

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Autentikasi Halal

Kata halal dalam Islam bermakna boleh atau legal, yang mengacu kepada makanan maupun produk yang dikonsumsi oleh Muslim dipadankan dengan kata *thoyyib* yang berarti baik. Halal disini mempunyai lingkup yang luas tidak cukup hanya memperhatikan sumbernya saja, keseluruhan proses pengadaannya pun terjamin dapat mendatangkan manfaat dan kebaikan bagi yang mengkonsumsi. Menurut Wahab (2004), halal, ketika digunakan dalam konteks makanan baik dalam perdagangan atau bisnis harus terjamin aspek kelegalannya menurut hukum Islam. Makanan yang menggunakan bahan dari hewan harus terjamin bahwa bahan tersebut berasal dari hewan yang halal, dan melalui proses penyembelihan yang sesuai dengan syariat Islam. Aturan ini mengikat dan wajib ditaati dikarenakan apa yang dimakan itu pula yang akan mempengaruhi pola pikir dan perilaku. Aspek yang kemudian juga menjadi penting adalah menghindarkan rantai suplai produk hewani dari potensi kontaminasi (Alqudsi, 2014). Persyaratan produk halal dan rantai suplai halal yang terstandar akan memberikan jaminan rasa aman dan ketenangan batin bagi konsumen Muslim.

Halal telah diterima sebagai salah satu poin dalam standar kualitas yang diaplikasikan pada suplai dan proses produksi suatu produk. Standar halal mencakup produk makanan, kosmetik, farmasi dan medis. Dalam memelihara standar halal,

supplier dan produsen halal harus tunduk pada ketentuan mutu halal yang diberlakukan oleh lembaga sertifikasi halal (Noordin, *et al.*, 2014). Bagi konsumen Muslim, membeli produk yang bersertifikat halal dapat menjamin kebersihan dan higienisitas, dimana konsep tersebut seiring dengan keinginan untuk memenuhi kesadaran hidup sehat (Mathewa, *et al.*, 2014). Begitu pula dengan konsumen non muslim yang saat ini ikut memandang kehalalan sebagai tolak ukur higienitas makanan dan menjadikannya sebagai gaya hidup (Fara *et al.*, 2016).

Produsen dan pengecer produk makanan seharusnya memberikan penerangan ke konsumen dan penampilan yang memberikan informasi secara jelas dan dapat diakses oleh konsumen. Pengembangan pesan promosi dapat mendorong konsumen untuk memikirkan nilai mutu, emosi, moneter, dan sosial terkait logo halal (Jamal & Sharifuddin, 2015). Hal ini juga dapat dipandang sebagai kesempatan berdakwah melalui komiti pangan.

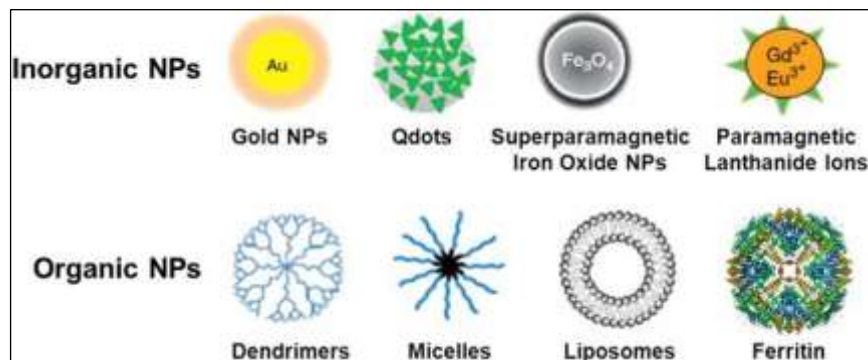
Indonesia sebagai Negara berpenduduk terbesar keempat di dunia, dihuni oleh mayoritas penduduk muslim dianggap sudah mampu menerapkan standar *thoyyib* (mutu) bagi peredaran produk-produk yang dikonsumsi oleh masyarakat, yakni sistem yang dikerjakan oleh BPOM (Badan Pengawasan Obat dan Makanan). Untuk menerapkan standar halal, pelaksanaannya dilakukan oleh sebuah badan pengawasan dan sertifikasi yang dilakukan oleh Majelis Ulama Indonesia (MUI) dalam hal ini LPPOM MUI. Sebelumnya LPPOM MUI belum mempunyai payung hukum yang kuat untuk menjalankan tugas dan kewajibannya. Sejak tahun 2014 DPR RI telah mengesahkan UU No. 33 tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal, yang berisi

ketentuan-ketentuan hukum yang mengatur tentang standardisasi dan sertifikasi produk yang beredar di Indonesia. Sejak saat diberlakukannya UU No. 33 tahun 2014 tanggung jawab LPPOM MUI akan diambil alih oleh BP JPH (Badan Penyelenggara Jaminan Produk Halal) yang akan bertanggung jawab kepada Presiden.

B. Pengembangan Nanopartikel

1. Nanopartikel

Nanopartikel adalah partikel yang terdispersi atau padatan dengan ukuran partikel berkisar 10–100 nm. Pada skala nano, modifikasi material dapat dilakukan untuk menciptakan materi yang memiliki ukuran, struktur, dan sifat yang dikehendaki dengan lebih efektif dan efisien. Materi berupa nanopartikel memiliki sifat yang unik, yang dapat dikontrol dan dimodifikasi ukuran, bentuk, sifat kimia, serta fungsionalisasi permukaannya (Gambar 1.) (Nagarajan & Hatlon, 2008).



Gambar 1. Bentuk-bentuk Nanopartikel (Xing *et al.*, 2014)

Nanopartikel memiliki beberapa morfologi seperti sferis, silinder, platelet, tube, dan lain-lain. Material nanopartikel telah banyak menarik peneliti karena material ini menunjukkan sifat fisika dan kimia yang sangat berbeda dari *bulk* materialnya, seperti

kekuatan mekanik, elektronik, magnetik, kestabilan termal, katalitik dan optik (Abdullah dkk., 2014). Pemanfaatan nanopartikel dilakukan dengan memodifikasi permukaan sesuai dengan kebutuhan aplikasi spesifik yang diinginkan. Nanopartikel yang disintesis harus dimodifikasi permukaannya pada beberapa kasus untuk menstabilkan nanopartikel karena partikel berskala nano menyebabkan sifatnya sangat reaktif secara kimia dan/atau agregasi secara fisik (Nagarajan & Hatlon, 2008). Potensi pengembangan nanoteknologi dalam hal ini nanopartikel di bidang pangan, pertanian, kesehatan, tekstil, material, teknologi informasi, komunikasi, dan sektor energi telah diteliti di sejumlah negara berkembang.

Tsuzuki (2009) menyebutkan beberapa aplikasi penggunaan nanopartikel sebagai berikut:

Tabel 2. Aplikasi penggunaan nanopartikel (Tsuzuki, 2009)

No	Bidang	Aplikasi
1	Tekstil	Bahan antinoda, bahan penutup luka, bahan penghantar listrik, serat polimer alami/sintesis
2	Kesehatan dan biomedis	Terapi kanker, biomarker, pengantar obat, pencitraan (MRI, IR), antibakteri, pelepasan obat yang terkontrol, proteksi UV
3	Industri	Katalis bahan kimia, pigmen nano, tinta nano, teknik refraktif indeks
4	Pangan dan Pertanian	Nutrasetikal, fungisida, katalis pemroses makanan, sensor analisis keamanan pangan, pengemas makanan

5	Elektronik	Sensor dengan sensitivitas yang tinggi, komputer quantum, sensor kimia, sensor gas, magnet berkekuatan tinggi, laser kuantum
6	Lingkungan	Sensor pengawasan polusi, katalis lingkungan, penangkap polutan, , penanganan air limbah
7	Energi	Katalis fuel cell, fotokatalisis produksi hidrogen, katalis zat tambahan bahan bakar

2. Nanopartikel Perak

Perak (Ag) merupakan salah satu unsur logam yang mempunyai nomor atom 47, massa atom sebesar 107,87 g/mol, dengan konfigurasi elektron [Kr] $4d^{10} 5s^1$. Nanopartikel perak (NP) merupakan partikel logam perak yang memiliki ukuran <100 nm (Lakshman *et al.*, 2016). Perak merupakan salah satu logam yang memiliki kualitas optik yang cukup baik setelah emas dengan harga yang lebih terjangkau. Selain itu, potensi pengembangan NP di berbagai bidang terbuka luas, diantaranya sebagai sensor dan antibiotik (Dubey *et al.*, 2010).

Pada bidang kesehatan penggunaan nanopartikel sebagai alat diagnostik memiliki prospek yang menjanjikan. Khususnya nanopartikel perak mendapatkan perhatian dunia sebagai sensor untuk molekul yang memiliki relevansi medis dan lingkungan seperti merkuri, *tricyclazole*, melamin dan glukosa. Karakteristik permukaan resonansi plasmon, stabilitas kimia, biokompatibilitas, preparasi yang mudah, murah, deteksi titik akhir yang mudah, serta sensitivitas dan selektivitas yang

tinggi membuat nanopartikel perak menjadi alternatif yang kuat untuk digunakan sebagai pendekatan dalam diagnosis chemosensing dan penyakit (Abdullah dkk., 2014).

3. Sintesis Nanopartikel Perak

Sintesis nanopartikel perak (AgNP) dapat dilakukan dengan metode fisika, kimia dan biologi. Selama ini nanopartikel perak dibuat melalui proses sintesis *bottom up* dengan cara kimiawi atau proses *top down* dengan cara fisika untuk mendapatkan ukuran, bentuk dan komposisi nanopartikel yang diinginkan (Tolaymat *et al.*, 2010). Menurut Bakir (2011) teknik *bottom up* sering juga dikenal dengan proses *selfassembly* yaitu dengan mencampurkan prekursor partikel yang dikehendaki dengan agen pereduksi dan agen penstabil berupa bahan-bahan kimia seperti PVA, PVP, Na Sitrat, NaBH₄ dan sebagainya.

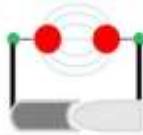

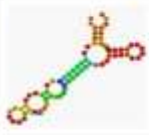


C. Imobilisasi Probe Molecular Beacon

1. Probe

Probe adalah molekul asam nukleat (DNA beruntai tunggal atau RNA) dengan ikatan kuat dengan target tertentu (DNA atau RNA urutan). Urutan basa *probe* dan target harus melengkapi satu sama lain, namun tidak harus sama persis (Tyagi *et al.*, 2000). Berbagai jenis dan bentuk *probe* disajikan pada gambar 2. Hibridisasi asam nukleat seperti *probe* adalah salah satu metode analisis yang paling sering digunakan dalam identifikasi. Teknik ini memanfaatkan sifat DNA yaitu dua untai asam nukleat yang komplemen akan saling mengikat (hibridisasi) dengan tingkat spesifisitas yang

tinggi. Sebaliknya, sekuens asam nukleat yang non komplemen tidak dapat berikatan secara spesifik serta dapat menurunkan temperatur/ titik leleh. Untuk mendeteksi DNA atau RNA tertentu dalam suatu campuran yang kompleks, isi campuran harus diimobilisasi pada membran dan diubah menjadi bentuk untai tunggal (Bajaj *et al.*, 2012).

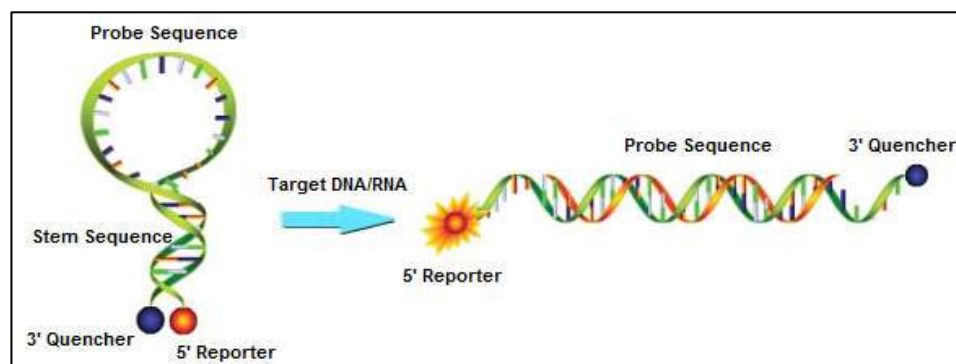
Hibridisasi (kombinasi *probe*-target) dapat terjadi ketika digunakan sistem pelabelan dan deteksi yang sesuai. *Probe* gen yang digunakan dalam berbagai teknik *blotting* dan *in situ* untuk deteksi urutan asam nukleat. Dalam pengobatan, mereka dapat membantu dalam identifikasi mikroorganisme dan diagnosis penyakit menular, penyakit turunan, dan lainnya.

	Activatable	Antibody	Aptamer	Lectin	Peptide
Molecular Probe					
Strengths	amplification ↑ T/B ratio targets	↑ specificity ↑ diversity ↑ affinity known targets	↑ specificity ↑ diversity ↑ affinity known targets	↓ specificity ↓ toxicity ↓ cost	↑ penetration ↑ clearance ↑ kinetics ↓ toxicity
Weaknesses	↓ specificity ↑ kinetics ? toxicity	↑ kinetics ↑ cost ↑ toxicity ↑ immunogenicity	↑ kinetics ↑ cost ? toxicity immunogenicity	↓ diversity ↓ affinity ↓ contrast	↓ affinity ? immunogenicity

Gambar 2. Macam-macam Probe (Elahi, 2014)

2. *Molecular Beacon*

Molecular Beacon merupakan *probe* oligonukleotida yang berbentuk seperti tangkai melengkung yang dapat berfluoresensi jika terhibridisasi dengan DNA atau RNA target seperti yang terlihat pada gambar 3. Terdiri dari *floroupher* dan *quencher*, saat tidak ada gen target tangkai akan menyatukan *floroupher* dan *quencher* agar menghambat terjadinya proses flurousensi. Tangkai akan terpisah saat *molecular beacon* berhibridisasi dengan gen target dan membentuk ikatan. Ikatan tersebut spesifik antara satu gen dengan gen lainnya, hanya sekuen yang berpasangan sempurna yang dapat berikatan dengan *molecular beacon*. Bagian melengkung dari molekul ini terdiri dari 15 sampai 25 nukleotida. Sedangkan bagian tangkainya adalah *floroupher* dan *quencher* (Tyagi & Kramer, 2012).



Gambar 3. Struktur *Molecular Beacon* (Wu et al., 2012)

Struktur *Molecular Beacon* (MB) yang mirip dengan jepit rambut memiliki keuntungan tersendiri. Pertama-tama mekanisme sinyal secara *light-up* memungkinkan MB melakukan deteksi sangat sensitif dan pemantauan asam nukleat secara *real time*. MB yang tidak dapat berikatan maka tidak dapat berfluoresensi. Hanya MB terhibridisasi dengan jumlah yang sebanding dengan DNA target yang

dapat menghasilkan sinyal fluoresensi tinggi. Keuntungan lain dari MB memiliki *background* rasio sinyal relatif tinggi sehingga menghasilkan sensitivitas deteksi yang juga tinggi. Berdasarkan mekanisme hibridisasi target, MB yang dirancang dengan baik dapat menghasilkan peningkatan fluoresensi 200-*fold* di bawah kondisi yang optimal (Kim *et al.*, 2008).

3. Imobilisasi Biomolekuler

Imobilisasi biomolekuler dapat diartikan sebagai penggabungan antara molekul biologi seperti enzim atau DNA dengan ligan yang spesifik. Imobilisasi enzim merupakan penggabungan suatu enzim dengan suatu matriks padat (penyangga) secara fisik, sehingga dapat digunakan berulang kali. Hal tersebut dilakukan karena enzim secara fisik terbatas, matriks polimer enzim dalam sebuah membran sering larut dalam pelarut (Elnashar *et al.*, 2014). Dalam penelitian Mohy (2014) disebutkan bahwa enzim yang telah diimobilisasi cenderung lebih stabil dibandingkan dengan enzim terlarut. Namun, terdapat kekurangan dari proses ini seperti keterbatasan difusi atau transfer massa dan perubahan kinetika. Penggabungan tersebut juga dapat dilakukan dengan menempelkan gugus-gugus fungsi seperti gugus tiol (SH) di ujung *Probe Molecular Beacon*. Kemudian baru terjadi imobilisasi dengan DNA target yang terlebih dahulu berikatan dengan AgNP sebagai biosensor (Kim *et al.*, 2008). *Probe Molecular Beacon* dalam penelitian ini berfungsi sebagai ligan spesifik tempat DNA target bergabung.

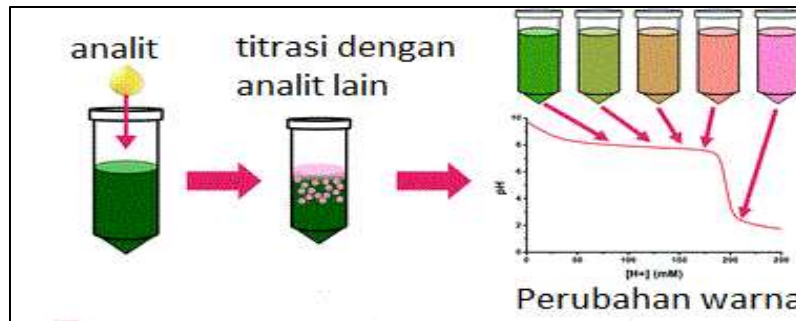
D. Metode Analisis

1. Kolorimetri

Metode analisis terbagi menjadi dua yaitu analisis kualitatif dan analisis kuantitatif. Analisis kualitatif berkaitan erat dengan identifikasi zat-zat yang ada dalam suatu sampel sehingga kandungannya diketahui. Analisis kuantitatif berhubungan dengan penetapan berapa banyak suatu zat terdapat di dalam suatu sampel. Beberapa teknik analisis kuantitatif yang umum digunakan di dalam laboratorium antara lain: analisis gravimetri, titrasi, dan kolorimetri. Kolorimetri merupakan suatu teknik analisis kuantitatif untuk sampel berwarna, yang digunakan untuk menentukan konsentrasi suatu zat berdasarkan intensitas cahaya warna larutan (Rusmawan dkk., 2011). Metode ini merupakan bagian dari analisis fotometri. Fotometri adalah bagian dari optik yang mempelajari mengenai kuat cahaya (*intensity*) dan derajat penerangan (*brightness*).

Prinsip kerja metode kolorimetri didasarkan pada warna larutan seperti pada gambar 4. Untuk dapat di analisis dengan menggunakan metode ini suatu zat harus berwarna terlebih dahulu atau diberikan warna apabila belum berwarna. Warna zat didapatkan dari gugus kromofor dan aoksokrom yang dimiliki suatu zat tertentu. Kromofor merupakan suatu atom atau gugus dalam senyawa organik yang mampu menyerap sinar ultraviolet/sinar tampak. Sedangkan aoksokrom adalah gugus fungsi suatu senyawa yang memiliki pasangan elektron bebas. Ketika aoksokrom dan kromofor berikatan akan menggeser pita absorpsi ke arah panjang gelombang yang lebih besar (Gandjar & Rohman, 2012). Umumnya prinsip kolorimetri ini melibatkan

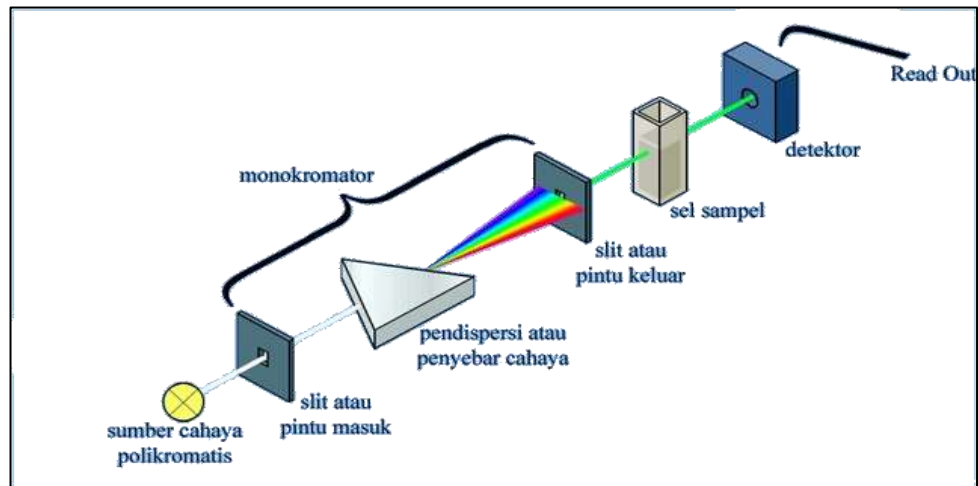
panjang gelombang yang dialirkan melalui alat yaitu spektrofotometer. Panjang gelombang tersebut dapat diserap atau diteruskan kembali melewati zat kemudian dapat terbaca absorbansi melalui detektor.



Gambar 4 Prinsip Kerja Metode Kolorimetri (Cho *et al.*, 2016)

2. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri adalah metode pengukuran serapan cahaya yang terdiri dari dua komponen alat yaitu spektrometer dan fotometer. Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi. Contoh alat spektrofotometer UV-Vis yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada gambar 6. Spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi panjang gelombang. Kelebihan spektrofotometer dengan fotometer dibanding yang lain adalah panjang gelombang dari sinar putih dapat lebih di deteksi. Pada fotometer filter dari berbagai warna yang mempunyai spesifikasi melewatkan trayek pada panjang gelombang tertentu (Gandjar & Rohman, 2007)



Gambar 5. Prinsip Kerja Spektrofotometer UV – Vis (Handayani, 2016)

Secara umum prinsip kerja spektrofotometri adalah spektrum elektromagnetik dibagi dalam beberapa daerah cahaya. Suatu daerah akan diabsorpsi oleh atom atau molekul dan panjang gelombang cahaya yang diabsorpsi dapat menunjukkan struktur senyawa yang diteliti. Spektrum elektromagnetik meliputi suatu daerah panjang gelombang yang luas dari sinar gamma gelombang pendek berenergi tinggi sampai pada panjang gelombang mikro (Marzuki, 2012). Spektrum absorpsi dalam daerah-daerah ultraviolet dan sinar tampak umumnya terdiri dari satu atau beberapa pita absorpsi yang lebar, semua molekul dapat menyerap radiasi dalam daerah UV-tampak. Prinsip kerja tersebut dapat dilihat secara jelas pada gambar 5.



Gambar 6. Spektrofotometri UV-Vis (Handayani, 2016)

Prinsip kerja spektrofotometri *UV-Vis* dalam menganalisis absorbansi larutan dan spektrum warna didasarkan pada suatu hukum yaitu hukum Lambert-Beer. Cahaya yang diserap diukur sebagai absorbansi (A) sedangkan cahaya yang dihamburkan diukur sebagai transmitansi (T). Hukum ini berbunyi: “Jumlah radiasi cahaya tampak (ultraviolet, inframerah dan sebagainya) yang diserap atau ditransmisikan oleh suatu larutan merupakan suatu fungsi eksponen dari konsentrasi zat dan tebal larutan”. Hukum Lambert-Beer ini kemudian ditulis dalam bentuk seperti pada Persamaan dibawah ini:

$$A = \epsilon b C$$

A = absorbansi (serapan)

ϵ = koefisien ekstingsi molar ($M^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

b = ketebalan kuvet (cm)

C = konsentrasi larutan (M)

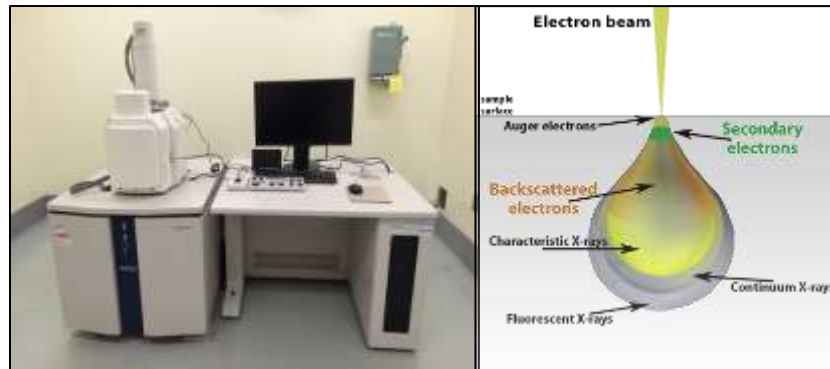
Secara kualitatif, absorpsi cahaya dapat diperoleh dengan pertimbangan absorpsi cahaya pada cahaya tampak. Kita melihat objek dengan bantuan cahaya yang diteruskan atau dipantulkan. Apabila cahaya polikromatis (cahaya putih) yang

mengandung seluruh spektrum panjang gelombang melewati daerah tertentu dan menyerap panjang gelombang tertentu, maka medium itu tampak berwarna. Karena panjang gelombang yang diteruskan sampai ke mata, maka panjang gelombang inilah yang menentukan warna medium. Warna yang tampak inilah disebut sebagai warna yang komplementer terhadap warna yang diabsorpsi (Neldawati dkk., 2013).

3. Scanning Electron Microscope

Scanning Electron Microscope (SEM) merupakan alat karakterisasi yang dapat digunakan untuk mengetahui profil permukaan dari sebuah sampel. Alat ini menggunakan sinar terfokus elektron berenergi tinggi untuk menghasilkan berbagai sinyal pada permukaan sampel padat. Sinyal yang berasal dari interaksi sampel electron memberikan informasi tentang sampel seperti morfologi eksternal (tekstur), komposisi kimia, struktur kristal dan orientasi bahan yang membentuk sampel (Sujatno dkk., 2015).

Pada sebagian besar aplikasi, data dikumpulkan melalui area yang dipilih dari permukaan sampel kemudian dihasilkan gambar dua dimensi yang menampilkan variasi spasial dalam properti ini. SEM konvensional mampu menggambarkan daerah dengan lebar sekitar 1 cm sampai dengan 2 mikron dalam mode *scanning* (perbesaran mulai dari 20x sampai 30.000x, resolusi spasial 50 untuk 100 nm). Selain itu, SEM juga dengan menggunakan EDX dapat melakukan analisis komposisi kimia secara kualitatif atau semi kuantitatif. Sedangkan untuk mengamati struktur kristal dan orientasi kristal digunakan SEM dengan EBSD.

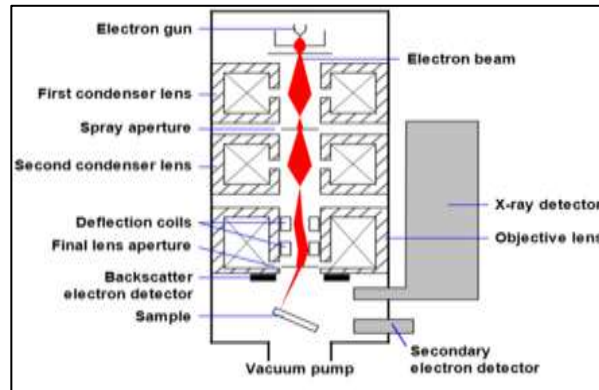


Gambar 7. Contoh alat dan prinsip kerja SEM (Mohammed & Abdullah, 2019)

Scanning Electron Microscope (SEM) menghasilkan gambar dengan memindai sampel dengan energi tinggi electron. Elektron berinteraksi dengan sampel kemudian membentuk elektron sekunder yang tercerai berai dan sinar x yang khas. Sinyal ini dikumpulkan oleh satu atau lebih detektor untuk membentuk gambar yang kemudian ditampilkan pada layar komputer. Ketika sinar elektron mengenai permukaan sampel elektron akan menembus sampai kedalaman beberapa mikron tergantung percepatan tegangan dan kepadatan sampel (Mohammed & Abdullah, 2019). Komponen penting yang ada di SEM seperti pada gambar 8 meliputi:

- a. *Electron Source ("Gun")*
- b. *Electron Lenses*
- c. *Sample Stage*
- d. *Detectors for all signals of interest*
- e. *Display / Data output devices*

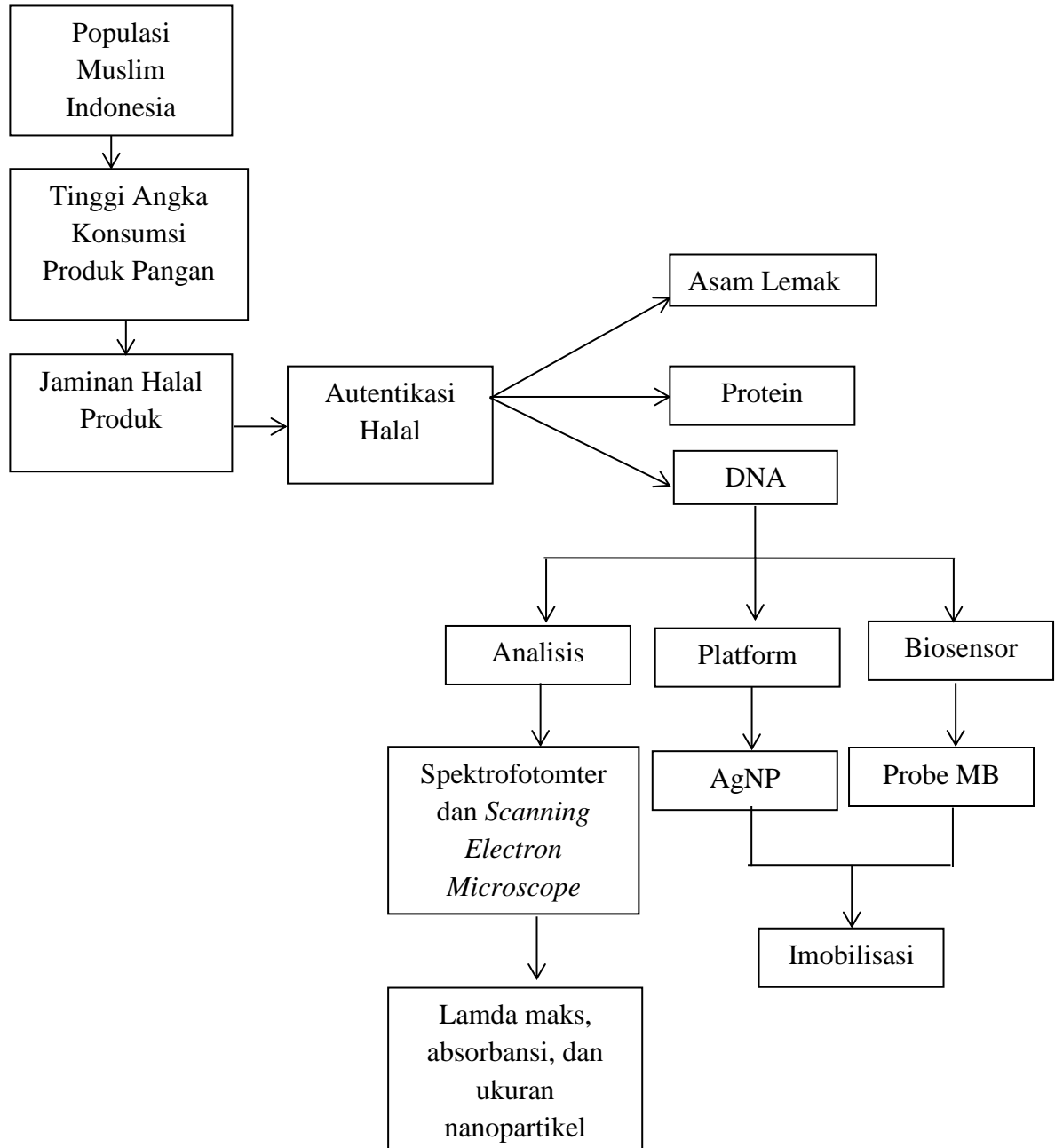
f. Infrastructure Requirements: Power Supply, Vacuum System, Cooling system, Vibration-free floor



Gambar 8. Komponen SEM (Choudhary & Ka, 2017)

Pada penelitian Choudhary & Ka (2017) dijelaskan keuntungan dan kekurangan penggunaan SEM. Keuntungan dalam penggunaan SEM adalah alat ini multifungsi dalam studi bahan padat, relatif mudah dioperasikan dan interpretasi data cepat (kurang lebih 5 menit/gambar untuk SE/BSE dan EDX analisis) serta data tersedia dalam format digital sehingga memudahkan dalam menganalisis. Sedangkan kekurangan penggunaan SEM adalah sampel harus dalam bentuk padatan sehingga dalam preparasinya sedikit lebih lama. Kemudian ukuran sampel maksimum terbatas harus sekecil mungkin, serta untuk beberapa instrumen sampel harus stabil dalam vakum.

E. Kerangka Konsep



Gambar 9. Kerangka Konsep

F. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

1. Terdapat kondisi optimum preparasi nanopartikel perak sebagai platform dalam pengembangan sistem deteksi halal berbasis probe MB.
2. Nanopartikel perak dapat dijadikan sebagai platform Imobilisasi probe *molecular beacon* untuk autentikasi halal dengan metode kolorimetri.