



Review

Biosensor Elektrokimia untuk Memonitor Level Hemoglobin Terглиkasi (HbA1c) pada Penyakit Diabetes Melitus

Sheila Destiani, Iman Permana Maksam, Yeni Wahyuni Hartati*

Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran
Jalan Raya Bandung-Sumedang Km.21 Jatinangor, Sumedang, Jawa Barat 45363 Indonesia

*Corresponding author: yeni.w.hartati@unpad.ac.id

DOI: 10.20961/alchemy.19.1.58439.94-107

Received 12 January 2022, Accepted 17 November 2022, Published 22 March 2023

Kata kunci:

biosensor;
diabetes melitus;
elektrokimia;
HbA1c.

ABSTRAK. Hiperglikemia merupakan ciri diabetes melitus, sekelompok penyakit metabolik yang disebabkan oleh kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya. Hiperglikemia dapat menyebabkan kerusakan jangka panjang, disfungsi, dan kegagalan berbagai organ, terutama jantung, mata, saraf, pembuluh darah, dan ginjal. Oleh karena itu, diagnosis dan pemantauan rutin kadar glukosa darah sangat penting dilakukan. Hemoglobin terglykasi (HbA1c) adalah hemoglobin yang berikatan dengan glukosa dalam darah dan ditetapkan menjadi biomarker hiperglikemia yang dapat mengindikasikan diabetes atau prediabetes. Akan tetapi, pengukuran HbA1c di laboratorium klinis membutuhkan instrumen yang canggih dan mahal, tenaga ahli khusus dan waktu lama. Oleh karena itu, biosensor elektrokimia kemudian mulai dikembangkan untuk mendeteksi kadar HbA1c karena mudah digunakan, hasil cepat, dan harga yang murah. Ulasan ini membahas biosensor elektrokimia untuk mendeteksi HbA1c dan metode imobilisasi bioreseptor.

Keywords:

biosensors;
diabetes mellitus;
electrochemical;
HbA1c.

ABSTRACT. Electrochemical Biosensor for Monitoring Glycated Hemoglobin (HbA1c) Levels in Diabetes Mellitus. Hyperglycemia is a hallmark of diabetes mellitus, a group of metabolic diseases caused by defects in insulin action, insulin secretion, or both. Hyperglycemia can cause long-term damage, dysfunction, and failure of various organs, especially the heart, blood vessels, eyes, nerves, and kidneys. Therefore, routine diagnosis and monitoring of blood glucose levels are very important. Glycated hemoglobin (HbA1c) is hemoglobin that binds to glucose in the blood and is established as a biomarker of hyperglycemia that may indicate diabetes or prediabetes. However, measurement of HbA1c in the clinical laboratory requires large and expensive instruments, specialized experts, and takes a long time. Therefore, an electrochemical biosensor began to be developed to detect HbA1c levels because it is easy to use and has fast results at lower prices. This review discusses electrochemical biosensors for detecting HbA1c and the immobilization of bioreceptors.

ISI

PENDAHULUAN	95
PEMBAHASAN	95
Diabetes Melitus	95
Hemoglobin Terglykasi (HbA1c)	96
Metode Pengukuran HbA1c	97
Klasifikasi Biosensor	97
Biosensor Berdasarkan Transduser	98
Biosensor Berdasarkan Jenis Bioreseptor	99
KESIMPULAN	103
UCAPAN TERIMA KASIH	104
DAFTAR PUSTAKA	104

PENDAHULUAN

Diabetes Melitus (DM) adalah penyakit yang menjadi masalah kesehatan masyarakat global. Menurut laporan *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (IFCC) terdapat 463 juta penderita diabetes di seluruh dunia, di mana 47% penderitanya tidak menyadari penyakitnya atau tidak terdiagnosa. DM ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah secara terus menerus melebihi normal atau disebut hiperglikemia. Tidak ada kesepakatan universal tentang tes skrining diabetes yang paling akurat. Pengukuran Glukosa Darah Puasa (GDP) dan Tes Toleransi Glukosa Oral (TTGO) adalah dua tes skrining yang umum digunakan. Kedua tes ini melibatkan pengukuran glukosa darah. Dalam pengukuran TTGO dan GDP pasien harus berpuasa semalaman atau setidaknya selama 8 jam. Keakuratan TTGO dan GDP dapat berkurang dengan ketidakpatuhan pasien terhadap puasa, kesalahan laboratorium, atau penggunaan obat-obatan tertentu (Jagannathan *et al.*, 2020).

Pada pasien diabetes terdapat peningkatan fraksi hemoglobin minor yang diketahui sebagai HbA1c. Hal ini pertama kali dilaporkan oleh Rahbar *et al.* (1969) yang menemukan adanya komponen hemoglobin A1c tidak terkontrol pada penderita diabetes, studi menunjukkan kemungkinan adanya glukosa yang berikatan dengan hemoglobin A1c pada penderita diabetes (Sherwani *et al.*, 2016). Pada tahun 2010 *American Diabetes Association* (ADA) merekomendasikan penentuan kadar HbA1c untuk diagnosis diabetes dan kontrol gula darah pada pasien atau orang yang mungkin menderita pra-diabetes (Papatungan and Sanusi, 2014). HbA1c menjadi pilihan skrining yang menjanjikan karena memiliki stabilitas yang baik pada suhu kamar dan dapat diuji pada sampel darah kapiler yang tidak puasa (Lim *et al.*, 2018).

Berbagai teknik yang telah dilakukan untuk mendeteksi HbA1c dalam darah yaitu, dengan kromatografi *ion-exchange* (Rukmini *et al.*, 2017), kromatografi afinitas boronat (Xu *et al.*, 2021), *immunoassay* (Lakshmy and Gupta, 2009), dan elektroforesis kapiler (Gilani *et al.*, 2020). Meskipun metode-metode tersebut memberikan presisi dan akurasi untuk pengukuran HbA1c, namun pengukurannya membutuhkan waktu, biaya tinggi, kebutuhan instrumen canggih, tenaga profesional untuk mengoperasikan, dan preparasi sampel yang khusus (Almusharraf *et al.*, 2018).

Alternatif yang dapat digunakan untuk mendeteksi HbA1c adalah biosensor yang telah menarik banyak perhatian karena memiliki potensi besar menjadi perangkat analitik dengan sensitifitas tinggi, biaya rendah, kesederhanaan, kemungkinan untuk miniaturisasi, mudah dioperasikan dan hemat biaya, tetapi cukup kuat untuk penggunaan klinis. Dalam ulasan ini, kami merangkum kemajuan terbaru dalam pengembangan biosensor elektrokimia HbA1c serta pengembangan teknik imobilisasi bioreseptor dalam biosensor elektrokimia.

PEMBAHASAN

Diabetes Melitus

DM merupakan kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia. Hiperglikemia kronis akibat diabetes dapat menyebabkan disfungsi dan kegagalan berbagai organ, terutama jantung, mata, saraf, pembuluh darah, dan ginjal (Association American Diabetes, 2005). DM juga merupakan contoh penyakit yang berkaitan dengan penurunan fungsi mitokondria pada sel β -pankreas (DM tipe 2) (Maksum, 2020). DM diklasifikasikan berdasarkan proses patogenik yang menyebabkan hiperglikemia, terdiri atas: (1) DM tipe 1 disebabkan oleh tidak diproduksinya insulin oleh sel beta pankreas akibat proses autoimun maupun idiopatik; (2) DM tipe 2 disebabkan oleh ketidakmampuan reseptor insulin untuk merespon insulin atau disebabkan oleh faktor genetik yang diwariskan secara maternal (Maksum *et al.*, 2013); (3) DM Gestasional terjadi pada masa kehamilan, di mana adanya produksi hormon-hormon antagonis insulin, antara lain: estrogen, progesteron, kortisol, dan *human placenta lactogen* yang dapat menghambat kerja insulin; (4) DM tipe lain yang disebabkan dari penyakit lain yang mengganggu kerja atau produksi insulin. Resistensi insulin terjadi ketika reseptor insulin terhadap insulin terganggu, mengakibatkan adanya penurunan pemanfaatan glukosa yang dimediasi insulin di jaringan perifer, sehingga terjadi kondisi hiperglikemia (Muhammad, 2018).

Gejala DM dapat dilihat dengan adanya keluhan seperti polifagia, poliuria, penurunan berat badan, dan poldipsia, atau kondisi lainnya terkait hiperglikemia seperti pandangan kabur, mudah mengantuk dan kelelahan, dan kebas-kebas khususnya pada ekstremitas bawah (Bhatt *et al.*, 2016). Komplikasi jangka panjang yang dapat terjadi adalah nefropati diabetik yang menyebabkan gagal ginjal, retinopati dengan potensi kehilangan penglihatan, neuropati otonom yang menyebabkan gejala gastrointestinal dan kardiovaskular serta disfungsi seksual, juga neuropati perifer dengan risiko ulkus kaki (American Diabetes Association, 2014). Namun, banyak pasien DM

menunjukkan asimtomatik dan tidak terdiagnosa selama bertahun-tahun (Siregar, 2017). Diagnosis dini DM dan monitoring kadar gula darah menjadi sangat penting untuk mencegah terjadinya komplikasi. Metode dan teknik yang telah dilakukan untuk diagnosis DM adalah dengan pengukuran kadar gula darah dengan kriteria yang ditampilkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Kriteria diagnonsis DM.

	Glukosa Darah Sewaktu (mg/dL)	Toleransi Glukosa terganggu (mg/dL)	Glukosa Darah Puasa (mg/dL)	HbA1c (%)
Diabetes	≥ 200	≥ 200	≥ 126	≥ 6,5
Prediabetes	N/A	140 – 199	100 – 125	5,7 – 6,4
Normal	N/A	< 140	< 100	< 5,7

Sumber: Konsensus Pengendalian dan Pencegahan DM di Indonesia 2015 (Indonesia, 2015).

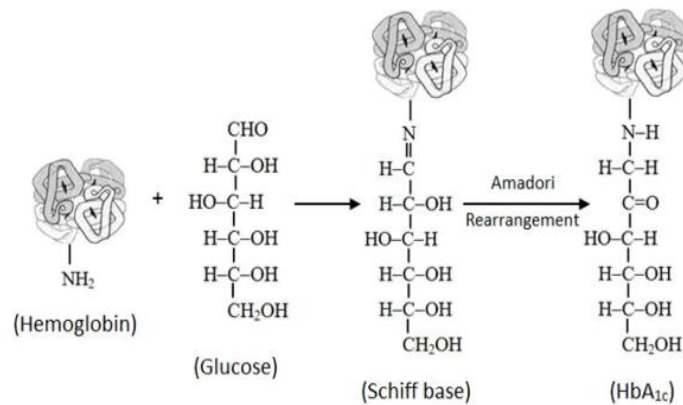
Pra-diabetes atau prediabetes adalah kondisi yang menunjukkan kondisi gula darah berada di atas kadar normal tetapi tidak cukup tinggi untuk dikategorikan ke dalam diabetes. Berdasarkan Tabel 1 diatas, metode pemeriksaan kadar glukosa terdiri atas pemeriksaan glukosa darah sewaktu yang dapat dilakukan kapan saja, kadar gula darah ≥ 200 mg/dL. Selanjutnya, Tes Toleransi Glukosa Oral (TTGO) dilakukan untuk mengukur kemampuan tubuh dalam menyerap glukosa. Tes ini melibatkan pengambilan sampel darah sebelum dan setelah pasien mengonsumsi cairan glukosa 75 g. Selanjutnya, pemeriksaan glukosa darah puasa akan menunjukkan kadar glukosa darah ketika tubuh tidak memiliki suplai glukosa dari makanan. Adanya persiapan khusus, seperti puasa 8 jam menyebabkan pemeriksaan ini sulit dilakukan berulang-ulang. Pada tahun 2010, *American Diabetes Sociation* (ADA) menambahkan metode baru yaitu pemeriksaan hemoglobin terglikasi A1c atau HbA1c yang dilakukan untuk menilai kadar gula darah rata-rata selama tiga bulan terakhir.

Hemoglobin Terglikasi (HbA1c)

Hemoglobin (Hb) merupakan protein dalam sel darah merah yang berfungsi mengangkut oksigen ke seluruh tubuh. Struktur hemoglobin terdiri dari empat sub unit dengan masing-masing memiliki rantai polipeptida dan satu senyawa porfirin yang mengandung besi (heme) (Marengo-Rowe, 2006). Terdapat tiga jenis hemoglobin pada manusia normal, yaitu hemoglobin dewasa (HbA) sekitar 97%; HbA2 2,5%; dan hemoglobin fetal (HbF) sekitar 0,5% (Sacks, 2012). Hemoglobin dewasa atau *hemoglobin adult* (HbA) merupakan hemoglobin yang disintesis setelah kelahiran. Pada hemoglobin dewasa terdiri atas dua jenis rantai polipeptida, yaitu rantai alfa (α) dan rantai beta (β), keduanya memiliki panjang yang sama tetapi berbeda dalam urutan asam amino. Hemoglobin di dalam darah dapat mengalami reaksi glikasi yang dipengaruhi oleh kadar glukosa dalam tubuh. Pada orang sehat, sekitar 94% HbA tidak terglikasi, sedangkan 6% terglikasi (Lenters-Westra *et al.*, 2013).

Hemoglobin Fraksi HbA1 dari hemoglobin dewasa dapat mengalami glikasi membentuk HbA1a dan HbA1b dalam jumlah kecil (~1%) dan HbA1c (komponen utama ~5%) (Nitin, 2010). Ketiga jenis hemoglobin terglikasi ini dibedakan berdasarkan jenis karbohidrat yang terikat ke hemoglobin (Kilpatrick *et al.*, 1994). Struktur HbA1a terdapat fruktosa 1,6-difosfat atau glukosa 6-fosfat yang masing-masing terikat pada ujung NH_2 dari rantai β hemoglobin. Pada HbA1b mengandung asam piruvat pada N-terminal dari β hemoglobin (Sacks, 2012). Sedangkan HbA1c (atau disebut hemoglobin A1c, A1C, HbA1, Hb1c, HGBA1C) merupakan protein terglikasi di mana glukosa berikatan dengan residu valin pada N-terminal amino valin dari rantai β hemoglobin. HbA1c terbentuk melalui reaksi non-enzimatik (Ogawa *et al.*, 2019; Park *et al.*, 2008).

HbA1c dianggap dapat mengukur konsentrasi glukosa plasma rata-rata selama jangka waktu lama. Seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1. Tahap pertama dari pembentukan HbA1c adalah gugus amino valin pada N-terminal rantai β hemoglobin yang berinteraksi dengan gugus aldehid glukosa untuk membentuk ikatan aldimin yang disebut basa Schiff dan tahap kedua yang bersifat irreversibel di mana terjadi penataan ulang (*rearrangement*) basa Schiff menjadi ketoamin yang lebih stabil (Sherwani *et al.*, 2016). Nilai pKa dari gugus amino serta muatan dan efek sterik residu mempengaruhi kemungkinan glikasi. Secara umum, nilai pKa gugus amino residu valin pada N-terminal (mendekati 7), lebih rendah daripada gugus amino residu Lys di Hb (Lin and Yi, 2017). Tingkat pembentukan protein terglikasi secara langsung berhubungan dengan konsentrasi glukosa dalam darah sehingga dapat digunakan untuk menilai kontrol glikemia dan diagnosis diabetes (Duanghathaipornsuk *et al.*, 2021). Ketika kadar glukosa dalam darah tinggi, semakin banyak glukosa yang berikatan dengan hemoglobin, sehingga kadar HbA1c akan meningkat (Suryathi, 2015). Persentase HbA1c dalam darah manusia menunjukkan konsentrasi glukosa plasma rata-rata selama 3 bulan sesuai dengan masa hidup eritrosit (Abass *et al.*, 2017; Chen *et al.*, 2012).



Gambar 1. Pembentukan hemoglobin terglukasi (HbA_{1c}). Sumber (Sherwani *et al.*, 2016) dengan lisensi CC BY-NC 3.0.

Metode Pengukuran HbA_{1c}

Berbagai teknik yang telah dilakukan untuk mendeteksi HbA_{1c} pada laboratorium klinis yaitu dengan Kromatografi cair kinerja tinggi, *immunoassay*, dan elektroforesis. Pengukuran kromatografi memisahkan molekul HbA_{1c} dari molekul hemoglobin lain menggunakan HPLC dengan kolom penukar ion atau afinitas boronat. Kolom penukar ion memisahkan HbA_{1c} yang bermuatan lebih negatif dengan hemoglobin non glikasi berdasarkan perbedaan muatan keduanya (Rukmini *et al.*, 2017). Sedangkan kolom afinitas boronat memisahkan komponen berdasarkan strukturnya, di mana gugus cis-diol pada HbA_{1c} akan berikatan spesifik dengan asam boronat pada resin, sehingga hal inilah yang akan membedakan HbA_{1c} dengan Hb (Xu *et al.*, 2021). Kandungan HbA_{1c} diukur berdasarkan rasio area puncak HbA_{1c} terhadap area puncak hemoglobin non-glikasi (Chauhan, 2017). Pada metode *immunoassay* atau *turbidimetry immunoassay* memanfaatkan interaksi antigen-antibodi untuk menentukan HbA_{1c} dalam darah secara langsung. Antibodi pada partikel lateks akan mengaglutinasi antigen spesifik, kemudian jumlah aglutinasi diukur sebagai absorbansi yang berbanding lurus dengan jumlah HbA_{1c} yang terserap ke permukaan partikel lateks (Lakshmy and Gupta, 2009). Metode yang juga umum digunakan adalah elektroforesis kapiler yang memisahkan berdasarkan perbedaan tingkat migrasinya dalam sebuah medan listrik.

Pemisahan HbA_{1c} dengan hemoglobin non-glikasi terjadi karena perbedaan muatan yang berasal dari eliminasi satu gugus amino bermuatan positif dalam molekul HbA_{1c} melalui pengikatan dengan glukosa (Chauhan, 2017). Selain itu pada elektroforesis dapat digunakan buffer tetraborat sebagai elektrolit. Adanya anion borat ini akan berinteraksi dengan gugus cis-diol pada HbA_{1c} sehingga dapat dipisahkan dari hemoglobin non-glikasi (Koval *et al.*, 2011). Meskipun metode-metode tersebut memberikan presisi dan akurasi untuk pengukuran HbA_{1c}, namun memerlukan biaya tinggi, kebutuhan instrument khusus, dan tenaga ahli untuk mengoperasikan (Ahmadi *et al.*, 2020). Adanya gangguan variasi hemoglobin lain yang juga terukur dapat menjadi masalah saat menganalisis HbA_{1c}, sehingga memberi efek pada keakuratan pengukuran HbA_{1c} seperti memberi *false normal* (Gilani *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2021). Selain itu, pengukuran dengan instrumen tidak cocok untuk *on-site* monitoring (Almusharraf *et al.*, 2018).

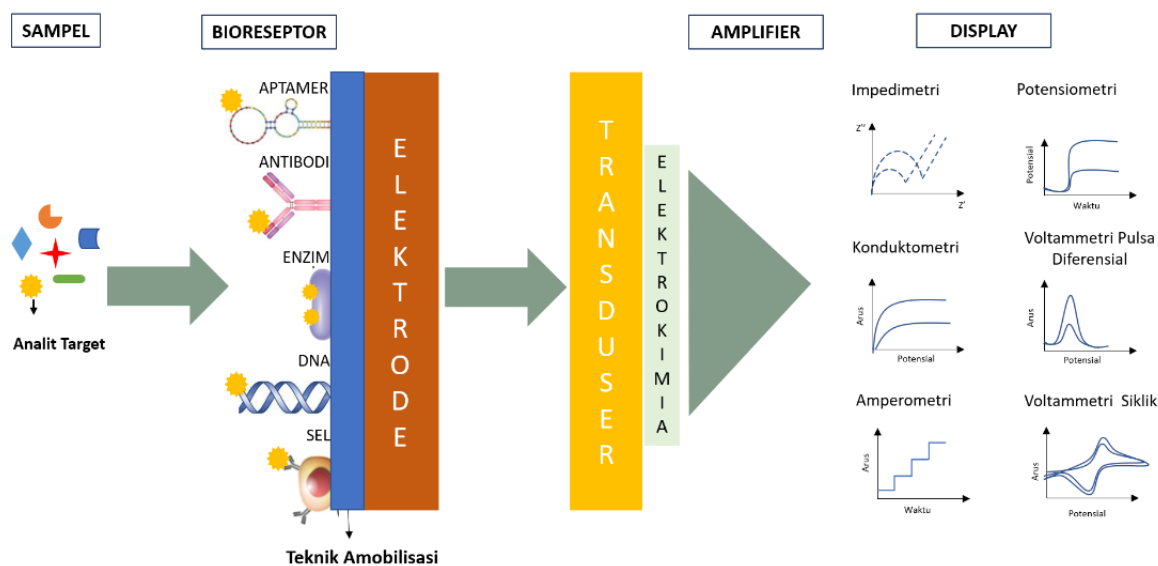
Klasifikasi Biosensor

Alternatif yang dapat digunakan untuk memonitor level HbA_{1c} adalah biosensor. Biosensor adalah perangkat penginderaan kimia yang mengubah hasil reaksi biokimia menjadi sinyal terukur. Kelebihan dari biosensor adalah instrumen yang sederhana, kecepatan pengukuran, memiliki sensitivitas, selektivitas, dan stabilitas yang baik dibandingkan metode diagnostik lainnya, dan murah (Dorledo de Faria *et al.*, 2019; Sheikholeslam *et al.*, 2011). Komponen utama dari biosensor adalah bioreseptor dan transduser. Bioreseptor adalah biomolekul yang mengenali secara khusus analit yang diinginkan. Peristiwa pengikatan kemudian diterjemahkan oleh transduser menjadi sinyal yang dapat terukur (Jaiswal and Tiwari, 2017). Biosensor dapat diklasifikasikan dalam dua cara, yaitu berdasarkan (1) transduser atau (2) jenis bioreseptor (Goode *et al.*, 2015).

Biosensor Berdasarkan Transduser

Transduser merupakan komponen biosensor yang memiliki peran penting dalam proses deteksi sinyal. Transduser berperan dalam mengubah sinyal yang dihasilkan dari interaksi antara bioreseptor dengan analit menjadi sinyal lain yang dapat dibaca (Karunakaran *et al.*, 2015). Biosensor dapat diklasifikasikan berdasarkan transduser yang digunakan, yaitu metode deteksi optik, elektrokimia, piezoelektrik, dan termal (Morrison *et al.*, 2007). Pada prinsipnya biosensor optik memanfaatkan interaksi bidang optik dengan elemen *biorecognition*. Kelemahan dari biosensor optik adalah umumnya memerlukan penambahan reagen penanda atau label fluoresen (Goode *et al.*, 2015). Biosensor piezoelektrik didasarkan pada pengukuran perubahan massa yang kecil yang disebabkan oleh adanya ikatan kimia dengan kristal piezoelektrik sebagai osilator. Pengikatan analit yang diinginkan akan meningkatkan massa kristal dan akan mengubah frekuensi osilasinya sesuai dengan efek piezoelektrik, yang kemudian dapat diukur secara elektrik (Pohanka, 2017). Biosensor termal mengukur adanya perubahan suhu dalam reaksi spesifik molekul enzim dengan analitnya. Perubahan suhu ini dikorelasikan dengan produk yang terbentuk (Morrison *et al.*, 2007). Biosensor elektrokimia mengukur arus yang dihasilkan dari reaksi reduksi dan oksidasi. Arus yang dihasilkan berbanding lurus dengan konsentrasi elektroaktif yang ada.

Biosensor elektrokimia adalah salah satu perangkat penginderaan berdasarkan transduksi peristiwa biokimia menjadi sinyal listrik (Cho *et al.*, 2020). Metode elektrokimia semakin populer dalam biosensor karena kemudahan fabrikasi dan integrasi sel elektrokimia, juga menawarkan platform deteksi sederhana, cepat, dan mudah dengan tingkat selektivitas dan sensitivitas yang tinggi (Hartati, *et al.*, 2020a; Lim *et al.*, 2010). Skema biosensor elektrokimia ditunjukkan oleh Gambar 2.



Gambar 2. Skema biosensor elektrokimia.

Pengukuran dilakukan berdasarkan adanya perubahan arus, potensial, impedansi, dan konduktansi dapat dibaca dengan metode: (1) Voltametri yang merupakan suatu metode elektroanalitik berdasarkan prinsip dasar elektrolisis. Biosensor voltametri mendeteksi analit dengan mengukur arus selama variasi potensial yang ditetapkan (Harvey, 2020). Keuntungan dari sensor ini termasuk pengukuran yang sangat sensitif dan deteksi simultan dari beberapa analit (Naresh and Lee, 2021), sedangkan (2) biosensor amperometri mengukur perubahan arus yang disebabkan oleh oksidasi dan reduksi senyawa elektroaktif dalam reaksi biokimia pada potensial konstan (Grieshaber *et al.*, 2008). (3) Biosensor potensiometri adalah perangkat yang digunakan untuk mengukur perubahan potensial yang terakumulasi di permukaan elektroda kerja pada arus sama dengan nol. Potensiometri memberikan informasi tentang aktivitas ion dalam reaksi elektrokimia (Grieshaber *et al.*, 2008). (4) Biosensor impedimetrik mengukur impedansi listrik yang dihasilkan pada permukaan sensor ketika sinyal eksitasi gelombang sinus kecil diterapkan (Kim *et al.*, 2019; Naresh and Lee, 2021). Spektroskopi Impedansi Elektrokimia (EIS) adalah teknik yang digunakan untuk karakterisasi permukaan dalam biosensor. Pengukuran EIS didasarkan pada penerapan potensial konstan dengan gangguan kecil, biasanya 5 atau 10 mV, pada rentang frekuensi yang luas. Hasilnya kemudian diplot dalam plot Nyquist (Mollarasouli *et al.*, 2019). (5) Konduktometri mengukur

perubahan konduktivitas listrik dapat diukur karena adanya reaksi yang menghasilkan atau mengkonsumsi elektron (Nirschl *et al.*, 2011).

Elektrokimia yang dikombinasi dengan teknik biosensor lainnya adalah *Elektro-chemiluminescence* (ECL). ECL memproduksi cahaya melalui reaksi transfer elektron antara reagen yang diproduksi secara elektrokimia, biosensor berbasis ECL menggunakan interaksi biologis spesifik untuk mengenal analit dan menghasilkan sinyal *luminescence*. Biosensor ECL bersifat selektif, sederhana, sensitif dan memiliki batas deteksi yang rendah (Gross *et al.*, 2016). Ahmadi *et al.* pada tahun 2021 mengembangkan biosensor untuk mendeteksi HbA1c dengan kombinasi pengukuran ECL dan CV untuk memvalidasi mekanisme pendaran yang mungkin dari Zr-MOF/Fe₃O₄(TMC) pada permukaan SPE berbasis kertas. Hasilnya menunjukkan rentang linear 2% – 18% dan batas deteksi yang rendah (LoD = 0,072%) (Ahmadi *et al.*, 2021). Selain itu, biosensor ECL untuk mendeteksi HbA1c telah dibuat dengan menggunakan elektroda GCE yang dimodifikasi oleh mesoporous polidopamin (MPDA) dan Ru(bpy)₃²⁺ sebagai reagen *chemiluminescence*. TPA digunakan sebagai koreaktan yang dapat meningkatkan reaksi ECL dari Ru(bpy)₃²⁺ secara efektif. Aptamer HbA1c termodifikasi karboksilat digunakan sebagai bioreseptor yang kemudian diimobilisasi melalui reaksi amidasi dengan MPDA. Adanya interaksi aptamer dengan HbA1c akan menurunkan sinyal ECL dari Ru(bpy)₃²⁺ karena halangan transfer elektron. Aptasensor ini memiliki sensitivitas dan selektivitas yang tinggi dengan rentang linier dari 0,1% – 18,5% dan batas deteksi (LoD) 0,015% (Zhang *et al.*, 2020).

Biosensor Berdasarkan Jenis Bioreseptor

Keberhasilan sensor secara langsung tergantung pada afinitas dan spesifisitasnya yang tinggi. Penggunaan dan imobilisasi bioreseptor yang sesuai menjadi penting pada pengembangan biosensor. Umumnya, biokomponen yang digunakan pada pengembangan biosensor adalah enzim, antibodi, aptamer, atau DNA untai tunggal yang mengikat secara spesifik pada molekul yang diinginkan (Ahmadi *et al.*, 2020). Namun aptamer dan antibodi/antigen adalah bioreseptor yang sering digunakan pada berbagai jenis biosensor.

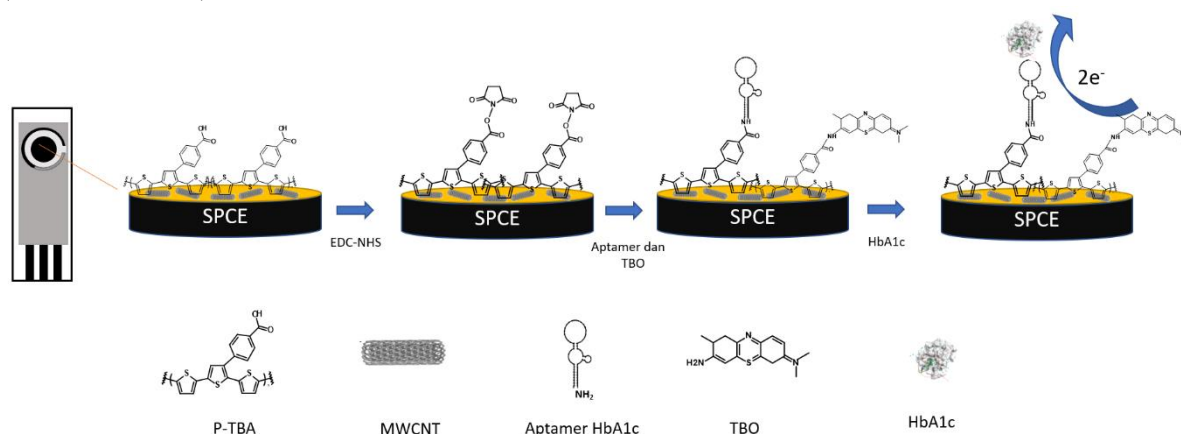
1. Aptasensor

Biosensor yang menggunakan aptamer sebagai molekul pengenalan atau aptasensor sering di desain sederhana dan tidak membutuhkan instrumentasi yang mahal dan mudah digunakan. Aptamer merupakan urutan oligonukleotida DNA atau RNA beruntai tunggal (ssDNA atau ssRNA) yang secara khusus disintesis untuk mengikat suatu molekul target dan telah muncul sebagai alternatif pengganti antibodi (Yüce *et al.*, 2015). Aptamer dipilih dari perpustakaan oligonukleotida melalui proses yang disebut SELEX (*Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment*) dengan proses berulang untuk mendapatkan urutan aptamer dengan afinitas tinggi (Khan and Song, 2020). Aptamer telah dipilih untuk berbagai target, diantaranya ion logam, molekul organik kecil, peptida dan protein (Song *et al.*, 2008). Aptasensor elektrokimia banyak digunakan karena sensitivitasnya yang relatif lebih tinggi dan biaya yang relatif rendah karena tidak diperlukan perangkat optik yang canggih (Li *et al.*, 2016).

Aptamer DNA yang memiliki selektivitas terhadap HbA1c dan Hb telah ditemukan oleh Eissa *et al.* (2019) dengan nilai K_d masing-masing 2,8 nM dan 2,7 nM yang dihasilkan melalui proses SELEX. Aptamer tersebut kemudian digunakan dalam biosensor elektrokimia. Perangkat biosensor ini dibuat dengan memodifikasi *Screen Printed Carbon Electrode* (SPCE) dengan nanopartikel emas melalui elektroreduksi emas klorida. Penggunaan nanopartikel bertujuan untuk meningkatkan sensitivitas dan menurunkan batas deteksi (Hartati *et al.*, 2020b) Nanopartikel memiliki luas permukaan yang besar, dapat meningkatkan stabilitas dan imobilisasi bioreseptor, serta berfungsi untuk meningkatkan transfer elektron antara bioreseptor dan permukaan elektroda sehingga menghasilkan penguatan sinyal yang signifikan (Dridi *et al.*, 2017). Aptamer termodifikasi gugus tiol (-SH) kemudian diimobilisasi pada permukaan elektroda. Gugus tiol menunjukkan afinitas yang kuat terhadap permukaan logam mulia yang memungkinkan pembentukan ikatan kovalen antara atom belerang dan emas (Gaffar *et al.*, 2017). Imobilisasi ini akan membentuk ikatan kovalen antara sulfur pada gugus tiol dengan permukaan AuNp (Fazrin *et al.*, 2020) Selanjutnya diinkubasi menggunakan MCH (mercapto-1-hexanol) untuk menutupi sisi aktif pada permukaan SPCE sehingga dapat mengurangi adsorpsi nonspesifik pada permukaan elektroda. Adanya pengikatan HbA1c pada biosensor ditunjukkan oleh penurunan arus puncak reduksi [Fe(CN)₆]^{4-/3-} pada pengukuran voltametri gelombang persegi (SWV). Hal ini terjadi karena efek pemblokiran protein terikat. Aptasensor voltametri ini menunjukkan sensitivitas tinggi dengan batas deteksi masing-masing 0,2 dan 0,34 ng/mL untuk HbA1c dan Hemoglobin total (Eissa and Zourob, 2017).

Aptamer termodifikasi gugus tiol juga dapat diimobilisasi pada nanokomposit *Reduce Graphene Oxide* (r-GO) dan emas di atas permukaan elektroda *Graphite Sheet* (GS). Penggunaan nanokomposit dapat meningkatkan luas permukaan elektroda, sehingga lebih banyak aptamer yang terimobilisasi. Tahap pertama pembuatannya adalah r-GO ditetaskan pada permukaan GS, kemudian nanopartikel emas diendapkan di atas GS/GO melalui electrodeposisi. Selanjutnya aptamer DNA termodifikasi gugus tiol sebagai bioreseptor diimobilisasi pada permukaan elektroda. Elektroda kemudian diinkubasi dalam larutan 11-mercapto-1-undecanol (MU) untuk mencegah adanya ikatan nonspesifik. Pada tahap selanjutnya ditambahkan HbA1c yang akan berikatan dengan aptamer untuk selanjutnya dilakukan pengukuran dengan *Differential Pulse Voltammetry* (DPV) dengan probe redoks $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$. Transfer elektron $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ dapat dihambat dengan adanya HbA1c yang terikat oleh aptamer pada permukaan elektroda. Penurunan arus sebanding dengan konsentrasi HbA1c. Biosensor ini menunjukkan rentang linier 1 nM – 13,83 mM dan batas deteksi 1 nM (Jaberi *et al.*, 2019).

Aptasensor amperometri telah dikembangkan untuk mendeteksi hemoglobin total dan HbA1c dalam satu microfluidik sekali pakai. *Screen Printed Carbon Electrode* (SPCE) dimodifikasi dengan poli(2,2':5',5''-tertiofena-3-p-asam benzoat) dan komposit *Multi-Walled Carbon Nanotubes* (MWCNT) untuk menghasilkan probe sensor yang stabil dan sensitif karena memiliki konduktivitas listrik tinggi, dan efisiensi transfer elektron. Polimer tertiofena ini digunakan karena struktur karboksilatnya ($-\text{COOH}$) yang kemudian akan menjadi situs pengikatan dengan aptamer termodifikasi amina dan TBO (Toluidin Blue O) melalui pembentukan ikatan amida (Moon *et al.*, 2017).



Gambar 3. Skema imobilisasi aptamer HbA1c termodifikasi amina.

Elektroda termodifikasi pTBA@MWCNT diinkubasi dengan EDC/NHS untuk mengaktifkan gugus asam benzoat dari lapisan pTBA. Kemudian TBO diimobilisasi melalui ikatan amida untuk sensor Hb dan aptamer diimobilisasi untuk sensor HbA1c. Tahapan imobilisasi aptamer HbA1c dapat dilihat pada Gambar 3. Adanya penggunaan TBO digunakan sebagai mediator redoks untuk meningkatkan sinyal elektrokimia karena Hb dan HbA1c merupakan protein heme dengan laju transfer elektron sangat lambat. Deteksi Hb dan HbA1c dirangsang oleh aktivitas katalitik TBO. Pada sensor Hb, TBO akan mengkatalisis reduksi elektrokimia Hb dan pada sensor HbA1c didasarkan katalitik TBO pada proses reduksi HbA1c yang ditangkap secara selektif oleh aptamer.

Aptasensor ini kemudian dievaluasi melalui pengukuran Hb dan HbA1c dalam 20 sampel darah. Analisis Hb dan HbA1c dilakukan lima kali untuk setiap sampel, kemudian dihitung persentase HbA1c. Persentase HbA1c selanjutnya dibandingkan dengan hasil pengukuran menggunakan HPLC. Nilai rata-rata HbA1c (%) dari kedua metode menunjukkan variasi kecil dan ketidakakuratan rendah; *slope* = $0,987 \pm 0,036$; *intercept* = $0,11 \pm 0,28\%$; *r* = 0,976; standar deviasi <8,4%. Pengukuran menggunakan aptasensor ini memiliki kelebihan dalam penggunaan sampel darah yang sedikit (1 μL), sederhana, akurat, mudah digunakan, dan biaya rendah (Moon *et al.*, 2017).

Penggunaan nanomaterial karbon pada aptasensor elektrokimia telah menarik perhatian beberapa tahun terakhir karena konduktivitasnya yang tinggi dan luas permukaan yang besar. Eissa *et al.* (2019) kemudian melakukan studi perbandingan nanomaterial karbon yang berbeda untuk aplikasi aptasensor HbA1c. Nanomaterial karbon tersebut di antaranya karbon, *graphene* (G), *graphene oxide* (GO), *multi walled carbon nanotube* (MWCNT), *single walled carbon nanotube* (SWCNT), dan *carbon nanofiber* (CNT). Imobilisasi aptamer dilakukan dengan adsorpsi fisik pada permukaan elektroda nanomaterial karbon. Interaksi yang terjadi pada aptamer dengan permukaan elektroda merupakan non-kovalen melalui interaksi *pi-stacking* antara nukleobasa

DNA dan permukaan material karbon. Respon aptasensor kemudian diukur dengan *square wave voltametry* (SWV) dengan probe redoks $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4/3-}$. Adanya aptamer yang terimobilisasi ditunjukkan dengan penurunan arus katoda karena terjadi halangan untuk transfer elektron. Hal ini dikaitkan dengan tolakan elektrostatik antara anion $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4/3-}$ dengan tulang punggung fosfat dari aptamer DNA yang bermuatan negatif. Namun setelah pengikatan HbA1c pada aptamer, arus puncak reduksi $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4/3-}$ meningkat. Kenaikan arus ini dikaitkan dengan desorpsi aptamer dari permukaan sehingga memungkinkan akses molekul redoks yang lebih banyak ke permukaan sehingga meningkatkan transfer elektron. Hasilnya menunjukkan penggunaan SWCNT paling responsif dalam mendeteksi HbA1c dengan LOD 0,03 $\mu\text{g/mL}$. Aptasensor juga tidak menunjukkan selektivitas dengan protein nonspesifik yang umum ditemukan pada serum darah (CFTR, SMN, STAT3, dan DOCK8) (Eissa *et al.*, 2019).

2. Imunosensor

Imunosensor merupakan biosensor berbasis antibodi sebagai bioreseptor yang mengukur sinyal berdasarkan interaksi antara antigen dan antibodi spesifik yang diimobilisasi pada permukaan transduser. Interaksi antigen-antibodi ini menjadikan imunosensor dengan selektivitas dan sensitivitas yang tinggi. Target yang diukur dapat berupa antibodi (Ab) atau antigen (Ag) (Mollarasouli *et al.*, 2019). Penggunaan imunosensor elektrokimia dapat dilakukan dengan cepat dan sederhana. Imunosensor elektrokimia dibuat melalui imobilisasi bioreseptor (antigen atau antibodi) pada permukaan elektroda. Pengukuran bergantung pada perubahan arus atau tegangan yang dihasilkan dari respon pengikatan antigen-antibodi. Imunosensor telah populer digunakan di bidang diagnosis klinis. Keuntungan dari imunosensor elektrokimia adalah batas deteksi rendah, volume kecil, instrumentasi sederhana, dan sistem miniatur yang dapat diintegrasikan dalam biochip (Hartati *et al.*, 2020b). Penentuan kuantitatif HbA1c dihitung dengan menganalisis perubahan intensitas sinyal arus dari probe redoks setelah reaksi antigen-antibodi terjadi pada elektroda.

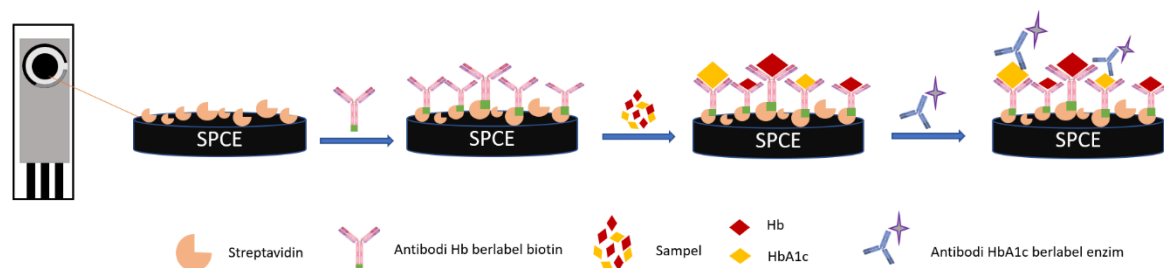
Imunosensor elektrokimia untuk mendeteksi HbA1c telah dikembangkan oleh Lan *et al.*, Antibodi anti-HbA1c diimobilisasi pada komposit polipirol(PPy)-nanopartikel emas (AuNP). Penggunaan polimer polipirol (PPy) telah dianggap sebagai metode yang berguna untuk aplikasi imunosensing karena stabilitas yang tinggi, dan kompatibilitas dengan immunoaktif yang digunakan. Komposit ini terdistribusi secara merata pada permukaan elektroda dengan prosedur yang sederhana. Berdasarkan metode ini, imobilisasi antibodi anti-HbA1c pada elektroda menjadi lebih kuat teradsorpsi dalam jumlah besar karena terdapat banyak pori dan ruang untuk molekul antibodi menjadi tidak bergerak. Elektropolimerisasi komposit PPy-HAuCl₄ pada permukaan elektroda kerja emas dilakukan dengan lima hingga sepuluh siklus potensial 0 – 0,8 V pada 50 mVs^{-1} dalam larutan pirol. Hasilnya telah menunjukkan bahwa komposit PPy-AuNP dapat memberikan peningkatan imobilisasi antibodi anti-HbA1c dan sensitivitas yang lebih tinggi. Rentang pengukuran dari imunosensor ini 5% – 20% HbA1c (Lan *et al.*, 2009).

Antibodi anti-HbA1c juga dapat diimobilisasi pada permukaan elektroda emas melalui 3-Mercaptopropionic (MPA) secara kovalen. Molekul MPA terdiri atas gugus fungsi tiol di salah satu ujung untuk berikatan dengan elektroda emas melalui *self assembly monolayer* (SAM), dan di ujung lainnya terdapat gugus karboksilat yang akan berikatan dengan anti-HbA1c secara kovalen melalui ikatan peptida. Namun diperlukan penambahan EDC-NHS untuk mengaktifkan gugus karboksilat MPA dengan membentuk ester suksinamida yang reaktif. Pengukuran dilakukan menggunakan *differential pulse voltammetry* (DPV) dengan $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ sebagai probe redoks. Semakin besar konsentrasi HbA1c yang terikat, sinyal arus yang dihasilkan oleh reaksi transformasi $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ akan semakin menurun akibat adanya penghambatan transfer elektron dari antigen (HbA1c) yang ditangkap pada permukaan elektroda emas terimobilisasi anti-HbA1c. Biosensor menunjukkan rentang linier 7,5 – 20 $\mu\text{g/mL}$. Pengukuran antigen HbA1c dalam serum darah yang tidak diencerkan juga diukur dan menghasilkan rentang linier 0,10 – 0,25 mg/mL (Molazemhosseini *et al.*, 2016).

Li *et al.* pada tahun 2021 mengembangkan imunosensor dengan menggabungkan konduktivitas yang baik dari nanomaterial dan sifat *antifouling* dari struktur biologis 3D. Matriks *antifouling* ini dapat mencegah adanya inaktivasi elektroda yang disebabkan oleh sampel biologis kompleks dan dapat meningkatkan transfer elektron pada permukaan biosensor. Matriks 3D terdiri atas bovine serum albumin (BSA) yang secara fisik teradsorpsi ke permukaan *carbon multiwalled nanotube* (MWCNT) melalui interaksi hidrofobik, kemudian dihubungkan dengan glutaraldehid (GA) melalui *cross-linking*. Antibodi HbA1c dan asam 3-aminofenilboronal (APBA) kemudian diimobilisasi pada matriks berpori 3D tersebut. Sifat elektrokimia diamati menggunakan voltametri siklik dan impedansi untuk menunjukkan efisiensi permukaan. Dihasilkan rentang linier 2 – 15% dengan LOD 0,4% (Li *et al.*, 2021). Hasilnya menunjukkan lapisan 3D BSA/MWCNT/GA dapat dikembangkan untuk meningkatkan efisiensi transfer elektron dan kemampuan *antifouling* pada permukaan biosensor. Lapisan ini dapat menyimpan

92% dan 88% sinyal asli dalam 1% BSA dan serum manusia setelah paparan 1 bulan. Strategi biosensor ini memiliki potensi besar untuk pengembangan perangkat POCT (Li *et al.*, 2021).

Imunosensor potensiometri juga dapat digunakan untuk mendeteksi HbA1c. Metode pengukuran ini didasarkan pada *sandwich immunoassay* yang menggabungkan antibodi anti-Hb dan anti-HbA1c berlabel enzim. Antibodi anti-Hb menangkap hemoglobin total (Hb dan HbA1c) dalam serum darah, kemudian antibodi anti-HbA1c berlabel enzim secara selektif hanya mengikat HbA1c. Situs pengikatan HbA1c untuk antibodi anti-HbA1c berada di dalam struktur lipatan antibodi, sehingga menghasilkan sensitivitas yang rendah. Pada penelitian ini kemudian dilakukan denaturasi HbA1c dengan 0,2% dodesiltrimetilamonium bromida untuk meningkatkan sensitivitas.



Gambar 4. Skema imunosenor elektrokimia untuk mendeteksi HbA1c.

Teknik imobilisasi antibodi yang digunakan pada imunosenor ini didasarkan pada interaksi streptavidin-biotin. Interaksi streptavidin-biotin ini telah menarik banyak perhatian dan banyak digunakan dalam aplikasi biosensor karena ikatannya memiliki afinitas tinggi dan merupakan ikatan non kovalen terkuat yang diketahui melampaui pengikatan antara ligan dan protein ($K_d = 1,3 \times 10^{-15}$ M) (Haugland and You, 2008). Streptavidin dapat diimobilisasi pada permukaan elektroda dengan mudah melalui adsorpsi fisik. Pada penelitian ini, streptavidin diimobilisasi pada permukaan SPCE. Selanjutnya antibodi-Hb berlabel biotin dapat terikat pada streptavidin kemudian sampel diinkubasi pada permukaan elektroda, sehingga memungkinkan Hb dan HbA1c untuk berikatan dengan antibodi. Selanjutnya, antibodi anti-HbA1c berlabel enzim ditambahkan dan hanya akan mengikat HbA1c secara selektif. Terakhir, aktivitas enzim diukur dengan pengukuran potensiometri. Adanya interaksi antara antibodi anti-HbA1c berlabel enzim dengan HbA1c akan menghasilkan perubahan potensial. Rentang linier yang didapatkan adalah 5,6% – 10,6% (Tanaka *et al.*, 2018). Representasi skema dari langkah-langkah fabrikasi biosensor ini ditunjukkan oleh Gambar 4.

Inovasi terbaru dalam biosensor HbA1c telah dikembangkan oleh Ponsanti *et al.* pada tahun 2022. Penelitian ini menyajikan metode deteksi HbA1c menggunakan elektroda MWCNT/AuNP/SPCE. Komposit MWCNT/AuNP ideal untuk di aplikasikan dalam biosensor karena memiliki biokompatibilitas dan elektrokatalitik yang baik dari AuNP dan konduktivitas yang tinggi dari *carbon nanotubes* (CNT) sehingga dapat meningkatkan sensitivitas biosensor terhadap analit. Modifikasi elektroda dilakukan dengan meneteskan komposit pada permukaan SPCE, kemudian pengukuran respon terhadap Hb dan HbA1c menggunakan SWV. Respon elektroda MWCNT/AuNP/SPCE pada Hb menunjukkan posisi puncak oksidasi pada 0,3 V dan respon terhadap HbA1c menunjukkan puncak oksidasi pada -0,89 V. Selanjutnya dilakukan pengukuran terhadap variasi konsentrasi Hb dan HbA1c, hasilnya didapatkan regresi linier masing-masing adalah $IP (\mu A) = 1,228 C + 21,287$ dan $IP (\mu A) = 8,6488 C + 11,122$.

Deteksi HbA1c juga dilakukan dalam sampel darah manusia. Sampel darah mula nya dicampurkan dengan reagen hemolisis untuk melepaskan hemoglobin total (Hb) dan HbA1c dari sel darah merah, kemudian diteteskan pada elektroda dan dilakukan SWV untuk mengukur respon. Menggunakan kurva kalibrasi yang telah ditetapkan sebelumnya, konsentrasi HbA1c dan total Hb dapat ditetapkan. Analisis sampel darah dalam skala besar (120 sampel darah orang sehat) juga telah dilakukan dan dibandingkan dengan hasil analisis HPLC untuk mengevaluasi biosensor ini. Hasil kedua metode menunjukkan variasi dan ketidakakuratan yang kecil. Hal ini menyatakan bahwa penginderaan elektrokimia dapat diterapkan pada pengujian sampel klinis dan dapat menjadi strategi alternatif untuk mendeteksi HbA1c pada pasien diabetes (Ponsanti *et al.*, 2022). Berikut adalah tabel rangkuman mengenai biosensor elektrokimia untuk mendeteksi HbA1c yang telah dikembangkan oleh beberapa peneliti yang ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Biosensor elektrokimia untuk mendeteksi HbA1c.

Elektroda/ Material	Metode Deteksi	Bio reseptor	Sinyal Proba	Rentang Linier	LOD	Referensi
SPCE/AuNP	SWV EIS	Aptamer	[Fe(CN) ₆] ³⁻	-	0,2 ng/mL	(Eissa and Zourob, 2017)
SPCE/pTBA@ MWCNT/TBO	Amperometri EIS	Aptamer	-	0,006 – 0,74 μmol/L	3,7 nM	(Moon <i>et al.</i> , 2017)
GS/rGO-Au	DPV CV EIS	Aptamer	[Fe(CN) ₆] ³⁻	1 nM – 13 μM	1 nM	(Jaberi <i>et al.</i> , 2019)
Elektroda Nanomaterial Karbon	SWV CV	Aptamer	[Fe(CN) ₆] ³⁻	-	0,03 pg/mL	(Eissa <i>et al.</i> , 2019)
GCE/ Ru(bpy) ₃ ²⁺ @MP DA	ECL CV EIS	Aptamer	K ₄ Fe(CN) ₆ ⁶⁻ / K ₃ Fe(CN) ₆ ⁶⁻	0,1% – 18,5%	0,015%	(Zhang <i>et al.</i> , 2020)
MWCNT/AuNP/ SPCE	CV DPV	-	K ₃ Fe(CN) ₆ ⁶⁻	0,186 – 2,044 g/dL	0,186 g/dL	(Ponsanti <i>et al.</i> , 2022)
SPCE/PPy-AuNP	Potensiometri	Anti- HbA1c	NaCl	4 – 18 μg/mL	-	(Lan <i>et al.</i> , 2009)
GC/Au/OEG- COOH/GPP	Amperometri EIS	Anti- HbA1c	Ru(NH ₃) ₆ ³⁺ / Ru(NH ₃) ₆ ²⁺	0% – 23,3 %	-	(Liu <i>et al.</i> , 2013)
Au/MPA/EDC- NHS	DPV EIS	Anti- HbA1c	[Fe(CN) ₆] ³⁻	7,5 – 20 μg/mL	-	(Molazemhosse ini <i>et al.</i> , 2016)
ERGO/GCE	DPV CV EIS	Anti- HbA1c	[Fe(CN) ₆] ³⁻	1% – 25%	-	(Karaşallı and Zeybek, 2020)
BSA/MWCNT/ GA	CV EIS	Anti- HbA1c	K ₄ Fe(CN) ₆ ⁶⁻ / K ₃ Fe(CN) ₆ ⁶⁻	2% – 15%	0,4%	(Li <i>et al.</i> , 2021)
SPCE- PET/Streptavidin	Potensiometri	Anti- HbA1c	[Fe(CN) ₆] ³⁻	5,6% – 10,6%	-	(Tanaka <i>et al.</i> , 2018)
Polypyrrole (Ppy)- AuNP	Potensiometri	Anti- HbA1c	-	4 – 18 μgram/mL	-	(Lan <i>et al.</i> , 2009)
GC/AuNP-aryl diazonium	EIS	Anti- HbA1c	Ru(NH ₃) ₆ ³⁺ / Ru(NH ₃) ₆ ²⁺	0% – 23,3 %	1 ng/mL	(Liu <i>et al.</i> , 2013)
Au- SPE/rGO/APBA	ECL CV	Anti- HbA1c	NaClO ₄ ⁻ TEA	2% – 18%	0,072%	(Ahmadi <i>et al.</i> , 2021)

KESIMPULAN

HbA1c dapat digunakan untuk mengontrol kadar glikemik dan mendiagnosis DM. Pengukuran HbA1c perlu dilakukan secara rutin, sehingga metode yang digunakan harus terjangkau, cepat, memiliki sensitivitas, dan spesifisitas yang setara atau lebih tinggi dari standar metode diagnostik saat ini. Pengembangan aptasensor dan immunosensor masih merupakan strategi populer untuk mengembangkan sensor HbA1c. selain mempertimbangkan stabilitas, pertimbangan khusus untuk desain antarmuka penginderaan dengan kedua komponen bioreseptor ini perlu dipertimbangkan hingga memungkinkan sensor bekerja dengan andal dalam sampel darah utuh. Beberapa kelemahan biosensor elektrokimia ini di antaranya reproduibilitas dan akurasi yang masih rendah. Akan tetapi dari beberapa yang telah dilaporkan dalam lima tahun terakhir, inovasi-inovasi untuk menyempurnakan suatu produk biosensor terus dikembangkan. Misalnya dengan penggunaan nanomaterial yang dapat meningkatkan sensitivitas biosensor, serta pengujian validasi perangkatnya terhadap sampel klinis yang lebih besar (>100 sampel), dengan dibandingkan terhadap metode kromatografi cair kinerja tinggi, telah menunjukkan jika pendeteksian secara elektrokimia ini dapat menjadi strategi alternatif untuk mengatasi masalah biaya pengujian, kemudahan, kecepatan, dan biaya. Dari beberapa yang telah dilaporkan, akurasi dan reproduibilitasnya semakin meningkat. Prospek ke depan menjadi fokus riset penentuan HbA1c ini menjadi suatu perangkat yang portabel dan diminiaturisasi, sehingga biosensor elektrokimia menjadi kandidat yang menjanjikan untuk pengembangan *Point of Care* (POC) deteksi HbA1c.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih disampaikan penulis kepada *Academic Leadership Grant* No: 1427/UN6.3.1/LT/2020.

DAFTAR PUSTAKA

- Abass, A. E., Musa, I. R., Rayis, D. A., Adam, I., and Gasim, G. I. 2017. Glycated Hemoglobin and Red Blood Cell Indices in Non-diabetic Pregnant Women. *Clinics and Practice*, 7(4), 137–140. <https://doi.org/10.4081/cp.2017.999>.
- Ahmadi, A., Kabiri, S., and Omidfar, K. 2020. Advances in HbA1c Biosensor Development Based on Field Effect Transistors: A Review. *IEEE Sensors Journal*, 20(16), 8912–8921. <https://doi.org/10.1109/JSEN.2020.2987836>.
- Ahmadi, A., Khoshfetrat, S. M., Kabiri, S., Dorraji, P. S., Larijani, B., and Omidfar, K. 2021. Electrochemiluminescence Paper-Based Screen-Printed Electrode for Hba1c Detection Using Two-Dimensional Zirconium Metal-Organic Framework/Fe₃O₄ Nanosheet Composites Decorated with Au Nanoclusters. *Microchimica Acta*, 188(9). <https://doi.org/10.1007/s00604-021-04959-y>.
- Almusharraf, A. Y., Eissa, S., and Zourob, M. 2018. Truncated Aptamers for Total and Glycated Hemoglobin, and Their Integration Into a Graphene Oxide-Based Fluorometric Method for High-Throughput Screening for Diabetes. *Microchimica Acta*, 185(5), 1–8. <https://doi.org/10.1007/s00604-018-2789-3>.
- American Diabetes Association. 2014. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 37(SUPPL.1), 81–90. <https://doi.org/10.2337/dc14-S081>.
- Association American Diabetes. 2005. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 28.
- Bhatt, H., Saklani, S., and Upadhyay, K. 2016. Anti-Oxidant and Anti-Diabetic Activities of Ethanolic Extract of *Primula Denticulata* Flowers. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 27(2), 74–79. <https://doi.org/10.14499/indonesianjpharm27iss2pp74>.
- Chauhan, N. 2017. Laboratory Diagnosis of HbA1c: A Review. *Journal of Nanomedicine Research, Volume 5*(Issue 4). <https://doi.org/10.15406/JNMR.2017.05.00120>.
- Chen, H. H., Wu, C. H., Tsai, M. L., Huang, Y. J., and Chen, S. H. 2012. Detection of Total and A1c-Glycosylated Hemoglobin in Human Whole Blood Using Sandwich Immunoassays on Polydimethylsiloxane-Based Antibody Microarrays. *Analytical Chemistry*, 84(20), 8635–8641. <https://doi.org/10.1021/ac301756d>.
- Cho, I. H., Kim, D. H., and Park, S. 2020. Electrochemical Biosensors: Perspective on Functional Nanomaterials for On-Site Analysis. *Biomaterials Research 2020 24:1*, 24(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/S40824-019-0181-Y>.
- Dorledo de Faria, R. A., Messaddeq, Y., Heneine, G. D., and Matencio, T. 2019. Application of Screen-Printed Carbon Electrode as an Electrochemical Transducer in Biosensors. *International Journal of Biosensors & Bioelectronics*, 5(1). <https://doi.org/10.15406/IJBSBE.2019.05.00143>.
- Dridi, F., Marrakchi, M., Gargouri, M., Saulnier, J., Jaffrezic-Renault, N., and Lagarde, F. 2017. Nanomaterial-Based Electrochemical Biosensors for Food Safety and Quality Assessment. *Nanobiosensors*, 167–204. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-804301-1.00005-9>.
- Duanghathaipornsuk, S., Reaver, N. G. F., Cameron, B. D., and Kim, D. S. 2021. Adsorption Kinetics of Glycated Hemoglobin on Aptamer Microarrays with Antifouling Surface Modification. *Langmuir*, 37(15), 4647–4657. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.1c00446>.
- Eissa, S., Almusharraf, A. Y., and Zourob, M. 2019. A Comparison of the Performance of Voltammetric Aptasensors for Glycated Haemoglobin on Different Carbon Nanomaterials-Modified Screen Printed Electrodes. *Materials Science and Engineering C*, 101(March), 423–430. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.04.001>.
- Eissa, S., and Zourob, M. 2017. Aptamer- Based Label-Free Electrochemical Biosensor Array for the Detection of Total and Glycated Hemoglobin in Human Whole Blood /631/1647/350/59 /692/700/139/1420/1340 /9/10 /128 /120 Article. *Scientific Reports*, 7(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01226-0>.
- Fazrin, E. I., Naviardianti, A. I., Wyantuti, S., Gaffar, S., and Hartati, Y. W. 2020. Review: Sintesis Dan Karakterisasi Nanopartikel Emas (AuNP) Serta Konjugasi AuNP dengan DNA dalam Aplikasi Biosensor Elektrokimia. *PENDIPA Journal of Science Education*, 4(2), 21–39. <https://doi.org/10.33369/pendipa.4.2.21-39>.
- Gaffar, S., Nuralasari, R., Yohan, and Hartati, Y. W. 2017. Voltammetric DNA Biosensor Using Gold Electrode Modified by Self Assembled Monolayer of Thiol for Detection of Mycobacterium Tuberculosis. *Procedia Technology*, 27, 74–80. <https://doi.org/10.1016/j.protcy.2017.04.034>.
- Gilani, M., Aamir, M., Akram, A., Haroon, Z. H., Ijaz, A., and Khadim, M. T. 2020. Comparison of Turbidimetric

- Inhibition Immunoassay, High-Performance Liquid Chromatography, and Capillary Electrophoresis Methods for Glycated Hemoglobin Determination. *Lab Medicine*, 51(6), 579–584. <https://doi.org/10.1093/LABMED/LMAA010>.
- Goode, J. A., Rushworth, J. V. H., and Millner, P. A. 2015. Biosensor Regeneration: A Review of Common Techniques and Outcomes. *Langmuir*, 31(23), 6267–6276. <https://doi.org/10.1021/la503533g>.
- Grieshaber, D., MacKenzie, R., Vörös, J., and Reimhult, E. 2008. Electrochemical Biosensors - Sensor Principles and Architectures. *Sensors*, 8(3), 1400–1458. <https://doi.org/10.3390/s8031400>.
- Gross, E. M., Maddipati, S. S., and Snyder, S. M. 2016. A Review of Electrogenerated Chemiluminescent Biosensors for Assays in Biological Matrices. *Bioanalysis*, 8(19), 2071. <https://doi.org/10.4155/BIO-2016-0178>.
- Hartati, Y. W., Gaffar, S., Alfiani, D., Pratomo, U., Sofiatin, Y., and Subroto, T. 2020. A Voltammetric Immunosensor Based on Gold Nanoparticle - Anti-Enac Bioconjugate for the Detection of Epithelial Sodium Channel (Enac) Protein as a Biomarker of Hypertension. *Sensing and Bio-Sensing Research*, 29(February), 100343. <https://doi.org/10.1016/j.sbsr.2020.100343>.
- Hartati, Y. W., Yusup, S. F., Fitrilawati, Wyantuti, S., Sofiatin, Y., and Gaffar, S. 2020. A Voltammetric Epithelial Sodium Channels Immunosensor Using Screen-Printed Carbon Electrode Modified with Reduced Graphene Oxide. *Current Chemistry Letters*, 9(4), 151–160. <https://doi.org/10.5267/j.ccl.2020.2.001>.
- Harvey, D. 2020. 11.4: Voltammetric and Amperometric Methods - Chemistry LibreTexts. *The LibreTexts Libraries*, 285–289.
- Haugland, R. P., & You, W. W. 2008. Coupling of Antibodies With Biotin. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 418, 13–23. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-579-4_2.
- Indonesia, P. E. 2015. Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia. *Pb. Perkeni*. <http://www.p2ptm.kemkes.go.id/kegiatan-p2ptm/subdit-penyakit-diabetes-melitus-dan-gangguan-metabolik/pencegahan-diabetes-melitus>. (diakses tanggal 7 November 2021)
- Jaberi, S. Y. S., Ghaffarinejad, A., and Omidinia, E. 2019. An Electrochemical Paper Based Nano-Genosensor Modified with Reduced Graphene Oxide-Gold Nanostructure for Determination of Glycated Hemoglobin in Blood. *Analytica Chimica Acta*, 1078(June), 42–52. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.06.018>.
- Jagannathan, R., Neves, J. S., Dorcelly, B., Chung, S. T., Tamura, K., Rhee, M., and Bergman, M. 2020. *The Oral Glucose Tolerance Test: 100 Years Later*. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S246062>.
- Jaiswal, N., and Tiwari, I. 2017. Recent Build Outs in Electroanalytical Biosensors Based on Carbon-Nanomaterial Modified Screen Printed Electrode Platforms. *Analytical Methods*, 9(26), 3895–3907. <https://doi.org/10.1039/c7ay01276d>.
- Karaşallı, M. Ö., and Zeybek, D. K. 2020. A Novel Label-Free Immunosensor Based on Electrochemically Reduced Graphene Oxide for Determination of Hemoglobin A 1c. *Russian Journal of Electrochemistry*, 56(9), 788–797. <https://doi.org/10.1134/S1023193520090037>.
- Karunakaran, C., Rajkumar, R., and Bhargava, K. 2015. Introduction to Biosensors. In *Biosensors and Bioelectronics* (pp. 2–68). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803100-1.00001-3>.
- Khan, N. I., and Song, E. 2020. Lab-On-A-Chip Systems for Aptamer-Based Biosensing. *Micromachines*, 11(2), 1–30. <https://doi.org/10.3390/mi11020220>.
- Kilpatrick, E. S., Rumley, A. G., Dominiczak, M. H., and Small, M. 1994. Glycated Haemoglobin Values: Problems in Assessing Blood Glucose Control in Diabetes Mellitus. *BMJ: British Medical Journal*, 309(6960), 983. <https://doi.org/10.1136/BMJ.309.6960.983>.
- Kim, M., Iezzi, R., Shim, B. S., and Martin, D. C. 2019. Impedimetric Biosensors for Detecting Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Based on Poly(3,4-Ethylene Dioxythiophene) (PEDOT)/Gold Nanoparticle (Au NP) Composites. *Frontiers in Chemistry*, 7(MAR), 234. <https://doi.org/10.3389/FCHEM.2019.00234>.
- Koval, D., Kašička, V., and Cottet, H. 2011. Analysis of Glycated Hemoglobin A1c by Capillary Electrophoresis and Capillary Isoelectric Focusing. *Analytical Biochemistry*, 413(1), 8–15. <https://doi.org/10.1016/J.AB.2011.01.048>.
- Lakshmy, R., and Gupta, R. 2009. Measurement of Glycated Hemoglobin A1c from Dried Blood by Turbidimetric Immunoassay. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 3(5), 1203–1206. <https://doi.org/10.1177/193229680900300527>
- Lan, Q., Shanhong, X., Chao, B., Jizhou, S., and Jinghong, H. 2009. A Micro-Potentiometric Hemoglobin Immunosensor Based on Electropolymerized Polypyrrole-Gold Nanoparticles Composite. *Biosensors & Bioelectronics*, 24(12), 3419–3424. <https://doi.org/10.1016/J.BIOS.2008.07.077>.

- Lenters-Westra, E., Schindhelm, R. K., Bilo, H. J., and Slingerland, R. J. 2013. Hemoglobin A1c: Historical Overview and Current Concepts. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 99(2), 75–84. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2012.10.007>.
- Li, J., Chang, K. W., Wang, C. H., Yang, C. H., Shiesh, S. C., and Lee, G. Bin. 2016. On-Chip, Aptamer-Based Sandwich Assay for Detection of Glycated Hemoglobins Via Magnetic Beads. *Biosensors and Bioelectronics*, 79, 887–893. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.01.029>.
- Li, Z., Li, J., Dou, Y., Wang, L., and Song, S. 2021. A Carbon-Based Antifouling Nano-Biosensing Interface for. *Biosensors*, 11(118), 1–11. <https://doi.org/10.3390/bios11040118>.
- Lim, W. Y., Ma, S., Heng, D., Tai, E. S., Khoo, C. M., and Loh, T. P. 2018. Screening For Diabetes with Hba1c: Test Performance of Hba1c Compared to Fasting Plasma Glucose Among Chinese, Malay and Indian Community Residents in Singapore. *Scientific Reports*, 8(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29998-z>.
- Lim, Y. C., Kouzani, A. Z., and Duan, W. 2010. Aptasensors: A Review. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 6(2), 93–105. <https://doi.org/10.1166/jbn.2010.1103>.
- Lin, H., and Yi, J. 2017. Current Status of Hba1c Biosensors. *Sensors (Switzerland)*, 17(8), 1–18. <https://doi.org/10.3390/s17081798>.
- Liu, G., Iyengar, S. G., and Gooding, J. J. 2013. An Amperometric Immunosensor Based on a Gold Nanoparticle-Diazonium Salt Modified Sensing Interface for the Detection of Hba1c in Human Blood. *Electroanalysis*, 25(4), 881–887. <https://doi.org/10.1002/elan.201200333>.
- Maksum, I., Natradisastra, G., Nuswantara, S., and Ngili, Y. 2013. The Effect of A3243G Mutation of Mitochondrial DNA to the Clinical Features of Type-2 Diabetes Mellitus and Cataract. *European Journal of Scientific Research*, 96(4), 591–599.
- Maksum, I. P. 2020. *Varian Genom Mitokondria Pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 dan Katarak serta Kajian Pengaruh Mutasi Pada Varian Genom Secara In Silico* (1st ed., Issue June). Unpad Press.
- Marengo-Rowe, A. J. 2006. Structure-Function Relations of Human Hemoglobins. *Baylor University Medical Center Proceedings*, 19(3), 239–245. <https://doi.org/10.1080/08998280.2006.11928171>.
- Molazemhosseini, A., Magagnin, L., Vena, P., and Liu, C. C. 2016. Single-Use Disposable Electrochemical Label-Free Immunosensor for Detection of Glycated Hemoglobin (Hba1c) Using Differential Pulse Voltammetry (DPV). *Sensors (Switzerland)*, 16(7), 1–11. <https://doi.org/10.3390/s16071024>.
- Mollarasouli, F., Kurbanoglu, S., and Ozkan, S. A. 2019. The Role of Electrochemical Immunosensors in Clinical Analysis. *Biosensors*, 9, 1–19. <https://doi.org/10.3390/bios9030086>.
- Moon, J. M., Kim, D. M., Kim, M. H., Han, J. Y., Jung, D. K., and Shim, Y. B. 2017. A Disposable Amperometric Dual-Sensor For The Detection Of Hemoglobin And Glycated Hemoglobin In A Finger Prick Blood Sample. *Biosensors and Bioelectronics*, 91(December 2016), 128–135. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.12.038>.
- Morrison, D. W. G., Dokmeci, M. R., Demirci, U., & Khademhosseini, A. (2007). Clinical Applications of Micro- and Nanoscale Biosensors. *Biomedical Nanostructures*, 1, 439–460. <https://doi.org/10.1002/9780470185834.ch17>.
- Muhammad, A. A. (2018). Resistensi Insulin Dan Disfungsi Sekresi Insulin Sebagai Faktor Penyebab Diabetes Mellitus tipe 2. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 8(2), 173–178.
- Naresh, V., & Lee, N. (2021). A review on biosensors and recent development of nanostructured materials-enabled biosensors. *Sensors (Switzerland)*, 21(4), 1–35. <https://doi.org/10.3390/s21041109>.
- Nirschl, M., Reuter, F., & Vörös, J. (2011). Review of transducer principles for label-free biomolecular interaction analysis. *Biosensors*, 1(3), 70–92. <https://doi.org/10.3390/bios1030070>.
- Nitin, S. (2010). HbA1c and factors other than diabetes mellitus affecting it. *Singapore Medical Journal*, 51(8), 616–622.
- Ogawa, N., Kimura, T., Umehara, F., Katayama, Y., Nagai, G., Suzuki, K., Aisaka, K., Maruyama, Y., Itoh, T., Hashimoto, W., Murata, K., dan Ichimura, M. 2019. Creation of Haemoglobin A1c Direct Oxidase from Fructosyl Peptide Oxidase by Combined Structure-Based Site Specific Mutagenesis and Random Mutagenesis. *Scientific Reports* 2019 9:1, 9(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37806-x>.
- Paputungan, S. R., and Sanusi, H. 2014. Peranan Pemeriksaan Hemoglobin A1c pada Pengelolaan Diabetes Mellitus. *Cdkjournal*, 24(3), 90–94.
- Park, J. Y., Chang, B. Y., Nam, H., and Park, S. M. 2008. Selective Electrochemical Sensing of Glycated Hemoglobin (Hba1c) on Thiophene-3-Boronic Acid Self-Assembled Monolayer Covered Gold Electrodes. *Analytical Chemistry*, 80(21), 8035–8044. <https://doi.org/10.1021/ac8010439>.
- Pohanka, M. 2017. The Piezoelectric Biosensors: Principles and Applications, A Review. *International Journal*

- of Electrochemical Science*, 12(1), 496–506. <https://doi.org/10.20964/2017.01.44>.
- Ponsanti, K., Ngernyuang, N., Tangnorawich, B., Na-Bangchang, K., Boonprasert, K., Tasanarong, A., Saeheng, T., Hanwattanakula, A., and Pechyen, C. 2022. A Novel Electrochemical-Biosensor Microchip Based on MWCNTs/AuNPs for Detection of Glycated Hemoglobin (HbA1c) in Diabetes Patients. *Journal of The Electrochemical Society*. <https://doi.org/10.1149/1945-7111/ac5c0a>.
- Rukmini, M. S., Ashritha, Nishmitha, P., Yalla, D., Christy, A., & Manjrekar, P. 2017. Analytical Calibre of High Performance Liquid Chromatography and Ion Exchange Chromatography Resin Methods in Estimation of Glycated Hemoglobin: A Comparitive Study. *Biomedical Research (India)*, 28(4), 1765–1769.
- Sacks, D. B. 2012. Measurement of Hemoglobin A1c: A New Twist on The Path to Harmony. *Diabetes Care*, 35(12), 2674–2680. <https://doi.org/10.2337/dc12-1348>.
- Sheikholeslam, M., Pritzker, M. D., and Chen, P. 2011. Electrochemical Biosensor for Glycated Hemoglobin (HbA1c). *Biosensors for Health, Environment and Biosecurity*. <https://doi.org/10.5772/18105>.
- Sherwani, S. I., Khan, H. A., Ekhzaimy, A., Masood, A., and Sakharkar, M. K. 2016. *Significance of HbA1c Test in Diagnosis and Prognosis of Diabetic Patients. 11*. <https://doi.org/10.4137/Bmi.s38440>.
- Siregar, A. T. 2017. *Perbandingan nilai glycated hemoglobin (HbA1c) dan glycated albumin (GA) pada pasien DM tipe 2 dengan PJK dan non PJK*. Universitas Sumatera Utara.
- Song, S., Wang, L., Li, J., Fan, C., and Zhao, J. 2008. Aptamer-Based Biosensors. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 27(2), 108–117. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2007.12.004>.
- Suryathi, ni made ari. 2015. *Hemoglobin glikosilat yang tinggi meningkatkan prevalensi retinopati diabetik proliferaatif*. 1–92.
- Tanaka, J., Ishige, Y., Iwata, R., Maekawa, B., Nakamura, H., Sawazaki, T., and Kamahori, M. 2018. Direct Detection for Concentration Ratio of Hba1c to Total Hemoglobin by Using Potentiometric Immunosensor with Simple Process of Denaturing Hba1c. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 260, 396–399. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.12.148>.
- Wang, J., Wang, Y., Lv, W., Yang, L., Huang, M., and Wang, Q. 2021. Hba Mutation Causing False-Normal Hba1c Results Determined by HPLC in a Patient with Type 2 Diabetes Mellitus: A Case Report. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 22(2), 1–4. <https://doi.org/10.3892/etm.2021.10277>.
- Xu, J., Zhong, Z., and Deng, Y. 2021. Unexpected Hba1c Results in the Presence of Three Rare Hemoglobin Variants. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 81(1), 59–64. <https://doi.org/10.1080/00365513.2020.1852599>.
- Yüce, M., Ullah, N., and Budak1, H. 2015. Trends In Aptamer Selection Methods and Applications Meral. *Analyst*, 140(16).
- Zhang, P., Zhang, Y., Xiong, X., Lu, Y., and Jia, N. 2020. A Sensitive Electrochemiluminescence Immunoassay for Glycosylated Hemoglobin Based on Ru(Bpy)3²⁺ Encapsulated Mesoporous Polydopamine Nanoparticles. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 321, 128626. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128626>.