

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Autentikasi Halal**

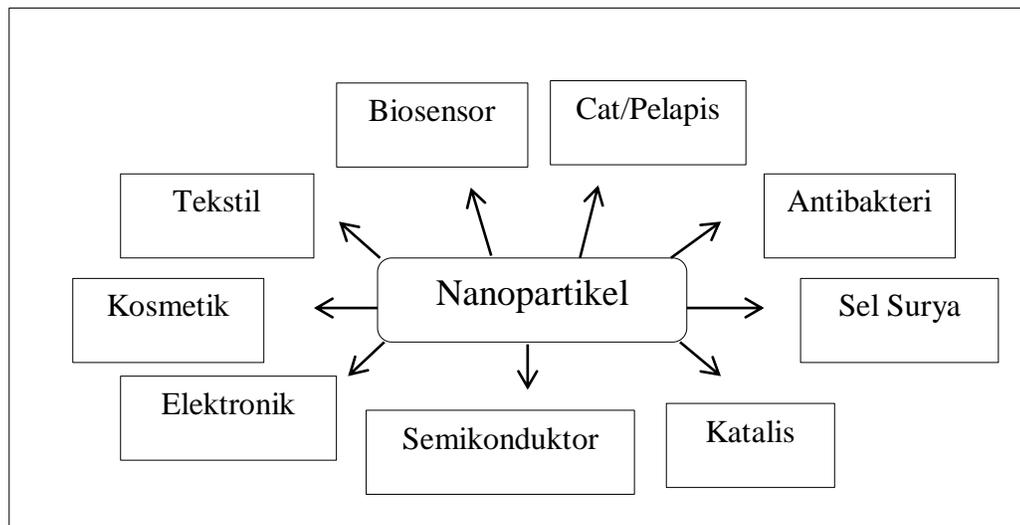
Islam merupakan agama dengan pemeluk terbanyak di dunia. Mengacu pada hal tersebut, para pembuat kebijakan, di Indonesia khususnya, menjadikan aturan Islam sebagai pedoman dalam hidup bermasyarakat. Menurut Undang-Undang No. 33 Tahun 2014, tentang Jaminan Produk Halal menjelaskan bahwa semua produk (makanan, minuman, kosmetik, kesehatan), harus terbebas dari bahan-bahan haram yang telah disebutkan dalam UU tersebut. Beberapa jenis produk yang telah dijelaskan sebelumnya, juga harus tersertifikasi Halal yang ditetapkan oleh BP JPH (Badan Penyelenggara Jaminan Produk Halal). Namun, pelaku usaha yang telah melakukan sertifikasi, sebagian ada yang menurunkan kualitasnya dengan mengganti bahan utama berupa daging yang diharamkan menurut syariat Islam, untuk bisa memperoleh keuntungan yang besar. Hal tersebut melanggar Jaminan Produk Halal yang telah disebutkan sebelumnya dan juga melanggar Undang-Undang Perlindungan Konsumen (UUPK) No. 8 tahun 1999 pasal 1 ayat 1 yang menyebutkan bahwa perlindungan konsumen adalah segala upaya yang menjamin adanya kepastian hukum untuk memberi perlindungan kepada konsumen.

#### **B. Nanopartikel**

##### **1. Nanoteknologi dan Nanopartikel**

Nanoteknologi merupakan salah satu ilmu pengetahuan yang sangat banyak dilakukan pengembangan. Pengembangan tersebut mulai dilakukan sekitar abad

pertengahan, bahkan sebelum Masehi dalam teknik pembuatan alat rumah tangga yang eksklusif serta pembuatan senjata kerajaan Romawi yang dilapisi dengan nanopartikel emas dan perak. Teknologi nanopartikel tersebut menggunakan modifikasi partikel berukuran nano ( $<100$  nm) untuk diaplikasikan ke dalam beberapa bidang ilmu. Dalam bidang medis sendiri, pemanfaatan nanopartikel sangat luas, misalnya dalam menghantarkan obat dilakukan dengan sangat baik dan sebagai pendekatan diagnostik, yang mana semua hal tersebut sangat membantu pengobatan yang dilakukan (Khan, *et al.*, 2014). Pengaplikasian nanopartikel, tergantung dari jenis nanopartikel yang digunakan (Gambar 1.). Beberapa jenis nanopartikel yang sering dilakukan pengembangan ialah, nanopartikel perak (AgNP), nanopartikel tembaga (CuNP), nanopartikel oksida besi (FeNP), nanopartikel titanium oksida ( $\text{TiO}_2$ NP), nanopartikel platinum dan palladium, dan nanopartikel emas (AuNP). Masing-masing nanopartikel tersebut memiliki aplikasi secara spesifik (Gambar 2). Pada pemanfaatan nanopartikel emas, secara luas digunakan dalam bidang medis untuk mendeteksi sel kanker. Mekanisme kerjanya adalah dengan mengirimkan energi panas yang beracun sebagai agen hipertermik untuk penandaan sel kanker (Khan, *et al.*, 2014). Dengan adanya pengembangan tersebut, akan mempermudah para dokter untuk melakukan pengendalian terhadap sel kanker melalui injeksi nanopartikel (Fatimah, 2017).

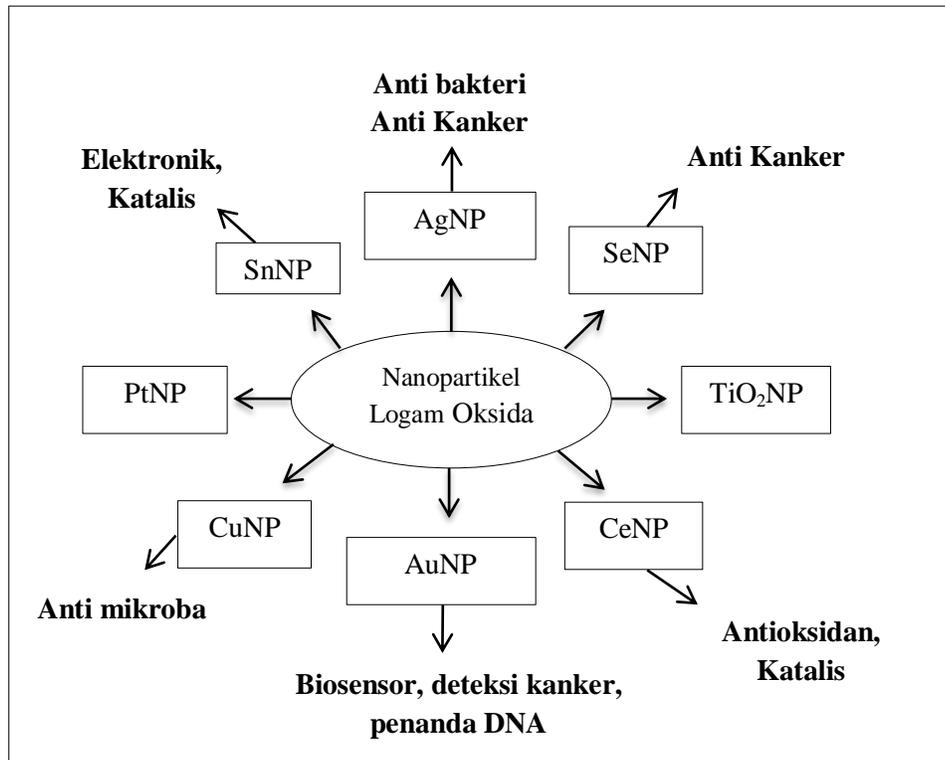


**Gambar 1.** Berbagai Aplikasi Nanopartikel (Fatimah, 2017)

## 2. Nanopartikel Emas (AuNP)

Nanopartikel emas merupakan salah satu nanopartikel yang banyak dilakukan pengembangan ilmu pengetahuan. Hal itu karena, sintesis AuNP memiliki banyak keuntungan, yaitu sangat mudah untuk disintesis dan difungsionisasikan, memiliki sifat optik yang mudah diatur, biokompatibilitas (toksisitas yang rendah), dan stabilitas kimia yang bagus (Wulandari, 2018). Kelebihan lain, sintesis AuNP kebanyakan diarahkan untuk aplikasi biomedis dan elektronik (Fatimah, 2017). Dalam bidang biomedis dan lingkungan, AuNP dapat diaplikasikan dalam isolasi sel, target obat, teknik pemisahan biokimia, pemurnian protein, dan imobilisasi (penempelan) enzim (Ahn, *et al.*, 2016). Pada pengembangan dibidang elektronik, AuNP dapat digunakan sebagai sensor non spesifik untuk menentukan kuantitas rasa pedas pada senyawa Capsaicin. Sedangkan secara spesifik, AuNP dapat dimodifikasi menjadi sensor yang

selektif terhadap senyawa tertentu, seperti pada analisis DNA target (Widyanti, 2010).



**Gambar 2.** Skema Aplikasi Nanopartikel logam/Oksida Logam (Fatimah, 2017)

### 3. Sintesis Nanopartikel Emas

Nanopartikel emas dapat diproduksi dengan menggunakan metode fotokimia, sonokimia dan reduksi kimia (Sovawi, dkk, 2016). Salah satu metode reduksi kimia adalah dengan menggunakan pendekatan kimia hijau (*Green Chemistry*), yaitu melakukan sintesis AuNP dengan mereduksi menggunakan senyawa kimia yang berasal dari tanaman ataupun dengan menggunakan bantuan mikroorganisme seperti jamur, khamir, dan bakteri (Sovawi, dkk, 2016). Metode secara kimia tersebut dilakukan dengan mereduksi emas dalam bentuk garamnya,

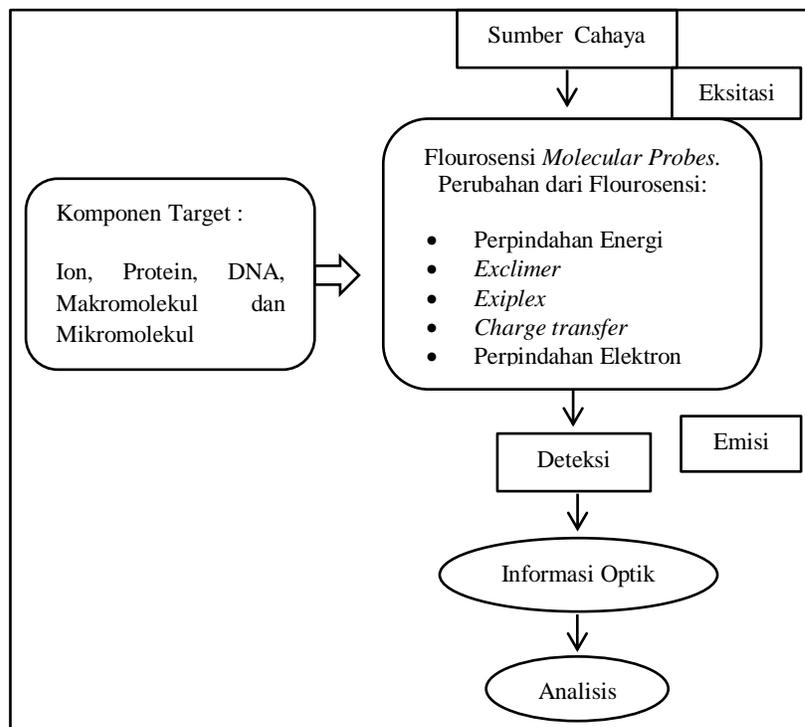
sedangkan secara fisika, dilakukan dengan mereduksi emas dalam bentuk ruahnya (Rohiman, dkk, 2014). Proses tersebut dimulai dengan membuat larutan induk  $\text{HAuCl}_4$  yang didapat dengan mereaksikan logam emas (Au) dengan larutan asam (HCl dan  $\text{HNO}_3$ ), selanjutnya dicampur dengan natrium sitrat yang akan terbentuk nanopartikel emas (AuNP), ditandai dengan perubahan warna, dan pada lingkungan yang baik, akan didapat warna *red wine* (merah anggur).

### **C. Probe**

#### **1. Definisi**

*Probe* merupakan kumpulan dari rantai DNA atau RNA yang dapat berinteraksi dengan protein pada sel target, sehingga dapat membentuk suatu ikatan (Vasavirama, 2013). *Molecular probe* yang alamiah terdapat pada tubuh makhluk hidup, disebut dengan antibodi. Kerja dari antibodi tersebut adalah dengan mengenali sel asing yang masuk dalam tubuh, kemudian berikatan dengan sel target, dan membunuh sel asing tersebut (Tyagi, 2000). Berkaitan dengan hal tersebut, dunia semakin gencar mengembangkan *Molecular probe* ini untuk beberapa tujuan, seperti mendeteksi adanya suatu penyakit infeksi dalam tubuh (Bexfield, *et al.*, 2011), kontaminasi makanan (Zhang, *et al.*, 2012), identifikasi varietas tanaman (Zulfahmi, 2013), dan tes forensik (Pertiwi, 2015), yang mana semua tes tersebut dalam uji laboratorium molekuler berfungsi untuk identifikasi dan isolasi gen terkait (Vasavirama, 2013).

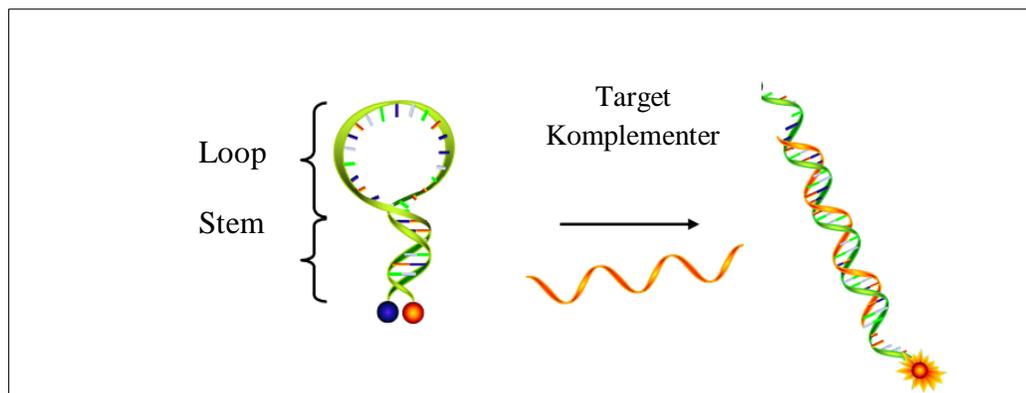
Secara garis besar, *probe* terdiri dari beberapa jenis, yaitu *probe* DNA, *probe* RNA, *probe* cDNA, *End labeling*, *Nick Translation*, *probe* Radiolabel (Vasavirama, 2013), serta *probe Molecular Beacon* (Suzuki & Yokoyama, 2015). Pengujian menggunakan *probe* tidak bisa dilakukan secara langsung, dibutuhkan suatu metode berbasis teknologi, untuk membantu melihat hasilnya. Beberapa metode yang bisa digunakan yaitu, spektrofotometri serapan, spektrofotometri fluoresensi (pendaran), metode elektrokimia, dan metode isotop (Suzuki & Yokoyama, 2015). Dari beberapa metode tersebut, spektrofotometri fluoresensi memiliki beberapa keunggulan, yaitu akan memberikan hasil uji yang sangat sensitif dan merupakan metode uji yang relatif mudah (Suzuki & Yokoyama, 2015). Konsep kerja dari spektrofotometri fluoresensi itu sendiri, dapat dilihat pada gambar 3. Salah satu *probe* yang menggunakan teknologi fluoresensi adalah *Molecular Beacon*.



**Gambar 3.** Konsep Flourosensi *Molecular Probes* dan aplikasinya (Suzuki & Yokoyama, 2015)

## 2. *Probe Molecular Beacon (MB)*

*Probe Molecular Beacon*, memiliki kegunaan yang sama dengan *probe* secara umum, yaitu mampu mendeteksi target berupa protein ataupun asam amino. Keunikan MB dibanding *probe* lainnya yaitu terletak pada bentuk dari *probe* itu sendiri. Pada Gambar 4 dijelaskan bahwa dalam keadaan tidak berikatan dengan target, MB terhibridisasi antara kedua rantainya yang terdiri dari *fluorophore* (pemancar) dan *quencher* (peredam). Saat terdenaturasi *fluorophore/quencher* akan terlepas, dan berikatan dengan DNA atau RNA target (*Kim, et al., 2008*). Imobilisasi antara AuNP dengan MB, dapat terjadi karena terdapat gugus thiol (SH) yang menempel pada *probe* MB, yang sebelumnya telah dimodifikasi menjadi *probe Thiolated Oligonucleutida*. Penempelan tersebut dipengaruhi oleh suhu sebagai agen pendenaturasi *probe* MB tersebut. Interaksi antara AuNP-MB dengan target, akan memberikan warna pada larutan uji dan akan terjadi flourosensi yang dapat diamati dengan metode kolorimeri dan spektrofotometri sebagai instrumen yang digunakan.



**Gambar 4.** Bentuk MB saat hibridisasi (kiri) dan saat berikatan dengan target (kanan) yang akan berflourosensi (*Kim, et al., 2008*)

## D. Metode Analisis

### 1. Kolorimetri

Metode analisis secara kimia terbagi menjadi 2, yaitu analisis secara kualitatif dan analisis kuantitatif. Analisis secara kualitatif, dilakukan untuk mengetahui keberadaan suatu zat pada sampel. Sedangkan secara kuantitatif, tidak hanya mengetahui keberadaan suatu zat, tetapi juga menyajikan informasi berupa jumlah/konsentrasi suatu zat dalam sampel. Secara kuantitatif, metode yang biasa digunakan adalah metode gravimetri, titrasi dan kolorimetri (Rusmawan, dkk, 2011). Kolorimetri merupakan suatu metode yang dapat digunakan untuk mengukur kadar suatu zat yang ingin dicari dalam sebuah sampel cairan dengan melihat intensitas warna yang dihasilkan (Rusmawan, dkk, 2011; Critchley, 2017). Menurut Critchley (2017), metode tersebut menggunakan alat yang disebut dengan Kolorimeter. Namun secara umum, dikenal sebagai Spektrofotometer. Terdapat perbedaan mendasar antara keduanya, yaitu dengan komponen yang tersedia, Kolorimeter hanya mampu mengukur dalam rentang 400-700 nm, sedangkan apabila ingin mengukur pada daerah Uv, maka harus melepas lampu filamen (untuk mendeteksi warna pada sampel) dan menggantinya dengan *light-emitting diode(s)* disesuaikan dengan warna sampel yang akan diuji. Sedangkan Spektrofotometer dapat dengan mudah mengukur sampel baik pada daerah Uv (200-399 nm) maupun daerah tampak (400-800 nm). Kemampuan Kolorimeter yang terbatas, menjadikan alat tersebut hanya berlaku untuk sampel cair yang berwarna. Apabila sampel yang ingin diteliti

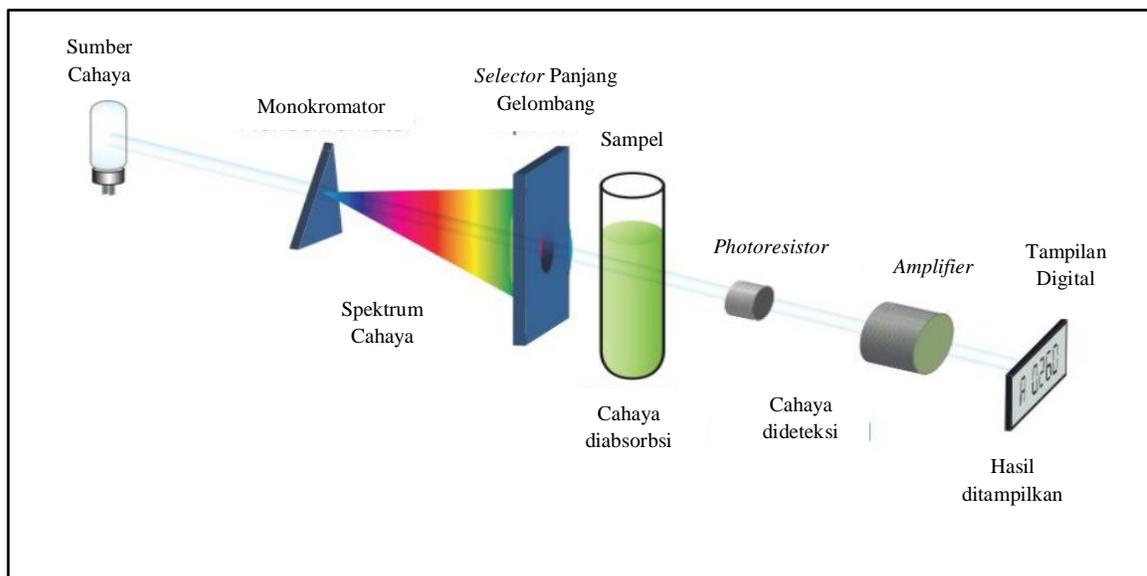
tidak berwarna, maka hanya akan terjadi interaksi antara reagen dan sampel uji, kemudian akan memberikan warna pada sampel. Analisisnya dengan membandingkan antara hasil uji dengan standar yang ada (Critchley, 2017).

## **2. Spektrofotometri**

Spektrofotometri merupakan suatu metode analisis yang menggunakan spektrofotometer sebagai instrumennya. Spektrofotometer, terdiri dari 2 komponen yaitu Spektrometer dan Fotometer. Kedua komponen tersebut bekerja sama untuk menghasilkan panjang gelombang (Spektrometer) dan absorbansi (Fotometer) tertentu dari suatu sampel (Kurniawati, 2017). Metode tersebut dapat digunakan untuk analisis secara kualitatif dan kuantitatif. Analisis dengan metode ini telah banyak dikembangkan karena beberapa keunggulannya, yaitu penggunaannya sederhana, dan dapat mendeteksi senyawa pada konsentrasi yang kecil. Sedangkan kekurangannya, tidak semua larutan dapat diuji dengan metode ini. Syarat suatu sampel dapat diuji dengan Spektrofotometer adalah jernih pada penampakannya dan memiliki gugus kromofor, yaitu gugus yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi. Panjang pendeknya keberadaan gugus kromofor pada suatu senyawa, akan menyebabkan tingkat absorbansi yang dihasilkan saat pengukuran. Prinsip kerja metode ini mengadopsi dari Hukum Lambert-Beer, yang mana terdapat interaksi antara radiasi elektromagnetik dengan materi (atom, ion, atau molekul). Cahaya yang dipancarkan pada komponen Spektrofotometer akan menembus larutan uji dan kuvet. Sebagian cahaya diserap dan sebagian lagi diteruskan melewati larutan uji, yang disebut dengan absorbansi (Dzulfianto,

2015). Terdapat 5 jenis Spektrofotometer berdasarkan aplikasinya, yaitu *Atomic Absorption Spectroscopy (AAS)*, *Mass Spectroscopy (MS)*, *Nuclear Magnetic Resonance (NMR)*, *Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy* dan Spektrofotometer Uv-Vis (Kurniawati, 2017).

Spektrofotometer Uv-Vis merupakan jenis Spektrofotometer yang bekerja pada daerah ultraviolet atau sinar tampak. Secara umum jenis sampel yang bisa digunakan yaitu sampel berwarna. Konsentrasi larutan (intensitas warna) yang dianalisis sebanding dengan jumlah sinar yang diserap (absorbansi) oleh zat yang terdapat dalam larutan tersebut. Dalam hal ini, hukum Lambert-Beer dapat menyatakan hubungan antara serapan cahaya dengan konsentrasi zat dalam larutan adalah berbanding lurus. Secara sederhana, proses pengujian menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis dapat dilihat pada Gambar 5.



**Gambar 5.** Prinsip Pengukuran Spektrofotometer Uv-Vis (Kurniawati,2017)

Dari gambar 5, dapat dijelaskan bahwa, sumber cahaya pada alat, akan meneruskan cahayanya pada *Monochromator* (terdiri dari berbagai jenis warna), kemudian cahaya dari *Monochromator* difokuskan untuk disesuaikan dengan sampel yang ada. Cahaya yang melewati sampel mengalami 2 hal, yaitu diserap (menghasilkan data absorbansi) dan diteruskan (menghasilkan data panjang gelombang). Selanjutnya data tersebut diteruskan pada detektor untuk ditampilkan pada layar monitor (Kurniawati, 2017). Secara teori, suatu sampel dengan karakter warna tertentu, akan menghasilkan panjang gelombang dalam rentang tertentu (Tabel 1).

**Tabel 1.** Panjang gelombang berdasarkan warna tampak dan warna komplementer pada sampel (Kurniawati, 2017)

<b>Panjang Gelombang (nm)</b>	<b>Warna Komplementer</b>	<b>Warna Tampak</b>
400 – 435	Ungu	Hijau Kekuningan
435 – 480	Biru	Kuning
480 – 490	Biru Kehijauan	Jingga
490 – 500	Hijau Kebiruan	Merah
500 – 560	Hijau	Ungu Kemerahan
560 – 580	Hijau Kekuningan	Ungu
595 – 610	Jingga	Biru Kehijauan
610 – 680	Merah	Hijau Kebiruan
680 – 700	Ungu Kemerahan	Hijau

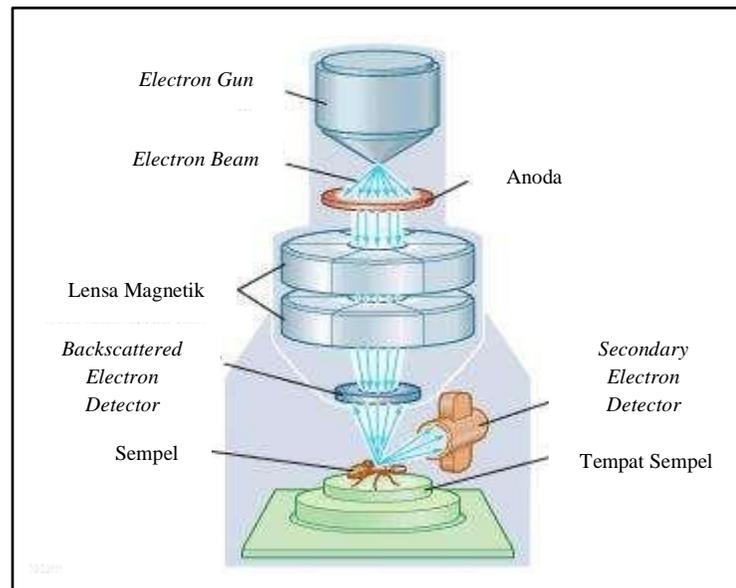
### 3. *Scanning Electron Microscope* (SEM)

*Scanning Electron Microscope* (SEM) merupakan sebuah instrumen yang memiliki fungsi seperti mikroskop cahaya pada umumnya. Perbedaan diantaranya, SEM mampu mengukur partikel dengan ukuran yang sangat kecil, hingga ukuran nanometer. SEM juga spesifik untuk melakukan pengukuran pada partikel yang mengandung logam, karena alat ini fokus pada sinar yang

dipancarkan dari elektron-elektron yang terlepas dari logam dibandingkan dengan energi foton yang dihasilkan dari logam tersebut. Namun, apabila sampel non-logam (tidak bersifat konduktif) tetapi ingin diuji menggunakan SEM ini, maka sampel tersebut harus dilapisi dengan sesuatu yang bersifat konduktif, dalam hal ini bisa dilapisi dengan logam Au.

Seiring dengan perkembangan zaman, SEM semakin banyak digunakan, karena memiliki beragam manfaat dan keuntungan. Beberapa keuntungan dari penggunaan SEM tersebut ialah dapat diaplikasikan secara luas pada berbagai jenis sampel, menyajikan bentuk 3 dimensi secara jelas, memberikan informasi berupa morfologi (bentuk dan ukuran), topografi (ciri permukaan dan tekstur), dan komposisi sampel, serta kristalografi (susunan partikel dalam sampel). Penggunaan SEM yang mudah dan cepat, serta preparasi sampel yang mudah menjadikan instrumen ini banyak digunakan oleh para peneliti (Choudhary & Priyanka, 2017).

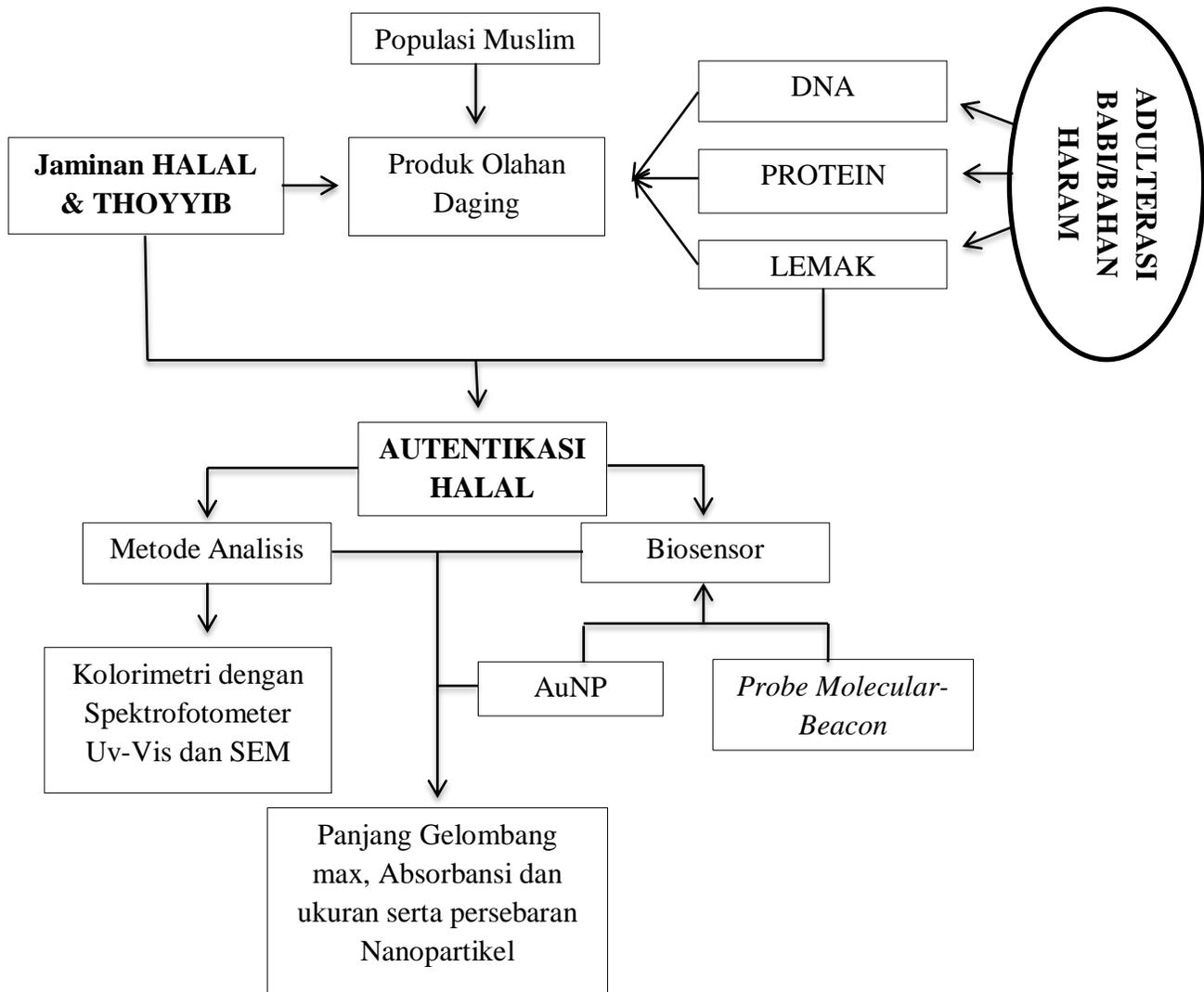
Kelemahan dari instrumen ini yaitu, terbilang cukup mahal dan membutuhkan ruang yang besar untuk mengoperasikan instrumen tersebut. SEM juga harus diletakkan pada ruangan yang terbebas kemungkinan gangguan listrik, magnetik atau getaran yang dapat mengganggu aliran listrik. Meskipun pengoperasian alat ini mudah, namun tetap dibutuhkan pelatihan khusus sebelumnya untuk menghindari kesalahan pada pengujian, Selain itu, SEM terbatas pada sampel padat, anorganik, dan jumlah yang cukup sedikit untuk muat di dalam ruang vakum yang cukup kecil. (Choudhary & Priyanka, 2017). Prinsip kerja dari SEM dapat dijelaskan pada Gambar 6.



**Gambar 6.** Ilustrasi Prinsip Kerja SEM (Pambudi, dkk, 2017)

Dari gambar 6 dapat dijelaskan secara rinci bahwa *electron gun* (*tungsten hairpin gun*) yang berfungsi sebagai katoda menghasilkan *electron beam* dari filamen sehingga mengakibatkan terjadinya pemanasan. Anoda kemudian akan membentuk gaya yang dapat menarik elektron melaju menuju ke anoda. Selanjutnya lensa magnetik akan memfokuskan elektron menuju suatu titik pada permukaan sampel. Sinar elektron kemudian akan memindai keseluruhan sampel. Ketika elektron mengenai sampel, maka akan terjadi hamburan elektron, baik *Secondary Electron* (SE) yang akan memberikan informasi topografi atau *Back Scattered Electron* (BSE) memberikan informasi nomor atom dan topografi dari permukaan sampel dan akan dideteksi oleh detektor dan dimunculkan dalam bentuk gambar pada monitor *Cathode Ray Tube* (CRT) (Farikhin, 2016).

### E. Kerangka Konsep



**Gambar 7.** Kerangka Konsep

## F. Hipotesis

1. Terdapat kondisi optimum sintesis nanopartikel emas untuk dapat dijadikan sebagai sistem deteksi halal dengan metode kolorometri, yaitu untuk suhu optimum sistem adalah 150 °C dan ukuran partikel yang dihasilkan yaitu 20 nm.
2. Nanopartikel emas (AuNP) dapat dijadikan sebagai platform imobilisasi *probe* MB untuk aplikasi autentikasi halal dengan metode kolorimetri.