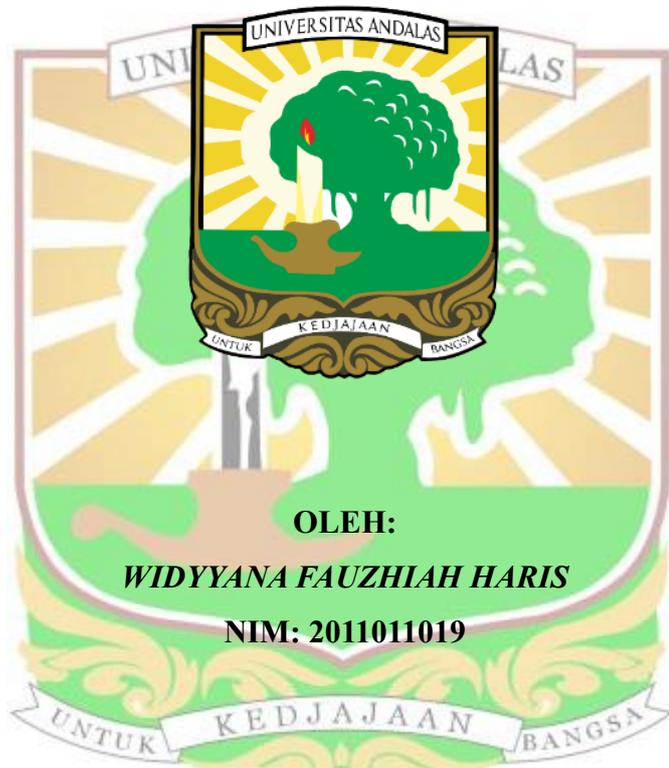


SKRIPSI SARJANA FARMASI

**AUTENTIKASI RENDANG SAPI DAN BABI MENGGUNAKAN
EKSTRAKSI METODE BLIGH DYER DAN ANALISIS GAS
CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY (GC-MS)
KOMBINASI KEMOMETRIK**



OLEH:

WIDYANA FAUZHIAH HARIS

NIM: 2011011019

Pembimbing:

apt. Suryati, S.Si., M.Sc, Ph.D

Dr. apt. Syofyan, S.Si., M.Farm

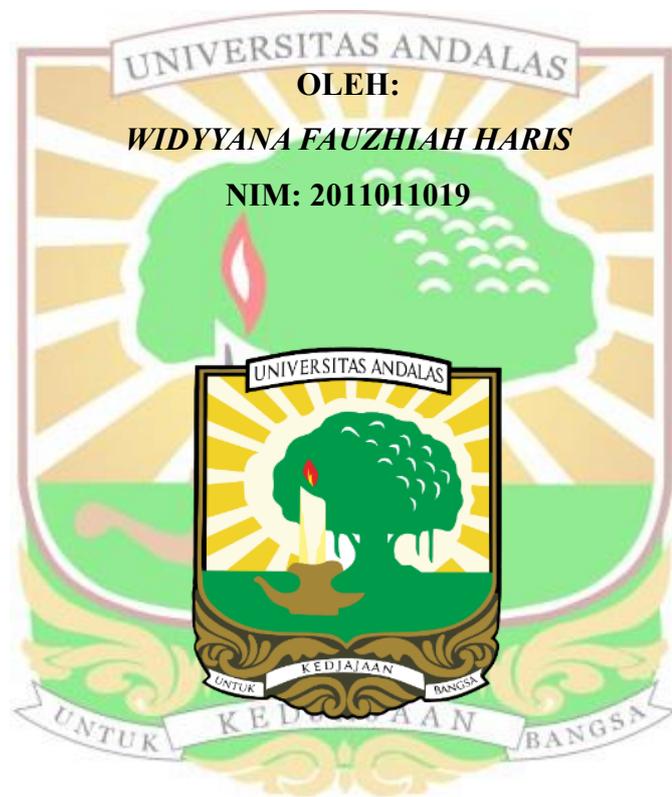
FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS ANDALAS

PADANG

2024

SKRIPSI SARJANA FARMASI

**AUTENTIKASI RENDANG SAPI DAN BABI MENGGUNAKAN
EKSTRAKSI METODE BLIGH DYER DAN ANALISIS GAS
CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY (GC-MS)
KOMBINASI KEMOMETRIK**



FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS ANDALAS

PADANG

2024

PERNYATAAN ORISINALITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

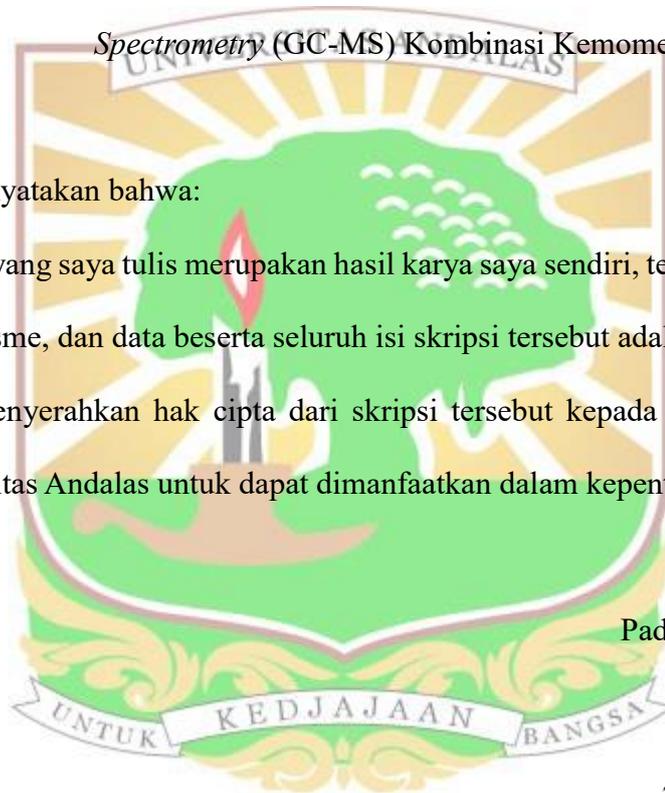
Nama : Widyana Fauzhiah Haris

NIM : 2011011019

Judul Skripsi : Autentikasi Rendang Sapi dan Babi Menggunakan Ekstraksi Metode Bligh Dyer dan Analisis *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) Kombinasi Kemometrik

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Skripsi yang saya tulis merupakan hasil karya saya sendiri, terhindar dari unsur plagiarisme, dan data beserta seluruh isi skripsi tersebut adalah benar adanya.
2. Saya menyerahkan hak cipta dari skripsi tersebut kepada Fakultas Farmasi Universitas Andalas untuk dapat dimanfaatkan dalam kepentingan akademis.

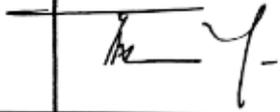


Padang, 18 Juni 2024

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Widyana Fauzhiah Haris', is written over the bottom right portion of the logo.

Widyana Fauzhiah Haris

Skripsi ini telah dipertahankan di depan Pembahas Hasil Penelitian
Fakultas Farmasi Universitas Andalas
Pada tanggal: 1 Juli 2024

No.	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1.	Dr. (Nat.Prod.Chem), Yohannes Alen, MSc	Ketua	
2.	Dr. Netty Suharti, MS	Pembahas	
3.	apt. Purnawan Pontana Putra, S.Si, M.Si	Pembahas	
4.	apt. Suryati, S.Si, M.Sc, Ph.D	Pembimbing I	
5.	Dr. apt. Syofyan, M.Farm	Pembimbing II	



**Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk menempuh Seminar Hasil
Penelitian Program Sarjana (S1) Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Andalas**

Nama : Widyana Fauzhiah Haris

NIM : 2011011019

Judul Penelitian : Autentikasi Rendang Sapi dan Babi Menggunakan

Ekstraksi Metode Bligh Dyer dan Analisis Gas
Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

Kombinasi Kemometrik

Disetujui oleh:

Pembimbing I

Pembimbing II



apt. Suryati, S.Si., M.Sc, Ph. D

Dr. apt. Syofyan, S.Si., M.Farm

NIP. 197906182012122005

NIP. 197111232008121001

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah rabbil'alamiin, segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan nikmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul **“Autentikasi Rendang Sapi dan Babi Menggunakan Ekstraksi Metode Bligh Dyer dan Analisis *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) Kombinasi Kemometrik”**, yang merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan program pendidikan Sarjana Farmasi di Universitas Andalas Padang.

Penulisan skripsi ini dipenuhi dengan do'a, kasih sayang, motivasi, dukungan, bantuan, serta saran dari berbagai pihak kepada penulis sehingga penulis mampu merampungkan skripsi ini dengan tujuan untuk menyelesaikan studi Sarjana Fakultas Farmasi di Universitas Andalas . Oleh karena itu, pada kesempatan ini izinkan penulis untuk menyampaikan serta mengabadikan rasa terima kasih penulis kepada:

1. Ibu Prof. apt. Fatma Sri Wahyuni, Ph.D selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Andalas.
2. Ibu Dr. apt. Meri Susanti, M.Farm selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Andalas.
3. Ibu apt. Suryati, S.Si., M.Sc, Ph. D selaku pembimbing I dan Bapak Dr. apt. Syofyan, S.Si., M.Farm selaku pembimbing II yang telah membimbing, mengarahkan, dan memberikan dukungan kepada penulis sejak dilaksanakannya penelitian hingga selesainya rangkaian proses penulisan skripsi penulis. Oleh karena itu, skripsi ini dapat diselesaikan dengan semaksimal mungkin.

4. Ibu Prof. Dr. apt. Armenia, MS selaku dosen penasehat akademik yang telah membantu dalam kelancaran studi penulis.
5. Bapak dan Ibu dosen pengajar Fakultas Farmasi Universitas Andalas yang telah memberikan ilmu serta pengalaman berharga kepada penulis.
6. Bapak dan Ibu analis laboratorium beserta seluruh civitas akademika Fakultas Farmasi Universitas Andalas yang telah membantu dan membimbing penulis selama mengikuti perkuliahan di Fakultas Farmasi Universitas Andalas.
7. Kedua orang tua hebat penulis, Ayah tercinta, Harispen, dan Bunda tersayang, Eliza. Terima kasih atas segala upaya dan usaha dalam merawat penulis, mulai dari dalam kandungan hingga detik ini. Terima kasih atas segala didikan berharga yang telah diberikan kepada penulis sehingga penulis mampu menjadi pribadi seperti saat ini dan akan terus berusaha untuk menjadi pribadi yang lebih baik lagi demi Ayah dan Bunda. Terima kasih karena telah selalu memberikan dukungan kepada penulis, tiada henti-hentinya memberikan segala bentuk perhatian, cinta dan kasih sayang kepada penulis. Terima kasih atas segala doa-doa yang Ayah dan Bunda panjatkan demi kelancaran dan kemudahan kehidupan penulis. Terima kasih karena telah selalu meyakinkan penulis bahwa penulis mampu melewati hal-hal yang penulis takutkan, selalu mengusahakan dan memberikan yang terbaik untuk penulis, selalu melindungi jalan yang penulis tempuh. Segala bentuk pencapaian yang telah penulis raih dipersembahkan untuk Ayah dan Bunda. Terima kasih karena telah selalu berada di sisi penulis, semoga kelak Allah SWT. membalas segala bentuk usaha, perjuangan, cinta, perhatian, dan kasih sayang yang telah Ayah dan Bunda berikan kepada penulis.

8. Saudara penulis, Abang kandung penulis, Fauzhan Rozy Fauzhy. Terima kasih telah membantu penulis untuk mengenali bagaimana cara dunia bekerja. Terima kasih telah lahir terlebih dahulu ke dunia ini sehingga berperan besar menjadi penuntun bagi penulis dalam menjalani kehidupan. Terima kasih telah mengenali dan mengajarkan penulis banyak hal yang tidak penulis ketahui. Terima kasih atas segala dukungan yang telah diberikan kepada penulis, baik itu dukungan moral maupun materi. Terima kasih atas segala waktu dan tenaga yang telah diberikan untuk penulis. Terima kasih karena senantiasa memberikan motivasi kepada penulis, menuntun dan menyemangati penulis dalam menjalani kehidupan perkuliahan. Terima kasih atas segala doa, perhatian, dan kasih sayang luar biasa yang telah diberikan kepada penulis. Terima kasih karena telah meyakinkan penulis bahwa penulis mampu menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini. Semoga Abang selalu berada dalam lindungan Allah SWT., selalu mendapatkan kebahagiaan di dunia maupun di akhirat kelak.
9. Teman terdekat penulis selama perkuliahan, yaitu Assyifa Nurul Sabila, Chyntia Dhiya Ulhaq, Nur Syarifatun Nisa, dan Saskia Pertiwi. Terima kasih atas segala hal baik yang telah diberikan kepada penulis. Terima kasih karena telah hadir dan mengisi hari-hari penulis selama menjalani proses perkuliahan, memberikan warna dalam kehidupan perkuliahan penulis. Terima kasih atas segala waktu yang telah diluangkan untuk penulis, baik itu untuk berdiskusi dan belajar bersama, bermain dan bersenda gurau untuk melepas lelah, hingga memberikan motivasi, perhatian, serta segala bentuk dukungan moral lainnya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan

skripsi penulis. Terima kasih karena telah selalu ada dan meyakinkan penulis bahwa penulis mampu menghadapi segala hal yang penulis ragukan. Semoga hal-hal baik selalu menyertai kalian.

10. Rekan yang senantiasa menemani penulis dalam melewati rangkaian panjang proses penulis untuk menjadi pribadi yang lebih baik, seorang pria hebat dengan pemilik nama Bripda Hammad Hafizh Kurnia. Terima kasih telah menjadi bagian dari perjalanan hidup penulis. Terima kasih karena telah memberikan banyak kontribusi dalam proses penulisan skripsi ini, baik itu waktu, tenaga, pikiran, serta materi. Terima kasih karena telah menemani penulis dalam melewati masa-masa sulit, selalu mendengar dan menanggapi keluh kesah yang dialami penulis, selalu memberikan motivasi dan menjadi penyemangat untuk penulis sehingga penulis mampu bangkit untuk terus berjuang dan berusaha dalam menyelesaikan skripsi ini. Terima kasih karena selalu sabar dalam menghadapi penulis, selalu menghibur dan membahagiakan penulis, serta senantiasa mengusahakan yang terbaik untuk penulis. Terima kasih karena telah bersedia untuk tumbuh bersama penulis, sejak melekatnya baju putih abu-abu di badan setiap hari Senin dan Selasa hingga melekatnya gelar dan pangkat itu di nama kita. Semoga kita selalu tumbuh bersama menjadi pribadi yang lebih baik lagi dan mewujudkan segala bentuk impian serta keinginan yang telah dirancang bersama.

11. Seorang wanita bernama Widyyana Fauzhiah Haris. Teruntuk diri sendiri, terima kasih karena selalu berjuang dan berusaha menghadapi segala bentuk tantangan di dunia ini. Terima kasih untuk tidak menjadikan kata menyerah sebagai pilihan. Terima kasih karena telah memilih untuk terus berjuang dan

berusaha meskipun harus menghadapi berbagai tahapan yang tidak mudah untuk dilewati. Terima kasih karena telah memilih untuk bangkit melewati masa-masa sulit, kuat dalam menghadapi segala rintangan, serta selalu mengusahakan yang terbaik selama menjalani kehidupan. Apresiasi sebesar-besarnya kepada diri ini karena telah bertanggungjawab untuk menyelesaikan studi Sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Andalas. Hal ini merupakan pencapaian yang patut untuk dirayakan dan dibanggakan. Bersyukurlah selalu atas segala kekurangan maupun kelebihan yang menyertai diri ini. Perjalanan masih panjang, bersiaplah untuk menghadapi segala proses dan tantangan yang akan hadir di masa depan. Ayo kejar segala bentuk impian itu.

12. Rekan-rekan Fakultas Farmasi Universitas Andalas angkatan 2020 (Captory), Keluarga Besar Mahasiswa Farmasi (KBMF), dan teman-teman seperjuangan yang telah memberikan dukungan dan saran kepada penulis.
13. Peneliti serta seluruh teknisi di Laboratorium Pusat Penelitian Ternak Tropik, Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada yang telah membantu dalam kelancaran penelitian penulis.

Semoga penelitian ini bermanfaat dan Allah SWT melimpahkan rahmat-Nya bagi kita semua.

Padang, 18 Juni 2024



Widyyana Fauzhiah Haris

ABSTRAK

AUTENTIKASI RENDANG SAPI DAN BABI MENGGUNAKAN EKSTRAKSI METODE BLIGH DYER DAN ANALISIS GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY (GC-MS) KOMBINASI KEMOMETRIK

Oleh:
WIDYYANA FAUZHIAH HARIS
NIM: 2011011019
(Program Studi Sarjana Farmasi)

Rendang merupakan makanan tradisional Sumatera Barat yang menggunakan daging sapi sebagai bahan utama serta dimasak dengan campuran santan dan rempah-rempah. Keinginan pemilik rumah makan untuk mencari keuntungan lebih mengakibatkan rendang sapi berisiko tinggi untuk dipalsukan dengan daging lainnya yang memiliki harga lebih murah, seperti daging babi hutan dan/atau babi ternak. Pemalsuan ini berisiko membahayakan kesehatan konsumen dan melanggar syariat islam. Penelitian ini bertujuan untuk membedakan kandungan asam lemak di dalam rendang sapi serta mengidentifikasi pemalsuan rendang sapi yang dijual oleh rumah makan di Kota Padang dengan daging babi hutan dan/atau babi ternak menggunakan instrumen GC-MS yang dikombinasikan dengan kemometrik. Lemak diekstraksi menggunakan metode Bligh-Dyer kemudian dianalisis dengan GC-MS dan dilanjutkan kemometrik *Principle Component Analysis (PCA)*. Profil kromatogram GC-MS menunjukkan bahwa terdapat perbedaan komposisi asam lemak antara daging sapi, babi hutan, dan babi ternak. Asam myristoleat (0,12%), asam trikosanoat (0,11%), dan asam kaproat (0,07%) merupakan asam lemak hanya ditemukan di daging sapi. Daging babi hutan dan babi ternak mengandung asam 11,14,17-eikosatrienoat (0,22%, 0,03%) yang tidak terdeteksi di dalam daging sapi. Analisis PCA berhasil membedakan daging sapi, babi hutan, dan babi ternak berdasarkan perbedaan konsentrasi kandungan asam lemaknya. Rendang yang berasal dari lima rumah makan diidentifikasi berada dalam kelompok sapi sehingga kelima rendang rumah makan tersebut diprediksi tidak mengandung daging babi hutan dan/atau babi ternak. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa analisis GC-MS kombinasi kemometrik metode PCA merupakan metode yang tepat dalam mengidentifikasi pemalsuan rendang.

Kata kunci: rendang, Bligh-Dyer, asam lemak, GC-MS, kemometrik PCA

ABSTRACT

AUTHENTICATION OF BEEF, PORK, AND WILD BOAR RENDANG USING BLIGH DYER EXTRACTION METHOD AND ANALYSIS BY CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY (GC-MS) COMBINED WITH CHEMOMETRIC

By:

WIDYYANA FAUZHIAH HARIS

NIM: 2011011019

(Bachelor of Pharmacy)

Rendang is a traditional dish from West Sumatra that uses beef as its main ingredient and cooked with a mixture of coconut milk and spices. The desire of restaurant owners to seek more profit has led to a high risk of beef rendang being adulterated with cheaper meats, such as wild boar and/or pork. This adulteration poses a risk to consumer health and violates Islamic dietary laws. This research aims to differentiate the fatty acid content in beef rendang and identify adulterated beef rendang sold by restaurants in Padang City with wild boar and/or pork using GC-MS instrumentation combined with chemometrics. Fat was extracted using the Bligh-Dyer method, then analyzed with GC-MS followed by Principle Component Analysis (PCA) chemometrics. GC-MS chromatogram profiles showed differences in fatty acid composition between beef, wild boar, and pork. Myristoleic acid (0.12%), tricosanoic acid (0.11%), and caproic acid (0.07%) were fatty acids found only in beef. Wild boar and pork contained 11,14,17-eicosatrienoic acid (0,22%, 0,03%), which was not detected in beef. PCA analysis successfully differentiated beef, wild boar, and pork based on differences in their fatty acid concentration. Rendang from five restaurants was identified to belong to the beef group, indicating that the rendang from these five restaurants is predicted not contain wild boar and/or domestic pig meat. Therefore, it can be concluded that GC-MS combined with PCA chemometrics is a suitable method for identifying adulteration in rendang.

Keywords: rendang, Bligh-Dyer, fatty acids, GC-MS, chemometrics PCA

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS CIPTA	ii
LEMBAR PENGESAHAN PEMBIMBING	iii
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Rendang.....	5
2.1.1 Deskripsi Rendang	5
2.1.2 Kandungan Rendang	6
2.2 Lemak.....	7
2.2.1 Definisi Lemak.....	7
2.2.2 Sumber Lemak	8
2.2.3 Karakteristik Daging Sapi	9
2.2.4 Karakteristik Daging Babi	10
2.2.5 Perbedaan Daging Sapi dan Daging Babi	11
2.2.6 Metode Hidrolisis Asam.....	14
2.2.7 Metode Ekstraksi Lemak.....	15

2.2.8	Metode Derivatisasi Lemak	16
2.3	Kehalalan Produk Makanan	19
2.3.1	Konsep Kehalalan Makanan	19
2.3.2	Regulasi Kehalalan Makanan di Indonesia	20
2.4	Autentikasi Makanan	21
2.4.1	Prinsip Autentikasi Makanan	21
2.4.2	Urgensi Autentikasi Makanan	22
2.4.3	Metode Autentikasi Makanan	22
2.5	Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS)	24
2.5.1	Prinsip GC-MS	24
2.5.2	Komponen GC-MS	25
2.5.3	Mekanisme Kerja GC-MS	28
2.5.4	Metode Analisis Autentikasi Makanan Menggunakan GC-MS	29
2.6	Analisis Kemometrik	29
2.6.1	Definisi Analisis Kemometrik	29
2.6.2	Jenis Analisis Kemometrik	30
2.6.3	Aplikasi Analisis Kemometrik dalam Farmasi	33
BAB III METODE PENELITIAN		35
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian	35
3.2	Alat dan Bahan	35
3.2.1	Alat	35
3.2.2	Bahan	35
3.3	Prosedur Kerja	36
3.3.1	Penyiapan Rendang	36
3.3.2	Hidrolisis Asam	36
3.3.3	Ekstraksi Lemak dengan Metode Bligh-Dyer	37
3.3.4	Derivatisasi Asam Lemak	37
3.3.5	Analisis Asam Lemak dengan GC-MS	37
3.3.6	Analisis Kemometrik	38
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		39
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		61
5.1	Kesimpulan	61
5.2	Saran	61

DAFTAR PUSTAKA..... 62
LAMPIRAN..... 72



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Perbedaan lemak nabati dengan lemak hewani.....	8
Tabel 2.2 Kandungan asam lemak sapi.....	10
Tabel 2.3 Kandungan asam lemak babi hutan dan babi ternak.....	11
Tabel 2.4 Perbedaan asam lemak pada lemak sapi dan babi.....	12
Tabel 2.5 Perbedaan metabolit sekunder daging sapi dan daging babi.....	14
Tabel 2.6 Analisis autentikasi makanan pada produk berbasis daging.....	23
Tabel 3.1 Kondisi instrumen GC-MS.....	37
Tabel 4.1 Perbedaan daging sapi, babi ternak, dan babi hutan.....	39
Tabel 4.2 Kandungan asam lemak metil ester.....	49
Tabel 4.3 Fragmentasi spektrum massa senyawa mayor yang teridentifikasi.....	55
Tabel 4.4 Fragmentasi spektrum massa senyawa yang membedakan daging sapi, babi ternak, dan babi hutan.....	56



DAFTAR GAMBAR

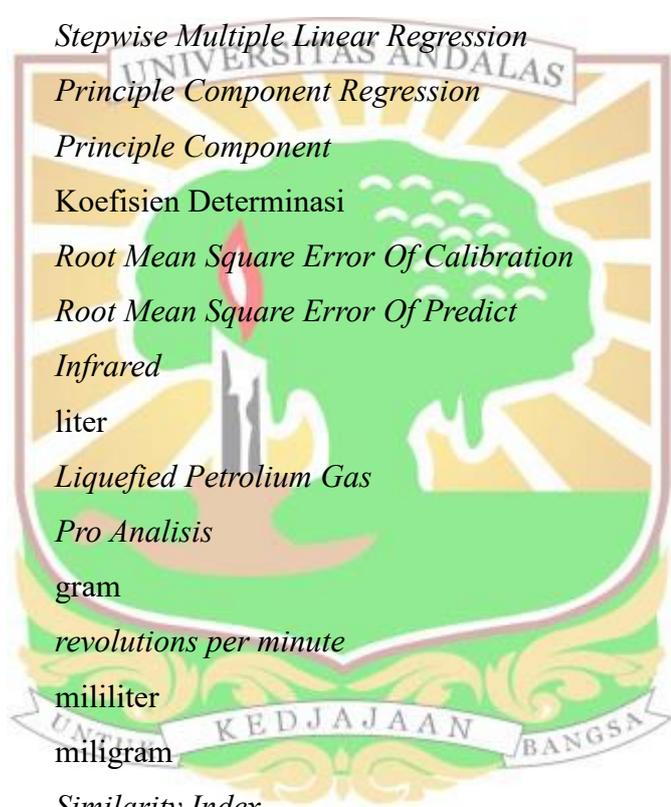
Gambar 2.1 Skema GC-MS	26
Gambar 4.1 a) Daging Sapi; b) Daging Babi Ternak; c) Daging Babi Hutan.....	39
Gambar 4.2 Mekanisme Reaksi Transesterifikasi	43
Gambar 4.3 Kromatogram a) Rendang Sapi; b) Rendang Babi Hutan; c) Rendang Babi Ternak	46
Gambar 4.4 Kromatogram a) Daging Sapi Mentah; b) Daging Babi Hutan Mentah; c) Daging Babi Ternak Mentah	47
Gambar 4.5 Kromatogram a) Rendang RM 1; b) Rendang RM 2; c) Rendang RM 3; d) Rendang RM 4; e) Rendang RM 5	48
Gambar 4.6 Persentase SFA, MUFA, dan PUFA	53
Gambar 4.7 Struktur Molekul Senyawa Mayor yang Teridentifikasi	56
Gambar 4.8 Struktur Molekul Senyawa yang Membedakan Daging Sapi, Babi Ternak, dan Babi Hutan.....	57
Gambar 4.9 Analisis Kemometrik PCA	58



DAFTAR SINGKATAN

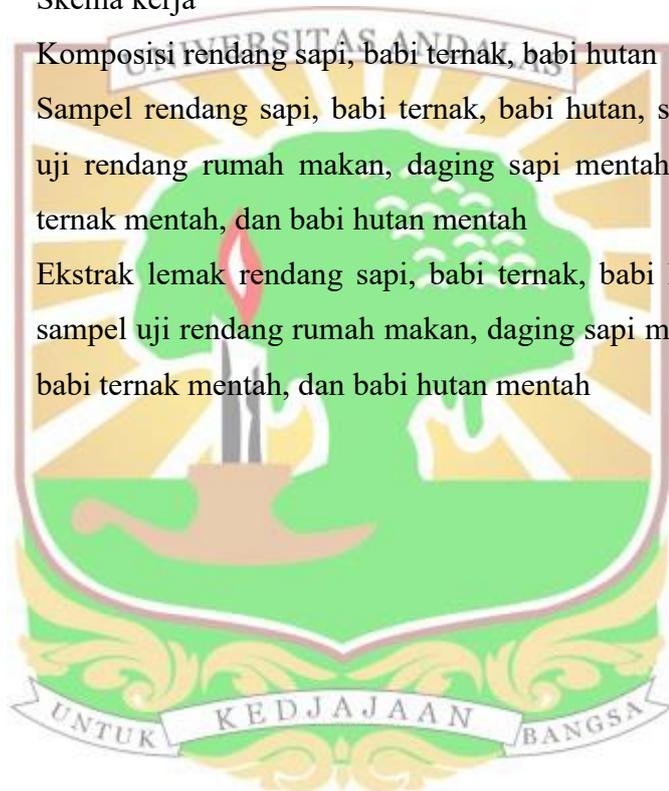
Singkatan	Nama	Penggunaan pertama kali pada halaman
GC-MS	<i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i>	i
PCA	<i>Principle Component Analysis</i>	vi
RT-PCR	<i>Real-Time Polymerase Chain Reaction</i>	2
dddPCR	<i>duplex droplet digital PCR</i>	2
FTIR	<i>Fourier Trnsform-Infrared Spectroscopy</i>	2
MCFA	<i>Medium Chain Fatty Acid</i>	6
LCFA	<i>Long Chain Fatty Acid</i>	6
FFA	<i>Free Fatty Acid</i>	6
SFA	<i>Saturated Fatty Acid</i>	7
UFA	<i>Unsaturated Fatty Acid</i>	7
MUFA	<i>Mono-Unsaturated Fatty Acid</i>	8
PUFA	<i>Poli-Unsaturated Fatty Acid</i>	8
HCl	<i>Hydrogen Klorida</i>	14
FAME	<i>Fatty Acid Methyl Ester</i>	16
NaOH	<i>Natrium hidroksida</i>	17
KOH	<i>Kalium hidroksida</i>	17
H ₂ SO ₄	<i>Asam sulfat</i>	17
H ₂ PO ₄	<i>Asam fosfat</i>	17
BF ₃	<i>Boron triflorida</i>	18
NaOCH ₃	<i>Natrium Metoksida</i>	19
NaHSO ₄	<i>Natrium Bisulfat</i>	19
MUI	<i>Majelis Ulama Indonesia</i>	20
KMA	<i>Keputusan Menteri Agama</i>	20
BPJPH	<i>Badan Penyelenggara Jaminan Produk Halal</i>	20
DNA	<i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>	22
PLS	<i>Partial Least Square</i>	23
MS	<i>Spektrometri Massa</i>	25
GC	<i>Kromatografi Gas</i>	25

RT	<i>Retention time</i>	25
m/z	<i>Mass-to-charge Ratio</i>	26
ICS	<i>International Chemometrics Society</i>	29
CA	<i>Cluster Analysis</i>	30
DA	<i>Discriminant Analysis</i>	31
PLS-DA	<i>Partial Least Square Discriminant Analysis</i>	31
OPLS-DA	<i>Orthogonal Projection to Latent Structures Discriminant Analysis</i>	31
CLS	<i>Classical Least Square</i>	32
SMLR	<i>Stepwise Multiple Linear Regression</i>	32
PCR	<i>Principle Component Regression</i>	32
PC	<i>Principle Component</i>	32
R ²	<i>Koefisien Determinasi</i>	33
RMSEC	<i>Root Mean Square Error Of Calibration</i>	33
RMSEP	<i>Root Mean Square Error Of Predict</i>	33
IR	<i>Infrared</i>	34
L	<i>liter</i>	35
LPG	<i>Liquefied Petroleum Gas</i>	35
PA	<i>Pro Analisis</i>	36
gr	<i>gram</i>	36
rpm	<i>revolutions per minute</i>	36
ml	<i>mililiter</i>	37
mg	<i>miligram</i>	37
SI	<i>Similarity Index</i>	37



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.a.	Pelabelan sampel rendang sapi, babi ternak, babi hutan, daging sapi mentah, babi ternak mentah, babi hutan mentah, serta sampel uji rendang rumah makan	71
Lampiran 1.b.	Spektrum Massa Senyawa Mayor Asam Lemak Metil Ester	72
Lampiran 2.a.	Rendemen ekstrak lemak rendang sapi, babi ternak, babi hutan, sampel uji rendang rumah makan, daging sapi mentah, babi ternak mentah, dan babi hutan mentah	75
Lampiran 3.a.	Skema kerja	77
Lampiran 3.b.	Komposisi rendang sapi, babi ternak, babi hutan	78
Lampiran 3.c.	Sampel rendang sapi, babi ternak, babi hutan, sampel uji rendang rumah makan, daging sapi mentah, babi ternak mentah, dan babi hutan mentah	79
Lampiran 3.d.	Ekstrak lemak rendang sapi, babi ternak, babi hutan, sampel uji rendang rumah makan, daging sapi mentah, babi ternak mentah, dan babi hutan mentah	81



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Rendang merupakan makanan tradisional Sumatera Barat berbahan dasar daging yang dimasak dengan campuran santan dan rempah-rempah (1). Bahan baku utama dalam pembuatan rendang adalah daging sapi (2). Namun demikian, dikarenakan harga daging sapi di Indonesia yang cenderung tinggi serta sering terjadi kenaikan harga akibat kelangkaan stok daging sapi pada hari-hari tertentu, seperti menjelang hari raya keagamaan, mengakibatkan tingginya risiko pemalsuan produk makanan dari daging sapi (3).

Pemalsuan makanan berbahan dasar daging sapi dilakukan dengan menambahkan jenis daging lain ke dalam makanan tersebut. Pada umumnya, jenis daging yang dipilih merupakan daging dengan harga yang relatif lebih murah dibandingkan dengan harga daging sapi. Misalnya pencampuran antara daging sapi dengan daging babi yang dilakukan oleh oknum tertentu untuk menekan biaya produksi (4). Hal ini dilakukan karena daging babi merupakan daging dengan harga yang lebih murah dari daging sapi namun memiliki karakteristik paling mendekati daging sapi dibandingkan dengan jenis daging lainnya. Fenomena ini merupakan ancaman yang serius terkait keamanan dan kehalalan produk olahan daging bagi konsumen (5).

Salah satu konsep kehalalan makanan dalam islam adalah tidak boleh mengandung sedikitpun daging babi ataupun lemak hewani yang berasal dari babi. Sedikit apapun komposisi lemak babi yang terkandung dalam makanan akan membuat makanan tersebut menjadi haram untuk dikonsumsi (6). Oleh karena itu, dibutuhkan metode yang mampu memastikan keaslian produk makanan dari daging sapi dengan mendeteksi ada atau tidaknya kandungan daging babi.

Autentikasi makanan merupakan metode yang bertujuan untuk memastikan keaslian produk makanan (7). Autentikasi makanan mampu mendeteksi pemalsuan makanan yang merupakan permasalahan utama dalam industri makanan (4). Saat ini, banyak terdapat metode analisis yang digunakan untuk mendeteksi autentikasi

makanan halal, antara lain metode analisis *Real-Time Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR), *duplex droplet digital PCR* (dddPCR), *Gas Chromatography-Mass Spectrophotometri* (GC-MS), dan *Fourier Trnsform-Infrared Spectroscopy* (FTIR) (8).

Analisis asam lemak menggunakan GC-MS dilakukan setelah sampel diekstraksi dan diderivatisasi. Salah satu metode ekstraksi yang dapat dilakukan adalah Bligh-Dyer. Bligh-Dyer merupakan metode ekstraksi lemak yang dilakukan dengan menggunakan pelarut dua fase, yaitu kloroform:metanol (1:2 v/v) (9). Metode ekstraksi dengan kombinasi pelarut kloroform pertama kali dikembangkan oleh Folch lalu dimodifikasi oleh Bligh-Dyer dengan tujuan untuk mengurangi toksisitas dari kloroform (10). Selain itu, metode Bligh-Dyer dikembangkan sebagai metode yang lebih ekonomis untuk mengekstrak lemak dibandingkan dengan metode Folch (11). Lemak yang telah diekstraksi kemudian diderivatisasi. Derivatisasi bertujuan untuk mengubah asam lemak menjadi derivat esternya agar menjadi senyawa yang lebih volatil sehingga dapat dianalisis dengan GC-MS (8) (12). Sampel yang telah diderivatisasi akan dilakukan analisis autentikasi menggunakan instrumen GC-MS.

GC-MS mendeteksi kandungan asam lemak babi dengan melihat komposisi asam lemak yang terkandung dalam suatu produk makanan. Hasil analisis GC-MS berfungsi untuk menentukan komposisi asam lemak yang paling dominan dari suatu sampel serta untuk menentukan perbedaan komposisi masing-masing asam lemak yang terdapat pada sampel uji (13). Metode GC-MS dipilih untuk mendeteksi campuran daging babi dalam produk makanan olahan daging sapi karena mampu mengonfirmasi kandungan asam lemak yang menjadi senyawa penanda pada lemak babi. Komposisi asam lemak merupakan indikator spesifik dalam mendeteksi pemalsuan makanan berbahan dasar daging dengan menggunakan GC-MS (14).

Metode autentikasi makanan menggunakan GC-MS sering dikombinasikan dengan kemometrik. Kemometrik merupakan ilmu yang mengaplikasikan teori matematika dan statistika untuk mengolah data kimia yang bersifat kompleks sehingga sangat sulit untuk dievaluasi, seperti kromatogram dan spektrum

molekuler. Analisis kemometrik dapat memperoleh informasi sebanyak mungkin dari data-data tersebut (15).

Kemometrik digunakan untuk pengelompokkan (analisis kualitatif) dan kalibrasi multivariat (analisis kuantitatif). PCA (*principle component analysis*) merupakan analisis kualitatif yang mampu mengelompokkan berbagai jenis asam lemak, seperti asam lemak dari rendang sapi, rendang babi hutan, dan rendang babi ternak berdasarkan karakteristik asam lemaknya. Analisis kemometrik PCA dari data asam lemak mampu menunjukkan perbedaan antara asam lemak babi dengan asam lemak sapi (16). Dengan demikian, PCA dapat digunakan untuk menentukan apakah sampel rendang rumah makan tersebut mengandung campuran daging babi atau tidak berdasarkan kandungan asam lemaknya (17).

Berdasarkan penelusuran literatur, analisis GC-MS kombinasi kemometrik telah banyak digunakan untuk autentikasi produk makanan berbahan dasar daging. Lestari et al., (2023) mengklasifikasikan lemak tikus putih yang terkandung dalam makanan menggunakan GC-MS dan analisis kemometrik PCA (18). Nugraha et al., (2018) menggunakan GC-MS kombinasi kemometrik PCA untuk mengelompokkan kandungan asam lemak anjing pada bakso sapi (19). Nurjuliana et al., (2011) juga menggunakan GC-MS bersama PCA untuk mengidentifikasi serta membedakan antara lemak babi dengan lemak sapi, kambing dan ayam yang terkandung di dalam sosis (20). Namun, hingga saat ini belum ditemukan analisis GC-MS kombinasi kemometrik PCA untuk menganalisis pemalsuan rendang sapi menggunakan daging babi. Oleh karena itu, dibutuhkan penelitian lebih lanjut yang diharapkan dapat mengembangkan metode pengelompokkan asam lemak dari rendang sapi, rendang babi hutan, dan rendang babi ternak menggunakan asam lemak yang diekstraksi dengan metode Bligh-Dyer melalui analisis GC-MS kombinasi kemometrik PCA.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan penjelasan latar belakang diatas, dapat dirumuskan beberapa masalah sebagai berikut:

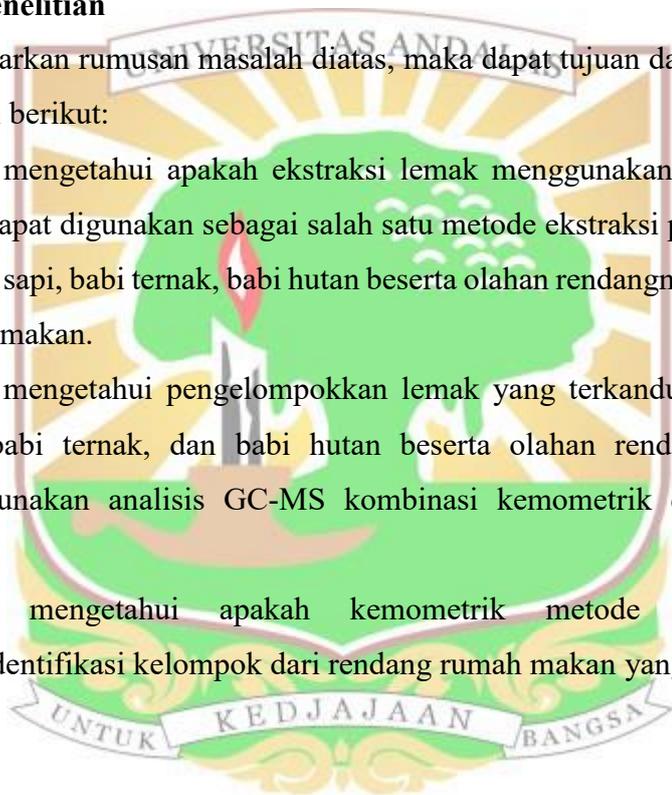
1. Apakah ekstraksi lemak menggunakan metode Bligh-Dyer dapat digunakan sebagai salah satu metode ekstraksi pada autentikasi daging

- sapi, babi ternak, babi hutan beserta olahan rendangnya, dan rendang rumah makan?
2. Bagaimanakah pengelompokkan lemak yang terkandung dari daging sapi, babi ternak, dan babi hutan beserta olahan rendangnya dengan menggunakan analisis GC-MS kombinasi kemometrik dengan metode PCA?
 3. Apakah kemometrik metode PCA mampu mengidentifikasi kelompok dari rendang rumah makan yang diuji?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, maka dapat tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui apakah ekstraksi lemak menggunakan metode Bligh-Dyer dapat digunakan sebagai salah satu metode ekstraksi pada autentikasi daging sapi, babi ternak, babi hutan beserta olahan rendangnya, dan rendang rumah makan.
2. Untuk mengetahui pengelompokkan lemak yang terkandung dari daging sapi, babi ternak, dan babi hutan beserta olahan rendangnya dengan menggunakan analisis GC-MS kombinasi kemometrik dengan metode PCA.
3. Untuk mengetahui apakah kemometrik metode PCA mampu mengidentifikasi kelompok dari rendang rumah makan yang diuji.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rendang

2.1.1 Deskripsi Rendang

Rendang merupakan makanan khas dari Sumatera Barat, Indonesia. Rendang memiliki rasa yang khas dan kaya akan protein. Daging sapi merupakan bahan baku utama dalam pembuatan rendang. Daging sapi mempunyai banyak manfaat bagi kesehatan karena kaya akan serat, lemak dan protein. Dalam satu gram daging sapi mengandung 18,80 protein. Salah satu manfaat protein adalah sebagai sumber energi dan memperbaiki jaringan tubuh (2).

Proses memasak rendang memakan waktu yang lama, yaitu sekitar 6 - 7 jam, dengan suhu berkisar 80 - 90°C. Rendang dimasak hingga daging menjadi lunak dan empuk serta warnanya berubah menjadi coklat tua atau hitam serta memberikan rasa dan aroma yang khas. Proses memasak dengan teknik tersebut bertujuan untuk memperpanjang umur penyimpanan rendang. Selama proses tersebut, ada tiga jenis makanan yang akan dihasilkan. Ketiga jenis makanan ini dibedakan berdasarkan kadar air dan warnanya. Makanan pertama yang dihasilkan adalah gulai (dimasak hingga kuahnya encer dan kekuningan). Selanjutnya, jika dimasak lebih lama lagi, gulai akan berubah menjadi kalio (dimasak hingga kuah berwarna coklat kental). Jika proses masak dilanjutkan, kalio akan berubah menjadi rendang (dimasak hingga kuah kental dan warna kering dan coklat tua) (21).

Berdasarkan survei yang telah dilakukan oleh *Cable News Network* pada tahun 2011 dan 2017, rendang terpilih sebagai makanan terlezat di dunia. Rendang mengandung berbagai jenis rempah-rempah yang melimpah serta menggunakan daging dan santan sebagai bahan utamanya. Biasanya, daging sapi merupakan jenis daging yang dipilih dalam membuat rendang. Rempah-rempah yang digunakan untuk membuat rendang adalah bawang putih, bawang merah, cabai merah, kunyit, jahe, merica, serai, lengkuas, bunga lawang, daun jeruk purut, daun salam, daun kunyit, dan asam kandis (*Garcinia xanthochymus*). Kata rendang berasal dari kata merandang atau randang yang artinya “pelan-pelan” karena proses memasak

rendang memerlukan waktu yang lama. Pada awalnya, bahan utama rendang adalah daging sapi. Namun demikian, saat ini dapat ditemukan banyak modifikasi dari rendang yang menggunakan berbagai jenis daging selain daging sapi, salah satu contohnya adalah daging ayam (1).

Indonesia memiliki potensi yang besar dalam mengembangkan bidang pariwisata karena kepopuleran rendang. Sebagai negara dengan mayoritas penduduk beragama Islam, hal ini sangat berperan penting bagi industri pariwisata halal. Wisata halal merupakan pariwisata yang sesuai dengan prinsip Islam. Isu makanan halal merupakan isu yang sensitif bagi masyarakat. Maraknya pencampuran bahan-bahan non-halal, seperti daging babi, ke dalam kandungan makanan halal telah meresahkan masyarakat, khususnya bagi penganut agama Islam (22).

2.1.2 Kandungan Rendang

Konsentrasi lemak total yang terkandung di dalam rendang sapi sangat tinggi, yaitu sekitar 99,24% - 99,46%, hal ini berarti hampir seluruh lemak total merupakan komponen utama yang terkandung di dalam rendang sapi. Kandungan lemak total yang tinggi pada rendang ini berasal dari santan, daging sapi, serta rempah-rempah yang digunakan. Rendang mengandung asam lemak jenuh sekitar 90,90-91,39%, terdiri dari asam lemak rantai menengah (*Medium Chain Fatty Acid/MCFA*) sebanyak 59,48-59,91% dan asam lemak rantai panjang (*Long Chain Fatty Acid/LCFA*) 31,41-31,47%, sedangkan sisanya 8,61-9,10% adalah asam lemak tak jenuh (23).

Rendang sapi mengandung asam lemak bebas (*Free Fatty Acid/FFA*) sebanyak 0,28%. Konsentrasi asam lemak bebas pada rendang sapi relatif rendah karena kandungan airnya rendah. Asam lemak bebas terbentuk dari hasil reaksi hidrolisis antara asam lemak trigliserida dan air dengan bantuan enzim lipase sebagai katalisator. Reaksi hidrolisis antara trigliserida dengan 3 molekul air membentuk 3 molekul asam lemak bebas dan gliserol.

2.2 Lemak

2.2.1 Definisi Lemak

Lemak berasal dari bahasa Yunani yaitu *lipos* yang dalam bahasa Inggris berarti lipid. Lemak merupakan senyawa organik yang mempunyai sifat mudah larut dalam pelarut non polar seperti kloroform, eter, dan benzena, tetapi tidak dapat larut dalam air (pelarut polar). Lemak berfungsi sebagai sumber energi, bahan baku hormon, membantu transport vitamin yang larut lemak, serta pelindung organ-organ tubuh bagian dalam. Lemak mengandung kalori yang lebih banyak dibandingkan dengan karbohidrat. Satu gram karbohidrat mengandung empat kalori, sedangkan satu gram lemak mengandung hingga sembilan kalori. Dengan demikian, lemak mampu berfungsi sebagai penghasil energi di dalam tubuh (24).

Komponen utama penyusun lemak adalah trigliserida, yaitu ester gliserol dengan tiga asam lemak. Panjang rantai asam lemak pada trigliserida berbeda-beda, namun pada umumnya yaitu berjumlah 16, 18, atau 20 atom karbon. Penyusun lemak lainnya berupa gliserida, monogliserida, asam lemak bebas, lilin (*wax*), turunan senyawa terpenoid/isoprenoid serta turunan steroida. Lemak berfungsi sebagai sumber energi utama yang digunakan dalam proses metabolisme tubuh. Lemak yang diperoleh dari makanan akan disimpan di dalam sel-sel lemak sebagai cadangan energi. (25).

Asam penyusun lemak disebut sebagai asam lemak. Asam lemak merupakan asam karboksilat dengan rumus umum $R-COOH$ yang mempunyai rantai karbon panjang. Asam lemak biasanya tersusun atas rantai karbon dengan panjang sekitar 4-24 atom karbon, dapat bersifat jenuh maupun tak jenuh. Senyawa-senyawa yang mengandung karbon seperti asam asetat, asetaldehid, dan etanol, dapat berperan sebagai senyawa pembentuk asam lemak (24).

Berdasarkan ada atau tidaknya ikatan rangkap, terdapat dua jenis asam lemak yang terkandung di dalam lemak, yaitu asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh. Asam lemak jenuh (*Saturated Fatty Acid/SFA*) merupakan asam lemak yang tidak mengandung ikatan rangkap pada strukturnya, seperti asam butirrat, asam kaproat, asam kaprotat, asam kaprat, asam laurat, asam palmitat, dan asam stearat. Asam lemak tidak jenuh (*Unsaturated Fatty Acid/UFA*) merupakan asam lemak

yang mengandung ikatan rangkap pada strukturnya. Asam lemak tidak jenuh terbagi menjadi dua jenis, yaitu asam lemak tidak jenuh tunggal (*Mono-Unsaturated Fatty Acid/MUFA*) dan asam lemak tidak jenuh jamak (*Poli-Unsaturated Fatty Acid/PUFA*). MUFA merupakan merupakan asam lemak yang hanya mengandung 1 ikatan rangkap, contohnya yaitu asam burat, asam palmitoleat, dan asam oleat. MUFA umumnya banyak terdapat pada lemak nabati atau hewani dan berwujud cair. PUFA merupakan asam lemak yang mengandung lebih dari 1 ikatan rangkap, contohnya yaitu asam linoleat. Sifat kimia dari asam linoleat adalah tidak larut dalam air (24).

2.2.2 Sumber Lemak

Berdasarkan asalnya, sumber lemak dapat dibagi menjadi dua, yaitu:

1. Lemak Nabati, merupakan lemak yang berasal dari tumbuhan. Bahan – bahan yang didalamnya mempunyai kandungan lemak nabati antara lain zaitun, kelapa, kemiri, mentega, kacang tanah, kedelai, dan sebagainya (26).
2. Lemak Hewani, merupakan lemak yang beraal dari hewan. Bahan – bahan yang didalamnya mempunyai kandungan lemak hewani antara lain susu, ikan, daging, keju, telur, dan sebagainya (26).

Baik lemak hewani maupun lemak nabati, keduanya tersusun atas molekul yang dikenal sebagai trigliserida. Trigliserida merupakan gugus ester yang mengandung tiga asam lemak yang berikatan dengan gliserol. Hal yang membedakan antara struktur trigliserida pada lemak hewani dengan lemak nabati adalah trigliserida pada lemak hewani mengandung banyak asam lemak jenuh (*Saturated Fatty Acid/SFA*), sedangkan trigliserida pada lemak nabati mengandung banyak asam lemak tidak jenuh, baik itu asam lemak tidak jenuh tunggal (*Mono-Unsaturated Fatty Acid/MUFA*) maupun asam lemak tidak jenuh jamak (*Poli-Unsaturated Fatty Acid/PUFA*) (25). Berikut merupakan perbedaan antara lemak nabati dengan lemak hewani (Tabel 2.1) (27).

Tabel 2.1 Perbedaan lemak nabati dengan lemak hewani

Perbedaan	Lemak Hewani	Lemak Nabati
-----------	--------------	--------------

Kandungan asam lemak	Lebih banyak mengandung asam lemak jenuh	Lebih banyak mengandung asam lemak tidak jenuh
Bentuk	Padat dalam suhu ruang karena memiliki tingkat kejenuhan yang tinggi	Cair dalam suhu ruang karena memiliki tingkat ketidakjenuhan yang tinggi
Kadar Iodine	Memiliki kadar iodine yang rendah	Memiliki kadar iodine yang tinggi

Sumber lemak yang dikonsumsi merupakan bahan makanan yang berasal dari lemak hewani maupun lemak nabati, serta hasil olahannya seperti minyak kelapa, mentega, dan margarin. Sumber lemak hewani yang dikonsumsi merupakan sumber lemak jenuh yang biasanya berasal dari daging ayam, daging babi, daging kambing, daging sapi, jeroan, dan lain-lain. Sedangkan sumber lemak tak jenuh yang dikonsumsi sebagian besar berasal dari ikan dan lemak nabati, seperti kacang-kacangan dan minyak sayuran (28).

2.2.3 Karakteristik Daging Sapi

Daging sapi merupakan salah satu sumber protein hewani yang paling disukai. Air, lemak, protein, mineral, dan karbohidrat merupakan komposisi utama dari daging sapi. Rata-rata komposisi kimia daging sapi bervariasi, yaitu protein 16-22%, lemak 1,5-13%, senyawa nitrogen non protein 1,5%, senyawa anorganik 1%, karbohidrat 0,5%, dan air antara 65-80% (29).

Kadar air merupakan persentase kandungan air suatu bahan yang dapat dinyatakan berdasarkan berat basah atau berat kering. Kadar air normal untuk daging sapi segar yaitu antara 65-80%. Protein merupakan komponen kimia terbesar dalam daging yang mempunyai peranan penting bagi pertumbuhan, perawatan sel serta sebagai sumber kalori. Kadar protein daging sapi yang normal yaitu berkisar antara 16-22%. Lemak merupakan salah satu sumber energi yang memberikan kalori paling tinggi. Kandungan lemak sapi berkisar antara (1,5-13,0%) (30).

Setiap 100 gram daging sapi segar mengandung 201 kal energi, 18,8 g protein, 14 g lemak, 1,2 g abu, 11 mg kalsium, 170 mg fosfor, 2,8 mg besi, 105 mg natrium, 378 mg kalium, 4,58 mg tembaga, 5,2 mg seng, 9 mcg retinol (vitamin A),

198 mcg beta-karoten, 0,08 mcg thiamin (vitamin B1), 0,56 mg riboflavin (vitamin B2), 1,3 mg niasin (vitamin B3). Disamping itu daging sapi juga mengandung vitamin dan mineral yang dibutuhkan manusia (31). Berikut asam lemak yang terkandung di dalam sapi (Tabel 2.2) (32).

Tabel 2.2 Kandungan asam lemak sapi

Asam Lemak	Persentase Asam Lemak (%)
Asam Laurat	0,88
Asam Miristat	3,84
Asam Pentadekanoat	0,45
Asam Pamitoleat	0,40
Asam Palmitat	25,70
Asam Margarat	0,43
Asam Oleat	14,90
Asam Stearat	35,03
Asam Arakidat	0,17

2.2.4 Karakteristik Daging Babi

Ciri khas dari daging babi yang tidak terdapat pada daging ternak lainnya, yaitu daging babi memiliki tekstur yang lebih kenyal dan mudah direnggangkan, warna daging babi agak pucat, serat lebih halus dibandingkan daging sapi, memiliki bau daging yang khas, lemak pada daging babi berwarna putih dan terlihat tebal. Selain itu, lemak pada daging babi sangat basah lebih sulit untuk dipisahkan dari dagingnya (33).

Kandungan nutrisi yang terdapat dalam 100 gram daging babi segar yaitu, 453 kalori (kal), 11,9 gr protein, dan 45 gr lemak. Beberapa mineral yang terdapat di dalam daging babi yaitu 7 mg kalsium, 117 mg fosfor, 1,8 mg besi, 112 mg natrium, 819,3 mg kalium, 0,22 mg tembaga, dan 0,4 mg seng. Selain itu, daging babi juga mengandung asam lemak, seperti asam lemak oleat (31).

Babi hutan memiliki bagian pinggang yang lebih besar, pada lemaknya terdapat lebih banyak serat, warna daging yang lebih gelap dan kurang empuk jika

dibandingkan dengan babi ternak. Perbedaan lingkungan hidup antara babi hutan dengan babi hutan dapat memengaruhi perbedaan asam lemak yang terkandung (34). Asam heptadekanoat, asam eikosadienoat, asam eikosapentanoat, dan asam dokosapentaenoat terdapat pada daging babi hutan, namun tidak terdapat pada daging babi ternak. Jumlah asam palmitoleat dan asam eikosanoat terdeteksi lebih tinggi pada babi ternak dibandingkan dengan daging babi hutan. Kandungan asam asam linoleat dan asam α -linoleat ditemukan lebih tinggi pada daging babi hutan dibandingkan dengan daging babi ternak (35). Berikut asam lemak yang terkandung dalam babi hutan dan babi ternak (Tabel 2.3) (35).

Tabel 2.3 Kandungan asam lemak babi hutan dan babi ternak

Asam Lemak	Babi Hutan (%)	Babi Ternak (%)
Asam Miristat	1.19	1.22
Asam Palmitat	23.6	25.3
Asam Hipogeat	0.43	0.31
Asam Palmitoleat	2.56	4.13
Asam Heptadekanoat	0.22	0
Asam Stearat	10.3	10.7
Asam Oleat	35.9	42,2
Asam cis-Vaksenat	3.98	4.38
Asam Linoleat	16.1	8.69
Asam α -Linoleat	0.98	0.31
Asam Eikosanoat	0.46	0.52
Asam Eikosadienoat	0.40	0
Asam Arakidonat	2.83	2.12
Asam Eikosapentanoat	0.36	0
Asam Dokosapentaenoat	0,47	0

2.2.5 Perbedaan Daging Sapi dan Daging Babi

Daging babi memiliki warna yang lebih pucat dari daging sapi. Serat-serat daging babi terlihat lebih samar dan renggang. Sedangkan serat-serat daging sapi

tampak lebih padat dan garis-garis seratnya terlihat jelas. Lemak pada daging babi memiliki tekstur yang elastis, lembek, dan mudah diregangkan. Sedangkan lemak pada daging sapi bertekstur kaku dan padat. Selain itu lemak pada babi sangat basah dan sulit dilepas dari dagingnya sementara lemak daging agak kering dan tampak berserat (36). Berikut perbedaan asam lemak jenuh dan asam tak jenuh yang terdapat pada lemak sapi dan babi (Tabel 2.4) (37).

Tabel 2.4 Perbedaan asam lemak pada lemak sapi dan babi

Asam Lemak	Sapi	Babi
Asam lemak jenuh	Asam dekanooat	Asam dekanooat
	Asam dodekanoat/asam laurat	Asam dodekanoat/asam laurat
	Asam tetradekanoat/ asam miristat	Asam tetradekanoat/ asam miristat
	Asam eikosanoat	Asam eikosanoat
	Asam pentadekanoat	Asam pentadekanoat
	Asam oktadekanoat	Asam oktadekanoat
	Asam heksadekanoat/ asam palmitat	Asam heksadekanoat/ asam palmitat
	Asam 15-metil heksadekanoat	Asam 15-metil heksadekanoat
	Asam heptadekanoat	Asam heptadekanoat
	Asam 12-metil tridekanoat	-
	Asam 13-metil tetradekanoat	-
	Asam 12-metil tetradekanoat	-
	Asam 14-metil pentadekanoat	-
	Asam heneicosanoat	-
	Asam 16-metil oktadekanoat	-

	Asam nonadekanoat	-
	Asam 14-metil heksadekanoat	-
	Asam 16 metil heptadekanoat	-
	Asam 3,7,11,15-tetrametil heksadekanoat	-
	Asam dokosanoat	-
	-	Asam oktanoat /asam kaprilat
	-	Asam nonanoate /asam pelargonik
	-	Asam tridekanoat
Asam lemak tak jenuh	Asam 11-tetradeseanoat	Asam 11-tetradeseanoat
	Asam 9-heksadesenoat	Asam 9-heksadesenoat
	Asam trans-9,12- oktadekadienoat	Asam trans-9,12- oktadekadienoat
	Asam trans-9-oktadesenoat	Asam trans-9-oktadesenoat
	Asam cis-9-oktadesenoat	Asam cis-9-oktadesenoat
	Asam 11-oktadesenoat	Asam 11-oktadesenoat
	Asam 11-eikosenoat	Asam 11-eikosenoat
	Asam heptadesenoat	Asam heptadesenoat
	Asam 13-dokosenoat	-
	Asam 7-oktadesenoat	-
	Asam 7-heksadesenoat	-
	-	Asam 7,10 heksadekadienoat
	-	Asam trans-9,12,15- oktadekatrienoat
	-	Asam cis-9,12,15- oktadekatrienoat

-	Asam 11,14,17-eikosatrienoat
-	Asam 11,14,17-eikosatrienoat
-	Asam 11,14-eikosadienoat

Selain perbedaan karakteristik daging sapi dan daging babi secara makroskopis serta perbedaan kandungan asam lemaknya, juga terdapat perbedaan kandungan metabolit sekunder antara kedua jenis daging tersebut. Berikut merupakan perbedaan kandungan metabolit sekunder antara daging sapi dengan daging babi berdasarkan bagian bagian otot yang diuji (Tabel 2.5) (38).

Tabel 2.5 Perbedaan metabolit sekunder daging sapi dan daging babi

Bagian	Metabolit Primer	
	Daging Sapi	Daging Babi
<i>Triceps brachii</i>	Carnosine, L(-)-carnitine, and creatinine	Creatine, L-phenylalanine, and DL-malic acid
<i>Longissimus Dorsi</i>	Carnosine, L(-)-carnitine, and creatinine	Creatine, carnosine, and nicotinamide
<i>Biceps femoris</i>	L(-)-carnitine, myristyl sulfate, and dodecyl sulfate.	Creatine, L-Phenylalanine, and carnosine

2.2.6 Metode Hidrolisis Asam

Sebelum diekstraksi, lemak perlu dihidrolisis terlebih dahulu. Hidrolisis dilakukan terhadap lemak yang terikat pada protein atau karbohidrat. Metode hidrolisis ini bertujuan untuk meningkatkan efektifitas serta efisiensi dari ekstraksi lemak. Penggunaan asam klorida (HCl) 1 N merupakan salah satu pelarut yang dapat digunakan dalam metode hidrolisis asam. Sampel daging yang akan dihidrolisis ditambahkan HCl 1 N, kemudian dipanaskan selama 15-25 menit pada suhu 60-65°C . perbandingan volume antara HCl 1 N dengan berat daging adalah 1:10 (39).

2.2.7 Metode Ekstraksi Lemak

Lemak dapat diperoleh dari berbagai sumber makanan yang kaya akan lemak. Proses pengambilan lemak dari suatu zat yang diduga mengandung lemak disebut sebagai metode ekstraksi. Terdapat beberapa metode ekstraksi pelarut yang digunakan dalam ekstraksi lemak, yaitu Folch, Bligh-Dyer, dan Sokletasi (25).

1. Metode Ekstraksi Folch

Metode Folch digunakan untuk mengekstrak lemak hewani dengan menggunakan campuran pelarut kloroform:metanol (2:1 v/v). Metode ekstraksi ini tidak memerlukan suhu atau tekanan tinggi. Metode Folch memiliki beberapa kelebihan, diantaranya metode sederhana, mudah menangani sampel dalam jumlah besar, serta proses ekstraksi yang cepat. Akan tetapi, terdapat kekurangan pada metode ini, yaitu menggunakan reagen yang dapat membahayakan kesehatan manusia dan lingkungan (9).

Sampel yang telah dihidrolisis kemudian diekstraksi dengan pelarut Folch. Campuran dihomogenkan lalu disaring dengan kertas saring, pisahkan filtrat yang dihasilkan kemudian masukkan ke dalam corong pisah. Tambahkan 20 mL aquades, campuran dikocok lalu didiamkan hingga terdapat dua fase. Buang fase air yang terdapat pada bagian atas. Ambil fase lemak yang terdapat di bagian bawah lalu tambahkan natrium sulfat anhidrat. Sisa kloroform diuapkan dengan bantuan rotary evaporator pada suhu 40°C. Ekstrak kental lemak dipindahkan ke dalam vial dan diuapkan menggunakan oven pada suhu 40°C hingga pelarut benar-benar hilang. Ekstrak lemak yang dihasilkan berwarna kuning tua (39).

2. Metode Ekstraksi Bligh-Dyer

Metode Bligh-Dyer merupakan metode ekstraksi lemak yang dilakukan dengan menggunakan pelarut dua fase, yaitu campuran kloroform:metanol (1:2 v/v) dan air sebagai pelarut ekstraksi (40). Keuntungan dari metode ini yaitu ekstraksi dan pemisahan lemak dapat dicapai dalam waktu yang bersamaan (9). Akan tetapi, metode ini memiliki beberapa kelemahan, yaitu menggunakan reagen yang berbahaya bagi kesehatan dan lingkungan, serta lemak yang dihasilkan dari proses ekstraksi ini lebih sedikit dibandingkan dengan metode Folch. Hal ini karena

proporsi pelarut yang digunakan pada metode Bligh-Dyer lebih sedikit dibandingkan dengan metode Folch (41).

Sampel yang telah dihidrolisis diekstraksi dengan pelarut Bligh-Dyer. Campuran dihomogenkan dan disaring dengan kertas saring, pisahkan filtrat yang dihasilkan kemudian masukkan ke dalam corong pisah. Tambahkan 20 mL aquades, campuran dikocok lalu didiamkan hingga terdapat dua fase. Buang fase air yang terdapat pada bagian atas. Ambil fase lemak yang terdapat di bagian bawah lalu tambahkan natrium sulfat anhidrat. Sisa kloroform diuapkan dengan bantuan rotary evaporator pada suhu 40°C. Ekstrak kental lemak dipindahkan ke dalam vial dan diuapkan menggunakan oven pada suhu 40°C hingga pelarut benar-benar hilang. Ekstrak lemak yang dihasilkan berwarna kuning tua (39).

3. Metode Ekstraksi Sokletasi

Metode sokletasi awalnya digunakan untuk mengukur jumlah lemak total dalam susu. Prinsip metode ini yaitu sampel mengalami kontak langsung dengan pelarut soklet selama berulang kali pada proses ekstraksi, sehingga dapat memberikan hasil ekstrak yang tinggi (9). Pada metode ini, harus dilakukan pemilihan pelarut yang sesuai dengan sampel yang akan diekstraksi. Pemanasan lemak yang terus menerus dapat menyebabkan oksidasi dan degradasi lemak. Dengan demikian, perlu diperhatikan suhu yang digunakan dalam ekstraksi lemak metode sokletasi (42). Metode ini memiliki kelebihan, yaitu pengoperasian yang sederhana, tetapi mampu memberikan hasil ekstraksi yang tinggi. Akan tetapi, terdapat beberapa kekurangan pada metode ini, yaitu metode ini tidak cocok untuk sampel yang mengandung banyak air, waktu ekstraksi yang lama, banyak membutuhkan reagen, serta mudah mencemari lingkungan (9).

2.2.8 Metode Derivatisasi Lemak

Komposisi asam lemak dapat ditentukan dengan menggunakan instrumen GC-MS. Akan tetapi, asam lemak tersebut harus diubah menjadi metil ester dari asam lemak (*fatty acid methyl ester*/FAME) terlebih dahulu. Proses konversi asam lemak menjadi metil ester asam lemak disebut sebagai metode derivatisasi. Metode ini dilakukan karena sangat sulit untuk menganalisis asam lemak dalam bentuk

bebasnya karena sifat senyawa nya sangat polar dan cenderung membentuk ikatan hidrogen. Hal ini akan menyebabkan masalah pada proses adsorpsi ketika diuji dengan instrumen GC-MS. Metode derivatisasi bertujuan untuk mengurangi tingkat kepolaran asam lemak, sehingga membuatnya menjadi lebih mudah untuk dianalisis menggunakan GC-MS (43).

Mekanisme pembentukan asam lemak metil ester dapat dilakukan melalui reaksi transesterifikasi ataupun reaksi esterifikasi. Reaksi transesterifikasi merupakan reaksi antara trigliserida dengan metanol yang menghasilkan asam lemak metil ester (*Fatty Acids Methyl Esters* / FAME) dan gliserol (gliserin) sebagai produk sampingnya. Katalis yang digunakan pada reaksi transesterifikasi adalah katalis basa, biasanya menggunakan natrium hidroksida (NaOH) atau kalium hidroksida (KOH). Reaksi esterifikasi merupakan reaksi antara asam lemak bebas (*Free Fatty Acids* / FFA) dengan metanol yang menghasilkan asam lemak metil ester dan air. Katalis yang digunakan pada reaksi esterifikasi adalah katalis asam, biasanya asam sulfat (H_2SO_4) atau asam fosfat (H_2PO_4) (44).

Derivatisasi bertujuan untuk mengubah asam lemak menjadi bentuk metil esternya, sehingga memiliki titik didih yang lebih rendah dan volatilitas yang lebih tinggi dibandingkan bentuk asam lemaknya. Asam lemak dalam bentuk ester akan lebih mudah menguap dibandingkan dalam bentuk asam lemaknya karena asam lemak bersifat lebih polar dan memiliki titik didih yang lebih tinggi. Hal ini disebabkan oleh asam lemak memiliki gugus hidroksil ($-OH$) yang dapat membentuk suatu ikatan hidrogen. Untuk memudahkan analisis, gugus $-OH$ pada asam lemak diganti menjadi gugus metoksi ($-OCH_3$) sehingga ikatan hidrogen tidak dapat terbentuk. Dengan demikian, tingkat kepolaran dan titik didihnya akan menurun sehingga senyawa menjadi lebih mudah menguap (volatil) dan dapat dideteksi dengan menggunakan GC-MS (45). Pada awalnya, titik didih asam miristat adalah $317.85^{\circ}C$. Akan tetapi, setelah dilakukan reaksi esterifikasi sehingga dihasilkan asam miristat dalam bentuk metil esternya, terjadi penurunan titik didih menjadi $294.85^{\circ}C$. (46)

1. Metode Derivatisasi Asam

a. Derivatisasi Menggunakan HCl

Derivatisasi HCl merupakan salah satu metode analisis asam lemak yang paling banyak digunakan. Hal ini karena HCl merupakan pereaksi yang mampu memberikan hasil yang hampir kuantitatif, selain itu metode operasionalnya juga cenderung sederhana. Reagen yang digunakan pada metode ini adalah HCl dengan metanol anhidrat 5% (b/v). Reagen ini dibuat dengan cara mencampurkan asetil klorida dengan metanol, sehingga menghasilkan HCl yang berperan sebagai katalisator pada reaksi esterifikasi. Dua ml reagen ditambahkan ke dalam ekstrak lemak dalam tabung reaksi. Campuran tersebut kemudian dipanaskan pada suhu 80°C dengan sesekali dikocok. Setelah itu, sampel diuapkan hingga kering pada suhu 80°C di bawah aliran udara. Sampel yang telah kering kemudian ditambahkan toluena sebanyak satu mL. Tabung reaksi yang berisikan sampel diutup rapat lalu dipanaskan kembali pada suhu 80°C selama tiga menit. Setelah itu, diperoleh metil ester asam lemak yang telah siap digunakan untuk analisis GC-MS (43).

b. Derivatisasi Menggunakan Asetil Klorida

Metode derivatisasi asetil klorida diperkenalkan pada tahun 1986. Ekstrak lemak dilarutkan dengan 600 mL asetil klorida dalam metanol (1:9) dan ditambahkan dengan 400 mL heksana. Sampel kemudian dipanaskan pada suhu 90-95°C selama satu jam dalam vial yang tertutup rapat. Setelah diderivatisasi, dihasilkan metil ester asam lemak yang siap digunakan untuk analisis GC-MS (43).

c. Derivatisasi Menggunakan Asam Sulfat

Metode derivatisasi menggunakan asam sulfat telah digunakan secara luas untuk analisis asam lemak dalam sampel biologis. Asam sulfat dalam metanol 2% (v/v) ditambahkan ke dalam vial yang berisi 10 mg lemak yang telah ditimbang sebelumnya. Vial tersebut kemudian dipanaskan pada suhu 80°C dengan sesekali dikocok. Setelah itu 0,25 mL larutan air yang telah dinetralkan (natrium hidroksida 1 M) ditambahkan ke dalam vial dan dikocok perlahan. Setelah sampel didiamkan selama lima menit, maka sampel telah siap digunakan untuk analisis GC-MS (43)

d. Derivatisasi Menggunakan BF₃ (Boron Triflorida)

Metode ini dilakukan dengan cara menambahkan pereaksi BF₃-Metanol (14% b/v) ke dalam sampel lemak dan memanaskannya pada suhu 80-100°C selama

45-60 menit. Setelah itu, dihasilkan metil ester asam lemak yang akan dianalisis dengan instrumen GC-MS (43).

2. Metode Derivatisasi Basa

Metode derivatisasi basa memiliki beberapa keuntungan, yaitu waktu derivatisasi yang singkat, kemudahan pengoperasian, dan penggunaan reagen yang lebih sedikit (43).

a. Derivatisasi Menggunakan Natrium Metoksida (NaOCH_3)

Metode ini dilakukan dengan cara menambahkan 0,5 M NaOCH_3 dalam metanol anhidrat ke dalam ekstrak lemak. Campuran ini kemudian dipanaskan pada suhu 45°C selama lima menit. Natrium bisulfat (NaHSO_4) 15% ditambahkan untuk menetralkan campuran. Akhirnya, dihasilkan metil ester asam lemak yang siap dianalisis dengan menggunakan GC-MS (43).

b. Derivatisasi Menggunakan Kalium Hidroksida

Metode ini dilakukan dengan cara menambahkan KOH metanolik (2 mol/L) ke dalam ekstrak lemak. Campuran ini kemudian diinkubasi pada suhu kamar atau dipanaskan pada suhu 50°C selama beberapa menit. Derivatisasi asam lemak diikuti dengan penambahan NaHSO_4 . Akhirnya, supernatan dikumpulkan dan dianalisis dengan GC-MS (43).

2.3 Kehalalan Produk Makanan

2.3.1 Konsep Kehalalan Makanan

Kata halal berasal dari bahasa Arab, yaitu *halla*, *yahillu*, *hillan*, yang berarti bebas, lepas, legal, diterima, tidak dilarang, dan diizinkan. Secara umum, kata halal memiliki makna diperbolehkan atau dibenarkan. Makanan halal merupakan produk makanan yang boleh dikonsumsi oleh umat muslim, hal ini sudah bersifat mutlak dan tidak boleh diubah-ubah karena telah diatur oleh Allah SWT (47). Kata haram berasal dari bahasa Arab yang berarti larangan. Haram merupakan segala sesuatu yang dilarang oleh Allah SWT untuk dilakukan, setiap orang yang menentanginya akan berhadapan dengan siksaan Allah SWT di akhirat. Allah SWT mengharamkan

makanan yang mendatangkan mudarat atau yang mudaratnya lebih besar daripada manfaatnya (48).

Salah satu konsep kehalalan makanan dalam islam adalah tidak boleh mengandung sedikitpun daging babi atau lemak pangan yang diturunkan dari binatang babi. Serendah apapun konsentrasi komponen lemak babi akan membuat makanan tersebut menjadi haram untuk dikonsumsi. Agama Islam mengharamkan umatnya untuk mengonsumsi daging babi karena dianggap sebagai makanan yang najis (kotor). Babi sering kali berkubang di dalam lumpur yang juga bercampur dengan kotoran untuk membuat suhu tubuhnya menjadi dingin. Hal ini mengakibatkan terkandungnya cacing pita dan cacing-cacing lainnya di dalam daging babi yang dapat membahayakan kesehatan jika dikonsumsi. Larangan untuk mengonsumsi daging babi yang diharamkan oleh Allah SWT dinyatakan dalam Al-Quran pada surah Al-Baqarah [2]: 173, Al-Maidah [5]: 3, serta Al-An'am [6]: 145 (49).

Pada beberapa kasus, ditemukan sejumlah produk makanan olahan berbahan daging sapi yang tercampur dengan daging babi. Hal ini dilakukan dengan tujuan untuk menurunkan harga produksi makanan tersebut agar menjadi relatif lebih murah. Oleh karena itu, diperlukan suatu metode yang mampu mendeteksi cemaran babi pada produk makanan untuk melindungi konsumen (6).

2.3.2 Regulasi Kehalalan Makanan di Indonesia

Pada awalnya, Majelis Ulama Indonesia (MUI) ditunjuk menjadi lembaga pelaksana pemeriksaan pangan yang berperan dalam menyatakan kehalalan suatu produk di Indonesia. Hal ini ditetapkan berdasarkan Keputusan Menteri Agama (KMA) 518 Tahun 2001 dan KMA 519 Tahun 2001. MUI diamanatkan sebagai lembaga sertifikasi halal serta untuk melakukan pemeriksaan/ audit, penetapan fatwa, dan menerbitkan sertifikat halal. Kemudian terjadi perubahan kewenangan, melalui Undang-Undang No. 33 Tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal, amanat lembaga sertifikasi halal beralih kepada Badan Penyelenggara Jaminan Produk Halal (BPJPH) yang kemudian memiliki tugas dan fungsi, yaitu tentang registrasi halal, sertifikasi halal, verifikasi halal, melakukan pembinaan serta melakukan

pengawasan kehalalan produk, kerjasama dengan seluruh *stakeholder* terkait, serta menetapkan standard kehalalan produk (50).

Berdasarkan Undang-undang Jaminan Produk Halal Nomor 33 Tahun 2014 Pasal 4, memuat tentang perlindungan konsumen umat islam di Indonesia dalam mengonsumsi produk pangan, yaitu mengenai pelabelan halal suatu produk pangan. Pada undang-undang tersebut menyatakan bahwa suatu produk layak untuk beredar dan diperdagangkan di wilayah indonesia jika telah memiliki sertifikat halal. Oleh karena itu, setiap produk pangan yang akan dijual di Indonesia harus diuji kehalalannya terlebih dahulu untuk mendapatkan sertifikat halal serta produk yang akan diedarkan harus memiliki label halal (47).

2.4 Autentikasi Makanan

2.4.1 Prinsip Autentikasi Makanan

Autentikasi merupakan metode yang dilakukan dengan tujuan untuk memastikan apakah suatu “objek” tersebut sesuai dengan fakta serta klaim yang dinyatakan. Autentikasi dilakukan dengan menggunakan analisis kimia dan kemometrik. Mendeteksi pemalsuan obat, pemalsuan makanan, serta bahan aditif ilegal yang terkandung dalam suatu makanan merupakan manfaat dilakukannya autentikasi (51).

Autentikasi makanan merupakan suatu proses yang bertujuan untuk memastikan bahwa produk makanan tersebut telah sesuai dengan deskripsi yang terdapat pada label produk. Aspek-aspek yang diverifikasi meliputi asal (spesies, genetik, geografis), metode produksi, serta teknologi yang digunakan dalam produksi. Produk yang berkualitas tinggi, baik dari segi kualitas maupun tingkat kepopulerannya, sering menjadi sasaran dalam penipuan makanan. Oleh karena itu, autentikasi makanan merupakan kajian penting yang bertujuan untuk menentukan kualitas makanan, melindungi konsumen, serta mengukur kepatuhan produsen terhadap regulasi seperti undang-undang nasional serta standar dan pedoman internasional (7).

2.4.2 Urgensi Autentikasi Makanan

Analisis autentikasi makanan dengan tujuan untuk memastikan keaslian makanan serta mendeteksi kepalsuan makanan merupakan masalah utama dalam industri makanan. Pemalsuan makanan dapat berupa menambahkan senyawa lain yang akhirnya akan menjadi kontaminan bagi makanan tersebut. Pemalsuan makanan dalam produk olahan berbahan dasar daging berkaitan dengan penggantian bahan baku bernilai tinggi dengan bahan lain yang relatif lebih murah. Misalnya pencampuran antara daging sapi dengan daging babi untuk mengurangi biaya produksi. Hal ini dilakukan karena daging babi merupakan daging termurah yang umumnya tersedia dalam produk olahan daging (4).

Pengawasan terhadap pangan asal hewan terkait dengan penambahan maupun pemalsuan antara daging sapi dengan daging babi perlu dilakukan dengan tujuan untuk mencegah adanya kemungkinan bahaya kesehatan dan menyebabkan reaksi alergi tertentu. Selain itu, hal ini juga bertujuan untuk menjamin ketenteraman batin masyarakat terkait kehalalan suatu produk makanan berbahan dasar daging yang beredar di masyarakat. Aspek halal perlu diperhatikan dalam rangka melindungi konsumen terutama umat muslim dari pemalsuan berupa penambahan daging babi dalam produk makanan berbahan dasar daging sapi (3).

2.4.3 Metode Autentikasi Makanan

Identifikasi dan proses verifikasi bahan dalam suatu produk olahan makanan adalah sebuah langkah yang harus dilakukan dengan tujuan untuk menjamin hak-hak konsumen. Memastikan keaslian suatu bahan serta bahwa bahan tersebut berasal dari sumber yang halal menjadi tujuan dari metode deteksi makanan halal saat ini. Seiring dengan semakin berkembangnya teknologi, maka metode pengujian keaslian dan teknik analisis telah mengalami perkembangan pesat. Teknik yang paling cocok untuk sampel tertentu sering ditentukan berdasarkan sifat sampel itu sendiri, misalnya apakah itu mentah atau dimasak, makanan utuh atau bentuk padat, padat semi-padat atau cair (8).

Bahan makanan yang mengandung komponen babi dalam produknya dapat diidentifikasi melalui lemak, protein maupun DNA (*Deoxyribo Nucleic Acid*) nya. Membedakan antara komponen lemak sapi dengan lemak babi dalam suatu produk

makanan serta menentukan komposisi bahan pangan yang mengandung campuran lemak babi bukanlah hal mudah. Hal ini akan menjadi lebih sulit jika lemak babi tersebut telah menjadi produk bahan olahan sehingga diperlukan suatu metode analisis yang tepat untuk mengetahui dan membedakan apakah produk olahan bahan pangan tersebut mengandung daging babi atau tidak. Dengan demikian, informasi terkait kehalalan suatu produk sangat diperlukan bagi konsumen dalam menentukan pilihan sebelum membeli dan atau mengkonsumsi pangan (52).

Sertifikasi halal merupakan syarat mutlak bagi suatu produk makanan. Hal ini bertujuan untuk memastikan kualitas produk serta mengurangi informasi palsu pada label suatu produk. Autentikasi merupakan suatu proses ketika makanan diverifikasi keasliannya sesuai dengan deskripsi pada labelnya. Saat ini, terdapat banyak metode analisis yang digunakan untuk mendeteksi autentikasi makanan halal, antara lain metode analisis *Real-Time Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR), *duplex droplet digital PCR* (dddPCR), *Gas Chromatography-Mass Spectrophotometri* (GC-MS), dan *Fourier Transform-Infrared Spectroscopy* (FTIR) (8). Berikut merupakan analisis autentikasi makanan yang telah dilakukan pada beberapa produk makanan olahan daging (Tabel 2.6).

Tabel 2.6 Analisis autentikasi makanan pada produk berbasis daging

No.	Produk	Analisa	Metode Kemometrik	Referensi
1.	Bakso	GC-MS	<i>Principal component analysis</i> (PCA)	(17)
2.	Bakso	GC-MS	<i>Principal component analysis</i> (PCA)	(19)
3.	Sosis	<i>Electronic nose</i> dan GC-MS	<i>Principal component analysis</i> (PCA)	(20)
4.	Sosis	FTIR dan GC-MS	<i>Discriminant analysis</i> (DA) & <i>Principal component analysis</i> (PCA)	(53)
5.	Bakso	FTIR	<i>Partial Least Square</i> (PLS) & <i>Principal component analysis</i> (PCA)	(54)

6.	Bakso	FTIR	<i>Partial Least Square (PLS)</i>	(55)
7.	Bakso	FTIR	<i>Partial Least Square (PLS) & Principal component analysis (PCA)</i>	(56)
8.	Sosis	FTIR dan GC-MS	<i>Partial Least Square (PLS) & Principal component analysis (PCA)</i>	(57)
9.	Sosis	GC-MS	<i>Principal component analysis (PCA)</i>	(58)
10.	Bakso	ATR-FTIR	<i>Partial Least Square (PLS) & Principal component analysis (PCA)</i>	(59)
11.	Kornet	FTIR dan GC-MS	<i>Partial Least Square (PLS) & Principal component analysis (PCA)</i>	(60)

Salah satu metode yang telah dikembangkan dalam menganalisa kehalalan produk pangan yang mengandung lemak hewani, khususnya lemak babi adalah dengan melihat komposisi asam lemak yang terkandung di dalamnya. Untuk melihat kandungan asam lemak tersebut, dapat dilakukan dengan cara mengubah asam lemak menjadi derivat esternya yang selanjutnya dapat dianalisa dengan alat GC-MS (*Gas Chromatography Mass Spectrofotometry*). Hasil analisa menggunakan GC-MS berfungsi untuk menentukan komposisi asam lemak manakah yang paling dominan dari suatu sampel serta untuk menentukan perbedaan komposisi asam lemak pada masing-masing sampel (13).

2.5 Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS)

2.5.1 Prinsip GC-MS

Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS) merupakan instrumen kromatografi gas yang dikombinasikan dengan penggunaan spektrometri massa. Komponen kromatografi gas pada GC-MS berfungsi untuk mencari senyawa yang

mudah menguap pada kondisi vakum tinggi dan tekanan rendah jika dipanaskan. Sedangkan spektrometri massa berfungsi untuk menentukan bobot molekul, rumus molekul, dan menghasilkan molekul bermuatan (61).

Kromatografi gas memiliki aplikasi yang sangat luas dalam bidang kimia analisis. Namun, fungsi utamanya adalah sebagai instrumen pemisahan dan analisis campuran senyawa multi komponen, seperti minyak atsiri, hidrokarbon, serta berbagai jenis pelarut. Secara kualitatif, kromatografi gas dapat digunakan untuk menentukan jenis senyawa yang terdapat dalam suatu komponen, meskipun konsentrasi senyawa tersebut sangat rendah (62).

GC-MS dapat digunakan dalam analisis komponen makanan dan minuman. GC-MS dapat digunakan untuk menganalisis asam lemak, ester, alkohol, aldehida, terpenoid, maupun golongan senyawa lainnya yang terkandung di dalam suatu makanan dan minuman. GC-MS juga mampu mendeteksi dan mengukur kontaminan, pembusukan, serta pemalsuan makanan (63).

2.5.2 Komponen GC-MS

Kromatografi Gas (GC) merupakan jenis kromatografi yang menggunakan gas sebagai fase geraknya, biasanya gas yang digunakan bersifat inert seperti helium atau gas yang tidak reaktif seperti nitrogen. Fase diam pada kromatografi gas berupa lapisan mikroskopis dari cairan atau polimer pada padatan penyangga yang bersifat inert, terletak di dalam tabung kaca atau logam, yang disebut kolom. Kolom kapiler berisi fase diam, yaitu padatan penyangga yang dilapisi dengan cairan yang tidak mudah menguap. Padatan itu sendiri dapat menjadi fase diam. Sampel di dalam kolom dialiri dengan gas sebagai fase gerak (64).

Spektrometri Massa (MS) berperan sebagai detektor untuk Kromatografi Gas (GC). Sampel keluar dari ujung kolom GC, sampel terfragmentasi akibat proses ionisasi, kemudian fragmen-fragmen tersebut akan diurutkan berdasarkan massa untuk membentuk pola fragmentasi. Seperti waktu retensi/*retention time* (RT), pola fragmentasi yang terbentuk oleh masing-masing komponen sampel merupakan ciri khas dan karakteristik yang dijadikan sebagai tanda pengenal dari komponen tersebut (64).

GC dapat memisahkan senyawa yang volatil dan semi volatil dengan resolusi tinggi, tetapi tidak dapat mengidentifikasinya. MS dapat memberikan informasi struktural yang terperinci tentang sebagian besar senyawa sehingga dapat diidentifikasi dengan tepat, tetapi tidak dapat langsung memisahkannya. GC-MS merupakan kombinasi dari dua teknik analisis yang berbeda yang digunakan untuk menganalisis campuran senyawa organik dan biokimia yang kompleks. GC berperan memisahkan senyawa yang berbeda dalam sampel menjadi senyawa murni berdasarkan volatilitasnya dengan mengalirkan gas inert (fase gerak) yang membawa sampel melalui fase diam yang tetap berada di dalam kolom (64).

Spektrum senyawa diperoleh ketika sampel keluar dari kromatografi kolom menuju spektrometer massa. Spektrometer massa mengidentifikasi dan mengkuantifikasi komponen-komponen yang terdapat di dalam sampel sesuai dengan *mass-to-charge ratio* (m/z). Spektrum ini kemudian dapat disimpan di komputer dan dianalisis (64).

Komponen *Gas Chromatography* (GC) terdiri dari sebagai berikut.

1. *Carrier Gas*

Pemilihan gas pembawa yang tepat akan menentukan efisiensi pemisahan kromatografi gas. Gas pembawa yang umum digunakan adalah hidrogen, nitrogen, helium, dan argon. Hidrogen memiliki konduktivitas termal yang baik. Helium memiliki konduktivitas termal yang sangat baik, tetapi harganya mahal. Nitrogen tidak mahal, tetapi memiliki sensitivitas yang lebih rendah (65). Perlu dilakukan pertimbangan dalam memilih gas yang akan digunakan sebagai fase gerak pada kromatografi gas. Faktor-faktor yang menjadi pertimbangan tersebut adalah harus bersifat inert, aman, mudah diperoleh, serta memiliki harga yang terjangkau (66).

2. *Sample Injection Port*

Injektor merupakan bagian untuk memasukkan sampel. Pada bagian ini, sampel akan diuapkan dan gas yang dihasilkan masuk ke dalam aliran pembawa yang memasuki kolom GC (64). Metode injeksi yang paling umum dilakukan adalah dengan menggunakan suntik mikro untuk menyuntikkan sampel ke dalam *port* (66).

3. *Column*

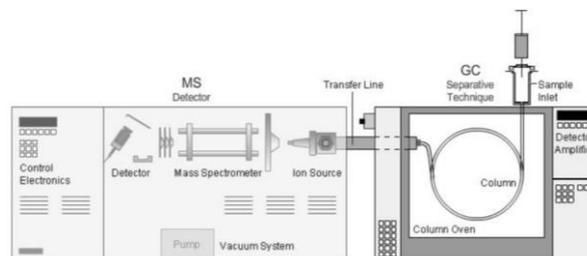
Kolom merupakan salah satu bagian terpenting dari GC yang menentukan efisiensi pemisahan. Kolom terbuat dari kaca atau baja tahan karat. Kolom baja tahan karat memiliki keunggulan umur yang lebih panjang dan dapat dengan mudah ditangani tanpa perlu mengkhawatirkan risiko pecah. Kolom kaca memiliki keuntungan karena bersifat inert dan tidak bereaksi dengan sampel apa pun (65).

Pemilihan kolom yang tepat akan menghasilkan pemisahan kromatografi yang baik sehingga akan memberikan analisis yang tepat dan akurat. Pemilihan kolom yang tidak tepat sering kali memberikan hasil pemisahan yang buruk yang dapat menyebabkan hasil tidak valid atau rumit untuk ditafsirkan. Perbedaan sifat kimia dan fisika senyawa organik yang akan diinjeksikan dan interaksinya dengan fase diam merupakan dasar proses pemisahan. Jika kekuatan interaksi antara masing-masing komponen pada analit dengan fase diam berbeda secara signifikan, maka salah satunya akan dipertahankan lebih lama dari yang lain. Berapa lama senyawa tersebut tertahan di dalam kolom (waktu retensi) merupakan ukuran kekuatan dari interaksi antara analit dengan fase diam. Untuk memperoleh hasil yang tepat, suhu kolom juga harus diatur berdasarkan suhu optimal sampel tersebut mendidih (66).

4. *Oven*

Kromatografi gas memiliki oven dengan suhu yang dapat diatur. Suhu oven pada kromatografi gas biasanya berkisar dari 5°C hingga 400°C (64).

Gambar 2.1 Skema GC-MS (64)



Gambar 2.1 Skema GC-MS

Komponen *Mass Spectrometry* (MS) terdiri dari sebagai berikut.

1. *Ion source*: dalam sumber ion, sampel diionisasi terlebih dahulu sebelum dianalisis dalam spektrometer massa.
2. *Mass analyzer*: memisahkan sampel berdasarkan massa-ke-muatan (*mass-to-charge basis*).
3. *Vacuum system*: *mass analyzer* membutuhkan vakum tingkat tinggi agar dapat beroperasi dengan cara yang tepat dan efisien.
4. *Detector*: berkas ion yang muncul dari *mass analyzer* harus dideteksi dan diubah menjadi sinyal yang dapat digunakan. Detektor merupakan elemen penting dari spektrometer massa yang dapat menghasilkan sinyal dari berkas ion dengan menghasilkan elektron sekunder.
5. *Control Electronics*: parameter dari spektrometer massa dapat dipilih dan diatur melalui bagian ini. Instrumen modern akan memungkinkan untuk mengontrol parameter spektrometer massa melalui komputer dengan menggunakan perangkat lunak yang dirancang khusus (64).

2.5.3 Mekanisme Kerja GC-MS

Sampel diinjeksikan dan dipisahkan berdasarkan volatilitasnya dengan GC, diikuti dengan analisis menggunakan MS dari instrumen di mana senyawa ditembak menggunakan elektron hingga pecah menjadi ion-ion yang akan muncul di detektor. Detektor kemudian akan mendeteksi serta mendapatkan data jenis-jenis senyawa apa saja yang terkandung pada sampel. Data tersebut akan ditransfer ke komputer hingga menghasilkan kromatogram. Data yang diperoleh berupa kromatogram yang terdiri dari puncak, waktu retensi, dan luas area puncak (67).

Metode kromatografi gas memiliki beberapa kelemahan, diantaranya adalah sampel yang dianalisis harus bersifat volatil. Selain itu, sampel tersebut juga harus stabil pada suhu yang tinggi. Sebelum proses dimulai, ada beberapa hal penting yang perlu diperhatikan, yaitu bentuk sampel, pemilihan kolom yang sesuai dengan sifat kepolaran sampel, gas pembawa yang digunakan, suhu oven, serta penguapan selama injeksi. Sampel yang diinjeksikan ke instrumen akan diubah menjadi bentuk gas dan dibawa oleh gas pembawa yang berperan sebagai fase gerak. Pemisahan komponen akan terjadi di kolom dan akan diidentifikasi oleh detektor (67).

2.5.4 Metode Analisis Autentikasi Makanan Menggunakan GC-MS

Gas Chromatography-Mass Spectrophotometri (GC-MS) dapat digunakan untuk menganalisa kehalalan suatu produk pangan yang mengandung lemak hewani khususnya lemak babi yaitu dengan mengubah asam lemak suatu sampel menjadi derivat esternya yang selanjutnya dianalisa dengan menggunakan GC-MS (8). Aplikasi GC-MS dalam analisis makanan melibatkan komposisi makanan, seperti bahan tambahan makanan, komponen rasa dan aroma, serta kontaminannya, misalnya racun alami, pestisida, fumigas, polutan lingkungan, obat hewan, serta bahan kemasan yang digunakan (67).

Analisis autentikasi makanan berbahan dasar daging dengan menggunakan GC-MS digunakan untuk menentukan perbedaan komposisi asam lemak. Selain itu, analisis GC-MS juga dapat digunakan untuk menentukan jenis asam lemak yang paling dominan dalam suatu sampel. Metode GC-MS memiliki keunggulan diantaranya tidak membutuhkan standar sampel untuk dianalisis, lebih sensitif jika terdapat gangguan dalam analisis, serta tidak akan menyulitkan dalam membaca hasil analisis (19).

2.6 Analisis Kemometrik

2.6.1 Definisi Analisis Kemometrik

Analisis Kemometrika pertama kali ditemukan oleh Swante Wold (Swedia) dan Bruce R. Kowalski (Amerika Serikat). Ilmu pengetahuan yang menerapkan praktik teori-teori statistika dan teori matematika untuk mengolah data-data kimia merupakan konsep dari analisis kemometrika. Sebagai contoh, kombinasi antara kemometrik dengan spektroskopi dapat meningkatkan kualitas data yang dihasilkan. Pada awalnya, kemometrik hanya digunakan untuk mengolah data spektrum. Akan tetapi, saat ini kemometrik dapat digunakan untuk menganalisis konsentrasi komponen sampel dalam waktu yang relatif singkat (68).

Menurut *International Chemometrics Society* (ICS), kemometrik merupakan ilmu terapan matematika dan statistika yang menghubungkan pengukuran kimia pada suatu sistem kimia. Kemometrik banyak digunakan untuk mengolah berbagai data kimia, seperti spektrum molekuler dan kromatogram. Data dari hasil

spektroskopi molekuler bersifat kompleks sehingga sangat sulit untuk dievaluasi. Oleh karena itu, untuk mengatasinya digunakan kemometrik dengan menerapkan ilmu matematika dan statistik untuk mendapatkan informasi sebanyak mungkin dari data kimia yang diperoleh (15).

Campuran senyawa kompleks dan sifat-sifatnya yang seringkali sulit untuk dianalisis. Saat ini, otomatisasi laboratorium yang terkomputerisasi telah berkembang dan mengarah kepada kemajuan analisis data kimia, salah satunya adalah dengan bantuan metode kemometrik sebagai alat untuk menganalisis dan menyusun data kimia. Metode kemometrik mampu memecahkan masalah yang melibatkan klasifikasi sampel yang berbeda dan menentukan sifat masing-masing senyawa kimia (69).

2.6.2 Jenis Analisis Kemometrik

Terdapat beberapa metode kemometrik yang biasa digunakan untuk menganalisis data kimia yang kompleks. Metode tersebut terdiri dari analisis klasifikasi kemometrik untuk analisis kuantitatif yang difasilitasi dengan kalibrasi multivariat. Analisis klasifikasi kemometrik dapat memudahkan pengelompokan minyak dan lemak dengan kemurnian tinggi pada sampel yang telah dicampurkan dengan bahan lain. Kuantifikasi kemometrik menawarkan kalibrasi multivariat yang berperan dalam memprediksi tingkat pemalsuan secara kuantitatif (70).

Berikut jenis kemometrika berdasarkan analisis yang dihasilkan.

1. Kemometrik Klasifikasi (Pengelompokkan)
 - a. Pengelompokkan yang tidak disupervisi (*unsupervised pattern recognition*)

Metode ini ditujukan untuk diferensiasi sampel, merupakan metode pengenalan pola yang tidak terawasi karena objek anggota kelompoknya belum diketahui. Terdiri dari analisis komponen utama (*principle component analysis/PCA*) dan analisis kluster (*cluster analysis/ CA*). Analisis metode PCA dilakukan dengan mereduksi variabel asli yang digunakan dalam membuat model menjadi sejumlah variabel saja, yang disebut sebagai komponen utama. Variabel asli direduksi tanpa menghilangkan informasi utama, sehingga tetap dapat

menyajikan informasi penting mengenai sifat fisikokimia serta struktur pada dua atau lebih kelompok yang telah teridentifikasi. CA merupakan metode analisis dengan pengelompokan berdasarkan kesamaan variabel, mengelompokkan sampel ke dalam kelas tertentu berdasarkan persamaannya. Kelompok-kelompok pada metode PCA dan CA tidak diketahui sebelum dilakukan analisis secara matematika (70).

b. Pengelompokan yang disupervisi (*supervised pattern recognition*)

Metode ini bertujuan untuk mengklasifikasikan sampel ke dalam kelompok tertentu yang disebut sebagai *training data set*, merupakan metode pengenalan pola yang terawasi karena objek anggota kelompoknya telah diketahui. Oleh karena itu, hal ini memungkinkan untuk mengklasifikasikan sampel baru yang tidak diketahui (sampel uji) ke dalam salah satu kelompok yang telah diketahui berdasarkan variabel yang digunakan. Terdiri dari *discriminant analysis* (DA), *partial least square discriminant analysis* (PLS-DA) dan *orthogonal projection to latent structures discriminant analysis* (OPLS-DA). DA merupakan metode mengklasifikasikan sampel dengan cara memaksimalkan rasio kelas dalam kelompok dan meminimalkan rasio kelas antar kelompok. PLS-DA mengklasifikasikan sampel dengan cara menentukan variabel dalam matrik X dan Y yang berperan penting dalam mengklasifikasikan kelas yang telah ditetapkan. OPLS-DA mengklasifikasikan sampel berdasarkan variabel ortogonal yang berperan dalam membedakan antar kelas (70).

2. Kemometrik Kalibrasi Multivariat

Kemometrik kalibrasi multivariat berperan penting dalam analisis kuantitatif bahan non-halal dalam makanan dan obat-obatan karena mampu memprediksi tingkat analit yang berbeda dalam sampel yang tidak diketahui. Kalibrasi merupakan hubungan matematis antara variabel respons (variabel dependen dengan variabel prediktor (variabel independen). Kemometrik kalibrasi multivariat menggunakan berbagai variabel, seperti penggunaan nilai absorbansi pada berbagai panjang gelombang atau penggunaan rentang bilangan gelombang. Prinsip dari kalibrasi multivariat yaitu dengan mengembangkan model kalibrasi dan validasi, sehingga dapat menghubungkan nilai analit dengan tepat yang ditentukan

oleh nilai referensi dan metode referensi berdasarkan beberapa variabel evaluasi (15).

a. Kuadrat terkecil klasik (*classical least square/CLS*)

Absorbansi berperan sebagai respon, sedangkan konsentrasi berperan sebagai prediktor. Jika panjang gelombang yang digunakan sama atau lebih banyak dari jumlah komponen, maka kalibrasi dapat dilakukan secara bersamaan. Metode CLS memiliki beberapa kelebihan, yaitu berdasarkan hukum Lambert-Beer, dapat digunakan pada campuran yang tidak kompleks, cepat, dapat menggunakan berapapun bilangan gelombang jika jumlah bilangan gelombangnya melebihi jumlah komponen, serta tidak mudah terpengaruh oleh adanya *noise* pada spektra. Kelemahan dari metode CLS, yaitu tidak bisa digunakan pada unsur yang dapat berinteraksi, mudah terpengaruh oleh adanya *baseline*, serta komposisi kalibrasi dan sampelnya harus diketahui (68).

b. Regresi linier ganda bertingkat (*stepwise multiple linear regression/SMLR*)

Konsentrasi berperan sebagai respon, sedangkan absorbansi berperan sebagai prediktor. Metode ini bertujuan untuk melakukan kalibrasi dengan syarat sampel kalibrasi harus lebih banyak daripada nilai absorbansi pada berbagai bilangan gelombang (68).

c. Regresi komponen utama (*principle component regression/PCR*)

Prinsip metode ini yaitu dengan mengurangi sejumlah variabel prediktor komponen utama (*principle component/PC*). Prediktor pada PCR tidak lagi absorban, melainkan kombinasi absorbansi yang membentuk variabel baru. Jika terdapat korelasi antar absoransinya, maka metode ini dapat digunakan dengan baik. Dalam metode PCR, jumlah sampel kalibrasi harus lebih banyak dibandingkan dengan variabel prediktor. Keuntungan dari metode PCR, yaitu merupakan metode yang efektif dan efisien digunakan pada variabel prediktor yang berjumlah banyak, ratusan hingga ribuan, karena mampu dijelaskan menggunakan beberapa variabel PC (68).

d. Regresi kuadrat terkecil sebagian (*partial least square/PLS*)

Prinsip pengolahan data menggunakan metode PLS, yaitu berdasarkan kombinasi-kombinasi linear variabel prediktor. Metode PCR dan PLS dalam mengolah data memiliki beberapa perbedaan. Pada PCR, komponen utama dipilih hingga mendeskripsikan variabel prediktor sebanyak mungkin, tanpa memperhatikan kekuatan korelasi antara variabel prediktor dengan respon. Sedangkan pada PLS, hanya dipilih variabel prediktor yang sangat berkorelasi dengan variabel respon. Metode PLS memiliki beberapa keuntungan, yaitu dapat digunakan untuk memperoleh informasi dari spektrum kompleks yang memiliki pengotor, *noise*, dan puncak yang bertumpuk (68).

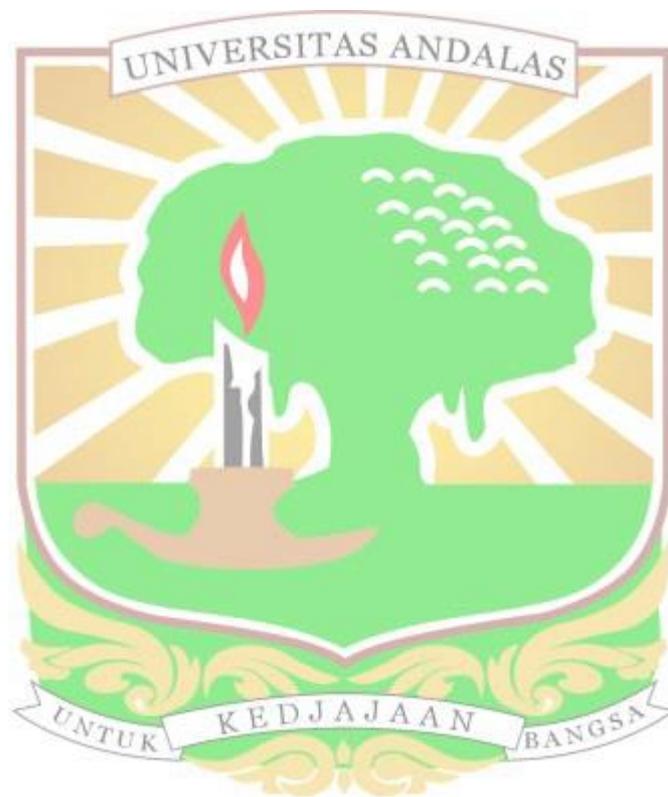
Koefisien determinasi (R^2) berfungsi untuk mengevaluasi akurasi model kalibrasi dan validasi yang digunakan pada kalibrasi multivariat pada hubungan antara dua variabel. Standar error kalibrasi (*root mean square error of calibration*/RMSEC) dan nilai standar error prediksi (*root mean square error of predict*/RMSEP) dapat digunakan untuk menilai tingkat presisi suatu model (15).

Analisis kemometrik dapat dilakukan dengan memanfaatkan berbagai *software*. Terdapat berbagai jenis *software* yang dapat digunakan untuk analisis kemometrik, tergantung kepada tujuan pemanfaatannya. *Software* ini tersedia secara komersial maupun non komersial. *Software* yang tersedia secara komersial, yaitu Minitab[®], Unscrambler[®], SIMCA[®], MATLAB[®]PLS_Toolbox dan lainnya. Sedangkan *software* yang tersedia secara non komersial, yaitu R factoextra dan FactomineR (70).

2.6.3 Aplikasi Analisis Kemometrik dalam Farmasi

Analisis kemometrik memiliki berbagai peranan penting dalam bidang farmasi, salah satunya adalah untuk autentikasi produk farmasi dan makanan, seperti autentikasi lemak dan minyak, autentikasi daging, autentikasi susu dan produk olahannya seperti mentega, serta autentikasi produk herbal. Dalam bidang kimia bahan alam, kemometrik dapat mendeteksi bahan aktif dari tanaman herbal, penentuan asal tumbuhan, untuk penjaminan mutu dan kemotaksonomi. Selain itu kemometrik dapat juga digunakan dalam bidang forensik (71).

Metode analisis kemometrika memudahkan sejumlah pengolahan data. Dalam bidang farmasi, kemometrika dapat digunakan untuk menganalisis berbagai sampel, seperti analisis kolesterol total, kandungan hemoglobin, kandungan trigliserida dan lainnya dalam tiap spesimen darah, urin, atau feses. Kegunaan lainnya adalah untuk mengelompokkan berbagai minyak atau lemak makanan berdasarkan hasil spektra IR (*Infrared*). Variabel yang digunakan untuk mengelompokkan minyak atau lemak makanan tersebut yaitu berdasarkan data absorbansi pada kisaran frekuensi yang lebar (68).



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan September 2023 hingga Maret 2024 yang dilaksanakan di Laboratorium Kimia Bahan Alam Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Laboratorium Penelitian Fakultas Farmasi Universitas Andalas, dan Laboratorium Pusat Penelitian Ternak Tropik Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

3.2.1.1 Pembuatan Rendang

Alat yang digunakan dalam pembuatan rendang meliputi pisau, talenan, wajan, panci, spatula, dan kompor gas.

3.2.1.2 Ekstraksi Lemak dan Derivatisasi Asam Lemak

Alat yang digunakan untuk melakukan ekstraksi lemak daging rendang yaitu Mitochiba[®] *Magic Chopper* CH 200, timbangan analitik (Shimadzu[®]), corong (Iwaki[®]), erlenmeyer (Iwaki[®]), *beaker glass* (Iwaki[®]), gelas ukur (Iwaki[®]), *magnetic bar*, Ika[®] C-Mag Hs7 *Magnetic Stirrer*, corong pisah (Iwaki[®]), mikropipet (OmniPETTE[®]), klem, statif, pipet tetes, spatel, *rotary evaporator* (Buchi[®]), *vortex* (Heidolph[®]), lemari es (SHARP[®]), botol cokelat 2,5Liter, dan vial.

3.2.1.3 Analisis GC-MS

Alat yang digunakan adalah instrumen GC-MS. GC dengan menggunakan mesin GC Agilent[®] 8890, 7693A *Autosampler*. Kolom DB-FastFAME, diameter 0,25 mm, tebal 0,25 μm , panjang 30 m. Detektor MS yang digunakan adalah MSD Agilent[®] 5977B.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan yaitu daging sapi, daging babi hutan, daging babi ternak, santan, rempah-rempah, gas LPG (*Liquefied Petroleum Gas*), kertas saring, kain kasa, mikropipet tip, aluminium foil, dan label nama. Daging sapi yang

digunakan diperoleh di Pasar Belimbing, Kecamatan Kuranji, Kota Padang. Sedangkan untuk daging babi ternak dan babi hutan diperoleh di Pasar Tanah Kongsu, Jalan Kelenteng, Kampung Pondok, Kecamatan Padang Barat, Kota Padang.

Pelarut dan bahan kimia yang digunakan terdiri dari asam klorida (HCl) 1N, metanol PA (*Pro Analisis*, Merck®), kloroform PA (*Pro Analisis*, Merck®), natrium sulfat (Na₂SO₄) anhidrat PA (*Pro Analisis*, Merck®), *n*-heksana (*Pro Analisis*, Merck®), NaOH (*Pro Analisis*, Merck®), NaCl (*Pro Analisis*, *Smart Lab*®), dan aquadest.

3.3 Prosedur Kerja

3.3.1 Penyiapan Rendang

Rendang yang disiapkan terdiri dari tiga jenis rendang dengan daging yang berbeda, yaitu rendang 100% sapi, rendang 100% babi hutan, dan rendang 100% babi ternak. Tiap rendang mengandung 300 gr daging, 100 gr bumbu rempah-rempah dan 500 ml santan. Semua bahan dimasak selama kurang lebih satu jam sambil diaduk agar tidak gosong hingga mengering dan berubah warna menjadi coklat tua. Rendang yang sudah masak disimpan dalam wadah tahan panas dan diberi label sesuai komposisi.

Sampel uji rendang rumah makan dibeli dengan kriteria memiliki harga dalam rentang Rp10.000,00 – Rp15.000,00 serta terdapat di pinggir jalan pada lima kecamatan di Kota Padang yang dipilih secara acak, yaitu Kecamatan Padang Timur, Padang Utara, Padang Selatan, Koto Tangah, dan Bungus Teluk Kabung.

3.3.2 Hidrolisis Asam

Hidrolisis bertujuan untuk meningkatkan efektifitas serta efisiensi dari ekstraksi lemak dengan melepaskan lemak dari protein dan karbohidrat yang terikat. Daging rendang dicuci bersih, dikeringkan dan dihaluskan menggunakan *chopper*. Sebanyak 50 gram (gr) daging rendang halus dimasukkan ke dalam erlenmeyer lalu dihidrolisis menggunakan 500 ml HCl 1 N (1:10) dan diaduk dengan kecepatan 300 rpm (*revolutions per minute*) selama 30 menit menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu 60°C, kemudian sampel disaring menggunakan kain

kasa sehingga diperoleh filtrat dan ampas. Ampas yang diperoleh akan digunakan untuk ekstraksi lemak (39).

3.3.3 Ekstraksi Lemak dengan Metode Bligh-Dyer

Daging hasil hidrolisis diekstraksi dengan 150 mililiter (ml) pelarut Bligh-Dyer, yaitu campuran kloroform:metanol (1:2 v/v) dalam erlenmeyer. Campuran dihomogenkan dengan diaduk pada suhu 60°C selama 30 menit menggunakan *magnetic stirrer* lalu disaring dengan kertas saring. Pisahkan filtrat yang dihasilkan kemudian masukkan ke dalam corong pisah. Tambahkan 100 ml aquades, kocok perlahan lalu didiamkan hingga terbentuk dua fase. Buang fase air yang terdapat pada bagian atas. Ambil fase kloroform (fase lemak) yang terdapat di bagian bawah lalu tambahkan natrium sulfat anhidrat. Sisa kloroform diuapkan dengan bantuan *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental lemak (39). Ekstrak lemak yang dihasilkan berwarna kuning tua. Simpan ekstrak lemak di lemari es (suhu 4-8°C) sebelum dilakukan derivatisasi dan analisis dengan GC-MS.

3.3.4 Derivatisasi Asam Lemak

Ekstrak lemak ditambahkan dengan 1 mL BF₃-Metanol 20%, panaskan dalam ultrasonic bath pada suhu 60°C selama 20 menit. Setelah dingin, tambahkan 2 mL n-heksan, kocok menggunakan vortex. Sentrifus dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Pisahkan supernatan berupa fase n-heksan yang mengandung asam lemak metil ester (*fatty acid methyl esters/FAME*). FAME siap untuk diinjeksikan ke dalam GC-MS (72,73).

3.3.5 Analisis Asam Lemak dengan GC-MS

Hasil derivatisasi asam lemak berupa *fatty acid methyl esters* (FAME) akan dianalisis dengan GC-MS. Analisis GC-MS digunakan untuk menentukan komposisi asam lemak. Waktu retensi/*Retention Time* (RT), *Similarity Index* (SI), dan persen luas area puncak merupakan parameter yang diperoleh dari hasil analisis dengan GC-MS. Waktu retensi digunakan sebagai alat identifikasi kualitatif, sedangkan *Similarity Index* (SI) digunakan untuk membandingkan komponen asam lemak yang terdapat pada sampel dengan asam lemak standar dari data *library* NIST20 yang terdapat pada *software* GC-MS. Jika nilai SI (*Similarity index*)

komponen asam lemak sampel terdeteksi > 90% menunjukkan bahwa asam lemak sampel itu semakin mendekati asam lemak standar. Persen luas area puncak kromatogram GC-MS digunakan untuk menunjukkan konsentrasi relatif suatu senyawa terhadap sampel yang teruapkan saat pengoperasian GC-MS (18). Berikut merupakan kondisi instrumen GC-MS yang digunakan pada penelitian (Tabel 3.1) (18,74).

Tabel 3.1 Kondisi Instrumen GC-MS

Komponen	Kondisi
Instrumen	GCMS Agilent® (type: 8890 GC System, 5977B GC/MSD, 7693A Autosampler)
Suhu injektor	250°C
Volume Injeksi	1 µL
Detektor	MSD Agilent® 5977B
Suhu detektor	260°C
Kolom / fase diam	DB-FastFAME; 30 m x 250 µm x 0,25 µm
Suhu kolom	60°C selama 1 min, peningkatan suhu 5°C/min sampai 100°C selama 1 min, peningkatan suhu 3°C/min sampai 200°C selama 3 min, peningkatan suhu 3°C/min sampai 240°C selama 7 min
Gas pembawa / fase gerak	Helium
Laju alir fase gerak	1 ml/menit

3.3.6 Analisis Kemometrik

Analisis kemometrik dilakukan pada kromatogram GC-MS dari seluruh asam lemak metil ester menggunakan perangkat lunak SIMCA® 14.1. *Principle Component Analysis* (PCA) digunakan untuk mengelompokkan asam lemak dari rendang sapi, rendang babi hutan, rendang babi ternak, dan rendang rumah makan.

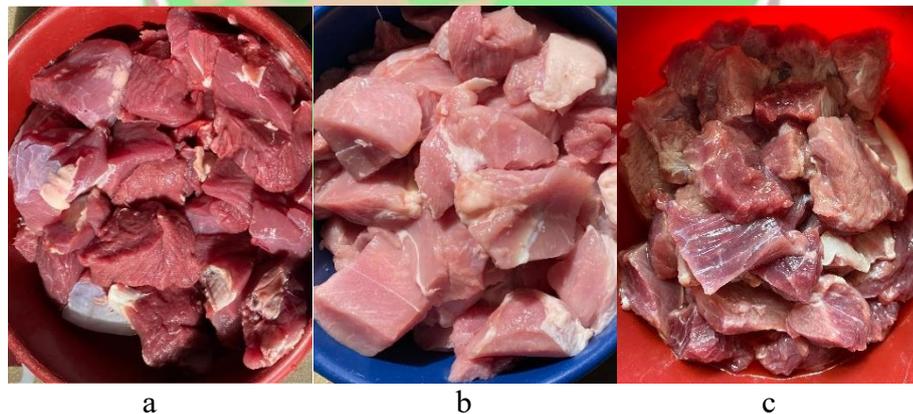
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini sampel terdiri dari daging mentah (sapi, babi ternak, dan babi hutan), rendang yang diolah sendiri (rendang sapi, rendang babi ternak, dan rendang babi hutan), serta lima rendang yang dijual di rumah makan. Secara visual yang terlihat pada Gambar 4.1, dapat diamati perbedaan karakteristik antara daging sapi, babi ternak, dan babi hutan sesuai dengan yang dicantumkan pada tabel 4.1 (75,76).

Tabel 4.1 Perbedaan daging sapi, babi ternak, dan babi hutan

Perbedaan	Daging Sapi	Daging Babi Ternak	Daging Babi Hutan
Warna	Merah tua	Merah pucat	Merah muda
Serat	Terlihat jelas, kasar, dan rapat	Samar, halus, dan renggang	Samar dan agak kasar
Aroma	Aroma khas, tidak amis	Amis	Sangat amis



Gambar 4.1 a) Daging Sapi; b) Daging Babi Ternak; c) Daging Babi Hutan

Proses pembuatan rendang sapi, rendang babi ternak, dan rendang babi hutan dilakukan dengan perlakuan yang sama, yaitu dengan menyamakan komposisi bahan serta besar api yang digunakan untuk mencegah adanya pengaruh dari faktor-faktor tersebut terhadap hasil penelitian. Dengan demikian, faktor yang

menjadi pembeda pada penelitian ini hanya variasi jenis dagingnya saja, yaitu daging sapi, daging babi ternak, dan daging babi hutan. Pembuatan rendang sapi dilakukan di tempat yang berbeda dengan rendang babi ternak dan rendang babi hutan. Hal ini dilakukan dengan tujuan untuk mencegah kemungkinan terkontaminasinya daging sapi dengan daging babi ternak dan/atau babi hutan dalam proses pembuatan rendang yang dapat memengaruhi hasil penelitian.

Ekstrak lemak dari masing-masing sampel dapat diperoleh setelah melalui beberapa tahap. Diawali dengan sampel dicuci bersih dengan air mengalir, dikeringkan, lalu ambil dagingnya. Daging yang telah dicuci bersih kemudian dihaluskan dengan menggunakan *chopper* untuk memperkecil ukuran daging hingga menjadi partikel-partikel kecil yang ukurannya homogen. Semakin kecil ukuran partikel daging, maka luas permukaannya akan semakin besar sehingga kontak antara permukaan partikel daging dengan pelarut juga akan semakin besar. Hal ini akan memudahkan penetrasi pelarut ke dalam partikel daging, sehingga lemak yang terdapat di dalam daging dapat ditarik secara maksimal oleh pelarut. Selain itu, proses penghalusan daging juga memengaruhi besarnya rendemen yang dihasilkan. Dengan demikian, proses ekstraksi dapat berlangsung secara optimal (77,78).

Daging mengandung lemak bebas dan lemak yang telah berikatan dengan molekul lain, seperti karbohidrat (glikolipid) atau protein (lipoprotein). Agar proses ekstraksi dapat berjalan secara optimal, maka ikatan antara lemak-karbohidrat serta lemak-protein harus dipecah terlebih dahulu agar lemak dapat diekstraksi secara keseluruhan sehingga akan meningkatkan efektifitas serta efisiensi dari ekstraksi lemak. Hidrolisis asam merupakan tahapan yang berperan dalam proses tersebut dengan menggunakan pelarut HCl 1N (79). Daging yang telah dihaluskan kemudian ditimbang masing-masing sebanyak 50 gram lalu dihidrolisis dengan menggunakan 500 ml HCl 1N (1:10) (39).

Metode Bligh-Dyer dipilih sebagai metode ekstraksi lemak pada penelitian ini. Ekstraksi lemak metode Bligh-Dyer dilakukan dengan menggunakan campuran pelarut kloroform:metanol (1:2 v/v) serta rasio antara sampel dengan pelarut sebesar 1:3 (80). Bligh-Dyer telah menjadi metode standar dalam melakukan

ekstraksi lemak, selain metode Folch (41). Keuntungan metode Bligh-Dyer dibandingkan dengan metode Folch, yaitu lebih aman digunakan karena Bligh-Dyer (kloroform: metanol, 1:2) menggunakan pelarut kloroform yang lebih sedikit dibanding metode Folch (kloroform: metanol, 2:1). Seperti yang diketahui, bahwa kloroform merupakan pelarut dengan tingkat toksisitas yang tinggi (43). Selain itu, metode Bligh-Dyer juga bersifat lebih ekonomis karena pelarut yang digunakan lebih sedikit dari metode Folch. Hal ini dibuktikan dengan rasio antara sampel dengan pelarut pada metode Bligh-Dyer hanya 1:3, sedangkan pada metode Folch sebesar 1:20. Namun demikian, tidak ditemukan perbedaan kandungan asam lemak yang dihasilkan dari ekstrak pada kedua metode tersebut (80).

Keefektifan suatu ekstraksi lemak tergantung kepada tingkat polaritas lemak yang terkandung di dalam sampel serta tingkat polaritas pelarut. Lemak umumnya terdiri dari campuran antara komponen nonpolar seperti gliserida (terutama triasilgliserol) dan kolesterol, serta komponen yang bersifat lebih polar seperti glikolipid dan fosfolipid. Lemak yang bersifat polar lebih larut di dalam pelarut organik yang bersifat polar. Sedangkan lemak yang bersifat nonpolar lebih larut dalam pelarut nonpolar. Oleh karena itu, kombinasi dua hingga tiga pelarut sering digunakan dalam ekstraksi dengan tujuan agar lemak pada sampel dapat terekstrak secara optimal (43,80).

Metanol berperan dalam memecah ikatan hidrogen antara lemak dengan gugus polar yang terkandung di dalam lemak, seperti protein (lipoprotein) dan karbohidrat (glikolipid) (41). Dengan demikian, lemak polar akan berubah menjadi lemak nonpolar karena telah terbebas dari struktur polarnya. Kloroform bersifat nonpolar sehingga akan menarik dan melarutkan lemak yang bersifat nonpolar. Oleh karena itu, komponen lemak akan terlarut di dalam kloroform, sedangkan komponen-komponen yang bersifat polar akan tetap berada di dalam metanol (40).

Proses ekstraksi metode Bligh-Dyer terdiri dari dua tahap, yaitu tahap ekstraksi padat-cair dan tahap ekstraksi cair-cair. Ekstraksi padat-cair dilakukan dengan mencampurkan sampel daging dengan pelarut Bligh-Dyer. Ekstraksi cair-cair dilakukan dengan mencampurkan filtrat (hasil penyaringan sampel daging dengan pelarut Bligh-Dyer) dengan aquadest ke dalam corong pisah. Campuran

tersebut dikocok perlahan lalu diamkan hingga terbentuk dua fase. Fase atas merupakan fase metanol-air, sedangkan fase bawah merupakan fase kloroform. Pemisahan fase ini terjadi berdasarkan perbedaan kepolaran serta perbedaan berat jenis. Metanol memiliki berat jenis sebesar 792 kg/m^3 dan air memiliki berat jenis 1000 kg/m^3 , sedangkan kloroform memiliki berat jenis sebesar 1490 kg/m^3 . Oleh karena fase kloroform memiliki berat jenis yang lebih besar dibandingkan fase metanol-air, maka fase kloroform terletak pada lapisan bawah. Fase metanol-air mengandung komponen-komponen yang bersifat polar, sedangkan fase kloroform mengandung komponen-komponen yang bersifat nonpolar. Lemak yang diekstraksi terdapat di fase kloroform (40). Dengan demikian, fase kloroform dipisahkan dari fase metanol-air lalu diambil untuk tahapan ekstraksi selanjutnya.

Menurut Bligh dan Dyer (1959), fase kloroform tidak mengandung komponen non-lemak. Namun, jika terdapat komponen non-lemak, maka komponen tersebut terdapat dalam jumlah yang tidak signifikan. Selain itu, pada fase metanol-air, ada kemungkinan terkandung lemak. Namun, lemak yang terkandung di dalam fase metanol-air hanya $\leq 1\%$ dari lemak total. Jumlah ini dianggap tidak signifikan dan tidak memengaruhi hasil ekstraksi secara keseluruhan (40).

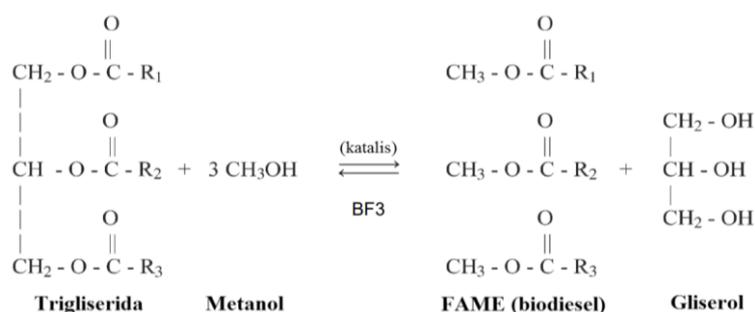
Natrium sulfat anhidrat ditambahkan pada fase kloroform yang telah dipisahkan dari fase metanol-air. Hal ini dilakukan dengan tujuan untuk mengikat molekul-molekul air yang terbawa saat pemisahan antara kedua fase tersebut. Setelah itu, fase kloroform disaring dan dipisahkan dari natrium sulfat yang telah berikatan dengan molekul air sehingga menjadi bentuk hidrat. Pelarut kloroform diuapkan hingga diperoleh ekstrak lemak.

Berdasarkan ekstraksi yang telah dilakukan, diperoleh ekstrak lemak sampel dengan rendemen berkisar antara 0,6 - 0,9%. Pada sampel rendang, rendemen tertinggi dihasilkan oleh sampel rendang babi hutan sebanyak 0,86%, diikuti dengan sampel rendang babi ternak 0,8%, serta sampel rendang sapi 0,6%. Hal yang sama juga berlaku pada sampel daging mentah, daging babi hutan juga memiliki rendemen tertinggi sebanyak 0,9%, diikuti dengan daging babi ternak 0,88%, serta daging sapi 0,64%. Hasil serupa juga didapatkan oleh Lestari et al.

(2023), yaitu rendemen ekstrak daging babi ternak yang dihasilkan lebih banyak daripada rendemen ekstrak daging sapi. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa perbedaan spesies dapat memengaruhi banyaknya rendemen yang dihasilkan. Faktor-faktor lain yang dapat memengaruhi perbedaan rendemen yang dihasilkan yaitu, metode ekstraksi yang digunakan, bagian tubuh hewan yang diambil, serta pakan yang dikonsumsi hewan tersebut (18).

Ekstrak lemak dianalisis dengan menggunakan instrumen GC-MS. Salah satu syarat agar senyawa dapat dianalisis menggunakan GC-MS, yaitu harus bersifat *volatil* atau mudah menguap. Maka dari itu, senyawa yang tidak mudah menguap (*non-volatil*) harus diubah terlebih dahulu menjadi senyawa yang bersifat *volatil*. Hal ini dapat dilakukan dengan metode derivatisasi. Derivatisasi merupakan proses reaksi kimia yang dilakukan untuk mengubah suatu senyawa menjadi senyawa lain yang bersifat volatil sehingga sesuai untuk analisis GC-MS. Asam lemak merupakan senyawa yang bersifat tidak mudah menguap sehingga tidak menghasilkan pemisahan yang baik saat dianalisis dengan GC-MS. Oleh karena itu, asam lemak perlu diderivatisasi menjadi asam lemak metil ester (*fatty acid methyl ester*/FAME) yang bersifat *volatil* agar dapat menghasilkan pemisahan yang baik saat dilakukan analisis menggunakan instrumen GC-MS (81).

Asam lemak yang terkandung di dalam ekstrak lemak diderivatisasi menjadi bentuk metil esternya melalui reaksi transesterifikasi dengan pereaksi BF₃-metanol (82). Transesterifikasi merupakan reaksi pertukaran antara gugus R'' pada ester dengan gugus R' pada alkohol. Reaksi ini dapat berlangsung dengan penambahan katalis asam untuk mempercepat reaksi. Mekanisme reaksi transesterifikasi dapat dilihat pada Gambar 4.2 (83).



Gambar 4.2 Mekanisme Reaksi Transesterifikasi

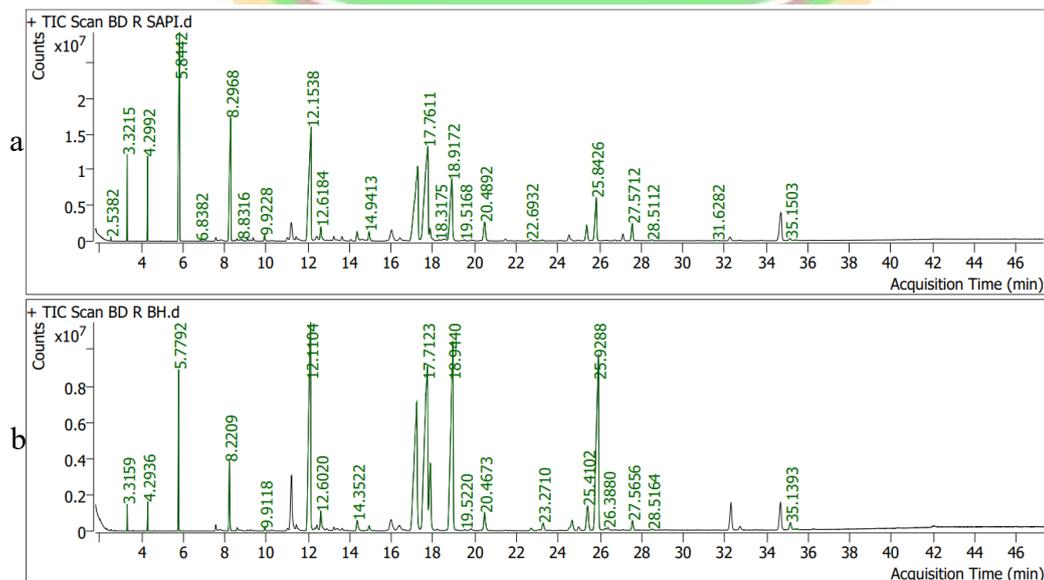
BF₃-metanol merupakan salah satu metode yang paling cepat dan paling banyak digunakan untuk derivatisasi asam lemak. Metode ini dapat meningkatkan kemampuan deteksi asam lemak yang terkandung di dalam lemak makanan serta menghasilkan pemisahan serta puncak kromatografi yang baik (84).

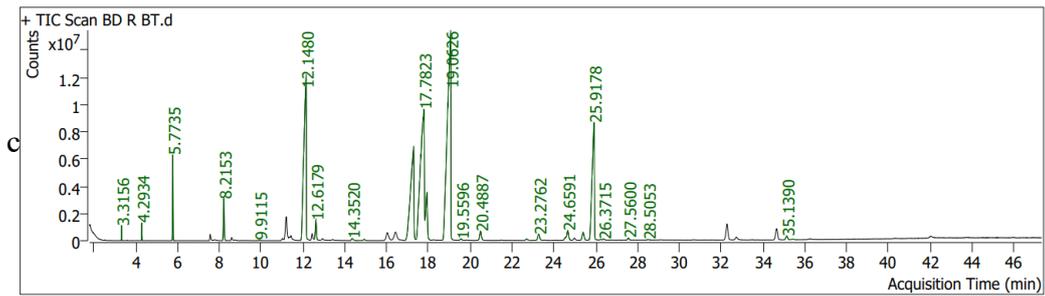
Derivatisasi dilakukan dengan melarutkan 10 mg ekstrak lemak ke dalam 1 mL BF₃-metanol 20%. Metanol berperan sebagai pereaksi utama dalam reaksi transesterifikasi sedangkan BF₃ merupakan senyawa asam yang berperan sebagai katalisator. Panaskan dalam *ultrasonic bath* pada suhu 60°C selama 20 menit. Penggunaan *ultrasonic bath* bertujuan untuk melarutkan ekstrak lemak dalam pereaksi BF₃-metanol hingga homogen sedangkan pemanasan bertujuan untuk mempercepat laju reaksi. Pada reaksi ini akan dihasilkan asam lemak metil ester sebagai produk utama dan gliserol sebagai produk samping. Setelah dingin, tambahkan 2 mL n-heksan untuk memisahkan dan melarutkan asam lemak metil ester yang telah terbentuk, homogenkan dengan vortex, lalu sentrifus dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Sentrifugasi bertujuan untuk memisahkan campuran berdasarkan berat jenis komponennya sehingga dihasilkan dua fase yang terpisah, yaitu supernatan pada bagian atas dan endapan pada bagian bawah. Fase dengan berat jenis yang lebih besar akan berada di bagian bawah tabung sedangkan fase dengan berat jenis yang lebih ringan akan berada di bagian atas tabung (72,73). Gliserol memiliki berat jenis sebesar 1260 kg/m³ sedangkan n-heksan memiliki berat jenis sebesar 661 kg/m³ (85,86). Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa asam lemak metil ester yang terlarut di dalam n-heksan berada di lapisan atas karena n-heksan memiliki berat jenis yang lebih rendah dibandingkan berat jenis gliserol. Lapisan atas diambil untuk selanjutnya dianalisis menggunakan GC-MS.

GC-MS merupakan instrumen yang digunakan untuk memisahkan senyawa organik berdasarkan dua metode analisis dari penggabungan dua instrumen yang berbeda, yaitu *Gas Chromatography* (GC) dan *Mass Spectra* (MS). Sampel diinjeksikan pada GC lalu dipisahkan berdasarkan volatilitasnya sehingga diperoleh pemisahan senyawa-senyawa yang bersifat volatil. Setelah terelusi dari GC, senyawa-senyawa tersebut akan masuk ke dalam MS. Pada MS, senyawa-senyawa tersebut akan ditembak menggunakan elektron hingga terionisasi (partikel diubah menjadi bermuatan ion) dan terpecah menjadi ion-ion fragmen. Ion-ion ini akan

dipisahkan berdasarkan rasio massa terhadap muatan (m/z) yang akan terdeteksi di detektor. Detektor akan mengidentifikasi data senyawa-senyawa apa saja yang terkandung di dalam sampel dalam bentuk spektrum massa (18,67). Dengan adanya instrumen GC dan MS tersebut, menjadikan GC-MS sebagai instrumen yang dapat memisahkan senyawa-senyawa dalam sampel serta dapat menentukan jenis senyawa yang terkandung di dalam sampel tersebut berdasarkan spektrum massanya.

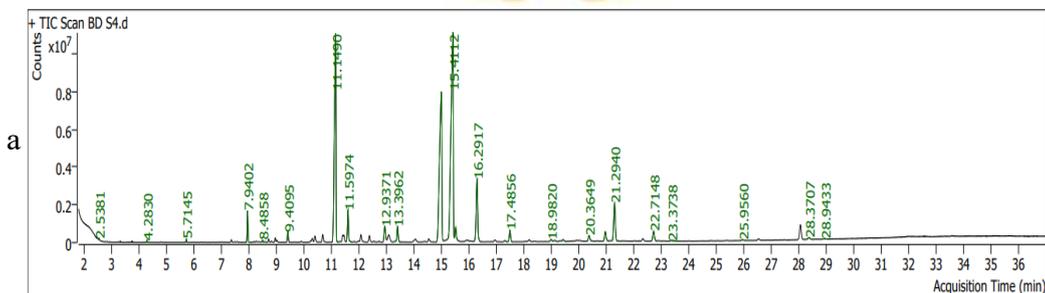
Pemisahan senyawa ditunjukkan dalam bentuk puncak-puncak pada kromatogram berdasarkan waktu retensi tertentu. Waktu retensi merupakan lamanya waktu yang dibutuhkan oleh suatu senyawa dari sampel diinjeksikan hingga terelusi dari kolom menuju detektor. Setiap senyawa dalam sampel akan menghasilkan waktu retensi yang berbeda-beda, sesuai dengan komposisi kimianya. Senyawa yang memiliki titik didih lebih rendah akan terelusi terlebih dahulu menuju detektor. Hal ini karena semakin rendah titik didih, maka semakin mudah suatu senyawa untuk menguap, sehingga waktu retensi yang dihasilkan akan lebih cepat. Dengan demikian, perbedaan waktu retensi yang dihasilkan dari masing-masing senyawa yang terdapat di dalam sampel ditentukan oleh perbedaan titik didih senyawa tersebut (87). Gambar 4.3 hingga 4.5 menunjukkan kromatogram dari masing-masing sampel.

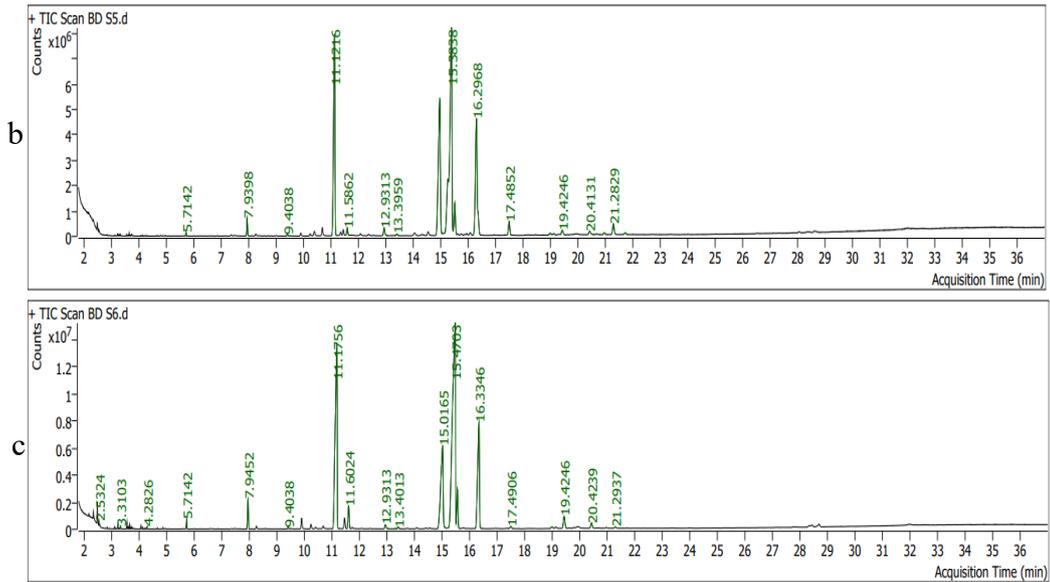




Gambar 4.3 Kromatogram a) Rendang Sapi; b) Rendang Babi Hutan; c) Rendang Babi Ternak

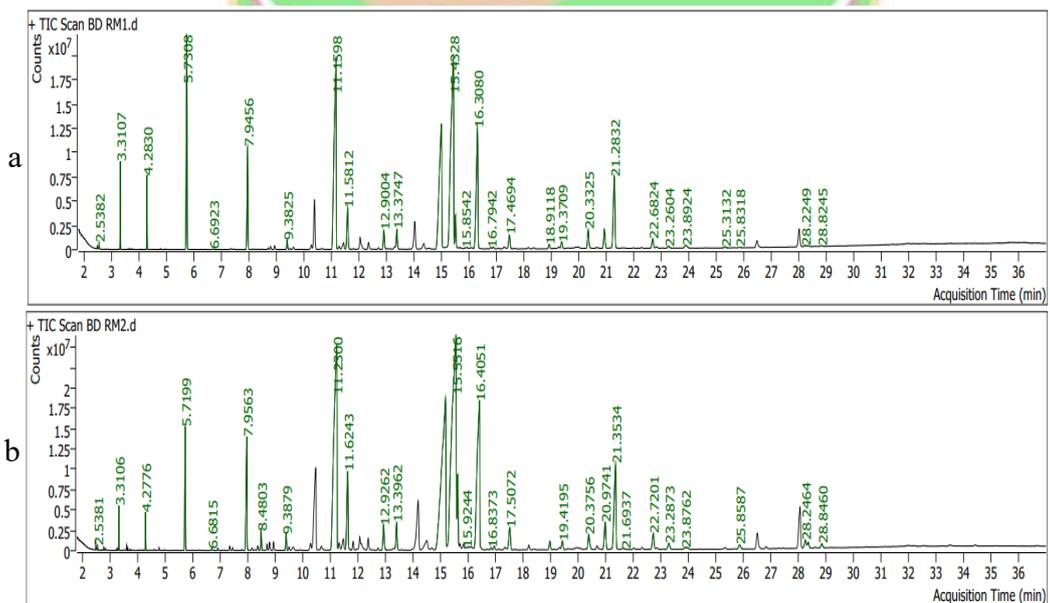
Pada Gambar 4.3 a, yaitu kromatogram rendang sapi terdapat 26 puncak, sedangkan pada Gambar 4.3 b (kromatogram rendang babi hutan) dan 4.3 c (kromatogram rendang babi ternak) terdapat 24 puncak. Puncak tersebut menyatakan banyaknya senyawa yang telah dipisahkan melalui instrumen GC-MS. Dengan demikian, dapat dilihat bahwa rendang sapi mengandung asam lemak yang lebih banyak dibandingkan rendang babi hutan dan rendang babi ternak. Tiap-tiap puncak dari masing-masing kromatogram memiliki waktu retensi yang tidak berbeda secara signifikan. Hal ini menandakan bahwa terdapat kesamaan senyawa pada masing-masing kromatogram tersebut. Dapat dilihat pada rendang sapi terdapat puncak dengan nilai waktu retensi 4.2992, pada rendang babi hutan 4.2936, dan pada rendang babi ternak 4.2934. Ketiga waktu retensi ini menyatakan senyawa yang sama, yaitu asam kaprat. Selain itu, dapat diamati juga pada masing-masing puncak memiliki intensitas luas area puncak yang berbeda. Perbedaan luas area masing-masing puncak ini menyatakan perbedaan konsentrasi dari tiap-tiap senyawa yang terkandung di dalam rendang sapi, rendang babi hutan, dan rendang babi ternak.

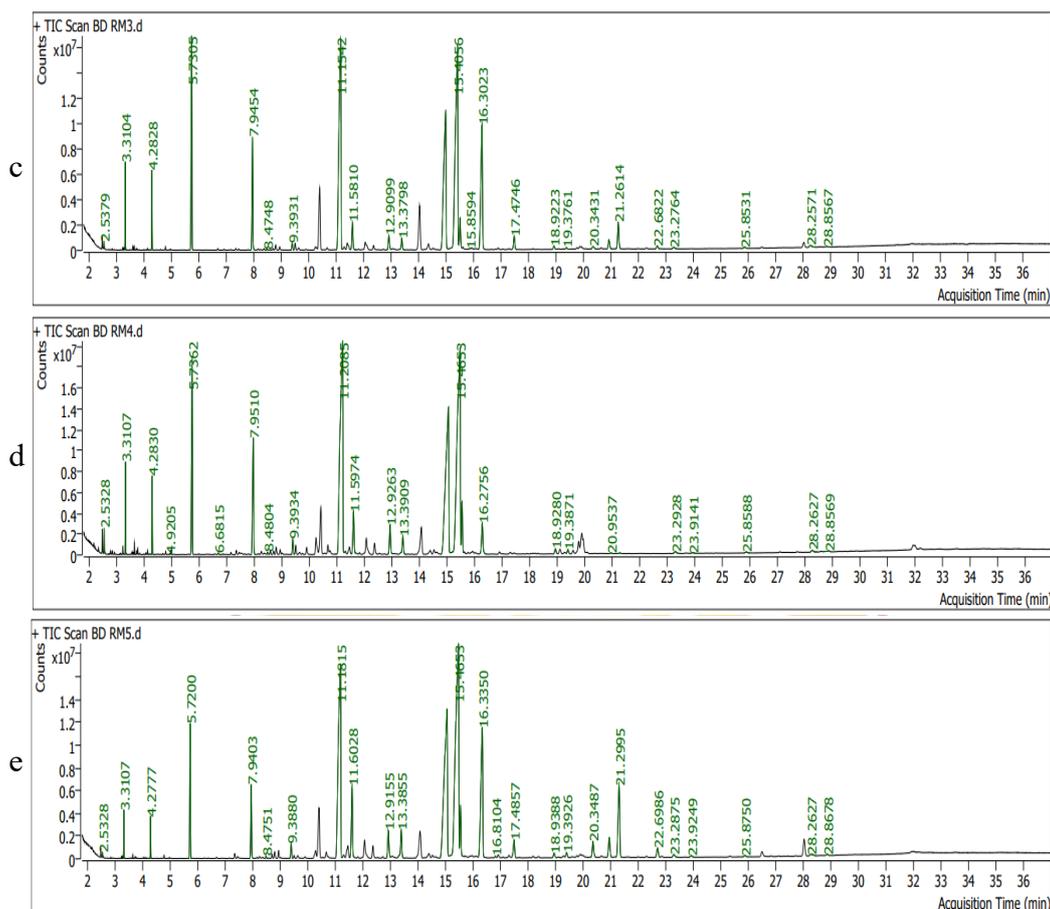




Gambar 4.4 Kromatogram a) Daging Sapi Mentah; b) Daging Babi Hutan Mentah; c) Daging Babi Ternak Mentah

Gambar 4.4 a merupakan kromatogram daging sapi mentah, sedangkan Gambar 4.4 b dan c merupakan kromatogram daging babi hutan mentah dan daging babi ternak mentah. Pada Gambar 4.5 a terdapat 23 puncak, sedangkan pada Gambar 4.4 b dan c terdapat 18 puncak. Serupa dengan rendang sapi, daging sapi mentah juga memiliki kandungan asam lemak yang lebih banyak dibandingkan dengan daging babi hutan mentah dan daging babi ternak mentah.





Gambar 4.5 Kromatogram a) Rendang RM 1; b) Rendang RM 2; c) Rendang RM 3; d) Rendang RM 4; e) Rendang RM 5

Gambar 4.5 a, b, c, d, dan e secara berurutan menunjukkan kromatogram rendang RM 1, RM 2, RM 3, RM 4, dan RM 5. Rendang RM 1 memiliki 31 puncak, rendang RM 2 memiliki 32 puncak, rendang RM 3 memiliki 27 puncak, rendang RM 4 memiliki 26 puncak, dan rendang RM 5 memiliki 28 puncak. Dengan demikian, dapat diketahui bahwa pada kelima sampel rendang rumah makan tersebut memiliki kandungan asam lemak yang berbeda. Hal ini dapat dipengaruhi oleh perbedaan pakan yang diberikan serta perbedaan habitat dari masing-masing hewan yang diambil dagingnya untuk diolah menjadi rendang (18).

Hasil analisis GC-MS juga memuat nilai *Similarity Index* (SI). Nilai ini menyatakan tingkat kemiripan antara senyawa yang teridentifikasi dari sampel dengan senyawa yang terdapat pada standar dari *library* yang digunakan pada instrumen GC-MS, yaitu NIST20. Jika nilai SI > 90, maka menandakan bahwa semakin tinggi tingkat kemiripan antara senyawa pada sampel dengan senyawa standar yang terdapat di *library*. Berdasarkan analisis GC-MS yang telah dilakukan,

terdapat beberapa senyawa yang memiliki nilai SI > 90 seperti yang terlihat pada lampiran 1.b. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa senyawa tersebut merupakan senyawa yang sama dengan senyawa yang terdapat pada *library* (18).

Selain puncak, waktu retensi, dan SI, kromatogram juga menghasilkan persen (%) luas area relatif senyawa. Persentase ini menunjukkan besarnya konsentrasi suatu senyawa yang terdapat di dalam sampel berdasarkan luas area puncak yang terukur. Tabel 4.2 menyatakan kandungan asam lemak metil ester yang teridentifikasi dari masing-masing sampel beserta (%) luas area relatifnya.

Tabel 4.2 Kandungan asam lemak metil ester

Nama IUPAC	Nama Trivial	Jenis	Luas Area (%)					
			R BT	R S	R BH	S	BH	BT
Asam 9-Oktadekanoat (E)	Asam Elaidiat	MUFA	20,50	18,70	19,19	31,81	34,97	40,03
Asam Heksadekanoat	Asam Palmitat	SFA	15,93	15,65	15,48	21,92	19,76	24,56
Asam Oktadekanoat	Asam Stearat	SFA	12,55	15,25	14,15	22,01	19,93	12,99
Asam 9,12-Octadekanoat (Z,Z)	Asam Linoleate	PUFA	28,92	8,34	17,15	6,47	15,34	12,52
Asam 5,8,11,14-Eikosatetraenoat	Asam Arakidonat	PUFA	10,54	4,41	15,95	3,90	1,16	0,14
Asam Dodekanoat	Asam Laurat	SFA	1,80	13,80	3,09	0,13	0,16	0,37
Asam Tetradekanoat	Asam Miristat	SFA	1,34	9,77	2,10	1,70	1,02	1,63
Asam 9-Oktadekanoat (Z)	Asam Oleat	MUFA	3,35	1,26	4,22	1,21	2,96	2,79
Asam 9 Heksadekanoat	Asam Palmitoleate	MUFA	0,96	1,16	0,95	2,40	0,62	1,71
α -linolenat (cis-9,12,15)	-	PUFA	0,68	2,17	1,18	1,00	1,38	0,24
Asam 8,11,14-Eikosatrienoat	-	PUFA	0,59	1,54	1,87	0,99	0,20	0,06

Asam Heptadekanoat	Asam Margarat	SFA	0,15	0,88	0,67	1,50	0,81	0,39
Asam cis-11-Eikosanoat	-	MUFA	0,48	0,09	0,53	0,19	0,53	1,32
Asam cis-10-Heptadekanoat	-	MUFA	0,07	0,79	0,23	1,39	0,16	0,18
Asam Pentadekanoat	Asam Pentasesilat	SFA	0,02	0,35	0,11	0,70	0,12	0,11
Asam Eikosanoat	Asam Arakhidat	SFA	0,11	0,20	0,16	0,22	0,20	0,19
Asam Dekanoat	Asam Kaprat	SFA	0,26	1,88	0,40	0,06	0,07	0,07
Asam 5,8,11,14,17-Eikosapentaenoat	EPA	PUFA	0,13	1,48	0,53	1,09	Ttd	Ttd
Asam 4,7,10,13,16,19-Dokosaheksanoat (all-Z)-	DHA	PUFA	0,28	0,20	0,51	0,22	Ttd	Ttd
Asam Dokosanoat	Asam Behenat	SFA	0,04	0,09	0,07	0,13	Ttd	Ttd
Asam 11,14,17-Eikosatrienoat	-	PUFA	0,07	Ttd	0,15	Ttd	0,22	0,03
Asam 9-Tetradekanoat	Asam Myristoleat	MUFA	Ttd	0,12	Ttd	0,12	Ttd	Ttd
Asam Heksanoat	Asam Kaproat	SFA	Ttd	0,09	Ttd	0,07	Ttd	Ttd
Asam Trikosanoat	-	SFA	Ttd	0,04	Ttd	0,11	Ttd	Ttd
Asam Oktanoat	Asam Kaprilat	SFA	0,17	1,50	0,27	Ttd	Ttd	Ttd
γ -linolenat (cis-6,9,12)	-	PUFA	0,09	0,09	0,05	Ttd	Ttd	Ttd
Asam Tetrakosanoat	Lignocerate	SFA	0,08	0,07	0,08	Ttd	Ttd	Ttd
Σ SFA			32,45	59,57	36,58	48,55	42,07	40,31
Σ MUFA			25,36	22,12	25,12	37,12	39,24	46
Σ PUFA			41,3	18,23	37,39	13,67	18,3	12,99

Ket:

Ttd	= Tidak terdeteksi	R S	= Rendang Sapi
SFA	= <i>Saturated Fatty Acid</i>	R BH	= Rendang Babi Hutan
MUFA	= <i>Mono-Unsaturated Fatty Acid</i>	S	= Sapi
PUFA	= <i>Poli-Unsaturated Fatty Acid</i>	BH	= Babi Hutan
R BT	= Rendang Babi Ternak	BT	= Babi Ternak

Berdasarkan Tabel 4.2, terlihat beberapa perbedaan kandungan asam lemak antara keenam jenis sampel yang dianalisis dengan menggunakan instrumen GC-MS. Pada daging sapi mentah dan olahan rendangnya, ditemukan beberapa asam lemak yang tidak dimiliki oleh daging babi hutan mentah dan daging babi ternak mentah beserta olahan rendangnya. Asam lemak tersebut diantaranya adalah asam heksanoat (asam kaproat), asam 9-tetradekanoat (asam myristoleat), serta asam trikosanoat. Ketiga asam lemak tersebut dapat menjadi ciri khas atau senyawa marker yang dapat membedakan kandungan asam lemak daging sapi dengan kandungan asam lemak daging babi hutan dan babi ternak. Perbedaan lainnya yang dapat diidentifikasi dari kandungan asam lemak ketiga jenis hewan tersebut adalah tidak ditemukannya asam 11,14,17-eikosatrienoat pada daging sapi mentah dan olahan rendangnya. Hal ini menandakan bahwa asam lemak ini hanya terkandung di daging babi hutan dan babi ternak, hasil yang serupa juga diperoleh Indrasti et.al (37). Namun demikian, persentase kandungan asam 11,14,17-eikosatrienoat dalam daging babi hutan dan babi ternak berbeda. Asam 11,14,17-eikosatrienoat lebih banyak terkandung dalam daging babi hutan dengan persentase 0,15% pada rendang babi hutan dan 0,22% pada daging babi hutan mentah. Pada babi ternak, kandungan asam 11,14,17-eikosatrienoat lebih sedikit, yaitu sebanyak 0,07% pada rendang babi ternak dan 0,03% pada daging babi ternak mentah. Dengan demikian, asam 11,14,17-eikosatrienoat dapat menjadi senyawa yang membedakan ketiga jenis hewan tersebut.

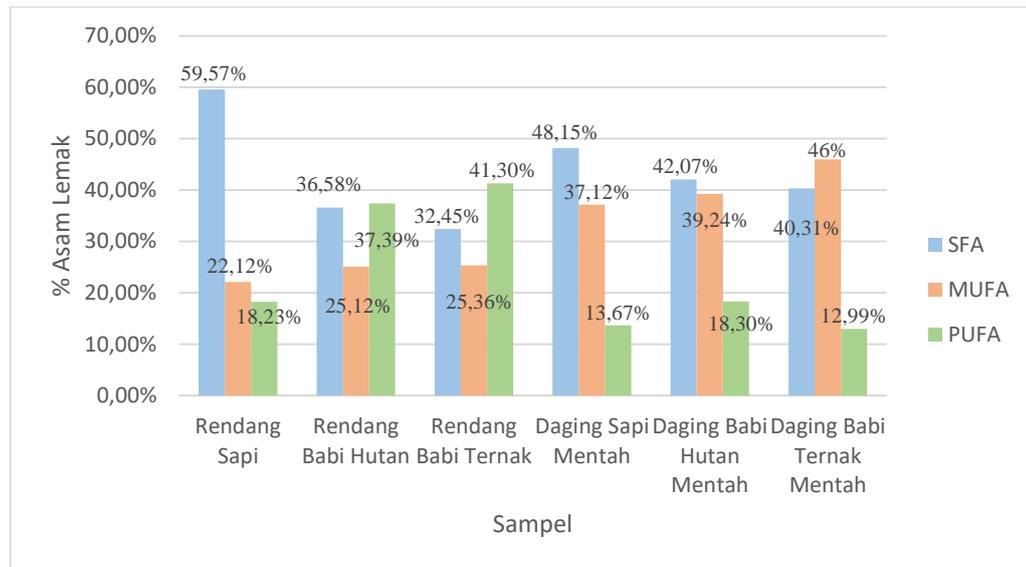
Daging sapi mentah dan rendangnya mengandung beberapa asam lemak yang sama dengan asam lemak yang terkandung di dalam daging babi hutan dan daging babi ternak namun dengan konsentrasi yang lebih tinggi diantara ketiga jenis daging tersebut. Asam lemak tersebut diantaranya asam tetradekanoat, asam

pentadekanoat, asam heptadekanoat, asam oktadekanoat, asam eikosanoat, asam dokosanoat, asam 9-heksadekanoat, asam cis-10-heptadekanoat, dan asam 5,8,11,14,17-eikosapentaenoat. Selain itu, terdapat beberapa asam lemak pada daging sapi dengan konsentrasi paling rendah dibandingkan daging babi hutan dan daging babi ternak, yaitu asam 9-oktadekanoat (E), asam 9-oktadekanoat (Z), asam 9,12-oktadekanoat (Z,Z), dan asam cis-11-eikosanoat.

Daging babi hutan mengandung asam 9-oktadekanoat (Z) sebagai asam lemak dengan kandungan paling tinggi dibandingkan pada daging sapi dan daging babi ternak. Namun, daging babi hutan juga memiliki asam lemak dengan kandungan paling rendah diantara ketiga jenis hewan tersebut, yaitu asam heksadekanoat dan asam 9 heksadekanoat. Pada daging babi ternak, terdapat asam lemak dengan kandungan tertinggi jika dibandingkan dengan daging sapi dan daging babi hutan, yaitu asam heksadekanoat dan asam 9-oktadekanoat. Selain itu, daging babi ternak juga mengandung asam lemak terendah dibandingkan ketiga jenis daging tersebut, yaitu asam eikosanoat, asam pentadekanoat, asam heptadekanoat, asam oktadekanoat, α -linolenat (cis-9,12,15) dan asam 8,11,14-eikosatrienoat. Perbedaan kandungan asam lemak tersebut dapat terjadi karena perbedaan spesies antara ketiga hewan tersebut, yaitu sapi, babi hutan, dan babi ternak.

Pada Tabel 4.2, dapat diamati perbedaan kandungan asam lemak antara sampel rendang dengan sampel daging mentah. Perbedaan ini dapat terjadi karena sampel rendang mengalami peningkatan konsentrasi asam lemak atau penurunan konsentrasi asam lemak dari sampel daging mentah. Peningkatan konsentrasi asam lemak dapat disebabkan oleh pengaruh komponen asam lemak nabati yang terkandung di dalam bumbu rendang. Asam linoleat, asam laurat, dan asam oleat merupakan contoh asam lemak yang mengalami peningkatan konsentrasi pada sampel rendangnya. Penurunan konsentrasi asam lemak dapat terjadi karena proses pemanasan selama pengolahan makanan rendang sehingga mengakibatkan asam lemak yang terkandung di dalam daging mentah mengalami degradasi, sehingga asam lemak tersebut mengalami penurunan konsentrasi pada sampel rendang. Hal ini dialami oleh asam elaidiat, asam palmitat, dan asam stearat.

Berdasarkan Tabel 4.2 juga dapat diamati bahwa masing-masing sampel mengandung tiga jenis asam lemak, yaitu SFA, MUFA, dan PUFA dengan persentase kandungan yang berbeda-beda. Persentase asam lemak jenis SFA, MUFA, dan PUFA yang teridentifikasi dari masing-masing sampel pada Tabel 4.2 dijumlahkan hingga diperoleh persen total kandungan ketiga jenis asam lemak tersebut. Perbedaan persentase ini dapat dilihat pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Persentase SFA, MUFA, dan PUFA

Pada gambar 4.6, dapat diamati bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada kandungan SFA antara keenam sampel tersebut. Diantara tiga sampel rendang yang berbeda, rendang sapi memiliki persentase SFA yang tertinggi. Serupa dengan rendang sapi, daging sapi mentah juga memiliki persentase SFA paling tinggi dibandingkan dengan daging babi hutan mentah dan daging babi ternak mentah. Hasil yang sama juga didapatkan oleh Hermanto et al. (2008) dan Ahda et al. (2021), yaitu kandungan SFA pada daging sapi lebih tinggi dibandingkan pada daging babi (13,17).

Sapi merupakan jenis hewan ruminansia (poligastrik), yaitu hewan yang mempunyai empat bagian lambung dengan masing-masing peran yang berbeda dalam pencernaan makanan. Empat bagian lambung tersebut yaitu, rumen, retikulum, omasum, dan abomasum (88). Komposisi asam lemak hewan ruminansia sangat dipengaruhi oleh proses biohidrogenasi di dalam rumen. Asam lemak tidak

jenuh, baik itu PUFA maupun MUFA mengalami biohidrogenasi menjadi asam lemak jenuh di dalam rumen. Biohidrogenasi merupakan proses penghilangan hidrogen pada ikatan rangkap dari asam lemak tidak jenuh sehingga berubah menjadi asam lemak jenuh, seperti misalnya asam linoleat (PUFA) yang mengalami biohidrogenasi menjadi asam stearat (SFA). Hal ini merupakan mekanisme perlindungan mikroflora normal yang terdapat di dalam rumen terhadap efek toksik dari asam lemak tidak jenuh bagi sebagian besar mikroba rumen. Dengan demikian, asam lemak yang diserap oleh darah pada usus halus berupa SFA. Hal ini menjelaskan mengapa daging sapi mengandung lebih banyak SFA dibandingkan daging babi hutan dan babi ternak (89–92).

Pada rendang sapi dan daging sapi mentah, urutan kandungan asam lemak dari yang tertinggi hingga yang terendah, yaitu SFA, MUFA, dan PUFA. Hal ini karena hewan ruminansia mengandung lebih banyak asam lemak jenis SFA dan MUFA daripada PUFA sehingga PUFA menjadi asam lemak dengan kandungan yang paling sedikit pada daging sapi (89). Penelitian yang dilakukan oleh Hermanto et al. (2008) dan Ahda et al. (2021) juga memberikan hasil yang sama (13,17).

Berbeda dengan sapi, babi hutan dan babi ternak bukan merupakan hewan ruminansia (poligastrik), melainkan termasuk hewan monogastrik. Hewan monogastrik merupakan hewan berperut tunggal dan sederhana. Hewan monogastrik tidak dapat melakukan biohidrogenasi asam lemak. Dengan demikian, kandungan asam lemak di dalam daging babi hutan dan babi ternak mirip dengan komposisi asam lemak yang terkandung di dalam pakan yang dikonsumsi. Oleh karena itu, kandungan asam lemak pada daging babi hutan dan babi ternak tidak menentu, tergantung kepada pakan yang dikonsumsi oleh babi hutan dan babi ternak tersebut (89,93). Hal ini telah dibuktikan dengan penelitian yang dilakukan oleh Jiang et.al (2017) yang menambahkan minyak kedelai dan minyak biji rami pada pakan ternak babi, hasilnya yaitu terjadi penurunan kandungan SFA sebesar 7%, penurunan kandungan MUFA sebesar 12%, dan peningkatan kandungan PUFA lebih dari 14% (94). Dengan demikian, hal ini menjelaskan mengapa tidak terdapat kesamaan kandungan asam lemak pada sampel rendang babi hutan, rendang babi ternak, daging babi hutan mentah, dan daging babi ternak mentah.

Puncak-puncak pada kromatogram memiliki spektrum massa. Spektrum massa memuat pola fragmentasi yang dapat dianalisis dengan cara membandingkan spektrum massa sampel dengan spektrum massa standar yang terdapat di *library*. Jika terdapat kesamaan antara pola fragmentasi dari senyawa pada sampel dengan senyawa standar pada *library*, maka dapat disimpulkan bahwa senyawa tersebut merupakan senyawa yang sama dengan senyawa yang terdapat pada *library*. Berdasarkan hasil analisis GC-MS, diketahui bahwa keenam sampel mengandung senyawa mayor yang sama, yaitu asam laurat, asam miristat, asam palmitat, asam stearat, asam elaidiat, asam linoleat, dan asam arakidonat. Pola fragmentasi spektrum massa senyawa mayor dari asam lemak metil ester yang teridentifikasi dalam GC-MS dinyatakan dalam Tabel 4.3 dengan struktur molekulnya pada Gambar 4.7.

Tabel 4.3 Fragmentasi spektrum massa senyawa mayor yang teridentifikasi

Senyawa	Rumus Molekul	Pola Fragmentasi (m/z)
Asam Laurat	$C_{13}H_{26}O_2$	214 (M^+), 143, 87, 74, 55
Asam Miristat	$C_{15}H_{30}O_2$	242 (M^+), 199, 143, 87, 74, 43
Asam Palmitat	$C_{17}H_{34}O_2$	270 (M^+), 227, 185, 143, 87, 74, 43
Asam Stearat	$C_{19}H_{38}O_2$	298 (M^+), 255, 199, 143, 87, 74, 43
Asam Elaidiat	$C_{19}H_{36}O_2$	296 (M^+), 264, 222, 180, 97, 69, 55, 41
Asam Linoleat	$C_{19}H_{34}O_2$	294 (M^+), 263, 220, 178, 150, 123, 109, 95, 67, 55, 41
Asam Arakidonat	$C_{21}H_{40}O_2$	318 (M^+), 247, 203, 150, 91, 79, 67, 41



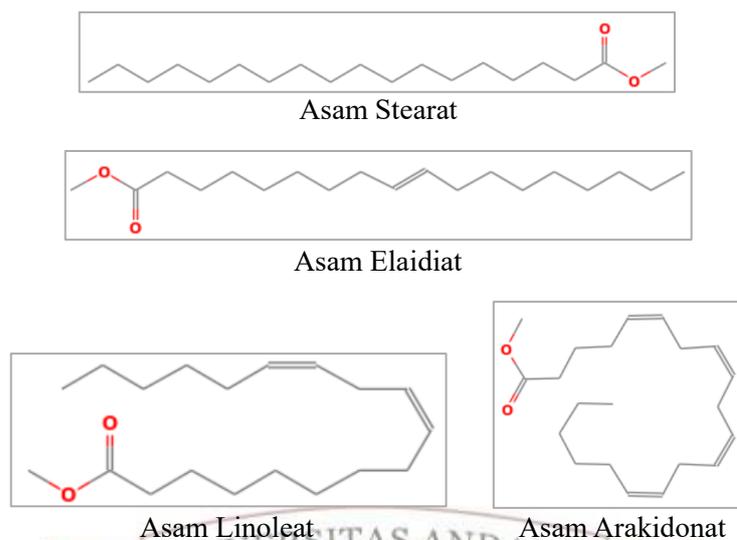
Asam Laurat



Asam Miristat



Asam Palmitat



Gambar 4.7 Struktur Molekul Senyawa Mayor yang Teridentifikasi

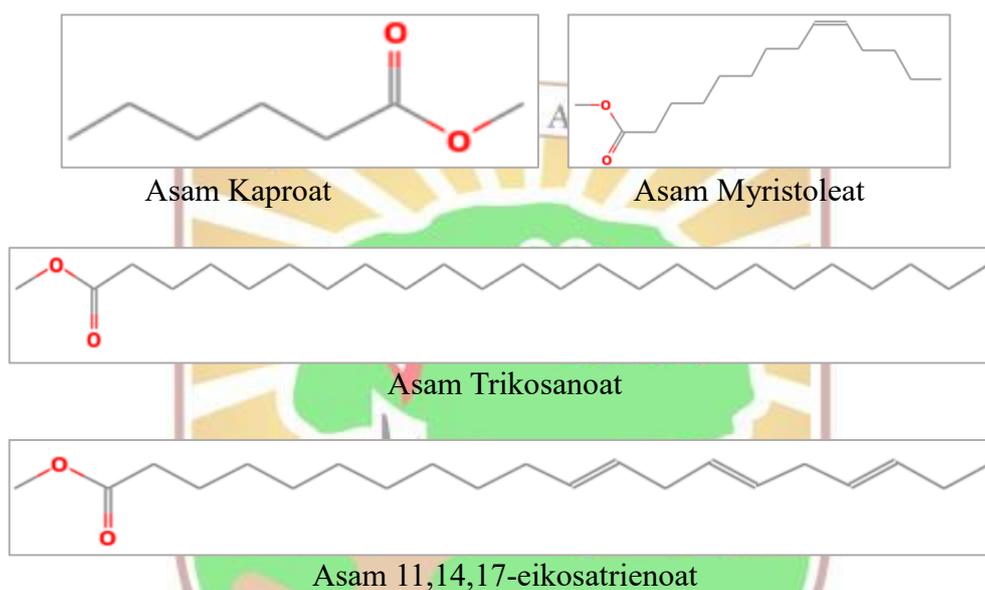
Spektrum massa mampu mengidentifikasi senyawa-senyawa yang terkandung dalam sampel berdasarkan informasi mengenai berat molekul serta pola fragmentasi dari setiap pecahan ion pada masing-masing senyawa yang telah dipisahkan oleh kromatografi gas. Pecahnya ion-ion menjadi fragmen terjadi berdasarkan kerangka karbon dan gugus fungsi yang dimiliki oleh senyawa asalnya. Oleh karena itu, struktur dan massa fragmen menunjukkan struktur molekul serta massa molekul relatif dari senyawa asalnya.

Berdasarkan analisis GC-MS, dapat diidentifikasi bahwa terdapat beberapa senyawa yang membedakan kandungan asam lemak pada daging sapi, babi ternak, dan babi hutan. Pola fragmentasi spektrum massa senyawa yang membedakan daging sapi, babi ternak, dan babi hutan dinyatakan dalam Tabel 4.4 dengan struktur molekulnya pada Gambar 4.8.

Tabel 4.4 Fragmentasi spektrum massa senyawa yang membedakan daging sapi, babi ternak, dan babi hutan

Senyawa	Rumus Molekul	Pola Fragmentasi (m/z)
Asam Kaproat	C ₇ H ₁₄ O ₂	131 (M ⁺), 113, 99, 87, 74, 59, 55, 43, 29, 15

Asam Myristoleat	$C_{15}H_{28}O_2$	240 (M^+), 208, 166, 151, 124, 87, 74, 55, 41, 29
Asam Trikosanoat	$C_{24}H_{48}O_2$	368 (M^+), 325, 311, 269, 227, 199, 157, 143, 129, 97, 87, 74, 57, 43
Asam 11,14,17-eikosatrienoat	$C_{21}H_{36}O_2$	320 (M^+), 289, 264, 201, 163, 149, 121, 108, 95, 79, 67, 55, 41, 29



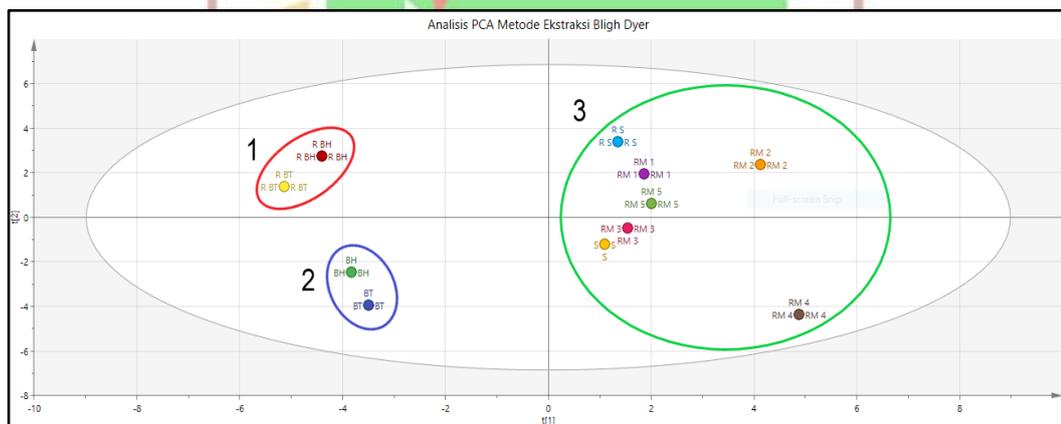
Gambar 4.8 Struktur Molekul Senyawa yang Membedakan Daging Sapi, Babi Ternak, dan Babi Hutan

Analisis GC-MS yang dikombinasikan dengan kemometrik metode *Principal Component Analysis* (PCA) merupakan salah satu metode analisis yang dapat digunakan untuk autentikasi makanan berbahan dasar daging. GC-MS mampu mengidentifikasi kandungan asam lemak dari masing-masing sampel. Kandungan asam lemak tersebut akan digunakan sebagai variabel dalam analisis kemometrik PCA sehingga dihasilkan klasifikasi sampel yang dibedakan berdasarkan persamaan dan perbedaan kandungan asam lemaknya.

Principle Component Analysis (PCA) merupakan metode analisis kemometrik yang bertujuan untuk menghasilkan diferensiasi sampel. Metode ini dilakukan dengan mereduksi variabel asli yang digunakan dalam membuat model pengelompokan menjadi sejumlah variabel baru, namun tetap mempertahankan

informasi penting dari variabel asli. Dengan demikian, variabel baru yang disebut sebagai *Principle Component* (PC) tersebut tetap dapat merepresentasikan variabel asli. Model pengelompokan yang dihasilkan dari analisis kemometrik metode PCA adalah berbentuk kuadran (18). Variabel bebas yang digunakan dalam analisis PCA pada penelitian ini adalah daging rendang, sedangkan variabel terikatnya adalah kandungan asam lemak yang dihasilkan dari masing-masing rendang. Analisis PCA menyatakan hubungan antara rendang dengan asam lemak yang terkandung di dalamnya.

Analisis PCA dilakukan dengan menggunakan *software* SIMCA[®] 14.1. Data yang terdiri dari jenis rendang serta persen (%) luas area relatif yang menyatakan kandungan asam lemak dari masing-masing rendang tersebut diinput ke dalam *software* SIMCA[®]. *Software* ini mampu menentukan pengelompokan atau klasifikasi berdasarkan jenis daging hewan yang diolah menjadi rendang. Analisis kemometrik PCA terhadap masing-masing sampel dapat dilihat pada Gambar 4.9.



Gambar 4.9 Analisis Kemometrik PCA

Ket:

- | | |
|--------------------------|-------------------------------|
| RM 1 = RM Padang Timur | RM 4 = RM Koto Tengah |
| RM 2 = RM Padang Utara | RM 5 = RM Bungus Teluk Kabung |
| RM 3 = RM Padang Selatan | |

Berdasarkan gambar 4.9, menunjukkan bahwa sapi, babi hutan, dan babi ternak terpisah ke dalam dua sisi kuadran yang berbeda. Pada sapi, baik itu rendang sapi maupun daging sapi mentah terletak di kuadran sisi kanan, yaitu kuadran I dan

kuadran IV. Sedangkan daging babi hutan mentah, babi ternak mentah, serta olahan rendangnya terletak di kuadran sisi kiri, yaitu kuadran II dan III. Perbedaan tersebut menunjukkan bahwa sapi, babi hutan, dan babi ternak dapat dibedakan dan diklasifikasikan menggunakan kemometrik metode PCA.

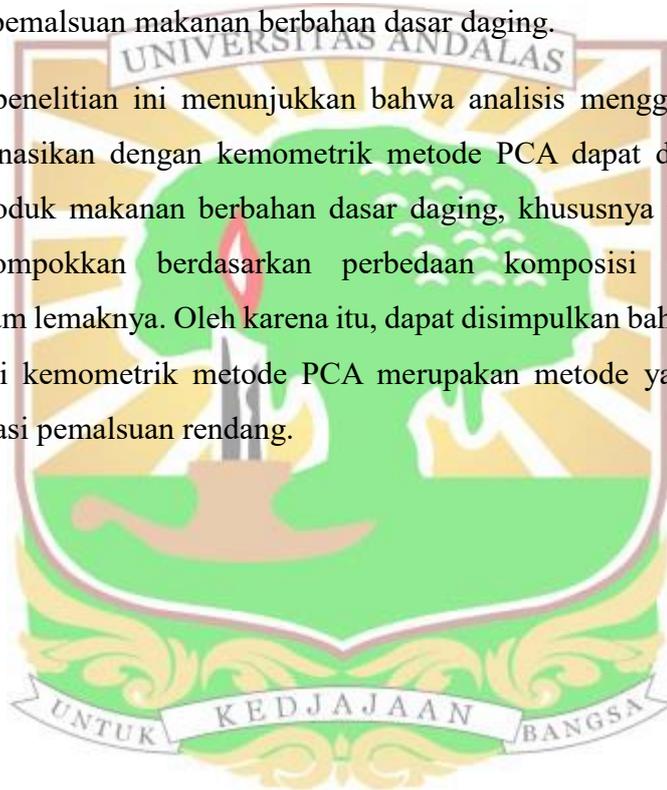
Rendang sapi terletak pada kuadran I, sedangkan daging sapi mentah terletak pada kuadran IV, namun posisinya mendekati titik dari rendang sapi yang menandakan adanya kesamaan kandungan antara rendang sapi dengan daging sapi mentah. Semakin dekat jarak antar titik sampel, maka akan semakin dekat pula hubungan kemiripan antar sampel yang dianalisis. Rendang babi hutan dan babi ternak terletak di kuadran II, sedangkan daging babi hutan mentah dan babi ternak mentah terletak di kuadran III. Posisi titik antara babi hutan dengan babi ternak berdekatan, tetapi tidak saling berimpitan. Hal ini menandakan bahwa meskipun terdapat kemiripan kandungan asam lemak antara kedua jenis hewan tersebut, namun tetap dapat dibedakan berdasarkan perbedaan persentase kandungan asam lemaknya.

Analisis dilanjutkan dengan pengujian rendang rumah makan. Rendang diperoleh dari lima rumah makan berbeda di kota Padang, yaitu RM 1, RM 2, RM 3, RM 4, dan RM 5. Pemilihan rendang rumah makan ini didasari atas rumah makan yang paling banyak dikunjungi serta memiliki harga yang relatif murah di daerah tersebut. Berdasarkan Gambar 4.9, diperoleh hasil bahwa kelima rendang rumah makan tersebut berada dalam kelompok sapi karena terletak dekat dengan rendang sapi maupun daging sapi mentah yang terdapat pada kelompok 3. Kelompok 1 terdiri dari rendang babi hutan dan rendang babi ternak, sedangkan kelompok 2 terdiri dari daging babi hutan mentah dan daging babi ternak mentah. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa diprediksi tidak ditemukan pemalsuan dengan daging babi pada kelima rendang rumah makan tersebut sehingga kelima rendang rumah makan tersebut diprediksi telah sesuai dengan labelnya, yaitu rendang daging sapi.

Analisis GC-MS yang dikombinasikan dengan kemometrik metode PCA untuk autentikasi produk makanan berbahan dasar daging telah dilakukan oleh beberapa peneliti, namun dengan jenis daging dan produk makanan yang berbeda.

Hingga saat ini, belum ditemukan peneliti yang menggunakan rendang sebagai produk makanan yang dianalisis. Lestari et al. (2023) berhasil mengklasifikasikan lemak tikus putih yang terkandung di dalam makanan dengan kandungan asam lemak berupa asam eikosatrienoat. Nugraha et al. (2018) mampu mengidentifikasi kandungan asam lemak anjing, yaitu asam siklopentanetriodekanoat, asam 7,10,13-eikosatrienoat, dan asam 9,12,15-oktadekatrienoat pada produk bakso. Nurjuliana et al. (2011) juga telah mengidentifikasi serta mengklasifikasikan lemak babi, sapi, kambing, dan ayam yang terkandung di dalam produk sosis. Dengan demikian, dapat diketahui bahwa metode ini merupakan metode yang ideal dalam menganalisis pemalsuan makanan berbahan dasar daging.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa analisis menggunakan GC-MS yang dikombinasikan dengan kemometrik metode PCA dapat digunakan untuk autentikasi produk makanan berbahan dasar daging, khususnya rendang dengan cara mengelompokkan berdasarkan perbedaan komposisi dan persentase kandungan asam lemaknya. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa analisis GC-MS kombinasi kemometrik metode PCA merupakan metode yang tepat dalam mengidentifikasi pemalsuan rendang.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Ekstraksi lemak menggunakan metode Bligh-Dyer dapat digunakan sebagai salah satu metode ekstraksi pada autentikasi daging sapi, babi ternak, babi hutan beserta olahan rendangnya, dan rendang rumah makan.
2. Pengelompokan lemak yang terkandung dari daging sapi, babi ternak, dan babi hutan beserta olahan rendangnya dapat dilakukan dengan menggunakan analisis GC-MS kombinasi kemometrik dengan metode PCA.
3. Kemometrik metode PCA mampu mengidentifikasi kelompok dari rendang rumah makan yang diuji. Kelima rendang rumah makan yang diuji diprediksi berada dalam kelompok sapi karena terletak dekat dengan rendang sapi maupun daging sapi mentah.

5.2 Saran

Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan autentikasi rendang sapi dan babi menggunakan analisis *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk mendeteksi perbedaan DNA yang terkandung dalam daging sapi, babi ternak, dan babi hutan, terutama untuk membedakan antara daging babi ternak dan daging babi hutan yang tidak dapat dibedakan secara signifikan dengan menggunakan GC-MS.

DAFTAR PUSTAKA

1. Nurmufida M, Wangrimen GH, Reinalta R, Leonardi K. Rendang: The treasure of Minangkabau. *J Ethn Foods*. 2017;4:232–5.
2. Nevriansyaha E, Pranatab RE, Nissac AK, Syafikad N, Husnae A, Asnur L, et al. Kere (Kebab Rendang): As A New Innovation And Rich Of Protein Food To Conserve Local Culinaryin Indonesia. *Atmosphere (Basel)*. 2022;01:24–31.
3. Cahyaningsari D, Latif H, Sudarnika E. Identifikasi Penambahan Daging Babi pada Pangan Berbahan Dasar Daging Sapi Menggunakan ELISA dan qPCR. *ACTA Vet Indones*. 2019;7(2):17–25.
4. Kuswandi B, Putri FK, Gani AA, Ahmad M. Application of Class-Modelling Techniques to Infrared Spectra for Analysis of Pork Adulteration In Beef Jerkys. *J Food Sci Technol*. 2015;52(12):7655–68.
5. Balia RL, Suryaningsih L, Putranto WS. Pengujian Pemalsuan Bakso dengan Daging Babi Melalui Pendekatan Ensimatis dan Molekuler pada UKM di Kawasan Pendidikan Jatinangor Kabupaten Sumedang. *Dharmakarya J Apl Ipteks untuk Masy*. 2014;3(2):70–2.
6. Puspitasari RL, Elfidasari D, Perdana AT. Deteksi Kandungan Babi pada Makanan Berbahan Dasar Daging di Kampus Universitas Al Azhar Indonesia. *J AL-AZHAR Indones SERI SAINS DAN Teknol*. 2019;5(2):66–9.
7. Danezis GP, Tsagkaris AS, Camin F, Brusic V, Georgiou CA. Food Authentication: Techniques, Trends & Emerging Approaches. *TrAC Trends Anal Chem*. 2016;85(1):123–32.
8. Andriyani E, Fais NL, Muarifah S. Perkembangan Penelitian Metode Deteksi Kandungan Babi Untuk Menjamin Kehalalan Produk Pangan Olahan. *J Islam Stud Humanit*. 2019;4(1):104–26.
9. Zhou J, Wang M, Saraiva JA, Martins AP, Pinto CA, Prieto MA, et al. Extraction of Lipids From Microalgae Using Classical and Innovative

- Approaches. *Food Chem.* 2022;384:1–15.
10. Smedes F, Thomasen TK. Evaluation of the Bligh & Dyer Lipid Determination Method. *Mar Pollut Bull.* 1996;32(9):681–8.
 11. Aminullah, Mardiah, Riandi MR, Argani AP, Syahbirin G, Kemala T. Kandungan Total Lipid Lemak Ayam dan Babi Berdasarkan Perbedaan Jenis Metode Ekstraksi Lemak. *J Agroindustri Halal.* 2018;4(1):94–100.
 12. Ramadhaningtyas DP. Perhitungan Estimasi Ketidakpastian untuk Pengukuran Asam Benzoat Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi-Detektor Diode Array. In: *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia (SN-KPK).* 2017. p. 73–81.
 13. Hermanto S, Muawanah A, Harahap R. Profil dan Karakteristik Lemak Hewani (Ayam, Sapi dan Babi) Hasil Analisa FTIR dan GCMS. *J Kim Val.* 2008;1(2):102–9.
 14. Mortas M, Awad N, Ayvaz H. Adulteration Detection Technologies Used for Halal/Kosher Food Products: an Overview. *Discov Food.* 2022;2(1):1–23.
 15. Rohman A, Windarsih A. The Application of Molecular Spectroscopy in Combination with Chemometrics for Halal Authentication Analysis: A Review. *Int J Mol Sci.* 2020;21(14):1–18.
 16. Nizar NNA, Marikkar JMN, Hashim DM. Differentiation of Lard, Chicken Fat, Beef Fat and Mutton Fat by GCMS and EA-IRMS Techniques. *J Oleo Sci.* 2013;62(7):459–64.
 17. Ahda M, Guntarti A, Kusbandari A, Melianto Y. Halal food analysis using GC-MS combined with principal component analysis (PCA) based on saturated and unsaturated fatty acid composition. *Songklanakarin J Sci Technol.* 2021;43(2):352–5.
 18. Lestari D, Syamsul ES, Wirnawati W, Syofyan S, Rohman A, Hamidi D. Authentication of *Rattus Norvegicus* Fat and Other Animal Fats Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) and Principal Component Analysis (PCA). *Int J Appl Pharm.* 2023;15(1):39–44.

19. Nugraha I, Utami PI, Rahayu WS. Analisis Asam Lemak Daging Anjing pada Bakso Sapi Menggunakan Gas Chromatography Mass Spectrometry (GCMS) yang Dikombinasikan dengan PCA (Principal Component Analysis). *Indones J Halal*. 2018;1(2):117–24.
20. Nurjuliana M, Man YBC, Hashim DM, Mohamed AKS. Rapid Identification of Pork for Halal Authentication Using the Electronic Nose and Gas Chromatography Mass Spectrometer with Headspace Analyzer. *Meat Sci*. 2011;88:638–644.
21. Rini, Azima F, Sayuti K, Novelina. The Evaluation of Nutritional Value of Rendang Minangkabau. *Int Conf Food, Agric Nat Resour*. 2016;9:335–41.
22. Wijaya NN, Achyar A, Putri DH, Farma SA. Optimization of Specific PCR Conditions for Cows (*Bos taurus*) in Rendang Samples for Molecular-Based Halal Tests. *Trop Genet*. 2022;2(1):11–6.
23. Azima F, Novelina, Rini. Chemical Characteristic and Fatty Acid Profile in Rendang Minangkabau. *Int J Adv Sci Food Eng Inf Technol*. 2016;6(4):465–8.
24. Wahyudiati D. *Biokimia*. Mataram: LEPPIM; 2017.
25. Mamuaja CF. *Lipida*. Manado: Universitas Sam Ratulangi; 2017.
26. Santika IGPNA. Pengukuran Tingkat Kadar Lemak Tubuh Melalui Jogging Selama 30 Menit Mahasiswa Putra Semester IV FPOK IKIP PGRI Bali Tahun 2016. *J Pendidik Kesehat Rekreasi*. 2016;1:89–98.
27. Wang B, Tian G, Zhang Q. Vegetable Oil or Animal Fat Oil, Which is More Conducive to Cardiovascular Health Among the Elderly in China? *Curr Probl Cardiol*. 2023;48(2):1–17.
28. Wiardani NK, Sugiani PPS, Ni Made Yuni Gumala. Konsumsi Lemak Total, Lemak Jenuh, dan Kolesterol Sebagai Faktor Risiko Sindroma Metabolik pada Masyarakat Perkotaan Di Denpasar. *J Gizi Klin Indones*. 2011;7(3):107–14.

29. Prasetyo H, Padaga MC, Sawitri ME. Kajian Kualitas Fisiko Kimia Daging Sapi di Pasar Kota Malang. *J Ilmu dan Teknol Has Ternak*. 2013;8(2):1–8.
30. Liur IJ, Veerman M, Mahakena A. Kualitas Sensoris dan Kimia Daging Sapi yang Beredar di Beberapa Tempat Penjualan di Kota Ambon. *Agritekno*. 2019;8(2):42–7.
31. Maiyena S, Mawarnis ER. Kajian Analisis Konsumsi Daging Sapi dan Daging Babi Ditinjau dari Kesehatan. *J Pendidik Tambusai*. 2022;6(1):3131–6.
32. Guntarti A. Authentication of Dog Fat With Gas Chromatography-Mass Spectroscopy Combined With Chemometrics. *Int J Chem*. 2018;10(4):124–9.
33. Sosiawan IGAM, Agustina KK, Suada IK. Kualitas Daging Babi yang Diistirahatkan Sebelum Disembelih Lebih Baik dalam Konsistensi, Warna, pH, Daya Ikat Air dan Kadar Air. *Indones Med Veterinus*. 2021;10(4):589–98.
34. Reitznerová A, Semjon B, Bartkovský M, Šuleková M, Nagy J, Klemková T, et al. Comparison of Lipid Profile and Oxidative Stability of Vacuum-Packed and Longtime-Frozen Fallow Deer, Wild Boar, and Pig Meat. *Appl Sci*. 2023;13(6):1–16.
35. Jonsson M. Wild Boar (*Sus scrofa*) Meat Quality: A Study of The Homogeneity of Wild Boar Meat Quality. *Swedish University of Agricultural Sciences*; 2022.
36. Fajriati I, Aisyah L. Teknologi Pangan Hewani dalam Wacana Halal dan Haram. *Al-Qānūn*. 2010;13(2):394–423.
37. Indrasti D, Man YBC, Mustafa S, Hashim DM. Lard Detection Based On Fatty Acids Profile Using Comprehensive Gas Chromatography Hyphenated With Time-Of-Flight Mass Spectrometry. *Food Chem*. 2010;122(4):1273–7.
38. Maritha V, Harlina PW, Musfiroh I, Rafi M, Geng F, Muchtaridi M. Exploring Untargeted Metabolomics for Halal Authentication of Triceps

- brachii, Longissimus Dorsi, and Biceps femoris of Meat Muscles. *Int J Food Prop.* 2023;26(2):3148–3159.
39. Lestari D, Rohman A, Syofyan S, Yuliana ND, Bakar NKBA, Hamidi D. Analysis of Beef Meatballs with Rat Meat Adulteration Using Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy in Combination with Chemometrics. *Int J Food Prop.* 2022;25(1):1446–57.
40. Bligh EG, Dyer WJ. A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. *Can J Biochem Physiol.* 1959;37(8):911–7.
41. Saini RK, Prasad P, Shang X, Keum Y-S. Advances in Lipid Extraction Methods-A Review. *Int J Mol Sci.* 2021;22(24):1–19.
42. Sudjadi, Rohman A. Analisis Derivat Babi. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press; 2018.
43. Hewavitharana GG, Perera DN, S.B. Navaratne IW. Extraction Methods of Fat from Food Samples and Preparation of Fatty Acid Methyl Esters for Gas Chromatography: A Review. *Arab J Chem.* 2020;13(8):6865–6875.
44. Trisnaliani L, Fatria, Sari IM. Proses Produksi Biodiesel dari Minyak Jelantah Menggunakan Microwave Hydro Distillation dan Separasi Tegangan Tinggi. *J Kinet.* 2018;9(2):25–30.
45. Partina RS, Maulana IT, Dasuki UA. Pengaruh Perbedaan Proses Pengeringan Terhadap Kandungan Asam Lemak Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus* Peters). Bandung; 2015.
46. Joelianingsih, Tambunan AH, Nabetani H. Reactivity of Palm Fatty Acids for the Non-catalytic Esterification in a Bubble Column Reactor at Atmospheric Pressure. *Procedia Chem.* 2014;9:182 – 193.
47. Amini A, Fasa MI, Suharto. Urgensi Halal Food dalam Tinjauan Konsumsi Islami. *LIKUID J Ekon Ind Halal.* 2022;2(2):1–14.
48. Salim A, Muharir M, Juniar AH. Edukasi dalam Penerapan Hukum Halal dan Haram pada Makanan di Desa Nusa Makmur Kec. Air Kumbang Kab.

- Banyuasin. *Dharma J Pengabdian Masyarakat*. 2021;1(2):64–76.
49. Nashirun. Makanan Halal dan Haram dalam Perspektif Al Qur'an. *Halalan Thayyiban J Kaji Manaj Halal dan Pariwisata Syariah*. 2020;3(2):1–15.
50. Sup DFA, Fahmi ASR, Hilal FN, Firdaus MI. Dinamika Regulasi Sertifikasi Halal di Indonesia. *J Ekon Syariah Indones*. 2020;10(1):36–44.
51. Rodionova OY, Titova A V., Pomerantsev AL. Discriminant Analysis is An Inappropriate Method of Authentication. *TrAC Trends Anal Chem*. 2016;78:17–22.
52. Prabawati SY, Fajriati I. Analisis Lemak Sapi Dan Lemak Babi Menggunakan Gas Chromatography (GC) Dan Fourier Transform Infra Red Spectroscopy Second Derivative (FTIR-2D) Untuk Autentifikasi Halal. *Indones J Halal*. 2018;1(2):89–96.
53. Ahda M, Guntarti A, Kusbandari A, Nugroho HA. Identification of Adulterated Sausage Products by Pork using FTIR and GC-MS Combined with Chemometrics. *J Chem Heal Risks*. 2023;13(2):325–32.
54. Guntarti A, Prativi SR. Aplikasi Metode Fourier Transform Infrared (FTIR) Dikombinasikan dengan Kemometrika untuk Analisis Daging Tikus Rumah (*Rattus Diardi*) dalam Bakso Daging Sapi. *Pharmaciana*. 2017;7(2):133–40.
55. Rahayu WS, Rohman A, Martono S, Sudjadi. Application of FTIR Spectroscopy and Chemometrics for Halal Authentication of Beef Meatball Adulterated with Dog Meat. *Indones J Chem*. 2018;18(2):376–81.
56. Ahda M, Guntarti A, Kusbandari A, Melianto Y. Authenticity Analysis of Beef Meatball Adulteration with Wild Boar Using FTIR Spectroscopy Combined with Chemometrics. *J Microbiol Biotechnol Food Sci*. 2020;9(5):937–40.
57. Pebriana RB, Rohmana A, Lukitaningsiha E, Sudjadi. Development of FTIR Spectroscopy in Combination with Chemometrics for Analysis of Rat Meat in Beef Sausage Employing Three Lipid Extraction Systems. *Int J Food Prop*. 2017;20(2):1995–2005.

58. Guntarti A, Ahda M, Kusbandari A. Determining Fatty Acids and Halal Authentication of Sausage. *Food Res.* 2020;4(2):495–9.
59. Siska S, Jumadil MI, Abdullah S, Ramadon D, Mun'im A. ATR-FTIR and Chemometric Method for the Detection of Pig-Based Derivatives in Food Products - A Review. *Int Food Res J.* 2023;30(2):281–9.
60. Guntarti A, Ahda M, Kusbandari A, Natalie F. Analysis of Pork Adulteration in the Corned Products Using FTIR Associated with Chemometrics Analysis. *Slovak J Food Sci.* 2020;14:1042–6.
61. Hotmian E, Suoth E, Fatimawali, Tallei T. Analisis GC-MS (GAS CHROMATOGRAPHY - MASS SPECTROMETRY) Ekstrak Metanol dari Umbi Rumput Teki (*Cyperus rotundus L.*). *PHARMACON.* 2021;10(2):849–56.
62. Al-Rubaye AF, Hameed IH, Kadhim MJ. A Review: Uses of Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) Technique for Analysis of Bioactive Natural Compounds of Some Plants. *Int J Toxicol Pharmacol Res.* 2017;9(1):81–5.
63. Chauhan A, Goyal MK, Chauhan and P. GC-MS Technique and its Analytical Applications in Science and Technology. *Anal Bioanal Tech.* 2014;5(6):1–5.
64. Hussain SZ, Maqbool K. GC-MS: Principle, Technique and its application in Food Science. *INT J CURR SCI.* 2014;13:116–26.
65. Bhavyasri K, Srihitha G, Rambabu D. Headspace Gas Chromatography-Mass Spectrometry (Gc-Ms) and It's Applications a Review. *Indian J Appl Res.* 2019;9(3):40–2.
66. AL-Bukhaiti WQ, Noman A, Qasim AS, AL-Farg A. Gas Chromatography: Principles, Advantages and Applications in Food Analysis. *Int J Agric Innov Res.* 2017;6(1):123–8.
67. Teonata N, Wijaya VA, Vithaloka VS, Thariq M, Attamimi, Kartikawati M. An Introduction to Different Types of Gas Chromatography. *Sains dan Terap*

- Kim. 2021;15(1):8–17.
68. Rohman A. Spektroskopi Inframerah dan Kemometrika untuk Analisis Farmasi. Yogyakarta: Pustaka Pelajar; 2014.
 69. Rohman A, Ghazali MAB, Windarsih A, Irnawati, Riyanto S, Yusof FM, et al. Comprehensive Review on Application of FTIR Spectroscopy Coupled with Chemometrics for Authentication Analysis of Fats and Oils in the Food Products. *Molecules*. 2020;25(22):1–28.
 70. Windarsih A, Rohman A, Inawati, Riyanto S. The Combination of Vibrational Spectroscopy and Chemometrics for Analysis of Milk Products Adulteration. *Int J Food Sci*. 2021;21(1):1–28.
 71. Rohman A, Irnawati, Riswanto FDO. *Kemometrika*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press; 2021.
 72. AOAC. *Official methods of analysis of AOAC international*. 18th ed. Washington DC: Association of Official Analytical Chemists; 2007.
 73. Christie WW. Preparation of Ester Derivatives of Fatty Acids for Chromatographic Analysis. *Adv Lipid Methodol*. 1993;2:64–111.
 74. Ramadhan F. *Profil Kandungan Kimia dari Minyak Atsiri Kulit Buah dan Daun Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia) Serta Aktivitas Antibakterinya*. Universitas Andalas; 2021.
 75. Ummami R, Ramandani D, Airin CM, Husni A, Astuti P. Uji Kualitas dan Uji Cemaran Daging Babi Pada Daging Sapi di Beberapa Pasar Tradisional di Yogyakarta. *J Ilmu Peternak dan Vet Trop*. 2022;12(2):151–60.
 76. N. Mansa TAR, F.S. Ratulangi MDR. Sifat Organoleptik Burger Campuran Restrukturisasi Daging Babi Ras dan Babi Hutan. *Zootec*. 2022;42(2):271–7.
 77. Asadayanti DD. *Pengolahan Produk Diversifikasi Hasil Perikanan*. Jakarta: Direktorat Jenderal Guru dan Tenaga Kependidikan Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan; 2017.

78. Husni E, Suharti N, Atma APT. Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* Linn) serta Penentuan Kadar Fenolat Total dan Uji Aktivitas Antioksidan. *J Sains Farm dan Klin*. 2018;5(1):12–6.
79. Shahidi F. Extraction and Measurement of Total Lipids. *Curr Protoc Food Anal Chem*. 2003;7(1):D1.1.1-D1.1.11.
80. Iverson SJ, Lang SLC, Cooper MH. Comparison of the Bligh and Dyer and Folch Methods for Total Lipid Determination in a Broad Range of Marine Tissue. *Lipids AOCs Press*. 2001;36(11):1283–7.
81. Wirasnita R. Validasi Metode Modifikasi Metilasi Minyak Nabati untuk Penentuan Kandungan Asam Lemak Secara Kromatografi Gas. Universitas Indonesia; 2010.
82. Mori H, Dugan CE, Nishii A, Benchamana A, Li Z, Thomas S, Cadenhead I, et al. The Molecular and Metabolic Program by Which White Adipocytes Adapt to Cool Physiologic Temperatures. *Plos Biol*. 2021;19(5):1–29.
83. Haryanto A, Silviana U, Triyono S, Prabawa S. Produksi Biodiesel dari Transesterifikasi Minyak Jelantah dengan Bantuan Gelombang Mikro: Pengaruh Intensitas Daya dan Waktu Reaksi Terhadap Rendemen dan Karakteristik Biodiesel. *Agritech*. 2015;35(2):234–40.
84. Khan AI. A GC-FID Method for the Comparison of Acid- and Base-Catalyzed Derivatization of Fatty Acids to FAMES in Three Edible Oils. Application Note 20733. Runcorn, United Kingdom: Thermo Fisher Scientific; 2013. p. 1–8.
85. Deepika, Pandey S. Density and Dynamic Viscosity of Perfluorodecalin-Added n-Hexane Mixtures: Deciphering the Role of Fluorous Liquids. *Liquids*. 2023;3(1):48–56.
86. Volk A, Kähler CJ. Density Model for Aqueous Glycerol Solutions. *Exp Fluids*. 2018;58(75):1–4.
87. Sipahelut SG. Perbandingan Komponen Aktif Minyak Atsiri dari Daging Buah Pala Kering Cabinet Dryer Melalui Metode Distilasi Air dan Air-Uap.

- AGRITEKNO, J Teknol Pertan. 2019;8(1):8–13.
88. Paulino TB, Amalo FA, Maha IT. Kajian Histokimia Sebaran Karbohidrat Asam Pada Lambung Depan Sapi Sumba Ongole (*Bos indicus*). J Kaji Vet. 2020;8(2):202–10.
89. Dinh TTN, To KV, Schilling MW. Fatty Acid Composition of Meat Animals as Flavor Precursors. Meat Muscle Biol. 2021;5(1):1–16.
90. Tasse AM, Aka R. Asam Lemak Trans (trans-C18:1) dalam Susu Kambing. J Ilmu-Ilmu Peternak. 2014;24(1):26–32.
91. Suhendra D, Sudjatmogo, Widiyanto. Pengimbuhan Minyak Jagung Terproteksi dengan Berbagai Level Protein Ransum Sapi Friesian Holstein Meningkatkan Kadar Asam Lemak Tidak Jenuh Susu. J Vet. 2018;19(1):100–8.
92. Mawar, Wiryawan IKG, Suharti S. Karakteristik Fermentasi Rumen dan Keseimbangan Nitrogen Domba yang Diberi Minyak Kanola Murni dan Terenkapsulasi. J Ilmu dan Teknol Peternak Trop. 2019;6(3):358–66.
93. Dugan MER, Vahmani P, Turner TD, Mapiye C, Juárez M, Prieto N, et al. Pork as a Source of Omega-3 (n-3) Fatty Acids. J Clin Med. 2015;4:1999–2011.
94. Jiang J, Tang X, Xue Y, Lin G, Xiong YL. Dietary Linseed Oil Supplemented with Organic Selenium Improved The Fatty Acid Nutritional Profile, Muscular Selenium Deposition, Water Retention, and Tenderness of Fresh Pork. Meat Sci. 2017;131:99–106.

LAMPIRAN

Lampiran 1.a. Pelabelan sampel rendang sapi, babi ternak, babi hutan, daging sapi mentah, babi ternak mentah, babi hutan mentah, serta sampel uji rendang rumah makan

No.	Konsentrasi Sampel	Kode Sampel
1.	Rendang babi ternak 100%	BD S1
2.	Rendang sapi 100%	BD S2
3.	Rendang babi hutan 100%	BD S3
4.	Daging sapi mentah 100%	BD S4
5.	Daging babi hutan mentah 100%	BD S5
6.	Daging babi ternak mentah 100%	BD S6
7.	Rendang rumah makan 1	BD RM 1
8.	Rendang rumah makan 2	BD RM 2
9.	Rendang rumah makan 3	BD RM 3
10.	Rendang rumah makan 4	BD RM 4
11.	Rendang rumah makan 5	BD RM 5

Keterangan:

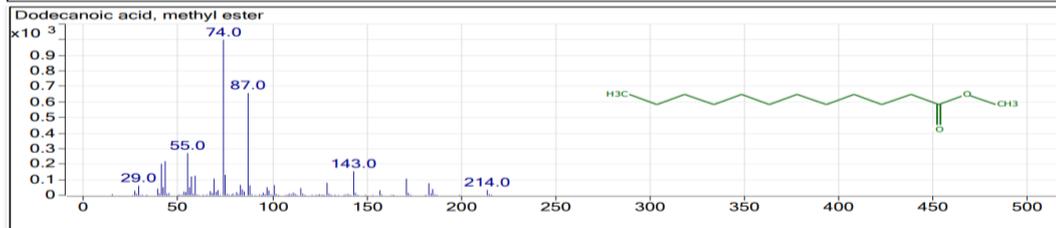
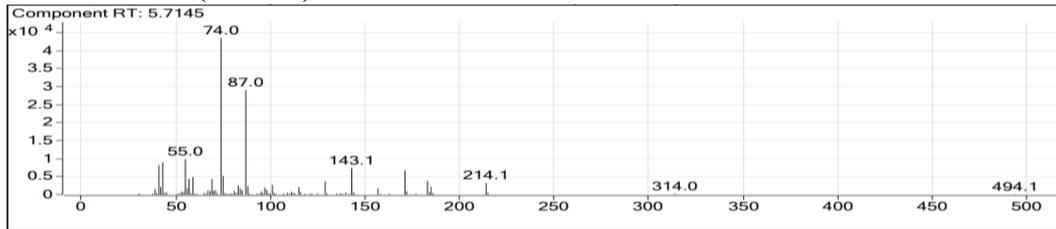
BD : Metode ekstraksi Bligh Dyer

S : Sampel

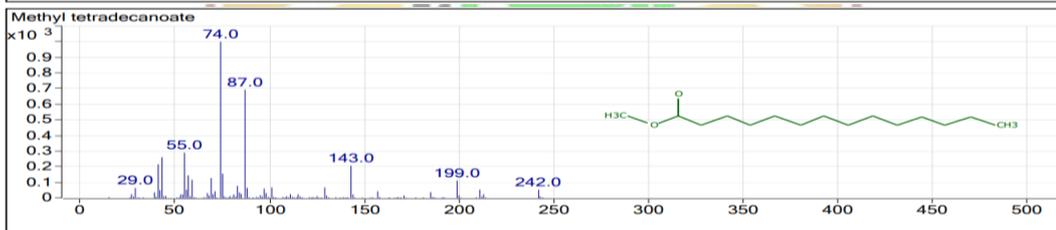
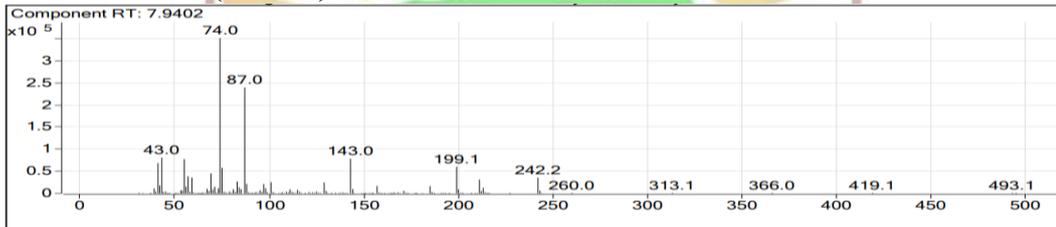
RM : Rumah makan

Lampiran 1.b. Spektrum Massa Senyawa Mayor Asam Lemak Metil Ester

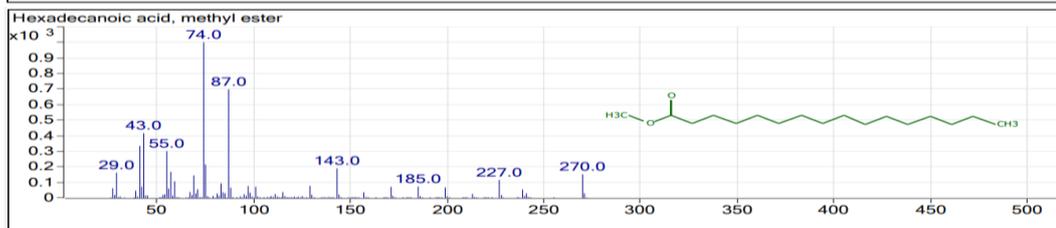
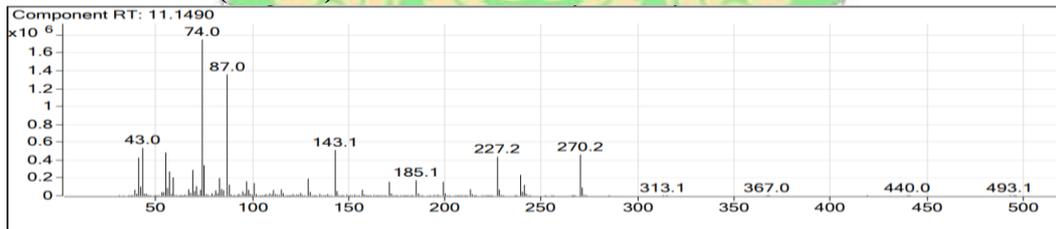
Asam Laurat (SI = 99)



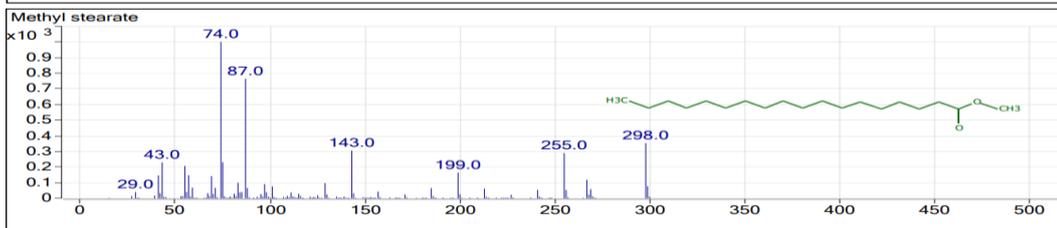
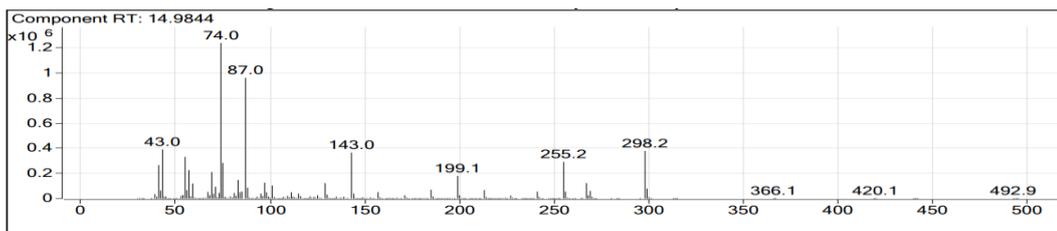
Asam Miristat (SI = 98)



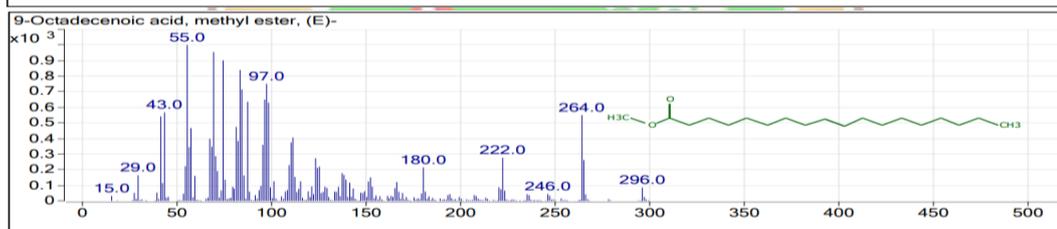
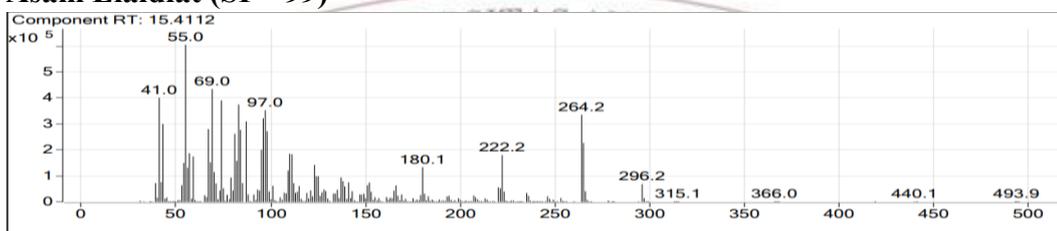
Asam Palmitat (SI = 98)



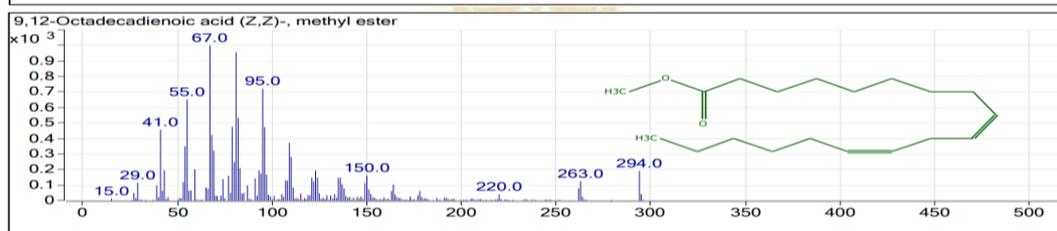
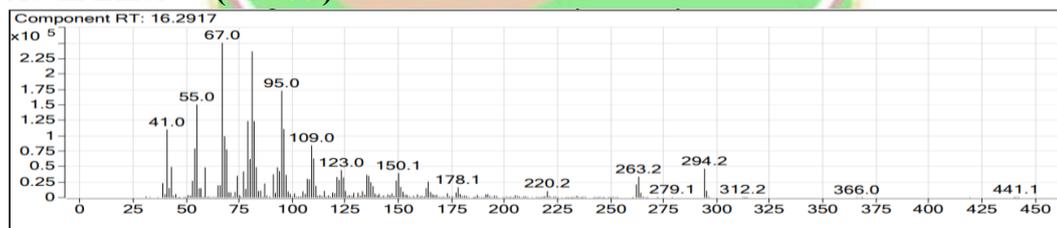
Asam Stearat (SI = 99)



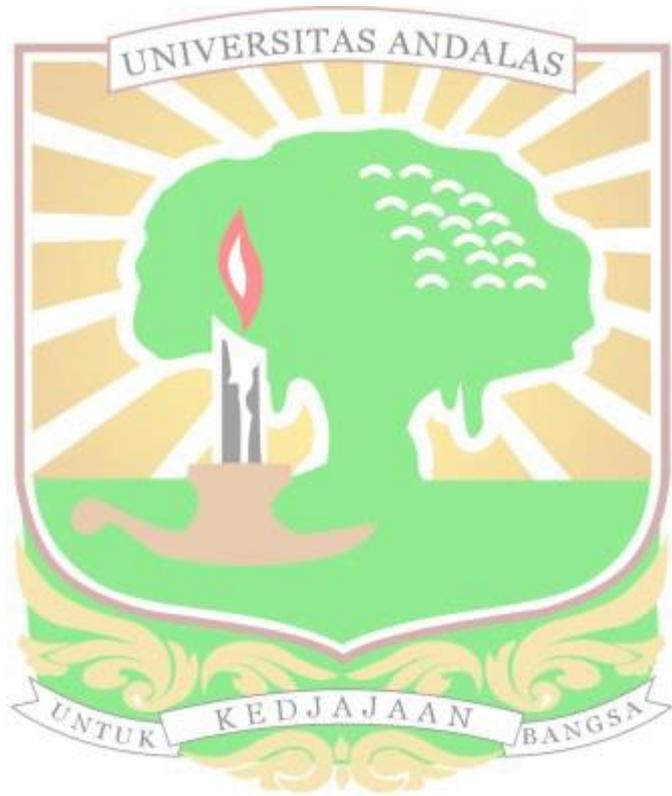
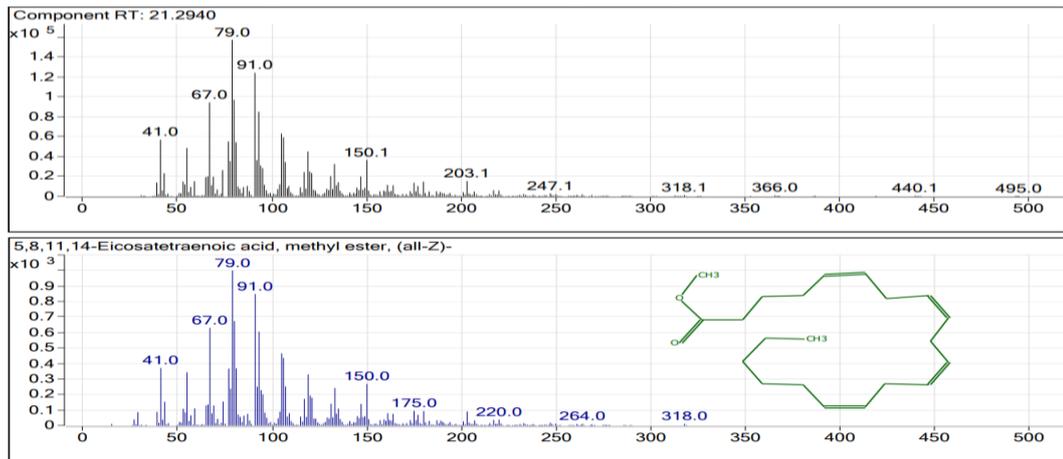
Asam Elaidiat (SI = 99)



Asam Linoleat (SI = 99)



Asam Arakidonat (SI = 98)



Lampiran 2.a. Rendemen ekstrak lemak rendang sapi, babi ternak, babi hutan, sampel uji rendang rumah makan, daging sapi mentah, babi ternak mentah, dan babi hutan mentah

a. Tabel rendemen ekstrak lemak rendang sapi, babi ternak, babi hutan, sampel uji rendang rumah makan, daging sapi mentah, babi ternak mentah, dan babi hutan mentah

No.	Kode Sampel	Bobot Ekstrak Lemak (gram)	Rendemen Ekstrak Lemak (%)
1.	BD S1	0,4	0,8%
2.	BD S2	0,3	0,6%
3.	BD S3	0,43	0,86%
4.	BD S4	0,32	0,64%
5.	BD S5	0,45	0,9%
6.	BD S6	0,44	0,88%
7.	BD RM 1	0,51	1,02%
8.	BD RM 2	0,51	1,02%
9.	BD RM 3	0,33	0,66%
10.	BD RM 4	0,35	0,7%
11.	BD RM 5	0,52	1,04%

b. Perhitungan rendemen ekstrak lemak rendang sapi, babi ternak, babi hutan, sampel uji rendang rumah makan, daging sapi mentah, babi ternak mentah, dan babi hutan mentah

Rumus:

$$\% \text{ rendemen ekstrak lemak} = \left(\frac{\text{bobot ekstrak lemak yang diperoleh}}{\text{bobot awal sampel (50 gram)}} \right) \times 100\%$$

1. BD S1

$$\% \text{ rendemen ekstrak lemak} = \left(\frac{0,4}{50 \text{ gram}} \right) \times 100\% = 0,8\%$$

2. BD S2

$$\% \text{ rendemen ekstrak lemak} = \left(\frac{0,3 \text{ gram}}{50 \text{ gram}} \right) \times 100\% = 0,6\%$$

3. BD S3

$$\% \text{ rendemen ekstrak lemak} = \left(\frac{0,43 \text{ gram}}{50 \text{ gram}} \right) \times 100\% = 0,86\%$$

4. BD S4

$$\% \text{ rendemen ekstrak lemak} = \left(\frac{0,32 \text{ gram}}{50 \text{ gram}} \right) \times 100\% = 0,64\%$$

5. BD S5

$$\% \text{ rendemen ekstrak lemak} = \left(\frac{0,45 \text{ gram}}{50 \text{ gram}} \right) \times 100\% = 0,9\%$$

6. BD S6

$$\% \text{ rendemen ekstrak lemak} = \left(\frac{0,44 \text{ gram}}{50 \text{ gram}} \right) \times 100\% = 0,88\%$$

7. BD RM 1

$$\% \text{ rendemen ekstrak lemak} = \left(\frac{0,51 \text{ gram}}{50 \text{ gram}} \right) \times 100\% = 1,02\%$$

8. BD RM 2

$$\% \text{ rendemen ekstrak lemak} = \left(\frac{0,51 \text{ gram}}{50 \text{ gram}} \right) \times 100\% = 1,02\%$$

9. BD RM 3

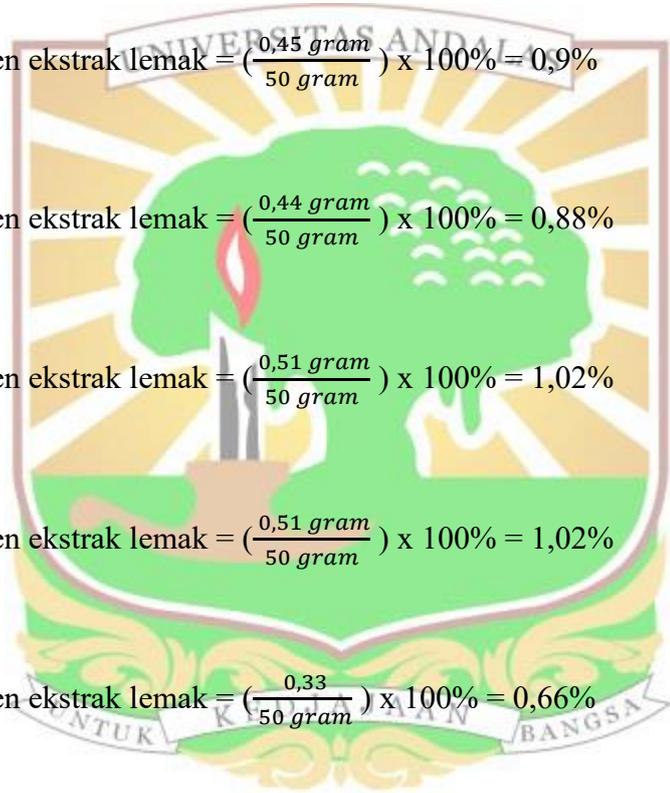
$$\% \text{ rendemen ekstrak lemak} = \left(\frac{0,33}{50 \text{ gram}} \right) \times 100\% = 0,66\%$$

10. BD RM 4

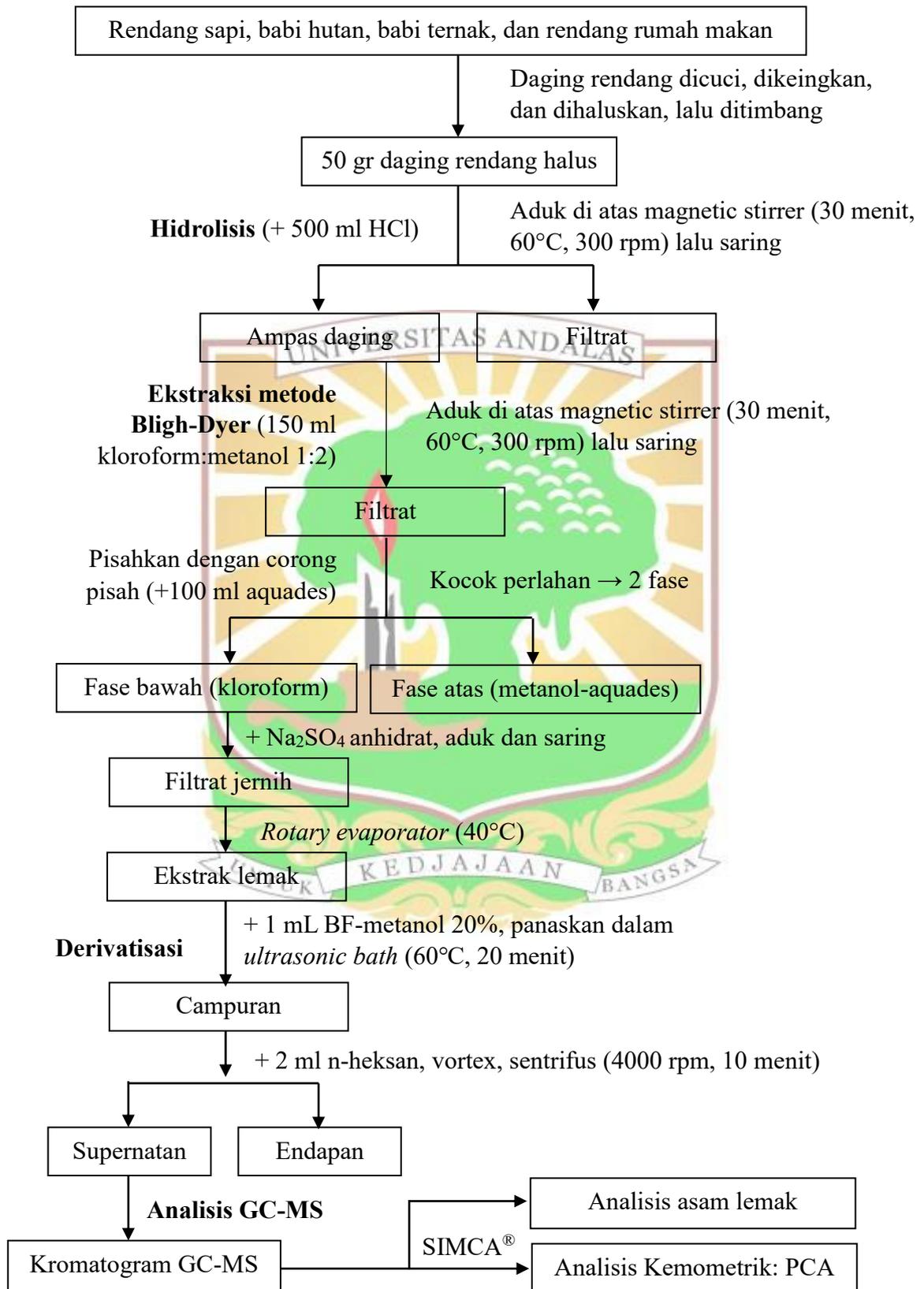
$$\% \text{ rendemen ekstrak lemak} = \left(\frac{0,35}{50 \text{ gram}} \right) \times 100\% = 0,7\%$$

11. BD RM 5

$$\% \text{ rendemen ekstrak lemak} = \left(\frac{0,52}{50 \text{ gram}} \right) \times 100\% = 1,04\%$$

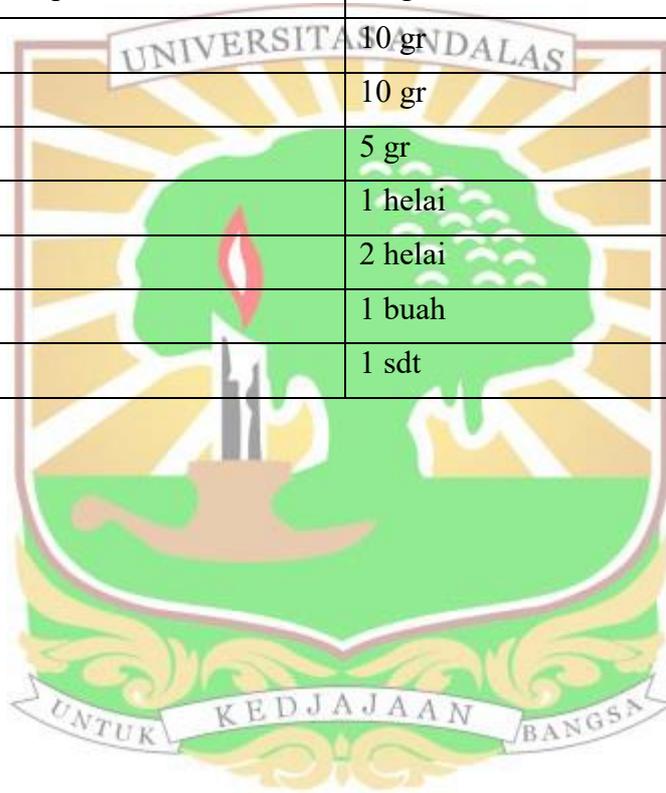


Lampiran 3.a. Skema kerja



Lampiran 3.b. Komposisi rendang sapi, babi ternak, babi hutan

Bahan	Komposisi
Daging	300 gr
Santan	500 ml
Cabai merah	25 gr
Bawang putih	20 gr
Bawang merah	20 gr
Ambu-ambu kelapa	10 gr
Jahe	10 gr
Lengkuas	10 gr
Kunyit	5 gr
Daun kunyit	1 helai
Daun jeruk	2 helai
Batang Serai	1 buah
Garam	1 sdt

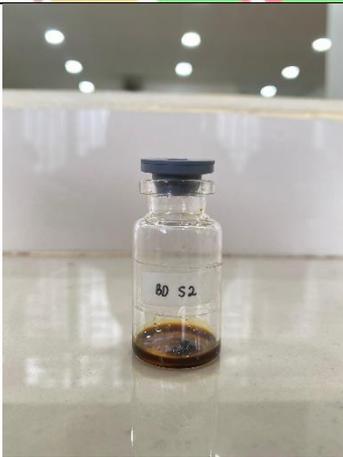


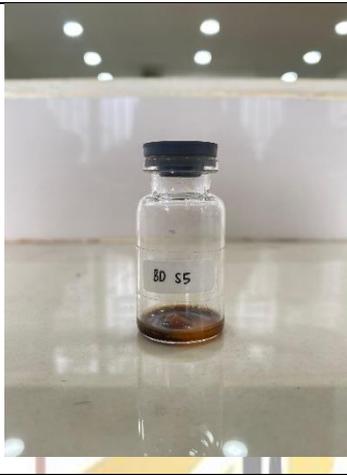
Lampiran 3.c. Sampel rendang sapi, babi ternak, babi hutan, sampel uji rendang rumah makan, daging sapi mentah, babi ternak mentah, dan babi hutan mentah

Gambar	Keterangan
	Rendang Sapi 100%
	Rendang Babi Ternak 100%
	Rendang Babi Hutan 100%
	Rendang Rumah Makan 1

	Rendang Rumah Makan 2
	Rendang Rumah Makan 3
	Rendang Rumah Makan 4
	Rendang Rumah Makan 5

Lampiran 3.d. Ekstrak lemak rendang sapi, babi ternak, babi hutan, sampel uji rendang rumah makan, daging sapi mentah, babi ternak mentah, dan babi hutan mentah

Gambar	Keterangan
	<p>Ekstrak Rendang Babi Ternak 100%</p>
	<p>Ekstrak Rendang Sapi 100%</p>
	<p>Ekstrak Rendang Babi Hutan 100%</p>

		<p>Ekstrak Daging Sapi Mentah</p>
		<p>Ekstrak Daging Babi Hutan Mentah</p>
		<p>Ekstrak Daging Babi Ternak Mentah</p>

	<p>Ekstrak Rendang Rumah Makan 1</p>
	<p>Ekstrak Rendang Rumah Makan 2</p>
	<p>Ekstrak Rendang Rumah Makan 3</p>

		<p>Ekstrak Rendang Rumah Makan 4</p>
		<p>Ekstrak Rendang Rumah Makan 5</p>

