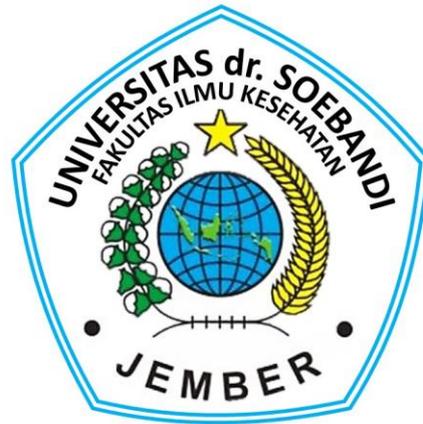


BUKU PETUNJUK PRAKTIKUM ANALISIS PRODUK HALAL



Disusun Oleh:

apt. Lindawati Setyaningrum., M. Farm

M. Rofik Usman, M.Si

apt. Dina Trianggaluh F., M.Farm

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI JEMBER
2025**



UNIVERSITAS dr. SOEBANDI

FAKULTAS ILMU KESEHATAN

Jl. Dr Soebandi No. 99 Jember, Telp/Fax. (0331) 483536,
E_mail : fikes@uds.ac.id Website: <http://www.uds.di.ac.id>

KEPUTUSAN DEKAN FAKULTAS ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS dr. SOEBANDI

Nomor : 961/FIKES-UDS/K/II/2025

Tentang

PENETAPAN BUKU PETUNJUK PRAKTIKUM MATA KULIAH PRAKTIKUM ANALISIS PRODUK HALAL PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI FAKULTAS ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS dr. SOEBANDI SEMESTER VI TAHUN AKADEMIK 2024/2025

DENGAN RAHMAT TUHAN YANG MAHA ESA DEKAN FAKULTAS ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS dr. SOEBANDI

- Menimbang :
- Bahwa untuk memperbaiki kualitas dan mutu akademik secara berkelanjutan Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi dipandang perlu untuk menyusun buku petunjuk praktikum;
 - Bahwa Buku Petunjuk Praktikum Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi yang telah tersusun tersebut, dinilai layak dan memenuhi persyaratan teknis akademis dan administrasi untuk dijadikan pedoman dalam pelaksanaan perkuliahan praktikum pada Prodi tersebut;
 - Bahwa untuk penetapan Buku Petunjuk Praktikum seperti yang termaktub pada huruf a dan b di atas, perlu diterbitkan Surat Keputusan Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi;
- Mengingat :
- Undang-Undang Nomor 20 Tahun 2003 tentang Sistem Pendidikan Nasional;
 - Undang-Undang Nomor 12 Tahun 2012 tentang Pendidikan Tinggi;
 - Peraturan Pemerintah Nomor 60 Tahun 1999 tentang Pendidikan Tinggi;
 - Peraturan Pemerintah Nomor. 57 Tahun 2021 tentang Standar Nasional Pendidikan
 - Permendiknas Nomor 62 Tahun 2016 tentang Sistem penjaminan Mutu Pendidikan Tinggi
 - Permendikbud Nomor 3 Tahun 2020 Tentang Standar Nasional Pendidikan
 - Keputusan Menteri Pendidikan Nasional Republik Indonesia Nomor 234/U/2000 tentang Pedoman Pendirian Perguruan Tinggi;
 - Keputusan Menteri Pendidikan, Kebudayaan, Riset Dan Teknologi Republik Indonesia Nomor 291/E/O/2021 tentang Perubahan Bentuk Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dr. Soebandi Di Kabupaten Jember Menjadi Universitas dr. Soebandi Di Kabupaten Jember Provinsi Jawa Timur Yang Diselenggarakan Oleh yayasan Pendidikan Jember International School;
 - Statuta Universitas dr. Soeban

Tembusan Kepada Yth :

- Rektor Universitas dr. Soebandi*
- Para Warek Universitas dr. Soebandi*
- Kaprodi Farmasi*
- Arsip*



UNIVERSITAS dr. SOEBANDI

FAKULTAS ILMU KESEHATAN

Jl. Dr Soebandi No. 99 Jember, Telp/Fax. (0331) 483536,
E_mail : fikes@uds.ac.id Website: <http://www.uds.di.ac.id>

MEMUTUSKAN

- Menetapkan :
- PERTAMA** : Surat Keputusan Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi tentang Penetapan Buku Petunjuk praktikum mata kuliah Praktikum analisis Produk Halal Semester VI Program Studi Ilmu Keperawatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi Semester Tahun Akademik 2024/2025;
- KEDUA** : Modul ini digunakan sebagai acuan dalam praktikum mata kuliah Praktikum analisis Produk Halal Semester VI Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi;
- KETIGA** : Keputusan ini ditetapkan sampai Tahun Akademik 2024/2025 berakhir;
- KEEMPAT** : Hal-hal yang belum diatur dalam keputusan ini akan di atur lebih lanjut;
- KELIMA** : Surat Keputusan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan; dan apabila dikemudian hari terdapat kekeliruan, maka akan diadakan perbaikan sebagaimana mestinya.

DI TETAPKAN DI : JEMBER
PADA TANGGAL : 14 Februari 2025

Universitas dr. Soebandi
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan,



Ai Nur Zannah, S.ST, M. Keb
NIK. 19891219 201309 2 038

Tembusan Kepada Yth :

1. Rektor Universitas dr. Soebandi
2. Para Warek Universitas dr. Soebandi
3. Kaprodi Farmasi
4. Arsip

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, akhirnya buku petunjuk praktikum Analisis Produk Halal ini dapat diselesaikan. Dengan adanya praktikum ini mampu memberikan latihan guna meningkatkan kemampuan dan keterampilan analisis produk halal bagi mahasiswa

Pada praktikum ini melakukan analisa produk halal dalam berbagai bentuk sediaan. Sedangkan secara teori yang lebih mendasar mengenai hal-hal yang berhubungan dengan praktikum dapat dipelajari dalam kuliah atau literatur Analisis Produk Halal.

Penyusun mengucapkan banyak terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam terselesaikannya buku petunjuk praktikum ini. Semoga buku petunjuk praktikum ini dapat dimanfaatkan semaksimal mungkin. Saran dan kritik pengembangan atau perbaikan sangat kami harapkan demi kesempurnaan buku ini.

Jember, Februari 2025

Tim Penyusun

DAFTAR ISI

Halaman Depan	i
Kata Pengantar	1
Daftar Isi	2
Visi Dan Misi Prodi S1 Farmasi	3
Capaian Pembelajaran	4
Evaluasi Penilaian	5
Jadwal Praktikum	6
Tata Tertib	7
• Praktikum analisis produk halal menggunakan HPLC	9
• Praktikum analisis produk halal menggunakan FTIR	13
• Praktikum analisis produk halal menggunakan PCR	17
• Praktikum analisis produk halal menggunakan Spektrofotometri UV-Vis	21
DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN	28

VISI DAN MISI PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS DR. SOEBANDI

1. Visi Program Studi Farmasi

Menjadi Program Studi Farmasi yang unggul, berdaya guna dalam IPTEKS bidang Farmasi dan berakhlakul karimah.

2. Misi Program Studi Farmasi

- a. Menyelenggarakan pendidikan di bidang sains-teknologi kefarmasian dan farmasi klinis-komunitas yang unggul dan berbasis IPTEKS
- b. Menyelenggarakan penelitian bidang farmasi yang inovatif dan berkontribusi pada IPTEKS berbasis sumber daya alam dan kearifan lokal
- c. Menyelenggarakan pengabdian masyarakat dalam bidang farmasi berbasis IPTEKS yang bermanfaat bagi masyarakat berbasis sumber daya alam dan kearifan lokal
- d. Menyelenggarakan tata kelola Program Studi Farmasi yang berprinsip pada *good governance*
- e. Membudayakan nilai – nilai akhlakul karimah pada setiap kegiatan civitas akademika Program Studi Farmasi

CAPAIAN PEMBELAJARAN

CAPAIAN PEMBELAJARAN LULUSAN

1. Mampu menerapkan ilmu dan teknologi kefarmasian dalam proses formulasi, produksi dan pengendalian mutu sediaan farmasi sesuai standar prosedur
2. Mampu menerapkan ilmu dan teori kefarmasian dalam melakukan praktik kefarmasian sesuai ketentuan perundang-undangan, norma dan etik kefarmasian
3. Mampu menerapkan ilmu dan teknologi di bidang matematika dan ilmu alamiah dasar yang mendasari kemampuan meneliti dan mengembangkan ilmu pengetahuan dengan semangat peningkatan kompetensi diri secara mandiri dan terus-menerus

CAPAIAN PEMBELAJARAN MATA KULIAH

1. Mahasiswa mampu memahami dan menjelaskan prinsip-prinsip dasar materi praktikum Analisis Produk Halal
2. Mampu memahami dan menggunakan prinsip kerja alat Analisis Produk Halal
3. Mampu melakukan aktivitas praktikum sesuai dengan prosedur kerja yang aman, efektif dan efisien
4. Mampu memahami dan menganalisis hubungan antara tujuan, hasil serta kesimpulan dari setiap topik praktikum
5. Mampu menyusun jurnal dan laporan praktikum sesuai dengan kaidah ilmiah yang tepat

EVALUASI PENILAIAN

KOMPONEN YANG DINILAI	PERSENTASE
Pre-tes	20 %
sikap	20 %
Laporan	30 %
Ujian praktikum	30 %

JADWAL PRAKTIKUM

KELAS	HARI	JAM	SELESAI	KODE	LABORATORIUM
22A	Kamis	10.00	15.40	FMS604	LABORATORIUM KIMIA
22B	Selasa	10.00	15.40	FMS604	LABORATORIUM KIMIA
22C	Rabu	10.00	15.40	FMS604	LABORATORIUM KIMIA

RENCANA KEGIATAN

TM KE-	MATERI
1	Kontrak Pembelajaran; Pengantar Asistensi Praktikum Analisis Produk Halal
2	Pengenalan alat praktikum Analisis Produk Halal
3-4	Praktikum analisis produk halal menggunakan HPLC
5	Diskusi Perhitungan analisis produk
6-7	Praktikum analisis produk halal menggunakan FTIR
8	Diskusi Perhitungan analisis produk
9-10	Praktikum analisis produk halal menggunakan PCR
11	Diskusi Perhitungan analisis produk
12-13	Praktikum analisis produk halal menggunakan Spektrofotometri UV-Vis
14	Diskusi Perhitungan analisis produk
15-16	ujian praktikum

TATA TERTIB
PRAKTIKUM ANALISIS PRODUK HALAL

1. Praktikan diwajibkan datang 10 menit sebelum praktikum dimulai untuk mengisi daftar hadir dan mengumpulkan jurnal percobaan sebelumnya. Keterlambatan praktikum tanpa alasan yang jelas berakibat tidak diperkenankan mengikuti tes dan praktikum
2. Apabila tidak dapat mengikuti praktikum harus memberi surat ijin / surat keterangan yang sah dan diberikan kepada pengawas sebelum praktikum dimulai.
3. Sebelum melakukan praktikum, praktikan harus mempersiapkan diri untuk memahami praktikum yang akan dikerjakan dilihat dari pretest yang dilakukan
4. Praktikan kemudian dapat mempersiapkan peralatan praktikum yang diperlukan pada hari itu.
5. Sebelum dan sesudah praktikum, praktikan harus membersihkan alat yang digunakan
6. Pada dasarnya tidak diadakan praktikum perorangan (praktikum susulan) dan praktikan yang tidak dapat mengikuti praktikum harus ada surat keterangan dokter dan atau orang tua/wali untuk ijin mengikuti inhal praktikum di akhir acara
7. Praktikan harus membuat laporan hasil praktikum setiap selesai praktikum dengan mengisi buku laporan praktikum yang sudah disediakan
8. Praktikan yang merusak, memecahkan atau menghilangkan peralatan praktikum agar membereskan penggantian alat tersebut secepat mungkin kepada pembimbing praktikum
9. Selama praktikum, praktikan tidak diperbolehkan melakukan perbuatan yang mengganggu praktikan lain. Praktikan tidak diperkenankan meninggalkan laboratorium tanpa seizin pembimbing praktikan.

ALAT-ALAT DAN PEREAKSI

1. Sebelum dan sesudah praktikum, semua praktikan harus mengecek dan mengembalikan alat-alat inventarisnya.
2. Alat-alat yang hilang atau pecah harus diganti dengan alat-alat yang sama atau diganti dengan uang yang besarnya ditentukan oleh laboratorium.
3. Botol-botol pereaksi harus ditempatkan pada tempat yang telah ditentukan dan pengambilan pereaksi harus dilakukan dengan pipet yang khusus untuk tiap pereaksi.
4. Botol-botol pereaksi yang kosong harus cepat diberitahukan kepada asisten atau laboran untuk diisi kembali.

KEBERSIHAN LABORATORIUM

1. Semua praktikan diwajibkan memakai jas laboratorium untuk menjaga kerusakan akibat zat-zat kimia.
2. Tidak diperkenankan membuang sampah atau kertas saring pada bak pencuci, buanglah sampah tersebut pada tempat yang telah disediakan.
3. Jika ada zat-zat kimia yang tumpah, harus cepat dibersihkan dengan air, karena zat-zat tersebut dapat merusak meja praktikum jika tidak segera dibersihkan. Jika terjadi kecelakaan cepat diberitahukan kepada asisten yang bertugas.
4. Selama praktikum, semua praktikan tidak diperbolehkan merokok dalam ruangan laboratorium dan tidak diperkenankan memakai sandal.
5. Berbicaralah seperlunya selama praktikum dan tidak diperkenankan mengganggu ketenangan pekerjaan orang lain.

Jember, Februari 2025

Tim Penyusun

BAB I
KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi)
HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

A. Tujuan

Setelah praktikum ini, mahasiswa diharapkan mampu :

- a. Menjelaskan komponen instrumen HPLC beserta masing-masing fungsinya
- b. Menjelaskan cara kerja operasional analisis dengan HPLC
- c. Menjelaskan kondisi HPLC dan pengaruhnya terhadap kromatogram
- d. Melakukan analisis kualitatif dan kuantitatif dengan HPLC

B. Prinsip Dasar

Kromatografi merupakan suatu proses pemisahan yang mana analit-analit dalam sampel terdistribusi antara 2 fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam dapat berupa bahan padat atau porus dalam bentuk molekul kecil, atau dalam bentuk cairan yang dilapiskan pada pendukung padat atau dilapiskan pada dinding kolom. Fase gerak dapat berupa gas atau cairan. Jika gas digunakan sebagai fase gerak, maka prosesnya dikenal sebagai kromatografi gas. Dalam kromatografi cair dan kromatografi lapis tipis, fase gerak yang digunakan selalu cair (Rohman, 2009).

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi memisahkan komponen campuran senyawa kimia terlarut dengan sistem adsorpsi pada fase diam padat atau sistem partisi di antara fase diam cair yang terikat pada penyangga padat, dan fase gerak cair. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dapat memisahkan makromolekul, ion, bahan alam yang tidak stabil, polimer dan berbagai gugus polifungsi dengan berat molekul tinggi. Berbeda dengan kromatografi gas, pemisahan pada KCKT adalah hasil antaraksi spesifik antara molekul senyawa dengan fase diam dan fase gerak (Satiadarma, dkk., 2004).

Pemisahan analit dalam kolom kromatografi berdasarkan pada aliran fase gerak yang membawa campuran analit melalui fase diam dan perbedaan interaksi analit dengan permukaan fase diam sehingga terjadi perbedaan waktu perpindahan setiap komponen dalam campuran (Meyer, 2013).

Kolom pada HPLC merupakan bagian yang sangat penting, sebab pemisahan komponen-komponen sampel akan terjadi didalam kolom. Dilihat dari jenis fase diam dan fase geraknya, maka kolom HPLC dibedakan atas kolom fase normal (fase

diam bersifat polar misal silica gel, dan fase gerakya bersifat non polar) dan kolom fase terbalik (reversed Phase column) yakni kolom yang fase diamnya bersifat non polar, sedangkan fase gerakya bersifat polar normal.

Sistem pompa HPLC sudah diprogram untuk dapat melakukan elusi dengan satu macam pelarut atau lebih. Terdapat dua sistem pompa pada HPLC, yaitu sistem elusi isokratik dan sistem elusi gradien. Pada sistem elusi isokratik dilakukan dengan satu macam pelarut atau lebih dari satu macam pelarut pengembang dengan perbandingan yang tetap, misalnya metanol : air = 50 : 50 % v/v. Pada sistem elusi gradien dilakukan dengan pelarut pengembang campur yang perbandingannya berubah dalam waktu tertentu.

C. Analisis Kadar Etanol dalam Obat Batuk dengan Metode Kromatografi

Alat dan bahan : standar etanol PA, metanol pro HPLC, aquabidestilata, methanol PA, sampel obat batuk, filter membran 0,45 mikrometer

Alat : labu ukur, HPLC, filter holder for HPLC, pipet volume, ballpipet, beaker glass

Kondisi analisis :

Kolom yang digunakan yaitu C18 ukuran 150 mm x 4,6 mm, dengan ukuran partikel 5 μ m. Fase gerak yang digunakan berupa air dan methanol dengan perbandingan 70% v/v : 30% v/v yang telah difiltrasi menggunakan membran nylon whatmann 0,45 mikrometer, laju alir 1ml/menit.

Prosedur kerja :

Preparasi sampel

1. Persiapan standar dan sampel Standar etanol yang digunakan berupa etanol PA yang dilarutkan dalam air distilasi dengan konsentrasi 1 hingga 40% dalam volume.
2. Dibuat 5 konsentrasi 1% vol, 10% vol, 20% vol, 30% vol dan 40% vol dari standar etanol dalam pelarut untuk membuat kurva kalibrasi.
3. Sampel obat batuk jenis XXX diambil sejumlah 5ml untuk dianalisa kandungan etanol. Sampel etanol dan obat batuk yang telah siap selanjutnya dilakukan filtrasi menggunakan membran acrodisc ukuran 0,45 μ m. Filtrat yang diperoleh kemudian diinjeksikan untuk dilakukan analisa menggunakan HPLC.

BAB II

FTIR (Fourier Transform Infrared)

A. Tujuan

Setelah melaksanakan praktikum FTIR mahasiswa mampu :

1. Menganalisis hasil FTIR dari sampel
2. Mampu menganalisis perbedaan profil spektrum dalam sampel

B. Prinsip dasar

Spektroskopi inframerah merupakan salah satu teknik spektroskopi yang banyak digunakan dalam bidang kimia organik maupun anorganik. Secara sederhana, teknik ini mengukur penyerapan berbagai frekuensi sinar inframerah oleh suatu sampel yang ditempatkan dalam jalur sinar inframerah. Analisis menggunakan spektroskopi inframerah bertujuan utama untuk mengidentifikasi gugus fungsi dalam suatu molekul. Ketika suatu senyawa organik disinari dengan gelombang inframerah pada frekuensi tertentu, sebagian dari frekuensi tersebut akan diserap oleh senyawa tersebut. Jumlah frekuensi yang dapat melewati senyawa tersebut diukur dalam bentuk "persentase transmitansi" (percentage transmittance). Jika nilai transmitansi mencapai 100%, berarti seluruh frekuensi melewati sampel tanpa mengalami penyerapan. Spektrum inframerah merupakan grafik yang menunjukkan hubungan antara panjang gelombang dan energi yang diserap oleh suatu senyawa. Grafik ini menampilkan intensitas penyerapan terhadap bilangan gelombang, yang dinyatakan dalam satuan cm^{-1} . Bilangan gelombang sendiri merujuk pada radiasi dalam rentang getaran inframerah dalam spektrum elektromagnetik, mencakup kisaran $4000\text{--}400 \text{ cm}^{-1}$.

Setiap molekul hanya menyerap energi radiasi inframerah pada frekuensi tertentu. Penyerapan ini berkaitan dengan berbagai jenis getaran molekul, termasuk peregangan (stretching) dan pembengkokan (bending) dari ikatan kovalen yang terdapat dalam molekul tersebut. Ketika suatu senyawa organik terkena radiasi inframerah dengan frekuensi tertentu, sebagian dari radiasi tersebut akan diserap oleh senyawa tersebut. Sementara itu, jumlah frekuensi yang dapat melewati senyawa diukur dalam bentuk "persentase transmitansi" (percentage transmittance). Jika transmitansi mencapai 100%, berarti seluruh frekuensi dapat melewati sampel tanpa mengalami penyerapan.

Spektrum inframerah merupakan representasi grafik yang menggambarkan hubungan antara panjang gelombang dan energi yang diserap oleh suatu senyawa. Grafik ini menunjukkan intensitas penyerapan terhadap bilangan gelombang, yang dinyatakan dalam satuan cm^{-1} . Bilangan gelombang sendiri mengacu pada radiasi dalam rentang getaran inframerah di dalam spektrum elektromagnetik, yang mencakup kisaran $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$. Setiap molekul hanya dapat menyerap radiasi inframerah pada frekuensi tertentu. Proses penyerapan ini berkaitan dengan berbagai jenis getaran molekul, seperti peregangan (stretching) dan pembengkokan (bending) dari ikatan kovalen dalam molekul tersebut.

Instrumen pada spektrometer Fourier Transform Infrared (FTIR) secara umum memiliki kesamaan dengan spektrometer inframerah dispersif, tetapi perbedaannya terletak pada penggunaan interferometer sebagai pengganti monokromator. Interferometer bekerja dengan menggunakan cermin bergerak untuk mengubah bagian radiasi yang berasal dari sumber cahaya, sehingga menghasilkan interferogram. Interferogram ini kemudian diolah menggunakan transformasi Fourier, sebuah persamaan matematis yang berfungsi mengekstraksi spektrum dari berbagai frekuensi yang saling bertumpang tindih. Interferogram sendiri merupakan sinyal yang kompleks, menyerupai gelombang dengan pola tertentu yang mengandung berbagai frekuensi yang membantu dalam memperbaiki spektrum inframerah. Keunggulan utama teknik FTIR adalah kemampuannya untuk memperoleh hasil spektrum dalam waktu sekitar satu detik, jauh lebih cepat dibandingkan spektrometer inframerah dispersif yang memerlukan waktu dua hingga tiga menit untuk menghasilkan satu spektrum.

C. Identifikasi spektrum minyak babi pada sampel makanan

Alat :

Gelas Ukur, Pipet Tetes, Soxhlet, Termometer, Blender, Oven, Botol Reagen, Gelas Kimia, Hot Plate, Neraca Analitik, Spatula, Cawan Petri, Pengaduk, Statif, Spektrofotometer IR.

Bahan :

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah produk olahan bakso yang didapatkan di salah satu pasar 15 Ulu Palembang, Minyak Goreng, Kloroform p.a dari Merck, Kertas Saring, Aluminium, dan Plastik Wrap.

Prosedur kerja :

Sampel dihaluskan menggunakan blender dan dikeringkan menggunakan oven selama 2 jam pada suhu 100°C . Sebanyak 60 gram sampel bakso diekstraksi menggunakan alat soxhlet dengan menggunakan pelarut kloroform 100 ml selama 2,5 jam.

Ekstrak campuran yang dihasilkan diuapkan selama 24 jam dan kemudian dianalisis ekstrak lemak murni dengan menggunakan spektroskopi FTIR. Ekstraksi lemak pada penelitian ini menggunakan alat Soxhlet dengan pelarut kloroform yang diharapkan mampu mengekstraksi seluruh lemak yang berada didalam adonan produk olahan bakso.

1. Pengujian dengan Spektroskopi FTIR

- a. Sampel minyak dianalisis menggunakan spektrofotometer FTIR pada frekuensi $4000-650\text{ cm}^{-1}$
- b. Replikasi tiga kali

2. Analisis data

Data hasil spektrum FTIR diolah menggunakan software serta program pendukung seperti Microsoft Excel dan Word untuk interpretasi hasil

BAB III

PCR (Polymerase Chain Reaction)

A. Tujuan

Mahasiswa mampu melakukan skrining dna babi pada sampel menggunakan PCR

B. Teori

Dalam beberapa tahun terakhir, teknologi untuk mendeteksi bahan non-halal telah berkembang pesat, membantu otoritas keagamaan dalam memastikan kepatuhan terhadap standar halal serta mengidentifikasi kandungan non-halal. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mendeteksi keberadaan unsur non-halal, khususnya produk berbasis babi, di industri makanan. Beragam teknik telah dikembangkan untuk tujuan ini, seperti spektroskopi Fourier Transform Infrared (FTIR), kromatografi gas dua dimensi komprehensif yang dikombinasikan dengan spektrometri massa time-of-flight (GCxGC-TOF-MS), serta spektrometri massa-kromatografi gas (GC-MS) yang digunakan dalam identifikasi gelatin, alkohol, lemak, dan minyak pada produk kosmetik. Dalam hal spesifisitas dan sensitivitas deteksi spesies, teknik berbasis Polymerase Chain Reaction (PCR) terbukti paling efektif, baik dari segi biaya maupun waktu. Teknik ini telah banyak diterapkan dalam pendeteksian DNA babi pada berbagai produk, termasuk daging dan olahannya produk roti, kapsul dalam industri farmasi serta bahan kosmetik.

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan salah satu teknik amplifikasi asam nukleat in vitro yang paling banyak dipelajari dan digunakan secara luas. PCR digunakan untuk menggandakan jumlah molekul DNA pada target tertentu dengan menganalisis molekul DNA baru yang berkomplemen dengan molekul DNA target melalui enzim dan oligonukleotida sebagai primer dalam suatu thermocycle. Panjang target DNA berkisar antara puluhan sampai ribuan nukleotida yang posisinya diapit sepasang primer. 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 polimerase. Proses PCR didahului dengan reverse transcriptase terhadap molekul mRNA sehingga diperoleh molekul complementary DNA (cDNA). Molekul cDNA digunakan dalam proses PCR, pada tahap proses PCR digunakan sebagai pengamplifikasi RNA. Tahap ini dikenal sebagai proses RT-PCR.

DNA yang bersifat stabil dan tahan panas dapat bertahan pada berbagai jenis pengolahan makanan. Metode pemeriksaan RT PCR memiliki kelebihan dibandingkan metode PCR lainnya yaitu dapat mengidentifikasi dengan sampel yang sedikit, tidak harus melakukan visualisasi, resiko kontaminasi yang kecil, dan dapat melakukan pemeriksaan sampel dengan jumlah banyak sekaligus. Selain itu, metode berbasis PCR mampu mengatasi tantangan dalam mendeteksi DNA babi meskipun telah mengalami pemrosesan suhu tinggi atau perlakuan kimiawi yang intensif.

C. Skrining DNA babi pada sampel makanan

Alat :

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah gel agarose, microwave, mikropipet, sentrifuge sorvall legend micro 17R, translaminator, neraca analitik, PCR CFX 96, shaker EFM 60, spektrofotometer UV-Vis, vortex (Ika Genius 3), dan waterbath (Memert).

Bahan :

ultrapure agarose (Roche), aqua bidestillata steril, aqua bebas nuclease, dapar lisis, dapar pemuat, dapar TE, dapar TBE (Roche), DNA ladder (Vivantis), enzim Taq green, etanol absolut, etanol 70%, etidium bromide (EtBr), fenol, kloroform, proteinase K (Roche), RNase (Roche) dan primer mitokondria D-Loop22

Prosedur kerja :

Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan dengan cara membungkus alat-alat, kemudian alat-alat yang tahan terhadap pemanasan disterilkan pada oven pada suhu 1800C selama 2 jam, sedangkan alat yang tidak tahan terhadap pemanasan disterilkan pada autoklaf dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

Penyiapan Sampel dan Isolasi DNA

Sampel berupa daging babi segar dan bakso babi disiapkan, digunakan sebagai kontrol positif. serta disiapkan sampel bakso terdiri atas 5 bakso sapi curah dan 1 daging sapi segar. Semua sampel dikumpulkan di wilayah Kota Makassar dengan menggunakan metode populasi terjangkau (accessible population, source population), kemudian diberi label dan disimpan pada suhu -200C sampai isolasi DNA dilakukan.

Isolasi DNA yang dilakukan sesuai dengan metode Sambrook et al. (1989) dengan beberapa modifikasi. Tiap sampel disiapkan sebanyak 0.2 gram, dicincang hingga halus,

kemudian digerus sebelum proses isolasi DNA dilakukan. Hasil isolasi DNA disimpan pada suhu -200C sampai siap digunakan.

Analisis DNA

Elektroforesis gel agarosa

DNA hasil isolasi sebanyak 10 μ L dianalisis yang telah ditambahkan 2 dapar pemuat, dianalisis secara elektroforesis gel agarose 0.8% (w/v) menggunakan dapar TBE dengan pewarna etidium bromide (EtBr) dengan arus 100 Volt selama 60 menit. Gel agarose hasil elektroforesis divisualisasi dengan UVtransluminator dan gambar didokumentasikan.

Pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA

DNA sebanyak 2 μ L ditambahkan 998 μ L aqua bidestillata steril (dalam tube), dihomogenkan. Kemudian diukur dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 260 dan 280nm. Konsentrasi DNA hasil isolasi dihitung dari A260 dikalikan faktor pengencerannya dan konstanta serapan DNA (serapan DNA murni pada panjang gelombang 260 nm dengan 1 absorbansi unit mengandung 50 μ g/mL DNA)

Analisis DNA Babi dengan PCR

Amplifikasi dengan PCR dilakukan dengan penggunaan campuran reaksi 20 μ L yang terdiri dari 2 μ L (50 ng) isolat DNA , 1 μ L masing-masing primer forward dan reverse (500 nm), dan 6 μ L aqua bebas nuclease. Pengujian mengikuti kondisi suhu 95oC untuk aktivasi enzim/denaturasi awal selama 30 detik, selanjutnya diikuti dengan 30 siklus; 95oC selama 5 detik (tahapan denaturasi), 59oC selama 30 detik (tahap hibridisasi/annealing), dan 72o C selama 10 detik (tahap lanjutan/extension).

BAB IV

SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

D. Tujuan

Mahasiswa mampu melakukan analisis suatu senyawa menggunakan spektrofotometri UV-Vis

E. Teori

Spektrofotometri UV Visible adalah pengukuran dan interpretasi radiasi elektromagnetik (cahaya) yang diabsorpsi atau diemisikan oleh molekul pada panjang gelombang 200-800 nanometer. Dimana sinar ultraviolet mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm, sementara sinar tampak mempunyai panjang gelombang 400-800 nm.

Sinar ultraviolet dan sinar tampak memberikan energi yang cukup untuk terjadinya transisi elektronik. Dengan demikian, spektra uv-visible disebut spektra elektronik. Keadaan energi yang paling rendah disebut dengan keadaan dasar (ground state). Transisi-transisi elektronik akan meningkatkan energi molekuler dari keadaan dasar ke satu atau lebih tingkat energi tereksitasi.

Jika suatu molekul sederhana dikenakan radiasi elektromagnetik maka molekul tersebut akan menyerap radiasi elektromagnetik yang energinya sesuai. Interaksi antara molekul dengan radiasi elektromagnetik ini akan meningkatkan energi potensial elektron pada tingkat keadaan tereksitasi.

Jika suatu radiasi elektromagnetik menembus suatu larutan yang berada dalam suatu bejana gelas, maka sebagian cahaya akan diserap oleh larutan dan selebihnya akan dilewatkan. Bagian yang diserap akan diukur dengan besaran asorban (A) atau ekstingsi yang diberi lambang ϵ , dan yang diteruskan disebut tranmisi, hubungan antara A dan T dapat dirumuskan sebagai berikut:

$$A = -\text{Log } T$$

Senyawa yang dapat menyerap cahaya tersebut adalah senyawa yang memiliki gugus kromofom.

Aspek Kualitatif dan Kuantitatif Spektrofotometri UV-Visible

Spektra UV-Vis dapat digunakan untuk informasi kualitatif dan sekaligus dapat digunakan untuk analisis kuantitatif.

1. Aspek Kualitatif

Data spektra Uv-Vis secara tersendiri tidak dapat digunakan untuk identifikasi kualitatif obat atau metabolitnya. Akan tetapi jika digabung dengan cara lain seperti spektroskopi infra merah, resonansi magnet inti, dan spektroskopi massa, maka dapat digunakan untuk maksud identifikasi/analisis kualitatif suatu senyawa tersebut. Data yang diperoleh dari spektroskopi Uv dan Vis adalah panjang gelombang maksimal, intensitas, efek pH, dan pelarut. Dimana data-data tersebut dapat dibandingkan dengan data yang telah dipublikasikan (published data). Dari spektra yang diperoleh, dapat dilihat, misalnya:

- Serapan (absorbansi) berubah atau tidak karena perubahan pH. Jika berubah, bagaimana perubahannya apakah batokromik ke hipsokromik dan sebaliknya atau dari hipokromik ke hiperkromik, dan sebagainya.
- Obat-obat netral misalnya kafein, kloramfenikol atau obat-obat yang berisi auksokrom yang tidak terkonjugasi seperti amfetamin. Siklizin dan pensiklidin.

2. Aspek kuantitatif

Dalam aspek kuantitatif, suatu berkas radiasi dikenakan pada cuplikan (larutan sampel) dan intensitas sinar radiasi yang diteruskan diukur besarnya. Radiasi yang diserap oleh cuplikan ditentukan dengan membandingkan intensitas sinar yang diteruskan dengan intensitas sinar yang diserap jika tidak ada spesies penyerap lainnya. Intensitas atau kekuatan radiasi cahaya sebanding dengan jumlah foton yang melalui satu satuan luas penampang perdetik. Serapan dapat terjadi jika foton/radiasi yang mengenai cuplikan memiliki energi yang sama dengan energi yang dibutuhkan untuk menyebabkan terjadinya perubahan tenaga. Intensitas juga mengalami penurunan dengan adanya penghamburan dan pemantulan cahaya, akan tetapi penurunan karena hal ini sangat kecil dibandingkan dengan proses penyerapan.

Secara matematis, persamaan yang digunakan dalam analisis kuantitatif spektrofotometri uv-vis adalah:

$$A = abc \text{ atau } A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Dimana :

A = absorban

a = absorptivitas

b = tebal kuvet

c = Konsentrasi

persamaan ini dikenal dengan hukum Lambert-Beer. Kuantitas spektroskopi yang diukur biasanya adalah transmitansi (T) = I/I_0 , dan Absorbansi (A), yang mana $A = \log 1/T$. beberapa batasan dalam hukum Lambert-Beer antara lain:

- Sinar yang digunakan dianggap monokromatis
- Penyerapan terjadi dalam suatu volume yang mempunyai penampang luas yang sama
- Senyawa yang menyerap dalam larutan tersebut tidak terganggu terhadap yang lain dalam larutan tersebut
- Tidak terjadi peristiwa fluoresensi atau fosforisensi
- Indeks bias tidak tergantung pada konsentrasi larutan

Cara menghitung konsentrasi analit dalam sampel dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut:

a. Perbandingan absorbansi

Metode ini dilakukan dengan membuat larutan analit baku dengan satu konsentrasi mirip dengan konsentrasi analit yang terdapat dalam sampel. Selanjutnya, dengan kondisi analisis yang sama, masing-masing larutan tersebut diukur absorbansinya. Konsentrasi senyawa analit dihitung berdasarkan persamaan berikut:

$$a(\text{analit/sampel}) = a(\text{analit baku})$$

$$(A/c) \text{ sampel} = (A/c) \text{ baku}$$

$$C \text{ sampel} = A \text{ sampel} / A \text{ baku} \times C \text{ baku}$$

b. Intrapolasi ke dalam kurva baku

Metode ini dilakukan dengan membuat beberapa konsentrasi larutan baku analit (minimum 4 macam) dengan rentang 80%-120% dari konsentrasi analit dalam sampel. Selanjutnya, dengan kondisi analisis yang sama, masing-masing larutan tersebut diukur absorbansinya. Setelah itu dibuat kurva baku, antara konsentrasi analit baku (x) vs absorbansi analit (y), maka akan diperoleh persamaan garis regresi $y = bx + a$. Dengan mengintrapolasikan absorbansi sampel ke dalam persamaan garis regresi tersebut akan diperoleh konsentrasi analit dalam sampel

F. Penetapan kadar formalin pada sampel makanan

Bahan :

Formalin 37%, Pararosanillin HCl (sigma aldrich), aquadest, sampel bakso, pelarut etanol

Alat :

Labu ukur, Gelas ukur, Neraca analitik, Alumunium foil, Sarung tangan, Masker, Cawan petri, Pipet volumetric, Ultrasonic cleaner, Spektrofotometer UV-Vis

Prosedur kerja :

1. Pengukuran panjang gelombang standar formalin (0,1 ppm) yang direaksikan dengan reagen kimia Pararosanilline HCl (25 ppm) dengan perbandingan 1:1. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimal diperoleh dari pengukuran absorbansi larutan standar formalin 0,1 ppm yang telah direaksikan dengan pereaksi pararosanillin HCl pada panjang gelombang 200-800 nm. menunjukkan bahwa panjang gelombang maksimal sebesar 539 nm. Larutan baku formalin
2. Pembuatan kurva baku
Larutan induk 37% diencerkan hingga mendapat 1 ppm. Dibuat larutan baku formalin dengan 5 seri konsentrasi 0,5-0,15 ppm, ditambahkan reagen pararosaniline dengan perbandingan (1:1) yaitu pada volume 2 ml formalin disbanding 2 ml pararosaniline
3. Uji formalin kuantitatif
 - a. Sampel tahu putih dihaluskan menggunakan batang pengaduk, ditimbang kurang lebih 20 g kemudian di masukkan ke dalam labu, tambahkan 20 mL aquadest
 - b. Dipipet 1 mL ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL aquadest dan 2 mL reagen pararosanilin, perbandingan 1 : 1 untuk sampel dan reagen kemudian larutan tersebut dicampur hingga homogen
 - c. Diinkubasi dalam waterbath suhu 37°C selama ± 30 menit, dan diukur serapan dalam kuvet panjang gelombang 539 nm

DAFTAR PUSTAKA

- Assifa, P. (2013). *Dengan Menggunakan Spektroskopi Fourier Transform Infrared (Ftir) Dengan Menggunakan Spektroskopi Fourier Transform Infrared (Ftir)*.
- Mayasari, Y., Purwanitiningih, E., & Sugiantari, N. (2024). Identifikasi dan Penetapan Kadar Formalin pada Tahu Putih di Lima Pasar Daerah Jakarta Timur dengan Metode Spektrofotometri Visible. *Anakes : Jurnal Ilmiah Analis Kesehatan*, 10(1), 39–48.
- Othman, N., Haris, H., Sariyati, N. H., Ramli, F. F., Muhammad, N., Mayzan, M. Z. H., Sulong, M. S., & Abu Bakar, M. A. L. (2023). Molecular analysis for halal verification: screening porcine DNA in charms cosmetic skincare products. *Journal of Halal Product and Research*, 6(2), 69–76.
- Zilhadia, Z., Bayyinah, B., & Suzanti Betha, O. (2023). Metode Analisis Gelatin Sapi dan Babi pada Kapsul Lunak menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dan Analisis Komponen Utama. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 10(1), 129.

LAMPIRAN
FORMAT LAPORAN
LAPORAN PRAKTIKUM ANALISIS PRODUK HALAL

NAMA :
NIM :
GOL./KEL. :
HARI/TGL. PRAKT :
MATERI PERCOBAAN :
PUSTAKA :

1. TUJUAN PRAKTIKUM :
2. DASAR TEORI :
3. ALAT DAN BAHAN :
4. CARA KERJA : dalam bentuk skema/bagan
5. HASIL PENGAMATAN DAN PERHITUNGAN :
6. PEMBAHASAN : membahas hasil praktikum sesuai tugas dan tujuan praktikum
7. KESIMPULAN : kadar sampel
8. DAFTAR PUSTAKA :
9. LAMPIRAN : printout data hasil analisis instrumen