

VOLUME 7

ISSUE 1

JANUARY – JUNE 2019

Al-Kimia

Pemanfaatan Kompleks Polielektrolit sebagai Matriks untuk Imobilisasi Urease dan Aplikasinya sebagai Membran Biosensor Pemonitoran Hg(II)

Dhony Hermanto, Mudasir, Dwi Siswanta, Bambang Kuswandi

Isolasi dan Karakterisasi Asam Humat dari Tanah Dasar Bendungan Batujai Lombok Tengah NTB

Nurul Ismillayli, Dhony Hermanto

A Natural Dye-Sensitized from Pare (*Bitter Gourd*) Leaves Extracts for Dye-Sensitized Solar Cell (DSSC)

Wahidah Febriya Ramadhani, Aisyah A, Suriani S, Iswadi I

Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol dan N-Heksana Rimpang Temu Kunci (*Kaempferia Pandurata*) dan Pengaruhnya Terhadap Ekspresi Gen *P53* Dan *Bcl-2* Pada Raji *Cell Line*

Peni Lestarini, Endang Astuti, Deni Pranowo

Pengaruh Katalis NiMo Terhadap Kualitas Minyak Batubara Hasil Pencairan Secara Tidak Langsung

Rika Damayanti, Susila Arita R, Fitri Hadiah

Nanokomposit Antibakteri Berbasis Pati dan Nanopartikel Perak (AgNPs)

Ina Ristian

Synthesis of Nitro Ethyl Oleic from Used Cooking Oil

Nasriadi Dali, Arniah Dali

Sifat Fisika Kimia Tanah dan Daya Hambatnya Terhadap Bakteri Air Liur Anjing Liar

Sjamsiah, Arifuddin, Mashuri Masri, Sappewali, Indah Islamiah, Hardiyanti Hamrullah, Elmika Nesti

Aplikasi Mikrosimbiosis Spons Laut Sebagai Biomaterial Pereduksi Toksisitas Logam Berat Kromium

Ismail Marzuki, M. Iksan Ashari, Andi Asdar Marzuki, Anggi Angela

Optimisasi Produksi α -Amilase dari *Saccharomycopsis fibuligera* R64 dengan Response Surface Method-Central Composite Design (RSM-CCD)

Agus Safari, Ahsanul Chaliqin Gayo, Saadah Diana Rachman, Muhammad Yusuf, Safri Ishmayana

Utilization of Guava Leaves Extract (*Psidium Guajava*) as Ecofriendly Corrosion Inhibitor for Iron

Said Ali Akbar, Rika Ovisa, Muttakin

Jurusan Kimia UIN Alauddin Makassar

p-ISSN: 2302-2736

e-ISSN: 2549-9335



Al-Kimia

EDITOR IN CHIEF

Sjamsiah

MANAGING EDITOR

Ummi Zahra

REVIEWER

Sarifah Fauziah

Suminar Setiati

Irmanida Batubara

Sri Sugiarti

Muharram

Philiphi De Rosari

Desi Harneti Putri Huspa

Ajuk Sapar

Masriany

Asri Saleh

St .Chadijah

Asriyani Ilyas

SECTION EDITOR

Rani Maharani

Iin Novianty

Firnelty

Chusnul Khatimah

Satriani

PUBLISHER

Department of Chemistry

Faculty of Science and Technology

Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar

Jl. H. M. Yasin Limpo No. 36 Gowa South Sulawesi Indonesia

E -mail: al-kimia@uin-alauddin.ac.id

Al-Kimia

TABLE OF CONTENT

Pemanfaatan Kompleks Polielektrolit sebagai Matriks untuk Imobilisasi Urease dan Aplikasinya sebagai Membran Biosensor Pemonitoran Hg(II) Dhony Hermanto, Mudasir, Dwi Siswanta, Bambang Kuswandi	1-9
Isolasi dan Karakterisasi Asam Humat dari Tanah Dasar Bendungan Batujai Lombok Tengah NTB Nurul Ismillayli, Dhony Hermanto	10-16
A Natural Dye-Sensitized from Pare (<i>Bitter Gourd</i>) Leaves Extracts for Dye-Sensitized Solar Cell (DSSC) Wahidah Febriya Ramadhani, Aisyah A, Suriani S, Iswadi I	17-24
Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol dan N-Heksana Rimpang Temu Kunci (<i>Kaempferia Pandurata</i>) dan Pengaruhnya Terhadap Ekspresi Gen <i>P53</i> Dan <i>Bcl-2</i> Pada Raji <i>Cell Line</i> Peni Lestari, Endang Astuti, Deni Pranowo	25-32
Pengaruh Katalis NiMo Terhadap Kualitas Minyak Batubara Hasil Pencairan Secara Tidak Langsung Rika Damayanti, Susila Arita R, Fitri Hadiah	33-38
Nanokomposit Antibakteri Berbasis Pati dan Nanopartikel Perak (AgNPs) Ina Ristian	39-45
Synthesis of Nitro Ethyl Oleic from Used Cooking Oil Nasriadi Dali, Arniah Dali	46-55
Sifat Fisika Kimia Tanah dan Daya Hambatnya Terhadap Bakteri Air Liur Anjing Liar Sjamsiah, Arifuddin, Mashuri Masri, Sappewali, Indah Islamiah, Hardiyanti Hamrullah, Elmika Nesti	56-66
Aplikasi Mikrosimbiosis Spons Laut Sebagai Biomaterial Pereduksi Toksisitas Logam Berat Kromium Ismail Marzuki, M. Iksan Ashari, Andi Asdar Marzuki, Anggi Angela	67-75
Optimisasi Produksi α -Amilase dari <i>Saccharomycopsis fibuligera</i> R64 dengan Response Surface Method-Central Composite Design (RSM-CCD) Agus Safari, Ahsanul Chaliqin Gayo, Saadah Diana Rachman, Muhammad Yusuf, Safri Ishmayana	76-90
Utilization of Guava Leaves Extract (<i>Psidium Guajava</i>) As Ecofriendly Corrosion Inhibitor for Iron Said Ali Akbar, Rika Ovisa, Muttakin	91-99

Pemanfaatan Kompleks Polielektrolit sebagai Matriks untuk Imobilisasi Urease dan Aplikasinya sebagai Membran Biosensor Pemonitoran Hg(II)

Dhony Hermanto^{1,2,*}, Mudasir², Dwi Siswanta², Bambang Kuswandi³

¹Program Studi Kimia, FMIPA–Universitas Mataram, Mataram 83125

²Jurusan Ilmu Kimia, FMIPA – Universitas Gajah Mada, Yogyakarta 55281

³Chemo and Biosensor Grup, Fakultas Farmasi – Universitas Jember, Jember 68121

Email: dhony.hermanto@unram.ac.id

Received: October, 16, 2018 / Accepted: June, 19, 2019

doi: 10.24252/al-kimia.v7i1.6247

Abstract: *The preparation of polyelectrolyte complex (PEC) as supporting material of urease immobilisation for Hg(II) biosensor has done. PEC membrane can be prepared by mixing hydrosol alginate and chitosan hydrosol with 1: 1 ratio at pH of 5.28 approximately. The optimum conditions and characteristics of biosensor was determined. The formed alginate–chitosan PEC membrane was confirmed by using FTIR spectroscopy and SEM analysis. The results showed that PEC of alginate-chitosan was formed and the proposed biosensor is an excellent platform for sensitive detection of Hg (II).*

Keywords: *PEC membrane, alginate–chitosan, solid support, immobilization, urease*

1. PENDAHULUAN

Pencemaran lingkungan merupakan masalah global yang berdampak pada penurunan kualitas kesehatan manusia. Merkuri (Hg) adalah salah satu jenis logam berat yang merupakan pencemar lingkungan yang berbahaya karena bersifat toksik (racun) bila terakumulasi melebihi ambang batasnya. Oleh karenanya dibutuhkan pemantauan konsentrasinya di lingkungan pada konsentrasi yang rendah untuk menghindari toksisitas akut dan kronis yang dapat menyebabkan berbagai penyakit bahkan kematian.

Biosensor berbasis imobilisasi enzim merupakan suatu metode analitik yang digunakan dalam pengembangan biosensor untuk analisis pencemaran logam berat pada lingkungan perairan, dimana aktivitas enzim diinhibisi atau dihambat oleh polutan tersebut. Penentuan ion Hg(II) dengan menggunakan biosensor optik berbasis imobilisasi enzim urease (hidrolase) juga telah dilakukan oleh Kuswandi (Kuswandi, 2003). Urease mampu menghidrolisis urea menjadi CO₂ dan NH₄OH yang akan dihambat reaksinya akibat adanya logam berat dengan cara menurunkan aktivitas urease.

Imobilisasi enzim dilakukan untuk mempermudah pemisahan antara enzim dan produk yang dihasilkan. Keuntungan penggunaan enzim terimobil adalah meningkatnya stabilitas enzim, enzim dapat digunakan secara berkesinambungan, reaksi dapat dikendalikan serta nilai ekonomis yang dapat diperoleh. Berbagai macam metode imobilisasi enzim dapat digunakan, tergantung perbedaan sudut kompleksitas dan efisiensi (Pereira et al., 2003). Pemilihan penggunaan metode imobilisasi disesuaikan dengan kriteria utama yaitu tidak terjadinya perubahan konformasi enzim dan tidak terganggunya gugus fungsi aktif enzim. Imobilisasi enzim secara fisik meliputi adsorpsi, penjebakan sol-gel dan penahanan dalam membran semipermeabel. Imobilisasi enzim secara

kimia melibatkan ikatan kovalen enzim dengan gugus fungsional bahan pendukung atau penautsilangan (*cross-linking*) antarbiomolekul (Dastta et al., 2013; Sirisha et al., 2016).

Pada dekade terakhir, banyak pendekatan imobilisasi telah dikembangkan pada berbagai matriks dalam mengimobilisasi urease. Polimer mikrosphare telah menarik banyak perhatian untuk imobilisasi karena gugus fungsinya dapat dimodifikasi dengan mudah. Sebagai contoh, Elçin dan Elçin (2000) mengimobilisasi urease pada polianionik karboksimetilselulosa/alginatmikrosphare dilapisi dengan kitosan kationik. Kayastha et al.(2003) melaporkan urease dari kacang buncis (Urs-JB) diimobilisasi pada mikrospherepoli(stiren-co-akrolein). Namun, untuk berbagai matriks pendukung, kapasitas pemuatannya selalu menghasilkan efikasi rendah untuk enzim terimmobil dan penggunaannya terbatas (David et al., 2006). Oleh karena itu, masih diperlukan eksplorasi mengenai imobilisa simatriks baru hingga saat ini.

Banyak penelitian dilakukan untuk memodifikasi bahan pendukung sehingga sensitivitas, selektivitas dan stabilitasnya meningkat. Salah satunya adalah pemanfaatan PEC sebagai matriks polimer imobilisasi enzim. Polielektrolit yang digunakan untuk mempersiapkan kompleks inter-polimer biasanya poli-asam dan poli-basalemah. Poli allilamin (PAA), poli-L-lisin (PLL), poli-L-arginin (PLA), poli-L-histidin (PLH), dan polietilenimina(PEI) biasanya digunakan sebagai polikation, sedangkan poli(stirenesulfonat, PSS), poli(vinil sulfonat, PVS), poli(asam akrilat, PAC), poli(asam maleat, PMA), asam deoksiribonukleat(DNA), asam ribonukleat(RNA), dan turunannya digunakan sebagai polianion (Yabuki, 2011).

PEC merupakan kompleks asosiasi yang terbentuk antara polimer yang memiliki poliion dengan muatan yang berlawanan karena adanya interaksi elektrostatik antara polimer ionik yang bermuatan berlawanan tersebut (Berger et al., 2004). Alginat yang merupakan polianionik dan kitosan polikationik bila dilarutkan pada kondisi yang tepat dapat berinteraksi satu sama lain melalui gugus karboksil dari alginat dan gugus amino dari kitosan (Kulig et al., 2016). PEC yang terbentuk diharapkan dapat memberikan aplikasi lebih baik karena keunikan struktur dan sifatnya.

PEC sampai saat ini pemanfaatannya masih terbatas di bidang kesehatan seperti sebagai serat, kapsul, butiran (Knill et al., 2004), sebagai membran hemodialisis (Kaban et al., 2006). Membran PEC alginat–kitosan dapat dipreparasi secara mudah dengan tanpa *crosslinker*. Hal inilah yang mendorong dilakukannya kajian potensimembran PEC alginat-kitosan sebagai material pendukung (matriks) pada imobilisasi enzim urease. Hasil immobilisasi urease pada membran PEC digunakan dalam biosensor berbasis inhibisi enzim untuk pemantauan Hg(II) dalam larutan.

2. METODE PENELITIAN

Peralatan yang digunakan antara lain: SEM model Joel LV 5600 USA, FT-IR spektrofotometer 1600 Perkin Elmer Co Japan, neraca analitik (Mettler AE 200), pengaduk magnet dan pemanas (IKA Combimag-RET motor), pH dan ion meter (TOA *Electronic Ltd* model IM-20E) dan peralatan gelas (Pyrex) yang biasa digunakan dilaboratorium. Bahan-bahan yang digunakan antara lain: Jack Bean Urease (E.C.3.5.1.5) (Sigma), sodium alginat (sigma), kitosan (sigma), asam asetat glasial, asam klorida, sodium hidroksida (*analytical grade*) (merck), kertas saring Whatman no.41 dan aquabides.

a. Pembuatan Larutan Hidrosol Alginat dan Kitosan

Ditimbang 1 g kitosan, didispersikan ke dalam 25 mL aquadest kemudian dilarutkan dengan menambahkan 5 mL asam asetat glasial sambil diaduk dengan menggunakan pengaduk magnet sehingga terbentuk campuran homogen. Selanjutnya ditimbang 1 g alginat dan dilarutkan dalam 25 mL aquadest. Kedua larutan dibiarkan satu malam untuk menghilangkan gelembung.

b. Pembuatan Membran PEC Alginat–Kitosan

Membran PEC alginat–kitosan disintesis sesuai dengan metode pada penelitian sebelumnya (Hermanto et al., 2019a). Kedua larutan polimer kemudian dicampur dan ditambahkan 2 ml HCl 32%. Selanjutnya ditambahkan larutan NaOH 10% (w/v) sampai diperoleh pH= 5,28. Polimer terbentuk adalah hidrosol. Hidrosol yang terbentuk kemudian dicetak di atas plat kaca, kemudian dikeringkan pada suhu kamar selama 72 jam.

c. Imobilisasi Urease pada Membran PEC Alginat–Kitosan

Membran PEC alginat-kitosan digunakan sebagai material pendukung (*solid support*) imobilisasi untuk enzim. Urease yang digunakan berjumlah 46,24 U yang diperoleh dengan melarutkan 1,7 mg urease dalam 1,5 mL buffer fosfat pH 7,4 dan larutan enzim urease disimpan pada 4 °C. Membran PEC alginat–kitosan untuk biosensor optik dipreparasi dengan mencampurkan kedua polimer hidrosol. Imobilisasi *bromo tymol blue* (BTB) (pKa 7,1) dalam larutan hirosol dilakukan dengan cara mencampur 3 mL hidrosol, dan 1 tetes indikator BTB. Larutan ini selanjutnya distirer selama 4 jam kemudian dilakukan proses imobilisasi urease. Pada tahap ini ditambahkan 1 mL buffer fosfat pH 6,5 dan 46,24 U urease distirer selama \pm 10 menit, dimana selama proses imobilisasi berlangsung kondisi dijaga pada suhu 4 °C. Hidrosol yang terbentuk kemudian dicetak di atas plat kaca, kemudian dikeringkan pada suhu kamar selama 72 jam, dan setelah terbentuk direndam pada larutan enzim selama 24 jam pada suhu 4 °C.

d. Uji Aktivitas Urease Terimobil

Pengamatan reaksi dilakukan dengan penentuan terbentuknya amoniak sebagai hasil reaksi enzimatik menggunakan spektrofotometer reflaktan. Aktivitas enzim sebanding dengan produk yang dihasilkan, dan produk ini bertambah sampai keadaan maksimum seiring dengan naiknya kecepatan reaksi enzimatik. Penentuan aktivitas enzim dilakukan pada pH 7 dengan konsentrasi urease tetap dan variasi konsentrasi urea 5, 10, 20, 30, 50 dan 70 mM (lama reaksi 5 menit).

e. Aplikasi Urease Terimobil pada Membran PEC dalam Pemonitoran Hg(II)

Proses pengukuran inhibisi Hg(II) terhadap urease terimobil dalam membran PEC alginat–kitosan dalam penelitian ini menggunakan transduser optik (serat optik) dan elektrik (amperometri). Pada pengukuran menggunakan transduser optik (spektrofotometer USB *Ocean Optic 2000 UV–Vis Auto*, USA), desain konstruksi biosensor serat optik, urease immobil yang diintegrasikan dengan indikator BTB pada matrik pendukung membran PEC alginat–kitosan ditempatkan secara hati-hati ke dalam sel alir yang di fabrikasi secara khusus untuk kepentingan ini. Sel alir tersebut kemudian secara geometris diarahkan menghadap ujung *probe* serat optik. Sedangkan konstruksi amperometri (*PalmSens Electrochemical Portable Apparatus*, *Palm Instrument BV, Houten, The Netherlands*), membran PEC alginat–kitosan dicoating pada *Screen Printed Electrode* (SPE), imobilisasi enzim dilakukan pada membran yang terbentuk pada permukaan SPE. Pengukuran Hg(II) dalam larutan menggunakan *PalmSens Electrochemical* dengan SPE yang telah dimodifikasi.

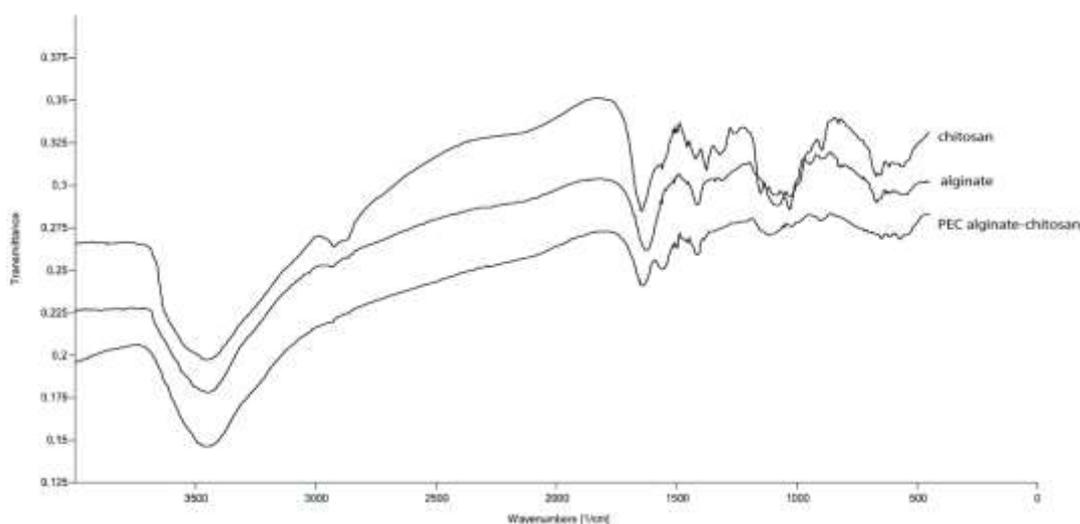
Pengukuran aktivitas urease immobil sebelum dan sesudah terinhibisi dilakukan dengan cara mereaksikan urease terimobil dalam membran PEC alginat–kitosan dengan larutan urea. Urease immobil mengkatalisis hidrolisis urea menjadi amonia dan karbondioksida. Selanjutnya pengukuran inhibisi enzim dilakukan dengan mereaksikan membran biosensor dengan larutan Hg(II) dengan berbagai variasi konsentrasi. Kehadiran Hg(II) dalam sampel menghambat aktivitas urease, sehingga terjadi penurunan produk yang terbentuk dari hidrolisis urea. Hal ini sebanding dengan jumlah logam berat dalam sampel. EDTA digunakan untuk reaktivasi enzim.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Membran PEC Alginat–Kitosan

Pembuatan membran PEC alginat–kitosan melalui pencampuran larutan natrium alginat dan kitosan dengan ratio 1:1. Natrium alginat dan kitosan yang digunakan dalam pembuatan membran merupakan polimer hidrosol. Ratio 1:1 merupakan ratio optimum untuk membentuk membran PEC. Pada ratio ini interaksi ionik gugus $-\text{NH}_3$ dari kitosan dan gugus $-\text{COO}^-$ dari alginat menghasilkan interaksi terkuat dibandingkan ratio lainnya. Selain itu, suhu pengeringan dan pH campuran juga berpengaruh terhadap pembentukan interaksi ionik tersebut. Suhu pengeringan membran PEC alginat-kitosan optimum pada suhu kamar walaupun dibutuhkan waktu pengeringan lebih lama (± 72 jam). Pada pengeringan suhu kamar, membran PEC yang dihasilkan memiliki bentuk yang kuat dan baik dibandingkan pada suhu pengeringan yang lebih tinggi (60°C). Pada suhu 60°C , membran PEC yang terbentuk rapuh mengindikasikan lebih lemahnya interaksi ionik pada membran.

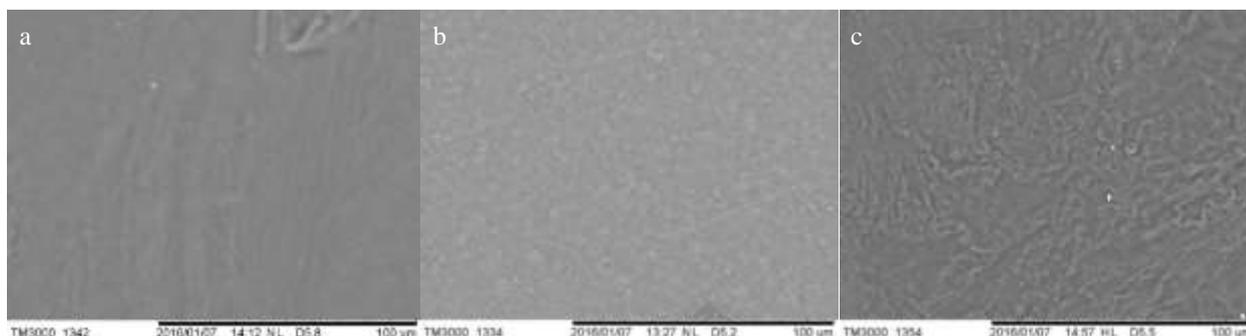
Spektra FTIR membran PEC alginat-kitosan ditunjukkan pada Gambar 1, terdapat absorpsi pada bilangan gelombang 3459 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus $-\text{OH}$ dari alginat dan $-\text{NH}_2$ kitosan, 2924 dan 2870 cm^{-1} adalah serapan dari CH (sp^3), 1578 cm^{-1} adalah vibrasi gugus $-\text{COO}^-$. Hilangnya pita serapan pada daerah 1157 cm^{-1} yang mencirikan gugus amin menunjukkan bahwa gugus amin kitosan telah terprotonasi dan berinteraksi dengan gugus karboksilat alginat (Han et al., 2010). Hal ini diperkuat dengan munculnya puncak pada daerah 1550 cm^{-1} yang menunjukkan keberadaan ion NH_3^+ (Lee et al., 1999). Intensitas puncak pada 1398 cm^{-1} juga menunjukkan interaksi elektrostatis pada membran PEC (Kulig et al., 2016), dengan ratio massa alginat dan kitosan adalah 1:1. Keberadaan pita serapan yang telah disebutkan di atas menunjukkan adanya ikatan ionik antara gugus amina terprotonasi dari kitosan dan gugus karboksilat dari alginat.



Gambar1. Spektra FTIR membran i) kitosan, ii) alginat, dan iii) PEC alginat-kitosan

Bentuk permukaan dari membran PEC alginat–kitosan diketahui melalui *Scanning Electron Microscopy* (SEM) seperti pada Gambar 2. Morfologi membran struktur fibril tidak teratur, memiliki permukaan yang rapat dengan hidrofilisitas yang rendah sehingga derajat

pengembangannya rendah. Pada Gambar IV menunjukkan morfologi permukaan membran PEC alginat-kitosan berbeda dengan membran *single* (alginat dan kitosan), hal ini memberikan kesimpulan bahwa membran polielektrolit alginat-kitosan ini telah terbentuk. Struktur fibril yang tidak teratur menunjukkan membran kompleks yang terbentuk berupa jaringan yang merupakan hasil interaksi elektrostatik alginat-kitosan.



Gambar 2. SEM morfologi permukaan membran a) kitosan, b) alginat, & c) PEC alginat-kitosan

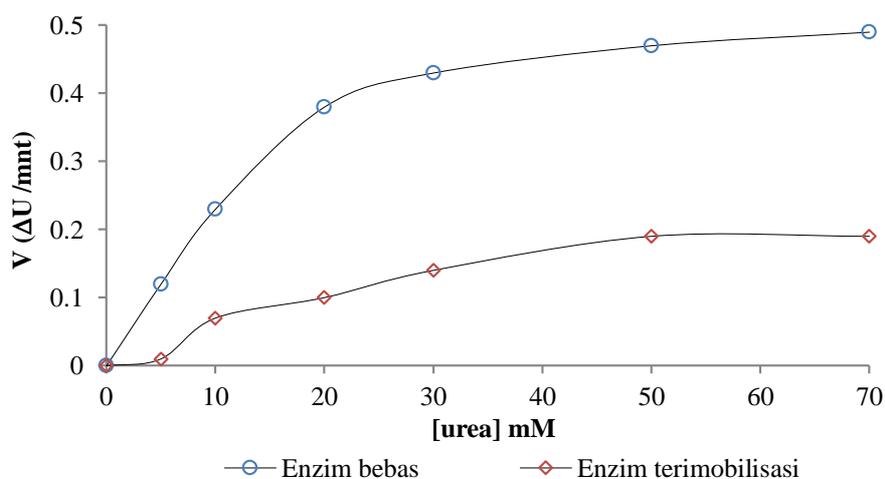
a. Aktifitas Urease terimobil dalam Membran PEC Alginat–Kitosan

Keberhasilan imobilisasi urease dalam membran PEC alginat–kitosan ditunjukkan dengan perubahan warna indikator BTB dari kuning menjadi hijau ketika direaksikan dengan urea. Perubahan warna indikator ini menandakan adanya kenaikan pH (dari pH 6 menjadi pH 7,1) yang disebabkan reaksi pembentukan amoniak sebagai produk hidrolisis urea yang dikatalisis urease terimobilisasi. Gambar 3 menunjukkan perubahan warna indikator BTB yang membuktikan bahwa ada urease yang terjebak dalam rongga membran PEC alginat–kitosan.



Gambar 3. Imobilisasi urease–BTB pada membran PEC alginat–kitosan, (a) sebelum dan (b) sesudah direaksikan dengan urea

Pada Gambar 4 menunjukkan bahwa selama penambahan substrat awal secara berangsur-angsur laju reaksi naik sebanding dengan konsentrasi substratnya, sehingga laju reaksi yang terjadi pada kondisi ini adalah reaksi tingkat pertama (*first order reaction*). Pada penambahan substrat sampai berlebih terlihat bahwa laju semakin konstan hingga tidak ada tambahan laju reaksi lagi (laju maksimum tercapai). Pada keadaan ini semua enzim berada dalam bentuk kompleks dengan substrat sehingga reaksi menjadi tidak tergantung dengan konsentrasi substrat, dan dikatakan laju reaksi berubah menjadi reaksi tingkat ke-nol (*zero order reaction*). Dalam hal ini laju reaksi awal berbanding lurus dengan konsentrasi enzim, sehingga faktor pembatas laju reaksi (*rate-limiting factor*) yang sebenarnya pada kondisi ini adalah konsentrasi enzim.



Gambar 4. Efek konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim pada kondisi bebas dan terimobil

Pada konsentrasi substrat yang sama, kecepatan katalisis enzim bebas lebih besar daripada enzim terimobilisasi sehingga afinitas enzim terhadap substrat urea lebih tinggi bila enzim dalam keadaan bebas. Hal ini dikarenakan substrat perlu berdifusi terlebih dahulu melewati material pendukung lalu melepaskan produknya, sehingga respon enzim dalam keadaan terimobilisasi tidak secepat bila enzim dalam keadaan bebas.

b. Urease Terimobil dalam Membran Alginat–Kitosan dalam Pemonitoran Larutan Hg(II)

Salah satu tipe biosensor adalah biosensor berbasis penghambatan enzim. Biosensor berdasarkan penghambatan agen toksik pada aktivitas enzim tertentu telah digunakan untuk penentuan polutan di lingkungan (Kuswandi, 2003). Metode ini umumnya memerlukan pengukuran kuantitatif aktivitas enzim atau persentase inhibisi sebagai dasar metode analisis. Urease merupakan salah satu enzim paling ekstensif digunakan untuk deteksi Hg^{2+} dalam aplikasi praktis di bidang kesehatan dan lingkungan. Mekanisme kerja enzim pada biosensor pada dasarnya terjadi karena adanya gugus fungsi $-SH$ pada enzim yang merupakan bagian aktif atau situs aktif enzim dan berperan dalam reaksi katalitiknya. Keberadaan ion-ion logam dalam gugus fungsi tersebut akan mengganggu enzim dalam aksi katalitiknya, yang selanjutnya menurunkan aktivitas enzim tersebut. Ikatan antara logam dan enzim sangat kuat dan sering dinyatakan sebagai proses irreversible atau tidak dapat balik. Jadi bila aktivitas enzim tersebut diukur sebelum dan sesudah reaksi dengan ion logam, maka perbedaan aktivitas enzim yang dihasilkan akan memberikan informasi tentang jumlah inhibitor (dalam hal ini konsentrasi ion logam pada sampel).

Biosensor serat optik dan amperometri dikembangkan untuk mendeteksi ion Hg(II) berdasarkan penghambatan urease yang terimobilisasi dalam membran PEC alginat-kitosan dalam sistem larutan. Biosensor serat optik dikembangkan dengan mengimobilisasi urease dalam membran PEC alginat-kitosan, ditambah dengan indikator *bromothymol blue* (BTB) dalam sistem aliran. Sedangkan biosensor amperometri didesain dengan memodifikasi permukaan elektrode SPE dengan membran PEC alginat–kitosan dengan urease yang diimobilisasikan didalamnya.

Optimasi parameter eksperimental merupakan investigasi awal untuk performa biosensor merkuri serat optik dan amperometri. Dalam parameter kimia, sangat penting ditentukan dalam reaksi enzimatik antara lain larutan buffer, pH dan konsentrasi substrat. Larutan bufer fosfat digunakan untuk reaksi enzimatik dengan pH 6, dimana reaksi enzimatik antara sampel dengan

reagen adalah optimum. Tabel 1 menunjukkan beberapa parameter eksperimental biosensor Hg(II) serat optic dan amperometri yang diteliti dan nilai optimumnya.

Tabel 1. Optimasi parameter eksperimental biosensor serat optik dan amperometri dalam pemantauan Hg(II) dalam sistem larutan

Parameter	Biosensor serat optic		Biosensor amperometri	
	Range	Optimum	Range	Optimum
Panjang gelombang (nm)	400–800	580,15		
Potensial kerja (V)			-0.5–0	-0.15
Ph	5–8	6	5 – 8	7
Substrat/Urea (mM)	10–100	75	50–100	75
Laju alir (mL/menit)	10	10		
waktu respon (detik)			0–20	8
Waktu inhibisi (menit)	4–8	7	4 – 8	7
Suhu (°C)	25–35	25	20 – 35	25

Biosensor serat optik diketahui bahwa selisih intensitas terbesar antara larutan analit dan larutan blanko diperoleh pada panjang gelombang 580.15 nm dan pH 6, artinya panjang gelombang dan pH ini ditentukan sebagai pH dimana membran urease-BTB bekerja optimum untuk mendeteksi reaksi hidrolisis urea oleh urease dan digunakan pengukuran selanjutnya. Konsentrasi 75 mM dipilih sebagai konsentrasi optimum substrat untuk menentukan sinyal pembandingan dan mengukur inhibisi ion logam berat. Laju alir substrat selama 10 menit menghasilkan respon intensitas yang relatif konstan. Optimasi waktu inhibisi dimaksudkan untuk memberikan waktu terikatnya ion logam berat pada urease, agar pengukuran selisih intensitas sebelum dan sesudah inhibisi dapat terbaca maksimal. Dengan mengalirkan larutan logam berat selama 7 menit, inhibisi ion logam berat telah dapat teramati. Temperatur kerja dari reaksi enzimatik adalah suhu kamar 25°C merupakan suhu optimum reaksi enzimatik dalam penelitian.

Pada biosensor amperometri diketahui bahwa selisih intensitas terbesar antara larutan analit dan larutan blanko diperoleh pada potensial kerja 0.15 V dan pH 7, artinya potensial kerja dan pH ini ditentukan sebagai potensial dan pH dimana membran urease bekerja optimum untuk mendeteksi reaksi redoks hidrolisis urea oleh urease dengan waktu respon sensor elektroda selama 8 detik. Konsentrasi 75 mM dipilih sebagai konsentrasi optimum substrat untuk menentukan sinyal pembandingan dan mengukur inhibisi ion logam berat. Optimasi waktu inhibisi dengan mengalirkan larutan logam berat selama 7 menit, inhibisi ion logam berat telah dapat teramati. Temperatur kamar 25°C merupakan suhu optimum reaksi enzimatik dalam penelitian.

Respon biosensor serat optik dan amperometri pada pemantauan Hg(II) dalam sistem larutan telah dikaji pada kondisi optimum. Langkah penting selanjutnya adalah menentukan karakteristik analitis dari kinerja biosensor serat optik dan amperometri. Sebagai perbandingan, kinerja analitis seperti rentang linier dan batas deteksi dari biosensor yang diusulkan dan biosensor berbasis enzim lainnya yang dilaporkan dalam literatur semuanya diringkas dalam Tabel 2. Rentang linear dari biosensor pada kajian ini memiliki kisaran konsentrasi Hg(II) relatif rendah. Batas deteksi untuk Hg(II) yang diperoleh dari biosensor penelitian ini lebih rendah daripada oleh biosensor yang dilaporkan sebelumnya. Hasil ini menunjukkan bahwa biosensor yang diusulkan adalah platform yang sangat baik untuk deteksi sensitif Hg(II).

Tabel 2.Perbandingan kinerja untuk deteksi Hg(II) oleh biosensor berbasis inhibisi enzim

Enzim	Matriks imobilisasi	Biosensor transduser	Rentang Linear $\mu\text{g/mL}$	Limit deteksi $\mu\text{g/mL}$	Pustaka
urease	PEC alginat-kitosan	serat optik	0.05–0.5	0.012	hasil penelitian (Hermanto et al., 2019b)
urease	PEC alginat-kitosan	amperometri	0.04–0.09	0.066	(Kuralay et al., 2007)
urease	poly(vinylferrocenium)	amperometri	2.5–115	2.0	(Tsai & Doong, 2005)
urease	TMOS/ FITC-dextran	fluoresense optik sensor	0.2–20	0.2	(Lee&Lee, 2002)
Ache	TMOS	konduktometri	1 -100	1 -100	

4. PENUTUP

PEC alginat–kitosan dapat dibuat melalui pencampuran hidrosol alginat dan hidrosol kitosan dengan ratio 1:1 pada pH 5,28 dengan suhu pencampuran dan pengeringan pada suhu 25 °C. Kondisi optimum biosensor Hg(II) serat optik berbasis imobilisasi urease–BTB dalam membran PEC alginat–kitosan dengan sistem aliran yaitu pengukuran pada panjang gelombang maksimum 580,15 nm, pH 6, konsentrasi substrat 75 mM, laju alir sistem 10 mL/menit, waktu inhibisi 7 menit dan suhu 25°C. Sedangkan kondisi optimum biosensor Hg(II) amperometri berbasis imobilisasi urease dalam membran PEC alginat–kitosan dengan sistem aliran yaitu pengukuran pada potensial kerja -0,15 V, pH 7, konsentrasi substrat 75 mM, waktu respon 8 detik, waktu inhibisi 7 menit dan suhu 25 °C. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa biosensor yang diusulkan adalah platform yang sangat baik untuk deteksi sensitif Hg(II).

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Kementerian Riset Teknologi dan Dikti, Republik Indonesia (Kemenristekdikti) yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Berger, J., Reist, M., Mayer, J. M., Felt, O., Peppas, N. A., & Gurny, R. (2004). Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 57(1), 19–34.
- Datta, S., Christena, L. R., & Rajaram, Y. R. S. (2013). Enzyme immobilization: an overview on techniques and support materials. *Biotech*, 3(1), 1–9.
- David, A. E., Sun, N., Yang, V. C., & Yang, A. J. (2006). Chemically surface modified gel (CSMG): An excellent enzyme-immobilization matrix for industrial processes. *Journal of Biotechnology*, 125, 395–407.
- Elçin, A. E., & Elçin, Y. M. (2000). Polycation-coated polyanion microspheres of urease for urea hydrolysis. *Artificial Cells, Blood Substitutes, and Immobilization Biotechnology*, 28(1), 95–111.
- Han, J., Zhou, Z., Yin, R., Yang, D., & Nie, J. (2010). Alginate-chitosan/hydroxyapatite polyelectrolyte complex porous scaffolds: Preparation and characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 46(2), 199–205.
- Hermanto, D., Mudasir, M., Siswanta, D., & Kuswandi, B. (2019a). Synthesis of Alginate-

- Chitosan Polyelectrolyte Complex (PEC) Membrane and Its Physical-Mechanical Properties. *Journal of Scientific and Applied Chemistry*, 22(1), 11–16.
- Hermanto, D., Kuswandi, B., Siswanta, D., & Mudasir, M. (2019b). Inhibitive Determination of Hg(II) in Aqueous Solution Using Urease Amperometric Biosensor. *Indonesian Journal Of Chemistry*, 19(3), 786–795.
- Lee, J. W., Kim, S. Y., Kim, S. S., Lee, Y. M., Lee, K. H., & Kim, S. J. (1999). Synthesis and characteristics of the interpenetrating polymer network hydrogel composed of chitosan and poly(acrylic acid). *Journal of Applied Polymer Science*, 73, 113–120.
- Kaban, J., Bangun, H., Dawolo, A. K., & Daniel. (2006). Pembuatan membran kompleks polielektrolit. *Jurnal Sains Kimia*, 10(1), 10–16.
- Kayastha, A. M., Srivastava, P. K., Miksa, B., & Slomkowski, S. (2003). Unique activity of ureases immobilized on microspheres. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 18(3), 113–124.
- Knill, C. J., Kennedy, J. F., Mistry, J., Mirafteb, M., Smart, G., Grocock, M. R., & Williams, H. J. (2004). Alginate fibres modified with unhydrolysed and hydrolysed chitosans for wound dressings. *Carbohydrate Polymers*, 55(1), 65–76.
- Kulig, D., Zimoch-Korzycka, A., Jarmoluk, A., & Marycz, K. (2016). Study on alginate-chitosan complex formed with different polymers ratio. *Polymers*, 8(5), 1–17.
- Kuralay, F., Ozy, H., & Yıldız, A. (2007). Inhibitive determination of Hg²⁺ ion by an amperometric urea biosensor using poly(vinylferrocenium) film, *J. Enzymictec.*, 40, 1156–1159.
- Kuswandi, B. (2003). Simple optical fibre biosensor based on immobilised enzyme for monitoring of trace heavy metal ions. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 376(7), 1104–1110.
- Lee, S., & Lee, W. (2002). Determination of heavy metal ions using conductometric biosensor based on sol-gel-immobilized urease. *Bull. Korean Chem. Soc.*, 23(8), 1169–1172.
- Pereira, E. B., Zanin, G. M., & Castro, H. F. (2003). Immobilization and catalytic properties of lipase on chitosan for hydrolysis and esterification reactions. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 20(4), 343–355.
- Sirisha, V. L., Jain, A., & Jain, A. (2016). Enzyme Immobilization: An Overview on Methods, Support Material, and Applications of Immobilized Enzymes. *Advances in Food and Nutrition Research*, 79(1), 179–211.
- Tsai, H., & Doong, R. (2005). Simultaneous determination of pH, urea, acetylcholine and heavy metals using array-based enzymatic optical biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*, 20, 1796–1804.
- Yabuki, S. (2011). Polyelectrolyte complex membranes for immobilizing biomolecules, and their applications to bio-analysis. *Analytical Sciences*, 27(7), 695–702.