

BIOSENSOR KONDUKTOMETRI BERBASIS SPCE-KITOSAN UNTUK MENDETEKSI DIAZINON DAN MALATHION

Alfi Azizah, Ani Mulyasuryani(*), Sutrisno

*Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya
Jl. Veteran Malang 65145*

*Alamat korespondensi, Telp : +62-341-575838, Fax : +62-341-575835
Email: mulyasuryani@ub.ac.id

ABSTRAK

Pestisida organofosfat merupakan jenis pestisida yang direkomendasikan oleh Departemen pertanian RI. Penelitian untuk mengukur residu pestisida organofosfat telah dilakukan menggunakan biosensor. Perancangan biosensor dilakukan dengan tahapan optimasi luas elektroda kerja yakni 3 mm²; 5 mm²; dan 7 mm². Elektroda kerja merupakan *Screen Printed Carbon Electrode*(SPCE) yang telah dilapisi dengan membran kitosan, glutaraldehid 0,5%, dan organofosfat hidrolase (OPH). OPH merupakan enzim hasil isolasi bakteri *Pseudomonas putida* dengan konsentrasi yakni 142 µg/mL dan 177 µg/mL. Larutan uji yang digunakan adalah larutan diazinon dan malathion pada kisaran konsentrasi 0 sampai 0,1 ppm dalam buffer tris –asetat 0,05 M pH 8,5. Hasil penelitian menunjukkan bahwa biosensor organofosfat dengan konsentrasi OPH mempunyai kinerja lebih baik daripada konsentrasi OPH 142 µg/mL. Hasil optimasi biosensor organofosfat menunjukkan bahwa luas elektroda *screen-print carbon* 5 mm² menggunakan enzim OPH 177 µg/mL memiliki kisaran kepekaan paling tinggi (144-162 µS/ppm) dengan batas deteksi untuk masing-masing organofosfat, yaitu, 0,06 ppm (diazinon) dan 0,04 ppm (malathion).

Kata kunci: biosensor, organofosfat, organofosfat hidrolase, SPCE

ABSTRACT

Organophosphate pesticides was kind of pesticides recommended by Agricultural Department RI. Detection of organophosphates residue had been researched by biosensor. Design of biosensor was done by optimization of working electrodes area (3 mm²; 5 mm²; and 7 mm²). Working electrode is *Screen Printed Carbon Electrode*(SPCE) which was coated by chitosan membrane, glutaraldehyde 0.5%, and organophosphate hydrolase(OPH). OPH was isolated from *Pseudomonas putida* resulting enzyme with concentration of 142 µg/mL and 177 µg/mL OPH. The sample solution was diazinon and malathion solution on range concentration 0 ppm until 0.1 ppm at tris-acetate buffer 0.05 M pH 8.5. The result of research showed that organophosphate biosensor of 177 µg/mL OPH worked better than 142 µg/mL OPH. The Optimization result of organophosphate biosensor showed that screen printed carbon electrode of 5 mm² using 177 µg/mL OPH's enzyme had ranged the best sensitivity (144-162 µS/ppm) with limit detection from each of organophosphate. It was 0.06 ppm (diazinon) and 0.04 ppm (malathion).

Keywords: biosensor, organophosphate, organophosphate hydrolase, SPCE

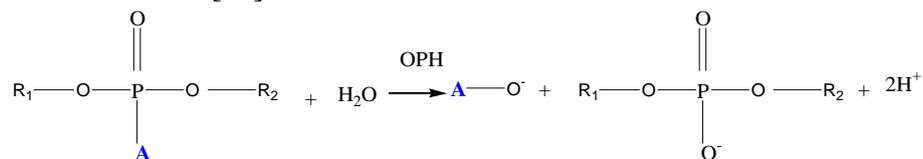
PENDAHULUAN

Diazinon dan malathion merupakan jenis pestisida yang direkomendasikan oleh Departemen pertanian Indonesia. Berdasarkan peraturan dari Badan Standarisasi Nasional Indonesia, batas maksimum residu (BMR) pestisida diazinon dan malathion pada sayuran kubis sebesar 0,5 ppm[1]. Residu pestisida yang terakumulasi dalam tubuh manusia dapat menghambat aktivitas asetilkolinesterase sehingga transmisi impuls syaraf menjadi

terganggu[2]. Oleh karena itu diperlukan suatu metode analisis untuk menentukan kadar residu pestisida organofosfat. Metode standar yang digunakan untuk menganalisis residu organofosfat adalah Kromatografi Gas (KG) dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi(KCKT). Hasil penelitian menunjukkan batas deteksi dari masing-masing metode berturut-turut sebesar 0,22 ppm dan 1,7 ppm [3,4]. Namun demikian, metode - metode tersebut membutuhkan waktu analisis sampel yang lama dan belum dapat diaplikasikan pada sampel nyata[5]. Oleh karena itu, diperlukan suatu metode analisis yang lebih cepat dan akurat untuk menganalisis residu pestisida organofosfat pada hasil pertanian. Salah satu metode dengan keunggulan tersebut adalah biosensor.

Biosensor yang telah dikembangkan untuk menganalisis residu pestisida organofosfat antara lain adalah biosensor potensiometri diazinon dengan batas deteksi sebesar $3,39 \times 10^{-7}$ M dan waktu respon 280 detik[5], biosensor amperometri malathion dengan batas deteksi sebesar 5×10^{-6} M [6] dan biosensor konduktometri diazinon dengan batas deteksi yang lebih rendah dibandingkan biosensor elektrokimia lainnya yakni 22,3 ppm dan waktu respon 90 detik[7]. Dari hasil penelitian tersebut, ditunjukkan bahwa metode konduktometri memiliki waktu respon yang cepat namun belum dapat diaplikasikan pada sayuran. Untuk itu, metode biosensor konduktometri organofosfat perlu dikembangkan untuk meningkatkan kinerja biosensor agar dapat diaplikasikan dalam analisis residu organofosfat pada hasil pertanian.

Pada penelitian ini telah dilakukan deteksi residu organofosfat menggunakan biosensor konduktometri yang didasarkan pada reaksi hidrolisis oleh organofosfat hidrolase. Reaksi hidrolisis residu organofosfat secara umum dapat dilihat pada Gambar 1. Organofosfat hidrolase (OPH) merupakan hasil isolasi *Pseudomonas putida*, yang mampu bekerja secara optimal pada pH 8,5[8]. Pada kondisi tersebut OPH dapat mengkatalisis reaksi hidrolisis malathion menjadi ion H^+ , O,O dimetil fosforotioat dan 1,2-bis(etoksikarbonil)etil-1-sulfida serta diazinon menjadi ion O,O dietil fosforotioat dan 2-isopropil-6-metil pirimidin-4-ol serta ion H^+ [9]. Ion H^+ yang dihasilkan dari reaksi hidrolisis tersebut dan mencapai elektroda kerja diukur secara konduktometri[10].



Gambar 1. Reaksi hidrolisis organofosfat yang dikatalis oleh enzim OPH. A=gugus fungsi "R-O,R-S, F atau CN

Kinerja biosensor konduktometri organofosfat dipengaruhi oleh konsentrasi enzim OPH yang teramobilkan secara pengikat silang. Berdasarkan persamaan Michaelis-Menten, peningkatan konsentrasi enzim menyebabkan laju reaksi enzimatik berjalan dengan cepat. Ketika konsentrasi organofosfat tetap, pembentukan hasil hidrolisis dipengaruhi oleh konsentrasi enzim yang digunakan[11]. Dengan demikian, secara tidak langsung konsentrasi enzim berpengaruh terhadap kinerja biosensor.

Secara konduktometri, kinerja biosensor juga dipengaruhi oleh luas permukaan elektroda yang digunakan. Dalam penelitian ini elektroda yang digunakan adalah SPCE (*Screen Printed Carbon Elektrode*) yang dilapisi dengan larutan kitosan, glutaraldehid, dan organofosfat hidrolase. Menurut Gunzler,dkk. [12], luas permukaan elektroda sebanding dengan daya hantar larutan. Oleh karena itu, pada penelitian ini pengaruh konsentrasi OPH dan luas permukaan elektroda dipelajari lebih lanjut untuk meningkatkan kinerja biosensor konduktometri dalam menganalisis residu organofosfat diazinon dan malathion.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan antara lain enzim organofosfat hidrolase (OPH) (142 µg/mL dan 177 µg/mL) hasil isolasi dari bakteri *Pseudomonas putida*, pestisida organofosfat malathion (Rider), diazinon (Diazinon 60 EC), padatan tris, kitosan, larutan asam asetat glacial 99,7%, akuades, larutan glutaraldehid 0,5%.

Peralatan

Alat yang digunakan antara lain seperangkat alat gelas, pH meter, neraca analitik, magnetic stirrer, diazinon meter, oven, microplate, refrigerator, dan *screen printed carbon electrode* dengan luas 3 mm², 5 mm², dan 7 mm².

Prosedur Kerja

Preparasi Pembuatan Biosensor Organofosfat

Screen Printed Carbon Electrode dibuat dengan luas permukaan 3 mm²; 5 mm²; dan 7 mm². Kemudian, masing-masing elektroda dilapisi dengan 10 µL larutan kitosan dan dikeringkan selama 30 menit pada temperatur 50°C. Setelah kering, elektroda dilapisi dengan konsentrasi OPH 142 µg/mL sebanyak 25 µL dan glutaraldehid 0,5% sebanyak 10 µL, lalu dikeringkan dalam refrigerator selama 24 jam. Dilakukan tahapan yang sama untuk konsentrasi OPH 177 µg/mL.

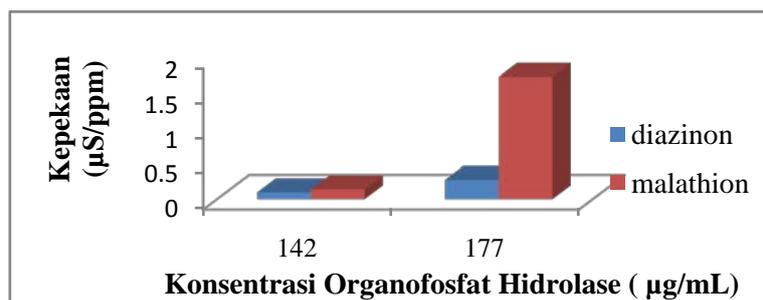
Pengukuran dan Optimasi Biosensor Konduktometri Organofosfat

Screen Printed Carbon Electrode dihubungkan pada biosensor konduktometer. Jarak antar elektroda diatur kurang lebih 0,1 cm. Kemudian elektroda dicelupkan ke dalam masing-masing konsentrasi larutan uji organofosfat pH 8,5 secara bergantian. Kisaran konsentrasi organofosfat yang digunakan adalah 0 sampai 0,1 ppm yang dilarutkan dengan buffer trisasetat 0,05 M pH 8,5. Diukur daya hantar masing-masing larutan uji organofosfat menggunakan biosensor konduktometer. Pengukuran ini dicatat setiap 10 detik (selama 1 siklus). Pengukuran masing-masing konsentrasi organofosfat dilakukan sebanyak 5 kali dengan elektroda baru. Setiap kali selesai pengukuran, elektroda dibilas dengan buffer trisasetat pH 8,5. Lalu dibuat kurva hubungan daya hantar terhadap konsentrasi organofosfat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Konsentrasi OPH terhadap Kinerja Biosensor

Dibuat kurva hubungan antara konsentrasi OPH dengan kepekaan biosensor (Gambar 2).



Gambar 2. Hubungan konsentrasi organofosfat hidrolase (OPH) terhadap kepekaan biosensor

Pada konsentrasi organofosfat yang tetap, konsentrasi enzim berpengaruh terhadap kecepatan reaksi enzimatik[11]. Gambar 2 menunjukkan bahwa konsentrasi OPH 177 µg/mL memiliki kepekaan lebih tinggi dibandingkan konsentrasi OPH 142 µg/mL. Hal ini disebabkan oleh konsentrasi OPH 177 µg/mL memiliki konsentrasi enzim lebih tinggi dibandingkan konsentrasi OPH 142 µg/mL. Peningkatan konsentrasi OPH menyebabkan reaksi hidrolisis berlangsung cepat sehingga hasil hidrolisis yang terbentuk yakni ion H^+ dan mencapai permukaan elektroda menjadi lebih banyak. Ion-ion H^+ yang berdifusi ke permukaan elektroda berpengaruh terhadap kepekaan biosensor. Dengan demikian, secara tidak langsung peningkatan konsentrasi OPH dapat meningkatkan kepekaan biosensor sehingga kinerja biosensor yang dihasilkan menjadi lebih optimal.

Pengaruh Luas Elektroda terhadap Kinerja Biosensor

Dibuat kurva hubungan antara luas permukaan elektroda terhadap kepekaan biosensor. Hasil pengolahan data dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh luas permukaan elektroda terhadap kinerja biosensor

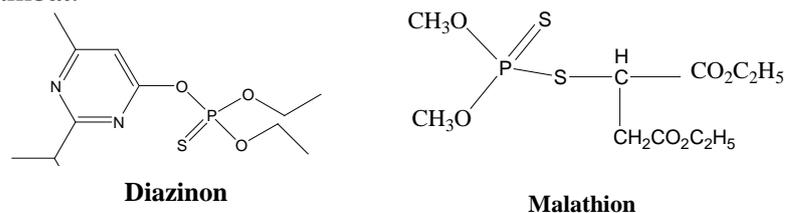
Luas elektroda(mm ²)	Kepekaan (μS/ppm)	
	Diazinon	Malathion
3	53	59
5	162	144
7	72	87

Hasil pengukuran daya hantar pada Tabel 1 telah menunjukkan bahwa luas permukaan elektroda berpengaruh terhadap harga daya hantar organofosfat. Berdasarkan Gambar 3, luas permukaan sel daya hantar berbanding lurus terhadap harga daya hantar larutan[12]. Akan tetapi, hasil pengukuran daya hantar pada kisaran luas permukaan elektroda yang diperoleh tidak sebanding dengan kepekaan biosensor yang dihasilkan. Hal ini ditunjukkan pada Tabel 1, diketahui bahwa luas permukaan elektroda 5 mm² memiliki kepekaan lebih tinggi dibandingkan biosensor dengan luas permukaan 7 mm². Hal ini disebabkan oleh jumlah OPH yang dilapisi pada elektroda kurang tersebar merata dan kemampuan alat biosensor terbatas.

$$G = \frac{1}{R} = k \frac{A}{l}$$

Gambar 3. Persamaan daya hantar larutan, G = daya hantar/konduktivitas (Siemens (S)), R = hambatan (Ohm), k = konduktivitas spesifik (S cm⁻¹), A = luas permukaan sel daya hantar (cm²), l = jarak antar elektroda (cm)

Pada Tabel 1, biosensor malathion memiliki kepekaan lebih tinggi dibandingkan biosensor diazinon. Kepekaan biosensor diazinon yang rendah disebabkan oleh struktur diazinon mengandung senyawa aromatik yakni pirimidin yang terstabilkan oleh efek konjugasi. Selain itu pada ikatan fosfoester diazinon, atom oksigen yang terikat pada atom fosfor cenderung memiliki daya tarik lebih kuat dibandingkan atom sulfur. Oleh sebab itu, reaksi hidrolisis diazinon lebih sulit terjadi dibandingkan malathion sehingga laju hidrolisis diazinon menjadi lambat.



Gambar 4. Struktur organofosfat

Batas Deteksi Biosensor Konduktometri Organofosfat

Berdasarkan kurva hubungan antara daya hantar larutan terhadap konsentrasi larutan uji organofosfat diperoleh persamaan regresi linier $y = ax + b$. Nilai absis (sumbu x) menunjukkan batas deteksi biosensor tersebut.

Tabel 2. Batas deteksi organofosfat pada biosensor konduktometri organofosfat

Organofosfat	Batas deteksi (ppm)
Diazinon	0,06
Malathion	0,04

Pada penentuan batas deteksi, biosensor konduktometri menghasilkan batas deteksi dibawah batas maksimum residu pestisida organofosfat yang diperbolehkan oleh Badan Standarisasi Nasional pada hasil pertanian. Dari Tabel 2, diperoleh batas deteksi masing-masing organofosfat sebesar 0,06 ppm (diazinon) dan 0,04 ppm (malathion). Hasil ini dipengaruhi oleh kepekaan biosensor konduktometri enzim OPH yang tinggi sehingga mampu menghasilkan batas deteksi yang rendah. Dari hasil kinerja biosensor konduktometri menggunakan enzim OPH menunjukkan bahwa metode ini dapat diterapkan pada sampel nyata.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kinerja biosensor optimum dihasilkan pada konsentrasi OPH 177 $\mu\text{g/mL}$ dengan luas elektroda 5 mm^2 . Biosensor dapat digunakan untuk mengukur kadar diazinon dan malathion pada kisaran konsentrasi 0 sampai 0,1 ppm dengan kepekaan terhadap diazinon sebesar 162 $\mu\text{S/ppm}$ dan malathion 144 $\mu\text{S/ppm}$. Batas deteksi diazinon sebesar 0,06 ppm dan batas deteksi malathion sebesar 0,04 ppm. Batas deteksi menunjukkan biosensor konduktometri organofosfat mampu mendeteksi residu pestisida organofosfat di bawah batas maksimum residu pestisida organofosfat yang diperbolehkan pada hasil pertanian dan dapat diterapkan pada sampel nyata.

DAFTAR PUSTAKA

1. Tim Badan Standarisasi Nasional, 2008, Batas Maksimum Residu Pestisida pada Hasil Pertanian, SNI: 7313;2008, Standarisasi Nasional Indonesia, Jakarta, 22 dan 84.
2. Runia, Yodencia Assti, 2008, *Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Keracunan Pestisida Organofosfat, Karbamat, dan kejadian Anemia pada Petani Hortikultura Desa Tejosari*

- kecamatan Ngablak Kabupaten Magelang, Tesis, Program Studi Magister Kesehatan Lingkungan, Universitas Diponegoro, Semarang, 26-50.
3. Sismindari, Bambang S., Abdul Rohman, Harsojo, Tri Joko R., 2006, *Analisis Residu Pestisida Organofosfat Diazinon, Profenofos, dan Ethion dalam Kubis secara Kromatografi Gas*, Prosiding PPIS, Edisi 2006, 21, Badan Standarisasi Nasional, Jakarta.
 4. Trian, Herti, 2001, *Analisis Residu Metidation dengan Metode KCKT untuk Menentukan Tingkat Bioremediasi Pestisida Organofosfat Metidation oleh Mikroba Indigenous*, Skripsi, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 1-6.
 5. Azis, Thamrin. 2012. *Desain dan Karakterisasi Biosensor Berbasis Immobilisasi Enzim Untuk Analisis Residu Pestisida Diazinon Dalam Tanaman Kubis (Brassica oleraceae)*, *Paradigma*, 16(1), 57-66.
 6. Gahlaut, Anjum, Ashih Gothwal, Anil K. Chhillar, Vikas Hooda. 2012. *Electrochemical Biosensor for Determination of Organophosphorus Compounds : Review*, *Applied Bioesensor*, 1, 1-8.
 7. Prayoga, I., 2012, *Pengaruh Konsentrasi Glutaraldehyda yang Ditambahkan pada Membran Kitosan terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri Diazinon*, Skripsi, Universitas Brawijaya, Malang, 17-23
 8. Prayoga, I., 2013, *Pembuatan dan Karakterisasi Biosensor Dizinon Menggunakan Organofosfat Hidrolase yang Diamobilkan pada Screen Printed Carbon Electrode yang Dimodifikasi dengan BSA-Glutaraldehyd*, Tesis, Universitas Brawijaya, Malang, 29-42.
 9. Cremlyn, R.J., 1991, *Agrochemicals Preparation and Mode Action*, John Wiley and Sons, England, 105-119.
 10. Renault, N.J. dan Dzyadevych, S.V., 2008, *Conductometric Microbiosensors for Environmental Monitoring*, *Sensors*, 8, 2569-2588.
 11. Eggins, B.R., 2002, *Chemical Sensor and Biosensor*, John Wiley and Sons, Ltd, England, 92-101.
 12. Gunzler, helmut dan Alex Williams, 2001, *Handbook of Analytical Techniques*, Edisi 01, Wiley-VCH, Jerman, 959-969.