



TESIS – SK185401

**DETEKSI GELATIN BABI DALAM ES KRIM MENGGUNAKAN
SENSOR *QUARTZ CRYSTAL MICROBALANCE* (QCM)
TERMODIFIKASI NiO NANOPARTIKEL**

**AMALIA MUHARRAMAH
01221750012003**

**DOSEN PEMBIMBING
Prof. Dr.rer.nat. FREDY KURNIAWAN, M.Si.**

**PROGRAM MAGISTER
KIMIA ANALITIK
DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN ANALITIKA DATA
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2020**



TESIS – SK185401

**DETECTION OF PORCINE GELATINE IN ICE CREAM USING
QUARTZ CRYSTAL MICROBALANCE (QCM) SENSOR MODIFIED
NiO NANOPARTICLES**

**AMALIA MUHARRAMAH
01221750012003**

**SUPERVISOR
Prof. Dr.rer.nat. FREDY KURNIAWAN, M.Si.**

**MAGISTER PROGRAM
ANALYTICAL CHEMISTRY
DEPARTMENT OF CHEMISTRY
FACULTY OF SCIENCES AND ANALYTICAL DATA
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2020**

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

Tesis disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Magister Sains (M.Si.)

di

Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh :

AMALIA MUHARRAMAH

NRP : 01221750012003

Tanggal Ujian : 27 Agustus 2020

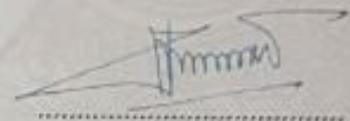
Periode Wisuda : September 2020

Disetujui oleh :

Pembimbing :

1. Prof. Dr.rer.nat. Fredy Kurniawan, S.Si., M.Si.

NIP. 19740428 199802 1 001



Penguji :

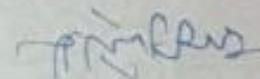
2. Suprpto, M.Si., Ph.D.

NIP. 19720919 199802 1 002



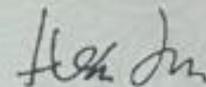
3. Arif Fadlan, D.Sc.

NIP. 19810809 200812 1 001



4. Dr. Hendro Juwono, M.Si.

NIP. 19610606 198803 1 001



Kepala Departemen Kimia
Fakultas Sains dan Analitika Data



Prof. Dr.rer.nat. Fredy Kurniawan, S.Si., M.Si.

NIP. 19740428 199802 1 001

Deteksi Gelatin Babi dalam Es Krim Menggunakan Sensor *Quartz Crystal Microbalance* (QCM) Termodifikasi NiO Nanopartikel

Nama Mahasiswa : Amalia Muharramah
NRP : 01221750012003
Dosen Pembimbing : Prof. Dr. rer. nat. Fredy Kurniawan, M.Si

ABSTRAK

Pemanfaatan gelatin secara luas menimbulkan kontroversi dan kekhawatiran bagi masyarakat muslim karena pada umumnya gelatin terbuat dari kulit babi dan sapi. Salah satu teknik analisis yang dapat membedakan gelatin sapi dan gelatin babi adalah sensor *Quartz Crystal Microbalance* (QCM). Sensor disiapkan menggunakan modifikasi nanopartikel polianilin dan nikel. Modifikasi dilapiskan pada permukaan elektroda emas QCM menggunakan metode *layer by layer* (LbL). Kinerja sensor diselidiki untuk penentuan gelatin dalam sampel es krim buatan sendiri dan es krim komersial. Percobaan dilakukan dalam berbagai konsentrasi es krim (100, 200, 300, 400, dan 500 ppm) pada pH 9. Pengukuran dibandingkan dengan standar gelatin sapi dan babi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sensor QCM dapat mengidentifikasi kandungan babi maupun sapi dalam sampel es krim. Gelatin babi dan gelatin sapi dapat terdeteksi berdasarkan nilai perubahan frekuensi yang dihasilkan saat pengukuran. Gelatin sapi memberikan nilai perubahan frekuensi yang negatif, sedangkan gelatin babi menghasilkan nilai perubahan frekuensi positif. Demikian halnya dengan sampel es krim dengan gelatin babi dan es krim dengan gelatin sapi. Es krim dengan gelatin sapi memberikan nilai perubahan frekuensi yang negatif sedangkan es krim dengan gelatin babi memberikan nilai perubahan yang positif. Selanjutnya, hasil pada sensor QCM ini dikonfirmasi menggunakan Real time PCR. Dan didapatkan nilai nilai C_q berturut-turut pada Real Time PCR dalam sampel gelatin babi, es krim homemade babi, es krim kode H dan es krim kode I adalah 34,73; 37,70; 38,82 dan 36,56. Hal ini berarti hasil dari real-time PCR sesuai dengan hasil pada sensor QCM, dimana untuk sampel gelatin babi, es krim homemade babi, es krim kode H dan es krim kode I memang teridentifikasi mengandung babi.

Kata kunci: es krim, PCR, Quartz Crystal Microbalance (QCM)

Detection of Porcine Gelatin in Ice Cream Using *Quartz Crystal Microbalance* (QCM) Sensor Modified NiO Nanoparticles

Name of student : **Amalia Muharramah**
NRP : **01221750012003**
Supervisor : **Prof. Dr. rer. nat. Fredy Kurniawan, M.Si**

ABSTRACT

The wide usage of gelatin in various products led to continuous controversy among muslim consumers because most of them are derived from porcine and bovine skin. One of the analytical techniques that can differentiate bovine gelatin and porcine gelatin is Quartz Crystal Microbalance (QCM) sensor. The sensor is prepared by modification of polyaniline and nickel nanoparticles. Modifications were deposited on the surface of the QCM gold electrode using the layer by layer (LbL) method. Sensor performance was investigated for the determination of gelatin in homemade ice cream and commercial ice cream samples. The experiments were carried out in various concentrations of ice cream (100, 200, 300, 400, and 500 ppm) at pH 9. Measurements compared with standard gelatin of bovine and porcine. The results showed that the QCM sensor could identify the content of porcine and bovine in ice cream sample. Porcine gelatin and bovine gelatin can be detected based on the value of the frequency change produced during measurement. Bovine gelatin gives the negative frequency shift, while porcine gelatin gives the positive frequency shift. As for the ice cream sample, it gives a negative frequency shift for the ice cream contain bovine gelatin, while it gives a positive frequency shift for ice cream added with porcine gelatin. Furthermore, the results on the QCM sensor were confirmed using Real time PCR. And the value of C_q value in a row on Real Time PCR in samples of porcine gelatin, homemade porcine ice cream, code H ice cream and code I ice cream were 34.73; 37.70; 38.82 and 36.56. This means that the results from real-time PCR match the results on the QCM sensor, where samples of porcine gelatin, porcine homemade ice cream, code H ice cream and code I ice cream were identified as containing porcine.

Keywords: ice cream, PCR, Quartz Crystal Microbalance (QCM)

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan kesempatan dan kemampuan pada penulis untuk menyelesaikan pengerjaan dan penulisan tesis yang berjudul “**Deteksi Gelatin Babi dalam Es Krim Menggunakan Sensor *Quartz Crystal Microbalance* (QCM) Termodifikasi NiO Nanopartikel**”. Tulisan ini tidak akan terwujud tanpa bantuan dan dukungan dari semua pihak. Oleh Karena itu penulis ingin berterima kasih kepada:

1. Prof. Dr.rer.nat. Fredy Kurniawan, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah memberikan motivasi serta masukan selama pengerjaan dan penulisan tesis.
2. Suprpto, M.Si., Ph.D selaku dosen wali yang telah memberikan motivasi dan masukan selama menempuh perkuliahan program magister.
3. Prof. Dr. Didik Prasetyoko, M.Sc selaku Ketua Program Studi Magister Kimia ITS.
4. Prof. Dr.rer.nat. Fredy Kurniawan, M.Si selaku Ketua Departemen Kimia.
5. Ibu, Bapak, dan kakak beserta keluarga besar tercinta atas dukungan, semangat, dan doa yang selalu menyertai penulis dalam penyelesaian tesis.
6. Teman-teman tim Fredy Project atas kebersamaan dan dukungannya.
7. Teman-teman S2 Kimia 2018 atas kebersamaan dan dukungannya.
8. Teman-teman seperjuangan di Laboratorium Instrumentasi dan Sains Analitik atas segala bantuan dan dukungannya.

Penulis menyadari bahwa tesis ini tidak lepas dari kekurangan. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Semoga Tesis ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Surabaya, 27 Agustus 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN TESIS.....	iii
ABSTRAK.....	iv
ABSTRACT.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	4
1.3. Batasan Masalah.....	4
1.4. Tujuan Penelitian.....	4
1.5. Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Gelatin.....	5
2.1.1. Struktur Gelatin.....	5
2.1.2. Sifat fisika dan kimia gelatin.....	6
2.1.3. Pembuatan Gelatin.....	8
2.2. Sensor.....	9
2.3. Quartz Crystal Microbalance (QCM).....	9
2.4. Elektrokimia.....	11
2.4.1. Sel Elektrolisis.....	12
2.4.2. Voltametri Siklik.....	12
2.5. Anilin.....	15
2.6. Es krim.....	16
2.7. Fourier Transform Infrared (FTIR).....	17
2.8. Nikel.....	17
2.8.1. Nikel Hidroksida.....	18
2.8.2. Nikel Oksida.....	19
2.9. Nanopartikel.....	19
2.10. Polymerase Chain Reaction (PCR).....	20
2.10.1. Tahapan PCR.....	20
2.11. Real-Time PCR.....	22
2.11.1. Prinsip Analisis.....	22
BAB 3 METODE PENELITIAN.....	25
3.1. Alat dan Bahan.....	25
3.1.1. Alat.....	25
3.1.2. Bahan.....	25
3.2. Prosedur Penelitian.....	26

3.2.1.	Sintesis Ni(OH) ₂ Nanopartikel	26
3.2.2.	Pembuatan Larutan Natrium Sitrat 0,3 M	26
3.2.3.	Rancangan Alat.....	27
3.2.4.	Pembuatan Sensor QCM	27
3.2.5.	Pembuatan Gelatin.....	28
3.2.6.	Pembuatan Es Krim	29
3.2.7.	Karakterisasi Gelatin	29
3.2.8.	Pembuatan Blanko dan Larutan Stok Gelatin	29
3.2.9.	Pengujian Sensor QCM	29
3.2.10.	Isolasi DNA	30
3.2.11.	Aamplifikasi DNA.....	31
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN		33
4.1	Sintesis Ni(OH) ₂ Nanopartikel	33
4.2	Modifikasi Sensor Quartz Crystal Microbalance (QCM).....	34
4.2.1	Polimerisasi Anilin	35
4.2.2	Pelapisan NiO Nanopartikel	37
4.3	Pembuatan dan Karakterisasi Gelatin	37
4.3.1	Pembuatan Gelatin.....	37
4.3.2	Pembuatan Es krim.....	38
4.3.3	Karakterisasi Gelatin	40
4.4.	Uji Kemampuan Deteksi Sensor QCM.....	41
4.4.1	Uji Kemampuan Sensor QCM Termodifikasi Polianilin (PANI)/NiO Nanopartikel.....	42
4.5.	Hasil Amplifikasi DNA Sampel Es Krim Menggunakan Real Time PCR.	48
BAB 5 KESIMPULAN		53
5.1	Kesimpulan	53
5.2	Saran	53
DAFTAR PUSTAKA.....		55
LAMPIRAN		61
LAMPIRAN A : SKEMA KERJA.....		61
LAMPIRAN B: PERHITUNGAN		68

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Struktur gelatin (Ge dkk., 2012).....	6
Gambar 2. 2 Kekuatan gel sebagai fungsi dari konsentrasi gelatin (GMIA, 2012).7	
Gambar 2. 3 Lempeng sensor Quartz Crystal Microbalance (QCM)	10
Gambar 2. 4 Satu set alat Quartz Crystal Microbalance (QCM)	11
Gambar 2. 5 Sel voltametri	13
Gambar 2. 6 Sinyal eksitasi potensial vs waktu pada voltametri siklik.....	14
Gambar 2. 7 Voltammogram siklik.....	15
Gambar 2. 8 Struktur anilin.....	15
Gambar 2. 9 Es krim	16
Gambar 2. 10. Nikel(II) Hidroksida.....	18
Gambar 2. 11. Nikel Oksida (NiO)	19
Gambar 2. 12. Siklus real time PCR	20
Gambar 2. 13. Instrumen real time PCR Seri CFX96.....	22
Gambar 2. 14. Bentuk kurva pada real time PCR.....	23
Gambar 3. 1 Skema sel elektrolisis nanopartikel Ni(OH) ₂	26
Gambar 3. 2 Rangkaian alat sensor Quartz Crystal Microbalance (QCM).....	27
Gambar 3. 3 Rangkaian alat polimerisasi anilin pada lempeng sensor QCM.....	28
Gambar 4.1 Perubahan warna pembentukan Ni(OH) ₂ nanopartikel pada: 5 menit (a); 30 menit (b); 1 minggu (c); 2 minggu (d)	34
Gambar 4.2 Skema modifikasi elektroda emas QCM dengan polianilin dan Ni(OH) ₂ nanopartikel (Pradini, 2017)	35
Gambar 4.3 Voltammogram polimerisasi anilin pada permukaan elektroda emas QCM pada rentang potensial -0,5 sampai +1,0 V, scan rate 50 mVs ⁻¹ (vs. Ag/AgCl) sebanyak 40 siklik.....	36
Gambar 4.4 Spektra FTIR gelatin sapi dan gelatin babi	40
Gambar 4.5 Pergeseran frekuensi sampel murni: gelatin sapi (A) dan gelatin babi (B) pada uji sensor QCM termodifikasi PANI/NiO nanopartikel	43
Gambar 4.6 Pergeseran frekuensi sampel pada uji QCM temodifikasi PANI/NiO nanopartikel dengan penambahan gelatin sapi pada sampel es krim homemade (A); pergeseran frekuensi sampel pada uji QCM temodifikasi PANI/NiO nanopartikel dengan penambahan gelatin babi (B).	45
Gambar 4.7 Pergeseran frekuensi sampel es krim komersial pada uji QCM temodifikasi PANI/NiO nanopartikel	46
Gambar 4.8 Kurva amplifikasi PCR untuk DNA babi pada sampel es krim dan gelatin.....	48
Gambar 4.9 Kurva amplifikasi PCR untuk DNA vertebrata pada sampel es krim dan gelatin.....	49

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Gelatin merupakan protein larut air yang berasal dari kolagen, yaitu bagian utama dari kulit, tulang, dan ligamen hewan, terutama sapi dan babi. Gelatin memiliki sifat yang mirip dengan kolagen karena kelembutan, elastisitas, dan pembentukan gel agar-agar yang reversible tergantung pada suhu (Yilmaz, 2013). Proses pembuatan gelatin meliputi penentuan hidrolisis dengan proses asam atau proses basa, ekstraksi dengan suhu tinggi, sterilisasi, dan pengeringan (Demirhan dkk., 2012).

Kemampuannya membentuk gel menjadikan gelatin banyak dimanfaatkan dalam industri makanan & minuman, industri farmasi, kecantikan dan industri kimia (Hanani dkk, 2012). Pada industri makanan, gelatin berfungsi sebagai bahan pengemulsi (*emulsifier*), pembuat gel (*gelling agent*), penebal (*thickener*), pengatur gel (*setting agent*), (*clarifying agent*), gel penahan air (*water-retaining agent*) dan stabilisator dalam pembuatan *marshmallow*, es krim, permen, *jelly*, dan pengolahan daging (Grundy, 2016).

Salah satu produk yang mengandung gelatin yang saat ini paling banyak dicari oleh konsumen dari anak-anak hingga orang dewasa adalah es krim. Berdasarkan survei London Psychiatric Institute, Inggris (Kompas-2017), menyatakan bahwa menurut monitor Euro, pasar es krim Indonesia sangat besar, mencapai 158 juta liter dan terbesar di Asia Tenggara. Proyeksinya adalah bahwa pada 2018 pertumbuhan pasar es krim akan mencapai 240 juta liter atau rata-rata pertumbuhan 8,75%. Masih menurut data monitor Euro, Wilayah Asia Pasifik mengendalikan pasar es krim terbesar sekitar 30% dari total pasar es krim dunia. Penggunaan yang signifikan tersebut menyebabkan gelatin diproduksi dalam jumlah besar.

Peranan gelatin yang cukup signifikan pada banyak bidang membuat gelatin kemudian diproduksi dalam jumlah yang banyak untuk memenuhi kebutuhan berbagai sektor industri. Berdasarkan survei yang telah dilakukan, produksi gelatin mencapai 326.000 ton tiap tahunnya, dengan bahan baku kulit babi (46%), sapi

(29,4%), tulang (23,1%), dan bahan baku lainnya (1,5%) (Karim dan Bhat, 2009; Yilmaz dkk., 2013). Di Eropa sendiri, sekitar 80% gelatin diproduksi dari kulit babi (Demirhan dkk., 2012). Gelatin babi banyak disalahgunakan oleh pedagang makanan karena harganya yang lebih murah namun sifat fisik serta kimianya tidak jauh berbeda dengan gelatin yang berasal dari hewan halal/*kosher* misalnya sapi.

Secara fisik, seperti bau, warna dan struktur tampilan gelatin sapi mirip dengan gelatin babi yang menyebabkan keduanya sulit dibedakan secara langsung. Selain itu, masyarakat juga kurang memahami tentang tipe gelatin A dan gelatin B. Gelatin tipe A merupakan gelatin yang dihasilkan dengan proses hidrolisis asam, bahan baku yang digunakan adalah kulit babi, kulit ikan laut, atau bahan baku tulang (Grundy dkk., 2016). Sedangkan, gelatin tipe B merupakan gelatin yang dihasilkan dengan proses hidrolisis basa dan bahan baku yang digunakan adalah kulit dan tulang dari hewan tua (Baziwane and He, 2007). Namun, masyarakat sering menganggap bahwa produk berlabel gelatin tipe B adalah produk yang menggunakan gelatin babi. Hal ini membuat beberapa golongan masyarakat seperti Muslim yang tidak diperbolehkan mengkonsumsi babi menginginkan adanya pemberian label mengenai jenis gelatin yang digunakan pada makanan-makanan yang diproduksi (Grundy dkk., 2016). Faktor-faktor tersebut membuat para peneliti melakukan identifikasi dengan berbagai metode untuk membedakan gelatin sapi dan gelatin babi.

Beberapa penelitian terdahulu telah dilaporkan mengenai metode-metode yang telah dilakukan untuk mendeteksi jenis gelatin baik gelatin sapi maupun gelatin babi. Hidaka dan Liu (2003) pernah melakukan deteksi jenis gelatin dengan metode presipitasi, dengan metode tersebut gelatin dapat dideteksi pada konsentrasi 0,5 mg/mL untuk gelatin yang berasal dari tulang sapi dan pada konsentrasi 4,0 mg/mL untuk gelatin yang berasal dari kulit babi. Selanjutnya metode spektroskopi *Fourier Transform Infrared* (FTIR) juga pernah dilakukan oleh Hashim dkk., 2010; Rahmawati dkk., 2015; Cebi dkk., (2016). Selain itu, deteksi gelatin dengan uji protein juga dilakukan menggunakan beberapa metode seperti *High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy* (HPLC-MS) oleh (Zhang dkk., 2008; Zhang dkk., 2009), dan *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) (Venien dan Levieux, 2005; Doi dkk., 2009). Penelitian-penelitian

tersebut dapat mendeteksi jenis gelatin dalam makanan akan tetapi masih memiliki beberapa kekurangan seperti analisis yang rumit, waktu operasional yang lama, biaya yang cukup tinggi, serta adanya kemungkinan protein yang telah terdenaturasi saat proses pembuatan makanan. Deteksi gelatin babi kemudian dikembangkan menggunakan sensor *Quartz Crystal Microbalance* (QCM).

Penggunaan QCM sebagai sensor sudah banyak dikembangkan. Beberapa orang yang telah mengembangkannya, Candle dan Kurniawan (2016) serta Nugroho dan Kurniawan (2015) memvariasi pH pada saat pengukuran larutan gelatin dengan sensor QCM, Baskara dan Kurniawan (2016) menguji larutan gelatin dengan sensor QCM dikombinasi dengan metode voltametri siklik serta Pradini dan Kurniawan (2017) memodifikasi permukaan sensor QCM untuk mendeteksi gelatin babi pada permen marshmallow. Casero, dkk (2010) menjelaskan bahwa operasional QCM dapat memberikan hasil pengukuran yang cepat, mudah dan *real time*. Deteksi jenis gelatin babi dan sapi menggunakan QCM termodifikasi NiO nanopartikel, berhasil dibedakan melalui perubahan nilai frekuensi yang dihasilkan dari pengujian (Nugroho dan Kurniawan, 2015). Hal ini disebabkan adanya perbedaan kekuatan ikatan antara gelatin sapi dengan NiO nanopartikel dan gelatin babi dengan NiO nanopartikel. QCM menunjukkan kinerja sensitivitas yang baik untuk keduanya pada fase gas dan cair. Ketika target analit dilampirkan pada permukaan QCM (adsorben) maka akan terjadi perubahan massa pada sensor. Hasil perubahan massa akan menyebabkan terjadinya perubahan frekuensi resonansi (Sharma dkk., 2014).

QCM saat ini telah sering digunakan sebagai sensor karena responnya yang cepat dan sensitivitas tinggi. Dalam penelitian ini, peneliti menyajikan metode untuk mengidentifikasi gelatin halal (sapi) dan gelatin non-halal (babi) menggunakan QCM yang dimodifikasi sensor. Berdasarkan penjelasan tersebut, maka pada penelitian ini dilakukan pembuatan dan pengembangan sensor selektif gelatin babi menggunakan QCM. Peneliti membuat sensor QCM dengan elektrodeposisi polianilin / senyawa nikel pada permukaan sensor QCM menggunakan teknik deposisi lapis demi lapis (LbL). Selanjutnya, hasil yang didapat nantinya juga akan di konfirmasi menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

1.2. Rumusan Masalah

Penambahan gelatin pada makanan hingga saat ini terus dilakukan tanpa memberikan informasi mengenai jenis gelatin tersebut. Oleh karena itu perlu dilakukan uji untuk mengetahui jenis gelatin yang digunakan. Beberapa penelitian untuk mendeteksi gelatin babi sebelumnya telah dilakukan dengan berbagai metode termasuk menggunakan sensor *Quartz Crystal Microbalance* (QCM) yang dimodifikasi menggunakan nanopartikel NiO. Sensor tersebut berhasil membedakan gelatin sapi dan gelatin babi secara signifikan dengan proses analisis yang cepat, mudah, dan memiliki sensitivitas yang tinggi. Sensor ini telah diaplikasikan untuk mendeteksi gelatin sapi dan babi pada sampel marshmallow. Namun sensor tersebut belum pernah diaplikasikan pada sampel es krim. Maka pada penelitian ini dibuat sensor untuk mendeteksi gelatin babi dan sapi dalam sampel makanan es krim menggunakan sensor *Quartz Crystal Microbalance* (QCM) termodifikasi NiO nanopartikel.

1.3. Batasan Masalah

Pada penelitian ini sampel es krim yang dideteksi menggunakan QCM adalah sampel es krim *homemade* yang telah ditambahkan gelatin sapi maupun babi dan beberapa sampel es krim komersial.

1.4. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan sensor *Quartz Crystal Microbalance* (QCM) termodifikasi nanopartikel NiO untuk mendeteksi gelatin babi dalam es krim.

1.5. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi sebagai cara alternatif untuk mendeteksi adanya gelatin babi menggunakan sensor *Quartz Crystal Microbalance* (QCM) termodifikasi NiO nanopartikel dalam beberapa jenis makanan yang beredar luas di masyarakat seperti es krim.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

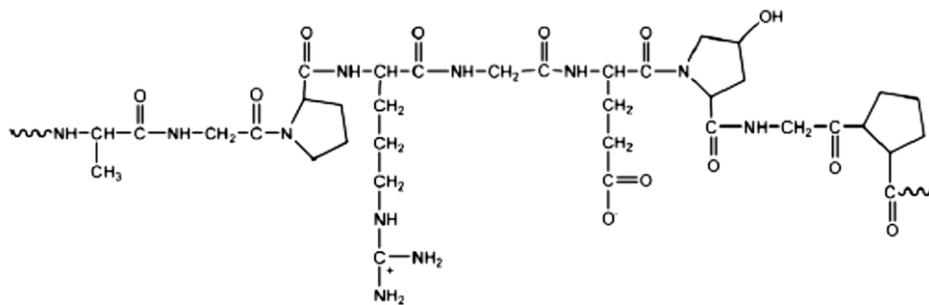
2.1. Gelatin

Gelatin merupakan suatu protein derivat yang larut dalam air, tidak berwarna (transparan), tidak berasa, dan diperoleh melalui hidrolisis parsial kolagen yang berasal dari kulit, tulang, maupun jaringan ikat pada hewan. Sumber bahan baku gelatin dapat berasal dari sapi (tulang dan kulit jangat), babi (hanya kulit), dan ikan (kulit) (Hastuti dan Sumpe, 2007). Konversi kolagen menjadi gelatin biasanya didasarkan pada pengaturan suhu saat ekstraksi yang bertujuan untuk mencegah denaturasi protein pada suhu tinggi. Gelatin umumnya diekstraksi pada suhu di atas 50 °C yang dinaikkan secara bertahap 55, 60, 70, 80 dan 90 °C dari awal reaksi sampai akhir reaksi secara berurutan (Baziwane dan He, 2007).

2.1.1. Struktur Gelatin

Seperti kolagen yang merupakan protein, gelatin juga tersusun atas molekul-molekul polipeptida yang kompleks dengan komposisi asam amino yang sama. Bila ditinjau dari strukturnya seperti pada Gambar 2.1 gelatin merupakan makromolekul dengan berat molekul berkisar antara 20.000-200.000 Da. Terdapat 18 jenis asam amino yang ada pada gelatin, lima jenis yang paling banyak adalah glisin (26,4-30,5%), prolin (14,8-18%), hidroksiprolin (13,3-14,5%), asam glutamat (11,1-11,7%), dan alanin (8,6-11,3%). Sedangkan sisanya dari yang paling banyak hingga paling sedikit secara berurutan adalah arginin, asam aspartat, lisin, serin, leusin, valin, fenilalanin, threonin, isoleusin, hidroksilisin, histidin, metionin, dan tirosin (Keenan, 2000).

Gelatin terdiri dari urutan asam amino dengan tripeptida yang berulang, yaitu glisin-X-Y, dimana X-Y umumnya adalah prolin dan 4-hidroksiprolin yang membuat gelatin memiliki kemiripan sifat dengan kolagen, seperti gelatin bersifat elastis, lembut, dan dapat membentuk gel secara *thermoreversible* (Yilmaz dkk., 2013)



Gambar 2. 1 Struktur gelatin (Ge dkk., 2012)

2.1.2. Sifat fisika dan kimia gelatin

Gelatin memiliki sifat fisika dan kimia yang berpengaruh terhadap mutu gelatin. Sifat fisika dan kimia gelatin meliputi:

1. Kemampuan untuk membentuk gel

Gelatin dapat membentuk gel secara *thermoreversible* ketika bereaksi dengan air. Butiran gelatin (*granule*) dengan konsentrasi tinggi (lebih dari 0,5%) yang dimasukkan ke dalam air dingin akan mengembang karena gelatin mampu menyerap air sebanyak 5-10 kali massanya. Hal ini menyebabkan viskositas larutan meningkat hingga kemudian membentuk gel. Saat dipanaskan pada suhu 30-40 °C, gelatin dalam bentuk gel akan larut membentuk larutan gelatin. Oleh karena itu gelatin dalam bentuk gel cenderung meleleh ketika dimakan (*melt in the mouth*) (Mariod dkk., 2013).

2. Kelarutan

Gelatin larut dalam air dan alkohol polihidrat seperti gliserol dan propilen glikol serta pelarut organik polar seperti asam asetat, trifluoroetanol, dan formamida. Sedangkan pada pelarut organik yang kurang polar seperti aseton, etanol, dan eter, gelatin tidak dapat larut.

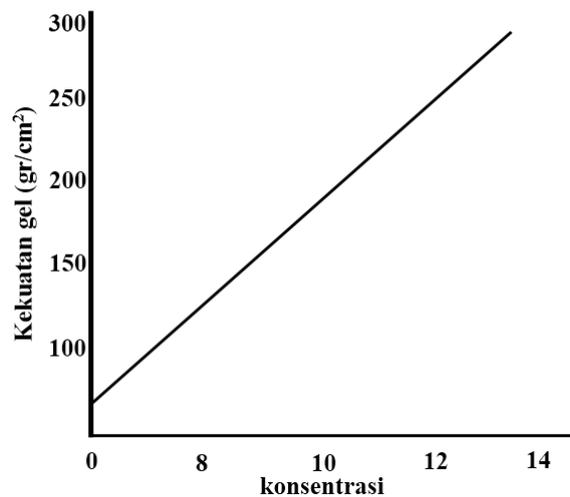
3. Sifat amfoter

Larutan gelatin bersifat amfoter, dapat bertindak sebagai asam ataupun basa. Sifat amfoter pada gelatin disebabkan oleh gugus fungsi asam amino pada asam amino terminal dan gugus fungsi karboksilat. Di dalam larutan asam, gelatin bermuatan positif dan bermigrasi sebagai kation, sedangkan di dalam larutan basa gelatin bermuatan negatif dan bermigrasi sebagai anion (Keenan, 2000). pH pada titik *intermediate*, dimana total muatan adalah nol dan tidak ada perpindahan

muatan yang terjadi, disebut dengan pH isoelektrik. Untuk gelatin tipe A memiliki pH isoelektrik antara 7-9. Pada gelatin tipe B memiliki kisaran pH isoelektrik yang lebih sempit yaitu 4,8 sampai 5,2 (GMIA, 2012).

4. Kekuatan gel

Kekuatan gel bergantung pada konsentrasi gelatin, pH, dan suhu. Kemampuan gelatin untuk membentuk gel merupakan salah satu sifat gelatin yang paling penting. Gelatin memiliki kemampuan untuk membentuk dan menstabilkan ikatan hidrogen dengan molekul air untuk membentuk gel yang stabil. Kekuatan gel juga dikenal dengan *bloom strength*. *Bloom strength* didefinisikan sebagai berat dalam satuan gram yang diberikan pada suatu permukaan gel dengan diameter 12,7 mm untuk menghasilkan lekukan sedalam 4 mm (Keenan, 2000). Pada Gambar 2.2 ditunjukkan semakin besar konsentrasi gelatin maka kekuatan gel yang dihasilkan semakin tinggi.



Gambar 2. 2 Kekuatan gel sebagai fungsi dari konsentrasi gelatin (GMIA, 2012)

Produk komersial umumnya memiliki kekuatan gel berkisar antara 50 sampai 300 bloom (gram) untuk setiap 6,67% konsentrasi gelatin (Baziwane dan He, 2007).

5. Viskositas

Viskositas larutan gelatin dipengaruhi oleh konsentrasi, suhu, berat molekul, pH, zat aditif, dan pengotor. Viskositas gelatin meningkat seiring dengan

bertambahnya konsentrasi gelatin dan berkurangnya suhu. Penambahan garam dapat menyebabkan berkurangnya viskositas gelatin (GMIA, 2012).

2.1.3. Pembuatan Gelatin

Terdapat beberapa tahapan dalam proses pembuatan gelatin dari bahan baku sampai menjadi gelatin yang siap digunakan. Tahapan-tahapan tersebut meliputi pencucian, ekstraksi, pemurnian, pemekatan konsentrasi, dan pengeringan (Johnston-Banks, 1990). Hidrolisis kolagen dalam pembuatan gelatin sendiri dibagi menjadi dua, yaitu hidrolisis asam dan hidrolisis basa.

Hidrolisis asam (proses asam) dilakukan untuk bahan baku yang berasal dari kulit babi, kulit ikan, dan kadang-kadang tulang. Bahan baku tersebut direndam dalam larutan asam seperti HCl selama beberapa hari kemudian dipanaskan dengan suhu awal 50 °C yang perlahan dinaikkan hingga mendidih. Hal ini bertujuan untuk mendenaturasi dan melarutkan kolagen hingga diperoleh gelatin. Gelatin yang dihasilkan dari proses asam disebut dengan gelatin tipe A yang memiliki pH isoelektrik antara pH 7-9 (Baziwane dan He, 2007).

Hidrolisis basa (proses basa) dilakukan untuk bahan baku yang berasal dari sapi. Mula-mula bahan baku tersebut direndam dalam larutan Ca(OH)_2 selama beberapa minggu atau beberapa bulan untuk memutus jaringan ikatnya. Selanjutnya bahan baku tersebut dinetralkan dengan penambahan asam dan dicuci untuk menghilangkan garam yang terbentuk (Mustollah, 2016). Gelatin yang dihasilkan dari proses basa disebut dengan gelatin tipe B yang memiliki pH isoelektrik dengan rentang yang lebih sempit yaitu 4-5 (Baziwane dan He, 2007).

Gelatin banyak dimanfaatkan dalam berbagai industri dan pengolahan produk pangan. Pada industri farmasi, gelatin dimanfaatkan sebagai bahan pembuat kapsul. Dalam bidang fotografi gelatin digunakan sebagai pelapis film. Sedangkan pada proses pengolahan produk pangan, gelatin memiliki peran yang cukup penting seperti pada pembuatan es krim, gelatin berfungsi sebagai pembentuk *foam* dan stabilisator, sebagai pembentuk gel (*gelling agent*) pada pembuatan permen lunak (*jelly, marshmallow, taffy*, dan lain-lain), dan juga sebagai pembungkus makanan yang dapat dimakan (*edible coating*) (Pope, 1992).

2.2 Sensor

Menurut Hulanicki dkk., (1991) sensor merupakan alat yang mampu menangkap fenomena baik fisika maupun kimia untuk selanjutnya diubah menjadi sinyal listrik. Fenomena fisika yang mampu memberikan rangsang atau stimulus bagi sensor untuk menghasilkan sinyal elektrik antara lain suhu, tekanan, gaya, tegangan, maupun arus. Sedangkan fenomena kimia dapat berupa pH dan konsentrasi suatu zat kimia yang digunakan baik cairan maupun gas.

Suatu sensor memiliki beberapa karakteristik yang ditentukan dari kemampuan sensor dalam mengenali zat yang ingin dideteksi dengan baik. Kemampuan mendeteksi zat tersebut meliputi (Bochenkov dan Sergeev, 2010):

1. Sensitivitas

Sensitivitas adalah perubahan sinyal yang terukur per satuan konsentrasi zat. Sensor dengan sensitivitas yang tinggi mampu mendeteksi suatu zat tertentu dengan konsentrasi yang sangat kecil bila dibandingkan dengan konsentrasi zat lain di sekitarnya.

2. Selektivitas

Merupakan kemampuan suatu sensor untuk menyeleksi suatu zat yang ingin dideteksi dengan adanya pengaruh (*interference*) dari zat lain di sekitarnya.

3. Waktu respon dan waktu *recovery*

Waktu respon adalah waktu yang dibutuhkan sensor untuk mengenali zat yang dideteksinya. Sementara waktu *recovery* adalah waktu yang dibutuhkan sensor untuk kembali ke keadaan awal (*initial value*) setelah digunakan. Semakin cepat waktu respon dan waktu *recovery* maka semakin baik sensor tersebut.

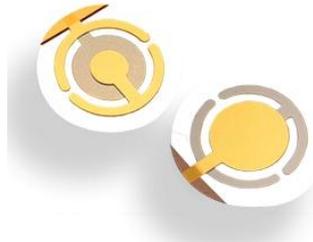
4. Stabilitas dan daya tahan

Stabilitas merupakan kemampuan sensor untuk memberikan hasil yang sama secara konsisten pada periode waktu tertentu. Sedangkan daya tahan menunjukkan seberapa lama sensor tersebut dapat digunakan secara kontinyu.

2.3 Quartz Crystal Microbalance (QCM)

Quartz Crystal Microbalance (QCM) merupakan suatu osilator mekanik yang terdiri dari kristal kuarsa (Quartz) yang memiliki bentuk potongan-AT (*AT-cut crystal*) dengan elektroda logam yang terlapis pada kedua sisinya. Gambar 2.3

merupakan lempeng *Quartz Crystal Microbalance (QCM)* yang terlapis logam emas di kedua sisinya yang berfungsi sebagai elektroda. Berdasarkan prinsip kerja *transducer*, *Quartz Crystal Microbalance (QCM)* termasuk pada jenis sensor massa dengan kemampuan mendeteksi perubahan massa berdasarkan perubahan frekuensi material piezoelektrik, dalam hal ini adalah kristal kuarsa.



Gambar 2.3 Lempeng sensor Quartz Crystal Microbalance (QCM)

Piezoelektrisitas merupakan prinsip dasar dari QCM. Pada tahun 1880, fenomena piezoelektrik ditemukan oleh Jacques Curie dan Pierre Curie dan pertama kali dimanfaatkan sebagai sonar pada kapal laut untuk mendeteksi kedalaman laut. Material-material piezoelektrik pada umumnya merupakan material-material asentrik seperti *Rochelle salt*, *tourmaline* dan kuarsa. Ketika material tersebut diberi tekanan maupun regangan, maka material tersebut akan menghasilkan muatan listrik, keadaan ini disebut dengan efek piezoelektrik (*piezoelectric effect*). Sedangkan ketika sejumlah muatan listrik diberikan pada suatu material, kemudian material tersebut merenggang ataupun merapat (deformasi), hal ini disebut dengan *converse piezoelectric effect*. Sifat inilah yang dimanfaatkan untuk menghasilkan resonansi listrik-mekanik, sehingga kristal akan bergetar pada frekuensi alami tertentu jika diberi listrik. Frekuensi alami ini ditentukan oleh potongan, ukuran dan bentuk, serta massa dari keping kristal.

Pada tahun 1959, Sauerbrey mengemukakan adanya korelasi antara perubahan frekuensi dengan perubahan massa pada material piezoelektrik. Hasil penemuan ini diwujudkan dalam persamaan Sauerbrey berikut ini (SRS, 2011) :

$$\Delta f = -C \cdot \Delta m \quad (2.1)$$

dimana:

- Δf = perubahan frekuensi yang teramati (Hz)
- C = faktor sensitifitas kristal (56,6 Hz $\mu\text{g}^{-1} \text{cm}^2$ untuk 5 MHz kristal kuarsa *AT-cut* pada suhu kamar)

Δm = perubahan massa per satuan luas (g/cm^2)

Dari penemuan ini kemudian dikembangkan suatu alat yang disebut *Quartz Crystal Microbalance (QCM)* dengan kristal kuarsa dengan jenis potongan-AT (*AT-cut crystal*) sebagai material piezoelektrik. Jenis potongan-AT dipilih karena memiliki beberapa keuntungan diantaranya tingkat sensitifitas kristal terhadap perubahan suhu yang tidak terlalu baik sehingga tidak sampai mengganggu pengukuran (Casero dkk., 2010). Saat akan digunakan untuk pengukuran, lempeng *Quartz Crystal Microbalance (QCM)* dipasang pada *crystal holder* dan selanjutnya dirangkai pada *mainboard* seperti pada Gambar 2.4 berikut ini.



Gambar 2. 4 Satu set alat Quartz Crystal Microbalance (QCM)

2.4. Elektrokimia

Elektrokimia adalah ilmu yang mempelajari hubungan antara energi listrik dengan reaksi kimia. Ketika sejumlah arus listrik dengan beda potensial tertentu dilewatkan pada elektroda dalam larutan elektrolit sehingga menghasilkan reaksi kimia tertentu, peristiwa ini disebut elektrolisis. Sistem elektrokimia meliputi sel elektrokimia dan reaksi elektrokimia. Sel elektrokimia yang menghasilkan listrik karena terjadinya reaksi kimia secara spontan disebut sel Galvani. Sedangkan sel elektrokimia yang membutuhkan arus listrik dari luar sistem untuk dapat melakukan reaksi kimia disebut sel elektrolisis. Reaksi kimia yang terjadi pada sel elektrolisis berlangsung secara tidak spontan.

Sel elektrokimia terdiri dari dua elektroda yang umumnya adalah konduktor logam. Kedua elektroda tersebut dicelupkan ke dalam larutan elektrolit dan dihubungkan dengan sumber arus listrik. Kedua elektroda tersebut berperan sebagai

katoda dan anoda. Katoda merupakan tempat berlangsungnya reaksi reduksi, sedangkan reaksi oksidasi terjadi pada anoda (Wang, 2006).

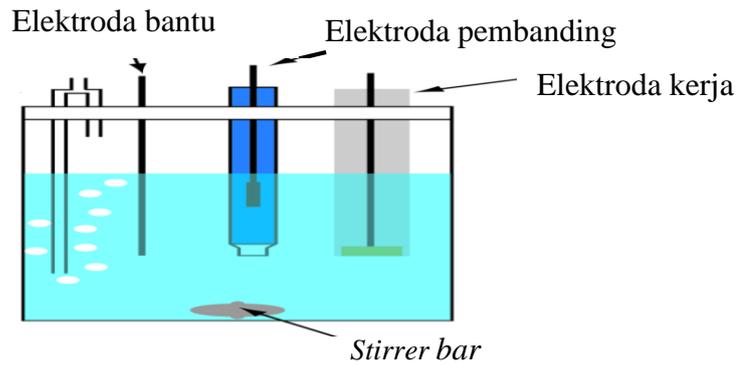
2.4.1. Sel Elektrolisis

Sel elektrolisis adalah sel elektrokimia yang membutuhkan bantuan arus listrik dari luar sistem untuk melakukan reaksi kimia. Pada sel elektrolisis, katoda bertindak sebagai elektroda negatif dan anoda sebagai elektroda positif. Ketika sejumlah arus dari luar sistem diberikan pada elektroda, ion-ion di dalam larutan elektrolit akan tertarik menuju elektroda dengan muatan yang berbeda, kemudian terjadi transfer muatan atau yang disebut reaksi redoks.

2.4.2. Voltametri Siklik

Voltametri merupakan salah satu metode analisis kimia yang mengukur arus sebagai fungsi potensial. Suatu sel voltametri terdiri dari elektroda dan larutan elektrolit yang diperlukan untuk mempertahankan konduktivitas yang cukup lama dalam larutan. Contoh sel voltametri ditunjukkan oleh Gambar 2.5.

Pada voltametri umumnya digunakan tiga buah elektroda, yaitu elektroda kerja (*working electrode*), elektroda pembanding (*reference electrode*), dan elektroda bantu (*auxiliary electrode*). Elektroda kerja adalah tempat dimana terjadinya reaksi reduksi-oksidasi oleh karena itu elektroda kerja ini harus mempunyai nilai potensial yang terkontrol dan mampu memfasilitasi transfer muatan dari dan menuju analit. Material yang biasanya digunakan untuk elektroda kerja adalah emas (Au), karbon (C), dan perak (Ag). Pada sel voltametri elektroda kerja diletakkan berdekatan dengan elektroda pembanding. Elektroda pembanding adalah elektroda yang telah diketahui nilai potensial setengah sel reduksi nya, nilainya dibuat konstan selama pengukuran, dan tidak bergantung terhadap analit yang akan diukur.



Gambar 2. 5 Sel voltametri

Penggunaan elektroda kalomel sudah jarang digunakan dan digantikan dengan elektroda Ag/AgCl. Elektroda Ag dicelupkan dalam larutan KCl dan dijenuhkan dengan AgCl.



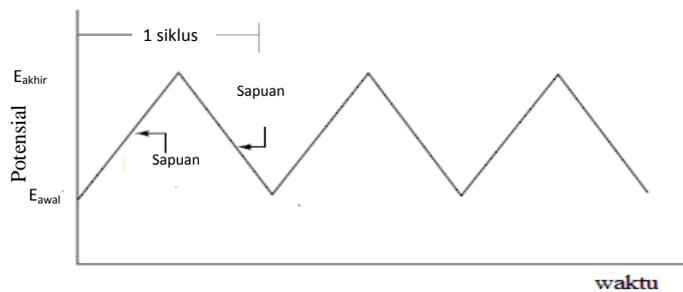
Keseluruhan reaksi yang terjadi dapat ditulis sebagai:



Jika dibandingkan dengan elektroda kalomel, elektroda Ag/AgCl lebih unggul dalam analisis pada suhu tinggi. Namun elektroda ini memiliki kecenderungan untuk bereaksi dengan analit membentuk kompleks perak yang tidak larut. Adanya kompleks perak yang terbentuk berpotensi menyumbat jembatan garam yang menghubungkan larutan dengan elektroda. Nilai potensial dari elektroda kerja yang terbaca kemudian dibandingkan dengan nilai potensial elektroda pembanding. Dalam sel voltametri juga digunakan elektroda bantu yang berfungsi untuk mengalirkan semua arus yang dibutuhkan pada elektroda kerja sehingga reaksi redoks dapat berjalan terus. Elektroda bantu yang umumnya digunakan adalah Platina (Pt), karbon (C), dan emas (Au).

Diantara berbagai jenis voltametri, voltametri siklik adalah yang paling banyak digunakan untuk memperoleh informasi mengenai reaksi elektrokimia. Voltametri siklik merupakan teknik voltametri dimana arus diukur selama penyapuan (*scanning*) potensial elektroda kerja secara linear, dimulai dari potensial awal yang diberikan menuju potensial akhir dan kembali lagi ke potensial awal dengan kondisi analit tanpa pengadukan (*unstirred*) (Wang, 2004). Metode

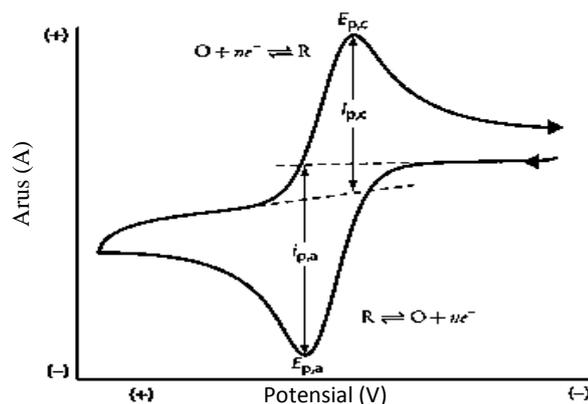
voltametri siklik ini dapat diilustrasikan melalui suatu segitiga potensial yang berbentuk seperti gelombang pada Gambar 2.6 berikut ini.



Gambar 2. 6 Sinyal eksitasi potensial vs waktu pada voltametri siklik

Berdasarkan gambar tersebut, *scanning* dimulai dari nilai potensial awal yang terus meningkat hingga mencapai maksimum (potensial akhir) kemudian turun secara linier dengan nilai kemiringan yang sama sampai kembali ke potensial awal. *Scanning* dapat dimulai dari nilai potensial yang lebih tinggi ke nilai potensial yang lebih rendah (*scanning* secara negatif/reaksi reduksi) maupun sebaliknya dari potensial yang lebih rendah ke potensial yang lebih tinggi (*scanning* secara positif/reaksi oksidasi). Siklus ini dapat berulang sesuai dengan jumlah sapuan dan laju sapuan yang diinginkan. Selama *scanning* potensial berlangsung, arus yang dihasilkan oleh elektroda kerja akan diukur sehingga dihasilkan suatu voltammogram siklik dengan arus sebagai fungsi potensial seperti pada Gambar 2.7.

Ketika potensial bergerak ke arah yang semakin positif maka reaksi oksidasi akan terjadi, menghasilkan arus yang disebut dengan arus anodik (I_a). Potensial terus bergerak ke arah positif hingga pada suatu nilai dimana seluruh substrat pada permukaan elektroda telah teroksidasi, hal ini disebut potensial puncak anodik (E_{pa}) dan arus yang dihasilkan saat kondisi tersebut disebut arus puncak anodik (I_{pa}). Setelah mengalami pergantian (*switching*) potensial, *scanning* potensial kembali ke arah negatif sehingga reaksi reduksi akan terjadi, menghasilkan arus yang disebut dengan arus katodik (I_c). Potensial terus bergerak ke arah negatif hingga pada suatu nilai dimana seluruh substrat pada permukaan elektroda telah tereduksi, hal ini disebut potensial puncak katodik (E_{pc}) dan arus yang dihasilkan saat kondisi tersebut disebut arus puncak katodik (I_{pc}).

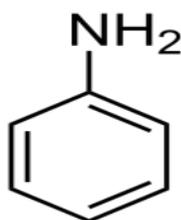


Gambar 2. 7 Voltammogram siklik

Dengan teknik voltametri siklik, dapat diketahui jika reaksi reduksi-oksidasi dari suatu analit bersifat dapat balik (*reversible*) atau tidak dapat balik (*irreversible*). Reaksi yang bersifat *reversible* memberikan hasil voltammogram yang berbeda dengan reaksi yang bersifat *irreversible*.

2.5. Anilin

Anilin merupakan senyawa organik dengan rumus kimia $C_6H_5NH_2$, juga biasa disebut aminobenzena atau benzenamina. Anilin berwujud cair dan berbau menyengat, dengan oligomernya berwarna kecoklatan dan mempunyai titik didih $184,1^{\circ}C$ (MSDS, 2013). Struktur anilin seperti yang ada pada Gambar 2.8. Ketika dilakukan proses pemurnian (destilasi), anilin yang semula dalam bentuk oligomer berwarna coklat akan berubah menjadi bentuk monomernya yang tidak berwarna.



Gambar 2. 8 Struktur anilin

Anilin dapat membentuk polianilin yang merupakan polimer konduktif apabila diberi perlakuan berupa voltametri siklik dengan pH tertentu (Fitriyana dan Kurniawan, 2015). Polimer konduktif juga dapat digunakan untuk menempelkan bahan aktif sensor terhadap substrat tertentu.

Polianilin adalah polimer konduktif yang paling sering digunakan. Hal ini disebabkan oleh beberapa kelebihan yang dimiliki polianilin, antara lain sifatnya yang stabil pada suhu tinggi (sekitar 250-350°C), mudah dibuat, serta reaksi reduksi-oksidasi yang *reversible* (Hutapea dkk., 2014).

2.6. Es krim

Es krim merupakan salah satu produk olahan susu yang dibuat dengan cara membekukan dan mencampur bahan baku secara bersama-sama. Bahan yang digunakan dalam proses pembuatannya biasanya adalah kombinasi susu dengan satu atau lebih bahan tambahan lain seperti gula, dan madu dengan atau tanpa *stabilizer*. Campuran tersebut akan membentuk sistem emulsi beku. Oleh karena itu, mutu es krim yang dihasilkan sangat dipengaruhi oleh cara pengolahan dan bahan baku termasuk *stabilizer* yang digunakan (Sinurat dkk., 2007).

Beberapa jenis es krim komersial diklasifikasikan menjadi *nonfat ice cream*, *lowfat ice cream*, *light ice cream*, *reduced fat ice cream*, *soft serve ice cream*, *economy ice cream*, *deluxe ice cream*, *sherbet*, dan *ice* (Marshall dan Arbuckle, 2000). Komposisi dari beberapa jenis es krim tersebut sangat bervariasi, menurut Mc Sweeney & Fox (2009), komposisi es krim paling baik adalah 12% lemak, padatan susu tanpa lemak 11%, gula 15%, bahan penstabil dan pengemulsi 0,3% dan total padatan 38,3%. Gambar 2.9 berikut merupakan contoh es krim yang beredar di masyarakat.



Gambar 2. 9 Es krim

Proses pembuatan es krim melalui beberapa tahapan yang cukup panjang. Tahapan pembuatan es krim meliputi tahap pasteurisasi, homogenisasi, pematangan es krim dengan penyimpanan dalam lemari es, serta pembekuan dan pengadukan (Saleh, 2004). Tahap pasteurisasi bertujuan untuk mematikan mikroba patogen,

tahap homogenisasi untuk menyeragamkan adonan serta meningkatkan kekentalan adonan. Tahap pendinginan bertujuan untuk menghentikan pemanasan.

2.7. Fourier Transform Infrared (FTIR)

Fourier Transform Infrared (FTIR) merupakan salah satu teknik spektroskopi yang digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi senyawa menggunakan gelombang inframerah dengan rentang panjang gelombang 2,5-25 μm dan rentang frekuensi 400-4000 cm^{-1} . FTIR sering dimanfaatkan untuk mendapatkan spektra inframerah dari sampel yang dapat berupa padat, cair, maupun gas.

Metode FTIR pada prinsipnya adalah teknik spektroskopi yang didasarkan pada terjadinya vibrasi molekul akibat penyerapan energi sinar infra merah. Penyerapan energi ini akan mengakibatkan molekul (gugus fungsi) bervibrasi dengan berbagai cara yakni, vibrasi ulur (*stretching vibration*) meliputi vibrasi ulur simetri dan vibrasi ulur asimetri dan vibrasi tekuk (*bending vibration*) meliputi vibrasi goyangan (*rocking*), guntingan (*scissoring*), kibasan (*wagging*) dan vibrasi pelintiran (*twisting*) (Sastrohamidjojo, 2001). Jenis vibrasi ini tergantung pada energi ikat dalam suatu gugus fungsi, sehingga akan memberikan sinyal pada tingkat atau besaran energi yang spesifik untuk masing-masing gugus fungsi, yang dinyatakan dalam bilangan gelombang (cm^{-1}).

Data yang dihasilkan oleh FTIR berupa spektra dengan intensitas sebagai fungsi dari bilangan gelombang. Dari spektra tersebut dapat diidentifikasi suatu senyawa yang belum diketahui komponennya berdasarkan gugus fungsi yang muncul pada bilangan gelombang tertentu. Ukuran pada puncak yang dihasilkan menunjukkan jumlah senyawa yang terdapat dalam sampel. Oleh karena itu analisis menggunakan FTIR dapat dilakukan untuk mengidentifikasi sampel atau material yang belum diketahui komponen gugus fungsi didalamnya (Rouessac dan Rouessac, 2013).

2.8. Nikel

Nikel merupakan logam yang banyak digunakan dalam industri seperti, industri elektroplating, baterai, bahan-bahan *stainless steel*, dan lain-lain (Park

dkk., 2008). Nikel umumnya membentuk *alloy* dengan besi, tembaga, aluminium, dan seng (National Pollutant Inventory, 2013). Sekitar 60% nikel ditemukan dalam batuan laterit dan 40% dalam bentuk sulfida nya. Hampir setiap daerah di dunia memiliki cadangan nikel. Filipina, Indonesia, Rusia, Kanada, dan Australia adalah negara-negara terbesar penghasil nikel berdasarkan *survey* pada tahun 2012 (USGS Minerals Information, 2012).

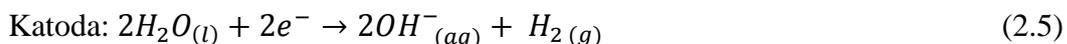
2.8.1. Nikel Hidroksida

Nikel(II) hidroksida merupakan material berwujud padat berwarna hijau, memiliki massa molekul 92,71 g/mol dengan rumus kimia Ni(OH)₂. Nikel(II) hidroksida yang ditunjukkan pada Gambar 2.10 bersifat karsinogen dan juga dapat menyebabkan iritasi pada mata dan kulit serta gangguan pernafasan (MSDS, 2014).



Gambar 2. 10. Nikel(II) Hidroksida

Nikel(II) hidroksida dapat dihasilkan dengan metode elektrolisis menggunakan lempeng nikel sebagai katoda dan anoda serta asam sitrat sebagai elektrolit. Reaksi yang terjadi pada elektroda selama proses elektrolisis adalah (Budipramana, dkk., 2014) :



Ion hidroksi dan Ni²⁺ yang terbentuk pada katoda dan anoda selanjutnya akan bereaksi membentuk Nikel(II) hidroksida, sesuai dengan persamaan reaksi berikut ini:



2.8.2. Nikel Oksida

Nikel oksida (NiO) seperti yang ditunjukkan oleh Gambar 2.11 merupakan suatu material berwujud padat berwarna hijau yang memiliki berat molekul sebesar 74,71 g/mol. Bila terkena kulit, nikel oksida dapat menyebabkan iritasi serta gangguan pernafasan jika terhirup ataupun tertelan (MSDS, 2013). Nikel oksida banyak dimanfaatkan sebagai komponen baterai *Nickel-Iron* maupun baterai *Nickel-Cadmium*.



Gambar 2. 11. Nikel Oksida (NiO)

Nikel oksida dapat diperoleh melalui sintesis padatan dari hasil sintesis Nikel(II) hidroksida yang dipanaskan dalam *furnace* bersuhu 400 °C. Pada saat proses kalsinasi tersebut, Ni(II) hidroksida akan melepaskan molekul air yang terdapat pada ruang antar lapisannya, sehingga terjadi reaksi (Zhou dkk., 2006) :



2.9. Nanopartikel

Nanopartikel dapat didefinisikan sebagai partikel berdimensi tiga, yang memiliki ukuran berskala nanometer, yaitu 1-100 nm (Mohanraj, 2006). Nanopartikel diketahui terdapat dalam bermacam-macam bentuk seperti *nanorods*, *nanotubes*, *nanosheets*, dan lain sebagainya. Nanopartikel mengandung beberapa atom atau molekul yang mempunyai sifat sangat berbeda dengan material *bulk* dan atomnya seperti, sifat elektronik, optik, magnet dan sifat kimia (Kattumuri, 2006).

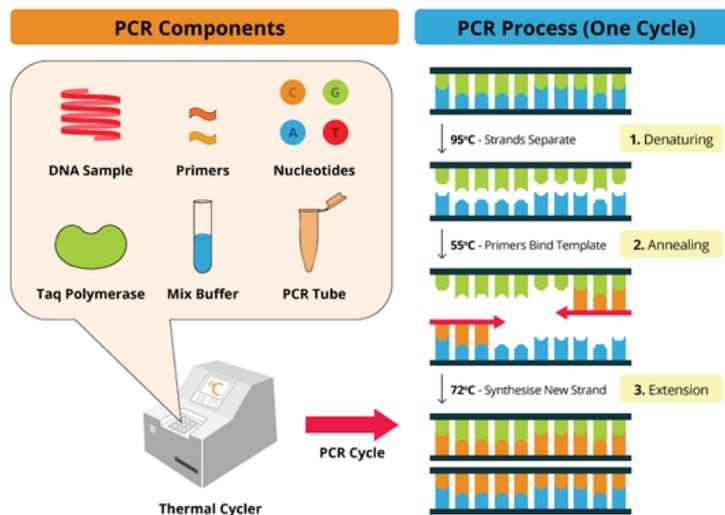
Sifat yang berbeda pada nanopartikel biasanya berkaitan dengan fenomena kuantum sebagai akibat keterbatasan ruang gerak elektron dan pembawa muatan lainnya dalam partikel. Fenomena ini berimbas pada beberapa sifat material seperti perubahan warna yang dipancarkan, transparansi, kekuatan mekanik, konduktivitas listrik, dan magnetisasi. Fenomena lainnya yaitu perubahan rasio jumlah atom yang menempati permukaan, terhadap jumlah total atom. Hal ini berpengaruh terhadap

perubahan titik didih, titik beku, dan reaktivitas kimia. Perubahan-perubahan tersebut diharapkan dapat menjadi keunggulan nanopartikel dibandingkan dengan partikel sejenis dalam ukuran *bulk* (Mikrajuddin dan Khairurrijal, 2009).

2.10 Polymerase Chain Reaction (PCR)

PCR digunakan untuk menggandakan molekul DNA pada target tertentu dengan cara mensintesis molekul DNA baru yang berkomplemen dengan molekul DNA target tersebut melalui bantuan enzim dan oligonukleotida sebagai primer dalam suatu Thermocycle (Muladno, 2010). Amplifikasi DNA pada PCR dapat dicapai bila menggunakan primer oligonukleotida yang disebut amplimers. Primer DNA adalah suatu sekuens oligonukleotida pendek yang berfungsi mengawali sintesis rantai DNA (Yusuf, 2010). PCR memungkinkan dilakukannya pelipatgandaan suatu fragmen DNA primer yang berada sebelum daerah target disebut primer forward dan yang berada setelah daerah target disebut primer reverse. Enzim yang digunakan sebagai pencetak rangkaian molekul DNA yang baru dikenal disebut enzim Polymerase.

2.10.1 Tahapan PCR



Gambar 2. 12 Siklus Real-Time PCR

Berikut ini merupakan tahapan yang terjadi pada proses PCR (Yusuf, 2010; muladno, 2010; Gaffar, 2007; Sulistyaningsih, 2007) :

1. Denaturasi

Selama proses denaturasi, DNA untai ganda akan membuka menjadi dua untai tunggal. Denaturasi biasanya dilakukan antara suhu 90-950 °C selama 3 menit untuk meyakinkan bahwa molekul DNA yang ditargetkan ingin dilipatgandakan jumlahnya benar-benar telah terdenaturasi menjadi untai tunggal (Muladno, 2010). Denaturasi yang tidak lengkap mengakibatkan DNA mengalami renaturasi (membentuk DNA untai ganda lagi) secara cepat, dan ini mengakibatkan gagalnya proses PCR. (Yusuf, 2010). Untuk denaturasi berikutnya, waktu yang diperlukan hanya 30 detik pada suhu 950 °C atau 15 detik pada suhu 970 °C (Muladno, 2010). Suhu denaturasi dipengaruhi oleh sequen target. Suhu denaturasi yang terlalu tinggi dan waktu denaturasi yang terlalu lama mengakibatkan hilangnya atau berkurangnya aktivitas enzim Taq polymerase. (Muladno,2010; Suliatyaningsih, 2007).

2. Penempelan primer (annealing)

Pada tahap penempelan primer (annealing), primer akan menuju daerah yang spesifik yang komplemen dengan urutan primer. Kriteria yang umum digunakan untuk merancang primer yang baik adalah bahwa primer sebaiknya berukuran 18-25 basa, mengandung 50-60 % G+C dan untuk kedua primer tersebut sebaiknya sama. Sekuens DNA dalam masing-masing primer itu sendiri juga sebaiknya tidak saling berkomplemen, karena hal ini akan mengakibatkan terbentuknya struktur sekunder pada primer tersebut dan mengurangi efisiensi PCR (Yusuf, 2010). Proses ini biasanya dilakukan pada suhu 50-600 °C (Gaffar, 2007). Suhu dan lamanya waktu yang dibutuhkan untuk annealing primer tergantung pada komposisi basa, panjang, dan konsentrasi primer (Sulistyaningsih, 2007). Waktu Annealing yang biasa digunakan dalam PCR adalah 30-45 detik. Semakin panjang ukuran primer, semakin tinggi temperaturnya. Kisaran temperatur penempelan yang digunakan adalah antara 360 °C sampai dengan 720 °C, namun suhu yang biasa dilakukan itu adalah antara 500-600 °C (Yusuf, 2010).

3. Reaksi polimerisasi

Umumnya reaksi polimerisasi (extension) atau perpanjangan rantai, terjadi pada suhu 72 °C karena merupakan suhu optimum Taq polymerase (Gaffar, 2007). Kecepatan penyusunan nukleotida oleh enzim tersebut pada suhu 72 °C diperkirakan antara 35 sampai 100 nukleotida per detik, bergantung pada buffer, pH, konsentrasi garam, dan molekul DNA target. Dengan demikian, untuk produk PCR sepanjang 2000 pasang basa, waktu 1 menit sudah lebih dari cukup untuk tahap pemanjangan primer ini. Biasanya di akhir siklus PCR, waktu yang digunakan untuk tahap ini diperpanjang sampai 5 menit, sehingga seluruh produk PCR diharapkan berbentuk DNA untai ganda (Muladno, 2010).

2.11 Real-Time PCR

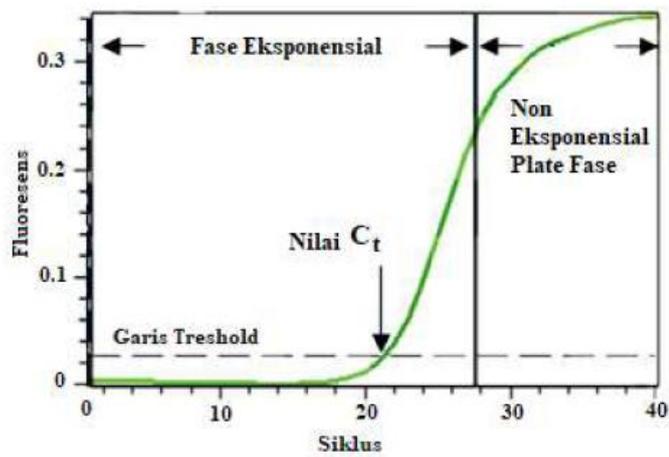
2.11.1 Prinsip Analisis

Real-Time PCR merupakan teknologi terkini untuk amplifikasi DNA. Pada Real-Time PCR jumlah DNA yang diamplifikasi bisa langsung diamati secara seketika sehingga tidak memerlukan analisis dengan elektroforesis gel untuk mengetahui produk PCR. Real-Time PCR lebih dikenal sebagai quantitative PCR karena kemampuan analisisnya yang sensitive, spesifik dan reproducibility sehingga mengurangi kesalahan pada hasil (Burn et al, 2005).



Gambar 2. 13 Intrumen Real-time PCR seri CFX96

Instrument Real-Time PCR mendeteksi amplicon dengan mengukur peningkatan pewarna (dye) *fluorescent* yang berpendar ketika terikat dengan *double-stranded* DNA. Karena sifat inilah maka pertumbuhan fragment DNA hasil amplifikasi dapat diikuti pula intensitas *fluorescent* yang dihasilkan. *Quantitative* PCR dimungkinkan dapat mendeteksi secara akurat konsentrasi DNA hingga hitungan pikogram atau setara dengan sel tunggal karena sensitifitas dye yang sangat tinggi. Hasil peningkatan *fluorescent* digambarkan melalui kurva amplifikasi yang menunjukkan tiga fasa yaitu fasa awal, fasa eksponensial atau puncak dan fasa plateau atau stabil (Vaerman, 2004).



Gambar 2. 14 Bentuk Kurva pada Real-Time PCR (Sumber : Biorad, 2006)

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Alat dan Bahan

3.1.1. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi peralatan gelas (gelas beaker 500 mL, pipet volume 10 mL, pipet tetes, kaca arloji, cawan petri, dan lain-lain), neraca analitik (Ohaus PA 1602), *magnetic stirrer*, pH meter (S120010 Mettler Toledo), *furnace*, *oven*, *hot plate*, *sentrifuge*, kabel *heat shrink*, *power supply*, penjepit buaya, satu set alat destilasi, satu set evaporator, satu set potensiostat EDAQ E161 dan e-corder 410 yang terhubung dengan software e-chem vs 2.0.1, satu set alat *Quartz Crystal Microbalance (QCM)* QCM200 (SRS Stanford Research System) 5 MHz yang terhubung dengan software SRS200, instrumentasi *Fourier Transform Infrared (FTIR)* (8400S Shimadzu), mikroskop optik (Olympus BX60), *Real Time PCR* (CFX Maestro 96 Touch™), *Multiwell Plate* 96 (Roche), *Sealing Foil* (Roche), Mikropipet 0.5-10 µl (Biorad), Mikropipet 2-20 µl (Biorad), Mikropipet 20-200 µl (Biorad), Mikropipet 100-1000 µl (Biorad), Vortex (Benchmark), *Microcentrifuge* (MC-12 Benchmark), *Heat Block* (Benchmark), Sentrifugator (5417R – Eppendorf), *Microcentrifuge tube* volume 1,5 ml (Biogenix), *Filter Tube* dan *Collection Tube* (EasyFast™ ExtrPharma I PROGENUS),

3.1.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu anilin (Merck KGaA 64271 Damstadt, Germany), HCl 37%, aqua demineralisasi, natrium sitrat dihidrat 99,5% (C₆H₅Na₃O₇·2H₂O, Sigma-Aldrich), dua buah plat nikel (PT. INCO), NaOH, gelatin sapi, kulit babi, es krim bubuk komersial, es krim komersial dari pasar dan *supermarket* di Surabaya, satu set reagen isolasi DNA meliputi *Lysis Buffer*; *Binding Buffer*; *Precipitation Buffer*; *Washing Buffer I*; *Washing Buffer II* dan *Elution Buffer* (EasyFast™ ExtrPharma I PROGENUS) dan *Probe Master* (Kit TagPro® Pig Quantification).

3.2. Prosedur Penelitian

3.2.1. Sintesis Ni(OH)₂ Nanopartikel

Sintesis Ni(OH)₂ nanopartikel dilakukan dengan metode elektrolisis menggunakan dua buah lempeng logam nikel berdimensi 0,5 mm x 75 mm dengan ketebalan 1 mm masing-masing dipersiapkan sebagai anoda dan katoda serta larutan natrium sitrat 0,3 M (Budipramana dkk., 2014).

Pertama-tama lempeng logam nikel dibersihkan dengan cara diampelas untuk menghilangkan pengotor. Setelah bersih, kedua plat logam tersebut dihubungkan pada *power supply* menggunakan kabel penjepit buaya. Sebanyak 10 mL larutan natrium sitrat 0,3 M ditambahkan ke dalam 400 mL aqua demineralisasi yang dipanaskan dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah larutan mendidih, plat nikel dicelupkan dan ditekan tombol *on* pada *power supply*. Proses elektrolisis dilakukan selama ± 30 menit pada potensial 55 V. Skema elektrolisis pada sintesis nanopartikel Ni(OH)₂ ditunjukkan oleh Gambar 3.1 berikut ini:



Gambar 3. 1 Skema sel elektrolisis nanopartikel Ni(OH)₂

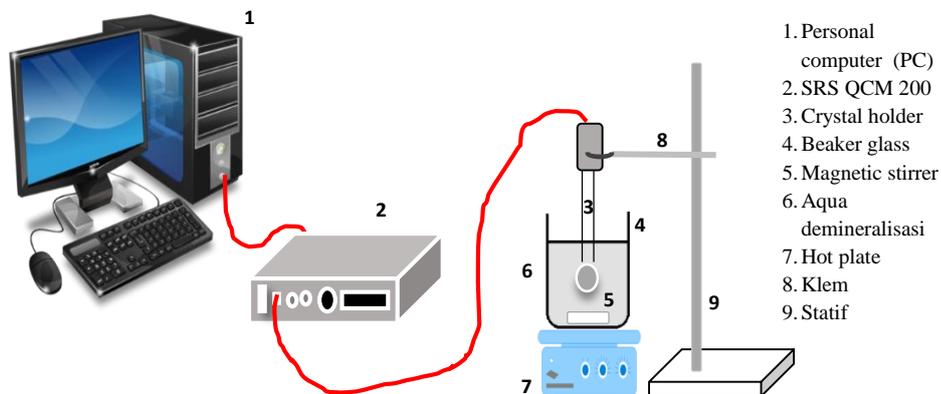
Pembentukan nanopartikel ditandai dengan perubahan warna larutan dari tidak berwarna menjadi hijau. Larutan tersebut kemudian didinginkan pada suhu ruang sampai terbentuk koloid berwarna hijau.

3.2.2. Pembuatan Larutan Natrium Sitrat 0,3 M

Sebanyak 4,415 g natrium sitrat dihidrat (C₆H₅Na₃O₇·2H₂O) dilarutkan ke dalam 50 mL aqua demineralisasi. Natrium sitrat 0,3 M digunakan sebagai katalis pada sintesis Ni(OH)₂ nanopartikel.

3.2.3. Rancangan Alat

Pengujian sensor QCM terhadap sampel dilakukan dengan meletakkan lempeng QCM pada *crystal holder* QCM. *Crystal holder* QCM tersebut dihubungkan dengan kabel RJ-45 dan kemudian dirangkai pada *mainboard* QCM yang tersambung pada komputer. *Mainboard* QCM dinyalakan terlebih dahulu sebelum dilakukan pengujian untuk mengetahui kestabilan frekuensi dari lempeng sensor yang digunakan. Rangkaian alat QCM seperti pada Gambar 3.2 berikut ini:



Gambar 3. 2 Rangkaian alat sensor Quartz Crystal Microbalance (QCM).

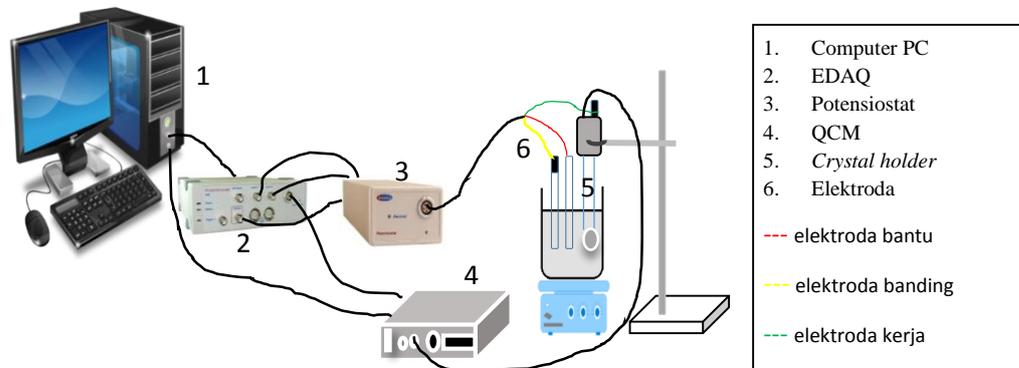
3.2.4. Pembuatan Sensor QCM

3.2.4.1. Pelapisan Polianilin

Terlebih dahulu anilin didestilasi untuk mendapatkan monomer dari oligomernya. Kemudian sebanyak 1,4 mL monomer anilin ditambahkan 150 mL aqua demineralisasi dan HCl pekat tetes demi tetes sampai diperoleh pH 1,5 (Hutapea dkk., 2014).

Pelapisan polianilin pada permukaan elektroda dari QCM dilakukan dengan cara elektropolimerisasi menggunakan metode voltametri siklik. Pelapisan ini dilakukan sebanyak 40 siklik dengan laju sapuan 50 mV s^{-1} pada rentang potensial $-0,5 \text{ V}$ sampai $+1,0 \text{ V}$ (Fitriyana dan Kurniawan, 2015). Pada elektropolimerisasi anilin digunakan tiga buah elektroda yaitu Ag/AgCl sebagai elektroda pembanding, platina sebagai elektroda bantu dan emas pada QCM

sebagai elektroda kerja. Gambar 3.3 berikut ini merupakan rangkaian alat yang digunakan dalam pelapisan polianilin pada permukaan lempeng sensor QCM.



Gambar 3. 3 Rangkaian alat polimerisasi anilin pada lempeng sensor QCM

3.2.4.2. Pelapisan NiO Nanopartikel

Sensor QCM yang telah terlapis polianilin dicelupkan ke dalam nanopartikel Ni(OH)₂ selama 5 menit dan disertai dengan pengadukan menggunakan *magnetic stirrer*. Kemudian lempeng sensor QCM dikeringkan dan dikalsinasi pada suhu 400 °C (Budipramana dkk., 2014).

3.2.5. Pembuatan Gelatin

Gelatin yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dengan cara ekstraksi asam. Kulit babi sebagai bahan baku pembuatan gelatin terlebih dahulu dipotong-potong dengan ukuran ± 2-4 cm. Selanjutnya kulit tersebut dicuci dan direbus dalam 1L aqua demineralisasi sampai kulit babi terlihat pucat dan mengembang. Setelah terlihat mengembang, selanjutnya dilakukan perendaman dalam HCl 4% dengan perbandingan 1:3 selama 4 hari. Kulit babi dicuci dengan aqua demineralisasi hingga pH air pencuci netral.

Ekstraksi untuk memperoleh gelatin dilakukan selama 2 x 24 jam dengan suhu awal 50°C dan perlahan dinaikkan hingga suhu 90 °C. Gelatin yang merupakan filtrat dari hasil ekstraksi selanjutnya disterilisasi dalam oven bersuhu 50 °C selama satu menit. Gelatin disimpan pada tempat bersuhu rendah dalam wadah tertutup (Hastuti dan Sumpe, 2007; Candle dan Kurniawan, 2016).

3.2.6. Pembuatan Es Krim

Terdapat dua macam es krim yang dibuat, es krim yang pertama ditambahkan gelatin sapi sedangkan es krim yang kedua ditambahkan gelatin babi. Langkah pertama pembuatan es krim, pertama bubuk es krim pondan magic ditimbang sebanyak 75 gram (komposisi : susu, gula, gelatin, gelatin, santan, telur), kemudian dicampur dengan 150 mL air es selanjutnya dikocok selama 5 menit, menggunakan mixer dengan kecepatan tinggi sampai adonan kental dan mengembang. Kemudian, ditambahkan 10 tetes gelatin sapi atau gelatin babi pada adonan, setelah itu dikocok kembali adonan selama 2 menit. Setelah campuran tersebut mengembang, selanjutnya dituang kedalam wadah dan dibekukan di freezer selama 3-5 jam.

3.2.7. Karakterisasi Gelatin

Gelatin dikarakterisasi menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR) dengan cara gelatin yang berbentuk serbuk digerus dan ditambahkan KBr kemudian dibentuk pelet. Karakterisasi ini bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat pada gelatin babi

3.2.8. Pembuatan Blanko dan Larutan Stok Gelatin

Larutan stok gelatin dibuat dengan melarutkan 3 gram gelatin ke dalam 100 mL aqua demineralisasi untuk memperoleh konsentrasi 30.000 ppm. Sedangkan blanko yang digunakan adalah 300 mL aqua demineralisasi.

3.2.9. Pengujian Sensor QCM

3.2.9.1. Sampel Gelatin Babi, Gelatin Sapi

Sampel yang digunakan pada pengujian sensor meliputi gelatin babi, gelatin sapi, dan es krim dengan konsentrasi 100, 200, 300, 400, dan 500 ppm.

QCM terlapis polianilin dan NiO nanopartikel dicelupkan ke dalam 300 mL aqua demineralisasi yang ditambahkan NaOH sampai pada pH 9. Sampel gelatin babi ditambahkan dalam larutan tersebut sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 200 rpm untuk menjaga larutan tetap homogen. Perlakuan yang sama dilakukan untuk pengujian dengan sampel gelatin sapi.

Pengujian untuk masing-masing sampel dilakukan selama 600 detik. Perubahan frekuensi yang terjadi saat penambahan sampel gelatin babi kemudian dibandingkan dengan perubahan frekuensi saat penambahan gelatin sapi (Nugroho dan Kurniawan, 2015; Pradini, 2017).

3.2.9.2. Sampel es krim

Untuk pengujian dengan sampel es krim digunakan sampel es krim *homemade* dan 10 sampel es krim komersial dengan merk yang berbeda. Es krim tersebut diperoleh dari pasar lokal di Surabaya. Terlebih dahulu es krim di pipet sebanyak 3 mL dan dimasukkan kedalam tabung sentrifuge kemudian ditambahkan HCl sebanyak 9 mL dengan perbandingan (1 es krim : 3 HCl) selanjutnya sampel di sentrifuge selama kurang lebih 1 jam. sampel yang telah di sentrifuge kemudian disaring dan diambil filtratnya selanjutnya filtrat dinetralkan dengan aqua demineralisasi. Pengujian sensor dilakukan dengan menambahkan es krim ke dalam 300 mL aqua demineralisasi pH 9 dan diaduk dengan kecepatan 200 rpm untuk menjaga larutan tetap homogen. Perubahan frekuensi yang terbaca pada alat *Quartz Crystal Microbalance (QCM)* saat penambahan sampel es krim buatan kemudian dibandingkan dengan saat penambahan sampel gelatin sapi dan gelatin babi. Pengujian dilakukan selama 600 detik untuk masing-masing sampel.

3.2.10 Isolasi DNA

DNA diekstraksi dari gelatin murni dan dari produk es krim yang mengandung gelatin menggunakan kit EasyFast™ ExtrPharma I (PROGENUS). Mula-mula semua masing-masing sampel ditimbang sebanyak 20 mg dan dimasukkan kedalam tube 1,5 mL. Selanjutnya sampel ditambahkan larutan *Lysis Buffer* sebanyak 300 µL dan dicampur menggunakan vortex (Benchmark). Setelah itu, campuran di inkubasi pada suhu 65 °C selama 10 menit (Heat blok, Benchmark). Setelah selesai di inkubasi, sampel ditambahkan larutan *Precipitation Buffer* sebanyak 75 µL dan dicampur menggunakan vorteks (Benchmark). Kemudian sampel di inkubasi kembali pada suhu 65 °C selama 5 menit (Heat blok, Benchmark). Setelah proses inkubasi selesai, selanjutnya sampel dipindahkan kedalam *collection tube* yang telah dipasangkan filter (*violet ring*) dan di sentrifuge

selama 2 menit dengan kecepatan maksimum 11.000 rpm (MC-12 Benchmark). Kemudian ditampung semua supernatan yang telah di filter dan filter dibuang. Selanjutnya, ditambahkan larutan *Binding buffer* sebanyak 450 μ L kedalam sampel yang telah disaring (supernatan) dan dicampur. Dipasangkan column (*green ring*) ke dalam *collection tube* yang baru dan dipindahkan semua campuran sampel kedalam column yang selanjutnya sampel di sentrifuge selama 1 menit dengan kecepatan maksimum 11.000 rpm. Setelah selesai di sentrifuge, dibuang supernatan yang terdapat di *collection tube*. Kemudian, ditambahkan 400 μ L larutan *Washing Buffer 1* ke dalam column (*green ring*) dan disentrifuge kembali selama 1 menit dengan kecepatan maksimum 11.000 rpm. Selanjutnya, supernatan yang diperoleh di *collection tube* di buang kembali dan ditambahkan 700 μ L larutan *Washing Buffer 2* ke dalam column (*green ring*) dan disentrifuge kembali selama 2 menit dengan kecepatan maksimum 11.000 rpm. Setelah itu, dibuang kembali supernatant yang diperoleh di *collection tube*. Lalu, dipindahkan column (*green ring*) kedalam tube 1,5 mL yang baru dan di tambahkan 50 μ L *Elution Buffer* ke dalam column (*green ring*). Sebelumnya, dihangatkan *Elution Buffer* pada suhu 65 °C. Kemudian, sampel di inkubasi kembali selama 5 menit pada suhu 65 °C dan disentrifuge selama 1 menit dengan kecepatan maksimum 11.000 rpm. Terakhir, diambil supernatan DNA yang berada di tube 1,5 mL dan disimpan pada suhu 4 °C.

3.2.11 Amplifikasi DNA

Setiap reaksi disiapkan 25 μ L campuran yang dimasukkan kedalam *multiwell plate* pada *well* yang diinginkan. Untuk sampel yang akan di ujikan disiapkan 2 μ L sampel dan 23 μ L Mastermix, untuk kontrol positif disiapkan 2 μ L EPC dan 23 μ L Mastermix sedangkan untuk kontrol negatif disiapkan 2 μ L aqua demineralisasi dan 23 μ L Mastermix. *Multiwell plate* kemudian ditutup dengan dengan *sealing foil*. Amplifikasi dilakukan dengan real-time PCR (CFX Maestro 96 Touch™). Termal cycler diatur dengan mengikuti program pre-denaturasi 95 °C selama 10 menit untuk denaturasi templat DNA, diikuti 40 siklus untuk denaturasi pada 95 °C selama 15 detik, dan annealing pada suhu 60 °C selama 45 detik.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB 4

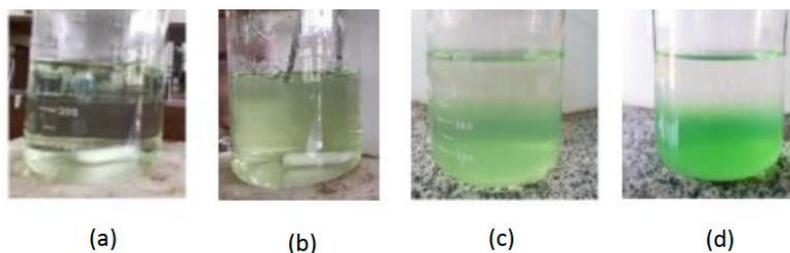
HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mendeteksi kandungan gelatin babi dan sapi dalam sampel es krim menggunakan sensor *Quartz Crystal Microbalance* (QCM) termodifikasi NiO nanopartikel. NiO nanopartikel disintesis dengan metode elektrolisis. Permukaan sensor QCM yang terlapis emas, dimodifikasi menggunakan polianilin (PANI) dengan metode voltametri siklik dan NiO nanopartikel dengan teknik *layer by layer* (LbL). Sensor QCM yang telah dimodifikasi tersebut kemudian digunakan sebagai elektroda untuk mendeteksi kandungan gelatin babi dan gelatin sapi pada sampel es krim. Kinerja sensor QCM diuji dengan membandingkan perubahan data frekuensi dari larutan blanko, sampel gelatin babi dan sampel gelatin sapi.

4.1 Sintesis Ni(OH)₂ Nanopartikel

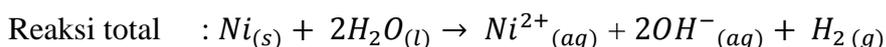
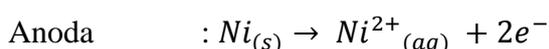
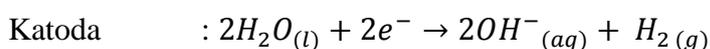
Metode yang digunakan dalam sintesis Ni(OH)₂ pada penelitian ini adalah metode pengendapan secara elektrolisis. Sintesis Ni(OH)₂ nanopartikel menggunakan natrium sitrat (Na₃C₆H₅O₇) berfungsi sebagai zat pereduksi, selain itu natrium sitrat juga berfungsi sebagai stabilisator untuk mencegah terbentuknya endapan selama elektrolisis berlangsung.

Proses elektrolisis ini, terjadi reaksi oksidasi pada anoda, dimana logam nikel yang semula tidak bermuatan (Ni⁰) menjadi nikel yang bermuatan (Ni²⁺) yang larut. Pada katoda terjadi reaksi reduksi air menjadi gas H₂ dan menghasilkan OH⁻. Pembentukan gas tersebut ditandai dengan munculnya gelembung gas pada katoda selama reaksi berlangsung. Selanjutnya ion Ni²⁺ akan bereaksi dengan ion hidroksida membentuk Ni(OH)₂. Reaksi pembentukan nanopartikel Ni(OH)₂ dapat diamati dari perubahan warna yang terjadi pada larutan.



Gambar 4.1 Perubahan warna pembentukan Ni(OH)₂ nanopartikel pada: 5 menit (a); 30 menit (b); 1 minggu (c); 2 minggu (d)

Reaksi pembentukan Ni(OH)₂ terjadi ketika natrium sitrat mulai ditambahkan ke dalam air yang telah dipanaskan. Larutan yang semula tidak berwarna perlahan-lahan berubah menjadi kehijauan seperti yang terlihat pada Gambar 4.1. Secara keseluruhan reaksi yang terjadi dapat ditulis menjadi :

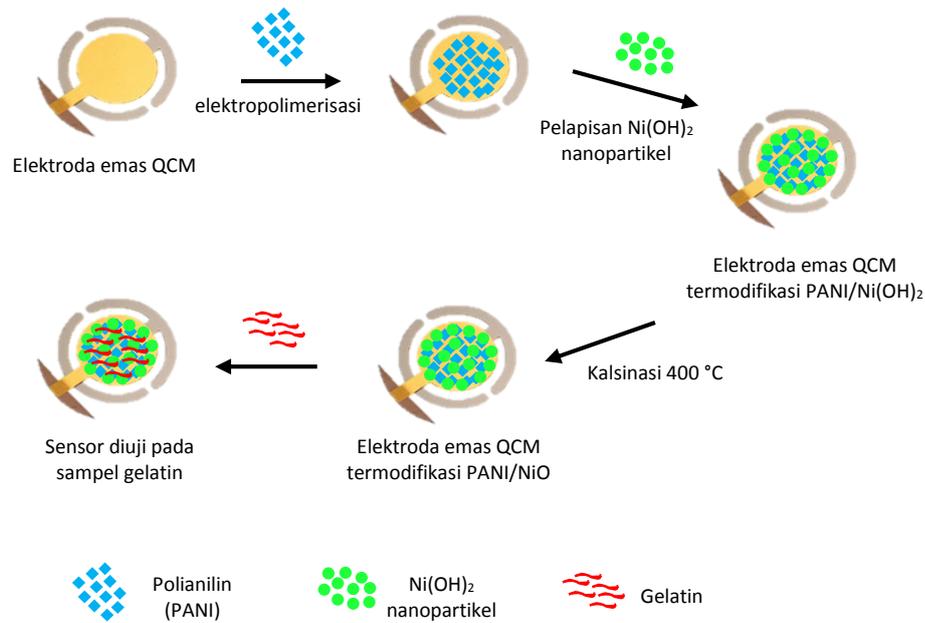


(Budipramana dkk., 2014)

Larutan Nikel (II) Hidroksida hasil elektrolisis yang telah terbentuk selanjutnya disimpan dan dibiarkan selama kurang lebih dua minggu untuk mendapatkan endapan yang cukup banyak, Terjadinya pengendapan Ni(OH)₂ yang berwarna hijau disebabkan Ni(OH)₂ memiliki kelarutan yang rendah dalam air yaitu 2×10^{-16} (Sillen dan Martell, 1964).

4.2 Modifikasi Sensor Quartz Crystal Microbalance (QCM)

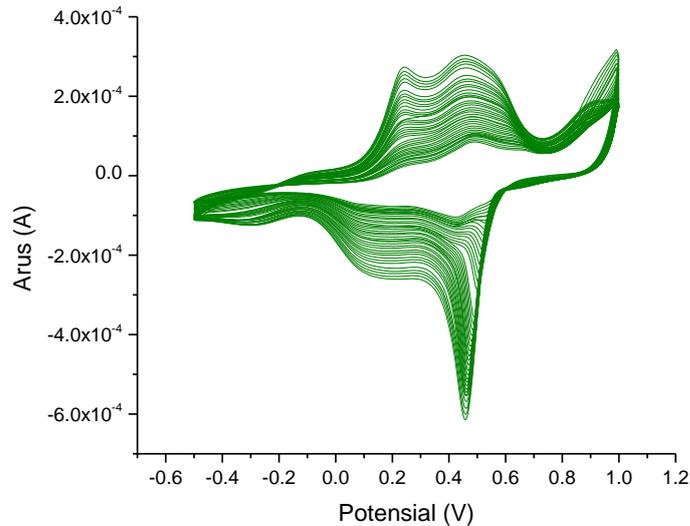
Quartz yang telah terlapis emas pada QCM akan dilakukan modifikasi dengan melapiskan polianilin dan NiO nanopartikel. Pelapisan Polianilin pada *Quartz* QCM dilakukan dengan cara elektropolimerisasi menggunakan metode voltametri siklik. Modifikasi QCM dilakukan dengan melapiskan polianilin (PANI) dan NiO nanopartikel pada permukaan elektroda emasnya dengan mekanisme yang ditunjukkan pada Gambar 4.2 berikut ini.



Gambar 4.2 Skema modifikasi sensor QCM dengan polianilin dan Ni(OH)₂ nanopartikel

4.2.1 Polimerisasi Anilin

Anilin dimurnikan terlebih dahulu pada penelitian ini karena saat terkena cahaya anilin mudah berubah warna menjadi kuning kecoklatan dan mudah teroksidasi oleh udara menjadi bentuk dimer maupun oligomernya. Anilin menguap pada suhu 184 °C. Oleh karena itu, sebelum digunakan untuk pelapisan sensor QCM, terlebih dahulu anilin didestilasi untuk memperoleh monomernya. Elektropolimerisasi anilin dilakukan menggunakan metode voltametri siklik pada rentang potensial -0,5 V sampai +1 V dengan *scan rate* 50 mV s⁻¹ sebanyak 40 siklik.



Gambar 4.3 Hasil voltammogram polimerisasi anilin pada permukaan sensor QCM pada rentang potensial -0,5 sampai +1,0 V, scan rate 50 mVs^{-1} (vs. Ag/AgCl) sebanyak 40 siklus

Voltammogram pada Gambar 4.3 menunjukkan terdapat dua puncak anoda dan dua puncak katoda. Puncak anodik pertama teramati pada potensial +0,22 V dengan respon arus +0,3 mA sampai +0,26 mA dan puncak anoda kedua terjadi pada potensial +0,78 V dengan respon arus +0,21 mA sampai +2,9 mA. Sedangkan puncak katodik pertama dan kedua terjadi pada potensial +0,04 V dan +0,47 V dengan respon arus masing-masing -0,6 mA sampai -2,8 mA dan -0,22 mA sampai -6,2 mA. Puncak oksidasi yang muncul pada potensial sekitar +0,2 V merupakan puncak dimana leukomeraldin (polianilin dalam bentuk tereduksi sempurna atau *fully reduced*) teroksidasi menjadi emeraldin (polianilin dalam bentuk setengah teroksidasi atau *half oxidized*). Kemudian puncak yang muncul pada potensial sekitar 800 mV merupakan puncak oksidasi emeraldin menjadi bentuk pernigranilin (polianilin dalam bentuk teroksidasi sempurna atau *fully oxidized*) (Dhawan dkk., 1997).

Polimerisasi anilin dilakukan dengan pengaturan pH pada pH 1,5 karena polianilin merupakan polimer konduktif yang terbentuk dari kopleng *head to tail* yang hanya terjadi pada kondisi pH asam. Menurut penelitian yang telah dilakukan Hutapea dkk., (2014), pada pH 1,5 anilin memiliki tingkat konduktivitas yang paling tinggi dengan nilai hambatan yang paling kecil. Polianilin terbentuk dari

monomer anilin yang berikatan secara *head-to-tail* pada posisi para dari cincin aromatiknya (Green dan Woodhead, 1910; Bavane, 2014). Sedangkan pada kondisi lainnya (pH basa) yang terjadi hanya kopling *head to head* yang membentuk polimer tidak konduktif karena tidak memiliki ikatan rangkap terkonjugasi (Yu dan Sundmacher, 2007; Fitriyana dan Kurniawan, 2015).

4.2.2 Pelapisan NiO Nanopartikel

Pelapisan NiO nanopartikel pada permukaan sensor QCM dilakukan dengan teknik deposisi *Layer by Layer* (LbL) (Fitriyana dan Kurniawan, 2015). Sensor QCM dipasang pada *crystal holder* dan dicelupkan ke dalam larutan NiO nanopartikel selama 5 menit dengan disertai pengadukan menggunakan *magnetic stirrer*. Pelapisan polianilin bertujuan untuk mengikat NiO sehingga ketika sensor QCM dicelupkan ke dalam air, NiO yang telah dilapiskan tidak terlepas. Kemudian sensor QCM dilepaskan dari *crystal holder* dan dikeringkan pada suhu ruang. Selanjutnya, dilakukan kalsinasi pada suhu 400 °C. Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Budipramana dkk., (2014) pemanasan hingga suhu 120 °C menyebabkan dekomposisi air yang berikatan secara fisik dengan Ni(OH)₂. Pada kisaran suhu 120 hingga 323 °C mengindikasikan terjadinya dekomposisi air hidrat dari Ni(OH)₂ membentuk Ni(OH)₂ anhidrat. Ni(OH)₂ anhidrat terdekomposisi pada suhu 400 °C yang ditandai dengan terjadinya penguapan air kristal membentuk NiO.

4.3 Pembuatan dan Karakterisasi Gelatin

4.3.1 Pembuatan Gelatin

Gelatin babi dibuat dari bahan dasar kulit dengan metode ekstraksi asam. Ekstraksi bertujuan untuk mengkonversi kolagen menjadi gelatin. Sebelumnya, kulit dipotong kecil-kecil, pemotongan dimaksudkan untuk memperluas permukaan kulit sehingga pada proses *demineralisasi* dan ekstraksi lebih cepat dan maksimal (Retno, 2012). Tahap pertama, sampel berupa kulit direndam dengan larutan asam klorida selama 4 hari. Perendaman dilakukan dengan menggunakan pelarut asam karena perendaman dengan pelarut asam mampu menguraikan serat kolagen lebih banyak dan cepat tanpa mempengaruhi kualitas gelatin yang dihasilkan.

Ekstraksi asam kulit babi dilakukan selama 2 x 24 jam. Ekstraksi suhu awal 50°C selanjutnya dilakukan peningkatan suhu secara bertahap sampai suhu mencapai 90°C. Dilakukan peningkatan suhu secara bertahap pada saat ekstraksi ini supaya panas yang memberikan pengaruh interaksi antara lingkungan dengan potongan kulit babi tersebut tidak mengalami suhu kejut, sehingga tidak merusak struktur jaringan dari gelatin tersebut. Menurut Rahayu & Fithriyah (2015), ekstraksi bertingkat dilakukan untuk menghasilkan gelatin yang banyak. Penggunaan suhu 55-90°C kolagen dapat larut dalam air menjadi gelatin (Karim & Bhat, 2008).

Langkah selanjutnya dilakukan pemisahan antara filtrat dan residu. Filtrat yang terbentuk kemudian dipekatkan dengan evaporator dan dikeringkan. Pemekatan dilakukan untuk memperoleh gelatin pekat dengan menguapkan pelarut. Ekstrak pekat yang dihasilkan berbau anyir dan berwarna kuning keruh. Warna kuning yang dihasilkan dipengaruhi oleh jenis pelarut dan suhu ekstraksi yang digunakan. Menurut penelitian Siregar, dkk (2015), semakin kuat pelarut yang digunakan maka warna gelatin yang dihasilkan berwarna kuning sampai coklat.

Ekstrak pekat yang dihasilkan dikeringkan pada suhu 50°C. Suhu tersebut dibawah denaturasi protein gelatin (110-130°C) sehingga gelatin tidak rusak (Hayashi & Oh, 1983). Dalam penyimpanan gelatin babi selalu disimpan di lemari es dengan suhu rendah agar gelatin babi tidak rusak (Hanani dkk., 2012).

4.3.2 Pembuatan Es krim

Terdapat dua macam es krim yang dibuat, es krim yang pertama ditambahkan gelatin sapi sedangkan es krim yang kedua ditambahkan gelatin babi. Pengujian sensor terhadap sampel es krim menggunakan sampel es krim *homemade* dan 10 sampel es krim komersial dengan merk yang berbeda. Terlebih dahulu sampel es krim diambil sebanyak 3 mL dan dimasukkan kedalam tabung sentifuge kemudian ditambahkan HCl sebanyak 9 mL dengan perbandingan (1 es krim : 3 HCl) selanjutnya sampel dimasukkan kedalam alat sentrifuge selama kurang lebih 1 jam. Proses ekstraksi es krim dengan pelarut asam anorganik menyebabkan terjadinya suatu interaksi.

Es krim sendiri terdiri dari protein, vitamin, lemak dan beberapa garam-garam mineral lainnya. Kemungkinan di dalam es krim tersebut membentuk suatu

kompleks protein yang mengandung kasein. Ketika kompleks protein dengan kasein bereaksi dengan asam klorida maka keduanya akan terurai. Kasein cukup sensitif terhadap pH, maka protein kasein akan mengendap pada titik isoelektriknya. Selain itu, protein kasein merupakan suspensi, sehingga protein tersebut dapat dipisahkan dari campuran menggunakan sentrifugasi.

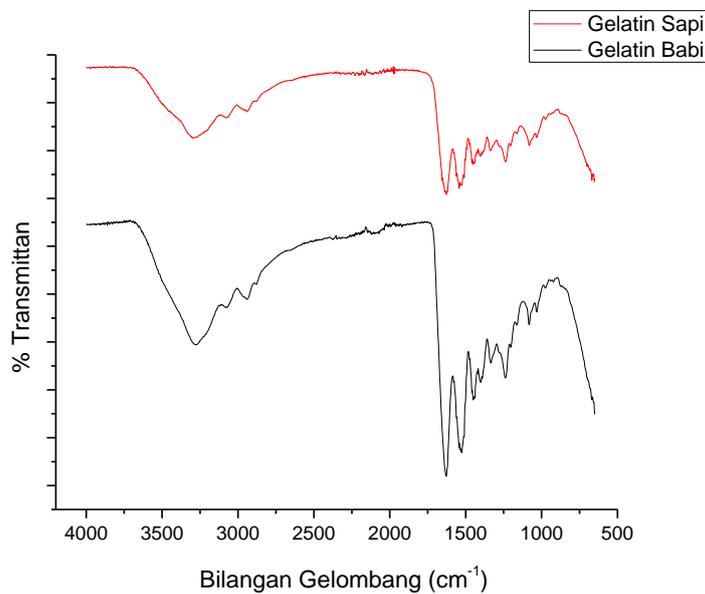
Reaksi tersebut menyebabkan rusaknya struktur kasein pada es krim sehingga kasein menjadi tidak larut dalam air yang ditandai dengan adanya pembentukan 2 lapisan yaitu filtrat dan residu. Kasein dapat diendapkan oleh asam, enzim, dan alkohol. Oleh karena itu, susu dapat dikoagulasikan (digumpalkan) oleh asam yang terbentuk di dalam susu sebagai aktivitas dari mikroba (Retno, 2008).

Pemilihan yang tepat dalam penggunaan asam memberikan efek yang besar pada hasil berat gelatin yang didapatkan pada proses ekstraksi. Marsaid dan Atmaja (2013) mengemukakan penelitiannya yang menggunakan perbedaan pelarut antara asam klorida, asam asetat dan asam fosfat dalam ekstraksi gelatin. Hasil menunjukkan bahwa berat yang didapat paling besar adalah asam klorida. Hal ini karena asam klorida merupakan asam kuat yang mempunyai pKa lebih rendah dibanding asam asetat dan asam fosfat. Semakin rendah pKa, semakin tinggi sifat asam. Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semakin tinggi pH larutan asam, maka semakin tinggi pula konsentrasi larutan asam klorida, sehingga gelatin yang didapatkan semakin besar.

Pengendapan kasein tidak hanya menggunakan penambahan asam namun juga dibantu dengan proses sentrifugasi. Sentrifugasi banyak digunakan untuk mempercepat pengendapan protein susu (Martini, dkk. 2017). Selain itu sentrifugasi juga berfungsi untuk memisahkan lemak dari susu pada es krim (Masruroh, 2018). Pemisahan lemak susu ditujukan untuk memperoleh susu rendah lemak, namun tetap mengandung komponen proteinnya (Czank dkk., 2009; Gilgan dkk., 2015; Drewniak dkk., 2017). Setelah ekstraksi selesai, dilakukan pemisahan antara filtrat dan residu. Filtrat yang dihasilkan kemudian dinetralkan dengan aqua demineralisasi. pH netral merupakan keadaan titik isoelektrik dari asam amino penyusun protein seperti gelatin (Poedjiadi, 1994).

4.3.3 Karakterisasi Gelatin

Karakterisasi terhadap gelatin babi dan gelatin sapi dilakukan menggunakan metode spektrofotometri Inframerah, dengan instrumen *Fourier Transform Infrared* (FTIR). Pemilihan metode ini bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam kedua jenis gelatin tersebut. Pada karakterisasi ini, gelatin babi yang digunakan merupakan hasil dari ekstraksi asam sedangkan gelatin sapi yang digunakan adalah gelatin sapi komersial. Dari hasil penelitian, diperoleh empat puncak utama pada spektra FTIR gelatin sapi dan gelatin babi seperti yang dapat dilihat pada Gambar 4.5.



Gambar 4.4 Spektra FTIR gelatin sapi dan gelatin babi

Puncak-puncak tersebut terdapat pada kisaran bilangan gelombang yang hampir sama baik pada gelatin babi maupun gelatin sapi yaitu pada kisaran bilangan gelombang 3500-3200 cm⁻¹ yang merupakan daerah amida A, 1740-1600 cm⁻¹ yang merupakan daerah amida I, 1540-1335 cm⁻¹ merupakan daerah amida II dan 1242-1058 cm⁻¹ merupakan daerah amida III.

Puncak yang muncul pada daerah amida A disebabkan adanya vibrasi ulur dari N-H. puncak yang muncul pada daerah amida A tidak bergantung pada konformasi struktur polipeptida tetapi sangat dipengaruhi oleh kekuatan ikatan hidrogen (Barth, 2007). Vibrasi amida I yang terjadi pada kisaran bilangan

gelombang 1600-1700 cm⁻¹, utamanya disebabkan oleh vibrasi tekuk C=O dan sebagian vibrasi ulur C-N. Vibrasi amida I sangat dipengaruhi oleh konformasi struktur polipeptida serta ikatan hidrogen. Oleh karena itu vibrasi amida I umumnya digunakan untuk menentukan struktur sekunder dari protein (Muyonga dkk., 2004; Pranoto dkk., 2007; Barth, 2007). Puncak amida II disebabkan oleh kombinasi vibrasi tekuk N-H pada bidang planar dan vibrasi ulur C-N serta sebagian kecil vibrasi ulur C-C. Sedangkan puncak pada daerah amida III berkaitan dengan vibrasi tekuk N-H pada bidang planar dan vibrasi ulur C-N serta sebagian kecil vibrasi tekuk CO dan vibrasi ulur CC (Barth, 2007). Puncak amida III juga dapat dipengaruhi oleh vibrasi gugus CH₂ dari glisin (Muyonga dkk., 2004; Nur Hanani dkk., 2012). Hasil karakterisasi gelatin dengan FTIR spektroskopi yang diperoleh sesuai dengan karakterisasi yang sebelumnya dilakukan oleh Hashim dkk., (2010) dan Hanani dkk., (2012).

4.4. Uji Kemampuan Deteksi Sensor QCM

Kemampuan sensor QCM untuk mendeteksi gelatin diuji dalam media air suasana basa pH 9. Sensor QCM dimasukkan ke dalam air dengan disertai pengadukan pada kecepatan 200 rpm. Ketika sensor QCM mulai masuk ke dalam media air, terjadi pergeseran frekuensi yang terbaca pada monitor. Interaksi antara adsorben pada permukaan sensor QCM dengan analit menyebabkan terjadinya perubahan massa dan pergeseran frekuensi. Ketika analit menempel pada adsorben, maka massa pada permukaan sensor QCM akan meningkat sedangkan nilai pergeseran frekuensi menurun (Latif dkk., 2013). Besar pergeseran frekuensi berbanding lurus dengan perubahan massa yang terjadi, sesuai dengan persamaan Sauerbrey di bawah ini,

$$\Delta f = -C \cdot \Delta m$$

dimana:

Δf = perubahan frekuensi yang teramati (Hz)

C = faktor sensitifitas kristal (56,6 Hz μg^{-1} cm² untuk 5 MHz kristal kuarsa *AT-cut* pada suhu kamar)

Δm = perubahan massa per satuan luas (g/cm²)

Setelah frekuensi yang terbaca stabil, masing-masing sampel dengan variasi konsentrasi 100, 200, 300, 400, dan 500 ppm dimasukkan secara perlahan ke dalam air. Pengujian yang dilakukan selama 600 detik untuk masing-masing sampel.

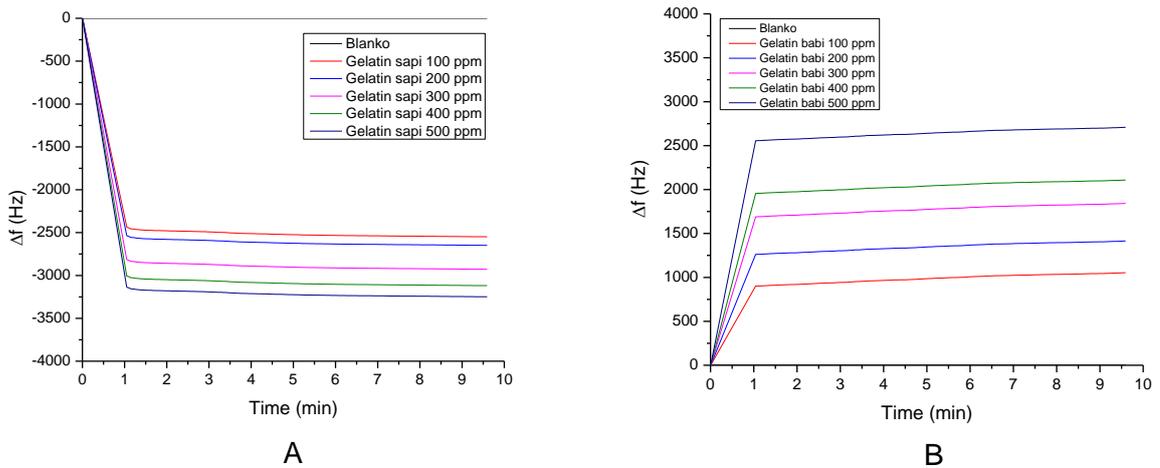
4.4.1 Uji Kemampuan Sensor QCM Termodifikasi Polianilin (PANI)/NiO Nanopartikel

QCM yang telah dimodifikasi dengan Polianilin (PANI)/NiO nanopartikel pada elektroda emas nya diuji kemampuannya untuk mendeteksi gelatin dalam sampel murni gelatin sapi dan gelatin babi serta sampel nyata es krim. Uji dilakukan dalam media aqua DM dengan pH 9 sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh (Nugroho dan Kurniawan, 2015 dan Pradini, 2017).

4.4.1.1 Sampel Murni Gelatin

Uji sensor QCM termodifikasi PANI/NiO nanopartikel dilakukan pada sampel murni gelatin sapi dan gelatin babi dengan aqua DM yang digunakan sebagai blanko. Pergeseran frekuensi yang terjadi saat uji sensor QCM dengan kedua sampel gelatin tersebut dapat diamati pada Gambar 4.6 (A) dan (B).

Gambar 4.6 (A) menunjukkan pergeseran frekuensi yang dihasilkan bernilai negatif untuk sampel gelatin sapi. Nilai pergeseran frekuensi semakin negatif seiring dengan bertambahnya nilai konsentrasi gelatin yang ditambahkan. Sedangkan pada Gambar 4.6 (B) sampel gelatin babi memberikan pergeseran frekuensi yang bernilai positif. Sama halnya dengan gelatin sapi, nilai pergeseran frekuensi gelatin babi meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi yang ditambahkan.



Gambar 4.6 Pergeseran frekuensi sampel murni: gelatin sapi (A) dan gelatin babi (B) pada uji sensor QCM termodifikasi PANI/NiO nanopartikel

Perbedaan pergeseran frekuensi yang dihasilkan oleh gelatin sapi dan gelatin babi disebabkan karena kekuatan ikatan antara NiO nanopartikel dengan molekul-molekul gelatin. Ketika molekul dari analit berinteraksi dengan adsorben yang terdapat pada permukaan sensor QCM, maka molekul tersebut akan terikat kuat pada adsorben yang berakibat pada terjadinya perubahan massa pada permukaan elektroda dan pergeseran frekuensi. Besarnya nilai pergeseran frekuensi sebanding dengan perubahan massa yang terjadi. Nilai perubahan massa yang meningkat memberikan nilai pergeseran frekuensi yang semakin negatif sesuai dengan persamaan Sauerbrey (*Sauerbrey behavior*). Namun, terdapat juga fenomena ketika molekul analit yang mengenai adsorben pada permukaan elektroda QCM tidak terikat kuat. Molekul-molekul tersebut mengenai adsorben dan berikatan, namun kemudian terlepas. Pergerakan molekul-molekul yang terlepas ke analit menyebabkan massa pada permukaan elektroda berkurang. Hal ini kemudian berakibat pada pergeseran frekuensi yang bernilai positif (*Anti Sauerbrey behavior*) (Latif dkk., 2013).

Molekul-molekul gelatin sapi yang mengenai NiO nanopartikel pada permukaan sensor QCM dapat terikat sehingga massa pada permukaan sensor QCM juga bertambah. Hal ini dibuktikan dengan pergeseran frekuensi yang semakin negatif. Sedangkan molekul-molekul gelatin babi terikat lebih kuat dengan NiO nanopartikel dibandingkan gelatin sapi. Molekul-molekul gelatin babi yang terikat

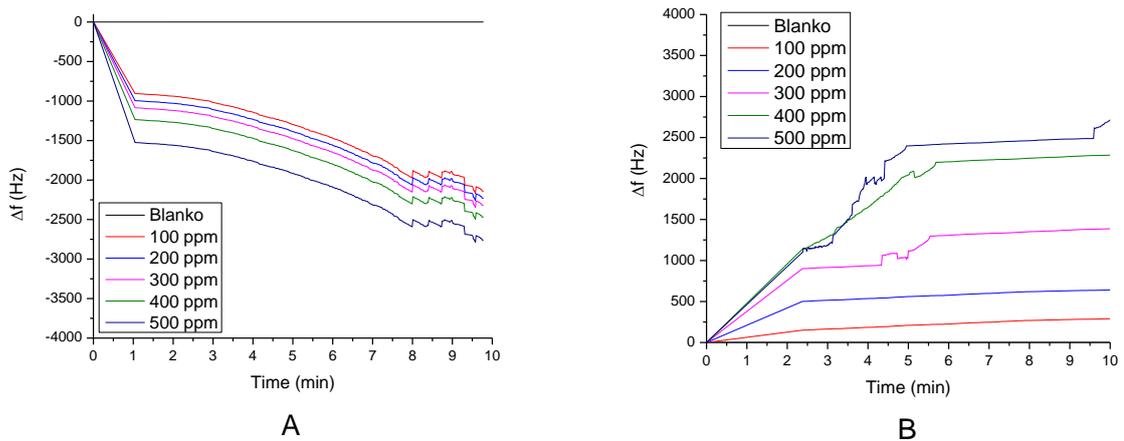
kuat dengan NiO nanopartikel lama-kelamaan akan menarik lapisan NiO nanopartikel sehingga NiO nanopartikel terlepas dari permukaan sensor QCM. Ketika lapisan NiO nanopartikel terlepas maka terjadi pengurangan massa pada permukaan sensor QCM. Pengurangan massa ini berakibat pada pergeseran frekuensi yang bernilai positif. Oleh karena itu pada sampel gelatin babi dihasilkan pergeseran frekuensi yang bernilai positif. Hasil uji sensor QCM termodifikasi polianilin/NiO nanopartikel dengan sampel gelatin sapi dan gelatin babi sesuai dengan hasil yang telah dilakukan sebelumnya oleh Nugroho dan Kurniawan (2015) dan Pradini (2017).

4.4.1.2 Sampel Nyata Es Krim

Sensor QCM termodifikasi polianilin/NiO nanopartikel selanjutnya digunakan untuk mendeteksi gelatin dalam sampel nyata es krim. Pada penelitian ini digunakan es krim homemade dengan penambahan gelatin sapi dan gelatin babi, dan es krim komersil yang tidak diketahui jenis gelatin nya. Keseluruhan sampel tersebut diuji dengan perlakuan yang sama seperti saat uji sensor QCM dengan sampel gelatin sapi dan gelatin babi.

4.4.1.2.1 Sampel Es Krim *Homemade*

Sensor QCM termodifikasi polianilin/NiO nanopartikel diuji pada sampel es krim *homemade*. Pada es krim tersebut sengaja ditambahkan jenis gelatin yang sudah diketahui sebelumnya. Uji terhadap sampel ini dilakukan dengan perlakuan yang sama seperti halnya dengan uji pada sampel murni gelatin sebelumnya.

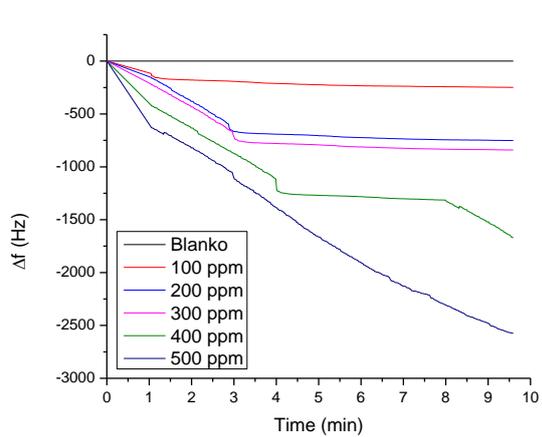


Gambar 4.7 Pergeseran frekuensi sampel pada uji QCM temodifikasi PANI/NiO nanopartikel dengan penambahan gelatin sapi pada sampel es krim *homemade* (A); pergeseran frekuensi sampel pada uji QCM temodifikasi PANI/NiO nanopartikel dengan penambahan gelatin babi (B).

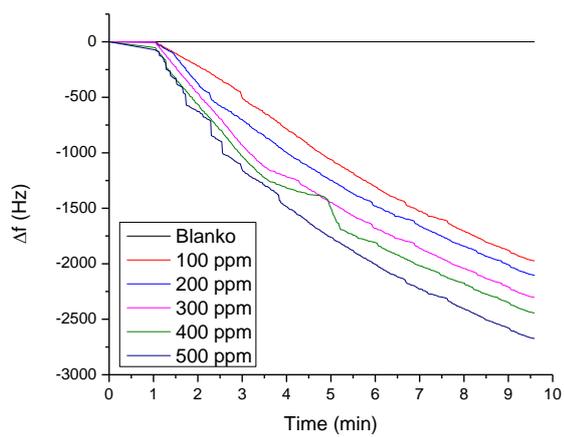
Pengujian sensor QCM termodifikasi polianilin/NiO nanopartikel pada sampel nyata es krim *homemade* yang dengan sengaja ditambahkan gelatin sapi memberikan nilai pergeseran frekuensi yang negatif, sedangkan untuk sampel nyata es krim *homemade* yang dengan sengaja ditambahkan gelatin babi memberikan nilai pergeseran frekuensi yang positif. Nilai pergeseran frekuensi semakin besar seiring dengan bertambahnya konsentrasi es krim yang ditambahkan.

4.4.1.2.2 Sampel Es Krim Komersial

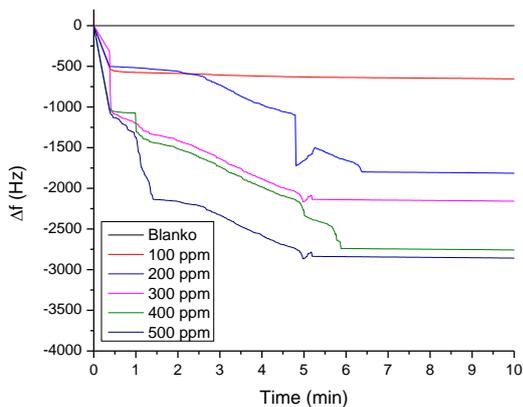
Sensor QCM termodifikasi polianilin/NiO nanopartikel diuji pada sampel es krim kemasan komersial. Pada es krim tersebut juga tidak disertakan jenis gelatin yang digunakan. Uji terhadap sampel ini dilakukan dengan perlakuan yang sama seperti halnya dengan uji pada sampel-sampel sebelumnya.



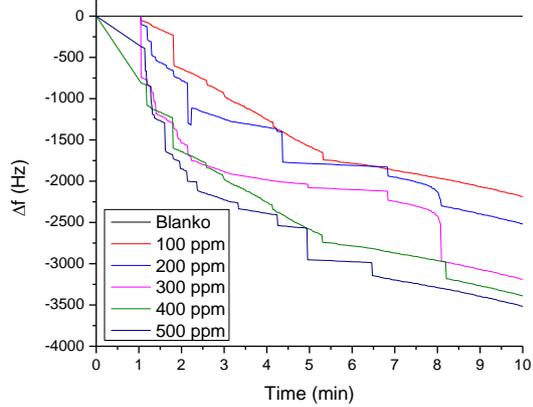
A



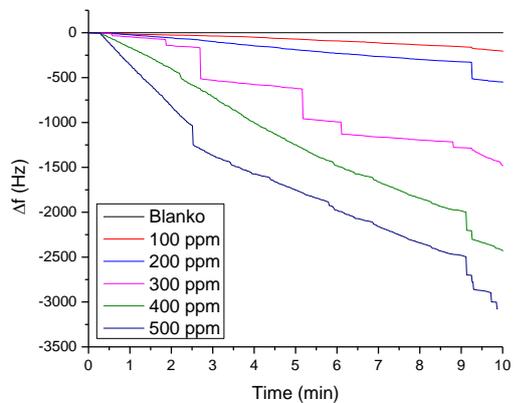
B



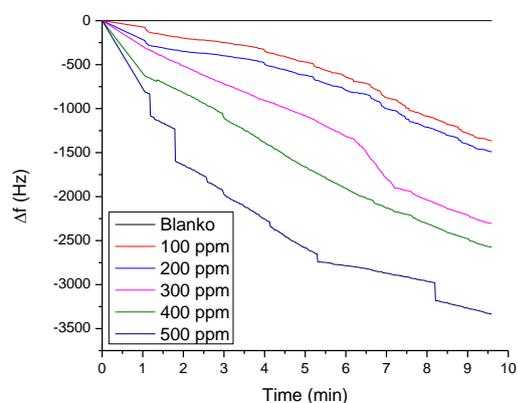
C



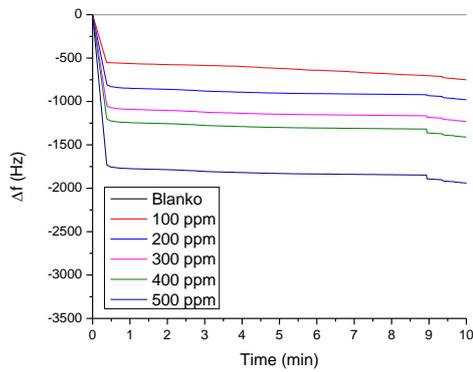
D



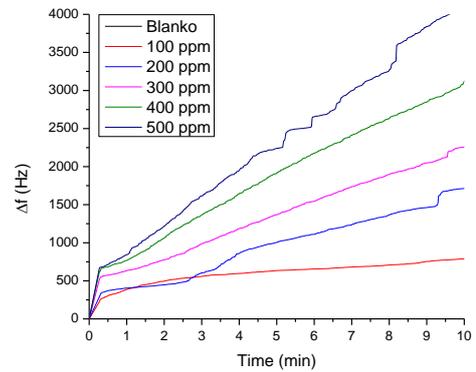
E



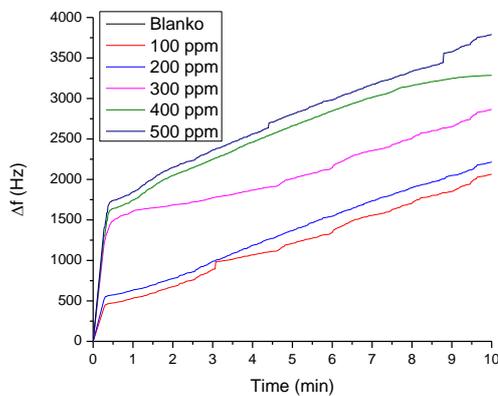
F



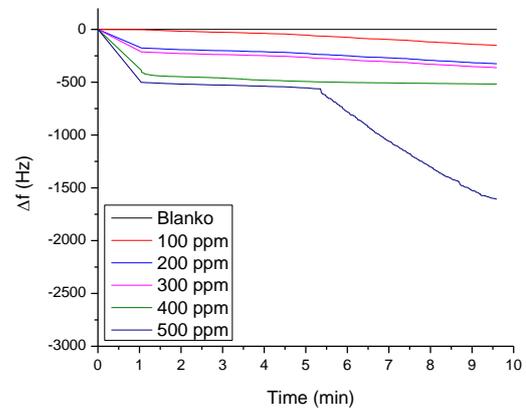
G



H



I



J

Gambar 4.8 Pergeseran frekuensi sampel es krim komersial (A) es krim 1, (B) es krim 2, (C) es krim 3, (D) es krim 4, (E) es krim 5, (F) es krim 6, (G) es krim 7, (H) es krim 8, (I) es krim 9, (J) es krim 10 pada uji QCM temodifikasi PANI/NiO nanopartikel

Sampel es krim komersial yang digunakan dalam uji sensor QCM temodifikasi polianilin NiO nanopartikel ini adalah sampel es krim berjenis susu. Pada beberapa sampel es krim ini tidak terdapat keterangan jenis gelatin yang ditambahkan pada komposisi kemasan es krim tersebut. Dari hasil yang diperoleh pada Gambar 4.8, terjadi beberapa pergeseran frekuensi pada uji sensor terhadap sampel tersebut. Hasil uji mengindikasikan bahwa dalam es krim dengan label a,b,c,d,e,f,g dan j tersebut mengandung gelatin sapi seperti dengan hasil uji yang

diperoleh saat dilakukan terhadap sampel murni gelatin sapi dan es krim *homemade* dengan penambahan gelatin sapi. Sedangkan, untuk sampel es krim dengan label h dan i mengandung gelatin babi memberikan hasil nilai pergeseran frekuensi yang positif seperti dengan hasil uji yang diperoleh saat dilakukan terhadap sampel murni gelatin babi.

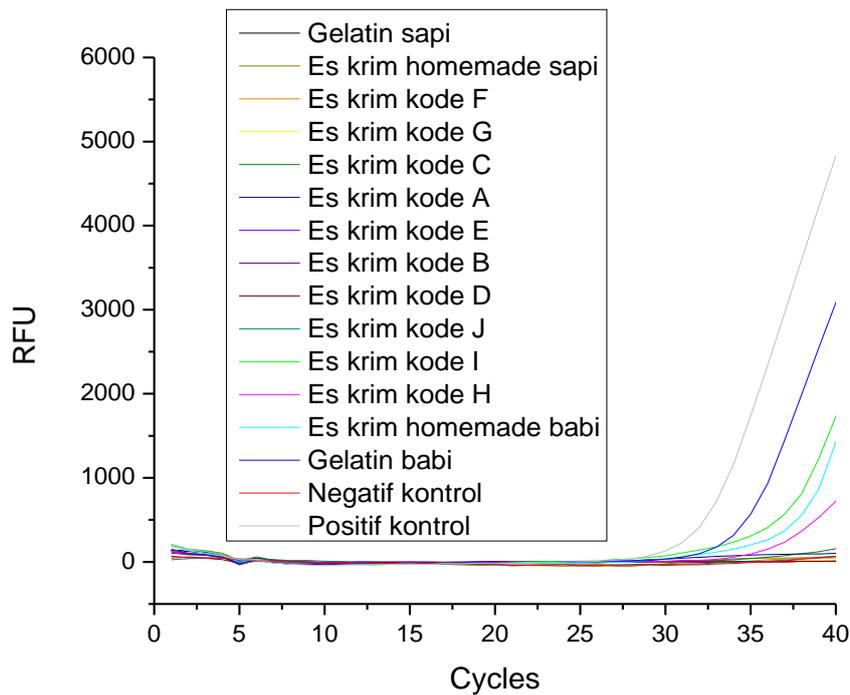
Dari uji yang telah dilakukan terhadap beberapa sampel es krim yang diperoleh dari pasar lokal di Surabaya menggunakan sensor QCM termodifikasi polianilin NiO nanopartikel, terdapat perbedaan jenis gelatin yang digunakan dalam pembuatan es krim. Beberapa produk es krim tidak mencantumkan jenis gelatin yang digunakan, namun terdapat beberapa produk yang menyebutkan jenis gelatin yang digunakan misalnya gelatin nabati. Hasil sensor pada penggunaan gelatin dalam beberapa produk es krim yang beredar di pasaran kota Surabaya ditampilkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil sensor pada penggunaan gelatin dalam beberapa es krim komersial di Surabaya

No.	Merek es krim	Gelatin	
		Gelatin sapi	Gelatin babi
1	A	+	-
2	B	+	-
3	C	+	-
4	D	+	-
5	E	+	-
6	F	+	-
7	G	+	-
8	H	-	+
9	I	-	+
10	J	+	-

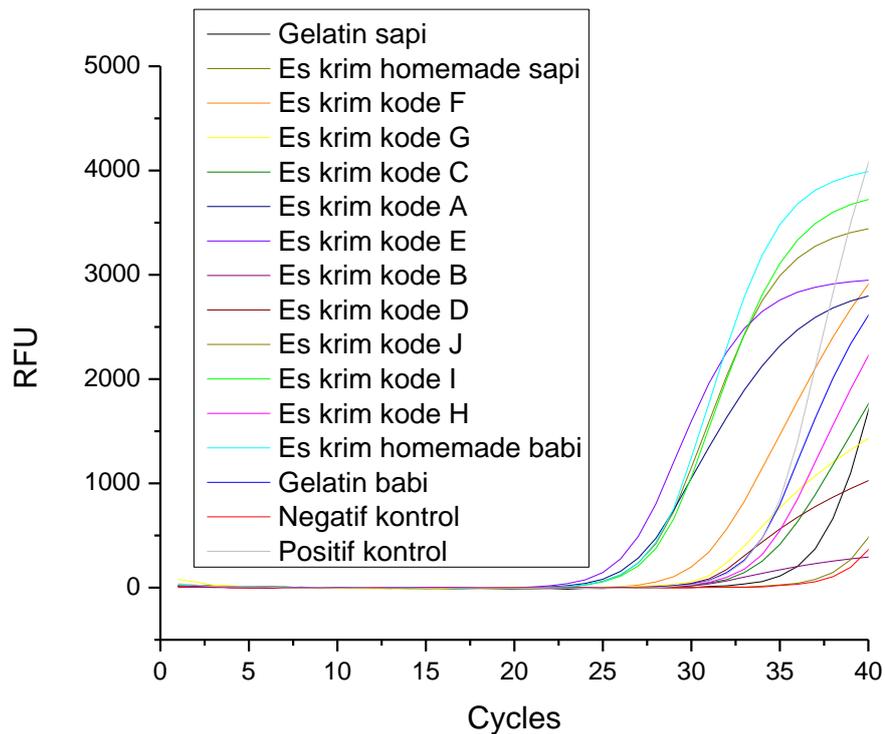
4.5 Hasil amplifikasi DNA sampel es krim menggunakan Real Time PCR

Proses amplifikasi DNA dilakukan dalam tiga tahap, yaitu tahap pra-denaturasi, tahap denaturasi, dan tahap annealing. Suhu *annealing* yang digunakan dipilih berdasarkan hasil optimasi yang telah dilakukan Rahmawati (2012), yaitu 60 °C. Hasil amplifikasi DNA sampel es krim dan DNA gelatin sapi maupun babi dapat dilihat melalui Gambar 4.9 dibawah ini.



Gambar 4.9 Kurva amplifikasi PCR untuk DNA babi pada sampel es krim dan gelatin

Hasil amplifikasi DNA gelatin babi dengan primer babi pada Gambar 4.9 memberikan hasil positif hal ini menunjukkan bahwa primer-probe babi dapat mengamplifikasi DNA babi secara spesifik, dengan nilai Cq dari 32,55 menjadi 34,73. Sedangkan untuk amplifikasi DNA babi pada sampel es krim memberikan hasil yang positif untuk sampel es krim homemade babi, es krim kode H dan es krim kode I dengan nilai Cq berturut-turut 37,70; 38,82 dan 36,56. Hasil dari real-time PCR yang didapat sesuai dengan hasil pada sensor QCM, dimana untuk sampel gelatin babi, es krim homemade babi, es krim kode H dan es krim kode I memang teridentifikasi mengandung babi. Selanjutnya untuk kurva amplifikasi PCR untuk DNA vertebrata pada sampel es krim dan gelatin di tunjukkan pada Gambar 4.10.



Gambar 4.10 Kurva amplifikasi PCR untuk DNA vertebrata pada sampel es krim dan gelatin

Gambar 4.10 menunjukkan hasil amplifikasi DNA vertebrata pada gelatin sapi, babi dan sampel es krim. Untuk hasil real-time PCR pada sampel es krim A,B,C,D,E,F,G,H,I,J dan sampel es krim homemade sapi maupun babi memberikan hasil yang positif untuk DNA vertebrata dengan nilai Cq berturut-turut 27,69; 28,13; 29,00; 27,74; 28,17; 31,33; 26,89; 34,43; 28,13; 28,22; 27,96 dan 27,89. Perbandingan hasil nilai Cq pada DNA gelatin sapi, gelatin babi dan semua produk sampel es krim ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Perbandingan nilai Cq pada setiap DNA

Sampel	Nilai Cq Babi	Nilai Cq Vertebrata
Positiv Control	32,55	31,74
Negatif Control	0	38,83
Gelatin Sapi	0	27,17
Gelatin Babi	34,73	33,72
Es krim A	0	27,69
Es krim B	0	28,13
Es krim C	0	29,00
Es krim D	0	27,74
Es krim E	0	28,17
Es krim F	0	31,33
Es krim G	0	26,89
Es krim H	38,82	34,43
Es krim I	36,56	28,13
Es Krim J	0	28,22
Es krim Homemade Babi	37,70	27,89
Es krim Homemade Sapi	0	27,96

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB 5

KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Gelatin babi dan sapi dapat dideteksi menggunakan sensor *Quartz Crystal Microbalance* (QCM) yang telah dimodifikasi dengan polianilin/NiO nanopartikel. Hasil uji sensor QCM termodifikasi polianilin/NiO nanopartikel menunjukkan pergeseran frekuensi yang bernilai positif untuk gelatin babi. Sedangkan, untuk gelatin sapi menunjukkan pergeseran frekuensi yang bernilai negatif. Nilai pergeseran frekuensi semakin bertambah seiring dengan bertambahnya konsentrasi analit. Uji sensor QCM termodifikasi polianilin/NiO nanopartikel terhadap sampel es krim juga memberikan hasil yang sama. Untuk sampel es krim *homemade* dengan penambahan gelatin sapi diperoleh pergeseran frekuensi bernilai negatif dan untuk sampel es krim *homemade* dengan penambahan gelatin babi diperoleh pergeseran frekuensi bernilai positif. Hasil uji sensor QCM terhadap sampel es krim komersial yang diperoleh dari pasar lokal Surabaya yang tidak diketahui jenis gelatin yang digunakan memberikan pergeseran frekuensi yang bermacam-macam. Untuk sampel es krim dengan label a,b,c,d,e,f,g dan j memberikan nilai pergeseran frekuensi yang negatif. Hal ini berarti bahwa sampel es krim tersebut menggunakan gelatin sapi pada produknya. Sedangkan, untuk sampel es krim dengan label h dan i memberikan nilai pergeseran frekuensi yang positif. Hal ini berarti sampel es krim tersebut menggunakan gelatin babi pada produknya. Sedangkan, untuk hasil real-time PCR sampel es krim dengan label h, i, gelatin babi dan es krim *homemade* babi memberikan hasil yang positif sesuai dengan hasil QCM dimana bahwa sampel tersebut memang benar adanya teridentifikasi mengandung babi.

5.2 Saran

Perlu dilakukan studi lanjutan mengenai pengembangan sensor QCM termodifikasi polianilin/NiO nanopartikel sehingga dapat diaplikasikan pada semua jenis makanan yang mengandung gelatin.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR PUSTAKA

- Aida, A.A., Che Man, Y.B., Wong, C.M.V.L., Raha, A.R., dan Son, R. (2005), "Analysis of Raw Meats and Fats of Pigs Using Polymerase Chain Reaction for Halal Authentication." *Meat Science*, Vol. 69, No. 1, Hal. 47–52.
- Barth, A. (2007), "Infrared Spectroscopy of Proteins." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, Vol. 1767, No. 9, Hal. 1073–1101.
- Bavane, R.G. (2014), "Synthesis and Characterization of Thin Films of Conducting Polymers for Gas Sensing Applications." *INFLIBNET*,
- Baziwane, D., dan He, Q. (2007), "Gelatin: The Paramount Food Additive." *Food Reviews International*, Vol. 19, No. 4, Hal. 423–25.
- Bochenkov, V.E., dan Sergeev, G.B. (2010), "Sensitivity, Selectivity, and Stability of Gas-Sensitive Metal-Oxide Nanostructures." Dalam *Metal Oxides Nanostructures and Their Applications*, American Scientific Publishers, Vol. 3, Hal. 31–52.
- Budipramana, Y., Suprpto., Ersam, T., dan Kurniawan, F. (2014), "Synthesis Nickel Hidroksida by Electrolysis at High Voltage." *ARPJN Journal of Engineering and Applied Sciences*. Vol. 9, No. 11, Hal. 2074-2077.
- Burns, M.J., Gavin, J.N., Carole, A.F., dan Neil, H. (2005), Standardisation of Data From Real-Time Quantitative PCR Methods- Evaluation of Outliers and Comparison of Calibration Curves. *BMC Biotechnology* doi.10.1186/1472-6750-5-31.
- Candle, L., dan Kurniawan, F. (2016), "Deteksi Gelatin Babi Menggunakan Emas Termodifikasi Ni(OH)₂ Nanopartikel dengan Quartz Crystal Microbalance (QCM)." *Jurnal Sains dan Seni ITS*, Vol. 4, No. 2. Hal. 70-78.
- Casero, E., Vázquez, L., Parra-Alfambra, A.M., dan Lorenzo, E. (2010), "AFM, SECM and QCM as Useful Analytical Tools in the Characterization of Enzyme-Based Bioanalytical Platforms" Vol. 135, No. 8, Hal. 1878–1903.
- Cebi, N., Durak, M.Z., Toker, O.S., Sagdic, O., dan Arici, M. (2016), "An Evaluation of Fourier Transforms Infrared Spectroscopy Method for the Classification and Discrimination of Bovine, Porcine and Fish Gelatins." *Food Chemistry*, Vol. 190, No. Januari, Hal. 1109–15.
- Czank, C., Simmer, K., dan Hartmann, P.E. (2009), "A method for standardizing the fat content of human milk for use in the neonatal intensive care unit." *International Breastfeeding Journal* 4(1):3.
- Demirhan, Y., Ulca, P., dan Senyuva, H.Z. (2012), "Detection of Porcine DNA in Gelatine and Gelatine-Containing Processed Food Products—Halal/Kosher Authentication." *Meat Science*, Vol. 90, No. 3, Hal. 686–89.
- Dhawan, S.K., Kumar, D., Ram, M.K., Chandra, S., dan Trivedi, D.C. (1997), "Application of Conducting Polyaniline as Sensor Material for Ammonia." *Sensors and Actuators B: Chemical*, Vol. 40, No. 2, Hal. 99–103.

- Drewniak, M., Waterhouse, CCM., Lyon, A.W., dan Fenton, T.R. (2017), "Immunoglobulin A and Protein Content of Low-Fat Human Milk Prepared for the Treatment of Chylothorax." *Nutrition in Clinical Practice*.
- Doi, H., Watanabe, E., Shibata, H., dan Tanabe, S. (2009), "A Reliable Enzyme Linked Immunosorbent Assay for the Determination of Bovine and Porcine Gelatin in Processed Foods." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 57, No. 5, Hal. 1721–1726.
- Fitriyana, F., dan Kurniawan, F. (2015), "Polyaniline-Invertase-Gold Nanoparticles Modified Gold Electrode for Sucrose Detection." *Indonesian Journal of Chemistry*, Vol. 15, No. 3, Hal. 226–233.
- Gaffar, S. (2007), *Buku Ajar Bioteknologi Molekul*. Bandung: Universitas Padjadjaran.
- Gilgan, H., Deveau, D., dan O'Leary, G. (2015), "Skimming Mother's Breast Milk at Home, ICAN: Infant, Child, & Adolescent Nutrition." *National Institute of Public Cooperation and Child Development*. XI(3):12-27.
- Ge, Y., Wang, J., Shi, Z., dan Yin, J. (2012), "Gelatin-Assisted Fabrication of Water-Dispersible Graphene and Its Inorganic Analogues." *Journal of Materials Chemistry*, Vol. 22, No. 34, Hal. 1719–1724.
- Gelatin Manufactures Institute of America (GMIA). (2012), "Gelatin Handbook", http://www.gelatin-gmia.com/images/GMIA_Gelatin_Manual_2012.pdf
- Green, A.G., dan Woodhead, A.E. (1910), "CCXLIII.—Aniline-Black and Allied Compounds. Part I." *Journal of the Chemical Society, Transactions*, Vol. 97, No. 0, Hal. 2388–2403.
- Grundy, H.H., Reece, P., Buckley, M., Solazzo, C.M., Dowle, A.A., Ashford, D., Charlton, A.J., Wadsley, M.K., dan Collins, M.J. (2016), "A Mass Spectrometry Method for the Determination of the Species of Origin of Gelatine in Foods and Pharmaceutical Products." *Food Chemistry*, Vol. 190, No. Januari, Hal. 276–284.
- Hanani, Z.A.N, Roos, Y.H., dan Kerry, J.P. (2012), "Use of Beef, Pork and Fish Gelatin Sources in the Manufacture of Films and Assessment of Their Composition and Mechanical Properties." *Food Hydrocolloids*, Vol. 29, No. 1, Hal. 144–151.
- Hashim, D.M., Man, Y.B.C., Norakasha, R., Shuhaimi, M., Salmah, Y., dan Syahariza, Z.A. (2010), "Potential Use of Fourier Transform Infrared Spectroscopy for Differentiation of Bovine and Porcine Gelatins." *Food Chemistry*, Vol. 118, No. 3, Hal. 856–860.
- Hastuti, D., dan Sumpe, I.S. (2007), "Pengenalan dan Proses Pembuatan Gelatin." *MEDIAGRO*, Vol. 3, No. 1, Hal. 39–48.
- Hidaka, S., dan Liu, S.Y. (2003), "Effects of Gelatins on Calcium Phosphate Precipitation: A Possible Application for Distinguishing Bovine Bone Gelatin from Porcine Skin Gelatin." *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol. 16, No. 4, Hal. 477–483.

- Hulanicki, A., Glab, S., dan Ingman, F. (1991), "Chemical Sensors: Definitions and Classification." *Pure and Applied Chemistry*, Vol. 63, No. 9, Hal. 1247–50.
- Hutapea, T.P.H., Triana, Y., dan Kurniawan, F. (2014), "Pengaruh Variasi pH Elektropolimerisasi Anilin Terhadap Konduktivitas Polianilin." *PROSIDING SEMINAR KIMIA*, Vol. April, No. 0. Hal 78-79.
- Johnston-Banks, F.A. (1990), "Gelatine." Dalam *Food Gels*, diedit oleh Peter Harris, Elsevier Applied Food Science Series, Springer Netherlands, Hal. 233–289.
- Karim, A.A., dan Bhat, R. (2009), "Fish Gelatin: Properties, Challenges, and Prospects as an Alternative to Mammalian Gelatins." *Journal of Food Hydrocolloids*. Vol. 23, No. 3, Hal. 563–576.
- Kattumuri, V. (2006), "Gold Nanoparticles for Biomedical Applications: Synthesis, Characterization, in Vitro and in Vivo" Tesis, University of Missouri--Columbia.
- Keenan, T.R. (2000), "Gelatin." Dalam *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, Vol. 12, John Wiley & Sons, Inc.
- Kumar, R., Bishnoi, N.R., Garima., dan Bishnoi K. (2008), "Biosorption of Chromium(VI) from Aqueous Solution and Electroplating Wastewater using Fungal Biomass, J." *Chem. Eng*, 135, 202-208.
- Latif, U., Can, S., Hayden, O., Grillberger, P., dan Dickert, F.L. (2013), "Sauerbrey and Anti-Sauerbrey Behavioral Studies in QCM Sensors—Detection of Bioanalytes." *Sensors and Actuators B: Chemical*, Vol. 176, No. Januari, Hal. 825–830
- Mariod, A.A., dan Fadul, H. (2013), "Review: Gelatin, Source, Extraction and Industrial Applications." *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, Vol. 12, No. 2, Hal. 135–147.
- Martini, M., Altomonte, I., Sant'ana, D.S.A.M., dan Salari, F. (2017), "Fatty acid composition of the bovine milk fat globules obtained by gravity separation." *International Food Research Journal*. 24(1):148-152.
- Marshall, T. R and W. S. Arbuckle. (2006), "Ice Cream (5th Eds)". International Thompson Publishing, New York.
- Marsaid dan Atmaja, L. (2013), Karakterisasi Sifat Kimia, Fisik dan Termal Ekstrak Gelatin dari Tulang Ikan Tuna (*Thunnus sp*) pada Variasi Larutan Asam untuk Perendaman. *Jurnal Pangan dan Gizi* Vol. 04 No. 07 Tahun 2013
- Masruroh, H., Ulla, D. M., Fransisca, S. N dan Vita. P. (2018), Analisa Kadar Lemak Dalam Susu Perah Sapi Menggunakan Gaya Sentrifugasi. *jurnal metana*. Vol. 14(1):25-30. ISSN: 1858-2907
- Material Safety Data Sheet. (2013), "Aniline". sciencelab.com, Inc., Houston, Texas.
- Material Safety Data Sheet. (2013), "Nickel Oxide, Green". sciencelab.com, Inc., Houston, Texas.

- Mc Sweeney, P.L.H., dan P.F, Fox. (2009), "*Advanced Dairy Chemistry*". Volume 3. USA: Springer. Hal 100
- Mikail, B. (2017), Lezatnya potensi pasar es krim Indonesia. [http://health.kompas.com/read/2017/06/18/1159370/Lezatnya potensi pasar es krim Indonesia](http://health.kompas.com/read/2017/06/18/1159370/Lezatnya_potensi_pasar_es_krim_Indonesia). Surabaya. Diakses pada tanggal 24 Agustus 2019.
- Mikrajuddin, A., dan Khairurrijal. (2009), "Review: Karakterisasi Nanomaterial." *Jurnal Nanosains & Nanoteknologi*. Vol. 2, No. 1, Hal 1-9
- Muladno, (2010), *Teknologi Rekayasa Genetik*. Edisi Kedua. Bogor: IPB Press.
- Mustollah, H. (2016), "Analisa Profil Protein Gelatin Sapi dan Gelatin Babi Gummy Vitamin C Menggunakan Metode SDSPAGE (Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis)" Vol 2, No 1, Hal 31-39.
- Muyonga, J.H., Cole, C.G.B., dan Duodu, K.G. (2004), "Characterisation of Acid Soluble Collagen from Skins of Young and Adult Nile Perch (*Lates niloticus*)." *Food Chemistry*, Vol. 85, No. 1, Hal. 81–89.
- National Pollutant inventory. (2014), Nickel & compounds, Australian Government, Department of the Environment and Energy, <http://www.npi.gov.au/resource/nickel-compounds>
- Nugroho, A., dan Kurniawan, F. (2015), "Deteksi Gelatin Babi Menggunakan Sensor Emas Termodifikasi NiO nanopartikel pada Quartz Crystal Microbalance." *Jurnal Sains dan Seni ITS*, Vol. 4, No. 2, Hal. C32–34.
- Park, K.H., dan Nam, C.W. (2008), "Status and Prospect of Nickel Resources and Processing". *Metals and Materials Engineering*. Vol 21, Hal 1-9.
- Pew Forum on Religion & Public Life. (2011), *The future global Muslim population projections for 2010-2030*. Washington: Pew Research Center.
- Poedjiadi, A. (1994), *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.
- Poppe, J. (1992), "Gelatin." Dalam *Thickening and Gelling Agents for Food*, diedit oleh Alan Imeson, Springer US, Hal. 98–123.
- Pradini, D., Juwono, H., Madurani K.A., dan Kurniawan F. (2018), A preliminary study of identification halal gelatin using Quartz Crystal Microbalance (QCM) sensor *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences* 14 325–30.
- Pranoto, Y., Lee, C.M., dan Park, H.J. (2007), "Characterizations of Fish Gelatin Films Added with Gellan and κ -Carrageenan." *LWT - Food Science and Technology*, Vol. 40, No. 5, Hal. 766–774.
- Rahmawati, A., Kuswandi, B., dan Retnaningtyas, Y. (2015), "Deteksi Gelatin Babi Pada Sampel Permen Lunak Jelly Menggunakan Metode Fourier Transform Infra Red (FTIR) dan Kemometrik (Detection of Porcine Gelatin in Jelly Soft Candy Sample Using Fourier Transform Infra Red and Chemometrics)." *Pustaka Kesehatan*, Vol. 3, No. 2, Hal. 278–283.
- Retno, E., Uki, Y., dan Ning, S.D. (2008), "Pembuatan Keju Dari Susu Kacang Hijau Dengan Bakteri *Lactobacillus Bulgaricus*". *Ekuilibrium*. 4(2).

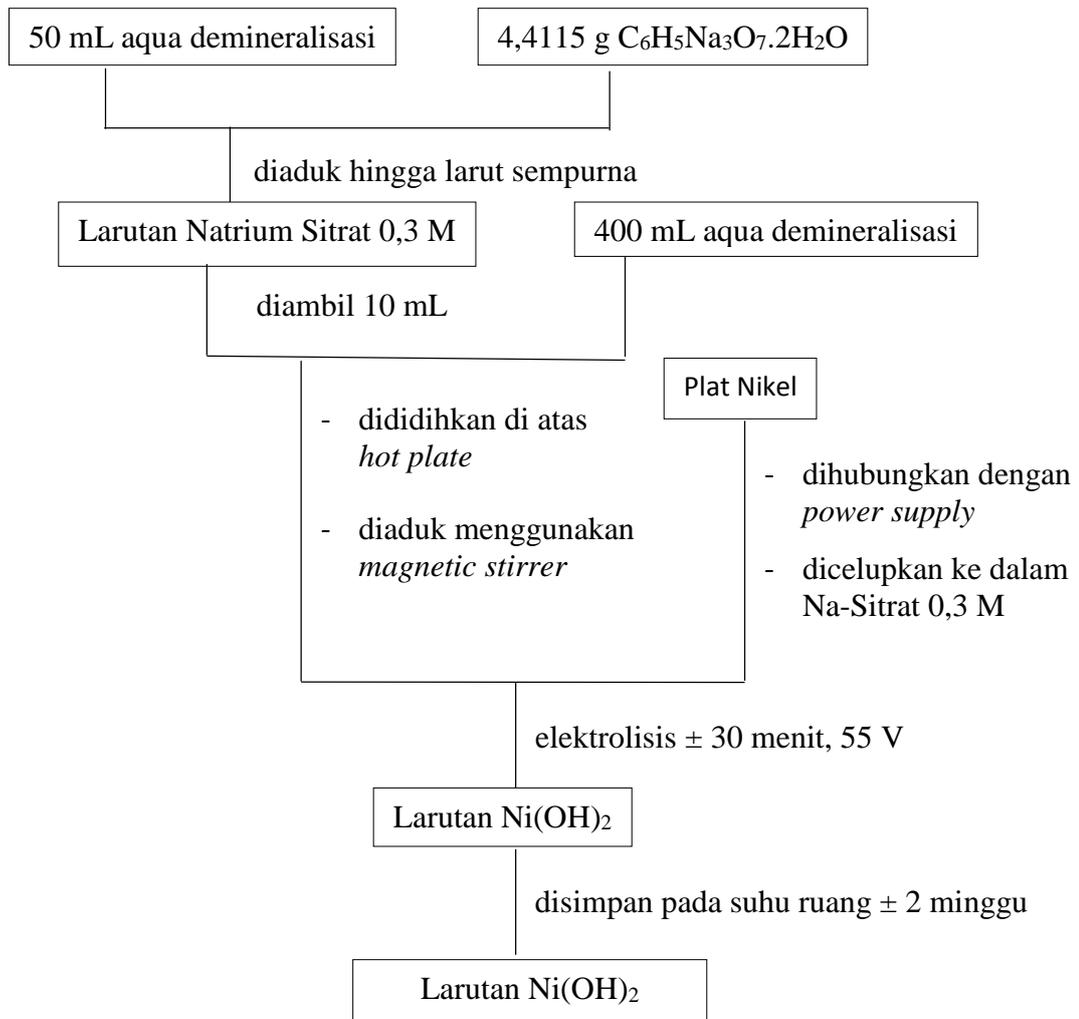
- Roched. (2012), The Light Cycler®480 System Unleash The Potential of Real-Time PCR. <http://www.roche-applied-science.com>. Diakses pada 13 April 2020.
- Roched. (2012), The Light Cycler®480 Instrument Operator's Manual. <http://www.roche-applied-science.com>. Diakses pada 13 April 2020.
- Rouessac, F., dan Rouessac, A. (2013), *Chemical Analysis: Modern Instrumentation Methods and Techniques*, John Wiley & Sons.
- Saiyed. Z.M., dan C.N. Ramchand. (2007), Extraction of Genomic DNA Using Magnetic Nanoparticle (Fe₃O₄) as Solid-Phase Support. *American Journal of Infectious Disease* 3 (4): 225-229, 2007.
- Saleh, E. (2004), "*Dasar Pengelolaan Susu dan Hasil Ikutan Ternak*". Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara.
- Sillen, L.G., dan Martell, A.E. (1964), *Stability Constants of Metal-Ion Complexes*, The Chemistry Society, London.
- Sinurat, E., Rosmawaty, P., dan Singgih W. (2007), "Pengaruh konsentrasi kappa-karagenan pada es krim terhadap tingkat kesukaan panelis" *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. Vol 2, No 2, Hal 81-89.
- Sharma, P., Ghosh, A., Tudu, B., Bhuyan, L.P., Tamuly, P., Bhattacharyya, N., Bandyopadhyay, R., dan Chatterjee, A. (2014), Detection of linalool in black tea using a quartz crystal microbalance sensor. *Sensors and Actuators B: Chemical* 190, Vol. 15, No. 2, Hal 318–325.
- Sulistyaningsih, E. (2007), *Polymerase Chain Reaction (PCR): Era Baru Diagnosis dan Manajemen Penyakit Infeksi*. Jember : Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- USGS Minerals Information. (2012), "Mineral Commodity Summaries" <https://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/mcs/2012/mcs2012.pdf>.
- Vaerman, J.L., P. Saussoy., dan I. Ingargiola. (2004), *Evaluation of Real-Time PCR Data*. Belgium : Cliniques Saint Luc, Bruxxelles.
- Venien, A., dan Levieux, D. (2005), "Differentiation of Gelatins Using Polyclonal Antibodies Raised against Tyrosylated Bovine and Porcine Gelatins." *Journal of Immunoassay & Immunochemistry*, Vol. 26, No. 3, Hal. 215–229.
- Venien, A., dan Levieux, D. (2005), "Differentiation of Bovine from Porcine Gelatines Using Polyclonal Anti-Peptide Antibodies in Indirect and Competitive Indirect ELISA." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 39, No. 3–4, Hal. 418–424.
- Wang, J. (2004), *Analytical Electrochemistry*, John Wiley & Sons, Inc Publication.
- Wu, S. H., dan Chen, D.H. (2003), "Synthesis and characterization of nickel nanoparticles by hydrazine reduction in ethylene glycol". *Journal of Colloid and Interface Science* 259, 282–286.
- Wolf, C., dan Lüthy, J. (2001), "Quantitative Competitive (QC) PCR for Quantification of Porcine DNA." *Meat Science*, Vol. 57, No. 2, Hal. 161–168.

- Yilmaz, M.T., Kesmen, Z., Baykal, B., Sagdic, O., Kulen, O., Kacar, O., Yetim, H., dan Baykal, A.T. (2013), "A Novel Method to Differentiate Bovine and Porcine Gelatins in Food Products: NanoUPLC-ESI-Q-TOF-MSE Based Data Independent Acquisition Technique to Detect Marker Peptides in Gelatin." *Food Chemistry*, Vol. 141, No. 3, Hal. 2450–2458.
- Yu, E.H., dan Sundmacher, K. (2007), "Enzyme Electrodes for Glucose Oxidation Prepared by Electropolymerization of Pyrrole." *Process Safety and Environmental Protection*, Vol. 85, No. 5, Hal. 489–493.
- Yusuf, Z.K. (2010), "Polymerase Chain Reaction (PCR)." *Saintek* vol.5 No:6, 2010, FIKK-Universitas Gorontalo.
- Zhang, G., Liu, T., Wang, Q., Chen, L., Lei, J., Luo, J., Ma, G., dan Su, Z. (2009), "Mass Spectrometric Detection of Marker Peptides in Tryptic Digests of Gelatin: A New Method to Differentiate between Bovine and Porcine Gelatin." *Food Hydrocolloids*, Vol. 23, No. 7, Hal. 2001–2007.
- Zhang, G.-F., Liu, T., Wang, Q., Lei, J.-D., Ma, G.-H., dan Su, Z.-G. (2008), "Identification of Marker Peptides in Digested Gelatins by High Performance Liquid Chromatography/Mass Spectrometry." *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, Vol. 36, No. 11, Hal. 1499–1504.
- Zhou, G.-T., Yao, Q.-Z., Wang, X., dan Yu, J.C. (2006), "Preparation and Characterization of Nanoplatelets of Nickel Hydroxide and Nickel Oxide." *Materials Chemistry and Physics*, Vol. 98, No. 2–3, Hal. 267–272.

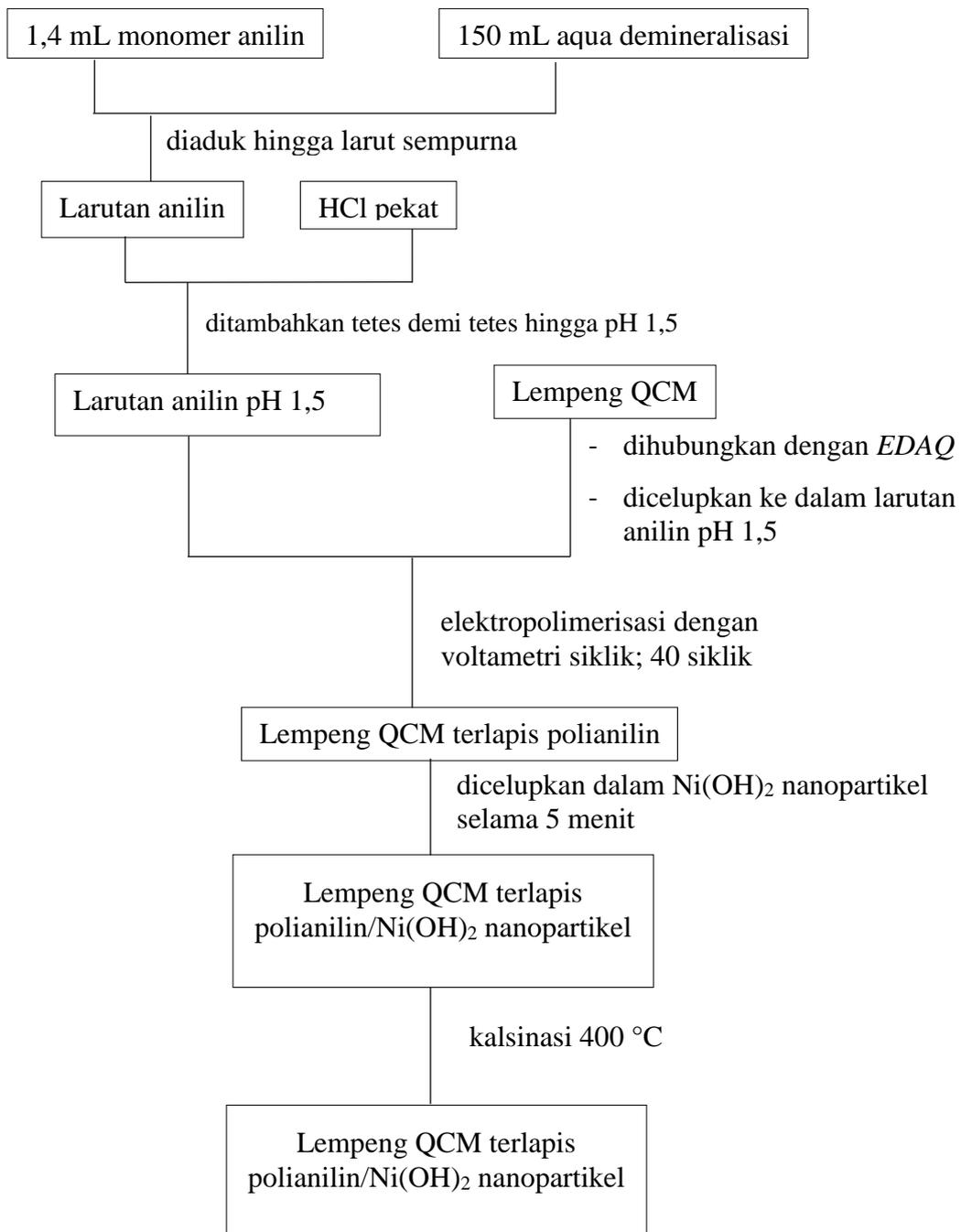
LAMPIRAN

LAMPIRAN A : SKEMA KERJA

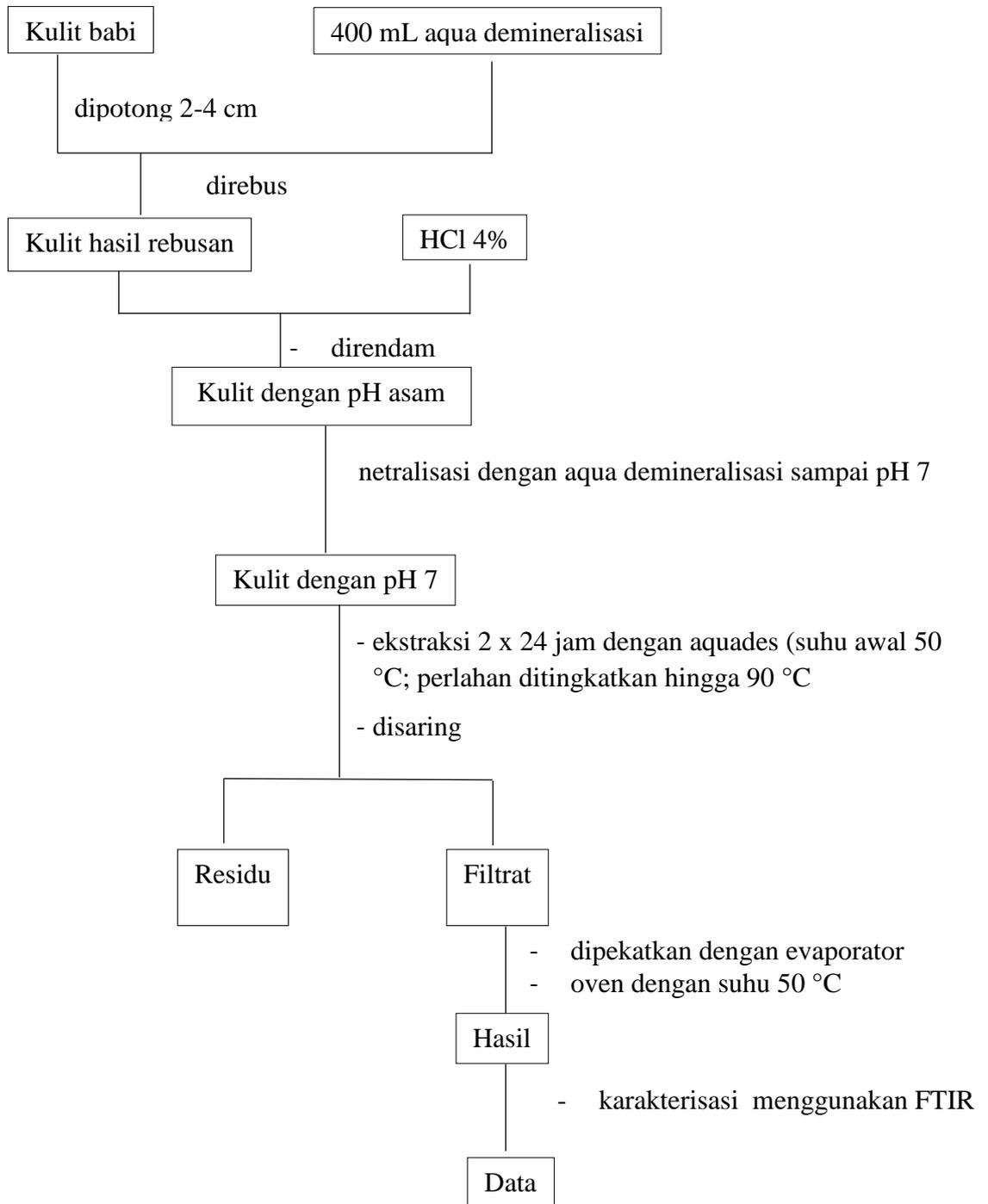
1. Sintesis Ni(OH)₂ Nanopartikel



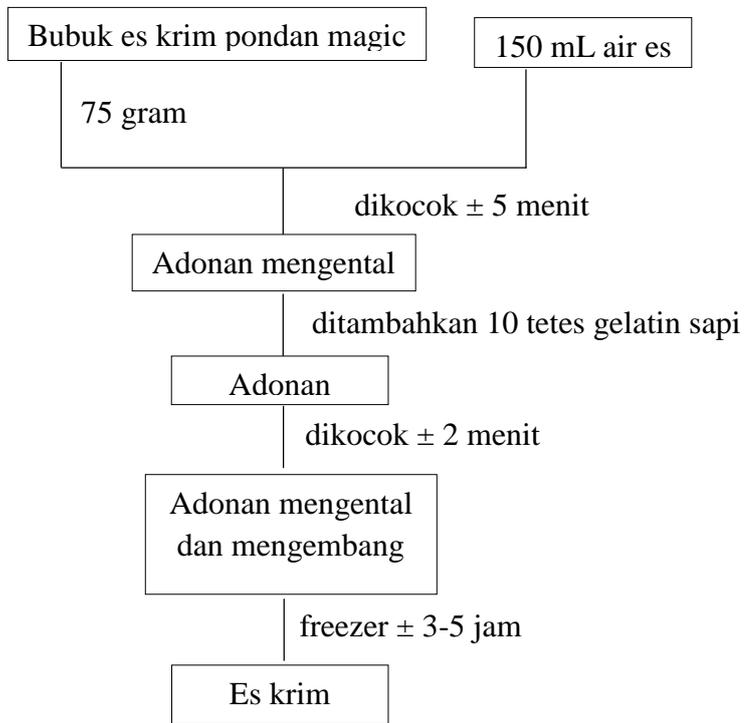
2. Pelapisan NiO nanopartikel pada QCM



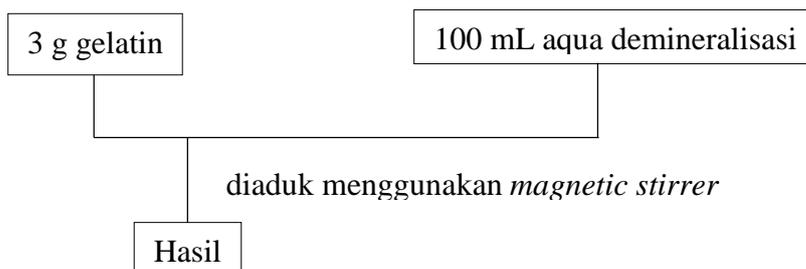
3. Ekstraksi gelatin



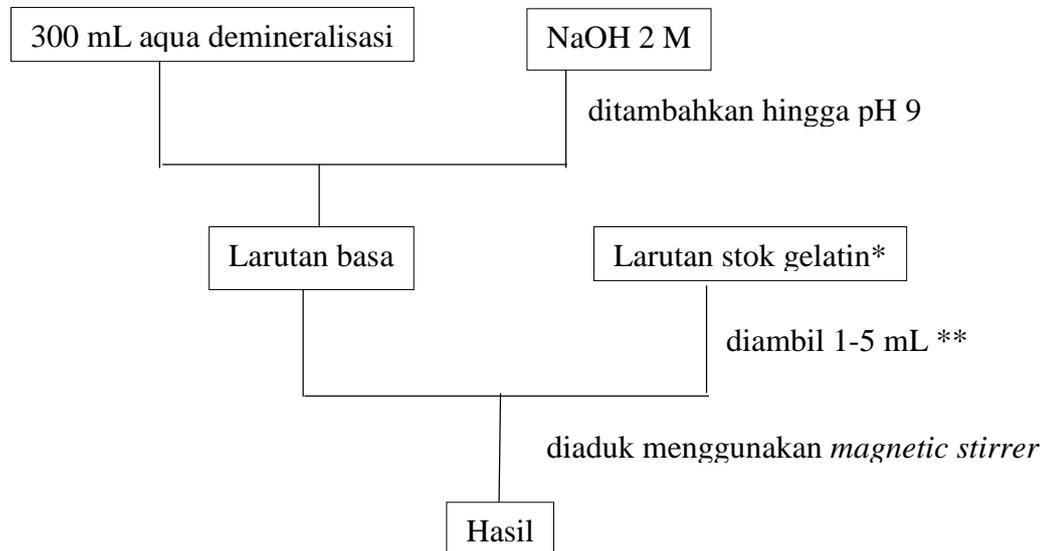
4. Pembuatan es krim



5. Pembuatan larutan stok gelatin 30.000 ppm



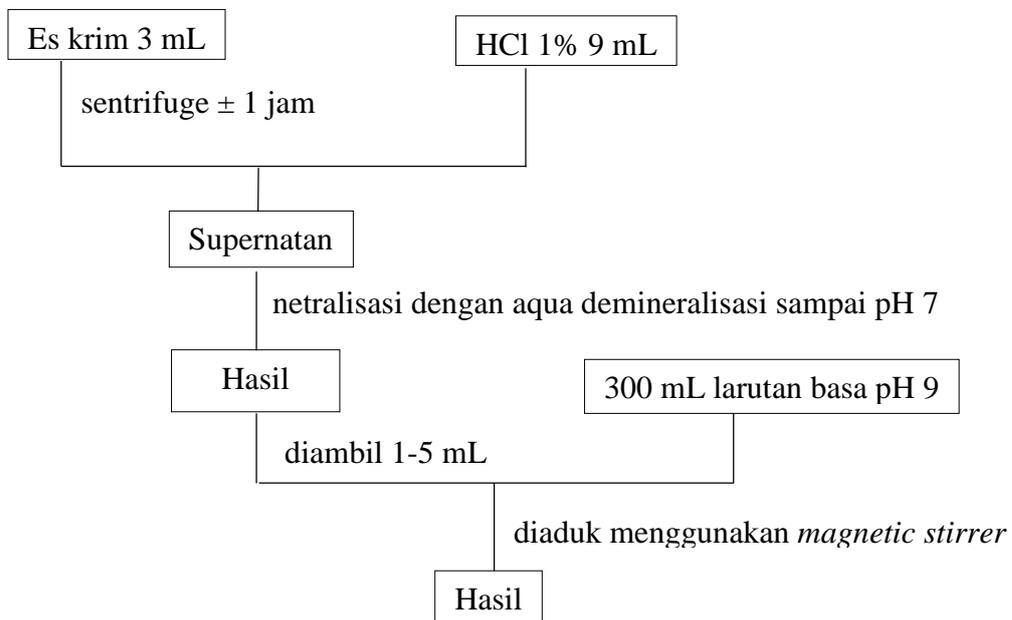
6. Pembuatan larutan gelatin pH basa



*variasi gelatin sapi dan babi

**diambil sesuai dengan lampiran

7. Pengujian sampel es krim



8. Isolasi DNA

Sampel

- ditimbang sampel sebanyak 20 mg dan masukkan kedalam tube 1,5 mL
- ditambahkan 300 μ L larutan *lysis buffer* dan di vortex
- diinkubasi tube pada suhu 65 °C selama 10 menit
- ditambahkan 75 μ L *precipitation buffer* dan divortex
- diinkubasi selama 5 menit
- dipasang filter (*violet ring*) kedalam *collection tube*
- dipindahkan campuran sampel kedalam filter (*violet ring*)
- disentrifuge selama 2 menit dengan kecepatan maksimum 11.000 rpm
- ditampung semua supernatant yang sudah difilter dan buang filter

Supernatan

- ditambahkan 450 μ L *binding buffer* kedalam sampel yang telah disaring (supernatant) dan dicampur
- dipasang column (*green ring*) kedalam *collection tube* yang baru
- dipindahkan semua campuran sampel kedalam column
- disentrifuge selama 1 menit dengan kecepatan maksimum 11.000 rpm
- dibuang supernatant yang terdapat di *collection tube*
- ditambahkan 400 μ L *washing buffer 1* ke dalam column (*green ring*)
- disentrifuge selama 1 menit dengan kecepatan maksimum 11.000 rpm
- dibuang kembali supernatant yang terdapat di *collection tube*
- ditambahkan 700 μ L *washing buffer 2* ke dalam column (*green ring*)
- disentrifuge selama 2 menit dengan kecepatan maksimum 11.000 rpm
- dibuang kembali supernatant yang terdapat di *collection tube*
- dipindahkan column (*green ring*) ke dalam tube 1,5 mL yang baru
- dihangatkan *elution buffer* pada suhu 65 °C
- ditambahkan 50 μ L *elution buffer* ke dalam column (*green ring*)
- diinkubasi selama 5 menit pada suhu 65 °C
- disentrifuge selama 1 menit dengan kecepatan maksimal 11.000 rpm
- diambil supernatant DNA yang berada di tube 1,5 mL

DNA

- disimpan pada suhu 4 °C

LAMPIRAN B: PERHITUNGAN

1. Volume anilin

$$\begin{aligned}\text{Volume larutan anilin yang akan dibuat} &= 150 \text{ mL} \\ &= 0,15 \text{ L}\end{aligned}$$

$$M \text{ anilin} = 0,1 \text{ M}$$

$$Mr \text{ anilin} = 93,13 \text{ g/mol}$$

$$\rho \text{ anilin} = 1,0217 \text{ g/mL}$$

$$\begin{aligned}n \text{ anilin} &= M \times V \\ &= 0,1 \text{ M} \times 0,15 \text{ L} \\ &= 0,015 \text{ mol}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}m \text{ anilin} &= n \times Mr \\ &= 0,015 \text{ mol} \times 93,13 \text{ g/mol} \\ &= 1,39695 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}V \text{ anilin} &= m / \rho \\ &= 1,39695 \text{ g} / 1,0217 \text{ g/mL} \\ &= 1,36728 \text{ mL} \\ &= 1,4 \text{ mL}\end{aligned}$$

2. Pembuatan 100 mL Larutan Stok Gelatin* 30.000 ppm

$$30000 \text{ ppm} = \frac{30000 \text{ mg gelatin}}{0,1 \text{ L aqua demineralisasi}} = \frac{3 \text{ g}}{100 \text{ mL}}$$

3. Pembuatan 300 mL Larutan Gelatin*

a. 100 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$30000 \text{ ppm} \times V_1 = 100 \text{ ppm} \times 300 \text{ mL}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

b. 200 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$30000 \text{ ppm} \times V_1 = 200 \text{ ppm} \times 300 \text{ mL}$$

$$V_1 = 2 \text{ mL}$$

c. 300 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$30000 \text{ ppm} \times V_1 = 300 \text{ ppm} \times 300 \text{ mL}$$

$$V_1 = 3 \text{ mL}$$

d. 400 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$30000 \text{ ppm} \times V_1 = 400 \text{ ppm} \times 300 \text{ mL}$$

$$V_1 = 4 \text{ mL}$$

e. 500 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$30000 \text{ ppm} \times V_1 = 500 \text{ ppm} \times 300 \text{ mL}$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

*variasi gelatin sapi dan babi

“Halaman ini sengaja dikosngkan”

Biodata Penulis



Penulis memiliki nama lengkap Amalia Muharramah, lahir di Rembang pada tanggal 26 Juni 1995. Penulis adalah anak kedua dari dua bersaudara dari pasangan Bapak Abdul Malik dan Ibu Siti Fatimah. Penulis telah menyelesaikan pendidikan formal di TK Negeri 1 Rembang (1999-2001), SDN Leteh 1 Rembang (2001-2007), SMPN 2 Rembang (2007-2010), SMAN 1 Rembang (2010-2013). Penulis melanjutkan pendidikan Strata-1 di Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang (2013-2017) dan mengambil jurusan kimia dengan bidang minat kimia analitik. Selanjutnya penulis meneruskan pendidikan magister di program pascasarjana kimia Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya (2018) di bawah bimbingan Prof. Dr. rer. nat. Fredy Kurniawan, M.Si. Penulis dapat dihubungi melalui email: amalia.cyber177@gmail.com