

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS PENELITIAN

A. Kajian Pustaka

1. Makanan Halal

Halal berasal dari Bahasa Arab yang berarti melepaskan dan tidak terikat, dan secara etimologi berarti hal-hal yang boleh dan dapat dilakukan karena bebas atau tidak terkait dengan ketentuan-ketentuan yang melarangnya. Secara umum, halal dapat diterjemahkan sebagai makna diperbolehkan atau dibenarkan. Indonesia merupakan salah satu negara yang paling banyak mengkonsumsi makanan halal, karena mayoritas penduduknya beragama Islam (Hasibuan et al., 2021). Adanya kesadaran atas pentingnya kehalallan tersebut, maka menjadikan jumlah penggunaan produk halal menjadi semakin meningkat (Rachmawati et al., 2019). Makanan dapat dikatakan halal jika memenuhi beberapa karakteristik, yaitu tidak mengandung alkohol, daging babi, produk sampingan babi, darah dan sampingan produk yang berbasis darah, hewan yang tidak disembelih dengan cara yang benar, dan memakan daging hewan yang mati. Daging dan makanan dengan bahan dasar daging merupakan topik diskusi yang signifikan dalam permasalahan kehalallan produk makanan (Vanany et al., 2019).

Konsep makanan halal ini, tidak hanya diakui oleh masyarakat yang beragama Islam saja, namun juga diakui oleh seluruh masyarakat di Indonesia yang tidak beragama Islam sebagai parameter alternatif untuk keamanan, kebersihan dan jaminan kualitas makanan yang dikonsumsi sehari-hari

(Mustika et al., 2021). Dalam UU No. 8 Tahun 1999 pasal 4 (a), menyatakan bahwa seluruh konsumen di Indonesia, berhak menerima dan mengkonsumsi produk halal dan tidak bertentangan dengan kaidah agama. Labelisasi halal menjadi salah satu mekanisme penting dalam memastikan bahwa produk makanan telah memenuhi syarat kehalalan dan dapat memberikan jaminan bahwa produk tersebut telah melewati proses produksi yang sesuai dengan standar kehalalan yang telah ditetapkan oleh pemerintah (Mansur, 2023).

2. Produk Olahan Daging

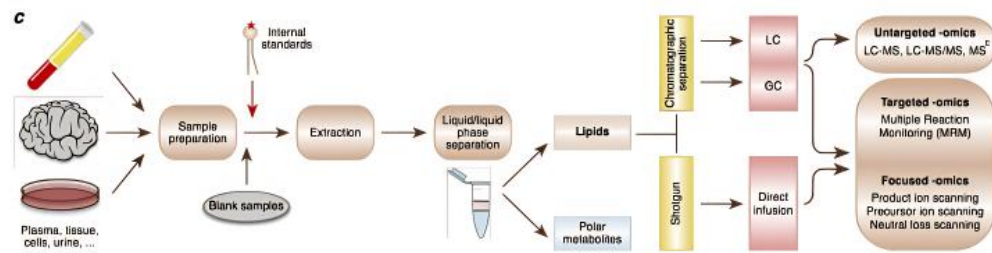
Daging mengandung air 75%, lemak 2,5%, protein 19% dan substansi-substansi non protein yang larut 3,5%. Daging dari berbagai jenis hewan memiliki karakteristik yang berbeda-beda dan dapat diketahui melalui tekstur, warna, rasa, maupun aromanya. Selain itu, melalui karakteristik tersebut juga dapat diketahui kualitas daging (Fadhila & Darmawati, 2017). Daging olahan merupakan daging yang diproses dengan menggunakan suatu metode dengan atau tanpa bahan tambahan pangan. Produk olahan daging adalah salah satu produk yang banyak diminati oleh banyak konsumen karena praktis dan efisien dalam penyajiannya, serta memiliki rasa yang enak dan jenis yang beragam (Meilani & Florentina, 2015). Selain itu pada produk olahan daging mengandung protein dan air yang lebih sedikit, namun lebih banyak mengandung lemak dan mineral. Hal ini terjadi karena adanya penambahan bumbu dan garam pada produk olahan daging tersebut. Nilai kalori pada produk olahan daging ini juga cukup tinggi karena adanya penambahan karbohidrat dan protein yang berasal dari tepung maupun biji-bijian (Ghazali et al., 2015).

Produk olahan daging yang banyak ditemukan saat ini adalah sosis, nugget, daging asap, kornet, dan ham.

Pada produk olahan daging seperti ham banyak mengandung lipid, yang merupakan molekul penting bagi suatu organisme dalam proses dan reaksi biokimia, serta bertindak dalam pembawa pesan untuk jalur sinyal yang terkait dengan beberapa kondisi, sehingga lipid menjadi salah satu target analisis pada proses autentikasi kehalalan (Markovic et al., 2020). Daging ham sapi memiliki kandungan lipid yang berbeda dengan daging ham babi, yang dapat dijadikan parameter pada autentikasi kehalalan tersebut. Kandungan lipid dipengaruhi oleh berbagai parameter, seperti jenis dan ras hewan, jaringan otot yang dipotong, jenis pakan, lingkungan dan area pembiakan, serta proses penanganan, penyimpanan, dan pengolahan yang dilakukan setelah hewan disembelih (Dominguez dkk., 2019).

3. *Untargeted Lipidomic*

Lipidomic merupakan sub bagian dari *metabolomic*, yang berfokus pada studi mengenai metabolit lipid. Lipid adalah sekelompok biomolekul yang terlibat dalam berbagai aktivitas struktural dan fungsional dalam sel serta komponen struktural membran sel yang mempengaruhi fluiditas dan interaksinya. *Lipidomic* menyediakan analisis lipid komprehensif untuk mengidentifikasi senyawa lipid sebanyak mungkin di dalam sampel makanan (Sun et al., 2020).

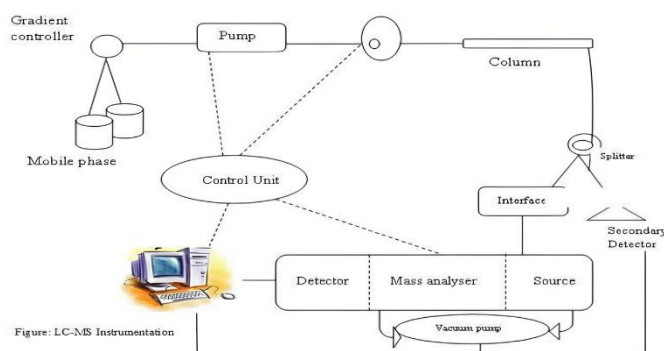


Gambar 2. 1 Pendekatan eksperimental yang dapat diterapkan dalam *lipidomic* (Smirnov et al., 2021)

Terdapat dua metode analisis utama dalam studi *lipidomic*, yaitu pendekatan tertarget dan tidak tertarget. *Untargeted lipidomic* digunakan untuk melakukan suatu analisis global terhadap semua lipid terukur yang ada di dalam sampel, tanpa adanya asumsi apapun sebelumnya mengenai jalur ataupun jenis lipid yang terpengaruh (Fenalle et al., 2017). Oleh karena itu, metode analisis tersebut dapat mengidentifikasi *marker* lipid yang digunakan lebih lanjut lagi sebagai biomarker potensial untuk membedakan sampel melalui analisis kemometrik. Saat ini, penggunaan untargeted lipidomic dalam analisis makanan telah berkembang karena kemampuannya dalam mengidentifikasi komposisi lipid dari berbagai macam sampel makanan (Wu et al., 2021). Metode analisis tidak hanya dapat digunakan untuk menganalisis asam lemak tetapi juga jenis lipid lain seperti fosfolipid, glikolipid, seramida, sphingolipid, dll (Lee & Yokomizo, 2018). Dengan demikian, metode analisis untargeted lipidomic ini memberikan keuntungan potensial untuk mengidentifikasi lipid babi dan lipid sapi pada produk olahan daging secara menyeluruh untuk mengidentifikasi biomarker potensial dari setiap lipid.

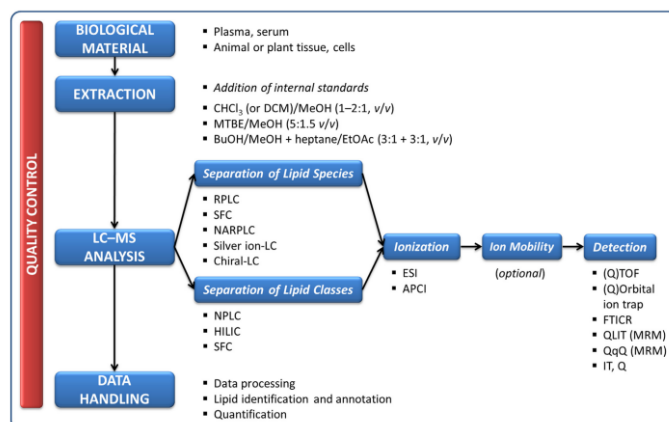
4. *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS)*

Liquid chromatography-mass spectrometry merupakan satu-satunya teknik kromatografi cair dengan *detector* spectrometer massa. LC-MS digunakan untuk penelitian bio-analisis pada akhir 1980-an (Gil et al., 2018). Penggunaan LC-MS memiliki keuntungan yaitu dapat menganalisis berbagai komponen secara lebih luas, seperti senyawa termal labil, polaritas tinggi atau bermassa molekul tinggi, bahkan juga lipid (Mangurana et al., 2019). Mekanisme kerja dari spectrometer massa adalah molekul pengion akan memilah dan mengidentifikasi ion menurut massa, sesuai rasio fragmentasinya. Dua komponen penting dalam proses analisis ini adalah sumber ion yang akan menghasilkan ion, analisis massa yang menseleksi ion. LC-MS umumnya memiliki system yang menggunakan beberapa jenis *ion source* dan *mass analyzer* yang disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang akan dianalisa. *Ion source* dan *mass analyzer* memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing sehingga harus disesuaikan dengan jenis informasi yang dibutuhkan (“Agilent Technologies Inc.,” 2019).



Gambar 2. 2 Instrumen LC-MS (Parasuraman et al., n.d.)

LC-MS akan menghasilkan data analisis berupa kromatogram yang berbentuk alur tinggi peak dan akan didapatkan bobot molekul dari senyawa yang terdapat dalam sampel sehingga dapat diketahui jumlah senyawa lipid yang terkandung disetiap sampel. Komponen elusi dari kolom kromatografi akan diteruskan ke spectrometer massa melalui antarmuka khusus. Prinsip pada analisis ini adalah pemisahan analit-analit berdasarkan kepolarannya. Di dalam kolom terjadi pemisahan berbagai komponen campuran karena adanya perbedaan kekuatan interaksi antara larutan terhadap fasa diam. Larutan yang interaksinya dengan fasa diam kurang kuat akan keluar dari kolom terlebih dahulu. Sebaliknya, larutan yang interaksinya dengan fasa diam kuat, maka larutan akan keluar kolom kemudian akan dideteksi oleh *detector* dan direkam dalam bentuk kromatogram (Alegantina & Isnawati, 2015). Pada metode ini, lipid dari sub kelas yang sama akan dipisahkan sesuai dengan kombinasi jumlah kumulatif *acyl carbon* lipid dan jumlah ikatan rangkap *acyl* lipid, karena terjadinya peningkatan jumlah karbon seiring dengan peningkatan waktu retensi, dan akan menurun seiring dengan peningkatan jumlah ikatan rangkap.

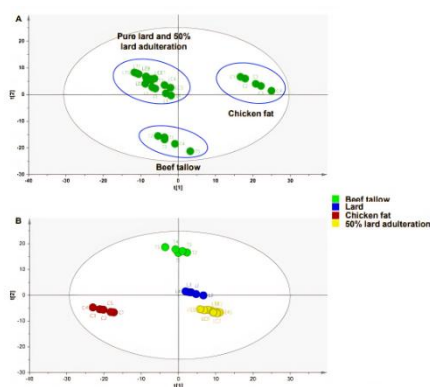


Gambar 2. 3 Analisis lipidomic berbasis LC-MS (Cajka & Fiehn, 2014)

5. Kemometrik

Kemometrik merupakan metode yang digunakan untuk mengekstrak informasi dari sistem biologi dan kimia yang kompleks (Yuswan et al., 2018). Kemometrik adalah suatu metode yang banyak digunakan dalam menganalisis sejumlah data yang besar, seperti data yang dihasilkan pada studi dengan pendekatan omics (Paul et al., 2021). Kemometrik terbagi kembali kedalam pengenalan *unsupervised* dan *supervised*. Pada pengenalan *unsupervised* biasanya digunakan dalam eksplorasi sampel tanpa mengetahui informasi sampel, Teknik yang sering digunakan adalah *Principal Component Analysis* (PCA), dan *Hierarchical Cluster Analysis* (HCA) (Cao et al., 2020). Sedangkan, pada pengenalan pola *supervised* biasanya digunakan dalam diskriminasi dan klasifikasi sampel, Teknik yang sering digunakan adalah *Partial Least Square-Discriminant Analysis* (PLS-DA). Teknik PLS-DA dapat digunakan untuk mengidentifikasi biomarker dengan menggunakan nilai *Variable Importance of Projections* (VIP). Biomarker spesifik ini akan sangat penting untuk autentikasi makanan, seperti dalam mendeteksi adanya daging non-halal pada produk daging (Paul et al., 2021). Kelebihan dari analisis kemometrik ini adalah kemampuannya dalam mengidentifikasi biomarker potensial dari daging tidak halal yang digunakan untuk proses autentikasi kehalalan. Contohnya, analisis ini sudah digunakan dalam identifikasi peptide marker potensial dari daging babi non-halal (*Sus scrofa*) diantara daging sapi dan ayam yang halal (Yuswan et al., 2018).

Pada autentikasi kehalalan dengan menggunakan metode lipidomic, ratusan senyawa lipid akan terdeteksi pada kromatogram LC-MS dengan beberapa kali replikasi, dan PCA mampu mereduksinya menjadi lipid utama yang terkandung dalam sampel berdasarkan persamaan yang dihasilkan pada area kromatogram. Plot skor pada PCA akan memberikan penjelasan mengenai perbedaan antara daging yang halal dan non-halal berdasarkan senyawa lipidnya (Artegoitia et al., 2019). Sedangkan pada HCA, digunakan untuk mengelompokkan sampel berdasarkan persamaan antara senyawa lipidnya (Novak et al., 2017). Pada PLS-DA, akan membedakan komponen yang terdapat dalam sampe(Cajka et al., 2017). Penggunaan kombinasi lebih dari satu metode kemometrik biasanya digunakan dalam studi lipidomic untuk memastikan bahwa analisis dan interpretasi data yang diperoleh akurat. Kombinasi dari metode ini juga akan memberikan informasi yang lebih mudah dipahami karena data yang dihasilkan pada pendekatan lipidomic cukup banyak. Selain itu, penggunaan metode kemometrik ini akan memberikan hasil yang valid meskipun data yang dianalisis dalam jumlah yang besar.



Gambar 2. 4 Hasil analisis kemometrik dengan PCA dan PLS-DA (Windarsih, Bakar, Rohman, et al., 2023)

6. Autentikasi Kehalalan

Autentikasi dapat didefinisikan sebagai verifikasi keaslian dari suatu material (Su et al., 2018). Saat ini banyak terjadi pemalsuan atau adulterasi suatu produk pangan sehingga adanya autentikasi ini akan mempermudah dalam memastikan keamanan dan keaslian produk tersebut. Adulterasi yang terjadi dapat berupa substitusi atau adisi zat ke dalam produk untuk meningkatkan spesifikasi suatu produk atau mereduksi biaya produksinya. Adulterasi produk halal terjadi Ketika di dalam produk tersebut dicampurkan dengan bahan yang non-halal, hal ini biasanya terjadi pada produk olahan daging. Bahan non-halal yang sering dicampurkan ke dalam produk olahan daging tersebut adalah daging babi. Sulit membedakan daging sapi segar dengan daging babi secara visual, apalagi setelah daging tersebut diolah ke dalam berbagai jenis produk olahan daging. Sehingga, perlu dilakukan autentikasi kehalalan dengan menggunakan metode tertentu untuk menghindari pemalsuan label komposisi pada produk olahan daging tersebut. Saat ini, telah banyak berkembang penelitian mengenai autentikasi kehalalan yang dilakukan pada berbagai macam produk pangan dengan analisis komponen senyawa kimia maupun analisis sifat fisiknya. Menurut senyawa targetnya, autentikasi kehalalan produk dapat dibedakan menjadi 5, yaitu analisis DNA, protein/asam amino, senyawa volatile, alcohol, dan lipid. Berdasarkan jenis instrument analisis yang digunakan, telah berkembang juga beberapa metode analisis autentikasi kehalalan baik pada produk pangan.

Metode PCR dan *Real-Time* PCR merupakan salah satu metode yang telah teruji selektivitas, sensitivitas dan reabilitasnya (Muntalib et al., 2015). Meskipun demikian, PCR dan *Real-Time* PCR masih memiliki kekurangan yaitu sulit untuk mengidentifikasi suatu sampel yang telah mengalami proses pengolahan yang ekstrim sehingga DNA/RNA menjadi rusak atau hilang. Kemudian terdapat metode analisis kromatografi untuk sampel yang mengandung protein atau asam amino dengan menggunakan MRM (*Multiple Reaction Monitoring*) (Bargen et al., 2014). Selain itu, terdapat juga GC-TOF-MS yang digunakan untuk mengidentifikasi asam lemak dari berbagai jenis hewan. *Spectroscopy Fourier Transform Infrared* (FTIR) adalah instrument tambahan yang banyak digunakan dalam autentikasi kehalalan pada produk olahan daging. Metode ini dapat digunakan pada autentikasi kehalalan pada sampel seperti gelatin (Cebi et al., 2019), dan lemak (Rohman & Fadzillah, 2018). Pada **Tabel 2.1**, terdapat beberapa jurnal yang meneliti mengenai autentikasi kehalalan pada berbagai jenis sampel dengan menggunakan berbagai jenis metode analisis,

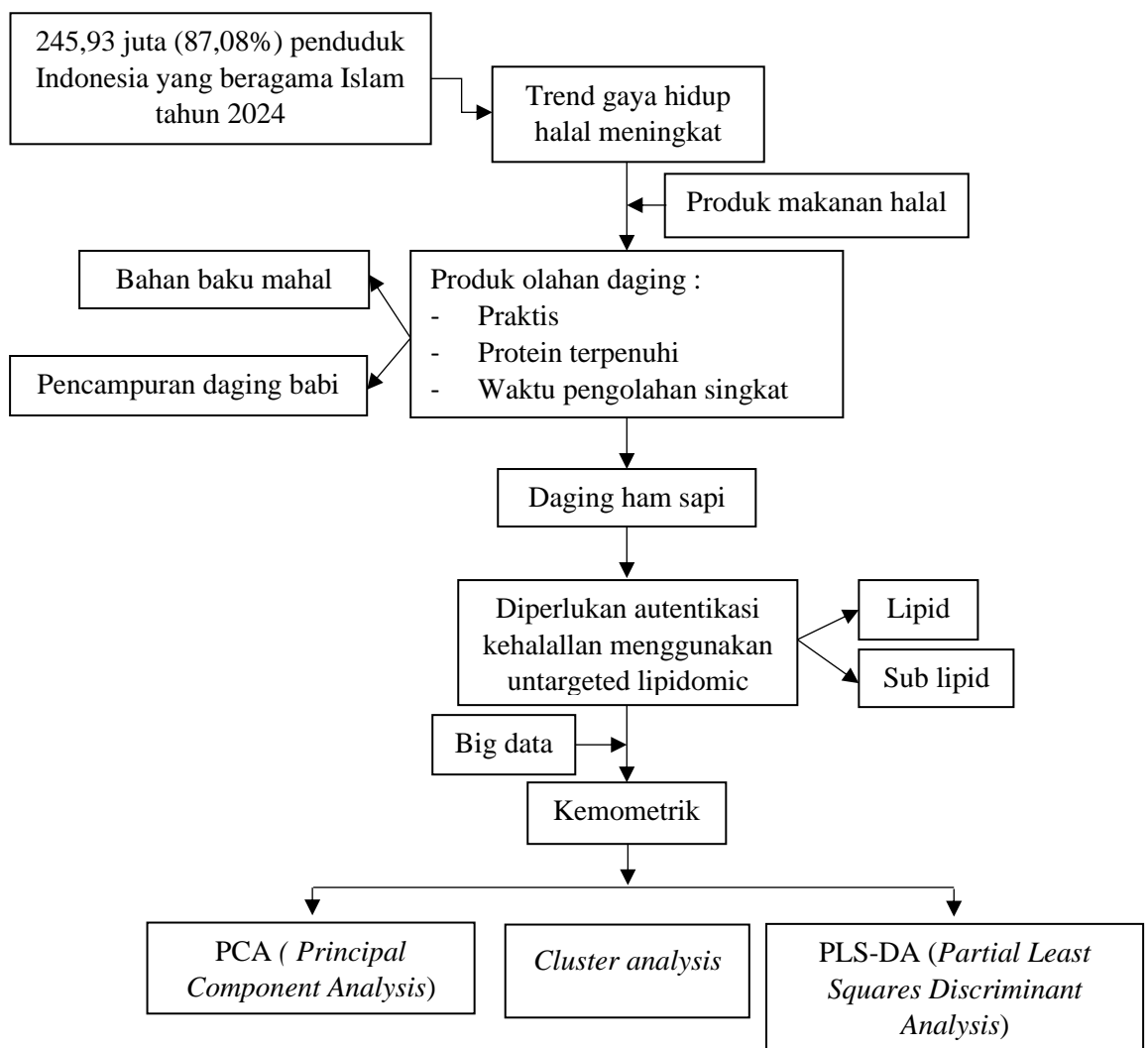
Tabel 2. 1 Autentikasi kehalallan produk olahan daging

No.	Pengarang	Judul	Target	Metode	Referensi
1.	Pranata A.W., Yuliana N.D., Amalia L., & Darmawan	<i>Volatilomics for halal and non-halal meatball authentication using solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry</i>	Bakso	SPME/ GC-MS	(Pranata et al., 2021)
2.	Yuswan, M. H., Aizat, W. M., Lokman, A. A., Desa M. N. M., Mustafa, S., Junoh, N. M., & Lamasudin, D. U.	<i>Chemometrics-assisted shotgun proteomics for establishment of potential peptide markers of non-halal pork (Sus scrofa) among halal beef and chicken</i>	Daging babi daging sapi dan daging ayam	LC-MS	(Yuswan et al., 2018)
3.	Ali N.S.M., Zabidi A.R., Manap M.N.A., Zahari S., m& Yahaya N.	<i>Identification of metabolite profile in halal and non-halal broiler chickens using fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) and ultra high performance liquid chromatography-time of flight-mass spectrometry (UHPLC-TOF-MS)</i>	Ayam broiler	FTIR dan UHPLC -TOF- MS	(Pranata et al., 2021)
4.	Windarsih A., Bakar N.K.A., Rohman A., Yuliana N.D., & Dachriyanus.	<i>Untargeted metabolomics using liquid chromatography-high resolution mass spectrometry and chemometrics for analysis of non-halal meats adulteration in beef meat</i>	Daging anjing dan daging sapi	LC- HRMS	(Windarsih et al., 2024)
5.	Dashti, A., Müller Maatsch, J., Weesepeel, Y., Parastar, H., Kobarfard, F., Daraei, B., AliAbadi, M.H.S., & Yazdanpanah, H.	<i>The feasibility of two handheld spectrometers for meat speciation combined with chemometric methods and its application for halal certification</i>	Daging kambing daging sapi daging ayam daging babi	Vis-NIR dan NIR	(Dashti et al., 2022)
6.	Rumiyati, Arini R.L., Purwanto, & Rohman A.	<i>The employment of real-time polymerase chain reaction for analysis of canine meat in meatball products for halal authentication analysis</i>	Bakso	RT-PCR	(Rumiyati et al., 2024)
7.	Windarsih, A., Riswanto F.D.O., Bakar N.K.A., Yuliana, N.D., Dachriyanus, & Rohman A.	<i>Detection of pork in beef meatball using LC-HRMS based untargeted metabolomics and chemometrics for halal authentication</i>	Bakso daging	LC- HRMS	(Windarsih et al., 2022)

No.	Pengarang	Judul	Target	Metode	Referensi
8.	Windarsih, A., Bakar, N.K.A., Dachriyanus, Yuliana, N.D., Riswanto, F.D.O., & Rohman, A.	<i>Analysis of pork in beef sausages using LC-Orbitrap HRMS untargeted metabolomics combined with chemometrics for halal authentication study</i>	Sosis daging	LC-HRMS	(Windarsih, Bakar, Dachriyanus, et al., 2023)
9.	Rohman A., Nawwaruddin H.H., Widada H., Hossain M.A.M., Laksitorini MD., & Lestari D.	<i>Development of real-time polymerase chain reaction for analysis of rat meat (Bandicota bengalensis) in beef meatballs for halal authentication</i>	Bakso daging	RT-PCR	(Rohman et al., 2024)
10.	Desriani. F., Sugiana, Widyowati H., Suryani, Sukma A., Wulandari D., & Warisman M.A.	<i>Triplex PCR for halal authentication of processed food: development and characterization</i>	Bakso, Sosis Ham pasta, kornet, dendeng rendang dan sate	Triplex PCR	(Desriani et al., 2020)

B. Kerangka Berpikir

Kerangka berpikir merupakan penjelasan sistematis dalam sebuah penelitian yang menggambarkan alur pemikiran peneliti dalam merumuskan masalah, mendasari hipotesis, serta menjelaskan hubungan antara sebab dan akibat dalam konteks permasalahan yang dikaji. Kerangka berpikir penelitian ini tersaji dalam bagan sebagai berikut :



Gambar 2. 5 Kerangka berpikir penelitian

C. Hipotesis Penelitian

Sebagai langkah awal dalam memahami hubungan antara variabel-variabel yang diteliti, perlu ditetapkan suatu hipotesis. Hipotesis merupakan jawaban sementara mengenai pertanyaan penelitian, yang disusun berdasarkan kajian teoritis dan logika ilmiah. Keberadaan hipotesis ini berfungsi sebagai panduan dalam mengarahkan proses analisis dan pengumpulan data.

Hipotesis dalam penelitian ini yaitu:

1. Daging ham sapi dan babi memiliki profil lipid yang berbeda.
2. Daging ham sapi dan babi dapat diklasifikasikan berdasarkan profil lipidnya.
3. Terdapat senyawa lipid potensial yang dapat digunakan sebagai marker untuk autentikasi kehalalan daging ham sapi dan babi.