

Modifikasi Screen Printed Carbon Electrode Menggunakan Cerium dan Optimasi Kondisi Percobaan Biosensor Elektrokimia untuk Deteksi DNA Mitokondria *Sus Scrofa*

Maulida Fajriyah,^{1*} Yenni Wahyuni Hartati,² Anni Anggraeni,² Shabarni Gaffar,² & Yusuf Rohmatullah²

¹ Departemen Gizi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan KHAS, Cirebon, Indonesia

² Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Indonesia

Corresponding author: maulidafajriyah52@gmail.com

Article history

Received: 26 December 2021

Received in revised form:

7 June 2022

Accepted: 14 June 2022

DOI:

10.17977/um0260v6i12022p031

Kata-kata kunci:

Sus scrofa

SPCE-Ce

Biosensor elektrokimia DNA

DPV

0,03 [target] + 3,947 untuk rentang konsentrasi DNA target 5,0 sampai 30,0 µg/mL, dan nilai LoD adalah 1,44 µg/mL. Biosensor ini selanjutnya dapat digunakan untuk penentuan konsentrasi mtDNA babi dalam sampel.

Abstrak

Penggunaan cerium dalam aplikasi sensor telah banyak dikembangkan. Dalam penelitian ini, biosensor elektrokimia telah dikembangkan untuk mendeteksi DNA mitokondria *Sus scrofa* menggunakan *screen printed carbon elektrode-cerium* (SPCE-Ce). Permukaan elektrode SPCE sebelum dan sesudah dimodifikasi dengan cerium dikarakterisasi menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) dan voltametri siklik (CV). Desain urutan nukleotida babi sebagai DNA probe, ditentukan dengan menggunakan program NCBI blast dan T-Coffee. DNA probe diamobilisasikan pada SPCE-Ce melalui interaksi elektrostatis antara permukaan cerium dengan tulang punggung fosfat dari DNA. Selanjutnya proses hibridisasi DNA probe - target dikarakterisasi menggunakan voltametri diferensiasi pulsa (DPV). Permukaan SPCE dan SPCE-Ce secara SEM menunjukkan perbedaan morfologi yaitu permukaan yang lebih halus dan rata setelah permukaan karbon tertutupi cerium. Voltammogram siklik menunjukkan adanya kenaikan puncak arus redoks dari spesi elektroaktif ferisianida pada SPCE-Ce. Urutan DNA probe adalah 5'-TATTIATACCAATCACTAIC-3' yang memiliki homologi 100% dengan DNA babi dan homologi 0% dengan DNA ayam dan sapi. Persamaan linier konsentrasi target terhadap arus menghasilkan persamaan $I = 0,03 [\text{target}] + 3,947$ untuk rentang konsentrasi DNA target 5,0 sampai 30,0 µg/mL, dan nilai LoD adalah 1,44 µg/mL. Biosensor ini selanjutnya dapat digunakan untuk penentuan konsentrasi mtDNA babi dalam sampel.

Abstract

The use of cerium in sensor applications has been widely develop. In this research, electrochemical biosensors have been developed to support *Sus scrofa* mitochondrial DNA using SPCE-Ce. The surface of the SPCE electrode before and after an electrodeposition with cerium, was characterized using SEM and cyclic voltammetry (CV). The design of pork nucleotide sequence as DNA probes, was determined using NCBI blast program and T-Coffee. The DNA probe was immobilized to SPCE-Ce trough electrostatic interactions between the surface of cerium and the DNA phosphate backbone. The probe-target DNA hybridization was characterized using DPV. The result of the characterization using SEM showed a flat and uniform of electrode surface for SPCE-Ce than the bare SPCE surface. The voltammogram cyclic shows an increase in the peak of the ferricyanide current for SPCE-Ce. The result of the DNA probe sequence design are 5'-TATTIATACCAATCACTAIC-3' which shows 100% homology with pig DNA and 0% homology with chicken and beef DNA. The linear equation of target concentration is $I = 0.0303 [\text{target DNA}] + 3.947$ for the target DNA concentration range 5 – 30 µg/mL, and the LOD value is 1.44 µg/mL. This biosensor can be used to determine pig mtDNA concentration in the real samples.

PENDAHULUAN

Pangan merupakan kebutuhan paling pokok dan mendasar bagi manusia, sehingga faktor keamanan dan kehalalan terhadap produk makanan sangat diperhatikan konsumen (BPOM RI, 2007). Manipulasi label halal sering dilakukan dengan cara mencantumkan label halal ilegal yang mengatasnamakan Lembaga Pengawasan Pangan, Obat-obatan, Kosmetika dan Minuman-Majelis Ulama Indonesia (LPPOM MUI) (Bahruddin, 2010). Adanya kandungan babi di dalam berbagai jenis produk makanan merupakan salah satu contoh produk pangan non halal. Maraknya pencampuran babi dalam produk makanan menyebabkan banyak dilakukan sebuah penelitian untuk menemukan suatu metode yang cepat dan sederhana dalam pendeteksian keberadaan babi dalam produk makanan (Giovananci, et al., 2004; Szabo, et al., 2007; Rohman, et al., 2011; Balizs, et al., 2011; Kuswandi, et al., 2015; Ahmed, et al., 2017).

Beberapa tahun terakhir, biosensor elektrokimia DNA sangat pesat perkembangannya, hal ini dikarenakan keuntungannya yang (Lucarelli, et al., 2004; Suryaprawati, et al., 2017). Prinsip analisis DNA secara elektrokimia adalah berdasarkan hibridisasi urutan DNA *probe* dengan untai komplemennya yang memiliki efisiensi dan spesifisitas yang tinggi (Lucarelli, et al., 2004). Metode analisis berdasarkan DNA sangat berpeluang untuk dilakukan mengingat stabilitas reaksi DNA terhadap panas sangat baik, sehingga memungkinkan untuk digunakan dalam analisis produk makanan olahan yang mengalami proses pemanasan. Selain itu, ekstraksi DNA dapat diambil dari semua jenis jaringan karena DNA berada di tiap sel dalam jaringan (Aida, et al., 2005).

Urutan DNA mitokondria (mtDNA) suatu spesies sangat khas, sehingga dapat dibedakan dengan spesies lain. Urutan DNA gen sitokrom b (*Cyt B*) dan daerah *D-loop* adalah bagian dari DNA mitokondria yang sangat bervariasi, sehingga dapat digunakan untuk membedakan spesies (Nguyen, et al., 2005). Beberapa penelitian telah digunakan untuk menganalisis urutan spesifik DNA mitokondria babi (Bielikova, et al., 2010; Ali, et al., 2011; Erwanto, et al., 2011; Maryam, et al., 2016). Sedangkan penelitian yang telah dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan babi menggunakan biosensor yaitu nanobioprobe untuk identifikasi

daging babi di burger (Ali, et al., 2012a), optik nanobiosensor untuk deteksi dan kuantifikasi DNA babi dalam campuran daging (Ali, et al., 2012b), dan deteksi DNA babi dengan kompleks $[Ru(bpy)_2(PIP)]^{2+}$ (Halid, et al., 2014), biosensor voltametri menggunakan SPCE-reduced graphene oxide electrode (Hartati, et al., 2018), biosensor voltametri menggunakan SPCE-AuNP (Screen Printed Carbon Electrode-Nanopartikel Emas) (Hartati, et al., 2019).

Cerium merupakan salah satu material melimpah dari unsur tanah jarang yang telah menarik perhatian besar dalam beberapa tahun terakhir karena sifatnya yang unik seperti sifat fisik dan kimianya yang berbeda dengan material lain, stabilitas mekanik, konduktivitas elektronik tinggi, nontoksik, titik isoelektrik tinggi (9.2), dan biokompatibilitas (Nguyet, et al., 2017). Beberapa mineral cerium-karbonat, -fosfat, -silikat, dan -oksida telah ditambang dan diproses secara historis untuk aplikasi farmasi dan industri. Selain itu, cerium juga telah digunakan di berbagai bidang teknik dan teknologi yang menuntut pengembangan deteksi dengan sensitivitas tinggi, salah satunya adalah untuk pengembangan biosensor elektrokimia (Charbgoon, et al., 2017).

Dalam sistem biosensor, cerium dapat digunakan pada seluruh bagian dari sensor atau pada bagian pengenalan ataupun bagian elemen transduser. Cerium juga menjadi strategi baru dalam mensintesis biosensor berbasis DNA. Cerium dapat mengamobilisasi DNA *probe* melalui interaksi elektrostatik antara permukaannya dengan *backbone* fosfat DNA (Starodub, et al., 2012). Pada bidang biomedis, nanocerium banyak digunakan sebagai sistem penghantar obat, antioksidan, dan deteksi berbagai penyakit. Laporan penelitian tentang biosensor elektrokimia berbasis DNA menggunakan biokonjugat kitosan berlapis CeO_2NP -MWNT-AuNP/DNA *probe* (nanopartikel cerium oksida-multi walled carbon nanotubes-nanopartikel emas/DNA *probe*) untuk deteksi fusi gen BCR/ABL (*Breakpoint Cluster Region-Abelson Kinase*) di leukemia *myelogenous* kronis menyatakan bahwa dengan menggunakan CeO_2NP (nanopartikel cerium oksida) dapat meningkatkan pengukuran puncak arus hingga 12x lebih tinggi dan didapatkan batas deteksi terendah 5×10^{-3} M (Charbgoon, et al., 2017). Sedangkan dalam bidang ilmu pangan, sensor cerium dapat digunakan untuk mendeteksi kehalalan atau jaminan kesehatan dari produk makanan. (Nguyet, et al., 2017) melakukan

penelitian terhadap sensitivitas sensor berdasarkan nanorod cerium oksida untuk mendeteksi adanya bakteri *Salmonella* pada produk makanan. Hasil penelitiannya menunjukkan batas deteksi yang didapatkan adalah $0,01 \mu\text{M}$ dari rentang konsentrasi DNA target $0,01 \mu\text{M}$ sampai $2 \mu\text{M}$ serta sensor tersebut dapat dijadikan sebagai alat pendeteksi yang *portable*. Namun, penggunaan cerium sebagai sensor untuk mendeteksi DNA babi masih belum dilakukan.

Selain memperhatikan penggunaan material sebagai sensor dalam biosensor, penentuan sekuen DNA *probe* juga perlu diperhatikan. Dasar penentuan urutan DNA *probe* adalah urutan basa nitrogen dari DNA *probe* dapat berkomplemen dengan urutan basa nitrogen DNA target, sehingga DNA *probe* dapat berhibridisasi dengan DNA target. Proses hibridisasi tersebut akan memunculkan suatu respon pengukuran berupa puncak arus. DNA *probe* didesain dengan menggunakan program NCBI *blast* dan *T-Coffee*.

Dalam penelitian ini, biosensor elektrokimia DNA menggunakan SPCE termodifikasi cerium digunakan untuk mendeteksi DNA mitokondria *Sus scrofa*. Metode ini sangat baik untuk digunakan sebagai alternatif dalam pendeteksian DNA babi dalam produk mentah maupun olahan daging dan makanan. Metode yang diajukan ini dapat dijadikan sebagai kit pendeteksi yang *portable*.

METODE

Desain Sekuen DNA Cyt B *Sus scrofa*

Urutan DNA *probe* didesain menggunakan *tools blast* dan *T-Coffee*. Pertama-tama dilakukan pencarian gen pengkode Cyt B babi (nomor akses di *Gen Bank* AB 376964), ayam (nomor akses di *Gen Bank* AF 153499), dan sapi (nomor akses di

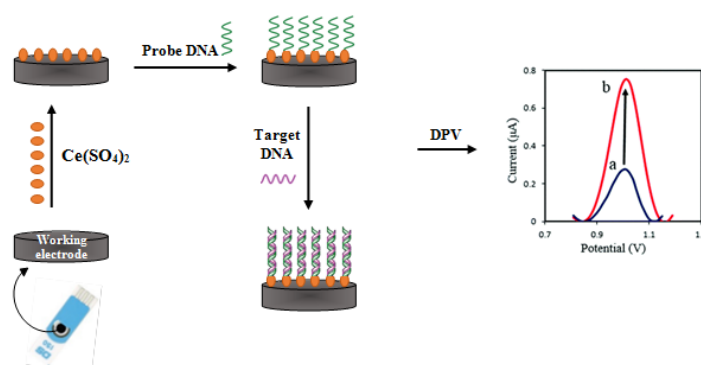
Gen Bank D 346635) di NCBI. Urutan Cyt B yang *diblast (alligment)* bertujuan untuk mengetahui homologi sekuen yang dipilih dengan urutan sekuen yang ada di *Gen Bank*. Selanjutnya dilakukan penjajaran antara Cyt B babi, ayam, dan sapi; sehingga diperoleh urutan basa-basa nitrogen yang homolog dan juga bervariasi antar ketiga sekuen tersebut. Untuk mendapatkan selektifitas yang tinggi dari Cyt B babi, maka dipilih urutan basa nitrogen babi yang berbeda dengan urutan basa nitrogen ayam maupun sapi. Langkah terakhir, dilakukan analisis urutan sekuen yang telah dipilih dengan menggunakan *blast* di NCBI.

Modifikasi Permukaan SPCE

SPCE dibilas menggunakan aqua *proinjection* dan dilanjutkan dengan menggunakan larutan $0,05 \text{ M}$ buffer asetat pH 5. Selanjutnya, diterapkan potensial sebesar $+1,4 \text{ V}$ dengan *scan rate* $0,008 \text{ V/s}$ untuk perlakuan awal. SPCE hasil *pretreatment* ditetesi dengan larutan $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ $5,0 \text{ mgL}^{-1}$ dan dielektrodeposisi menggunakan DPV dengan rentang potensial $-2,57 \text{ V}$ hingga $+1,176 \text{ V}$ dengan *scan rate* $0,1 \text{ V/s}$. Selanjutnya, elektrode dibilas dengan hati-hati menggunakan aqua *proinjection* dan dikeringkan pada suhu ruang. Selanjutnya, SPCE yang telah dimodif tersebut dikarakterisasi menggunakan CV dengan sistem redoks $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ pada rentang potensial $-0,8 \text{ V}$ sampai $+0,8 \text{ V}$ dan laju pemindaian 50 mV/s . Optimasi kondisi percobaan dilakukan sesuai pada Table 1.

Tabel 1. Faktor-faktor optimasi percobaan

Faktor	Variasi	Satuan
Konsentrasi <i>probe</i>	5, 10, 20, 30	$\mu\text{g/mL}$
Waktu amobilisasi	10 dan 20	menit
Waktu hibridisasi	10 dan 20	menit



Gambar 1. Skema fabrikasi biosensor DNA *Sus scrofa*

Analisis Kinerja Biosensor DNA

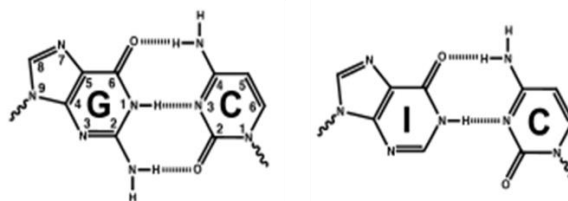
SPCE termodifikasi cerium dibilas dengan 0,05 M buffer asetat pH 5,0, kemudian 40 μL DNA *probe* diteteskan ke permukaan elektrode selama 20 menit. Kemudian dibilas dengan 0,05 M buffer asetat pH 5,0. Setelah itu, elektrode ditetesi sebanyak 40 μL DNA target selama 20 menit. Sinyal diamati menggunakan DPV dalam rentang potensial -0,2 V sampai +1,4 V. Skema fabrikasi biosensor elektrokimia pendeteksi DNA babi ditunjukkan pada Gambar 1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Desain Sekuen DNA *Cyt B Sus scrofa*

NCBI merupakan sumber informasi bagi perkembangan biologi molekuler, yang membuat database bagi data genomik, proteomik maupun metabolomik dari berbagai organisme. Data sekuen nukleotida yang disajikan dalam NCBI dapat berupa fasta maupun bentuk sekuen seperti lazimnya. Urutan *probe* yang didesain harus memiliki nilai identiti sebesar 100%, dengan artian bahwa DNA *probe* dapat berkomplemen dengan urutan DNA target. Selain itu, urutan DNA *probe* juga harus mempunyai homologi 0% yang berarti DNA *probe* hanya berikatan secara spesifik dengan DNA urutan targetnya. Hasil analisis sekuens *probe Sus scrofa* dengan BLAST[®] dan *T-Coffee* adalah 5'-TATTGATACCAATCACTAGC-3'. Sekuen tersebut memiliki identiti dengan sekuen babi sebesar 100% dan memiliki homologi dengan sekuen ayam dan sapi sebesar 0%.

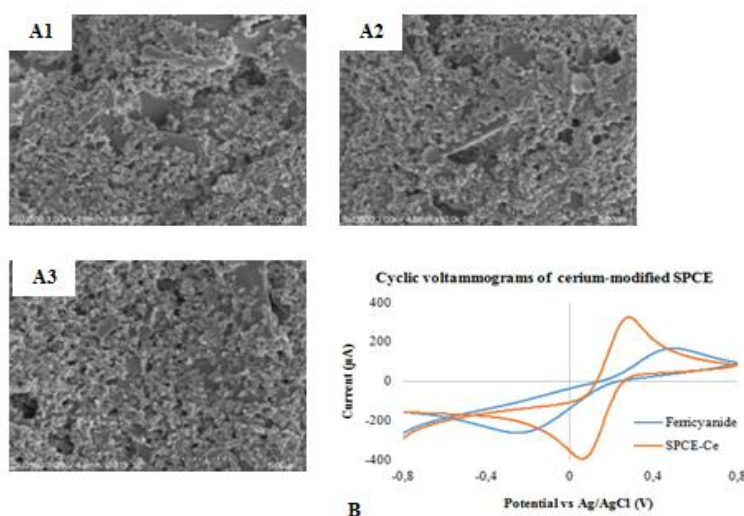
Pada biosensor voltametri, digunakan *probe* sepanjang 20 mer sebagai bioreseptor atau senyawa pengenal yang akan berhibridisasi dengan DNA target. Berdasarkan urutan sekuen pada *Gen Bank*, urutan *probe* tersebut merupakan urutan pada gen *Sus scrofa* ke 1091 hingga 1110. Pada penelitian ini, digunakan teknik hibridisasi tanpa indikator, sehingga basa guanin pada *probe* digantikan dengan basa inosin. Inosin memiliki karakteristik mirip guanin, yaitu dapat berhibridisasi dengan basa sitosin (ditunjukkan pada Gambar 2). Urutan *probe* yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5'-TATTIATACCAATCACTAIC-3'. Inosin tidak memberikan respon elektrokimia berupa sinyal oksidasi di daerah potensial guanin. Ketika terjadi hibridisasi DNA *probe*-target, maka pengamatan sinyal oksidasinya hanya berdasarkan respon oksidasi guanin pada target.



Gambar 2. Ikatan pasangan basa guanin-sitosin (G-C) dan inosin-sitosin (I-C) (Nikolova et al., 2014).

Modifikasi Permukaan SPCE dengan Cerium

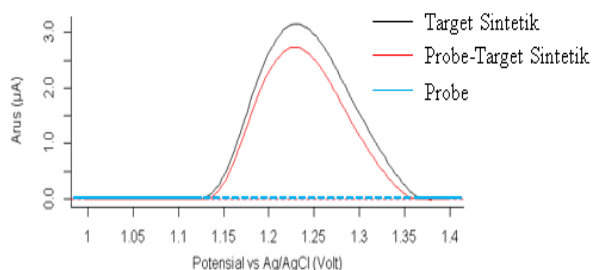
Hasil SEM dan voltametri siklik SPCE sebelum dan setelah dimodifikasi ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. (A) Gambar SEM dari (1) SPCE bare, (2) SPCE Ce, dan (3) SPCE - Ce - probe; (B) voltammogram siklik 20 mM $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ dalam 0,1 M KCl dengan scan rate 0,1 V/s pada rentang potensial -0,8 V hingga +0,8 V sebagai hasil dari karakterisasi SPCE sebelum dan setelah dimodifikasi cerium.

Gambar 3 A1 - A3 menunjukkan perbedaan pada permukaan elektrode SPCE *bare*, SPCE - Ce, dan SPCE - Ce - *probe*. Pada SPCE *bare* terlihat potongan-potongan seperti persegi panjang, diduga bahwa potongan tersebut merupakan material karbon yang menjadi bahan dasar dari SPCE. Sedangkan pada SPCE-Ce dan SPCE - Ce - *probe* terlihat bahwa permukaan elektrode lebih halus dan rata. Gambar 3B menunjukkan hasil karakterisasi menggunakan voltametri siklik yang menunjukkan bahwa SPCE-Ce menghasilkan kenaikan puncak arus oksidasi dan reduksi dari spesi elektroaktif ferisianida. Naiknya puncak arus reduksi - oksidasi ini terjadi karena cerium telah terelektrodeposisi pada permukaan SPCE sehingga meningkatkan aktivitas elektrokimia yang sebanding dengan meningkatnya area aktif elektrode. Cerium bersifat sangat konduktif yang berkontribusi terhadap transfer elektron pada permukaan elektrode, sehingga elektrodeposisi ini dapat meningkatkan sensitivitas sensor elektrokimia.

Amobilisasi Probe dan Hibridisasi Probe-Target



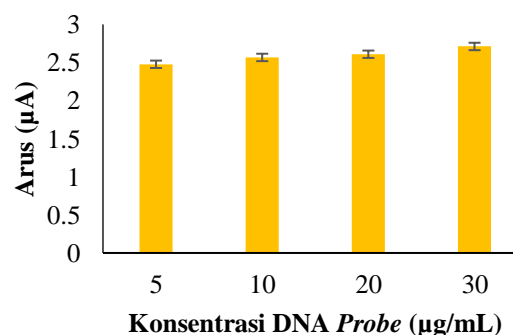
Gambar 4. Perbedaan arus puncak DPV dari 20 µg/mL DNA *probe* dalam buffer asetat, 20 µg/mL DNA target dalam PBS, dan masing-masing 20 µg/mL DNA *probe*-target dalam buffer asetat, menggunakan elektrode SPCE-Ce. Pengukuran arus menggunakan DPV, *scan rate* 0,008 V/s pada rentang potensial -0,2 V hingga +1,4 V.

Pengukuran sinyal oksidasi guanin pada SPCE-Ce untuk DNA *probe*, DNA target, dan hibridisasi *probe* - target DNA ditunjukkan pada Gambar 4. Puncak oksidasi guanin berada di rentang potensial 0,9 V sampai 1,29 V (Hartati, 2009). Gambar 4 menunjukkan bahwa puncak oksidasi guanin berada pada rentang potensial 1,20 V sampai 1,22 V. Di DNA *probe* tidak terlihat puncak oksidasi guanin, hal ini disebabkan basa guanin pada DNA *probe* telah digantikan inosin yang tidak memberikan puncak arus di daerah potensial guanin. Amobilisasi DNA pada permukaan SPCE-Ce berdasarkan gaya

elektrostatik yang terjadi melalui tulang punggung fosfat DNA (Pautler, *et al.*, 2013). Teori HSAB telah menjelaskan bahwa asam Lewis keras akan berikatan kuat dengan basa Lewis keras, dalam hal ini cerium merupakan asam Lewis keras, sedangkan fosfat merupakan basa Lewis keras, sehingga keduanya dapat berikatan sangat kuat.

Tinggi arus puncak oksidasi guanin DNA target sebesar 3,25 µA untuk konsentrasi 20 µg/mL, sedangkan arus puncak pada DNA *probe* - target sebesar 3,15 µA dengan masing-masing konsentrasi 20 µg/mL. Proses hibridisasi dimulai ketika dua untai DNA bergerak satu sama lain sampai keduanya bertemu, kemudian saling bergantian untuk memulai pembentukan heliks ganda. Selanjutnya, dua untai menuju tempat hibridisasi dengan menyelaraskan basa komplementer, kemudian dupleks DNA mulai terbentuk (Alvarez, *et al.*, 2004). Arus puncak yang dihasilkan dari hibridisasi DNA *probe* - target lebih rendah dibandingkan arus puncak DNA target karena pada hibridisasi DNA *probe* - target terbentuk untai ganda DNA. DNA untai ganda (*dsDNA*) memberikan puncak oksidasi yang lebih rendah daripada DNA target yang berbentuk DNA untai tunggal. Basa nitrogen dalam *dsDNA* seolah-olah tersembunyi ke dalam heliks dan kekakuan struktur ini menyebabkan basa nitrogen jauh dari permukaan elektrode, sehingga menghambat proses oksidasi (Schmitt, *et al.*, 2011).

Respon Arus Biosensor terhadap Konsentrasi Probe, Waktu Amobilisasi, dan Waktu Hibridisasi



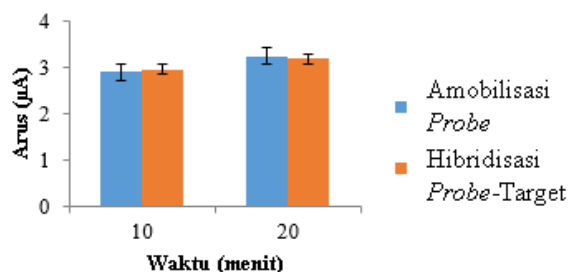
Gambar 5. Penentuan konsentrasi DNA *probe* terhadap puncak arus oksidasi guanin. Penentuan arus menggunakan DPV pada rentang potensial -0,2V sampai +1,4 V dengan *scan rate* 0,008 V/s. Konsentrasi DNA target untuk hibridisasi sebesar 5 µg/mL.

Tahap amobilisasi dan hibridisasi merupakan tahapan penting dalam biosensor. *Probe*

diamobilisasi agar dapat terjadi hibridisasi dengan urutan komplementernya yaitu DNA target (Pedano&Rivaz, 2005). Terjadinya hibridisasi spesifik antara *probe* dan DNA target dideteksi menggunakan transduser elektrokimia (Hartati, 2009). Respon arus yang dihasilkan terhadap konsentrasi *probe* dapat dilihat pada Gambar 5.

Gambar 5 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi DNA *probe* maka puncak arus oksidasi guanin yang dihasilkan dari proses hibridisasi *probe*-target semakin tinggi. Hal ini sesuai dengan persamaan Ilkovic yang menyatakan bahwa terdapat hubungan linier antara arus dan konsentrasi. Selisih puncak arus yang dihasilkan dari tiap variasi konsentrasi *probe* tidak berbeda jauh, karena konsentrasi DNA target yang digunakan untuk berhibridisasi adalah 5,0 µg/mL.

Faktor lain yang mempengaruhi kualitas dan karakter puncak pada teknik DPV adalah waktu amobilisasi dan hibridisasi. Waktu amobilisasi adalah waktu yang digunakan permukaan SPCE-Ce untuk mengadsorpsi DNA *probe*. Waktu hibridisasi adalah waktu yang digunakan basa-basa nitrogen pada DNA *probe* untuk berinteraksi dengan basa-basa nitrogen dari DNA target. Respon arus yang dihasilkan terhadap waktu amobilisasi dan hibridisasi dapat dilihat pada Gambar 6.



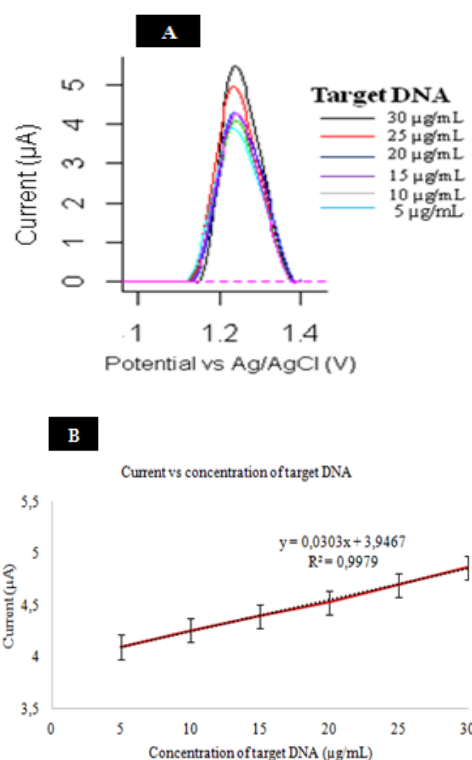
Gambar 6. Penentuan waktu amobilisasi dan hibridisasi terhadap puncak arus oksidasi guanin. Penentuan arus menggunakan DPV pada rentang potensial -0,2 V sampai +1,4 V dengan *scan rate* 0,008 V/s.

Hasil pengukuran pada Gambar 6 menunjukkan bahwa semakin lama waktu amobilisasi, maka arus semakin meningkat karena DNA *probe* lebih banyak teradsorpsi pada permukaan SPCE-Ce. Ketika DNA *probe* yang teradsorpsi lebih banyak, maka semakin banyak DNA target yang berinteraksi dengan DNA *probe*. Oleh karena itu, waktu hibridisasi yang digunakan semakin lama, sehingga 20 menit dipilih sebagai waktu optimum baik tahap amobilisasi maupun hibridisasi. Dengan demikian, hasil optimasi kondisi percobaan dapat

digunakan untuk pengukuran arus terhadap variasi konsentrasi DNA target.

Kurva Kalibrasi

Variasi konsentrasi DNA target dilakukan pada kondisi optimum yaitu konsentrasi *probe* 30,0 µg/mL, waktu amobilisasi 20 menit, waktu hibridisasi 20 menit. Variasi konsentrasi DNA target yang akan diukur puncak arusnya adalah 5,0; 10,0; 15,0; 20,0; 25,0; dan 30,0 µg/mL. Voltammogram tinggi arus terhadap variasi konsentrasi target ditunjukkan pada Gambar 7A. Gambar 7A menjelaskan bahwa puncak oksidasi guanin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi DNA target. Berdasarkan data pada Gambar 7B didapatkan persamaan garis, $I (\mu A) = 0,03 [\text{target}] + 3,947$ dengan linearitas (R^2) 0,9979.



Gambar 7. (A) Voltammogram differential pulsa pada hibridisasi DNA *probe* dengan target. Pengukuran menggunakan DPV, *scan rate* 0,008 V/s pada rentang potensial -0,2 V hingga +1,4 V, (B) Hubungan linier yang terjadi antara puncak arus (I_p) dengan konsentrasi DNA target.

Selanjutnya, persamaan garis linier digunakan untuk perhitungan parameter analitik yang meliputi limit deteksi (LoD), limit kuantisasi (LoQ), sensitivitas, dan presisi. Pengujian sensitivitas pada metode biosensor DNA elektrokimia dinyatakan dengan nilai slope dari persamaan regresi linier, yaitu sebesar 0,0303 µg/mL. Sedangkan penentuan nilai LoD dan LoQ

dalam penelitian ini didapatkan hasil 1,44 µg/mL; 4,81 µg/mL. Penentuan presisi dilakukan dengan menguji sebanyak 7x pengulangan pada satu konsentrasi DNA target yang berada dalam rentang linier kurva kalibrasi, didapatkan nilai sebesar 98,99%.

Penelitian sebelumnya, nilai LoD dari biosensor DNA elektrokimia menggunakan grafena sebagai pemodifikasi SPCE didapatkan sebesar 1,76 ng/µL (Hartati, *et al.*, 2018), DNA *swine* dalam daging sapi olahan didapatkan masing-masing sebesar 6,0 ng/µL dan 4,0 ng/µL menggunakan nanopartikel emas sebagai sensor kolometri (Ali, *et al.*, 2012a; Ali, *et al.*, 2012b), dan DNA *pork* dalam bakso didapatkan sebesar 0,58 µg/mL menggunakan AuNP-biokonjugat pada elektrode SPCE-emas (Hartati, *et al.*, 2019).

KESIMPULAN

Biosensor elektrokimia DNA dapat digunakan untuk mendeteksi DNA mitokondria *Sus scrofa* menggunakan elektrode SPCE-Ce. Sinyal oksidasi guanin yang dihasilkan dari proses hibridisasi DNA *probe*-target ditunjukkan sebagai puncak arus 2,25 µA. Nilai sensitivitas, LoD, LoQ, dan presisi dari penelitian ini secara berurutan adalah 0,03 µg/mL; 1,44 µg/mL; 4,81 µg/mL; dan 98,99%.

DAFTAR RUJUKAN

- Aline R. Coscione. & William E. Artz. 2005. Vegetable Oil Stability at Elevated Temperatures in the Presence of Ferric Stearate and Ferrous Octanoate. *J. Agric. Food Chem.*, 53(6), 2088-2094.
- Ahmed, S.A., Pin, L.L., and Raabe, C.A. 2017. Contemporary Issues and Development in The Global Halal Industry.
- Aida, A.A., Man, Y.B.C., Wong, C.M.V.L., Raha, R., and Son, R. 2005. Analysis of Raw Meats and Fats of Pigs using Polymerase Chain Reaction for Halal Authentication. *Meat Science*, 69, 47-52.
- Ali, M.E., Hashim, U., Mustafa, S., and Man, Y.B.C. 2011. Swine-specific PCR-RFLP Assay Targeting Mitochondrial Cytochrome B Gene for Semiquantitative Detection of Pork in Commercial Meat Products. *Food Anal. Methods*, 5, 613-623.
- Ali, M.E., Hashim, U., Mustafa, S., Foo, K.L., and Man, Y.B.C. 2011. Nanobioprobe for The Determination of Pork Adulteration in

Burger Formulation. *Journal of Nanomaterials*.

- Ali, M.E., Mustafa, S., Islam, K.N., and Man, Y.B.C. 2011. Gold Nanoparticle Sensor for The Visual Detection of Pork Adulteration in Meatball Formulation. *Journal of Nanomaterials*.
- Alvarez, P.L.S., Lobo-Castanon, M.J., Miranda-Ordieres, A.J., and Tunon-Blanco, P. 2004. Electrochemistry of Nucleic Acids at Solid Electrodes and Its Application. *Electroanalysis*, 16, 1193-1204.
- Bahrudin, M. 2010. Problem Sertifikasi Halal Produk Pangan Hewani. ASAS, 2.
- Balizes, G., Weise, C., Rozycki, C., Opialla, T., Sawada, S., Zagon, J., and Lampen, A. 2011. Determination of Osteocalcin in Meat and Bone Meal of Bovine and Porcine Origin using Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization/Time-of-Flight Mass Spectrometry and High Resolution Hybrid Mass Spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 693, 89-99.
- Bielikova, M., Pangallo, D., and Turna, J. 2010. Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) as A Molecular Discrimination Tool for Raw and Heat-Treated Game and Domestic Animal Meats. *J. Food Nutr. Res*, 49, 134-139.
- BPOM RI: Keamanan Pangan. 2007. Badan Pengawas Obat dan Makanan, 11/VI.
- Charbgoon, F., Ahmad, M.B., and Dorroudi, M. 2017. Cerium Oxide Nanoparticles: Green Synthesis and Biological Application. *Int.J.Nanomed*, 12, 1401-1413.
- Erwanto, Y., Abidin, M., Rohman, A., and Sismindari. 2011. PCR-RFLP using BseDI Enzyme for Pork Authentication in Sausage and Nugget Products. *Journal Of Animal Science and Technology*, 34.
- Giovananci, I., Guizard, C., Carlier, M., Duval, V., Martin, J.L., and Demeulemester, C. 2004. Species Identification of Meat Products by ELISA. *International Journal of Food Science and Technology*, 39, 863-867.
- Halid, N.I.A., Hasbullah, S.A., Ahmad, H., Heng, L.Y., Karim, N.H.A., and Harun, S.N. 2014. Electrochemical DNA Biosensor for Detection of Porcine Oligonucleotides using Ruthenium (II) Complex as

- Intercalator Label Redox. *AIP Conference Proceedings*, 313, 313-316.
- Hartati, Y.W. 2009. *Biosensor Elektrokimia untuk Deteksi Urutan Spesifik DNA*. Bandung: UNPAD Press.
- Hartati, Y.W., Setiawati, T.A., Sofyatin, T., Fitrilawati, Anggraeni, A., and Gaffar, S. 2018. Electrochemical DNA Biosensor for Pork (*Sus scrofa*) Determination using Screen Printed Carbon-Reduced Graphene Oxide Electrodes. *J. Food Measur and Character*.
- Hartati, Y.W., Suryani, A.A., Agustina, M., Gaffar, S., and Anggraeni, A. 2019. A Gold Nanoparticle-Oligonucleotide Bioconjugate Based Electrochemical DNA Biosensor for mtDNA of *Sus scrofa* Detection in Raw Meat and Meatball Sample. *Food Analytical Methods*.
- Kuswandi, B., Cendekiawan, K.A.B., Kristiningrum, N.B., and Ahmad M. 2015. Pork Adulteration in Commercial Meatballs Determined by Chemometric Analysis of NIR Spectra. *Journal of Measurement and Characterization*, 9.
- Lucarelli, F., Marazza, G., Turner, A.P.F., and Mascini, M. 2004. Carbon and Gold Electrodes as Electrochemical Transducers for DNA Hybridization Sensors. *Biosensor and Bioelectronics*, 19, 515-530.
- Maryam, S., Siswindari, S., Raharjo, T.J., Sudjadi, and Rohman, A. 2016. Determination of Porcine Contamination in Laboratory Prepared Dendeng using Mitochondrial D-Loop686 and Cyt B Gene Primers by Real Time Polymerase Chain Reaction. *International Journal of Food Properties*, 19, 187-195.
- Nguyen, H.D., Bui, T.A., Nguyen, P.T., Thi, O., Kim, P., Thi, T., and Vo, B. 2005. The Complete Mitochondrial Genome Sequence of The Indigenous I Pig (*Sus scrofa*) in Vietnam. *Asian-Australas J. Anim Sci*, 30, 930-937.
- Nguyet, N.T., Yen, L.T.H., Thu, V.V., Ian H., Trung, T., Vuong, P.H., and Tam, P.D. 2017. Highly Sensitive DNA Sensors Based on Cerium Oxide Nanorods. *Journal of Physics and Chemistry of Solids* (Under Review).
- Pautler, R., Kelly, E.Y., Huang, P.J.J., Cao, J., Liu, B., and Liu, J. 2013. Attaching DNA to Nanoceria: Regulating Oxidase Activity and Fluorescence Quenching. *Applied Materials & Interfaces*.
- Pedano, M.L. and Rivas, G. 2005. Adsorption and Electrooxidation of Nucleic Acids at Carbon Nanotubes Paste Electrodes. *Elect. Commun*, 6, 10-16.
- Rohman, A., Siswindari, Erwanto, Y., and Man, Y.B.C. 2011. Analysis of Pork Adulteration in Beef Meatball using Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. *Meat Science*, 88, 91-95.
- Schmitt, T.J. and Knotts, T.A. 2011. Thermodynamics of DNA Hybridization on Surfaces. *Journal of Chemical Physics*, 134.
- Starodub, N.F. and Ogorodnijchuk, J.O. 2012. Immune Biosensor Based on The ISFETs for Express Determination of *Salmonella typhimurium*. *Electroanalysis*, 24, 600-606.
- Suryapratwi, W.N., Paat, V.I., Gaffar, S., and Hartati, Y.W. 2017. DNA Biosensor for Detection of *Salmonella typhi* from Blood Sample of Typhoid Fever Patient using Gold Electrode Modified by Self-Assembled Monolayers of Thiols. *AIP Conference Proceedings*.
- Szabo, A., Febel, H., Sugar, L., and Romvari, R. 2007. Fatty Acid Regiodistribution Analysis of Divergent Animal Triacylglycerol Samples-A Possible Approach for Species Differentiation. *Journal of Food Lipids*.