

**OPTIMASI NANOPARTIKEL EMAS (AuNP) SEBAGAI PLATFORM  
IMOBILISASI *PROBE MOLECULAR BEACON* (MB) UNTUK APLIKASI  
AUTENTIKASI HALAL DENGAN METODE KOLORIMETRI**

**OPTIMIZATION OF GOLD NANOPARTICLES (AuNPs) AS PLATFORM TO  
IMOBILIZATION WITH *PROBE MOLECULAR BEACON* (MB) FOR  
HALAL AUTHENTICATION APPLICATIONS WITH COLORIMETRIC  
METHOD**

*Mar'atus Sholikhah<sup>1)</sup>, Hari Widada., M.Sc., Apt.<sup>1)</sup>*

<sup>1)</sup>Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta  
[maratuss982@gmail.com](mailto:maratuss982@gmail.com)

---

**INTISARI**

Nanopartikel emas merupakan suatu platform yang dapat diimobilisasikan dengan *probe*, sehingga dapat digunakan sebagai biosensor. Dalam bidang kesehatan, biosensor digunakan untuk aplikasi biomedis, seperti untuk penandaan DNA dan isolasi sel. Selain itu, dapat dijadikan metode uji untuk Autentikasi Halal suatu produk olahan daging. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi optimum sintesis nanopartikel emas sebagai platform untuk imobilisasi dan aplikasi AuNP-MB sebagai biosensor dengan metode kolorimetri untuk aplikasi Autentikasi Halal suatu produk olahan daging.

Penelitian ini dilakukan untuk optimasi nanopartikel emas dengan menggunakan 6 seri kadar H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub>, yaitu 0,0635; 0,127; 0,19; 0,254; 0,635; dan 1,27 (mM). Konsentrasi yang optimum, kemudian dilakukan imobilisasi dengan *probe* MB. Pengukuran dilakukan menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis untuk melihat serapan yang dihasilkan dan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) untuk melihat ukuran dan sebaran nanopartikel.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa AuNP dengan konsentrasi 0,19 mM, memberikan hasil yang paling bagus, yaitu stabil selama 3,5 bulan serta memberikan hasil SEM yang baik, yaitu dengan rata-rata ukuran 21,7 nm. Absorbansi antara sebelum dan sesudah dilakukan imobilisasi, terjadi penurunan yaitu dari 0,226 menjadi 0,167. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu AuNP-MB terbukti dapat dijadikan biosensor untuk aplikasi Autentikasi Halal dengan metode kolorimetri.

**Kata Kunci** : Nanopartikel Emas, *Molecular Beacon*, Biosensor, Imobilisasi, Kolorimetri

## ABSTRACT

Gold nanoparticles are platforms that can be immobilized with probe, so they can be used as biosensors. In health sector, biosensors are used for biomedical applications, such as for DNA marking and cell isolation. In addition, it can be used as a method for Halal Authenticon applications for meat products. This study aims to determine the optimum conditions for the synthesis of gold nanoparticles as platform for immobilization and application of AuNPs-MB as biosensors with the colorimetry method for Halal Authentication applications for meat product.

This research was optimize gold nanoparticles using 6 series of  $\text{HAuCl}_4$  concentration, there are 0.0635; 0.127; 0.19; 0.254; 0.635; dan 1.27 (mM). The most optimum concentration, then immobilized with probe MB and measured using Uv-Vis Spectrophotometer to see the absorpction and using Scanning Electron Microscope (SEM) to see the size and distribution of nanoparticles.

The results showed that 0.19 mM of AuNPs, gave the best results, which was stable for 3.5 months, has good results by measured using SEM with an average size of 21.7 nm. The value absorbance before to after immobilization was decreased, from 0.226 to 0.167 and indicate that the proses is success. The conclusion of this study is AuNPs-MB is proven to be a biosensor for Halal Authentication applications using colorimetric method.

**Keywords:** Gold Nanoparticles, Molecular Beacon, Biosensor, Immobilization, Colorimetry

## PENDAHULUAN

Lembaga Pengkajian Pangan, Obat-obatan, dan Kosmetika Majelis Ulama Indonesia (LPPOM MUI) merupakan suatu lembaga yang didirikan dengan maksud untuk melakukan pemeriksaan dan sertifikasi halal terhadap produk makanan yang dijual di pasaran. Hal tersebut

dilakukan atas dasar mandat dari pemerintah, untuk menanggapi kasus ditemukannya lemak babi pada makanan yang meresahkan warga Indonesia.

Para pengusaha, dianjurkan untuk melakukan sertifikasi halal terhadap produk makanan yang dihasilkan, sebagai jaminan. Sistem tersebut masih bersifat suka rela

sehingga, belum bisa menjamin semua produk terbebas dari bahan yang bersifat haram. Terbukti pada penelitian yang dilakukan oleh Sari, dkk (2015), ditemukan bakso oplosan babi di wilayah Jakarta, dendeng oplosan babi dan produk penyedap yang mengandung *bactosoytone* dari babi.

Untuk itu, dibutuhkan suatu proses Atentikasi Halal berbasis teknologi. Proses tersebut membutuhkan suatu metode analisis sebagai media, dan biosentor sebagai alat deteksinya. Digunakan Kolorimetri dengan Spektrofotometer Uv-Vis dan SEM sebagai metode analisis yang sederhana dan menggunakan imobilisasi nanopartikel emas dengan *Probe Molecular Beacon* (AuNP-MB) sebagai biosensor uji.

*Molecular Beacon* (MB) merupakan salah satu jenis *probe* yang terdiri dari oligonukleutida yang spesifik berikatan dengan DNA atau RNA target. Memiliki ciri khas berbentuk *stem-loop* disertai dengan

adanya sepasang *fluorophore/quencher*, yang akan saling terikat saat terbebas dari DNA atau RNA target. Saat *probe* MB berikatan dengan DNA atau RNA target, ikatan *fluorophore/quencher* akan terlepas, yang kemudian akan berikatan dengan DNA atau RNA target dan akan berflourosensi (Kim, 2008).

Dalam menggunakan biosensor, diperlukan adanya platform, sebagai media untuk imobilisasi *probe*. Menurut Wulandari (2018), nanopartikel emas memiliki banyak keunggulan, seperti sangat mudah untuk disintesis dan difungsionaisasikan, memiliki sifat optik yang mudah diatur, biokompatibilitas (toksisitas yang rendah), dan stabilitas kimia yang bagus, sehingga sangat cocok dijadikan platform untuk imobilisasi. Dalam bidang biomedis, AuNP dapat diaplikasikan dalam isolasi sel, target obat, teknik pemisahan biokimia, pemurnian protein, dan imobilisasi (penempelan) enzim (Ahn, *et al.*, 2016).

## METODOLOGI

### Alat Penelitian

Beker gelas, pipet volume, mikropipet, timbangan analitik (Metler Toledo Al 204), *Barnstead Thermolyne* Cimarec, *Hot Plate Magnetic Stirrer* SP131325 7x7, *Scanning Electron Microscope* (SEM) Hitachi SU 3500, *Shaking Incubator* FS-50B, *General Incubator* LIB-030M, pH meter OMEGA PHH222, dan Spektrofotometri UV-Vis Jasco V-730.

### Bahan Penelitian

Asam tetrakloroaurat ( $\text{HAuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) dari Sigma-Aldrich, Co. LLC., USA, Natrium Sitrat ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$ ), dan *Water For Injection* (WFI). *Probe* MB (IDT Genetika), Tris-HCl (pH 7,2), NaCl, AuNP (Sigma-Aldrich, Co. LLC., USA), Natrium Hidroksia (NaOH), *Dithiothreitol* (DTT),

buffer asetat (pH 5,2), buffer Tris-asetat (pH 8,2).

### Langkah Penelitian

#### 1. Optimasi Nanopartikel Emas (AuNP)

Seri kadar  $\text{HAuCl}_4$  0,0635; 0,127; 0,19; 0,254; 0,635; dan 1,27 (mM) (Jingyue & Bernd, 2015) dalam larutan aqua 100 mL, direduksi dengan natrium sitrat sebanyak 2,5 mL dengan konsentrasi 38,8 mM secara cepat ke dalam  $\text{HAuCl}_4$ . Dilakukan pengadukan dan pemanasan menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 270 rpm dengan suhu 150 °C hingga terbentuk perubahan warna dari kuning pucat menjadi *red wine*.

#### 2. Imobilisasi AuNP dengan *Probe Molecular Beacon* (MB)

Persiapan lingkungan yang sesuai yaitu dengan cara *soak* (merendam) vial dengan NaOH 12 M selama 1 jam. Campur 3 bahan ke dalam vial: 36  $\mu\text{L}$  *probe* MB, 0,5  $\mu\text{L}$

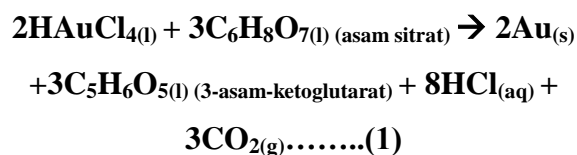
DTT (100 mM) dan 6,4  $\mu\text{L}$  buffer asetat. Diinkubasi selama 1 jam pada suhu 25  $^{\circ}\text{C}$  (Larutan 1). Selanjutnya ditambah dengan 3000  $\mu\text{L}$  AuNP (Larutan 2). Diaduk menggunakan *Shaking Incubator* kemudian diinkubasi selama 24 jam. Selanjutnya ditambah dengan 175,6  $\mu\text{L}$  buffer tris asetat dan 123  $\mu\text{L}$  NaCl 100 mM (Larutan 3). Inkubasi kembali selama 52 jam.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Optimasi Nanopartikel Emas (AuNP)

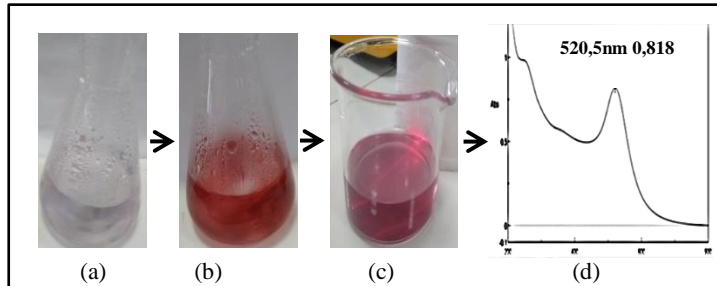
Sejumlah 100 mL  $\text{HAuCl}_4$  berbagai kadar yaitu 0,0635; 0,127; 0,19; 0,254; 0,635; dan 1,27 (mM), dilakukan pemanasan dengan suhu 150  $^{\circ}\text{C}$  dan kecepatan 270 rpm, untuk membantu mereduksi ion logam  $\text{Au}^{3+}$  menjadi ion logam  $\text{Au}^0$  (tidak bermuatan). Penggunaan suhu dan kecepatan yang optimum akan menghasilkan nanopartikel yang stabil selama lebih dari 2 bulan (Rohiman, dkk, 2014). Dilakukan penambahan 2,5 mL Na-Sitrat 38,8 mM

yang berfungsi untuk mereduksi ion logam Au, yang kemudian akan melapisi Au yang tidak bermuatan, sehingga terbentuk nanopartikel dengan ukuran tertentu. Proses tersebut, dijelaskan pada Persamaan 1 :



Ion Au akan stabil jika memiliki muatan. Namun, setelah direduksi, Au menjadi kehilangan muatan dan bersifat netral. Ion dalam keadaan netral, tidak akan stabil, dan bahkan akan kembali ke bentuk semula. Untuk itu, penambahan Na-Sitrat juga berfungsi sebagai *capping agent* (agen penstabil) yang akan melindungi nanopartikel yang telah jadi agar stabil dan tidak terjadi agregasi. Dalam hal ini, muatan negatif dari ion sitrat, akan diadsorpsi oleh permukaan nanopartikel emas, sehingga antar nanopartikel emas akan tolak-menolak karena lingkungan yang negatif, dan

mencegah terjadinya agregasi dari nanopartikel emas (Wyantuti, dkk, 2017).



**Gambar 1.** Ilustrasi Sintesis AuNP (a) Larutan induk H<sub>AuCl</sub><sub>4</sub> (b) Perubahan warna setelah penambahan Na-Sitrat (c) Sinar laser menembus, menandakan terdapat nanopartikel (d) Spektra hasil pengukuran dengan Spektrofotometer Uv-Vis

Pembentukan nanopartikel emas, dapat diketahui dari perubahan warna yang dihasilkan. Saat semula ion Au belum direduksi, larutan berwarna kuning. Kemudian warna mulai terbentuk, mulai dari

abu, ungu, hingga merah anggur sesuai dengan konsentrasi H<sub>AuCl</sub><sub>4</sub> yang digunakan. Tahapan perubahan warna tersebut menunjukkan ukuran partikel yang dihasilkan, hingga didapat ukuran nano (1-100 nm). Saat warna merah anggur terbentuk, artinya proses telah berakhir dan harus segera dihentikan, karena proses pemanasan yang berlanjut, akan menyebabkan ukuran nanopartikel semakin besar, hingga terjadi agregasi. Begitupun sebaliknya.

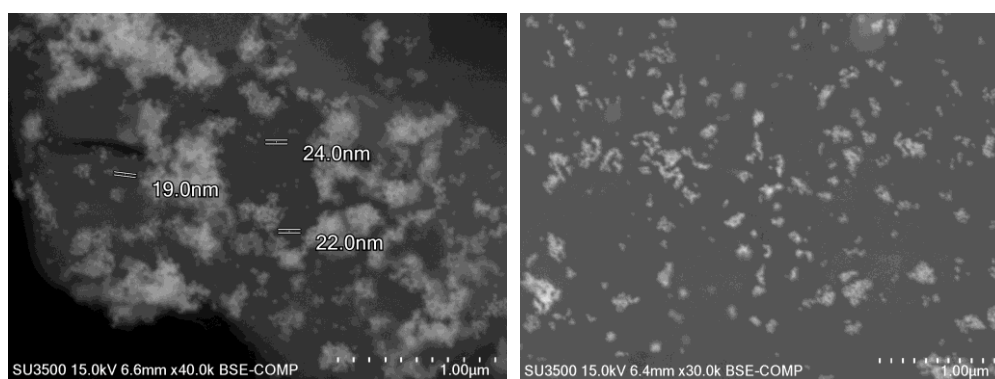
**Tabel 1.** Sintesis Nanopartikel Emas (AuNP)

NO	Konsentrasi (mM)	Warna	Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi (abs)
1.	1,27	Coklat keruh pekat (susu coklat) → 2 jam kemudian bening jernih	-	-
2.	0,635	Ungu Pekat	526	1,525
3.	0,254	Merah Jernih	520,5	0,818
4.	0,19(1)	Merah ke-ungu-an jernih	521	0,542
5.	0,19 (2)	Merah Jernih	521,5	0,503
6.	0,19 (3)	Merah Jernih	523,5	0,229
7.	0,127(1)	Merah Cerah Jernih	521	0,486

8.	0,127 (2)	Merah ke Ungu an	535	0,261
9.	0,127 (3)	Ungu pekat, jernih	537	0,069
10.	0,0635	Ungu sangat tipis	529	0,037

Pada konsentrasi 0,0635 mM, terbentuk warna ungu yang sangat tipis. Hal tersebut dapat diartikan bahwa, larutan induk sangat encer sehingga jumlah nanopartikel yang terbentuk sangat sedikit. Pada konsentrasi 1,27 mM koloid seketika berubah menjadi berwarna coklat (tanah lumpur). Namun, setelah didiamkan sekitar 2 jam, koloid berubah menjadi bening, dan terjadi agregasi. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi adalah keberadaan sitrat sebagai agen pereduksi yang tidak cukup

banyak untuk melapisi Au<sup>0</sup>, sehingga Au dalam keadaan netral cenderung tidak stabil dan menyebabkan ikatan tarik-menarik antar partikel sejenis, yang kemudian membentuk partikel yang lebih besar (terbentuk endapan). Dari enam seri kadar yang digunakan, konsentrasi 0,19 mM menunjukkan hasil yang optimum, dari hasil uji menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis, dan stabilitas penyimpanan yang tahan selama 3,5 bulan pada suhu 2 °C.



**Gambar 2.** Hasil SEM AuNP konsentrasi 0,19 mM

Rentang ukuran nanopartikel emas yang dihasilkan 19-24 nm. Menurut

penelitian yang dilakukan oleh Ali, *et al.*, (2011), ukuran nanopartikel yang optimum

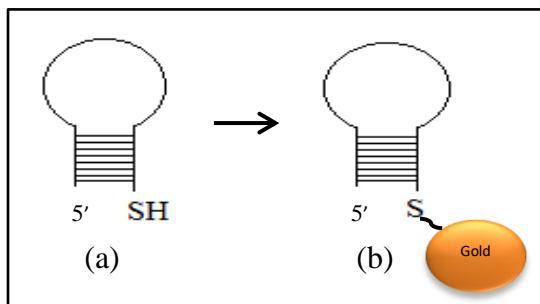
digunakan adalah 20 nm. Berdasarkan hasil tersebut, konsentrasi 0,19 mM, dapat memberikan perubahan warna dan spektra serapan yang bagus.

## 2. Imobilisasi AuNP dengan *Probe Molecular Beacon* (MB)

Dalam melakukan imobilisasi nanopartikel emas dengan *probe* MB, harus dilakukan pada lingkungan yang sesuai, sebab, beberapa hal seperti pH, suhu dan waktu inkubasi, serta kekuatan ikatan kimia antar ikatan, merupakan hal kritis yang akan mempengaruhi keberhasilan dari proses imobilisasi (Widada, *et al.*, 2019). Peneliti menggunakan vial sebagai media untuk imobilisasi, dan sebelum penggunaannya harus direndam (*soak*) terlebih dahulu. Perendaman vial dengan NaOH dimaksudkan untuk menghilangkan kontaminasi yang menempel pada vial serta mencegah penempelan nanopartikel pada permukaan vial, terutama setelah

penambahan NaCl. Nanopartikel yang menempel pada vial, menyebabkan konsentrasinya menurun, sehingga akan mempengaruhi hasil imobilisasi yang dilakukan. (Liu & Lu, 2006). Proses imobilisasi dimulai dari pencampuran antara *probe* MB dengan DTT dan buffer asetat. *Dithiothreitol* (DTT) merupakan agen pereduksi pada sampel larutan yang sering dibutuhkan untuk menjaga aktivitas dan stabilitas. Pada penelitian ini, DTT digunakan untuk mereduksi gugus SH yang ada di *probe* MB dan kemudian terjadi imobilisasi dengan nanopartikel emas. Dikatakan bahwa suhu yang bisa digunakan dalam proses imobilisasi antara suhu ruang (25 °C) hingga suhu air mendidih (100 °C), pH pada rentang 7-9, dan diinkubasi selama 30 menit hingga sepanjang malam (Scigelova, *et al.*, 2007).





**Gambar 2.** (a) Probe MB dimodifikasi menjadi Probe Thiolated Oligonucleotida (b) Immobilisasi Probe MB dengan AuNP (Kolpashchikov, 2012)

Keberadaan NaCl dalam reaksi, untuk memberikan efek ikatan ion yang dapat meningkatkan dan mempercepat immobilisasi antara probe MB dengan nanopartikel emas (Widada, *et al.*, 2019). Sumber lain menjelaskan bahwa proses immobilisasi akan berlangsung dengan baik, pada kondisi pH, keberadaan garam, dan konsentrasi buffer yang sesuai (Li & Rothberg, 2004).

Hasil uji menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis terjadi penurunan nilai absorbansi antara sebelum dan sesudah immobilisasi secara berturut-turut yaitu 0,226 dan 0,167. Menurut Firmansyah (2012), immobilisasi dikatakan berhasil saat terjadi penurunan nilai absorbansi antara sebelum dan sesudah immobilisasi. Pada pengukuran menggunakan SEM, rata-rata ukuran nanopartikel sebelum dilakukan immobilisasi adalah 21,7 nm. Kemudian setelah dilakukan immobilisasi, terjadi perbesaran ukuran menjadi 27,3 nm. Hal tersebut meandakan bahwa, probe MB berhasil diikat oleh nanopartikel emas.

**Tabel 2.** Perbandingan hasil Uji dengan Spektrofotometer Uv-Vis dan SEM antara sebelum dan sesudah Immobilisasi

	<b>AuNP</b>	<b>AuNP-MB</b>
<b>Spektrofotometer</b>	Panjang gel : 524 nm	Panjang gel : 524,5 nm
<b>Uv-Vis</b>	Absorbansi : 0,226	Absorbansi : 0,167
<b>SEM</b>	Rata-rata ukuran : 21,7 nm	Rata-rata ukuran : 27,3 nm
	Pola distribusi : Bergerombol	Pola distribusi : Bergerombol

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Kondisi optimum dalam melakukan sintesis nanopartikel adalah menggunakan suhu 150 °C dan dengan kecepatan 270 rpm, yang menghasilkan koloid stabil dalam waktu 3,5 bulan. Selain itu memberikan hasil SEM yang baik, yaitu dengan rata-rata ukuran 21,7 nm.

Penurunan nilai absorbansi antara sebelum dan sesudah imobilisasi 0,226 menjadi 0,167 menandakan proses imobilisasi berhasil.

### Saran

Dibutuhkan penelitian lanjutan, dan melakukan fiksasi metode, sehingga dapat dijadikan acuan penelitian sejenis, serta dapat membuat alat deteksi yang sederhana dan mudah digunakan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahn, J., Choi, Y., Lee, A. R., Lee, J. H., & Jung, J. H. 2016. A duplex DNA-gold nanoparticle *probe* composed as a colorimetric biosensor for sequence-specific DNA-binding proteins. *Analyst*, 141(6), 2040–2045.
- Ali, M. E., Hashim, U., Mustafa, S., Che Man, Y. B., & Islam, K. N. 2011. Gold nanoparticle sensor for the visual detection of pork adulteration in meatball formulation. *Hindawi Publishing Corporation Journal of Nanomaterials*, Volume 2012.
- Firmansyah, A.M. 2012. Perencanaan *Probe* DNA Biosensor Berbasis UV Spektrofotometri (Aplikasi pada *Salmonella* dan *E.Coli*), *Skripsi*, Program Studi Biologi Fakultas Teknobiologi Universitas Surabaya, Surabaya.
- Jingyue, Z., & Bernd, F. 2015. Synthesis of Gold Nanoparticles Via Chemical Reduction Methods. *NANOCON*, IME Institute of Process Metallurgy and Metal Recycling RWTH Aachen University, Aachen, Germany.
- Kim, Y. 2008. Review Article *Molecular Beacons* in Biomedical Detection and Clinical Diagnosis, University of Florida Gainesville, USA.
- Kolpashchikov, D. M. 2012. An Elegant Biosensor Molecular Beacon *Probe*: Challenges and Recent Solutions. *Scientifica*, 2012(c), 1–17. Available at: <https://doi.org/10.6064/2012/928783>
- Li, H., & Rothberg, L. 2004. Colorimetric detection of DNA sequences based on electrostatic interactions with

- unmodified gold nanoparticles. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(39), 14036–14039. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.0406115101>
- Liu, J., & Lu, Y. 2006. Preparation of aptamer-linked gold nanoparticle purple aggregates for colorimetric sensing of analytes. *Nature Protocols*, 1(1), 246–252. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.38>
- Rohiman, A., Buchari, Amran, B. ., Juliastuti, E., & Idris, I. 2014. Sintesis, Karakterisasi, dan Aplikasi Gold Nanoparticle (AuNPs) pada Penumbuhan Silicon Nanowires. *Research and Development on Nanotechnology in Indonesia*, 1(2), 74–82.
- Sari, E.P.K dan Wardani, A.K. 2015. Deteksi Molekuler Cemaran Daging Babi pada Bakso Sapi di Pasar Tradisional Kota Malang Menggunakan PCR (*Polymerase Chain Reaction*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, Volume 3 No 4 Pages 1294-1301.
- Scigelova, M., Green, P. S., Giannakopoulos, A. E., Rodger, A., Crout, D. H. G., & Derrick, P. J. 2007. A Practical Protocol for the Reduction of Disulfide Bonds in Proteins Prior to Analysis by Mass Spectrometry. *European Journal of Mass Spectrometry*, 7(1), 29–34. <https://doi.org/10.1255/ejms.385>
- Widada, H., Rohman, A., Jenie, R. I., & . S. 2019. Optimization of Graphene Oxide-based Quencher-free Molecular Beacon for Meat Product Authentication. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 22(5), 220–225. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2019.220.225>
- Wulandari, S.D. 2018. Modifikasi dan Karakterisasi Nanopartikel Emas Rutin Trihidrat 0,1 % dan PVA 2,5 % untuk Meningkatkan Stabilitas dengan Proses Biosintesis, [Abstract] *Skripsi*, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- Wyantuti, S., Permadi, M., Hendrati, D., & Hartati, Y. W. 2017. Modifikasi Elektrode Glassy Carbon Dengan Nanopartikel Emas Dan Aplikasinya Untuk Mendeteksi Kromium(VI) Secara Voltametri Pulsa Differensial. *Al-Kimia*, 5(1), 12–20. <https://doi.org/10.24252/al-kimia.v5i1.2844>