasi = 0.9456 RMSEC = 0.101053, RMSEP = 0.122845.

## DAFTAR PUSTAKA

- Che Man, Y.B., Syahariza, Z.A., Mirghani, M.E.S., Selamat, J., dan Bakar, J. 2005. Analysis Of Potential Lard Adulteration In Chocolate And Chocolate Products Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Food Chemistry*. 90:815–819.
- Darusman, L.K., Heryanto, R., Rafi, M., dan Wahyuni, T. 2007. Potensi Daerah Sidik Jari Spektrum Inframerah Sebagai Penanda Bioaktivitas Ekstrak Tanaman Obat. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 12:154-162.
- Ferris, L.W. 1996. A Method For The Determination Of Amino Nitrogen And Ammonia In Cream And Butter. *Food Control Laboratory, Bureau of Chemistry, United States Department of Agriculture*
- Gelatine Manufactures of Europe (GME) 2008. Gelatin Market Data 2005. <http://www.gelatine.org/en/gelatine/overview/127.htm>. diakses 23 oktober 2014
- Gilsenan, P.M., dan Ross-Murphy, S.B. 2000. Rheological Characterisation of Gelatins from Mammalian and Marine Sources. *Food Hydrocolloids*. 143: 191-195.
- Hafidz, R.M.R. N., Yaakob, C.M., Amin, I. dan Noorfaizan, A. 2011. Chemical and functional properties of bovine and porcine skin gelatin. *International Food Research Journal*. 18: 813-817.
- Hashim, D.M., Che Man, Y.B., Norakasha, R., Shuhaimi, M., salmah, Y., dan Syahariza, Z.A. 2010. Potential Use Of Fourier Transform Infrared Spectroscopy For Differentiation Of Bovine And Porcine Gelatins. *Food Chemistry*. 118: 856-860.
- Hermanto, Sandra., Sumarlin, La Ode., dan Fatimah, W. 2013. Differentiation of Bovine and Porcine Gelatin Based on Spectroscopic and Electrophoretic Analysis. *J.Food Pharm.Sci*. 1: 68-73.
- Hidaka, S., dan S, Y.Liu. 2002 Effects Of Gelatins On Calcium Phosphate Precipitation: A Possible Application For Distinguishing Bovine Bone Gelatin From Porcine Skin Gelatin. *Journal of Food Composition and Analysis*. 16: 477–483.
- Hidayatullah, F. 2014. *Analisis Sumber Asal Gelatin dalam Produk Pangan Komersil melalui Kombinasi Metode FTIR-Kemometri*. [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta
- Jeevithan, E., Bao, B., Yongshi, B. Zhou, Y., Zhao, Q. dan Wu, W. 2014. Type II Collagen and Gelatin from Silvertip Shark (*Carcharhinus albimarginatus*) Cartilage: Isolation, Purification, Physicochemical and Antioxidant Properties. *Marine Drugs*. 12:, 3852-3873.
- Karim, A.A. Bhat, R. 2008. Gelatin alternatives for the food industry : recent developments, challenges and prospects. *Trends in Food Science & Technology* 19 (2008) 644-656.
- Miller, J.N., dan Miller, J.C. 2005. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*. Inggris : Pearson Education Limited.
- Montero, P., dan M.C.Gomez-Guillen. 2000. Extracting Condition for Mergin (*Lepidorhombus boscii*) Skin Collagen Affect Functionoal Properties of Resulting Collagen. *Journal of Food science*. 55(2):1 –5.
- Mörtl, M., dan Gulliksson, M. 2001. *An overview of some non-linear techniques in Chemometrics*. Sweden: Mid-Sweden University.
- Muawanah, A., Djayanegara, I, Sa'duddin, A., Sukandar, D., dan Radiastuti, N. 2012. Penggunaan Bunga Kecombrang (*Ecliptera Elatior*) Dalam Proses Formulasi Permen Jelly. *Jurnal valensi*. Vol. 2 (4): 526-533.
- Muyonga, J.H., Cole, C.G.B., dan Duodu, K.G. 2004. Extraction And Physicochemical Characterization Of Nile Perch (*Lates Niloticus*) Skin And Bone Gelatin. *Food Hydrocolloids*, 18:581–592.
- Naes, T., Isaksson, T., Fearn, T., dan Davies, T. 2002. *A User-Friendly Guide to Multivariate Calibration and Classification*. Chichester (UK): NIR Publications.

- Nurhayati., Tazwir., dan Murniyati. 2012. Ekstraksi dan Karakterisasi Kolagen Larut Asam Dari Kulit Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*).
- Peiqiang,yu. 2005. Applications of Hierarchical Cluster Analysis (CLA) and Principal Component Analysis (PCA) in Feed Structure and Feed Molecular Chemistry Research, Using Synchrotron-Based Fourier Transform Infrared (FTIR) Microspectroscopy. *J. Agric. Food Chem.*, 53: 7115-7127.
- Piazola,Francesca., Amodio,M.L., dan Colelli,G. 2013. The Use Of Hyperspectral Imaging In The Visible And Near Infrared Region To Discriminate Between Table Grapes Harvested At Different Times. *Journal of Agricultural Engineering*.
- Rohaeti,E., Heryanto,R., Rafi,M., dan Wahyuningrum,A. 2006. Prediksi Kadar Flavonoid Total Tempuyung (*Sonchus Arvensis* L.) Menggunakan Kombinasi Spektroskopi Ir Dengan Regresi Kuadrat Terkecil Parsial.
- Syahriza,Z.A., Che Man, Y.B., Selamat, J., dan Bakar, J. 2005. Detection of Lard Adulteration in Cake Formulation by Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. *Food Chemistry*. 92:365-37.
- Yetim,H. 2011. *International Journal of Health and Nutrition*.Turki. Department of Medical Biochemistry.