

PENGARUH MASSA ORGANOFOSFAT HIDROLASE DAN LUAS ELEKTRODA TERHADAP KINERJA BIOSENSOR KONDUKTOMETRI UNTUK MENDETEKSI RESIDU PESTISIDA Klorpirifos dan Profenofos Berbasis SPCE-KITOSAN

Aninda Kartika Nareswari, Ani Mulyasuryani*, Sutrisno

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

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

ABSTRAK

Batas maksimum residu (BMR) dari profenofos dan klorpirifos pada buah-buahan dan sayuran, yaitu berturut-turut 0.05 – 0.5 mg/kg dan 0.05 – 0.1 mg/kg. Tujuan dari penelitian adalah pembuatan biosensor untuk mendeteksi profenofos dan klorpirifos. Penelitian mempelajari pengaruh massa Organofosfat hidrolase dan luas elektroda terhadap kinerja biosensor. Massa OPH dipelajari menggunakan massa 142 μg dan 177 μg yang diamobilkan pada elektroda SPC berbasis kitosan. Luas elektroda dioptimalisasi pada luas 3, 5, dan 7. Biosensor dievaluasi menggunakan larutan profenofos dan klorpirifos pada konsentrasi 0 – 0.1 ppm dalam buffer tris-asetat pada pH 8,5. Hasil penelitian menunjukkan biosensor dengan OPH 177 μg menunjukkan kinerja yang lebih baik. Kepekaan biosensor lebih tinggi ditunjukkan oleh biosensor dengan luas elektroda 5 mm² dengan kepekaan 93 $\mu\text{S/ppm}$ and 174 $\mu\text{S/ppm}$ berturut-turut untuk klorpirifos dan profenofos. Limit deteksi yang didapatkan adalah 0.05 ppm untuk klorpirifos dan 0.04 ppm untuk profenofos

Kata kunci: biosensor, luas elektroda, *Organofosfat hidrolase*, profenofos, klorpirifos, *Screen-Printed Carbon Electrode*

Maximum residue limit (MRL) of profenofos and chlorpyrifos in fruits and vegetables is 0.05 - 0.5 mg/kg and 0.05 - 0.1 mg/kg respectively. The aim of research is construction of biosensor for profenofos and chlorpyrifos detections. The research studied of Organophosphate hidrolase's mass and electrode area effects on the performance of biosensor. Mass of OPH was studied at 142 μg and 177 μg immobilized on SPCE-Chitosan. The area of electrode was optimized at 3, 5, 7 mm². The biosensor was evaluated at 0 to 0.1 ppm of profenofos and chlorpyrifos solutions in 0.05 M tris-acetate buffer pH 8,5. The result showed that, the biosensor with OPH 177 μg has a better performance. The higher sensitivity of biosensor was resulted at 5 mm² at 93 $\mu\text{S/ppm}$ and 174 $\mu\text{S/ppm}$ respectively for chlorpyrifos and profenofos. The detection limit is 0.05 ppm for chlorpyrifos and 0.04 ppm for profenofos.

Keywords: biosensor conductometri, *Organophosphate hidrolase*, profenofos, chlorpyrifos, *Screen-Printed Carbon Electrode*

PENDAHULUAN

Penggunaan pestisida contohnya klorpirifos dan profenofos sebagai senyawa kimia untuk mengendalikan serangga atau hama pada hasil pertanian khususnya sayuran dan buah-buahan dapat meninggalkan residu yang dapat membahayakan kesehatan [1]. Standart Nasional Indonesia (SNI) menetapkan batas maksimum residu (BMR) pestisida pada hasil pertanian, yaitu 0,05 mg/kg – 0,5 mg/kg untuk residu profenofos, dan 0,05 mg/kg – 0,1 mg/kg

untuk residu klorpirifos [2]. Untuk mengontrol kadar pestisida dalam sayuran dan buah-buahan, dibutuhkan metode standar yang digunakan untuk menentukan kadar pestisida yaitu metode kromatografi yang meliputi kromatografi gas (GC) dan kromatografi cair tekanan tinggi (KCKT). Metode standar tersebut mampu mendeteksi kadar pestisida dengan batas deteksi yang masih lebih besar dari BMR yang diijinkan [3,4,5]. Dengan demikian diperlukan metoda yang lebih sensitif. Biosensor diharapkan dapat mendeteksi kadar residu pestisida secara lebih sensitif karena kerja biosensor lebih selektif. Biosensor untuk mendeteksi pestisida telah dikembangkan secara konduktometri dan amperometri.

Kinerja biosensor secara umum dipengaruhi oleh pH, massa enzim, metode amobilisasi, dan luas elektroda kerja. Pengaruh massa enzim terhadap kinerja biosensor didasarkan pada persamaan Michaelis-Menten yang menunjukkan bahwa peningkatan massa enzim menyebabkan laju reaksi enzimatik berjalan dengan cepat. Laju reaksi enzimatik yang berjalan cepat akan meningkatkan daya hantar yang dihasilkan. Sinyal daya hantar tersebut akan memengaruhi kepekaan dari biosensor konduktometri[6].

Menurut Eggins;2002 [7], daya hantar yang terbaca juga berbanding lurus dengan luas elektroda. Hal ini dikarenakan daya hantar dari suatu larutan bergantung pada konduktivitas spesifik, luas permukaan sel daya hantar dan jarak antar elektroda[6]. Pada penelitian ini elektroda yang digunakan adalah SPCE (Elektroda *Screen-Printed Carbon*) yang dilapisi dengan OPH dengan bantuan membran kitosan dan larutan glutaraldehid. Jarak antar elektroda diatur sedemikian rupa hingga nilainya konstan. Metode amobilisasi dan pH, pada penelitian ini, merujuk pada penelitian Prayoga,2012 dan 2013 [8,9].

METODA PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan–bahan yang digunakan adalah enzim organofosfat hidrolase dengan konsentrasi 5666 µg/mL (massa 142 µg) dan 7089 µg/mL (massa 177 µg) hasil isolasi dari bakteri *Pseudomonas putida*, pestisida organofosfat profenofos (Curacron) dan klorpirifos (Dursban), padatan tris(hidroksimetil) aminometan, kitosan, larutan asam asetat glacial 99,7%, akuades, larutan glutaraldehid 25%

Alat–alat yang digunakan antara lain peralatan gelas umum, pH meter (Schoot-Gerate tipe cg 820), neraca analitik (Ohaus), magnetic stirer, diazinon meter, oven (Memmert), pipet

mikro (Accumax pro), microplate, refrigerator, dan elektroda *Screen Printed Carbon* (SPCE) dengan luas 3 mm², 5 mm², dan 7 mm².

PROSEDUR

Amobilisasi Organofosfat Hidrolase

Screen Printed Carbon Electrode dibuat dengan luas permukaan (1 x 3) mm²; (1 x 5) mm²; dan (1 x 7) mm². Kemudian, sebanyak 10 µL larutan kitosan dilapiskan pada masing-masing elektroda dan dikeringkan selama kurang lebih 30 menit pada temperature kira-kira 50°C. Setelah kering, elektroda dilapisi dengan enzim organofosfat hidrolase dengan konsentrasi 5666 µg/mL sebanyak 25 µL (142 µg) dan glutaraldehid 0,5% sebanyak 10 µL, lalu dikeringkan dalam refrigerator selama 24 jam. Dilakukan tahapan yang sama untuk enzim organofosfat hidrolase dengan konsentrasi 7089 µg/mL (177 µg).

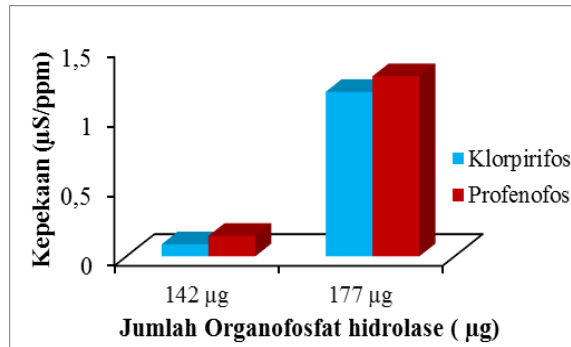
Pengukuran dan Optimasi Biosensor Konduktometri Organofosfat

Elektroda karbon yang tidak dilapisi dengan kitosan, enzim Organofosfat hidrolase, dan glutaraldehid 0,5% dihubungkan pada kutub positif biosensor konduktometer. Selanjutnya elektroda kerja enzim OPH 142 µg dengan luas permukaan (1 x 3) mm² dihubungkan pada kutub negatif biosensor konduktometer. Jarak antar elektroda diatur kurang lebih 0,1 cm. Kemudian elektroda dicelupkan ke dalam masing-masing konsentrasi larutan uji profenofos dan klorpirifos secara bergantian. Diukur daya hantar masing-masing larutan uji organofosfat menggunakan biosensor konduktometer. Pengukuran ini dicatat setiap 10 detik (selama 1 siklus). Pengukuran diulang masing-masing 5 kali dengan elektroda baru. Lalu dibuat kurva hubungan daya hantar terhadap konsentrasi organofosfat. Dilakukan prosedur yang sama untuk luas permukaan elektroda lainnya dan enzim dengan massa 177 µg.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Massa Organofosfat hidrolase terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri

Berdasarkan data hasil penelitian sesuai prosedur pada subbab 3.4.3.4 diperoleh kurva hubungan antara massa OPH dengan kepekaan biosensor pada Gambar 4.1. Kepekaan yang lebih besar dihasilkan oleh OPH dengan massa 177 µg yaitu sebesar 1,18 µS/ppm (klorpirifos) dan 1,29 µS/ppm (profenofos). Kepekaan sebanding dengan massa OPH yang diamobilkan pada elektroda. Berdasarkan persamaan Michaelis – Menten pada subbab 2.3 menunjukkan bahwa kecepatan reaksi dipengaruhi langsung oleh massa enzim [9].



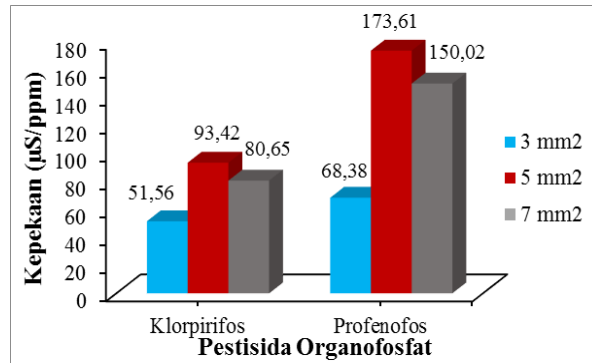
Gambar 4.1 Hubungan massa enzim organofosfat hidrolase terhadap kepekaan biosensor

OPH yang digunakan dalam penelitian ini adalah hasil isolasi dari bakteri *Pseudomonas putida* yang difraksinasi menggunakan ammonium sulfat. Enzim OPH dengan massa 142 µg merupakan enzim hasil fraksinasi 0 – 45%, sedangkan massa 177 µg merupakan enzim hasil fraksinasi 45 – 65%. Menurut Palmer:1991 [10], aktivitas spesifik dari suatu enzim merupakan penentuan kemurnian dari enzim tersebut. Enzim akan memiliki aktivitas spesifik yang meningkat dalam keadaan yang lebih murni dibandingkan ekstrak kasarnya. Aktivitas spesifik enzim merupakan massa unit (U) yang menunjukkan massa µmol substrat yang diubah oleh setiap µg protein enzim per menit [11].

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh massa enzim, dapat disimpulkan bahwa kinerja biosensor dipengaruhi massa enzim yang teramobilkan. Massa OPH 177 µg yang memiliki kepekaan 11 kali lebih besar dibanding kepekaan yang ditunjukkan oleh massa OPH 142 µg. Massa OPH 177 µg digunakan untuk penentuan pengaruh luas permukaan elektroda terhadap kinerja biosensor.

Pengaruh Luas Permukaan Elektroda terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri

Berdasarkan data dari penentuan pengaruh massa enzim OPH terhadap kinerja enzim, kepekaan yang dihasilkan biosensor masih relatif kecil. Hal ini disebabkan massa enzim OPH yang digunakan belum cukup menghidrolisis substrat dalam konsentrasi yang besar, sehingga pada penentuan luas permukaan elektroda terhadap kinerja biosensor digunakan konsentrasi substrat yang lebih kecil yaitu 0 – 0,1 ppm. Pada teori hubungan antara daya hantar dan luas permukaan yang telah dijelaskan pada subbab 2.1 bahwa luas permukaan elektroda berbanding lurus dengan daya hantar [12].



Gambar 4.3. Hubungan luas elektroda dengan kepekaan biosensor menggunakan massa OPH 177 µg

Penurunan kepekaan biosensor dengan luas elektroda 7 mm² disebabkan ketidakmerataan enzim pada permukaan elektroda. Dibandingkan dengan luas permukaan 3 dan 5 mm², konsentrasi ion H⁺ lebih sedikit berdifusi ke permukaan biosensor dengan luas elektroda 7 mm². Hal ini dikarenakan, banyaknya massa enzim teramobilkan pada biosensor dengan luas elektroda 7 mm² tidak mencukupi untuk mengubah substrat menjadi produk. Dengan demikian, pengaruh luas permukaan terhadap kinerja biosensor mengacu pada kepekaan yang ditunjukkan oleh biosensor dengan luas permukaan 5 mm² yang merupakan luas permukaan optimum untuk menentukan batas deteksi biosensor pada penelitian ini.

Karakterisasi Biosensor Konduktometri Organofosfat

Karakterisasi yang dilakukan pada biosensor konduktometri organofosfat pada penelitian ini berguna untuk menentukan kondisi optimal dari biosensor tersebut untuk menunjukkan kinerja yang baik. Pada karakterisasi biosensor konduktometri organofosfat didapatkan kurva hubungan antara konsentrasi organofosfat dan daya hantar larutan pada konsentrasi organofosfat 0 – 0,1 ppm. Data daya hantar yang ditunjukkan, digunakan untuk menentukan batas deteksi dari biosensor konduktometri.

Tabel 4.1. Batas deteksi biosensor konduktometri organofosfat

Parameter	Biosensor Organofosfat	
	Klorpirifos	Profenofos
Kisaran Konsentrasi	0-0,1 ppm	0-0,1 ppm
Kepekaan	93 µS/ppm	174 µS/ppm
Batas Deteksi	0,05 ppm	0,04 ppm

Batas deteksi merupakan salah satu parameter karakterisasi untuk menunjukkan kinerja dari biosensor. Batas deteksi pada suatu metode analisis residu pestisida merupakan batas nilai terkecil dari residu pestisida dalam larutan uji yang dapat diukur dengan metode analisa yang digunakan. Batas deteksi yang didapat dari pengolahan data daya hantar dapat ditunjukkan oleh Tabel 4.1.

Berdasarkan Tabel 4.1 dapat diketahui bahwa biosensor konduktometri organofosfat pada penelitian ini memiliki batas deteksi di bawah ambang batas maksimum residu yang ditetapkan oleh Departemen Pertanian yaitu sebesar 0,1 ppm untuk residu klorpirifos dan 0,5 ppm untuk residu profenofos. Hal ini menunjukkan bahwa penelitian yang telah dilakukan menghasilkan kinerja biosensor konduktometri organofosfat yang optimum dengan amobilisasi enzim organofosfat hidrolase dengan massa 177 μg menggunakan elektroda SPC dengan luas permukaan 5 mm². Berdasarkan hasil optimalisasi tersebut, didapatkan biosensor konduktometri organofosfat dengan batas deteksi yaitu 0,04 ppm untuk profenofos dan 0,05 ppm untuk klorpirifos, dengan kepekaan dari masing-masing yaitu 93 $\mu\text{S/ppm}$ dan 174 $\mu\text{S/ppm}$.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, massa enzim OPH dan luas elektroda berpengaruh terhadap kinerja biosensor konduktometri. Hasil penelitian menunjukkan kinerja biosensor optimum dihasilkan oleh massa enzim sebanyak 177 μg dengan luas biosensor sebesar 5 mm². Biosensor konduktometri dapat digunakan untuk mendeteksi organofosfat klorpirifos dan profenofos pada kisaran konsentrasi 0 – 0,1 ppm dengan kepekaan untuk masing-masing organofosfat berturut-turut 93 $\mu\text{S/ppm}$ dan 174 $\mu\text{S/ppm}$. Batas deteksi yang didapatkan untuk klorpirifos yaitu 0,05 ppm dan untuk profenofos yaitu 0,04 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

1. Atmawidjaja, Sudana., Daryono H. Tjahjono Dan Rudiyanto, 2004, *Pengaruh Perlakuan Terhadap Kadar Residu Pestisida Metidation Pada Tomat*, Acta Pharmaceutica Indonesia, Vol. Xxix, No. 2
2. Badan Standarisasi Nasional, 2008, *Batas Maksimum Residu Pestisida Pada Hasil Pertanian*, Badan Standarisasi Nasional Indonesia, Jakarta.

3. Azis, Thamrin., 2012, *Desain Dan Karakterisasi Biosensor Berbasis Immobilisasi Enzim Untuk Analisis Residu Pestisida Diazinon Dalam Tanaman Kubis (Brassica Oleracea)*, Paradigma, Vol 16 No.1, Hal: 57-66
4. Zein, Rahmiana., Nurhamidah, Edison Munaf, Dan Hamzar Suyani, 2011, *Penentuan Imidaklopid, Profenofos Dan Deltametrin Sebagai Residu Pestisida Pada Buah Cabe Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*, Universitas Andalas, Padang.
5. Muflihah, 2004. *Analisis Residu Diazinon Dan Klorpirifos Menggunakan Kromatografi Gas*. Tesis. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
6. Paliwal, S, 2008. *Development of Enzyme Based Biosensor for the Detection of Organophosphate Neurotoxins*. Disertasi. Materials engineering, Auburn University, Auburn.
7. Eggins, B., 2002, *Chemical Sensors and Biosensors*, John Wiley & Sons, Chichester.
8. Prayoga, Indrajid, 2013, *Pembuatan Dan Karakterisasi Biosensor Diazinon Menggunakan Organofosfat Hidrolase Yang Diamobilkan Pada Spce Yang Dimodifikasi Dengan Bsa-Glutaraldehyda*, Tesis, Jurusan Kimia Universitas Brawijaya, Malang.
9. Prayoga, I., 2012, *Pengaruh Konsentrasi Glutaraldehyda yang Ditambahkan pada Membran Kitosan Terhadap Kinerja Biosensor Konduktometri Diazinon*, Skripsi, Universitas Brawijaya, Malang.
10. Palmer, T., 1991, *Understanding Enzymes 3rd Edition*, Ellis Horwood Ltd., English.
11. Monica, Athitya D.N., 2007, *Studi Aktivitas Spesifik Selulase dari Lactobacillus Collinoides yang dimurnikan dengan Pengendapan Bertingkat Amonium Sulfat*, Skripsi, Universitas Brawijaya, Malang.
12. Isvani, N.K., 2013, *Pembuatan Biosensor Diazinon Menggunakan Alkaline Fosfatase di Permukaan Screen Printed Carbon Electrode (SPCE)-Kitosan*, Skripsi, Jurusan Kimia Universitas Brawijaya, Malang.