

## Identifikasi dan Klasifikasi Tiamin dengan Biosensor Amperometris Berbasis Ragi *Saccharomyces cerevisiae* dan Principal Component Analysis

### *Identification and Classification of Thiamine with Amperometric Biosensor Based on Saccharomyces cerevisiae and Principal Component Analysis*

Lazuardi Umar<sup>a\*</sup>, Vira Annisa Rosandi<sup>a</sup>, Leonardus Riski<sup>a</sup>, Rahmondia Nanda Setiadi<sup>a</sup>, Tetty Marta Linda<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Jurusan Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau, Pekanbaru, Indonesia

<sup>b</sup>Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau, Pekanbaru, Indonesia

\*Email : lazuardi@unri.ac.id

(Received 12 November 2022; Revised 02 May 2023; Accepted 28 May 2023)

#### Abstrak

Vitamin B1 (tiamin) memainkan peranan penting dalam berbagai proses metabolisme, dan menjadi salah satu faktor utama dalam kesehatan tubuh. Kelebihan dan kekurangan tiamin dalam tubuh dapat menimbulkan berbagai penyakit seperti sesak nafas, penyakit beri-beri hingga gagal jantung, sehingga deteksi kadar tiamin sebagai acuan konsumsi sangat diperlukan. Penelitian ini melakukan deteksi tiamin dengan menggunakan metode biosensor amperometris dengan ragi *Saccharomyces cerevisiae* sebagai bioreseptor. Parameter pengukuran tingkat oksigen terlarut (*dissolved oxygen*, DO) diperhatikan berdasarkan metabolisme sel ragi. Tiamin diberi perlakuan variasi konsentrasi 15 mM, 30 mM, 45 mM, 60 mM dan 75 mM. Hasil pengukuran berada pada rentang tegangan 1.912– 1.964 mV, dimana penambahan tiamin menyebabkan peningkatan laju reproduktifitas dan laju pertumbuhan sel ragi. Kinerja ideal dari biosensor berdasarkan parameter sensitivitas, linearitas dan stabilitas juga dilakukan yang menghasilkan pengukuran biosensor berturut-turut yaitu 0,925 mV/mM, koefisien korelasi  $r = 0,9868$ , dan penurunan respon tegangan biosensor hingga 4,97% dari aktivitas awalnya. Data hasil pengukuran dikelompokkan dan diklasifikasi menggunakan *Principal Component Analysis* (PCA) yang menghasilkan total akumulasi persentase variansi data sebesar 84,5% dan nilai eigen > 1 untuk kedua PC. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan acuan untuk pengendalian kadar konsumsi vitamin yang berdampak pada kesehatan.

Kata kunci: biosensor, linearitas, *principal component analysis*, sensitivitas, stabilitas, vitamin B1

#### Abstract

*Vitamin B1 (thiamine) plays an important role in various metabolic processes and is one of the main factors in the body's health. Thiamine excess and deficiency in the body might cause a variety of diseases such as shortness of breath, beriberi, and heart failure, hence thiamine levels must be detected as a reference for intake. The present research detected thiamine using the amperometric biosensor method and the yeast Saccharomyces cerevisiae as a bioreceptor. Dissolved oxygen (DO) level measurement parameters are considered based on yeast cell metabolism. Thiamine was treated with various concentrations of 15 mM, 30 mM, 45 mM, 60 mM, and 75 mM. The measurement results are in the voltage range of 1912–1964 mV, where the addition of thiamine causes an increase in the reproducibility and growth rate of yeast cells. The ideal characteristics of the biosensor based on the parameters of sensitivity, linearity, and stability was also carried out, which resulted in successive biosensor measurements of 0.925 mV/mM, a correlation coefficient of  $r = 0.9868$ , and a decrease in the voltage response of the biosensor up to 4.97% from its initial activity. The measured data were grouped and classified using principal component analysis (PCA), which resulted in a total accumulated data variance percentage of 84.5% and an eigenvalue > 1 for both PCs. It is intended that the findings of this research can be utilized as a reference for controlling vitamin consumption levels that have an impact on health.*

Keywords: biosensor, linearity, *principal component analysis*, sensitivity, stability, vitamin B1



## 1. Latar Belakang

Tiamin (*thiamine*) yang dikenal sebagai vitamin B1 merupakan vitamin yang larut dalam air, yang umumnya ditemukan pada beberapa makanan dan dapat ditambahkan dalam makanan serta dijual sebagai vitamin suplemen. Tiamin berperan penting dalam pertumbuhan dan fungsi berbagai sel-sel tubuh dan hanya sejumlah kecil disimpan dalam organ hati. Oleh sebab itu, asupan harian tiamin pada makanan diperlukan sehingga menjadi salah satu mikronutrien yang penting bagi manusia [1,2]. Fungsi tiamin memainkan peran penting dalam berbagai proses terutama dalam transformasi energi, dan metabolisme karbohidrat oksidatif dan non-oksidatif [3,4]. Asupan harian rata-rata tiamin yang direkomendasikan The *Recommended Dietary Allowance* (RDA) adalah 1,2 mg/hari untuk laki-laki berusia >19 tahun dan 1,1 mg/hari untuk wanita pada usia yang sama [5]. Tiamin merupakan faktor penting dalam kesehatan tubuh dimana kelebihan konsumsi tiamin menyebabkan mual, sakit perut hingga sesak nafas, sedangkan kekurangan tiamin yang didefinisikan sebagai penurunan konsentrasi tiamin dalam tubuh menyebabkan sindrom Korsakoff, penyakit beri-beri, gagal jantung, kerusakan saraf bahkan kematian [6]. Tiamin digunakan sebagai suplemen dalam vitamin kompleks dan dalam beberapa produk makanan yang efektif untuk memenuhi tingkat asupan tiamin harian [7,8]. Berdasarkan hal tersebut, jelas bahwa tiamin merupakan salah satu faktor penting bagi kesehatan tubuh sehingga diperlukan pengukuran kadar tiamin dalam aspek analisis klinis serta proses farmasi dan bioteknologi.

Deteksi tiamin pada makanan dan obat-obatan telah dilakukan mempergunakan beberapa metode seperti *chemiluminescence* [9], kromatografi [10,11], fluoresensi [12], serta spektrofotometri [13]. Penelitian ini mampu mengukur kadar tiamin namun memiliki selektivitas rendah, memerlukan *pre-treatment* sampel dan bahan kimia. Halma [14] mendeteksi tiamin menggunakan biosensor monoenzimatis amperometris yang memiliki sensitivitas dan reproduktivitas yang sangat baik, namun terjadi reduksi sinyal deteksi akibat adanya interferensi dari bahan kimia lainnya pada sampel, kondisi eksperimen yang rentan terhadap denaturasi akibat suhu dan pH [15]. Aplikasi biosensor amperometris telah dilakukan Wen [16]

untuk penentuan vitamin C dalam jus komersial, Ovalle [17] mendeteksi vitamin B12 dengan memanfaatkan strain bakteri *Tetrasphaera duodecadis* dan Kaçar [18] mendeteksi lysine memanfaatkan nanopartikel SnO<sub>2</sub> untuk meningkatkan sensitivitas biosensor. Optimalisasi kinerja biosensor telah dilakukan oleh Richman [19] dalam meningkatkan stabilitas molekul dan afinitasnya terhadap sampel analit, Ostrov [20] melakukan pengujian sensitivitas dan spesifisitas berbagai jenis biorespon yang digunakan serta Miettinen [21] meningkatkan sensitivitas biosensor dalam penentuan senyawa cannabinoid. Berdasarkan studi literatur yang telah dilakukan, biosensor mikrobial berbasis ragi yang berfokus pada deteksi vitamin tiamin dikombinasikan dengan metode pengolahan data *principal component analysis* (PCA) untuk klusterisasi masih jarang ditemui.

Penelitian ini mendeteksi tiamin menggunakan biosensor amperometris mikrobial berbasis ragi *Saccharomyces cerevisiae* dikombinasikan dengan metode PCA. Ragi sebagai biorespon memberikan keuntungan yaitu selain biaya rendah dan mudah diperoleh, juga tahan terhadap berbagai kondisi lingkungan eksperimen, tidak memerlukan teknik steril yang canggih, pertumbuhan sel yang cepat serta toleransi fisikokimia yang besar seperti suhu dan pH [22]. Biosensor ini bekerja dengan mengukur oksigen terlarut (*dissolved oxygen*, DO) yang berada dilingkungannya, yang merupakan hasil metabolisme sel ragi ketika tiamin ditambahkan dalam lingkungan ragi. Perubahan konsentrasi tiamin akan mempengaruhi nilai DO yang diukur mempergunakan elektroda amperometris dan diubah oleh modul *Trans-Impedance Amplifier* (TIA) menjadi tegangan keluaran [23]. Disamping itu, keunggulan penelitian ini adalah data tiamin diolah menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) serta metode multivariat PCA untuk klusterisasi data pengukuran sehingga dapat diidentifikasi konsentrasi sampel uji yang akan meningkatkan keakuratan pengukuran.

Validasi alat dilakukan mempergunakan sampel obat suplemen yang terdapat dipasaran dengan pengukuran biosensor berbasis ragi ini. Adapun kelebihan lain dari metode ini adalah sampel uji tidak memerlukan *pre-treatment* sampel dengan bahan kimia tambahan. Optimalisasi



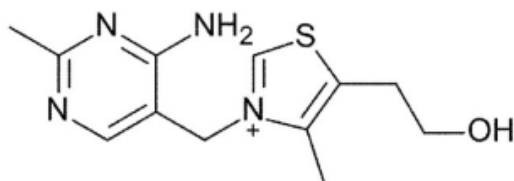
kinerja biosensor berdasarkan parameter sensitivitas, linearitas dan stabilitas juga dilakukan yang menggambarkan kondisi optimal dari penggunaan biosensor. Berdasarkan penjelasan tersebut, metode biosensor yang ditawarkan ini memiliki keuntungan dan kebaharuan dalam metode deteksi yang murah, *real-time*, sederhana namun tetap memiliki karakteristik biosensor yang baik.

## 2. Metodologi

### 2.1 Preparasi Bioreseptor dan Sampel Analit

Strain yang digunakan pada penelitian ini adalah *S. cerevisiae* FNCC – 3049 dari Universitas Gadjah Mada. Proses kultur sel ragi dilakukan dengan inokulasi aseptik 1 ose biakan murni ke dalam 20 mL medium *Potato Dextrose Broth* (PDB). Densitas sel ragi yang tumbuh kemudian dihitung menggunakan hemasitometer dan diamati menggunakan mikroskop. Sebanyak  $21,8 \times 10^6$  sel/mL sel ragi dengan volume 150  $\mu\text{L}$  (pH = 6,2, 28°C) kemudian diimobilisasi dalam elektroda biosensor menggunakan pipet Eppendorf untuk mengukur kadar DO, seperti pada Rosandi [24].

Sampel uji tiamin sebagai analit dalam bentuk murni (Tiamin-HCl) diperoleh dari Sigma Aldrich CAS 67-03-8 (Mr = 337,27). Struktur kimia tiamin diperlihatkan pada Gambar 1 berikut.



Gambar 1. Struktur kimia tiamin  $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_4\text{OS}^+$  [25]

Konsentrasi tiamin yang digunakan yaitu 15 mM, 30 mM, 45 mM, 60 mM dan 75 mM, yang dibuat dengan mencampur massa tiamin sebesar 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg dan 126 mg dengan akuades sebanyak 5 mL. Penggunaan rentang konsentrasi pengukuran biosensor ini bersesuaian dengan rentang kadar tiamin yang dijual dipasaran seperti sampel tablet vitamin Neurobion Forte 100 mg/tablet dan Enervon Multivitamin 50 mg/tablet. Selain itu, dosis optimal untuk kasus defisiensi tiamin berada pada rentang 10-100 mg/hari, 10-50 mg dosis oral, serta 50 – 200 mg dosis oral tiamin, seperti dijelaskan Smithline [26].

### 2.2 Susunan Pengukuran Tiamin dengan Biosensor Berbasis Ragi

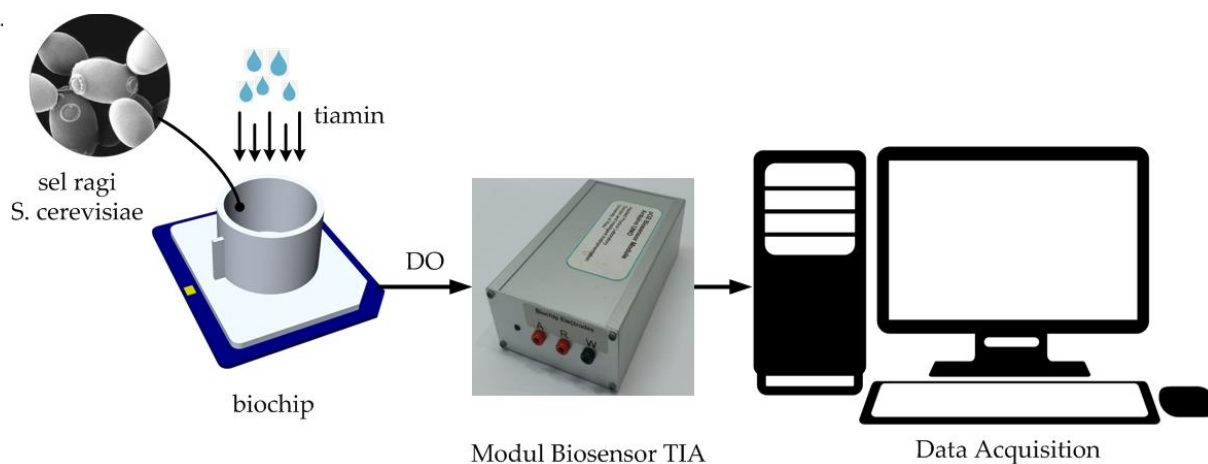
Biosensor amperometris berdasarkan prinsip potensiostat menggunakan tiga elektroda yaitu elektroda pembanding (*counter electrode*, CE), elektroda referensi (*reference electrode*, RE) dan elektroda kerja (*working electrode*, WE), yang bekerja berdasarkan prinsip Clark untuk mendeteksi DO. Ruang reaksi (*chamber*) biosensor berbentuk *biochip* berisi elektroda platinum (Pt) sebagai elektroda indikator redoks WE dan elektroda Ag/AgCl sebagai RE dan CE [24,27].

Ketika sel ragi diberi tiamin maka sel akan mengalami reaksi metabolisme yang memerlukan oksigen sehingga menyebabkan terjadinya perubahan konsentrasi DO di dalam *chamber biochip*. Konsentrasi DO yang tidak terpakai oleh proses metabolisme sel ragi (*remaining*) dievaluasi oleh modul elektronik biosensor TIA secara *real time* dengan keluaran data tegangan [28]. *Set up* pengukuran tiamin seperti pada Gambar 2. Kalibrasi biosensor dilakukan sebelum eksperimen mempergunakan medium PDB dan campuran sel ragi *S. cerevisiae* dengan medium PDB, yang bertujuan untuk mengidentifikasi tingkat tegangan tiap-tiap sampel uji serta waktu yang diperlukan ketika sel ragi telah mencapai daerah stasioner.

Eksperimen utama dilakukan dengan menambahkan variasi konsentrasi tiamin ke dalam *biochip* yang berisikan sel ragi, dimana tegangan keluaran proporsional dengan konsentrasi analit. Parameter eksperimen lainnya yang ditentukan adalah sensitivitas, linearitas dan stabilitas pengukuran berdasarkan data eksperimen pengukuran kadar DO.

*One-way analysis of variance* (ANOVA) dilakukan untuk menganalisis perbedaan data secara statistik menggunakan software Minitab 16. Nilai *p* atau *p-value* <0,05 digunakan untuk menentukan perbedaan yang signifikan dari hasil data pengukuran antara variasi konsentrasi tiamin. Setelah itu, dilanjutkan uji komparasi Tukey untuk melihat data secara khusus dengan mensubstract masing-masing konsentrasi dan membandingkan dengan konsentrasi yang lain.





Gambar 2. Set up pengukuran tiamin

### 2.3 Principal Component Analysis

*Principal Component Analysis* (PCA) dengan analisis multivariat digunakan untuk mereduksi dimensi dari variansi data yang berkorelasi menjadi tidak saling berkorelasi sehingga bisa diklasterisasi. Pada penelitian ini, penentuan tingkat konsentrasi tiamin dilakukan dengan pengukuran DO dengan *output* berupa tegangan. Data tegangan yang diperoleh kemudian diolah untuk mendapatkan parameter statistik yaitu variansi (Var), data rata-rata ( $\bar{x}$ ), dan standar deviasi ( $\sigma$ ). Selanjutnya, dilakukan proses standarisasi data masing-masing konsentrasi tiamin untuk mengetahui probabilitas data terdistribusi normal.

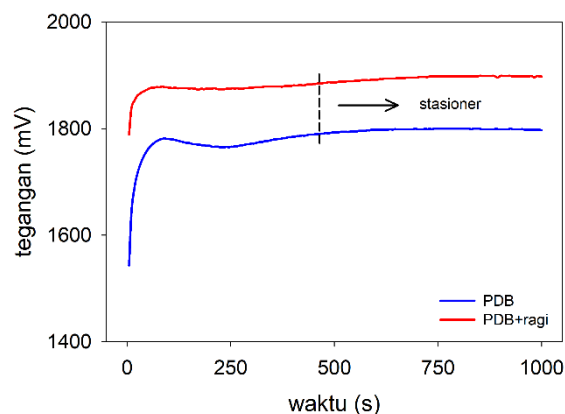
Kemudian dilakukan tingkat korelasi dari sampel dengan menghitung matriks korelasi dan ditransformasikan sehingga data yang saling berdekatan (korelasi) menjadi tidak saling berkorelasi. Perhitungan dilakukan untuk mendapatkan nilai eigen, dimana nilai eigen  $>1$  akan digunakan dalam proses klasterisasi sebagai nilai *principal component 1* (PC1) dan *principal component 2* (PC2) yang divisualisasi menggunakan grafik score plot.

### 3. Hasil dan Pembahasan

Pengujian awal dilakukan dengan kalibrasi media nutrisi ragi tanpa penambahan tiamin, seperti ditunjukkan pada Gambar 3. Penambahan medium PDB dan kontrol ragi pada elektroda sensor menyebabkan penurunan nilai tegangan. Hal ini disebabkan oleh ion-ion yang terdapat pada medium dideteksi oleh elektroda amperometris pada sensor.

Elektroda sensor mengukur perubahan arus yang dihasilkan akibat adanya ion-ion oksigen pada medium dengan tegangan konstan. Perubahan arus yang terbaca pada elektroda diubah menjadi nilai tegangan.

Nilai tegangan kalibrasi medium PDB  $1799,24 \pm 0,70$  mV dan untuk kontrol ragi (medium PDB + sel ragi) yaitu  $1.897,70 \pm 1,13$  mV dimana terdapat perbedaan nilai tegangan sebesar 5,47%. Berdasarkan hasil ini terlihat juga bahwa sel ragi memerlukan waktu  $>450$  detik mencapai kondisi stasioner sebelum biosensor siap menerima sampel uji tiamin.



Gambar 3. Kalibrasi medium PDB dan campuran PDB+ragi sebanyak 150  $\mu$ L. Larutan diimobilisasi ke dalam *chamber* biosensor dengan sampel uji yaitu PDB (pH = 4,6, 28°C) dan larutan kontrol ragi (pH = 6,2, 28°C).

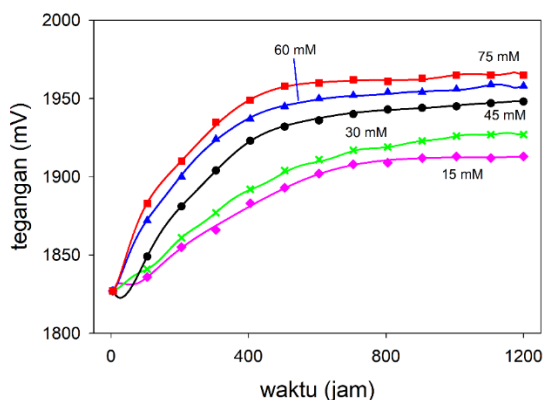
#### 3.1 Pengukuran Sampel Uji Tiamin

Eksperimen pengukuran sampel tiamin dilakukan mempergunakan sampel tiamin murni dengan lima konsentrasi seperti pada Gambar 4 dan Tabel 1.



Tabel 1. Data pengukuran konsentrasi tiamin dan analisa statistik ANOVA

Konsentrasi (mM)	Tegangan (mV)	STD	F-test	P-value	R <sup>2</sup>
15	1.912	± 1,32	592,98	< 0,001	0,97
30	1.924,66	± 1,63			
45	1.945,55	± 1,36			
60	1.956	± 1,93			
75	1.964	± 1,80			



Gambar 4. Pengukuran variasi konsentrasi tiamin mempergunakan biosensor.

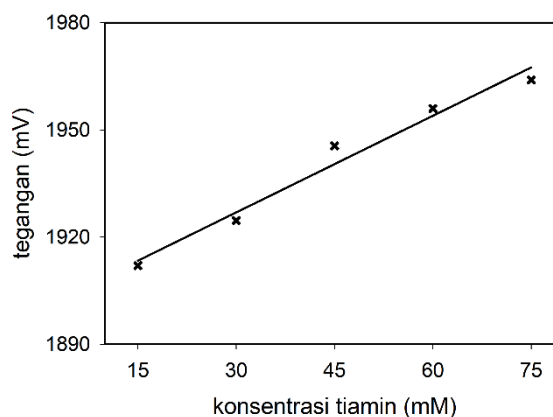
Penambahan sampel tiamin menyebabkan peningkatan laju reproduktifitas dan pertumbuhan sel ragi yang erat kaitannya dengan proses degradasi asam piruvat yang memasok energi untuk pertumbuhan alami sel. Reaksi ragi dan tiamin menghasilkan tiamin pirofosfat (TPP) yang menjadi kofaktor dalam metabolisme karbohidrat serta mempengaruhi ragi dalam aktivitas pertumbuhannya [29]. Hagman [30] menyatakan bahwa saat respirasi, sel ragi akan mengonsumsi O<sub>2</sub> untuk melakukan proses metabolisme sehingga konsentrasi DO dalam *biochip* mengalami penurunan, yang dibaca oleh sensor dalam bentuk tegangan keluaran. Pada Gambar 4 terlihat bahwa tegangan meningkat proporsional dengan konsentrasi tiamin yang menunjukkan kadar DO di lingkungan sel semakin menurun. Hasil ini sesuai dengan Labuschagne & Divol [31] yang menyatakan tiamin berperan secara signifikan meningkatkan laju pertumbuhan dan fermentasi. Kurva pengukuran mencapai daerah stasioner setelah waktu >1.000 detik.

### 3.2 Sensitivitas dan Linearitas Biosensor

Hasil pengukuran tiamin diolah untuk mendapatkan sensitivitas biosensor yang merupakan respon tegangan terhadap konsentrasi tiamin, serta faktor linearitas biosensor yang menunjukkan keakuratan respon terukur untuk

serangkaian pengukuran. Pada Gambar 5 memperlihatkan kurva kalibrasi pengukuran tiamin pada kondisi stasioner. Nilai sensitivitas dan kurva standar linear konsentrasi tiamin diperoleh dengan memodelkan mempergunakan regresi linear dimana konsentrasi tiamin ditentukan berdasarkan persamaan 1 berikut, dimana *U* merupakan tegangan.

$$\text{konsentrasi (mM)} = \frac{(U - 1899,84)}{0,9023} \quad (1)$$



Gambar 5. Kurva kalibrasi tiamin untuk uji sensitivitas dan linearitas biosensor.

Sensitivitas dari sensor pada rentang pengukuran tersebut adalah 0,925 mV/mM dengan *r* = 0,9868. Biosensor berbasis ragi *S. cerevisiae* telah menunjukkan linearitas yang baik untuk tiamin dengan rentang konsentrasi 15 mM sampai 75 mM dimana batas deteksi biosensor ini cocok untuk aspek analitik. Penentuan sensitivitas dan respon linear biosensor seperti dijelaskan pada penelitian Lopes [32] dan Miettinen [33].

### 3.3 Stabilitas Pengukuran Biosensor

Stabilitas biosensor ini diuji selama 24 jam dengan menambahkan 150 µL ragi dengan densitas sel sebanyak 21,8 x 10<sup>6</sup> sel/ml dicampur dengan tiamin sebanyak 150 µL (konsentrasi 60 mM, pH = 6,2, suhu 28°C). Hasil yang diperoleh memperlihatkan penurunan respon tegangan biosensor pada 24 jam (*t*<sub>24</sub>) hingga 4,97 % dari

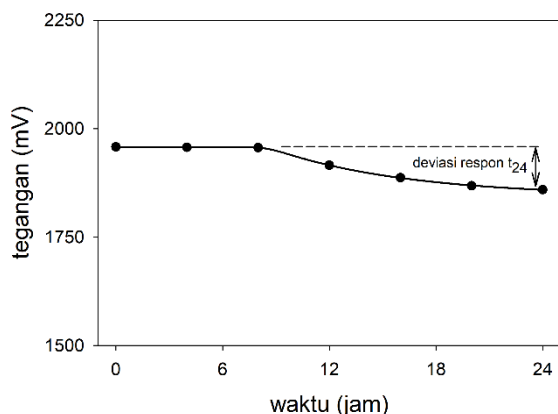




Tabel 2. Penentuan tiamin pada tablet vitamin berdasarkan biosensor

Sampel	Tegangan (mV)	Konsentrasi Tiamin (mM)		Error (%)	STD
		Komposisi	Pengukuran		
Neurobion Forte	1.955,24	60	61,4	2,28	±2,18
Enervon Multivitamin	1.925,59	30	29,5	1,69	±1,97

aktivitas awalnya, seperti ditunjukkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Stabilitas pengukuran bioresseptor ragi penambahan tiamin dalam waktu 24 jam.

Kestabilan pengukuran biosensor ini disebabkan oleh beberapa faktor seperti pengaruh suhu, lingkungan, pH, nutrisi yang tersedia dan densitas sel ragi yang berubah pada waktu pengukuran sehingga mempengaruhi stabilitas analitis sinyal.

### 3.4 Aplikasi Deteksi Tiamin pada Sampel Tablet Vitamin

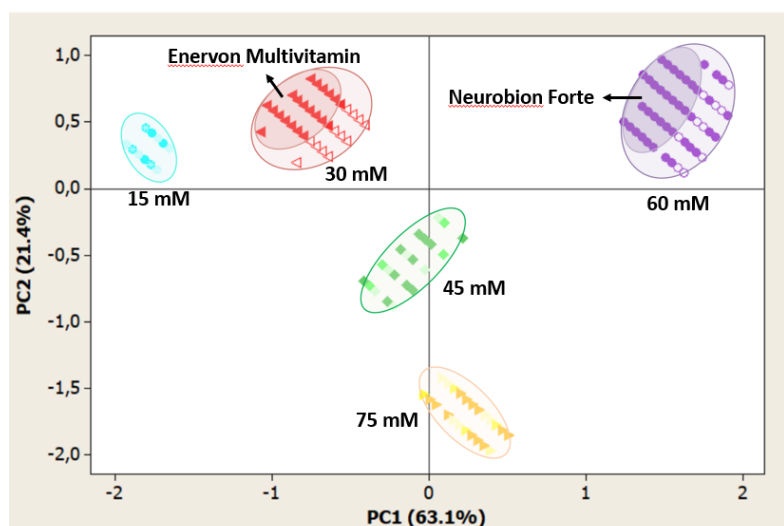
Deteksi tiamin pada produk di pasaran dilakukan dengan menggunakan sampel tablet vitamin Neurobion Forte yang memiliki kandungan

tiamin sebesar 100 mg/tablet setara dengan 60 mM dan Enervon Multivitamin dengan kandungan 50 mg/tablet atau setara 30 mM. Kedua sampel masing-masing dilarutkan dalam 5 mL air dan diambil sebanyak 150 µL untuk ditambahkan dalam *biochip* yang telah berisi ragi. Pengukuran sampel dilakukan dengan pengulangan 5 kali (n=5) dengan hasil pengukuran pada Tabel 2.

Tegangan keluaran yang dihasilkan dikonversi menjadi konsentrasi tiamin mempergunakan persamaan regresi dari kurva kalibrasi tiamin dan hasil ini kemudian dibandingkan dengan konsentrasi sampel yang dilaporkan pada komposisi pada label. Berdasarkan Tabel 2 terlihat biosensor berbasis ragi telah mampu mengidentifikasi tiamin dengan nilai *error* <2,3% dan tidak berbeda secara signifikan. Perbedaan konsentrasi yang dihasilkan pada sampel disebabkan efek interferensi zat lain yang berada dalam tablet vitamin yang mempengaruhi pengukuran biosensor.

### 3.5 Klasifikasi Tiamin dengan PCA

Data pengukuran sel ragi dengan penambahan tiamin diperlihatkan dalam bentuk grafik score plot menggunakan PCA seperti pada Gambar 7. Dari Gambar 7, klasifikasi tingkat konsentrasi tiamin



Gambar 7. Klasifikasi konsentrasi tiamin menggunakan PCA



Tabel 3. Analisis nilai eigen dan persentase variansi PCA dari lima *principal component* utama untuk klasifikasi konsentrasi tiamin dan sampel suplemen.

PC	Nilai eigen	Variansi (%)	$I_1$	$I_2$	$I_3$	$I_4$	$I_5$
1	3,1572	63,1	0,556	0,554	0,554	0,053	-0,274
2	1,0695	21,4	0,099	0,101	0,110	-0,871	0,458
3	0,7554	15,1	-0,089	-0,146	-0,135	-0,489	-0,845
4	0,0133	0,3	-0,820	0,425	0,381	-0,017	-0,039
5	0,0045	0,1	-0,026	-0,694	0,720	0,009	0,003

direduksi menjadi lima dimensi dengan lima indeks pengukuran ( $I$ ), dengan hasil pada Tabel 3.

Dua komponen utama PC1 dan PC2 divisualisasikan menggunakan grafik *score plot* yang menunjukkan pola distribusi data berdasarkan konsentrasi tiamin dan sampel suplemen dari respon biosensor. Nilai Eigen >1 untuk PC1 dan PC2 serta total variansi dari kedua komponen utama ini yaitu 84,5% memperlihatkan tingkat korelasi yang mampu mengklasifikasikan konsentrasi tiamin. PC1 memiliki korelasi positif yang signifikan untuk  $I_1, I_2, I_3$  dan  $I_4$ , sedangkan pada  $I_5$  berkorelasi negatif dimana Indeks pengukuran ( $I$ ) disini mewakili pengulangan pembacaan hasil pada sensor (*repeatability*).

Pada Gambar 7 juga terlihat bahwa dua sampel tablet vitamin berada pada pattern yang sesuai dengan jenis konsentrasinya. Penelitian menggunakan PCA sebelumnya juga telah dilakukan oleh Zaoui [33] untuk mengklasifikasikan cairan ionic berdasarkan metode biosensor yang memiliki total variansi 82,8% dan nilai eigen > 1 untuk kedua PC. Hal ini membuktikan bahwa metode biosensor amperometris yang digunakan pada penelitian ini dapat mengidentifikasi variasi konsentrasi tiamin dalam sampel tablet vitamin.

#### 4. Kesimpulan

Penambahan sampel tiamin memudahkan sel ragi untuk melakukan aktivitas metabolisme sel yang dapat digunakan sebagai sumber nutrisi (makanan) oleh sel ragi dan dapat dideteksi oleh elektroda biosensor sebagai perubahan kadar DO. Peningkatan nilai tegangan menunjukkan kadar DO di lingkungan sel mengalami penurunan akibat aktivitas metabolisme sel dalam memecah tiamin. Data hasil pengukuran diklasifikasi menggunakan PCA menghasilkan total akumulasi persentase variansi data sebesar 84,5% dan *eigenvalue* >1. Karakteristik biosensor diperhitungkan berdasarkan parameter sensitivitas, linearitas dan

stabilitas. Analisis parameter karakteristik biosensor menghasilkan nilai sensitivitas 0,925 mV/mM, linearitas  $r = 0,9868$ , dan stabilitas pengukuran biosensor menunjukkan penurunan 4,97% dari aktivitas awalnya. Hal ini menunjukkan bahwa biosensor dengan bioreseptor ragi mampu dengan baik mendeteksi perubahan konsentrasi tiamin mulai dari 15 mM – 75 mM yang sebanding dengan jumlah tiamin yang terdapat pada sampel tablet vitamin. Hasil data penelitian ini diharapkan dapat diterapkan dan dijadikan acuan untuk pengendalian kadar konsumsi vitamin yang berdampak pada aspek kesehatan.

#### 5. Ucapan Terima Kasih

Ucapan terimakasih kepada Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia untuk pendanaan melalui DRPM 2022 Dana Program Penelitian, kontrak No. 051/E5/PG.02.00.PT/2022.

#### Daftar Pustaka

- [1] Whitfield, K.C., and Bourassa, M.W., Thiamine deficiency disorders: Diagnosis, prevalence, and a roadmap for global control programs, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1430**, pp. 1–41, 2018.
- [2] Pacey, F., Tesone, A., Laudi, N., Laudi, E., Cretti, A., Pnini, S., Varesco, F. and Colombo, C., The relevance of thiamine evaluation in a practical setting, *Nutrients*, **12**(9), pp. 2810, 2020.
- [3] Chen, Y. and Tian, F., Enzymatic catalytic spectrophotometric determination of thiamine in food, *Food Anal. Method*, **3**, pp. 7-11, 2009.
- [4] Wang, Y., Simultaneous determination of uric acid, xanthine and hypoxanthine at poly (pyrocatechol violet)/functionalized multi-walled carbon nanotubes composite film modified electrode, *Colloid Surf. B*, **88**, pp. 614–621, 2011.
- [5] Shankar, S. and John, S. A., Sensitive and highly selective determination of vitamin B1 in the presence of other vitamin B complexes using



- functionalized gold nanoparticles as fluorophore, *RSC Adv*, **5**, pp. 49920–49925, 2015.
- [6] DiNicolantonio, J. J., Liu, J., and O’Keefe, J. H., Thiamine and cardiovascular disease: a literature review. *Progress in Cardiovascular Diseases*, **61**(1), pp. 27–32, 2018.
- [7] Akyilmaz, E., Yaşa, I. and Dinçkaya, E., Whole cell immobilized amperometric biosensor based on *saccharomyces cerevisiae* for selective determination of vitamin B1 (thiamine). *Analytical Biochemistry*, **354**(1): 78–84, 2006.
- [8] Gironés-Vilaplana, A., Villaño, D., Marhuenda, J., Moreno, D. A., and García-Viguera, C., Nutraceutical and functional food components, *Vitamins*, 159–201, 2017
- [9] Du, J. X., Li, Y. H., and Lu, J. R., Flow injection chemiluminescence determination of thiamine based on its enhancing effect on the luminol-hydrogen peroxide system, *Talanta*, **57**, pp. 661–665, 2002.
- [10] Chen, J., Li, B. Q., Cui, Y. Q., Yu, E. and Zhai, H. L. A fast and effective method of quantitative analysis of VB1, VB2 and VB6 in B-vitamins complex tablets based on three-dimensional fluorescence spectra, *J. Food Compos. Anal.*, **41**, pp. 122–128, 2015.
- [11] Alizadeh, T., Akhoundian, M. and Ganjali, M. R. An innovative method for synthesis of imprinted polymer nanomaterial holding thiamine (vitamin B1) selective sites and its application for thiamine determination in food samples, *J. Chromatogr. B*, **1084**, pp. 166–174, 2018.
- [12] Luo, Y. W., Miao, H., and Yang, X. M. Glutathione-stabilized Cu nanoclusters as fluorescent probes for sensing pH and vitamin B1. *Talanta*, **144**, pp. 488–495, 2015.
- [13] Rebwar, O.H., Hunar, Y. M. and Hijran, S. J. Simultaneous spectrophotometric determination of thiamine and pyridoxine in multivitamin dosage forms using H-point standard addition and Vierodta’s methods, *J. Iran. Chem. Soc*, **15**, pp. 1603–1612, 2018.
- [14] Halma, M., Doumèche, B., Hecquet, L., Prévot, V., Mousty, C. and Charmantray, F., Thiamine biosensor based on oxidative trapping of enzyme-substrate intermediate. *Biosens Bioelectron*, **15**, pp. 850-857, 2017.
- [15] Rocchitta, G., Spanu, A., Babudieri, S., Latte, G., Madeddu, G., Galleri, G., Nuvoli, S., Bagella, P., Demartis, M. I., Fiore, V., Manetti, R. and Serra, P. A. Enzyme biosensors for biomedical applications: strategies for safeguarding analytical performances in biological fluids. *Sensors (Basel)*, **16**(6), pp. 780, 2016.
- [16] Wen, Y., Xu, J., Liu, M., Li, D., and He, H., Amperometric vitamin C biosensor based on the immobilization of ascorbate oxidase into the biocompatible sandwich-type composite film. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **167**(7), pp. 2023–2038, 2012
- [17] Ovalle, M., Arroyo, E., Stoytcheva, M., Zlatev, R., Enriquez, L. and Olivas, A., An amperometric microbial biosensor for the determination of vitamin B12, *Analytical Methods*, **7**(19), 8185–8189, 2015.
- [18] Kaçar, C., Erden, P. E. and Kılıç, E. Amperometric l -lysine biosensor based on carboxylated multiwalled carbon nanotubes-SnO<sub>2</sub> nanoparticles-graphene composite. *Applied Surface Science*, **419**, pp. 916–923, 2017.
- [19] Richman, S. A., Kranz, D. M., & Stone, J. D. Biosensor detection systems: engineering stable, high-affinity bioreceptors by yeast surface display. *Methods in Molecular Biology*, **504**(5), pp. 323–350, 2009.
- [20] Ostrov, N., Jimenez, M., Billerbeck, S., Brisbois, J., Matragrano, J., Ager, A. and Cornish, V. W., A modular yeast biosensor for low-cost point-of-care pathogen detection, *Science Advances*, **3**(6), 2017.
- [21] Miettinen, K., Leelahakorn, N., Almeida, A., Zhao, Y., Hansen, L. R., Nikolajsen, I. E., Andersen, J. B., Givskov, M., Staerk, D., Bak, S., Kampranis, S. C., A GPCR-Based yeast biosensor for biomedical, biotechnological, and point-of-use cannabinoid determination, *Nature Communications*, **13**(1), pp. 1–16, 2022.
- [22] Štukovnik, Z., Bren, U., Rozman, M., Model electrochemical biosensor for the detection of methanol in aqueous solutions with yeast cells. *Acta Chimi Sloven*, **68**(4), pp. 773-780, 2021.
- [23] Umar, L., Rosandi, V. A., Setiadi, R. N., Agustirandi, B., Linda, T. M., Kuswandi, B., Amperometric microbial biosensor for sugars and sweetener classification using principal component analysis in beverages. *J Food Sci Techno*, **60**(1), pp. 382-392, 2023.
- [24] Rosandi, V. A., Linda T. M., Agustirandi, B., and Umar, L. Simple Amperometric Biosensor for Sucrose Concentration Measurement Based on





- Principal Component Analysis. Journal of Physics Conference Series IOP. 2021.
- [25] Crook, M. A., Laboratory Assessment of Vitamin Status Methods for Assessment of Thiamine (Vitamin B1). Elsevier Inc, 2018.
- [26] Smithline, H. A., Donnino, M. and Greenblatt, D. J., Pharmacokinetics of high-dose oral thiamine hydrochloride in healthy subjects. *BMC Clin Pharmacol*, **12**(4), 2012.
- [27] Wang, W. S., Huang, H. Y., Chen, S. C., Ho, K. C., Lin, C. Y., Chou, T. C., Hu, C. H., Wang, W. F., Wu, C. F., Luo, C. H., Real-Time telemetry system for amperometric and potentiometric electrochemical sensors, *Sensors*, **11**(9), pp. 8593–8610, 2011.
- [28] Umar, L., Setiadi, R.N., Hamzah, Y. and Linda, T.M. Biosensor Based on Biochip-G for Dissolved Oxygen Detection from Photosynthesis Process of Green Algae *Chlorella Vulgaris*. Proceeding of 2017 International Conference on Smart Cities, Automation and Intelligent Computing Systems, 131–134, 2017.
- [29] Perli, T., Wronska, A. K., Ortiz-Merino, R. A., Pronk, J. T. and Daran, J. M. Vitamin requirements and biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, **37**(4), 283–304, 2020.
- [30] Hagman, A., and Piškur, J. A study on the fundamental mechanism and the evolutionary driving forces behind aerobic fermentation in yeast. *PLoS ONE*, **10**(1), 1–24, 2015.
- [31] Labuschagne, P., and Divol, B. Thiamine: a key nutrient for yeasts during wine alcoholic fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **105**(3), 953–973, 2021.
- [32] Lopes, F. M., Batista, K. A., Batista, G. L. A. and Fernandes, K. F., Biosensor for determination of glucose in real samples of beverages. *Ciênc. Tecnol. Aliment*, **32**(1), 65 – 69, 2012.
- [33] Zaoui, T., Belarbi, M., and Debdab, M. Based Principal Component Analysis of Associated Ionic Liquid Biosensors. *Procedia Computer Science*, **83**, pp. 1038–10, 2016.

