

## Diferensiasi Gelatin Sapi dan Gelatin Babi pada *Gummy* Vitamin C Menggunakan Metode Kombinasi Spektroskopi Fourier Transform Infrared (FTIR) dan Principal Component Analysis (PCA)

### *Differentiation of Bovine and Porcine Gelatin Extracted from Vitamin C Gummy by Combination Method of Fourier Transform Infrared (FTIR) and Principal Component Analysis (PCA)*

Zilhadia<sup>1\*</sup>, Farida Kusumaningrum<sup>2</sup>, Ofa Suzanti Betha<sup>2</sup>, Supandi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pusat Penelitian dan Pengembangan Halal Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta

<sup>2</sup>Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta

#### ABSTRAK

Gelatin merupakan suatu polipeptida yang diperoleh dengan cara hidrolisis parsial kolagen yang berasal dari kulit dan tulang hewan vertebrata, terutama sapi dan babi. Gelatin berfungsi sebagai agen pembentuk gel sehingga gelatin merupakan komponen penting untuk pembuatan *gummy* vitamin C. Gelatin yang bersumber dari babi haram dikonsumsi, karena itu perlu dilakukan diferensiasi gelatin sapi dan gelatin babi pada *gummy* vitamin C menggunakan metode kombinasi FTIR dan PCA. Ekstraksi gelatin dari *gummy* vitamin C dilakukan menggunakan aseton pada suhu -20 °C, lalu gelatin dianalisis menggunakan FTIR pada bilangan gelombang 4000-750 cm<sup>-1</sup>. Spektrum gelatin sapi dan babi yang diekstraksi dari *gummy* vitamin C yang dibuat di laboratorium (eksperimen) memiliki serapan yang hampir sama sehingga tidak dapat membedakan gelatin sapi dan gelatin babi. Oleh karena itu spektrum dianalisis dengan menggunakan PCA. Hasil PCA dalam bentuk *score plot* menunjukkan bahwa gelatin sapi dan gelatin babi yang diekstraksi dari *gummy* vitamin C eksperimen berada pada kuadran yang berbeda. Metode kombinasi FTIR dan PCA dapat membedakan gelatin sapi dan gelatin babi yang diekstraksi dari *gummy* vitamin C. Pada uji coba sampel *gummy* vitamin C yang diambil di pasaran (komersial), *gummy* vitamin C komersial mengandung gelatin yang bersumber dari sapi.

**Kata kunci:** diferensiasi; FTIR; gelatin; PCA; *gummy* vitamin C

#### ABSTRACT

Gelatin is a polypeptide obtained by partial hydrolysis of collagen derived from skin and bones of bovine and porcine. It has an essential component for the manufacture of *gummy* vitamin C as a gel-forming agent. The porcine gelatin is haram for moslems. This study was conducted to differentiate bovine gelatin and porcine gelatin in vitamin C *gummy* by using Fourier Transform Infrared (FTIR) combined with PCA. Gelatin was extracted from vitamin C *gummy* by using acetone at -20°C and analyzed at wave number 4000-750 cm<sup>-1</sup>. The spectrum of both bovine and porcine gelatin extract from vitamin C *gummy* have almost the same number absorption that can not be distinguished. Therefore, the spectrum was analyzed by PCA. PCA result, represented with the plot score, showed that both bovine and porcine gelatin extracted has a clear dictinction. PCA-combined FTIR could differentiate of them. This study obtained that the commercial vitamin C *gummy* contained bovine gelatin.

**Keywords:** differentiation; FTIR; gelatin; PCA; vitamin C *gummy*

#### ARTICLE HISTORY

Received: March 2018

Revised: April 2018

Accepted: August 2018

\*corresponding author

Email: zilhadia@uinjkt.ac.id

## PENDAHULUAN

*Gummy* merupakan salah satu bentuk sediaan permen bersifat elastis dan lumer dimulut dengan menggunakan beberapa perasa (strawberry, lemon, nanas, dan jeruk) sehingga disukai oleh konsumen. Industri farmasi membuat inovasi dengan memanfaatkan bentuk sediaan *gummy* dengan menambahkan vitamin C sehingga menjadi bentuk sediaan *gummy* vitamin C. Dengan inovasi ini, konsumen lebih menyukai sediaan vitamin C terutama anak-anak karena lebih mudah dan enak dalam pemberiannya. Salah satu komponen yang dimiliki oleh *gummy* vitamin C yang memberikan sifat elastis dan merupakan agen pembentuk gel adalah gelatin (Hui, 2006; Smith, 2007).

Gelatin merupakan biopolimer protein yang paling populer yang diperoleh dari hidrolisis parsial jaringan kolagen hewan. Gelatin mempunyai sifat yang unik sehingga penggunaannya sangat luas pada industri farmasi, makanan dan kosmetik (Zilhadia *et al.*, 2018). Permintaan industri, terutama industri farmasi dan makanan, terhadap gelatin sangat tinggi termasuk di Indonesia. Indonesia mengimpor gelatin dari Amerika Serikat, Perancis, Jerman, Brasil, Korea, Cina, Thailand dan Jepang dengan jumlah impor mencapai 3.872.104 kg dengan nilai 311,8 milyar (BPS, 2014). Karena gelatin merupakan turunan hewan yang banyak diimpor dari negara luar, maka sumber hewan penghasil gelatin menjadi sangat penting untuk diketahui. Umumnya, sumber gelatin yang beredar di pasaran adalah sapi dan babi sehingga perlu dilakukan uji diferensiasi sumber gelatin.

Uji diferensiasi gelatin sapi dan babi telah dilakukan oleh beberapa peneliti, di antaranya dengan teknik presipitasi kimia (Hidaka & Liu, 2003), *Liquid Chromatography–Mass Spectrometry* (LCMS) (Zhang *et al.*, 2008), *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) (Venien & Leveux, 2005), analisis berbasis DNA dengan *Real Time PCR* (Zilhadia *et al.*, 2017; Demirhan *et al.*, 2011) dan FTIR (Hashim *et al.*, 2010). Namun belum ada laporan tentang uji diferensiasi gelatin sapi dan babi pada *gummy* vitamin C sehingga uji tersebut perlu dilakukan. Metode yang dipilih adalah kombinasi FTIR dengan *Principal Component Analysis* (PCA). FTIR merupakan metode yang handal, cepat, murah dan pengerjaannya relatif sederhana. Namun analisis gugus fungsi yang dihasilkan oleh FTIR sulit untuk mendiferensiasi gelatin sapi dan babi karena banyaknya kesamaan gugus fungsi yang dimiliki (Rohman *et al.*, 2011). Karena itu, metode FTIR perlu dikombinasi dengan PCA yang merupakan salah satu metode kemometrik untuk pengklasifikasian sifat suatu bahan atau zat berdasarkan kesamaan yang dimilikinya. Kombinasi FTIR-PCA pada penelitian ini dapat membedakan gelatin sapi dan babi pada *gummy* vitamin C.

## METODE

### Bahan

Bahan yang digunakan adalah aseton, gelatin sapi, gelatin babi (ketiganya dari sigma aldrich), vitamin C, sukrosa, glukosa, asam sitrat, tartrazin (kelima bahan yang disebutkan adalah pharmaceutical grade), air suling dan *gummy* vitamin C komersial yang dibeli di daerah UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.

### Pembuatan Gummy Vitamin C yang Mengandung Gelatin Sapi dan Babi

Gelatin sapi atau gelatin babi ditimbang sebanyak 3,5 g, lalu dibasahi dengan air suling dan diaduk di atas penangas air pada suhu 60 °C. Sukrosa sebanyak 17,5 g dan sirup glukosa sebanyak 17,5 g dibasahi dengan air suling di tempat yang terpisah. Kemudian 1 mL asam sitrat, 0,5 g vitamin C, dan gelatin yang telah dibasahi ditambahkan perlahan-lahan ke dalam wadah yang berisi sukrosa dan sirup glukosa. Campuran tersebut diaduk, ditambahkan pewarna tartrazin dan diaduk lagi hingga homogen. Campuran dituang ke dalam wadah cetakan dan didiamkan selama 1 jam sampai menjadi *gummy* (Schrieber & Gareis, 2007). Sediaan ini selanjutnya disebut *gummy* vitamin C eksperimen. Kemudian untuk uji coba metode, diambil 2 produk *gummy* vitamin C yang beredar di pasaran yang selanjutnya disebut *gummy* komersial.

### Analisis Gelatin Sapi dan Gelatin Babi (sebagai pembanding) menggunakan FTIR

Gelatin sapi dan gelatin babi masing-masing sebanyak 0,5 g dilarutkan dengan 1 mL aquades suhu 60 °C. Larutan gelatin dimasukkan ke dalam *Attenuated Total Reflectin* (ATR) yang berukuran 68 mm x 8 mm x 3 mm dan dianalisis dengan FTIR.

### Ekstraksi Gelatin dari Gummy Vitamin C

Sebanyak 5 g *gummy* vitamin C dilarutkan dengan 5 mL aquades suhu 60°C. Selanjutnya diambil 3 mL larutan sampel dan ditambahkan 12 mL aseton suhu -20 °C. Campuran divortex selama 5 menit dan disimpan dalam *freezer* dengan suhu -20 °C selama 24 jam. Endapan diambil dan supernatan disentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm selama 25 menit. Endapan dicuci dengan 3 mL aseton suhu -20 °C sebanyak 3 kali. Selanjutnya endapan ditimbang dan dilarutkan dengan menggunakan aquades suhu 60 °C dengan perbandingan 1:1 (Azira *et al.*, 2012).

### Analisis Gelatin pada Gummy Vitamin C dengan FTIR

Endapan gelatin yang telah dilarutkan dimasukkan ke ATR yang berukuran 68 mm x 8 mm x 3 mm. *Scanning* sampel dilakukan menggunakan spektroskopi FTIR pada bilangan gelombang 4000-750 cm<sup>-1</sup> dengan tingkat resolusi 4 nm (Hasyim *et al.*, 2010).

### Analisis Data

Selanjutnya analisis PCA dilakukan dengan memasukkan masing-masing data intensitas serapan gelatin sapi, gelatin babi, gelatin pada *gummy* vitamin C eksperimen dan *gummy* vitamin C komersial pada bilangan gelombang daerah spesifik gelatin dari interferogram FTIR ke dalam perangkat lunak Minitab versi 15.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Penyiapan Sampel

Gelatin yang digunakan sebagai sampel untuk dianalisis dengan FTIR adalah gelatin sapi, gelatin babi, gelatin sapi dan gelatin babi dari *gummy* vitamin C eksperimen dan gelatin dari *gummy* vitamin C komersial. *Gummy* vitamin C eksperimen yang mengandung gelatin sapi atau gelatin babi diformulasi untuk membuat suatu keadaan yang mirip dengan *gummy* vitamin C komersial sehingga hasil analisis yang didapatkan tidak terlalu berbeda. Secara organoleptis, *gummy* vitamin C eksperimen berwarna kuning, manis agak masam, kenyal, dapat dikunyah dan meleleh dalam mulut saat dikunyah.

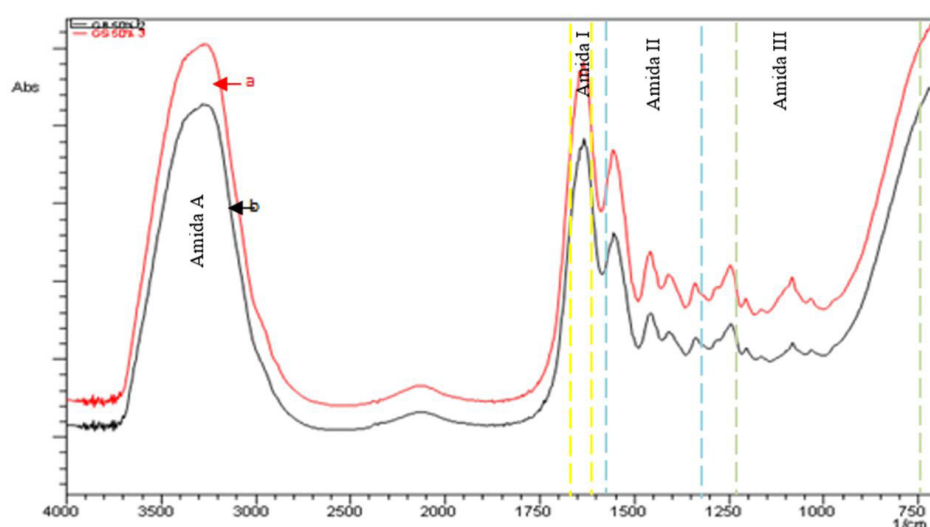
### Analisis Spektrum FTIR Gelatin Sapi dan Gelatin Babi

Spektrum FTIR gelatin sapi dan gelatin babi dianalisis agar dapat membandingkannya dengan spektrum gelatin dari *gummy* vitamin C eksperimen dan *gummy* vitamin C komersial. Spektrum FTIR gelatin sapi dan gelatin babi dapat dilihat pada Gambar 1. Spektrum gelatin sapi dan gelatin babi memiliki pola absorban yang mirip. Empat daerah spectrum yang dimiliki oleh gelatin sapi dan babi adalah 3600-2900  $\text{cm}^{-1}$  (Amida A), 1656-1644

$\text{cm}^{-1}$  (Amida I), 1560-1335  $\text{cm}^{-1}$  (Amida II) dan 1240-750  $\text{cm}^{-1}$  (Amida III). Spektrum khas gelatin terdapat pada puncak Amida I dan II dengan intensitas yang rendah serta puncak Amida III yang hampir tidak ada. Puncak amida III yang rendah disebabkan hilangnya bagian heliks ganda tiga pada saat denaturasi proses ekstraksi. Keempat puncak tersebut diidentifikasi sama dengan yang dilaporkan oleh Hashim *et al.*, 2010.

Adanya serapan yang lebar pada daerah 3600-2900  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya ikatan N-H Stretching pada ikatan hidrogen gugus amida. Serapan terpolarisasi paralel dengan ikatan N-H dimana sejajar dengan  $\alpha$ -helix dan yang tegak lurus terhadap rantai polipeptida pada ikatan  $\beta$ -sheet. Adanya serapan pada bilangan gelombang 1660-1620  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan ikatan karbonil C=O stretching dengan kontribusi ikatan NH dan C-N stretching yang sering disebut sebagai daerah amida I. Pada rentang frekuensi 1550-1520  $\text{cm}^{-1}$  ada absorban yang menunjukkan gugus Amida II dengan struktur  $\alpha$ -heliks (1550-1540  $\text{cm}^{-1}$ ) dan struktur  $\beta$ -sheet (1525-1520  $\text{cm}^{-1}$ ). Fibrasi Amida II disebabkan adanya deformasi dari ikatan N-H. Sedangkan frekuensi pada 1500 – 1200  $\text{cm}^{-1}$  mempresentasikan dari deformasi CH<sub>2</sub>. Daerah ini mempunyai fibrasi yang terkait dengan adanya senyawa makromolekul seperti asam lemak, protein, polisakarida dan turunan posfat (Hasyim *et al.*, 2010).

Walaupun kedua bentuk spektrum FTIR gelatin pada standar gelatin sapi dan gelatin babi sangat mirip, namun melalui analisis menggunakan PCA akan terlihat perbedaan diantara keduanya karena spektrum yang dihasilkan sangat dipengaruhi oleh *coupling* dari vibrasi gugus peptide tetangga (Brauner *et al.*, 2005).



Keterangan: (a) Standar Gelatin Sapi; (b) Standar Gelatin Babi

**Gambar 1. Hasil Perbandingan Spektrum FTIR Gelatin Sapi Dan Gelatin Babi**

### Analisis Spektrum FTIR Gelatin Sapi dan Gelatin Babi yang Diekstraksi dari Gummy Vitamin C

Untuk menganalisis gelatin pada sediaan gummy vitamin C, tahap awal harus dilakukan ekstraksi gelatin dari sediaan untuk memisahkan bahan aktif (vitamin C) dan bahan pembawa (sukrosa, glukosa, asam sitrat dan air). Ekstraksi gelatin dilakukan dengan menggunakan aseton suhu  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  dengan perbandingan 1:4 yang menyebabkan denaturasi pada protein atau gelatin. Aseton dapat mengendapkan protein lebih banyak dibandingkan dengan pelarut organik lainnya seperti methanol dan kloroform (Fic *et al.*, 2010).

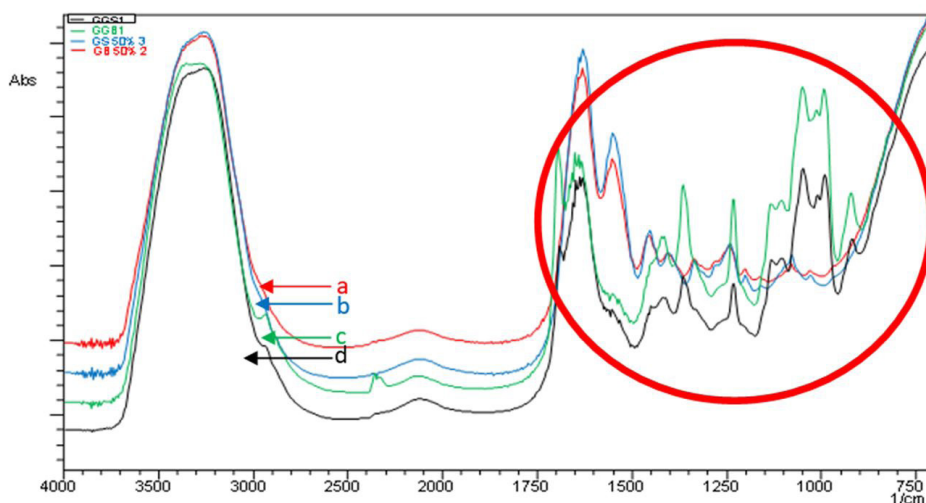
Gelatin yang telah diekstraksi dari gummy vitamin C eksperimen dan komersial selanjutnya dianalisis menggunakan FTIR. Hasil perbandingan spektrum FTIR gelatin sapi dan gelatin babi pada gummy vitamin C eksperimen dengan spektrum FTIR standar gelatin sapi dan babi dapat dilihat pada Gambar 2. Berdasarkan Gambar 2, terdapat perbedaan serapan di daerah  $1600\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$  dimana serapan gelatin sapi dan babi yang diekstraksi dari simulasi gummy vitamin C lebih rendah dibandingkan dengan absorbansi gelatin sapi dan babi standar. Hal ini menunjukkan pada gelatin yang diekstraksi dari simulasi gummy vitamin C memiliki gugus Amida II dengan struktur  $\alpha$ -heliks dan struktur  $\beta$ -sheet lebih rendah dibandingkan dengan gelatin sapi dan gelatin babi standar. Perbedaan serapan juga terlihat di daerah  $1500\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$  dimana pada gelatin sapi dan babi yang diekstraksi dari gummy vitamin C eksperimen memiliki serapan yang lebih tinggi dibandingkan serapan gelatin dari gelatin sapi dan babi standar. Hal ini menunjukkan bahwa proses ekstraksi gelatin yang digunakan kurang maksimal, sehingga polisakarida masih terdeteksi dalam spectrum (Hasyim *et al.*, 2010).

Selain itu, terdapat absorbansi pada gelatin sapi dan babi yang diekstraksi dari gummy vitamin C eksperimen di daerah  $1690\text{--}1670\text{ cm}^{-1}$  yang menunjukkan adanya gugus C=C dari vitamin C (Singh *et al.*, 2010).

Selanjutnya dilakukan analisis terhadap gummy vitamin C komersial. Hasil spektrum FTIR gelatin yang diekstraksi dari gummy vitamin C komersial dan langsung dibandingkan terhadap gummy vitamin C eksperimen dapat dilihat pada Gambar 3. Spektrum FTIR gelatin yang diekstraksi dari gummy vitamin C komersial memiliki pola yang hampir sama dengan gelatin sapi dan gelatin babi yang diekstrak dari gummy vitamin C. Hal tersebut menunjukkan bahwa sifat fisika kimia yang terdapat pada gummy vitamin C eksperimen tidak jauh berbeda dengan gummy vitamin C komersial.

### Principal Component Analysis (PCA)

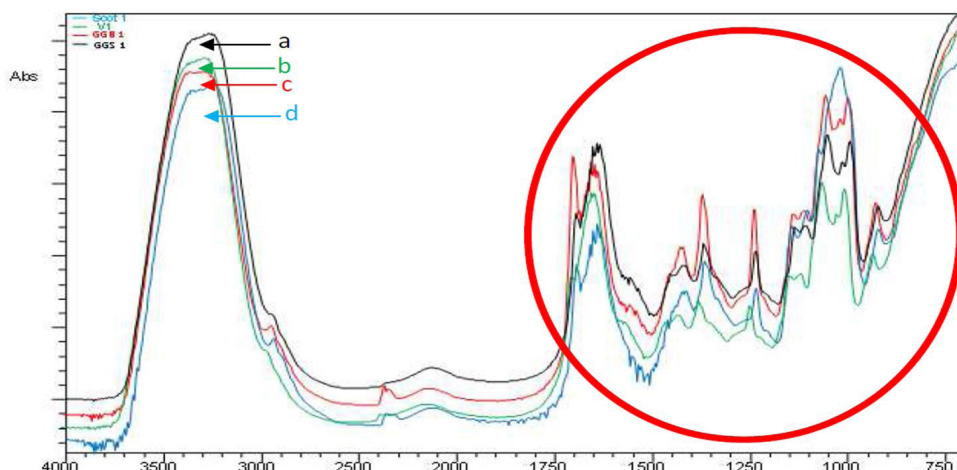
PCA dapat membedakan gelatin sapi dan gelatin babi berdasarkan intensitas serapan yang dimiliki oleh gelatin pada spektrum FTIR. PCA merupakan suatu teknik untuk mengurangi dimensi dari sekumpulan data yang terdiri dari banyak variabel yang saling berhubungan (Rohman *et al.*, 2012). Pengolahan PCA akan menghasilkan kurva *score plot*. Pada kurva *score plot* terdapat nilai komponen utama pertama atau *principal component 1* (PC1) dan komponen utama kedua atau *principal component 2* (PC2). Analisis data ini dilakukan dengan menggunakan *software* Minitab 15. Pada penelitian ini variabel yang digunakan adalah bilangan gelombang pada daerah spesifik gelatin yang berjumlah 8, yaitu  $3296,3\text{ cm}^{-1}$  (Amida A),  $1633,7\text{ cm}^{-1}$  (Amida I),  $1552,7\text{ cm}^{-1}$ ;  $1454,3\text{ cm}^{-1}$ ;  $1408,04\text{ cm}^{-1}$ ;  $1338,6\text{ cm}^{-1}$  (Amida II) dan  $1244,09\text{ cm}^{-1}$ ;  $698,23\text{ cm}^{-1}$  (Amida III).



Keterangan : (A) Gelatin Babi; (B) Gelatin Sapi; (C) Gelatin Babi Hasil Ekstraksi *Gummy* Vitamin C Eksperimen ; (D) Gelatin Sapi Hasil Ekstraksi *Gummy* Vitamin C Eksperimen

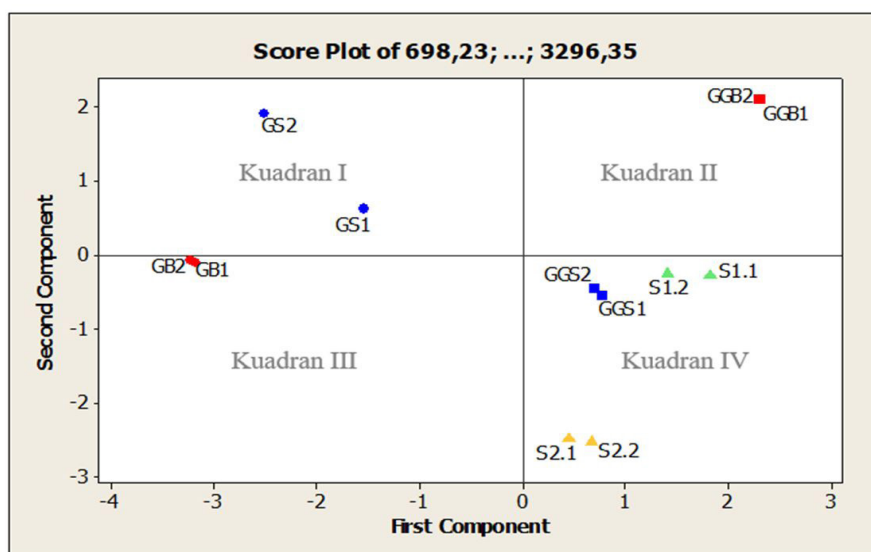
**Gambar 2. Hasil Perbandingan Spektrum FTIR Gelatin Sapi dan Babi dengan Gelatin Sapi dan Babi yang Diekstrak dari Simulasi *Gummy* Vitamin C**





Keterangan : (a) Gelatin Sapi Hasil Ekstraksi dari *Gummy* Vitamin C Simulasi; (b) Gelatin Hasil Ekstraksi dari Sampel 2; (c) Gelatin Babi Hasil Ekstraksi dari *Gummy* Vitamin C Simulasi; (d) Gelatin Hasil Ekstraksi dari Sampel 1

**Gambar 3. Hasil Perbandingan Spektrum FTIR Gelatin yang Diekstraksi dari Sampel Uji Coba dengan Gelatin Sapi dan Gelatin Babi yang Diekstrak dari Simulasi *Gummy* Vitamin C**



Keterangan : GB adalah Gelatin Babi; GS adalah Gelatin Sapi; GGB adalah Gelatin Babi dari *Gummy* Vitamin C Eksperimen; GGS adalah Gelatin Sapi dari *Gummy* Vitamin C Eksperimen; S1 adalah Gelatin 1; S2 adalah Sampel 2.

**Gambar 4. Kurva Score Plot Principal Component Analysis (PCA) dari Spektrum Gelatin**

Intensitas serapan sampel pada bilangan gelombang daerah spesifik gelatin dari spectrum FTIR dimasukkan ke dalam *worksheet* Minitab 15. Intensitas serapan yang dimasukkan adalah gelatin sapi standar, gelatin babi standar, gelatin sapi dan babi dari gummy vitamin C eksperimen, dan gelatin dari gummy vitamin C komersial. Hasil score plot dapat dilihat pada Gambar 4. Gambar 4 menunjukkan bahwa gelatin sapi berada pada kuadran I dan gelatin babi berada pada kuadran III. Gelatin sapi hasil ekstraksi dari gummy vitamin C

ekperimen berada pada kuadran IV sedangkan gelatin babi hasil ekstraksi dari gummy vitamin C ekperimen berada pada kuadran II. Gelatin sapi dan gelatin babi berada pada kuadran yang berbeda. Gelatin sapi standar dan gelatin sapi yang diekstraksi dari gummy vitamin C ekperimen juga berada pada kuadran yang berbeda, yang mengindikasikan bahwa proses produksi menyebabkan konformasi gelatin mengalami perubahan. Perubahan konformasi disebabkan oleh proses pemanasan, pengadukan dan penambahan vitamin C atau zat

tambahan lain seperti polisakarida (gula) sehingga dapat mempengaruhi komposisi gelatin pada masing-masing sampel.

Demikian juga dengan gelatin babi, mempunyai kuadran yang berbeda dengan gelatin babi yang diekstraksi dari gummy vitamin C eksperimen. Ini menunjukkan bahwa *score plot* dapat membuat perbedaan berdasarkan intensitas serapan yang dimasukkan ke dalam software. Dengan demikian PCA telah berhasil mengklasifikasikan gelatin berdasarkan sumbernya. Selanjutnya, gelatin yang diekstraksi dari gummy vitamin C komersial ternyata didapatkan berada pada kuadran yang sama dengan gelatin sapi yang diekstraksi dari gummy vitamin C eksperimen. Aturan pada kuadran *score plot* adalah bahwa semakin dekat letak titik (*plot*) dari sampel maka makin besar kemiripannya (sampel merupakan kelompok yang sama). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa gelatin yang dimiliki oleh gummy vitamin C komersial diduga adalah gelatin sapi. Sumber gelatin yang digunakan berasal dari hewan yang halal dikonsumsi oleh umat Islam.

## KESIMPULAN

Perbedaan gelatin sapi dan gelatin babi pada gummy vitamin C tidak dapat dilihat melalui spektrum FTIR. Namun dengan bantuan PCA, gelatin sapi dan gelatin babi pada gummy vitamin C dapat dibedakan. Metode FTIR yang dikombinasi dengan PCA dapat mengelompokkan gelatin sapi, gelatin babi, gelatin sapi dan gelatin babi yang diekstraksi dari gummy vitamin C eksperimen. Gummy vitamin C komersial diduga mengandung gelatin yang bersumber dari hewan sapi.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta untuk dana yang telah diberikan pada penelitian ini.

## DAFTAR ACUAN

Azira N, Amin, & Cheman YB. (2012). Differentiation of bovine and porcine gelatins in processed products via sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis and principal component analysis (PCA) techniques. *International Food Research Journal*. 19(3), 1175-1180.

Badan Pusat Statistik. (2014). <http://www.bps.go.id>

Brauner JW, Flach CR, & Mendelsohn R. (2005). A Quantitative Reconstruction of the Amide I Contour in the IR Spectra of Globular Proteins : From Structure to

Spectrum. *Journal of the American Chemical Society*, 127, 100–109.

Demirhan Y, Ulca P, & Senyuva HZ. (2012). Detection of porcine DNA in gelatine and gelatine-containing processed food products-Halal/Kosher authentication. *Meat Science*, 90, 686-689.

Fic E, Kedracka-Krok S, Jankowska U, Pirog A, & Dziedzicka-Wasylewska M. (2010). Comparison of protein precipitation methods for various rat brain structures prior to proteomic analysis. *Electrophoresis*, 31, 3573 – 3579.

Hashim DM, CheMan YB, Norakasha R, Suhaimi M, Salmah Y, & Syahariza ZA. (2010). Potential use of fourier transform infrared spectroscopy for differentiation of bovine and porcine gelatins. *Food Chemistry*, 118(3), 856–860.

Hidaka S, & Liu SY. (2003). Effects of gelatins on calcium phosphate precipitation: A possible application for distinguishing bovine bone gelatin from porcine skin gelatin, *Journal Food Composition Analysis*, 6, 477-483.

Hui YH. (2006). Handbook of Food Science, Technology, and Engineering, Volume 3.U.S:CRC Press.

Rohman A, Sismindari Y, Erwanto, Cheman YB. (2011). Analysis of pork adulteration in beef meatball using Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Meat Science*, 88, 91–95.

Rohman A, & Cheman YB. (2012). Analysis of pig derivatives for halal authentication studies. *Food Reviews International*, 28(1), 97–112.

Schrieber R, & Gareis H. (2007). *Gelatine Handbook : Theory and Industrial Practise*. Germany : Wiley-VCH Weinheim.

Singh P, Singh R, & Yadav A. (2010). Study of the optimized molecular structures and vibrational characteristics of neutral L-Ascorbic acid and its anion and cation using density functional theory. *Journal Chemical and Pharmaceutical Research*, 2(5), 656-681.

Smith AF. (2007). *The Oxford Companion to American Food and Drink*. New York : Oxford University press.

Venien A, & Levieux D. (2005). Differentiation of bovine from porcine gelatines using polyclonal anti-peptide antibodies in indirect and competitive indirect ELISA. *Journal Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 39(3), 418–424.

Zhang G, Liu T, Wang Q, Chen L, Lei J, Luo J, Ma G, & Su Z. (2009). Mass spectrometric detection of marker peptides in tryptic digests of gelatin: A new method to differentiate between bovine and porcine gelatin. *Food Hydrocolloids*, 23(7), 2001–2007.

Zilhadia, Yahdiana H, Irwandi J, & Effionora A. (2018). Characterization and functional properties of gelatin extracted from goatskin. *International Food Research Journal*, 25(1), 275-281.

Zilhadia, Izzah AN, & Betha OS. (2017). Perbandingan metode SYBR green dan hydrolysis probe dalam analisis DNA gelatin sapi dan babi menggunakan Real Time PCR. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 4(2), 16-23.