

Thamrin Azis/J. Prog. Kim. Si. 2011, 1 (1): 32-40

## Analisis Residu Pestisida Diazinon Dalam Tanaman Kubis (*Brassica Oleracea*) Menggunakan Biosensor Elektrokimia Secara Voltametri Siklik

Thamrin Azis<sup>1)\*</sup>

1) Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Haluoleo, Kendari, 93232, Indonesia

### Abstract

The cyclic voltametric biosensor is one system that consist biotransducer, output of the information system and electronic signal processing equipment. This system can be used for measurement and determination of specific analite by the biotransducer. In this research, the enzymatic cyclic voltametric biotransducer was designed. The aim of the research is to characterize the sensivity, selectivity, characteristic response of the designed biotransducer i.e. Nernst factor, detection limit, response time, and selectivity. The value of Nernst factor was obtained at 28.1 mV/decad. The interval range of diazinon analite is  $10^{-9}$ - $10^{-6}$  M at the membrane composition of selulose acetate of 10% and glutaraldehyde of 20%. The detection limit is  $1.29 \times 10^{-4}$  M in the measurement interval of  $10^{-6}$ - $10^{-3}$  M. The response time limit intervals are 15-280 second.

Keywords: Diazinon, cyclic voltametry, biotransducer, biosensor,

Received: 19 April 2011

Accepted: 30 June 2011

### Abstrak

Biosensor voltametri siklik merupakan suatu sistem yang terdiri atas biotranduser, sistem pengolah sinyal elektronik dan sistem keluaran informasi. Sistem tersebut memungkinkan pengukuran dan pengamatan analit yang spesifik terhadap jenis biotranduser yang digunakan. Penelitian dilakukan untuk membuat suatu biotranduser enzim voltametri siklik dan mengkarakterisasi sensitifitas, selektifitas dan karakteristik respon dari biotranduser tersebut. Biosensor yang telah didesain dikaraterisasi meliputi faktor Nernst, limit deteksi, waktu respon, dan selektivitas. Hasil penelitian untuk uji kinerja Harga faktor Nernst diperoleh 28,1 mV/dekade dengan kisaran pengukuran  $10^{-9}$  –  $10^{-6}$  M pada kompoisisi membran SA 10 % GA 20 %. Nilai limit deteksi adalah  $1,29 \times 10^{-4}$  M dengan kisaran pengukuran  $10^{-6}$ - $10^{-3}$  M pada komposisi membran SA 10 % GA 20 %. Batas waktu respon rata-rata pengukuran 15-280 detik.

**Kata kunci:** Diazinon, voltametri siklik, biotransduser, biosensor

Diterima: 19 April 2011

Disetujui untuk dipublikasikan: 30 Juni 2011

\*Penulis Korespondensi/corresponding author: Telp.+62 401 3191929 Fax. +62 401 3190496  
E-mail: [thamrinazis@yahoo.com](mailto:thamrinazis@yahoo.com)

## **1. Pendahuluan**

Pengawasan lingkungan dari insektisida yang mempengaruhi kesehatan manusia dan ekosistem, telah menjadi pusat perhatian. Diazinon merupakan salah satu golongan insektisida yang banyak digunakan sebagai pestisida dan memiliki kemampuan untuk menggantikan organoklorin seperti DDT, aldrin, lindane, dan lain-lain. Insektisida ini memiliki persistansi lingkungan yang rendah dibanding organoklorin, tetapi memiliki tingkat keracunan yang lebih tinggi [1]

Analisis residu pestisida dalam bahan pangan dan lingkungan perlu dilakukan, agar dapat diketahui tingkat toksisitas serta resiko yang ditimbulkan baik terhadap makhluk hidup maupun lingkungan. Teknik yang umum digunakan mendeteksi residu pestisida adalah kromatografi gas (GC) atau kromatografi cair tekanan tinggi (HPLC). Kelemahan metode analisis GC dan HPLC adalah perlakuan ekstraksi dan pemurnian di laboratorium yang membutuhkan pelarut dan waktu analisis yang lebih lama yang memungkinkan terdapatnya resiko kesalahan [2,3].

Biosensor elektrokimia berbasis enzim, menggunakan enzim yang dapat bereaksi secara selektif dengan substrat [2,3,4]. Biosensor memiliki waktu respon

yang singkat, selektivitas dan selektivitas yang tinggi, kecepatan respon, biaya yang relatif murah, serta pengoperasian yang mudah, maka biosensor menjadi suatu peralatan penting untuk mendeteksi. Oleh karena itu, untuk mengatasi kekurangan tersebut saat ini sedang dikembangkan metode baru untuk analisis residu pestisida diazinon dengan biosensor. Keunggulan dari biosensor adalah sistem sensor telah mampu memberikan cara analisis suatu polutan secara cepat, mudah dan handal pada jumlah renik. Dalam pengembangan biosensor, penggunaan enzim sangat bermanfaat dan menjanjikan [5,6,7].

Dalam penelitian ini didesain biosensor elektrokimia untuk analisis residu pestisida diazinon dari golongan organofosfat dengan menggunakan membran enzim butirilkholinesterase (BChE) yang diimobilisasikan dengan bahan pendukung selulosa asetat (SA) dan glutaraldehid (GA) pada kawat platina yang digunakan sebagai elektroda biosensor. Hasil desain biosensor dengan parameter yang optimum digunakan untuk menganalisis residu diazinon dalam sampel sayuran.

## **2. Bahan dan Metode**

### **2.1. Bahan dan Alat yang Digunakan**

Bahan yang digunakan: enzim butirilkolinesterase (BChE), substrat Butirilkolin klorida, diazinon dari *Electrophorous electricus* Sigma, KOH, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, bufer fosfat, selulosa asetat (SA), glutaraldehida (GA) dari Sigma Aldrich, kawat tembaga(Cu), kawat platina (Pt) dari PT Aneka Tambang, kawat timah, tip biru, parafilm, *n*-heksan p.a, aquades, sayuran kubis.

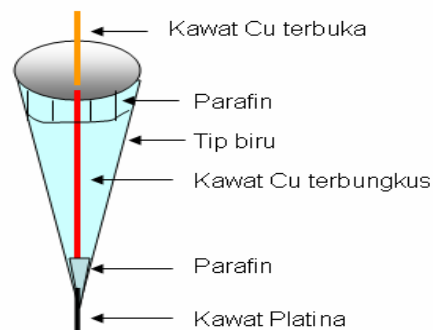
Alat-alat yang digunakan adalah pH meter Oreon Model 710A, potensiometer dan peralatan gelas yang umum dipakai di laboratorium kimia.

## 2.2.Desain Elektroda Kawat Terlapis (EKT)

Kawat tembaga (Cu) terlapis plastik dipotong ukuran 5 cm dengan diameter 1,5 mm disambungkan dengan kawat platina berukuran dengan panjang 2,5 cm, diameter 0,4 mm dengan cara pateri menggunakan kawat timah dan masukkan ke dalam tip biru dengan posisi platina menonjol ke luar 1 cm dari ujung runcing.

Pada masing-masing ujung badan elektroda dililitkan plastik parafilm sebagai penahan kawat Cu dan kawat Pt. Badan elektroda ini siap digunakan untuk pengukuran potensial dengan cara menjepit kawat Cu pada kabel koaksial yang dihubungkan ke potensiometer. Gambar

desain elektroda kawat terlapis terlihat pada Gambar 1.



Gambar1.Desain Elektroda Kawat Terlapis (EKT)

## 2.3.Uji Kinerja Biosensor

Larutan butirilkolin klorida  $1,0 \times 10^{-3}$  M disiapkan dengan menimbang 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. Larutan tersebut kemudian dilakukan pengenceran sampai diperoleh larutan dengan konsentrasi  $1,0 \times 10^{-3}$  M -  $1,0 \times 10^{-9}$  M.

24 mg padatan enzim BChE dilarutkan dalam pelarut 6,32 ml buffer fosfat pH 6,5 dan 1 ml KCl 0,1 M

Larutan glutaraldehid 25 % diencerkan dengan air terdemineralisasi menjadi larutan GA 10 %; 15 % dan 20 %.

Elektroda yang digunakan terlebih dahulu dicelup ke dalam larutan buffer fosfat pH 6,5 dan larutan substrat

butirikolin klorida pada konsentrasi  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  dan  $10^{-5}$  M. Kemudian digunakan untuk mengukur larutan diazinon dari konsentrasi  $10^{-9}$  M- $10^{-3}$  M. Setelah didapat respon yang konstan dicatat sebagai nilai potensial atau kuat arus. Waktu respon dicatat mulai dari kontaknya elektroda biosensor dengan larutan yang diukur hingga mencapai potensial yang konstan.

### 3. Hasil dan Pembahasan

Metode immobilisasi enzim yang digunakan adalah metode *cross linking* dengan menggunakan pereaksi glutaraldehid. Metode *cross linking* antara selulosa asetat dengan glutaraldehid berdasarkan pembentukan ikatan silang antara gugus fungsi yang terdapat pada selulosa asetat dengan gugus karbonil dari pereaksi glutaraldehid. Akibat adanya ikatan silang, maka rantai polimer selulosa asetat semakin rapat sehingga enzim semakin mudah untuk diimmobilisasi.

Biosensor dapat mengukur substrat butirikolin klorida karena terjadinya hidrolisis dari substrat yang dikatalisis oleh butirikolinesterase membentuk asam butirat dan kolin. Biosensor memberikan respon terhadap substrat butirikolin klorida dapat dilihat dari harga kuat arus

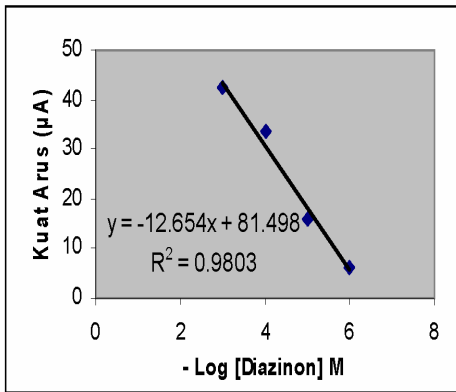
yang dihasilkan dari voltametri siklik. Selanjutnya elektroda enzim diinkubasi ke dalam larutan inhibitor dalam hal ini pestisida diazinon. Adanya pestisida diazinon menurunkan harga potensial atau, hal ini disebabkan karena senyawa diazinon bersaing dengan substrat untuk bereaksi dengan sisi aktif enzim. Konsentrasi butiril yang digunakan adalah  $10^{-3}$  -  $10^{-9}$  M.

#### 3.1. Kinerja Elektroda Enzim

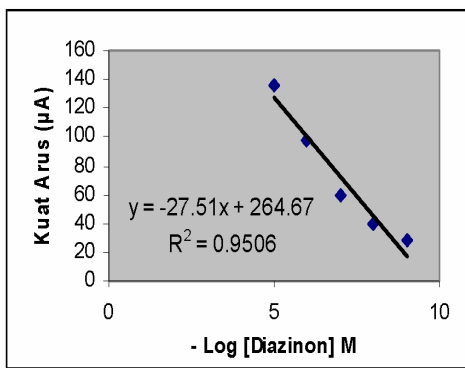
Kinerja elektroda ditentukan berdasarkan pengamatan harga respon potensial masing-masing elektroda. Kinerja tersebut meliputi: penentuan faktor Nernst (sensivitas), nilai limit deteksi, waktu dan respon.

##### 3.1.1. Faktor Nernst

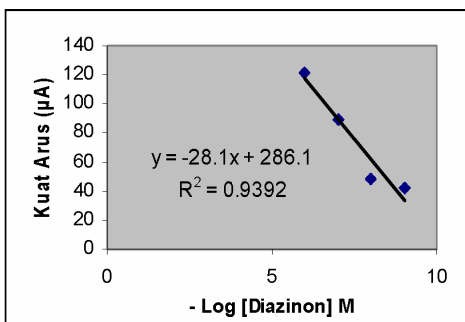
Penentuan faktor Nernst dan kisaran pengukuran diperoleh dengan cara mengalurkan  $-\log$  [diazinon] terhadap kuat arus ( $\mu\text{A}$ ) seperti terlihat pada Gambar 2, 3, 4 untuk masing-masing pengukuran pada komposisi (%) membran SA/GA 10/10, 10/15, 10/20.



Gambar 2. Plot [Diazinon] vs Kuat Arus Komposisi membran 10/10 %.



Gambar 3. Plot [Diazinon] vs Kuat Arus Komposisi membran 10/15 %

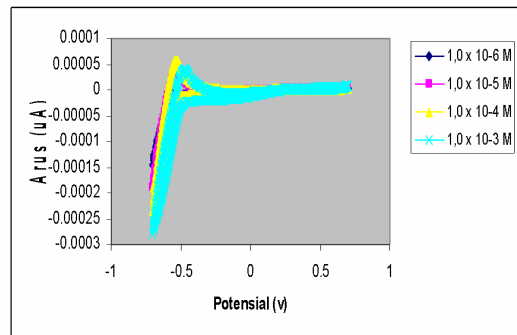


Gambar 4. Plot [Diazinon] vs Kuat Arus Komposisi membran 10/20 %

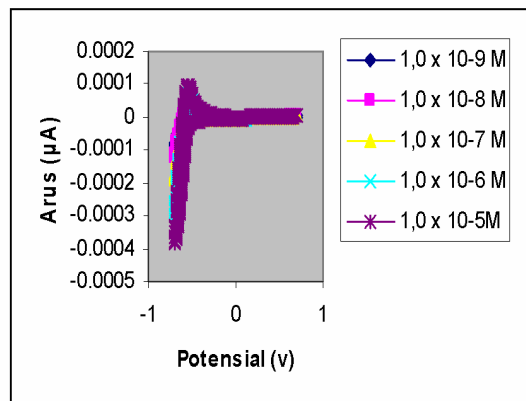
Berdasarkan profil kuat arus pada berbagai konsentrasi diazinon yang

digunakan dalam pengukuran, terlihat bahwa nilai  $R^2$  terbaik (0,9803) dicapai pada komposisi membran selulosa asetat dan glutaraldehida 10/10 %.

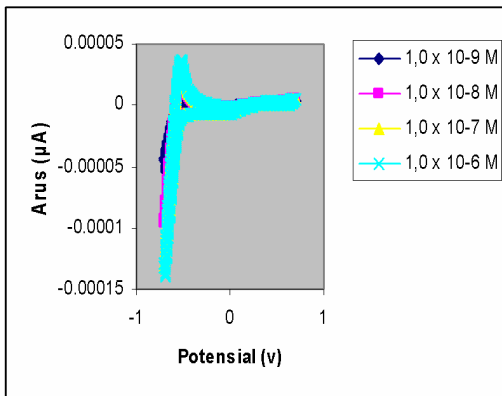
Profil pengukuran potensial terhadap kuat arus terlihat pada Gambar 5, 6, 7 untuk masing-masing pengukuran pada komposisi (%) membran SA/GA 10/10, 10/15, 10/20 dengan elektroda platina.



Gambar 5. Plot Potensial vs Kuat Arus Komposisi membran 10/10 %.



Gambar 6. Plot Potensial vs Kuat Arus Komposisi membran 10/15 %.



Gambar 7. Plot Potensial vs Kuat Arus Komposisi membran 10/20 %.

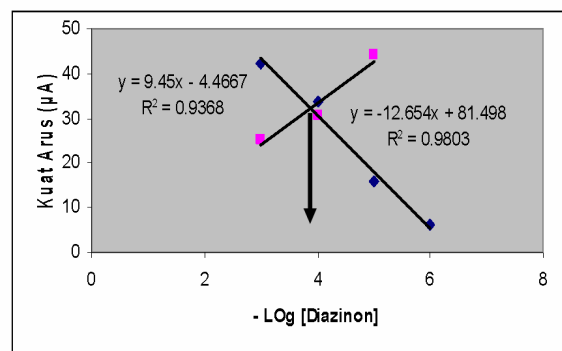
Dari kurva standar (Gambar 2, 3, dan 4) garis linear pada  $-\log [\text{Diazinon}]$  rentang konsentrasi  $10^{-9}$ - $10^{-6}$  M dan  $10^{-6}$ - $10^{-3}$  M, diperoleh faktor Nernst ketiga elektroda masing-masing 12,654 mV/dekade, 27,51 mV/dekade dan 28,1 mV/dekade. Nilai sensitivitas tertinggi yaitu 28,1 mV/dekade dan paling mendekati harga faktor Nernst teoritis (29,6 mV/dekade). Hal ini menunjukkan bahwa elektron yang terlibat dalam reaksi hidrolisis butirilkolin klorida ada dua elektron. Linieritas elektroda enzim butirilkolinesterase berada pada rentang konsentrasi diazinon  $10^{-6}$  -  $10^{-3}$  M dan dianggap paling baik untuk pengukuran diazinon.

Adanya arus yang terukur pada elektroda kerja dan diterapkan dalam bentuk voltamogram siklik menunjukkan terjadinya reaksi oksidasi pada substrat. Profil voltamogram terlihat bahwa terdapat

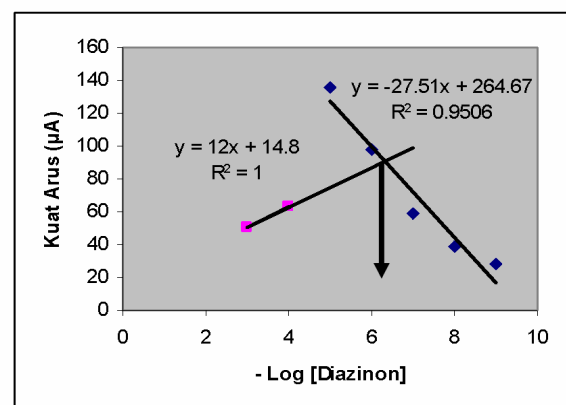
satu puncak oksidasi disekitar 0,512 volt; 0,506 volt dan 0,543 volt. Hal ini menunjukkan bahwa substrat butirilkolin klorida mengalami reaksi oksidasi yang irreversible membentuk asam butirat.

### 3.1.2. Limit Deteksi

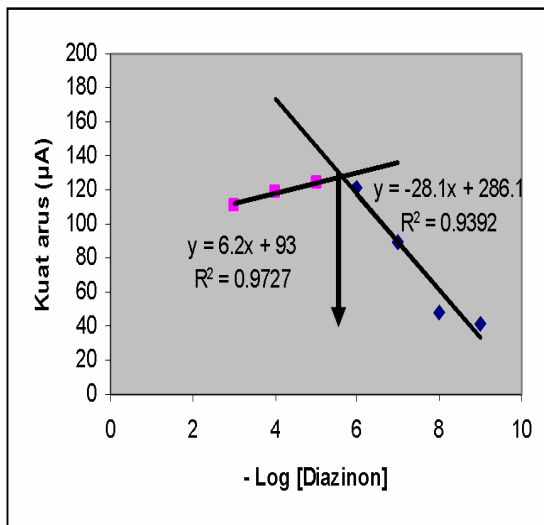
Profil limit deteksi diazinon dengan variasi komposisi membran SA/GA pada konsentrasi substrat  $10^{-5}$  M dengan metode voltametri siklik terlihat pada Gambar 8, 9, dan 10.



Gambar 8. Plot [Diazinon] vs Kuat Arus Komposisi membran 10/10 %



Gambar 9. Plot [Diazinon] vs Kuat Arus Komposisi membran 10/15 %



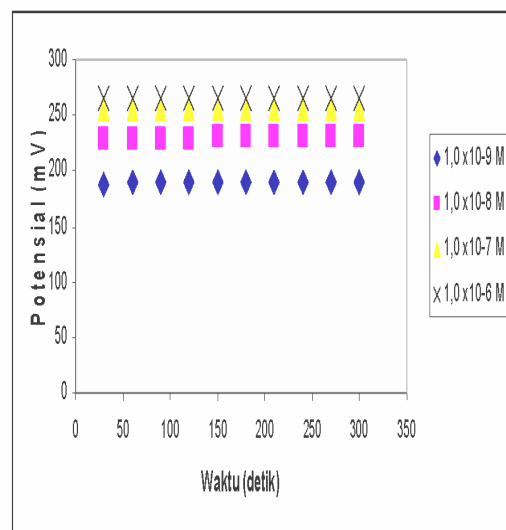
Gambar 10. Plot [Diazinon] vs Kuat Arus Komposisi membran 10/20%

Berdasarkan hasil ekstrapolasi  $-\log$  [Diazinon] terhadap kuat arus terhadap pada pengukuran secara potensiometri untuk komposisi membran SA 10 % dan GA 10 %, diperoleh nilai limit deteksi adalah  $4,74 \times 10^{-7}$  M. Nilai limit deteksi yang diperoleh dari hasil ekstrapolasi  $-\log$  [Diazinon] terhadap kuat arus untuk komposisi membran SA 10 % dan GA 15 % adalah  $2,51 \times 10^{-7}$  M. Nilai limit deteksi pengukuran secara potensiometri untuk komposisi membran SA 10 % dan GA 20% adalah  $1,29 \times 10^{-4}$  M. Nilai limit deteksi yang diperoleh untuk komposisi SA 10 % - GA 10 % dan SA 10 % - GA 15 % sangat kecil bila dibandingkan nilai limit untuk komposisi membran SA 10 % - GA 20%.

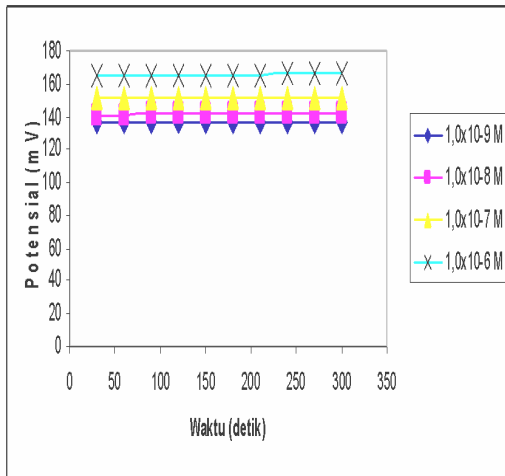
Peningkatan nilai limit deteksi biosensor dapat ditentukan oleh zat pendukung membran yaitu konsentrasi selulosa asetat (SA). yang terbentuk pada elektroda platina menyebabkan lapisan membran seluloas asetat yang terbentuk menjadi tebal sehingga jumlah glutaraldehida (GA) berfungsi mengikat enzim berkurang karena sulit menembus pori-pori dari lapisan membran selulosa asetat

### 3.1.2. Waktu Respons

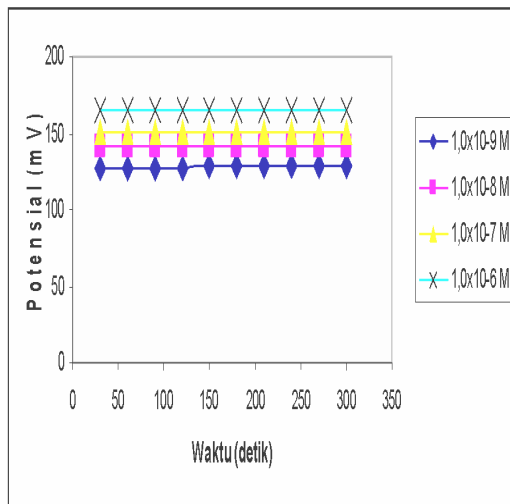
Profil waktu respons deteksi diazinon dengan variasi komposisi membran SA/GA dengan metode voltametri siklik terlihat pada Gambar 11, 12, dan 13.



Gambar 11. Plot waktu respons vs potensial komposisi membran 10/10 %



Gambar 12. Plot waktu respons vs potensial komposisi membran 10/15 %



Gambar 13. Plot waktu respons vs potensial Komposisi membran 10/20 %

Berdasarkan profil hubungan antara potensial dan waktu respon terlihat bahwa kurva tidak memberikan perbedaan yang signifikan dan waktu respon yang cukup stabil dalam waktu cukup lama untuk konsentrasi  $10^{-9}$  -  $10^{-6}$  M. Semakin sensitif

suatu biosensor semakin cepat waktu responsnya.

Hasil pengukuran respons potensial dan kinerja elektroda enzim butirilkolinesterase terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kinerja Elektroda Enzim butirilkolinesterase

Kinerja Elektroda	Tipe Elektroda Enzim Butirilkolinesterase		
	E-1	E-2	E-3
$E^0$ (mV)	81,498	264,67	286,10
S	12,65	27,51	28,1
$R^2$	0,9627	0,9934	0,9877
Limit deteksi	$4,74 \times 10^{-7}$	$2,5 \times 10^{-7}$	$1,29 \times 10^{-4}$
Waktu respons (detik)	15-280	15-280	15-280

#### 4. Kesimpulan

Kondisi optimum desain membran elektroda biosensor potensiometri dan voltametri siklik untuk analisis residu pestisida diazinon adalah pada konsentrasi selulosa asetat 10 % dan glutaraldehida 20 %.

Biosensor potensiometri dan voltametri siklik memiliki kinerja sensitif dalam mendeteksi keberadaan diazinon dengan limit deteksi  $1,86 \times 10^{-9}$  M, waktu respon rata-rata pengukuran 15-280 detik.

#### 5. Pustaka

1. Amine, A., Hasna, M., Ilhame, B., and Giuseppe, P. 2006. Enzyme inhibition-based biosensors for food safety and



- environmental monitoring. *Biosensors and Bioelectronics*, 1405–1423
2. Rawson, D., A.J. Willmer, A. P.F. Turner, 1989, Whole cell biosensors for environmental monitoring, *Biosensors*, 4, 294-311
  3. Rich, R.L., D. G., Myszka, 2001, Survey of the year 2000 commercial optical biosensor literature, *Journal of Molecular Recognition*, 14, 273-294
  4. Dumas, D.P., Caldwell, S.R., Wild, J.R., Raushel, F.M. 1989. Purification and properties of the phosphotriesterase from *Pseudomonas diminuta*. *J. Biol. Chem.* 33, 19659–19665.
  5. Dzyadevych. 1994. Conductometric biosensor of determination of organophosphorus pesticides. *J. Anal. Chem.* 49, 478-874
  6. González-Martínez., Puchades, R., and Maquieira, A 1999. On-line immunoanalysis for environmental Pollutants: from Batch Assays to Automated Sensors. *Trends Anal. Chem.* 1999, 18, 204-218.
  7. Ivanov, A.N., Evtugyn, G.A., Gyurcsányi, R.E., Tóth, K., and Budnikov, H.C. 2000. Comparative investigation of electrochemical cholinesterase biosensors for pesticide determination. *Analytica Chimica Acta* 404, 55–65