



Metode Analisis Gelatin Sapi dan Babi pada Kapsul Lunak menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dan Analisis Komponen Utama

(Analysis of bovine and porcine gelatin in softcapsules using high performance liquid chromatography and principal component analysis)

Zilhadia*, Bayyinah Bayyinah, & Ofa Suzanti Betha

Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, Kota Tangerang Selatan, Banten, Indonesia

ABSTRACT: The use of porcine gelatin in soft capsules raises consumer concerns regarding its halal status. The aims of this study was to develop a method for analyzing differences between bovine and porcine gelatin used in soft capsules using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) combined with Principal Component Analysis (PCA) through amino acid composition data. The HPLC method was carried out by precolumn derivatization and a gradient phase mobile system using acetate-phosphate buffer and acetonitrile as solvents. The peak height percentage indicating the concentration of amino acids was used as data to be input into the chemometric software and the menu selected is PCA. The results of the amino acid composition treated with PCA showed that porcine gelatin had positive PC1 and negative PC2 values, while bovine gelatin had positive PC1 and PC2 values. Porcine gelatin soft capsules have negative PC1 and positive PC2 values, while bovine gelatin soft capsules have negative PC1 and PC2 values. It could be interpreted that bovine and porcine gelatin and soft capsules made from bovine and porcine gelatin have different amino acid profiles. However, this study has not been able to classify gelatin in soft capsules on the market.

Keywords: bovine gelatin; HPLC; PCA; porcine gelatin; softcapsules.

ABSTRAK: Penggunaan gelatin babi pada kapsul lunak menimbulkan kekhawatiran konsumen terkait status kehalalannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode analisis perbedaan gelatin sapi dan babi yang digunakan pada kapsul lunak menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) kombinasi Analisis Komponen Utama (AKU) melalui data komposisi asam amino. Metode KCKT dilakukan dengan derivatisasi prakolom dan fase gerak sistem gradien menggunakan pelarut dapar asetat-fosfat dan acetonitril. Puncak tinggi yang menunjukkan konsentrasi asam amino digunakan sebagai data yang diinput ke dalam perangkat lunak kemometrik dan menu yang dipilih adalah AKU. Hasil komposisi asam amino yang diolah dengan AKU menunjukkan bahwa gelatin babi memiliki nilai komponen utama (KU) 1 positif dan KU2 negatif sedangkan gelatin sapi memiliki nilai KU1 dan KU2 positif. Kapsul lunak gelatin babi memiliki nilai KU1 negatif dan KU2 positif sedangkan kapsul lunak gelatin sapi memiliki nilai KU1 dan KU2 negatif. Dapat disimpulkan bahwa gelatin sapi dan babi serta kapsul lunak yang terbuat dari gelatin sapi dan babi dapat dibedakan berdasarkan perbedaan profil asam amino. Namun penelitian ini belum dapat mengklasifikasikan gelatin yang ada pada kapsul lunak yang ada di pasaran.

Kata kunci: AKU; gelatin babi; gelatin sapi; kapsul lunak; KCKT.

Pendahuluan

Gelatin adalah suatu polimer polipeptida yang diperoleh melalui hidrolisis parsial kolagen hewan vertebrata. Gelatin diperoleh dari kulit babi (80%) sebagai sumber primer. Sumber lainnya adalah 15% berasal dari kulit sapi, dan sisanya 5% dari tulang babi, sapi, unggas dan ikan [1]. Gelatin juga menjadi salah satu bahan baku yang banyak digunakan dalam industri pangan seperti permen, es krim, produk susu, roti, kue, keju, yogurt, dan marshmallow. Gelatin digunakan sebagai stabilizer atau emulsifier, memperbaiki dan mempertahankan sistem emulsi produk pangan. Disamping itu, gelatin juga

dimanfaatkan sangat luas dalam industri farmasi [2,3]. Salah satu penggunaan gelatin pada industri farmasi adalah sebagai bahan utama pada proses pembuatan kapsul lunak dan cangkang kapsul keras. Kapsul secara umum dibuat untuk menutupi bau dan rasa tidak enak dari obat. Kapsul gelatin lunak semakin sering dipilih karena berbagai alasan, seperti keseragaman yang tinggi pada obat dengan kadar dosis rendah, melindungi zat aktif di dalam cangkang dari oksigen sehingga zat aktif lebih stabil, untuk membantu kelarutan obat pada saluran pencernaan dan lebih

Article history

Received: 14 April 2023
Accepted: 16 April 2023
Published: 30 April 2023

Access this article



*Corresponding Author: Zilhadia

Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, Jl. Ir H. Juanda No.95, Ciputat, Kec. Ciputat Tim., Kota Tangerang Selatan, Banten 15412 | Email: zilhadia@uinjkt.ac.id

disukai konsumen karena bentuknya yang lebih mengkilat dengan warna yang lebih menarik [4].

Gelatin yang berasal dari babi pada produksi kapsul lunak tidak menimbulkan kenyamanan bagi konsumen terkait status kehalalannya. Hal ini ditambah dengan keadaan bahwa banyak produk kapsul gelatin lunak yang tidak mencantumkan label halal. Karena itu diperlukan analisis gelatin babi pada cangkang kapsul lunak yang beredar di pasaran untuk meninjau aspek kehalalan dari kapsul lunak tersebut [5,6].

Berbagai macam metode analisis telah dilakukan untuk membedakan gelatin terutama yang melibatkan gelatin sapi dan babi. Penelitian yang telah dipublikasikan diantaranya adalah membedakan gelatin sapi, babi dan ikan berdasarkan analisis gugus fungsi yang dilakukan oleh Hasan *et al.* (2021) menggunakan Fourier Transform Infra Red yang dikombinasikan dengan kemometrik *fuzzy graph method* [7]. Amqizal *et al.* (2017) dan Zilhadia *et al.* (2017) mengembangkan analisa RT-PCR (*Real Time Polymerase Chain Reaction*) untuk mengidentifikasi DNA gelatin babi dari produk makanan [2,8]. Azilawati *et al.* (2015) membedakan gelatin sapi dan babi menggunakan PCA berdasarkan pada susunan asam amino [9]. Qi-Shi Du *et al.* (2006) melakukan analisis komponen utama asam amino dan aplikasinya dalam memprediksi klasifikasi struktur protein [10]. Azira *et al.* (2012) membedakan gelatin sapi dan babi dengan SDS-PAGE dan PCA [11]. Widyaninggar *et al.* (2012) melakukan penelitian untuk membedakan antara gelatin sapi dan babi dalam cangkang kapsul keras komersial berdasarkan profil asam amino dan analisis komponen utama [12].

Sampai saat ini belum ada publikasi tentang analisis gelatin sapi dan babi pada sediaan kapsul lunak. Karena itu pada penelitian ini dilakukan analisis perbedaan gelatin sapi dan babi pada sediaan kapsul lunak dengan menentukan komposisi asam amino menggunakan KCKT. Karena komposisi asam amino yang sangat mirip maka diperlukan kemometrik, khususnya menu PCA untuk membedakannya.

Metode Penelitian

Bahan

Kit AccQ Tag Reagen yang terdiri dari fluor Borate Buffer, 6-aminoquinolil-N-hidroksi-succinimidil karbamat-AQC, fluor reagen diluent dibeli dari Water, USA. Aquabides, asetonitril, asam klorida, α -aminobutyric acid grade KCKT dibeli dari Sigma, German. Hidrolisat asam amino standar yang mengandung campuran 17 jenis asam amino, gelatin sapi dan babi dibeli dari Sigma,

German. Gliserin, sorbitol dan sukrosa dibeli dari P&G Chemical, Singapura, dan 2 produk kapsul gelatin lunak diperoleh dari pasar Senen sebagai sampel uji coba.

Pembuatan Kapsul Gelatin Lunak

Kapsul lunak dibuat dengan metode yang dipaparkan oleh Ansels *et al.*, 2011 dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 3 gram gelatin dilarutkan dengan 5 ml air panas, kemudian ditambahkan gliserin (1,5 gram), sorbitol (1,5 gram), metil paraben (0,02 gram) dan sukrosa (0,5 gram). Setelah campuran larut, lalu dituangkan kedalam cetakan, dimasukkan kedalam lemari pendingin selama 24 jam dan lembaran kapsul gelatin lunak yang dihasilkan berupa lembaran tipis dan lunak [19].

Ekstraksi Asam Amino dari Gelatin

Ekstraksi asam amino dilakukan dari semua sampel penelitian yang terdiri dari gelatin sapi dan babi, kapsul gelatin lunak yang dibuat sendiri dari gelatin sapi dan babi, dan produk kapsul lunak melalui proses hidrolisis. Metode hidrolisis merujuk kepada metode yang sudah dipublikasikan oleh Zilhadia *et al.* 2022 [6,15,20]

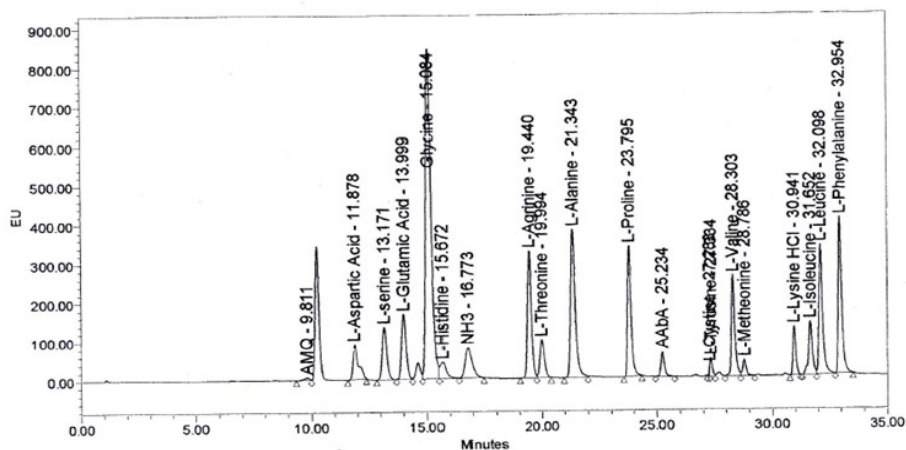
Proses Derivatisasi dan Analisis dengan HPLC

Larutan asam amino hasil ekstraksi diambil 10 μ L, kemudian ditambahkan 70 μ L AccQ.Tag Fluor borate, 20 μ L reagen fluor A, lalu diinkubasi selama 10 menit pada suhu 55 °C. Setelah inkubasi selesai, sebanyak 5 μ L larutan sampel di suntikkan pada alat HPLC (Waters, USA) fase gerak yang menggunakan system gradien. Sebagai fase gerak adalah campuran dapar asetat-fosfat dan asetonitril 60% (laju alir 1,0 mL/menit). Kolom yang digunakan yaitu C18, 4 μ m (3.9 x 150 mm) dengan temperatur 37°C, detektor fluoresen tipe 2475 (Waters, USA) pada panjang gelombang eksitasi 250 nm dan emisi 395 nm [13].

Hasil dan Diskusi

Pengembangan metode analisis didahului dengan pembuatan kapsul lunak simulasi yang akan dijadikan sebagai pembanding untuk analisis kapsul lunak yang ada di pasaran. Data yang akan dibandingkan tentu saja adalah asam amino penyusun struktur gelatin pada kapsul lunak, baik dari sumber gelatin sapi maupun babi.

Ekstraksi asam amino dari kapsul lunak dilakukan dengan penambahan asam klorida sebagai oksidator kuat. [13]. Setelah proses hidrolisis, rantai samping struktur tersier protein akan rusak dan residu alifatik terbuka sedikit demi sedikit. Proses hidrolisis asam akan merubah dan merusak beberapa jenis asam amino diantaranya asparagin



Gambar 1. Profil Asam Amino Standar Gelatin Babi keterangan: AMQ (9,811), L-aspartic acid (11,878), L-serine (13,171), L-glutamic acid (13,999), glycine (15,084), L-histidine (15,672), NH3 (16,773), L-arginine (19,440), L-threonine (19,994), L-alanine (21,343), L-proline (23,795), AABA (25,234), L-cystine (27,283), L-tyrosine (27,334), L-valine (28,303), L-methionine (28,786), L-lysine HCl (30,941), L-isoleucine (31,652), L-leucine (32,098), L-phenylalanine

dirubah menjadi asam aspartat, glutamin menjadi asam glutamat. Asam amino triptofan ditemukan pada kadar kecil karena triptofan banyak yang dirusak, serin dan treonin dapat terdeteksi dalam jumlah kecil juga. Sistein tidak ditemukan karena sistein adalah asam amino yang umum pada bulu [6]. Kondisi setelah hidrolisis tersebut

akan dibuktikan pada kromatogram yang akan muncul.

Karena asam amino yang ditentukan berada pada konsentrasi yang sangat kecil, maka perlu ditambahkan standar baku dalam. Dengan demikian, kesalahan yang mungkin terjadi karena proses penyiapan sampel dan hilangnya residu asam amino selama proses hidrolisis

Tabel 1. Komposisi asam amino gelatin babi, gelatin sapi dan kapsul lunak

Asam Amino	gelatin babi (%)	gelatin sapi (%)	Kapsul lunak dari gelatin babi (%)	Kapsul lunak dari gelatin sapi (%)
L-Aspartic acid	5,258	4,471	1,293	1,331
L-Serine	3,213	3,017	1,128	1,181
L-Glutamic acid	8,219	7,344	2,531	2,490
Glycine	21,944	20,493	7,442	7,936
L-Histidine	1,642	1,552	0,409	0,481
L-Arginine	11,448	9,319	2,940	3,109
L-Threonine	2,360	1,934	0,635	0,737
L-Alanine	6,659	6,187	2,980	2,491
L-Proline	10,274	9,542	1,008	1,563
L-Cystine	0,461	0,201	0,000	0,000
L-Tyrosine	0,925	0,474	0,398	0,546
L-Valine	2,635	2,361	0,722	0,715
L-Methionine	0,648	0,856	0,461	0,622
L-Lysin HCl	2,771	2,647	0,892	0,829
L-Isoleucine	1,347	1,616	0,362	0,454
L-Leucine	2,900	2,879	0,904	0,872
L-Phenylalanine	3,229	2,276	0,729	0,831
Tryptophan	0,000	0,000	0,000	0,000

Variable	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8
asam aspartat	0,286	0,008	0,005	-0,130	-0,252	-0,030	0,042	0,256
serine	0,278	0,044	-0,171	-0,116	0,065	-0,027	0,017	-0,251
asam glutamat	0,285	-0,030	0,034	-0,002	-0,632	0,297	-0,168	-0,183
glisine	0,275	0,111	-0,150	-0,079	0,312	-0,259	0,151	0,427
histidin	0,266	-0,118	-0,233	0,223	-0,285	-0,177	-0,114	0,145
arginin	0,265	-0,213	-0,032	0,193	-0,155	-0,189	0,332	-0,211
treonin	0,279	-0,110	-0,087	-0,117	0,036	-0,337	-0,380	-0,001
alanin	0,058	0,426	0,488	0,243	-0,198	0,075	-0,012	0,493
prolin	-0,285	-0,010	-0,073	-0,212	-0,038	-0,091	-0,108	-0,125
sistine	0,256	-0,251	0,006	-0,115	0,245	0,444	0,406	0,170
tirosin	-0,152	-0,447	0,237	-0,250	-0,169	-0,479	0,048	0,284
valin	0,244	0,132	0,364	0,150	0,078	-0,370	0,197	-0,360
metionin	-0,225	0,285	-0,277	0,295	-0,009	-0,182	-0,202	0,047
Lisin HCl	0,238	0,239	0,280	0,104	0,282	-0,087	-0,094	-0,250
isoleusin	0,138	0,301	-0,543	0,064	-0,049	-0,073	0,207	0,098
leusin	0,254	0,257	0,048	-0,620	0,078	0,080	-0,340	0,008
fenilalanin	0,204	-0,396	0,013	0,417	0,324	0,181	-0,503	0,132
Variable	PC9	PC10	PC11	PC12	PC13	PC14	PC15	PC16
asam aspartat	0,117	-0,303	0,163	0,065	-0,691	0,290	0,033	0,073
serine	0,016	0,714	0,236	-0,230	-0,093	0,045	0,051	-0,110
asam glutamat	-0,134	-0,259	0,051	-0,288	0,360	-0,137	0,070	0,040
glisine	0,162	-0,262	0,025	-0,190	0,323	-0,190	0,382	-0,216
histidin	0,340	0,155	0,219	0,279	0,283	0,362	-0,100	-0,228
arginin	-0,152	0,085	-0,493	-0,159	-0,227	0,005	0,406	-0,102
treonin	-0,308	-0,042	-0,422	0,293	-0,002	-0,142	-0,384	-0,206
alanin	0,007	0,357	-0,296	-0,072	0,022	0,012	-0,081	-0,014
prolin	0,437	-0,065	-0,482	-0,317	0,129	0,489	-0,050	0,016
sistine	-0,196	-0,053	-0,062	-0,194	0,110	0,275	-0,446	-0,182
tirosin	-0,271	0,146	0,206	-0,240	0,138	0,088	-0,036	0,304
valin	0,343	-0,186	0,140	-0,229	-0,029	-0,195	-0,432	0,047
metionin	-0,372	-0,137	0,175	-0,496	-0,164	0,158	-0,140	-0,325
Lisin HCl	-0,337	-0,128	0,082	0,170	0,214	0,561	0,241	0,224
isoleusin	-0,065	0,040	-0,141	-0,015	0,078	-0,042	-0,211	0,671
leusin	0,043	0,055	-0,013	-0,182	-0,083	-0,055	0,055	0,028
fenilalanin	0,173	0,022	-0,043	-0,270	-0,121	-0,057	0,042	0,308
Variable	PC17							
asam aspartat	-0,256							
serine	-0,408							
asam glutamat	-0,204							
glisine	-0,222							
histidin	0,354							
arginin	0,326							
treonin	-0,243							
alanin	-0,045							
prolin	-0,213							
sistine	0,072							
tirosin	0,045							
valin	0,070							
metionin	0,134							
Lisin HCl	-0,061							
isoleusin	0,046							
leusin	0,550							
fenilalanin	0,025							

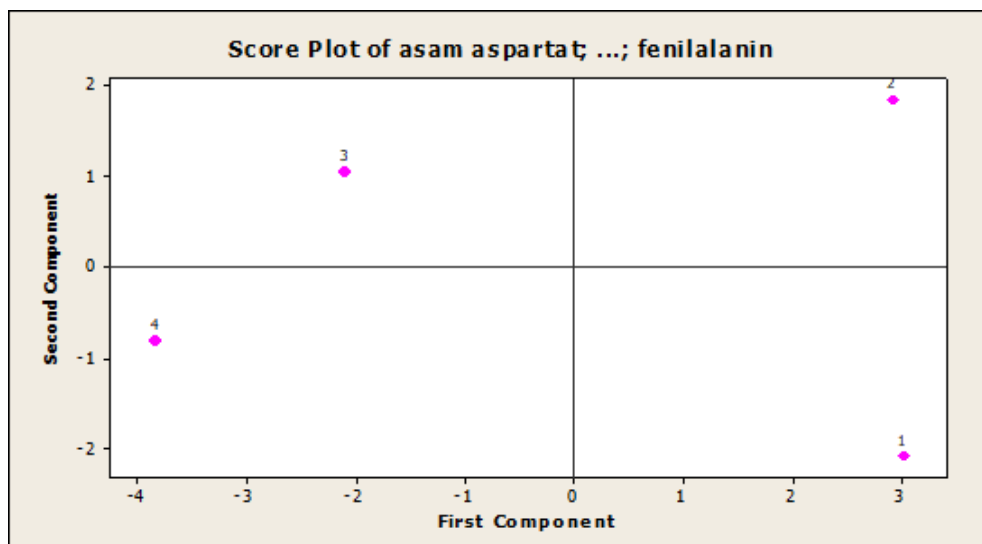
Gambar 2. Kontribusi asam amino masing-masing variabel terhadap nilai komponen utama

dapat diantisipasi. Dengan kata lain, penggunaan larutan baku dalam dapat meningkatkan presisi.

Tidak semua asam amino memiliki gugus kromofor yang dapat berfluoresensi. Karena itu asam amino perlu dirubah menjadi bentuk derivatnya melalui proses derivatisasi. Pada penelitian ini, dipilih derivatisasi prakolom [14]. Derivatisasi prakolom menggunakan prinsip fase terbalik (reverse phase chromatography). Asam amino primer akan bereaksi secara spesifik dan selektif dengan agen penderivatisasi sehingga terbentuk suatu derivat yang berfluoresensi dan merubah juga sifat kepolarannya. Dengan perubahan kepolaran tersebut,

memungkinkan terjadinya pemisahan secara kromatografi fase terbalik menggunakan kolom nonpolar dan fase gerak yang polar. Asam amino terderivatisasi yang mempunyai kepolaran tinggi akan terelusi lebih dahulu [15]. Derivatisasi pra kolom mempunyai keuntungan dimana waktu analisa menjadi lebih cepat, dan sangat sesuai untuk analisa dengan kadar zat yang sangat kecil.

Gambar 1 menunjukkan kromatogram komposisi asam amino standar gelatin babi. Kromatogram menunjukkan bahwa 17 jenis asam amino yang dianalisis pada gelatin dapat terpisah dengan baik. Gelatin memiliki metionin, sistein, dan tirosin dalam konsentrasi sangat kecil

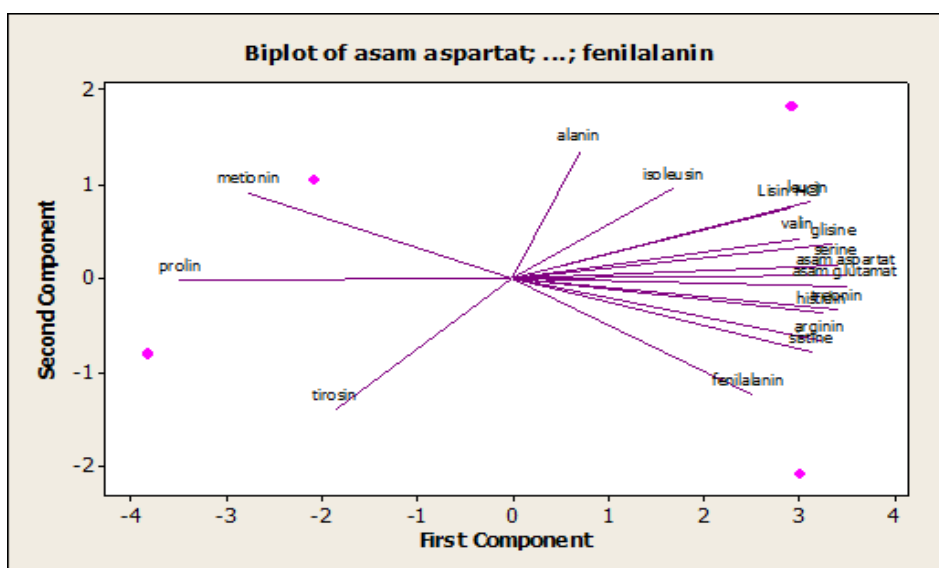


Gambar 3. Kurva *score plot* PC1 dan PC2 yang diperoleh dari data komposisi asam amino gelatin. 1. Gelatin babi, 2. Gelatin sapi, 3. kapsul lunak gelatin babi, 4. kapsul lunak gelatin sapi

karena degradasi selama hidrolisis. Asam amino triptofan tidak terlihat. Hal ini disebabkan karena pada waktu proses hidrolisis, cincin indol sebagai gugus samping triptopan telah hancur. Ketidakhadiran triptopan menunjukkan keberhasilan hidrolisis yang dilakukan [16,21].

Selanjutnya dilakukan penetapan kadar masing-masing asam amino dalam gelatin dan kapsul lunak dengan hasil dapat dilihat pada [Tabel 1](#). Kadar asam amino yang diperoleh dianalisis lebih lanjut menggunakan Analisis Komponen Utama (AKU). AKU ialah suatu teknik yang digunakan untuk menentukan komponen utama yang merupakan kombinasi linier dari variabel asli [17].

Kadar asam amino berhubungan langsung dengan persentase tinggi puncak pada kromatogram sehingga tinggi puncak digunakan sebagai variabel pengelompokan. Jumlah variabel pada penelitian ini sebanyak 17 variabel (17 asam amino). Setelah data persentase tinggi puncak diperoleh, masing-masing asam amino gelatin dan kapsul lunak dimasukkan ke dalam *worksheet* Minitab 15. Kontribusi masing-masing variabel asam amino terhadap nilai komponen utama dinyatakan sebagai Komponen Utama (KU) yang dapat dilihat pada [Gambar 2](#). KU1 merupakan variabel yang menjelaskan susunan perbedaan paling besar, diikuti oleh KU2, KU3 dan seterusnya.



Gambar 4. Kurva *Biplot* gelatin babi, sapi dan kapsul lunak yang mengandung gelatin babi dan sapi

Tabel 2. Komposisi asam amino gelatin babi dan gelatin sapi diekstrak dari kapsul lunak yang beredar di pasaran

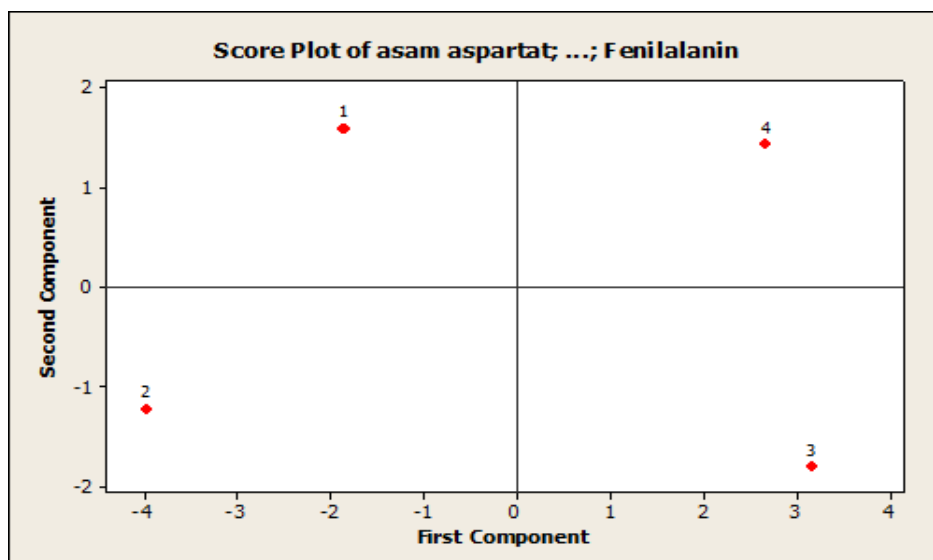
Asam amino	Sampel 1	Sampel 2
L-Aspartic acid	1,193	1,183
L-Serine	0,956	0,894
L-Glutamic acid	2,209	2,241
Glycine	6,185	5,686
L-Histidine	0,397	0,318
L-Arginine	2,723	2,206
L-Threonine	0,676	0,514
L-Alanine	2,408	2,326
L-Proline	0,567	0,574
L-Cystine	0,000	0,000
L-Tyrosine	0,209	1,755
L-Valine	0,582	0,534
L-Methionine	0,365	0,188
L-Lysin HCl	0,745	0,822
L-Isoleucine	0,387	0,382
L-Leucine	0,828	0,756
L-Phenylalanine	0,840	0,542
Triptophan	0,000	0,000

Berdasarkan kontribusi KU1 dan KU2 (data [Gambar 2](#)) maka kurva *score plot* akan keluar pada perangkat lunak secara otomatis. Kurva *score plot* digunakan jika ada 2 komponen pertama yang merupakan nilai terbanyak dalam variabilitas di dalam data. KU1 sebagai absis, sedangkan KU2 sebagai ordinat. Kurva *score plot* digunakan untuk pengelompokan asam amino penyusun gelatin sapi dan babi. Semakin dekat letak antar sampel pada *score plot*, maka semakin besar pula kemiripan sifatnya [18]. Hasil *score plot* pada gelatin sapi, babi dan lembaran kapsul lunak dapat dilihat pada [Gambar 3](#).

Pada kurva *score plot* tampak bahwa standar gelatin babi berada pada kuadran kanan bawah yaitu memiliki nilai KU1 positif dan KU2 negatif sedangkan standar gelatin sapi berada pada kuadran kanan atas yaitu memiliki nilai KU1 dan KU2 positif. Kapsul lunak gelatin babi berada pada kuadran kiri atas yaitu memiliki nilai KU1 negatif dan KU2 positif sedangkan kapsul lunak gelatin sapi berada pada kuadran kiri bawah yaitu memiliki nilai KU1 dan KU2 negatif. Dapat disimpulkan bahwa standar gelatin sapi dan babi serta kapsul lunak yang terbuat dari gelatin sapi dan babi memiliki perbedaan profil asam amino.

Variabel asam amino yang menyumbang nilai positif dan negatif pada KU1 dan KU2 diketahui melalui proses *biplot* PCA yang dapat dilihat pada [Gambar 4](#). Kurva *biplot* merupakan sebuah hamparan *plot* untuk KU1 dan KU2. Berdasarkan kurva *biplot*, asam amino yang berkontribusi positif terhadap KU1 adalah serin, asam aspartat, asam glutamat, histidin, glisin, alanin, arginin, treonin, sistin, valin, lisin, isoleusin, leusin, fenilalanin. Asam amino yang berkontribusi negatif terhadap KU1 yaitu prolin, tirosin, metionin. Asam amino yang berkontribusi positif pada KU2 adalah asam aspartat, serin, glisin, alanin, valin, metionin, lisin, leusin, isoleusin dan asam amino yang berkontribusi negatif terhadap KU2 yaitu, histidin, asam glutamat, arginin, treonin, prolin, sistin, tirosin, fenilalanin.

Analisis asam amino juga dilakukan pada kapsul lunak yang beredar di pasaran dengan langkah yang sama seperti pada standar gelatin dan lembaran kapsul lunak, yaitu dilakukan perhitungan konsentrasi asam amino pada masing-masing sampel kapsul lunak. Hasil analisis komposisi asam amino pada kapsul lunak yang diambil dari pasaran dapat dilihat pada [Tabel 2](#) yang merupakan



Gambar 5. Kurva *score plot* PC1 dan PC2 yang diperoleh dari data komposisi asam amino gelatin. 1. kapsul lunak gelatin babi, 2. kapsul lunak gelatin sapi, 3. Sampel 1, 4. Sampel 4

data untuk penyusunan *score plot*. Hasil kurva *score plot* KU1 dan KU2 pada kapsul lunak dan sampel kapsul lunak dapat dilihat pada [Gambar 5](#). Pada kurva *score plot* tampak bahwa kapsul lunak gelatin babi berada pada kuadran kiri atas yaitu memiliki nilai KU1 negatif dan KU2 positif sedangkan kapsul lunak gelatin sapi berada pada kuadran kiri bawah yaitu memiliki nilai KU1 dan KU2 negatif. Sampel 1 berada pada kuadran kanan bawah yaitu memiliki nilai KU1 positif dan KU2 negatif, sedangkan sampel 2 berada pada kuadran kanan atas, memiliki nilai KU1 dan KU2 positif. Dapat disimpulkan bahwa kedua sampel uji coba tersebut tidak memiliki kemiripan profil asam amino dengan lembaran kapsul lunak gelatin sapi dan babi. Pengembangan metode ini belum dapat membedakan gelatin sapi dan babi pada cangkang kapsul lunak. Hal ini disebabkan oleh proses ekstraksi gelatin dari cangkang kapsul lunak belum murni karena komposisi bahan tambahan pada kapsul lunak komersial lebih kompleks dibandingkan dengan kapsul lunak yang dibuat sendiri. Kemungkinan lain bahwa gelatin dari kapsul komersial bisa berupa gelatin campuran sehingga sifatnya tidak mendekati salah satu kapsul lunak yang dibuat. Perlu dilakukan optimasi ekstraksi gelatin dari kapsul lunak yang beredar dipasaran. Metode analisis gelatin pada kapsul lunak juga perlu dikembangkan lebih lanjut.

Kesimpulan

Pengembangan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) kombinasi Analisis Komponen Utama

(AKU) dapat menganalisis perbedaan kapsul lunak yang dibuat sendiri dari gelatin sapi dan babi namun pada kapsul lunak yang diperoleh dari pasaran, metode ini belum berhasil mengetahui dan membedakan sumber gelatin yang digunakan. Diperlukan metode ekstraksi gelatin yang lebih optimal karena kapsul lunak yang beredar dipasaran mempunyai formula yang lebih kompleks.

Ucapan Terimakasih

Terimakasih kepada Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta untuk fasilitas penelitian yang telah diberikan.

Referensi

- [1]. Zilhadia, Kusumaningrum K, Betha OS, Supandi. Diferensiasi Gelatin Sapi dan Gelatin Babi pada Gummy Vitamin C Menggunakan Metode Kombinasi Spektroskopi Fourier Transform Infrared (FTIR) dan Principal Component Analysis (PCA). *Pharmaceutical Sciences and Research*. 2018; 5(2): 90-96. <https://doi.org/10.7454/psrv5i2.4013>
- [2]. Zilhadia, Izzah AN, Betha OS. Perbandingan metode SYBR Green dan Hydrolysis Probe dalam analisis DNA gelatin sapi dan gelatin babi menggunakan Real Time Polymerase Chain Reaction. *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*. 2017; 4(1): 16-23. 10.29208/jsfk.2017.4.1.194
- [3]. Zilhadia, Yahdiana H, Irwandi J, Effionora A. Characterization and functional properties of gelatin extracted from goatskin. *International Food Research Journal*. 2018; 25(1):275-281.
- [4]. Taylor KMG, Aulton ME. *Aulton's Pharmaceutics The Design and Manufacture of Medicines*. Sixth edition, Elsevier Health Sciences; 2017.
- [5]. Rehman WUI, Aasim M, Richa M, Satej B, Pooja R, Khem S, Felix B. *Gelatin: A comprehensive report covering its indispensable aspects, natural polymers: Derivatives, blends and composites, volume I*. Nova Science Publishers, Inc; 2016.

- [6]. Zilhadia, Syafiqoh F, Betha OS. Diferensiasi gelatin sapi dan babi pada cangkang kapsul keras menggunakan metode kombinasi Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dan Kemometrik. *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*. 2022; 9(2):88-94. [10.25077/jsfk.9.2.88-94.2022](https://doi.org/10.25077/jsfk.9.2.88-94.2022)
- [7]. Hasan N, Ahmad T, Zain NM, Awang SR. Identification of bovine, porcine and fish gelatin signatures using chemometrics fuzzy graph method. *Scientific Report*. 2021; 11. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89358-2>.
- [8]. Amqizal HIA, Al-Kahtani HA, Ismail EA, Hayat K, Jaswir I. Identification and verification of porcine DNA in commercial gelatin and gelatin containing processed foods. *Food Control*. 2017; 78: 297-303. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.02.024>.
- [9]. Azilawati MI, Hashim DM, Jamilah B, Amin I. RP-HPLC method using 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate incorporated with normalization technique in principal component analysis to differentiate the bovine, porcine and fish gelatins. *Food Chemistry*. 2015; 1: 172:368-76. [10.1016/j.foodchem.2014.09.093](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.093).
- [10]. Qi-Shi D, Zhi-Qin J, Wen-Zhang H, Da-Peng L, Kou-Chen, C. Amino Acid Principal Component Analysis (AAPCA) and its Applications in Protein Structural Class Prediction. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2006; 23: 6. <https://doi.org/10.1080/07391102.2006.10507088>
- [11]. Azira NT, Amin I, Che Man YB. Differentiation of bovine and porcine gelatins in processed products via Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) and principal component analysis (PCA) techniques. *International Food Research Journal*. 2012; 19 (3): 1175-1180.
- [12]. Widyanninggar A, Triwahyudi, Triyana K, Rohman A. Differentiation between porcine and bovine gelatin in commercial capsule shells based on amino acid profiles and principal component analysis. *Indonesian Journal Pharmacy*. 2012; 23(2):96-101. <http://dx.doi.org/10.14499/indonesianjpharm23iss2pp104-109>
- [13]. Kabelova I, Dvorakova M, Cizkova H, Dostalek P, Melzoch K. Determination of free amino acids in cheeses from the Czech market. *Czech Journal Food Science*. 2009; 27(3): 143–150
- [14]. Rediatning W, Kartini N. Analisis Asam Amino dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Secara Derivatisasi Prakolom dan Pascakolom. *Proceedings ITB*. 1987; 20.
- [15]. Fountoulakis M, Lahm HW. Hydrolysis and amino acid composition analysis of proteins. *Journal of Chromatography A*. 1998; 826: 109–134. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(98\)00721-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(98)00721-3)
- [16]. Nhari RM, Ismail A, CheMan YB. Analytical methods for gelatin differentiation from bovine and porcine origins and food products. *Journal of Food Science*. 2012; 71:1. Doi: 10.1111/j.1750-3841.2011.02514.x.
- [17]. Miller JN, Miller JC. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry* Fifth edition. 2005. Inggris : Pearson Education Limited.
- [18]. Xian-Long, Weia F, Xiaoa X, Zhaoc X, Shia Y, Liua W, Zhanga P, Shuang-Cheng M, Tiand S, Lina R. Identification of five gelatins by ultra performance liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry (UPLC/Q-TOF-MS) using principal component analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2012; 62: 191–195. doi: 10.1016/j.jpba.2011.12.024.
- [19]. Allen LV, Popovic NG, Ansel HC. *Ansel's pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems*. 2011. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
- [20]. Hafidz RM, Yaakob RN, Amin ICM, Noorfaizan A. Chemical and functional properties of bovine and porcine skin gelatin. *International Food Research Journal*. 2011;18: 813-817.
- [21]. Shyni K, Herna GS, Ninan G, Mathew S, Joshy CG, Lakshmanan PT. Isolation and characterization of gelatin from the skins of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*), dog shark (*Scoliodon sorrakowah*), and rohu (*Labeo rohita*). *Food Hydrocolloids*. 2014; 39: 68-76. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.12.008>.



Copyright © 2023 The author(s). You are free to share (copy and redistribute the material in any medium or format) and adapt (remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially) under the following terms: Attribution — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; ShareAlike — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)