

Review: Autentikasi Kehalalan Daging dengan Pendekatan Proteomik Berbasis LC-MS

Review: Halal Authentication of Meat with LC-MS-Based Proteomics Approach

Adri Nora^{1,3*}, Yulianti Fitri Kurnia^{2,3}, Nadia Fitri³, dan Vika Tresnadiana Herlina³

¹Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Esa Unggul, Jakarta, Indonesia

²Fakultas Peternakan, Universitas Andalas, Padang, Indonesia

³Fakultas Teknologi Pertanian, IPB University, Bogor, Indonesia

*Corresponding author: adri.nora@esaunggul.ac.id

(Diterima: 12 Oktober 2022; Disetujui: 09 Desember 2022)

ABSTRAK

Mengetahui keaslian dan kehalalan produk daging menjadi hal yang penting saat ini, terutama bagi umat islam yang memiliki aturan ketat dalam mengkonsumsi daging. Salah satu cara yang dapat digunakan dalam menentukan status keaslian dan kehalalan daging adalah dengan melakukan autentikasi. Hingga hari ini, penelitian tentang autentikasi kehalalan daging telah banyak dilakukan dan berbagai macam pendekatan telah banyak dikembangkan. Salah satu pendekatan yang saat ini sedang berkembang adalah pendekatan proteomik berbasis liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS). Proteomik adalah salah satu metode alternatif yang dapat digunakan dalam autentikasi kehalalan daging dengan mencari biomarker peptida pada daging, dimana peptida dapat bertahan melalui berbagai macam pemrosesan makanan. Metode yang digunakan dalam literature review ini adalah dengan menggunakan 26 artikel yang didapatkan dari Pubmed, Science Direct, Proquest, Wiley, dan Google Scholar dengan menggunakan kata kunci seperti *halal authentication* OR *meat authentication*, LC-MS, *Proteomics*, AND *Chemometrics*. Pada artikel ini dilakukan literature review untuk membahas prosedur autentikasi kehalalan daging dengan menggunakan LC-MS, aplikasi proteomik dalam autentikasi kehalalan daging, serta kemometri yang merupakan teknik analisis yang digunakan dalam pengolahan data proteomik. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, pendekatan proteomik di dalam autentikasi kehalalan pada daging memiliki sensitivitas yang baik pada daging yang belum dan sudah mengalami proses pengolahan makanan. Selain itu, penggabungan metode proteomik dengan analisis kemometrik juga dapat memberikan sensitivitas yang lebih baik lagi dalam melakukan autentikasi kehalalan terhadap daging

Kata kunci: autentikasi halal, proteomik, LC-MS, identifikasi berbasis protein

ABSTRACT

*Knowing the authenticity and halalness of meat products is essential today, especially for Muslims who have strict rules for consuming meat. One method that can be used to determine the status of authenticity and halal meat is by authenticating it. Much research on halal meat authentication has been carried out, and various approaches have been developed. One approach that is currently being developed is a proteomic approach based on liquid chromatography-mass spectrometry (LC/MS). Proteomics is an alternative method that can be used in meat halal authentication by looking for peptide biomarkers in meat, where peptides can survive through various food processing. The method used in this literature review is to use 26 articles obtained from Pubmed, Science Direct, Proquest, Wiley, and Google Scholar using keywords such as *halal authentication* OR *meat authentication*, LC-MS, *Proteomics*, and *Chemometrics*. In this article, a literature review is carried out to discuss the procedure for authenticating meat halal using LC-MS, the application of proteomics in authenticating meat halal, and chemometrics, an analytical technique used in processing proteomic data. Based on the research that has been done, the proteomic approach in halal authentication in meat has good sensitivity in meat that has not and has undergone food processing. In addition, combining the proteomic method with chemometric analysis can provide better sensitivity in the halal authentication of meat.*

Keywords: halal authentication, proteomics, LC/MS, protein-based identification

PENDAHULUAN

Autentikasi makanan penting dilakukan untuk membuktikan keaslian dari sebuah produk pangan. Konsumen berhak mengetahui makanan yang mereka makan itu asli atau tidak, sehingga tidak menimbulkan kekhawatiran ketika mereka mengonsumsi pangan tersebut. Produsen juga memiliki kewajiban dalam memberikan informasi yang jelas tentang sumber dan nutrisi dalam makanan. Memastikan keaslian makanan merupakan upaya dalam mencegah *economic fraud* yang memberikan efek kepada konsumen dan produsen. Selain itu, mengonsumsi pangan yang asli, jelas pelabelannya dapat meminimalisir potensi permasalahan kesehatan yang besar pada kelompok masyarakat tertentu (Banerjee *et al.*, 2022).

Produk hasil ternak seperti daging menjadi komponen makanan yang penting bagi manusia sebagai sumber protein yang tinggi. Sebelum mengonsumsi daging, memastikan kehalalannya bagi umat Islam menjadi sesuatu yang sangat penting dilakukan, karena makanan halal menjadi syarat utama yang disebutkan di dalam Al-Quran. Daging halal adalah daging yang memenuhi proses penyembelihan sesuai dengan syariat agama Islam dan bukan daging babi. Oleh karena itu, bagi umat muslim, daging yang telah dicampur dengan daging babi akan hilang kualitasnya dan tidak dapat dikonsumsi. Daging babi diketahui merupakan pembawa berbagai macam mikroorganisme yang dapat menginfeksi manusia (Yuswan *et al.*, 2019) with gel-enhanced liquid chromatography-mass spectrometry (GeLCMS). Autentikasi kehalalan daging adalah masalah global sehingga diperlukan metode analisis yang kuat dan tepat untuk mendeteksi jenis daging dalam makanan. Oleh karena itu, pada artikel ini akan dilakukan review dari beberapa jurnal untuk mengetahui perkembangan dari metode analisis yang digunakan dalam

mengautentikasi kehalalan daging.

Melakukan autentikasi untuk kehalalan makanan terutama pada daging cukup sulit untuk dilakukan karena adanya perbedaan komposisi, kompleksitas, nonhomogenitas, dan kurangnya karakter morfologi pada daging. Hambatan lainnya yang kemudian muncul saat proses autentikasi adalah adanya reaktivitas silang pada spesies yang berdekatan (Naveena *et al.*, 2018). Berbagai macam metode analisis telah dikembangkan untuk autentikasi kehalalan pada daging seperti melalui pendekatan genomik, metabolomik, dan proteomik. Pendekatan genomik merupakan salah satu metode autentikasi yang banyak digunakan, akan tetapi adanya proses pengolahan makanan dengan suhu tinggi dapat menyebabkan kerusakan DNA pada daging. Oleh karena itu, dibutuhkan metode lain yang mampu memberikan informasi yang tepat tentang komposisi daging dan lebih tahan akan proses pengolahan makanan. Proteomik adalah studi yang mempelajari protein pada skala besar. Proteomik dapat digunakan untuk proses autentikasi kehalalan dengan mencari biomarker struktur primer peptida pada daging dan dapat dijadikan alternatif autentikasi yang tepat dari metode yang sudah ada (Naveena *et al.*, 2022).

METODE

Penelitian autentikasi kehalalan daging berbasis proteomik yang telah terpublikasi berbasis proteomik yang telah terpublikasi dipetakan menggunakan *bibliometrix* yang metadatanya di ambil dari database artikel terindeks, ditemukan 128 artikel yang sudah dipublikasi 10 tahun terakhir (2012-2022), namun yang spesifik muncul untuk autentikasi kehalalan daging berbasis proteomik dengan LC-MS hanya 26 artikel, sehingga pada artikel review ini digunakan hanya 26 artikel. Berbagai macam literatur di dapatkan dari Pubmed, Science Direct, Proquest, Wiley, dan Google Scholar dengan kata kunci tertentu yang relevan, seperti *halal authentication* OR

meat authentication, LC-MS, *Proteomics*, and *Chemometrics*. Pemilihan kata kunci tersebut berdasarkan dari topik penelitian yang akan direview. Kriteria inklusi dari artikel yang akan dipilih adalah: 1. Penelitian yang berhubungan dengan proses autentikasi kehalalan daging melalui pendekatan proteomik dengan menggunakan LC-MS, 2. Penelitian yang berhubungan dengan penggunaan analisis kemometri dalam mengolah data proteomik pada proses autentikasi kehalalan daging.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Teknik LC-MS untuk Analisis Proteomik

Dalam melakukan analisis autentikasi kehalalan daging melalui pendekatan proteomik ada dua metode yang sering digunakan yaitu metode elektroforesis dan metode kromatografi dalam memisahkan protein. Protein yang kompleks dalam makanan harus melewati berbagai prosedur seperti pemotongan proteolitik, pengurangan ikatan disulfida, dan alkilasi pada asam residu sistein, untuk menghasilkan peptida bebas (Yuswan *et al.*, 2019).

Peptida bebas tersebut dapat dihasilkan melalui teknik elektroforesis atau dengan menggunakan teknik kromatografi. Prinsip elektroforesis adalah pemisahan protein berdasarkan berat molekul pada medan listrik. Pemisahan protein dengan gel elektroforesis dilakukan dengan menggunakan gel poliakrilamid (PAGE) yang mengandung agen denaturasi yaitu *sodium dodecyl sulfate* (SDS-PAGE). Namun, pemisahan dengan menggunakan SDS-PAGE ini belum mampu memisahkan protein yang jumlahnya banyak. Oleh karena itu, dikembangkan suatu metode gel elektroforesis baru yaitu gel elektroforesis dua dimensi (2-DE), yang dapat memisahkan ratusan hingga ribuan protein dalam satu kali pemisahan. Protein yang berhasil dipisahkan tersebut dapat dikuantifikasi untuk mengetahui level ekspresinya dari setiap spot pada berbagai sampel, dan setelah itu protein dapat dipotong dengan protease tertentu

seperti tripsin (Lee *et al.*, 2020). Akan tetapi, penggunaan SDS-PAGE merupakan metode yang masih sering digunakan karena gel tersebut adalah tempat yang ideal digunakan dalam menyimpan, menangani protein, dan menyaring protein dengan berat molekul rendah (Yuswan *et al.*, 2019). Selain dengan gel-elektroforesis, kromatografi cair (LC) sering digunakan dalam mencari penanda protein atau peptida (Kim *et al.*, 2014), mendeteksi makanan yang dipalsukan, dan melakukan autentikasi pada daging.

Kromatografi merupakan salah satu teknik pemisahan suatu molekul berdasarkan pola pergerakan dari fasa gerak dan fasa diam. Kromatografi hingga saat ini telah banyak berkembang dan memiliki banyak varian mulai dari gas kromatografi (GC), kromatografi cair (LC), dan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) (El-Hack *et al.*, 2018). Salah satu kromatografi yang paling sering digunakan dalam bidang proteomik adalah kromatografi cair (LC) karena telah banyak berkembang terutama pada format kapilernya yang memungkinkan pemisahan dapat dilakukan secara efisien (Xie *et al.*, 2012). Kromatografi cair (LC) dapat digunakan dalam proses autentikasi kehalalan daging dengan mengidentifikasi molekul protein pada sampel. Pada teknik kromatografi cair, ada dua teknik analisis yang biasa digunakan yaitu kromatografi fase normal dan fase terbalik. Perbedaan utama dari kromatografi fase normal dan terbalik ini adalah fase yang digunakannya (Rohman *et al.*, 2022). Kromatografi secara umum memiliki dua fase yaitu fase gerak dan fase diam. Dalam fase normal, fase diam yang digunakan biasanya bersifat polar sementara fase gerak yang digunakan bersifat nonpolar. Pada fase terbalik, fase diam yang digunakan bersifat nonpolar sementara fase geraknya bersifat polar (Lopez *et al.*, 2019). Ada dua jenis kromatografi cair yang biasa digunakan dalam bidang proteomik yaitu kromatografi cair satu dimensi dan kromatografi cair dua dimensi. Perbedaan dari kedua kromatografi tersebut adalah dalam kromatografi cair dua

dimensi menggunakan dua jenis kromatografi sementara pada kromatografi cair satu dimensi hanya menggunakan satu jenis kromatografi. Prinsip pada kromatografi dua dimensi adalah menggunakan kromatografi cair fase terbalik yang digabungkan dengan mekanisme kromatografi lainnya, seperti menggabungkan dengan kromatografi pertukaran kation kuat. Kromatografi cair fasa terbalik x kromatografi pertukaran kation kuat adalah salah satu jenis kromatografi dua dimensi yang paling banyak digunakan dimana pemisahan molekul akan terjadi karena perbedaan jenis ion dan hidrofobisitas (Xie *et al.*, 2012). Selain dengan mekanisme pertukaran kation, mekanisme kromatografi lainnya yang dapat digabungkan adalah dengan mekanisme interaksi hidrofilik, mekanisme ion zwitter, dan mekanisme pertukaran anion (Di Palma *et al.*, 2012).

Spektrometri massa (MS) adalah suatu teknik analisis yang digunakan untuk menganalisis protein berdasarkan berat molekul dan urutan asam amino. Dalam bidang proteomik, spektrometri massa (MS) merupakan salah satu teknik analisis yang dapat diandalkan dalam proses autentikasi daging yang telah mengalami pemrosesan. Penggunaan teknik ini memungkinkan molekul dalam sampel untuk tetap utuh selama proses ionisasi sehingga dapat membuktikan keunggulannya selama langkah analisis (Ortea *et al.*, 2016). Spektrometri massa (MS) terdiri dari tiga bagian yaitu tempat pengionan sampel, pemisahan ion, dan detektor ion yang dihubungkan dengan komputer. Adanya tempat pengionan sampel dan pemisahan ion memungkinkan ion-ion untuk dibelokkan berdasarkan massa dan muatannya (m/z). Detektor ion akan memperbanyak ion-ion tersebut ketika mendekati pelat detektor dengan tujuan untuk meningkatkan sensitivitasnya. Spektrum dari spektrometri massa dan muatannya (m/z) serta kelimpahan relatif sampel akan diproses melalui database (El-Hack *et al.*, 2018).

Sampel protein yang akan digunakan dalam analisis proteomik biasanya akan dipisahkan terlebih dahulu sebelum dilakukan

analisis lebih lanjut, sehingga dalam analisis proteomik biasanya akan menggabungkan teknik gel elektroforesis, kromatografi, dan spektrometri massa (Ortea *et al.*, 2016). Teknik gel elektroforesis dan teknik kromatografi cair (LC) digunakan untuk memisahkan protein/peptida yang kompleks, sementara spektrometri massa seperti MALDI-TOF MS, MS/MS, HRMS, DESI-MS, LESA-MS merupakan teknik analisis terakhir yang dapat mengidentifikasi dan mengkuantifikasi protein yang berhasil dipisahkan (Stachniuk *et al.*, 2019). Beberapa studi sebelumnya telah dilakukan penggabungan teknik analisis tersebut untuk melakukan proses autentikasi daging halal. Seperti yang dilakukan oleh Aini *et al.* (2022) yaitu penggunaan gel elektroforesis yang digabungkan dengan kromatografi cair-spektrometri massa resolusi tinggi (LC-HRMS) untuk mengidentifikasi penanda protein dari penyembelihan non halal. Kemudian penggabungan gel elektroforesis 1D yang digabungkan dengan kromatografi cair-spektrometri massa (LCMS) juga dilakukan oleh Yuswan *et al.* (2019) untuk mendeteksi penanda protein dari daging babi, ayam, dan sapi.

Aplikasi Proteomik untuk Autentikasi Kehalalan Daging

Proteomik merupakan analisis protein dalam jumlah besar, dimana protein bersifat dinamis dan dapat berubah bentuk sesuai dengan perlakuan yang diberikan. Protein yang dianalisis dapat menjadi suatu indikator dalam menentukan komposisi makanan sehingga proteomik dapat diaplikasikan dalam autentikasi kehalalan daging. Dalam melakukan analisis dengan menggunakan proteomik ada empat langkah penting yaitu ekstraksi protein, pemisahan protein dan peptide, identifikasi protein, dan analisis data dan interpretasi (Afzaal *et al.*, 2022). Berdasarkan hal tersebut, maka ada dua pendekatan yang dapat dilakukan dalam analisis proteomik yaitu pendekatan bottom up dan top down. Pada pendekatan bottom up, protein yang akan dianalisis terlebih dahulu diekstraksi dari sampel dan jika

sampel protein terlalu kompleks maka akan dilakukan purifikasi sebagian, penambahan selektif protein atau pengurangan protein yang jumlahnya terlalu banyak (Gallardo *et al.*, 2013). Pada pendekatan bottom up, protein dapat dipisahkan melalui dua metode yaitu dengan menggunakan gel elektroforesis atau menggunakan kromatografi cair. Setelah pemisahan, sampel akan dimasukkan ke dalam spektrometri massa dengan jenis yang berbeda-beda sesuai dengan kebutuhan. Pemisahan yang dilakukan dengan menggunakan 2D elektroforesis, yang dilanjutkan dengan proses pemecahan protein kompleks, dan identifikasi menggunakan spektroskopi massa, dinamakan dengan *peptide-mass fingerprinting* (Afzaal *et al.*, 2022). Alternatif analisis lainnya adalah dengan pendekatan top down, dimana protein yang telah diekstraksi akan langsung dianalisis dengan menggunakan spektrometri massa, tanpa melalui tahap pemecahan protein terlebih dahulu. Pendekatan top-up telah banyak digunakan, tetapi penggunaannya masih terbatas karena adanya hambatan dari instrumen spektrometri massa (Ortea *et al.*, 2016).

Penggunaan analisis proteomik dalam metode autentikasi kehalalan daging memiliki kelebihan dibandingkan dengan analisis genomik, karena kandungan protein yang banyak pada daging sebagai makromolekul terbesar kedua yaitu sebesar 20% dari makromolekul yang ada (Yuswan *et al.*, 2018). Selain itu, protein juga masih mampu bertahan jika mengalami proses pemanasan pada daging, dibandingkan dengan DNA (Montowska dan Formal, 2018). Aini *et al.* (2022) menggunakan gel elektroforesis dan HRMS dengan bantuan software *Label-Free Quantification (LFQ) Proteome Discoverer* dalam melakukan analisis proteomik, untuk mengidentifikasi suatu daging apakah melalui penyembelihan secara halal atau nonhalal. Penyembelihan secara halal dan nonhalal akan menghasilkan ekspresi protein pada daging yang berbeda karena adanya perbedaan respon stres. Dari hasil penelitian didapatkan tiga protein yang diekspresikan khusus pada

penyembelihan daging nonhalal dan dapat digunakan sebagai protein penanda, yaitu pada kofaktor NSFL1 p47, transketolase, dan faktor Von Willebrand. Ketiganya merupakan protein yang dapat ditemukan dalam daging. Tiga peptida stabil yang teridentifikasi dari ketiga protein tersebut antara lain SYQDPSNAQFLESIR ($m/z = 1755$, $z = +1$) bagian dari NSFL1 cofactor p47, LGQSDPAPLQHQVDVYQK ($m/z = 2023$, $z = +1$) bagian dari transketolase, dan VPLLCTNGSVVHHEVINAMQCR ($m/z = 2550$, $z = +1$) bagian dari Von Willebrand.

Pan *et al.* (2018) melakukan penelitian untuk mencari penanda peptida yang spesifik, yang terdapat hanya pada daging babi, dari campuran daging yang terdiri dari babi, ayam, domba, dan sapi. Analisis proteomik dilakukan dengan menggunakan Paralel Reaction Monitoring (PRM) dan UPLC yang ditandem dengan Q-orbitrap-MS. Penggunaan metode ini baik dilakukan pada pendekatan proteomik pada sampel yang rumit. Dari hasil didapatkan 125 peptida dari miosin-4 dan miosin-1. Namun, ada beberapa kriteria untuk menentukan penanda peptida, yaitu tidak memiliki kesamaan dengan hewan lainnya, mudah dideteksi dengan MS, banyak terdapat di otot, dan dapat dipotong. Dari kriteria tersebut didapatkan ada 5 peptida penanda yaitu HKYEETQAELEASQK, KLETDISQIQGEMEDIVQEAR, LETDISQIQGEMEDIVQEAR, KLETDISQIQGEMEDIQEAR, dan LETDISQIQGEMEDIQEAR. Kelima peptida tersebut spesifik hanya terdapat pada babi. Untuk mengetahui apakah peptida tersebut dapat ditemukan ketika daging mengalami pemanasan maka sampel tersebut dipanaskan hingga 100°C. Setelah dilakukan pemanasan, didapatkan bahwa dari kelima peptida tersebut, hanya 2 peptida yang masih terdeteksi yaitu KLETDISQIQGEMEDIVQEAR dan HKYEETQAELEASQK. Sehingga, kedua penanda peptida tersebut dapat digunakan dalam proses autentikasi daging karena masih terdeteksi setelah dua jam pemanasan

Penelitian menarik lainnya yang dilakukan oleh Von-Bargen *et al.* (2013) adalah menemukan peptida penanda yang khas untuk daging babi dan kuda pada beberapa makanan yang telah melewati berbagai pemrosesan makanan seperti pemanasan dan penggorengan. Analisis proteomik yang digunakan adalah HPLC yang ditandem dengan MS, dimana untuk menaikkan sensitifitas pengukuran digunakan Multiple Reaction Monitoring (MRM) yang dapat mendeteksi kontaminasi babi hingga 0,13%. Metode MRM tersebut dapat digunakan tanpa melalui tahap perbanyak sampel peptida target yang akan diukur. Didapatkan sebanyak 12 peptida penanda yang potensial untuk daging babi dan kuda, namun hanya 3 yang dapat digunakan sebagai peptida penanda spesifik. Ketiga peptida penanda tersebut adalah YDIINLR, TLAFLFAER, dan SALAHAVQSSR. Hasil yang didapatkan dengan pendekatan proteomik adalah dapat mendeteksi kehalalan makanan sesuai dengan label yang ada pada makanan tersebut. Dari berbagai penelitian yang telah dijelaskan dapat dilihat bahwa proteomik merupakan salah satu pendekatan yang kuat dalam melakukan autentikasi kehalalan daging, yang telah mengalami berbagai macam pemrosesan makanan dengan suhu tinggi, dimana biomarker yang ditemukan dapat bertahan melalui pemrosesan makanan tersebut.

Kemometrik

Kemometrik adalah metode untuk mengekstrak informasi dari sistem biologi dan kimia yang kompleks (Yuswan *et al.*, 2018). Kemometrik merupakan metode statistik yang banyak digunakan dalam menganalisis sejumlah data yang besar, seperti data yang dihasilkan pada studi dengan pendekatan *omics* (Paul *et al.*, 2021). Metode ini merupakan kombinasi dari teknik statistik dan matematika untuk memproses data multivariat yang diperoleh dari hasil pengukuran kimia, sehingga penggunaannya dapat menjadi sarana yang efektif untuk analisis data yang besar (Castro-Puyana *et al.*, 2013). Metode kemometrik terbagi dalam 2 pendekatan,

yaitu pengenalan pola kemometrik (*pattern recognition*) dan kalibrasi multivariat (*multivariate calibration*).

Pada pengenalan pola kemometrik, terbagi kembali ke dalam pengenalan pola unsupervisi dan supervisi (Worley and Power, 2013). Pengenalan pola unsupervisi biasa digunakan dalam eksplorasi sampel tanpa mengetahui informasi sampel. Pada pendekatan ini, teknik yang biasa digunakan meliputi *principal component analysis* (PCA) dan *hierarchical cluster analysis* (HCA) (Cao *et al.*, 2020). Sementara itu, pengenalan pola supervisi biasa digunakan dalam diskriminasi dan klasifikasi sampel, serta tekniknya meliputi *linear discriminant analysis* (LDA), *partial least square-discriminant analysis* (PLS-DA), dan *orthogonal projection to latent structures-discriminant analysis* (OPLS-DA). Teknik PLS-DA dan OPLS-DA dapat digunakan dalam identifikasi biomarker dengan menggunakan nilai *variable importance of projections* (VIP). Biomarker spesifik ini nantinya akan sangat penting untuk tujuan autentikasi pangan, misalnya dalam mendeteksi adanya keberadaan daging non-halal pada produk daging (Paul *et al.*, 2021).

Pendekatan kedua pada metode kemometrik yaitu kalibrasi multivariat. Pendekatan ini biasa digunakan dalam analisis kuantitatif untuk memprediksi konsentrasi analit target menggunakan data multivariat. Teknik kalibrasi multivariat meliputi *multiple linear regression* (MLR), *partial least square* (PLS), and *principal component regression* (PCR) (Xu *et al.*, 2016; Leng *et al.*, 2020). Dalam analisis kemometrik, validasi model merupakan salah satu bagian yang penting. Apabila validasi ini tidak dilakukan, maka dapat menghasilkan model yang tidak reliabel dan pada akhirnya akan berpengaruh pada penarikan kesimpulan yang salah (Worley and Power, 2013). Beberapa metode dapat digunakan dalam proses validasi model kemometrik diantaranya yaitu nilai *goodness of prediction* (Q²Y) and *goodness-of-fit* (R²Y) dengan *cross-validation*, dimana nilai lebih

dari 0.5 menyatakan bahwa model cukup baik dalam merepresentasikan data. Validasi eksternal juga dapat dilakukan untuk menguji lebih lanjut kemampuan prediksi model melalui uji permutasi. Kelebihan yang penting dari analisis kemometrik adalah kemampuannya dalam mengidentifikasi biomarker potensial dari daging non-halal yang berguna dalam proses autentikasi. Sebagai contoh, analisis kemometrik telah sukses diaplikasikan dalam identifikasi peptida marker potensial dari daging babi non-halal (*Sus scrofa*) di antara daging sapi dan ayam halal (Yuswan *et al.*, 2018). Metabolit spesifik tertentu juga berhasil diidentifikasi pada daging babi dan tidak ditemukan pada daging ikan patin yang nantinya dapat digunakan dalam mendeteksi pemalsuan daging ikan patin (Windarsih *et al.*, 2022). Analisis kemometrik akan sangat menjanjikan dan dapat menjadi alat yang ampuh untuk mengolah data omics untuk tujuan autentikasi halal.

KESIMPULAN

Berdasarkan tinjauan yang dilakukan tentang autentikasi kehalalan pada produk daging menggunakan proteomik berbasis LC-MS, dapat disimpulkan bahwa teknik gel elektroforesis dan teknik kromatografi cair (LC) dapat digunakan untuk memisahkan protein/peptida yang kompleks, sedangkan spektrometri massa dapat menjadi teknik analisis yang dapat mengidentifikasi dan mengkuantifikasi protein yang berhasil dipisahkan. Pendekatan proteomik di dalam autentikasi kehalalan pada daging memiliki sensitivitas yang baik pada daging yang belum dan sudah mengalami proses pengolahan makanan. Selain itu, penggabungan metode proteomik dengan analisis kemometrik juga dapat memberikan sensitivitas yang lebih baik lagi dalam melakukan autentikasi kehalalan terhadap daging.

DAFTAR PUSTAKA

- Afzaal, M., Saeed, F., Hussain, M., Shahid, F., Siddeeg, A., and Al-Farga, A. 2022. Proteomics as a promising biomarker in food authentication, quality and safety: A review. *Food Sci. Nutr.* 10, 2333–2346.
- Aini, A. N., Airin, C. M., and Raharjo, T. J. 2022. Protein Markers Related to Non-halal Slaughtering Process of Rat as Mammal Animal's Model Detected Using Mass Spectrometry Proteome Analysis. *Indonesian Journal of Chemistry*, 22(3), 867-877.
- Banerjee, R., Maheswarappa, N.B., Mohan, K., and Biswas, S. 2022. Proteomic approaches for authentication of foods of animal origin. *Food Proteomics* 301–336.
- Cao, M., Zhang, J., Zhang, R., Wang, J., Gu, W., Kang, W., ... and Ai, L. 2020. An untargeted and pseudotargeted metabolomic combination approach to identify differential markers to distinguish live from dead pork meat by liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1610, 460553.
- Castro-Puyana, M., Mendiola, J. A., Ibáñez, E., and Herrero, M. 2013. MS-based metabolomics approaches for food safety, quality, and traceability. *Foodomics: Advanced Mass Spectrometry in Modern Food Science and Nutrition*, 453-470.
- Di Palma, S., Hennrich, M. L., Heck, A. J., and Mohammed, S. 2012. Recent advances in peptide separation by multidimensional liquid chromatography for proteome analysis. *Journal of proteomics*, 75(13), 3791-3813.
- El-Hack, M.E.A., Khan, M.M.H., Hasan, M., and Salwani, M.S. 2018. Protein-based techniques for halal authentication. *Prep. Process. Relig. Cult. Foods* 379–391.

- Gallardo, J. M., Ortea, I., and Carrera, M. 2013. Proteomics and its applications for food authentication and food-technology research. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 52, 135–141.
- Kim, S., D. Kim., S. W. Cho., J. Kim., and J. S. Kim. 2014. Highly Efficient RNA-Guided Genome Editing in Human Cells via Delivery of Purified Cas9 Ribonucleoproteins. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*. 24 (6) : 1012-1029.
- Lee, P. Y., Saraygord-Afshari, N., and Low, T. Y. 2020. The evolution of two-dimensional gel electrophoresis-from proteomics to emerging alternative applications. *Journal of Chromatography A*, 1615, 460763.
- Leng, T., Li, F., Xiong, L., Xiong, Q., Zhu, M., and Chen, Y. 2020. Quantitative detection of binary and ternary adulteration of minced beef meat with pork and duck meat by NIR combined with chemometrics. *Food Control*, 113, 107203.
- Lopez-Ruiz, R., Romero-González, R., and Frenich, A. G. 2019. Ultrahigh-pressure liquid chromatography-mass spectrometry: an overview of the last decade. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 118, 170-181.
- Montowska, M., and Fornal, E. 2018. Detection of peptide markers of soy, milk and egg white allergenic proteins in poultry products by LC-Q-TOF-MS/MS. *LWT*, 87, 310-317
- Naveena, B. M., Jagadeesh, D. S., Kamuni, V., Muthukumar, M., Kulkarni, V. V., Kiran, M., and Rapole, S. 2018. In-gel and OFFGEL-based proteomic approach for authentication of meat species from minced meat and meat products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(3), 1188-1196.
- Ortea, I., O'Connor, G., and Maquet, A. 2016. Review on proteomics for food authentication. *J. Proteomics* 147, 212–225.
- Pan, X. D., Chen, J., Chen, Q., Huang, B. F., and Han, J. L. 2018. Authentication of pork in meat mixtures using PRM mass spectrometry of myosin peptides. *RSC advances*, 8(20), 11157-11162.
- Paul, A., and de Boves Harrington, P. 2021. Chemometric applications in metabolomic studies using chromatography-mass spectrometry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 135, 116165.
- Rohman, A., S. Helmiyati., M. Hapsari., and D. L. Setyaningrum. 2014. Rice in Health and Nutrition. *International Food Research*. 21 (1) : 13-24.
- Stachniuk, A., Sumara, A., Montowska, M., and Fornal, E. 2021. Liquid chromatography–mass spectrometry bottom-up proteomic methods in animal species analysis of processed meat for food authentication and the detection of adulterations. *Mass spectrometry reviews*, 40(1), 3-30.
- Von-Bargen, C., Dojahn, J., Waidelich, D., Humpf, H. U., and Brockmeyer, J. 2013. New sensitive high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the detection of horse and pork in halal beef. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(49), 11986-11994.
- Yuswan, M.H., Aizat, W.M., Lokman, A.A., Desa, M.N.M., Mustafa, S., Junoh, N.M., Yusof, Z.N.B., Mohamed, R., Mohmad, Z., and Lamasudin, D.U., 2018. Chemometrics-Assisted Shotgun Proteomics for Establishment of Potential Peptide Markers of Non-Halal Pork (*Sus scrofa*) among Halal Beef and Chicken. *Food Anal. Methods* 11, 3505–3515.
- Yuswan, M.H., Aizat, W.M., Desa, M.N.M., Hashim, A.M., Rahim, N.A., Mustafa, S., Mohamed, R., and Lamasudin, D.U., 2019. Improved gel-enhanced liquid chromatography-mass spectrometry

- by chemometrics for halal proteomics. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 192, 103825.
- Windarsih, A., Warmiko, H. D., Indrianingsih, A. W., Rohman, A., and Ulumuddin, Y. I. 2022. Untargeted metabolomics and proteomics approach using liquid chromatography-Orbitrap high resolution mass spectrometry to detect pork adulteration in *Pangasius hypophthalmus* meat. *Food Chemistry*, 386, 132856.
- Worley, B., and Powers, R. 2013. Multivariate analysis in metabolomics. *Current metabolomics*, 1(1), 92-107.
- Xu, Y., Muhamadali, H., Sayqal, A., Dixon, N., and Goodacre, R. 2016. Partial least squares with structured output for modelling the metabolomics data obtained from complex experimental designs: A study into the Y-block coding. *Metabolites*, 6(4), 38.
- Xie, F., Smith, R. D., and Shen, Y. 2012. Advanced proteomic liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1261, 78-90.