

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI GELATIN DARI KULIT IKAN LELE
(*Clarias gariepinus*) DAN TULANG IKAN GURAME (*Osphronemus gourami*, Lac)
SEBAGAI LIMBAH**

Lilis Tuslinah, Winda Trisna Wulandari dan Ruswanto

Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada, Tasikmalaya
Email: lilistuslinah@yahoo.com

ABSTRAK

Gelatin merupakan suatu zat yang diperoleh melalui hidrolisis parsial kolagen dari kulit, jaringan ikat putih dan tulang hewan. Pada penelitian ini dilakukan isolasi, karakterisasi dan uji mutu gelatin dari kulit ikan lele (*Clarias gariepinus*) dan tulang ikan gurame (*Osphronemus gourami*, Lac) yang merupakan limbah dalam suasana asam untuk proses hidrolisis kolagen. Hasil karakterisasi dengan FTIR menunjukkan spektrum gelatin hasil isolasi dengan gelatin pembanding memberikan spektrum yang hampir sama, yaitu masing-masing memiliki serapan pada daerah bilangan gelombang 1653 cm^{-1} dan $1651,07\text{ cm}^{-1}$ merupakan gugus C=O pada amida yang menunjukkan rantai α -helix sebagai struktur khas dari gelatin serta memiliki pola spektrum yang sama pada daerah sidik jarinya. Berdasarkan uji mutu gelatin yang diperoleh dari kulit ikan lele dan tulang ikan gurame adalah masing-masing rendemen 4,23% dan 4,33%; kadar abu 0,02% dan 1,56%; susut pengeringan 6,79% dan 12,39%; derajat keasaman 6,70 dan 6,03 serta kadar gelatin 48,51% dan 57,46% memenuhi syarat Standar Nasional Indonesia (SNI) 1995, sehingga limbah ini bias dijadikan sumber gelatin.

Kata Kunci : Gelatin, kolagen, kulit ikan lele, tulang ikan gurame

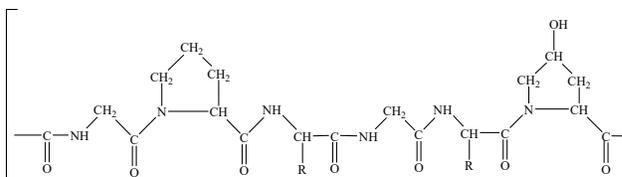
ABSTRACT

Gelatin is a substance obtained through partial hydrolysis of collagen from the skin, white connective tissue and animal bones. This study was aim to isolated, characterized and tested the quality of gelatin from catfish skin (*Clarias gariepinus*) and gurame fishbone (*Osphronemus gourami*, Lac) which are wastes in an acidic atmosphere for the process of collagen hydrolysis. The FTIR characterization results showed that the spectrum of gelatin isolated from catfish skin and gurame fishbone has almost the same spectrum compared to gelatin standard, which each had absorption in the wave number region 1653 cm^{-1} and 1651.07 cm^{-1} which was C = O of amide group indicating the α -helix as a typical structure of gelatin and has the same spectrum pattern in the fingerprint area. Catfish skin's gelatin and gurame fishbone's gelatin quality test results were 4.23% and 4.33% for their rendemen; 0.02% and 1.56% ash content; 6.79% and 12.39% drying losses; 6.70 and 6.03 acidity degrees and 48.51% and 57.46% gelatin levels. The results were met the requirements of the 1995 Indonesian National Standard (SNI), so catfish skin and gurame fishbone (considered waste) could be used as sources of gelatin.

Keywords : catfish skin, collagen, gelatin, gurame fishbone

PENDAHULUAN

Gelatin adalah suatu zat yang diperoleh dari hidrolisis parsial kolagen dari kulit, jaringan ikat putih dan tulang hewan. Gelatin merupakan protein berbobot molekul tinggi yang tersusun dari berbagai asam amino yang saling terikat melalui ikatan peptida (Rohman, 2012). Susunan asam amino dari gelatin berupa Gly-X-Y dimana X umumnya asam amino prolin dan Y umumnya adalah asam amino hidroksiprolin.



Gambar 1. Struktur kimia gelatin

(Grobben dalam Junianto, 2006).

Kolagen terdapat di tulang, kulit, tulang rawan, dan merupakan struktur protein tubuh yang utama. Asam amino utama dalam kolagen adalah glisin, prolin dan hidroksiprolin, semuanya mencegah pembentukan struktur α -heliks. Tiga rantai polipeptida saling membungkus satu sama lain membentuk *triple helix*, sehingga menyerupai jalinan tambang yang disatukan oleh ikatan hidrogen, struktur ini mempunyai daya ketahanan yang tinggi dan menyebabkan kolagen tidak larut dalam air (Lean, 2013).

Gelatin larut dalam air di atas suhu 40°C, membentuk larutan koloid dan berubah menjadi gel pada pendinginan di suhu 30-40°C. Sistem sol-gel ini bersifat tiksotropik dan *reversible*. Di dalam air, gelatin mengembang dan melunak, secara bertahap menyerap antara 5 sampai 10 kali dari berat air. Gelatin tidak larut dalam aseton, kloroform, eter, etanol 95% dan metanol, tetapi larut dalam gliserin, asam dan basa, meskipun dalam asam kuat atau basa kuat menyebabkan pengendapan (Rowe *et al.*, 2009).

Penggunaan gelatin cukup luas dalam berbagai bidang, salah satu yang paling banyak dimanfaatkan adalah di bidang farmasi yaitu sebagai bahan pembuatan kapsul, bahan pengikat pada proses pembuatan tablet, bahan salut pada pembuatan tablet salut, media tumbuh bakteri, bahan untuk sediaan suppositoria, emulsi, dan mikroenkapsulasi. Selain itu, digunakan juga dalam industri makanan, industri kosmetika dan fotografi (GMIA, 2012).

Data Badan Pusat Statistik menyebutkan bahwa Indonesia mengimpor gelatin dari Perancis, Jepang, India, Brazil, Jerman, Cina, Argentina, dan Australia sekitar 2.000-3.000

ton per tahun. Pada tahun 2009 sebesar 3.124.255 kg dengan nilai impor 16.741.918 dolar AS sedangkan pada tahun 2014 nilai impor mencapai 31.922.700 dolar AS (Kemenperin RI, 2014).

Gelatin yang beredar di pasaran umumnya berasal dari hidrolisis kolagen tulang sapi, kulit sapi, dan kulit babi (Rohman, 2012). Pemanfaatan gelatin dari mamalia tersebut masih banyak menemui kendala diantaranya mengenai kepercayaan yang dianut oleh konsumen. Umat Islam dilarang mengkonsumsi bahan-bahan yang berasal dari babi, sedangkan umat Hindu dilarang mengkonsumsi sapi. Sebagian konsumen juga khawatir mengkonsumsi limbah sapi karena adanya penyakit sapi gila (*mad cow disease*), penyakit mulut dan kuku (*foot and mouth*), dan *Bovine Spongiform Encephalopathy* (BSE) (Peranginangin, 2007).

Mengingat kebutuhan gelatin yang cukup besar, untuk mengatasi kendala tersebut salah satu alternatifnya adalah mencari sumber gelatin yang halal, sehingga dimanfaatkan limbah kulit ikan lele dan tulang ikan gurame. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, kulit ikan lele mengandung protein sebesar 17,98%. Kandungan protein

tersebut menggambarkan tingginya kandungan kolagen pada kulit ikan lele. Selain itu, kandungan lemak pada kulit ikan lele cukup tinggi pula yakni sebesar 6,65%. Dengan demikian, perlu dilakukan *pretreatment* yang efisien untuk menghilangkan lemak pada bahan baku (Alfaro *et al.*, 2014). Tulang merupakan jaringan keras dalam tubuh yang terdiri dari dua tipe jaringan yaitu jaringan kompak dan bunga karang mengandung kolagen dalam jumlah yang hampir sama. Warna tulang segar adalah putih kekuningan dan bila direbus akan menjadi putih bersih. Tulang terdiri dari bahan organik dan anorganik sebagian besar bahan anorganik, seperti : kalsium fosfat dan kalsium karbonat. Sedangkan sisanya adalah logam-logam seperti Mg, K, F, Cl. Bahan-bahan anorganik dalam tulang berfungsi untuk memberikan kekerasan pada struktur tulang (Ward, 1997).

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: kulit ikan lele, tulang ikan gurame, gelatin standar, asam klorida, natrium hidroksida, pereaksi Bradford dan aquadest.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian diantaranya: Spektrofotometer FTIR Shimadzu, Spektrofotometer UV-Vis Genesys 10S, Timbangan Analitik Metler Toledo, *Hot Plate Magnetic Stirrer* IKA C-MAG HS 7, Tanur FHP-03 Daihan, Oven Memmert, pH Meter Metler Toledo, pH Indikator Universal Merck, Viskometer Brookfield RVDV-1, Mikropipet, Pump Pipet, Pipet Volume, Desikator, alat-alat gelas lain digunakan di laboratorium.

Prosedur Penelitian

Isolasi Gelatin

Degreasing

Kulit ikan lele dibersihkan dari sisa daging dan tulang serta bagian lain yang mengandung lemak dengan merendam dalam air dengan suhu 80°C selama 1-2 menit lalu ditiriskan. Kemudian kulit dipotong ukuran 3x3 cm dan dibersihkan dengan air mengalir. Tulang ikan dibersihkan dari sisa daging ikan yang masih menepel, dipotong menjadi bagian yang lebih kecil, kemudian dibersihkan dengan air mengalir.

Demineralisasi

Kulit ikan lele direndam dalam larutan HCl pada kondisi pH 3 dalam wadah tahan asam

selama 12 jam, sedangkan tulang ikan gurame direndam dalam HCl pH 2 selama 24 jam untuk untuk menghilangkan mineralnya.

Hidrolisis

Kulit ikan lele dan tulang ikan gurame dihidrolisis menggunakan larutan HCl pH 2 selama 24 jam. Kemudian dinetralkan sampai pH 7.

Ekstraksi

Pada hasil hidrolisis ditambah aquadest dan diekstraksi pada suhu 50- 60°C selama 4 jam hingga residunya tidak mengandung lagi gelatin. Ekstraknya disaring dan filtratnya ditampung kemudian didinginkan di lemari pendingin hingga terbentuk gelatin.

Pengeringan

Gelatin dimasukkan ke dalam cawan lalu dioven pada suhu 40°C selama 24 jam

Karakterisasi Gelatin

Gugus fungsi gelatin dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer FTIR metode pelet KBr.

Penetapan Kadar Sampel

Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Dari larutan standar dipipet sebesar 0,1mL dan di add 5ml dengan reagen Bradford.

Kemudian divortek selama 5 menit, lalu absorbansi diukur pada rentang panjang gelombang 400-800nm.

Pembuatan Kurva Kalibrasi

Larutan standar dibuat deret konsentrasi yaitu 10ppm, 20ppm, 30ppm, 40ppm, 50ppm, 60ppm dan 70ppm. Dari masing-masing larutan diambil 0,1ml kemudian add 5ml dengan reagen Bradford dan divortek selama 5 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal yang diperoleh, kemudian dibuat kurva kalibrasinya.

Penetapan Kadar Gelatin

Gelatin yang diperoleh dari kulit ikan lele ditimbang sebanyak 50mg kemudian dilarutkan dalam 10ml aquadest pada suhu 60-70°C, lalu dipipet sebanyak 0,1ml add 5ml dengan reagen Bradford dan divortek selama 5 menit. Absorbansinya dibaca dan dihitung kadarnya dengan persamaan hasil kurva kalibrasi larutan gelatin standar.

Uji Kualitas Gelatin

Rendemen

Nilai rendemen diambil dari berat kulit ikan segar yang telah dibersihkan dan berat gelatin kering. Nilai rendemen dapat dihitung dengan persamaan:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat kering gelatin}}{\text{Berat kulit}} \times 100\%$$

Kadar Abu

Krus kosong dimasukkan ke dalam oven, kemudian dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit untuk menghilangkan kandungan air atau lemak yang menempel pada krus, lalu krus ditimbang sampai beratnya konstan. Sampel yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam krus, kemudian ditimbang. Krus yang berisi sampel dimasukkan ke dalam tanur, dipijarkan perlahan dan dinaikan suhunya bertahap dari 200°C, 400°C sampai 600°C hingga menjadi abu, kemudian ditimbang dan dihitung sebagai kadar abu total (BPOM, 2001).

$$\text{Kadar abu total (\%)} = \frac{\text{berat abu}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

Derajat Keasaman

Gelatin dilarutkan dalam aquadest sampai benar-benar larut kemudian dibaca derajat keasamannya dengan menggunakan pH meter (BPOM, 2001).

Susut Pengerinan

Botol timbang yang sudah bersih, dioven pada suhu 105°C selama 30 menit untuk menghilangkan air yang masih menempel pada botol timbang. Kemudian dimasukkan ke

dalam desikator dan didinginkan, lalu ditimbang sampai beratnya konstan. Sampel dimasukkan ke dalam botol timbang, kemudian dioven pada suhu 105°C selama 30 menit. Lalu didinginkan ke dalam desikator dan ditimbang sampai beratnya konstan.

$$\text{Susut Pengeringan (\%)} = \frac{a - b}{a} \times 100\%$$

Ket: a = berat gelatin awal

b = berat gelatin akhir

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi

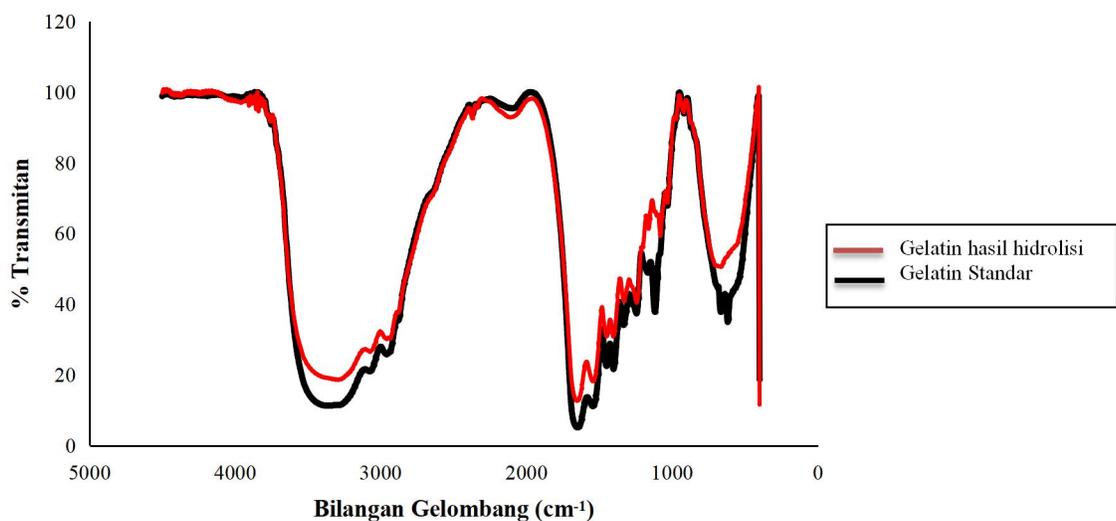
Penambahan asam untuk proses demineralisasi pada tulang ikan gurame dilakukan pada pH yang lebih asam dengan waktu yang lebih lama karena tulang ikan lebih banyak mengandung mineral dibandingkan dengan kulit ikan lele. Proses demineralisasi tujuannya untuk

menghilangkan mineral-mineral yang terdapat dalam bahan sehingga dapat meminimalisir kadar abu. Jika kadar mineralnya tinggi dapat meningkatkan proses oksidasi sehingga gelatin mempengaruhi kualitas gelatin.

Hidrolisis

Pada proses hidrolisis terjadi pemendekan rantai polipeptida kolagen yang berbentuk *triple helix* mengalami pemutusan menjadi rantai tunggal akibat adanya interaksi ion H⁺ dari larutan asam dengan kolagen.

Ekstraksi gelatin dilakukan pada suhu 50-60°C karena gelatin larut dalam suhu tersebut. Proses pemisahan gelatin dilakukan dengan cara filtrasi dalam kondisi larutan masih panas



Gambar 2. Spektrum IR Gelatin

Karakterisasi gugus fungsi

Berdasarkan spektrum menunjukkan puncak pada daerah serapan rentang 3500 – 3100 cm^{-1} adanya vibrasi ulur dari N-H yaitu pada bilangan gelombang 3331,07 cm^{-1} . Puncak serapan ini disebabkan oleh adanya ikatan regangan N-H dari gugus amida yang berasosiasi dengan ikatan hidrogen dan adanya gugus hidroksil. Bentuk puncak yang melebar merupakan bukti adanya gugus OH dari hidroksiprolin. Bilangan gelombang 3074,53 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus OH dalam asam karboksilat ditunjukkan pada daerah serapan 3400 – 2400 cm^{-1} . Pada bilangan gelombang 2937,59 cm^{-1} yang termasuk rentang daerah serapan 3000 – 2850 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-H dalam alkana. Puncak serapan pada panjang gelombang 1690 – 1600 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=O pada amida, gugus tersebut muncul berdasarkan gugus dari asam amino yang terdapat dalam gelatin (Harmita, 2015). Pada daerah serapan ini pula menunjukkan adanya rantai α -*helix*, juga merupakan daerah serapan residu imida dari struktur *random coil* dan residu imida dari struktur β -*sheet* yang merupakan gugus khas dari gelatin yaitu muncul puncak 1653 cm^{-1} (Prystupa dalam Puspawati, 2012).

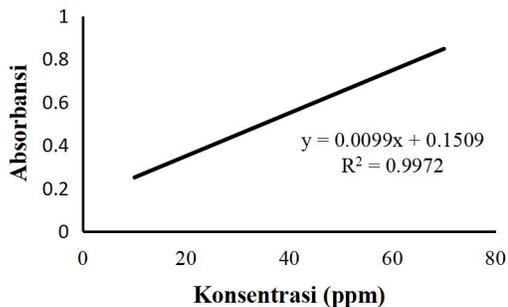
Gugus yang muncul lainnya yaitu gugus imina pada serapan 1543,05 cm^{-1} , adanya vibrasi tekuk pada cincin aromatik pada bilangan gelombang 1452,40 cm^{-1} berasal dari asam amino aromatik pada gelatin. Pada daerah serapan 1560 – 1335 cm^{-1} diduga adanya vibrasi amida disebabkan oleh deformasi ikatan N-H dalam protein yang berkaitan dengan adanya deformasi tropokolagen menjadi rantai α -*helix* dan pada bilangan gelombang 1404,18 cm^{-1} juga meandai adanya wagging CH_2 dari gugus prolin (Muyonga *et al.*, 2004). Pada daerah serapan 1350 – 1000 cm^{-1} terdapat gugus C-O dalam asam karboksilat dan gugus C-N. Pada daerah sidik jari (1000 – 600 cm^{-1}) menunjukkan spektrum yang sama dengan gelatin standar yaitu GA pada puncak 921,97 cm^{-1} dan 665,44 cm^{-1} sedangkan GB pada puncak 923,90 cm^{-1} dan 665,44 cm^{-1} .

Penetapan Kadar Gelatin

Penetapan kadar gelatin dilakukan dengan derivatisasi menggunakan reagen Bradford yang mengandung *coomassie brilliant blue* sehingga menghasilkan warna biru. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan metode *multipoint method* untuk memperoleh kurva regresi linier antara konsentrasi dan

absorbansinya. Larutan standar dibuat beberapa deret konsentrasi kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal 559 nm (Alfaro AT, 2014).

Dari kurva kalibrasi gelatin standar diperoleh persamaan $y = 0,009 x + 0,150$ dengan nilai linieritas $R^2 = 0,997$. Kemudian dilakukan pengukuran absorbansi sampel dan dihitung kadar gelatin yang diperoleh.



Gambar 3 Kurva kalibrasi gelatin standar

Tabel 1. Rendemen dan kadar gelatin

Sumber Gelatin	Rendemen (%)	Kadar (%)
Kulit Lele	4,23	48,51
Tulang Ikan Gurame	4,33	57,46

Susut Pengerinan

Penentuan susut pengerinan digunakan untuk menetapkan kandungan air dan zat-zat mudah menguap dalam gelatin yang berasal dari zat

sisanya terdegradasi dari asam lemak maupun asam amino yang mudah menguap.

Tabel 2. Nilai Susut Pengerinan

Sumber Gelatin	Susut Pengerinan (%)
Gelatin standar	9,2
Kulit Lele	6,79
Tulang Ikan Gurame	12,39

Nilai susut pengerinan gelatin dari kedua sumber bahan tersebut memenuhi syarat yang ditetapkan yaitu tidak melebihi 15 % (BPOM, 2001).

Kadar Abu

Nilai kadar abu ini ditentukan untuk menetapkan kandungan mineral dan zat anorganik lainnya termasuk kontaminan yang ada pada gelatin yang diperoleh.

Tabel 3. Kadar abu gelatin sampel

No.	Sumber	Kadar Abu (%)
1	Kulit Ikan Lele	0,02
2	Tulang Ikan Gurame	1,56

Nilai kadar abu gelatin yang berasal dari tulang ikan gurame lebih besar dari pada kulit ikan lele karena tulang lebih banyak mengandung mineral sehingga waktu proses demineralisasinya harus lebih lama lagi, tetapi keduanya memenuhi syarat yang ditetapkan untuk standar kualitas gelatin karena kadar abu yang dihasilkan tidak melebihi dari 3 % (BPOM, 2001).

Derajat Keasaman

Derajat keasaman ditentukan dengan melihat nilai pH sebagai parameter sifat kimia dari gelatin yang diperoleh. Gelatin dari kulit ikan lele nilai pH sebesar 6,70 sedangkan gelatin dari tulang ikan gurame adalah 6,03. Keduanya memenuhi standar yang ditetapkan yaitu mendekati pH 7 (SNI, 1995).

KESIMPULAN

Limbah kulit ikan lele dan tulang ikan gurame dapat dimanfaatkan sebagai sumber gelatin, dimana ikan merupakan sumber makanan yang dihalalkan bagi muslim, tetapi berdasarkan rendemennya dari penelitian ini kurang berpotensi sehingga harus dikembangkan metode isolasi yang lebih optimum sehingga dapat mengekstraksi maksimal gelatin.

Walaupun rendemennya kecil tetapi gelatin yang diperoleh memenuhi mutu gelatin berdasarkan Kodex Makanan Indonesia maupun Standar Nasional Indonesia (SNI)

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pengawasan Obat dan Makanan. **2001**. *Kodeks Makanan Indonesia*. Jakarta
- Badan Pusat Statistik. **2007**. *Statistik Perdagangan Luar Negeri Impor*. Jakarta: Badan Pusat Statistik.
- Gelatin Manufacturers Institute of America. **2012**. *Gelatin Handbook*. United States Of America
- Kementrian Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia. **2014**. *Laporan Tahunan Produksi Tahun 2013*. Jakarta: Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya.
- Alfaro AT, FC Biluca, C Marquetti, IB Tonial, NE de Souza. **2014**. African catfish (*Clarias gariepinus*) skin gelatin: Extraction optimization and physical-chemical properties. *Food Research International*, (65): 416-422.
- De Man, J.M. **1997**. *Kimia Makanan*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Harmita. **2015**. *Analisis Fisikokimia Potensiometri dan Spektroskopi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

- KEMENPERIN RI, **2014**. Komoditi Ekspor Impor. www.kemenperin.go.id. [10 Februari 2016].
- Lean, M. **2013**. *Ilmu Pangan, Gizi dan Kesehatan*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Nagai T., N.Suzuki. **2000**. Isolation of collagen from fish waste material-skin, bone, and fins. *Food Chemistry*, (68): 277–281.
- Peranginangin, R. **2007**. Teknologi ekstraksi gelatin secara asam dari kulit ikan sebagai bahan pangan dan farmasi. Prosiding Simposium Nasional Hasil Riset Kelautan dan Perikanan.
- Puspawati NM, IN Simpen, INS Miwada. **2012**. Isolasi gelatin dari kulit kaki ayam broiler dan karakterisasi gugus fungsinya dengan spektrofotometri FTIR. *Jurnal Kimia*, 6(1): 79-87.
- Rohman, A. **2012**. *Pengembangan dan Analisa Produk Halal*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Rohman, A. **2014**. *Spektroskopi Inframerah dan Kemometrika Untuk Analisis Farmasi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Rowe, C Raymond., Paul J Sheskey., Marian E Quinn. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipient*. Sixth Ed. Pharmaceutical Press.USA
- SNI 06-3735. **1995**. *Mutu dan Cara Uji Gelatin*. Jakarta: Dewan Standarisasi Nasional.
- Ward A.G., A.Courts. **1977**. *The Science and Technology of Gelatin*. United States of America: Academic Press.
- Zhou P., J.M.Regenstein. **2005**. Effects of alkaline and acid pretreatments on alaska pollock skin gelatin extraction. *Journal of Food Science*, 70(6): 392–396.