

Kinerja Elektroda Platina Terlapis Enzim Butirilkholinesterase-Selulosa Asetat-Glutaraldehida untuk Deteksi Diazinon

[Performance of Platina Electrode Coated by Butyrylcholinesterase-Cellulose Acetate-Glutaraldehyde for Diazinon Detection]

Thamrin Azis^{1*}, Nurhaeni², Caterina Bijang³, A. Nurwahida¹

¹Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Halu Oleo, Kendari

²Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tadulako, Palu

³Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pattimura, Ambon

*Corresponding Author: thamrinazis06@gmail.com; Telp : (085397827279)

ABSTRACT. Diazinon (o, o-diethyl-o [2-isopropyl-6-methyl pyrimidynyl] phosphorotioate) is one of the organophosphate group pesticides widely used to protect cabbage plants (*Brassica oleracea*). Pesticide residues left in plants can bind to the cholinesterase enzyme and cause system disruption nerve. Analysis of diazinon residues in cabbage plants needs to be done to determine the level of toxicity caused. The electrochemical biosensor method as an electrochemical sensor uses a working electrode of platinum wire coated with the enzyme butyrylcholinesterase (BChE) and cellulose acetate (SA) membrane and glutaraldehyde (GA) can be used for the analysis of pesticide residues. The test results of the SA electrode composition of the 10% GA 20% membrane obtained Nernst factor prices 28.1 $\mu\text{V} / \text{decade}$ with a measurement range of 10^{-9} - 10^{-6} M, detection limit value of 1.29×10^{-7} M response time of 30 - 300 seconds.

Keywords: biosensor, butyrylcholinesterase, membrane, electrochemistry

ABSTRAK. Diazinon (o,o-diethyl-o[2-isopropil-6-metilpirimidinil]fosforotioate) merupakan salah satu pestisida golongan organofosfat banyak digunakan untuk melindungi tanaman kubis (*Brassica oleracea*). Residu pestisida tertinggal pada tanaman dapat mengikat enzim kolinesterase dan menimbulkan gangguan sistem saraf. Analisis residu diazinon dalam tanaman kubis perlu dilakukan untuk mengetahui tingkat toksitas yang ditimbulkan. Metode biosensor elektrokimia sebagai sensor elektrokimia menggunakan elektroda kerja kawat platina terlapis enzim butirilkholinesterase (BChE) dan membran selulosa asetat (SA) serta glutaraldehid (GA) dapat digunakan untuk analisis residu pestisida. Hasil uji kinerja elektroda komposisi membran SA 10 % GA 20% diperoleh harga faktor Nernst 28,1 $\mu\text{V}/\text{dekade}$ dengan kisaran pengukuran 10^{-9} – 10^{-6} M, nilai limit deteksi $1,29 \times 10^{-7}$ M waktu respon 30 – 300 detik.

Kata kunci: biosensor, butirilkholinesterase, membran, elektrokimia

Riwayat artikel: Diterima 6 Agustus 2020, Disetujui 18 Agustus 2020

Cara sitasi: Azis, T., Nurhaeni, Bijang, C., & Nurwahida, A. (2020). Kinerja Elektroda Platina Terlapis Enzim Butirilkholinesterase-Selulosa Asetat-Glutaraldehida untuk Deteksi Diazinon. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 6(2): 106-111.

DOI: <https://doi.org/10.22487/kovalen.2020.v6.i2.15237>

LATAR BELAKANG

Pestisida merupakan senyawa organik bersifat toksik yang banyak digunakan untuk mengendalikan serangga dan hama dalam

bidang pertanian (Talarico *et al.*, 2016). Senyawa diazinon (o,o-dietil-o[2-isopropil-6-metil-pirimidinil-fosforotioat) termasuk salah satu pestisida golongan organofosfat banyak

digunakan sebagai kontrol, prefontif dan mengurangi hama pada sayuran kubis (*Brassica oleracea*) (Pérez-Fernández *et al.*, 2020). Residu pestisida yang dikonsumsi manusia dapat mengikat enzim kolinesterase, yaitu enzim yang berfungsi mengatur kerja syaraf dan menghambat asetil kolinesterase mengakibatkan akumulasi asetilkolin sehingga menimbulkan gejala sakit kepala, mual, muntah, sesak nafas, kejang otot dan dapat mengakibatkan kelumpuhan (Vimala *et al.*, 2016)

Untuk mengetahui tingkat toksisitas dan resiko yang ditimbulkan pestisida terhadap makhluk hidup dan lingkungan, maka perlu dilakukan analisis residu pestisida. Metode standar untuk deteksi organofosfat adalah kromatografi gas (KG), kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dan detector spectrometer massa (Guo *et al.*, 2019; Zhu *et al.*, 2019). Metode ini sangat sensitif dan dapat diandalkan, tetapi memiliki kelemahan seperti, perawatan sampel yang kompleks dan menggunakan waktu lama (Zhu *et al.*, 2019). Untuk mengatasi kelemahan tersebut, maka diperlukan metode analisis yang lebih cepat, selektif dan sederhana. Salah satu metode yang dikembangkan saat ini adalah teknik elektro kimia memiliki keunggulan dibandingkan teknik konvensional, seperti sederhana, biaya murah dan waktu analisis yang singkat (Hao *et al.*, 2019; Pérez-Fernández *et al.*, 2020).

Biosensor merupakan salah satu teknik elektrokimia yang menggabungkan perangkat sensor dengan senyawa biologi dan transduser (Gupta *et al.*, 2016; Ibrahim *et al.*, 2017). Dalam proses kerja, senyawa aktif biologi akan berinteraksi dengan molekul sasaran dan menghasilkan besaran fisik

seperti panas, arus listrik, potensial listrik yang akan dimonitor oleh transduser. Beberapa penelitian menggunakan biosensor dengan berbagai jenis enzim dan transduser untuk deteksi residu pestisida. Bakirhan *et al.* (2018) menggunakan sensor elektrokimia deteksi residu pestisida dalam makanan dengan biosensor optic menggunakan enzyme acetylcholinesterase deteksi organofosfat diperoleh limit deteksi $2,2 \times 10^{-3}$ M. Deteksi pestisida golongan organofosfat menggunakan biosensor konduktometri diperoleh limit deteksi diazinon 40 ppb, malation 30 ppb, klorpyrifos 20 ppb dan profenofos 40 ppm (Mulyasuryani & Prasetyawan, 2015).

Membran selulosa aasetat (SA) merupakan membran organik yang tersusun dari bahan dasar polimer memiliki kestabilan yang baik terhadap berbagai macam zat kimia, mempunyai kekuatan mekanik yang baik dan tahan terhadap tekanan tinggi sehingga dapat menahan materi yang sangat kecil. Glutaraldehyd (GA) berperan sebagai ikatan silang dan berfungsi sebagai pereaksi bifungsi antar enzim dan selulosa aasetat (Mashuni *et al.*, 2010)

Dalam penelitian ini didesain elektroda platina terlapis enzim Butiril kolinesterase (BChE) dengan bahan pendukung selulosa aasetat (SA) dan glutaraldehyd (GA). Hasil desain elektroda dengan dengan parameter yang optimum digunakan untuk deteksi residu diazinon dalam sayuran.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan adalah kawat perak, KCl, kawat tembaga, kawat platina, kawat timah, enzim butiril kolinesterase (BChE)

((EC 3.1.1.8), Selulosa Asetat (SA) (Sigma), Glutaraldehyd (GA) (Sigma), asetilkolin klorida (Sigma), pestisida diazinon (Electrophorous electricus Sigma), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Merck), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (Merck), aseton (Merck), etanol (Merck), parafilm.

Prosedur Kerja

Desain elektroda kawat terlapis (EKT)

Elektroda dibuat dari kawat tembaga terlapis plastik berdiameter 1,5 mm dengan panjang 5 cm, disambungkan dengan kawat platina berdiameter 0,4 mm berukuran panjang 2,5 cm dengan cara pateri dan masukkan ke dalam tip biru dengan posisi platina menonjol ke luar 1 cm dari ujung runcing. Elektroda dicelupkan kedalam bahan aktif enzim butirilkolinesterase (BChE) dan membran (selulosa asetat dan glutaraldehyd). Elektroda terlapis enzim dan membran diaplikasikan ke sampel sayuran kubis untuk menentukan kadar residu diazinon

Penyiapan larutan standar substrat butirilkolin klorida

Timbang secara teliti butirilkolin klorida 1,048 gram kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 50 mL, selanjutnya ditambahkan larutan buffer fosfat pH 6,5 sebagai pelarut sampai tanda batas. Terhadap larutan ini kemudian dilakukan pengenceran sampai diperoleh larutan dengan konsentrasi $1,0 \times 10^{-3} \text{ M}$ - $1,0 \times 10^{-9} \text{ M}$.

Pembuatan larutan standar pestisida diazinon

Timbang secara teliti diazinon 3.0434 gram kemudian dilarutkan dengan n-heksan dalam labu ukur 100 mL diencerkan sampai tanda batas. Terhadap larutan ini kemudian dilakukan pengenceran pada $1,0 \times 10^{-3} \text{ M}$ - $1,0 \times 10^{-9} \text{ M}$.

Pembuatan larutan enzim butirilkolinesterase (BChE)

Enzim BChE dari Electrophorous electricus Sigma 24 mg padatan dilarutkan dalam pelarut 6,32 ml buffer fosfat pH 6,5 dan 1 ml KCl 0,1 M

Pembuatan selulosa asetat (SA) 10 %

Larutan selulosa asetat 10 % disiapkan dengan menimbang secara teliti selulosa asetat 1,0 gram kemudian dilarutkan aseton sebanyak 10 mL.

Pembuatan glutaraldehyd (GA) 10 %, 15 % dan 20 %

Larutan glutaraldehyd 25 % yang digunakan dalam penelitian ini adalah produksi Aldrich Sigma. Selanjutnya larutan GA 10 %; 15 % dan 20 % dibuat dengan mengencerkan larutan GA 25 % dengan aquades.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kinerja elektroda ditentukan berdasarkan pengamatan harga respon potensial masing-masing elektroda. Penentuan kinerja elektroda meliputi penentuan faktor Nernst (sensivitas), nilai limit deteksi, waktu respon, koefisien selektivitas.

Faktor Nernst dan Kisaran Pengukuran

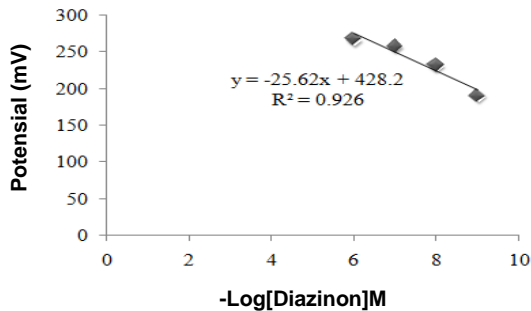
Penentuan faktor Nernst dan kisaran pengukuran diperoleh dengan cara mengalurkan potensial E(mV) terhadap konsentrasi substrat Butirilkolin klorida ditambahkan inhibitor diazinon dengan konsentrasi 10^{-3} M - 10^{-9} M . Nilai teoritis faktor Nernst adalah 29,6 mV/dekade dan kurva linearitas terbaik memberikan harga R mendekati satu. Hubungan antara potensial elektroda E (mV) dengan keaktifan ion dapat dinyatakan persamaan berikut

$$E = E^0 \pm S \log (a_A) \quad (1)$$

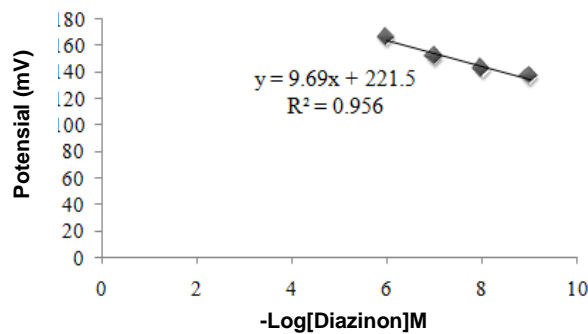
Dan hubungan dengan selektivitas ion dalam larutan dinyatakan persamaan berikut

$$S = \frac{2,303RT}{z_A F} \quad (2)$$

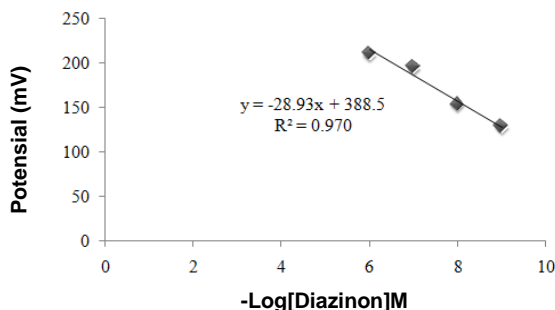
Bila E(mV) terhadap $-\log a$ memberikan garis linear akan memenuhi persamaan Nernst.



Gambar 1 Kurva potensial $-\log[\text{Diazinon}]$ untuk komposisi membran SA 10% dan GA 10% pada konsentrasi substrat 10^{-5} dan konsentrasi diazinon 10^{-9} – 10^{-6} M



Gambar 2 Kurva potensial $-\log[\text{Diazinon}]$ untuk komposisi membran SA 10% dan GA 15% pada konsentrasi substrat 10^{-5} dan konsentrasi diazinon 10^{-9} – 10^{-6} M



Gambar 3 Kurva potensial $-\log[\text{Diazinon}]$ untuk komposisi membran SA 10% dan GA 20% pada konsentrasi substrat 10^{-5} dan konsentrasi diazinon 10^{-9} – 10^{-6} M

Kepekaan dan linieritas biosensor dengan rentang konsentrasi diazinon 10^{-9} – 10^{-6} M ditampilkan pada gambar 1,2 dan 3 Hasil pengukuran potensial menggunakan potensiometer menunjukkan biosensor dengan komposisi membran SA 10% GA 10% (Gambar 3) memiliki kepekaan yang tinggi, yaitu 28,39 mV/dekade mendekati harga faktor Nernst teoritis (29,6 mV/dekade). Hasil ini menunjukkan aktivitas enzim cukup baik sebagai katalis dalam reaksi hidrolisis substrat butirilkolin klorida, sehingga memberikan respon potensial E (mV) yang cukup tinggi bila dibandingkan dengan komposisi membran lain. Nilai linieritas mendekati 1 yaitu 0,970 dan harga intersepnya atau E^0 adalah 388,5. Oleh karena itu dapat disimpulkan elektroda dengan komposisi membran SA 10% GA 10% aktivitas enzim cukup baik sebagai katalis dalam reaksi hidrolisis substrat butirilkolin klorida, sehingga memberikan respon potensial E (mV) yang cukup tinggi bila dibandingkan dengan komposisi membran lain dan harga potensial E (mV) pada daerah linier mengalami kenaikan sesuai dengan bertambahnya konsentrasi diazinon pada kisaran konsentrasi 10^{-9} M - 10^{-6} M, sehingga dianggap paling baik untuk pengukuran diazinon.

Limit Deteksi

Limit deteksi merupakan batas konsentrasi terendah yang dapat diukur elektroda ditentukan dengan membuat garis singgung pada fungsi linear yang Nernstian dan non Nernstian antara $-\log[\text{Diazinon}]$ dengan nilai potensial (mV). Titik potong kedua garis diekstrapolasikan ke sumbu x sehingga dapat diperoleh konsentrasi limit deteksi. Hasil pengukuran limit deteksi dari

elektroda dengan variasi komposisi membran dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 1. Penentuan limit deteksi berbagai komposisi

Tipe Elektroda	Komposisi Membran		Nilai Limit Deteksi
	SA	GA	
E1	10%	10%	$1,51 \times 10^{-7}$ M
E2	10%	15%	$5,13 \times 10^{-7}$ M
E3	10%	20%	$1,29 \times 10^{-7}$ M

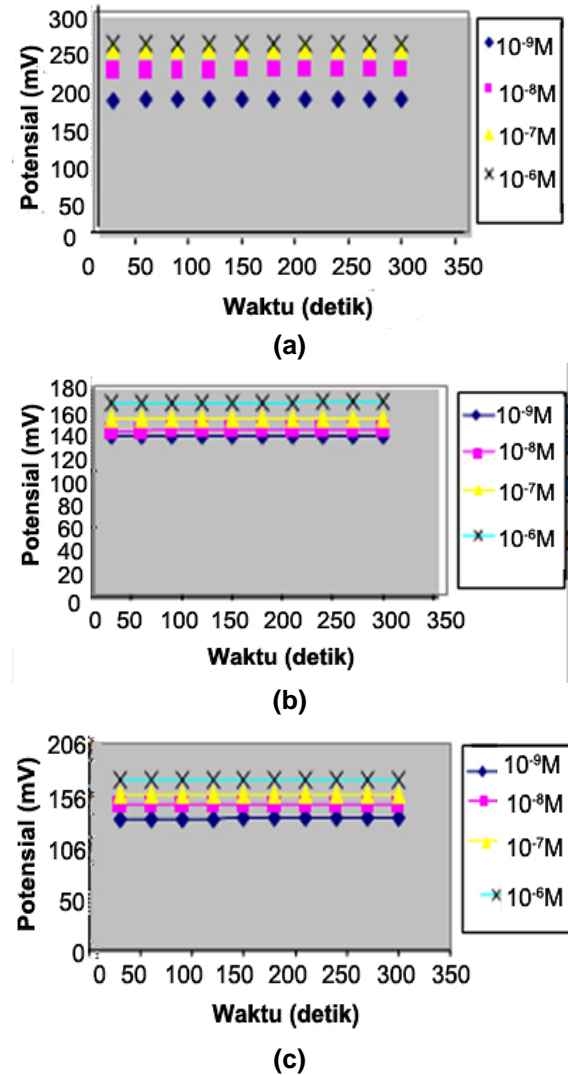
Nilai limit deteksi menentukan kualitas suatu metode analisis, Semakin kecil limit deteksi suatu elektroda, maka semakin baik kualitas elektroda tersebut. Salah satu faktor yang menentukan kualitas limit deteksi adalah membran selulosa asetat (SA). Semakin peka suatu membrane terhadap senyawa target, maka semakin baik nilai limit deteksi yang akan diperoleh. Hasil penentuan limit deteksi berbagai komposisi membrane dapat dilihat dalam Tabel 1. Hasil ekstrapolasi pembacaan elektroda SA 10 % GA 20 % terhadap sumbu x dengan rentang konsentrasi diazinon 10^{-9} M - 10^{-3} M menghasilkan limit deteksi terendah $1,29 \times 10^{-7}$ M (Tabel 1).

Waktu Respon

Waktu respon adalah waktu yang diperlukan suatu biosensor untuk mencapai potensial yang konstan. Hal ini disebabkan telah terjadinya kesetimbangan reaksi yang terjadi pada membran elektroda dengan larutan sampel.

Semakin sensitif suatu elektroda semakin cepat waktu responnya. Faktor respon dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti kestabilan membran, konsentrasi sampel, temperatur sampel, adanya ion-ion pengganggu dan putaran stirrer. Profil waktu respon deteksi diazinon dengan variasi

komposisi membran SA/GA dengan metode potensiometri terlihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Waktu respon biosensor – diazinon dengan komposisi membran (a) SA 10 % GA 10 %, (b) SA 10 % GA 15 %, dan (c) SA 10% GA 20 % pada konsentrasi substrat 10^{-5} M

Tabel 2. Kinerja elektroda enzim butirilkolinesterase

Kinerja Elektroda	Tipe elektroda enzim butirilkolinesterase		
	E1 (SA10% GA10%)	E2 (SA10% GA15%)	E3 (SA10% GA20%)
E0 (mV)	428,2	221,5	388,5
S	25,62	6,96	28,93
R ²	0,926	0,956	0,970
Limit deteksi (M)	$1,51 \times 10^{-7}$	$5,13 \times 10^{-7}$	$1,29 \times 10^{-7}$
Waktu respon	30-300	30-300	30-300

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan, bahwa elektroda komposisi membran selulosa asetat (SA) 10 % dan glutaradehid (GA) 20 % memiliki kinerja lebih baik dibanding elektroda komposisi membran SA 10 % GA 5,0% dan SA 10 % GA 15 %. Hasil kinerja elektroda SA 10 % GA 10 % meliputi faktor Nernst (sensivitas) 28,39 mV/dekade pada rentang pengukuran pada kisaran konsentrasi 10^{-9} M - 10^{-6} M baik untuk pengukuran diazinon. Limit deteksi dengan harga $1,29 \times 10^{-7}$ M merupakan limit deteksi terendah dengan rentang konsentrasi diazinon 10^{-9} M- 10^{-3} M dan waktu respon 30 detik – 300 detik.

DAFTAR PUSTAKA

- Bakirhan, Nurgul K, Bengi Uslu, and Sibel A Ozkan. (2018). The Detection of Pesticide in Foods Using Electrochemical Sensors. *In Food Safety and Preservation*. Pp. 91-141: Elsevier.
- Guo, Jiagang, et al. (2019). Analysis of Multiple Pesticide Residues In Polyphenol-Rich Agricultural Products by UPLC-MS/MS Using a Modified QuEChERS Extraction and Dilution Method. *Food chemistry* 274:452-459.
- Gupta, Deepali, Balwinder Singh, and Harpreet Singh. (2016). Design and Development of Pesticide Residue Detection System using EC and pH Sensor. *International Journal Engineering and Manufacturing (IJEM)* 2:10-17.
- Hao, Rui, Zhuoyu Peng, and Bo Zhang. (2019) Single-Molecule Fluorescence Microscopy for Probing the Electrochemical Interface. *ACS omega* 5(1):89-97.
- Ibrahim, AG, OD Oyedum, and OB wojowogbe. (2017). Design Description of a Stand-Alone, Auto-Frequency Ultrasonic Brand of Weaver Bird Pest Control Device for Field Applications. *International Journal of Engineering and Manufacturing* 7(5):1.
- Mashuni, Mashuni, et al. (2010). Determination of Carbamate Pesticides Using a Biosensor Based on Enzyme Acetylcholinesterase and Cholin Oxidase n Platinum Electrode. *Indonesian Journal of Chemistry* 10(3):290-294.
- Mulyasuryani, Ani, and Sasangka Prasetyawan. (2015). Organophosphate Hydrolase in Conductometric Biosensor for The Detection of Organophosphate Pesticides. *Analytical chemistry insights* 10:ACI. S30656.
- Pérez-Fernández, Beatriz, Agustín Costa-García, and Alfredo de la Escosura Muñoz. (2020). Electrochemical (Bio) Sensors for Pesticides Detection Using Screen-Printed Electrodes. *Biosensors* 10(4):32.
- Talarico, Daria, et al. (2016). Screen Printed Electrode Modified With Carbon Black and Chitosan: A Novel Platform for Acetylcholinesterase Biosensor Development. *Analytical and bioanalytical chemistry* 408(26):7299-7309.
- Vimala, V, SK Clarke, and S Urvinder Kaur. (2016). Pesticides Detection Using Acetylcholinesterase Nanobiosensor. *Biosens J* 5(133):2.
- Zhu, Bingqi, et al. (2019). Simultaneous Determination of 131 Pesticides in Tea by On-line GPC-GC-MS/MS Using Graphitized Multi-Walled Carbon Nanotubes as Dispersive Solid Phase Extraction Sorbent. *Food chemistry* 276:202-208.