

Original Article

Autentikasi Halal: Aplikasi Spektroskopi FTIR Kombinasi Kemometrika untuk Analisis Lemak Babi dalam Campuran Biner dengan Lemak Sapi

Irnawati^{1*}, Ruslin¹, Prima Endang Susilowati² dan Ahmad Zaeni³

¹Program studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Halu Oleo, Kendari 93232, Indonesia

²Program studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Halu Oleo, Kendari, 93232, Indonesia

³Program Magister Kimia, Pascasarjana, Universitas Halu Oleo, Kendari, 93232, Indonesia

*Corresponding author: Irnawati | Email: irnawati.vhina@gmail.com

Received: 12 Juli 2021; Revised: 27 Juli 2021; Accepted: 29 Juli 2021; Published: 29 Juli 2021

Abstrak: Lemak hewani seperti lemak babi dan lemak sapi umumnya digunakan sebagai produk makanan dan karena alasan kesehatan dan isu agama sehingga dibutuhkan metode analisis yang efektif untuk analisis lemak hewani. Tujuan penelitian ini adalah aplikasi spektroskopi FTIR kombinasi kemometrika untuk analisis lemak babi dalam campuran biner dengan lemak sapi. Sebanyak 25 campuran lemak babi dan lemak sapi dipindai dengan spektrofotometer FTIR pada daerah bilangan gelombang 4000-650 cm^{-1} . Daerah bilangan gelombang dengan mode spektra yang berbeda (normal, derivatif pertama, dan derivatif kedua) dioptimasi menggunakan 2 jenis kalibrasi multivariat yaitu *principle component regression* (PCR) dan *partial least square regression* (PLSR). Selain itu, juga dilakukan klasifikasi lemak sapi terhadap lemak babi dalam campuran menggunakan analisis diskriminan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode PLSR dengan menggunakan spektra FTIR derivatif pertama pada daerah bilangan gelombang 3100-660 cm^{-1} dapat digunakan untuk mengkuantifikasi lemak babi dalam campuran biner dengan lemak sapi dengan nilai R^2 (koefisien determinasi) sebesar 0,9976 dan 0,9748 untuk kalibrasi dan validasi secara berturut-turut dengan kesalahan terendah untuk kalibrasi dan validasi secara berturut-turut sebesar 0,0162 dan 0,0558. Analisis diskriminan dengan menggunakan 10 komponen utama, mampu memisahkan lemak sapi murni dan lemak sapi dalam campuran dengan lemak babi dengan taraf akurasi sebesar 99,31%. Spektroskopi FTIR yang dikombinasi dengan kemometrika merupakan metode yang cep-at dan efektif untuk mendeteksi lemak babi dalam campuran dengan lemak sapi.

Keywords: lemak babi; lemak sapi; kalibrasi multivariat; kemometrika; autentikasi halal

1. PENDAHULUAN

Lemak hewani adalah lemak yang dapat diperoleh dari berbagai macam hewan misalnya sapi dan babi. Ketika hewan disembelih untuk mendapatkan dagingnya untuk dikonsumsi manusia, maka sekitar 50 % dari hewan tersebut merupakan *by-product* [1]. Lemak hewani merupakan campuran kompleks yang mengandung triasilgliserol, diasilgliserol, asam lemak bebas, fosfolipid, dan beberapa senyawa minor lainnya [2]. Lemak merupakan sumber energi yang sangat penting bagi manusia sehingga lemak hewani dijadikan sebagai bahan baku dalam pembuatan produk makanan misalnya roti, es krim, kembang gula, emulsi, dan margarin [3]

Lemak babi mengandung 46,2% asam lemak jenuh dan 45,2% asam lemak tak jenuh tunggal, dan 11,0% asam lemak tak jenuh ganda [4]. Lemak babi umumnya digunakan sebagai bahan baku

produk makanan. Penggunaan lemak babi dalam produk makanan dapat dilihat dalam 2 perspektif yaitu perspektif agama dan perspektif ekonomi. Dari perspektif ekonomi, industri makanan biasanya mencampurkan lemak babi dengan produk makanan lain seperti margarin untuk mengurangi biaya produksi. Sedangkan dari perspektif agama, misalnya agama islam melarang penganutnya untuk mengkonsumsi makanan yang mengandung lemak babi maupun derivatnya [5]. Oleh karena itu, diperlukan suatu metode analisis yang cepat dan efektif untuk mendeteksi lemak babi dalam makanan.

Beberapa peneliti telah mengembangkan metode analisis untuk mendeteksi lemak babi diantaranya: *gas liquid chromatography*, *high performance liquid chromatography*, *differential scanning calorimetry* [6], *gas chromatography-mass spectroscopy* [7], *electronis nose* [8], *Fluorescent light Spectroscope* [9]. Walaupun demikian, metode tersebut membutuhkan waktu yang lama dan perlu perlakuan khusus seperti derivatisasi sampel sebelum dianalisis. Karena alasan ini sehingga metode FTIR saat ini banyak digunakan untuk analisis lemak hewani

Metode FTIR yang dikombinasi dengan kemometrika merupakan metode yang menjanjikan dalam penelitian autentikasi halal. Metode ini cepat, tidak merusak sampel dan tidak perlu ada perlakuan khusus terhadap sampel. Metode spektroskopi FTIR telah digunakan untuk mendeteksi kualitas daging yang memiliki kualitas tinggi [10], deteksi dan kuantifikasi lemak babi dalam lemak susu sapi [11], deteksi cepat lemak babi dalam minyak sawit [12], analisis *cod liver oil* dalam lemak sapi [13]. Oleh karena itu, pada penelitian ini metode FTIR dikombinasikan dengan kemometrika digunakan untuk analisis lemak babi dalam campuran biner dengan lemak sapi.

2. BAHAN DAN METODE

2.1 Bahan

Jaringan adiposa sapi dan babi diperoleh dari pasar lokal Yogyakarta. Lemak sapi dan lemak babi diperoleh melalui proses *rendering* jaringan adiposa [14]. *Rendering* dilakukan dalam oven pada suhu 90-100°C selama 3 jam. Lemak cair disaring menggunakan kain kasa, kemudian ditambahkan Na₂SO₄ anhidrat untuk menghilangkan air. Lemak cair disentrifugasi selama 20 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Lapisan lemak diaduk dan disentrifugasi kembali sebelum disaring dengan kertas Whatmann. Sampel yang telah disaring digunakan untuk mempersiapkan sampel kalibrasi dan validasi. Pelarut *n*-heksana dan aseton p.a (Merk, Germany).

2.2 Persiapan sampel kalibrasi dan validasi

Sebanyak 25 set campuran lemak babi dan lemak sapi disiapkan untuk sampel kalibrasi dan validasi. Kisaran konsentrasi yang digunakan dipilih secara random dengan bantuan microsoft excel (Tabel 1). Semua sampel baik kalibrasi maupun validasi dipindai menggunakan spektrofotometer FTIR.

Tabel 1. Kisaran konsentrasi campuran biner lemak babi dan lemak sapi

Sampel	Konsentrasi (% v/v)	
	Lemak babi	Lemak sapi
1	9	91
2	20	80
3	24	76
4	25	75

Lanjutan Tabel 1...

5	26	74
6	29	71
7	33	67
8	37	63
9	41	59
10	42	58
11	49	51
12	51	49
13	55	45
14	57	43
15	59	41
16	63	37
17	65	35
18	66	34
19	68	32
20	72	28
21	75	25
22	84	16
23	86	14
24	94	6
25	96	4

2.3 Analisis diskriminan

Analisis diskriminan pada penelitian ini dilakukan untuk memisahkan lemak sapi murni dan lemak sapi yang tercampur dengan lemak babi. Training set lemak sapi murni dan lemak sapi yang dicampur dengan lemak babi disiapkan dengan mencampur lemak sapi dan lemak babi dalam campuran biner. Sampel lemak sapi murni dikategorikan sebagai "murni" dan lemak sapi yang dicampur dengan lemak babi kategorikan sebagai "campuran". Semua sampel dipindai menggunakan spektrofotometer FTIR.

2.4 Pemindaian spektra FTIR

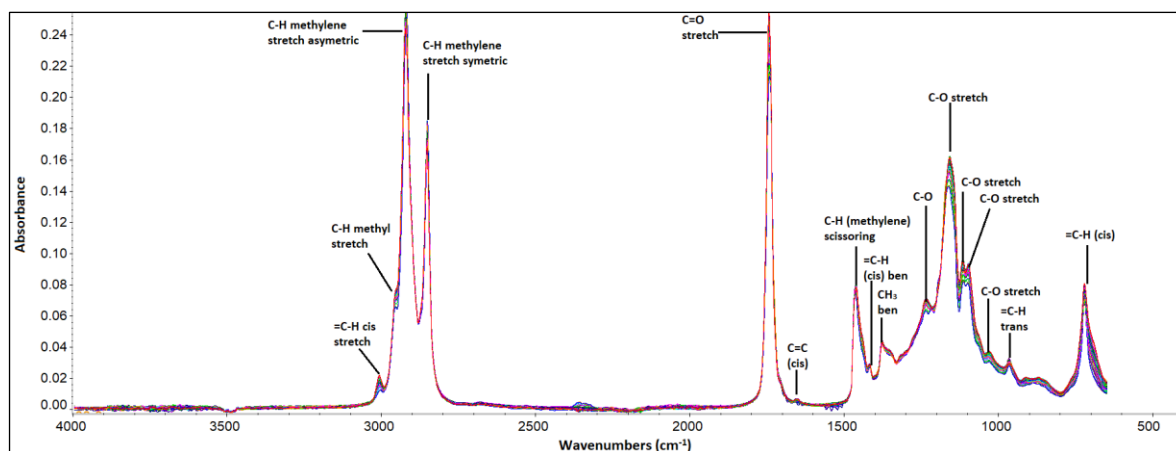
Pemindaian spektra FTIR semua sampel dilakukan dengan spektrometer FTIR Thermo Scientific™ Nicolet™ iS10 FTIR (Thermo Fisher Scientific, USA) yang di lengkapi dengan detektor *deuterated triglycine sulphate* (DTGS) yang terkoneksi dengan *software* OMNIC (Version 7.0 Thermo Nicolet). Tetesan lemak ditempatkan pada kristal *attenuated total reflectance* (ATR) dan pemindaian dilakukan sebanyak 32x dengan resolusi 8 cm^{-1} pada rentang bilangan gelombang 4000-650 cm^{-1} . Pemindaian setiap sampel dilakukan secara triplo. Pererekam spektrum *background* dilakukan setiap kali pengukuran sampel untuk menghindari variasi spektrum antarwaktu akibat pengaruh udara sekitar. Sebelum pemindaian awal dan setiap berganti sampel, kristal ATR dibersihkan dengan *n*-heksana dan aseton lalu dikeringkan dengan tisu halus. Tingkat kebersihan kristal diverifikasi dengan memindai spektrum latar belakang (*background*) dan membandingkan dengan yang sebelumnya.

2.5 Analisis kemometrika

Quantifikasi lemak babi dalam campuran biner dengan lemak sapi dianalisis menggunakan 2 jenis kalibrasi multivariat yaitu *principle component regression* (PCR) dan *partial least square regression* (PLSR) dengan parameter evaluasi berdasarkan nilai koefisien determinasi (R^2) tertinggi dan nilai kesalahan root mean square error in calibration (RMSEC) dan root mean square error of validation (RMSEP) terendah [15]. Analisis diskriminan antara lemak sapi murni dan lemak sapi dalam campuran biner dengan lemak babi dianalisis menggunakan software kemometrika yang sama.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambar 1 merupakan spektra FTIR campuran lemak babi dan lemak sapi yang digunakan dalam penelitian ini. Setiap puncak pada spektra FTIR menunjukkan gugus fungsi yang bertanggungjawab dalam menyerap sinar inframerah pada daerah bilangan gelombang 4000-650 cm^{-1} . Puncak pada bilangan gelombang 3007 cm^{-1} merupakan vibrasi regangan dari $\text{C}=\text{CH}$, sementara puncak pada bilangan gelombang 2970 cm^{-1} berasal dari vibrasi regangan asimetri metil ($-\text{CH}_3$). Puncak 2925 dan 2875 cm^{-1} secara berturut-turut merupakan vibrasi regangan asimetri dan simetri dari metilen ($-\text{CH}_2$). Vibrasi regangan karbonil ($\text{C}=\text{O}$) dapat dilihat pada puncak 1744 cm^{-1} dan vibrasi $\text{C}=\text{C}$ dapat dilihat pada puncak 1650 cm^{-1} . Puncak 1462, 1418 merupakan vibrasi tekukan dari metilen, sementara 1375 cm^{-1} merupakan vibrasi tekukan metil. Vibrasi $\text{C}-\text{O}$ dapat dilihat pada puncak 1226, 1160, 1117, 1098, dan 1031, sementara puncak 996 merupakan vibrasi tekukan *out of plane* dari $\text{HC}=\text{CH}$ - (trans) [16].



Gambar 1. Spektra FTIR 25 set campuran lemak babi dan lemak sapi yang dipindai sebanyak 32x dengan resolusi 8 cm^{-1} pada rentang bilangan gelombang 4000-650 cm^{-1} menggunakan aksesoris *horizontal attenuated total reflectance*.

Spektra FTIR biasa juga disebut sebagai alat untuk analisis sidik jari (finger print tools). Perbedaan spektra FTIR dari lemak sapi murni dan lemak sapi dalam campuran biner dengan lemak babi dioptimasi untuk analisis kuantitatif dan mengelompokannya menggunakan analisis diskriminan. Dua jenis kalibrasi multivariat yaitu PLSR dan PCR digunakan dalam penelitian ini untuk prediksi kandungan lemak babi dalam campuran biner dengan lemak sapi. Untuk mendapatkan model prediksi terbaik mode spektra (normal, derivatif pertama, dan derivatif kedua) dan daerah bilangan gelombang dioptimasi. Tabel 2 menampilkan hasil optimasi prediksi lemak babi dalam campuran biner dengan lemak sapi.

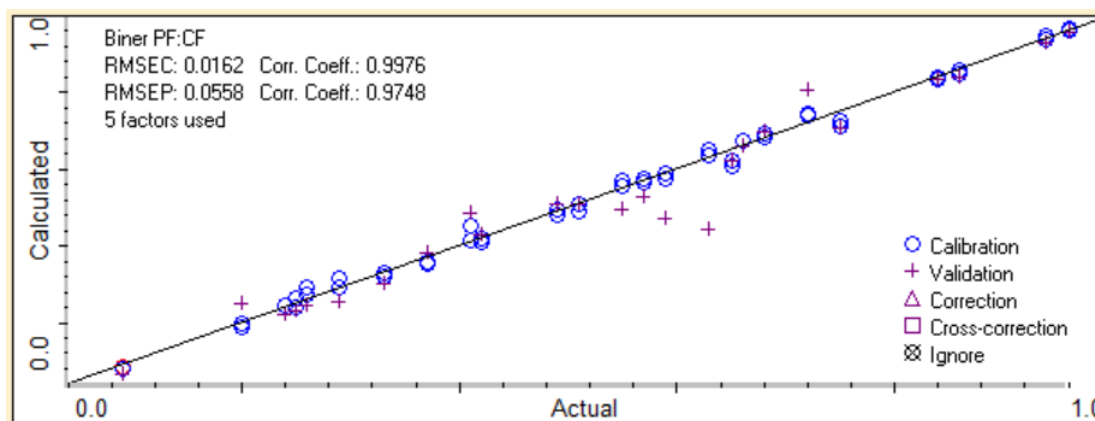
Table 2. Hasil optimasi prediksi lemak babi dalam campuran biner dengan lemak sapi

Kalibrasi multivariat	Bilangan gelombang (cm ⁻¹)	Spektra	Kalibrasi		Validasi		
			R ²	RMSEC	R ²	RMSEP	
PLSR	3100-660	normal	0,9933	0,0274	0,9663	0,0630	
		derivatif 1	0,9976	0,0162	0,9748	0,0558	
		derivatif 2	0,9890	0,0349	0,9758	0,0520	
	1800-660	normal	0,9636	0,0633	0,9593	0,0685	
		derivatif 1	0,9960	0,0213	0,9764	0,0546	
		derivatif 2	0,9953	0,0230	0,9615	0,0698	
	1500-1000	normal	0,9814	0,0455	0,9809	0,0464	
		derivatif 1	0,9845	0,0416	0,9534	0,0744	
		derivatif 2	0,9850	0,0408	0,9478	0,0785	
	3100-2750 and 1800-660	normal	0,9957	0,0219	0,9747	0,0549	
		derivatif 1	0,9961	0,0209	0,9704	0,0605	
		derivatif 2	0,9872	0,0377	0,9770	0,0508	
	3100-2750 and 1500-660	normal	0,9692	0,0583	0,9637	0,0644	
		derivatif 1	0,9795	0,0476	0,9785	0,0489	
		derivatif 2	0,9966	0,0195	0,9366	0,0895	
	PCR	3100-660	normal	0,9928	0,0284	0,9713	0,0583
			derivatif 1	0,9927	0,0285	0,9661	0,0652
			derivatif 2	0,9885	0,0358	0,9638	0,0640
1800-660		normal	0,9935	0,0269	0,9779	0,0511	
		derivatif 1	0,9940	0,0259	0,9750	0,0551	
		derivatif 2	0,9940	0,0259	0,9554	0,0743	
1500-1000		normal	0,9928	0,0283	0,9771	0,0525	
		derivatif 1	0,9908	0,0320	0,9666	0,0625	
		derivatif 2	0,9892	0,0347	0,9633	0,0663	
3100-2750 and 1800-660		normal	0,9937	0,0265	0,9755	0,0539	
		derivatif 1	0,9935	0,0270	0,9773	0,0524	
		derivatif 2	0,9930	0,0280	0,9613	0,0682	
3100-2750 and 1500-660		normal	0,9914	0,0310	0,9659	0,0636	
		derivatif 1	0,9918	0,0302	0,9583	0,0713	
		derivatif 2	0,9917	0,0305	0,9530	0,0745	

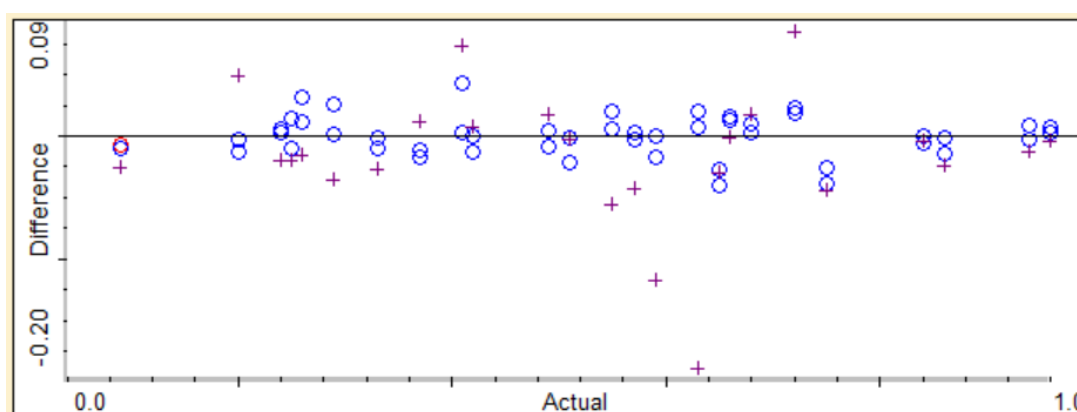
PLSR: *partial least square regression*, PCR: *principle component regression*, R²: koefisien determinasi, RMSEC: *root mean square error of calibration*, RMSEP: *root mean square error of prediction*, *yang dibalkan merupakan variabel terpilih

Metode PLSR dengan menggunakan spektra FTIR derivat pertama pada daerah bilangan gelombang 3100-660 cm⁻¹ dipilih untuk mengkuantifikasi lemak babi dalam campuran biner dengan lemak sapi. Pemilihan ini didasarkan pada nilai koefisien determinasi tertinggi (R²) yaitu sebesar 0,9976 dan 0,9748 untuk kalibrasi dan validasi secara berturut-turut. Nilai *root mean square error of calibration* (RMSEC) dan *root mean square error of prediction* (RMSEP) secara berturut-turut sebesar

0,0162 dan 0,0558. Nilai R^2 tertinggi dan nilai kesalahan terendah menunjukkan bahwa metode yang dikembangkan memiliki akurasi dan presisi yang bisa diterima [17]. Gambar 2a menunjukkan hubungan antara nilai aktual dan nilai prediksi lemak babi menggunakan spektra FTIR dan Gambar 2b merupakan hasil analisis residualnya. Hasil analisis residual menunjukkan bahwa tidak adanya kesalahan sistematik dalam pengembangan model prediksi lemak babi dalam campuran biner dengan lemak sapi.



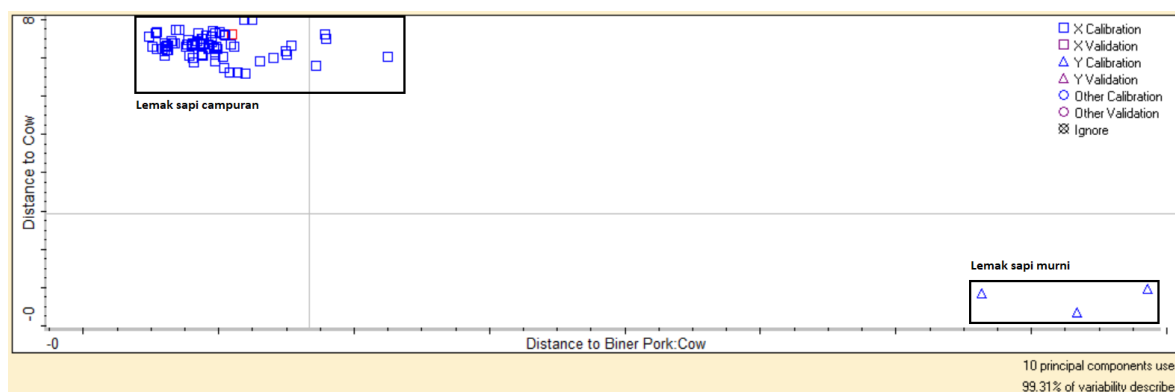
[a]



[b]

Gambar 2. Hubungan antara nilai aktual dan nilai prediksi lemak babi dalam campuran biner dengan lemak sapi [a], hasil analisis residual [b].

Selain itu, hasil analisis diskriminan mampu mengelompokkan lemak sapi murni terhadap lemak sapi yang tercampur dengan lemak babi dengan menggunakan 10 komponen utama pada taraf akurasi 99,31% (Gambar 3).



Gambar 3. Hasil analisis diskriminan lemak sapi murni terhadap lemak sapi dalam campuran biner dengan lemak babi.

4. KESIMPULAN

Spektroskopi FTIR yang dikombinasikan dengan PLSR telah berhasil digunakan untuk analisis lemak babi dalam campuran biner dengan lemak sapi. Analisis diskriminan mampu memisahkan antara lemak sapi murni dan lemak sapi yang tercampur dengan lemak babi. Spektra FTIR kombinasi kemometrika merupakan metode cepat dan efektif untuk analisis lemak babi.

Ucapan terima kasih: Penulis mengucapkan terima kasih kepada PUI-PT IHIS UGM yang telah membiayai penelitian ini

Conflicts of interest: "Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dalam penyusunan artikel ini."

Referensi

- 1 Sharma, H.; Giriprasad, R.; Goswami, M. Animal fat-Processing and Its Quality Control. *Journal of Food Processing & Technology* **2013**, *04*, doi: 10.4172/2157-7110.1000252.
- 2 van Ruth, S.M.; Villegas, B.; Akkermans, W.; Rozijn, M.; van der Kamp, H.; Koot, A. Prediction of the identity of fats and oils by their fatty acid, triacylglycerol and volatile compositions using PLS-DA. *Food Chem.* **2010**, *118*, 948–955. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.10.047.
- 3 Rios, R.V.; Durigan, M.; Pessanha, F.; De Almeida, P.F.; Viana, C.L; Caetano, S. Application of fats in some food products. *Food Sci. Technol.* **2014**, *34*, 3–15.
- 4 Agori, A. Source, Extraction and Constituents Of Fats And Oils. *HSOA J. Food Sci. Nutr.* **2020**, *6*, 1–8. doi: 10.24966/fnsn-1076/100060.
- 5 Fadzillah, N.A.; Rohman, A.; Salleh, R.A.; Amin, I.; Shuhaimi, M.; Farahwahida, M.Y.; Rashidi, O.; Aizat, J.M.; Khatib, A. Authentication of butter from lard adulteration using high-resolution of nuclear magnetic resonance spectroscopy and high-performance liquid chromatography. *Int. J. Food Prop.* **2017**, *20*, 2147–2156. doi: 10.1080/10942912.2016.1233428.
- 6 Marikkar, N.; Alinovi, M.; Chiavaro, E. Analytical approaches for discriminating native lard from other animal fats. *Ital. J. Food Sci.* **2021**, *33*, 106–115.
- 7 Ahda, M.; Guntarti, A.; Kusbandari, A.; Husna, M.; Rasyidah, I. Transesterification of triglycerides from chicken fat and lard using base catalysts and its discriminant analysis. *J. Halal Sci. Res.* **2020**, *1*, 9–14.
- 8 Nurjuliana, M.; Man, Y.B.C.; Hashim, D.M. Analysis of Lard's Aroma by an Electronic Nose for Rapid Halal

- Authentication. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2011**, *88*, 75–82.
- 9 Islam, K.Z.; Al Ahasan, M.A.; Hossain, M.S.; Rahman, M.H.; Mousumi, U.S.; Asaduzzaman, M. A Smart Fluorescent Light Spectroscope to Identify the Pork Adulteration for Halal Authentication. *Food and Nutrition Sciences*. **2021**, *12*, 73–89. doi: 10.4236/fns.2021.121007.
 - 10 Chiesa L.; Panseri, S.; Bonacci, A.; Procopio, A.; Zeconi, A.; Arioli, F.; Cuevas, J.M.; Moreno-Rojas. Authentication of Italian PDO lard using NIR spectroscopy, volatile profile and fatty acid composition combined with chemometrics. *Food Chem.* **2016**, *212*, 296–304. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.05.180.
 - 11 Windarsih, A.; Irnawati; Rohman, A. Application of FTIR - ATR spectroscopy and chemometrics for the detection and quantification of lard oil in bovine milk fat. *Food Res.* **2020**, *4*, 1732–1738.
 - 12 Rohman, A.; Kuwat, T.; Retno, S.; Sisindari; Yuny, E.; Tridjoko, W. Fourier transform infrared spectroscopy applied for rapid analysis of lard in palm oil. *Int. Food Res. J.* **2012**, *19*, 1161–1165.
 - 13 Rohman A.; Che Man, Y.B. Authentication analysis of cod liver oil from beef fat using fatty acid composition and FTIR spectra. *Food Addit. Contam. - Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess.* **2011**, *28*, 1469–1474. doi: 10.1080/19440049.2011.600727.
 - 14 Rohman A.; Che Man, Y.B. Analysis of cod-liver oil adulteration using fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *JAOCs, J. Am. Oil Chem. Soc.* **2009**, *86*, 1149–1153. doi: 10.1007/s11746-009-1453-9.
 - 15 Irnawati; Riyanto, S.; Martono, S.; Rohman, A. Determination of sesame oil, rice bran oil and pumpkin seed oil in ternary mixtures using FTIR spectroscopy and multivariate calibrations. *Food Res.* **2020**, *4*, 135–142. doi: 10.26656/fr.2017.4(1).260.
 - 16 Kurniawati, E.; Rohman, A.; Triyana, K. Analysis of lard in meatball broth using Fourier transform infrared spectroscopy and chemometrics. *Meat Sci.* **2014**, *96*, 94–98. doi: 10.1016/j.meatsci.2013.07.003.
 - 17 Irnawati, I.; Riyanto, S.; Martono, S.; Rohman, A. The employment of FTIR spectroscopy and chemometrics for authentication of essential oil of curcuma mangga from candle nut oil. *Food Res.* **2020**, *4*, 515–521. doi: 10.26656/fr.2017.4(2).313.



© 2021 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).