

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Telaah Pustaka

2.1.1 Klasifikasi Ikan Lele (*Clarias batrachus*)

Ikan lele adalah salah satu jenis ikan air tawar yang termasuk ke dalam ordo *Siluriformes* dan digolongkan ke dalam ikan bertulang sejati. Jenis ikan lele jawa (*Clarias batrachus*) juga dalam tingkatan produktifitasnya sangat tinggi yang sudah dibudayakan secara luas di negara Indonesia ini.

Klasifikasi ikan lele berdasarkan Sharma (2024) yaitu sebagai berikut:

Filum	: <i>Chordata</i>
Sub Filum	: <i>Vertebrata</i>
Kelas	: <i>Pisces</i>
Sub Kelas	: <i>Teleostei</i>
Ordo	: <i>Siluriformes</i>
Famili	: <i>Clariidae</i>
Genus	: <i>Clarias</i>
Spesies	: <i>Clarias batrachus</i>

2.1.2 Morfologi

Clarias batrachus dikenal juga dengan nama ikan lele berjalan, memiliki beberapa karakter morfologi yang dapat dimanfaatkan untuk menggambarkan ciri-ciri fisiknya. Bentuk tubuhnya bisa berbeda-beda, tapi biasanya ukurannya sekitar 30-40 cm (12-16 inci) di masa dewasa, dan kepalanya relatif besar dibandingkan dengan ukuran tubuhnya. Panjang kepalanya dapat diukur dari ujung moncong hingga tepi *posterior operkulum*. Sirip punggung ikan lele terletak di bagian

punggung memanjang dari kepala hingga ekor, dan bagian sirip dada digunakan untuk penggeraknya terutama saat “berjalan” di darat. Panjang sirip dada dapat diukur sebagai jarak dari pangkal hingga ujung sirip. Sirip dubur terletak di sisi perut dan panjang sirip dubur diukur sebagai jarak dari pangkal ke ujung sirip (Sharma, 2024). Berikut merupakan gambar ikan lele (*Clarias batrachus*).



**Gambar 2.1 Ikan Lele (*Clarias batrachus*)
(Dokumentasi pribadi., 2024).**

2.1.3 Habitat Ikan Lele (*Clarias batrachus*)

Kebanyakan habitat ikan lele berada di air tawar, mulai dari perairan yang berarus lambat hingga danau yang sedikit payau. Ikan lele menghuni perairan air tawar seperti kolam, danau, waduk, dan sungai dengan arus yang bergerak lambat. Ikan lele mempunyai kebiasaan menggali lubang atau meletakkannya di pinggiran sungai atau kolam. Ikan ini menyukai perairan yang tenang, dangkal dan terlindung dari hewan lain (Damis dan Saenong, 2022).

Ikan lele merupakan pemakan hewan dan pemakan bangkai (*Carnivor scavanger*). Makanan terdiri dari hewan kecil, seperti kutu air

(*Daphnia*, *Cladocera*, *Copepoda*), cacing, larva (larva serangga), siput kecil dan sebagainya. Biasanya, ikan ini mencari makan di dasar air untuk dimakan, tetapi ikan lele juga akan dengan cepat memakan makanan yang mengambang. Ikan lele tidak menghadapi tantangan saat mencari makanan karena mereka memiliki alat peraba (tentakel) yang sangat mencolok untuk mendeteksi keberadaan makanan di dasar air, tengah air, dan di dalam air (Damis dan Saenong, 2022).

2.1.4 Kandungan Ikan Lele

Ikan lele memiliki kandungan gizi cukup tinggi yang dapat memenuhi kebutuhan gizi masyarakat di Indonesia. Kandungan gizi ikan lele banyak mengandung mineral diantaranya kalsium, zat besi, magnesium, zink, dan fosfor. Dalam daging ikan lele terdapat protein, asam lemak Omega-3 dan Omega-6. Vitamin yang terkandung dalam daging ikan lele yaitu vitamin A, vitamin B1, serta Vitamin B2. Tidak hanya itu, ikan lele mempunyai kelebihan yaitu rendah kalori dan lemak, sumber protein tinggi untuk membantu tubuh membangun masa otot tanpa lemak dan meningkatkan efektifitas fungsi kekebalan tubuh (Rokhmat, Susanto, Rosmiati, dan Cahyani, 2024). Pada kandungan nutrisi yang terkandung dalam ikan lele meliputi kandungan protein 17,7%, lemak 4,8%, mineral 1,2%, dan air 76% (Primawestri, Sumardianto, dan Kurniasih., 2023).

Kulit ikan lele mengandung protein sebesar 17,98%, sehingga kandungan protein tersebut menggambarkan tingginya kandungan

kolagen pada kulit ikan lele. Selain itu, kulit ikan lele mempunyai kandungan lemak sebesar 6,65% (Tuslinah dkk., 2022). Tulang ikan lele merupakan limbah yang memiliki kandungan kalsium terbanyak pada bagian tulang dan duri ikan lele. Di dalam tulang ikan lele unsur utama adalah kalsium, fosfor dan karbonat. Kalsium gizi pada tulang ikan lele yaitu dalam 100 gram tulang ikan lele terdapat 17,47% kalsium, 23,86% protein, 0,96% lemak, fosfor 345 mg, zat besi 78 mg, dan karbohidrat 0,1 mg (Abdimesin, Edahwati, dan Sutiyono, 2021).

2.2 Gelatin

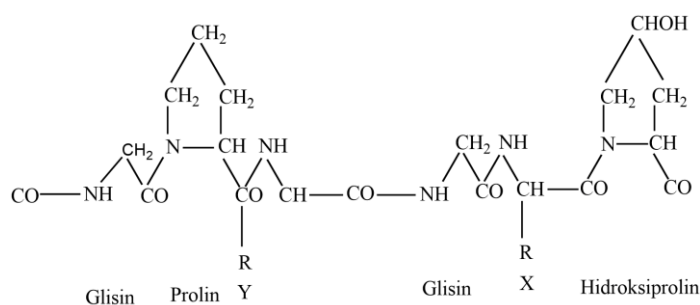
2.2.1 Pengertian Gelatin

Gelatin adalah produk yang diperoleh dari hasil *hidrolisis* kolagen (protein utama pada daging, tulang, kulit hewan). Sedangkan kolagen diperoleh dari proses ekstraksi kulit, daging, tulang hewan segar. Secara fisik gelatin berbentuk padat, kering, tidak berasa, dan transparan. Gelatin memiliki sifat larut dalam air di atas suhu 40°C, membentuk larutan koloid dan berubah menjadi gel pada pendinginan di suhu 30-40°C. 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 (Suryati dkk., 2017).

2.2.2 Struktur Gelatin

Gelatin merupakan turunan protein dari serat kolagen yang ada pada kulit, tulang, dan tulang rawan. Susunan asam aminonya hampir

mirip dengan kolagen, di mana glisin sebagai asam amino utama dan asam amino yang tersisa diisi oleh *prolin* dan *hidroksiprolin*. Asam-asam amino saling terikat melalui ikatan peptida membentuk gelatin. Pada gambar 2.2 dapat dilihat susunan asam amino gelatin berupa Gly-X-Y di mana X umumnya adalah asam amino *prolin* dan Y umumnya adalah amino *hidroksiprolin*. Gelatin bukan protein yang lengkap, karena kekurangan asam amino *essensial* triptopan. Tetapi gelatin mengandung sedikit asam amino yang ditemui yaitu *hidroksilin* (Minah, Siga, dan Pratiwi., 2016). Berikut struktur gelatin dari tulang atau kulit sapi.



Gambar 2.2 Struktur Gelatin (Minah, Siga, dan Pratiwi., 2016)

2.2.3 Kegunaan Gelatin

Gelatin salah satu bahan yang sangat banyak memiliki kegunaannya, baik untuk produk pangan maupun non pangan. Lebih dari 60% total produksi gelatin digunakan oleh industri pangan (industri permen, industri es krim dan industri jelly), sekitar 20% digunakan pada industri *fotografi* (sebagai pengikat bahan peka cahaya), industri kertas (sebagai *sizing Paper*), sekitar 10% digunakan

pada industri farmasi (bahan kapsul, dan pengikat tablet), dan industri kosmetik (bahan sabun, lotion, dll) (Nurilmala dkk., 2017).

2.3 Cara Pengisolasian Gelatin

Cara pengisolasian gelatin dapat menjadi dua golongan, yaitu gelatin golongan A yang di mana diperoleh dari bahan baku yang mendapat perlakuan dengan larutan asam, dan gelatin golongan B yang di mana diperoleh dari bahan baku yang mendapatkan perlakuan dengan larutan basa atau alkali (Sultana, Ali, dan Ahamad., 2018). Pada bahan baku kulit dan tulang ikan cocok untuk bahan baku kolagen yang diperoleh dari hewan yang masih muda atau dari bahan baku. Tipe A dengan jumlah rendah ikatan silang antarmolekul yang stabil seperti kulit dan tulang ikan, sementara bahan baku yang cocok untuk gelatin Tipe B seperti tulang atau kolagen hewan yang sudah agak tua. Metode alkali digunakan untuk menghidrolisis protein dalam proses pengapuran yang menghasilkan gelatin Tipe B (Sultana, Ali, dan Ahamad., 2018).

2.4 Isolasi Gelatin

Isolasi gelatin meliputi, *degreasing*, *demineralisasi*, ekstraksi, dan pengeringan.

2.4.1 Degreasing

Proses *degreasing* ini bertujuan untuk membersihkan bahan baku dari kotoran dan lemak yang masih menempel. Proses ini dilakukan dengan merendam bahan baku dengan air mendidih dengan tujuan untuk melarutkan lemak sehingga bahan baku terbebas dari kotoran dan lemak bisa diperoleh secara optimum (Fadilah, Kusuma,

dan Saraswati., 2016). Bahan baku dipotong kecil-kecil yang bertujuan untuk memperluas permukaan sehingga lebih mudah untuk diekstraksi, sehingga proses selanjutnya dapat berlangsung lebih cepat dan sempurna (Siregar, Ginting, dan Limbong., 2015).

2.4.2 Demineralisasi

Proses *demineralisasi* memiliki peran penting dalam pembuatan gelatin. *Demineralisasi* bahan baku gelatin dalam asam atau basa bertujuan untuk melarutkan protein non kolagen, melemahkan struktur kolagen, menghidrolisis beberapa bagian ikatan peptida tetapi masih tetap menjaga konsistensi serat kolagen, dan serta membunuh bakteri. Proses *demineralisasi* juga dapat menghilangkan garam kalsium dan garam-garam lainnya yang terkandung pada bahan baku, mengubah struktur kolagen menjadi sederhana, sehingga mempermudah kelarutan kolagen dalam air panas saat diekstraksi menjadi gelatin. *Demineralisasi* dilakukan dengan merendam bahan baku gelatin dalam larutan asam atau basa (Gumilar, Hasanah, dan Suradi., 2022).

2.4.3 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses denaturasi untuk mengubah serat kolagen yang terlarut dalam air dengan penambahan senyawa pemecah ikatan hidrogen. Ekstraksi dengan air hangat akan melanjutkan perusakan ikatan-ikatan silang, serta untuk merusak ikatan hidrogen yang menjadi faktor penstabil struktur kolagen (Febryana, Idiawati, dan Wibowo., 2018). Tujuan ekstraksi adalah untuk mengubah kolagen

menjadi gelatin, digunakan dengan air hangat untuk ekstraksi gelatin yaitu suhu ($T \geq 40^{\circ}\text{C}$). Pada proses ini terjadi perusakan ikatan silang dan ikatan hidrogen yang menjadi faktor menstabilkan struktur kolagen. Selama ekstraksi struktur *tripel heliks* terdenaturasi menjadi rantai-rantai tunggal yang dapat larut dalam air disebut gelatin (Siregar, Ginting, dan Limbong., 2015).

2.4.4 Pengeringan

Proses pengeringan bertujuan untuk memperoleh gelatin padat dan juga menguapkan air yang terkandung dalam padatan gelatin, baik itu air bebas maupun air yang terikat lemah dapat teruapkan. Suhu yang digunakan tidak terlalu tinggi untuk menghindari denaturasi rantai *polipeptida*. Serbuk gelatin ditimbang untuk mengetahui hasil rendemen yang di dapat (Febryana, Idiawati, dan Wibowo., 2018).

2.5 Uji Kualitas Gelatin

2.5.1 Rendemen

Rendemen gelatin bertujuan sebagai salah satu parameter untuk menilai pentingnya suatu proses produksi gelatin dan sebagai bahan dasar perhitungan analisis finansial. Rendemen ditentukan dengan perbandingan persentase serbuk gelatin kering dengan bahan segar (kulit atau tulang ikan) (Agustini dkk., 2020).

2.5.2 Uji Organoleptik

Uji organoleptik adalah metode yang digunakan untuk menilai kualitas bahan atau produk menggunakan indra manusia. Dalam hal ini,

aspek yang akan diuji dapat mencakup warna, bentuk, dan bau. Uji organoleptik merupakan bagian yang sangat penting dalam menganalisis kualitas dan mutu produk (Arziyah, Yusmita, dan Wijayanti, 2022).

2.5.3 Uji Kadar Air

Menurut Harjo dkk., (2015), kadar air adalah banyaknya air yang terkandung dalam bahan yang dinyatakan dalam satuan persen (%). Kadar air merupakan parameter penting yang nantinya dapat mempengaruhi kualitas penyimpanan gelatin. Hal ini karena gelatin merupakan senyawa hidrokoloid yang dapat larut dalam air dan dapat menyerap air dalam jumlah yang cukup besar (Setyaningsih dkk., 2023).

Berdasarkan (SNI, 1995), kadar air pada gelatin yang memenuhi persyaratan yaitu $\leq 16\%$. Kadar air yang rendah dapat mempengaruhi kualitas gelatin terutama pada *off flavor* gelatin serta kecerahan warna gelatin (Setyaningsih dkk., 2023).

2.5.4 Uji Kadar Abu

Kadar abu merupakan parameter untuk mengetahui mineral yang terkandung di dalam suatu bahan yang menandakan keberhasilan proses demineralisasi yang dihasilkan atau diperoleh maka mutu serta tingkat kemurnian akan semakin tinggi pada gelatin (Setyaningsih dkk., 2023). Berdasarkan (SNI, 1995) hasil kadar abu dalam gelatin yang memenuhi persyaratan yaitu $\leq 3,25\%$.

2.5.5 Uji Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) harus dilakukan karena berkaitan dengan sifat-sifat gelatin. Gelatin dengan pH netral akan mempunyai sifat yang stabil sehingga dapat digunakan secara luas (Gunawan dkk., 2017). Gelatin dengan pH netral sangat cocok digunakan pada produk daging, farmasi, photorgrafi cat dan sebagainya, sedangkan gelatin dengan pH rendah sangat cocok digunakan pada produk jus, jelly, dan sirup. Nilai pH pada gelatin sangat dipengaruhi oleh jenis larutan perendaman yang digunakan (Cahyono, Rahmatu, dan Ndobe., 2018). Berdasarkan GMIA, (2019), pH gelatin yang memenuhi persyaratan yaitu 3,8-7,5.

2.6 Metode Pengukuran Protein Terlarut

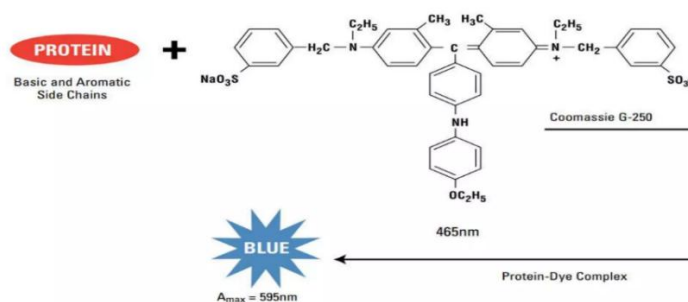
Metode yang digunakan untuk mengukur protein terlarut diantaranya:

1. Metode *Bradford*

Metode *Bradford* merupakan metode *kolometri dye-binding* yang didasarkan pada interaksi asam amino dengan *Coomasie Brilliant Blue G-250* dalam kondisi asam. *Coomasie Brilliant Blue G-250* berwarna merah dan akan berwarna biru ketika berikatan dengan protein (kompleks pewarna-protein). Jumlah ikatan pewarna dan protein dapat diukur dengan panjang gelombang 595 nm (Hadinoto dan Syukroni., 2019).

Kelebihan metode *bradford* yaitu lebih sederhana, inkubasi lebih cepat, lebih murah, dan lebih sensitif terhadap protein dibandingkan dengan metode *lawry*. Metode *bradford* mempunyai sensitivitas empat kali dibandingkan metode *lowry*, di samping itu metode *lowry* sulit menentukan

nilai kuantitatif protein dalam larutan standar (Hadinoto dan Syukroni., 2019).



Gambar 2.3 Reaksi Pada Metode *Bradford* (Purwanto, 2014)

2. Metode *Biuret*

Metode ini didasarkan pada prinsip bahwa zat yang mengandung dua atau lebih ikatan peptide ($-\text{CO}-\text{NH}-$) dapat membentuk kompleks berwarna ungu dengan garam Cu^{2+} dalam larutan alkali yang diukur pada panjang gelombang 520 nm. Karena seluruh protein mengandung ikatan peptida maka metode *biuret* merupakan metode terbaik untuk menentukan kandungan protein terlarut. Namun, terdapat beberapa senyawa yang mampu mengganggu reaksi seperti urea mengandung gugus ($-\text{CO}-\text{NH}-$) dan gula pereduksi yang bereaksi dengan ion Cu (Koeswara, Auli, dan Tursino, 2024).

3. Metode *Lowry*

Metode ini berdasarkan atas reaksi antara prinsip kompleks Cu(II) -protein akan terbentuk dalam suasana alkalis dari Cu(II) akan tereduksi menjadi Cu(I) . Ion Cu(I) selanjutnya, akan mereduksi reagen *folin ciocalteu*

sehingga biru akibat reaksi gugus aromatik yang diukur pada panjang gelombang 650 nm (Rahmawati, Taurina, dan Andrie., 2016).

2.7 Spektrofotometri UV-Vis

2.7.1 Definisi Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu metode instrumen yang umum digunakan dalam analisis kimia untuk mendeteksi senyawa (baik dalam bentuk padat maupun cair) berdasarkan penyerapan panjang gelombang (Rahmayani, Sahara, dan Zelviani., 2020). Agar sampel dapat menyerap foton pada rentang UV-Vis (Panjang gelombang foton antara 200 nm - 700 nm), maka diperlukan perlakuan tertentu seperti penambahan reagen untuk membuat garam kompleks dan sejenisnya (Abriyani dkk., 2023).

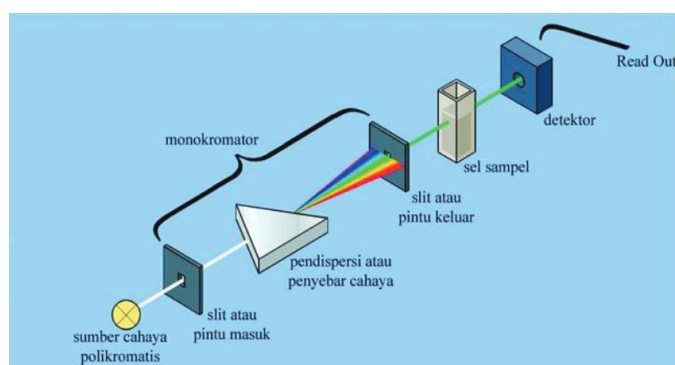


**Gambar 2.4 Spektrofotometri UV-Vis
(Dokumentasi Pribadi., 2024)**

2.7.2 Bagian-bagian Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan alat laboratorium yang digunakan untuk mengukur absorbansi cahaya pada berbagai panjang gelombang dalam rentang ultraviolet (UV) dan sinar tampak. spektrofotometri ini memanfaatkan prinsip dasar bahwa berbagai

molekul atau senyawa dapat menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu. Rentang panjang gelombang yang digunakan oleh spektrofotometer UV-Vis adalah 180-380 nm daerah UV (ultraviolet), dan 300-800 nm untuk daerah sinar tampak (Yohan, Astuti, dan Wicaksana., 2018).



Gambar 2.5 Bagian Spektrofotometri UV-Vis (Fajrina, Jubahar, dan Sabirin., 2016).

Berikut beberapa bagian-bagian dari Spektrofotometri UV-Vis:

1. Sumber radiasi

Sumber radiasi dalam spektrofotometer UV-Vis berfungsi untuk menyediakan energi radiasi pada panjang gelombang yang tepat untuk pengukuran dan mempertahankan intensitas sinar yang konstan selama pengukuran. Dua jenis sumber radiasi yang umumnya digunakan dalam spektrofotometri UV-Vis adalah lampu hidrogen dan lampu filamen, dan penggunaannya di bagi berdasarkan rentang panjang gelombang yang ingin diukur (Afandi dan Purwanto., 2018).

2. Monokromator

Monokromator dalam spektrofotometer UV-Vis berfungsi untuk menghasilkan radiasi monokromatis, yaitu cahaya dengan panjang gelombang tunggal, yang kemudian dilewatkan melalui kuvet yang berisi sampel dan blanko secara bersamaan. Ini dilakukan dengan bantuan cermin berputar (Tukadi, 2016).

3. Sel atau kuvet

Sel atau kuvet dalam spektrofotometer adalah di mana bahan yang akan diukur absorbansinya ditempatkan. Kuvet harus dibuat dari bahan yang tidak menyerap radiasi pada rentang panjang gelombang yang digunakan dalam spektrofotometer. Umumnya, kuvet dibuat juga dapat terbuat dari plastik. Pemilihan bahan kuvet sangat penting karena bahan tersebut tidak boleh mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang yang sedang diamati (Munarsih dan Rini., 2019).

4. Fotosel

Fotosel berfungsi untuk menangkap cahaya yang telah melewati zat atau sampel yang sedang diukur, dan kemudian mengubah cahaya tersebut menjadi energi listrik. Energi listrik yang dihasilkan oleh fotosel akan disampaikan ke detektor. detektor dalam spektrofotometer adalah perangkat atau material yang mampu menyerap energi dari foton (partikel cahaya) dan

mengubahnya menjadi bentuk energi yaitu energi listrik (Warono dan Syamsudi., 2013).

2.7.3 Hukum *Lambert-Beer*

Absorbansi sinar oleh larutan mengikuti hukum *Lambert-Beer* yang berbunyi, “jumlah radiasi cahaya tampak (ultraviolet, inframerah dan sebagainya) yang diserap atau ditransmisikan oleh suatu larutan merupakan suatu fungsi eksponen dari konsentrasi zat dan tebal larutan”. Berdasarkan Hukum *Lambert-Beer*, rumus yang digunakan untuk menghitung banyaknya cahaya yang dihamburkan (Putri, Putriyana, dan Silviani., 2019).

$$A = a \times b \times c$$

Keterangan:

A = absorbansi (serapan)

a = Absorptifitas molar ($M^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

b = tebal kuvet (cm)

c = konsentrasi (M)

2.7.4 Tipe Instrumen Spektrofotometri UV-Vis

Tipe dari instrumen spektrofotometer dibagi menjadi dua jenis, yaitu spektrofotometer *single beam* dan spektrofotometer *double beam*. Pada spektrofotometer *single beam instrumen* dapat digunakan untuk kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. *Single beam instrumen* mempunyai beberapa keuntungan yaitu sederhana, harganya murah, dan mengurangi biaya yang ada merupakan keuntungan yang nyata. Beberapa instrumen

menghasilkan *single beam instrumen* untuk pengukur sinar ultra violet dan sinar tampak. Panjang gelombang paling rendah adalah 190-210 nm dan paling tinggi adalah 800-1000 nm (Fajrina, Jubahar, dan Sabirin., 2016).

Spektrofotometer *double beam* dibuat untuk digunakan pada panjang gelombang 190-750 nm. *Double beam instrumen* mempunyai dua sinar yang dibentuk oleh potongan cermin yang terbentuk V yang disebut pemecah sinar. Sinar pertama melewati larutan blanko dan sinar kedua secara serentak melewati sampel (Fajrina, Jubahar, dan Sabirin., 2016).

2.7.5 Analisis Secara Spektrofotometri UV-Vis

Menurut (Maghfiroh, Monica, dan Afthoni., 2022), ada beberapa hal yang harus diperhatikan dalam analisis secara spektrofotometri UV-Vis diantaranya:

1. Pembentukan molekul yang dapat menyerap sinar UV-Vis, hal tersebut perlu dilakukan apabila senyawa yang analisis tidak menyerap pada daerah tersebut, cara yang digunakan adalah dengan merubah menjadi senyawa lain atau direaksikan dengan pereaksi tertentu.
2. Waktu operasional (operasi time), cara tersebut dapat digunakan untuk mengukur hasil reaksi atau pembentukan warna, dengan tujuan dapat mengetahui waktu pengukuran yang stabil.

3. Pemilihan panjang gelombang, dimana panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal, untuk memilih panjang gelombang maksimal, dapat dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu.
4. Pembuatan kurva baku, dapat dibuat seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi, masing-masing absorbansi larutan dengan berbagai konsentrasi diukur yang kemudian di buat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi (y) dengan konsentrasi (x).
5. Pembaca absorbansi sampel, absorbansi yang dapat terbaca pada spektrofotometer antara 0,2 sampai 0,8 atau 15% sampai 70%, jika dibaca sebagai transmitansi. Anjuran tersebut berdasarkan anggapan bahwa kesalahan dalam pembaca T adalah 0,005 atau 0,5% (kesalahan fotometri).
6. Hukum *Lambert Beer*. *Lambert Beer* menyatakan hubungan linieritas antara absorban (besarnya sinar radiasi yang terserap oleh zat) dengan konsentrasi larutan analit dan berbanding terbalik dengan transmitan (besarnya sinar radiasi yang melewati zat dan ditangkap detektor) (Agustin dan Agustina., 2020).

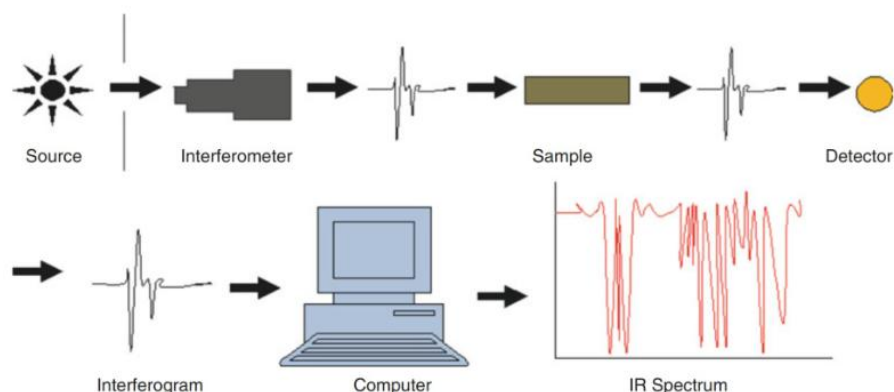
2.8 Spektrofotometer FTIR

Salah satu instrumen yang menggunakan prinsip spektroskopi yaitu FTIR (*Fourier Transform Infrared*) adalah spektroskopi inframerah yang dilengkapi dengan transformasi *fourier* untuk deteksi dan analisis hasil spektrumnya. Spektroskopi inframerah memiliki manfaat untuk identifikasi senyawa organik karena spektrumnya yang sangat kompleks, spektrum yang kompleks dikarenakan terdiri dari banyak puncak yang menandakan adanya gugus fungsi yang ditandai dengan bilangan gelombang (putu dkk.,2020).



Gambar 2.6 Spektroskopi Inframerah (Dokumentasi Pribadi., 2024)

Sebagian besar molekul menunjukkan serapan inframerah di daerah inframerah tengah ($4.000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$). Posisi dan intensitas puncak-puncak serapan menunjukkan karakteristik gerakan molekuler yang timbul dari atom-atom yang berikatan. Hal ini dapat menjelaskan ikatan kimia, konformasi, dan lingkungan kimia di sekitar atom atau kelompok atom (gugus fungsi) dalam suatu molekul. Jadi, kelompok atom tertentu menghasilkan puncak di daerah spektra yang khas (Alauhdin, Eden, dan Alighiri., 2021).



**Gambar 2.7 Skema Spektroskopi Inframerah
(Alauhdin, Eden, dan Alighiri., 2021)**

Kegunaan yang paling penting dari spektroskopi inframerah adalah untuk identifikasi senyawa organik, karena spektrumnya sangat kompleks dan terdiri dari banyak puncak-puncak. Spektrum inframerah mempunyai sifat fisik dan karakteristik yang khas, artinya senyawa yang berbeda akan mempunyai spektrum yang berbeda dan kemungkinan dua senyawa mempunyai spektrum sama adalah sangat kecil (Puspitasari, Mareta, dan Thalib., 2021).

Analisa FTIR dilakukan untuk membuktikan apakah senyawa yang diperoleh pada penelitian ini adalah gelatin. Gelatin seperti umumnya protein memiliki struktur yang terdiri dari Karbon (C), Hidrogen (H), gugus Hidroksil (O-H), gugus Karbonil (C=O), gugus Amida (N-H), dan gugus Alkana (C-H) (Mahmuda, Idiawati, dan Wibowo., 2018).

**Tabel 2.1 Posisi Puncak FTIR Gelatin Tulang Ikan Belinda
(Mahmuda, Idiawati, dan Wibowo., 2018)**

Range	Wilayah Serapan Gelatin (cm ⁻¹)	Bilangan Gelombang Ikan Belinda (cm ⁻¹)	Gugus Fungsi
Amida A	3600-3000	3285,23 cm ⁻¹	N-H <i>Streaching</i>
Amida B	3300-2700	2926,44 cm ⁻¹	C-H <i>Streaching</i>
Amida I	1900-1600	1633,96 cm ⁻¹	C=O <i>Streaching</i>
Amida II	1650-1500	1532,91 cm ⁻¹	N-H <i>Bending</i>
Amida III	1450-1200	1240,9 cm ⁻¹	N-H <i>Bending</i>

2.9 Landasan Teori

Tulang ikan merupakan limbah yang memiliki kandungan kalsium terbanyak di antara bagian tubuh ikan lele. Di dalam tulang ikan lele unsur utamanya adalah kalsium, fosfor, dan karbonat. Kalsium berfungsi untuk pertumbuhan tulang yang sangat diperlukan terutama untuk pertumbuhan anak-anak. Kandungan gizi tulang ikan lele dalam 100 gram tulang ikan lele terdapat 17,47% kalsium, 23,86% protein, 0,96% lemak, fosfor 345 mg, zat besi 78 mg, dan karbohidrat 0,1 mg (Abdimesin, Edahwati, dan Sutiyono., 2021). Kulit ikan lele mengandung protein sebesar 17,98%. Kandungan protein tersebut menggambarkan tingginya kandungan kolagen pada kulit ikan lele (Tuslinah dkk., 2022).

Gelatin memiliki sifat larut dalam air di atas suhu 40°C, membentuk larutan koloid dan berubah menjadi gel pada pendinginan di suhu 30-40°C. 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 (Tuslinah dkk., 2022). Gelatin merupakan senyawa

turunan kolagen yang terdapat pada kulit, tulang dan jaringan ikat hewan yang di *hidrolisis* menggunakan larutan asam atau basa (Nurlela, Nurhayati, dan Lindawati, 2021).

Menurut Moranda, Handayani, dan Nazlia, (2018), menyatakan bahwa penggunaan asam pada proses *demineralisasi* lebih efektif karena larutan asam dapat mengubah serat kolagen dengan struktur *triple helix* menjadi rantai tunggal yang terkandung di dalam sampel tulang ikan. Menurut penelitian Pelu, Harwanti, dan Chasanah., (2017), menggunakan asam lebih disukai di bandingkan proses basa karena akan lebih ekonomis dan efektif. Hal ini disebabkan karena proses perendaman dalam larutan asam relatif lebih singkat dibandingkan proses menggunakan larutan basa.

Menurut Tuslinah dkk., (2019) menyatakan kulit ikan lele (*Clarias gariepinus*) dan tulang ikan gurame (*Osphronemus gourami, Lac*) dengan larutan HCl menghasilkan rendemen dari gelatin kulit ikan lele yaitu sebanyak 4,23%, gelatin tulang ikan gurame yaitu sebanyak 4,33%. Pada hasil karakterisasi gelatin yang diperoleh yaitu hasil kadar abu gelatin kulit ikan yaitu sebanyak 0,02%, gelatin tulang ikan gurame yaitu sebanyak 1,56%. Hasil pH gelatin dari kulit ikan lele yang didapat yaitu pH 6,70 sedangkan tulang ikan gurame pH yang didapat yaitu 6,30. Hasil kadar gelatin dari kulit ikan lele sebanyak 48,51% dan tulang ikan gurame yaitu sebanyak 57,46% dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis.

Menurut Tuslinah dkk., (2021) menyatakan tulang ikan tongkol dan tulang ikan gurame dengan larutan HCl menghasilkan rendemen gelatin pada tulang ikan tongkol yaitu sebanyak 8,02%, dan tulang ikan gurame 4,33%. Pada hasil kualitas gelatin yang diperoleh dari hasil kadar air dari gelatin tulang ikan tongkol yaitu sebanyak 8,85%, dan gelatin tulang ikan gurame yaitu sebanyak 11,32%. Hasil kadar abu dari gelatin tulang ikan tongkol yaitu sebanyak 1,87%, dan gelatin tulang ikan gurame sebanyak 1,56%. Hasil derajat keasaman dari gelatin tulang ikan tongkol pH yang didapat yaitu 4,16, sedangkan gelatin tulang ikan gurame pH yang didapat yaitu 6,03. Pada hasil kadar isolat gelatin yang diperoleh dari tulang ikan tongkol yaitu sebanyak 74,68%, sedangkan hasil kadar isolat gelatin tulang ikan gurame yaitu sebanyak 57,46% dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis. Gelatin yang berasal dari tulang ikan tongkol dan tulang ikan gurame memunculkan puncak serapan amida A masing-masing pada bilangan gelombang $3464,15\text{ cm}^{-1}$ dan $3425,58\text{ cm}^{-1}$, Gugus Amida I pada bilangan $1651,07\text{ cm}^{-1}$ dan $1635,64\text{ cm}^{-1}$. Gugus Amida II pada bilangan gelombang $1533,41\text{ cm}^{-1}$ dan $1543,05\text{ cm}^{-1}$. Dan daerah serapan gugus Amida III terlihat pada bilangan gelombang $1238,30\text{ cm}^{-1}$ dan $1234,44\text{ cm}^{-1}$ yang diperoleh dari hasil FTIR.

2.10 Hipotesis

H0 : Tidak terdapat perbedaan kandungan kadar isolat gelatin pada kulit dan tulang ikan lele (*Clarias batrachus*).

H1 : Terdapat perbedaan kandungan kadar isolat gelatin pada kulit dan tulang ikan lele (*Clarias batrachus*).