

Sintesis Kitosan dari Kulit Udang sebagai Bahan Membran Elektroda (Au/Kitosan/GTA/AChE) untuk Deteksi Pestisida

by Mega Science Indonesia

Submission date: 21-Dec-2021 05:36PM (UTC-0500)

Submission ID: 1734804745

File name: CEK_SIMILIRITY.doc (434K)

Word count: 3420

Character count: 22152

Sintesis Kitosan dari Kulit Udang sebagai Bahan Membran Elektroda (Au/Kitosan/GTA/AChE) untuk Deteksi Pestisida

Kata kunci:

Acetylcholinesterase; elektroda; kitosan; membran; pestisida

ABSTRAK. Sintesis kitosan telah dikembangkan dengan metode pemanasan *microwave* (MW) menggunakan pelarut alkali untuk kebutuhan berbagai aplikasi yang salah satunya sebagai membran immobilisasi enzim. Penelitian membran Kitosan dengan immobilisasi enzim Acetylcholinesterase (AChE) sebagai elektroda biosensor terus berkembang untuk menghasilkan perangkat mutakhir yang dapat mendeteksi pestisida. Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan biosensor berbasis elektroda membran Au/Kitosan/GTA/AChE untuk deteksi pestisida karbaryl yang memiliki batas deteksi yang rendah, sensitivitas yang tinggi, waktu respon cepat dan presisi yang baik. Kitosan dihasilkan dari isolasi kitin dari kulit udang menggunakan alat MW dan pelarut NaOH dengan daya 450 Watt selama 15 menit menghasilkan rendemen sebesar 31,50%. Karakterisasi FTIR kitosan diidentifikasi adanya gugus O-H, C-N, N-H amina, dan C=O dengan intensitas yang rendah serta derajat deasetilasi rata-rata $95,6 \pm 0,1\%$. Komposisi elektroda membran Au/Kitosan/GTA/AChE menggunakan kitosan dengan variasi konsentrasi 2, 5 dan 8% dan glutaraldehid (GTA) 25%, kawat Au dan diimmobilisasikan enzim asetilkolinesterase (AChE). Elektroda membran Au/Kitosan 2%/GTA/AChE memiliki karakteristik yang baik dimana nilai sensitivitas sebesar $23,318 \text{ mV.dekade}^{-1}$ pada rentang konsentrasi pestisida $1 \times 10^{-1} - 10^{-7} \mu\text{g mL}^{-1}$ dengan batas deteksi (LoD) $1 \times 10^{-7} \mu\text{g mL}^{-1}$. Waktu respon yang diperoleh yaitu pada rentang waktu 5-7 menit dengan *relative standard deviation* (RSD) sebesar 0,588%. Biosensor yang dikembangkan menunjukkan sensitivitas, stabilitas dan reproduktifitas yang baik, sehingga elektroda membran Au/Kitosan/GTA/AChE menjanjikan untuk alat deteksi pestisida.

Keywords:

Acetylcholinesterase; chitosan; electrode; membrane; pesticide

ABSTRACT. Synthesis of Chitosan from Shrimp Shell as Electrode Membrane Material (Au/Chitosan/GTA/AChE) for Pesticide Detection. Chitosan synthesis has been developed using the heating by microwave (MW) method using alkaline solvents for various applications, one of which is an enzyme immobilization membrane. Chitosan membrane research with immobilization of the enzyme Acetylcholinesterase (AChE) as a biosensor electrode continues to develop to produce advanced devices that can detect pesticides. This study aims to produce a biosensor based on Au/Chitosan/GTA/AChE membrane electrodes to detect carbaryl pesticide with low detection limit, high sensitivity, fast response time, and good precision. Chitosan was produced from isolation of chitin from shrimp shells using a MW device and NaOH solvent with a power of 450 Watts for 15 minutes to produce a yield of 31.50%. The FTIR characterization of chitosan identified the presence of O-H, C-H, C-N, N-H amine groups and C=O with low intensity and than an average degree of deacetylation of $95.6 \pm 0.1\%$. The composition of Au/Chitosan/GTA/AChE membrane electrodes used chitosan with various concentrations of 2, 5 and 8% and glutaraldehyde (GTA) 25% on Au wire and immobilized with AChE enzyme. The Au/Chitosan 2%/GTA/AChE membrane electrode has good characteristics where the sensitivity value is $23.318 \text{ mV.decade}^{-1}$ in the pesticide concentration range of $1 \times 10^{-1} - 10^{-7} \mu\text{g mL}^{-1}$ with a detection limit (LoD) of $1 \times 10^{-7} \mu\text{g mL}^{-1}$. The response time obtained is in the range of 5-7 minutes with a relative standard deviation (RSD) of 0.588%. The developed biosensor shows good sensitivity, stability and reproducibility, thus Au/Chitosan/GTA/AChE membrane electrodes are promising for pesticide detection.

PENDAHULUAN

Kitosan [poli-(1-4)-2-amino-2-deoksi-D-glukosa] merupakan salah satu biopolimer yang paling melimpah di alam dan produk deasetilasi kitin yang diperoleh dari cangkang arthropoda dan krustasea, seperti sotong, udang, lobster dan kepiting. Kitosan telah digunakan sebagai pendukung immobilisasi enzim karena sifat-sifatnya yang sangat baik seperti biokompatibilitas, ketersediaan mudah, sifat antibakteri, biodegradabilitas, tidak beracun, kelembaman fisiologis, hemostatik, fungistatik, antikarsinogenik, sifat antikolesteremia, kekuatan mekanik yang tinggi, hidrofilisitas dan peningkatan stabilitas. Demikian pula kitosan memiliki gugus fungsi reaktif (NH_3^+ dan COOH^-) yang rentan terhadap perlakuan kimia dan mampu berikatan secara kovalen dengan protein (Hu *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2014).

Sintesis kitosan terdiri dari 3 tahapan, yaitu deproteinasi, demineralisasi dan deasetilasi. Pemilahan metode dengan meminimalkan penggunaan pelarut, meningkatkan hasil sintesis dan derajat deasetilasi adalah metode non-konvensional yang terus dikembangkan saat ini. Metode *microwave* (MW) adalah metode non-konvensional dengan menggunakan gelombang mikro sebagai sumber energi eksternal yang mempercepat terjadinya reaksi kimia (*microwave assisted reactions*) dan pelarut terbatas (Azmir *et al.*, 2013; Mashuni *et al.*, 2021). Selain itu,

sintesis kitosan dengan metode MW meningkatkan derajat deasetilasi dan menurunkan berat molekul (Sahu *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2020).

Kitosan telah banyak digunakan untuk imobilisasi enzim dan pembuatan biosensor amperometrik karena biokompatibel yang sangat baik (Pavoni *et al.*, 2021; Zhai *et al.*, 2013), kemampuan pembentukan film dan mudah terhadap modifikasi kimia (Mashuni *et al.*, 2021). Kitosan banyak digunakan sebagai elektrokatalis transfer arus yang baik (Fakhrullah *et al.*, 2019), bahan pembawa untuk imobilisasi enzim dan membentuk ikatan silang dengan enzim atau zat lain (Wang *et al.*, 2009). Kitosan memiliki gugus karboksil untuk ikatan silang dengan AChE dan imobilisasi kovalen enzim, yang menghasilkan stabilitas yang lebih besar dan aktivitas biomolekuler yang lebih baik. Enzim dan gugus amino pada kitosan membentuk ikatan kovalen. Selain itu, terjadi ikatan silang antara enzim dan glutaraldehid dan enzim yang terperangkap dalam manik-manik kitosan adalah salah satu teknik imobilisasi enzim utama. Pengikatan antara enzim dan permukaan dapat terjadi melalui ikatan kovalen atau ikatan silang. Glutaraldehid (GTA) yang digunakan dalam proses imobilisasi karena kemampuannya membentuk ikatan silang dengan manik-manik kitosan (Işık, 2020; Wahba, 2017).

Sejumlah pestisida termasuk beragam telah digunakan di bidang pertanian seperti golongan organofosfat (OP), karbamat (KM), triazin, *chloroacetanilides* dan piretroid untuk melindungi tanaman dari serangga dan serangan hama (Cao *et al.*, 2020; Chauhan and Pundir, 2012). Penggunaan pestisida secara luas dan dalam jangka panjang menyebabkan kontaminasi serius terhadap udara, air, tanah dan produk pertanian, yang pada akhirnya membahayakan ekosistem termasuk manusia. Karena persistensi yang relatif rendah dalam kondisi alami dan efektivitas yang tinggi untuk pemberantasan serangga dan hama, OP dan KM adalah dua kelas utama pestisida yang paling sering digunakan (Cao *et al.*, 2020; Qian and Lin, 2015). Toksisitas tinggi pestisida berasal dari kemampuannya untuk menghambat aktivitas asetilkolinesterase (AChE) secara ireversibel pada sistem saraf pusat dan tepi (perifer), mengakibatkan akumulasi neurotransmitter asetilkolin (ACh) dalam tubuh dengan demikian menimbulkan kerusakan serius pada sistem saraf manusia, saluran pernapasan dan sistem kardiovaskular yang dapat menyebabkan kegagalan organ dan kematian (Pundir and Chauhan, 2012). Oleh karena itu, deteksi cepat dan selektif pestisida dalam produk pertanian merupakan masalah yang mendesak untuk ditangani karena terkait dengan keselamatan manusia dan perlindungan lingkungan.

Metode baru telah dikembangkan yaitu metode elektrokimia berbasis penghambatan AChE (Cao *et al.*, 2020; Cui *et al.*, 2018). Metode elektrokimia memiliki banyak keunggulan seperti keandalan yang tinggi, instrumen sederhana, perolehan hasil yang cepat, kemudahan pengoperasian, sensitivitas tinggi dan kompatibel dengan sampel yang kompleks (Wei and Wang, 2015). Mekanisme deteksi biasanya tergantung pada reaksi katalis AChE dari asetiltiokolin (ATCI) untuk menghasilkan tiokolin elektro-aktif (TCl) (Yu *et al.*, 2015). Sehingga, pemilihan membran elektroda kerja biosensor sangat penting dalam pembuatan biosensor elektrokimia AChE. Saat ini, enzim yang digunakan dalam bidang bioteknologi meningkatkan biaya karena stabilitasnya yang rendah, sekali pakai dan sulit untuk dipulihkan. Oleh karena itu, penting untuk mengurangi biaya ini agar dapat menggunakan enzim secara lebih efektif dalam aplikasi bioteknologi.

Dalam karya ini, enzim AChE diimobilisasi ke permukaan kitosan melalui GTA sebagai pengikat silang dengan metode biosensor potensiometri (Aslam *et al.*, 2021). Kitosan memiliki transfer elektron yang rendah membuatnya tidak dapat digunakan sendiri dengan begitu penggunaan elektroda emas (Au) dibutuhkan. Elektroda Au memiliki sifat fisikokimia yang unik seperti biokompatibilitas yang baik, permukaan aktif, sifat katalitik dan konduktivitas yang sangat baik (Buiculescu and Chaniotakis, 2012). Selain itu, elektroda Au dapat meningkatkan transfer elektron antara pusat redoks dan permukaan elektroda dan bertindak sebagai katalis untuk reaksi elektrokimia (Wei and Wang, 2015). Berdasarkan penelitian (Negm *et al.*, 2020), biosensor dengan mengembangkan biosensor urea potensiometri sebagai transduser dengan membran elektroda kitosan/GTA sebagai bahan imobilisasi urease yang memiliki range konsentrasi kerja yang luas, sensitivitas yang baik dan limit deteksi yang kecil. Oleh karena itu, elektroda membran Au/kitosan/GTA terimmobilisasi AChE dirancang sebagai biosensor untuk deteksi pestisida menggunakan transduser potensiometer yang dapat diaplikasikan skala lapangan.

7 METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *microwave* (SHARP R899RS-iN), *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR), potentiometer sebagai alat eksperimen pengukuran nilai potensial, elektroda Au sebagai elektroda kerja dan elektroda Pt sebagai katalis. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kulit

udang ukuran 250 μm , pestisida karbaril golongan senyawa karbamat (konsentrasi 1×10^{-7} - $10^{-1} \mu\text{g. mL}^{-1}$), enzim Acetylcholinesterase (AChE, dari *electrophorus sigma aldrid* 1,17 mg dengan aktivitas 425,94 unit per mg (EC. 3.1.1.7)), glutaraldehid (GTA, 25% v/v dilarutkan dengan akuades), kalium klorida (KCl, $1 \times 10^{-1} \text{M}$), larutan buffer fosfat (BF) dengan nilai pH 8 disiapkan dengan mencampurkan larutan standar Na_2HPO_4 $2 \times 10^{-1} \text{M}$ dan NaH_2PO_4 $2 \times 10^{-1} \text{M}$. Larutan standar substrat asetiltiokolin klorida (ATCl) dengan konsentrasi $1 \times 10^{-3} \text{M}$ dalam larutan BF.

Sintesis Kitosan dari Kulit Udang

Tahapan sintesis kitosan meliputi deproteinasi, demineralisasi, dekolorisasi dan deasetilasi merupakan modifikasi dari penelitian Zaeni *et al.* (2017) dan Mashuni *et al.* (2021). Tahap deproteinasi, menggunakan larutan NaOH 4% dengan perbandingan sampel dan pelarut 1:10 dan pemanasan pada suhu 65°C . Kemudian sampel disaring dan dicuci dengan akuades hingga pH netral dan dikeringkan selama 6 jam suhu 80°C . Tahap demineralisasi, menggunakan larutan HCl 1,5 M, diaduk dan dipanaskan pada suhu 75°C selama 1 jam. Selanjutnya disaring dan residu yang dihasilkan dicuci menggunakan akuades hingga pH netral, kemudian dikeringkan pada suhu 80°C . Tahap dekolorisasi (proses penghilangan warna), menggunakan aseton (1:15) dan dicuci dengan akuades hingga pH netral. Residu yang dihasilkan dikeringkan dalam oven dengan suhu 80°C selama 6 jam sehingga diperoleh kitin. Tahap deasetilasi, menimbang kitin sebanyak 4 g dan menambahkan NaOH 50% (1:20). Pemanasan dengan MW pada daya 450 Watt selama 15 menit. Kitosan dicuci hingga pH netral kemudian dikeringkan pada suhu 45°C selama 24 jam. Kitosan yang dihasilkan dilakukan uji FTIR (Mashuni *et al.*, 2021; Zaeni *et al.*, 2017).

Pembuatan Elektroda Membran Au/Kitosan/GTA/AChE

Pembuatan elektroda membran Au/kitosan/GA/AChE modifikasi pada penelitian Mashuni *et al.* (2016). Elektroda membran dibuat menggunakan badan elektroda Au dicelupkan dalam larutan kitosan dengan variasi konsentrasi 2, 5 dan 8% hingga terbentuk lapisan membrane dan dibilas dengan akuades sebanyak tiga kali. Bagian elektroda Au yang berlapis membran kitosan direndam dalam larutan GA 25% selama 8 jam. Selanjutnya, elektroda dibilas akuades dan larutan PB pH 8 maka terbentuk elektroda membran (Em), buffer fosfat berfungsi untuk mempertahankan pH optimum agar enzim tetap bekerja secara optimal. Kemudian, Em direndam dalam enzim AChE selama 3×24 jam pada suhu ruang. Sebelum melakukan pengukuran respon terhadap biosensor, komponen-komponen dalam pengukuran seperti elektroda standar, elektroda kerja tipe kawat terlapis, substrat ATCl dan larutan inhibitor perlu didiamkan disuhu ruang sekitar 2 jam, agar kondisi dari komponen tersebut stabil dan dapat menghasilkan respon yang baik.

Pengukuran Nilai Potensial Elektroda Biosensor

Pengukuran potensial elektroda biosensor enzimatik dengan inhibitor pestisida karbaril konsentrasi 1×10^{-7} hingga $1 \times 10^{-1} \mu\text{g. mL}^{-1}$ dan larutan substrat asetiltiokolin klorida (ATCl) konsentrasi $1 \times 10^{-3} \text{M}$. Em digunakan untuk mengukur potensial substrat asetiltiokolin klorida dengan alat ukur potensiometer sehingga menghasilkan nilai potensial (E_0). Pengukuran dilakukan dalam interval waktu 5-10 menit. Waktu respon atau konstan elektroda yang diperoleh, kemudian diangkat dan dibilas dengan akuades dan buffer fosfat pH 8,0. Setelah itu, elektroda direndam ke dalam larutan pestisida pada masing-masing konsentrasi selama 20 menit kemudian elektroda tersebut dibilas dalam akuades dan buffer fosfat pH 8,0. Kemudian, variasi konsentrasi pestisida yang diketahui ditambahkan untuk menghambat aktivitas enzim dan nilai potensial diukur (E_1), yang sebanding dengan konsentrasi inhibitor dalam larutan. Selanjutnya, penentuan persentase inhibisi (%I), nilai sensitivitas, konsentrasi kerja, limit deteksi (LoD) dan presisi (%RSD) kinerja biosensor. Persentase inhibisi (%I) dihitung berdasarkan persamaan berikut:

$$I\% = \frac{E_0 - E_1}{E_0} \times 100\%$$

Faktor Nernst (Sensitivitas)

Nilai sensitivitas ditentukan dengan menggunakan grafik hubungan antara nilai potensial dan $-\log$ konsentrasi inhibitor 1×10^{-7} - $10^{-1} \mu\text{g. mL}^{-1}$. Kemudian, kita dapat melihat persamaan garis dari grafik untuk mendapatkan nilai sensitivitas elektroda pestisida karbaril, sensitivitas merupakan nilai *slope* (b) persamaan regresi $y = bx + a$ (Bigman and Reinhardt, 2018).

Limit Deteksi (LoD)

LoD adalah batas terendah konsentrasi analit yang dapat diukur oleh instrumen, yang secara statistik berbeda dari blanko. Penentuan LoD dilakukan dengan menganalisis respon potensial rangkaian larutan standar berbagai konsentrasi pestisida 1×10^{-7} - $10^{-1} \mu\text{g. mL}^{-1}$. Hasil analisis diperoleh persamaan linier kurva kalibrasi, $y = ax + b$, kemudian dilakukan pengukuran nilai potensial blanko. Persamaan nilai y pada limit deteksi didasarkan pada persamaan Christian et al., (2014). Mereka menyarankan perhitungan untuk $\text{LoD} = 3 \times (\text{SD}/S)$ berdasarkan standar deviasi (SD) dan kemiringan atau sensitivitas (S) dari kurva kalibrasi pada level yang mendekati batas.

Presisi (%RSD)

Presisi merupakan tingkat kesesuaian antara pengukuran yang berulang pada jumlah yang sama atau tingkat keterulangan dari hasil pengukuran. Presisi diukur sebagai simpangan baku atau *coefficient of variation (% CV)* dan dapat dinyatakan sebagai *reproducibility* (ketertiruan). %RSD mengacu pada “*coefficient of variation*”, $\%RSD = (s/\bar{a}) \times 100\%$, di mana s adalah simpangan baku dan \bar{a} adalah rata-rata (Mark and Workman, 2018).

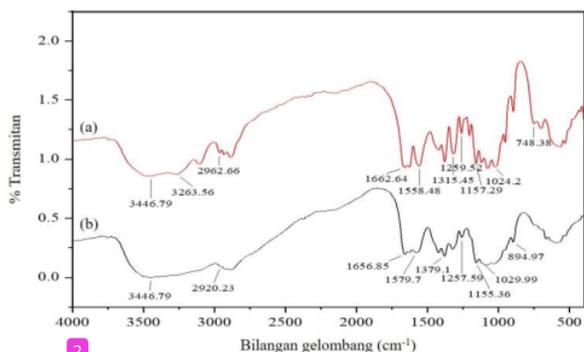
HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi FTIR Kitosan

Kitin sebagai bahan untuk sintesis kitosan hasil isolasi kulit udang dengan tiga tahapan yaitu deproteinasi, demineralisasi, dan dekolonisasi dimana hasil analisis kandungan kulit udang disajikan pada Tabel 1. Transformasi kitin menjadi kitosan dari limbah kulit udang menggunakan paduan pelarut alkali NaOH dan MW menghasilkan kitosan dengan persen derajat deasetilasi (DD) rata-rata $95,6 \pm 0,1\%$ dengan kadar kitosan sebesar 31,50%. Kitosan lebih baik memiliki derajat deasetilasi $>70\%$ (Mashuni et al., 2021). Derajat deasetilasi yang ditinggi disebabkan oleh banyaknya gugus asetil yang hilang, sehingga massa molekulnya kecil (Baharuddin and Isnaeni, 2020; Setyawati et al., 2016). Metode gelombang mikro akan mempercepat waktu reaksi dan meningkatkan nilai DD (Sahu et al., 2009).

Tabel 1. Rendemen hasil tahapan sintesis kitosan

Proses	Rendemen (%)	Hasil Pengamatan Visual
Protein	16,40	Orange kecoklatan
Mineral	49,60	Putih kecoklatan
Zat warna	2,50	Putih tulang
Kitosan	31,50	Putih tulang



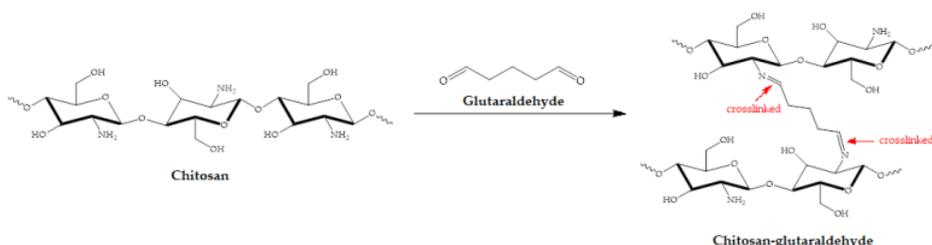
Gambar 1. Karakterisasi FTIR (a) kitin dan (b) kitosan

Spektrum FTIR kitin, ditunjukkan pada Gambar 1a, sebuah jendela mulai dari 1600 hingga 1680 cm^{-1} , adanya amida I yang ditetapkan ke grup $\text{C}=\text{O}$ merupakan karakteristik kitin (Lucas et al., 2021). Gambar 1b, analisis FTIR mengidentifikasi gugus fungsional kitosan terlihat puncak pada daerah serapan sekitar 3446,79 cm^{-1} adanya gugus OH. Pada serapan di sekitar 2920,23 cm^{-1} merupakan peregangan simetris dan asimetris C-H. Adanya gugus N-asetil pada serapan sekitar 1656,85 cm^{-1} adanya peregangan $\text{C}=\text{O}$ amida I, 1579,70 cm^{-1} adanya N-H bending amida II dan 1379,10 cm^{-1} adanya peregangan C-N amida III. Karakteristik serapan dari

tiga kelompok N-asetil adalah khas dimana serapan tersebut melemah menunjukkan deasetilasi kitosan berhasil (Lucas *et al.*, 2021). Pita pada 1589 cm^{-1} sesuai dengan N-H bending dari amina primer (Lim and Hudson, 2004; Queiroz *et al.*, 2015). CH_2 bending dan deformasi simetris CH_3 dikonfirmasi oleh adanya pita pada masing-masing sekitar 1421 dan 1379 cm^{-1} . Pita serapan pada 1155 cm^{-1} dapat dikaitkan dengan regangan asimetris jembatan C-O-C. Pita pada 1029 cm^{-1} sesuai dengan C-O stretching (Arulmoorthy *et al.*, 2020; Mohan *et al.*, 2020). Ikatan β -1,4-glikosidik terdapat pada daerah serapan $894,97\text{ cm}^{-1}$. Semua daerah serapan yang ditemukan dalam spektrum sampel kitosan yang dilaporkan telah sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya (Song *et al.*, 2013; Vino *et al.*, 2012).

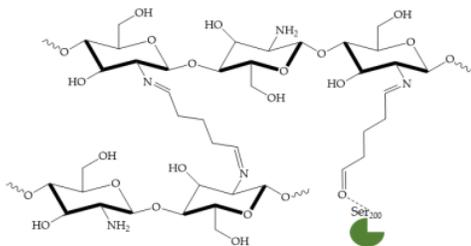
Elektroda Membran Au/Kitosan/GTA/AChE

Interaksi antara kitosan dan glutaraldehid pada elektroda biosensor diduga adanya ikatan kovalen. Membran yang teraktivasi oleh GTA akan terbentuk ikatan kovalen antara membran kitosan dan GTA. Hal ini dikarenakan kitosan memiliki gugus amino dan hidroksil (Yeng *et al.*, 2013). Struktur GTA mempunyai 2 gugus aldehid reaktif (Gambar 2).



Gambar 2. Reaksi antara kitosan dan glutaraldehid

Selain itu, terjadi ikatan silang antara enzim dan glutaraldehid dan enzim yang terperangkap dalam matriks kitosan adalah salah satu teknik imobilisasi enzim utama. Pengikatan antara enzim dan permukaan dapat terjadi melalui ikatan kovalen atau ikatan silang. Glutaraldehid (GTA) yang digunakan dalam proses imobilisasi karena kemampuannya membentuk ikatan silang dengan gugus amino kitosan dan interaksi antara gugus OH pada enzim (Işık, 2020; Wahba, 2017). Gambar 3, menunjukkan interaksi kitosan/GTA dengan enzim. Enzim AChE akan mengalami interaksi dengan GTA dan GTA membentuk ikatan kovalen dengan kitosan. Sehingga enzim terperangkap dalam membran tersebut.



Gambar 3. Interaksi kitosan/GTA dengan enzim

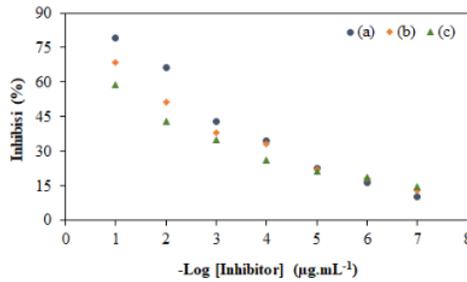
Mekanisme kinerja biosensor dengan komposisi elektroda membran Au/kitosan/GTA/AChE dalam menganalisis pestisida karbamil golongan karbamat menggunakan potensiometri telah dilakukan. Pestisida karbamat menghambat enzim secara irreversibel karena mengalami pembentukan ikatan kovalen dengan residu serin (Ser_{200}) yang ada di sisi aktif AChE melalui serangan nukleofilik dan menghasilkan enzim *carbamy*, yang tidak dapat mengkatalisis asetilkolin (Pohanka *et al.*, 2009). Interaksi antara enzim asetilkolinesterase dan inhibitor akan membentuk ikatan kovalen antara sisi aktif enzim AChE dan inhibitor (Pundir *et al.*, 2019).

Persentase inhibisi (%I)

Persentase inhibisi (%I) merupakan daya hambat pestisida terhadap kinerja enzim. Umumnya, desain biosensor pestisida mengandalkan pengukuran secara kuantitatif pada aktivitas enzim sebelum dan sesudah

dikontakkan dengan substrat. %I diperoleh setelah interaksi dengan inhibitor akibatnya aktivitas residu enzim. Inhibitor yang dimaksudkan adalah pestisida karbaril. Pemberian inhibitor memberikan pengaruh aktivitas enzim dan konsentrasi produk yang dihasilkan sehingga nilai potensial yang diperoleh kecil.

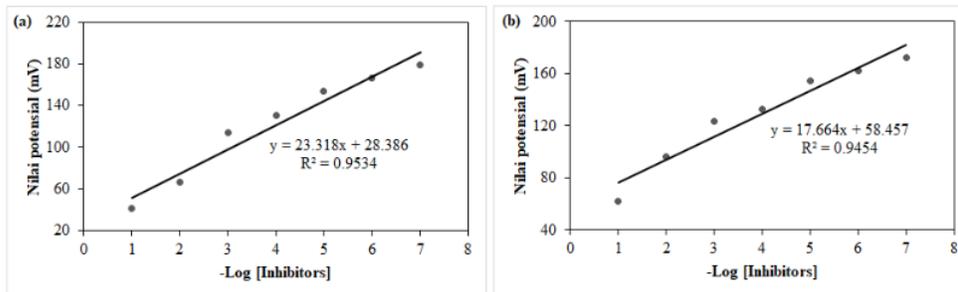
Gambar 4, menunjukkan bahwa pestisida karbaril telah berhasil menghambat aktivitas enzim AChE. Penurunan nilai potensial untuk variasi komposisi membrane elektroda dalam menganalisis pestisida karbaril dari 1×10^{-7} sampai $1 \times 10^{-1} \mu\text{g.mL}^{-1}$. Diasumsikan bahwa semakin tinggi konsentrasi inhibitor, maka semakin tinggi pula kemampuan inhibitor menghambat aktivitas enzim AChE dalam menghidrolisis substrat asetiltiokolin.

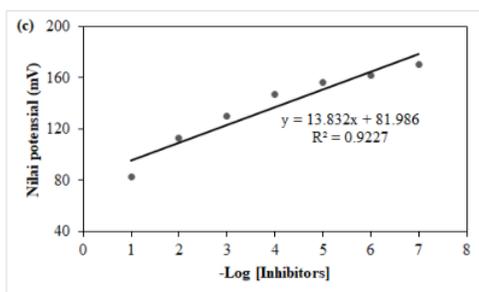


Gambar 4. Persentase inhibisi pengaruh komposisi elektroda membrane (a) Au/kitosan 2%/GTA/AChE, (b) Au/kitosan 5%/GTA/AChE dan (c) Au/kitosan 8%/GTA/AChE

Faktor Nernst (Sensitivitas)

Sensitivitas didefinisikan sebagai perubahan konsentrasi analit dan nilai *slope* dari kurva yang diperoleh dari konsentrasi tertentu (Bigman and Reinhardt, 2018). Nilai sensitivitas yang besar memberikan perubahan konsentrasi yang kecil dari analit dan memberikan respon yang berarti. Karakteristik sensitivitas dapat ditentukan dari persamaan regresi kurva linieritas. Sensitivitas merupakan nilai *slope* (b) persamaan regresi $y = bx + a$. Gambar 5a, menunjukkan nilai sensitivitas elektroda membrane Au/kitosan 2%/GTA/AChE dalam mendeteksi pestisida karbaril sebesar $23,318 \text{ mV.dekade}^{-1}$ pada suhu $24^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$. Sedangkan, elektroda membran dengan konsentrasi kitosan 5 dan 8% masing-masing sebesar $17,664$ dan $13,832 \text{ mV.dekade}^{-1}$. Sensitivitas membran dengan kitosan 2% lebih baik dibanding kitosan 5 dan 8%. Hal ini disebabkan karena besarnya konsentrasi membran kitosan yang digunakan menimbulkan pengaruh nyata. Dimana, konsentrasi membran yang besar maka membran mempunyai pori yang lebih kecil, sehingga memberikan hambatan yang besar dan permeabilitas menjadi lebih kecil. Permeabilitas merupakan sifat dari kinerja membran yang menunjukkan produktivitas membran (Kamal, 2010).





Gambar 5. Grafik hubungan $-\text{Log} [\text{inhibitors}]$ dengan nilai potensial pengaruh komposisi elektroda membrane (a) Au/kitosan 2%/GTA/AChE, (b) Au/kitosan 5%/GTA/AChE dan (c) Au/kitosan 8%/GTA/AChE

Tabel 2. Analisis pengukuran kinerja biosensor

Modifikasi membran	Konsentrasi kerja ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Nilai sensitivitas (mV.dekade^{-1})	Waktu respon (menit)	RSD (%)	LoD ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
Au/kitosan 2%/GTA/AChE		23,318		0,588	
Au/kitosan 5%/GTA/AChE	$1 \times 10^{-1} - 1 \times 10^{-7}$	17,664	5-7	1,052	1×10^{-7}
Au/kitosan 8%/GTA/AChE		13,832		0,863	

Konsentrasi kerja dan Limit deteksi (LoD)

Tabel 2, menunjukkan konsentrasi kerja berkisar pada 1×10^{-7} sampai $1 \times 10^{-1} \mu\text{g.mL}^{-1}$ dengan persamaan regresi linear (R^2) masing-masing komposisi membran yaitu 0,9534; 0,9454 dan 0,9227. Biosensor yang disiapkan menunjukkan rentang linier yang lebar dan deteksi yang lebih rendah. LoD didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat dideteksi atau terukur secara konsisten oleh elektroda (Vashist and Luong, 2018). Tabel 2, menunjukkan LoD atau kemampuan biosensor mendeteksi pestisida karbaril yaitu pada konsentrasi $1 \times 10^{-7} \mu\text{g.mL}^{-1}$. Konsentrasi terendah dapat terukur untuk ketiga komposisi membran yang diperoleh sudah baik. Selain itu, ketiga elektroda membran masing-masing memiliki *relative standard deviation* (RSD) kurang dari 2% (<2%). Namun, elektroda membran Au/kitosan 2%/GTA/AChE memiliki RSD sebesar 0,588% menunjukkan reprodusibilitas yang dapat diterima.

Waktu Respon

Waktu respon, didefinisikan sebagai waktu yang berlalu sebelum perubahan pembacaan atau merupakan waktu yang diperlukan suatu elektroda biosensor untuk mencapai nilai potensial yang stabil atau konstan (Bigman and Reinhardt, 2018). Kecepatan transfer elektron dari permukaan enzim ke permukaan elektroda untuk memberikan respon pengukuran yang akurat. Waktu respon yang diperlukan untuk mencapai nilai potensial yang konstan sehingga menunjukkan kualitas elektroda biosensor akan semakin baik. Tabel 2, menunjukkan waktu respon untuk elektroda biosensor membran Au/Kitosan/GTA/AChE memperlihatkan waktu yang dibutuhkan biosensor dalam menganalisis pestisida karbaril dan diazinon pada range 5-7 menit. Diasumsikan bahwa semakin besar konsentrasi pestisida karbaril dalam analit, waktu yang diperlukan untuk menghasilkan asam asetat semakin kecil yang berarti aktivitas enzim makin menurun, maka waktu respon yang diperoleh semakin cepat.

KESIMPULAN

Membran kitosan diperoleh melalui isolasi dan deasetilasi kitin dari kulit udang dengan metode pemanasan *microwave* (MW) dan pelarut alkali NaOH. Kawat elektroda Au berlapis membran kitosan diimmobilisasikan enzim AChE membentuk interaksi dan ikatan kovalen pada gugus NH_2 kitosan melalui ikatan silang dengan GTA. Kitosan dipilih sebagai membran imobilisasi enzim dan pembuatan biosensor potensiometer karena biokompatibel yang sangat baik. Selain itu, kitosan sebagai bahan imobilisasi enzim pada desain biosensor pestisida karbaril menghasilkan stabilitas kinerja biosensor terlihat dengan adanya variasi konsentrasi kitosan (2, 5 and 8%) pada membrane elektroda semuanya memperlihatkan rentang konsentrasi kerja $1 \times 10^{-1} - 10^{-7} \mu\text{g mL}^{-1}$

dan LoD $1 \times 10^{-7} \mu\text{g mL}^{-1}$, waktu respon 5-7 menit dan presisi dengan persen *relative standard deviation* (RSD) $< 2\%$. Elektroda membran Au/Kitosan 2%/GTA/AChE memiliki karakteristik yang lebih baik karena memiliki nilai sensitivitas yang paling tinggi yaitu $23,318 \text{ mV.dekade}^{-1}$.

Sintesis Kitosan dari Kulit Udang sebagai Bahan Membran Elektroda (Au/Kitosan/GTA/AChE) untuk Deteksi Pestisida

ORIGINALITY REPORT

8%

SIMILARITY INDEX

7%

INTERNET SOURCES

3%

PUBLICATIONS

1%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	pt.scribd.com Internet Source	2%
2	jurnal.uns.ac.id Internet Source	1%
3	media.neliti.com Internet Source	1%
4	azka-najiyah.blogspot.com Internet Source	<1%
5	text-id.123dok.com Internet Source	<1%
6	André B Konan, Jacques Y Datté, Paul A Yapo. "Nitric oxide pathway-mediated relaxant effect of aqueous sesame leaves extract (<i>Sesamum radiatum</i> Schum. & Thonn.) in the guinea-pig isolated aorta smooth muscle", <i>BMC Complementary and Alternative Medicine</i> , 2008 Publication	<1%

7	Internet Source	<1 %
8	id.scribd.com Internet Source	<1 %
9	Vicky Vamvakaki, Maria Fouskaki, Nikos Chaniotakis. "Electrochemical Biosensing Systems Based on Carbon Nanotubes and Carbon Nanofibers", Analytical Letters, 2007 Publication	<1 %
10	anzdoc.com Internet Source	<1 %
11	docplayer.info Internet Source	<1 %
12	eprints.ums.ac.id Internet Source	<1 %
13	perikanaanprosperityindonesia.blogspot.com Internet Source	<1 %
14	repository.wima.ac.id Internet Source	<1 %
15	www.reportworld.co.kr Internet Source	<1 %
16	e-journal.politanisamarinda.ac.id Internet Source	<1 %

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography Off