

**IDENTIFIKASI LEMAK BABI DALAM DAGING OLAHAN BERDASARKAN
DERIVAT TRIGLISERIDANYA DENGAN MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI
GAS - CAIRAN**

Leny Heliawati

Staf Pengajar Kopertis Wilayah IV Jawa Barat

Email : leny_heliawati@yahoo.co.id

ABSTRAK

Adanya daging dan lemak babi dalam daging olahan dapat diidentifikasi berdasarkan derivat trigliseridanya. Trigliserida tidak jenuh dan derivatnya dalam lemak hewani mengandung unsur ozon. Campuran trigliserida dan derivatnya ini dapat dianalisis dengan kromatografi gas-cairan dengan menggunakan kolom fasa balik dan detektor UV. Lemak daging babi mempunyai kandungan trigliserida asam lemak jenuh di posisi C-2 yang lebih tinggi dibandingkan dengan lemak dalam daging hewan lainnya. Adanya lemak babi dapat diidentifikasi berdasarkan rasio trigliserida asam lemak jenuh dengan trigliserida asam lemak tak jenuh pada posisi yang sama yaitu pada posisi C-2. Daging sapi atau domba tanpa campuran daging lemak babi memiliki rasio yang lebih rendah daripada daging yang mengandung daging lemak babi. Perbedaan nilai rasio ini akan terlihat nyata pada penamabahan 1 % daging babai pada daging sapi. Pada kasus penambahan 3 % daging babi menyebabkan perubahan yang perlu diperhatikan.

1. Pendahuluan

Adanya isu campuran daging dan lemak babi dalam berbagai bahan makanan dan produk makanan menarik perhatian masyarakat di berbagai negara. Namun kebenaran isu tersebut membutuhkan penelitian yang dapat dipercaya agar tidak

menimbulkan keresahan. Agama Islam melarang umatnya untuk mengkonsumsi setiap produk yang mengandung daging babi. Banyak negara muslim yang mengeluarkan larangan untuk mengimpor dan memproduksi produk yang

mengandung daging dan lemak babi. Namun hal tersebut sulit untuk dilaksanakan karena adanya perbedaan hukum pada setiap negara. Oleh karena itu kita harus dapat membedakan daging babi dan produk makanan yang mengandung daging babi sehingga kita dapat mengetahui makanan yang halal dan yang haram. Adanya campuran daging babi tersebut sangat sulit diidentifikasi secara visual sehingga diperlukan suatu metode tertentu untuk dapat mengidentifikasinya.

2. Metode Penelitian

a. Persiapan Florisil

Dicampur 300 g florisil dengan menuangkan 900 ml HCL dan dipanaskan tiga jam di atas penangas air. Cairan supernatan panas dituangkan dan adsorben dicuci dengan sedikit HCL, kemudian 900 ml HCL dipanaskan selama semalam. Disaring dan dicuci dengan air netral. Untuk menetralkan residu dengan Ca masing-masing 400 ml metanol, kloroform-metanol (1+1 v/v), kloroform dan dietil eter. Selanjutnya dikeringkan dan ketika aktivitas menghasilkan pemanasan 110 – 120°C ditambahkan 7% air untuk men-deaktif kan (hati-hati: HCL, metanol, ruangan atau wilayah dengan ventilasi yang baik atau ruang asam).

b. Sampel

Sampel (40 g) daging babi murni diperoleh sari “*The Danish Meat and Research Institute*” Denmark. Sampel

(masing-masing 15 g) daging sapi dan daging domba dari berbagai kota dapat diperoleh dari pasar lokal. Untuk pemurnian daging, sampel diambil yang memiliki lemak yang sama (visual). Campuran dibuat dengan pemurnian lemak atau daging tanpa banyak lemak. Sampel dari pemurnian lemak ditimbang dan seluruhnya dicampurkan sebelum diproses. Kemudian daging distimulasikan dengan autoclave selama 2 menit pada suhu 120°C.

c. Persiapan Sampel

Untuk mengekstrak lemak, ditambahkan 15 ml kloroform-metanol (2+1) untuk 1-2 g sampel. Selanjutnya dihomogenkan selama 2 menit, lalu disaring. Diulangi ekstraksi dengan 15 ml pelarut segar, menggabungkan filtrat dan menguapkan pelarut hingga kering. Disimpan ekstrak lemak dikloroform (hati-hati: kloroform adalah suspensi karsinogen, gunakan di bawah ruang asam).

d. Pemisahan Trigliserida

Pemurnian trigliserida merupakan pemisahan dari lemak dengan kromatografi kolom dengan perlakuan asam florisil. Kromatografi kolom (1,5 x 20 cm) diisi dengan 300 g asam florisil di dalam hexana. Asam florisil dibiarkan beberapa lama, diatur aliran larutan menjadi 1 ml/menit. Memasukkan sampel (100 mg) dengan cara hexana baik untuk

kolom. Kolom dielusi dengan 20 ml eter 15% dalam hexana, lalu cairan yang mengandung trigliserida tersebut dikumpulkan.

e. Ozonolisis Trigliserida

Dilarutkan 10 mg trigliserida dalam 5 ml hexana lalu disentrifuse. Larutan dicampur dengan aseton (-80°C), dibiarkan ozon pada mikro-ozonizer selama 15 menit dalam 200 ml/menit (sampai Iodine/*strach Indicator Solution* berubah warna). Gas nitrogen dalam pipa mengalir cepat untuk membersihkan sisa reaksi ozon.

f. Hidrogenasi Ozon

Pemindahan muatan pada pipa ke botol 50 ml akan membentuk ozon menjadi aldehid dengan penambahan 2,03 mg katalis lindlar dan pengadukan selama 30 menit dengan dialiri gas hidrogen.

g. Formasi Derivat

Dipindahkan larutan aldehid ke botol reaksi. Penguapan larutan di bawah arus lindlar nitrogen dan penambahan 10 mg O-(4-Nitrobenzil)-hidroxilamin hidrocloid (PNBA) dan 100µl piridin. Ditutup botol dan dipanaskan pada suhu 50°C. Setelah reaksi berjalan sempurna, piridin diuapkan dengan aliran gas nitrogen dan residu dalam metilin klorida dipisahkan. Residu dicuci dua kali dengan 3 ml air.

h. Analisis Derivat Trigliserida dengan Kromatografi Gas-Cairan

Analisis kromatografi gas-cairan terhadap derivat trigliserida adalah suatu metode pemisahan yang baik untuk isomer-isomer dan homolog-homolog trigliserida. Perbedaan contoh daging babi yang dianalisis di bawah kondisi isokratik. Asetonitril metilinklorida (90 + 10) sebagai fase gerak mengalir dengan kecepatan 1,5 ml/menit. Semua sampel yang lain diperlakukan mengikuti program kemiringan; 5 % metilin klorida dalam asetonitril untuk 10 menit pertama, selanjutnya 25% metilinklorida dalam 5 menit, lalu 25 menit. Sebanyak 25 µl contoh disuntikkan ke dalam fase gerak yang memiliki kecepatan alir 1,5 ml/menit yang akan dideteksi oleh detektor UV pada panjang gelombang 254 nm.

i. Identifikasi Trigliserida

Trigliserida dalam sampel diidentifikasi dengan menggunakan perbandingan waktu yang ada dengan trigliserida standar yang ada dan dianalisis dalam beberapa cara. Hasil yang dicapai dibandingkan dengan literatur yang ada.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Penetapan Derivat Trigliserida Dengan Kromatografi Gas-Cairan

Untuk hasil analisis kromatografi gas-cairan yang sempurna terhadap trigliserida yang murni sebaiknya tidak digunakan detektor indeks bias (cahaya).

Sensitifitas yang rendah pada detektor indeks cahaya, menghasilkan jumlah relativitas yang besar pada saat contoh diinjeksikan sehingga cenderung merusak kolom.

Dalam beberapa tahun belakangan ini, beberapa peneliti cenderung mengatakan deteksi sinar UV tidak berubah terhadap trigliserida pada panjang gelombang lebih pendek dari 230 nm. Pemakaian panjang gelombang yang mendekati limit tersebut menghasilkan tingkat pelarut kromatografi gas-cairan yang kurang bersih pada panjang gelombang lebih pendek dari 254 nm menjadi sangat berpengaruh. Derivatisasi pada trigliserida menghasilkan solusi untuk memecahkan masalah.

Analisis kromatografi gas-cairan pada trigliserida daging dari contoh (mengandung trigliserida jenuh dan derivat trigliserida) pada fase kolom silika menunjukkan bahwa waktu pada fraksi S₂U lebih tinggi dari fraksi SU₂. Trigliserida dalam berbagai contoh yang berbeda diidentifikasi oleh analisis standar derivat trigliserida yang dianalisis secara bersamaan. Analisis kromatografi gas-cairan pada derivat trigliserida menunjukkan hasil yang berbeda antara trigliserida daging babi dengan daging sapi atau domba.

Isomer-isomer pada kedua fraksi dicoba pula pada kondisi yang berbeda,

termasuk parameter yang berhubungan dengan komposisi fase gerak, isokratik seperti kemiringan elusi, kolom-NH₂, -CN dan silika. Isomer-isomer SU₂ (SUU dan USU) tidak dapat dipisahkan pada kondisi analisis tersebut, sedangkan isomer-isomer fraksi S₂U (SUS dan SSU) dapat dipisahkan dengan baik.

Gambar 1 menunjukkan kromatogram LC dari tiga jenis daging tanpa campuran (murni). Profil isomer-isomer S₂U dari daging babi sangat berbeda dengan daging sapi dan domba. Perbedaan nyata adalah tidak adanya isomer SUS pada ketiga homolog trigliserida. Hanya isomer SSU yang terdeteksi. Hal ini sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa hanya 1 % level SUS yang dilaporkan terdapat dalam lemak babi.

Trigliserida dari sapi dan domba juga menunjukkan adanya isomer-isomer SUS dan SSU untuk semua homolog. Jumlah SUS > SSU, oleh karena itu penambahan daging babi pada daging sapi atau domba dapat menaikkan persen isomer SSU dibandingkan SUS, yang dapat dilihat dari rasio SSU terhadap SUS lebih tinggi daripada rasio SSU pada daging sapi murni. Perubahan rasio SSU/SUS untuk homolog trigliserida yang berbeda tidak akan sama karena jumlah SSU pada homolog-homolog tersebut dalam daging babi tidaklah sama. Rasio

SSU/SUS untuk CE-43 (karbon ekuivalen adalah jumlah total atom karbon dalam rantai asam lemak pada turunan trigliserida) akan berubah secara nyata dibandingkan rasio SSU/ SUS untuk CE-41. Namun rasio untuk CE-45 tidak akan berubah banyak karena persen SSU pada C ini dalam daging babi hanya sedikit.

b. Penetapan Rasio Derivat Trigliserida SSU/ SUS dari Campuran Daging Sapi-Daging Babi.

Untuk mempelajari efek terhadap rasio SSU/SUS pada penambahan daging babi terhadap daging sapi, disiapkan campuran daging sapi – babi dengan 0 – 50 % daging babi yang dicampurkan, kemudian komposisi trigliserida masing-masing campuran ditetapkan.

Hasil yang diperoleh (tabel 1) menunjukkan bahwa rasio untuk CE-41, CE-43 dan jumlah rasio CE-41, CE-43 meningkat seiring dengan bertambahnya jumlah daging babi dalam campuran. Penambahan sejumlah kecil daging babi (3%) menunjukkan rasio yang nyata pada CE-41 dan CE-43, demikian pula pada jumlah keduanya. Peningkatan rasio SSU/SUS dan peningkatan jumlah daging babi berjalan secara linier seperti pada gambar 2a, namun pada penambahan 30 % daging babi diperoleh rasio yang berbeda

jenuh. Hal ini mungkin terjadi karena kesalahan percobaan.

Terdapat perbedaan rasio SSU/ SUS yang nyata antara daging sapi, domba dan babi yang murni dengan daging campuran. Bila rasio diplot terhadap % daging babi dalam campuran daging sapi yang agak rendah, maka dapat dilihat kelinieran grafik yang didapat (gambar 2b).

Ketika rasio diplot pada persentase rendah dari campuran daging babi dalam daging sapi, kelinieran dari kurva ini dapat dilihat jelas. Kurva CE-41 sangat linier dan menunjukkan kenaikan terus menerus dalam rasio SSU/ SUS. Kurva untuk CE-43 tidak linier dan nilai untuk 5 % daging babi agak sedikit keluar dari garis. Untuk kurva total (jumlah dari CE-41 dan CE-43) mengikuti pola garis yang sama seperti CE-43.

Gambar ini menunjukkan bahwa bertambahnya lemak babi pada campuran daging sapi mempengaruhi rasio SSU/ SUS, oleh karena itu rasio SSU/ SUS dapat digunakan untuk mendeteksi adanya SSU/ SUS daging babi dalam campuran daging sapi. Perkembangan rasio SSU/ SUS ini pada presentase rendah tidak tampak dan untuk memperbaiki penggabungan dari daerah kromatogram akan menjadi sulit.

Dalam kasus campuran daging sapi, macamnya tidak terlalu tinggi dan

untuk pengulangan sample yang sama nilainya tidak jauh berbeda. Analisis duplo preparat sample juga memberikan hasil-hasil yang benar-benar teliti.

c. Penetapan Rasio Derivat Triglicerida SSU/ SUS dari Campuran Daging Domba – Daging Babi.

Campuran yang berbeda dari daging domba dan daging babi (dari 0-50 % daging babi) disiapkan (perlakuannya sama dengan sample daging sapi). Jika konsentrasi daging babi di dalam campuran meningkat, maka rasio SSU/ SUS juga meningkat.

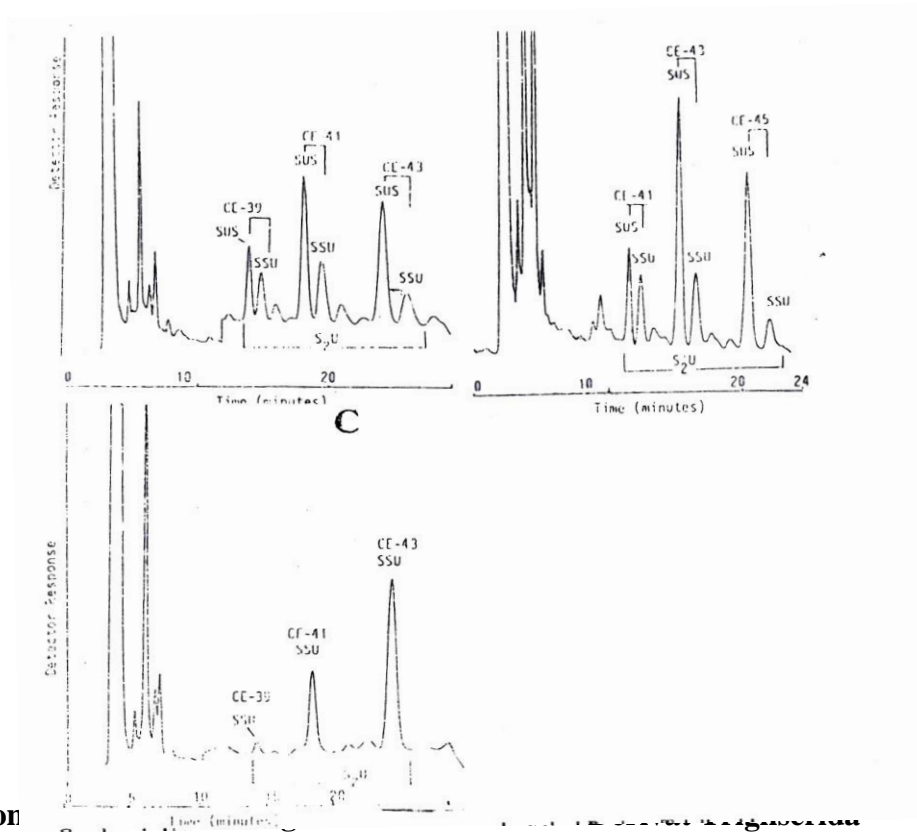
Tabel 2 merupakan daftar hasil yang diperoleh untuk campuran daging babi dan daging domba. Lemak domba tidak mengandung sama sekali CE-45. sama halnya dengan daging sapi, meningkatnya jumlah daging babi dalam campuran daging domba digambarkan dalam rasio SSU/ SUS untuk CE-41 dan CE-43. Hubungan antara konsentrasi daging babi dalam daging domba dengan rasio SSU/ SUS ditunjukkan dalam gambar 3a.

Pengaruh konsentrasi daging babi pada rasio SSU/ SUS untuk CE-41 menghasilkan kurva linier, kecuali pada konsentrasi tertinggi menghasilkan kurva yang mendatar. Hal ini disebabkan oleh perolehan nilai untuk sample yang

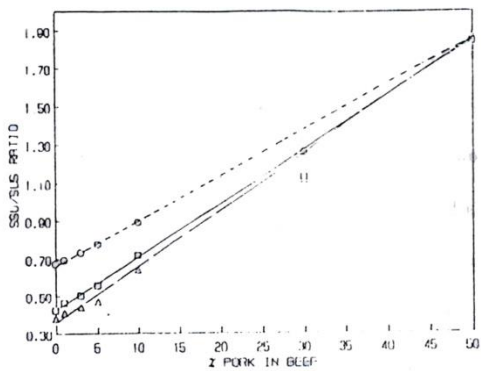
mengandung 305 daging babi itu kurang dari yang diharapkan. Pengamatan yang sama juga dilakukan pada CE-43 dan jumlah total (dari CE-41 dan CE-43).

Bagaimanapun kurvanya dihasilkan sedikit linier dibawah level 30 %.

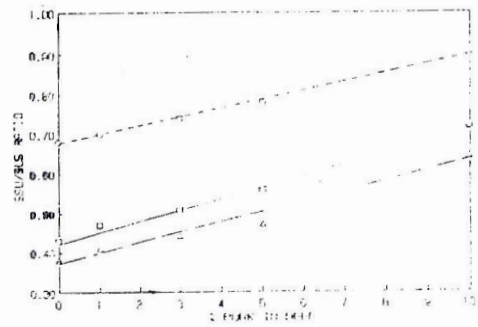
Gambar 3b menunjukkan bahwa kurva untuk plot rasio SSU/ SUS vs konsentrasi seperti pada sample campuran daging babi dalam daging domba, plot CE-41 agak terputus atau terhenti. Untuk yang total, plotnya lebih linier. Adanya 3 % daging babi menyebabkan nilai dari berbagai macam rasio SSU/ SUS amat berbeda akibat dari penyimpangan percobaan atau hal lain yang mudah ditutupi.



Kron



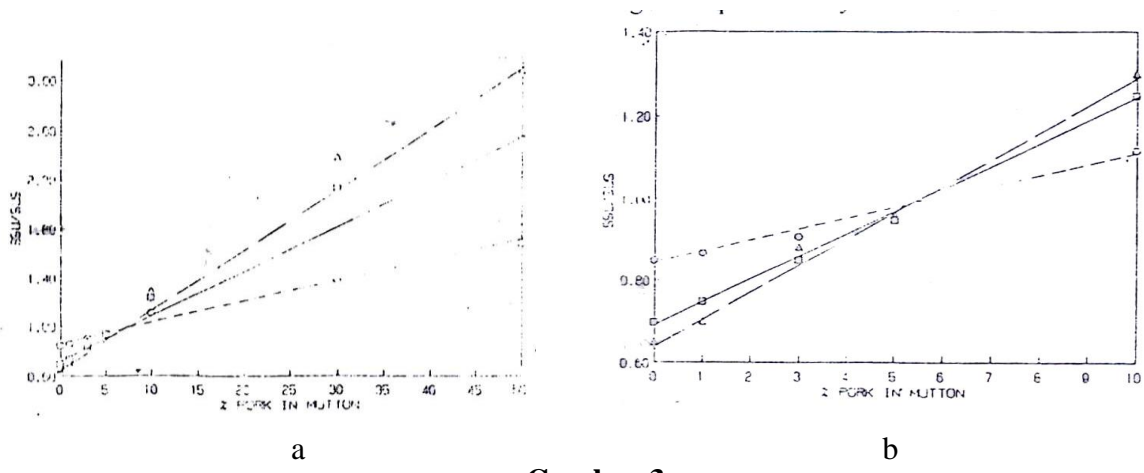
a



b

Gambar 2

- a. Plot dari Konsentrasi Daging Babi (0-50 %) Dalam Daging Sapi vs Rasio Derivat SSU/ SUS.
- b. Plot dari Konsentrasi Daging Babi (0-10 %) Dalam Daging Sapi vs Rasio Derivat SSU/ SUS.



Gambar 3

- a. Plot dari Konsentrasi Daging Babi (0-50 %) Dalam Daging Domba vs Rasio Derivat SSU/ SUS.
- b. Plot dari Konsentrasi Daging Babi (0-10 %) Dalam Daging Domba vs Rasio Derivat SSU/ SUS.

Tabel 1.
Rasio Derivat Triglicerida SSU/ SUS dari Campuran Daging Sapi – Daging Babi.

Konsentrasi daging babi (%)	CE-41	CE-43	CE-45
0	0.68 ± 0.02	0.38 ± 0.023	0.43 ± 0.02
2	0.70 ± 0.015	0.41 ± 0.015	0.47 ± 0.015
3	0.74 ± 0.02	0.44 ± 0.015	0.51 ± 0.016
5	0.78 ± 0.012	0.47 ± 0.015	0.56 ± 0.014
10	0.90 ± 0.01	0.64 ± 0.01	0.72 ± 0.01
30	1.27 ± 0.013	1.12 ± 0.007	1.14 ± 0.01
50	1.86 ± 0.008	1.87 ± 0.01	1.85 ± 0.01

Tabel 2.
Rasio Derivat Triglicerida SSU/ SUS dari Campuran Daging Domba – Daging Babi.

Konsentrasi daging babi (%)	CE-41	CE-43	CE-45
0	0.85 ± 0.018	0.65 ± 0.022	0.70 ± 0.02
1	0.87 ± 0.016	0.70 ± 0.015	0.74 ± 0.015
3	0.91 ± 0.02	0.88 ± 0.015	0.85 ± 0.017
5	0.95 ± 0.014	0.96 ± 0.013	0.95 ± 0.013
10	1.12 ± 0.015	1.30 ± 0.01	1.20 ± 0.012

30	1.40 ± 0.011	2.40 ± 0.013	2.10 ± 0.012
50	1.70 ± 0.01	3.10 ± 0.01	2.55 ± 0.01

KESIMPULAN DAN SARAN

Analisis kromatografi gas-cairan pada derivatisasi trigliserida menggunakan proses pembersihan daging yang ditunjukkan pada trigliserida daging babi, dimana terdapat perbedaan dengan daging sapi atau domba. Analisis kromatografi cair pada trigliserida daging dari contoh (berisi sangat jenuh dan derivatisasi trigliserida) pada fase kolom silika menunjukkan bahwa waktu pada fraksi S₂U.

Trigliserida dari sapi dan domba juga menunjukkan adanya isomer-isomer SUS dan SSU untuk semua homolog. Jumlah SUS > SSU, oleh karena itu penambahan daging babi pada daging sapi atau domba dapat menaikkan persen isomer SSU dibandingkan SUS, yang dapat dilihat dari rasio SSU terhadap SUS lebih tinggi daripada rasio SSU pada daging sapi murni. Perubahan rasio SSU/SUS untuk homolog trigliserida yang berbeda tidak akan sama karena jumlah SSU pada homolog-homolog tersebut dalam daging babi tidaklah sama. Rasio SSU/SUS untuk CE-43 (karbon ekuivalen adalah jumlah total atom karbon dalam rantai asam lemak pada turunan trigliserida) akan berubah secara nyata dibandingkan rasio SSU/SUS untuk CE-

41. Namun rasio untuk CE-45 tidak akan berubah banyak karena persen SSU pada C ini dalam daging babi hanya sedikit.

Terdapat perbedaan rasio SSU/SUS yang nyata antara daging sapi, domba dan babi yang murni dengan daging campuran. Bila rasio diplot terhadap % daging babi dalam campuran daging sapi yang agak rendah bahwa bertambahnya lemak babi pada campuran daging sapi mempengaruhi rasio SSU/SUS, oleh karena itu rasio SSU/SUS dapat digunakan untuk mendeteksi adanya SSU/SUS daging babi dalam campuran daging sapi.

DAFTAR PUSTAKA

- 1) Babiker, S. A., Glover, P. A. dan Lawrie R. A. 1982. *quantitative Analisis*. 5th edition. Prentice Hall.
- 2) Carrol, K. K. 1976. *In Lipid Chromatographic Analysis*. Vol. 1, G.V. Marinetti (Ed), Marcel dekker Inc., New York. N.Y. pp. 176-190.
- 3) Firestone, D. 1988. *J. Association Off Analysis Chemistry* 71. 76-78.
- 4) Kim, H. dan Shelef, L. A. 1986. *J. Food Science*, 51:731.
- 5) King, N. L. dan Kurth, L. 1982. *J. Food Science*, 47 : 1608-1612.
- 6) Thompson, R. R. 1961. *J. Assoc. Off. Agric.Chem.*, 44: 787-788.

