

IDENTIFIKASI POLA SPEKTRA INFRA MERAH KHAS PROTEIN DAGING SAPI DAN BABI MENGGUNAKAN METODE SECOND DERIVATIVE (2D)

Himmatul Barroroh¹

INTI SARI

Kontaminasi bahan pangan daging sapi oleh daging babi yang dewasa ini semakin marak membutuhkan metode identifikasi adanya kontaminan tersebut secara cepat dan murah. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi pola spektra infra merah khas protein daging sapi dan babi dengan menggunakan metode turunan kedua (*Second Derivative-2D*).

Sampel yang digunakan adalah daging sapi mentah murni, daging babi mentah murni, dan campuran daging sapi-babi mentah dengan variasi konsentrasi daging babi: 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%. Data spektra infra merah dikumpulkan dengan menggunakan Spektrometer FTIR Varian 1000 pada rentang bilangan gelombang 4000-700 cm⁻¹, resolusi 4 cm⁻¹, scan 256. Penurunan kedua menggunakan teknik diferensiasi Fourier.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa vibrasi molekuler khas protein daging babi mentah muncul pada turunan kedua spektra IR pada bilangan gelombang 1680-1695 cm⁻¹ dan 1075-1090 cm⁻¹. Konsentrasi kontaminasi daging babi pada daging sapi terkecil yang masih dapat dideteksi melalui metode turunan kedua spektra IR ini adalah sampai 0,1% (b/b). Dua jenis vibrasi molekuler khas protein babi pada bilangan gelombang 1680-1695 cm⁻¹ adalah berasal dari vibrasi stretching C-O amida secara umum (1670-1690 cm⁻¹) dan gugus R-S-CO-N (1700-1680 cm⁻¹) pada ikatan peptida. Dua jenis vibrasi molekuler khas protein babi pada bilangan gelombang 1075-1090 cm⁻¹ berasal dari stretching C-N amina untuk amina alifatik primer dengan atom karbon alfa bentuk sekunder (1090-1065 cm⁻¹) dan tertier (1140-1035 cm⁻¹).

Kata kunci: Spektra infra merah, turunan kedua, *second derivative*, daging sapi, daging babi.

¹ Dosen Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

PORK AND BEEF PROTEIN INFRA RED CHARACTERISTIC SPECTRA PATTERN IDENTIFICATION USING SECOND DERIVATIVE (2D) METHOD

Himmatul Barroroh²

ABSTRACT

Fast and cheap qualitative identification method of pork contamination on beef had been developed using second derivative (2D) technique of pork and beef FTIR spectra. This research will identify FTIR spectra characteristic peak of both meat.

The sample include: pure beef, pure pork, and pork-beef blended meat of concentration 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% (b/b pork). FTIR spectra collected using Varian FTIR Spectrometer 1000 on 4000-700 cm⁻¹, resolution: 4 cm⁻¹, scan: 256. The second derivative was generated by Fourier technique.

Investigation result showed that there were two characteristic molecular vibration peak of pork raised from infra red second derivative spectra on 1680-1695 cm⁻¹ and 1075-1090 cm⁻¹. The least pork concentration contamination on beef still detected by this method was up to 0.1% (b/b). Two kinds of characteristic molecular vibration of pork protein on 1680-1695 cm⁻¹ due to general amide C=O stretching (1670-1690 cm⁻¹) and R-S-CO-N group C=O stretching (1700-1680 cm⁻¹) of peptide bond. Meanwhile, the two kinds of characteristic molecular vibration of pork protein on 1075-1090 cm⁻¹ due to primary aliphatic amine C-N stretching with secondary α -carbon (1090-1065 cm⁻¹) and tertiary α -carbon (1140-1035 cm⁻¹).

Key word: infra red spectra, second derivative, beef, pork, protein.

² Lecturer in Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

Sebagai salah satu perwujudan pelaksanaan ibadah yang bersifat fardlu kifayah yang salah satunya adalah mewujudkan makanan yang jelas kehalalannya bagi umat Islam, terutama pada tataran identifikasi keberadaan kontaminan daging babi pada produk makanan, maka penelitian tentang metode uji keberadaan kontaminan daging babi pada berbagai produk perlu terus dikembangkan. Uji keberadaan kontaminan daging babi dalam sebuah produk merupakan jenis uji yang bersifat materiil, yang langsung akan jelas kesimpulan hukumnya ketika zat yang dimaksud ada dalam suatu produk. Hal ini merupakan ranah permasalahan yang paling nyata dalam bidang kekimiaan, dan memang menjadi kewajiban dan tanggungjawab para kimiawan muslim untuk membantu umat memperoleh kepastian hukum atas produk-produk yang digunakan.

Adanya kandungan komponen bahan makanan yang mengandung babi dalam bahan dan produk pangan dapat diidentifikasi melalui lemak, protein maupun DNAnya. Metode yang selama ini dikembangkan untuk uji keberadaan kontaminan daging babi pada berbagai produk melalui identifikasi protein khasnya meliputi metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Boes, 2000) dan Elektroforesa (Aning, 2005), sementara uji DNA babi harus dilakukan dengan bantuan alat PCR (Protein Chain Reaction) (Boes, 2000). Metode ini cukup handal untuk identifikasi keberadaan kontaminan daging babi pada berbagai produk sampai pada tingkat pencampuran diatas 5% (Boes, 2000), sedang untuk metode elektroforesa cukup baik untuk pencampuran diatas 50% (Aning, 2005). Metode PCR untuk identifikasi DNA dapat bersifat lebih akurat pada tingkat pencampuran yang rendah, akan tetapi biayanya sangat mahal. Biaya uji identifikasi dengan menggunakan metode HPLC masih lebih murah daripada metoda uji DNA akan tetapi masih cukup mahal, sementara uji dengan elektroforesa termasuk tidak mahal, tetapi metodenya cukup rumit dan memakan waktu serta bahan kimia yang cukup banyak.

Uji keberadaan daging babi pada suatu produk kadang dapat ditentukan melalui uji keberadaan lemaknya, karena lemak babi biasanya dalam jumlah sedikit selalu ada bersama dagingnya. Uji kandungan lemak babi dapat dilakukan dengan menggunakan metode Gas Chromatography (GC) (Matjseh, dkk, 2001), GCMS (Sumarno, 1995 dan Sumartini, 2002), dari penelitian tersebut teridentifikasi adanya asam lemak dan fragmen massa ion yang khas hanya ditemukan pada sampel lemak babi yang tidak terdapat pada lemak sapi, akan tetapi metode ini masih tergolong rumit penyiapannya dan cukup mahal. Metode baru yang mulai dikembangkan sejak 2003 sampai sekarang yaitu menggunakan metode FTIR, ditemukan adanya kekhasan vibrasi ulur C-H pada sampel lemak babi yang berbeda dengan lemak hewani lainnya. Analisa menggunakan metode FTIR ini melibatkan basis data yang luas dengan analisa data menggunakan software yang telah disesuaikan (Jaswir, 2006). Metode FTIR ini merupakan metode identifikasi yang bersifat cepat, sederhana, mudah dan relative murah, bahkan dapat dilakukan uji sampel langsung tanpa melalui tahap preparasi kimia basah (*wet chemistry*) yang rumit. Riset ini memenangi Medali Emas pada *The 34th International Exhibition of Inventions, New Techniques and Products of Geneva*, Genewa, Swiss, 5-9 April 2006.

Kehadiran protein khas pada daging babi yang tidak terdapat pada daging hewani yang lain, memberikan kemungkinan terdapatnya sifat vibrasi molekuler yang khas dari protein babi yang tidak terdapat pada protein hewani lainnya. Hipotesa ini membawa kita pada kemungkinan dapat dilakukannya identifikasi protein daging babi dengan metode FTIR yang bersifat cepat, sederhana, mudah dan lebih murah. Oleh karena itu pada penelitian ini akan dikaji karakteristik vibrasi molekuler protein khas daging sapi dan babi dari data spektra FTIR dengan bantuan analisa data menggunakan metode *Second Derivative* (2D).

"Sesungguhnya Allah hanya mengharamkan bagimu bangkai, darah, daging babi, dan binatang yang (ketika disembelih) disebut nama selain Allah. Tetapi barangsiapa dalam keadaan terpaksa (memakannya) sedang ia tidak menginginkannya dan tidak (pula) melampaui batas, maka tidak ada dosa baginya. Sesungguhnya Allah Maha Pengampun lagi Maha Penyayang (QS. Al-Baqarah:173).

Ada dua istilah yang sering digunakan untuk menunjukkan bahwa bahan tersebut adalah daging babi yaitu *ham* dan *bacon*. *Ham* yaitu daging babi bagian belakang, sedangkan *bacon* adalah iga babi asap. Secara umum daging babi memiliki lapisan lemak yang tebal dengan serat yang cukup halus. Akan tetapi, tidak mudah membedakan antara daging babi dengan daging sapi muda, keduanya sangat mirip, apalagi jika keduanya bercampur.

Tabel1. Contoh nama yang tidak menjamin kandungan yang sebenarnya*

Nama Produk	Bahan Baku
Sosis sapi	daging sapi, lemak (bisa sapi atau hewan lainnya), tetelan babi
Pasta hati angsa	hati angsa, daging babi, lemak babi atau angsa
Pasta hati unggas umumnya (ayam, kalkun, angsa)	daging babi, daging unggas, lemak (bisa babi atau hewan lainnya), hati (bisa hati unggas, bisa juga hati babi), jantung unggas, dll

*Wihelm (1987)

Pada proses *deboning* (penghilangan tulang dari daging) masih cukup banyak daging yang menjadi limbah, demikian juga dari hasil pemotongan daging, seringkali masih tersisa daging yang masih dapat dimanfaatkan lebih lanjut. Telah dilaporkan bahwa daging sisa tersebut dapat difraksinasi menjadi isolat-isolat protein seperti *salt soluble protein* (SSP), *insoluble myofibrillar protein* (IMP) dan *connective tissue protein* (CTP) yang masing-masing mempunyai sifat fungsional tertentu yang telah digunakan pada pembuatan sosis. Isolat protein tersebut dapat pula berasal dari *mince pork* (daging babi giling). Di samping itu, daging sisa ini dapat dibuat menjadi ekstrak

daging (*meat extract*) yang dapat digunakan untuk pembuatan perisa (flavor) daging. Ada pula yang disebut dengan *meat protein concentrate* (konsentrat protein daging) yang dibuat dari daging sisa. Selain itu ada pula protein hidrolisat yang dibuat dari kepala ayam dan digunakan untuk ingredien sosis, suplemen pada sup, minuman dan produk *bakery* (Apriyantono, 2009).

Daging merupakan bahan pangan yang penting dalam memenuhi kebutuhan gizi. Selain mutu proteininya tinggi, pada daging terdapat pula kandungan asam amino esensial yang lengkap dan seimbang. Daging terdiri dari tiga komponen utama, yaitu jaringan otot (muscle tissue), jaringan lemak (adipose tissue), dan jaringan ikat (connective tissue) (Astawan, M., 2004).

Telah diketahui bahwa beberapa molekul asam amino dapat berikatan satu dengan yang lain membentuk suatu senyawa yang disebut peptida. Ikatan peptida merupakan ikatan antara gugus alfa karboksil dari asam amino yang satu dengan gugus alfa amino dari asam amino yang lainnya. Protein ialah suatu polipeptida yang terdiri atas lebih dari seratus asam amino (Wirahadikusumah, 1977). Protein terbagi dalam beberapa tingkat struktur, yaitu struktur primer, struktur skunder, struktur tersier dan kuarter. Struktur primer protein dibentuk oleh ikatan-ikatan peptida yang kovalen. Struktur primer protein adalah struktur kovalen dan urutan sederhana residu asam amino dalam rantai polipeptida, yang berbentuk linier. Penulisan struktur primer suatu protein dengan berlangsung dari ujung-N ke ujung-C kiri ke kanan (Page, 1997).

Metoda kromatografi cairan kinerja tinggi (KCKT) telah digunakan untuk analisis protein daging babi mentah yang tercampur dengan daging sapi menggunakan fasa diam C₄ (Hi-Pore RP-304, Biorad) dengan fasa gerak A 0,1 % asam trifloroasetat dan pelarut B asetonitril/aquabidest/asam trifloroasetat (95:5:0,1) dan deteksi pada 280 nm. Dan analisis kualitatif, komponen khas yang hanya dimiliki oleh babi mempunyai retensi relatif 1,74 – 1,77. Untuk perhitungan kuantitatif dibuat kurva standar, hubungan antara luas komponen khas babi dan jumlah daging babi yang ditambahkan ke dalam daging sapi. Dari kurva diperoleh garis lurus dengan koefisien korelasi 0,9823 untuk sampel daging babi dan 0,9852 untuk sampel daging sapi. Metoda KCKT yang dikembangkan dapat menganalisis babi yang tercampur sapi hingga 1 %, akan tetapi perhitungan kuantitatif lebih akurat pada jumlah babi diatas 5 % dengan koefisien korelasi di bawah 3 %. Karena metoda KCKT hanya dapat menganalisis protein dari daging yang segar, maka protein dari daging yang sudah matang dapat dianalisis melalui uji DNA yang sudah diamplifikasi oleh PCR dengan teknik elektroforesis. Hasil amplifikasi DNA babi, serta campuran babi dan sapi menunjukkan adanya satu pita yang mempunyai ukuran sekitar 2 kb, sedangkan DNA sapi yang sudah diamplifikasi tidak menunjukkan pita yang jelas pada agarose gel (Boes, E., 2000).

Telah pula dilakukan penelitian analisis adanya protein daging babi menggunakan elektroforesis SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfat-Polyacrylamide Gel Electrophoresis) dengan sistem buffer diskontinyu. Dengan menggunakan teknik pemisahan elektroforesis SDS-PAGE maka adanya perbedaan di dalam komposisi protein akan menghasilkan pemisahan dalam bentuk pita protein dengan berat molekul

yang berbeda, dengan demikian bisa dicari pita protein pembeda tersebut. Dari hasil penelitian untuk identifikasi protein daging sapi dan babi daging mentah ditemukan beberapa pita protein yang menjadi pita protein pembeda. Pada daging babi mentah ditemukan pita protein pembeda yang tidak ditemukan pada daging sapi pada Rf 0,0885; 0,1435; 0,296 dan 0,6825 dengan berat molekul berturut-turut 54,71 kD; 46,64 kD; 29,96 kD dan 9,76 kD. Sedangkan pada sapi ditemukan pita protein pembeda yang tidak ditemukan pada babi pada Rf 0,0965 dengan berat molekul 53,46 kD dan Rf 0,827 dengan berat molekul 6,42 kD. Untuk campuran daging sapi dan daging babi dengan perbandingan 50:50 % belum nampak adanya perbedaan pita protein yang muncul, hal ini terjadi karena konsentrasinya terlalu kecil sehingga intensitas pita protein yang muncul kecil sehingga tidak terlihat. Pada daging yang sudah direbus tidak bisa diidentifikasi dengan menggunakan elektroforesis SDS-PAGE karena proteinnya sudah terdenaturasi (Purwaningsih, A., 2005).

Upaya Identifikasi Daging Babi pada Bakso melalui Karakterisasi Fraksi Protein dengan Menggunakan SDS PAGE juga dilakukan oleh kelompok peneliti pemenang LTKI PIMNAS tahun 2005 yang dipimpin oleh Edy Susanto. Sampel yang diteliti adalah: daging babi dan daging sapi segar; daging babi dan sapi masing-masing direbus pada suhu 90 derajat Celcius selama 15 menit; bakso dengan kandungan: 100 persen daging sapi , 25 persen daging babi + 75 persen daging sapi, 50 persen daging babi + 50 persen daging sapi, dan terakhir adalah 100 persen daging babi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada daging babi segar terdapat protein tak diketahui dengan berat molekul 112,13 KDa yang tidak terdapat pada sampel daging sapi segar. Pemanasan pada suhu 90 derajat Celcius selama 15 menit menyebabkan penurunan pada ketebalan pita-pita protein pada masing-masing sampel. Daging babi rebus mempunyai ciri spesifik yaitu terdapatnya protein desmin yang tidak terdeteksi pada daging sapi rebus. Masih menurut Edi Susanto dkk, perbedaan berikutnya adalah tidak terdapatnya protein tropomiosin 1 pada daging babi rebus, tetapi protein tersebut terdeteksi pada daging sapi. Selanjutnya, menurut pendapat Edy Susanto dkk, perbedaan spesifik pada bakso daging sapi adalah adanya protein troponin T yang terdapat dalam jumlah banyak, sedangkan pada tingkat pencampuran daging babi pada bakso sapi 25 persen, 50 persen, dan 100 persen protein tersebut terdeteksi sedikit. Dengan demikian adanya pencampuran daging babi pada bakso dapat dilihat dari tingkat ketebalan pita protein troponin T yang semakin menurun dengan kenaikan jumlah daging babi yang ditambahkan (Susanto, E. dkk, 2005).

Delwiche, et al., (2007) telah berhasil mengukur jumlah protein glicinin dan β -conglicinin yang terdapat pada biji kedelai menggunakan Near Infra Red Spectroscopy (NIR), sampai pada batas screening. Sebelumnya protein ini biasa dipisahkan dengan melalui metode ultrasentrifugasi dan elektroforesis.

Telah dikembangkan pula metode pengukuran kuantitatif asam lemak *trans* baru yang cepat melalui pengukuran ketinggian pita absorpsi asam lemak *trans* pada 966 cm^{-1} menggunakan metode turunan kedua atau *second derivative* (2D). Metode ini berhasil mengidentifikasi dan memisahkan adanya interferensi pita pada $962\text{-}956\text{ cm}^{-1}$ milik lemak jenuh pada pita asam lemak *trans* pada 966 cm^{-1} . Keberhasilan pemisahan

pita interferensi ini dapat meningkatkan sensitivitas dan akurasi penentuan asam lemak *trans* pada konsentrasi rendah ($\leq 0.5\%$ dari lemak total) (Mossoba, et al, 2007).

A. Metodologi Penelitian

Dalam penelitian ini yang menjadi objek penelitian adalah daging babi dan sapi mentah, baik dalam keadaan murni sebagai control maupun dalam keadaan campuran dari beberapa variasi konsentrasi. Variasi konsentrasi kontaminan daging babi pada daging sapi terdiri atas: 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5%, 0,4%, 0,3%, 0,2% dan 0,1% (dalam prosentase berat), berat daging sapi dibuat konstan. Analisa data spektra FTIR yang diperoleh dilakukan lebih lanjut dengan membuat kurva turunan kedua dari spektra, disebut metode *Second Derivative* (2D), metode ini akan mempertajam puncak spektra dan memperbesar resolusi pemisahan spektra.

Pembuatan variasi konsentrasi bertujuan untuk mengidentifikasi puncak spektra FTIR yang akan mengalami perubahan dengan berubahnya konsentrasi. Adanya puncak spektra yang mengalami perubahan dapat diidentifikasi sebagai akibat adanya perubahan konsentrasi daging babi, yang juga menunjukkan posisi puncak spektra khas daging babi. Identifikasi lebih dalam jenis vibrasi molekuler yang ditunjukkan oleh puncak spektra yang mengalami perubahan, dilakukan melalui kajian teori dan literatur. Variasi konsentrasi campuran daging sapi dan babi dibuat sampai pada nilai yang cukup kecil untuk menentukan batas deteksi dari metode yang digunakan.

a. Alat dan Bahan

Bahan dari penelitian ini adalah daging sapi dan daging babi mentah segar yang diperoleh di pasaran. Bahan Pembuat pellet padatan untuk instrumentasi FTIR adalah KBr. Sementara peralatan yang digunakan adalah Spektrometer FTIR Varian 1000. Alat optiknya meliputi interferometer Michelson dengan cermin gerak udara, beam splitter KBr, dan detektor deuterated triglycerin sulfate (DTGS). Spektra FTIR dikumpulkan pada rentang bilangan gelombang $4000-700\text{ cm}^{-1}$, pada resolusi 4 cm^{-1} , scan dilakukan sebanyak 256 kali yang kemudian dijumlahkan dan dirata-ratakan. Sebagai material background referensi digunakan udara ambient.

b. Metode Penelitian

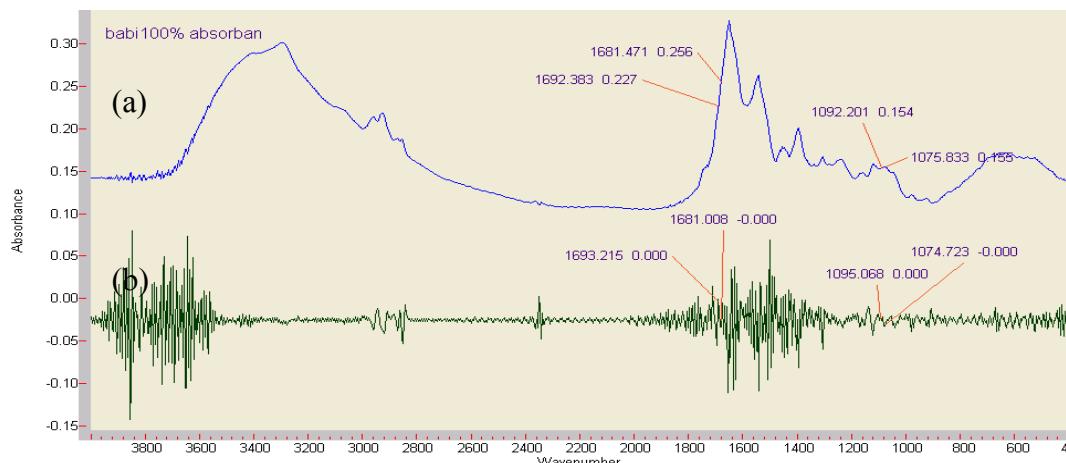
Seluruh sampel digunakan dalam keadaan mentah segar. Sampel campuran daging sapi dan daging babi dibuat dengan menghomogenkan campuran menggunakan alat blender pada suhu kamar, untuk menghindari denaturasi protein.

Lempeng (pellet) KBr dibuat dengan menggerus cuplikan (0,1-2% berat) dengan kalium bromida (KBr) dalam mortar dari batu agate untuk mengurangi kontaminasi yang menyerap radiasi IR dan kemudian dimasukkan ke dalam tempat khusus kemudian di vakum untuk melepaskan air. Campuran dipres beberapa saat (10 menit) pada tekanan 80 Torr (8 hingga 20 ton per satuan luas).

Pengumpulan data spektra dan pembuatan kurva turunan kedua menggunakan teknik diferensiasi Fourier dengan bantuan perangkat lunak Resolution Pro dari Varian.

B. Diskusi dan Temuan

Spektra dalam bentuk transmitan dari seluruh sampel secara garis besar memiliki pola yang mirip satu sama lain, tidak dapat diidentifikasi secara meyakinkan perbedaannya. Spektra yang ditransformasi dalam bentuk absorbansi masih memberikan pola yang hampir sama untuk semua sampel. Tetapi ketika dilakukan derivasi dua kali sehingga diperoleh turunan keduanya, maka puncak-puncak spektra yang dihasilkan menjadi semakin bertambah. Daerah spektra transmitan dan absorban yang tidak menunjukkan adanya puncak dapat memberikan puncak ketika diturunkan dua kali. Penurunan dua kali terhadap kurva akan memberikan puncak yang berbeda untuk setiap terdapatnya perubahan kemiringan. Perubahan kemiringan dapat merupakan manifestasi dari beberapa puncak yang saling bertumpang tindih, oleh karena itu, prosedur derivasi dua kali akan memperbesar resolusi spektra. Hal ini dapat dilihat sebagaimana tampak pada Gambar 4.1. Misalnya pada daerah bilangan gelombang antara $1680-1690\text{ cm}^{-1}$, spektra absorbansi tidak menunjukkan adanya puncak, spektra hanya tampak sebagai garis lurus, tetapi pada turunan kedua spektra, kurva garis lurus itu terpisah menjadi lebih dari satu puncak. Pada bilangan gelombang $1075-1090\text{ cm}^{-1}$ spektra absorbansi tidak dapat dideteksi adanya lebih dari satu puncak, tetapi pada turunan kedua spektra ternyata pada daerah tersebut terdapat lebih dari satu puncak.



Gambar 1. Transformasi spektra sampel daging babi murni (a) Spektra absorbansi (b) Turunan kedua spektra.

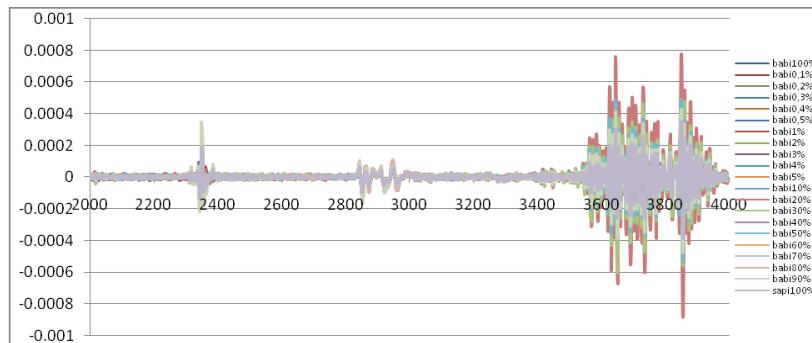
Secara umum seluruh spektra infra merah (Lampiran) sampel menunjukkan pola yang sama, puncak khas gugus fungsi dapat diamati pada daerah bilangan gelombang di atas 1000 cm^{-1} . Pada sekitar $3400-3500\text{ cm}^{-1}$ terdapat dua puncak yang melebar, bentuk ini merupakan khas vibrasi dasar stretching N-H dari peptida. Puncak

tajam pada 1650 cm^{-1} juga merupakan puncak khas untuk vibrasi stretching C=O karbonil. Kedua puncak ini merupakan konstituen khas untuk suatu ikatan peptida dari protein. Dilihat dari keumuman pola spektra pada daerah $1000\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ dan adanya dua puncak dasar dua gugus fungsi ini, memberikan keyakinan bahwa spektra itu merupakan spektra khas milik protein.

a. Turunan kedua spektra IR

Gambaran umum turunan kedua spektra absorbansi infra merah seluruh sampel diberikan seperti pada Gambar 1. Sebagaimana gambaran umum spektra transmitannya, turunan kedua spektra juga menunjukkan trend yang mirip. Informasi yang lebih detil akan digali dengan membagi pembahasan kurva turunan kedua menjadi tiga daerah bilangan gelombang yaitu: $2000\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$, $1000\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$, dan $400\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$. Pembagian menjadi tiga daerah ini didasarkan pada kekhususan informasi yang dapat digali dari masing-masing daerah, dimana daerah $2000\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ memberikan informasi tentang vibrasi dasar stretching untuk gugus-gugus sederhana, seperti O-H, N-H, C=O dan lainnya. Daerah bilangan gelombang $1000\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$, disinyalir merupakan daerah vibrasi bending untuk gugus dan gugus yang berinteraksi dengan lingkungannya. Sedangkan daerah bilangan gelombang dibawah 1000 cm^{-1} merupakan *finger print* yang memberikan spektra vibrasi untuk *breathing* molekul secara keseluruhan. Spektra daerah finger print cenderung sangat rumit akan tetapi khas untuk setiap material.

Spektra semua sampel secara umum menunjukkan puncak yang sama dan identik pada sebagian besar bilangan gelombang, khususnya pada bilangan-bilangan gelombang gugus fungsional dasar yaitu gugus N-H pada 3500 cm^{-1} , C-H pada 3000 cm^{-1} , dan C=O karbonil pada 1700 cm^{-1} .

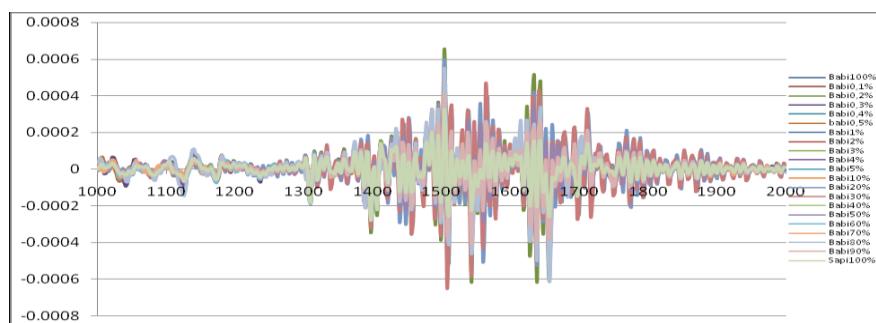


Gambar 2. Turunan kedua spektra absorbansi infra merah daerah bilangan gelombang $2000\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ untuk saluruh sampel.

Daerah bilangan gelombang $2000\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ turunan kedua spektra absorbansi infra merah untuk semua sampel memberikan puncak-puncak yang identik, dengan posisi semua puncak terletak pada bilangan gelombang yang persis sama, tidak terjadi pergeseran bilangan gelombang, meskipun intensitas tiap sampel dapat berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa gugus fungsi untuk semua sampel daging mentah, baik daging

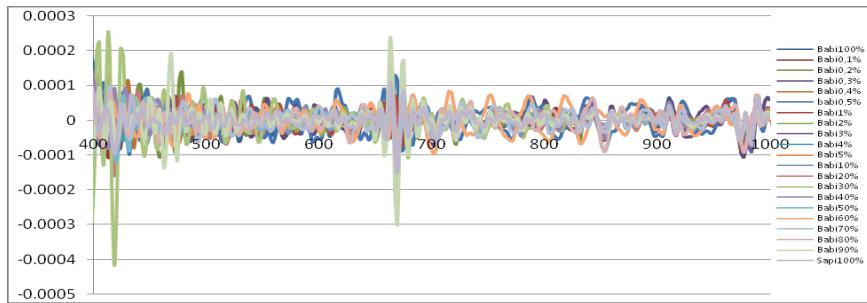
sapi, babi maupun campuran antara keduanya adalah sama dan memiliki *environment* gugus yang sama pula. Bagian noise juga memberikan profil yang identik untuk semua sampel, baik daging sapi, daging babi maupun campuran daging babi dan sapi. Hal ini menunjukkan bahwa tidak dapat dilakukan identifikasi vibrasi khas protein daging sapi dan babi pada tingkat gugus fungsinya. Fenomena ini dapat dipahami karena memang semua protein tersusun atas batu bata asam amino yang semuanya memiliki gugus fungsi yang sama meliputi N-H dan C=O pada ikatan peptida, C-H pada bagian sisa molekul, dan beberapa ikatan karbon dengan atom-atom hetero yang lain.

Identifikasi selanjutnya dilakukan pada daerah bilangan gelombang 1000-2000 cm⁻¹. Didapati bahwa hampir semua puncak juga identik, berada pada bilangan gelombang yang sama, tidak terjadi pergeseran puncak. Puncak khas gugus fungsi masih dapat ditemukan pada daerah 1700-an milik vibrasi C=O karbonil. Ketika ditelusuri lebih detil ternyata terdapat dua daerah puncak yang berbeda antara sampel daging sapi dengan sampel daging babi maupun yang mengandung babi. Daerah ini ditemukan pada bilangan gelombang 1680-an dan 1085-an. Identifikasi spektra khas protein daging babi dan sapi akan dilakukan pada daerah ini.



Gambar 3. Turunan kedua spektra absorbansi infra merah daerah bilangan gelombang 1000-2000 cm⁻¹ untuk saluruh sampel.

Turunan kedua spektra absorbansi seluruh sampel untuk daerah *finger print* ditunjukkan seperti pada Gambar 4.7. Meskipun pada spektra transmitan dan absorbansi daerah finger print ini agak mirip antara satu sampel dengan sampel yang lain, ternyata setelah dilakukan derivasi dua kali terhadap spektra absorbansi, tidak ada satu sampel pun yang memiliki pola dan posisi puncak-puncak yang sama. Tiap sampel memiliki pola dan posisi puncak yang khas. Hal ini menunjukkan bahwa pada tingkat molekuler, dalam hal ini protein adalah makromolekul, tiap sampel memiliki susunan atau struktur dan *environment* molekuler yang tidak sama. Akan tetapi karena tidak ada satupun keidentikan, maka daerah *finger print* ini tidak dapat dijadikan acuan untuk mengidentifikasi spektra infra merah khas dari protein babi.

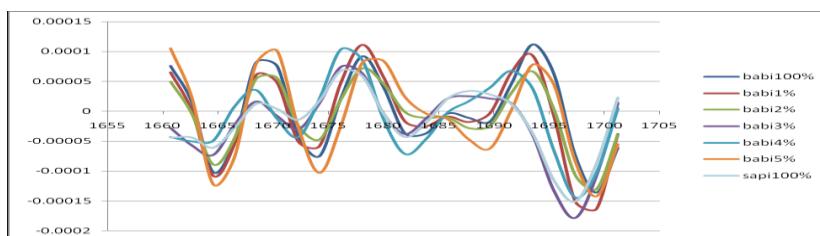


Gambar 4. Turunan kedua spektra absorbansi infra merah daerah bilangan gelombang 400-1000 cm^{-1} untuk saluruh sampel.

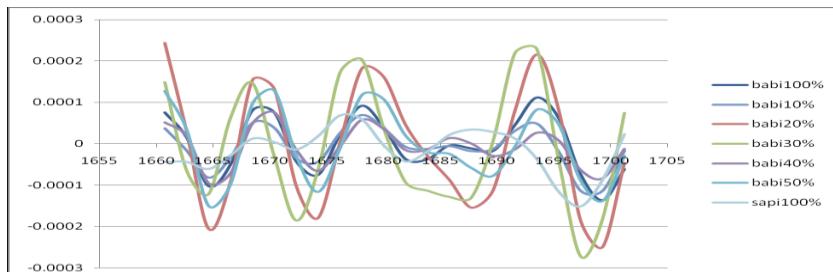
b. Puncak karakteristik turunan kedua spektra IR pada bilangan gelombang 1680-1695 cm^{-1}

Identifikasi puncak karakteristik turunan kedua spektra IR daging babi, daging sapi dan campuran keduanya dapat dilihat pada Gambar 4.8., 4.9. dan 4.10. Deskripsi turunan kedua spektra ini dibagi menjadi 3 kelompok untuk mengeliminasi kerumitan karena penumpukan spektra, yaitu daging sapi dan babi murni sebagai acuan serta campuran daging sapi dan babi dengan konsentrasi: (Gambar 4.8.) 1%, 2%, 3%, 4%, dan 5%, (Gambar 4.9.) 10%, 20%, 30%, 40% dan 50%, (Gambar 4.10.) 60%, 70%, 80% dan 90%.

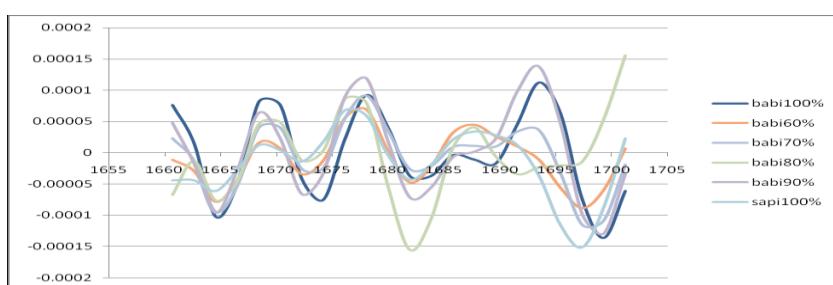
Pada bilangan gelombang 1680-1695 cm^{-1} terdapat dua puncak untuk sampel yang mengandung daging babi, baik murni maupun campuran dengan daging sapi, tetapi pada daging sapi murni pada bilangan gelombang tersebut hanya terdapat satu puncak. Perkecualian terjadi pada campuran daging babi-sapi dengan konsentrasi daging babi 60% (b/b). Profil sampel ini pada bilangan gelombang 1680-1695 cm^{-1} hanya memiliki satu puncak, profilnya menyerupai profil spektra daging sapi murni. Dari 20 sampel terdapat 1 sampel yang menyimpang, sehingga dapat diperkirakan terdapat eror sebesar 5% terhadap keakuratan identifikasi puncak khas spektra infra merah daging babi pada bilangan gelombang 1680-1695 cm^{-1} . Ketidakakuratan ini diduga dikarenakan ketidakhomogenan sampel campuran daging, kemungkinan cuplikan yang terambil untuk diukur spektra infra merahnya, kebetulan bagian daging yang hanya mengandung daging sapi, hal ini sangat mungkin terjadi dikarenakan jumlah cuplikan yang sangat sedikit, yaitu sejung spatula.



Gambar 5. Turunan kedua spektra infra merah pada 1680-1695 cm^{-1} untuk sampel daging babi murni, daging sapi murni, dan campuran daging babi dan sapi dengan konsentrasi daging babi: 1%, 2%, 3%, 4%, 5% (b/b).



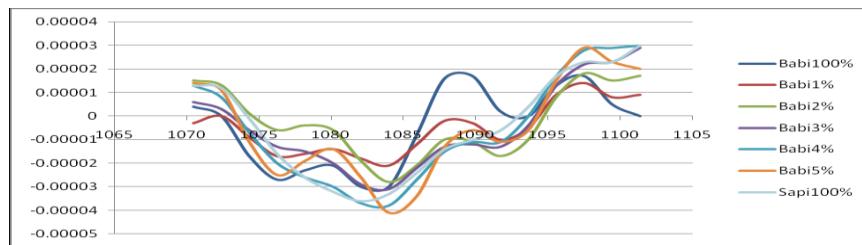
Gambar 6. Turunan kedua spektra infra merah pada $1680\text{-}1695\text{ cm}^{-1}$ untuk sampel daging babi murni, daging sapi murni, dan campuran daging babi dan sapi dengan konsentrasi daging babi: 10%, 20%, 30%, 40%, 50% (b/b).



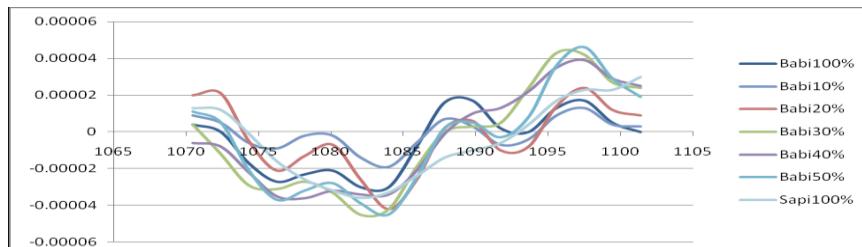
Gambar 7. Turunan kedua spektra infra merah pada $1680\text{-}1695\text{ cm}^{-1}$ untuk sampel daging babi murni, daging sapi murni, dan campuran daging babi dan sapi dengan konsentrasi daging babi: 60%, 70%, 80%, 90% (b/b).

c. Puncak karakteristik turunan kedua spektra IR pada bilangan gelombang $1075\text{-}1090\text{ cm}^{-1}$

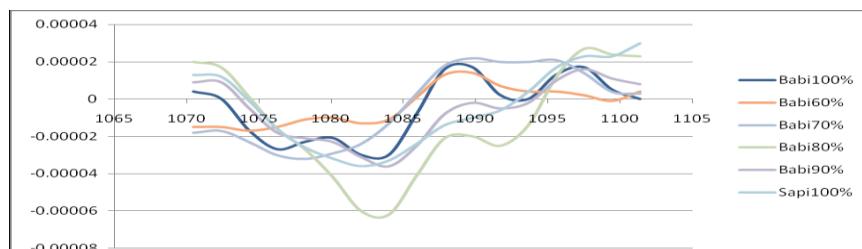
Pada bilangan gelombang $1075\text{-}1090\text{ cm}^{-1}$, sampel yang mengandung daging babi, baik murni maupun campuran dengan daging sapi mengandung dua puncak, sedangkan daging sapi murni hanya memiliki satu puncak. Dua puncak antara $1075\text{-}1090\text{ cm}^{-1}$ pada sampel campuran daging babi-sapi dengan konsentrasi 70% tidak sangat jelas terlihat, sehingga kurang cukup meyakinkan. Jika satu data ini juga dianggap tidak definitif, maka tingkat eror identifikasi puncak khas spektra infra merah padad bilangan gelombang $1075\text{-}1090\text{ cm}^{-1}$ ini juga berkisar 5%. Mungkin ke depan dapat dilakukan konfirmasi dengan menggunakan metode derivasi pada tingkat yang lebih tinggi.



Gambar 8. Turunan kedua spektra infra merah pada $1075\text{-}1090\text{ cm}^{-1}$ untuk sampel daging babi murni, daging sapi murni, dan campuran daging babi dan sapi dengan konsentrasi daging babi: 1%, 2%, 3%, 4%, 5% (b/b).



Gambar 9. Turunan kedua spektra infra merah pada $1075\text{-}1090\text{ cm}^{-1}$ untuk sampel daging babi murni, daging sapi murni, dan campuran daging babi dan sapi dengan konsentrasi daging babi: 10%, 20%, 30%, 40%, 50% (b/b).

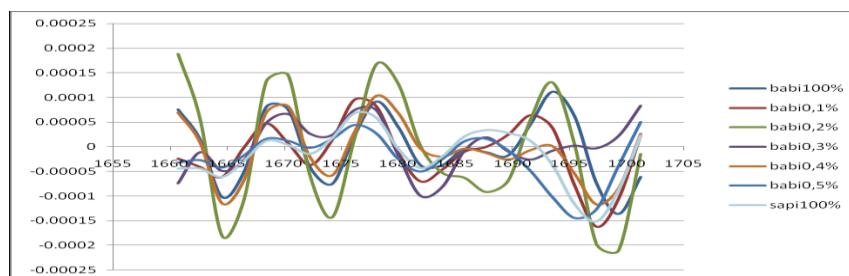


Gambar 10. Turunan kedua spektra infra merah pada $1075\text{-}1090\text{ cm}^{-1}$ untuk sampel daging babi murni, daging sapi murni, dan campuran daging babi dan sapi dengan konsentrasi daging babi: 60%, 70%, 80%, 90% (b/b).

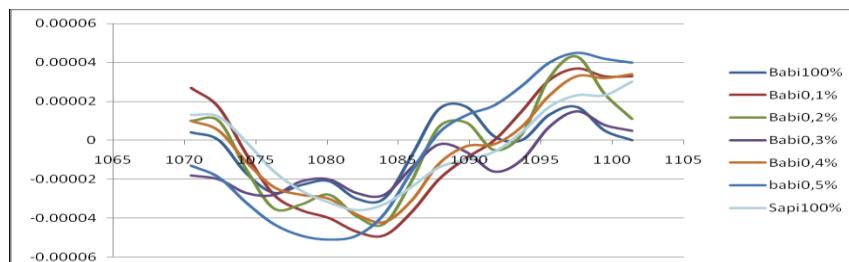
d. Konsentrasi kontaminasi protein babi pada daging sapi terkecil yang masih dapat dideteksi melalui metode FTIR

Pada rentang konsentrasi 0,1-0,5% (b/b) kontaminasi daging babi pada daging sapi, turunan kedua spektra IR masih menunjukkan adanya puncak khas baik pada bilangan gelombang $1680\text{-}1695\text{ cm}^{-1}$ maupun pada bilangan gelombang $1075\text{-}1090\text{ cm}^{-1}$. Penyimpangan terjadi pada sampel campuran daging sapi-babi dengan konsentrasi daging babi sebesar 0,5% (b/b). Profil spektra sampel tersebut hanya memiliki satu puncak pada rentang bilangan gelombang $1075\text{-}1090\text{ cm}^{-1}$. Profil ini menyerupai profil spektra daging sapi murni. Kemungkinan penyebabnya adalah sama dengan kasus sebelumnya yaitu karena ketidakhomogenan sampel, sehingga cuplikan yang terambil hanya mengandung elemen daging sapi saja.

Intensitas turunan kedua spektra untuk seluruh sampel memiliki ketinggian yang seragam, jadi intensitas spektra pada dua daerah puncak spektra khas daging babi ini tidak linear terhadap konsentrasi daging babi. Hal ini mengindikasikan bahwa intensitas puncak spektra pada kedua daerah puncak khas ini tidak dapat digunakan untuk identifikasi kuantitatif konsentrasi kontaminasi daging babi dalam campuran. Tetapi keseragaman intensitas spektra pada kedua daerah puncak khas ini justru memberikan jaminan keakuratan identifikasi kualitatif kehadiran kontaminasi daging babi dalam campuran sampai pada konsentrasi kelumit.



Gambar 11. Turunan kedua spektra infra merah pada $1680\text{-}1695\text{ cm}^{-1}$ untuk sampel daging babi murni, daging sapi murni, dan campuran daging babi dan sapi dengan konsentrasi daging babi: 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5% (b/b).



Gambar 12. Turunan kedua spektra infra merah pada $1075\text{-}1090\text{ cm}^{-1}$ untuk sampel daging babi murni, daging sapi murni, dan campuran daging babi dan sapi dengan konsentrasi daging babi: 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5% (b/b).

Masalah homogenitas sampel diduga merupakan titik kritis terjadinya kesalahan identifikasi menggunakan turunan kedua spektra infra merah ini. Pada eksperimen penelitian ini penghomogenan sampel memang dilakukan secara manual dengan cara mencampur sampel dalam mortar, sehingga terdapat kemungkinan kurang homogennya sampel. Terdapat beberapa alternatif cara untuk mengatasi permasalahan ini, yang pertama adalah mengusahakan penghomogenan sampel dengan alat non manual ataupun dengan menggunakan sampel apa adanya dalam jumlah besar, akan tetapi perlu instrument FTIR yang kompatibel untuk sampel langsung tanpa dibuat pelet.

e. Jenis vibrasi molekuler pada puncak khas yang terdapat pada protein babi

Dua jenis vibrasi molekuler khas protein babi pada bilangan gelombang 1680-1695 cm⁻¹ adalah berasal dari vibrasi stretching C-O amida secara umum (1670-1690 cm⁻¹) dan gugus R-S-CO-N (1700-1680 cm⁻¹) pada ikatan peptida. Dua jenis vibrasi molekuler khas protein babi pada bilangan gelombang 1075-1090 cm⁻¹ berasal dari stretching C-N amina untuk amina alifatik primer dengan atom karbon alfa bentuk sekunder (-CH₂-NH₂) pada 1090-1065 cm⁻¹ dan tertier (-CH-NH₂) pada 1140-1035 cm⁻¹).

C. Penutup

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa: Vibrasi molekuler khas protein daging babi mentah muncul pada turunan kedua spektra IR pada bilangan gelombang 1680-1695 cm⁻¹ dan 1075-1090 cm⁻¹. Dua jenis vibrasi molekuler khas protein babi pada bilangan gelombang 1680-1695 cm⁻¹ adalah berasal dari vibrasi stretching C-O amida secara umum (1670-1690 cm⁻¹) dan gugus R-S-CO-N (1700-1680 cm⁻¹) pada ikatan peptida. Dua jenis vibrasi molekuler khas protein babi pada bilangan gelombang 1075-1090 cm⁻¹ berasal dari stretching C-N amina untuk amina alifatik primer dengan atom karbon alfa bentuk sekunder (1090-1065 cm⁻¹) dan tertier (1140-1035 cm⁻¹). Konsentrasi kontaminasi protein babi pada daging sapi terkecil yang masih dapat dideteksi melalui metode turunan kedua spektra IR ini adalah sampai 0,1% (b/b).

Perlu dilakukan ulangan penelitian yang sama untuk sampel campuran daging sapi an babi mentah yang diambil dari populasi yang lebih beragam, baik dari segi sumber bahan maupun rentang waktu yang berbeda, sehingga dapat diketahui konsistensi hasil turunan keduanya.

DAFTAR PUSTAKA

- Apriyantono, Anton, 2009, **Masalah Halal: Kaitan Antara Syar'i, Teknologi dan Sertifikasi**, http://www.indohalal.com/doc_halal2.html.
- Astawan, M., 2004, **Mengapa Kita Perlu Makan Daging?** , Kompas Cyber Media, Jumat, 7 Mei 2004.
- Boes, E., 2000, **Analisis Protein Daging Babi Tercampur Daging Sapi Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dan Secara Elektroforesis**, Tesis Magister Kimia, ITB Central Library.
- Delwiche, S. R. , Pordesimo, L. O. , Panthee, D. R. and Pantalone, V. R. , 2007, **Assessing Glycinin (11S) and β-Conglycinin (7S) Fractions of Soybean Storage Protein by Near-Infrared Spectroscopy**, Volume 84, Number 12 / December, 1107-1115.
- Jaswir, Irwandi, 2006, **Metode Cepat Analisa Lemak Babi dengan FTIR**, www.beritaiptek.com.

- Jaswir, Irwandi, 2007, **Metode Cepat Analisa Lemak Babi dengan FTIR**, Halal Guide - Metode Cepat Analisa Lemak Babi dengan FTIR.htm.
- Matsjeh, S.;Ratmoko, S, 2001, **Penentuan kadar lemak Babi dalam lemak sapi menggunakan spektrofotometri infra merah dan kromatografi gas cair**, Prosiding seminar nasional kimia, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- Mossoba, M. M. , Kramer, J. K. G. , Milosevic, V. , Milosevic, M. and Azizian, H. , 2007, **Interference of Saturated Fats in the Determination of Low Levels of *trans* Fats (below 0.5%) by Infrared Spectroscopy**, Journal of the American Oil Chemists' Society, Volume 84, Number 4 / April, 339-342.
- Page, D.S., 1997, **Prinsip-Prinsip Biokimia**, edisis kedua diterjemahkan oleh R. Soendoro, Erlangga: Surabaya.
- Purwaningsih, A., 2007, **Identifikasi Protein Daging Sapi Dan Babi Dengan Elektroforesis Gel Poliakrilamid-Sodium Dodesil Sulfat (Sds-Page)**, ADLN Digital Collections, /Top / Unair Thesis / Ilmu Farmasi / jiptunair-gdl-s3-2005-purwanings-1625.
- Sumarno, 1995, **Analisis beberapa lemak hewani dengan kromatografi gas spektrometer massa = Mass Spectrometric Analysis of Animals Fats**, Majalah Farmasi Indonesia, 1995, VI(4), Inherent Digital library.
- Sumartini, Sri, 2002, **Analisa Lemak Babi dalam makanan dengan GCMSMS, Database Riset IPTEK**, <http://www.dbriptek.ristek.go.id/cgi/penjaga.cgi?datalembaga&997523548>.
- Susanto E., 2005, **Identifikasi Pencampuran Daging Dalam Baso**, Republika, Jumat, 28 Oktober 2005, (halalmui.or.id/Republika).
- Wirahadikusumah, M, 1997, **Biokimia; Protein, Enzim, dan Asam Nukleat**, ITB; Bandung.

LAMPIRAN

